

# データのバラつきを評価に組み込んだ ELISA による豚熱ワクチン接種日齢決定法

中央家畜保健衛生所  
○小泉 舜史郎

## 1 背景と目的

国内の飼養豚に接種されている豚熱ワクチンは生ワクチンであり、移行抗体がワクチンテイクに負の影響を与える<sup>1)</sup>。そのため、ワクチン接種は移行抗体が十分減少する日齢まで待ってから行う必要があるが、移行抗体が減少すれば豚熱ウイルスに対する防御能力も低下してしまう。免疫の空白期間を生じさせずに豚群の集団免疫を成立（免疫率 80%以上）させるためには、豚群の移行抗体が適度な限られた期間（ワクチン接種適齢期）にワクチン接種を行う必要がある。

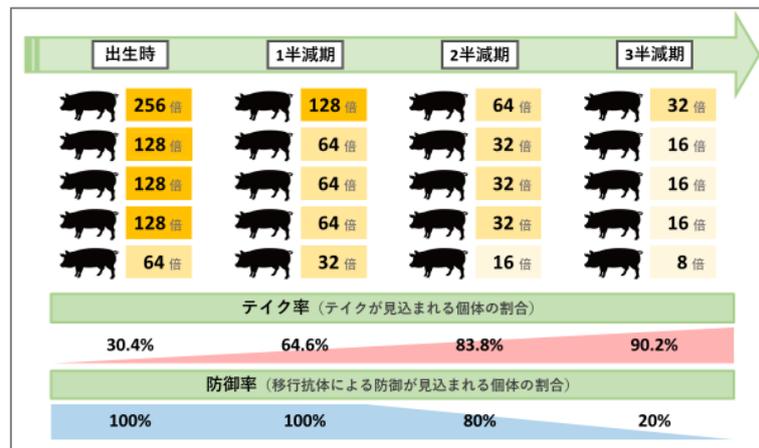


図 1 豚熱ワクチン接種適齢期推定

上図の例では、テイクが見込まれる個体の割合が 80%以上かつ移行抗体による防御が見込まれる個体の割合が 80%以上となる 2 半減期が接種適齢期となる。

その他の日齢で接種を行うといずれかのステージで集団免疫が成立しない期間が生じる。

ワクチン接種適齢期は通例中和試験 (NT) により求められる中和抗体価から推定されるが (図 1)、豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針<sup>2)</sup> においては、「中和試験 (NT) と ELISA の相関関係を把握の上、ELISA により検討する」とされている。しかし、ELISA の評価値である S/P 値を相関関係式から中和抗体価に変換して適齢期推定を行うと、データのバラツキが推定結果に反映されないため精度が上がらないという課題があった (図 2)。そこでこの課題を解決するため、新たな接種日齢決定法を考案し精度検証を行った。

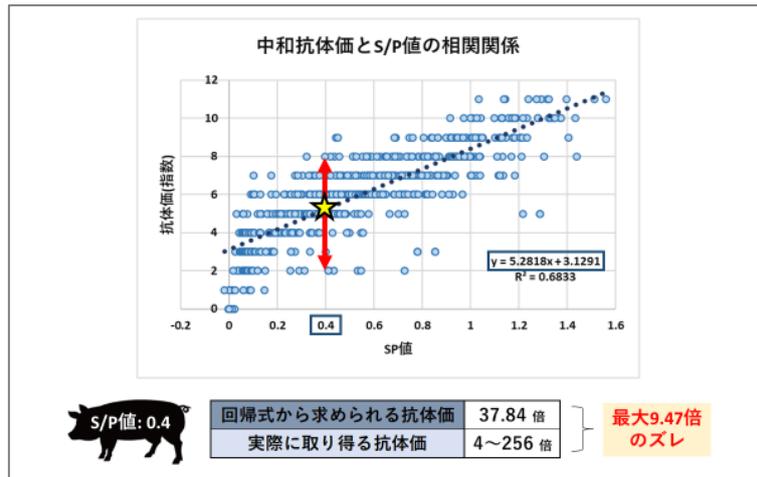


図2 中和抗体価と S/P 値の関係

S/P 値が近い検体同士でも、それらがとる抗体価はバラついている。しかし、相関関係式により S/P 値を中和抗体価に変換した場合、S/P 値と推定値が一対一対応となってしまう。

