

(短報)

トウキョウ X の離乳後下痢症に対する卵黄抗体の効果

小山朗子^{1*}・竹内美穂²

¹ 東京都農林総合研究センター

² 東京都家畜保健衛生所

摘 要

トウキョウ X の離乳後下痢症への卵黄抗体の効果を検証するため、市販の卵黄抗体飼料を用いた農家給与試験を実施した。糞便性状は、7 週齢において対照区と比べて給与区の下痢の程度が軽かった。給与区の糞便にはロタウイルスが検出されず、対照区から検出された A 群ロタウイルスの遺伝子型の 1 つが卵黄抗体に含まれるものと一致した。試験期間中の増体に差はなかったが、給与区の肥育期間は対照区に比べ短かった。本試験において、卵黄抗体はトウキョウ X 離乳豚のロタウイルス感染防御および下痢の軽減に有効であった。

キーワード：トウキョウ X, 卵黄抗体, 離乳後下痢症, 豚ロタウイルス

東京都農林総合研究センター研究報告 15 : 51-57, 2020

2019 年 10 月 11 日受付, 2019 年 12 月 18 日受理

緒 言

東京都では東京産食材の一つであるトウキョウ X の増産を目指しているが、一般的な交雑種豚と比べ、産子数が少なく、離乳時の下痢症などの損耗性疾病により育成率が低いことが生産阻害要因となっている。

豚の消化器感染症は、呼吸器感染症とともに多くの農場で問題になっており、その被害は死亡や淘汰に加え、発育遅延・飼料効率の低下、肉質の低下、衛生対策費の増加等多岐にわたり、経営に与える経済的損失も大きい。

離乳期は母豚からの移行抗体の消失や移動・環境の変化といったストレスからもっとも病気に罹りやすい時期(石川, 2002)とされている。勝田ら(2006)は子豚下痢便の野外調査から離乳豚の 47.4% が複数の病原体が関与する混合感染であり、ロタウイルスの検出割合が 65% と高いことから国内の豚下痢症の主要因と考察している。また、大腸菌とロタウイルスの混合感染は、それぞれの単独感染に比べ、大腸菌の排出期間の延長や排出量

の増加が認められたと報告している。

卵黄抗体(鶏卵黄免疫グロブリン抗体)は、ヒナに卵黄を介して親鳥が持つ血清中の免疫グロブリンを受け渡す仕組みを利用した、家畜の腸管感染症の病原体に対する特異的抗体である。飼料等に配合して幼若家畜に摂取させ、腸管腔内の病原体に特異的卵黄抗体が結合することで、病原体の腸管上皮細胞への付着阻害や増殖抑制により、感染予防または発症を軽減する。

TOKYO X の持つ 4 つの理念の一つ「安全性(Safety)」に基づき、トウキョウ X は肥育期間に抗生物質を含まない指定飼料を給与している。肥育前の哺乳期・離乳期においても、卵黄抗体飼料の給与により、抗生物質使用を低減することは TOKYO X の理念に合致する。

本試験では、トウキョウ X 飼養農場において、離乳豚へ卵黄抗体飼料の添加により、増体、糞便性状、大腸菌やロタウイルスを指標とした病原体への効果があるかを検証した。

* 著者連絡先 小山朗子 E-mail a-koyama@tdfaff.com

材料および方法

1. 試験設定

都内農場において、3～8週齢（離乳前1週～後4週）のトウキョウXに、市販の卵黄抗体飼料（グロビゲンチャビーメイト(株)イーダブルニュートリションジャパン）を添加する給与区5頭（母豚産歴5産目）と不給与の対照区6頭（母豚産歴2産目）を設定した（図1）。卵黄抗体飼料の給与量は試験開始から15日間1g、5日間1.5g、10日間2g、5日間2.5gとした。これは配合飼料の0.3～0.4%にあたり、慣行飼料に混和して給与した。飼料に含まれる卵黄抗体の種類は、A群ロタウイルスG1～G4、大腸菌F4、F18（O141、O139）抗体、*Clostridium perfringens* A型菌および α 毒素である。試験期間5週にわたり使用した卵黄抗体飼料の費用は約230円/頭であった。

