

「豚流行性下痢（PED）の疫学調査  
に係る中間取りまとめ」  
に関する補完報告

平成29年6月23日  
農 林 水 産 省

# 目 次

1	はじめに	1
2	ウイルスの性状分析	
(1)	ウイルスの遺伝子学的性状分析	2
(2)	ウイルスの病原性解析	5
(3)	考察	6
3	ケースコントロールスタディ	
(1)	背景及び目的	7
(2)	調査の対象と方法	7
(3)	結果	9
(4)	考察	11
4	生存分析	
(1)	背景及び目的	12
(2)	調査の対象と方法	12
(3)	結果	13
(4)	考察	14
5	新たな情報や科学的知見を踏まえたシナリオの再検証	
(1)	豚腸管コロナウイルスの米国への侵入：主要因調査レポート (USDA)	15
(2)	我が国へのPEDウイルス侵入経路の推測	15
(3)	考察	15
6	おわりに	
(1)	総合的考察	16
(2)	発生予防とまん延防止対策	17

## 1 はじめに

1 2013年10月、豚流行性下痢（以下、「PED」という。）の発生が確認され、全国各地に発生が拡大した。

2 農林水産省では、発生道県と連携し、発生が確認された農場に対して、家畜防疫員が立入調査を行い、家畜、人、車両及び物の出入り、ワクチン接種履歴、給与飼料、農場関係者の渡航歴、外国人研修生の有無、野生動物の目撃状況等の疫学情報の収集・分析を進め、海外からの侵入要因及び国内における感染拡大要因の究明を行った。その結果、2014年10月24日に「PEDの疫学調査に係る中間取りまとめ」を公表した（以下のURL参照）。

<http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/ped/ped.html>

疫学調査の結果、具体的なウイルスの侵入経路の特定には至らなかったが、国内での感染拡大要因については、生体豚、車両、物又は人の移動によって感染が拡大した可能性が示唆された。

3 本報告では、中間取りまとめを補完するため、

- ① ウイルスの全遺伝子配列の解析・分析を主としたウイルスの性状分析
- ② 発生農場と非発生農場のケースコントロールスタディ（※）
- ③ 発生農場における生存分析（※※）
- ④ 新たな情報や科学的知見を踏まえたシナリオの再検証の結果を報告する。

※ ケースコントロールスタディ（症例対照研究）：

ある特定の疾病が発生した農家（症例）と発生がなかった農家（対照）について、飼養環境や飼育管理等についての調査を行い、両者でこれらの要因に違いがあるかを分析することで、疾病の発生と関連した可能性がある要因を明らかにする研究方法

※※ 生存分析：

ある事象（例：疾病の発生、回復までの期間等）が起こるまでの時間と事象の発生に着目した分析手法。事象が発生するまでの時間に影響を及ぼす要因を解析する。

## 2 ウイルスの性状分析

### (1) ウイルスの遺伝子学的性状分析

- ① P E D の疫学調査に係る中間取りまとめにおいては、2013 年～2014 年に日本国内で分離された 26 株について S 遺伝子部分長の解析を行い、当該遺伝子情報を、GenBank (国際的な遺伝子データベース) に登録されている過去に国内外で確認された P E D ウイルスの遺伝子情報と比較し、系統樹解析を行った結果を報告した。その結果、2013 年～2014 年にかけて国内で確認されたウイルス株には、大きく分けて 2 種類のウイルス株 (北米型及び INDELs 型) が存在し、これら 2 種類のウイルス株は、いずれも 1980 年代及び 1990 年代に国内で確認されたウイルス株と遺伝的に異なり、近年、アジア及び北米で確認されているウイルス株と類似していたことが明らかとなった。これらの結果から、2013 年 4 月以降に、海外から少なくとも 2 種類のウイルスが侵入した可能性が高いと考えられた。
- ② その後、2013 年～2014 年に日本国内で分離された 38 株 (①で解析した 26 株を含む。) について、全遺伝子配列を解析した結果、INDELs 型を含む北米型と同じグループに含まれることが分かった。さらに、2013 年～2014 年に収集された国内分離株と海外登録株を比較したところ、国内分離株は、米国に加えて韓国、メキシコ等の海外分離株と、高い相同性を示した (98.65～99.99%)。これらの結果は、2013 年～2014 年に日本で流行したウイルス株が、2012 年に中国で確認された AH2012 株よりも、2013 年～2014 年に米国、韓国等で流行したウイルス株と、より密接に関連があることを示している。また、米国株に類似した株が、カナダ、メキシコ、台湾、韓国、ドイツで確認されたことを考慮すると、2013 年以降の日本の P E D 発生は、同じ時期に各国で流行していた株と共通の起源を持つウイルスによって発生したと推測される。(図 1)
- ③ また、2013 年～2014 年に日本国内で分離された 38 株のうち大規模な欠損が認められた 2 株を除く 36 株と、同じ時期に米国を始めとする海外で分離された 83 株の全ゲノム情報を比較したところ、これらの株の一部にのみ共通する特異的な塩基配列が 8 カ所認められた。これらの 8 カ所の塩基配列は、これらを保有する株間では非常に類似しており、これらの塩基配列の保有株は、系統樹解析では強い類縁関係が認められない場合であっても、共通の祖先株に由来しているものと考えられた。また、これらの塩基配列のうち、6 つは 2 つ以上の国から分離された株で共有されており、5 つは日本分離株からも確認された。これらの結果は、2013 年からの P E D の世界的な流行では、日本を含めた発生国間で密接な関係があり、海外から日本への侵入は複数回にわたって起こったことを示している。
- ④ 国内における同一農場内での再発例について、分離株の全遺伝子配列を比較分析したところ、同一農場内での再発例から分離されたウイルス株では、当該農場で以前に分離されたウイルス株との間に、他の農場から分離されたウイルス株には認められない変異が認められた。このことから、この農場における再発は、初発時と異なるウイルス株の侵入によるものではなく、農場内に残存していたウイルスによる再発であることが推察された。(図 2)
- ⑤ 2014 年 10 月に発生した鳥取県 2 例目から分離されたウイルス株について、S 遺伝子全長を解析した結果、それまでに国内で検出されたウイルス株に比べ、S 1 領域で 582 塩基が欠損していた。また、本ウイルス株の全遺伝子配列を解析したところ、北米 Clade I に分類され、S 1 領域以外には北米分離株との間で明確な相違は認められず、近年の流行株と遺伝的に近縁であることが分かった。このため、当該株は、同時期の他の流行株と全く異なるウイルス株ではなく、野外において同時期

の流行株から自然発生的に派生した可能性が考えられた。

※ なお、今回の分析結果は、日本で確認されたウイルスと GenBank に登録されている過去の発生ウイルスの配列との比較によるものであり、限られた情報源の中で株間の相同性を比較分析しているものである。したがって、ある国のウイルス株と塩基配列の相同性が極めて近いからといって、必ずしもその国から侵入したと推定できるわけではない。

