

死産子における豚サーコウイルス2型(PCV2)の検出及び母豚用PCV2不活化ワクチン(サーコバック(R))投与による効果

| | |
|-------|---|
| 誌名 | 日本豚病研究会報 |
| ISSN | 09143017 |
| 著者名 | 杉山,美樹 古井丸,広行 中西,信夫 塚原,隆充 柴,成宏 小野,恵利子 木下,現 |
| 発行元 | 日本豚病研究会 |
| 巻/号 | 60号 |
| 掲載ページ | p. 21-24 |
| 発行年月 | 2012年8月 |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



資料

死産子における豚サーコウイルス 2 型 (PCV2) の検出及び
母豚用 PCV2 不活化ワクチン (サーコバック®) 投与による効果

杉山美樹¹⁾、古井丸広行¹⁾、中西信夫²⁾、塚原隆充³⁾、柴 成宏¹⁾、小野恵利子¹⁾、木下 現¹⁾

(¹⁾メリアル・ジャパン株式会社、²⁾株式会社京都動物検査センター、³⁾株式会社栄養・病理学研究所)

Sugiyama, M., Koimaru, H., Nakanishi, N., Tsukahara, T., Shiba, M., Ono, E. and Kinoshita, G. (2012). Evaluation of efficacy of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on reproduction based on detection of PCV2 from stillborn piglets. *Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* 60, 21-24.

キーワード：豚サーコウイルス 2 型 (PCV2)、繁殖雌豚、繁殖指標低下、ワクチン

はじめに

豚サーコウイルス 2 型関連疾病 (PCVAD) は豚サーコウイルス 2 型 (PCV2) の感染に起因し、進行性の発育障害を主徴とする離乳後多臓器性発育不良症候群 (PMWS) が代表的な病態である。PMWS は離乳後事故率の増加という形で顕在化し、この対処法の一つとして PCV2 不活化ワクチンが用いられている。市販されている PCV2 ワクチンには母豚に投与して初乳を介した受動免疫により子豚を防御する母豚用ワクチンと、子豚に直接投与して能動免疫を誘導する子豚用ワクチンがあり、いずれも PCV2 感染による死亡率や増体重低下の改善等を効能又は効果として謳っている。

一方、PCV2 は豚の繁殖障害にも関与していることが野外からの症例で報告されている¹⁾。PCV2 は水平伝播の他、母豚から胎子への垂直感染が証明されており⁴⁾、PCV2 の実験感染によって繁殖障害が引き起こされることが確認された¹⁾。また、繁殖雌豚への PCV2 ワクチン使用実績が増えていくにつれ、受動免疫による子豚に対する効果のみでなく、母豚の繁殖成績が改善される例が報告されている²⁾。そこで、我々は雌豚の繁殖障害への PCV2 の関与について検討するため、PCV2 陽

性農場で出生時に斃死が確認された死産子から PCV2 の検出を試みるとともに、母豚用 PCV2 ワクチン (サーコバック®) の PCV2 による繁殖障害に対する効果について検討した。

試験農場概要及び割り付け

繁殖雌豚あるいは子豚から PCV2 が検出され、過去 1 年間の離乳後事故率が約 14~21% で、その内 PCVAD と考えられる事故率が約 10~15% であった一貫経営の国内 2 農場 (農場 A: 母豚数約 250 頭及び農場 B: 母豚数約 1400 頭) で試験を実施した。当該農場はいずれも PCV2 ワクチンを接種していない農場であった。供試豚 245 頭を農場 A 及び B にそれぞれ 64 頭及び 181 頭ずつ農場規模に応じて割り付け、各農場で試験群及び陰性対照群が同数になるように繁殖雌豚 (母豚及び繁殖候補雌豚) を振り分けた (表 1)。ただし、母豚は直近の分娩日に偏りがないようにし、繁殖候補雌豚は妊娠鑑定により 1 回の交配で妊娠しなかったと判断されたものは妊娠鑑定以降除外した。サーコバックを用法及び用量に従って、母豚には分娩前に 2 回、繁殖候補雌豚には交配前 2 回及び分娩前 1 回の計 3 回接種したものを試験群とし、無投与のものを陰性対照群とした。

