豚におけるクラミジア性流産の発生

岡田 望¹⁾ 村上覚史²⁾ 三輪律子¹⁾ 原 康弘¹⁾ 村嶋孝志¹⁾

伊藤尚志²⁾ 岡崎好子²⁾ 山口剛士³⁾ 平井克哉³⁾

1) 千葉県北部家畜保健衛生所 (佐原市佐原ホ 115 〒287)

2) 千葉県家畜衛生研究所 (佐倉市岩富町 497 〒285)

3) 岐阜大学農学部 (岐阜市柳戸 1-1 〒501-11)

(平成 3 年 9 月 10 日受付・平成 4 年 5 月 22 日受理)

Occurrence of Chlamydial Abortion in Swine

NOZOMI OKADA*, SATOSHI MURAKAMI, RITSUKO MIWA, YASUHIRO HARA, TAKASHI MURASHIMA,
NAOSHI ITO, YOSHIKO OKAZAKI, TSUYOSHI YAMAGUCHI, KATSUYA HIRAI

* Hokubu Livestock Hygiene Service Center, Chiba Prefecture, Sawara-shi, Chiba-ken 287

SUMMARY

Swine abortion was frequently seen on a farm in 1990. Four of the fetuses which were aborted at 95-102 days of gestation showed varying degrees of petechial and ecchymotic hemorrhages on their skin with subcutaneous edema. Macroscopically, the fetuses had free reddish fluid in the thoracic and peritoneal cavities, hepatomegaly, with a mottled reddish-yellow color, linear hemorrhaging in the heart and enlargement of the lymph nodes. However, six of the fetuses at 72-95 days of gestation did not show any specific changes. Microscopically, nonsuppurative choriomeningitis, degenerated and necrotic hepatocytes, epi- or endocarditis, angitis were observed. Chlamydial inclusion bodies were confirmed in the cytoplasm of infiltrated monocytes, hepatocytes and trophoblastic cells by immunohistochemical staining. In addition, *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) was isolated from 2 fetuses with severe lesions. Serological and bacteriological examinations did not reveal any evidence suggestive of abortion in swine due to Aujeszky's disease virus, Japanese encephalitis virus, porcine parvovirus, Getah virus, *Toxoplasma gondii* and *Escherichia coli*. On the other hand, Chlamydial antibodies were detected among many sows and fattening pigs. This is the first report in the literature of *C. psittaci*-caused swine abortion in Japan. — **Key Words** : *Chlamydia psittaci*, swine abortion.

-----J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 45, 655~659 (1992)

要 約

1990 年、1 養豚場で豚の流行性流産が発生した。妊娠末期の流産胎子では皮膚に浮腫を伴った全身性の出血斑が観察された。剖検では血様を帯びた胸水および腹水の増量、肝臓の腫大、心臓の出血斑およびリンパ節の腫大がみられた。しかし、妊娠中期から後期の流産胎子には著変はみられなかった。病理組織学的には非化膿性脈絡髄膜炎、肝細胞の変性と壊死、心内膜炎および心外膜炎、血管炎が認められた。免疫組織学的には、これらの病変に浸潤した単核細胞、肝細胞および胎盤栄養膜上皮細胞にクラミジア封入体が確認された。また、流産胎子から *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) が分離され、*C. psittaci* 抗体検査では飼養豚が抗体陽性を示した。いっぽう、豚に流産を起こす病原体に対する血清学および病理学的な検索では有意な所見は得られなかったことから、本流産はクラミジアによることが確認された。——**キーワード** : *Chlamydia psittaci*, 豚の流産。

-----日獣会誌 45, 655~659 (1992)

Chlamydia psittaci (*C. psittaci*) は、特に鳥類におけるオウム病の病原体としてよく知られている。人、家畜、愛玩動物および野生動物等にも感染し、不顕性感染から顕性感染まで多様である。哺乳動物においては主に流産、肺炎、下痢、関節炎、脳脊髄炎、結膜炎、精巣炎等の症状が観察されている。これらの病像は、宿主の年齢、種類および *C. psittaci* の病原性に影響されるといわれている⁵⁾。

わが国における家畜のクラミジア病に関しては、牛では流産⁶⁾、脳脊髄炎¹¹⁾、肺炎^{7,8)}および下痢⁷⁾が報告されている。豚の本症については海外において角膜炎および結膜炎、肺炎、流産、精巣炎および多発性漿膜炎が知られ¹⁷⁾、最近、偽膜性陽炎¹⁵⁾が報告されている。いっぽう、わが国の豚における *C. psittaci* の捕体結合 (CF) 抗体調査では、FUKUSHI ら⁴⁾ は主に種雄豚の 544 頭中 4 頭 (0.7%) に抗体陽性を認め、緒方ら¹⁰⁾ は同様の方法によ

