

資料

流産を主徴とした PRRS の発生例

石関紗代子¹⁾、石川弘道¹⁾、井関 博²⁾、高木道浩²⁾、久保正法³⁾

(1) (有)サミットベテリナリーサービス、2) 動物衛生研究所ウイルス・疫学研究領域、3) 元動物衛生研究所)

Ishizeki, S., Ishikawa, H., Iseki, H., Takagi, M. and Kubo, M. (2012).

A case study of abortion caused by Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus.

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 59, 19-24.

キーワード：豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS)、流産、繁殖障害

はじめに

豚繁殖・呼吸障害症候群 (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome: PRRS) は、繁殖障害と呼吸器障害を主徴とするウイルス性伝染病である。本疾病は1987年に米国で初めて報告されて以来、多くの国で発生し、世界中の養豚産業に甚大な被害を与えている¹⁾。わが国における本病の発生は1989年頃から全国的に目立つようになり、その経済的被害総額は年間283億円と試算されている^{6,13)}。

PRRS ウイルスには様々な遺伝学的系統の株が存在する⁷⁾。日本国内における流行株は大部分が北米での流行株に類似するとされているが¹⁴⁾、近年、その多様性がさらに広がっているという報告がある⁴⁾。一度 PRRS ウイルスに感染して回復した豚は、同一株への再感染には十分な防御免疫を獲得するものの、異なる株に対してはその防御免疫の程度に差が出る⁸⁾。このように、PRRS ウイルスの株間に遺伝学的な差異があることが、本疾病のコントロールを難しくしている要因の一つになっていると考えられる⁸⁾。

著者は2009年、一貫生産の養豚場において PRRS ウイルスを原因とする大規模な繁殖障害の発生を経験した。本稿では、その発生時の状況・対策・結果について報告し考察する。

発生農場概要

当該農場は、母豚800頭を飼育する一貫生産の農場である。繁殖豚群に年3回オーエスキー病ワクチンを接種しており、一部の母豚にのみ野外ウイルス抗体が確認されていた。繁殖用更新雌豚は自家育成を行っており、これら更新雌豚は育成期から隔離豚舎で飼養し、

PRRS ウイルス生ワクチン (インゲルバック® PRRS 生ワクチン) およびオーエスキー病生ワクチン (ポーシリス Begonia DF)、豚パルボウイルス感染症ワクチン (豚パルボワクチン “カケツケン”)、PCV (豚サーコウイルス) ワクチン (インゲルバック® サークフレックス)、日本脳炎ワクチン (日生研日本脳炎生ワクチンおよび日生研日本脳炎 TC 不活化ワクチン) を接種していた。

繁殖候補豚は、これらのワクチンを接種後、初回交配前に PRRS ウイルス抗原検査 (PCR 法) および PRRS ウイルス抗体検査 (IDEXX 社製 ELISA キット)²⁾、そしてオーエスキー病ウイルス抗体検査 (IDEXX 社製 ELISA キット) を実施していた。その結果、PCR 法による PRRS ウイルス抗原陰性と ELISA 抗体陽性が確認され、且つ、オーエスキー病のワクチン抗体の獲得を確認できた豚のみを繁殖豚舎に導入し、繁殖に供していた。なお、繁殖候補豚以外への PRRS ウイルス生ワクチンの接種は行っていなかった。

発生状況

2009年11月下旬に母豚10頭の流産が起こった。その後12月4日～12日の9日間で33頭の妊娠母豚が流産した。さらに、5頭が早産、6頭が死産子豚と生存子豚を娩出する異常産を起こした。また、4頭の母豚は分娩予定日8日前から予定日2日後にかけて、全頭死産の子豚を娩出し、その直後に死亡した。流産は妊娠後期の胎齢90日前後の妊娠母豚で最も多く起こり、妊娠前期での発生は比較的少なかった (図1)。2009年12月の流産、早産、異常産の合計腹数は60腹に上った (図2)。

母豚の症状としては、発熱 (39.8～41.1℃)、食欲不振が認められた。重症例では全身にチアノーゼが認められた。チアノーゼは耳翼、下顎から腹部・臀部にかけて顕著であった (図3)。母豚に咳などの呼吸器症状



