

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18786

研究課題名(和文)豚流行性下痢の感染拡大要因の解明

研究課題名(英文)Study on risk analysis of porcine epidemic diarrhea

研究代表者

関口 敏 (Sekiguchi, Satoshi)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：10462780

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：豚流行性下痢(PED)は、PEDウイルス感染による豚の下痢を主徴とする急性感染症で、哺乳豚での死亡率は時に100%に達する。PED発生農場とは、豚が臨床症状を示し、PEDの診断検査で陽性となった農場のことを示す。すなわち、症状を確認してから検査を依頼する現行の制度ではウイルスに感染した状態でも豚が症状を示さない農場は検査の対象にならず非発生農場として扱われる。そこで本研究は、能動的サーベイランスを用いて感染農場と非感染農場を識別し、両者の相違点を比較することでPEDの感染拡大要因を解明することを目的とした。本研究の結果、PEDの感染拡大に関するリスク因子を同定することに成功した。

研究成果の概要(英文)：Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), causes acute diarrhea and dehydration in piglets, among which mortality rate can reach up to 100%. Syndromic surveillance has also been carried out as pig producers are obligated to inform farm veterinarians whenever the pigs demonstrate signs of diarrhea. Subsequently, PEDV infections are confirmed by veterinary authorities at Prefectural Livestock Hygiene Centers. Based on examination results, farms declared as PED-positive are classified under "case farms". "Non-case farms" in Japan are defined as farms with no pigs showing PED clinical signs. Thus, the aim of this study was to identify infected or free farm, and compare risk factors associated with PED infection in Japan. As a result, the present study revealed risk factors related to the spread of PEDV in Japan.

研究分野：獣疫学

キーワード：豚流行性下痢 不顕性感染 受動的サーベイランス 能動的サーベイランス 症例対照研究 リスク因子

1. 研究開始当初の背景

豚流行性下痢 (PED) は、PED ウイルス感染による豚の下痢を主徴とする急性感染症で、哺乳豚での死亡率は時に 100%に達する。米国では 2013 年 4 月から大規模な流行が続いており、これまでに 31 州で発生が確認されるなどいまだ収まる気配を見せておらず、むしろ深刻化している。同年 10 月には我が国で 7 年ぶりとなる発生が沖縄県で確認され、その後わずか 8 ヶ月で 38 道県に感染が拡大し、過去最悪の 37 万頭以上が死亡するなど被害が顕在化している (図 1)。PED の防疫措置には消毒などのウイルス侵入対策の徹底や、PED 発生農場から非発生農場へのウイルスの混入を防ぐために両農場間における動物の移動を自粛する等の対策が実施されている。しかしながら、いまだに PED ウイルスが感染拡大する要因は明らかになっておらず、発生農場数は増加の一途を辿っている。

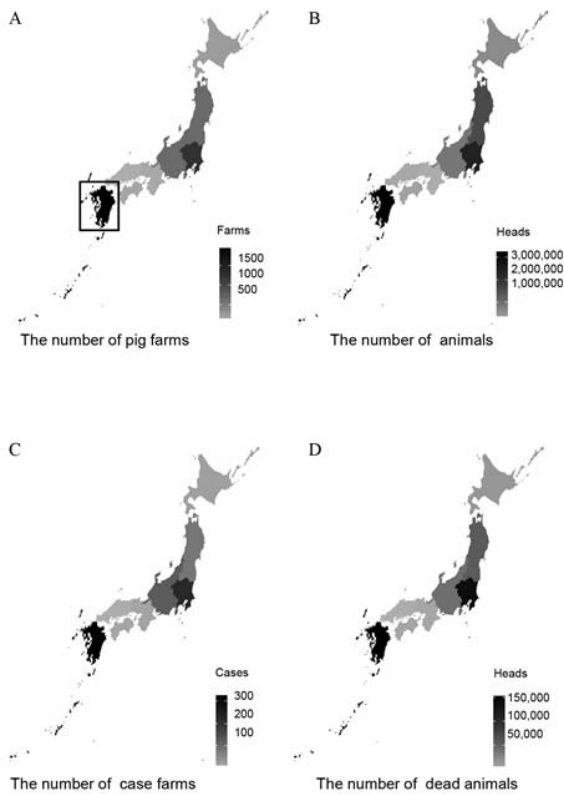


図 1. 全国の養豚農場数 (A) と飼養頭数 (B)。PED の発生農場数 (C) と発生頭数 (D)。

我が国や米国で認定されている PED 発生農場とは、豚が臨床症状を示し、PED の診断検査で陽性となった農場のことを示す。すなわち、症状を確認してから検査を依頼する現行の制度 (受動的サーベイランス) ではウイルスに感染した状態でも豚が症状を示さない農場、あるいは生産者が症状に気づかない農場は検査の対象にならず非発生農場として扱われる (表 1)。

	発生農場	非発生農場	
感染の有無	有	有	無
症状の有無	有	無	無
解説	感染農場。感染して症状がみられる豚が存在。	不顕性感染農場。感染しているが症状がみられない豚が存在。	非感染農場。感染している豚は存在しない。

