Actinobacillus pleuropneumoniae 1 型菌による豚の線維素性胸膜肺炎の発生早川裕二¹⁾ 小前博文¹⁾ 井出久義¹⁾ 中川寿美¹⁾山口 徹¹⁾ 竹内久平¹⁾ 松本忠幸²⁾

1) 石川県南部家畜保健衛生所 (金沢市才田町戊 324-1, 〒920-01)

2) 石川県農林水産部畜産課 (金沢市広坂 2-1-1, 〒920)

(平成 2 年 7 月 30 日受付・平成 3 年 3 月 22 日受理)

An Outbreak of Porcine Pleuropneumonia Caused
by *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotype 1YUJI HAYAKAWA¹⁾, HIROFUMI KOMAE¹⁾, HISAYOSHI IDE¹⁾, HISAMI NAKAGAWA¹⁾, TOORU YAMAGUCHI¹⁾, KYUUHEI TAKEUCHI¹⁾ and TADAYUKI MATUMOTO²⁾ (¹⁾ Nambu Livestock Hygiene Service Center, Ishikawa Prefecture, Ishikawa 920-01, ²⁾ Section of Animal Industry, Department of Agriculture, Forestry and Fisheries, Ishikawa Prefecture, Ishikawa 920)

SUMMARY

In the short period between March and April 1989, an outbreak of *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Ap) infection occurred among piglets on an integrated porcine farm in Ishikawa Prefecture. Fifty of 170 2~3-month-old piglets showed acute and severe symptoms, dyspnea and hemoptysis, and 18 piglets died within 3 days. Marked hydrothorax and fibrinous adhesion of the lungs were observed macroscopically and hemorrhagic pulmonary edema was revealed histopathologically. Ap serotype 1 antigen was detected enzyme-histochemically in the lesions of lungs. Strains of Ap serotype 1 were isolated in pure culture from the lungs of all the piglets tested. All the isolates were resistant to streptomycin, tetracycline, chloramphenicol and thiamphenicol, and the results of the agarose gel electrophoresis of DNA purified from the isolates suggested that resistance of these isolates to the antibiotics was plasmid mediated. Serological survey revealed that 50.8% of the pigs raised on the premises had antibodies against Ap serotype 1; however, no antibody against serotype 1 was detected in 313 pigs raised on the other 23 farms in this prefecture.

From these findings, the importance of the practice of drug sensitivity test prior to drug administration and development of a combined vaccine containing Ap serotype 1 for control of the disease were suggested.

—Key Words : pigs, *A. pleuropneumoniae* serotype 1.

-----J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 44, 790~795 (1991)

要 約

1989 年 3 ~ 4 月にかけて、石川県内の一貫経営農場で *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Ap) 感染症が発生した。2 ~ 3 カ月齢の育成子豚 170 頭のうち 50 頭が 1 ~ 2 日の経過で呼吸困難、咯血等の重篤な症状を呈し、そのうち 18 頭が死亡した。

剖検では、本症に特徴的な胸水の貯留、および線維素性癒着が認められ、組織学的には出血を伴う肺水腫がみられた。酵素抗体法により病変部に一致して Ap 1 型抗原が検出され、細菌検査で肺の病巣部から Ap 1 型菌が分離された。

分離菌株は SM, OTC, CP および TP に低感受性で、プラスミドプロファイルから薬剤耐性プラスミドの保有が示唆された。

発生農場の飼養豚における Ap 1 型菌に対する抗体陽性率は 50.8% であったが、県内の他 23 農場で飼養されていた豚 313 頭では Ap 1 型菌に対する抗体陽性率は認められなかった。

これらの所見から本疾病を予防するには、薬剤感受性試験に基づいた投薬の実施と Ap 1 型菌を含んだ多価ワクチン開発の必要性が示唆された。 —キーワード：豚, アクチノバシラス症 血清型 1.