## 2 材料と方法

### (1) 新法の考案

以下の①～⑦を新法として考案した。

- ① 任意の検体数の血清（今回の事例では 1138 検体，S/P 値：-0.07～1.561，用途別：繁殖豚 607 頭，肥育豚 244 頭，不明 287 頭，品種別：L100 頭，W251 頭，D59 頭，B54 頭，LW4 頭，WL5 頭，WB12 頭，ミニブタ 5 頭，不明 648 頭）について NT 及び ELISA を実施し、データを S/P 値順に並び替えた後、8 等分する。
- ② 各レベルの検体がつとる S/P 値の範囲を記載したレベル区分表を作成する。
- ③ 各レベルを構成する抗体価が全体に占める比率を記載した確率分布表を作成する。
- ④ 推定に供する被接種豚群またはその母豚群の S/P 値を、レベル区分表を参照しレベル分けする。
- ⑤ 該当するレベルの確率分布表を参照し、その検体がつとる抗体価を表に従った確率で出力する試行を 1000 回繰り返す。
- ⑥ 各試行で得られた抗体価を用いて適齢期推定を実施し、抗体の半減期の倍数の日齢ごとに、群の 80% がテイクする確率（テイク成功率）及び移行抗体による防御が成立する確率（防御成功率）を算出する。
- ⑦ ⑥を参考に接種日齢を決定する

### (2) 計算シートの作成

推定に供する検体の S/P 値を該当箇所に入力すると、上記④～⑥の処理を自動で実施する計算シートを Microsoft Excel (Microsoft, USA) を用いて作成した。シート

には、各試行によって得られたテイク成功率および防御成功率を、抗体の半減期の倍数の日齢ごとに箱ひげ図で出力されるよう設定した。また、NT と ELISA の関連データを該当箇所に入力すると、上記①、②の処理を自動で実施し、レベル区分表及び確率分布表が自動で出力されるよう設定した。さらに、適齢期推定に必要なパラメーター（移行抗体の半減期、テイクが見込まれる抗体価、防御が見込まれる抗体価）は適宜変更できるよう設定した。

(3) 推定法の精度検証 1

同一農場の母豚群 (n=63) のデータについて、新法によりテイク成功率を半減期ごとに算出し、テイク率が 80% 以上の日齢の期待値と全日齢の比を求めた。さらに、同じ検体について NT により推定を行い、テイク率が 80% 以上の日齢と全日齢の比を求め新法により求めた値と比較した。解析には統計解析ソフト EZR (自治医科大学さいたま医療センター、日本) を用いた。

(4) 推定法の精度検証 2

S/P値が判明しているワクチン接種済みの豚 (n=54) 及びその母豚 (n=16) のデータを用いて、新法によって求めたワクチン接種日齢におけるテイク成功率と実際の成否について比較した。

(5) 推定法の精度検証 3

免疫付与状況等確認検査のデータ (n=6) を用いて、新法によりテイク率が 80% 以上の事例の期待値と全事例の比を求めた。さらに、実際にテイク率が 80% 以上であった事例と全事例の比を求め、新法により求めた値と比較した。解析には統計解析ソフト EZR を用いた。

### 3 結果

(1) 新法の考案

レベル区分表、確率分布表は以下のとおりであった。

表 1 レベル区分表

レベル	S/P値	
	下限	上限
1	-	0.056
2	0.056	0.118
3	0.118	0.273
4	0.273	0.414
5	0.414	0.567
6	0.567	0.76
7	0.76	0.941
8	0.941	-

