

—日本で使用されている動物用診断薬（ⅩⅢ）—
豚感染症とその診断薬の概説

3 豚 丹 毒

嶋崎洋子[†]（農林水産省動物医薬品検査所）

1 豚丹毒の概要

豚丹毒は、豚丹毒菌の感染によって起こる伝染病であり、家畜伝染病予防法において届出伝染病に指定されている。本病は古くから世界中で発生が認められ、わが国においてもワクチンが使用された1970年代以降、発生数は減少しているものの依然として毎年数千頭の発生届出があり [1]、養豚界における経済的損失が大きい疾病である。

豚丹毒には、急性敗血症型、亜急性蕁麻疹型及び慢性の関節炎型や心内膜炎型の病型がある。急性敗血症型の場合、高熱の後1～2日で急死する。蕁麻疹型では発熱や食欲不振などの症状に加えて菱型疹と呼ばれる特徴的な皮膚病変を示す。慢性型は関節の腫大や心臓弁膜の腫瘍などの病変を示し、主にと畜場で確認される。

豚丹毒菌は病豚以外にも自然界に広く分布し、健康な豚の扁桃や皮膚、豚舎内の敷料、畜舎周辺の飼育環境などからも分離される。本菌は26種の血清型と型特異抗原性を欠くN型に分類されるが、豚丹毒症例の病変材料からは主に血清型1型及び2型が分離される。感染経路は経口感染が主であるが創傷感染も起こる。

2 診断方法

豚丹毒の診断には細菌検査及び血清学的検査が行われる。

豚丹毒の確定診断には、菌分離による細菌検査が必要とされる。血液や諸臓器、発疹部、関節腔液などの病変部位等を材料として、5%の血清、又は0.1%のTween80を加えた培地を用いる。

血清学的検査は、死菌抗原を用いた凝集反応や生菌発育凝集反応、また感染防御抗原を用いたELISAなどが、豚丹毒菌の血清疫学調査やワクチン効果の評価を目的として実施されている。生菌発育凝集反応は最も一般的で

あるが、生菌を抗原として用いるため菌汚染や操作の煩雑さなどの難点がある。これらの問題点を解決するものとして診断用菌液1製剤が製造され販売されている（表）。次項で当該診断用菌液について説明する。

3 診断薬の概要

(1) 反応原理

マイクロプレートを用いた凝集反応による血中抗体の検出である。

(2) 製法の概要

豚丹毒菌の水酸化ナトリウム抽出物を抗原とし、ポリスチレンラテックス粒子に吸着させ、グリシン緩衝食塩液に浮遊させたものである。また、指示陽性血清は、抗豚丹毒菌豚血清を凍結乾燥したものである。

(3) 使用方法の概要

血清は非働化しないものを用いる。被検血清及び指示陽性血清は添付の希釈用液を用いて2倍に希釈する。

2倍希釈した各血清をV底マイクロプレートで4～256倍までの希釈列（25 μ l/穴）を作成する。また、血清の代わりに希釈用液25 μ lを添加したものを抗原対照とする。

抗原を希釈用液で8倍に希釈したものを、血清の各希釈列及び抗原対照にそれぞれ等量（25 μ l）ずつ加える。

プレートをよく振とうして混合後、37℃で16～18時間静置後、凝集像を観察する。判定は、4倍以上の血清希釈列に凝集が認められる場合を陽性とし、凝集を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。4倍希釈列に凝集が認められない場合を陰性とする。なお、指示陽性血清が16～32倍を示すことを確認する。