2週毎に体重測定および糞便を採取した。糞便性状の肉眼所見をスコア化し、スコア1は正常便、2は軟便、3は泥状便、4は水様便とした。

効果の指標とする病原体の1つであるロタウイルスは、糞便からRNAを抽出（QIAGEN:QIAamp Viral RNA Mini Kit）し、A群をGouvea et al. (1990)の方法で、B群をKuga et al. (2009)の方法で、C群をTsunemitsu et al. (1996)の方法でRT-PCR法（QIAGEN:OneStep RT-PCR Kit）による遺伝子検出を行った。得られたA群ロタウイルスVP7遺伝子（1062bp）のPCR増幅産物を市

販PCR試薬（ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent, Thermo Fisher Scientific）で精製後、ダイレクトシーケンス法による塩基配列解析を外部委託により実施し、得られた塩基配列をGeneBank登録のロタウイルス株の配列データを基にして、MEGAverision7ソフトを用いて近接結合法により分子系統樹解析を行った。

また、大腸菌は1検体当たり5コロニーを採取し、DNAを抽出（関東化学：シカジーニクスDNA抽出キット）し、Vu-Khac et al. (2007)が報告したPCR法（TaKara Multiplex Assay kit Ver.2, タカラバイオ(株)）により、定着因子遺伝子（F4, F18）および毒素遺伝子（LT, STa, STb, Stx2e）の検出を行った。採取された菌株のO群血清型は東京都家畜保健衛生所へ依頼して型別を行った。

試験終了後、両区の豚11頭は同居して肥育され、出荷成績（肥育日数、枝肉重量、TOKYO X豚肉質等級）について比較した。

なお、本研究は、東京都農林水産総合研究センター実験動物等実施要領に則って実施した。

2. 統計処理

全ての統計処理は、Rソフトウェアにより行った。体重等増体に関わる数値、大腸菌検出数、出荷日齢、枝肉重量については、t検定を行った。糞便性状、肉質等級は、Mann-Whitney U検定を、F18保有大腸菌の検出頭数はフィッシャーの直接確率検定を行った。なお、統計学的有意水準は危険率5%未満とした。

