沖縄県における伝染性胃腸炎の発生

家畜衛生試験場

○鈴木 萌美 石井 圭子 茂野 悟

伝染性胃腸炎(TGE)は、TGEウイルス(TGEV)感染 による嘔吐と激しい下痢を主徴とする豚の急性伝染病 で、届出伝染病に指定されている。幅広い日齢の豚が TGEウイルスに感染するが、発病、致死率は幼齢豚ほ ど高く、時に100%に達する。TGEと同じアルファコロナ ウイルス属である豚流行性下痢(PED)とは臨床的に類 似しているため、類症鑑別として重要である。国内のT GE発生状況は、1990年代には1万頭を超えていたが、 近年その発生は減少している。TGE発生減少の要因 のひとつとして、TGEVの変異株である豚呼吸器コロナ ウイルス(PRCV)があげられる。PRCVに感染した豚は 不顕性感染か軽度の呼吸器症状を示すのみだが、PR CVに対する抗体だけでなく、TGEVに対しても同程度 の中和抗体を産生することが知られている。PRCV常 在の欧州ではTGE発生が激減しており、日本でもPRC Vの浸潤を確認されているが、沖縄県内の浸潤状況に ついては調査されていなかった。今回、沖縄県で33年 ぶりにTGEが発生したので、その概要とTGEV/PRCV 抗体検査結果について報告する。

【発生概要】

発生農場は、沖縄本島南部地域母豚80頭規模繁殖農場で、2016年6月にPEDが発生したが、この時点でTGE遺伝子検査は陰性であった。その後、消毒、淘汰、堆肥処理、出荷時の立会等の防疫対策を実施し、PED防疫対策マニュアルに基づき、8月にPED非発生農場へ復帰していた。ワクチン接種状況は、2014年にはPED/TGE混合生ワクチンを接種していたが、2015年は接種していなかった。2016年はPEDの発生を受けて7月からPED/TGEの混合生ワクチンの接種を開始したが、1回目はPED/TGE混合生ワクチンを分娩約5週間前、2回目はPED単味生ワクチンを分娩約2週間前という接種方法であったため、TGE発生後は2回目をPED/TGE混合生ワクチンに変更するよう指導している。また、10月からはピッグキーパー(TGE鶏卵抗体)を分娩後母豚、哺乳豚に飼料添加していた。(図1)

農場概要

【農場】

本島南部地域 母豚80頭規模 繁殖農場 2016年6月 PED発生(TGE検査陰性)

消毒、淘汰、堆肥処理、出荷時の立会等実施

→ 8月 PED非発生農場へ復帰

【ワクチン接種状況】

2014年 PED/TGE混合生

2015年 未接種

2016年 7/11~ PED/TGE混合生 接種開始

1回目(混合生):分娩約5週間前 2回目(PED生):分娩約2週間前

※TGE発生後 2回目をPED/TGE混合生に変更

10/3~ ビッグキーバー(TGE鶏卵抗体) 飼料添加 0.3%

対象:分娩前後母豚、哺乳豚

図1 発生農場概要

2016年10月1日、隣接する豚房の哺乳豚2腹で下痢、母豚の食欲低下がみられた。10月3日には哺乳豚19頭が衰弱死し、10月4日までに自主淘汰含め哺乳豚計25頭が死亡した。10月5日に家保が立ち入りしたところ、症状は分娩豚房のみで、一部母豚で食欲低下、哺乳豚で黄色水様性下痢と1豚房で嘔吐物が確認されたため、これらのうち、下痢を呈す4腹分の哺乳豚とその母豚4頭について病性鑑定を実施した。(写真1)



写真1 農場立ち入り時の症状

【材料と方法】

4腹分の哺乳豚(1腹各2頭)と、その母豚4頭の便スワブを用いた。4腹のうち1腹分の哺乳豚2頭を解剖に供した。

1)遺伝子検査: 便スワブ、解剖した哺乳豚の腸管材料を用いてTGEV、PEDV、PRCVのPCRを実施。2) 一般細菌検査、ロタウイルス、アデノウイルス抗原検索を実施。3) 病理学的検査: 腸管材料を用いてHE染色、免疫染色を実施。4) ウイルス分離: トリプシン処理した腸管材料を用いて図2に記載の方法で実施。