って肥育豚の506頭中6頭(1.2%)が抗体陽性であったことを報告している。

今回、著者らは1大型養豚場において流産の集団発生に遭遇し、これがクラミジアによる流産であることを確認した。豚の本症はわが国における最初の報告である。

材料および方法

検査材料

1990年8月に千葉県下の1大型養豚場から得られた1腹4頭の流産胎子(胎齢89日)、同年10月に前記養豚場から得られた4腹8頭の流産胎子(胎齢72~102日)および3腹の流産胎子から得られた胎盤7検体について検査した。

被検血清として流産母豚7頭の前血清7例(8月28日採血)および後血清7例、9月中旬に流産した母豚2頭の血清2例(10月30日採血)、さらに正常分娩母豚11頭および肥育豚12頭の血清23例、計39例を用いた。

病理学的検査

剖検後、主要臓器は20%中性緩衝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・エオジン染色した。免疫組織学的染色はオウムから分離された*C. psittaci* GCP-1株¹⁹⁾の抗家兎血清³⁾(平井克哉および富士秀人博士から分与)を1次血清としてStreptavidin-biotin(s-AB)法²¹⁾(ヒストファインSABキット、ニチレイ、東京)を実施した。

細菌学的検査

流産胎子4頭(8月)と2頭(10月)計6頭の脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、胸水および骨格筋を、7%馬血液加寒天培地およびDHL寒天培地に直接塗抹し、37℃、24~48時間好氣的に培養した。

クラミジアの分離

-80℃で凍結保存された流産胎子2頭の脳、心臓、肺、肝臓、脾臓および腎臓については、抗生物質(ゲンタマイシン50μg/ml、カナマイシン500μg/mlおよびストレプトマイシン500μg/ml)加リン酸緩衝食塩液(PBS)で10%乳剤とし、4℃、24時間静置して遠心沈澱(3,000rpm)後の上清を10~100倍に希釈して、その0.5mlを6~7日齢のSPF发育鶏卵卵黄嚢内に接種し、37℃で10日間培養した。培養後、卵黄嚢を2~3カ所採材し、塗抹標本作製後、ギメネット染色により光学顕微鏡でクラミジア基本小体を検索した。陰性の場合は卵黄嚢をPBSで20~50%乳剤とし、遠心後、初代と同様に孵化鶏卵に接種した。また、PK-15細胞には10%乳剤の上清を10~100倍に希釈して、その0.5mlを接種し、37℃で5~7日間培養した。クラミジアの検索は抗*C. psittaci*家兎血清を用いた間接蛍光抗体法(IFA)によって行った。封入体が確認されない場合は残りの培養管の細胞をはぎ取り、新しい細胞へ継代した。

血清学的検査

クラミジアの抗体検査はPiura¹³⁾ら、およびSarov¹⁶⁾らのIFAにより実施した。すなわち、流産母豚と正常分娩母豚2頭の血清はPBSを用いて2倍段階希釈した。また、その他の豚の血清はスクリーニングのために10倍希釈し、各希釈の血清を1次血清として市販のクラミジア抗体検出用プレート(抗原プレート、デンカ生研)に滴下した。2次血清として蛍光色素標識抗豚IgG兎血清(Cappel社)を用いた。検索は蛍光顕微鏡(倍率:200倍)で青く染色された封入体の存在する感染細胞が確認された被検血清の最高希釈の逆数を抗体価とした。抗体価4倍以上を陽性とした。

オーエスキ病ウイルス(ADV)の抗体はADV山形-S81株およびCPK細胞株を用いたマイクロプレート法による中和反応⁹⁾で測定し、抗体価1倍以上を陽性とした。日本脳炎ウイルス(JEV)¹⁾の抗体は日本脳炎ウイルスHI抗原(日本生物科学研究所)、豚パルボウイルス(PPV)²⁾の抗体は豚パルボウイルスHI抗原(日本生物科学研究所)、およびゲタウイルス(GV)¹⁾の抗体はゲタウイルスHI抗原(日本生物科学研究所)を用い赤血球凝集抑制(HI)試験によって抗体価を測定し、抗体価20倍以上を陽性とした。*Toxoplasma gondii* (Tp)の抗体価は(栄研科学、トキソチェック-MT栄研)を用いマイクロタイター法¹⁸⁾によるラテックス凝集反応により32倍を偽陽性、64倍を陽性とした。