Actinobacillus pleuropneumoniae (Ap) による豚の胸膜肺炎は全国的に広く浸潤しており、養豚経営にとって重要な呼吸器感染症の1つとなっている。本菌の血清型は、現在、1型から12型¹⁰⁾に区分されている。従来、国内で分離された菌株はその大部分が2型菌^{5,14)}であったが、近年、1型^{3,4)}をはじめ5^{1,2,8)}および6型菌⁹⁾による胸膜肺炎の発生が報告されている。

今回、2～3カ月齢の育成子豚に発生したAp1型菌による胸膜肺炎の症例に遭遇した。

材料および方法

供試材料

1989年4月に呼吸困難、咯血等の症状を呈し、1～2日の経過で散発的に死亡した約2.5カ月齢の子豚3頭(No. 1, 2および3)を供試した。

また、Apの浸潤調査のための血清は、今回、本症の発生がみられた農場で飼養されていた豚65頭ならびに本農場を除く県内23農場で飼育されていた豚313頭の計378頭の繁殖豚および肥育豚から採取された。

病理組織学的検査

剖検後、各臓器を10%緩衝ホルマリン液で固定、常法に従って標本作製した後、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施し鏡検した。また、病変部の組織中の抗原を証明するためAp1, 2, 3, 4, 5および6型菌について酵素抗体法による検査を農林水産省家畜衛生試験場に依頼した。

細菌分離と分離菌株の同定

肝、脾、腎、心、肺および脳を5%羊血液寒天培地、DHL寒天培地およびハートインフュージョン寒天培地(β -NADを10 μ g/ml、馬血清を5%およびイーストエキストラクトを5%に添加)にそれぞれ接種し、37℃で24～48時間、好気、10%炭酸ガスおよび嫌気(ガスバック法)培養を実施した。分離菌は、Bergey's Manual¹³⁾に記載された方法に基づき同定した。分離菌の血清型別は、家兎で作成した1～6型菌に対する抗血清を用いて、各検体の肺から分離された各30菌株について、非特異的凝集を避けるため2分間加熱処理抗原を用いた平板凝集反応により実施した。

薬剤感受性試験

Apに対する適性薬剤を調べるために、今回、肺から分離された1型菌3株(1株/頭)と以前に本農場で分離された肺由来2型菌1株を供試した。試験には、ペニシリン(PCG)、アンピシリン(AB-PC)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、フラジオマイシン(FM)、エリスロマイシン(EM)、テトラサイクリン(TC)、オキシテトラサイクリン(OTC)、クロルテトラサイクリン(CTC)、クロラムフェニコール(CP)、チアムフェニコール(TP)およびオキシリン酸(OA)の計12

薬剤を用いた。最小発育阻止濃度(MIC値)は日本化学療法学会標準法に準じて寒天培地希釈法により測定した。基礎培地としては β -NAD(10 μ g/ml)加ハートインフュージョン寒天培地を用いた。

プラスミドプロファイル試験

今回、肺から分離された1型菌計3株(1株/頭)と以前に本農場で分離された肺由来2型菌1株について、プラスミドプロファイルを調べた。プラスミドの検出に当たっては、KadoとLiu¹¹⁾の方法によりプラスミドを抽出し、0.8%アガロースゲル電気泳動後、エチジウムブロマイド染色によりプラスミドを確認した。

また、プラスミドの分子量の計測は分子量マーカーとしてスーパーコイルDNAラダー[10.53, 9.21, 7.89, 6.57, 5.25, 4.58, 3.92, 3.26, 2.60, 1.93, 1.34 Md(ベセスダリサーチ社)]を用いて行った。

Apの抗体検査

抗体検査は、山本らの方法^{5,12)}に準じて1型菌として今回分離された肺由来株、2型菌としてS-1536株の0.1%ホルマリン不活化全菌体を抗原として、マイクロプレート法を用いた補体結合反応により実施した。