表 2 確率分布表

抗体価	レベル							
	レベル1	レベル2	レベル3	レベル4	レベル5	レベル6	レベル7	レベル8
2倍以下	0.088	0.035	0.018	0	0	0	0	0
4倍	0.316	0.281	0.018	0.070	0.035	0	0	0
8倍	0.368	0.281	0.228	0.035	0	0	0.070	0
16倍	0.228	0.316	0.316	0.193	0.088	0	0	0
32倍	0	0.035	0.281	0.368	0.228	0.053	0	0.053
64倍	0	0.018	0.088	0.193	0.579	0.368	0.158	0.018
128倍	0	0.018	0.035	0.105	0.035	0.386	0.281	0.105
256倍	0	0	0	0.018	0.018	0.140	0.263	0.193
512倍	0	0	0	0	0	0.035	0.211	0.333
1024倍	0	0	0	0	0	0	0	0.228
2048倍以上	0	0	0	0	0	0	0	0.105

(2) 計算シートの作成

以下のとおりのシートが作成された。

The screenshot shows a spreadsheet titled "抗体価判定用日齢別期待値のためのデータ出力表". It contains several sections:
 

- ① パラメータ設定:** A table for setting parameters like "抗体価判定" and "検体数".
- ② S/P値入力:** A list of sample IDs (e.g., 1, 2, 3) and their corresponding S/P values.
- ③ 結果一覧:** A table showing results for different age groups (日齢) and success rates (成功率).

 Callouts on the left side of the spreadsheet indicate:
 

- "移行抗体の半減期テイクが見込まれる抗体価防御可能な抗体価を入力" (Input antibody values where half-life of transition antibodies is expected and defense is possible).
- "レベル区分表が出力" (Level classification table is output).
- "検体のS/P値を入力" (Input S/P values of samples).

 Callouts on the right side indicate:
 

- "確率分布表が出力" (Probability distribution table is output).
- "テイク成功率 防御成功率 箱ひげ図が出力" (Box plots for take success rate and defense success rate are output).

図 3 計算シート

(3) 推定法の精度検証 1

新法により求められたテイク率が 80%以上の日齢の期待値と全日齢の比は、NTにより求められたテイク率が 80%以上の日齢と全日齢の比の 95%信頼区間内であった。

群No.	個体数 (頭)	80%テイク成功率 (%)						
		11.2日齢	22.4日齢	33.6日齢	44.8日齢	56.0日齢	67.2日齢	78.4日齢
1	20	0	0	8.9	90.5	100	100	100
2	7	1.8	29.1	79	98.7	100	100	100
3	7	1.6	27.5	77.1	99	100	100	100
4	7	1	13.4	55.5	95.2	100	100	100
5	4	1.9	19.3	61.2	88.4	100	100	100
6	8	0.5	14.4	67.9	98.9	100	100	100
7	7	9.2	47.7	85.9	99.8	100	100	100
8	9	0.6	28.5	88	99.5	100	100	100
9	7	2.5	32.4	81.2	99.5	100	100	100
10	8	29	87.2	99.6	100	100	100	100
11	10	0.6	25.4	82.3	98.7	100	100	100
12	3	75.4	91.8	99.9	100	100	100	100
13	6	44	90.6	99.2	100	100	100	100
14	8	6.8	54.5	96.7	100	100	100	100
15	9	1	27	81.6	98.9	100	100	100
16	9	8.3	63.2	96.9	99.9	100	100	100
17	5	6.7	33.5	69.9	93.7	100	100	100
18	8	7.4	50	94.1	99.4	100	100	100
19	7	19.9	75.7	95.9	99.9	100	100	100
20	7	71	98	100	100	100	100	100
21	8	1.2	29.1	83.5	99.8	100	100	100
22	8	47.6	94.4	99.8	100	100	100	100
23	10	0	5.2	50.4	94.3	100	100	100
24	7	5.3	41.5	86.2	100	100	100	100
25	9	0.1	6.3	53.7	95.8	100	100	100
26	7	50.7	93.8	99.3	100	100	100	100
27	8	0.6	15.8	67.5	88.4	100	100	100
28	10	4.4	53.7	93.8	99.8	100	100	100
29	8	3.2	40.3	89.7	99.9	100	100	100
30	8	7.1	67.3	97	100	100	100	100
31	8	3.9	38.7	91.3	99.8	100	100	100
32	8	7.9	56.2	95.3	100	100	100	100

