栃木県における豚流行性下痢ウイルス抗体保有状況

宇佐美佳秀¹⁾

山口 修¹⁾

熊埜御堂 香²⁾

松村安義¹⁾

1) 栃木県家畜衛生研究所 (〒320-0053 宇都宮市戸祭町 2634)

2) 栃木県西那須野家畜保健衛生所 (〒329-2713 栃木県那須郡西那須野町緑 12-14)

(1998年3月9日受付・1998年8月28日受理)

要 約

栃木県における豚流行性下痢 (PED) ウイルス中和抗体保有状況を検索したところ、34市町村中9市町村 (26.5%)、88農場中13農場 (14.8%)、1,183頭中63頭 (5.3%) で抗体が検出されたが、PEDを疑う下痢症状の発生はなかった。
——キーワード：不顕性感染、中和抗体、豚、豚流行性下痢ウイルス。

-----日獣会誌 51, 656~658 (1998)

豚流行性下痢 (PED) は、コロナウイルス属の PED ウイルス (PEDV) の感染に起因する疾病で、水様性下痢を特徴とする [6]。本病は、豚伝染性胃腸炎に類似する疾病として、1970年代からヨーロッパ各国に広く浸潤していたことが知られている [1-3, 6, 9]。わが国においては、Takahashi ら [8] が、1982年に岩手県内で発生した豚の水様性下痢症例から、電子顕微鏡によりコロナウイルス様粒子を検出し、日本での存在を示唆した。1988年には桑原ら [5] が、香川県および鹿児島県内での下痢発症豚の小腸材料を豚に経口接種し、水様性下痢の再現および豚での継代が可能なことを確認し、その原因が PEDV であると報告した。さらに、1992年に Kusanagi ら [4] は、桑原ら [5] が豚で分離した PEDV (83-P5 株) を用い、Vero 細胞に接種し、培養液にトリプシンを加える方法で細胞変性効果 (CPE) を示す PEDV を分離した。その後、1993年には北海道での発生が報告され [7]、1996年の農林水産省畜産局衛生課の調べで、水様性下痢による哺乳豚の死亡を特徴とする本病の大規模な発生が9道県内で確認された。しかし、本病の国内における浸潤および分布状況の詳細は明らかでない。そこで、これまで不明であった栃木県内の飼養豚について PEDV に対する中和抗体を調べ、さらに、抗体陽性の一農場において、飼養用途別ならびに日齢別の抗体検査および抗体陽性母豚の産子豚における移行抗体の消長を調べた。

材 料 お よ び 方 法

PEDV の浸潤状況調査：ワクチンを使用していない農場については、1996~1997年に栃木県内の34市町村、88戸、1,183頭〔繁殖豚 (1歳以上) 536頭、育成・肥育豚 (1歳未満) 647頭〕から採取された血清、ワクチン使用農場については、1997年に採取された1戸、15

頭 (繁殖豚10頭、3カ月齢肥育豚5頭) の血清を用いた。また、PEDV 抗体陽性農場においては、過去5年間の PED 様疾患の発生の有無および抗体陽性豚が自家育成豚であったかまたは導入豚であったかについて調査した。

J 農場における抗体調査：調査した農場の中で母豚900頭を飼養する一貫経営 J 農場において、繁殖豚 (30頭) および1~6カ月齢肥育豚 (各月齢10頭、計60頭) の抗体検査を実施した。また、PEDV 抗体陽性母豚4頭および抗体陰性母豚1頭の計5頭を用い、おのこの母豚の産子豚 (1腹あたり2頭使用) について初乳摂取後の PEDV に対する中和抗体価の推移を調査した。採血は分娩後3, 10, 17, 24, 50 および80日に実施した。

中和試験：農林水産省家畜衛生試験場から分与された PEDV NK94P6Tr (-) 株および Vero (KY-5) 細胞を用いた。被検血清はマイクロプレートを用いて2倍階段希釈 (1希釈あたり2ウェル使用) 後、等量のウイルス液 (200TCID₅₀/0.05ml) を混和した。37℃・1時間後、細胞浮遊液 (1×10⁶個/ml) を1ウェルあたり0.1ml ずつ添加し、37℃、5% CO₂ 存在下で培養した。判定は培養後7日に行い、CPE の発現を阻止した血清の最高希釈倍数の逆数を中和抗体価とし、抗体価≥1:2を陽性とした。

成 績

PEDV 抗体の保有状況：栃木県内の飼養豚における PEDV に対する中和抗体の保有状況を表1に示した。抗体陽性率は、市町村別では26.5% (9/34)、農場別では14.8% (13/88)、個体別では5.3% (63/1,183) であった。飼養用途別では、1歳以上の繁殖豚が9.7% (52/536)、1歳未満の育成・肥育豚が1.7% (11/647) の陽性率を示し、抗体陽性豚63頭のうち繁殖豚が52頭

表1 栃木県内の飼養豚における豚流行性下痢ウイルスに対する中和抗体保有状況

市町村 (%) ¹⁾	戸 (%)	頭 (%)	飼 養 用 途 繁殖豚：育成・肥育豚 ²⁾
9/34 ³⁾ (26.5)	13/88 (14.8)	63/1,183 (5.3)	52/536：11/647 (9.7：1.7)

¹⁾ 陽性率.²⁾ 繁殖豚：1歳以上；育成・肥育豚：1歳未満.³⁾ 陽性数／供試数.