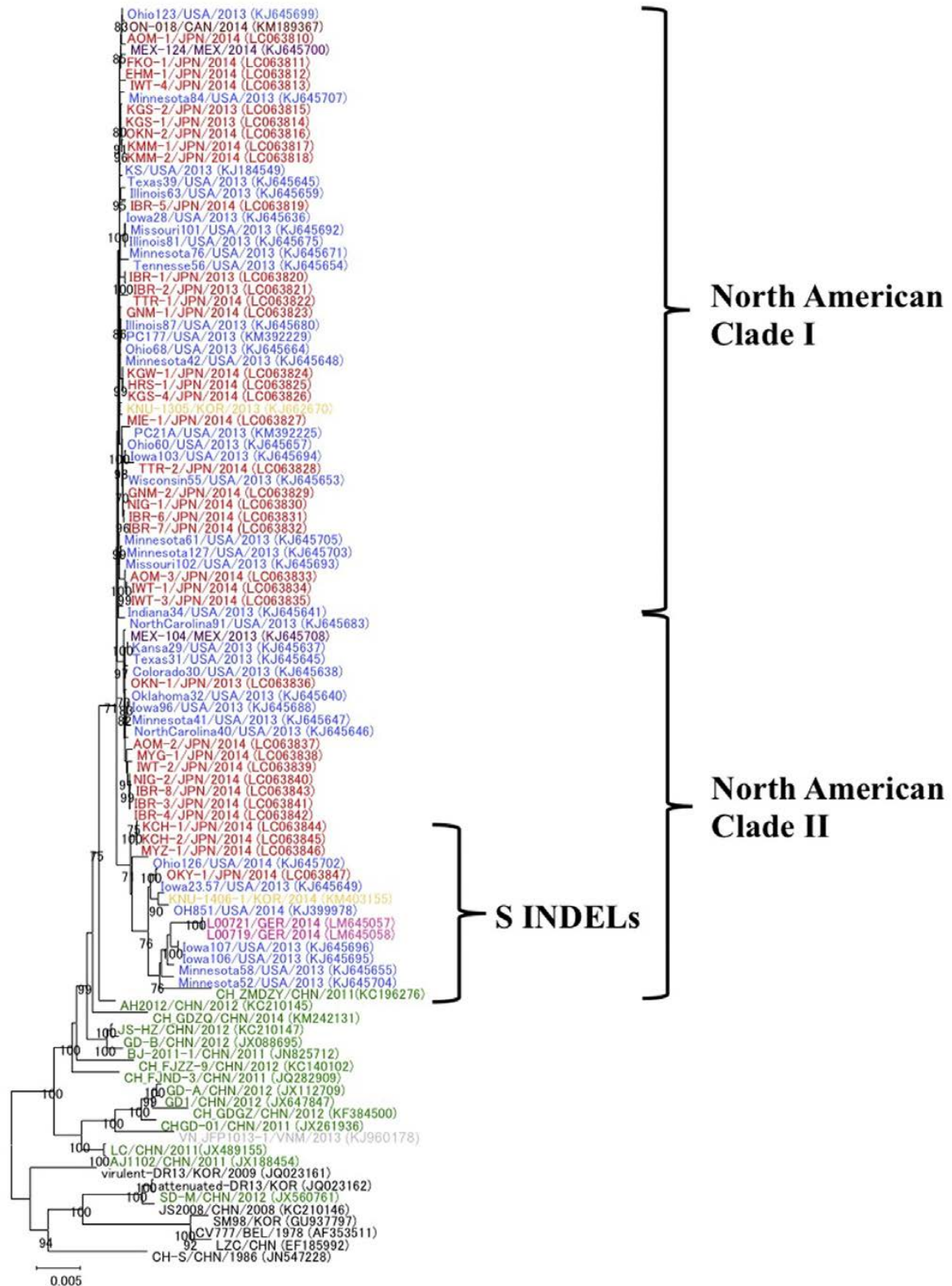


図1 PEDV全ゲノム配列に基づく分子系統樹

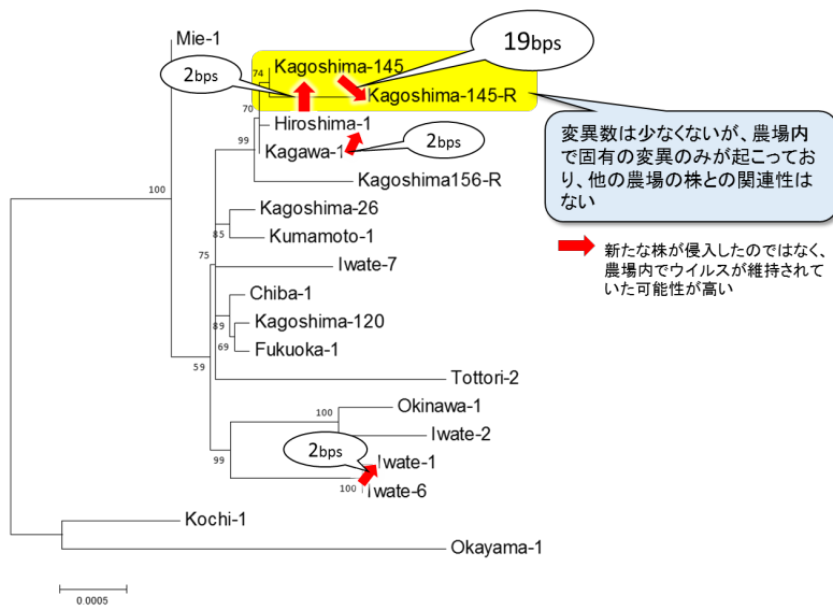


図2 初発生から6か月後の2014年10月に分離された株との比較  
 置換された塩基数は少ないが、他の分離株には見られない変異が起こっていることから、Kagoshima-145-R株はKagoshima-145株から派生したと考えられる。

## (2) ウイルスの病原性解析

### ① ウイルスの体内分布

感染豚由来の臓器等が感染源となるリスクを評価するため、ウイルス接種後、経時的に肥育豚体内でのウイルスの分布を解析した。

4 か月齢の豚 16 頭にウイルスを  $10^{1.2}$ - $10^{3.2}$ TCID<sub>50</sub>/dose (※) で経口接種した。ウイルス接種後、経時的に解剖し、消化管（胃、十二指腸、空腸上部、空腸中部、空腸下部、回腸、盲腸、結腸、直腸）、呼吸器（鼻腔、気管、肺）、リンパ系組織（扁桃、脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節、鼠径リンパ節）、その他組織（心臓、肝臓、腎臓、筋肉）を採取した。諸臓器におけるウイルス分布を確認するため、免疫組織化学的検査によるウイルス抗原の探索及びリアルタイム RT-PCR によるウイルス遺伝子の検出を実施した。

(※) TCID<sub>50</sub> : 50% Tissue Culture Infectious Dose (50%組織培養感染価)