図1 流産胎子（胎齢90日前後）

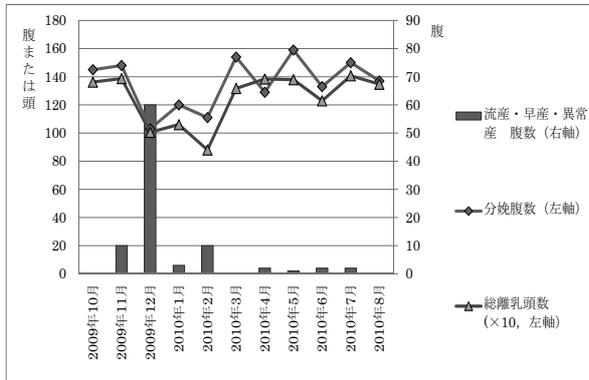


図2 繁殖成績の推移



図3 母豚の全身のチアノーゼ（耳翼、下顎から腹部・臀部にかけて顕著）

は観察されなかった。さらに、流産や早産を起こさなかったその他の妊娠母豚にも、発熱と食欲不振の症状が観察された。

これらの繁殖障害の影響で正常分娩腹数および生存産子数が減少したこと、また生存子豚の中にも虚弱が多く、哺乳期に死亡および淘汰となる頭数が多かったことにより、1カ月間の総離乳子豚頭数が減少した。通常時（繁殖障害の発生前）には、1カ月間の総離乳子豚頭数は1300頭以上を維持していたが、繁殖障害の発生以降の12月には1005頭、1月には1060頭、2月には880頭と減少した（図2）。

検査方法と結果

1) 病理検査

分娩予定日3日前に早産した3産目の死亡母豚の、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、扁桃、脳、卵巣および子宮を採材した。これらのホルマリン固定材料を用いて病理組織学的検査を行ったところ、脳に非化膿性髄膜炎が認められた。また、早産母豚（11頭中5頭が死産）から娩出された生存子豚のうち、出生時より沈鬱を示していた4日齢の子豚1頭の、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、扁桃、リンパ節、胃、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、結腸および脳のホルマリン固定材料を用いて病理組織学的検査を行ったところ、肺にPRRSの特徴病変である肺胞中隔の肥厚が認められ（図4）、脳には強

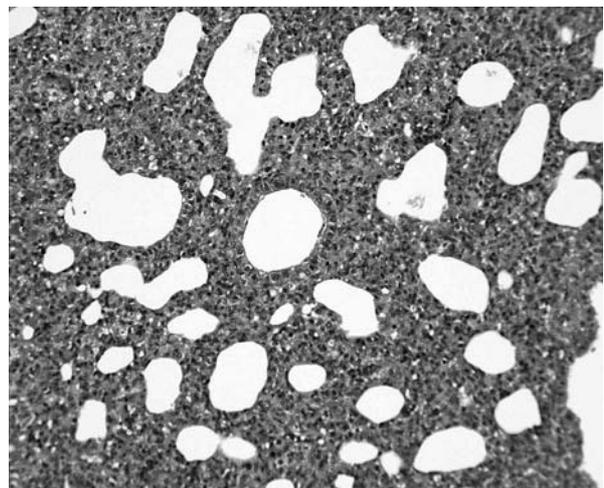


図4 感染子豚肺の組織所見（肺胞中隔の肥厚が顕著）HE染色、200倍

い非化膿性髄膜炎が認められた。これらの肺および脳組織について抗PRRSウイルス抗血清を用いた免疫組織学的検査法を行ったところ、PRRSウイルス特異的抗原が病変部に検出された。また、細菌感染を示唆する病理組織学的所見は確認されなかった。

2) 抗体検査

豚インフルエンザウイルス感染の可能性を検証するため、流産した母豚1頭について、流産直後とその21日後のペア血清（非特異反応除去処理済み）により、H1N1 インフルエンザウイルスの抗原を用いた赤血球凝集抑制試験（HI 試験）を実施して抗体価を調べたところ、流産直後で20倍未満、流産21日後で20倍であった。また、母豚4頭について、流産および発熱の症状を示してから18日後の血清を用いて同様の HI 試験を行ったところ、抗体価は3頭が20倍未満、1頭が80倍であった。