成績

発生状況

本症の発生のみられた養豚場は母豚700頭および肥育豚6,000頭を飼養する大型一貫経営農場である。1990年1月頃から流産の発生が認められ、流産母豚は9月の1カ月間で総分娩母豚135頭中25頭(18.5%)に達し、その月の母豚1腹当たりの生存産子数は6.5頭に減少した(図1)。これらの流産は一部の分娩舍およびストール豚舎で発生し、母豚の産歴には無関係であった。

本農場は流産発生以前より飼料に分娩舍ではクーロル

図1 流産母豚の出現頻度および1腹当たりの生存産子数

図2 胎齢96日の流産胎子の全身像。全身性に著明な皮膚の出血斑と浮腫がみられる。

図3 図2の流産胎子の胸腔および腹腔。肝臓の腫大および心臓の出血斑がみられ、胸水および腹水は増量している。

テトラサイクリン (2,000 万 U/kg) およびサルファ剤 (2,000 万 U/kg) を、またストール舎ではアミノペニシリン (2,000 万 U/kg) およびストレプトマイシン (180 万 U/kg) を添加していた。その後、10月19日から分娩舎には新たにオキシテトラサイクリン (2,000 万 U/kg) をおよびストール舎には本剤 (5,000 万 U/kg) を飼料に添加した。その結果、流産の発生は12月には終息した。また、母豚1腹当たりの生存産子数は9.1頭となり、1990年1月の平均生存産子数を上回った。すべての母豚は、豚コレラ、豚丹毒、JEV および PPV に対するワクチンを毎年定期的に受けていた。

剖 検 所 見

5頭の母豚から得られた胎齢97～102日の流産胎子12頭中4頭の皮膚には全身性の出血斑および皮下の著明な浮腫がみられた(図2)。胸水および腹水は増量し血様で、肝臓は2～3倍に腫大し、心臓全体には帯状の出血斑がみられた(図3)。また、全身の各リンパ節は腫大していた。胎齢72～95日の流産胎子8頭のうち1頭は皮下に軽度な浮腫がみられた以外は著変が認められなかった。胎盤7検体中1検体は胎盤表面が混濁していた。

病理組織学的所見

胎齢72～89日の流産胎子6頭には著変が認められな

図4-a 胎齢96日の流産胎子の脳に認められた単核球浸潤による髄膜炎 (HE 染色 ×100)
-b 単核球細胞質内のクラミジア封入体 (s-AB 染色 ×1,000)

図5-a 胎齢102日の流産胎子の肝臓。肝細胞索の配列不正および壊死巣が認められる (HE 染色 ×100)
-b 肝細胞細胞質内のクラミジア封入体 (s-AB 染色 ×1,000)

かった。しかし、胎齢95～102日の流産胎子6頭には病変が認められた。主な病変は、脳では単核細胞による軽度な閉管性細胞浸潤、脈絡叢炎および髄膜炎(図4-a)がみられた。肝臓では混濁腫脹が著しく、壊死巣(図5-a)も認められた。心臓では心内膜炎および心外膜炎がみられ、リンパ節はいずれも水腫性で洞カルタが認められ、濾胞の細網細胞は腫大し核は濃縮しており一部は壊死に落ちいていた。また、各臓器の血管は水腫性で外膜から内膜にかけて単核細胞および好中球の浸潤が観察され、特に腎臓の動脈で著明であった。胎齢72～95日の流産胎子から得られた胎盤では絨毛膜に単核細胞および好中球浸潤がみられた(表1)。浸潤した単核細胞(図4-b)、肝細胞(図5-b)および胎盤栄養膜上皮細胞(図6)にs-AB染色陽性の細胞質内封入体が認められた。

細菌学的所見

大腸菌が6検体の肺1例、肝臓2例、3例の脾臓および腎臓から少量分離された。その他、*Staphylococcus* sp. が2例の脳、腎臓および筋肉から少量分離された。

豚におけるクラミジア性流産の発生

表1 流産胎子の病理組織学的検査成績

母豚 No.	405				LW1643		D350		山田 459		LW573	
胎子 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
脈絡髄膜炎	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
囲管性細胞浸潤	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
肝の変性と壊死	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	*
肺間質単核細胞浸潤	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	*
心膜炎	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
リンパ節炎	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
血管炎	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
絨毛膜単核細胞浸潤	+	+	*	+	•	•	•	•	•	+	-	*

+: 病変が認められた - : 病変が認められない • : 未検査 *: 判定不能

胎齢 Nos. 1~4 (89日) Nos. 5, 6 (97日) Nos. 7, 12 (102日) Nos. 11, 12 (72日)

