

原 著

数理モデルを用いた牛コロナウイルス病の 農場内流行動態解析

榊原伸一[†] 神間清恵 羽田浩昭

北海道石狩家畜保健衛生所（〒062-0045 札幌市豊平区羊ヶ丘3）

（2020年7月7日受付・2020年9月23日受理）

要 約

数理モデルを用いて管内の1酪農場で発生した牛コロナウイルス病（BCoVD）の流行動態を解析し、流行防止に必要な免疫保有割合（VC）と発症牛の隔離による流行防止効果を評価した。基本再生産数 R_0 の値は8.00（3.15～16.0）、VCの値は0.875（0.682～0.937）と推定された。確率論的シミュレーションの結果、軽症牛を含むすべての発症牛を発症後12時間以内に隔離することで、BCoVDの流行を防止できる可能性が高いと予測された。一方、軽症牛を隔離しなければBCoVDの流行の防止は難しいと予測された。

——キーワード：基本再生産数，牛コロナウイルス病，隔離，数理モデル，免疫保有割合。

-----日獣会誌 74, 175～180 (2021)

牛コロナウイルス（BCoV）病はBCoVを原因とし、牛に呼吸器症状や下痢を引き起こし、農場に日常的に被害を発生させる [1, 2]。被害を低減させる方法として、ワクチン接種による予防、発症牛の隔離によるまん延防止があげられる。しかし、これら防疫対策の有効性は客観的な数値としては明示されていない。

防疫対策の立案や妥当性を評価する手法として数理モデルによる解析があげられる。数理モデルは感染症の流行動態を模式化し、流行の動態把握・予測をすることができる。国内の家畜衛生分野において数理モデルは、口蹄疫に対する防疫措置の評価や牛ヨーネ病による生産性の低下度合いの予測のために活用されている [3, 4]。

今回、効果的なBCoV病防疫対策を提示するため、数理モデルを用いて1酪農場で発生したBCoVによる呼吸器病の流行動態を解析し、流行防止に必要な免疫保有割合と発症牛の隔離による流行防止効果を評価した。

材料及び方法

流行事例：ホルスタイン種295頭が飼養される酪農場の1牛群で発生したBCoV病の流行について調査した。当該牛群は、2～3カ月齢の育成牛18頭の群で、1つの牛房（104m²）で飼養されていた。うち6頭が発咳

及び発熱を示し、抗菌薬がそれぞれ2～3日間投与された。抗菌薬の投与開始日を発症日としたところ、この6頭（重症牛：Is）の発症日は、10月24日（1頭）、11月1日（1頭）、11月5日（2頭）、11月6日（2頭）で、少なくとも11月30日まで新たな発生はなかった。加えて、軽症であったため治療が行われず、発症日が不明の発症牛（軽症牛：Im）が複数頭みられた。発症牛の隔離は実施されず、死亡した牛はいなかった。病性鑑定は11月12日に採材された1頭の鼻汁について実施され、BCoV遺伝子が検出された。一方、他の代表的な呼吸器病原ウイルスは検出されず、有意菌も分離されなかった。また当該農場ではBCoVを含むワクチンは接種されていなかった。

数理モデルの構築：感染ステージは、潜伏期間が3～8日 [2] とされていること及び発症牛をIsとImに区分したことを考慮し、未感染（S）、潜伏感染（E）、Is、Im及び免疫保有（R：隔離により感染性を失った牛を含む）の5区分とし、Sのみが感染感受性を有し、Is及びImのみが感染性を有するとした（図1）。各感染ステージの単位時間（日）当たりの頭数の変化（遷移率）を示す常微分方程式は、

[†] 連絡責任者：榊原伸一（北海道石狩家畜保健衛生所）

〒062-0045 札幌市豊平区羊ヶ丘3

☎011-851-4779 FAX 011-851-4780

E-mail: sakakibara.shinichi@pref.hokkaido.lg.jp

$$\frac{dS}{dt} = -\beta S \frac{I_s + I_m}{S + E + I_s + I_m + R} \quad \dots \text{式(1)}$$

$$\frac{dE}{dt} = \beta S \frac{I_s + I_m}{S + E + I_s + I_m + R} - \alpha E \quad \dots \text{式(2)}$$