表2 豚流行性下痢ウイルス抗体陽性農場における飼養用途別中和抗体保有状況

農場 ¹⁾	繁 殖 豚		育 成 ・ 肥 育 豚	
	陽性頭数／ 検査頭数	抗体価 ²⁾	陽性頭数／ 検査頭数	抗体価
A	3/11	2	0/ 4	—
B	3/ 3	4～8	NT ³⁾	—
C	7/25	2～8	0/ 14	—
D	0/ 5	—	1/ 10	2
E	1/ 5	4	0/ 5	—
F	1/ 5	4	0/ 5	—
G	1/30	2	0/ 5	—
H	0/ 5	—	1/ 5	2
I	0/ 5	—	2/ 35	2～4
J	19/75	2～8	7/110	2～4
K	2/15	2～4	NT	—
L	9/21	2～8	0/ 25	—
M	6/ 7	4～8	0/ 15	—
N	6/10	4～64	0/ 5	—

¹⁾ A～M農場：豚流行性下痢野外ウイルス抗体陽性農場.

N 農場：豚流行性下痢ワクチン使用農場.

²⁾ 抗体陽性豚における抗体価.³⁾ 検査せず.

(82.5%)であった.

抗体陽性13農場(A～M)およびワクチン使用1農場(N)の抗体保有状況を表2に示した. A～M農場では, 1歳以上の繁殖豚のみが抗体陽性であった農場が7戸, 1歳未満の育成・肥育豚のみが陽性であった農場が3戸, 繁殖および育成・肥育豚ともに陽性であった農場が1戸認められた. また, 繁殖豚のみ検査したBおよびK農場はいずれも陽性であった. これらの農場で最も高い中和抗体価は1:8であった. N農場では, 繁殖豚が1:4～1:64の抗体を保有していたが, 3カ月齢肥育豚は抗体陰性であった. なお, 聞き取り調査を実施した14農場(A～N)では過去5年間にPED様疾患の発生はなかった. また, A～M農場において, 抗体陽性豚が自家育成豚であった農場が6戸(A, B, D, E, HおよびI), 導入豚であった農場が6戸(C, F, G, K, LおよびM), その両者であった農場が1戸(J)であった.

J農場における抗体調査:同時期に行った繁殖豚および肥育豚(1～6カ月齢)の抗体検査成績を表3に示し

表3 豚流行性下痢ウイルス抗体陽性J農場における月齢別中和抗体保有状況

月 齢	飼養用途	陽性頭数／検査頭数(%) ¹⁾	抗体価 ²⁾
15～38	繁殖	9/30(30.0)	2～8
1	肥育	1/10(10.0)	2
2	肥育	0/10(0)	—
3	肥育	0/10(0)	—
4	肥育	6/10(60.0)	2～4
5	肥育	0/10(0)	—
6	肥育	0/10(0)	—

¹⁾ 陽性率.²⁾ 抗体陽性豚における抗体価.

表4 子豚の豚流行性下痢ウイルスに対する移行抗体の推移

日 齢	中和抗体価					陽性頭数／検査頭数(%) ¹⁾
	<2	2	4	8	16	
3	3 ²⁾	2	1	1	1	5/8(62.5)
10	4	2	1	1		4/8(50.0)
17	7	1				1/8(12.5)
24	8					0/8(0)
50	8					0/8(0)
80	8					0/8(0)

¹⁾ 陽性率.²⁾ 頭数.

た. 抗体陽性豚は繁殖豚では30頭中9頭, 肥育豚のうち1カ月齢豚では10頭中1頭および4カ月齢豚では10頭中6頭であり, 中和抗体価は1:2～1:8であった. しかし, 2, 3, 5および6カ月齢の肥育豚は抗体陰性であった.

抗体陽性母豚4頭(中和抗体価1:2～1:4)の初乳を摂取した子豚のPEDV中和抗体価の推移を表4に示した. 初回検査時(3日齢)の抗体価は<1:2～1:16で, 日齢が進むに従って抗体価は低下し, 移行抗体が消失したのは24日齢であった. なお, 表には示さなかったが, 抗体陰性母豚から生まれた子豚2頭の調査期間中における抗体価は<1:2であった.

