千葉県において発生した豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 感染症 と分離菌の薬剤感受性

岡崎好子¹⁾ 稲毛幹雄¹⁾ 村上覚史¹⁾ 岩淵 功¹⁾

鈴木達郎¹⁾ 坂梨 裕²⁾ 原 康弘³⁾ 菊池孝之⁴⁾

1) 千葉県家畜衛生研究所 (佐倉市岩富町 497, 〒285)

2) 千葉県東部家畜保健衛生所 (東金市川場 1105-3, 〒000)

3) 千葉県北部家畜保健衛生所 (佐原市岩ヶ崎台 12-1, 〒000)

4) 千葉県中央家畜保健衛生所 (千葉市三角町 656, 〒000)

(平成 2 年 7 月 30 日受付・平成 3 年 2 月 8 日受理)

Actinobacillus pleuropneumoniae Infection of Swine in Chiba Prefecture and Sensitivity to Antibiotics of Isolates

YOSHIKO OKAZAKI*, MIKIO INAGE, SATOSHI MURAKAMI, ISAO IWABUCHI, TATSURO SUZUKI,
YUTAKA SAKANASHI, YASUHIRO HARA and TAKAYUKI KIKUCHI (* Institute of Animal Health,
Chiba Prefecture, Iwatomi-cho, Sakura-shi, Chiba 285)

SUMMARY

Outbreaks of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection of swine occurred on 5 integrated swine farms in Chiba Prefecture from late 1988 to 1989. The disease was prevalent among feeder pigs aged 3 to 7 months and no seasonal partiality was observed in the incidence. The morbidity was varied among the 5 farms 0.3 to 25% with the maximum mortality being 14.6%. Pathological examinations revealed extensive pleuropneumonia in all cases and meningitis and pericarditis in some cases. A total of 52 *A. pleuropneumoniae* strains were isolated from the lungs of the 11 affected pigs examined. These isolates were serologically identified as *A. pleuropneumoniae* types 1 and 2. There were no farms in which both types of *A. pleuropneumoniae* were isolated simultaneously. Thirty of 52 isolates belonged to serotype 1 and these were resistant to all kinds of antibiotics tested KM, SM, CP, TPH, TC and OTC. The remaining 22 isolates were serotype 2, and 5 of these isolates were resistant to SM, TC, OTC or TPH. From these results, the importance of susceptibility test of the isolates against antibiotics was emphasized for the treatment of the disease.

—Key Words : *Actinobacillus pleuropneumoniae*, serotype, sensitivity of antibiotics.

.....J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 44, 581~586 (1991)

要 約

1988 年 12 月から 1989 年 12 月にかけて、千葉県内 5 カ所の一貫経営の大型養豚場で豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 感染症が発生した。

病気は 3～7 カ月齢の豚で冬期ばかりでなく年間をとおして発生した。各農場での発病率は 0.3～25% で、1 農場での斃死率が 14.6% に達した。

病理学的所見では、線維素性胸膜肺炎が主体であったが、一部で脳髄膜炎および心外膜炎が認められた。

供試した 11 頭の病豚全例の肺から分離された *A. pleuropneumoniae* 菌の血清型は 1 型および 2 型であった。両型菌が同時に分離された農場はなかった。1 型菌株 30 株は全例とも供試した薬剤に対して多剤耐性を示し、また 2 型菌株では 22 株中 5 株に耐性菌が検出された。

—キーワード：豚胸膜肺炎、血清型、薬剤感受性。

豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 感染症は、甚急性、急性および慢性の線維素性胸膜肺炎を主徴とする疾病として知られている。

本症は、わが国では 1975 年に初めての発生例が報告^{12, 19)}されて以来全国各地で発生がみられ、現在では大型養豚場で最も重要な疾病の一つとなっている。

本菌の血清型は現在 1 から 12 型に分けられている。従来、わが国で分離された菌株の血清型はその大部分が 2 型であった^{1,7,8)}。しかし、近年、わが国でも 2 型以外の血清型に属する *A. pleuropneumoniae* も浸潤していることが確認されている^{1,2,5)}。現在、2 型、5 型および 2 価 (2 + 5 型) のワクチンが市販されている。

