

1 2. 口腔液および処理精巢を利用したPRRSウイルスの 農場モニタリング法に関する検討

大分家畜保健衛生所・¹⁾豊後大野家畜保健衛生所

○病鑑 人見徹・加藤洋平¹⁾

【はじめに】

豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS）の流行やウイルスの農場内浸潤状況モニタリング法として、採血による血清材料の検査に加えロープ法採材による口腔液の検査も活用されつつある。しかしロープ法では60日齢未満の豚ではロープに興味を示さず採材出来ない問題がある。そこで、去勢処理した精巢を用いたPRRSV検出法と口腔液検査法の検討を行い、各検査の組み合わせの有効性や活用法について検討を行った。

【材料と方法】

1. 口腔液：県内農場から分離されたPRRSVをMARC145細胞で培養し、 $10^{3.5}$ TCID₅₀/0.1mlのウイルス液を作成したものを検査に用いた。PRRSV陰性豚から採取した口腔液およびMEM培地を用いてウイルス液の2倍段階希釈を行いRT-PCR法により検出し口腔液による希釈の影響を試験した。また、上記の培養ウイルス液を口腔液およびMEM培地で2倍希釈したものを、20℃、4℃、-20℃で保存後、RT-PCR法による検出を行い、各保存温度によるウイルス検出期間への影響を試験した。

2. 処理精巢：1腹ごとに処理精巢を容器に入れ、漏出した漿液からRT-PCR法でPRRSVが検出されたものを陽性サンプル、検出されなかったものを陰性サンプルとして検査に用いた。

陽性サンプル2腹分で、精巢実質と精巢上体の部位毎に採材、RT-PCR法によるPRRSV検出を行い、精巢組織内でのPRRSV局在部位の調査を行った。また、陰性サンプル5腹分から全ての精巢上体を採材、PRRSVの遺伝子検出を行い、1腹ごとの処理精巢漏出液検査で各産子毎の感染見逃しの有無について調査を行った。

【結果】

1. 口腔液：口腔液による希釈の影響調査では、口腔液、MEM培地ともに16倍希釈まで検出された。保存温度によるウイルス検出期間への影響試験では、口腔液希釈では20℃で12時間、4℃で48時間、-20℃で7日間検出された。

2. 処理精巢：精巢組織内でのPRRSV局在部位の調査では、精巢上体から2腹14検体全て遺伝子が検出された。また、処理精巢の各検体毎の精巢上体検査では、陰性サンプルからはPRRSV遺伝子は検出されなかった。

【考察】

口腔液中のPRRSVは室温及び冷蔵では消化酵素による遺伝子分解が急速に起こり検出不能になると推察され、採材後は直ちに保冷、凍結が必要と考えられた。処理精巢の漏出液検査で、陽性サンプルは同腹の産子全ての精巢上体からPRRSV遺伝子が検出され、陰性サンプルでは全て検出されなかった。処理精巢漏出液の抗原検査は垂直感染又は分娩房での感染状況把握に有効と考えられ、豚の管理者が回収可能なことから、口腔液検査との組み合わせで、豚のストレスが少なく農場の継続的なモニタリングに適していると考えられた。