表2 飼養豚のクラミジア抗体保有状況

検 査 豚	検 査 血清数	陽性数	陽性率 (%)	I F A 抗 体 価								
				<1:4	1:4	1:8	<1:10	1:10≥	1:16	1:32	1:64	1:128
流 産 母 豚	9*	7	77.7	2**	2	3	•	•	0	2	0	0
正常分娩母豚	11	6	54.5	•***	•	1	5	4	1	•	•	•
肥 育 豚	12	11	91.7	•	•	•	1	11	•	•	•	•

*: 後血清を含む 10月30日採血分 ** : 頭数 *** : 未検査

図6 胎盤栄養膜上皮細胞細胞質内にクラミジア封入体が認められる (矢印) (s-AB染色 ×1,000)

クラミジアの分離

孵化鶏卵卵黄嚢内接種法では3代継代後に鶏胚は発育停止し、その卵黄嚢のギメネッツ染色により基本小体が確認された。PK-15細胞では3代継代後のCPEの出現およびクラミジア属特異蛍光標識抗体を用いたIFAにより細胞質内封入体が確認され、*C. psittaci*が流産胎子2頭の肝臓および脾臓から分離された。

血清学的所見

流産母豚9頭中前血清および後血清各6例、その他1例がクラミジアに対するIFA抗体価4倍またはそれ以上を示した。また、正常母豚11頭中6例がIFA抗体価8倍またはそれ以上を示した。同居の肥育豚12頭中11例はIFA抗体価10倍またはそれ以上を示した(表2)。しかし、流産母豚の前血清と後血清との間には抗体価の有意な上昇はみられなかった。いっぽう、母豚19頭中

17例にADVに対する中和抗体が認められたが、流産母豚の前血清と後血清の間には抗体価の有意な上昇はみられなかった。また、JEVおよびPPVに対するHI抗体についても野外感染を示唆するような抗体価の有意な上昇はみられなかった。GVに対するHI抗体は流産母豚に抗体価の有意な上昇が認められた(8例中5例)。Tpに対する抗体は流産母豚の2頭が疑陽性であったが、その他の豚はすべて陰性であった。

考 察

1990年の夏から秋にかけ、1大型養豚場において母豚の産歴に関係なく妊娠中期から後期にかけての流産が頻発した。特に妊娠後期から末期における流産胎子の皮膚には浮腫を伴った著明な全身性の出血斑がみられ、肝臓およびリンパ節は腫大していた。しかし、胎齢95日以下の流産胎子にはほとんど肉眼的には病変は観察されなかった。病理組織学的には共通した病変が観察され、その主な病変は非化膿性脈絡髄膜炎、肝細胞の変性と壊死、血管炎およびリンパ節炎であった。免疫組織学的染色で、これらの病変部に浸潤した単核細胞、肝細胞および胎盤栄養膜上皮細胞の細胞質内にクラミジア封入体が確認された。さらに、このような病変の認められた2頭の流産胎子から*C. psittaci*が分離された。血清学的にはIFAによるクラミジアの抗体検査では流産母豚は9頭中7頭(77.7%)、正常母豚は11頭中6頭(54.5%)および肥育豚12頭中11頭(91.7%)が陽性であったことから、本農場の飼養豚はクラミジアに高率に感染していることが明らかにされた。いっぽう、ADVに対する抗体が認め

られたことから、流産母豚はADVの潜伏感染豚であることが確認された。しかし、ADVの分離および病理組織学的に核内封入体の検出はいずれも陰性であったことから、ADVの関与は否定されると考えられる。さらに、流産母豚から得られた前血清と後血清間には抗体価に差がみられなかったことから、流産発生時におけるADVの流行はなかったものと推察される。GVについては流産母豚に抗体価の有意上昇がみられたが、本流産は8月以前から発生していることから、GVの関与はなかったものと思われる。さらに、JEV、PPVおよびTP等の病原体が関与した所見は得られなかった。また、特定の細菌感染を示唆する成績は得られなかった。

PIENAARとSCHUTTE¹²⁾は牛および羊のクラミジア感染症では妊娠末期の流産胎子の多くは皮膚および各臓器に点状もしくは斑状の出血斑がみられること、病理組織学的にその主な病変は単核細胞による囲管性細胞浸潤および脈絡髄膜炎、リンパ節炎、肝細胞の変性と壊死および血管炎が観察されることを述べている。また、胎齢6カ月以前の胎子には特異的な病変が認められないことを記載している。さらに、豚については心内膜炎、線維索性胸膜炎、腹膜炎、肝周囲炎および肺炎を示した子豚からの*C. psittaci*分離例および実験感染例について若干の記載があるが、病理発生に関しては述べていない。