表 1 供試豚の割り付け

| | 農場 A | | 農場 B | | 計 |
|-------|---|----------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|
| | 母豚 | 繁殖候補雌豚 | 母豚 | 繁殖候補雌豚 | |
| 試験群 | 21 (8 ¹⁾ (12 産子/3 腹 ²⁾) | 11 (4) (8 産子/2 腹) | 60 (20) (36 産子/9 腹) | 31 (8) (16 産子/4 腹) | 123 (40) (72 産子/18 腹) |
| 陰性対照群 | 21 (8) (12 産子/3 腹) | 11 (4) (8 産子/2 腹) | 60 (20) (36 産子/9 腹) | 30 (8) (16 産子/4 腹) | 122 (40) (72 産子/18 腹) |

1) 供試豚の約 40% を検査対象とした

2) 検査対象とした豚の約 40% を選定し、離乳時に各腹 4 頭の産子について検査した

試験方法

供試豚について一般臨床症状及び接種局所の観察を行うとともに、交配、受胎、分娩状況（流産、早産及び死産等）、産子数及び産子の状態（黒子、白子、ミイラ、奇形等）を全頭について観察した。また、由来産子について出生後離乳までの哺乳期間中、一般臨床観察を行い、離乳頭数を確認した。初回投与時及び離乳時に検査対象として選定した母豚から血液、直腸スワブ及び初乳を採取した（表1）。繁殖候補雌豚の検査対象はそれに加えて妊娠鑑定時のサンプリングを追加した。また、検査対象の繁殖雌豚由来子豚の一部についても離乳時にサンプリングを実施した。

流産及び早産した胎子は、心臓及び腸間膜リンパ節を腹毎にプールしてリアルタイムPCR（q-PCR）によるPCV2の遺伝子検査^{3,5)}を実施するとともに、1腹につき1頭の胎子の心臓及び腸間膜リンパ節について、抗PCV2血清を用いた免疫組織化学（IHC）検査を含む病理組織学的検査を実施した。さらに、分娩時に斃死した死産子についても、死産子を分娩した繁殖雌豚の約半数について、死産子の臓器を腹毎にプールして流産及び早産の胎子と同様にPCV2の遺伝子検査を行った。一腹当たり4頭以上の死産子が認められた場合には、その内の1頭の産子について同様に病理組織学的検査を実施した。また、哺乳期間中に由来産子が斃死した場合には、その一部について剖検を実施して肺、肝、リンパ節等の肉眼所見を確認した後、腸管内容物を検査材料としてウイルス及び細菌検査を実施し斃死の原因を究明した。

統計学的解析は市販の統計解析ソフト（Yukms）を用いて農場ごと若しくは両農場を集計した成績につい

て群間の比較を行った。有意水準はいずれも5%とした。

結果及び考察

試験期間中の全身及び局所の臨床観察によってサーコバック接種に起因すると考えられる異常は認められなかった。PCV2のOpen Reading Frame (ORF) 2に対するELISA抗体価はワクチン接種後のいずれのサンプリング時点においても試験群は陰性対照群を上回っていた。

農場Aでは陰性対照群の母豚21頭中2頭で流産が認められ、q-PCRによるPCV2抗原検査によって胎子からPCV2に由来する遺伝子断片が5.9~8.6 log₁₀DNAコピー/g 検出された。また、病理組織学的検査においてリンパ球の消失・壊死や肉芽腫性炎症が認められ、IHC検査で病変部に一致したPCV2抗原陽性所見が認められた。一方、試験群の子宮脱を呈した母豚由来胎子からはIHC検査でPCV2は検出されなかった（表2）。

死産子を分娩した繁殖雌豚の割合は、農場A及び農場Bのいずれにおいても試験群は陰性対照群より低かった（ $p < 0.01$ 、表3）。また、試験群では死産子の臓器からPCV2が全く検出されなかった（0%）のに対して、陰性対照群では高い割合（75%~92%）で検出された（ $p < 0.05$ ）。陰性対照群由来死産子の病理組織学的検査では肺や肝組織に細胞質内封入体が認められ（図1）、IHC検査を行った陰性対照群由来死産子の全てで病変部に一致したPCV2陽性所見が認められた（図2）。一方、試験群の死産子からはIHC検査でPCV2は検出されなかった。