また、繁殖障害の発生から3週間後に採取した母豚群の血清を用いて、PRRS ウイルス抗体検査（IDEXX 社製 ELISA キット）を実施した。

3) 抗原検査

流産直後に採血した母豚2頭の血清について、甲野らにより報告されたプライマーセットを用いた PCR 法による抗原検査を実施したところ⁵⁾、PRRS ウイルスの遺伝子断片が検出された。また、発熱および食欲不振を示していた母豚3頭の血清からも、PCR により PRRS ウイルスの遺伝子断片が検出された。この3頭の母豚のうち1頭は、発熱が確認されてから2日後に流産した。

病理検査に供した2頭（早産母豚および早産子豚）の、扁桃、肺、肺門リンパ節の組織材料からも、PCR

法により PRRS ウイルスに特異的な遺伝子が検出された⁵⁾。これらのウイルス遺伝子の Open Reading Frame 5 (ORF5) の遺伝子配列を解析したところ、北米型（クラスターⅢ）に分類された¹⁴⁾。早産母豚と早産子豚の組織材料、そして流産した母豚の血清から分離された PRRS ウイルスの遺伝子相同性は、すべて100%であった。

また、流産胎子3頭（胎齢88日、胎齢91日、胎齢98日）の臍帯、肝臓、肺および腎臓を用いて PCR 法を行ったところ、PRRS ウイルス、PCV2、オーエスキー病ウイルス、レプトスピラのいずれの遺伝子も検出されなかった。

当農場に従来循環していた既存株の遺伝子情報を得るため、流産が発生した時期に、繁殖豚舎から50メートルほど離れた離乳舎で、腹式呼吸を示していた50日齢の子豚4頭の血清を採取して PCR 法を行ったところ、4頭すべてから PRRS ウイルスに特異的な遺伝子が検出された。これらの遺伝子の ORF5 の遺伝子配列を解析したところ、同様にクラスターⅢに分類されるウイルスであることが確認された。これらを、繁殖障害発生前（2009年10月13日）に離乳舎の子豚から採取されていたウイルス株と比較したところ、高い遺伝子相同性を示した（97~99%）。

