

健康豚鼻腔から分離されたActinobacillus pleuropneumoniaeの血清型と薬剤感受性

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	天野, 弘 梶尾, 規一 土屋, 守 土屋, 守 柴田, 昌利 大村, 康治 坂野, 文俊 長谷川, 昌俊 堀, 涉 森, 健
巻/号	42巻3号
掲載ページ	p. 179-183
発行年月	1989年3月

健康豚鼻腔から分離された *Actinobacillus pleuropneumoniae* の血清型と薬剤感受性

天野 弘*¹⁾ 梶尾規一*¹⁾ 土屋 守*¹⁾ 柴田昌利*¹⁾ 大村康治*¹⁾

坂野文俊*²⁾ 長谷川昌俊*²⁾ 堀 渉*³⁾ 森 健*³⁾

(平成元年 1 月 20 日受理)

Serotype and Drug Susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Isolated
from the Nasal Cavities of Clinically Healthy Pigs
HIROSHI AMANO (Shizuoka Prefectural Institute of Animal Health, Aoba-cho,
Fujieda-Shi, Shizuoka 426), NORIKAZU KAJIO, MASATOSHI SHIBATA,
MAMORU TSUCHIYA, KOUJI OHMURA, FUMITOSHI SAKANO, MASATOSHI HASEGAWA,
WATARU HORI and TAKESHI MORI

SUMMARY

Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* was achieved from the nasal cavities of clinically healthy slaughtered pigs raised on nine farms located in Shizuoka Prefecture, and serotype and drug susceptibility of the isolates were examined.

1) In total, 85 strains were isolated from the nasal cavities of 196 slaughtered pigs. Antiserotype 2 antibodies were detected in 137 (70%) by the complement-fixation (CF) test. About 68% of the pigs had pleuropneumonia.

2) The organisms were isolated from the nasal cavities of 35% to 100% of pigs in varying ages on nine farms. CF antibodies against serotype 2 could be detected in many pigs over 80 days old.

3) Ninety-three (92%) of 101 isolates belonged to serovar 2, whereas the remaining eight (8%) isolates were serovar 5. Fourteen of 21 isolates were resistant to KM, SM, SDM, TS, TIM and TP.

—————*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 42, 179~183 (1989).

要 約

静岡県下における *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*) の浸潤状況および農場内での感染様式を知る目的で、と畜場出荷豚および養豚農家飼育健康豚の鼻腔から菌分離を行うとともに、補体結合 (CF) 抗体の保有状況を調べた。また、分離菌株の血清型ならびに薬剤感受性を検査し、以下の成績を得た。

1) 13 農場、計 196 頭のと畜場出荷豚の鼻腔内における *A. pleuropneumoniae* 保菌率は 43% で、CF 抗体陽性率は 65% であった。また、肺病変保有率は 68% であった。

2) 9 農場飼育健康豚の鼻腔内保菌率は、全農場において各日齢 (30 日齢未満, 50, 80, 120, 150 日齢) とともに高く (68~87%), 種豚においても 35% を示した。CF 抗体保有豚は一部の農場を除いて 80 日齢以降にみうけられ、150 日齢ではほとんどの農場において高い抗体保有率を示した。

3) 分離菌 101 株の血清型は、93 株 (92%) が 2 型で、ほかの 8 株 (8%) は 5 型であった。また、21 菌株の薬剤感受性試験では、14 株が薬剤耐性を示した。

豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*) 感染症は、急性あるいは慢性の胸膜肺炎を主徴とする疾病で、世界各国でその発生が確認されている。わが国では 1975 年尾田ら¹⁾の発生報告以来、各地で発生がみられ、

養豚経営に多大な損失を与える重要な疾病の一つとして注目されているが、健康豚における保菌状況や感染様式ならびに発症要因について、なお、不明な点が多い。

本病の疫学や感染様式を解明するうえで、健康豚の鼻腔内保菌状況を調べることは重要と思われる。しかし、本菌は培養条件が厳しいため、従来鼻腔からの菌分離は困難であった。KUME ら²⁾ は、澤田らの S 培地を用いる