接種豚は接種後 2～4 日目に下痢や軟便、食欲不振を呈し、その後 1～5 日間で症状は消失した。糞便中ウイルス遺伝子量は、接種後 2～4 日に排せつ量がピークに達し、その後、症状消失に伴い減少傾向に転じ、接種後最長 28 日まで検出された。血清中ウイルス遺伝子は接種後 1～5 日に 16 頭中 8 頭で検出され、その量は同時期の糞便中の排せつ量の 1/1,000～1/1,000,000 であった。接種後 7 日以降は検出されなかった。

接種後 7 日の豚では、免疫組織化学的検査では、1 頭の豚の空腸と回腸の粘膜上皮細胞にウイルス抗原が確認された。一方、ウイルス遺伝子は、腸間膜リンパ節を含む消化管の全域、特に小腸でウイルス遺伝子 ( $10^{6.3}$ - $10^{11.3}$ GE/g (※※)) が顕著に検出された。また、感染急性期（発症 4 日目）の豚では、ウイルス抗原は確認されなかったが、ウイルス遺伝子は、消化管及び腸間膜リンパ節以外に鼻腔粘膜、気管、脾臓、鼠径リンパ節、心臓、肝臓、腎臓及び胸腺からも検出された。

免疫組織化学的検査では、接種後 7 日の発症極期の豚 1 頭の空腸と回腸の粘膜上皮細胞にウイルス抗原が確認された。

(※※) GE : genome equivalents (ゲノム当量)

### ② 感染の成立に必要なウイルス量の推定及びウイルスの排せつと抗体応答

感染の成立に必要なウイルス量を推定するとともに、感染あるいは発症した豚のウイルス排せつ量と排せつ期間を分析するため、肥育豚に既知の感染量のウイルスを接種し、感染豚のウイルス排せつ量を経時的に測定した。

4～5 か月齢の去勢雄豚を 2 頭ずつ 3 群に分け、1 群目には  $10^{3.2}$ TCID<sub>50</sub> ( $10^{6.4}$ GE)/dose、2 群目には  $10^{2.2}$ TCID<sub>50</sub> ( $10^{5.4}$ GE)/dose、3 群目には  $10^{1.2}$ TCID<sub>50</sub> ( $10^{4.4}$ GE)/dose のウイルスをそれぞれ経口接種した。接種後、経時的に糞便と血清を採取し、それぞれのウイルス遺伝子量及び血清の中和抗体価の測定を行った。

1 群目と 2 群目の豚では接種後 3 日目より下痢と食欲不振が観察され、感染が成立した。一方、3 群目の豚では 2 頭とも臨床症状は確認されず、接種後 3 週目までに抗体陽転も認められなかったことから、 $10^{1.2}$ TCID<sub>50</sub>/dose では感染が成立しなかった。このことから、4～5 か月齢における感染成立に必要な最小ウイルス量は  $10^{1.2}$ ～ $10^{2.2}$ TCID<sub>50</sub>/dose と推定された。

1 群目と 2 群目の豚では、接種後 3～5 日目において、発症と共に糞便中のウイルス遺伝子量はピークに達した。その後、症状の消失とともに糞便中ウイルス遺伝子量は低下したものの、接種後最長 4 週までウイルス遺伝子が検出された。

血清中において、ウイルス遺伝子は感染豚 4 頭中 3 頭において、接種後 3 日目か

ら5日目にかけての1～2日間のみと、ごく一過性に検出された。血清1mlあたりのウイルス遺伝子量は、糞便と比較すると約1/10,000～1/1,000,000であった。

血清中和抗体価は発症豚4頭（1群目、2群目）において接種後7日目より検出されはじめ、接種後1～2週目にピークとなる128倍に達した。その後、1群目の2頭では接種後84日目（接種後12週後）でも抗体価32倍以上が維持されていた。

### （3）考察

PEDは従来、哺乳豚の下痢・死亡が特徴であり、主に哺乳豚の下痢便に含まれるウイルスによって感染拡大すると考えられてきた。今回の感染実験の結果は、過去の知見（※）と大きな乖離はなかったが、2013年の流行株は肥育豚にも下痢を引き起こし、下痢消失後も長期間（感染後最長28日目まで）糞便中にウイルス遺伝子が検出されることがあらためて確認された。このことは、感染した肥育豚の糞便も重要な感染源であることを示している。また、今回明らかとなった最小有効感染量と血清中で確認されたウイルス遺伝子量及び期間を考慮すると、血液によって感染が成立する可能性は低いと考えられる。

#### ※過去の研究結果

- ・潜伏期間は1～4日間と推定。感染期間は6～35日間。（豚流行性下痢ウイルス感染に関するOIEテクニカルファクトシート）
- ・感染実験（複数頭の腸内容のプール乳剤を経口・経鼻で接種）において、接種後24時間ではウイルス排出はなく、48時間以降からみられた。接種5、6日後がウイルス排出のピークで、多くの個体が接種21日後までにウイルス排出がなくなるが、一部個体では継続する。（PEDV Research Updates 2013, #13-228:Kansas City University）
- ・実験的には発症まで約36時間、非感染群の自然感染では4～5日、ウイルス排出は7～9日間続く。（Porcine Epidemic Diarrhea, Diagnosis, and Elimination, Jerome 0 et al. 2013. 5. 29）
- ・4週齢の豚5頭を用いて行った感染試験において、接種後3～7日目に血清中に微量のウイルス遺伝子が検出された。（Dr. Dick Hesse ら、AASV Research Updates 2013, #13-228）



### 3 ケースコントロールスタディ

#### (1) 背景及び目的

発生に関わったリスク要因を調べる疫学手法の一つに、ケースコントロールスタディ（症例対照研究）と呼ばれるものがある。本手法では、調査の対象を疾病の発生が確認された症例（ケース）群と発生が確認されなかった対照（コントロール）群の2群に分けて、発生と関連が疑われる要因への暴露状況を比較分析することにより、リスク要因（発生リスクを上げる可能性がある要因）あるいは防御要因（発生リスクを下げる可能性がある要因）を分析する。今回、本手法を用いて、2013年から2014年のPED発生時においてPED発生農場と非発生農場での飼養衛生管理等を比較することにより、農場での発生リスク要因及び防御要因を分析した。

今回の分析では、養豚場数が多く、発生時に被害が甚大であった鹿児島県及び宮崎県内の養豚場を対象に実施した。

#### (2) 調査の対象と方法

##### ① 調査対象農場

調査対象地域は鹿児島県と宮崎県全域とした。調査対象農場の選定には、両県庁から匿名化処理して提供された全養豚場（鹿児島県709戸、宮崎県506戸）のデータを用いた。データは、鹿児島県は2014年6月時点、宮崎県は2014年2月時点の農場所在地市町村名、経営形態（一貫経営、肥育経営、繁殖経営）及び飼養頭数、2013年12月3日～2014年7月24日の発生情報、RT-PCRを用いた診断に基づく発生日（宮崎県はPED診断確定日、鹿児島県は診断からさかのぼり農場で最初に発生が見られた日）から構成される。2014年7月24日時点でPEDの発生が確認された農場を発生農場、それ以外を非発生農場とした。

