

と殺豚の肺病変からの病原体の検索

浅井 鉄 夫 (全農家畜衛生研究所)

KAsai T. (2003) Detection of pathogens from the lung lesions of slaughtered pigs.
Proc. Jpn. Pig Vet. Soc., 43, 9-11.

近年、飼養規模の増大にともない豚呼吸器病症候群 (porcine respiratory disease complex:PRDC) が増加し、養豚産業において深刻な問題となっている。PRDC の衛生対策を行なう上で、新たな病原体を持ち込まないという防疫規制が最も重要であるが、さらに、農場の中での病原体の感染環—つまり、病原体は何処に居て、どのように伝播しているのか—を考慮していく必要がある。国内の豚において広く分布している *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhp) に起因する豚マイコプラズマ肺炎は、PRDC の基礎疾患の一つに挙げられている。と場出荷された豚の肺炎における Mhp の関与を調べるために、肺病変部から PCR 法による抗原検出を行なうとともに、一部の材料を用いて PRDC の病原体として知られる豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV)、Porcine circovirus 2 型 (PCV2)、*Pasteurella multocida* (Pm) および *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) についても調べた。今回、これらの成績とあわせて、これまでに我々が実施した PRDC に関係する成績についても紹介する。

1. 離乳日齢の異なる子豚からの病原体の分離

哺乳中の子豚は、初乳から獲得した移行抗体により、農場内に存在する種々の病原体による被害から守られている。分割早期離乳法 (SEW) は、母豚を各種病原体の汚染源として考え、十分な移行抗体を保有している子豚を早期離乳後清浄な施設で分離飼育して、母豚からの感染を防御する方法として、病原体ごとに感染防止可能な離乳日齢が報告されている。我々は、各病原体の感染時期を調べるため、各種疾病が常在化している農場で生産された56頭の子豚を、さまざまな日齢 (10~25日) で離乳し、それぞれを清浄な施設で5週間飼育後、剖検して病原体の検索を行なった(3)。その結果、オーエスキー病 (AD) ウイルス、PRRSV および Mhp は、10日齢で離乳した子豚でも感染しており、また、Pm は、17日齢離乳豚から分離された。一方、App と *Bordetella bronchiseptica* は、25日齢で離乳した子豚からも分離されなかった (表1)。これらの成績から、

表1 離乳日齢と病原体の感染³⁾

| 病 原 体 | 病原体が分離された 最も早い離乳日齢*(日) |
|----------------------------|---------------------------|
| ADV | 10 |
| PRRSV | 10 |
| <i>M. hyopneumoniae</i> | 10 |
| <i>P. multocida</i> | 17 |
| <i>A. pleuropneumoniae</i> | -** |
| <i>B. bronchiseptica</i> | - |

*調査した離乳日齢：10、15、17、20、23、24日** -：分離されず

病原体の分離される日齢は、農場の衛生状況によって異なり、現行の SEW で設定されている離乳日齢で病原体が排除できない場合が示された。したがって、SEW を生産現場で応用していく上では、その農場を汚染している病原体や排除したい病原体の種類などを十分に検討しなければならない。また、哺乳子豚は、母豚から離乳後離乳子豚舎へ移動され、離乳子豚舎で PRDC に関連する病原体を撒き散らす感染源として注意する必要があるといえる。

2. と殺豚の肺病変からの病原体の検索

93農場からと場へ出荷された豚459頭の肝変化を中心としたマイコプラズマ肺炎様病変部における病原体の検索を行った(4)。Mhp と PCV2 の検出は、今田ら (9) および Ellis ら (8) の報告にそれぞれ従い PCR 法により実施した。PRRSV は、Kono ら (10) の報告した1次プライマーを用いた RT-PCR 法により検出した。サンプル DNA および RNA は、採取した肺病変部を PBS により10%乳剤を調整した後、セパジーン RVR (三光純薬) を用いて抽出した(1)。Pm は、ゲンタマイシン (0.1μg/ml) およびバンコマイシン (30μg/ml) 加デキストローススターチ寒天培地 (日水) に、肺病変部を直接塗抹し、37℃、24時間培養した(3)。App は、β-nicotinamide adenine dinucleotide (β-NAD) 加めん羊血液寒天培地に、直接塗抹し、37℃、1日間微好気条件下で培養した(3)。疑わしい集落は、生化学的検査を実施し同定した。

Mhp は、69農場 (74.2%)、264検体 (57.5%) から

表2 と殺豚の肺病変部からの *M. hyopneumoniae* の検出⁴⁾

| | 農場 | 個体 |
|---------------|---------------|----------------|
| 陽性数 / 検査数 (%) | 69/93 (74.2%) | 264/459 (57.5) |