これら離乳舎で採取されたウイルス株（農場既存株）と、今回の流産母豚および子豚から分離されたウイルス株の遺伝子相同性は95%であった（図5）。

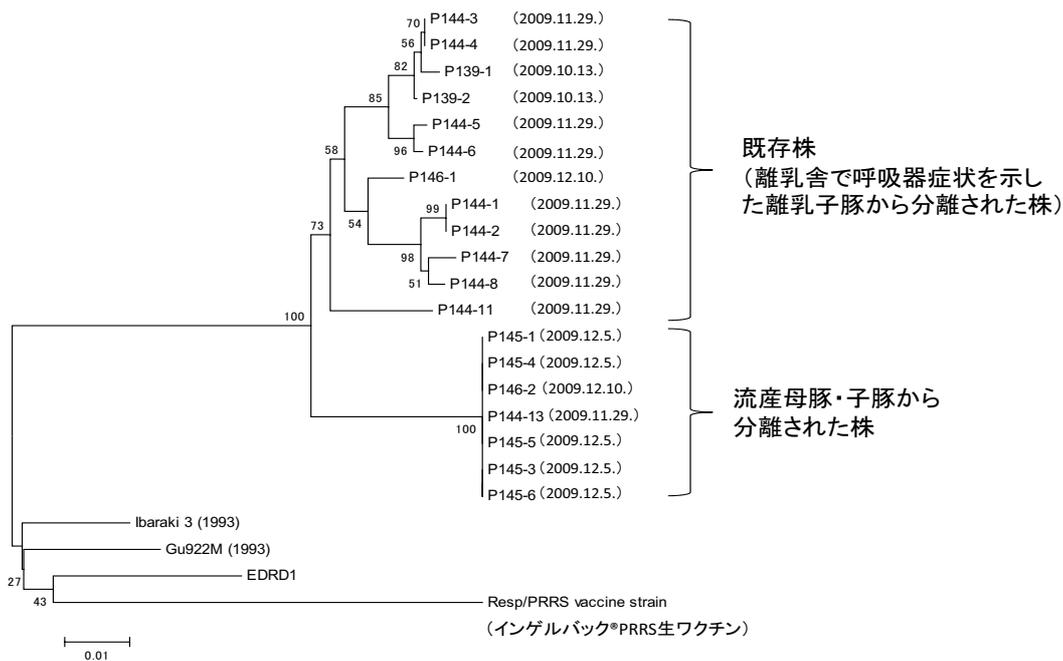


図5 PRRS ウイルス遺伝子系統樹 (カッコ内は採材日)

4) 統計学的解析

今回の繁殖障害が発生する10カ月前に採取した母豚群の血清を用いたPRRSウイルス抗体検査(IDEXX社製ELISAキット)のS/P比と、繁殖障害発生3週間後に採取した血清を用いたPRRSウイルス抗体検査のS/P比に対し、t検定を用いて統計的有意差を検定した。同様に母豚群全体、低産歴(1~4産)群および高産歴(5産以上)群の繁殖障害発生前後のS/P比に対して、t検定を用いた検定を行った。

その結果、繁殖障害発生後の母豚群のPRRS ELISAのS/P比は、発生前と比べて有意に上昇していた($P < 0.05$)。これを産歴別に分析した結果、低産歴の母豚群においては抗体価の有意な変化は認められなかったが、高産歴の母豚群における抗体価は、繁殖障害発生後で有意に上昇していた($p < 0.01$) (図6)。

対策と結果

1) ワクチン接種

農場内のすべての雌種豚に対し、一齐にPRRS生ワクチン(インゲルバック® PRRS生ワクチン)の接種を行った。初回のワクチン接種は2009年12月12日に実施した。さらに2010年2月に2回目の一齐接種を行い、以降は3カ月ごとに一齐接種を継続した。

2) 薬剤投与

PRRSウイルスの胎盤感染および母豚から子豚への細菌性二次感染・伝播の低減を目的とし^{11,12)}、2009年12月21日以降、アイプロシン50ppm、ベンジルペニシリンプロカイン4000万U、カナマイシン120ppmを授乳期用飼料に添加した。

3) 衛生管理対策

哺乳期および離乳後の子豚について、腹式呼吸をはじめとする臨床症状を示した個体の早期淘汰を行った。

さらに、農場外から病原体を持ち込まないために、出荷車両の洗浄消毒を強化した。PRRSの発生以前は、出荷後、と畜場を出る前に一度車両全体を水洗し、その後農場敷地内に入る前にタイヤのみを水洗していた。しかし、今回の発生を受けて農場敷地内に入る前にタイヤを含めた車両全体の洗浄消毒を行うように変更した。消毒薬には、第四級アンモニウム塩を用いた。同時に、消毒後の車両の乾燥期間をできる限り長く設定した³⁾。また、出荷車両の運転手が出荷後に農場内に立ち入る場合には、必ずシャワーを浴びて清潔な衣服に着替えることを徹底した。

