

豚マイコプラズマ肺炎の防除方法の研究

岡田 宗典

(全国農業協同組合連合会・家畜衛生研究所：〒285-0043 千葉県佐倉市大蛇町7)

Okada, M. (1998). Study on diagnosis and control of mycoplasmal pneumonia of swine.

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc., 33: 19-22.

はじめに

生産性向上のために養豚経営の大型化、企業化が進む今日、呼吸器病や下痢症などの慢性疾病が生産性を阻害する疾病として重要視されている。これらの疾病は、死亡率はそれほど高くないものの発育が遅れることから養豚経営に大きなダメージを与えている。豚マイコプラズマ肺炎(MPS)はこれらの慢性疾病のなかでも最も発生率が高いもののひとつで、世界中の国において発生している。

近年、日本の養豚産業においてSPF豚が急速に普及し、MPSがSPF豚における疾病排除の対象のひとつであることから、本疾病がにわかに注目されるようになった。著者らは、MPSの防除方法を確立するために、診断法および予防法の開発を行い、実際の生産現場への普及に取り組んだ。本稿ではMPSの現状とその診断法および予防法に対する著者らの試みを紹介したい。

1. MPSについて

(1) MPSの感染と発症機構

MPSの原因菌である *Mycoplasma hyopneumoniae* (M.hp)は、哺乳期に母豚から感染し、感染した子豚の呼吸器との接触、あるいは空気によってほかの豚に経気道的に伝播される。感染の時期は、農場の環境によって異なり、早い時には離乳直後、ほとんどの豚は肥育期にはいつてから感染する。M.hp自身の伝播力はそれほど強いものではなく、密飼い、換気不良などの飼育環境が感染の誘因となる。呼吸器に侵入したM.hpが肺病変を形成する過程については未知の部分が多いが、M.hpは気管支上皮細胞の線毛に付着し、上皮細胞の表面で増殖して線毛運動を妨げ、線毛を脱落させることにより呼吸器の防御機構に傷害を与える。このようにM.hpによる直接の傷害は線毛運動の停止・脱落が中心で、その後に入侵入した微生物の複合感染によりさらに生体への傷害が増強される。

(2) 症 状

MPSに罹患した豚は発咳が認められる程度で、ほ

とんど臨床症状を示さず、臨床症状からMPSと診断することは困難である。感染しても食欲は正常であるが、発育が遅延し、飼料効率が低下する。MPSの単独発症はまれで、多くの場合、*Pasteurella multocida* (P.m)あるいは*Actinobacillus pleuropneumoniae* (A.pp)などの二次感染により肺炎症状が重篤化する。

(3) 発生状況と経済的損失

農林水産省が行った「昭和60年度豚慢性疾病浄化促進事業」におけるMPSの調査では、1158頭中683頭(59%)の豚がMPS様肺病変を保有していた。さらに、1461頭の抗体検査を行ったところ、1285頭(88%)がMPS抗体陽性であった。また、検査対象となったすべての農場において抗体陽性豚が存在したことから日本においてもM.hpによる汚染がきわめて高率であることが明らかとなっている。著者らの100農場4744頭を対象とした疫学調査でも同様の傾向が認められた(図-1)。

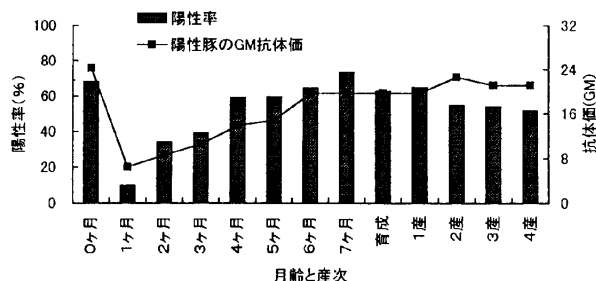


図1 豚のステージ別MPS-CF抗体価と陽性率の分布

本病罹患豚では1日増体重が14~20%減少し、飼料要求率が16~30%上昇することから経済的損失が甚大で、このことが養豚経営において大きな問題とされている。M.hp感染豚は多くの場合他の細菌による二次感染を起こしている場合が多く、本病単独による被害の経済的損失を試算することは難しいが、米国のTRACクリニックの報告では呼吸器疾病の病変の検査結果および増体の低下率から1頭あたりの被害額は2.46ドルと試算されている。また、日本においても1頭あたり710円の損失という試算が報告されている。