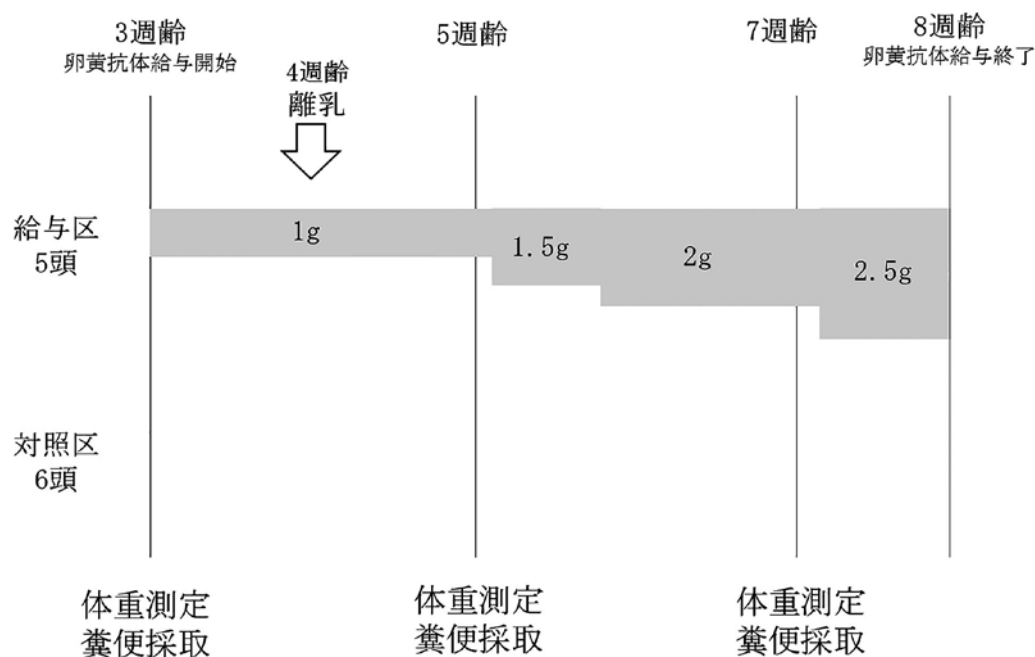


図1 卵黄抗体飼料給与量および試験設定

結果および考察

1. 増体に関する項目の比較

各区は同腹産仔のため子豚の大きさを揃えることができず、調査日全てで平均体重に有意差があった(図2)。試験中死亡する個体はなく、1日平均増体量、増体率、飼料要求率に区間で有意な差はなかった(表1, 2, 3)。

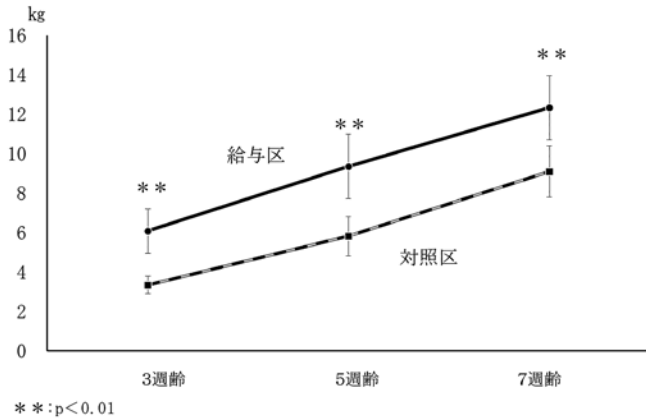


図2 平均体重の推移

表1 1日平均増体量 (g)

週齢	給与区	対照区
3→5	220	180
5→7	230	220

表2 増体率 (%)

週齢	給与区	対照区
3→5	57.8	73.3
5→7	35.2	57.8

表3 飼料要求率 (%)

週齢	給与区	対照区
5→7	-0.59	1.71

2. 糞便性状の比較

糞便性状は試験開始時である3週齢および5週齢では有意な差はなかった。7週齢の対照区では、正常便の個体も認められるが水様便を呈すものもあり平均スコアは2.5であった。一方、7週齢の給与区は全頭正常便のスコア1であり、対照区と比較して有意に低く、下痢の程度が軽かった(図3)。

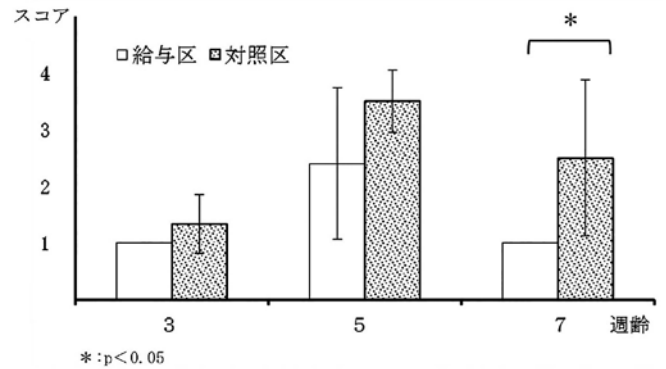


図3 糞便性状

3. 病原体検出状況の比較

ロタウイルスは3週齢では両区ともに陰性であったが、対照区の5, 7週齢においてほとんどの豚からA, B, C群が検出された。給与区ではロタウイルスは検出されなかった(表4)。対照区で検出されたA群ロタウイルスのVP7遺伝子型はG3およびG9であり(図4)、G3は今回使用した卵黄抗体飼料に含まれる遺伝子型と一致した。卵黄抗体は給与区のA群ロタウイルス感染を防御し、対照区ではこれを防御できず易感染性となり、他の血清群にも感染したと推定した。