*¹⁾ 静岡県家畜衛生研究所 (藤枝市青葉町 1-4-25)

*²⁾ 静岡県中遠家畜保健衛生所 (磐田市見付 3599-4)

*³⁾ 静岡県西部食肉衛生検査所 (掛川市金城 93)

ことにより、本菌の分離率が高められることを報告している。

今回、著者らは農場内での感染状況および感染様式解明の一助とするため、屠畜場に搬入された健康豚および農場内での健康豚の鼻腔から *A. pleuropneumoniae* の分離を行うとともに CF 抗体検査を実施した。さらに、分離された菌の血清型および薬剤感受性について検査したので、その結果を報告する。

1. 材料と方法

1) 検査材料

(1) 屠畜場搬入豚の調査：1987年10月から12月に静岡県下の小笠食肉センターおよび島田市と畜場に搬入された県内13農場の計196頭について、屠殺時の鼻腔および肺病巣部からの菌分離と抗体検査を実施した。

(2) 農場飼育健康豚：検査対象豚は、静岡県下で種豚50～120頭飼育規模の一貫経営9農場の健康豚である。鼻腔からの菌分離は、30日齢未満（哺乳中）、50, 80, 120, 150日齢および種豚の各々3～12頭の計179頭について、抗体検査は30日齢を除く146頭について実施した。これらの農場では畜舎形態、飼育状況、豚房の移動回数および抗生物質の投与状況等はさまざまであった。なお、これらの農場から最近出荷された豚の胸膜肺炎（胸壁との癒着病変）の発生率は平均5～30%であった。

2) 検査方法

(1) 血清学的検査：*A. pleuropneumoniae* に対する補体結合（CF）抗体検査は、北里研究所から分与された2型菌抗原を用いて、マイクロプレート法で行い、4倍以上を抗体陽性と判定した。

(2) 細菌学的検査：鼻腔および肺病巣部からの *A. pleuropneumoniae* の分離培養には、澤田らの S 培地から鶏肉水を減じ、生イースト、ヘミンおよびブロムクレソールパープルを除いた変法 S 培地を用いた。組成は次のとおりである。鶏肉水 5%，カザミノ酸（Difco）0.5%，ポリペプトン（ポリペプトン S，日本製薬）0.5%，塩化ナトリウム 0.5%，寒天末 1.5%，鶏血清 5%， β -NADH 0.00025%（オリエンタル酵母工業）。

分離材料としては、滅菌綿棒による鼻腔内拭い液および肺病巣部を用い、37°C で13時間微好気培養した。培養後、実体顕微鏡下で赤緑色の iridescence を有する集落を選択した。分離菌の確認には、衛生現象および 2, 5 型菌で作成したウサギ免疫血清を用いた平板凝集反応を実施した。

(3) 分離菌の血清型別検査：分離菌の血清型別は、屠畜場搬入豚および農場飼育健康豚の鼻腔から分離された計101株について平板凝集反応法で実施した。なお、検査は北里研究所に依頼した。

(4) 薬剤感受性試験：屠畜場搬入豚の鼻腔由来 *A. pleuropneumoniae* 10株および農場飼育健康豚の鼻腔由来 *A. pleuropneumoniae* 11株の計21株を用い、野外で使用頻度の高いペニシリン（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）、オキシテトラサイクリン（OTC）、サルファジメトキシシン（SDM）、タイロシン（TS）、チアムリン（TIM）、チアンフェニコール（TP）、オキシリン酸（OA）について最小発育阻止濃度（MIC）を日本化学療法学会標準法に準じて測定した。なお、増菌・希釈培地として変法 S 培地から寒天を除いたもの、平板培地として MIC 測定用培地（ニッスイ）に β -NADH 0.00025% を添加したものをを用いた。