今回、千葉県内の 5 農場で発生した本症例に遭遇したので、その病理学的所見、分離菌の血清型および薬剤感受性について調査した。

材 料 お よ び 方 法

供 試 材 料

1988 年 12 月から 1989 年 12 月までの間に、千葉県内の養豚場で急死あるいは重篤な呼吸器症状を呈して死亡した 5 農場由来計 11 頭の豚を供試した。

病 理 組 織 学 的 検 査

供試豚を剖検後、主要臓器は 20% 中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従ってパラフィン包埋、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色した。

さらに 9 例の病豚材料について免疫組織学的に検査した。即ち、*A. pleuropneumoniae* 1 型および 2 型菌に対する家兎抗血清を作製し、ゲル内沈降反応で交差反応がないことを確認した後、これらの血清を用いて肺病巣部および脳材料を酵素抗体法の Avidin-Biotin-Complex Immunoperoxidase Technique (ABC 法) で調べた。実施にあたっては市販のキット (Vector Laboratories INC., U.S.A.) を使用した。

細 菌 学 的 検 査

細菌分離：各臓器および胸水、心嚢水等の材料を 10% 馬血液加寒天培地、10% 馬血液加チョコレート寒天培地および DHL 寒天培地にそれぞれ直接塗抹し、好気、5% 炭酸ガスおよび嫌気 (ガスパック法) 下で 37°C、24～48 時間、それぞれ培養した。分離菌株はグラム染色し菌型を確認した後、生物学的性状を検査し成書により同定した。

血清型別検査：分離菌の血清型別は農林水産省家畜衛生試験場に依頼し、平板凝集反応によって行われた。

薬剤感受性検査：分離された *A. pleuropneumoniae* 合計 52 株を用い、日本化学療法学会標準法に準じた寒天平板希釈法により行った。

薬剤は、ペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、クロラムフェニコール (CP)、チアンフェニコール (TPH)、テトラサイクリン (TC)、オキシテトラサイクリン (OTC) およびチアムリン (TM) の 9 種類を供試した。

基礎培地には Muller-Hinton 培地 (Difco) を用い、10% 馬血液加チョコレート寒天培地とした。増菌、希釈にはトリプチックソイブロス (Difco) を用い、山本らの方法に準じて作成した菌液を 5 μ l ずつ接種し、37°C、18～24 時間、好気培養後、最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。

なお、各種薬剤の耐性の判定については、MIC の分布が 2 峰性を示したことがひとつと MIC 値が 50 μ g/ml 以上であった点で判定した。

成 績

発 生 状 況

発生のみられた 5 農場は表 1 に示したとおりいずれも一貫経営の大型養豚場であった。発生は、12 月、2 月の冬期ばかりでなく、6 月、8 月、9 月、10 月と年間をとおして認められた。特に、B 農場では 2 月と 12 月に繰り返し発生がみられ、2 月の発生時には 3～4 カ月齢の肥育豚約 1,000 頭 (1 群 20 頭) 中各群 13 頭～1、2 頭死亡とばらつきがみられ、1 週間に 58 頭が斃死した。また、12 月にも同様に豚群全体から発生がみられ、4 日間に 146 頭の肥育豚が斃死した。発病豚はほとんどが 3～5 カ月齢の肥育豚であったが、D 農場では 7.5 カ月齢の繁殖候補豚であった。なお、子豚や母豚での発病は認められなかった。

