

資料

609G 遺伝子型豚丹毒菌株感染による敗血症型豚丹毒の発生事例とその制御

神田 章¹⁾、小林千恵²⁾、矢彦沢小百合³⁾、トーホー⁴⁾、長井伸也⁴⁾(¹⁾ 長野県長野家畜保健衛生所、²⁾ 長野県上田保健福祉事務所、³⁾ 長野県松本家畜保健衛生所、⁴⁾ 日生研株式会社)

Kanda, A., Kobayashi, C., Yahikozawa, S., To, H., and Nagai, S. (2012)

An occurrence of acute septicemia of swine erysipelas caused by infection with a 609G genotype of *Erysipelothrix rhusiopathiae* and an attempt to its control

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 60, 17-20.

キーワード：敗血症型豚丹毒、609G遺伝子型、ラテックス凝集反応、制御方法、不活化ワクチン

2009年以降、長野県内で同一性状を示す強毒タイプの豚丹毒菌が確認された。血清型は1aで *spaA* 遺伝子高度変異領域の *SpaA*-609G769A型株（以下609G型と略）と呼ばれる野外株であった²⁾。今回、本遺伝子型株感染による敗血症型豚丹毒が多発している農場に遭遇したので、その疫学的、病原学的解析を行った。さらに、当該農場において本病を制御するため、抗生物質による治療および不活化ワクチンを用いた予防対策を試みた。

また、全国の豚丹毒菌株の調査により、609G遺伝子型豚丹毒菌株が我が国に広くまん延していることが判明したので報告する。

1. 発生状況

2008年12月以降、長野県外の農場（A農場）から県内の食肉処理場に搬入された肉豚において、敗血症型、関節炎型ならびに心内膜炎型豚丹毒が多数確認され、2010年6月までに100頭以上の肉豚が廃棄処分となった。

また、2009年11月以降には、繁殖母豚約130頭を飼養する県内の一貫経営農場（B農場）で敗血症型豚丹毒が発生した。B農場では、抗生物質投与により、農場内での死亡はなくなったものの、食肉処理場で関節炎型豚丹毒が月間約20頭のペースで集団発生し、約半年で80頭以上を数えた。

以下、本農場の敗血症型豚丹毒の発生とその制御方法について詳細に検討した。

2. 病性鑑定

2009年11月15日に5頭、16日には6頭の肥育豚が死亡していたことから、11月16日の立入検査時に、元氣消失、41℃以上の発熱およびチアノーゼ等の症状を呈していた肥育豚4頭（No.1～3：90日齢、No.4：120日齢）を病性鑑定に供した。これらに対し、解剖学的検査、細菌学的検査、ウイルス学的検査（豚コレラ、豚インフルエンザ、オーエスキー病）、病理組織学的検査を実施した。

細菌学的検査は、主要臓器、脳、血液およびリンパ節について、5%ヒツジ血液寒天培地、DHL寒天培地、マンニット寒天培地、HI寒天培地を用い、37℃で24時間好気培養するとともに、主要臓器、脳、小腸内容（段階希釈）については、5%ヒツジ血液寒天培地、卵黄加CW寒天培地を用い、37℃で24時間嫌気培養を実施した。皮膚病変部のスワブについては、ゲンタマイシン・カナマイシン加0.1%Tween80および0.3%トリシアミノメタン加トリプトースホスフェートブロス（pH7.6）で37℃、24から48時間増菌培養し、培養上清を5%ヒツジ血液寒天培地へ接種、37℃で24から48時間分離培養を実施した。分離菌は、アピコリネ®（シスメックスバイオメリュー）を用い同定した。

分離菌の遺伝子型別は既報⁴⁾に基づき *spaA* 遺伝子内の高度変異領域⁶⁾の塩基配列の分析により行った。

病理組織学的検査は、主要臓器のホルマリン固定材料を、常法によりパラフィン包埋切片を作成後、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色、リントングステン酸ヘマトキシリン染色、グラム染色および抗豚丹毒抗体を用いた免疫染色（IHC染色）を施し鏡検した。

