

と畜場出荷豚から分離された県内養豚場由来豚丹毒菌の性状解析

県央家畜保健衛生所

小菅 千恵子	篠崎 隆
英 俊征	松本 英子
高山 環	永野 未晴
和泉屋 公一	前田 卓也

はじめに

豚丹毒は豚丹毒菌 (*Erysipelothrix rhusiopathiae*) による豚の感染症で、家畜伝染病予防法において届出伝染病に指定されている。症状の特徴から、急性の敗血症型、亜急性の蕁麻疹型、慢性の関節炎型および心内膜炎型に分類されている。予防には生および不活化ワクチンが用いられているが、慢性の関節炎型の発生の一部に生ワクチン株との関連性が指摘^{1), 3)} されている。

平成23年11月、長野県神田らにより、豚丹毒の防御抗原であるSpaA遺伝子の塩基配列の609番目がグアニン、769番目がアデニンとなりSpaA-609G769A型と命名された新しい遺伝子型を示す豚丹毒菌による症例が報告され、重篤な敗血症型豚丹毒を発症しやすいという特徴が挙げられた⁵⁾。また、Toらは平成20年～23年の間に全国の豚丹毒発症豚から分離された豚丹毒菌を解析した結果、この株が日本に広く浸潤していると報告⁹⁾ している。

全国における豚丹毒の届出頭数の増加が平成20年以降みられており、1農場あたりの被害が大きくなっている中、平成25年、神奈川県内のと畜場での豚丹毒の摘発頭数が増加したことから、発生予防対策の一助として、県内養豚場由来豚丹毒菌の性状について調査したので、概要を報告する。

神奈川県内の豚丹毒届出状況

平成11年以降、県内農場からの発生届はなく、その発生状況は、過去10年、と畜場で単発的に摘発されるのみで、戸数頭数ともに一桁台で推移していた。しかし、平成25年に頭数の増加を認め、その増加は県内1農場 (A農場) に由来し (図1 県内農場別の届出状況)、慢性型が主体であった (図2 県内病型別の届出状況)。

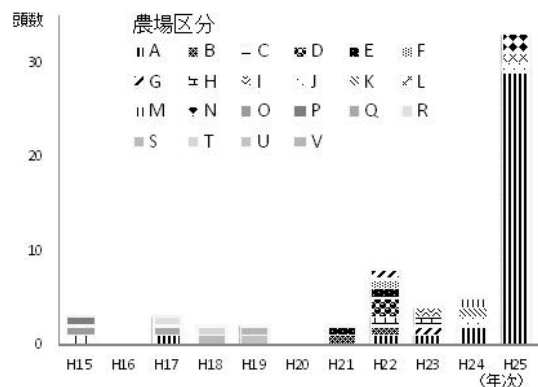


図1 県内農場別の届出状況

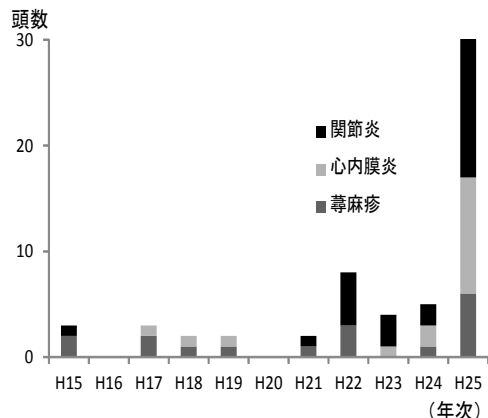


図2 県内病型別の届出状況

A農場の概要

A農場は5,000頭規模の肥育農場で、豚は繁殖農場Ⅰから30日齢で250頭/週導入していたが、平成24年秋～冬の一時期、繁殖農場Ⅱから約150日齢での豚の導入もあった。豚丹毒のワクチン接種プログラムは、繁殖農場Ⅰでは未接種、繁殖農場Ⅱでは繁殖母豚は分娩前2回、子豚は80日齢1回、いずれも生ワクチンを接種し、A農場では平成25年1月までは80日齢で生ワクチンを1回、1～同年5月までは60～90日齢で不活化ワクチンを2回、5～同年8月は60～150日齢で不活化ワクチンを3回、8月以降は30～90日齢で不活化ワクチンを3回接種していた。他のワクチンは、PRRS、PCV2ワクチンを約30日齢で接種していた。稟告より、豚丹毒が繁殖農場Ⅱの豚を導入した1区画からの出荷豚で継続して摘発された。