5) TGE抗体検査:発生農場における2016年10月TGE 発生時Pre/Post血清、TGE発生前2012、2015、2016 年6月の保存血清を用いて実施。県内浸潤状況調査 として、余剰血清50戸370検体を用いて実施。(図2)

材料と方法

材料:4腹分の哺乳豚(各2頭)、母豚4頭 便スワブ └── 1腹分の哺乳豚2頭→解剖



- 1) 遺伝子検査: 便スワブ、腸管材料(空腸、回腸、結腸) TGEV、PEDV、PRCV
- 2)一般細菌検査、ロタウイルス、アデノウイルス抗原検索
- 3)病理学的検査:腸管材料 HE染色、免疫染色
- 4)ウイルス分離: 腸管材料(10μg/ml Trypsin処理)CPK細胞、Trypsin添加5~7日間静地培養、3~5代継代
- 5) TGEV抗体検査
- •発生農場 Pre/Post血清(2016年10月:TGE発生時) TGE発生前保存血清(2012、2015、2016年6月)
- •県内浸潤状況調査(余剰血清 50戸 370検体)

図2 材料と方法

【結果·考察】

解剖した哺乳豚2頭に共通して、黄白色水様性下 痢、未消化凝固乳滞留、小腸壁の非薄化が認められ た。(写真2)

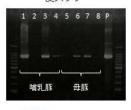


写真 2 解剖哺乳豚

- 1)遺伝子検査: 便スワブ、解剖哺乳豚の腸管からTGE 特異遺伝子を検出。PED、PRCVについては陰性。
- 2) 一般細菌検査では非溶血性の大腸菌が検出された。ロタウイルス、アデノウイルス抗原検索は陰性。 (図3)

結果1) 遺伝子検査(TGEV 886bp)

便スワブ



解剖哺乳豚2頭



→TGEV特異遺伝子を検出。PEDV、PRCV陰性

結果2)一般細菌検査:非溶血性大腸菌のみ ロタウイルス、アデノウイルス抗原検索:陰性

図3 遺伝子検査、一般細菌検査、 ロタウイルス、アデノウイルス抗原検査結果

3)病理学的検査:小腸で絨毛の萎縮がみられ、絨毛と 陰窩の深さは1:1。絨毛先端部では上皮細胞の空胞 変性、扁平化が認められた。抗TGEウイルス抗体を用 いた免疫染色で陽性となったことから、10月11日にTG Eと確定診断した。(図4)

結果3)病理学的検査

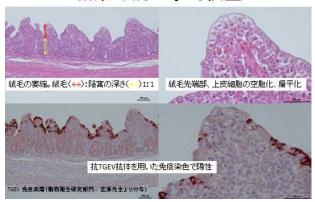


図 4 病理学的検査結果

4)ウイルス分離:腸管材料の3代目接種後CPK細胞で 明瞭なCPEが認められ、培養上清の遺伝子検査でTG EV特異遺伝子陽性となった。また、4代目接種後CPK 細胞を用いたIFAで陽性を確認。(図5)

結果4)ウイルス分離(腸管材料)

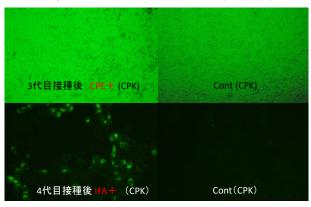


図5 ウイルス分離結果

5) 抗体検査結果: 発生農場における抗体検査結果では、No.1の哺乳豚の抗体価は512倍と移行抗体も十分にあり、初乳は摂取できていたと考えられた。母豚についても概ねPre/Postで抗体価の上昇が認められたが、ワクチン接種の影響からか、Pre血清の時点から抗体価が高かったため、発生農場のTGE発生前保存血清を用いて抗体検査を実施した。(表1)

結果5) 抗体検査(発生農場 Pre/Post)