抗体検査は、B農場から2010年2月から3月までに食肉処理場に出荷した肉豚210日齢36頭、220日齢44頭、およびB農場で飼養中の繁殖豚6頭、38日、56日、72

日、110日、120日、140日齢の各ステージ5頭の肥育豚の血清を用いた。

抗体検査は、ラテックス凝集反応および0.1mol/lの2-メルカプトエタノールを混合し37℃、1時間処理した血清と Marienfelde 株あるいはB農場由来株を用いた生菌凝集反応により行った。

肉眼所見ではNo.2および3の耳翼、下顎等に発疹およびチアノーゼ、4頭に共通して脾臓腫大が認められた。

細菌学的検査では、主要臓器、脳、No.2および3の皮膚病変部皮下から *Erysipelothrix rhusiopathiae* が分離された(表1)。これらの分離菌の遺伝子型はすべて609G型であった。

表1 豚丹毒菌の分離状況

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
心臓	++	+++	++	+++
肺	+	+	+	+
肝臓	+	+	+	+++
脾臓	++	++	+++	+++
腎臓	+++	+++	+++	+++
脳	+	-	-	-
コロニー数	+:1~10	11~100	+++101<	

病理組織学的検査では、敗血症型豚丹毒で特異的に確認される腎糸球体毛細血管硝子様血栓⁵⁾は、今回の症例では認められず、血栓形成および心筋壊死を伴う化膿性心筋炎が4頭に共通して認められた(表2、図1)。

表2 病理組織学的検査

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
腎糸球体毛細血管硝子様血栓	-	-	-	-
血栓形成・心筋壊死を伴う	○	○	○	○
化膿性心筋炎	○	○	○	NS
急性脾炎	-	○	○	○
化膿性リンパ節炎	-	○	○	○
間質性肺炎	-	-	-	○
化膿性気管支肺炎	-	-	-	○

NS:未採材

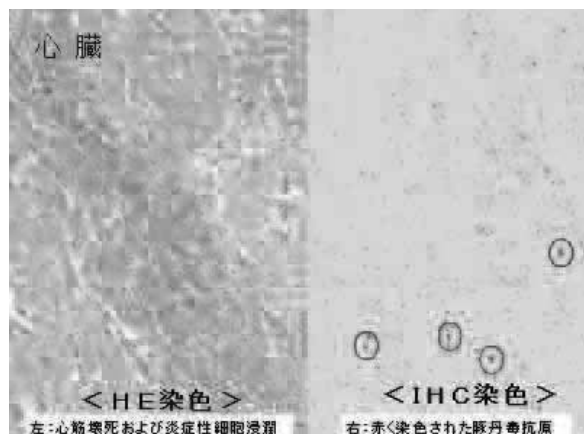


図1 心筋壊死像と豚丹毒菌抗原の検出

抗体検査では、ラテックス凝集反応において、56日齢から抗体の上昇が認められたが、生菌凝集反応では、ピーク時の110日齢時でも平均73.5倍であり、敗血症型豚丹毒を発症している農場にしては低い値であった(表3)。

表3 ステージ別抗体価 (GM 価)

区分	日齢	検査頭数	ラテックス凝集反応	生菌凝集反応	
				Marienfelde株	B農場由来株
肥育豚	38	5	4.0	1.3	1.5
	56	5	16.0	4.0	1.0
	72	5	18.4	4.0	4.6
	110	5	73.5	1.3	1.3
	120	5	48.5	2.0	2.0
	140	5	55.7	1.7	1.3
出荷豚	210	36	11.1	118.5	82.2
	220	44	67.1	118.3	132.1
繁殖豚		6	26.9	20.7	17.4

一方、生菌凝集反応では、140日齢まで抗体陽転は認められなかったものの、出荷豚に平均100倍を超える高い抗体価が突如として認められた。生菌凝集反応において、Marienfelde 株とB農場由来株の両株を抗原として検査を実施したものの、その結果に差異は認められなかった。