農場規模の分布から、経営形態ごとに分類方法を定め、小、中、大規模に分類した。繁殖経営農場は母豚頭数を基準に100頭までを小規模、101頭から300頭までを中規模、301頭以上を大規模農場とした。一貫経営農場と肥育経営農場は飼養頭数の総数が1,000頭までを小規模、1,001頭から3,000頭までを中規模、3,001頭以上を大規模農場とした。

鹿児島県の発生農場は169戸（一貫経営84戸、肥育経営49戸、繁殖経営36戸）、宮崎県の発生農場は81戸（一貫経営58戸、肥育経営16戸、繁殖経営7戸）であった。県、経営形態、農場規模ごとに発生農場と非発生農場が同数になるようにマッチングするため、非発生農場を無作為に抽出し、合計で鹿児島県338戸、宮崎県162戸を調査対象とした。

##### ② 調査内容

調査対象農場に対して、農場経営者や農場の情報、飼養衛生管理基準（家畜伝染病予防法施行規則（昭和26年5月31日農林省令第35号）別表第2）の遵守及び農場の防疫方法に関する調査を実施した。

郵送による質問票調査を行い、2014年10月に鹿児島県344戸（農場情報に変更があり再度マッチングしたため、抽出農場数が増加）、宮崎県162戸へ送付し、2014年12月まで回収作業を行った。発生農場78戸（鹿児島県50戸、宮崎県28戸）、非発生農場94戸（鹿児島県63戸、宮崎県31戸）から回答を得た。質問票の回収率は鹿児島県で33%(113/344)、宮崎県で36%(59/162)、両県合わせて34%(172/506)であった。このうち、非発生農場3戸（鹿児島県1戸、宮崎県2戸）は、回答方法に誤りがあったためデータから除いた。

質問票の回答は、Microsoft®Accessでデータベース化した。表1に質問票の項目を示す。

表 1 質問票の項目

区分	項目
経営者の属性	年齢、性別、就農年数
農場情報	経営形態、豚の種類、農場所在地、飼養頭数、農業従事者数、都市度、立地
P E D V の感染	最初に発生した豚舎の種類、他の発生農場との疫学的関連
飼料	食品廃棄物由来のリサイクル飼料の使用（加熱又は非加熱）、人工乳の使用と製品名
衛生管理	SPF の状態、過去 5 年以内の疾病歴、コンサルタントの導入、専属獣医師の固定
運搬業者	豚の出荷・導入及び死亡豚・排せつ物の廃棄に係る運搬業者の利用、農場における運転手による手伝いの有無
豚の導入	1 か月あたりの豚の導入回数
豚の出荷	1 か月あたりの豚の出荷回数、1 日 2 回以上の豚の運搬、P E D 流行中に使用していたと畜場名
豚の排せつ物	共同堆肥施設の使用、排せつ物運搬の委託、1 日 2 回以上運搬する際の消毒方法
死亡豚の保存	死亡豚の保存場所、野生動物からの防止状況
来訪者の入場	畜産関係者及び非畜産関係者の来訪頻度
繁殖	導入精液の使用、運搬方法、外装容器の消毒
P E D ワクチン	P E D ワクチンの使用、ワクチンの接種対象、ワクチンの接種回数、異なる製薬会社ワクチンの使用
飼養衛生管理基準の遵守	農場への立入り制限（3 項目：衛生管理区域の設定、看板の設置等の部外者の立入り制限、他の畜産関係施設への立入者又は海外渡航者の立入制限） 媒介物による病原体の持込み防止（6 項目：衛生管理区域に入場する際の車両の消毒、入場者の手指・靴の消毒、使用物品の消毒、衛生管理区域専用の衣服の設置、海外で使用した衣服等の持込制限、リサイクル飼料の加熱等の適切な処理） 野生動物からの感染防止（3 項目：給餌施設・給水設備への野生動物の排せつ物の混入防止、ねずみ・害虫の駆除、飲水に適した水の給与） 農場内の感染拡大防止（4 項目：家畜の体液が付着した物品の交換・消毒、空になった畜舎・畜房の清掃及び消毒、密飼いの防止、導入家畜の隔離） 準備の維持（7 項目と大規模農場への追加 2 項目：家畜防疫に関する最新情報の把握、特定症状確認時の家畜保健衛生所への早期通報、家畜の異状時の獣医師への早期連絡、家畜出荷時の健康観察、埋却地等の確保、感染ルートの早期特定のための記帳、毎日の家畜の健康観察） 実行が難しい飼養衛生管理基準の項目 飼養衛生管理基準の実行が困難な理由
防疫対策の実施	踏込消毒槽の設置と使用、消毒前の靴の水洗、飼料袋・パレットの消毒、経営者・農場従業員・来訪者の衣服・靴の消毒、タイヤ・タイヤハウス・車両全体・荷台・運転席のマットの消毒、車両の駐車場所

### ③ 解析方法

上記②の質問票調査の結果を用いて、発生農場と非発生農場の比較分析を行うため、単変量解析及び多変数解析による分析を行った。単変量解析とは、「発生の有無」と「ある 1 つの要因」の関係を解析する手法である。実際には、ある 1 つの要因が単独で作用しているのではなく、いくつかの要因が複雑に関連しあっていることが多い。このように複数の要因との関係を解析する方法として多変数解析があり、併せて実施した。

単変量解析では、統計ソフト R（3.3.1 バージョン）を用いて統計解析を行った。

飼養衛生管理基準の遵守状況と発生の有無との関連を調べるため、飼養衛生管理基準の遵守割合（飼養衛生管理基準全項目のうち遵守できている項目の割合）を目的変数、発生の有無を説明変数として、一般化線形モデルを用いて解析を行った。また、飼養衛生管理基準の各項目と発生の有無との関係を調べるため、発生と各項目の実施の有無の関連について、カイ二乗検定又はフィッシャーの直接確率検定を用いた。

多変数解析では、統計ソフト R の一般化線形モデル分析機能を用いて、ステップワイズ法により最適なモデルを選定した。発生の有無を目的変数とし、単変数解析で  $p$  値が 0.2 以下の要因を説明変数とした。選択された説明変数について論理的関係性を考慮し、中間因子となるもの、並びに感染症学的意味が重複する因子は省いた。なお、説明変数同士で相関が高い共線性を示す因子はなかった。変数が 20 と多かったため、農場内衛生対策モデル及び農場外からの侵入モデルの 2 つのモデルを作成した（表 2）。これら 2 つのモデルで最適化を進め、関連因子の見逃しを防ぐため  $p$  値が 0.1 以下のなったところで最適化を止め、残った因子で統合モデルを作成した。最終モデルは、統合モデルから  $p$  値が 0.05 未満となるまで最適化を行ったものとした。