材料と方法

1 検査材料

(1) 菌株

平成21～25年に分離されたと畜場出荷豚由来の12農場28株と平成3年に分離された病性鑑定症例由来のA農場1株の計12農場29株を供試した。また、参照株として、Koganei65-0.15株(生ワクチン使用株)、Fujisawa株(野外強毒株)を用いた。

と畜場由来の菌株は県内2食肉衛生検査所から分与された。

(2) 血清

平成24年8月～平成25年7月に採材した150～180日齢のA農場52検体、繁殖農場Ⅱ41検体の計93検体の保存血清を用いた。

2 検査方法

(1) 性状解析

型別用家兔血清を用いたゲル内沈降反応による血清型別、血清型1a株についてSpaA遺伝子高頻度可変領域のシークエンス、SpaA遺伝子高頻度可変領域配列で生ワクチン株と区別できない株のうち疫学情報により生ワクチン接種農場で関節炎型を呈した豚からの分離菌株について全ゲノムを対象としたSNP (Single Nucleotide Polymorphism)解析、さらに1濃度ディスク法によりペニシリン (PC)、アンピシリン (ABPC)、アモキシシリン (AMX)、テトラサイクリン (TC)、ドキシサイクリン (DOXY)、エンロフロキサシン (ERFX)、ストレプトマイシン (SM)、ゲンタマイシン (GM)、カナマイシン (KM)、スルファメトキサゾール・トリメトプリム (ST合剤)、リンコマイシン (LC)、エリスロマイシン (EM)、セファゾリン (CEZ) の13薬剤について薬剤感受性試験を実施した。前記3検査については、独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所に依頼した。

(2) 抗体検査

血清を0.2M 2-メルカプトエタノール (2ME) 添加BHI培地で37℃1時間処理後、豚丹毒菌Marrionfelde株を用いた生菌発育凝集法により実施した。

成 績

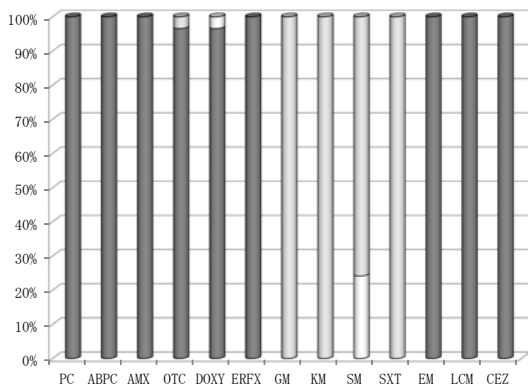
菌株の血清型別の結果、1a型に19株、2b型に8株、5 および6型に各1株ずつ型別された。血清型1aの19株についてのSpaA遺伝子解析の結果、12株の塩基配列の609番目がグアニン(G)、769番目がアデニン(A)であり、SpaA-609G769A型に分類された。12株は平成24年12月～平成25年9月にA農場から出荷された豚からの分離菌であった(表1 菌株の分類と性状解析)。また、SNP解析の結果、菌株No.7、8、12、14で生ワクチン株であるKoganei65-0.15株との一致がみられ、4株が生ワクチン株と推測された(表2 菌株の性状解析)。薬剤感受性試験により、ペニシリン系にはすべての菌株で、テトラサイクリン系には、平成3年に分離された1菌株を除いた菌株で感受性を認めた。アミノグリコシド系・ST合剤には、ほぼ耐性を示した(図3 薬剤感受性試験成績)。

