

資料

哺乳豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型 2 による全身性感染症村上弘子¹⁾、倉重 聖²⁾ (¹⁾福岡県農林水産部畜産課、²⁾福岡県両筑家畜保健衛生所)

Murakami, H. and Kurashige, S. (2013). Systemic *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 infection in suckling piglets.
Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 61, 22-25.

キーワード：*Actinobacillus pleuropneumoniae*、哺乳豚、全身性感染症

はじめに

Actinobacillus pleuropneumoniae は、グラム陰性、非運動性、通性嫌気性を示す *Pasteurellaceae* 科に属する小桿菌であり、豚胸膜肺炎を引き起こす。通常 *A. pleuropneumoniae* による胸膜肺炎は 4～5 カ月齢の豚に好発し、壊死性、出血性、気管支肺炎と線維素性肺炎を特徴^{1,6)} とする。胸腔以外での病変の報告は少ないが、肥育豚における滲出性髄膜炎と腎炎⁵⁾、壊死性骨髄炎と線維素性化膿性関節炎²⁾、と畜場における出荷豚の多発性肉芽腫性肝炎^{7,8)} の報告がある。今回、哺乳豚で急性経過を示した全身性 *A. pleuropneumoniae* 感染症に遭遇し、適正な抗生物質投与により終息したので、概要を報告する。

発生概要

発生農場は、母豚60頭を飼養する一貫経営農場であり、*A. pleuropneumoniae* 血清型 1、2、5、7、9 及び10感染症予防用の不活化ワクチンを 2 回接種した 6 カ月齢の繁殖候補豚を定期的に県外から導入していた。また発生農場内では、導入後に *A. pleuropneumoniae* のワクチン接種は実施していなかった。

今回発症した子豚は、2010年9月に導入された母豚から、翌2011年2月に娩出された。母豚は初産であった。同年3月、22日齢の同腹哺乳豚11頭のうち2頭が呼吸速迫を呈したと連絡を受け、立入検査を実施した。

材料及び方法

立入検査時、瀕死状態の豚 (No.1) 及び死亡豚 (No.2) を剖検し、病性鑑定を実施した。

ウイルス学的検査は、腎臓、脾臓、扁桃の臓器プール乳剤及び肺乳剤を CPK 細胞及び MARC 細胞に接種

し、さらに同乳剤を用いて、豚コレラウイルス (CSFV)、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) 及び豚サーコウイルス 2 型 (PCV2) の各特異遺伝子に対する PCR を実施した。また血清を用いて、CSFV、PRRSV 及びオーエスキー病ウイルス (ADV) に対する抗体検査を実施した。

細菌学的検査では、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓及び腎臓を分離材料として、チョコレート寒天培地、5% 馬血液加寒天培地、DHL 寒天培地 (栄研化学株式会社、東京) を用いて 37°C で 24 時間好気培養及び微好気培養 (5% CO₂ ガス) を実施した。小腸及び結腸内容物は、DHL 寒天培地を用いて、37°C で 24 時間好気培養を実施した。

マイコプラズマ検査は肺を材料として、Mucin bacteriological (BD Diagnostics, USA) を 5% 添加した PPLO broth (BD Diagnostics, USA) 寒天培地を用いて、37°C で 7 日間微好気培養 (5% CO₂ ガス) を実施した。

分離菌株の菌種同定は、市販の同定キット (ID テスト HN-20 ラピッド「ニッスイ」; 日水製薬株式会社、東京) を用いた生化学的性状検査と、*A. pleuropneumoniae* に特異的な外膜リポ蛋白質遺伝子 (*omlA*) の PCR による検出⁹⁾ を実施した。

A. pleuropneumoniae の血清型別は、*omlA* の PCR 増幅産物を制限酵素 *Hinf*I で処理した PCR-RFLP⁹⁾ と抗 *A. pleuropneumoniae* ウサギ免疫血清の血清型 1 から 12 (分与: 動物衛生研究所) を用いたスライド凝集試験により実施した。

薬剤感受性試験は、ベンジルペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、アモキシシリン (AMPC)、カナマイシン (KM)、ゲンタマイシン (GM)、ストレプトマイシン (SM)、フラジオマイシン (FRM)、オキシテトラサイクリン (OTC)、ドキシサイクリン (DOXY) (以上 9 薬剤: センシディスク、BD Diagno-

stics, USA) 及びエンロフロキサシン (ERFX) (提供: Bayer Health Care, Germany) の10薬剤について、一濃度ディスク拡散法により実施した。