(4) 使用上の注意等

ア 血清は新鮮なものを用い、混濁あるいは血球の混入したものは使用しないこと。また、過度の凍結・

[†] 連絡責任者：嶋崎洋子（農林水産省動物医薬品検査所）

〒185-8511 国分寺市戸倉1-15-1

☎042-321-1841 FAX 042-321-1769

E-mail : yoko_shimazaki@nval.maff.go.jp

表 豚丹毒の診断薬

診断薬の原理	商品名	製造販売業者名	主成分	使用目的	承認年月日
凝集反応	日生研アグテック SE	日生研(株)	豚丹毒菌多摩96株(血清型2) 菌体抽出抗原	豚血清中の豚丹毒菌に対する抗体の検出	平成8年8月30日

融解は避けること。

イ 判定時にはプレートを黒色の紙などの上に置き、反応像を鮮明にすること。また、プレートに強い振動を与えると凝集像がくずれて不鮮明になるので注意すること。

ウ 開封した抗原及び指示陽性血清は速やかに使用し、指示陽性血清を保存する場合は小分けして-20℃以下で保存すること。

4 今後の課題

前述のラテックス凝集反応は、菌分離や関節腔液抗体価などの他の豚丹毒の診断指標との相関性も認められ、野外での迅速診断に有用であることが報告されている[2]。

一方、野外における豚丹毒菌の血清学的検査に関する報告において、感染防御抗原 SpaA を用いた ELISA による試験結果と本診断薬の結果に相関性が認められず、ELISA で抗体陰性の場合でも本診断薬で抗体が検出される場合が報告されている [3]。試験系による結果の不一致は、用いる抗原の違いや検出抗体の範囲（本診断薬で用いる血清は 2ME 処理を実施しないため IgM も含ま

れる）が影響している可能性があるが、原因は明らかではない。

本診断薬は幅広く豚丹毒菌抗体を検出するため、豚丹毒菌の浸潤状況を反映するが、感染防御に有効な抗体価を示していない場合があり、本診断薬で抗体が陽性であっても豚丹毒が発症する事例が報告されている [4]。そのため、個体の免疫状態やワクチン接種時期を推察するためには、他の検査やワクチン接種歴なども勘案し判断する必要がある。

参考文献

- [1] 農林水産省：監視伝染病の発生状況（農林水産省 HP http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/pdf/todokededennsennbyou.pdf）
- [2] 久島昌平，湖島洋一，高橋壮一郎，松阪龍雄，志村定雄，五味 純，福馬幸哉：スライド凝集反応およびラテックス凝集反応による関節炎型豚丹毒の迅速診断，日獣会誌，55，35-39（2002）
- [3] 今田由美子：組換え表層防御抗原 SpaA を用いた豚丹毒の ELISA，豚病会報，39，19-23（2002）
- [4] 野末紫央：豚丹毒抗体検査法の比較検討と検査結果に基づく農家指導，臨床獣医，30，17-21（2012）

4 豚繁殖・呼吸障害症候群

細田裕子[†]（農林水産省動物医薬品検査所）

1 豚繁殖・呼吸障害症候群の概要

豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS）は、アルテリウイルス科アルテリウイルス属 PRRS ウイルスが原因の疾病で、豚及びいのししに感染し、主に繁殖障害と呼吸障害の症状を示す [1]。PRRS ウイルスは遺伝子学的に北米型と欧州型に分けられ、これまでの日本国内の流行株は北米型に近縁な性状を示している [1]。

PRRS は 1987 年に米国で初めて報告され、日本でも 1987 年頃より原因不明の異常産と呼吸器病の発生があり、1993 年に初めて PRRS と診断された [2]。現在はほぼ全国に蔓延しており、家畜伝染病予防法で届出伝染

病に指定されている [2]。

PRRS は感染豚の鼻汁、糞便、精液及び異常胎子がウイルス汚染源となり、接触、飛沫及び交配感染、垂直感染、空気感染する [1]。

生産ステージにより多様な病態を示し、母豚では食欲不振と発熱の後、流産、早産、死産などの繁殖障害がみられる。生存して生まれた子豚も虚弱、開脚姿勢、震えなど異常を示すものが多く、母豚の泌乳停止もあり、死亡率が高くなる [1]。離乳豚や育成豚では発咳、呼吸困難などの呼吸障害を示し、二次感染が起こると重症化し、死亡率が高まる。呼吸障害が慢性に経過したものは