考 察

栃木県内の飼養豚におけるPEDVの浸潤状況を調査するため, 1996～1997年に採取された血清の抗体検査を実施した結果, 市町村別, 農場別および個体別の抗体陽性率は, それぞれ26.5, 14.8および5.3%であった. このことから, 県内の広い範囲に低率ながら抗体陽性豚が存在していることが判明した. また, 繁殖豚(1歳以上)および育成・肥育豚(1歳未満)の抗体陽性率はそれぞれ9.7および1.7%であり, 抗体陽性豚の多くは繁殖豚であったことが示された. 抗体陽性13農場において最も高い抗体価は, 繁殖豚では1:8, 育成・肥育豚では1:4であり, 抗体価に差は認められなかった. な

お、1994年に報告されたPED発症例のペア血清（5頭）の抗体検査[7]では、急性期血清の抗体価は全頭で $<1:2$ であったのに対し、23日後の回復期血清の抗体価は $1:16\sim 1:256$ であった。今回は抗体陽性豚における抗体価の消長については調査しなかったが、前述の報告[7]と比較すると抗体価はかなり低値であった。このことは本ウイルスに近縁なウイルスによる感染も示唆されている。また、抗体陽性農場のうち、導入豚のみが抗体陽性であった農場では、自家育成豚から抗体陽性豚が検出されなかったことから、抗体陽性豚は導入以前に本ウイルスに感染していた可能性が示唆され、農場内へのウイルス侵入はなかったものと推察された。

J農場で実施した抗体陽性母豚4頭（抗体価 $1:2\sim 1:4$ ）の初乳摂取子豚の移行抗体価を測定した成績では、初回検査時（3日齢）は $<1:2\sim 1:16$ であったが、日齢が進むに従って低下し、24日齢では全頭で $<1:2$ であった。この成績から移行抗体消失時期は24日齢以前であることが示された。なお、本農場の繁殖母豚の抗体価は $<1:2\sim 1:8$ であり、この程度の抗体を保有する母豚から生まれた子豚への移行抗体は約1カ月で消失することが推察された。このことから、月齢別抗体検査で、1カ月齢（10頭中1頭）および4カ月齢（10頭中6頭）肥育豚から検出された抗体のうち、1カ月齢肥育豚の保有抗体は移行抗体であると思われる。しかし、4カ月齢肥育豚において、抗体価 $1:4$ の低値ながら高率（60%）に検出された抗体は、移行抗体ではなくウイルス感染によって得られた抗体である可能性が示唆された。なお、J農場では、過去にPED様疾患の発生はなかったことから、特に哺乳豚の水様性下痢を特徴とする近年のPEDの発生例とは異なっており、本ウイルスまたは本

ウイルスに近縁なウイルスが豚群において不顕性感染していたことが示唆された。また、ワクチン使用N農場においても、3カ月齢肥育豚からは抗体が検出されなかったことから、移行抗体の消失後は本ウイルスに感染していなかったものと思われた。

以上の成績から、本県の飼養豚では、PEDVに対する抗体価および陽性率が低かったことから、本ウイルスが流行しているとは考えられず、また、過去5年間にPED様疾患の発生が認められなかったことから、自家育成豚が抗体陽性であった農場は、農場内へのウイルスの侵入が示唆されたものの、不顕性感染であった可能性が強く推察された。

引 用 文 献

- [1] Debouck P, Pensaert M : Am J Vet Res, 41, 219-223 (1980)
- [2] Debouck P, Pensaert M, Coussemont W : Vet Microbiol, 6, 157-165 (1981)
- [3] Hofmann M, Wyler R : J Clin Microbiol, 26, 2235-2239 (1988)
- [4] Kusanagi K, Kuwahara H, Katoh T, Nunoya T, Ishikawa Y, Samejima T, Tajima M : J Vet Med Sci, 54, 313-318 (1992)
- [5] 桑原博義, 布谷鉄夫, 鮫島都郷, 田島正典 : 日獣会誌, 41, 169-173 (1988)
- [6] Leman AD, Straw BE, Mengeling WL, Allaire SD, Taylor DJ, Pensaert MB : Diseases of Swine, 7th ed, 293-298, Wolfe Publ, Iowa (1992)
- [7] 松木繁幸, 和田好洋, 三上祐二 : 北獣会誌, 38, 149-152 (1994)
- [8] Takahashi K, Okada K, Ohshima K : Jpn J Vet Sci, 45, 829-832 (1983)
- [9] Wood EN : Vet Rec, 100, 243-244 (1977)

Serological Survey of Porcine Epidemic Diarrhea Virus Infection in Tochigi Prefecture

Yoshihide USAMI*, Osamu YAMAGUCHI, Kaori KUMANOMIDO
and Yasuyoshi MATSUMURA

* *Tochigi Animal Hygiene Laboratory, 2634 Tomatsuri, Utsunomiya 320-0053, Japan*

SUMMARY

Sera collected from pig farms in Tochigi Prefecture were examined for neutralizing antibody against porcine epidemic diarrhea (PED) virus. Antibody was detected in 9 of 34 (26.5%) cities and towns, 13 of 88 (14.8%) farms and 63 of 1,183 (5.3%) pigs, while no apparent cases suspected of PED were recognized.

—Key words : inapparent infection, neutralizing antibody, pig, porcine epidemic diarrhea virus.

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 51, 656~658 (1998)