$$\frac{dI_s}{dt} = \mu \alpha E - \gamma I_s \quad \dots \text{式(3)}$$

$$\frac{dI_m}{dt} = (1 - \mu) \alpha E - \delta I_m \quad \dots \text{式(4)}$$

$$\frac{dR}{dt} = \gamma I_s + \delta I_m \quad \dots \text{式(5)}$$

とした (SEIIR モデル). S から E への遷移率は, 今後感染する可能性のある頭数 (S) と接触相手に占める感染頭数の割合 (($I_s + I_m$)/($S + E + I_s + I_m + R$)) の積に比例することから, 伝達係数 β を用いて表される. β は単位時間にある 1 個体が他の個体と接触する頻度と, 1 回の接触当たりの感染確率の積に当たる [5]. E から I_s または I_m への遷移率 α は潜伏期間の逆数に当たり, 既報から潜伏期間を 5 日と考え [2], 0.2 とした. E のうち I_s となる確率を μ , I_m となる確率を $1 - \mu$ とした. I_s 及び I_m から R への遷移率 γ 及び δ は感染性を有する期間の逆数に当たり, とともに既報から感染性期間を 5 日と考え [2], 0.2 とした. なお, 短期間の流行であることから流行中の牛の増減及び免疫の喪失は考慮せず, また BCoV 病による死亡はないこととした. 各感染ステージの初期値は S : 17, E : 0, I_s : 1, I_m : 0, R : 0 (標準初期値) とした. 常微分方程式の数値解は差分法により得た.

不明なパラメータの値の推定: β 及び μ は適当な文献値が得られなかったため, 流行期間中に観察された I_s の頭数に基づいてマルコフ連鎖モンテカルロ法で推定した. 発症牛 No. 1 の発症日 (10 月 24 日) を第 1 日目とし, 第 38 日目 (11 月 30 日) までにおける第 t 日目の I_s 発生頭数の実測値を m_t , これに対応するモデルで得られた I_s 発生頭数を n_t としたとき, m_t が得られる確率 P は, I_s がポワソン分布に従うと仮定すると,

$$P(m_t | \beta, \mu) = n_t^{m_t} \times \exp(-n_t) \quad \dots \text{式(6)}$$

で算出することができる. これを用いて, すべての時点 t の実測値に基づく β 及び μ の対数尤度は,

$$\text{Loglikelihood}(\beta, \mu) = \sum P(m_t | \beta, \mu) \quad \dots \text{式(7)}$$

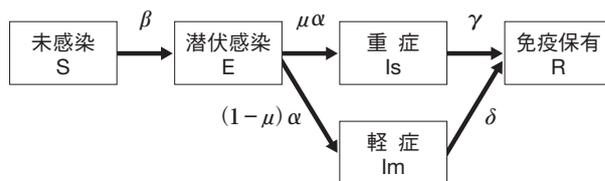


図1 牛コロナウイルス病の数理モデルの概要と遷移率のパラメータの関係

で得られる. Loglikelihood (β, μ) が最大となる β 及び μ の組み合わせを汎用統計ソフト「R」 [6] の「MCMCpack」パッケージ (<https://cran.r-project.org/web/packages/MCMCpack/index.html>) を用いて求めた.

モデルの妥当性の評価: 発症牛を I_s と I_m に区分したことの妥当性を評価するため, SEIIR モデルから I_m を除いたモデル (SEIR モデル), すなわち,

$$\frac{dS}{dt} = -\beta S \frac{I_s}{S + E + I_s + R} \quad \dots \text{式(8)}$$

$$\frac{dE}{dt} = \beta S \frac{I_s}{S + E + I_s + R} - \alpha E \quad \dots \text{式(9)}$$

$$\frac{dI_s}{dt} = \alpha E - \gamma I_s \quad \dots \text{式(10)}$$

$$\frac{dR}{dt} = \gamma I_s \quad \dots \text{式(11)}$$

について SEIIR モデルと同様にパラメータを推定し, 両モデルのデータへの適合度を widely applicable information criterion (WAIC) [7] により比較した.