表 1. 発生農場と感染農場の相違点

このことは動物の移動によって不顕性感染農場から非感染農場にウイルスが侵入する可能性を示唆している。これに対し、症状の有無に関わらず全ての調査対象農場から豚をランダムに抽出して検査する方法 (能動的サーベイランス) では、症状にとらわれず感染状態と非感染状態を識別することができる。感染農場と非感染農場を正確に把握できれば、動物の移動制限の徹底が可能になるだけでなく、両者を比較し相違点を明らかにすることでウイルスの侵入・感染拡大の原因 (リスク因子) を明らかにすることができる。また、PED ウイルス感染が猛威を振るう中、依然として感染を免れている農場も少なくない。このことは非感染農場に共通した感染を防ぐ要因 (防御因子) が存在する可能性がある。そこで本研究は、能動的サーベイランスを用いて感染農場と非感染農場を識別し、両者の相違点を多変量解析等の統計的手法で明らかにすることで PED の感染拡大要因を解明することを目的とした。

2. 研究の目的

(1) 症例対照研究を行うためには症例群と対照群を正確に分類することが必須である。そこで、宮崎県内の調査対象農場について能動的サーベイランスを実施し、感染農場と非感染農場を識別する。

(2) 症例群と対照群それぞれに対してアンケート調査を行い、候補因子に関わる両群の疫学情報を収集する。

(3) 症例対照研究で利用されている統計解析を行い、リスク因子および防御因子を同定する。

3. 研究の方法

(1) これまでの受動的サーベイランスのデータから、調査対象地域を宮崎県の A 地域と B 地域とした。

(2) 糞便へのウイルス排泄期間は短いため、糞便を用いた PCR による遺伝子検査の検出感度は満足できるものではない。そこで能動的サーベイランスでは肥育豚の血中抗体価を測定し感染の有無を決定する中和試験を採用した。また、ワクチンは母豚のみに接種す

るためワクチンによる抗体の影響は受けない。

(3) 感染の有無を調べるための標本サイズは現在の有病率から算出し、1農場あたり20頭とした。

(4) 検査に用いるサンプルはと畜場に出荷された肥育豚(約190日齢)の血液(血清)とし、食肉衛生検査所の協力を得てと畜場にて血液を採取した。

(5) アンケート調査によって症例群と対照群からリスク因子および防御因子に関連する疫学情報を収集した。質問票の内容は、これまでの疫学調査から候補因子として考えられるものを中心に、リスク因子および防御因子に関わる項目に関する質問を設定した。具体的には、農場規模や飼養衛生管理の方法、防疫対策の内容、農場の地理的条件、飼料の種類、農場を出入りする人や車両、堆肥の取扱い、野生動物の侵入の有無などである。

(6) 症例群と対照群の相違点を明らかにするために、アンケート調査で収集したデータについて様々な統計的手法を用い、多角的に解析した。まず、クロス集計法により収集したデータを分割し、独立性の検定を用いて変数間の関連性について解析を行った。次に、分散分析や多重比較により候補因子間の差異を検証した。さらに、回帰分析法により原因となる変数(説明変数)と結果となる変数(目的変数)の関係を定式化し予測した。また目的変数が2値データ(「はい」、「いいえ」etc.)に対してはロジスティック回帰分析を用いた。これらの解析により、感染拡大に関連するリスク因子や感染予防に関連する防御因子を定量的に評価した。

4. 研究成果

(1) 中和試験の結果、陽性を示した農場は発生農場で100%(16/16)、非発生農場で9.4%(6/64)であった(表2)。

	飼養形態	検査数	PED陽性数	PED陽性率(95%CI)
発生	一貫	7	7	100.0%(59.0-100.0) ^{a)}
	肥育	9	9	100.0%(66.4-100.0) ^{a)}
非発生	一貫	28	5	17.9%(6.1-36.9) ^{b)}
	肥育	36	1	2.8%(0.0-14.5) ^{b)}

表2. 発生農場と非発生農場におけるPED陽性率。異符号間に有意差あり(p<0.05)。

この結果から、両地域において非発生農場の中に不顕性感染農場が存在していることが

明らかとなった。発生農場については両地域ともすべての農場で陽性が認められた。感染農場における陽性を示した個体の割合は発生農場で平均63.7%、非発生農場で平均4.3%であった(表3)。

	飼養形態	検査数	PED陽性数	PED陽性率(95%CI)
発生	一貫	127	94	74.0%(65.5-81.4) ^{a)}
	肥育	206	118	57.3%(50.2-64.1) ^{b)}
非発生	一貫	538	47	8.74%(6.5-11.4) ^{c)}
	肥育	685	6	0.87%(0.3-1.9) ^{d)}