症状としては、発育良好な豚が突然死した甚急性型か

表 1 *A. pleuropneumoniae* 感染症の発生状況

	農 場				
	A	B	C	D	E
経営形態	一 貫	一 貫	一 貫	一 貫	一 貫
飼養規模	成豚 800 肥育 5000	成豚 350 肥育 4000	成豚 230 肥育 2000	成豚 300 肥育 2700	成豚 100 肥育 900
発生年月	88. 12	89. 2 ^a 12 ^b	89. 6	89. 8	89. 9 10
発生月齢	5	3～4	4～5	7.5	3～5
発生頭数	十数頭	約 1,000	約 350	1	十数頭
斃死頭数	7	^a : 58/週 ^b : 146/4日	5	1	4～5/月
臨床症状	突然死 発 咳 食欲不振	発熱、発咳 食欲不振 腹式呼吸	突然死 発 咳	元氣消失	突然死 発育不良 腹式呼吸

写真1 肺胸膜の癒着と著明な線維素の滲出ならびに胸水および心嚢水の増量が認められる。

写真2 肺小葉の線維素を伴った著明な出血性変化ならびに拡張した小葉間結合組織周囲の変性白血球浸潤層および線維素性肺胸膜炎

ら、発熱、発咳、食欲不振、呼吸器症状を示し、半日～3、4日の経過で死亡した急性型等様々であった。急死豚では鼻や口から泡沫ないし血様物を排出したり、体表にチアノーゼが認められる例もあった。

剖検所見

病変は体表リンパ節の腫大を伴って主として胸腔臓器に限局して認められた。全例で線維素の滲出による肺胸膜の癒着が認められた。胸水（6/11例）および心嚢水（5/11例）は血様となり著しく増量していた。心嚢は肺胸膜同様線維素の滲出を伴って肥厚していた（5/11例）。肺は左右いずれか一方が著明に腫大し、暗赤色肝変化を呈していた（写真1）。さらに、胸腔以外では線維素の滲出を伴った腹膜炎（3/11例）が観察された。

病理組織学的所見

肺胸膜は好中球およびマクロファージの浸潤を伴って著しい線維素の滲出で肥厚していた。肺実質は出血や線維素の滲出を伴った炎症性水腫を呈していた。間質結合組織は著しく水腫性に拡張し、実質との境界部には変性を

写真3 A: 水腫性に拡張した間質結合組織周囲の変性白血球層（HE染色 ×40）
B: 変性白血球層に強く認められた *A. pleuropneumoniae* 1型抗原（ABC法 ×100）

写真4 *A. pleuropneumoniae* 1型感染豚の脳に認められた髄膜炎（HE染色 ×40）

伴った白血球を主体とする細胞浸潤層の形成が認められた（写真2）。また、多くの血管でフィブリン血栓が形成されていた。肺病巣をABC法で検査したところ、変性白血球層に一致して *A. pleuropneumoniae* 1型（6/9例）または *A. pleuropneumoniae* 2型（3/9例）抗原が証明された（写真3）。また、肺実質内では播種性に *A. pleuropneumoniae* 1型または *A. pleuropneumoniae* 2型の抗原が認められた。なお、同一組織で両抗原が同時に染色された例は観察されなかった。

脳においては軽度な髄膜炎（2/9例）（写真4）と脳室炎（1/9例）とが認められ、これらの病変をABC法で検査したところ、*A. pleuropneumoniae* 1型（1/3例）または2型（2/3例）抗原は好中球もしくはマクロファージ内で認められた。肺の場合と同様に両抗原がともに染色された例は観察されなかった。

細菌学的検査

供試豚計11頭のすべての肺病巣部から、溶血性の透明で光沢のある微小集落を形成する菌が多数分離された。その他、一部の病豚の胸水、心嚢水、実質臓器、脳およ

表2 *A. pleuropneumoniae* の分離成績

材 料	豚					No. (由来農場)					
	1(A)	2(A)	3(B)	4(B)	5(B)	6(B)	7(C)	8(C)	9(D)	10(E)	11(E)
肝	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	卅
脾	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	卅
腎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	卅
肺	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
心	—	—	—	—	—	卅	卅	卅	—	—	卅
脳	—	—	—	—	—	+	+	卅	—	—	卅
胸 水	・ ^a	・	・	・	卅	卅	卅	・	・	・	・
心嚢水	・	・	・	・	—	卅	・	・	—	・	—
関 節	・	・	・	・	・	・	・	・	・	—	卅
血清型	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2