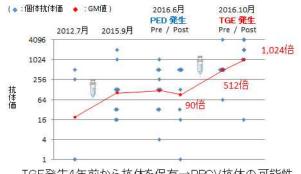
_							
No.	区分/ 種別	発症日	症状	(POR)	Pre(10/5)	Post (10/18)	vao歴
1	哺乳豚(解剖①)	10/2	黄色水様下痢、嘔吐物あり	+	512	NT	
	哺乳豚(解剖②)				512		
2	哺乳豚	10/1	下痢、度子16頭中14頭死亡	-	NT		-
3		10/5	下痢(勿-4状軟便)、削瘦	+			
4		10/5	黄色水様下痢	+			
5	哺乳豚No.1 母豚		なし	-	512	2048	8/11 (PED/TGE混合生) 1回接種のみ
6	哺乳豚No.2 母豚	10/1	食欲修下、下痢(10/5回復済)	+	4096≦	2048	
7	哺乳豚No.3 母豚		軟便	+	512	1024	
8	哺乳豚Na.4 母豚	10/2	食欲修下	-	512	1024	
9	母豚	10/5	10/5~食欲修下	NT	512	4096≦	1回目9/12(混合生) 2回目9/26(PED単味)
10			\$L		512	4096≦	
11			ÆL		64	16	

10月TGE発生時GM値 Pre: 512倍 /Post: 1,024倍

表 1 抗体検査結果(発生時 Pre/Post 血清)

TGE発生前2012年7月、2015年9月、2016年6月、2016年10月の抗体検査を行ったところ、TGE発生4年前から抗体を保有しており、2014年のPED/TGE混合生ワクチン接種後、2015年9月から2016年6月までほぼ横ばいであった。2016年6月PED発生時点でのTGE遺伝子検査は陰性で、抗体上昇も認められないことから農場へのTGEV侵入時期は6月以降と考えられた。発生4年前の2012年から抗体陽性であることから、PRCV抗体の可能性も考えられたため、県内抗体保有状況調査を実施することにした。(図6)

結果5)抗体検査 発生農場 2012.7月~2016.10月血清



TGE発生4年前から抗体を保有→PRCV抗体の可能性

図 6 抗体検査結果(過去保存血清)

沖縄本島北部、中南部、八重山地域母豚のH27年~28年度保存血清 延べ50戸370検体を用いて抗体検査を行ったところ、抗体陽性は37戸74%であり、個体毎の抗体陽性率は370検体中203検体、54.9%であった。抗体陽性農場16戸のGM値を農場毎にプロットしたところ、農場によってばらつきがあった。H27年度と28年度とで比較したところ、抗体価に大きな差は認められなかった。国内TGEV中和抗体の大半はPRCV感染に起因するという報告もあり、これらの農場はいずれも、TGE臨床症状、ワクチン接種歴のない農場であることから、PRCV感染による中和抗体の可能性が高いと推察された。(図7)

結果5)抗体検査(県内浸潤状況)



いずれも、TGE臨床症状、ワクチン接種歴のない農場 →PRCV感染による中和抗体の可能性

※国内TGEV中和抗体の大半はPRCV感染に起因 (2013年宮崎綾子らの報告)

図7 抗体検査結果(浸潤状況)

沖縄県で33年ぶりにTGEが発生し、発生農場へのTGEV侵入時期は6月以降の可能性が高いと推察されたが、侵入経路については不明であった。県内TGEV/PRCV抗体陽性率は54.9%(GM値1.1~549倍)と、県内でPRCVが浸潤している可能性が示唆された。抗体陰性農場もみられたことから、今後も引き続き県内全域でのTGEV/PRCV抗体保有状況調査を行い浸潤状況の確認を行うとともに、注意喚起および飼養衛生管理基準の遵守によるウイルスの伝播・侵入防止に努める必要があると考える。(図8)

まとめ



- ・沖縄県で33年ぶりにTGEが発生
- 発生農場へのTGEV侵入時期は6月以降の可能性が 高いと推察
- 侵入経路については不明
- TGEV/PRCV抗体陽性率は54.9%(GM値1.1~549倍) 県内でPRCVが浸潤している可能性
- ・ 今後、全域でのTGEV/PRCV抗体保有状況調査を行い 浸潤状況の確認を行うとともに、 注意喚起および飼養衛生管理基準の遵守による ウイルスの伝播・侵入防止に努める必要がある

図8 まとめ

【謝辞】

TGE診断にあたり、免疫血清を分与していただいた動物衛生研究部門 芝原友幸先生に深謝いたします。

【参考文献】

宮崎綾子ら.

国内で検出される伝染性胃腸炎ウイルス中和抗体の 大半は豚呼吸器コロナウイルス感染に起因する 畜産技術 (697), 2-6, 2013-06