*C. psittaci*による豚の流産発生例は2, 3報告^{14, 20)}されているが病理組織学的記載は乏しい。しかし、本流産胎子の病変はPIENAARとSCHUTTE¹²⁾の記載した牛および羊の病理組織学的および臨床的所見に類似している。また、流産に関与するクラミジア以外の病原体は病理組織学的、血清学的および細菌学的に否定されたことから本流産は*C. psittaci*の感染によるものと考えられた。しかしながら、流産母豚の前血清と後血清との間には抗体価の有意な上昇はみられなかった。すなわち、牛におけるクラミジア感染症^{5, 6, 7, 11)}と同様にこれらの母豚はすでにクラミジアに感染し、持続感染が成立していたと考えられる。

近年、わが国の豚におけるクラミジアのCF抗体調査で種雄豚および肥育豚にそれぞれ0.7%および1.2%の抗体陽性豚が確認されている。このことは、豚においてもクラミジアの感染があり、流産や肺炎等の発生が起こりうることを示唆している。しかし、飼料の多くはクラミジアに有効なテトラサイクリン系抗生物質が添加されていることから、その発生が抑えられていると思われる。本養豚場では分娩舎の飼料にはクロールテトラサイクリンが添加されていたが、ストール舎の飼料にはこのような薬剤は添加されていなかった。いっぽう、今回の豚のクラミジア病の発生において豚から人への感染例はまだみられていない。しかし、クラミジアは人に感染し、肺炎、

脳脊髄炎等の重篤な症状を起こすことから公衆衛生上重要な問題である。

感染経路については不明であったが、今後は、発生地域はもちろん、わが国における豚のクラミジア病の実体を調査する必要があると考える。

稿を終えるにあたり、クラミジア検査にご教示いただいた千葉大学看護学部の吉沢花子先生に感謝いたします。また、本調査の便宜を計っていただいた千葉県農業共済組合連合会の山本輝次および鬼島一夫の両先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) CLARKE D, CASALS J: Am J Trop Med Hyg, 7, 561~573 (1958)
- 2) 藤崎優次郎: 日獣会誌, 28, 137~422 (1975)
- 3) FUKUSHI H, HIRAI K: J Clin Microbiol, 26, 675~680 (1988)
- 4) FUKUSHI H, OGAWA H, MORIKOSHI T et al.: Res Bull Fac Agr Gifu Univ, 50, 259~263 (1985)
- 5) 平井克哉: クラミジア感染症の基礎と臨床, 熊本悦明ほか編, 第1版, 281~306, 金原出版, 東京 (1988)
- 6) 金子周義, 鍋谷政広, 荻野博明ほか: 日獣会誌, 43, 417~422 (1990)
- 7) KAWAKAMI Y, OMORI T, FUKUHARA S et al.: Jpn J Exp Med, 25, 223~245 (1955)
- 8) 木内明寿, 稲葉右二: 家畜衛試研究報告, 25, 37~42 (1952)
- 9) MARTIN S, WARDLEY R C, DONALDSON A I: Res Vet Sci, 35, 227~233 (1983)
- 10) 緒方勇人, 長野 功, 長谷川孝明ほか: 日獣会誌, 42, 799~802 (1989)
- 11) OMORI T, KAWAKAMI Y, ISHII S et al.: Jpn J Exp Med, 24, 257~273 (1954)
- 12) PIENAAR J G, SCHUTTE A P: Onderstepoort J Vet Res, 42, 77~90 (1975)
- 13) PIURA B, SAROV I, SAROV B et al.: Eur J Epidemiol, 1, 110~116 (1985)
- 14) POPOVIC V, HIASTRU D, DRAGHICI C et al.: Lucr Inst Cerc Vet Bioprep Pasteur, 8, 19~28 (1970)
- 15) POSPICHIL A, WOOR R L: Vet Pathol, 24, 568~570 (1987)
- 16) SAROV I, SAROV B, HANNKA N et al.: Chlamydial Infections, Proceedings of the 6th Int Symposium of Human Chlamydial Infections Ed. ORIEL D et al. 566~569 (1986)
- 17) SHEWEN P E: Can Vet J, 21, 2~11 (1980)
- 18) 坪田宣之, 平岡謙一, 沢田良信ほか: 寄生虫学雑誌, 26, 291~298 (1977)
- 19) YAMASHITA T, HIRAI K: Jpn J Vet Sci, 43, 561~563 (1981)
- 20) YANG Y S, JIANG T T, MENG Q Y, et al.: Chinese J Vet Med, 10, 4~9 (1984)
- 21) ZUO-RONG S, STEVEN H I, YOUNG S K: J Histochem Cytochem, 36, 317~322 (1988)