

精巢処理液を用いたPRRSウイルス遺伝子検査

湘南家畜保健衛生所

塚 歩知 安井 嘉代子
宮崎 章子 池田 知美
久末 修司

はじめに

豚繁殖・呼吸障害症候群（以下PRRS）はPRRSウイルスを原因とする届出伝染病であり、母豚での妊娠後期の死流産、子豚の呼吸障害、発育不良に加え、免疫力の低下に伴う二次感染も問題となり、農場内で伝播・拡大・常在化することで経済的損失に直結する。

当所管内の一地域において、平成30年度よりPRRS対策を家保主導のもと地域全体で取り組んでおり、口腔液を用いた遺伝子検査によるモニタリングを進めてきた。今年度より新たに去勢睾丸から得られる浸出液（以下精巢処理液）を用いた遺伝子検査を実施したため、その概要を報告する。

昨年度までの取り組み

当該地域では、地域内の養豚農場全8戸及びJAからなる養豚部会・家保・市・管理獣医師を構成とする地域連絡疾病対策連絡会を設立し、平成30年度よりPRRSの清浄化に向けて取り組んできた。

はじめに農場のバイオセキュリティレベルの客観的評価、口腔液を用いた遺伝子検査によるウイルスの浸潤状況確認検査を行い、母豚へのワクチン接種を開始した。同時に注射針の適切な使用、一般衛生管理の徹底について指導し、母豚の免疫安定化を目指した。

次に離乳舎以降の清浄化の進捗を把握するためのモニタリング検査を実施した。モニタリング検査は30、60日齢の離乳豚について口腔液をプールし、計2検体を隔月で遺伝子検査に供した。また半年に1回90日齢についても同様に検査を実施した。

取り組みを進めた結果、平成30年度の浸潤状況調査では66検体中59検体で陽性（89.4%）となり、高い陽性率を示していたが、令和4年度のモニタリング検査では108検体中14検体で陽性

(13.0%) となり陽性率は大きく低下した (表 1) ¹⁾。

表 1 口腔液を用いた遺伝子検査結果 (平成 30～令和 4 年)

農場	日齢群	H30			R1						R2						R3						R4						
		浸潤状況 確認検査	10・ 11月	12・ 1月	2・ 3月	4・ 5月	6・ 7月	8・ 9月	10・ 11月	12・ 1月	2・ 3月	4・ 5月	6・ 7月	8・ 9月	10・ 11月	12・ 1月	2・ 3月	4・ 5月	6・ 8月	8・ 9月	10・ 11月	12・ 1月	2・ 3月	4・ 5月	6・ 7月	8・ 9月	10・ 11月	12・ 1月	2・ 3月
A	30	(+)	(+)	(+)																									
	60	(+)	(+)	(+)			(+)	(+)	(+)													(+)	(+)						
	90	(+)	(+)				(+)								(+)							(+)							
B	30	(+)	(+)				(+)								(+)														
	60	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)					(+)	(+)	(+)						(+)									
	90	(+)	(+)	(+)			(+)						(+)																
C	30	(+)	(+)				(+)							(+)															
	60	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)						(+)	(+)														
	90	(+)	(+)	(+)			(+)		(+)																				
D	30	(+)	(+)																		(+)								
	60	(+)	(+)						(+)																				
	90	(+)	(+)	(+)			(+)																						
E	60～150		(+)	(+)																									
F	30	(+)	(+)	(+)			(+)					(+)																	
	60	(+)	(+)	(+)			(+)								(+)	(+)	(+)	(+)											
	90	(+)	(+)	(+)			(+)								(+)														
G	30	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)					(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)			(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
	60	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
	90	(+)	(+)	(+)			(+)					(+)												(+)				(+)	
H	30	(+)	(+)																										
	60	(+)	(+)	(+)			(+)	(+)																					
	90	(+)	(+)	(+)			(+)																					(+)	

(+) 陽性 陰性 実施せず

この結果を受け、令和 5 年 1 月の地域養豚部会で今後の取り組み方針について検討した結果、母豚の免疫状態をよりより確実に把握したいとの要望があった。

この要望に対し当所から精巣処理液を用いた遺伝子検査を提案した。これは子豚去勢時に得られる辜丸から精巣処理液を採材し、遺伝子検査の検体とする方法で、PRRS ウイルスがマクロファージ系の細胞、精巣では特に精巣上皮細胞で増殖する本ウイルスの性質を利用したものである ³⁾。

子豚における感染状況を把握することで間接的に母豚の免疫状態を把握することができ、また採材手順を各農家の業務に組み込むことができるため、採血を実施する場合と比較し子豚に不必要な負担を与えることなく採材することができることを説明したところ、部会員の同意が得られたため令和 5 年度の取り組みとして実施することとなった。