成績

発生状況

線維素性胸膜肺炎は、繁殖母豚80頭を飼養する一貫経営農場で、1989年3月から4月にかけて発生した。2～3カ月齢の子豚合計170頭のうち各豚房(10～13頭/房)において2～3頭の割合で計50頭が、1～2

図1 発病期間における気温の変化と死亡頭数の推移

写真1 肺胸膜は線維素の析出を伴って壁側胸膜と癒着し、肺には限局性の肝変化和出血病巣が認められる。

写真2 肺の断面はモザイク状を呈し、限局性の出血病巣が認められる。

写真3 肺胞腔内は水腫性を呈し、著しい線維素の析出や出血ならびにリンパ球あるいは好中球の浸潤が認められる。(HE染色 400倍)

日の経過で元氣消失、被毛の逆立につづき、激しい腹式呼吸および咯血等の重篤な臨床症状を呈し、そのうち18頭が散発的に死亡した。図1には発病時の気温と死亡頭数の推移を示したが、死亡豚は気温変動が大きかった日以降に多く認められる傾向を示した。

本農場では、母豚にはOTC、ダイメトン、そして餌付け後3.5カ月齢までの子豚にはOTC、ダイメトン、チアムリンおよびフラゾリドンが飼料添加剤として使用

写真4 細気管支腔内の大食細胞内に濃染して認められるAp1型抗原(酸素抗体法 400倍)

表1 分離菌株の生化学的性状

項 目	豚 番 号		
	1	2	3
グ ラ ム 染 色	陰 性	陰 性	陰 性
形 状	短桿菌	短桿菌	短桿菌
カタラーゼ	—	—	—
オキシダーゼ	±	±	±
V因子要求性	+	+	+
X因子要求性	—	—	—
ポルフィリンテスト	+	+	+
インドール産生	—	—	—
ウレアーゼ分解	+	+	+
溶 血 性	+	+	+
CAMPテスト	+	+	+
衛星現象	+	+	+
糖 分 解 能			
グルコース	+	+	+
D-キシロース	+	+	+
D-ガラクトース	+	+	+
D-フラクトース	+	+	+
D-マンノース	+	+	+
ラクトース	—	—	—
マルトース	+	+	+
メリビオース	—	—	—
トレハロース	—	—	—
ラフィノース	±	±	±
マンニトール	+	+	+
血 清 型	1	1	1

注) ±: 弱陽性

されていた。なお、本農場では繁殖候補豚として県外から年間約30頭の豚が導入されていた。

病理学的検査成績

肉眼的病変は、供試したすべての病豚で胸腔に限局して認められた。すなわち、胸水の貯留、肺胸膜と壁側胸膜は線維素で癒着し、肺の暗赤色肝変化が特徴的であった(写真1)。肺の断面はモザイク状を呈していた(写真2)。

また、組織学的検査でも供試したすべての病豚で肺胞腔内は水腫性を呈し、著しい線維素の析出や出血ならび

にリンパ球あるいは好中球の浸潤が認められた(写真3)。

酵素抗体法では供試した3頭の細気管支腔内の大食細胞内にAp1型抗原のみが検出された(写真4)。

細菌学的検査成績

細菌検査の結果, 各病豚の肺からのみ培地に固着した粘性集落を示すグラム陰性短桿菌が純培養的にハートインフュージョン寒天培地で分離された。各供試豚から分離された3菌株について性状を調べた結果, 表1に示したとおり3株とも同一であった。すなわち, V因子要求性, ポルフィリンテスト, 衛星現象等が陽性, X因子

要求性, インドール産生等は陰性であった。これらの成績および糖分解能の成績より, 分離菌株はApと同定された。

また, 供試豚の肺病巣から分離された合計90菌株(30菌株/頭)のApの血清型はすべて1型菌と同定された。

薬剤感受性試験成績

表2に示したとおり各病豚由来の1型菌3株は供試した各種薬剤に対して同様な感受性を示した。今回分離された1型菌株と対照として用いた同一農場で以前に分離された2型菌株は, いずれもPCGおよびAB-PCに高感受性(MIC値: 0.1~0.78 μ g/ml)であったが, 1型菌は2型菌に比べてSM, OTC, CPおよびTPに低感受性(MIC値: 12.5~100 μ g/ml以上)の傾向を示した。