表1 菌株の分類と性状解析（血清型、SpaA解析）

菌株 No.	農場	ワクチン接種	分離年月	由来	病型	血清型	SpaA高度変異領域 シーケンス解析		
1	A	○	3	病性鑑定	敗血症	2b	未解析		
2	B	×	21 6	と畜場	関節炎	2b			
3	C	○	22 2	と畜場	蕁麻疹	2b			
4	D	不明	22 3	と畜場	蕁麻疹	2b			
5	E	不明	22 3	と畜場	関節炎	2b			
6	A	○	22 6	と畜場	関節炎	2b			
7	F	○	22 6	と畜場	関節炎	1a	609T	769A	A: アデニン
8	G	○	22 7	と畜場	関節炎	1a	609T	769A	G: グアニン
9	H	○	23 1	と畜場	心内膜炎	1a	609T	769A	C: シトシン
10	I	○	23 2	と畜場	関節炎	1a	609T	769A	T: チミン
11	A	○	23 7	と畜場	関節炎	2b			
12	G	○	23 11	と畜場	関節炎	1a	609T	769A	
13	J	×	24 4	と畜場	心内膜炎	6			
14	A	○	24 7	と畜場	関節炎	1a	609T	769A	
15	K	○	24 11	と畜場	関節炎	2b			
16	A	○	24 12	と畜場	心内膜炎	1a	609G	769A	
17	L	×	25 1	と畜場	関節炎	5			
18	A	○	25 2	と畜場	関節炎	1a	609G	769A	
19	A	○	25 2	と畜場	蕁麻疹	1a	609G	769A	
20	A	○	25 3	と畜場	心内膜炎	1a	609G	769A	
21	A	○	25 4	と畜場	心内膜炎	1a	609G	769A	
22	A	○	25 4	と畜場	関節炎	1a	609G	769A	
23	A	○	25 5	と畜場	心内膜炎	1a	609G	769A	
24	A	○	25 6	と畜場	関節炎	1a	609G	769A	
25	A	○	25 6	と畜場	心内膜炎	1a	609G	769A	
26	A	○	25 6	と畜場	心内膜炎	1a	609G	769A	
27	A	○	25 7	と畜場	関節炎	1a	609G	769A	
28	J	×	25 8	と畜場	関節炎	1a	609T	769A	
29	A	○	25 9	と畜場	心内膜炎	1a	609G	769A	
Fujisawa						1a	609T	769C	
Koganei65-0.15						1a	609T	769A	

表2 菌株の性状解析（SNP解析）

菌株名	アミノ酸の位置/ アミノ酸と塩基の置換										* 左数字はアミノ酸番号を示す
	遺伝子A		遺伝子B		遺伝子C			遺伝子D	遺伝子E		
	277	271	26	30	230	271	396	170			
Fujisawa	Phe (TTT)	Leu (TTA)	Gln (CAA)	Val (GTT)	Met (ATG)	Thr (ACG)	Ser (TCG)	Val (GTA)			
Koganei 65-0.15	Leu (TTG)	STOP (TGA)	Pro (CCA)	Ile (ATT)	Leu (CTG)	Met (ATG)	Ser (TCT)	Leu (TTA)			
菌株No.7	Leu (TTG)	STOP (TGA)	Pro (CCA)	Ile (ATT)	Leu (CTG)	Met (ATG)	Ser (TCT)	Leu (TTA)			
菌株No.8	Leu (TTG)	STOP (TGA)	Pro (CCA)	Ile (ATT)	Leu (CTG)	Met (ATG)	Ser (TCT)	Leu (TTA)			
菌株No.12	Leu (TTG)	STOP (TGA)	Pro (CCA)	Ile (ATT)	Leu (CTG)	Met (ATG)	Ser (TCT)	Leu (TTA)			
菌株No.14	Leu (TTG)	STOP (TGA)	Pro (CCA)	Ile (ATT)	Leu (CTG)	Met (ATG)	Ser (TCT)	Leu (TTA)			



■S □I □R
 S: 感受性、I: 中間、R: 耐性
 図3 薬剤感受性試験成績

抗体検査成績から、A農場では摘発増加前の平成24年11月、GM値は2.3倍、最大抗体価は4倍と抗体防御に有効とされる8倍以上の抗体を保有する豚は認められなかった。摘発頭数が増加した平成25年5月にはGM値は163.1倍、最大抗体価は4096倍と感染抗体と思われる高い抗体価を認めた。平成24年秋～冬に繁殖農場Ⅱでは、2048倍と高い抗体を保有する豚の存在が確認された(図4 抗体検査成績とA農場の届出状況)。

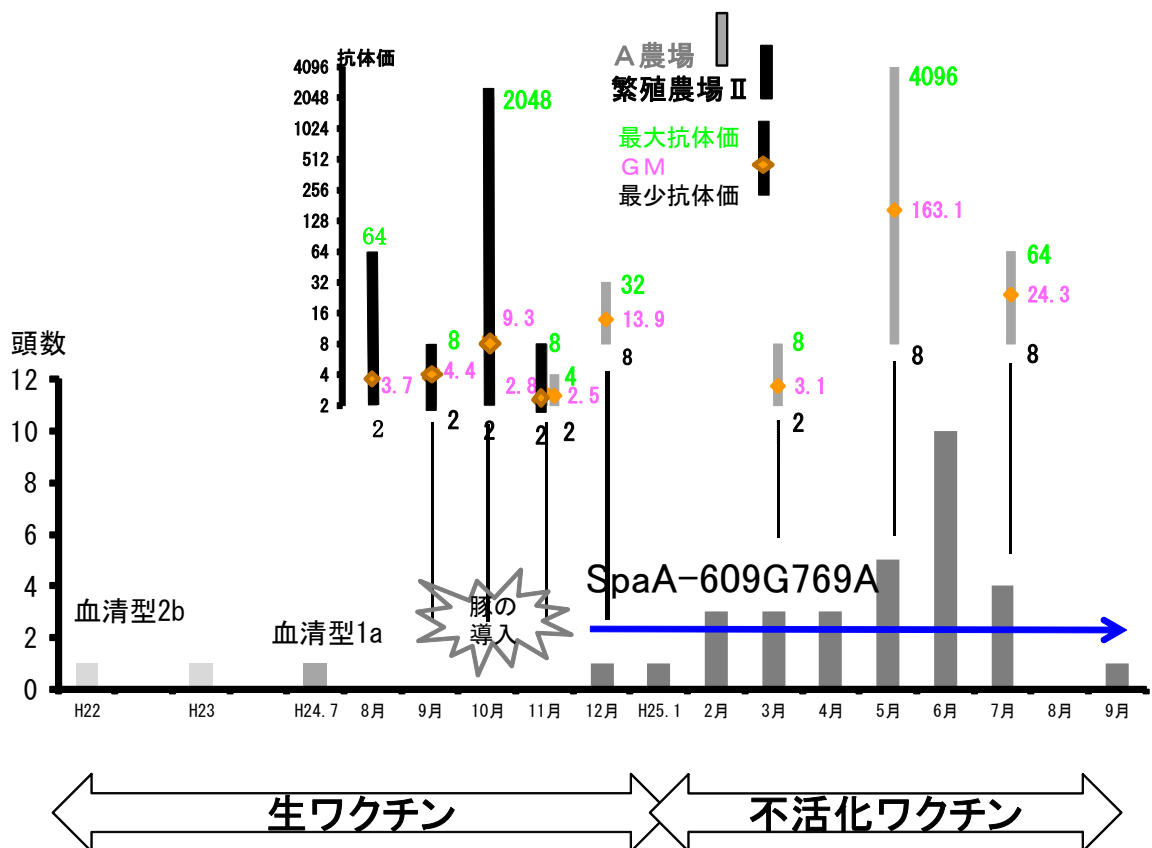


図4 抗体検査成績とA農場の届出状況

考 察

平成25年、県内養豚場から出荷された豚で慢性型による豚丹毒の届出が増加継続した。分離菌の性状解析から、血清型は1a、2bで93%を占め、豚丹毒発生豚からの分離菌の血清型は、1および2型が占める割合が多いという従来の報告^{3)、6)、7)}と同様な傾向がみられた。SpaA遺伝子解析により、県内で初めて、SpaA-609G769Aの侵入が確認され、この遺伝子型を示す菌株はすべてA農場の出荷豚からの分離菌であった。A農場へのSpaA-609G769Aの侵入時期は、A農場出荷豚からの分離菌の血清型が年次により異なっていること、従来と異なる農場からの豚の導入があった時期、その導入元では高い抗体価を保有する豚を認めたがA農場では防御抗体に有効な8倍以上の抗体保有を認めない状況にあったこと、導入した区画からの出荷豚で摘発が増加継続したこと、抗体検査において摘発増加後は感染を疑う高い抗体価を保有する豚を認めたことなどから、平成24年秋～冬の豚の導入時と考えられた。SpaA-609G769Aは急性敗血症型を発症しやすいとの報告があるが、同遺伝子型による慢性型の摘発が継続したことから、ワクチンによりある程度の防御が出来たものの、農場内ではまん延していたものと考えられた。

関節炎型の発生には、従来より生ワクチン株との関連性が報告されている。今回、生ワクチン株との関連性については、SNP解析により3農場4株が生ワクチン株由来と推測された。生ワクチンは、防御に有効であるが、使用法によってはデメリットとなりうることが指摘⁹⁾されている。今回調査した中でも同一農場で平成22年、23年と続けて生ワクチン関連株が分離されており、対策を講じるうえで、このようなことも念頭にワクチンの種類を検討する必要があると考えられた。

