

## と畜場出荷豚における肺炎病変部由来病原細菌の現状

(独)動物衛生研究所 小林 秀 樹

近年、わが国における豚の肺炎は PRRSV や PCV2 などの新しい病原体と病原細菌との多重感染が蔓延し、これらの新たな病原体が蔓延する以前と比べ病態が非常に複雑化している。さらに、新たに認可されたワクチンや抗菌剤等の使用もまた肺炎の病態の複雑化に拍車をかけているものと考えられている。このことは、免疫不全化や薬剤耐性菌の存在下、豚の肺炎病巣の病理学的所見と検出される病原体との関係を不明瞭とさせ、肺炎診断を複雑化させる大きな要因となっている。

肺炎の複雑化にともない、呼吸器病の簡易診断を豚呼吸器病症候群 (PRDC) という言葉でかたづけてしまうのが現状かもしれない。この診断で肺炎の具体的対策がとれるか疑問である。このような診断をせざるをえない背景のひとつとして、近年では豚の肺炎に関わる病原微生物のスクリーニングがほとんどなされていないことも考えられる。一方、昨年 (2004 年) 2 月のと畜場法の変更に伴い、家畜伝染病予防法の監視伝染病に指定された疾病が全廃棄の対象となった。一時と畜場で混乱を生じたが、その後、一部の疾病についてはと畜場出荷時に症状の極期にあたらないと判断されるものについては全廃棄としないよう通達があったらしい。いずれにしても複雑化した肺炎の臨床診断を実践しなければならないなら、科学的根拠に基づいた詳細な情報が必要である。本稿では、と畜場出荷豚の肺炎由来病原細菌の実態と、と畜場法で指定された全廃棄対象疾病に關与する

病原細菌が肺炎病巣部からどの程度検出されたかについてそれぞれの成績を述べたい。

**材料と方法：**供試材料は7県71農場由来362頭のと畜場出荷豚の肺炎病変部とした。採材は2004年の春と夏の2回実施した。比較参考として2002～2004年度に実施した病性鑑定依頼のあった離乳豚計140頭の肺炎病変部の病原細菌分離成績についてもまた記載することにした (表1)。細菌の分離は各種病原細菌の選択鑑別のために常用される培地に加え、いくつかの特殊培地を自作した。また、菌種同定は常法の生化学的性状あるいは血清学的検査により実施したが、必要に応じPCRやDNAシーケンス等の遺伝子診断法を用いた。なお、細菌分離の対象は1グラムの肺炎病変部あたり $10^4$  CFU前後を下限とした。これは平板上で概ね30コロニー以上のものが対象となるが、これより少ないコロニー数でも、経験上、分離同定が必要と思われたものについては検査の対象とした。

表1 供試材料

	離乳豚*	出荷豚
検体数	140 (6県24農場)	362 (7県71農場)
採材期間	2002～2004	2004. 3-4, 7-8
月齢	1～4	6～7 (一部母豚舎)
臨床所見	呼吸器症状 発育不良	—
材料	肺炎病変部	肺炎病変部

\* 離乳豚：2002～2004病性鑑定

**結果と考察：**離乳豚および出荷豚から分離された病原細菌の分離割合を表2に示した。*Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, 連鎖球菌 (*Streptococcus suis* とそれ以外の *Streptococcus*) および腸内細菌は離乳豚と比べ出荷豚から高い割合で分離され、これとは対照的に *M. hyorhinis*, *Haemophilus parasuis*, サルモネラおよび *Arcanobacterium pyogenes* は離乳豚での分離割合が高かった。

表3は春夏2回のと畜場採材において、農家あたり5頭以上採材した出荷農家をランダム抽出して、それぞれの豚の肺炎病変部から分離された病原細菌をまとめたものである。全体をみると多種類の病原細菌が分離されているが、各農場単位では分離される菌種が限られていた。*Mycoplasma hyorhinis* の分離頻度は、春と夏の採材で大きな差があり、表3でも夏採材で分離のあったのはF農家

の1頭からであった。その詳細として *M. hyorhinis* の出荷豚からの分離率は平均18%であったが、春採材の分離率は26%(56/212頭)、夏採材では僅かに6%(9/150頭)であった。分離割合を試験成績に加える場合、菌種によっては採材季節によるファクターを考慮しなければならないわけである。