[†] 連絡責任者：細田裕子（農林水産省動物医薬品検査所）

〒185-8511 国分寺市戸倉 1-15-1

☎ 042-321-1841 FAX 042-329-1769

E-mail : yuko_hosoda@nval.maff.go.jp

表 わが国で承認されている豚繁殖・呼吸障害症候群診断薬の概要*

商品名	製造販売者名	使用目的	検出対象	承認年月日
PRRS X3 エリーザキット	アイデックス ラボラトリーズ(株)	豚血清中の豚繁殖・呼吸障害症候群 ウイルスに対する抗体の検出	抗体	平成25年8月2日
アニゲンPRRS エライザ4.0	バイエル薬品(株)	豚群の血清中の豚繁殖・呼吸障害症 候群ウイルスに対する抗体の検出	抗体	平成26年3月14日

*現在販売されている診断薬及び今後販売が予定されている診断薬のみを記載した。

ひね豚となり、重度の発育不良となる。また、不顕性感染が多く、一度農場に入ると、常在化しやすい。

子豚の生産阻害の軽減や繁殖用雌豚の繁殖成績の改善を目的とした生ワクチンが市販されているが、ワクチンに頼るだけでなく、飼養衛生管理の対策強化が重要である [3]。

2 診断方法

本病の診断では、まず疫学調査、臨床検査、剖検あるいは血清学的検査を行う。血清学的検査は蛍光抗体法あるいはELISAである。次に、病理組織学的検査あるいはウイルス学的検査を行う。

また、ウイルス分離ができない場合には、血清や臓器乳剤を用いたPCR検査も可能であるが、補助的な方法である。本疾患に特徴的な臨床症状や肉眼病変は少ないため、血清学的検査、病理組織学的検査、ウイルス学的検査又はPCR検査の結果を総合的に判断し、確定診断とする [2, 4]。

3 診断薬の概要

現在販売されている診断薬及び今後販売が予定されている診断薬は表の2製剤である。両診断薬とも抗体検出を目的としている。各診断薬の詳細については、添付文書を参照のこと。

(1) 診断薬の原理等

両診断薬とも間接ELISA法を原理としており、マイクロプレートに吸着した北米型及び欧州型のPRRSウイ

ルス蛋白抗原が、豚血清中のPRRSウイルスに対する抗体と反応し、免疫複合体を形成する。次に、ペルオキシダーゼ標識抗体を反応させ、基質を加えるとPRRSウイルス抗体量に比例して発色する。

(2) 製法

PRRSウイルス蛋白抗原吸着プレート、ペルオキシダーゼ標識2次抗体、発色基質液、反応停止液等を組み合わせてキットとしている。

(3) 使用上の注意

PRRSの防疫対策及びビコントロールプログラムを実施するには、豚群のPRRSウイルスに対する抗体保有状況を把握することが重要であることから、両診断薬とも豚群の血清学的診断を目的としている。

また、ワクチン抗体、野外ウイルス抗体、移行抗体の識別はできないことに注意する。

なお、検体は非働化していない血清を使用する。

参考文献

- [1] 村上洋介：豚繁殖・呼吸器症候群，動物の感染症，小沼操ら編，179-180，近代出版，東京（2002）
- [2] 清水実嗣：豚繁殖・呼吸器症候群，豚病学—生理・疾病・飼養—，柏崎 守ら編，237-244，近代出版，東京（1999）
- [3] 齋藤明人：豚用ワクチンの概説，5 豚繁殖・呼吸器症候群ワクチン，日獣会誌，63，909-910（2010）
- [4] 農林水産省消費・安全局：病性鑑定指針（平成20年6月2日付20消安第880号農林水産省消費・安全局長通知），240-241（2008）