2. 成績

1) 屠畜場搬入豚

(1) 菌分離率と抗体保有状況：屠畜場搬入豚の鼻腔からの菌分離率は13%～100%で、平均では196例中85例の43%であった（表1）。CF抗体保有率では、50%以上を示す農家が13戸中6戸存在するいっぽう、抗体陰性の農家が2戸存在し、農家により抗体保有率に差がみられた（表1）。また、抗体保有率の低い農家は、菌分離率も低い傾向にあった。

(2) 肉眼病変と菌分離：屠畜場搬入豚にみられた肺病変を表2に示した。SEP様病変が34%と最も多く、続いて胸壁との癒着21%、肺胸膜肥厚11%、フィブリン付着10%の順であり、SEP様病変を除くいずれの病変も肺実質での変化に乏しく、肺炎の回復像と思われた。これらの病変は、表1に示したように抗体保有率が高かった No. 4, 5, 7 および 8 農家において若干多い傾向にあった。*A. pleuropneumoniae* 感染症でみられるといわれている心嚢炎は平均で7%の豚に認められ、とくに

表1 屠畜場搬入豚鼻腔からの *A. pleuropneumoniae* 分離と CF 抗体保有状況

農家 No.	菌分離 (%)	抗体保有 (%)
1	1/ 8 (13)	8/ 8 (13)
2	2/ 8 (25)	0/ 8 (0)
3	3/ 9 (33)	0/ 9 (0)
4	13/30 (43)	26/30 (87)
5	8/30 (27)	24/30 (80)
6	18/30 (60)	29/30 (97)
7	18/30 (60)	24/30 (80)
8	6/ 9 (66)	8/ 9 (89)
9	4/ 4(100)	3/ 4 (75)
10	6/ 6(100)	2/ 6 (33)
11	2/14 (14)	1/14 (7)
12	2/10 (20)	1/10 (10)
13	2/ 8 (25)	3/ 8 (38)
計	85/196(43)	129/196(66)

表2 屠畜場搬入豚の肺病変

農家 No.	検査頭数	肺病変陽性頭数							心囊炎	肺からの Ap 分離**
		SEP 様	肺胸膜肥厚	Fibrin 付着	胸壁癒着	肝変化	結節性膿瘍	癥痕化		
1	8	3	0	0	1	0	0	0	0	0/1
2	8	3	1	1	0	0	0	0	0	0/1
3	9	1	0	0	2	0	0	0	1	0/2
4	30	4	2	6	8	0	0	0	2	0/6
5	30	11	5	5	9	0	0	6	0	0/13
6	30	14	2	1	4	0	0	2	0	0/3
7	30	13	7	1	6	0	0	0	10	0/5
8	9	6	1	4	4	1*	2*	0	0	3/6
9	4	3	0	1	2	0	0	0	0	0/2
10	6	1	0	1	2	0	0	0	1	0/2
11	14	2	1	1	4	0	0	3	0	0/2
12	10	1	2	0	1	0	0	0	0	0/1
13	8	5	2	0	0	0	0	0	0	0/0
計 (%)	196	67 (34)	23 (11)	21 (10)	45 (21)	1 (0.5)	2 (1)	14 (7)	11 (7)	3/42 (7)

注) *: 菌分離ができたもの ** Ap: *A. pleuropneumoniae*

表3 屠畜場搬入豚の肺病変と CF 抗体保有状況

CF 抗体価	肺病変			
	癒着胸壁	Fibrin 付着	肺胸膜肥厚	結節性膿瘍
<4	13	3	6	0
4	7	1	0	0
8	6	3	4	0
16	15	7	10	0
32	1	3	3	1
64	3	4	0	1
≥ 4	32/45(71)	18/21(86)	17/23(74)	2/2(100)
<4	13/45(29)	3/21(14)	6/23(26)	0/2(0)