哺乳期間中に斃死した産子のウイルス及び細菌検査

表2 流産胎子からのPCV2検出

| 農場 | 群 | 原因 (プール胎子数) | 胎子臓器 | PCV2 DNA (log ₁₀ DNAコ ピー/g) | 病理組織病変スコア | | PCV2 IHC スコア ²⁾ |
|----|-----------|----------------|---------|--|-----------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| | | | | | リンパ球消 失・壊死 ¹⁾ | 肉芽腫性 炎症 ¹⁾ | |
| A | 試験群 | 子宮脱 (8頭) | 心臓 | ND | 0 | 0 | 0 |
| | | | 腸間膜リンパ節 | ND | 0 | 0 | 0 |
| | 陰性 対照群 | 流産 (4頭) | 心臓 | 6.0 | 2 | 1 | 2 |
| | | | 腸間膜リンパ節 | 5.9 | 3 | 1 | 3 |
| | | | 心臓 | 8.1 | 3 | 1 | 2 |
| | | | 腸間膜リンパ節 | 8.6 | 3 | 2 | 3 |
| B | 試験群 | NA | | | | | |
| | 陰性 対照群 | NA | | | | | |

1) 0:異常なし

2) 0:無し

ND: 実施せず

1:軽度

1:少量

2:中程度

2:中程度

NA:該当なし

3:重度

3:多量

表3 死産子からのPCV2検出

| 農場 | 群 | 死産子の認められた腹数 / 分娩腹数 | 死産子の検査組織 | PCR陽性となった死産子が認められた腹数 / 検査した腹数 ^a | PCV2 DNA (平均±SD; log ₁₀ DNAコピー/g) ^b | IHC陽性数 / 検査数 ^a |
|----|-------|--------------------|----------|--|---|---------------------------|
| A | 試験群 | 5/29** | 心臓 | 0/3* | 0.0±0.0 | NA |
| | | | 腸間膜リンパ節 | 0/3* | 0.0±0.0 | NA |
| | 陰性対照群 | 16/26 | 心臓 | 6/8 | 4.4±2.9 | 3/3 |
| | | | 腸間膜リンパ節 | 6/8 | 3.9±2.5 | 3/3 |
| B | 試験群 | 34/82** | 心臓 | 0/18** | 0.0±0.0** | 0/3** |
| | | | 腸間膜リンパ節 | 0/18** | 0.0±0.0** | 0/3** |
| | 陰性対照群 | 50/78 | 心臓 | 20/26 | 4.3±2.5 | 8/8 |
| | | | 腸間膜リンパ節 | 24/26 | 5.7±1.9 | 8/8 |

NA: 該当なし

同一農場の試験群と陰性対照群の間に統計学的有意差あり(*p<0.05、**p<0.01)

a: χ^2 検定

b: Wilcoxon rank sum 検定

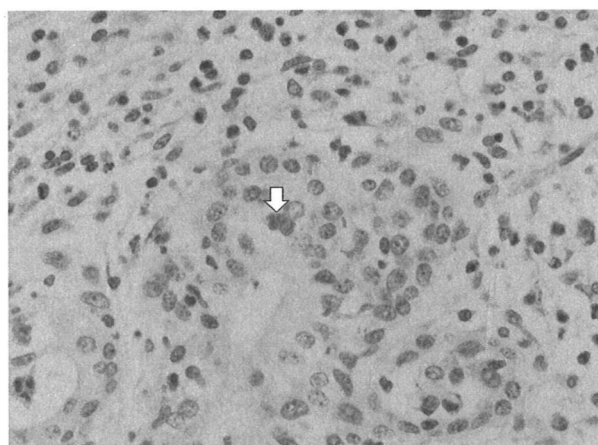


図1 陰性対照群由来死産子の肺組織像(HE染色、400倍)(矢印:細胞質内封入体)

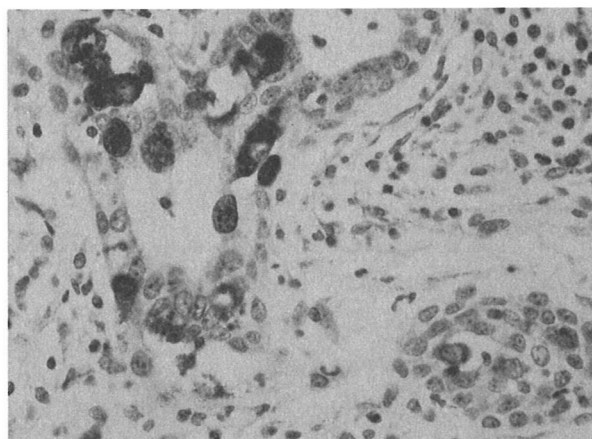


図2 陰性対照群由来死産子の肺組織像(PCV2免疫染色、400倍)

結果から、斃死の原因は農場Aの繁殖候補雌豚がロタウイルス感染症、母豚がサルモネラ感染症、農場Bの繁殖候補雌豚がクロストリジウム及びロタウイルスの混合感染症、母豚がクロストリジウム感染症と全て判断され、試験群と陰性対照群の斃死の原因に差はなかったが、繁殖雌豚の哺乳期事故率は試験群が陰性対照群より低い傾向にあった。