また、No.1の血清を用いて、*A. pleuropneumoniae* 血清型2に対する抗体検査をラテックス凝集試験(日生研アグテック AP 2; 日生研株式会社、東京)で実施した。判定は、抗体価8倍以上を陽性とした。また同時に農場全体の*A. pleuropneumoniae* 血清型2の浸潤状況を調べるために、2011年6月に採血した母豚5頭及び2012年1月に採血した母豚5頭と5カ月齢の肥育豚6頭の血清を用いて同様の検査を実施した。これら母豚の産歴構成は、1産が2頭、3産が1頭、5産が1頭、6産が3頭、7産が1頭、8産が2頭であり、未経産豚はいなかった。

病理組織学的検査は、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、扁桃及び下顎リンパ節を10%中性ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色(HE染色)及びグラム染色を実施した。また、免疫組織化学的検査は抗*A. pleuropneumoniae* 血清型2ウサギ免疫血清を用いて、ストレプトアビジン・ビオチン法(ヒストファイン SAB-PO (R) キット; ニチレイバイオサイエンス、東京)で実施した。

検査成績

外貌所見では、No.1、No.2ともに豚の耳介、鼻鏡部、臀部、腹部にチアノーゼが認められたが、その程度はNo.1の方が顕著であった。

剖検では、2頭共通の所見として、心臓及び肺の漿膜面に多量の線維素が析出し、一部は胸壁と癒着していた。また肺実質は暗赤色化及び肝変化がみられ、一部は硬化していた。肝臓は腫大及び脆弱化、脾臓では辺縁部に数カ所の充うっ血、腎臓では被膜下に点状出血、下顎リンパ節では充血が認められた。

ウイルス学的検査では、ウイルス分離は陰性であり、CSFV、PRRSV 及び PCV 2 に特異的な遺伝子は検出されなかった。抗体検査においても、CSFV、PRRSV 及び ADV に対する抗体は陰性であった。

細菌学的検査では、2頭の脳、心臓、肺、肝臓、脾臓及び腎臓から、グラム陰性の小桿菌が多数分離された(表1)。同菌はチョコレート寒天培地にのみに発育し、同定キット(IDテストHN-20ラピッド)を用いた生化学性状検査では*A. pleuropneumoniae* (コード番号:7107351、相対確率57%)と *Actinobacillus lignieresii* (相対確率43%)に該当した。さらに *omlA* を標的としたPCRでは、970bpのDNAが増幅された。これらの結果から、分離菌株を*A. pleuropneumoniae* と同定した。PCR-RFLPの結果は、約460bp、450bp及び60bpにバンドが出現する血清型2、8のパターンを示し、抗*A. pleuropneumoniae* ウサギ免疫血清を用いたスライド凝集試験では、血清型2ウサギ免疫血清のみで凝集が確認されたことから、血清型2と判定した。薬剤感受性試験成績では、KM、GM、SM及びFRMに耐性を示し、PCG、ABPC、AMPC、OTC、DOXY及びERFXに対しては感受性を示した。肺からマイコプラズマは分離されず、小腸及び結腸内容から有意菌は分離されなかった。

No.1の*A. pleuropneumoniae* 血清型2に対する凝集抗体価は、陰性(8倍未満)であった。肥育豚の抗体価は128倍から512倍であった。No.1及びNo.2の母豚の抗体価は測定できなかったが、同農場における他の母豚の抗体価は、8~128倍を示した(表2)。

病理組織学的検査では、肺の細気管支や肺胞腔内、肺胸膜、小葉間結合組織に、グラム陰性小桿菌塊とその周囲に変性した単核細胞の集簇が認められた。同様の病変は、心外膜、肝臓の小葉辺縁部、脾臓の脾髄内、扁桃の陰窩腔内及び下顎リンパ節のリンパ洞内にも認め

表1 主要臓器における *A. pleuropneumoniae* の分離状況と免疫組織化学的検査の結果

	No.1		No.2	
	菌分離	免疫組織化学的検査	菌分離	免疫組織化学的検査
脳	+	-	+	-
心臓	+	+	+	NT
肺	+	+	+	+
肝臓	+	+	+	+
腎臓	+	-	+	-
脾臓	+	+	+	+
扁桃	NT	+	NT	+
下顎リンパ節	NT	+	NT	-

表2 *A. pleuropneumoniae* 血清型2に対する抗体検査成績

	検査頭数	抗体価(倍)						
		<8	8	16	32	64	128	256
No.1	1	1*						
肥育豚	6					3	2	1
母豚	10		1(8)		2(6、8)	4(1、3、6、7)	3(1、5、6)	