注) (): %

表4 農場内豚の日齢別保菌状況

農家名	30日齢未	50日齢満	80日齢	120日齢	150日齢	種豚
A	•	5/5	4/5	4/5	5/5	•
B	•	•	5/5	5/5	5/5	•
C	•	3/3	2/3	3/3	3/3	1/2
D	•	3/3	1/3	3/3	3/3	•
E	•	3/3	2/3	3/3	3/3	•
F	9/12	1/3	2/3	1/3	1/3	1/5
G	3/8	3/5	2/3	3/3	2/3	2/5
H	5/6	0/3	3/3	3/3	1/3	1/3
I	9/12	2/3	3/3	2/3	2/3	2/5
計 (%)	26/38 (68)	20/28 (71)	24/31 (77)	27/31 (87)	25/31 (81)	7/20 (35)

No.7 農家では 30 頭中 10 頭の 33% と著しく高かった。また、肺病変の顕著な 42 例 (癒着 25 例, フィブリン付着 12 例, 肺胸膜肥厚 2 例, 結節膿瘍 2 例, 肝変化 1 例) について菌分離を行ったところ、肝変化病変および結節性膿瘍の 3 例のみから *A. pleuropneumoniae* が分離された。

SEP 様病変を除く肺病変がみられた豚の抗体保有状況は表 3 に示すとおりで、肺病変保有豚の 70% 以上が抗体陽性であった。

2) 農場飼育健康豚

(1) 豚の日齢別 *A. pleuropneumoniae* 保菌状況: 農場飼育健康豚について *A. pleuropneumoniae* の浸潤状況を知る目的で、30 日齢未満から 150 日齢豚について鼻腔から *A. pleuropneumoniae* の分離を試みた。その結果、H 農家の 50 日齢豚を除くほかの日齢の豚から *A. pleuropneumoniae* が分離され、供試 9 農家の各日齢豚における平均分離率は 68~87% の高率を示した (表 4)。いっぽう、母豚では肥育豚に比べて分離率は平均 35% と低く、産歴が高くなるにつれて分離頻度が低下する傾向にあった。

(2) 豚の日齢別 *A. pleuropneumoniae* 抗体保有状況: 抗体保有豚がみられるようになる日齢は農家により異なり、E, F および G の 3 農家では 80 日齢以降、C および D 農家は 120 日齢以降、さらに B 農家では 150 日齢であった (表 5)。A および H 農家では各日齢に抗体保有豚がみられた。また、I 農家を除くほかの農家では 150 日齢において抗体保有率が高い傾向にあった。A および H 農家では 50 日齢豚に抗体が認められ、子豚前期に *A. pleuropneumoniae* の感染があったものと思われた。母豚の抗体保有率は平均で 40% を示し、産歴の若い豚

表5 農場内豚の日齢別2型CF抗体保有状況

農家名	50日齢	90日齢	120日齢	150日齢	種豚
A	3/5	1/5	3/5	5/5	・
B	0/5	0/5	0/5	4/5	・
C	0/3	0/3	2/3	3/3	1/2
D	0/3	0/3	1/3	3/3	・
E	0/3	3/3	2/3	3/3	・
F	0/3	2/3	0/3	3/3	3/5
G	0/5	3/3	3/3	2/3	2/5
H	1/3	3/3	3/3	3/3	0/3
I	0/3	0/3	1/3	1/3	2/5
計 (%)	4/33 (12)	12/31 (39)	15/31 (48)	27/31 (87)	8/20 (40)

表6 鼻腔由来菌株の血清型別

農場 No.	菌株数	2型	5型
1	1	1	
2	1		1
3	4	4	
4	13	13	
5	3	1	2
6	18	16	2
7	9	8	1
8	4	4	
9	3	3	
10	2	2	
11	1	1	
A	5	5	
B	6	5	1
C	5	5	
D	4	4	
E	4	4	
F	10	9	1
G	4	4	
H	4	4	
計	101	93(92)	8(8)