基本再生産数 (R nought : R_0) 及び流行防止に必要な免疫保有割合 (vaccine coverage : VC) の算出: 病原体の感染性を示す指標であり, 流行の初期に 1 感染個体が生み出す二次感染個体数を表す R_0 [5] を算出した. 式 (1) から (5) より, 感染行列 T と遷移行列 Σ を作成し, 次世代行列 (next generation matrix : NGM) の定義式,

$$\text{NGM} = -T \Sigma^{-1} \quad \dots \text{式(12)}$$

を用いて NGM を算出し, さらに NGM の最大固有値として R_0 を求めた. 感染初期 ($S = S + E + I_s + I_m + R$) を仮定すると感染行列 T と遷移行列 Σ は,

$$T = \begin{pmatrix} 0 & \beta & \beta \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad \Sigma = \begin{pmatrix} -\alpha & 0 & 0 \\ \mu \alpha & -\gamma & 0 \\ (1-\mu) \alpha & 0 & -\delta \end{pmatrix} \quad \dots \text{式(13)}$$

となる. R_0 は NGM の最大固有値 a であるから, 単位

行列を E で示すと、固有値の定義に基づいて、

$$\det(\text{NGM} - aE) = 0 \quad \dots \text{式(14)}$$

を満たす a のうち最大のものが R₀ となる。すなわち、

$$\begin{aligned} \det(\text{NGM} - aE) &= \begin{vmatrix} \beta \left(\frac{\mu}{\gamma} + \frac{1-\mu}{\delta} \right) - a & \frac{\beta}{\gamma} & \frac{\beta}{\delta} \\ 0 & -a & 0 \\ 0 & 0 & -a \end{vmatrix} \\ &= a^2 \left(\beta \left(\frac{\mu}{\gamma} + \frac{1-\mu}{\delta} \right) - a \right) \\ &= 0 \end{aligned} \quad \dots \text{式(15)}$$

であるから、NGM の最大固有値である R₀ は、a の解のうち最も大きい値である、

$$R_0 = \beta \left(\frac{\mu}{\gamma} + \frac{1-\mu}{\delta} \right) \quad \dots \text{式(16)}$$

となる。R₀ < 1 では大規模な流行が起きないとされるが [5, 8], ワクチン接種により群内の S の割合を減らし、病原体の伝播効率を下げることで流行は防止される。流行防止の閾値、すなわち VC は、R₀ < 1 では 0, R₀ ≥ 1 では、

$$VC = 1 - \frac{1}{R_0} \quad \dots \text{式(17)}$$

と定義される [9]. 式 (16) 及び (17) について、β 及び μ には推定値を代入し、γ 及び δ には隔離を実施しない場合 (シナリオ 1) として、ともに 0.2, Is のみ発症後 12 時間で隔離する場合 (シナリオ 2) として 2 及び 0.2, 発症牛すべてを発症後 24 並びに 12 時間で隔離する場合 (シナリオ 3 並びに 4) としてともに 1, 並びにともに 2 をそれぞれ代入してシナリオごとに R₀ と VC を算出した。

確率的シミュレーション: SEIR モデルと β 及び μ の推定値 (中央値) を用い、18 頭の群での BCoV 病の流行を統計的揺らぎを再現可能な確率的シミュレーションにより予測した。まず、当該モデルの再現性を確認するため、α, γ 及び δ は上記同様既報の値、各感染ステージの初期値は標準初期値としてシミュレートし、Is 発生頭数の推移及び累積 Is 頭数 (final size: FS) の予測値を実測値と比較した。次に防疫対策を評価するため、α は上記同様既報の値、各感染ステージの初期値は標準初期値のうち Is 及び Im を μ の確率で 1 及び 0, 1-μ の確率で 0 及び 1 とし、流行開始時点の免疫保有牛頭数 (R₁) は 0~16 頭まで 2 頭間隔で変動させ、γ 及び δ はシナリオ 1~4 の値をそれぞれ設定してシミュレートし、FS を予測した。演算は汎用統計ソフト「R」を

用い、期間を 60 日間として設定ごとに 10 万回試行した。

成 績

不明なパラメータの値の推定: β 及び μ の値 (中央値 (95% 信用区間: 95% CI)) はそれぞれ 1.59 (0.630~3.20), 0.301 (0.0619~0.734) と推定された。

モデルの妥当性の評価: WAIC は SEIR モデル (30.6) の方が SEIR モデル (39.6) より小さく、モデルの適合度は SEIR モデルの方が高かった。