薬剤感受性試験では、治療に有効なペニシリン系にはすべて感受性を認めた。国内分離株において、テトラサイクリン系、ニューキノロン系で耐性株が報告^{6)、10)}されているが、今回用いた平成21年以降の菌株では確認されなかった。

県内農場の豚丹毒ワクチン接種率は72%で接種率は高い状況にあると思われたが、今回の豚丹毒の摘発増加はワクチン接種農場であるA農場に由来するものであった。ワクチン未接種農場における急性型の報告^{2)、11)}からも、予防策として適切なワクチネーションに加え、ワクチン接種農場における十分な免疫⁴⁾の保有確認が重要であることが再認識された。

稿を終えるにあたり、性状解析の実施ならびに御助言をいただいた独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 細菌・寄生虫研究領域 下地善弘先生ならびに研究室の諸先生方、菌株の分与をいただいた横浜市健康福祉局食肉衛生検査所、神奈川県食肉衛生検査所の諸先生方に深

謝いたします。

引用文献

- 1) 阿部隆司ら：平成22年度新潟県家畜保健衛生業績発表会集録、19～21（2010）
- 2) 福留静ら：平成24年度新潟県家畜保健衛生業績発表会集録、51～54（2012）
- 3) Imada Y, et al: J. Clin. Microbiol.、42、2121～2126（2004）
- 4) 今田由美子：平成16年度豚疾病特殊講習会資料（2004）
- 5) 神田章ら：JVM、64(11)、905～909（2011）
- 6) 宮尾陽子ら：日獣会誌、59、409～415（2006）
- 7) 下地義弘：豚丹毒とは、社団法人 中央畜産会（2012）
- 8) 下地義弘：臨床獣医、30(3)、12～16（2012）
- 9) To H, et al : J. Vet. Med. Sci.、74(7)、949～953(2012)
- 10) 堤ら：平成20年度 埼玉県食肉衛生検査センター事業年報、40、83～86（2011）
- 11) 養豚界編集部：養豚界、August、24～26（2012）