また、水平感染を防ぐために、分娩舎で哺乳子豚の里子を行わないこととし、種豚へ注射を行う際には1

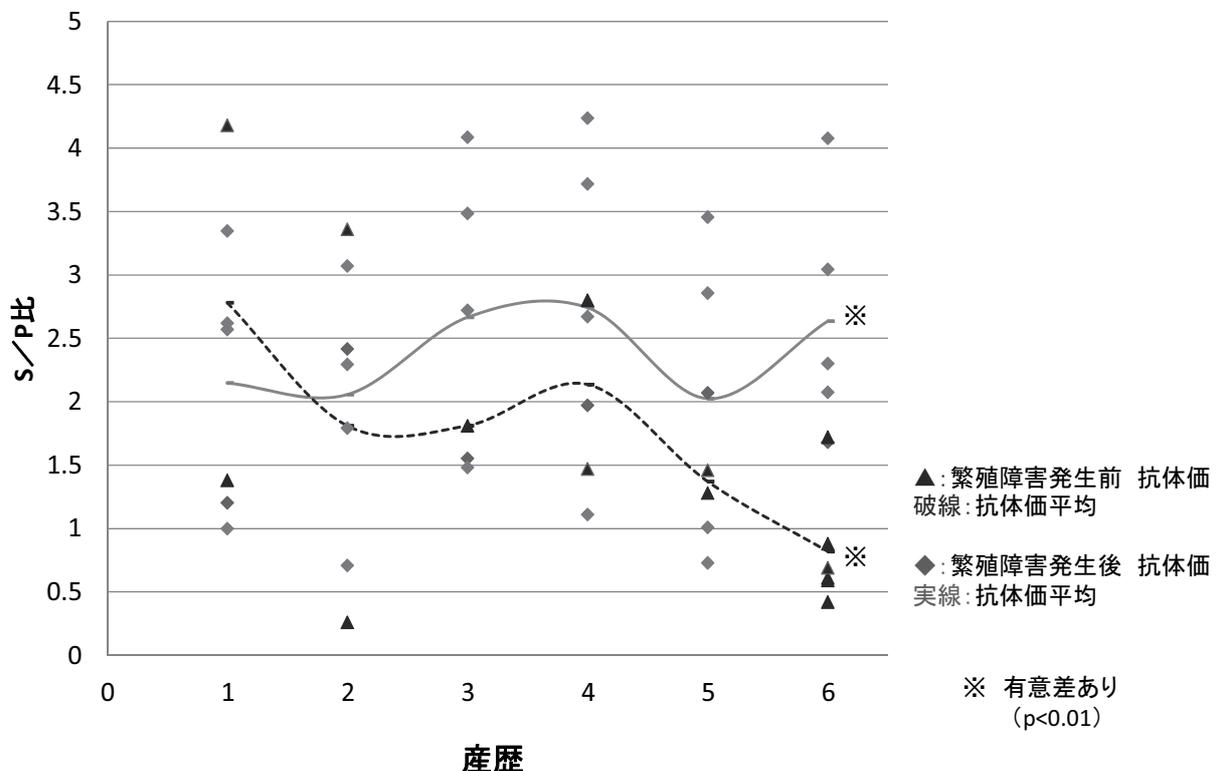


図6 母豚群のPRRS ELISA抗体価の推移

頭ごとに針を交換することを徹底した⁹⁾。

4) 結果

2010年1月以降に流産、早産を起こした母豚の腹数は、1月3頭、2月10頭と推移し、3月には認められなくなった(図2)。

また、1カ月間の総離乳子豚頭数は12月に1,005頭となり、対策後もしばらく悪化を続けたが、3月以降には繁殖障害発生前とほぼ同水準の1カ月間で1,300頭以上の総離乳子豚頭数を維持するようになった(図2)。

考察

著者らが今回経験した流産を主徴とした繁殖障害は、臨床疫学所見、病理学的検査および抗原検査結果から、PRRSと診断された。ペア血清における抗体価の比較、そして流産18~21日後の母豚の抗体価より、豚インフルエンザによる繁殖障害が起こった可能性は低いと判断された。さらに、レプトスピラ、PCV2、オーエスキー病ウイルスについては抗原検査結果が陰性であったことから、これらの病原体の関与は否定された。

今回、早産の母豚および子豚から分離されたPRRSウイルスは日本で一般的にみられる北米型(クラスターⅢ)に分類された⁴⁾。繁殖障害発生のおよそ10カ月前に実施した母豚群の定期抗体検査結果では、産歴の高い母豚でELISAによるS/P比が低い傾向にあったことから(図6)、それまでの繁殖豚群にはPRRSウイルスへの暴露が頻繁には起こっていなかった可能性が示唆された。