今回対照区では卵黄抗体に含まれないG9遺伝子型が確認されたが、給与区ではこれが検出されなかった。ヒトのロタウイルス感染では部分的に遺伝子型を超えた交差免疫が形成される(中込, 2009)ことから、G3に対する卵黄抗体を含む給与区では交差免疫により卵黄抗体に含まれないG9遺伝子型も防御した可能性が考えられた。

豚ロタウイルス病は現在国内で市販ワクチンはなく、特異的な治療法もないため、対策はウイルスの侵入防止や豚舎間でのウイルス伝播を防止する衛生管理が重要とされている。本試験の結果により、卵黄抗体の給与は豚ロタウイルス病対策の1つとして有効と考えられた。

表4 ロタウイルス遺伝子検出状況

週齢	給与区			対照区		
	A群	B群	C群	A群	B群	C群
3	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	+	+	-
				(5/6)	(5/6)	
7	-	-	-	-	+	+
					(1/6)	(4/6)

a) カッコ内は陽性頭数 / 検査頭数

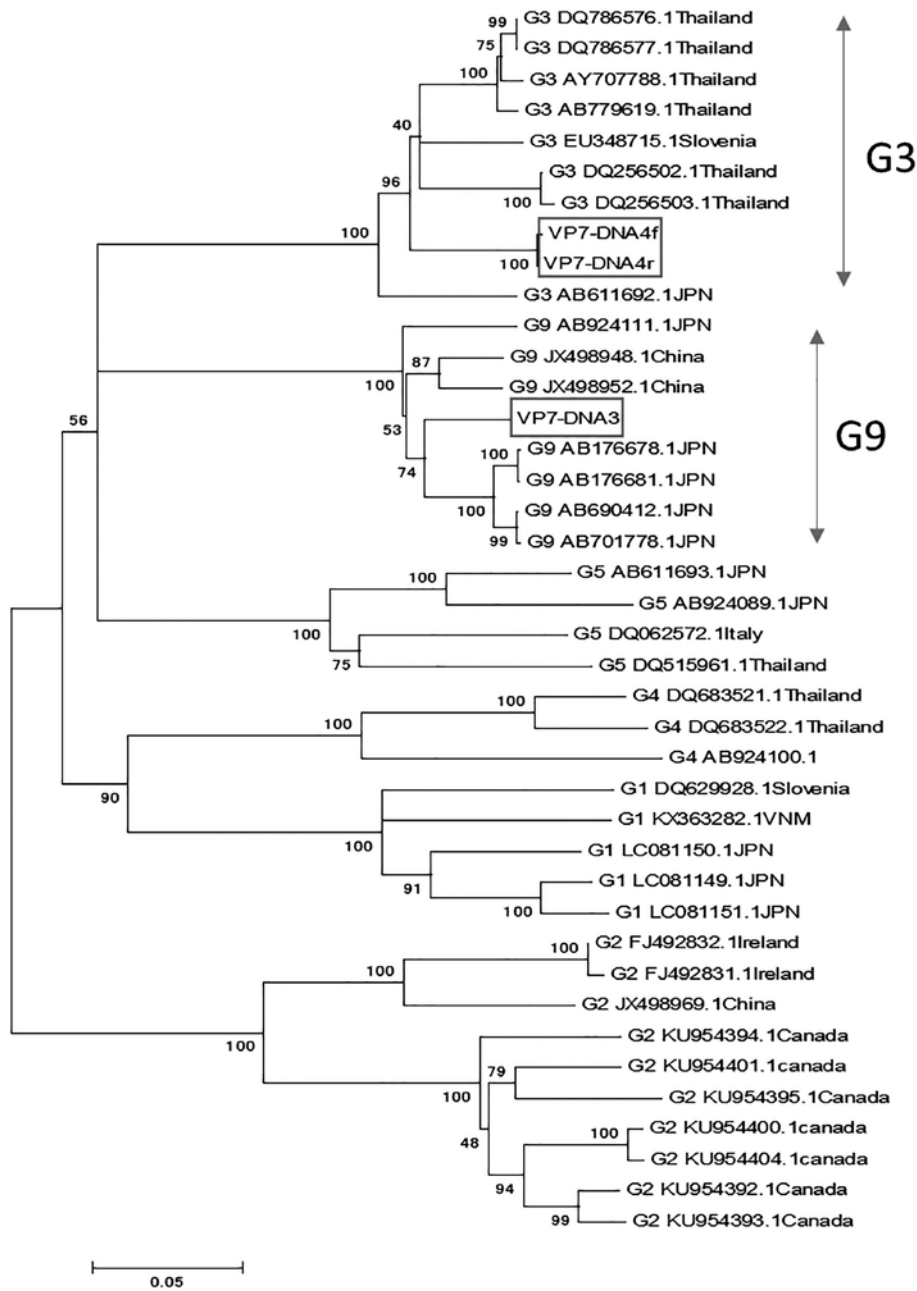


図4 ロタウイルスVP7遺伝子の分子系統樹(近隣結合法)

a) 本試験で得られた株を四角で囲む

平均大腸菌数は両区で有意差はなかった(表5)。卵黄抗体飼料にはF4およびF8抗体が含まれているが、F4定着因子PCRは陰性で、F18定着因子を保有する大腸菌が5週齢においてのみ検出され、検出頭数に区間で有意な差はなかった(表6)。F18定着因子を持つ大腸菌株は全て血液寒天培地で溶血性を示し、毒素遺伝子LT、Stx2eを保有し、血清型はOSB9 (*Shigella boydii* 9型)であった。今回の試験では、両区でF18陽性大腸菌の検出状況に有意な差がなく、卵黄抗体の大腸菌への効果は確認できなかった。Zuniga et al. (1997)は離乳豚への大腸菌の実験感染におけるF18に対する卵黄抗体の効果は用量に依存し、異なる血清型で免疫して作った卵黄抗体でも感染を防御したと報告した。今回使用した製品の標準給与量は生後2週齢～離乳後2週齢までは人工乳に対し0.3～0.5%添加とされているが、今回、生後3週齢～離乳後4週齢の子豚に対し給与割合は0.3～0.4%とやや低かったことから、より濃度を高めることで大腸菌の効果が明確になる可能性が考えられた。

表5 平均大腸菌検出数 (log cfu/g)

週齢	給与区	対照区
3	Nt ^a	7.66
5	7.63	7.56
7	7.10	6.96