注) 1~11: 屠畜場搬入農場 A~H: 検査農場

表7 分離菌の薬剤感受性

薬剤	MIC (μg/ml)											
	≤0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	≥100
PCG	6	1	2	5	6	1						
ABPC	9	9	3									
KM				1	1	3	10	3	2			1
SM		1					1		8			10
OTC			1		3	3	6	5	3			
SDM				1		1		4	4	4	1	5
TS	1	1		1	2		2	4	3	4	3	
TIM					2		2	4	8	5		
TP	1			1	17	1						1
OA	9	10	2									

注) 供試株数: 21

に抗体保有が多くみられた。

3) 分離菌株の血清型

検査を実施した計101株のうち、2型菌が計93株(92.1%)と主体を占め、5型菌は19農家中6農家から計8株(7.9%)分離された(表6)。ほかの血清型菌は分離されなかった。

4) 分離菌株の薬剤感受性

今回分離された2型菌21株の薬剤感受性を最小発育阻止濃度(MIC)により測定した(表7)。PCG, ABPCおよびOAは高い感受性を示し、KM, OTC, TIMおよびTPは中程度の感受性であった。SM, SDMおよびTSは低感受性で、SMでは耐性菌株が10株と高率に認められた。今回検査した薬剤に対する耐性菌株は21株中14株みられ、そのうち7株が2剤耐性菌株であった。

3. 考 察

静岡県内における本病の浸潤状況を知る目的で、県内13農場から2屠場に搬入された豚計196頭について*A. pleuropneumoniae* 2型菌に対するCF抗体検査、鼻腔および肺病巣部からの菌分離、さらに肺病変について調べた。その結果、抗体保有率は66%、*A. pleuropneumoniae* 保菌率は43%で、本病の汚染が高いことが明らかになった。KUMEら⁷⁾は屠畜場搬入豚200頭の鼻腔から菌分離とCF抗体検査を実施し、53%の豚から菌が分離され、51.1%の豚が抗体を保有していたと報告している。今回の成績は、菌分離率および抗体保有率において、KUMEら⁷⁾の成績と類似するものであった。屠畜搬入豚にみられたSEP様病変を除くほかの肺病変のほとんどは、肺炎の慢性および回復像であった。また、これらの病巣から*A. pleuropneumoniae* は分離されなかったが、有病豚のほとんどがCF抗体を保有していたことから、本病に起因する病巣であることが示唆された。いっぽう、KUMEら⁷⁾は屠畜場搬入豚において本病と診断された肺病巣のすべてから*A. pleuropneumoniae* を分離している。今回、肝変化および結節性膿瘍を除く多くの肺病巣

から *A. pleuropneumoniae* が分離されなかったのは、病巣の種類や感染のステージによるものか、または分離方法によるものかは不明であり、今後検討する必要がある。

KUME ら⁶⁾ は、1 週齢以降の健康豚の鼻腔から *A. pleuropneumoniae* の分離を行い、50% 前後の豚から菌を分離し、保菌豚が各週齢に高率に存在し、哺乳中でも感染が成立すると考察している。著者らの成績においても、調査したすべての農場において哺乳豚を含む各日齢で *A. pleuropneumoniae* 保菌豚が高率にみられた。これらの成績から、*A. pleuropneumoniae* は哺乳期間中に鼻腔内に定着し、常在菌として鼻腔内に長期間存在し、肥育時のストレス等の誘因により菌が肺に侵入して病巣を形成するものと思われた。また、豚の日齢別の抗体保有率は日齢が高まるにつれて高くなる傾向を呈した。