表2の「\*」で示した3菌種は家伝法に指定された疾病に関与する病原体である。サルモネラコレラシスとボルデテラの出荷豚からの分離はなかった。一方、*P. multocida* は138頭から分離されているものの、皮膚壊死毒素を産生するものがARの起因菌として対象とされている。この毒素遺伝子を検出するPCRにより分離株が皮膚壊死毒素産生性株かどうか診断した。なお、PCR検査には *P. multocida* が分離された農場は少なくとも1株、分離頭数の多かった農場は2～3株を上限と

表2 離乳豚およびと畜場出荷豚の肺炎病変部から分離された病原細菌とその割合

病原体	分離または検出割合 (%)	
	離乳豚 (n=140)	出荷豚 (n=362)
Porcine circovirus type 2	95 <sup>a)</sup>	NT
PRRS virus	86 <sup>a)</sup>	NT
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	15(38) <sup>b)</sup>	37
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	65	18
<i>Pasteurella multocida</i> <sup>c)</sup>	13	38
<i>Streptococcus suis</i>	10	15
<i>Streptococcus</i> spp. ( <i>S. suis</i> 以外)	15	29
<i>Haemophilus parasuis</i>	8	0
<i>Salmonella</i> Choleraesuis*	3	0
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	3	1
<i>Actinobacillus lignieresii</i>	0	1
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	8	4
<i>Corynebacterium</i> spp.	1	2
Enterobacteria	4	17
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	4
<i>Bordetella bronchiseptica</i> *	1	0
<i>Nocardia</i> spp.	0	1
その他	13	10

a) 動物衛生研究所 池田らにより検出。

b) PCRによる検出。カッコ内の数字は3-4ヶ月齢の子豚からの検出割合。

c)\*: 監視伝染病指定疾病に関与する病原細菌。

と畜場出荷豚における肺炎病変部由来病原細菌の現状

表3 出荷豚の肺病変部から検出された細菌と採材季節との関係 (一例)

採材時期	農場	豚固体	細菌の種類 <sup>a)</sup>								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
2004年 3-4月	A	A-1	○	○		○					
	A	A-2	○	○		○					
	A	A-3		○							
	A	A-4		○	○						
	A	A-5	○		○				○		
	B	B-1							○		
	B	B-2				○					
	B	B-3				○					
	B	B-4									
	B	B-5				○					
	C	C-1	○								
	C	C-2	○	○							
	C	C-3	○								
	C	C-4	○								
	C	C-5	○	○							
	D	D-1							○	○	
	D	D-2							○	○	
	D	D-3							○	○	
	D	D-4									
	D	D-5						○			
E	E-1							○			
E	E-2							○	○		
E	E-3	○						○			
E	E-4	○						○			
E	E-5		○	○				○			
F	F-1										
F	F-2										
F	F-3										
F	F-4		○								
F	F-5							○			
F	F-6									○	
F	F-7										
G	G-1										
G	G-2									○	
G	G-3	○								○	
G	G-4							○	○	○	
G	G-5	○						○	○	○	
G	G-6							○			
G	G-7										
G	G-8	○						○			
H	H-1								○		
H	H-2							○	○		
H	H-3							○	○		
H	H-4							○	○	○	
H	H-5	○						○	○	○	
H	H-6							○	○	○	
H	H-7							○	○	○	
H	H-8							○	○	○	

<sup>a)</sup> Bacterial species: 1; *Mycoplasma hyopneumoniae*, 2; *M. hyorhinis*, 3; *M. hyosynoviae*, 4; *Pasteurella multocida*, 5; *Streptococcus suis*, 6; *Streptococcus* spp., 7; *Escherichia coli*, 8; *Aeromonas hydrophila*, 9; others

して60株について実施した。結果として2農場由来3株がARに關与する可能性のある株と診断された。後追い調査により、これら2農場ではARが常在することを確認している。

まとめ

① 肺炎保有率は全出荷豚の約65%であった。た

だし農場ごとの肺炎保有率は10%未満やほぼ100%と農場により顕著な差が認められた。

② 分離される病原細菌種は農場、採材季節により偏りがみられた。

③ 離乳豚よりも出荷豚からの分離頻度の高い菌種 (*P. multocida*, 腸内細菌群等), あるいは低い菌種 (*H. parasuis*, *M. hyorhinis* 等) が明らかと