繁殖豚の抗体価は、ラテックス凝集反応、生菌凝集反応ともに、20倍前後と低値であった。

なお、ラテックス凝集反応と生菌凝集反応の抗体価の相関係数は0.034と相関性は低かった。

3. 治療ならびにその後の発生状況

11月16日の時点で豚丹毒が強く疑われたことから、同居豚にペニシリン系の抗生物質投与を実施した。

その結果、19日までに12頭が死亡したものの、20日以降の死亡は確認されなくなった(図2)。

農場内での斃死は終息したものの、12月以降、と畜場において関節炎型を中心とする豚丹毒が多発し、3月までの発生頭数は、計63頭に上った。

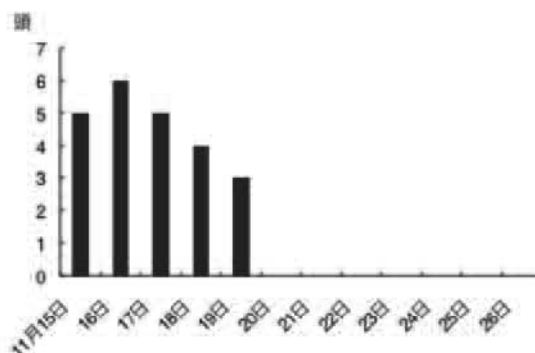


図2 B農場における死亡頭数の推移

4. 不活化ワクチン接種による対策

2009年11月末から豚丹毒不活化ワクチンの接種を開始した。繁殖豚には初回は分娩1カ月前と2カ月前の2回、次回からは分娩前1カ月の1回接種し、肥育豚には、生後40、70、130日齢の3回接種を行った。

B農場内における豚丹毒の動態をモニタリングするため、食肉処理場出荷豚の抗体検査を実施したところ、ワクチン適用後の経過期間が長くなるとともに、ラテックス凝集抗体、生菌凝集抗体ともに抗体価は低下した。ワクチン接種から約10ヶ月を経過した2010年9月には正常範囲と考えられるGM価30倍前後まで収束した(図3)。

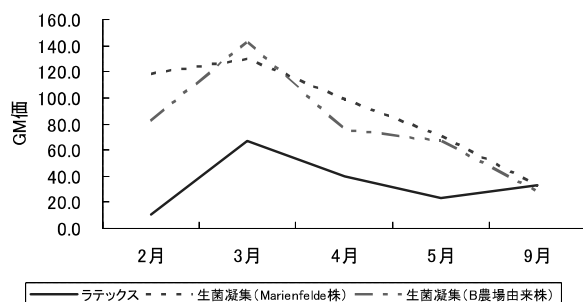


図3 出荷豚の抗体価の推移

本農場では、2010年4月までは月に約20頭のペースで関節炎型を中心に発生していたが、ワクチン3回接種済みの豚が出荷され始めた5月以降は激減し、12月の発生は2頭まで減少した(図4)。

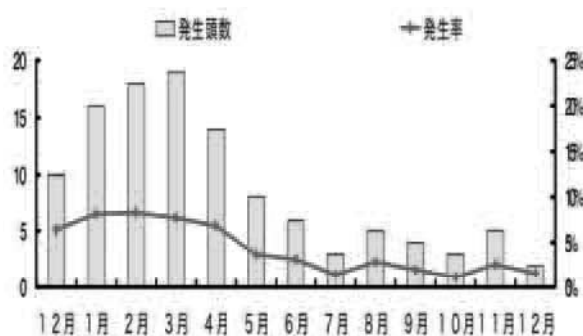


図4 出荷豚の発生状況

5. 全国の病性鑑定材料からの609G型豚丹毒菌株の検出状況

日生研株式会社において2009年9月～2012年5月の間に検査を受け入れた病性鑑定材料あるいは同定依頼菌株について *spaA* 遺伝子の配列分析を行った(表4)。その結果、長野県のもので10株が他の遺伝子型であったものの、他県由来の分離株ではすべてが609G型であった。総計すると、検査した113株中、103株

(91.2%) が609G型株であった。

表4 609G型豚丹毒菌株の検出状況

県	時期	分離豚丹毒菌株数	
		1a型609G	その他
長野	2009.9～12.5	70	10(2a, 不明)
群馬	2010.2	8	0
茨城	2010.6～2011.1	2	0
山口	2011.3	1	0
鹿児島	2011.5	4	0
宮崎	2011.10～2012.1	8	0
静岡	2012.2	10	0
合計		103	10