材料および方法

1 検査材料

肥育農場を除いた 7 農場において、各母豚 3 頭から産出した子豚 2 頭分の辜丸、計 6 頭分をプー

ル（図1）し、農場規模によって1回当たり1〜3検体を回収。採材期間は農場ごとに異なるが2〜4か月間とし、隔週で採材した。

睾丸は検査時まで冷凍保存し、凍結融解した浸出液（写真1）を検体とした。

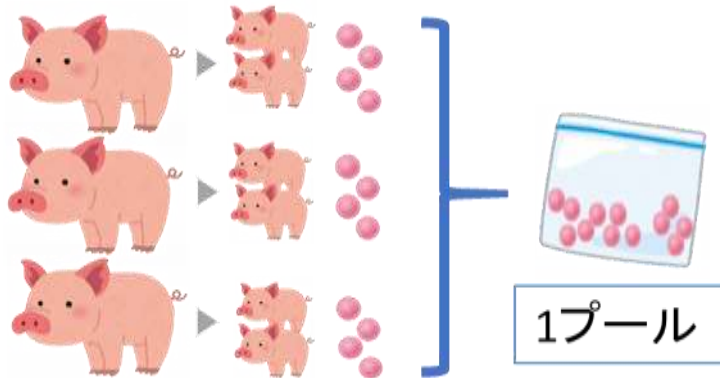


図1 検査材料プール方法



写真1 得られた浸出液

2 検査方法

上記検体を用いて、RT-PCR法によるPRRSウイルス遺伝子検索を実施した。標的遺伝子はORF6-7領域とした²⁾。

結果・考察

肥育農場であるE農場を除いた7戸、96検体で検査を実施したところ、4検体で陽性、92検体で陰性となった。陽性となったのはいずれもG農場の検体であった（表2）。

表2 精巢処理液を用いた遺伝子検査結果

農場名	検体 No.	検査回数							
		1	2	3	4	5	6	7	8
A	①	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	②	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
B	①	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	②	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	③	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
C	①	実施せず	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	②	実施せず	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	③	実施せず	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
D	①	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	②	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
F	①	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	②	実施せず	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
G	①	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性 (+)	陽性 (+)	陰性	陰性
	②	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性 (+)	陰性	陽性 (+)	陰性
H	①	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性

(+) 陽性 陰性 実施せず

精巢処理液を用いた遺伝子検査の結果で陽性が認められた G 農場では母豚の免疫安定化が達成されておらず、分娩舎での感染が継続していることが示された。また G 農場は口腔液を用いた遺伝子検査において陽性が継続して確認されていた。

このことから今回の検査で陰性となった 6 戸の農場では母豚の免疫安定化が達成されていることが推察された。一方で、検査陽性であった G 農場は母豚の免疫安定化が達成されておらず、このことが農場内の PRRS ウイルスの常在化に影響していると推察された。

G 農場は飼養頭数 2,000 頭の一貫経営農場で、同地域内の H 農場から陰性候補豚を導入している。導入後の隔離期間は 1 か月と短く、また繁殖豚の PRRS ワクチン接種を行っているが、一斉接種ではなく分娩時期に合わせた個体ごとの接種となっている。これらのことから母豚における免疫状態のばらつきが生じ、母豚の免疫安定化が達成されていないと推察された。

今後の改善方針として以下のような対策が考えられた。

- ① 候補豚の隔離期間を延長して免疫を獲得した状態で母豚として採用する。
 - ② ワクチンの接種頻度の増加もしくは一斉接種による免疫のばらつきの是正
 - ③ 精巢処理液を用いた遺伝子検査による母豚免疫状態の確認の継続
- 上記対策について管理獣医師と相談のうえ指導していく。

まとめ

今年度より新たな取り組みとして実施した精巢処理液を用いた遺伝子検査によって、母豚の PRRS ウイルスに対する免疫状態が確認できた。また、その結果を PRRS ウイルスが常在化した農場における指導の指標とすることができた。

精巢処理液を用いた遺伝子検査と、従来の口腔液を用いた遺伝子検査を組み合わせることは、各発育ステージにおける感染状況や免疫状態の把握に有用であり、各農場における問題点をより正確に把握するための有効な手段であることが分かった。今後もこの検査法を活用することで養豚農家への効果的な指導の一助としていく。

引用文献

- 1) 飯島 智大：神奈川県令和 3 年度家畜保健衛生業績発表会集録，15-20(2022)
- 2) Kono Y, et al：J. Vet. Med.Sci. 58:941 - 946(1996)

3) Lopez WA, Angulo J, Zimmerman JJ, et al : J Swine Health Prod, 26(3):146-150(2018)