なり、検査の目的にあわせた採材対象月齢を考慮するときの資料となった。今回の調査では *P. multocida* を除き、出荷豚の肺炎病変部から監視伝染病に関与する病原細菌は分離されなかった。

- ④ *P. multocida* 138 株のうち 60 株について PCR で皮膚壊死毒素遺伝子の保有を調べたところ、2 農場由来 3 株が当該遺伝子を保有していた。
- ⑤ 肺炎対策として農場ごとに蔓延している病原細菌種を把握することが重要。また、菌種によっては採材季節によって分離割合が変動する点に注意すること。

#### 肺病変部由来マイコプラズマの薬剤感受性について

1. *Mycoplasma hyorhinis* の薬剤感受性 (離乳豚およびと畜場出荷豚由来株)
2. *Mycoplasma hyopneumoniae* の薬剤感受性 (と畜場出荷豚由来株)

*Mycoplasma hyorhinis* の薬剤感受性については関係の学会や学術雑誌に公表しているので表 4 と

して簡単にまとめた。タイロシンやリンコマイシン等の薬剤に耐性を示す株は離乳豚分離株で 40% に達することが明らかとなっている。出荷豚由来株ではこれらの薬剤に耐性であったのは 4% にすぎなかった。このことから、肥育前の離乳時から使用される化学療法剤が耐性株を選択している状況がうかがえる。

*Mycoplasma hyopneumoniae* の薬剤感受性について、供試株数はそれほど多くないが、マクロライド系薬剤 (タイロシン等) に耐性を示す株が 7% (7/28) 存在した (表 5)。またエンロフロキサシンに対し耐性ではないものの、感受性株の正規分布からはずれた 4 株の存在が危惧される。この 4 株の MIC 値は  $0.5 \mu\text{g/ml}$  なので適正な薬剤の使用で充分死滅させることができるはずである。ニューキノロン系薬剤耐性は細菌遺伝子の特定箇所での僅かな変異の積み重ねで MIC 値が上昇して出現する場合と、感受性株からいきなり耐性株になる場合の 2 とおり知られている。この機序の違いは菌種によって傾向がうかがえる。当然後者の耐性機序をもつ菌種の対策にニューキノロンは禁

表 4 *Mycoplasma hyorhinis* 薬剤感受性および耐性菌の割合

抗菌剤	離乳豚由来株 (n=71)			出荷豚由来株 (n=80)		
	感受性	中等度	耐性	感受性	中等度	耐性
リンコマイシン	43	0	28	77	0	3
タイロシン	43	0	28	77	0	3
ジョサマイシン	43	2	26	77	0	3
キタサマイシン	43	4	24	77	0	3
スピラマイシン	43	0	28	77	0	3
チアムリン	71	0	0	80	0	0
エンロフロキサシン	71	0	0	80	0	0
オキシテトラサイクリン	71	0	0	80	0	0
カナマイシン	30	36	5	35	42	3
チアンフェニコール	12	59	0	16	64	0

感受性：MIC ~  $1.56 \mu\text{g/ml}$ , 中等度：MIC  $1.56 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$ , 耐性：MIC  $25 \mu\text{g/ml}$  以上

## と畜場出荷豚における肺炎病変部由来病原細菌の現状

表5 *Mycoplasma hyopneumoniae* の薬剤感受性 (出荷豚由来)

	最少発育阻止濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) (28株)								
	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	>64
MRM				2	14	7*	1	2	2
TS	21*	2	3					2	
LCM	1	5	20*						2

  

	最少発育阻止濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) (42株)			
	0.06	0.125	0.25	0.5
ERFX	23*	16		4

\* : *M. hyopneumoniae* 基準株 (J株) の最少発育阻止濃度

忌であるが、*M. hyopneumoniae* は前者であると思われる。いたずらに MIC 値を上昇させないためにもニューキノロンはもとより抗菌剤の使用は厳密でなくてはならない。

一方、*M. hyorhinis* と *M. hyopneumoniae* のマクロライド耐性機構はほぼ解明されており、特定遺伝子の僅かな変異がそれである。私どもは分離株がマクロライド耐性株かどうかを薬剤感受性試験

によらずにスクリーニングする手法を開発している。この技術を肺炎病変部に存在するマイコプラズマへの直接診断に応用できないか検討中である。すなわち、手間と時間のかかるマイコプラズマの分離培養を行わず農場に蔓延するマイコプラズマのマクロライド感受性を診断しようとするものである。