R₀ 及び VC の推定: シナリオ 1 (隔離を実施しない) では、R₀ の値は 8.00 (3.15~16.0), VC の値は 0.875 (0.682~0.937) と推定された。R₀ 及び VC の値はシナリオ 1 が最も高く 2 (Is のみ発症後 12 時間で隔離), 3 (発症牛すべてを発症後 24 時間で隔離), 4 (発症牛すべてを発症後 12 時間で隔離) の順で低値となり、シナリオ 4 では中央値が R₀ < 0 及び VC = 0 と推定された (表)。

確率的シミュレーション: 再現性確認のためのシミュレーションの結果、各日の Is 発生頭数の実測値は、予測値の 95% CI に含まれ、FS の予測値の中央値は 6 頭で実測値と一致した (図 2)。防疫対策評価のためのシミュレーションの結果、免疫保有頭数 (R₁) が多いほど FS は少数であった。シナリオ 1 と 2 では R₁ が 16 頭で FS の中央値が 0 頭となり、両シナリオで FS に大差はなかった。シナリオ 3 では R₁ が 8 頭以上で FS の中央値が 0 頭となり、R₁ が小数でもシナリオ 1 と比べて FS は少数であった。シナリオ 4 では R₁ が 2 頭以上で FS の中央値が 0 頭となり、R₁ が 0 頭でも FS は 1 頭と小数であった。各シナリオの FS の中央値が 0 頭となった最小の R₁ の頭数を牛群規模 18 頭で除した値、すなわち VC はそれぞれ 0.889, 0.889, 0.444 及び 0.111 となった。加えて、群の免疫保有割合が VC より高くても流行が発生する場合があり、VC 以下でも流行が発生しない場合もあると予測された (図 3)。

考 察

数理モデルは、感染症の特徴を反映させて構築するこ

表 基本再生産数 (R₀) 及び流行防止に必要な免疫保有割合 (VC) の推定

シナリオ	R ₀	VC
1	8.00 (3.15~16.0)	0.875 (0.682~0.937)
2	5.64 (1.31~11.7)	0.823 (0.242~0.914)
3	1.60 (0.630~3.20)	0.375 (0.000~0.687)
4	0.800 (0.315~1.60)	0.000 (0.000~0.374)

シナリオ 1: 隔離を実施しない

シナリオ 2: 重症牛のみ発症後 12 時間で隔離

シナリオ 3: 発症牛すべてを発症後 24 時間で隔離

シナリオ 4: 発症牛すべてを発症後 12 時間で隔離

推定値: 中央値 (95%信用区間)