表 2 2 つの多変数モデルに含まれる説明変数

区分	項目
農場内衛生対策モデル	過去 5 年以内に豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS）が発生している コンサルタントの導入 飼養衛生管理基準に実行の難しい項目がある：（1）衛生管理区域専用の衣服の設置及び使用、（2）導入家畜の隔離、（3）加熱等適切に処理された食品循環資源の利用 農場退場時の従業員車両の消毒 農場主の農場入場時の靴消毒 農場主が衛生管理区域内に駐車している
農場外からの侵入モデル	特定のと畜場への出荷（4 か所が該当） 家畜排せつ物の運搬を委託していた 共同堆肥施設を利用していた 農場が国道または主要地方道に接している 家畜排せつ物運搬車両の入場時に車両全体の消毒を実施していた 家畜排せつ物運搬車両の入場時に車両荷台の消毒を実施していた 家畜排せつ物運搬車両の入場時に運転席マットの消毒を実施していた 獣医師来場時の車両タイヤの消毒 飼料会社の衛生管理区域内での駐車

### (3) 結果

#### ① 単変数解析結果

単変数解析で  $p$  値が 0.05 未満の変数の結果を表 3 に示す（変数が多いため、単変数解析で  $p$  値が 0.05 以上 0.2 未満の変数の結果は示していない。）。単変数解析で選択された項目のうち、「発生農場と疫学的関連があった」は、何らかの発生要因と関連を示していて他の因子と重複してしまうため、また、「過去 5 年以内に豚増殖性腸炎（以下「PPE」という。）が発生している」は豚繁殖性呼吸器症候群（以下「PRRS」という。）の発生と重複するため、これらの 2 項目については除外した。

飼養衛生管理基準全項目のうち、各農場において遵守できている項目割合を遵守率とした時、全体の平均遵守率は、発生農場（91.1%）と非発生農場（91.5%）の両方で高く、両者の間で有意差はなかった（係数=0.05、標準誤差=0.20、 $p=0.82$ ）。

しかしながら、発生農場は非発生農場と比べ、次の事項で有意差がみられた。

- ・他のPED発生農場との疫学的関連
- ・過去5年以内におけるPRRS、PPEの発生
- ・特定の畜場の利用
- ・共同堆肥施設の利用
- ・飼養衛生管理基準の項目「適切に加熱処理された食品循環資源の利用」を実施するのが困難であると考えていること
- ・家畜排せつ物の運搬車両の入場（帰場）時に、運転席のマット等の消毒が未実施

表3  $p$  値が 0.05 未満の変数の単変量解析の結果（2つの多変数モデルで使用）

変数	発生農場 % (n)	非発生農場 % (n)	$p$ 値
発生農場と疫学的関連があった	45.7 (32/70)	25.3 (21/83)	0.01*
過去5年以内にPPEが発生している	21.8 (17/78)	8.8 (8/91)	0.03*
過去5年以内にPRRSが発生している	64.1 (50/78)	46.2 (42/91)	0.03*
と畜場Aを利用していた	11.8 (8/68)	2.6 (2/77)	0.046*
と畜場Bを利用していた	12.1 (8/66)	0 (0/77)	<0.01*
共同堆肥施設を利用していた	29.3 (22/75)	14.5 (12/83)	0.04*
飼養衛生管理基準の項目「加熱等適切に処理された食品循環資源の利用」の実施が困難であること	5.4 (4/78)	0 (0/90)	0.04*
家畜排せつ物運搬車両の入場時に運転席のマット等の消毒を実施していた	37.3 (28/75)	56.6 (47/83)	0.02*

\*  $p$  値が 0.05 未満

## ② 多変数解析結果

2つの多変数モデルの結果を表4に、最終モデルの結果を表5にそれぞれ示す。最終モデルでは、2つの要因のみ残った。

表4 2つの多変数モデルの結果（ $p$  値 0.1 未満）

変数	係数	標準誤差	$p$ 値
<b>農場内衛生対策モデル</b>			
参照 (y 切片)	-0.99	0.30	<0.01
過去5年以内にPRRSが発生している	0.77	0.35	0.03*
飼養衛生管理基準の項目「衛生管理区域専用の衣服の設置及び使用」の実施が困難であること	1.54	0.85	0.07
飼養衛生管理基準の項目「導入家畜の隔離」の実施が困難であること	1.19	0.64	0.07
農場主が衛生管理区域内に駐車している	0.84	0.45	0.06
<b>農場外からの侵入モデル</b>			
参照 (y 切片)	-0.19	0.27	0.47
共同堆肥施設を利用していた	1.03	0.43	0.02*
家畜排せつ物の運搬を委託していた	1.01	0.47	0.03*

家畜排せつ物運搬車両の入場時に運転席のマット等の消毒を実施していた	-0.70	0.35	0.047*
-----------------------------------	-------	------	--------

\*  $p$  値が 0.05 未満

表 5 多変数解析の最終結果

要因	係数	標準誤差	$p$ 値
参照 (y 切片)	-0.39	0.19	0.04*
飼養衛生管理基準の項目「衛生管理区域専用の衣服の設置及び使用」の実施が困難であること	2.34	1.09	0.03*
家畜排せつ物の運搬を委託していた	1.03	0.45	0.02*

\*  $p$  値が 0.05 未満

#### (4) 考察

多変数解析の最終結果から、衛生管理区域専用の衣服の設置及び使用がなされていないことと、家畜排せつ物運搬の委託という2つのリスク要因が見つかった。一つ目の要因は、PEDウイルスの衛生管理区域内持ち込みという面で、明確に農場衛生と関連している。加えて、最終モデルには残らなかったが、農場内衛生対策モデルで過去5年以内のPRRS発生はPED発生に有意な因子であることが示され、衛生管理区域内へウイルスを持ち込ませないという日々の防疫対策が不十分だったことで、PRRSと同様にPEDウイルスも侵入してしまった可能性が示唆された。農場内衛生対策モデルではこの他に、導入家畜の隔離が出来ないことと衛生管理区域内での農場主の駐車が因子として残った。これらのことから、動物・人・車両に対する衛生対策の徹底は、PEDの農場内への侵入を防ぐ上で重要な防疫対策と考えられる。

もう一つの要因である家畜排せつ物運搬の委託については、PEDウイルス感染豚の糞便から多量のウイルスが排出されることを考えると、家畜排せつ物の運搬は、車両や人を介したPEDウイルスの機械的伝搬及び共通の感染源になり得ると考えられる。農場外からの侵入モデルでは、この他に共同堆肥施設の利用と家畜排せつ物運搬車両の運転席マット消毒を実施していないことがPED発生に有意な因子であった。共同堆肥舎と家畜排せつ物運搬サービスの利用は、経営的メリットがあることが考えられるが、PEDの流行を考えると、自農場で堆肥処理を完結させることは防疫を高める上で有効と思慮される。しかしながら、その投資の負担は小さくなく、全ての農場で採用することは容易ではない。代わりに、家畜排せつ物運搬車両を利用する際は、運転席のマットまで消毒するなど防疫上重要となる作業工程において、リスクに応じた効果的な措置を講ずることが肝要と考える。