表3. 発生農場と非発生農場内における豚のPED陽性率。異符号間に有意差あり(p<0.05)。

このことは、PEDウイルスに感染した農場では症状の有無に関わらず、ウイルスが群内で伝播していることを意味している。また中和試験の抗体価は発生農場由来の感染豚が平均で4.3±6.97、非発生農場由来の感染豚が平均で2.5±1.00で、両群に有意な差は認められなかった。本研究では中和試験による血清学的な検査によって感染歴の有無を診断しており、ウイルス自体の存在を証明するものではない。そのため感染リスクを直接的に評価することは難しいが、抗体価の結果から、発生農場と不顕性感染農場の感染リスクはほぼ同等と考えられた。よって、感染農場と非感染農場を明確に識別することは、衛生管理上、非常に重要であると思われる。

(2) 症例対照研究の結果、様々なリスク因子が同定された。まず、PED陽性農場からの近接距離が有意に関連していた。このことから、近接に陽性農場があることにより、感染リスクが高まると考えられた。但し、長距離伝播では見られなかったことより、5km以上ではPED陽性農場の存在はリスク因子の可能性は低いと考えられた。次に、飼養規模が大きい農場では感染リスクが高くなった。大規模農場では、出荷や餌・資材の導入などが多くなるため、リスクが高まると考えられる。よって大規模農場では、近隣にPED伝播がみられた際は、バイオセキュリティレベルを上げることが重要であると考えられる。さらに、飼料運搬トラックの訪問回数がリスク因子として同定された。飼料運搬トラックは複数農場を経由するため、リスクが高まったと考えられた。このことは飼料運搬トラックだけでなく、飼料の紙袋表面などにもPEDウイル

スが付着していた可能性が考えられた。

本研究では、試料の採材をと畜場で実施した。と畜場で採材する大きな利点は、複数の農場の肥育豚が一か所に集められる点にある。これにより、一度に複数の農場の豚血液を短時間で入手することが可能となる。さらに、バイオセキュリティが厳重な農場では関係者を除いて場内へ入ることができないが、と畜場であればこの問題も解決される。このように、と畜場は家畜伝染病の発生を監視する上で非常に有用な場所であり、国内外において様々な家畜伝染病の監視プログラムに利用されている。今後は本研究の成果が、衛生管理対策の強化や疫学調査研究に活用されることが期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計3件)

- ① Haruya Toyomaki, Satoshi Sekiguchi, Yosuke Sasaki, Masuo Sueyoshi, Kohei Makita, Factors associated with farm-level infection of porcine epidemic diarrhea during the early phase of the epidemic in Japan in 2013 and 2014, Preventive Veterinary Medicine, 査読有, 150, 2018, 77-85
DOI: 10.1016/j.prevetmed.2017.12.008
- ② Yosuke Sasaki, Haruya Toyomaki, Satoshi Sekiguchi, Masuo Sueyoshi, Kohei Makita, Satoshi, Otake, Andres Perez, Julio Alvarez, Spatial dynamics of porcine epidemic diarrhea (PED) spread in the southern Kyushu, Japan, Preventive Veterinary Medicine, 査読有, 144, 2017, 81-88
DOI: 10.1016/j.prevetmed.2017.05.025
- ③ Yosuke Sasaki, Julio Alvarez, Satoshi Sekiguchi, Masuo Sueyoshi, Satoshi Otake, Andres Perez, Epidemiological factors associated to spread of porcine epidemic diarrhea in Japan. Preventive Veterinary Medicine, 査読有, 123, 2016, 161-167
DOI: 10.1016/j.prevetmed.2015.11.002

[学会発表] (計3件)

- ① Sekiguchi S, Koike N, Hata K, Marumoto N, Sasaki Y, Sueyoshi M. “Is slaughterhouse truck relevant to the mechanical transmission of PED virus?” The 7th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases (7th ISERPD) 2015年6月 京都

- ② Koike N, Hata K, Marumoto N, Watanabe S, Norimine J, Sekiguchi S. “Detection of subclinical infection with PED virus using active serosurvey at slaughterhouse” The 7th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases (7th ISERPD) 2015年6月 京都
- ③ Sekiguchi S, Koike N, Hata K, Marumoto N, Watanabe S, Sasaki Y, Norimine J, Sueyoshi M. “Implications of subclinical infection with PED virus for preventive measures.” 14th International Symposia on Veterinary Epidemiology and Economics (14th ISVEE) 2015年11月 メキシコ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関口 敏 (SEKIGUCHI, Satoshi)
宮崎大学農学部獣医学科・准教授
研究者番号: 10462780

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

小池 直生 (KOIKE, Naoki)
北海道中央農業共済組合

MAI, Thi Ngan
宮崎大学医学獣医学総合研究科

佐々木 羊介 (SASAKI, Yosuke)
宮崎大学農学部

有川 玄樹 (ARIKAWA, Genki)
宮崎県食肉衛生検査所

久保 明子 (KUBO, Meiko)
宮崎県食肉衛生検査所

白井 葵 (SHIRAI, Mamoru)
宮崎県食肉衛生検査所

丸本 信之 (MARUMOTO, Nobuyuki)
宮崎県家畜保健衛生所

畑 和宏 (HATA, Kazuhiro)
宮崎県家畜保健衛生所

乗峰 潤三 (NORIMINE, Junzo)
宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター