

..... 原 著

SEP の人工感染実験例について

芹川 慎* 米道裕弥* 扇 勉*
 所 和暢* 谷口隆一* 籠田勝基**

豚流行性肺炎 (SEP) は豚伝染性萎縮性鼻炎 (AR) とともに、わが国の養豚場に広く蔓延している豚の代表的な慢性呼吸器疾患である。

SEP の病原は 1965 年 Switzer ら¹⁾, Goodwin ら²⁾ によって *Mycoplasma hyopneumoniae* (*suis pneumoniae*) であることが確立された。しかし野外例のかなりな部分は、なんらかの細菌 (とくに *Mycoplasma hyorhinis* および *Pasteurella multocida*) の混合感染を伴っており、このような場合には *M. hyopneumoniae* の単独感染よりも病勢は増悪し、より一層の発育成績の低下をきたすといわれている^{3,4)}。そのほかに SEP の病勢を増悪させる要因として、不衛生な管理、飼養失宜、密飼および換気不良などが指摘されているが、これらに関する実証的な報告はほとんどない。

米道ら (1974)⁵⁾ は北海道の 3 養豚場における調査成績より、冬期肥育豚は夏期肥育豚にくらべ SEP および AR の発生率が高いばかりでなく病変の重度なものが多く、さらに日増体量および飼料要求率も低下する傾向があったと報告している。

筆者ら (1974)⁶⁾ はこの原因を冬期間における豚舎の換気不良によるものではないかと考え、臨床的に健康な conventional 子豚を異なる換気条件下で飼育し、SEP の人工感染試験を行った (前報)。その結果、換気良好室飼育豚は換気不良室飼育豚にくらべ発育成績が良好になることを報告した。しかし 供試豚が con-

ventional 子豚であったため、接種時においてすでに *M. hyopneumoniae* および *M. hyorhinis* (肺炎起病性を認めたとする報告もあるが、現在は二次感染菌と考えられている) に対する凝集抗体⁷⁾ を保有し、また AR の感染も認められたことから、発育成績の差異は AR の影響をも受けたと考えられた。

そこで今回は、SEP 以外の疾病の影響を除外するため SPF 子豚を用い、SEP の病性と換気条件との関係をより明確にする目的で前報と同様な試験を行った。

材料および方法

(1) 試験期間

1974 年 11 月 25 日 ~ 1975 年 3 月 14 日 (109 日間)。

(2) 試験室の環境条件

換気条件の異なる 2 室を表 1 のように設けた。換気量の差異に起因する環境因子 (湿度、CO₂ 濃度、NH₃ 濃度) には差が生じ、両室の気温はできるだけ等しくなるように、換気良好室に温風機を設置した。その結果、表 2 に示す室内環境条件となった。湿度および CO₂ 濃度は換気扇の作動によって、減少および増加の波を 1 時間ごとにくり返した。

(3) 供試豚

5 腹 12 頭の secondary SPF 子豚 (体重約 25 kg) を、各室へ 6 頭ずつ同腹子豚を均等に配分し、平均体重が等しくなるようにして群飼した。

* 北海道立滝川畜産試験場

** 北海道大学獣医学部

表 1 試験室の概要

	換気良好室	換気不良室
全面積	2.7m × 3.6m	
全容積	2.7m × 3.6m × 2.7m	
房面積	2.7m × 2.7m	
換気		
入気口	10cm × 30cm	10cm × 15cm
排気口	25cm × 25cm	25cm × 25cm
換気扇	1時間ごとに15分間作動	なし
暖房	サーモスタット付温風機	なし
収容豚	6～3頭	6～2頭
糞出し		毎日

表 2 試験室の環境条件

	換気良好室	換気不良室
気温(°C)*	5～9	5～7
湿度(%)	50～90	90～100
CO ₂ 濃度(%)**	0～0.2	0.3～0.5
NH ₃ 濃度(ppm)***	<5	0～5
結露	—	+

* 最高気温と最低気温の平均

** 理研式炭酸ガス濃度計

*** アンモニア・クイックテスト・キット

(4) 給与飼料

抗生物質を含まない新検定用飼料⁹⁾を、斉藤ら(1973)⁹⁾のSPF肥育豚の給与基準に従い制限給与した。体重は毎週1回測定し、他の管理は常法に従った。

(5) 接種材料

と場出荷豚のSEP肺病巣を接種までの約1週間-20°Cに保存し、接種当日にその一部を10% PBS (pH 7.4) 乳剤とし、2,000 rpm 15分間遠心分離した。ついで上清にampicillinを45 γ /mlになるように加え、4～12時間4°Cに放置後、連続4日間全頭に5ml気管内接種した。ampicillinは接種材料中のMycoplasma以外の細菌増殖を抑制する目的で添加したが、第1回～第3回の接種材料より*P. multocida*が少数検出された(100～200個/ml)。

(6) 検査項目および方法

1) 臨床検査：とくに発咳に注意して各豚の

元気、食欲、下痢、アイパッチおよび鼻部の変形を観察した。体温は元気および食欲の減退が認められた場合のみ測定した。

2) 血液性状検査：赤・白血球数、Ht値、白血球百分比、血清総蛋白量(日立蛋白計)、血清蛋白分画(セルローズアセテート膜電気泳動法)、血沈(Westergren法の1時間値)およびルゴール反応を行った。

3) 病理組織学的検査：肉眼的にはおもに肺炎病巣および鼻甲介の萎縮を観察し、肺および一部の他臓器はホルマリン固定後、ヘマトキシリン・エオジン重染色標本を作製した。

4) 細菌学的検査：肺、気管支分岐リンパ節および一部の他臓器の細菌検索は5%ヒツジ血液加トリプトソイ寒天培地を用い好氣的に24～48時間培養した。*Bordetella bronchiseptica*の検出は、1%ブドウ糖加マッコンキー寒天培地と一部5%ウマ血液加トリプトソイ寒天培地

を併用し、48時間培養した。なお接種材料および肺からの *Mycoplasma* および virus の分離は行わなかった。また *P. multocida* の血清型別も実施しなかった。

5) 抗体価の測定: *M. hyopneumoniae* および *M. hyorhinis* に対する CF 抗体価の測定は、Kolmer の変法をU字型マイクロプレートを使用して行った。抗原および陽性血清は日本生物科学研究所より供与を受けた。供試血清は KIO_4 処理を行い¹⁰⁾、supplementing factor としての子ウシ生血清は補剤に加えた¹¹⁾。また *B. bronchiseptica* に対する凝集抗体価は市販抗原(北研)を用いて測定した。

成績

1. 臨床所見

図1に各供試豚のと殺日と発咳した日を示した。No. 1は接種後6日目の採血失宜により急死した。No. 3は接種後56日目の採血後から元気消失、食欲廃絶および熱発(41.5°C)が

り、3日間の penicillin 治療で回復せず、予後不良と認め淘汰した。また No.11は接種後26日目より元気消失、食欲減退および軽度の熱発(40.5°C)があり、4日間の penicillin 投与で回復した。しかし11日後再び一般状態の悪化をきたしたので淘汰した。その他の豚は接種後48日で各室より2頭、108日で残りの5頭をと殺した。以下43日~59日でと殺した豚を前期と殺豚、108日でと殺した豚を後期と殺豚とする。

発咳は早いもので接種後6日目に認められ、14日で全頭に観察された。この発咳は乾性で、ラッセルおよび喘鳴音などの重篤な呼吸障害は淘汰豚においても認められなかった。発咳の頻度は両室とも同程度であり、最も長く観察されたものは85日目までであった。一方前報では臨床的に異常を呈して淘汰されたものはなく、発咳の性状および両室間の頻度は類似していたが、今回の試験のほうが長く持続する傾向を示した。