プラスミドプロフィール

1型菌では3株に共通して約3.6および2.8Mdのプラスミドの保有が認められたが, 2型菌ではプラスミドは認められなかった(写真5)。

Apの抗体検査成績

本農場における1型および2型菌に対する抗体検査成績を表3に示した。抗体陽性率は1型菌に対しては, 肥育豚で85%, 感染耐過豚(発病後約4カ月目)で100%, 繁殖母豚で0%, そして繁殖候補豚(導入時)で60%であった。また, 2型菌に対しては, 肥育豚で50%, 感染耐過豚(発病後4カ月目)で100%, 繁殖母豚で60%, そして繁殖候補豚(導入時)で40%であった。

いっぽう, 本農場を除く県内の23農場において飼養されていた合計313頭の5カ月齢以上の豚について, 1型および2型菌に対する抗体陽性率を調査した。その結果, 表4に示したとおり1型菌に対しては全例陰性であったが, 2型菌に対しては13.3%~91.7%, 平均61.0%と高い抗体陽性率を示した。また, これらを豚の用途別にみると繁殖豚で0%~100%, 肥育豚で10.0%~100%の抗体陽性率であった。

表3 発生農場におけるApに対する抗体調査成績

例数	1型抗体		2型抗体	
	陽性頭数	(%)	陽性頭数	(%)
肥育豚	20	17 (85)	10	(50)
感染耐過豚 (発病後約4カ月目)	10	10 (100)	10	(100)
繁殖母豚	25	0 (0)	15	(60)
繁殖候補豚 (導入時)	10	6 (60)	4	(40)

考 察

従来, わが国における本病の流行はほとんど2型菌^{5,14)}によるもので占められていたが, ここ数年5型

表2 Apの薬剤感受性(MIC値: μ g/ml)

薬 剤 名	1型菌株* ¹	2型菌株* ²
PCG	0.78	0.78
ABPC	0.1	0.1
SM	>100	12.5
KM	6.25	6.25
FM	12.5	12.5
EM	1.56	3.13
TC	3.13	1.56
OTC	12.5	1.56
CTC	1.56	1.56
CP	50	3.13
TP	>100	0.78
OA	0.2	0.2