また、繁殖障害の発生期間中に離乳舎で呼吸器症状を示していた子豚から分離されたPRRSウイルスと、それ以前に離乳舎の子豚から分離されていた株との遺伝子相同性が高かったことから、離乳舎内では農場既存のPRRSウイルス株が、引き続き循環していたと考えられた。一方、これら農場既存株と、早産の母豚・子豚から分離されたウイルス株は、株間の相同性が95%であり、同時期に同農場から分離されたウイルスとしては、遺伝学的に近いとは言えなかった。

以上の検査成績を総合すると、今回の繁殖障害は、以前から農場に存在していた株とは異なるPRRSウイルス株が、新しく繁殖豚舎に侵入したために引き起こされたと推察された。複数の流産母豚および流産子豚から分離されたPRRSウイルス株の遺伝子相同性はすべて100%であったことから、このウイルス感染は短期間のうちに繁殖豚群内に広がったと推測された¹⁾。し

かしながら、この新たなウイルス株の侵入ルートを特定することはできなかった。

今回、PRRSによる繁殖障害への対策として、PRRS生ワクチンの雌種豚への一斉接種を行った。その後、流産、早産の発生頭数は減少した。これはワクチン接種により母豚群のPRRSウイルスに対する十分な免疫が付与されたためであると考えられる。PRRSを原因とする繁殖障害が発生している場合に、飼養管理の改善対策と併用してPRRS生ワクチンを使用することは、今回の症例については有効であったと考えられる。

本症例のようにすでにPRRS陽性である農場においても、新たなPRRSウイルス株が侵入した場合には、大きな被害をもたらす可能性がある。

謝辞

本症例の対策に当たり、終始適切なお指導ご助言を賜りました大竹聡先生(スワイン・エクステンション&コンサルティング)ならびに、統計学的解析についてご指導いただきました山根逸郎先生(動物衛生研究所)、そして検査を実施していただいた財化学及血清療法研究所の皆様へ深く感謝いたします。

引用文献

- 1) Chang CC, et al. (2002) Evolution of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus during Sequential Passages in Pigs. *J Virol*, 76: 4750-4763.
- 2) Christopher-Hennings J, et al. (1995) Detection of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in Boar Semen by PCR. *J Clin Microbiol*, 33: 1730-1734.
- 3) Dee SA (2004) An experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs. *Can J Vet Res*, 68: 128-133.
- 4) Iseki H, et al. (2011) Genetic analysis of ORF5 in porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan. *Microbiol Immunol*, 55: 211-216.
- 5) Kono Y, et al. (1996) Nested PCR for Detection and Typing of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus in Pigs. *J Vet Med Sci*, 58: 941-946.
- 6) 村上洋介 (1994) 我が国におけるPRRSの浸潤状

- 況と分離ウイルスの性状. 豚病会報, 24: 6-9.
- 7) 村上洋介 (2002) 豚繁殖・呼吸障害症候群. 清水悠紀臣ら編 動物の感染症 初版, p215-216, 研友社印刷株式会社, 東京.
 - 8) Neumann EJ, et al., eds (2009) Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS). Swine Disease Manual. 4th ed. p65-68, American Association of Swine Veterinarians, USA.
 - 9) Otake S, et al. (2002) Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by needles. Vet Rec. 26: 114-115.
 - 10) 清水実嗣 (1999) 豚繁殖・呼吸障害症候群. 柏崎守ら編 豚病学 第4版, p237-244, 近代出版, 東京.
 - 11) Stuart AD, et al. (2007) Intra-cellular accumulation and trans-epithelial transport of Aivlosin, Tylosin and Tilmicosin. The Pig Journal, 60: 26-35.
 - 12) Stuart AD, et al. (2008) Tylvalosin, a macrolide antibiotic, inhibits the in-vitro replication of European and American Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus (PRRS) viruses. The Pig Journal, 61: 42-48.
 - 13) 山根逸郎ら (2009) PRRS の発生に関わる呼吸器疾患および繁殖障害などによる経済的な損失調査 (アンケートを用いた疫学調査と全国の被害損額の推定). 豚病会報, 55: 33-37.
 - 14) Yoshii M, et al. (2004) Polymerase chain reaction-based genetic typing of Japanese porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. J Vet Diagn Invest, 16: 342-347.