2. 豚を用いたMPS実験感染系の確立

M.hpは、豚にのみ病原性を有し、他の家畜や実験動物には感受性がない。現在のところ豚以外に適当な実験動物が存在しないことから、著者らは、MPSの診断液、ワクチン等を開発するために豚を用いた実験感染系（評価系）を確立した。日本で通常飼育されている豚のほとんどは、すでにM.hpの感染を受けていたり、抗体を保有しているため、MPSの実験動物として野外の豚を用いることは不適当であった。そこで、分娩直前の妊娠母豚から帝王切開術により無菌的に胎子を摘出し、清浄環境下で人工哺乳により育てた豚（HPCD豚）を作出し、評価系に用いた。様々な感染条件を検討した結果、7日齢～1ヶ月齢HPCD豚を用い、豚で継代したM.hp E-1株の気管洗浄液3ml (10⁴CCU/0.2ml)を1回鼻腔内接種することで接種後4週で明らかな肺病変が形成され、血中抗体価が上昇した。その後、血中抗体は、持続するが、肺病変は消失し、菌分離も陰性になることが明らかとなった（表1）。

表1 M. hyopneumoniaeの実験感染系

試験区	豚No.	観察 期間	CF抗体価								菌回収 ²⁾	肺病変
			0 ¹⁾	2	4	6	8	10	12	15		
経鼻接種	1	2	・	4							6	—
	2	4	・	・	8						7	+
	3	8	・	4	4	16	16				2	++
	4	10	・	4	64	128	256	128			—	—
	5	15	・	4	32	32	64	32	32	32	—	—
同居	6	2	・	・							—	—
	7	4	・	・	・						—	—
	8	8	・	・	・	・	・				3	—
	9	10	・	・	・	・	8	32			5	++
	10	15	・	・	・	・	4	8	16	32	—	—

1): 接種後の週数

2): LogCCU/0.2ml

3. 診断法

(1) 菌の分離・同定

M.hpは、マイコプラズマのなかでも最も分離培養が困難な菌種に属し、通常の培養基では培養できない。現在用いられている培地は、豚あるいは馬の血清および新鮮酵母エキスを添加した培地であり、初代分離に2～8週間を要し、同定も容易でないことから、一般の検査室では、菌の分離・同定はほとんど行われていない。そこで、より迅速かつ簡便な診断法を確立するためにリボゾームRNAをターゲットとしたDNAプローブ法を用いたM.hpの迅速診断法を検討した。その結果、検体（肺乳剤）中に10⁴CCU/ml以上のM.hpが存在すればDNAプローブ法により2日間で検出可能であり、検査時間が著しく短縮できることが確認された。

(2) 血清学的診断法

MPSの血清学的診断法には、CF、ELISA、IHAなどが報告されている。血清学的診断法の結果と肺病変の有無あるいはM.hpの分離は、MPSの病態が環境や宿主に大きく左右されるため個体レベルでは必ずしも一致しないが、農場レベルでは、その農場の汚染状況はかなり正確に反映している。CFは、ELISAに比べ、1～2週間早く抗体検出が可能である。しかし、CFは検査法自体が煩雑で、菌体そのものを抗原としているため非特異反応も多い。ELISAは、CFに比べ、長期間抗体検出が可能で、産歴が進んだ母豚においても抗体を検出できる。このようにCFとELISAはそれぞれに特長があり、その結果は、出荷段階の豚の血清以外では、一致しないことも多い。著者らは、まず、CFによるMPSの診断法の実用化をめざし、CF診断用抗原の開発を行い、現在広く普及している。今後、感度および特異性に優れた大腸菌組換え抗原(RecP46)を用いたELISAの開発が望まれる。

4. 不活化ワクチンによる予防法の開発

(1). MPSの予防法

過密飼育や換気不良あるいは飼育環境における急激な温度・湿度の変化及び、塵埃は宿主の抵抗力を低下させ、M.hpの侵入・増殖を容易にすることから、MPSの予防策としては発病誘因をできるだけ排除するために飼育環境の改善が非常に重要である。これらを実現するためにはオールイン・オールアウトによる飼育方式、適正な飼育密度、清掃・消毒の徹底などが第一であるが、このような環境面での改善だけでなく、さらにMEW、SEWによる飼育や豚群のSPF化が推進されている。またM.hpの自然感染あるいは実験感染を耐過した豚は、再感染に抵抗性を示すことが認められていることから、従来からMPSに対するワクチン開発の可能性が示唆されており、著者らは、培養上清を含む培養粗ろ液を主成分とするM.hp不活化ワクチンの開発に成功した。現在、わが国においていくつかの不活化ワクチンが実用化され、ワクチンによるMPSのコントロールが可能となっている。