注) *1: 豚番号1, 2, 3より分離されたAp1型菌株

*2: 発生農場で以前に分離されたAp2型菌株

写真5 供試菌株から抽出されたDNAのアガロースゲル電気泳動像

注) *1: 豚番号1, 2, 3より分離されたAp1型菌株 *2: 発生農場で以前に分離されたAp2型菌株

表4 石川県内23農場におけるApに対する抗体検査成績

農 場	供 試 頭 数			1 型抗体陽性頭数 (%)			2 型抗体陽性頭数 (%)		
	繁	肥	計	繁	肥	計	繁	肥	計
A	9	5	14	0	0	0	4 (44.4)	4 (80.0)	8 (57.1)
B	9	6	15	0	0	0	5 (55.6)	6 (100)	11 (73.3)
C	16	9	25	0	0	0	5 (31.3)	6 (66.7)	11 (44.0)
D	5	9	14	0	0	0	4 (80.0)	5 (55.6)	9 (64.3)
E	5	10	15	0	0	0	1 (20.0)	1 (10.0)	2 (13.3)
F	5	7	12	0	0	0	4 (80.0)	7 (100)	11 (91.7)
G	7	7	14	0	0	0	4 (57.1)	7 (100)	11 (78.6)
H	5	6	11	0	0	0	3 (60.0)	2 (33.3)	5 (45.5)
I	6	7	13	0	0	0	3 (50.0)	4 (57.1)	7 (53.8)
J	5	8	13	0	0	0	5 (100)	4 (50.0)	9 (69.2)
K	5	8	13	0	0	0	5 (100)	7 (87.5)	12 (92.3)
L	5	8	13	0	0	0	3 (60.0)	7 (87.5)	10 (76.9)
M	6	8	14	0	0	0	3 (50.0)	8 (100)	11 (78.6)
N	6	8	14	0	0	0	0 (0.0)	3 (37.5)	3 (21.4)
O	5	6	11	0	0	0	1 (20.0)	6 (100)	7 (63.6)
P	6	8	14	0	0	0	4 (66.7)	7 (87.5)	11 (78.6)
Q	5	8	13	0	0	0	2 (40.0)	4 (50.0)	6 (46.2)
R	6	6	12	0	0	0	1 (16.7)	1 (16.7)	2 (16.7)
S	6	5	11	0	0	0	2 (33.3)	2 (40.0)	4 (36.4)
T	7	6	13	0	0	0	4 (57.1)	5 (83.3)	9 (69.2)
U	7	6	13	0	0	0	5 (71.4)	6 (100)	11 (84.6)
V	5	8	13	0	0	0	3 (60.0)	8 (100)	11 (84.6)
W	6	7	13	0	0	0	3 (50.0)	7 (100)	10 (76.9)
計	147	166	313	0 (0)	0 (0)	0 (0)	74 (50.3)	117 (70.5)	191 (61.0)

注) 調査農家はワクチン未接種

菌^{1,2,8)}による本病の発生例が知られるようになり、その他の血清型による散発例⁹⁾も報告されている。1 型菌については、1988 年に伊藤ら³⁾、1989 年に星野ら⁴⁾の哺乳豚における発生報告がある。しかし、育成豚における発生は報告されていない。MITTAL ら¹⁵⁾はカナダで 1 型菌を主流とした複数の血清型による同時流行例を確認している。今回、各病豚から分離された菌株は平板凝集反応によりすべて 1 型菌と同定され、さらに酵素抗体法による抗原検索で 1 型抗原のみが検出された。また、成績は示さなかったが本症例については呼吸器感染症の原因となるウイルス、マイコプラズマおよび他の細菌感染症の関与は酵素抗体法による抗原検索、または培養試験により否定されたことから、本症は Ap 1 型菌単独感染によるものと思われる。

今回、Ap 1 型菌による線維素性胸膜肺炎と診断された本症例は育成期の子豚においてみられたものであり、激しい腹式呼吸症状を呈し 1～2 日の早い経過で急死した。このような発病日齢の若齢化は他の血清型による本症例でもみられ、Ap 感染症における共通した傾向と考えられる。

本病の発病誘因として管理失宜や寒冷といったストレスが指摘されている⁵⁾。今回の発生は 3～4 月の気候不順な時期であり、発病期間の気温変化をみると気温変動

が大きかった日以降に死亡豚が多くなる傾向が認められたことから、気候の変化が発病誘因になったものと推察される。

過去、わが国で分離されたほとんどの Ap は各種薬剤に対して感受性を有していたことが報告^{6,16)}されている。しかし、1984 年に山本ら⁷⁾が薬剤耐性株の存在を報告して以来、2 型あるいは 5 型菌の耐性株に関する多くの報告^{18,19,20)}がある。そして、最近になり 1 型菌の薬剤耐性株の存在が報告^{7,21)}されている。また、カナダでは従来の 5 型菌から近年、1 型菌に流行の主体が変化していることおよび 1 型菌は 2 型菌に比べて薬剤耐性株が多く多剤耐性であることが報告^{7,21)}されていることから、今後、わが国においても 1 型菌の動向に注意を喚起する必要があると思われる。また、発生農場においても以前に分離された Ap 2 型菌は OTC に感受性があったことから、本剤が飼料添加剤として使用されていた。しかし、今回分離された Ap 1 型菌は OTC に対して低感受性で Ap 感染症に対する予防的効果はあまりなかったものと思われることから、本病における薬剤使用には十分な考慮が必要であろう。なお、予備的な試験成績であるが、プラスミドプロフィールからみて今回分離された Ap 1 型菌 3 株に薬剤耐性プラスミドの存在が示唆された。