^a：検査せず

び関節からも同様の菌が多数分離された（表2）。なお、C および E 農場由来の病豚からは同時に *Pasteurella multocida* が分離された。

分離菌はグラム陰性の桿菌で、*Staphylococcus aureus* の画線塗抹培養により衛星現象が認められ、その発育には NAD を要求したが CO₂ の要求は陰性であった（表3）。また、ポルフィリンテスト、CAMP テスト、オキシダーゼ反応、硝酸塩還元能ならびにウレアーゼ反応はいずれも陽性であり、インドール産生能および運動性はともに陰性であった。本菌はグルコース、フラクトース、シュクロースおよびマンニットを分解したが、ラクトースを分解しなかった。これらの成績から分離菌株はいずれも *A. pleuropneumoniae* と同定された。

分離菌株の血清型

計 52 菌株の血清型は B (24 菌株) および C (6 菌株) 農場由来が 1 型であり、A (2 菌株)、D (2 菌株)、E (18 菌株) 農場由来菌株は 2 型であった（表2）。同一農場からは同じ血清型の菌株のみが分離された。また、同一個体から分離された 9 菌株の血清型と ABC 法による成績は一致した。なお、1 型および 2 型以外の血清型菌は分離されなかった。

薬剤感受性

1 型および 2 型分離菌株の各種薬剤に対する感受性をそれぞれ表 4 および表 5 に示した。

2 農場、計 6 頭の豚から分離された 1 型菌 30 株のうち 13 菌株は PCG に 0.39 ~ 0.78 μg/ml、ABPC に 0.1 ~ 0.2 μg/ml と高い感受性を示したが、すべての薬剤に対しては低感受性もしくは耐性であった（表 4 および表 6）。各種薬剤に対する感受性は個体差は少なく農場間の差がみられた（表 6）。特に PCG および ABPC に対しては農場内で同時期に分離された各個体からの菌株間に大きな差はみられず、農場間の差がみられた。繰り返し発生のあった B 農場由来株で再発生時に分離された各個体からの菌株すべてが PCG および ABPC に耐性が認められた。なお、SM、KM、TPH に対しては全 30

表3 分離菌株の生物学的性状^a

グ ラ ム 染 色	陰 性
形 態	短小桿菌
オキシターゼ	+
カタラーゼ	±
溶 血 性	+(β)
衛 星 現 象	+
CO ₂ 要 求 性	—
ポルフィリンテスト	+
イ ン ド ー ル	—
ウレアーゼ	+
硝酸塩還元	+
糖 分 解 能	
グ ル コ ー ス	+
フ ラ ク ト ー ス	+
シュクロース	+
ラ ク ト ー ス	—
マ ン ニ ッ ト	+

^a：計 24 菌株はいずれも同一性状を呈した

菌株が 100 μg/ml 以上と高い耐性値を示した。3 農場、計 5 頭から分離された 2 型菌計 22 菌株では、SM に 2 株、TC、OTC に 2 株、TPH に 1 株と計 5 株が耐性を示したが、他の菌株はすべて感受性もしくは低感受性であった。SM 耐性株は A 農場由来、TC、OTC 耐性株は D 農場由来、TPH 耐性株は E 農場由来の菌株であった。

分離菌株の薬剤耐性パターンを表 8 に示した。全ての 1 型菌は、TC、OTC、SM、KM、CP、TPH の 6 剤に耐性を示し、そのうち 17 株は PCG および ABPC に対しても耐性であった。いっぽう、2 型菌は 22 株中 5 菌株が TC、OTC、SM、または TPH に単剤もしくは 2

表4 *A. pleuropneumoniae* 1型菌の薬剤感受性 (2農場, 計6頭)