本調査の質問票には飼料や人工授精なども含む幅広い情報が収集されたが、我が国ではこれらの因子がリスク要因である可能性は示されず、米国やカナダで見られたように飼料が共通の感染源として示された事例とは異なっている可能性が示唆された。

多変数解析では、特定のと畜場への出荷は有意な因子として残らなかったが、これはと畜場での交差汚染が感染拡大に関与しなかったという結論には結びつかない。何故ならば、多変数解析では症例群、対照群全ての農場に関して様々な関連因子間の関係性を取り除く過程で、複数のと畜場への出荷が関与していた結果、個々のと畜場への出荷という要因は残らなかったと考えられるからである。

まとめると、衛生管理区域における消毒等の防疫対策の実施等の飼養衛生管理基準の遵守と排せつ物の適切な管理が、PEDウイルスの侵入防止対策として重要であり、ひいてはPED以外の感染症の農場内への侵入防止にも重要であることが、本研究から示唆された。

## 4 生存分析

### (1) 背景及び目的

生存分析とは、ある事象が起こるまでの時間と事象の発生に着目した分析手法であり、事象が発生するまでの時間に影響を及ぼす要因を解析する。養豚場数が多く、2013年12月から急速な発生拡大が認められた鹿児島県と宮崎県において、早く感染した農場の特徴を捉えることで農場へのウイルス侵入要因の究明を目的として、生存分析を実施した。

### (2) 調査の対象と方法

#### ① 調査対象農場

調査対象地域は鹿児島県と宮崎県全域とした。調査対象農場の選定には、両県庁から匿名化処理して提供された全養豚場（鹿児島県709戸、宮崎県506戸）のデータを用いた。データは、鹿児島県は2014年6月時点、宮崎県は2014年2月時点の農場所在地市町村名、経営形態（一貫経営、肥育経営、繁殖経営）及び飼養頭数、2013年12月3日～2014年7月24日の発生情報、RT-PCRを用いた診断に基づく発生日（宮崎県はPED診断確定日、鹿児島県は診断からさかのぼり農場で最初に発生が見られた日）から構成される。

Kaplan-Meier生存曲線（図3）の観察から、鹿児島県での初発（2013年12月3日）を1日目とすると、180日目（2014年5月31日）頃までに対象地域での流行がほぼ終息していることから、初発以降180日間の発生状況を解析に用いた。

#### ② 調査内容

調査対象地域における養豚場の経営形態、経営規模及び農場密度に着目し、これらと発生との関連を分析した。養豚場の経営形態は、一貫経営農場、肥育経営農場及び繁殖経営農場に分類した。経営規模は、農場規模の分布から経営形態ごとに分類方法を定め、小、中、大規模に分類した。繁殖経営農場は母豚頭数を基準に100頭までを小規模、101頭から300頭までを中規模、301頭以上を大規模農場とした。一貫経営農場と肥育経営農場は飼養頭数の総数が1,000頭までを小規模、1,001頭から3,000頭までを中規模、3,001頭以上を大規模農場とした。市町村内の農場密度は、国土地理院のホームページから市町村面積を入手し（GSI、2015）、各市町村内の農場密度を計算した。

#### ③ 解析方法

PED伝播に関連する要因を検討するため、ソフトウェアR（バージョン3.3.1）のcoxph関数を用いて、コックス比例ハザードによる準パラメトリック生存分析を行った。

単変量解析では、肥育経営農場を基準として他の経営形態のハザード比（肥育農場を1とすると、何倍感染しやすかったか）を求めた。

多変数解析では、経営形態ごとに飼育頭数や飼養管理方法が大きく異なるので、それぞれの経営形態ごとにモデルを作成した。モデルでは飼養規模と農場密度の影響について検討を行った。方法として、飼養規模、農場密度それぞれの単変量モデルと両変数が入った二変数モデルを作成し、対数尤度が高いモデルを選択した。二変数モデルが選択された場合、モデルの当てはまりの良さをCramer von Mises 試験で確認し、当てはまりが良くない（ $p$ 値 $<0.05$ ）場合はモデルを棄却し単変数モデルを採択した。Cramer von Mises 試験の実施に当たっては、Rパッケージgofのcumres関数を用いた。

### (3) 結果

経営形態ごとの生存曲線を図3に示す。発生開始後、特に最初の2か月間で急速に発生が進行した。発生60～100日目にかけて発生は一旦おさまったが、100～150日目頃まで再び急速に進行した。検証期間である180日間(2013年12月3日～2014年5月31日)に、発生農場における発生日の中央値は57日であり、一貫経営、肥育経営、繁殖経営で、それぞれ59日、47.5日、59日であった。発生日の中央値は肥育経営が最短である一方、累積罹患率は一貫経営(23.7%; 139/586)が最も高く、繁殖経営(20%; 43/215)、肥育経営(15.5%; 64/414)が続いた。

単変量生存分析によると、高感受性の哺乳豚が存在し、かつ、と畜場への往来がある一貫経営では肥育経営よりも有意にハザードが高かった(ハザード比1.6, 95%信頼区間: 1.2 - 2.1,  $p < 0.01$ , 表6)。繁殖経営と肥育経営の間では、ハザードに有意な差はなかった(ハザード比1.3, 95%信頼区間: 0.9 - 1.9,  $p = 0.16$ , 表6)。

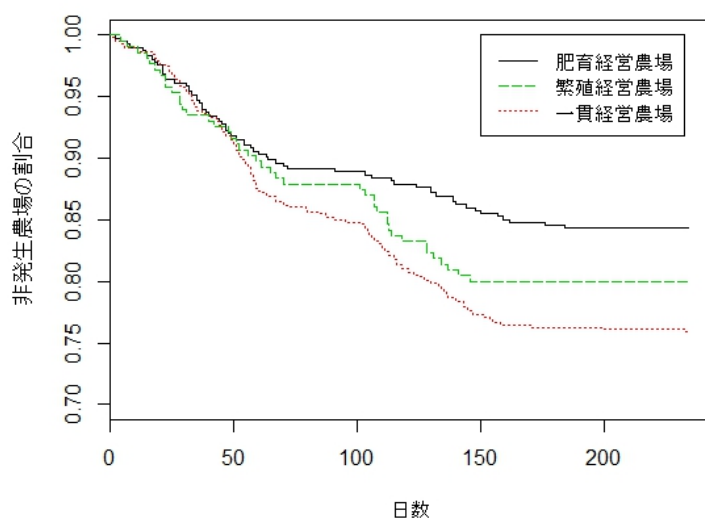


図3 一貫経営、肥育経営、繁殖経営の生存曲線

表6 単変量生存分析の結果

経営形態	ハザード比 (95%信頼区間)	$p$ 値
肥育経営農場	参照	参照
一貫経営農場	1.6 (1.2 - 2.1)	<0.01
繁殖経営農場	1.3 (0.9 - 1.9)	0.16