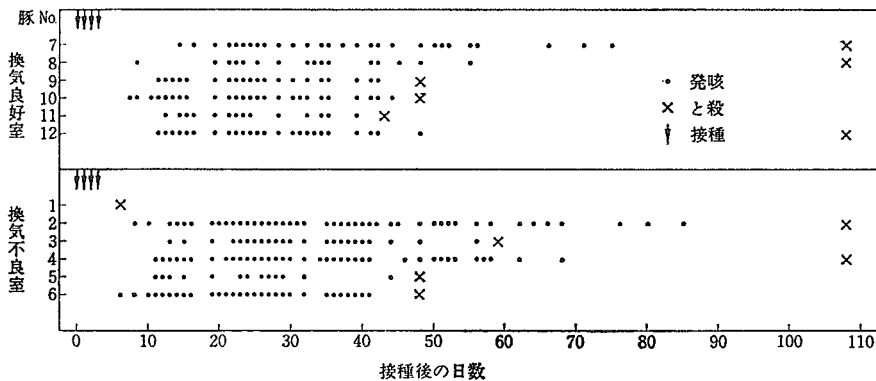


図1 供試豚のと殺日と発咳した日

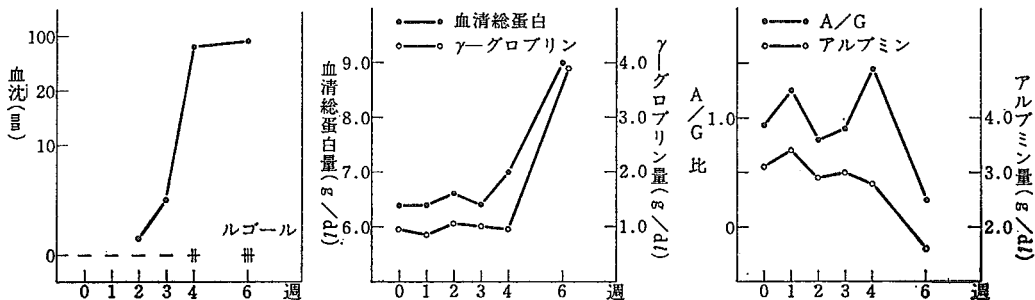


図2 No.11にみられた血液性状の異常

また AR の特徴である鼻部の変形は前報同様全く認められず、前報でかなり認められたアイパッチはほとんど観察されなかった。

2. 血液性状

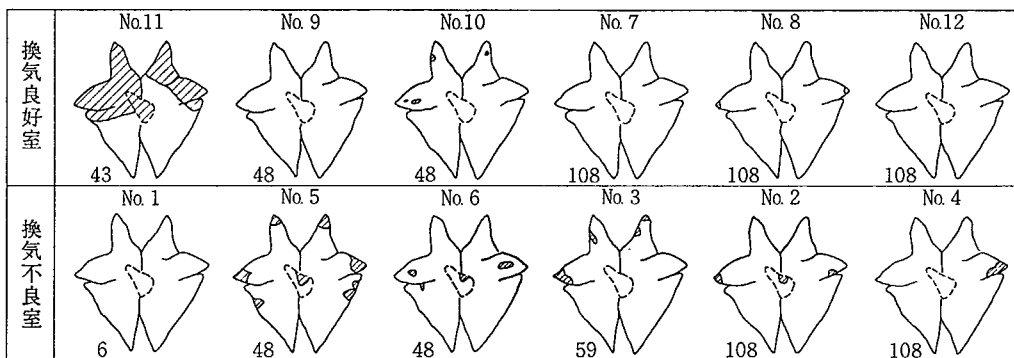
接種後 43 日で淘汰した No. 11 の血液性状は他の豚にくらべ、かなり異常な値を示した (図 2)。すなわち血沈、アルブミン、 γ -グロブリン血清総蛋白および A/G 比の急速な変化が 28 日~42 日にかけて認められ、この期間は臨床症状に異常を示した時期と一致した。一方同じく淘汰した No. 3 は他の豚と比較し、とくに異なる変化を示さなかった。また前報でも顕著な変化はなかった。

3. 病理組織学的所見

図 3 に各供試豚の肉眼的肺炎病巣を示した。No. 11 は他の豚にくらべ著しく大きな病巣を

有した。両室の病巣保有率は換気良好室で 3/6 頭であり、換気不良室の 5/5 頭 (No. 1 を除く) よりも少なかった。また病巣の大きさも換気良好室飼育豚 (No. 11 を除く) は不良室飼育豚にくらべ前期および後期とも少なかった。しかし各室ごとの前期および後期病巣の大きさは、ほとんど変わらなかった。

つぎに組織学的所見を表 3 に要約して示した。すなわち剝離性肺炎および胞隔炎の存在したものを+印、さらに化膿性滲出事象が肺胞および気管枝に認められたものを○印で表すと、換気不良室飼育豚の肝変化部位は化膿性滲出事象が後期と殺時まで存在し、肉眼的健康部位においても炎性事象が後期と殺時まで残った。これに対し換気良好室飼育豚では化膿性病変の出現度が低く、しかも後期と殺時では炎性病変の認められないものがあり、換気良好室飼育豚の病勢は不良室飼育豚のそれよりも弱い傾向にあ



左下の数字は接種後の日数

図 3 供試豚の肉眼的肺炎病巣

表 3 肺の組織学的所見

	換気良好室			換気不良室		
	豚 No.	肝変化部位	肉眼健康部位	豚 No.	肝変化部位	肉眼健康部位
前期と殺豚	9	⊕	+	5	⊕	+
	10	+	+	6	⊕	+
	11	⊕	⊕	3	⊕	⊕
後期と殺豚	7	-	-	2	⊕	+
	8	+	-	4	⊕	+
	12	-	-			

+—SEP 病変 (剝離性肺炎, 胞隔炎)

○—化膿性滲出事象

った。以上の所見は前報と同様な傾向を示したが、後期の病変出現度合は今回の試験のほうがより多かった。

なお No.3 は敗血症を併発し、No.11 は胸膜炎、心臓炎を伴っており、敗血症の変化が全身に認められた。また鼻甲介の萎縮は前報とは異なり、全頭に認められなかった。

4. 細菌学的所見

各供試豚の肺の培養成績を表4に示す。*P. multocida* が換気良好室の2頭、不良室の1頭から検出され、とくに No.11 では肉眼的病変のない部位および気管支分岐リンパ節からも、かなりの数が分離された。*P. multocida* の分離例はいずれも前期にと殺したものからであり、後期と殺豚からは検出されなかった。

なお No.3 は組織学的所見から敗血症と診断されたが、肺および気管支分岐リンパ節からは菌の検出がなく、その他の臓器は検索しなかったため原因菌は不明であった。また No.11 の全身各臓器（肺、気管支分岐リンパ節、従隔リンパ節、肝、脾、心、腎、心臓炎部、腹腔内チーズ様物および腸間膜リンパ節）から大腸菌が分離され敗血症と診断した。

B. bronchiseptica の鼻粘膜からの検索は、接種前、接種後2週目および各豚のと殺時の3回行ったが、全頭陰性であった。

5. 抗体検査所見

図4に *M. hyopneumoniae* (*M. hp*) と *M. hyorhinis* (*M. hr*) とに対するCF抗体価 (*M. hp* 抗体, *M. hr* 抗体) の推移を示した。接種前では2種類の抗体価は全頭8倍以下であった。*M. hr* 抗体は全頭上昇したが、*M. hp* 抗体は換気良好室の2頭に上昇が認められなかった。No.11 では臨床症状および血液性状に異常を示した時期に一致して両抗体の急速な上昇があり、供試豚のなかで最高の128倍に達した。両抗

表4 肺の細菌検索成績

豚 No.	接種後日数	肉眼病果	分離菌
換	11	+	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Escherichia coli</i>
		-	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Escherichia coli</i>
気	9	-	Streptococcus <i>Staphylococcus epidermidis</i> Yeast like
良	10	+	<i>Pasteurella multocida</i>
		-	—
好	7	-	—
		+	—
		-	—
室	8	+	—
		-	—
		-	—
換	1	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i> Yeast like
		+	<i>Pasteurella multocida</i>
		-	—
気	6	+	Streptococcus <i>Staphylococcus epidermidis</i>
		-	—
不	3	+	—
		-	—
良	2	+	Streptococcus
		-	—
		+	Streptococcus
室	4	-	Streptococcus Yeast like

+—有, ——無

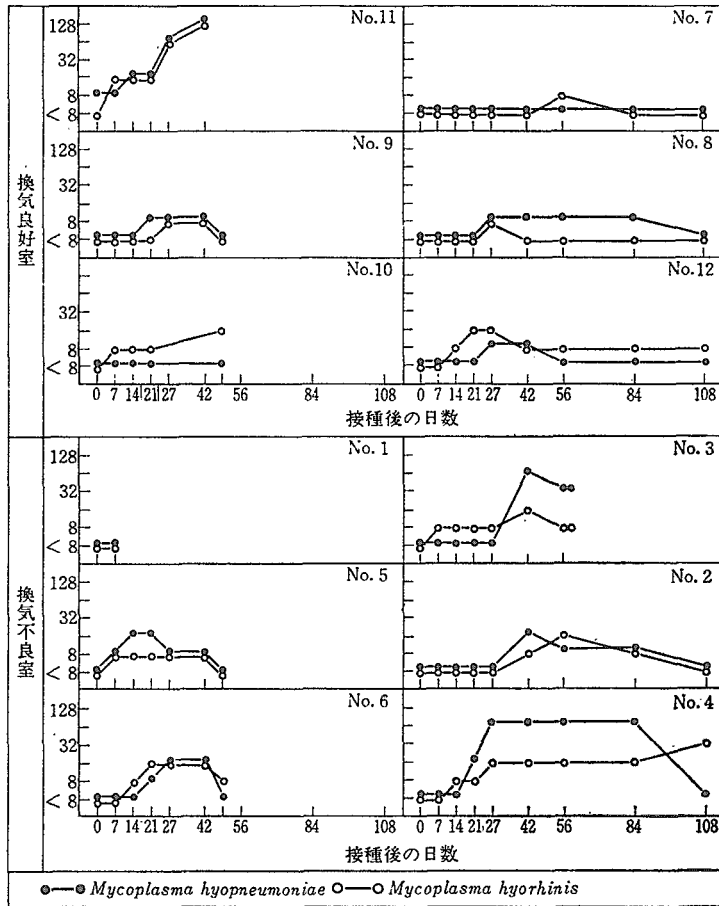


図 4 供試豚の *M. hyopneumoniae* および *M. hyorhinis* に対する血清の CF 抗体価の推移

表 5 供試豚の発育成績

	前期 (25~50kg)		後期 (50~90kg)		全期 (25~90kg)	
	日増体量(g)	飼料要求率	日増体量(g)	飼料要求率	日増体量(g)	飼料要求率
換気良好室	532	3.12	795	3.41	677	3.29
換気不良室	500	3.28	740	3.65	643	3.46

体の上昇度合は換気不良室が良好室 (No. 11 を除く) よりも高い傾向にあり、とくに *M. hp* 抗体はその傾向が顕著であった。すなわち換気不良室飼育豚は換気良好室飼育豚 (No. 11 を除く) よりも肉眼的肺炎病巣が大きく、それとともに *M. hp* 抗体も高くなる傾向を示した。しかしこの傾向は群としてであって、各個体ごとには必ずしも一致しなかった。

なお *B. bronchiseptica* に対する凝集抗体は

前報と同様全頭陰性であった。

6. 発育成績

表 5 に日増体量および飼料要求率を示した。換気良好室 (No. 11 を除く) は各時期において不良室よりも平均日増体量および飼料要求率が良好であった。

図 5 に各豚の肉眼的肺炎病巣の大きさと日増体量との関係を示した。このように感染の初期

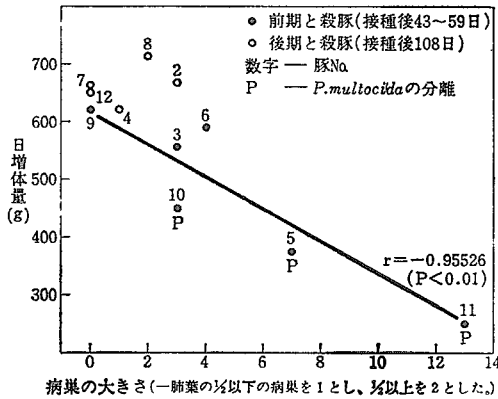


図5 肉眼的肺炎病巣の大きさと日増体量

においては病巣の大きいものほど日増体量が少ない傾向にあり、両者には強い相関が認められた。とくに *P. multocida* の混合感染を伴った例では日増体量が低下した。

考 察

供試豚の抗体検査所見および接種材料の細菌検索の結果、接種材料には2種類の *Mycoplasma* と少数の *P. multocida* が含まれていたと考えられる。したがって本試験は結果的に *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis* および *P. multocida* の混合接種試験の成績を示すものと考えられる。

前期と殺豚の肺から *P. multocida* が分離されたが、供試子豚が SPF 豚であったことおよび隔離管理に注意を払ったことを考慮すると、この *P. multocida* は接種材料に由来するものと考えられた。

試験期間中、一般状態の悪化を呈し淘汰した豚が2頭 (No. 3, No. 11) あった。No. 3 は急性の敗血症と診断され、また No. 11 は重度な肺炎を有し、さらに大腸菌性敗血症を併発していた。筆者らは No. 11 の肉眼的肺炎病巣が他の豚に比較して著しく大きかったことを以下のように考え、例外として各種の成績の比較から除外した。すなわち、ある程度の *P. multocida* が混合感染している SEP 肺炎病巣を保有する時期に、大腸菌性敗血症を併発し、約2週間の経過中に *M. hyopneumoniae* (おそらく

M. hyorhinis も) および *P. multocida* の著しい増殖と大腸菌の関与によって大きな肺炎病巣を形成したのではないかと推察した。

筆者らは前報の conventional 子豚を用いた試験で、前期と殺時と後期と殺時との肉眼肺炎病巣を比較した場合、後者のそれが著しく減少したことは本病変における細菌の二次感染が比較的軽いものであったためと考えた。一方今回の試験では前期と後期の病巣の大きさにそれほど差はなく、しかも前期と殺豚の3例から *P. multocida* が分離されたことから推察すると、*P. multocida* の関与が病巣の治癒を遅延させた一要因と考えられる。このことは今回の試験で発咳がより長く持続したことからもうかがわれる。

発育成績では、肉眼的肺炎病巣の大きかった換気不良室は、それが少なかった換気良好室よりも各期の日増体量および飼料要求率が劣っていた。このことは今回の試験では AR の感染は認められず、したがって換気不良条件に加えて *P. multocida* の関与があったことに起因するものであろう。

また前報では、両室の肉眼的肺炎病巣の程度はほとんど同じであったが、前期における換気不良室の日増体量および飼料要求率は良好室にくらべかなり不良であり、後期ではそれらはほとんど等しかった。このことは SEP 肺炎病巣を保有する前期に換気不良条件の影響は大きく、肺炎病巣の顕著に減少した後期ではその影響はかなり軽減したものと考えられた。

今回の成績でも図5に示したごとく、肉眼的肺炎病巣の程度と日増体量との間には前期において強い相関が認められた。とくに *P. multocida* との混合感染例でこの傾向が顕著であったことから、SEP は豚の初期発育にきわめて大きな影響を及ぼしていることが推察される。Smith ら (1973)¹²⁾ は10日齢以内のノトパイオート豚を用い *M. hyopneumoniae* と *P. multocida* A 血清型の混合接種を行ったところ、それぞれの単独感染よりも重篤な肺炎病巣が形成されたが、日増体量への著しい影響はなかったと報告している。しかしこの試験は接種から