薬 剤	最 小 発 育 阻 止 濃 度($\mu\text{g/ml}$)										
	≤ 0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	$100 \leq$
PCG			10 ^a	3					5	7	5
ABPC	10	3						9	2	2	4
KM											30
SM											30
CP								7	17	6	
TPH											30
TC								24	6		
OTC										30	
TM						1	2	27			

^a: 菌株数

表5 *A. pleuropneumoniae* 2型菌の薬剤感受性 (3農場, 計5頭)

薬 剤	最 小 発 育 阻 止 濃 度($\mu\text{g/ml}$)										
	≤ 0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	$100 \leq$
PCG			9 ^a	13							
ABPC	8	14									
KM						13	9				
SM						2	3	15		1	1
CP			6	13	3						
TPH		2	10	9							1
TC			4	15	1			2			
OTC				1	10	8	1			2	
TM						3	17	2			

^a: 菌株数

表6 各農場の病豚から分離された *A. pleuropneumoniae* 菌株の薬剤感受性

農場	分離 月日	血清型	供試 株数	耐 性 株 数								
				PCG	ABPC	KM	SM	CP	TPH	TC	OTC	TM
A	88. 12	2	2				2					
B	89. 2	1	13			13	13	13	13	13	13	
	89. 12	1	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
C	89. 6	1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
D	89. 6	2	2							2	2	
E	89. 9	2	18						1			
計			52	17	17	30	30	30	31	32	32	

表7 分離菌株の薬剤耐性パターン

薬 剤	耐性株数	
	1型	2型
SM		2 ^a
TPH		1
TC・OTC		2
TC・OTC・SM・KM・CP	30 ^b	
TPH		
TC・OTC・SM・KM・CP	17	
TPH・PCG・ABPC		

^a: 耐性株数/22株

^b: 耐性株数/30株

剤耐性を示したにすぎなかった。

考 察

本病の発病誘因としては、以前より管理失宜が指摘されている。長江ら¹¹⁾は、発生に季節的要因が関与していること、大規模な多頭飼育農家でみられること、ならびに豚の導入後における発生が多いことを報告している。

また、SANFORDら¹⁴⁾も寒冷感作や移動が本病の発病誘因の1つであることを報告している。さらに、他の微生物の関与や豚の生理的変動も発病の誘因となる可能性

が示されている⁹⁾。このように本病の発病には種々の要因が関与すると考えられている。今回、5農場にみられ

た本病の発生状況を比較すると他の4農場に比べ、B農場における発病率の高さが著明であった。このB農場では冬期間豚舎内の保温を重視するあまり豚舎を密閉したため、極端に環境が不良となり、かつ飼育環境は密飼いの状態であった。このような要因が本病の多発の原因になったものと考えられる。

従来、本病の病変は主に胸腔内臓器に局限して存在し、いずれも線維索性胸膜肺炎像をとることが報告されている^{1,5,12)}。胸膜肺炎以外の病変としては各臓器の膿瘍形成、化膿性髄膜炎や疣状心内膜炎等いくつかの報告^{3,15)}があるが数少ない。今回、供試したすべての豚では線維索性胸膜肺炎が認められ、さらに脳においては髄膜炎が認められた。今回、*A. pleuropneumoniae* が各臓器、脳等全身から分離され敗血症の形をとる例もあった。今後、全身性の疾病として詳細に検討する必要があると思われる。

本菌の血清型は1型から12型に分けられ、その分布は地域、農場によって異なる。従来、わが国の発病豚から分離される菌株の血清型はその大部分が2型であったと報告されている^{1,7,8)}。1985年、山本²¹⁾が5型菌による本病の集団発生例を報告した。それ以後、5型菌の浸潤は急速に広がっていることが確認された^{4,10)}。

KUMEら⁹⁾は、最近の*A. pleuropneumoniae* 浸潤調査から、1, 2, 5, 6および7型が広く分布していることを報告したが、1型菌による発症例は報告されていない。今回、分離された*A. pleuropneumoniae* の血清型は1型および2型であった。1型菌は他の血清型菌よりも病原性が高いという報告¹³⁾もあるので、今後、新しいワクチンの開発を考える必要がでてくるとと思われる。