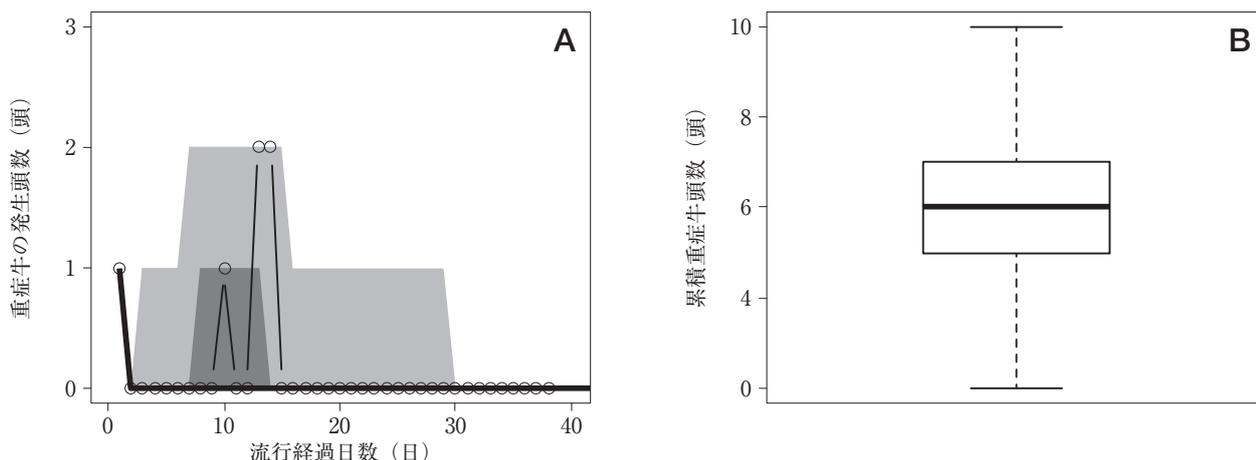


図2 確率論的シミュレーションによる牛コロナウイルス病の数理モデルの再現性確認結果

A: 重症牛の発生頭数についての推移の予測値と実測値

Aの太線: 予測値の中央値

Aの濃灰色帯: 予測値の25～75パーセンタイル

Aの淡灰色帯: 予測値の2.5～25及び75～97.5パーセンタイル

Aのマーカ付き細線: 実測値

B: 累積重症牛頭数の予測値

箱ひげ図のひげ下端, 箱下端, 太線, 箱上端, ひげ上端: 2.5, 25, 50, 75, 97.5パーセンタイル

とで流行を再現し、防疫対策の評価が可能となる。今回のシミュレーションでも予測値と実測値はおおむね一致し、今回構築したモデルによりBCoV病の流行を再現できることが確認された。また、基本再生産数 R_0 は隔離未実施で8.00 (3.15～16.0)と推定された。BCoV病の伝播はBCoVを含む鼻汁・糞便による経口・経鼻感染により発生するが [1, 2], 推定された R_0 は、糞口感染のみを起こす大腸菌症の3.9～6.6 [9]より大きく、空気感染により強い感染性を示す口蹄疫の16～25 [10]より小さいことから一定の妥当性のある値と考えられた。一方、今回の調査では情報が得られなかった事項について、治療開始日を発症日とした、BCoVの検出を行わなかった発症牛もBCoV病とした、10月24日の初発以前にImの発症はなかったとした、流行開始時点の免疫保有頭数は0頭とした、汚染された飼・水槽や敷料を介した間接伝播は考慮しないこととした、隔離牛は感染性を持たないとした、といった多くの仮定に基づき解析を行っていることに留意する必要がある。今後他の事例について詳細に調査することで、より信頼性の高い値を得る必要があると考えられた。また、 R_0 は換気不良で上昇するなど、衛生環境的要因により増減する [8]。流行を助長する要因を明らかにすることで、より有効な防疫対策が提案できる可能性があると考えられた。

Imを含む全発症牛を12時間以内に隔離した場合、 $R_0 < 1$ と推定され、確率論的シミュレーションの結果でもBCoV病の流行を防止できる可能性が高いことが示された。BCoV病に対する移行免疫の消失は3カ月齢頃から始まるとされ [11], 育成牛群は高い免疫保有割合を

保つことが困難である。そのため特に育成牛群において、BCoV病の流行防止には発症牛全頭を対象とする速やかな隔離が必要と考えられた。しかしながら、Imは症状が明確でないことから発見されないことが予想され、発症牛全頭の隔離は現実的には困難を伴うと考えられた。

Isのみの12時間での隔離では $R_0 > 1$ となり、BCoV病の流行防止は困難であることが示された。IsとImでウイルス排泄量に大差はなく、IsはBCoV感染牛のうち28%を占めたと報告されている [12]。本研究でも、感染牛がIsとなる確率 (μ) は同程度の0.301と推定された。これらのことから、BCoV病発生時には発症牛の過半数はImが占めると推定され、BCoV病の流行にはImが大きな役割を果たしていると考えられた。

発症牛すべての24時間の隔離でも $R_0 > 1$ となり、発症牛の隔離のみではBCoV病の流行防止は困難である一方、牛群の免疫保有割合が半数以上となればBCoV病の流行を防止できる可能性が高いことが示された。適切なワクチン接種により牛群の免疫保有割合が半数以上となれば、隔離までの期間が長くなったとしても、隔離の遅れによるBCoV病の流行発生防止につながり、さらに免疫保有割合が0.875を超えれば隔離なしでも流行が防止される可能性があると考えられた。

流行防止に必要な免疫保有割合VCについて、解析的に得られた値と確率論的シミュレーションによる予測値は同程度であった。一方、シミュレーションの結果では群の免疫保有割合がVCより高くても流行が発生する場合があります。VC以下でも流行が発生しない場合もあると