a) スワブのみで糞便の採取ができず、未検査

表6 F18保有大腸菌検出状況

週齢	給与区	対照区
3	—	—
5	+	+
	(2/5)	(1/6)
7	—	—

a) カッコ内は陽性頭数 / 検査頭数

4. 出荷成績の比較

枝肉重量や肉質等級は両区に有意な差はなかった。平均出荷日齢は給与区が対照区と比べ32日有意に短かった(表7)。離乳体重はと畜時日齢に影響する(Wolter and Ellis, 2001)とされ、本試験では両区の子豚に体重差があり、卵黄抗体の給与が出荷日齢の短縮にどこまで影響したかは不明であった。

表7 出荷成績の平均

項目	給与区	対照区
枝肉重量(kg)	74.4	70.1
出荷日齢(日)	210 ^a	242 ^a

a) p<0.01

豚の離乳期は、衛生的な飼養環境やストレスの低減など総合的な疾病対策が必要とされている(石川, 2002)。総合的な対策に加え卵黄抗体飼料の給与により、離乳後下痢症による損耗を防ぎ、抗生物質の使用を低減する一手段として卵黄抗体を利用・普及していきたい。

謝辞

本研究を実施するにあたり、ご助言や農家実証試験でご協力していただいたTOKYO X生産組合の養豚農家の皆様に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Gouvea, V., R. I. Glass, P. Woos, K. Taniguchi, H F. Clark, B. Forrester and Z. Fang (1990) Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 28 : 276-282
- 石川弘道 (2002) 離乳子豚に多発する疾病とその対策. *日本豚病研究会報* 40:22-24
- 勝田 賢・河本麻理子・川島健司・恒光裕 (2006) 子豚下痢便からの病原性微生物の検出成績. *日本豚病研究会報* 48 : 1-6
- Kuga, K., A. Miyazaki, T. Suzuki, M. Takagi, N. Hattori, K. Katsuda, M. Mase, M. Sugiyama and H. Tsunemitsu (2009) Genetic diversity and classification of the outer capsid glycoprotein VP7 of porcine group B rotaviruses. *Arch.Virol.*154 : 1785-1795