PCRにより検出された(表2)。次に48農場232検体について、複数の病原体の検査を行なったところ、Mhpは133検体(57.3%)でPCR陽性であった。Porcine circovirus 2型(PCV2)は100検体(43.1%)で、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス(PRRSV)は、6検体(2.6%)でPCR陽性であった。*Pasteurella multocida*(Pm)は、42検体(18.1%)から、*Actinobacillus pleuropneumoniae*(App)は、9検体(3.9%)から分離された(表3)。Mhpが検出された133検体では、12検体でPCV2とPmが、63検体からPCV2が、18検体からPmが、1検体からAppがそれぞれ検出/分離された(表4)。このように、最近の日本において、Mhpは、と殺豚で高頻度に検出され、そのほとんどで、複合感染を起こしていることが示された。

表3 232頭(48農場)のと殺豚の肺病変部からの数種の病原体の検出⁴⁾

| 病原体(検査法) | 農場数(%) | 頭数(%) |
|---------------------------------|-----------|------------|
| <i>M. hyopneumoniae</i> (PCR) | 38 (79.2) | 133 (57.3) |
| PCV2 (PCR) | 27 (56.3) | 100 (43.1) |
| <i>P. multocida</i> (分離) | 22 (45.8) | 42 (18.1) |
| <i>A. pleuropneumoniae</i> (分離) | 6 (12.5) | 9 (3.9) |
| PRRSV (PCR) | 4 (8.3) | 6 (2.6) |
| 計 | 45 (93.8) | 178 (76.7) |

表4 マイコプラズマ感染豚における複合感染状況⁴⁾

| 病原体 | 頭数(%) |
|------------------------------|-----------|
| <i>M. hyopneumoniae</i> のみ | 39 (29.3) |
| + PCV2 | 63 (47.4) |
| + <i>P. multocida</i> | 18 (13.5) |
| + PCV2 + <i>P. multocida</i> | 12 (9.0) |
| + <i>A. pleuropneumoniae</i> | 1 (0.8) |
| 計 | 133 (100) |

3. まとめ

(1) *M. hyopneumoniae* の汚染状況

我々は、近年のわが国におけるMhpの浸潤状況を調査したところ、95%以上の農場で抗体が検出され、広く浸潤していることを報告した(11)。そして、月齢別抗体の分布状況より(表5)、1~2か月齢以降に感染が起きていると考えられた。と殺豚を対象にした病原体の検索では、農場の約75%から、また、肺病変部の約60%からMhpが検出され、調査対象とした病原体の中で最も高率であった。MPSの不活化ワクチ

表5 肥育豚における *M. hyopneumoniae* に対するCF抗体の分布¹²⁾

| 月齢 | 陽性 / 検査 (%) | GM値 |
|-----|--------------------|------|
| < 1 | 41/204 (20.1) | 13.3 |
| 1 | 164/1,303 (12.6) | 8.2 |
| 2 | 635/2,200 (28.9) | 7.9 |
| 3 | 1,115/3,099 (36.0) | 10.0 |
| 4 | 1,487/2,836 (52.4) | 11.9 |
| 5 | 1,682/2,772 (60.7) | 13.6 |
| ≥ 6 | 935/1,463 (63.9) | 18.1 |

ンは、飼養効率を改善する上で有効であるため、多くの農場でMPSの予防に利用されている(12)。しかし、これらのワクチンは、肺病変を低減するものの、Mhpの感染や増殖を阻止するわけではないため、肺病変部からのマイコプラズマの検出頻度には影響しない。また、食肉用に飼育されている豚は、3か月齢を過ぎると抗生物質を投薬しないため、Mhpの増殖を抑制することが困難となる(14)。これらのことが、今回の成績に反映していると考えられる。と場出荷豚から高率にMhpが検出されたことは、農場内のMhpの感染環を構築する上で、離乳子豚だけではなく肥育豚も重要な汚染源となっていると考えられる。

また、Mhp感染豚の少なくとも約70%の豚が複合感染を起こしていることが示された。MPSは、Mhpの単独感染でも肺炎が惹起されるが、Mhp感染により気道の上皮細胞が損傷を受けること(7)や食細胞系の機能を抑制すること(5,6)で、他の病原体の定着や増殖を容易にする易感染化が知られている。高率に複合感染が認められていることは、Mhp感染により引き起こされる易感染化と関連していると考えられる。さらに、MPSは、細菌やウイルスとの混合感染により、より重篤な肺炎につながる事が知られている。したがって、Mhp感染豚は、複数の病原体に感染しているため、呼吸器病の病態が複雑になっていると同時に、Mhpだけではなく複数の病原体の存在を意識した衛生対策を実施しなければならない。