6. 考察

2009年11月以降、長野県内の家畜保健衛生所および食肉衛生検査所で分離された豚丹毒菌について血清型別および *spaA* 遺伝子高度変異領域の配列分析を行ったところ、609G遺伝子型を示す豚丹毒菌が県内にまん延していた²⁾。それ以前に行った調査では種々の遺伝子型を示す豚丹毒菌株が検出され、本遺伝子型は検出されていなかったことから^{1,4)}、本株は最近本県に侵入したものと推察された。

609G型株感染により敗血症を発症した子豚を剖検すると、病理組織学的検査において、敗血症発症豚で通常みられる腎糸球体毛細血管の硝子様血栓形成⁵⁾は少数に限定され、心筋壊死が比較的多く認められた。

609G型株感染農場での、ステージ別の抗体検査では、ラテックス凝集反応では敗血症型を呈している農場としては抗体価が全体的に低く、特に繁殖豚では幾何平均が30倍以下と一般的な豚丹毒発生農場と比較して低値を示した。また、肉豚の生菌凝集反応の抗体価は肥育中期まで低値で推移するものの、肥育後期に急激に上昇するという特徴的なパターンを示した。さらに、通常高い相関を示すはずのラテックス凝集反応と生菌凝集反応抗体価との間の相関も認めなかった。

本農場の死亡事故の原因が豚丹毒であることが判明後、ペニシリン系の抗生物質の投与により、死亡は終息させることができた。けれども食肉処理場で発見される関節炎型の豚丹毒の発生は継続した。そこで、豚丹毒不活化ワクチンを経産母豚に1回および子豚に対して3回の接種を徹底させることにより、接種開始から約10カ月後には、ラテックス凝集抗体、生菌凝集抗体ともにGM価30倍前後にまで収束した。また、食肉処理場での関節炎型豚丹毒の発生頭数も12月には2頭に減少した。このことから、609G型株の感染による豚丹毒の発生に対して、豚丹毒不活化ワクチン接種が有効であることが示された。不活化ワクチンは生ワクチ

ンと比較した場合、適用上、種々の有利な点がある³⁾。今回、609G株感染の制御に不活化ワクチンを利用することは有用であると考えられた。

最近の野外株の調査結果から、609G遺伝子型を示す豚丹毒菌は、すでに我が国に広くまん延していることが示された。本遺伝子型株の詳細な病原学的性状はいまだ不明な点が多いものの、病原性の強い強毒株であると考えられる。今回、本菌株の制御において不活化ワクチンの接種が有効であることが示されたことから、609G型株がまん延している地域では、豚丹毒菌に対するワクチン接種が重要であると考えられた。

7. 謝辞

免疫組織化学検査などご協力をいただいた、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所ならびに全国の豚丹毒菌株の遺伝子検査の実施に当たり菌株をご分与頂いた各検査機関の方々に御礼申し上げます。

引用

- 1) 神田章ら (2003) 長野県畜産技術研究発表会全文原稿, SPF 農場における豚丹毒に関する一考察
- 2) 神田章ら (2011) 新しい遺伝子型を示す豚丹毒が分離された敗血症型豚丹毒の発生事例. JVM. 64: 905-909.
- 3) 長井伸也 (2011) 豚丹毒 (アジュバント加) 不活化ワクチン. 動物用ワクチン・バイオ医薬品研究会編動物用ワクチン-その理論と実際-第1版, p.153-154, 文永堂出版, 東京.
- 4) Nagai S, et al. (2008) Differentiation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains by nucleotide sequence analysis of a hypervariable region in the *spaA* gene: discrimination of a live vaccine strain from field isolates. J Vet Diagn Invest, 20: 336-342.
- 5) 高橋敏雄ら (1999) 豚丹毒. 柏崎守ら編 豚病学 - 生理・疾病・飼養 - 第4版, p.342-352, 近代出版, 東京.
- 6) To H, et al. (2007) Genetic and antigenic diversity of the surface protective antigen proteins of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Clin Vaccine Immunol. 14:813-820.