(2). ワクチン抗原の検討

著者らは、不活化ワクチンの抗原成分として培養上清を含む培養粗ろ液に注目した。培養粗ろ液を抗原としたワクチンは、血中CF抗体価の上昇はそれほど認められないものの、最も安定した肺病変形成の抑制効果を発揮し、回収されるM.hpの数も減少させること

から、培養上清を含む培養粗液がワクチン抗原として最適と考え、これらを主成分とするM.hp不活化ワクチンを開発した。肺病変形成の抑制は、培養上清中の菌体由来の可溶性の物質に起因するものと考えているが、その性状は明らかではない。

(3). M.hp不活化ワクチン注射豚の気管支における免疫応答の推移

M.hp不活化ワクチンを注射したプライマリーSPF豚を用いて、気管支肺胞洗浄液(BALF)中のM.hp回収、抗体測定、細胞数、サイトカインの測定を行い、免疫応答の推移を調べた。

BALF中の抗体は、対照群では攻撃後2週から検出されたが、ワクチン注射群ではそれより早く攻撃後1週でIgAが、攻撃後2週でIgGが検出され、その後も対照群に比べて高く推移した。また、BALF中のM.hpの菌数は、ワクチン注射群では対照群に比較して少なく、菌の定着は阻止できないものの菌の増殖を抑えていた。これらの結果から、M.hp不活化ワクチンを注射することにより感染後、早い時期に局所抗体が産生され、その上昇に伴い生菌数が減少し、それに相関して肺病変形成が抑制されたものと考えられた。

BALF中の各種細胞数は攻撃後両区とも増加したが、総細胞数、マクロファージ、好中球及びリンパ球ともに対照群に比べ注射群での増加が抑制され、特に、好中球は有意に減少していた。さらにBALF中の炎症性サイトカイン(TNF, IL-1)を測定したところ、放出が抑制されており、肺局所の炎症が抑えられている事が確認された。

(4). 混合感染におけるM.hp不活化ワクチンの有効性

野外例では、M.hpの単独感染は少なく、ほとんどが二次感染を起こしている。MPSはP.mなどの二次感染により肺炎症状が重篤化し、PRRSウイルスは呼吸器症状・死産を起こすだけでなく免疫力を低下させ他の疾病の症状を重篤化させることが知られている。そこで、M.hpとP.mあるいはPRRSウイルスの混合感染におけるM.hp不活化ワクチンの有効性について検討した。その結果、対照群では混合感染によりさらに病変が増強されたが、ワクチン注射群ではP.mあるいはPRRSウイルスとの混合感染でも軽微な病変しか認められなかった。また、病変部からの菌回収もM.hpの分離菌数はワクチン注射群で1/100程度減少し、とくにP.mは混合感染区の対照群では定着したが、ワクチン注射区では分離されずP.mの定着を阻止した。このことから、M.hpとP.mあるいはPRRS

ウイルスの混合感染におけるM.hp不活化ワクチンの有効性が確認され、多くの病原体に暴露されている野外の豚においてもその有効性が期待された。

5. 野外試験での効果

(1) 肺病変

肺病変は対照区では全頭に認められたのに対して、ワクチン注射区では供試豚の約半数にしか認められず、しかもワクチン注射区の豚のほとんどが肺病変面積率3%未満であった(表-2)。

表2 不活化ワクチンを用いた野外試験における肺病変形成の抑制

	保有率			面積率			抑制率	
	試験1区	試験2区	対照区	試験1区	試験2区	対照区	試験1区	試験2区
B農場	NT	38.6* (60)	64.9 (100)	NT	0.61*	4.4	NT	86.1
C農場	53.3*	53.6*	100.0	1.56*	1.76*	8.4	81.4	79.0

試験1区: ワクチンを2週間隔で2回注射

試験2区: ワクチンを4週間隔で2回注射

(2) 出荷時の肺からの菌分離

M.hpはワクチン注射区、対照区ともに分離され、肉眼病変が認められなくても分離されたが、分離率および分離菌数はともに対照区に比べ、低い傾向にあった。対照区においてP.m A型菌が分離されたが、ワクチン注射区ではまったく分離されず、P.mの2次感染を抑制していた。

(3) ワクチン注射における経済的效果

出荷日齢は、約12日間有意に短縮された。また出荷日齢の分布をみると試験区におけるばらつきが少なく、ヒネ豚の防止、豚舎の回転率の改善が期待できるものと考えられた。

ステージごとの1日増体重は、野外感染が起こったと推測される時期以降に差が認められ、対照区と比較して生後16～20週から有意に改善された。試験期間通算では、Average daily gain (ADG) が約45g改善された。飼料要求率も増体重と同様の傾向があり、試験期間通算ではFeed conversion (FC) が0.2改善され、対照区を100とした場合約5%改善された。改善された飼料要求率から単純に飼料費を計算すると豚1頭あたり約800円コストダウンしたことになる(図-2)。また、ワクチン注射区では肺炎の治療回数が減少し、薬剤費が低減した。