(2) PRRS ウイルスの汚染状況

1998年8月~1999年3月に行ったPRRSVに対する抗体調査の成績では、農場の66% (137/207)、豚の34.5% (1,910/5,535)で抗体が検出されている(2)。しかし、今回のと殺豚の肺病変を調べた成績では、PRRSVは、2.6%と低率であった。PRRSVに対する抗体調査の月齢別の成績では(表6)、多くの豚は、1~2か月齢でPRRSVに感染していると推察されることから、屠場へ出荷される約6ヶ月齢に達する

表6 肥育豚における PRRSV に対する抗体の分布²⁾

| 月齢 | 陽性/検査 (%) |
|-----|----------------|
| < 1 | 14/123 (11.4) |
| 1 | 65/292 (22.3) |
| 2 | 193/333 (58.0) |
| 3 | 271/400 (67.8) |
| 4 | 280/357 (78.4) |
| 5 | 207/325 (63.7) |
| > 6 | 59/96 (61.5) |

までに、肺からウイルスが消失した可能性が強く考えられる。また、PRRSウイルス感染豚は、同一ウイルス株に対する再感染防御能を有することから(13)、農場内のウイルス感染歴のある肥育豚では、ウイルスの感染を阻止していることも考えられる。

一方で、肥育舎で感染が起きている農場の場合、肥育後期の豚からも高率に検出される可能性が予想される。たとえば、PRRSVによる初感染を被った農場では、全ステージの豚が感染し、数週間ウイルスを保持するであろう。また、繁殖群での PRRSV を安定化し、さらに、哺乳・離乳子豚での PRRSV 感染防止に成功したような農場では、最終段階として肥育舎での感染のみが維持されるようになる。このような農場では、PRRSV の汚染源としての肥育豚の存在を意識して、豚の移動や管理作業も含めた衛生対策を実施しなければならない。

最後に、日本における PRDC の被害を低減する上で、Mhp を中心とした衛生対策が重要であると考えられる。特に、と場出荷豚では抗生物質の残留を防ぐため、出荷前の一定期間は薬剤の投与が規制されており、これらの豚において、高率に Mhp が検出されることは、農場内の Mhp 感染環を形成する上で重要視しなければならない。

参考文献

1. Abe, K., et al. (1999) TT virus infection is widespread in the general populations from different geographic regions. *J. Clin. Microbiol.* 37: 2703-2705
2. 浅井鉄夫ら (2000) 国内における豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスに対する抗体調査 日獣会誌、53、363-366
3. 浅井鉄夫ら (2001) 離乳日齢の異なる子豚からの病原体の分離 日獣会誌、54、353-357
4. 浅井鉄夫ら (2002) と殺豚の肺病変からの数種の病原体の検索 日本マイコプラズマ学会雑誌、29、47-50

5. Asai, T., et al. (1996) Suppressive effect of bronchoalveolar lavage fluid from pigs infected with *Mycoplasma hyopneumoniae* on chemiluminescence of porcine peripheral neutrophils. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 51 : 325-331
6. Caruso, J. P. and Ross, R. F. (1990) Effects of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections on alveolar macrophage functions in swine. *Am. J. Vet. Res.* 51, 227-231
7. DeBey, M. C., Ross, R. F. Ciliostasis and loss of cilia induced by *Mycoplasma hyopneumoniae* in porcine tracheal organ cultures. *Infect. Immun.* 62:5312-5318, 1994.
8. Ellis, J. et al. (1999) Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic piglets. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11:3-14.
9. Harms, P. A. et al. (2002) Three cases of porcine respiratory disease complex associated with porcine circovirus type 2 infection. *J Swine Health Prod.* 10: 27-30, 2002.
10. 今田由美子ら (1998) PCR による *Mycoplasma hyopneumoniae* の検出と RAPD、イミュノブロッティングによる型別. 日本マイコプラズマ学会雑誌. 22: 81-83
11. Kono, Y. et al. (1996) Nested PCR for detection and typing of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pigs. *J. Vet. Med. Sci.* 58: 941-946.
12. 岡田宗典ら (2000) わが国の豚における *Mycoplasma hyopneumoniae* の抗体調査 日獣会誌. 53:441-445.
13. Okada, M. et al. (1999) Evaluation of *Mycoplasma hyopneumoniae inactivated* vaccine in pigs under field conditions. *J. Vet. Med. Sci.* 61: 1131-1135
14. Shibata, I. et al. (2000) Experimental reinfection with homologous porcine reproductive and respiratory syndrome virus in SPF pigs. *J. Vet. Med. Sci.* 62: 105-108
15. Thacker, E. L. (2001) Immunology of the porcine respiratory disease complex. *Vet. Clin. North Am.* 17: 551-565
16. 山本孝史 (1996) *Mycoplasma hyopneumoniae* の選択分離法の開発と培養基の改良ならびに豚マイコプラズマ性肺炎に関する若干の知見. 日本マイコプラズマ学会雑誌. 23: 101-104