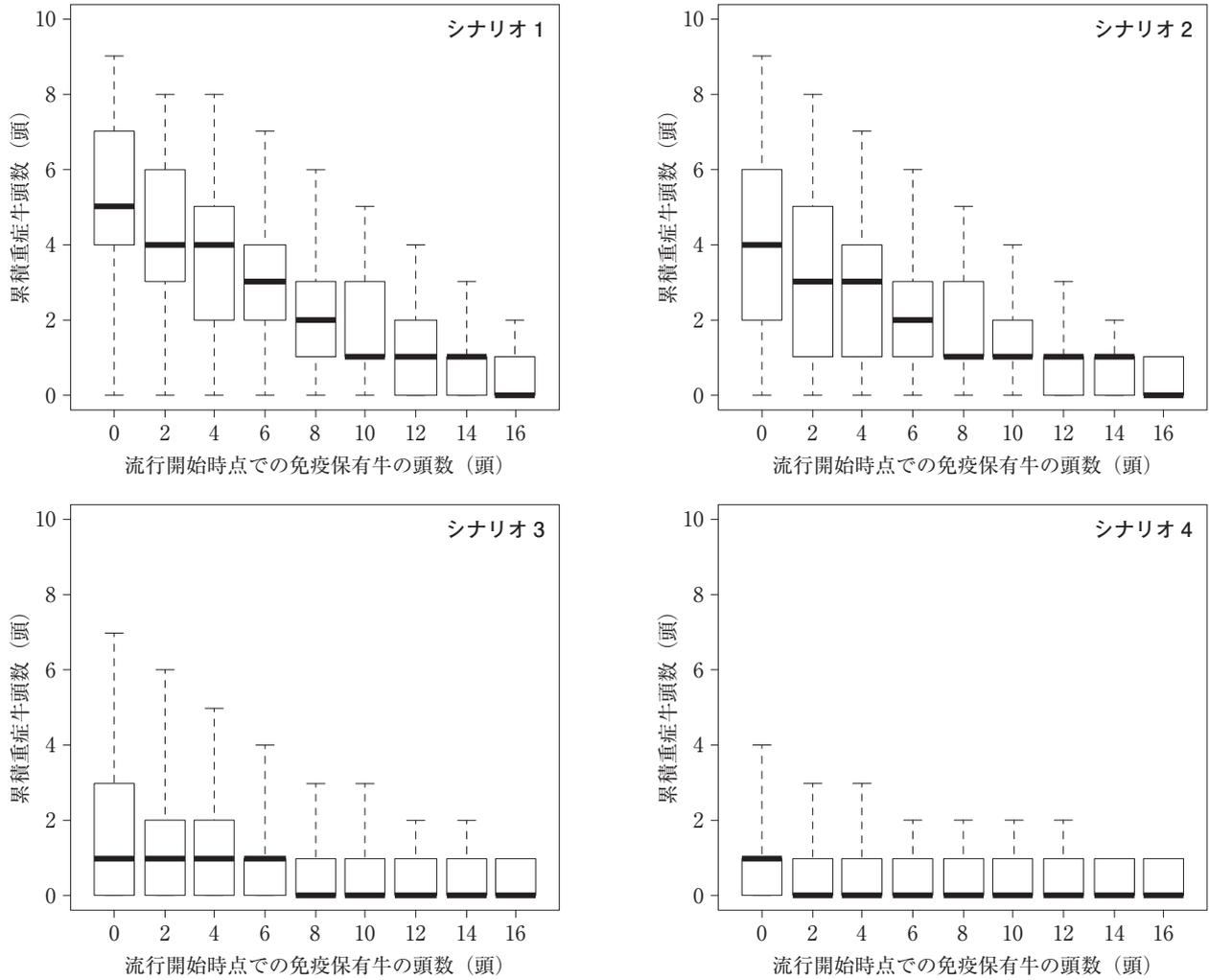


図3 確率論的シミュレーションによる牛コロナウイルス病の防疫対策の評価結果
 シナリオ 1：隔離を実施しない
 シナリオ 2：重症牛のみ発症後 12 時間で隔離
 シナリオ 3：発症牛すべてを発症後 24 時間で隔離
 シナリオ 4：発症牛すべてを発症後 12 時間で隔離
 牛群の規模：18 頭
 箱ひげ図のひげ下端，箱下端，太線，箱上端，ひげ上端：2.5，25，50，75，97.5 パーセントイル

予測された。小規模群における解析では統計的揺らぎが大きく発生するため、確率論的な解析を用いて期待値だけでなく値の分布を得る必要がある。数十から数百頭の群は小規模群に当たるため、一般的な規模の農場においては確率論的な解析が必要と考えられた。