\*  $p$  値が 0.05 未満

肥育経営農場の多変数生存分析では、飼養規模だけの単変量モデルが選択された(表7)。このモデルでは、小規模農場よりも中規模農場(ハザード比2.6, 95%信頼区間: 1.4 - 4.6,  $p < 0.01$ )、大規模農場(ハザード比5.8, 95%信頼区間: 3.0 - 11.2,  $p < 0.01$ )で有意にハザードが高かった。一貫経営農場については、飼養規模と農場密度の二変数モデルが選択された(表7)。飼養規模については、大規模農場が小規模農場より有意にハザードが高く(ハザード比2.8, 95%信頼区間: 1.9 - 4.1,  $p < 0.01$ )、農場密度が高いほどハザードが高かった(ハザード比7.6, 95%信頼区間: 2.9 - 19.8,  $p < 0.01$ ; 対数スケールでの傾きは2.0,  $se = 0.48$ )。繁

殖経営農場については、飼養規模だけの単変数モデルが選択された（表7）。このモデルでは、小規模農場よりも中規模農場（ハザード比 3.6, 95%信頼区間：1.6 - 8.4,  $p < 0.01$ ）、大規模農場（ハザード比 4.0, 95%信頼区間：2.0 - 8.1,  $p < 0.01$ ）で有意にハザードが高かった。

表7 多変数生存分析の結果

変数	ハザード比 (95%信頼区間)	p 値
<b>肥育経営農場</b>		
小規模農場	参照	参照
中規模農場	2.6 (1.4 - 4.6)	< 0.01*
大規模農場	5.8 (3.0 - 11.2)	< 0.01*
<b>一貫経営農場</b>		
小規模農場	参照	参照
中規模農場	1.3 (0.8 - 1.9)	0.27
大規模農場	2.8 (1.9 - 4.1)	< 0.01*
農場密度	7.6 (2.9 - 19.8)	< 0.01*
<b>繁殖経営農場</b>		
小規模農場	参照	参照
中規模農場	3.6 (1.6 - 8.4)	< 0.01*
大規模農場	4.0 (2.0 - 8.1)	< 0.01*

\* p 値が 0.05 未満

#### (4) 考察

初発から 180 日間の観察期間での発生農場における発生日の経営形態間の比較において、肥育経営農場の発生日中央値が他の経営形態よりも短かったことから、PED 発生初期はと畜場での交差汚染により早く感染が進んだ可能性が推察された。一方、累積罹患率は肥育経営農場で最も低かった。この理由として、と畜場での発生・非発生農場間の出荷時間分けや消毒の徹底などの防疫対策の効果の表れと、肥育経営農場には感受性の高い哺乳豚がいないため、比較的容易に新規発生を抑えることが出来た可能性が考えられた。

生存分析による経営形態間の比較では、肥育経営農場と比較して一貫経営農場で有意にハザードが高かったことが示された。一貫経営農場には PED ウイルスに感受性の高い哺乳豚が飼育されており、かつ、と畜場への往来があるので、一貫経営農場は、繁殖経営農場や肥育経営農場よりも発生リスクが高くなりやすいと考えられる。一方、農場間の感染拡大要因として重要と考えられると畜場への出荷があるという点においては、肥育経営農場も一貫経営農場と共通している。

なお、一貫経営農場では肥育経営農場よりも感染しやすいとの結果については、感受性の高い哺乳豚がいることに加えて、肥育経営農場では肥育豚が PED ウイルスに感染しても下痢や死亡などの症状が明らかでなく、感染農場として通報されにくかった可能性も否定できないと考えられた。

全ての経営形態において、大規模農場では共通してハザードが高かった。これは大規模農場では、家畜、飼料等を運搬する畜産関連車両の出入りの頻度が高いため、ウイルス侵入の機会が高まるためと考えられた。一貫経営農場ではさらに農場密度が高い場合にハザードが高かった。農場密度が高い養豚地域では、地域内を畜産関係車両が頻繁に行き来することから、車両や器具器材、人等を介した伝播が起きていたことが示唆された。したがって、大規模農場や養豚地域においては、特に衛生管理を徹底する必要があると思慮される。



## 5 新たな情報や科学的知見を踏まえたシナリオの再検証

### (1) 豚腸管コロナウイルスの米国への侵入：主要因に関する調査レポート（USDA）

2015年9月30日、米国農務省動植物検疫検査局（USDA-APHIS）は、PEDウイルスを含む豚腸管コロナウイルスの米国への侵入に関する主要因に関する調査レポートを公表した。これは、海外に存在するウイルスがどのように米国内に侵入し、養豚場に持ち込まれたかについて、考え得るシナリオが以下の4つの要件を満たすか精査したものである。

- ① 米国にウイルスを運ぶ人又は物が、ウイルスの起源国で汚染されること
- ② 人又は物が米国に移動又は到着した際に、ウイルスが生存し感染能を有していること
- ③ 約2週間のうちにウイルスが地理的に離れた少なくとも6か所の農場へ拡散する手段を有していること
- ④ ウイルスが農場に到達し、豚に感染すること

これらの4つの要因について、フレキシブルコンテナバッグ（以下「FIBC」という。）の再利用、飼料のリサイクルネットワーク、ペット用おやつ、有機大豆、野生動物の保有、渡り鳥、豚（生体、精液）、人、噴霧乾燥した豚血しょう、研究施設からの漏出、生物学的製剤の汚染、もみ殻、輸入禁止物質、ビタミン・ミネラル混合品、アミノ酸サプリメント等の15項目の可能性が検討された。その結果、具体的なウイルスの侵入経路を特定するには至らなかったが、いくつかのシナリオには妥当性があると考えられた。特に、FIBCの再利用を介してウイルスが侵入し、飼料配送のネットワークにより拡がったというシナリオは、最も考えられ得るものであった。FIBCは、洪水制御用の砂、大豆、ペット用のおやつ、豚の飼料を含む様々な物のバルク原料など多様な品物の輸送に用いられ再利用されることが想定されているが、米国においては、一般的にFIBCの再利用に当たって洗浄や消毒がなされていない。FIBCが飼料工場間の原料輸送に用いられた場合には、ウイルスに汚染された物質が広範囲に拡散する可能性があることが、上記4要件と照らして説明に合理性があるとしている。

### (2) 我が国へのPEDウイルス侵入経路の推測

我が国へのPEDウイルス侵入経路を推定するため、水際検疫におけるリスク要因についての調査を行った。動物検疫の対象となる畜産物等はPEDウイルスの侵入経路を考える上で考慮に入れるべきものであるが、その容器包装については詳しい状況が不明であった。そのため、動物検疫所において動物検疫対象物の容器包装の処理状況について調査を行った。米国の報告を踏まえ海上貨物を対象とし、動物検疫対象物の容器包装の種類及びその再利用状況について、輸入者から聞き取り調査を行った。

