

15. *Actinobacillus pleuropneumoniae* 2型による敗血症事例

大分家畜保健衛生所

○病鑑 滝澤亮、病鑑 佐藤亘、中宗徹

【はじめに】

Actinobacillus pleuropneumoniae (App) は、豚胸膜肺炎の原因菌であるが、今回、Appの血清型2型 (App2) による敗血症事例に遭遇し、その概要と併せて疫学的解析を行ったので報告する。

【発生概要】

2007年より散発的にApp2による豚胸膜肺炎が発生する母豚70頭飼養の繁殖肥育一貫経営農場において、2009年2月に130日齢の肥育豚が全身性チアノーゼを呈して死亡したため、病性鑑定を実施した。当該農場では、豚胸膜肺炎発生当初から30日齢と50日齢で、*Mycoplasma hyopneumoniae* (以下; Mhp) とAppの混合不活化ワクチンを接種しており、母豚についてはワクチン未接種であった。

【病性鑑定】

1. 材料及び方法

病理解剖後、病理組織学的検査では、主要臓器、脳及び皮膚を用いてHE染色、グラム染色、抗App1、2及び5型免疫家兎血清 (NIAH) 及び抗豚サーコウイルス2型免疫家兎血清による免疫組織化学染色 (以下; IHC) を実施した。細菌学的検査では、主要臓器、脳及び後肢関節腔液を用いて、定法による菌分離と分離Appについては、共凝集反応による血清型別を実施した。Mhpについては、PCR法を用いて遺伝子検索を実施した。ウイルス学的検査では、肺を用いて、PRRSVの遺伝子検索を実施した。

2. 成績

病理解剖では、肺の広範囲の肝変化と一部肋骨胸膜との癒着が見られ、後葉では単発性の膿瘍も認められた。心臓では、心嚢内に黄色透明のゼリー状物が充満しており、左右房室弁では、黄白色カリフラワー状で容易に剥離される疣状物の付着が見られた。その他では腎臓表面に微小な点状出血も観察された。(図-1)

病理組織学的検査では、心臓に細菌塊を含む疣贅性心内膜炎が観察され、その程度は左心にて重度であった。実質では、中心部に細菌塊または菌塞栓を認める壊死巣が多数観察された。壊死巣の周囲は、変性した好中球や単核系細胞に囲まれ、部位により菌塊周囲に棍棒体の形成^{1, 2)}が認められた。同様の病変は全身性に観察され、脳、皮膚、肝臓の小葉辺縁部、腎臓の糸球体などにも多数観察された。(図-2) 肺では、後葉に器質化を伴う化膿性壊死性肺炎像が観察され、全葉の肺胞中隔において、心臓と同様の病変が多数箇所観察された。グラム染色では、全身性に観察された細菌塊はグラム陰性を示し、抗App2血清を用いたIHCでは、壊死巣中心部の



図-1 病理解剖所見

細菌塊や周囲の単核系細胞に一致して陽性像が多数観察された。(図-3) また、抗App1及び5型血清を用いたIHCでは、陽性像は観察されなかった。

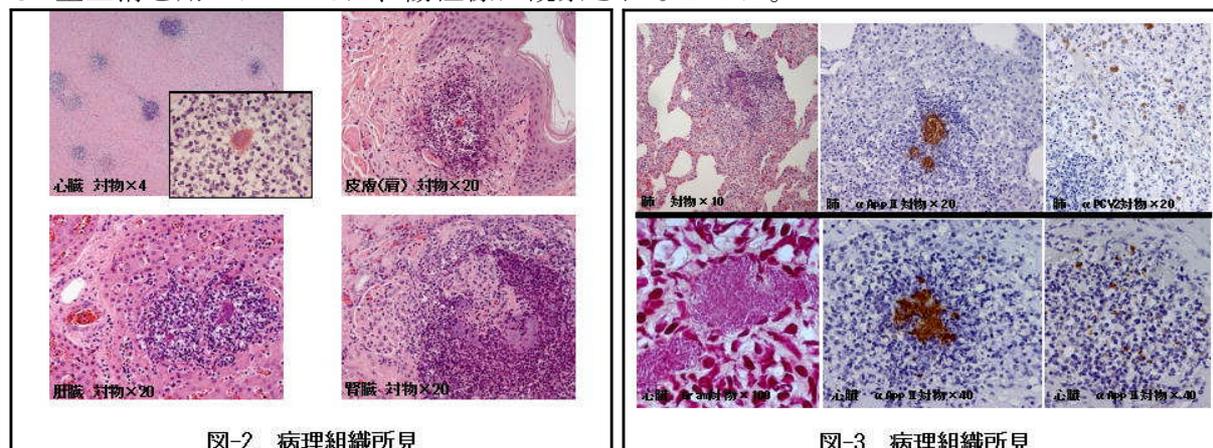


図-2 病理組織所見

図-3 病理組織所見

細菌学的検査では、病性鑑定に供した全ての材料から、V因子要求性のAppが分離され、共凝集反応による血清型別では2型家兎血清に凝集を示した。遺伝子検索では、Mhpの特異遺伝子は検出されなかった。

ウイルス学的検査では、肺からPRRSVの特異遺伝子は検出されなかった。

以上の検査成績から、本症例を「App2感染症（敗血症）」と診断した。

【抗体検査】

当該農場は、Appワクチン接種農場にも関わらず、散発的にApp2による豚胸膜肺炎が発生し、更に胸膜肺炎が特徴であるApp感染症において、本例の様な劇症型の敗血症を呈したことから、豚群のApp2の制御が不完全であると推察された。そこで、豚群全体のApp2の詳細な抗体レベルの把握と、豚サーコウイルス2型（以下；PCV2）ワクチン接種前後のApp2抗体レベルから、当該農場におけるPCV2の影響を把握するため、App2の抗体検査を実施した。

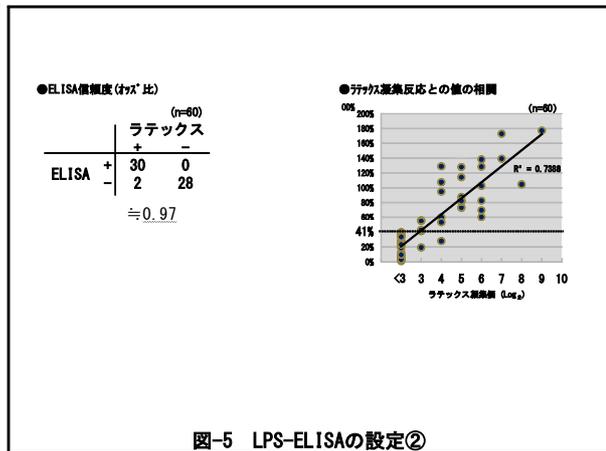
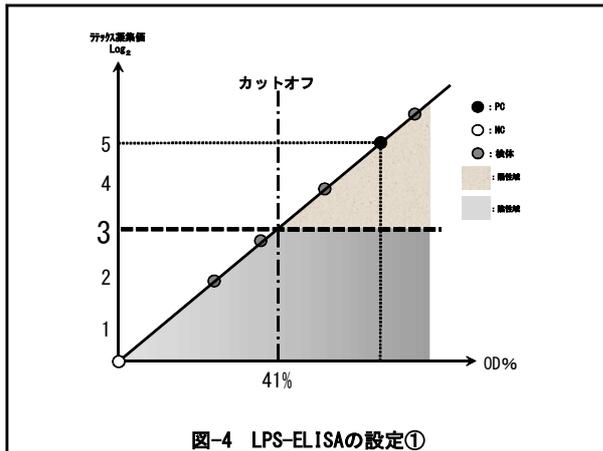
抗体検査手法は、App2抗体の詳細な動態把握と、多検体処理及び検査時間の短縮を図るため、App2のリボ多糖を抗原とするELISA（以下；ELISA）³⁾を用いた。検査指標としては、ラテックス凝集反応（アグテックAP2：日生研、以下；ラテックス）を用いた。また、ELISAの血清型特異性を確認するため、App5型陽性血清（CF価32倍）をELISAに供した。

1. 材料及び方法

ELISAのコントロールとして、App2型陽性血清（ラテックス凝集価32倍）と陰性血清（ラテックス凝集価8倍未満且つCF価4倍未満）を用い、当該農場の各日齢の豚血清158検体を供試した。ELISAの設定方法は、各検体のOD値を陽性・陰性血清を用いてOD%に補正後、そのOD%とラテックス凝集価を比較し、ラテックス凝集価で8倍未満を示すOD%をカットオフに設定後、抗体陽性率を算出した。