石川県内における Ap の浸潤状況を調査するために発

生農場と県内 23 農場について実施した Ap の抗体検査の結果, Ap 1 型菌に対する抗体は発生農場の肥育豚, 感染耐過豚および県外から導入された繁殖候補豚で認められたが, 既存の繁殖母豚と他の農場では認められなかった。また, Ap 2 型菌については全農場で抗体保有豚の存在が認められた。これらの成績から, 本県に浸潤している Ap はほとんどが 2 型菌によるものであり, 1 型菌は発生農場のみで, 導入豚を介して持ち込まれたものと思われる。

現在, わが国では 2 型および 5 型ワクチンが応用されているが, 今後 1 型を含めた多価ワクチンの開発が望まれる。

稿を終わるにあたり, 酵素抗体法の実施にご協力いただいた農林水産省家畜衛生試験場病理診断研究室播谷亮枝官, ご指導を賜っ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) 岩松 茂, 森尾 篤, 毛利 卓, ほか: 日獣会誌, 39, 374~377 (1986).
- 2) 牧井賢充, 鷺澤 潤, 安藤 篤, 宮越浩修: 昭和 63 年度新潟県家畜保健衛生業績発表集録, 105~113 (1989).
- 3) 伊藤裕和, 岡田正二, 杉山弘行, ほか: 第 106 回日獣学会講演要旨, 167 (1988).
- 4) 星野範雄, 樋口良平, 山本 昇, ほか: 昭和 63 年度新潟県家畜保健衛生業績発表集録, 114~121 (1989).
- 5) 山本孝史: 豚病学, 熊谷哲夫ほか編, 第 3 版, 420~425, 近代出版, 東京 (1987).
- 6) SHIMIZU M., KUNENORI K., SAKANO T., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 44, 359~363 (1982).
- 7) 山本孝史: 家畜抗菌剤研究会報, 10, 16~19 (1989).
- 8) 山本孝史, 伊藤正博, 白坂昭治, 興水 馨: 第 100 回日獣学会講演要旨, 189 (1985).
- 9) 山本和枝, 滝 俊博, 浅香俊雄, ほか: 第 103 回日獣学会講演要旨, 118 (1987).
- 10) NIELSEN R.: *Acta. vet.*, 27, 453~455 (1986).
- 11) KADO C. I. and LIU S. T.: *J. Bacteriol.*, 145, 1365~1373 (1981).
- 12) 山本孝史, 伊藤正博, 白坂昭治, ほか: 日本獣医学会講演要旨, 189 (1985).
- 13) KILIAN M. and BIBERSTEIN E. L.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Volume 1) Krieg N. R. editor, 558~569 Williams & Wikins, Baltimore (1984).
- 14) 久米勝己: 日獣会誌, 39, 413~418 (1986).
- 15) MITTAL K. R., HIGGINS R. and LARIVIERE S.: *J. Clin. Microbiol.*, 18, 1351~1354 (1983).
- 16) INOUE A., YAMAMOTO K., HIRANO N., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 46, 175~180 (1983).
- 17) 山本純也, 清水幹夫, 阪野哲也, ほか: 第 98 回日獣学会講演要旨, 61 (1984).
- 18) SUZUKI S., OHMAE K., OHISHI K., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 51 (2), 450~452 (1989).
- 19) 川原一芳, 浅野昌彦, 中井豊次, ほか: 第 103 回日獣学会講演要旨, 48 (1987).
- 20) 天野 弘, 梶尾規一, 土屋 守, ほか: 日獣会誌, 42, 179~183 (1989).
- 21) SAKUPUARAN T., 片桐慶子, 福安嗣昭, 芦田浄美: 第 109 回日獣学会講演要旨, 134 (1990).