と殺までの日数が19日と短期間であり、発育に及ぼす影響を知るためには、より長い期間が必要であろう。

いずれにせよ SEP と *P. multocida* との混合感染が豚に対しどのような病原性を示すかは、*P. multocida* の血清型および環境条件との関係においてさらに検討を要する問題と思われる。

以上、*P. multocida* の感染がなかった前報と今回の試験成績とを総合すると、SEP においては *M. hyopneumoniae* の単独感染では病勢はそれほど強いものではなく、換気の不良は病勢をより増強し発育を遅延させると考えられる。また SEP に *P. multocida* の混合感染が伴った場合には病勢はさらに増悪し、発育の一層の低下をきたす結果となろう。

従来、北海道の冬期においては保温を重視し換気は軽視されがちであったが、換気を含む舎内環境の改善は二次感染の機会をも減少させると考えられるので、保温とのバランスをとった積極的な換気が望まれる。

要 約

換気の良否が SEP 感染豚にいかなる影響を与えるかを観察するため、換気条件の異なる2室に SPF 子豚を飼育し、と場出荷豚由来の SEP 肺病巣乳剤 (ampicillin 添加) を接種した。接種後 43～59 日および 108 日でと殺し病理組織学および細菌学的検査を行った。また臨床症状および発育成績についても調査した。得られた成績は以下のとおりである。

1) 両室の豚に接種後の同時期 (1～2 週) から同程度の発咳がみられ、各室の1頭が一般症状の悪化をきたし淘汰した。そのうちの1頭は大きな肉眼的肺炎病巣を有し、また大腸菌性敗血症を併発していたため例外として扱った。

2) 換気良好室飼育豚の肉眼的肺炎病巣は不良室飼育豚よりも少なく、*M. hyopneumoniae* に対する CF 抗体の上昇度とほぼ一致した。

3) 換気良好室の発育成績は不良室よりも良好であった。

4) 前期と殺豚において、肉眼的肺炎病巣の大きなものほど日増体量は低下した。そのうち *P. multocida* の混合感染を伴った例ではとくに日増体量が劣った。

5) 全頭に AR の感染は認められなかった。

試験の実施にあたり有益なご助言をいただいた北海道大学獣医学部内科学教室・波岡茂郎教授、ならびに *M. hyopneumoniae* および *M. hyorhinis* の抗原および陽性血清を提供していただいた日本生物科学研究所・八木橋 武研究員に深謝する。

文 献

- 1) Maré, C. T. and Switzer, W. P. : Vet. Med., **60**, 841 (1965)
- 2) Goodwin, R. F. W., Pomeroy, A. P. and Whitlstone, P. : Vet. Rec., **77**, 1247 (1965)
- 3) Betts, A. O. : Brit. Vet. J., **109**, 99 (1953)
- 4) Roberts, E. D., Switzer, W. P. and L'Ecuyer, C. : Cornell Vet., **52**, 306 (1962)
- 5) 米道裕弥, 米田裕紀, 所 和暢, 黒沢不二男, 籠田勝基, 佐藤和男: 日本 獣医 畜産 学会 (北海道), 講演要旨 (1974)
- 6) 芹川 慎, 米道裕弥, 所 和暢, 籠田勝基, 谷口隆一: 日本 獣医 畜産 学会 (北海道), 講演要旨 (1974)
- 7) 家畜衛生試験場年報: 農林省家畜衛生試験場, p. 97~101 (1972)
- 8) 豚産肉検定実務書: 日本種豚登録協会, p. 17~18 (1975)
- 9) 斎藤庸二郎, 小山昭二郎: SPF Swine, **4**, 17~21 (1973)
- 10) Akao, Y., Sano, R., Sugiura, A. and Shimajo, H. : Jap. J. M. Sc. & Biol., **15**, 165~173 (1962)
- 11) Takatori, I., Huhn, R. G. and Switzer, W. P. : Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart., **8**, 195~203 (1968)
- 12) Smith, I. M., Hodges, R. T., Betts, A. O. and Hayward, A. H. S. : J. Comp. Path., **83**, 307~321 (1973)