その結果容器包装にはコンテナバラ済みの他、FIBC、ポリプロピレン（pp）袋、紙袋、透明シート、段ボール、麻袋等が用いられていた。これらの容器包装は使用后、大部分が焼却や産廃処理がなされ、再利用が確認された事例はなかった。また、使用済みの容器包装を再利用する再生業者の出入りも確認されなかったことから、動物検疫対象物の容器包装が侵入経路となる可能性は低いと考えられた。

### (3) 考察

我が国においては、海上貨物として輸入される動物検疫対象の畜産物等の容器包装の再利用を介してPEDウイルスが国内に侵入した可能性は低いと考えられた。しかしながら、この結果は我が国における物流の一部分のみのものであるため、容器包装が侵入経路ではないと結論付けることはできない。引き続き情報収集を行い、必要に応じて調査を行うことが重要である。

## 6 おわりに

### (1) 総合的考察

#### ① 海外からの侵入経路

ウイルスの全遺伝子配列の分析結果から、北米地域などの海外で流行しているウイルス株が、少なくとも複数回にわたって、国内に侵入したことが推測される。また、国内の再発事例については、農場内に残存していたウイルスが変異して同一農場で再発、または、国内の野外株が変異し別農場に侵入して発生を起こした可能性が推測される。米国で流行しているウイルスの由来については、遺伝的系統解析の結果、2010年以降中国で大規模に流行しているPEDウイルス株と高い類似性を持つことから、中国を由来とする可能性が高いと考えられている。ただし、これらの情報は流行株のうち各国で分離・解析されたウイルス株の遺伝子配列のみを分析した結果であること、ウイルスが分離された時期が必ずしもその地域へのウイルスの侵入時期をあらわしてはいないことなど限られた情報に基づく検討の結果であることに留意する必要がある。

また、2015年9月に米国農務省から公表されたレポートによると、汚染されたFIBCの再利用によって、米国にウイルスが持ち込まれた可能性が高いと結論付けられている。我が国においては、豚血しょうたん白について、血液中のウイルス量が感染成立に必要なウイルス量より少ないこと、餌がリスク要因である可能性が低いことから、感染源となった可能性は非常に低いと考えられた。また、動物検疫の対象となる畜産物等の容器包装がPEDウイルス侵入経路となった可能性も低いと考えられたが、この結果は我が国における物流の一部分のみのものであるため、容器包装が侵入経路ではないと結論付けることはできない。これらの結果より、今般の調査からは侵入経路の特定には至らなかった。

#### ② 国内での感染拡大経路

鹿児島県および宮崎県における急速な感染拡大は、PEDウイルス感染豚の移動や感染豚の糞便等で汚染された車両等を介した間接的な伝播によって起こったと考えられた。農場へのウイルスの侵入経路に関して、生存分析からは特にPED発生初期においてと畜場を介した交差汚染が関与していたこと、「陰性」肥育経営農場から出荷された未発症感染豚による感染拡大があった可能性が示唆された。ケースコントロールスタディからは、家畜排せつ物運搬の委託など、ウイルスを含む家畜排せつ物の取り扱いを通して農場間で感染が拡大したことが示唆された。ケースコントロールスタディでは特定のと畜場への出荷は最終モデルにリスク要因として残らなかったが、これは複数のと畜場が交差汚染に関与していたためであると考えられ、と畜場における交差汚染がリスク要因でないことにはならない。上記のとおり生存分析から関連性が示唆されたことから、と畜場での交差汚染が感染拡大に繋がったことは十分に考えられる。

また農場内に侵入したウイルスが衛生管理区域内に持ち込まれ、豚に感染した要因としては、ケースコントロールスタディで有意であった衛生管理区域専用の衣服の設置と使用がされていないことなど、不十分な農場内衛生対策が原因であったことが考えられた。

以上から、PEDの感染拡大には、飼養衛生管理基準にある衛生管理区域専用の衣服の設置及び使用をはじめとする項目が遵守されていなかったこと、と畜場での交差汚染、家畜排せつ物運搬による関連農場への感染が関与したと考えられた。

今後我が国の養豚業を伝染性疾病から守るに当たり、病原体の農場侵入を防止するため、飼養衛生管理基準を遵守し、農場の飼養形態や規模に応じた適切な防疫措置を講ずることが重要であると考えられた。

## (2) 発生予防とまん延防止対策

2013年～2014年に全国的な発生が確認されて以降、発生件数は年々減少しており、発生農場における死亡割合は、昨シーズンに比べ低い水準で推移している。これは、各都道府県において実施している、「豚流行性下痢（PED）防疫マニュアル」（平成26年10月24日付け26消安第3377号消費・安全局長通知、以下「マニュアル」という。）に沿った防疫措置の効果であると考えられるが、一部の都道府県で散発的に発生が認められており、過去2年間においては、気温の低下する時期に本病の発生が増加していることを踏まえ、ここで改めて発生予防、まん延防止において必要と考えられる点を整理する。

### ① 農場における飼養衛生管理の徹底

本病の対策としては、飼養衛生管理基準及びマニュアルに従い、日頃からの飼養衛生管理の徹底によって農場へのPEDウイルスの侵入を防止することが重要である。なかでも農場に出入りする車両の消毒については、今回のケースコントロールスタディにおいて、発生農場と非発生農場における車両消毒の程度の違い、具体的には運転席のマット等の消毒を実施していた場合は発生リスクが低かったことが明らかになったことから、タイヤ周りだけでなく、荷台、運転席マットを含めウイルスが付着する可能性のある箇所は念入りに消毒することが肝要である。

### ② ワクチン接種の徹底

本病の対策としては、集団的な免疫の確保が重要であるが、2014年に7割程度実施されていた母豚へのワクチン接種率が、最近では50%台まで低下していると推定される。このため、豚舎消毒等の飼養衛生管理と併せて、平時から継続的に妊娠母豚に対し、積極的なワクチン接種を実施していくことが重要である。

### ③ 畜産関連施設での対策の徹底

ケースコントロールスタディで、発生農場における特定のと畜場の利用が確認されたこと、肥育豚を用いた感染実験で、症状は軽度で感染後1週間程度で消失するのに対し、症状が消失した後も1か月以上ウイルスを排出し続ける個体が確認されていること、排せつ物等の有機物の存在下や低温下では消毒効果が低下すること及び特に哺乳豚については少量のウイルスでも感染が成立しやすい傾向があることに留意し、と畜場等において、マニュアルに示す交差汚染防止対策の徹底が必要である。

### ④ 野生動物のサーベイランス

中間取りまとめにおいて、発生農場において、野鳥、小型ほ乳類、げっ歯類等の野生動物の存在が確認されており、これらの野生動物による機械的伝播が示唆されているが、野生動物についてのリスク評価や研究結果は報告されていない。全国的な野生動物の感染状況調査を進め、野生動物による伝播の可能性を検討することは、感染経路の解明とともに、今後の本病対策において重要であると考えられる。