* 頭数を示す。また、括弧内は産歴を示す。

られた。これら病変部のグラム陰性小桿菌塊は、抗 *A. pleuropneumoniae* 血清型2 ウサギ免疫血清に陽性反応を示した(表1)。これらの病変は多臓器に膿瘍が認められた50日齢の子豚の所見³⁾とほぼ一致した。また上記病変の他、肺では細気管支や肺胞腔内に出血を伴った線維素の析出や漿液の貯留、肺胞中隔毛細血管内に硝子血栓の形成、肺胸膜や小葉間結合組織に単核や好中球の浸潤を伴った水腫と線維素析出も認められた。心臓では、外膜に出血を伴った線維素の析出、外膜下で血管壁のフィブリノイド変性が認められた。脾臓では被膜上に線維素の析出が認められた。腎臓では糸球体毛細血管の充うっ血や硝子血栓の形成が散見された。

その後の経過

病性鑑定をした4日後に同腹豚の1頭が同様の症状を呈し死亡した。診療獣医師と協議した結果、薬剤感受性試験で感受性を示した6薬剤のうちからABPCを選択し、全ての哺乳豚に投与した。その後、続発は認められていない。

考察

A. pleuropneumoniae は全ての日齢の豚に発生するが、胸膜肺炎が主病変である。今回の症例は、発症日齢及び剖検所見から、*Haemophilus parasuis* や *Actinobacillus suis* など他の感染症を疑ったが、主要臓器から *A. pleuropneumoniae* 血清型2のみが分離されたことから、*A. pleuropneumoniae* 血清型2による全身性感染症と診断した。一般に哺乳豚は病気の進行が早く、そのまま無処置であれば被害が拡大した可能性はあるが、感受性のあるABPCを全ての哺乳豚に投与した結果終息し、被害を最小限に抑えられた。

同農場の母豚は、導入時に2回ワクチン接種後、追加接種をしておらず、肥育豚では1回も接種していない。それにもかかわらず、母豚や肥育豚が抗体を保有していた事から、肥育豚舎及び母豚舎における *A. pleuropneumoniae* 血清型2の浸潤が示唆された。しかし、

抗体価が8倍の母豚(8産)が存在するなど、抗体価は一定していないので、母豚の中には分娩時ほとんど抗体を保有していない母豚がいる可能性がある。今回、発症子豚の母豚の抗体検査は実施できなかったが、発症時にNo.1は *A. pleuropneumoniae* 血清型2に対する抗体を保有しておらず、そのため *A. pleuropneumoniae* 血清型2に感染し、瀕死状態になったものと考えられた。また、No.2も同様な理由で急死したものと思われた。今後の対策として、母豚の抗体価を一定にするため分娩前の *A. pleuropneumoniae* 血清型2をふくむワクチンの追加接種の実施、さらに子豚に初乳を確実に摂取させるために、分娩後24時間以内に大きな子豚約半数をコンテナなどに取り、残りの小さな子豚に自由に初乳を飲ませ、次に大きな子豚に初乳を飲ませる分割授乳⁴⁾の実施が必要と思われる。

謝辞

本報告をまとめるにあたり、抗 *A. pleuropneumoniae* ウサギ免疫血清を分与していただいた動物衛生研究所の小林秀樹先生、検査等に助言、協力いただいた福岡県中央家畜保健衛生所病性鑑定課の皆様にご心から感謝いたします。

引用文献

- 1) Cho WS, et al. (2004) Expression of nitric oxide synthase 2 and cyclooxygenase-2 in swine experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet Pathol*, 41: 666-672.
- 2) Jensen TK, et al. (1999) *Actinobacillus pleuropneumoniae* osteomyelitis in pigs demonstrated by fluorescent in situ hybridization. *Vet Pathol*, 36: 258-261.
- 3) 久保正法ら (2009) 多臓器に膿瘍の見られたアクチノバチルス症の1例. 豚病会報, 54: 1.
- 4) 呉 克昌 (2002) 離乳舎での成績を最適化する飼養管理. 豚病会報, 40: 18-21.
- 5) Madse LW, et al. (2001) *Actinobacillus pleuropneu-*

- moniae* demonstrated in situ in exudative meningitis and nephritis. Vet Rec, 149: 746-747.
- 6) Narita M, et al. (1997) Immunohistopathological characterization of pig pneumonia caused by a combined Aujeszky's disease virus and *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection. J Comp Pathol, 117: 25-33.
 - 7) Ohba T, et al. (2008) Multifocal granulomatous hepatitis caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in slaughter pigs. J Comp Pathol, 139: 61-66.
 - 8) 大場剛実ら (2009) と畜場搬入豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 2型による多発性肉芽腫肝炎. 豚病会報, 54: 2-7.
 - 9) Osaki M, et al. (1997) Genetic diversity of the genes encoding the outer membrane lipoprotein (*omlA*) of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. J Vet Med Sci, 59: 213-215.