- 宮崎綾子 (2014) ロタウイルス感染症. 月刊養豚界 下痢
攻略ハンドブック 49 : 70-72
- 宮崎綾子 (2014) 養豚農場におけるブタ A 群ロタウイルス
の感染動態. All about Swine44 : 2-9
- 中込 治 (2009) ロタウイルスおよびノロウイルス胃腸
炎の感染防御. 小児感染免疫. 21 : 235-243
- 中澤宗生 (1999) 豚病学第4版 (柏崎守ほか編). (株)近
代出版, 東京. pp.328-337
- 恒光裕 (1999) 豚病学第4版 (柏崎守ほか編). (株)近代
出版, 東京. pp.271-277
- Tsunemitsu, H., B. Jiang and L.J. Saif (1990) Sequence
comparison of the VP7 gene encoding the outer capsid
glycoprotein among animal and human group C
rotaviruses. Arch.Virol.141 : 705-713
- Vega, CG., M. Bok, AN. Vlasova, KS. Chattha, FM.
Fernández, A. Wigdorovitz, VG. Parreño and L.J.
Saif (2012) IgY antibodies protect against human
rotavirus induced diarrhea in the neonatal gnotobiotic
piglet disease model. PloS One 7:e42788
- Vu-Khac, H., E. Holoda, E. Pilipcinec, M. Blanco,
J. E. Blanco, G.Dahbi, A.Mora, C. López, E.
A. González and J. Blanco (2007) Serotypes, virulence
genes, and PFGE profiles of Escherichia coli isolated
from pigs with postweaning diarrhoea in Slovakia.
Vet.J.174 : 176-187
- Wolter, B. F. and M. Ellis (2001) The effects of weaning
weight and rate of growth immediately after weaning
on subsequent pig growth performance carcass
characteristics. Can.J.Anim.Sci.81 : 363-369
- Yokoyama, H., T. Hashi, K. Umeda, F. C. Jr Icatlo,
M. Kuroki, Y. Ikemori and Y. Kodama (1997)
Effect of oral egg antibody in experimental F18+
Escherichia coli infection in weaned Pigs. J.Vet.Med.
Sci.59 : 917-921
- Zúñiga, A., H. Yokoyama, P. Albicker-Rippinger, E.
Eggenberger and HU. Bertschinger (1997) Reduced
intestinal colonisation with F18-positive
enterotoxigenic Escherichia coli in weaned pigs fed
chicken egg antibody against the fimbriae. FEMS
Immunol Med Microbiol. 18 : 153-161.

Effect of chicken egg yolk antibodies against post-weaning diarrhea in Tokyo X pigs

Akiko Koyama^{1*}, Miho Takeuchi²

¹Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center

²Tokyo Metropolitan Livestock Hygiene Service Center

Abstract

The objective of this study was to investigate the effect of the oral feeding of chicken egg yolk antibodies, which were included in a commercial diet, on post-weaning diarrhea in Tokyo X pigs on a farm. The severity of diarrhea was lower in the treatment group than in the control group at 7 weeks of age. Furthermore, a porcine group A rotavirus gene that was presented in the fecal samples of the control group was not detected in the fecal samples of treatment group, and the egg yolk antibodies appeared to target the porcine group A rotavirus gene product. However, there was no difference in weight gain between the two groups during the experiment, although the fattening period was shorter in the treatment group than in the control group. These results suggest that chicken egg yolk antibodies are effective in protecting against rotavirus infection and reducing the severity of diarrhea in weaned Tokyo X pigs.

Keywords: Tokyo X, egg yolk antibody, post-weaning diarrhea, porcine rotavirus

Bulletin of Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center, 15:51-57, 2020

*Corresponding author : a-koyama@tdfaff.com