従来、わが国で分離された*A. pleuropneumoniae* のほとんどは各種薬剤に対して感受性であることが報告されている^{2,16,18)}。しかし、1984年以降に分離された菌株では低感受性化の傾向が認められ、薬剤耐性菌株の存在することが報告されている^{17,20)}。今回の成績においても1および2型菌計52株中35株が薬剤耐性株であり、そのほとんどが多剤耐性株であった。1型菌は供試株30株すべてに何らかの薬剤に耐性を示した。2型菌株は1型菌株に比べ耐性菌の出現頻度が低い傾向が認められた。すなわち、2型菌株では供試した22株のうち5株に耐性菌が認められたのにとどまった。同一個体より分離された菌株はほとんど同じような薬剤耐性型を示し、感受性の違いは農場間の差で認められた。しかし、再発を認めた農場内で比べると2回目の個体から分離された菌株に耐性株を認めた。

薬剤耐性パターンは、2型菌がSM, TPH, TC, OTCに単剤もしくは2剤耐性を示したのに対して、1

型菌はその他KM, CP, PCG, ABPC等が加わった多剤耐性の出現頻度が極めて高かった。このような1型菌の薬剤耐性例は、わが国ではまだ報告されていない。今回の報告では千葉県下の5農場という限られた地域由来の菌株についての成績を述べたが、このような薬剤耐性菌の実状から本病に対する予防、治療においては適切な薬剤の選択および使用が重要と考えられる。

稿を終わるにあたり、血清型別の同定を実施していただいた農林水産省家畜衛生試験場細菌第一研究室山本孝史室長に深謝いたします。

引用文献

- 1) CHAN C., YAMAMOTO K., KONISHI S., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 40, 103~107 (1978).
- 2) INOUE A., YAMAMOTO K., HIRANO N. and MURAKAMI T.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 46, 175~180 (1984).
- 3) 岩松 茂, 福田輝俊, 永野博明, ほか: 日獣会誌, 40, 743~746 (1987).
- 4) 岩松 茂, 宮本修治, 山本孝史: 日獣会誌, 41, 801~805 (1988).
- 5) 岩松 茂, 森尾 篤, 毛利 卓, ほか: 日獣会誌, 39, 374~377 (1986).
- 6) KUME K. and NAKAI T.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 50, 589~591 (1988).
- 7) KUME K., NAKAI T. and SAWATA A.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 46, 641~647 (1984).
- 8) KUME K., NAGANO T. and NAKAI T.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 48, 965~970 (1976).
- 9) 三井正朗: 動生協会報, 14, 7~12 (1981).
- 10) NAKAI T. and KUME K.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 49, 1141~1144 (1987).
- 11) 長江勘次郎, 藤原若彦, 河田治茂, ほか: 獣畜新報, 670, 11~17 (1977).
- 12) 尾田 進, 鶴巻藤太郎, 渡辺藤四郎, ほか: 日獣会誌, 28, 584~588 (1975).
- 13) ROGERS R., EAVES L., BLACKALL P., et al.: *Aust. Vet. J.*, 67, 9~12 (1990).
- 14) SANFORD S. and JOSEPHSON G.: *Can. J. Comp. Med.*, 45, 2~7 (1981).
- 15) 下田雅昭, 井上ますお, 小林広文, ほか: 日獣会誌, 39, 394~397 (1986).
- 16) SHIMIZU M., KUNINORI K., SAKANO T., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 44, 359~363 (1982).
- 17) SUZUKI S., OHMAE K., OHISHI K., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 51, 450~452 (1989).
- 18) 鈴木達郎, 金子 晋, 広池忠夫, ほか: 第79回日本獣医学会講演要旨, 62 (1975).
- 19) 山本孝史: 家畜抗菌剤研究会報, 10, 31~33 (1989).
- 20) 山本孝史, 伊藤正博, 白石昭治, ほか: 第100回日本獣医学会講演要旨, 187 (1985).