群No.	個体数 (頭)	80%テイク成功率 (%)						
		11.2日齢	22.4日齢	33.6日齢	44.8日齢	56.0日齢	67.2日齢	78.4日齢
33	7	34.4	88.5	99.1	100	100	100	100
34	10	36.5	93.5	99.7	100	100	100	100
35	4	60	96.7	100	100	100	100	100
36	8	38.8	95.4	99.8	100	100	100	100
37	11	0.9	31.5	88.5	99.8	100	100	100
38	6	0	11.7	56.5	93.8	100	100	100
39	8	7.9	57.2	94.9	99.9	100	100	100
40	8	0	5.1	47	94.2	100	100	100
41	13	0.5	21.7	83.8	100	100	100	100
42	9	10.5	58.5	96.1	99.9	100	100	100
43	7	0.5	5.7	41.8	90.8	100	100	100
44	8	7.3	51.7	94	100	100	100	100
45	8	7.4	54.1	95.5	100	100	100	100
46	8	19.7	81.1	99.5	100	100	100	100
47	6	15	57.4	90.1	100	100	100	100
48	7	7.6	44.5	87.3	99.9	100	100	100
49	8	21.6	82.9	99.6	100	100	100	100
50	8	44.1	92.7	99.7	100	100	100	100
51	8	7.3	58.6	97.4	100	100	100	100
52	8	11.6	66.2	97.6	100	100	100	100
53	7	11.8	55.6	90.9	100	100	100	100
54	8	3.1	42.9	91.7	100	100	100	100
55	9	2.9	41	92.2	99.8	100	100	100
56	2	97.2	98.5	100	100	100	100	100
57	1	96.8	99.3	99.3	100	100	100	100
58	3	55.5	94.7	100	100	100	100	100
59	2	98.4	99.1	100	100	100	100	100
60	2	95.9	99.4	99.9	100	100	100	100
61	9	6.4	96.4	100	100	100	100	100
62	11	6	55.6	93.7	100	100	100	100
63	3	95.2	97.9	96.3	98.7	100	100	100

**新法** テイク率が80%以上の日齢の期待値÷全日齢：0.8271 (416.9/504)

**NT** テイク率が80%以上の日齢÷全日齢：0.8472 (427/504, 95%CI 0.8130~0.8779)

図4 精度検証1の結果

(4) 推定法の精度検証2

新法により求められた推定80%テイク成功率は100%、実測の肥育豚群のテイク率は88.89%であったことから、推定結果と実際の免疫付与状況に相違は認められなかった。また、実測のテイク率は、1000パターンの推定テイク率の範囲内(80.06~92.88%)に含まれていた。