A. pleuropneumoniae は血清型により 1 型から 12 型にわけられ、その分布は国によって異なり、複数の血清型が存在することが多いと言われている。これまでわが国で分離されたほとんどが 2 型菌であったが^{1,2,6,7,9)}、近年、1, 3, 5, 6, 7 型菌の存在が報告されるようになった。1985 年に岩松ら⁹⁾ は 5 型菌の集団発生例について報告し、NAKAI ら¹⁰⁾ および岩波ら⁴⁾ は 5 型菌の浸潤が広がっていることを述べている。また、KUME ら⁶⁾ は、1, 2, 5, 6, 7 型菌の浸潤状況を調査し、これらの菌型が広く分布することを示唆した。今回の分離菌株は、2 型菌が 88% と流行の主体を占めていたが、5 型菌も 11 株 (8%) 分離され、静岡県下での 5 型菌の浸潤が確認された。

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^{2,13)}。しかし、1984 年に山本ら¹⁵⁾ が薬剤耐性 *A. pleuropneumoniae* の存在を報告し、川原ら⁵⁾ は鼻腔から分離された菌株の 80% が耐性菌であったと報告している。今回の成績においても、21 株中 14 株が薬剤耐性菌株であり、うち半数が 2 剤耐性菌株であった。このように薬剤耐性菌が増加の傾向にあることから、今後、本病の治療および予防には、この点を十分考慮する必要がある。

従来、健康豚の鼻腔からの *A. pleuropneumoniae* の分離は難しいとされ、その分離率は低かった。しかし、KUME ら⁶⁾ は S 培地を用い、*A. pleuropneumoniae* に特有な iridescence の有無を鑑別の指標とすることにより、分離率が著しく高まることを報告している。今回、著者らは澤田らの S 培地に準じた変法 S 培地を用いて、健康豚の

鼻腔からの *A. pleuropneumoniae* の分離を試みたところ、比較的高い分離率が得られ、本培地は *A. pleuropneumoniae* の分離に有用な培地であると思われた。したがって、本培地を用いることにより、鼻腔からの菌分離が容易となり、さらに養豚場内における本菌の浸潤状況を知ることが可能であり、本病の防疫対策の樹立に役立つものと考えられる。今回、屠畜搬入豚の鼻腔からの菌分離率は農場飼育豚での分離率に比べて低く、ばらつきも多かった。この原因として屠畜場での分離材料が屠殺直後の採材であったため十分に鼻腔内を拭き取らなかったことや、血液の鼻腔内流入による障害が考えられ、屠腔内拭い液の採材には今後検討を要するものと思われた。

稿を終るにあたり、ご指導ご助言をいただきました北里研究所の久米勝己、中井豊次両先生に深謝いたします。

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., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 46, 175~180 (1983).
- 3) 岩松 茂, 森尾 篤, 毛利 卓, ほか: 日獣会誌, 39, 374~377 (1986).
- 4) 岩松 茂, 宮本修治, 山本孝史: 日獣会誌, 41, 801~805 (1988).
- 5) 川原一芳, 浅野昌彦, 中井豊次, ほか: 第 103 回日本獣医学会講演要旨集, V-48 (1987).
- 6) KUME, K., NAKAI, T. and SAWADA, A.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 46, 641~647 (1984).
- 7) KUME, K., NAGANO, I. and SAWADA, A.L.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 48, 965~970 (1986).
- 8) KUME, K. and NAKAI, T.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 50, 589~591 (1988).
- 9) 三井正朗, 長沢洋二, 八木橋武: 第 103 回日本獣医学会講演要旨集, I-23 (1987).
- 10) NAKAI, T. and KUME, K.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 49, 1141~1144 (1987).
- 11) 尾田 進, 鶴巻藤太郎, 渡辺藤四郎, ほか: 日獣会誌, 28, 584~4588 (1975).
- 12) SEBUNYA, J. N. K. and SAUNDERS, J. R.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 182, 1331~1337 (1983).
- 13) SHIMIZU, M., KUNENORI, K., SAKANO, T., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 44, 359~363 (1982).
- 14) 鈴木祥子, 高橋敏雄, 村松昌武, ほか: 第 103 回日本獣医学会講演要旨集, V-47 (1987).
- 15) 山本純也, 清水幹夫, 阪野哲也, ほか: 第 97 回日本獣医学会講演要旨集,