本ワクチンは、肺病変の形成を確実に抑制するが、

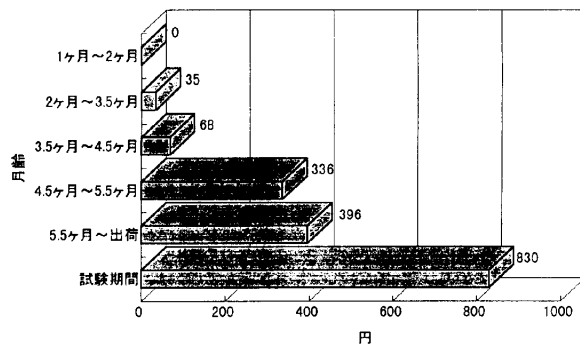


図2 ワクチン注射による豚1頭あたりの飼料費の減少

感染は防御できないため、豚群からのM.hpの完全な除去は期待できない。しかし、菌数は減少するために、長期的には農場の衛生レベルの向上が期待できると考えている。また、経済的効果は、生産性の高い農場よりも出荷成績の悪化している農場で如実に改善できるものと期待している。

おわりに

MPSは、10数年前まではあまり注目されない疾病であったが、その病態とくに慢性呼吸器病の基礎疾患であること、そしてその病原性よりも生産者への経済的打撃が大きいことが明らかになるにつれ、今日注目されるようになってきた。現在のところ、生産現場におけるMPSの完全な排除は不可能であり、抗体検査や場検査により豚群の浸潤状況を把握しつつ、薬剤やワクチンによる対策により経済的被害を抑制する以外にない。MPSは豚の肺炎の基礎疾患であることから、肺炎対策を行う場合、MPSワクチンを基本とした衛生プログラムを作成するとともに、なによりもまずAR対策を完璧に行うことが成功の前提となる。その結果、MPSはもとよりApp肺炎そしてP.m肺炎による経済的被害を最小限にとどめることが可能となり、養豚経営における生産性の向上に寄与できるものとする。MPSワクチンの実用化により生産現場における生産性向上に期待が持てるようになったが、今後、衛生費のさらなるコスト削減とワクチンの接種作業を省力化するために他の感染症のワクチンとの混合化（多価ワクチン）を目指す必要があると考えている。

参考文献

Ciprian, A., et al., 1988. *Mycoplasma hyopneumoniae* increases the susceptibility of pigs to experimental

Pasteurella multocida pneumonia. Can. J. Vet. Res. 52: 434-438.

Futo, S. et al., 1995. Recombinant 46-kilodalton surface antigen (P46) of *Mycoplasma hyopneumoniae* expressed in *Escherichia coli* can be used for early specific diagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae* of swine by enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol. 33: 680-683.

日高秀造1988. マイコプラズマの国内状況; 豚, 臨床獣医, 6, 2: 35-42.

小林糾1986. T R A C クリニックについて, 獣医界, 127: 76-82.

Mori, Y. et al. 1983. Improvement of complement fixation test antigen for the diagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. Natl. Inst. Anim. Health. Q. (Jpn.) 23: 111-116.

岡田宗典1995. DNAプローブ法による豚マイコプラズマ肺炎の診断的意義について 日本マイコプラズマ学会雑誌 21,22: 24-25.

岡田宗典ら 1997. 培養上清を利用した *Mycoplasma hyopneumoniae* 不活化ワクチンの開発 日本マイコプラズマ学会雑誌 24: 57-60.

Pointon, A. M. et al. 1985. Effect of enzootic pneumonia of pigs on growth performance. Aust. Vet. J. 62: 13-18.

Ross, R. F. 1992. Mycoplasmal diseases. In: Leman, A. D., B. Straw, W. L. Mengeling eds. Disease of swine. 7th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 537-551.

Yagihashi, T. et al. 1984. Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection on the development of *Haemophilus pleuropneumoniae* pneumonia in pigs. Jpn. J. Vet. Sci. 46: 705-713.

Yagihashi, Y. et al. 1993. Seroepidemiology of mycoplasmal pneumonia of swine in Japan as surveyed by an enzyme-linked immunosorbent assay. Vet. Microbiol. 34: 155-166.

Yamamoto, K. et al. 1986. In vitro susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* to antibiotics. Jpn. J. Vet. Res. 48: 1-5.