母豚 No.	母豚の S/P値	肥育豚 No.	ワクチン接種日齢 (日齢)	接種後日数 (日)	肥育豚の S/P値	肥育豚の ELISA判定
1	1.013	1	44	96	0.493	+
		2	44	96	0.166	+
		3	44	96	0.056	+
2	0.708	4	44	98	0.028	-
		5	45	131	0.804	+
		6	45	131	0.711	+
3	0.745	7	45	131	0.947	+
		8	45	96	1.049	+
		9	45	96	0.99	+
4	0.233	10	45	96	1.105	+
		11	45	96	0.849	+
		12	45	111	1.158	+
5	0.521	13	45	111	1.237	+
		14	45	111	1.073	+
		15	45	98	0.379	+
6	0.772	16	45	98	0.074	+
		17	45	98	0.483	+
		18	45	98	0.3	+
7	1.011	19	45	91	0.753	+
		20	45	91	0.882	+
		21	45	91	0.561	+
8	0.886	22	45	125	0.617	+
		23	45	125	0.087	+
		24	45	125	0.587	+
9	0.642	25	45	104	0.588	+
		26	45	104	0.089	+
		27	45	104	0.064	+
10	1.003	28	45	104	0.277	+
		29	45	104	0.135	+
		30	45	104	0.228	+
11	0.853	31	45	104	0.196	+
		32	45	96	0.884	+
		33	45	96	0.408	+
12	0.529	34	45	96	0.976	+
		35	45	103	0.581	+
		36	45	103	0.127	+
13	0.884	37	45	103	0.841	+
		38	45	103	0.373	+
		39	45	103	0.754	+
14	0.322	40	45	103	0.971	+
		41	45	103	0.687	+
		42	45	103	0.006	-
15	0.102	43	45	103	0.721	+
		44	45	96	0.01	-
		45	45	96	0.279	+
16	0.644	46	45	96	0.254	+
		47	45	96	1.017	+
		48	46	97	0.284	+
17	0.886	49	46	97	0.592	+
		50	46	97	0.126	+
		51	46	97	0.173	+
18	0.886	52	46	103	0.045	-
		53	46	103	0.001	-
		54	46	103	0.01	-

**新法** 80%テイク成功率：100% (1000/1000) 推定テイク率：80.06~92.88%

**実測** 実際のテイク率：88.89% (48/54)

図5 精度検証2の結果

#### (5) 推定法の精度検証 3

新法により求められたテイク率が80%以上の事例の期待値と全事例の比は、実際にテイク率が80%以上であった事例と全事例の比の95%信頼区間内であった。

事例No.	母豚数 (頭)	肥育豚数 (頭)	接種日齢 (日齢)	接種後 日数 (日)	V接種日齢での 80%テイク成功率 (%)	V接種日齢での 実際のテイク率 (%)
1	15	5	35	91	100	80
2	11	3	40	105	99.57	100
3	10	5	35	90	33.88	80
4	6	10	35	92	49.88	100
5	15	5	35	108	91.25	100
6	10	4	38	126	28.57	50

**新法** テイク率が80%以上の事例数の期待値÷全事例：0.6719 (4.031/6)

**実測** テイク率が80%以上の事例数÷全事例：0.8333 (5/6, 95%CI 0.3590~0.9960)

図6 精度検証3の結果

#### 4 考察

今回行った検証において、新法で得られた成功率と相違ない結果が NT でも得られることが判明した。また、新法による推定結果が実際の免疫付与状況と相違がなかったことから、新法は相関データのバラツキを成功率として評価に反映した上で一定の精度のもと接種日齢を決定可能であると考えられた。また、推定に伴う作業は推定に用いる S/P 値を計算シートに入力するのみと低コストであることから、多くの農場でより適切な接種が可能になると考えられた。さらに、系の作成に用いるデータの置き換えも計算シートに入力するのみと容易であることから利便性が高く、県内にとどまらない広い活用が期待できると考えられた。

#### 5 謝辞

本検討にあたり助言ご指導いただきました農研機構動物衛生研究部門 越境性感染症研究領域疫学・昆虫媒介感染症グループの皆様へ深謝いたします。

#### 6 参考文献

- 1: 豚コレラ防疫史編集委員会 (2009) 豚コレラ防疫史. p104-107, 全国家畜畜産物衛生指導協会・畜産技術協会
- 2: 農林水産省 (2023) 豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針 (令和2年7月1日農林水産大臣公表。令和4年12月23日一部変更。) [https://www.maff.go.jp/j/syouan/-douei/katiku\\_yobo/k\\_bousi/attach/pdf/index-8.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/-douei/katiku_yobo/k_bousi/attach/pdf/index-8.pdf)