以上より、数理モデルを用いることで BCoV 病の流行防止に必要な免疫保有割合と、発症から隔離までの時間が明示され、感染症防疫対策の評価における数理モデルの有用性が示されたと考えられた。今後、畜産振興及び獣医学発展のため、数理モデルを用いた解析がさらに多くの感染症に応用されることが求められる。

稿を終えるに当たり、流行事例の調査にご協力いただいた農家の皆さまとみなみ北海道農業共済組合 藤井健人獣医師に感謝する。

引用文献

[1] 菅野 徹：牛コロナウイルス感染症とその予防対策, 家畜診療, 60, 459-464 (2013)
 [2] Saif LJ : Bovine respiratory coronavirus, Vet Clin N Am-Food A, 26, 349-364 (2010)
 [3] 早山陽子, 山本健久, 筒井俊之：口蹄疫の汎用型伝播シミュレーターの開発, 獣医学雑誌, 22, 93-101 (2018)
 [4] 榊原伸一, 菅野 宏, 立花 智：ヨーネ病が牛飼養農場に与える損失の評価, 家畜衛生学雑誌, 42, 173-180 (2017)
 [5] 山本健久, 早山陽子, 筒井俊之：数理モデルを用いたエボラウイルス感染症の流行の解析, 獣医学雑誌, 19, 48-54 (2015)
 [6] Ihaka R, Gentleman R : R: A Language for data analysis and graphics, J Comput Graph Stat, 5, 299-314

- (1996)
- [7] Watanabe S : Asymptotic equivalence of Bayes cross validation and widely applicable information criterion in singular learning theory, *J Mach Learn Res*, 11, 3571-3594 (2010)
- [8] Nishiura H, Oshitani H, Kobayashi T, Saito T, Sunagawa T, Matsui T, Wakita T, MHLW COVID-19 Response Team, Suzuki M : Closed environments facilitate secondary transmission of coronavirus disease 2019 (COVID-19), *medRxiv*, (2020), (online), (<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.28.20029272v1.full.pdf>), (accessed 2020-03-19)
- [9] Laegreid WW, Keen JE : Estimation of the basic reproduction ratio (R_0) for Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 (STEC O157) in beef calves, *Epidemiol Infect*, 132, 291-295 (2004)
- [10] Ster IC, Dodd PJ, Ferguson NM : Within-farm transmission dynamics of foot and mouth disease as revealed by the 2001 epidemic in Great Britain, *Epidemics*, 4, 158-169 (2012)
- [11] Tuncer P, Yeşilbağ K : Serological detection of infection dynamics for respiratory viruses among dairy calves, *Vet Microbiol*, 180, 180-185 (2015)
- [12] Workman AM, Kuehn LA, McDaneld TG, Clawson ML, Loy JD : Longitudinal study of humoral immunity to bovine coronavirus, virus shedding, and treatment for bovine respiratory disease in pre-weaned beef calves, *BMC Vet Res*, 15, 161(2019), (online), (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6532244/pdf/12917_2019_Article_1887.pdf), (accessed 2020-03-19)

Evaluation of Within-farm Transmission Dynamics of Bovine Coronavirus Disease Using a Mathematical Model

Shinichi SAKAKIBARA[†], Kiyoe JINMA and Hiroaki HANEDA

**Hokkaido Ishikari Livestock Hygiene Service Center, 3 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo, 062-0045, Japan*

SUMMARY

We analyzed the within-farm transmission dynamics of bovine coronavirus disease (BCoVD) using a mathematical model and evaluated the vaccination coverage (VC) and outbreak prevention effect of isolation of symptomatic cattle. The estimated basic reproduction number (R_0) were 8.00 (3.15-16.0) and VC values were 0.875 (0.682-0.937). The stochastic simulation predicted that isolating all symptomatic cattle, including mild symptomatic cattle, within 12 hours of onset prevents BCoV outbreaks. In contrast, the stochastic simulation predicted that when mild symptomatic cattle were not isolated, BCoV outbreaks could not be successfully controlled.

— Key words : basic reproduction number, bovine coronavirus disease, isolation, mathematical model, vaccine coverage.

[†] *Correspondence to : Shinichi SAKAKIBARA (Hokkaido Ishikari Livestock Hygiene Service Center)*

3 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo, 062-0045, Japan

TEL 011-851-4779 FAX 011-851-4780 E-mail : sakakibara.shinichi@pref.hokkaido.lg.jp

—*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 74, 175 ~ 180 (2021)