2. ELISAの設定

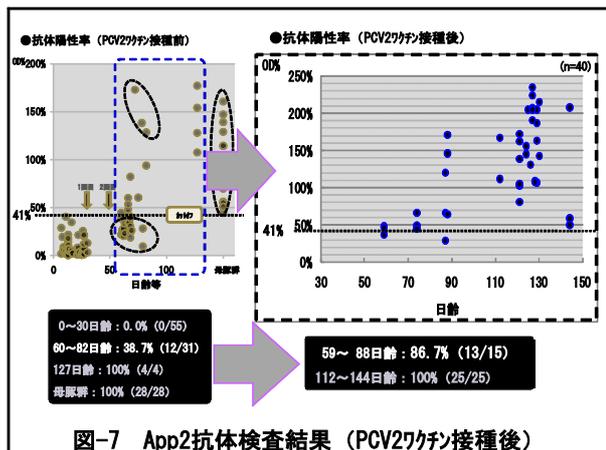
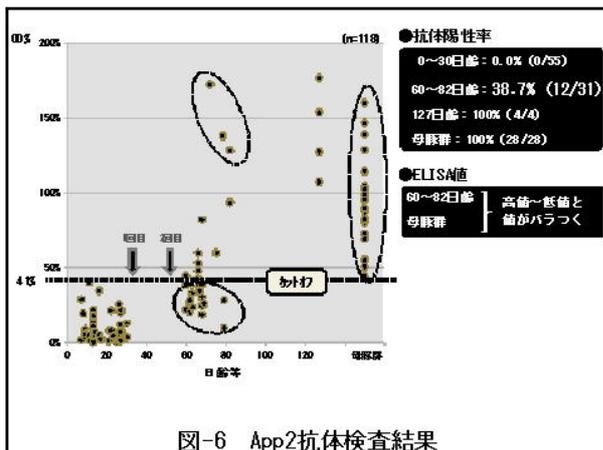
ELISAのカットオフ値は、ラテックス凝集価8倍未満を陰性とすることから、OD%を41%に設定した。(図-4) そのときのELISAとラテックスとの信頼度は、オッズ比で0.97と良好であり、値の相関も認められた。また、App5型陽性血清を供した場合、若干の交差反応を示したが、カットオフ値未満であり、良好な血清型特異性を有すると判断した。(図-5)



3. 抗体検査成績

App2抗体陽性率では、0～30日齢は0%、60～82日齢では38.7%と非常に低い陽性率であり、127日齢と母豚群ではそれぞれ100%の陽性率であった。また、ELISA値では、Appワクチン接種済みの60～82日齢の群と母豚群で、値のバラつきが認められた。(図-6)

PCV2ワクチン接種後の、各日齢のApp2抗体の陽性率は、PCV2ワクチン接種前では、App2抗体陽性率の低い日齢(60～82日齢)において、接種後は陽性率の大幅な改善が認められた。(図-7)



【考察】

当該農場の豚群は、病性鑑定及び抗体検査成績から、App2の制御が不完全となっており、それはPCV2による免疫低下が一要因と考察され、そのことで散発的に豚胸膜肺炎が発生していたと推察した。更に、通常では胸膜肺炎を呈する病態が、本症例では、肺でのAppの異常増殖により菌血症となったことで、心臓の房室弁に変性や壊死を引き起こし、疣贅性心内膜炎が形成されたと推察した。そして、細菌塊を含む血栓(疣状物)が房室弁から剥離し、全身の細い血管に菌塞栓を引き起こし(シャワー塞栓症)、その菌塞栓の周囲に化膿性肉芽腫性炎を形成したと考察した。このような病態は、と畜場での発見が数例あるのみで、肥育中期での死亡例での報告はまだない。

今回作製したELISAは、ラテックスとの値の相関や整合性、血清型特異性も確認できたことから、App2抗体検査法として有用であった。更に、他の血清反応に比べ、より詳細な抗体の動きが把握できることから、豚群全体での抗体保有状況の確認に有用と考察した。

参考文献

- 1) Ohba, T., Shibahara, T., Kobayashi, H., Takashima, A., Nagoshi, M., Araki, M., Takizawa, K., Kubo, M.: Prevalence of Granulomatous Pleuropneumonia Associated with *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotype 2 in Slaughter Pigs. : J. Vet. Med. Sci. 71(8):1089-1092, 2009
- 2) Ohba, T., Shibahara, T., Kobayashi, H., Takashima, A., Nagoshi, M., Osanai, R., Kubo, M.: Multifocal Granulomatous Hepatitis Caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotype 2 in Slaughter Pigs. : J. Comp. Path. 139, 61-66, 2008
- 3) Klausen, J., Ekerøth, L., Grøndahl-Hansen, J., Andresen, L.O.: An indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 7 in pig serum. : J. Vet. Diagn. Invent. 19, 244-249, 2007