繁殖成績に関しては、農場A及びBともに死産子数は試験群が陰性対照群より有意に少なかった(それぞれ1.2頭及び0.8頭)。それに伴って生存産子率も試験群が陰性対照群より農場A及びBともにそれぞれ11.8%及び7.3%高かった。また、離乳頭数についても試験群が陰性対照群より0.6頭及び1.7頭多かった(表4)。

陰性対照群の流産胎子及び死産子のみから5.9~8.6 log₁₀DNAコピー/gのPCV2由来の遺伝子断片が検出

され、サーコバックを接種した試験群では生存産子数や離乳頭数の増加といった繁殖指標の改善が認められたことから、PCV2は流産や死産子の増加、哺乳子豚の損失といった繁殖指標に影響を与えていることが示唆された。調査を実施した農場はPCV2による離乳後事故率の増加が認められていた農場であったが、繁殖雌豚に対しても繁殖指標の低下にPCV2が関与していたと考えられた。試験群では死産子からPCV2が全く検出されなかったことから、産子は繁殖雌豚へサーコバックを投与することによってPCV2感染から防御されたことが示唆された。以上のように、PCV2感染負荷の高い農場におけるPCV2に関連する繁殖指標成績低下に対してサーコバックを接種することによって改善効果が認められることが明らかとなった。

® サーコバックはメリアル社の登録商標

表4 繁殖指標に関する成績

| | 農場 A | | 農場 B | | 計 | |
|------------|-------------|---------------|-------------|---------------|--------------|----------------|
| | 試験群 n=29 | 陰性対照群 n=26 | 試験群 n=82 | 陰性対照群 n=78 | 試験群 n=111 | 陰性対照群 n=104 |
| 繁殖雌豚 | | | | | | |
| 総産子数/腹 | 9.5±2.5 | 10.4±2.8 | 11.5±1.9 | 11.4±2.2 | 11.0±2.3 | 11.1±2.4 |
| 死産子数 /腹 | 0.2±0.4* | 1.4±1.6 | 0.6±1.1* | 1.4±1.8 | 0.5±1.0* | 1.4±1.7 |
| 死産子率 (%) | 1.6±3.7* | 13.4±15.5 | 5.0±8.0* | 12.3±14.4 | 4.1±7.2* | 12.5±14.6 |
| 生存産子数 /腹 | 9.3±2.5 | 9.0±2.8 | 10.9±1.7* | 9.9±2.4 | 10.5±2.1* | 9.7±2.6 |
| 生存産子率 (%) | 98.4±3.7* | 86.6±15.5 | 95.0±8.0* | 87.7±14.4 | 95.9±7.2* | 87.5±14.6 |
| 哺乳期死亡数 /腹 | 0.3±0.5 | 0.6±1.2 | 0.7±1.0* | 1.4±1.6 | 0.6±0.9* | 1.2±1.6 |
| 哺乳期事故率 (%) | 2.6±5.0 | 6.0±11.5 | 6.1±8.6* | 14.7±17.5 | 5.2±7.9* | 12.5±16.6 |
| 離乳頭数 /腹 | 9.0±2.4 | 8.4±2.8 | 10.2±1.8* | 8.5±2.8 | 9.9±2.0* | 8.5±2.8 |
| 離乳率 (%) | 97.4±5.0 | 94.0±11.5 | 93.9±8.6* | 85.3±17.5 | 94.8±7.9* | 87.5±16.6 |

* 試験群と陰性対照群の間に統計学的有意差あり (p<0.05、Aspin-welch の t 検定)

引用文献

- 1) Johnson CS, et al. (2002) Experimental in utero inoculation of late-term swine fetuses with porcine circovirus type 2. J Vet Diagn Invest, 14: 507-512.
- 2) Joisel F, et al. (2008) Improvement of reproduction performance induced by PCV2 vaccination of sows and gilts with Circovac in 277 German sow farms. In proceeding on 20th International Pig Veterinary Society Congress, 2: 72.
- 3) Olvera A, et al. (2004) Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. J Virol Methods, 117: 75-80.
- 4) Park JS, et al. (2005) Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. J Comp Pathol, 132: 139-144.
- 5) Sasaki K, et al. (2010) Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 in piglets after weaning on a commercial pig farm in Japan. Anim Sci J. 81: 135-14.
- 6) West KH, et al. (1999) Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. J Vet Diagn Invest, 11: 530-532.