

間接赤血球凝集反応による豚における

Pasteurella multocida の浸潤調査

福安嗣昭 天田順久 斎藤慶子 芦田淨美

麻布大学獣医学部（相模原市淵野辺 1-17-71 〒229）

（平成 3 年 11 月 25 日受付・平成 4 年 5 月 22 日受理）

Serological Survey of *Pasteurella multocida* Serotype A and D by Indirect Hemagglutination in Pigs

TSUGUAKI FUKUYASU, YOSHIHISA AMADA, KEIKO SAITO, KIYOMI ASHIDA
School of Veterinary Medicine, Azabu University, Sagami-hara-shi, Kanagawa-ken 229

SUMMARY

Four hundred and two and 1,041 sera were collected from brood sows and fattening pigs on 40 farms in 11 prefectures respectively, and antibody titers to *Pasteurella multocida* serotype A and D were examined by an indirect hemagglutination test.

By examining the 402 sows and 1,041 fattening pigs, positive ratios of antibody to *P. multocida* serotype A were 84.8% in sows and 52.9% in fattening pigs and those for the *P. multocida* serotype D were 11.9% in sows and 10.8% in fattening pigs. Antibodies to *P. multocida* serotype A were positive among the sows and fattening pigs raised in all of the 11 prefectures. All sows in four of the prefectures and all fattening pigs in only one prefecture were negative for antibody to *P. multocida* serotype D. On the other hand, the sows showing positive antibody to *P. multocida* serotype A and D were distributed in 25 of 26 farms and 13 of 26 farms, and fattening pigs showing that were distributed in 26 of 27 farms and 17 of 27 farms, respectively. On examination of fattening pigs, those younger than 3 months, 3 to 6 months and older than 6 months of age, antibody positive ratios to serotype A were 14.8%, 74.1% and 79.4%, respectively. A similar tendency was observed regarding serotype D.—**Key Words** : IHA, *Pasteurella multocida*, pig, serotype.

-----J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 45, 752~756 (1992)

要 約

11 県 40 養豚場の母豚 402 頭および肥育豚 1,041 頭の豚血清について、*Pasteurella multocida* 莢膜抗原に対する抗体を間接赤血球凝集反応により測定した。母豚および肥育豚の A 型抗体陽性率は各々 84.8% および 52.9% であったが、D 型のそれは 11.9% および 10.8% であった。県別にみると、母豚および肥育豚の A 型抗体陽性豚は全ての県に分布していたが、D 型抗体は母豚では 4 県、肥育豚では 1 県で全例陰性であった。さらに、養豚場別にみると、A 型および D 型抗体陽性豚は母豚で各々 96.2% および 50.0%、肥育豚では各々 96.3% および 63.0% の養豚場にみられた。A 型および D 型に対する抗体陽性率および抗体価はともに月齢が進むに伴い高い値を示す傾向にあった。

——キーワード：IHA, *Pasteurella multocida*, 豚, 血清型。

-----日獣会誌 45, 752~756 (1992)

Pasteurella multocida (*P. multocida*) は健康豚の上部気道粘膜および肺病変部からしばしば分離される^{4,6,12,13}。本菌の単独感染による肺炎の発症例は少なく散発的であるが、多頭飼育の場合には集団発生することがあり¹²、*P. multocida* 感染症の発生は年々増加の傾向がみられる。また、*P. multocida* 肺炎の発症には、*Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* などとの混合感染や豚舎の換気不良、長途の輸送また気候の急変などのストレス要因が複雑に

関与している¹。このようなことから、豚における本感染症の臨床診断は容易ではないが、間接赤血球凝集 (IHA) 反応およびゲル内沈降反応などが血清学的な診断法として用いられている^{3,5,8,11}。しかし、血清学的な診断法により野外豚における *P. multocida* 感染の実態を調査した報告はみあたらない。

そこで、今回、IHA により野外豚の *P. multocida* の浸潤状況を調査した。

材料および方法

供試豚血清

1990年7月から10月までに、11県（青森、岩手、宮城、栃木、茨城、埼玉、千葉、神奈川、大分、宮崎、鹿児島）40養豚場を対象に、母豚402頭（26養豚場）および離乳から出荷前の肥育豚1,041頭（27養豚場）から採取した豚血清を供試した。

間接赤血球凝集反応用抗原

P. multocida 荚膜抗原の血清型参照菌株として、A型は*P. multocida* 94株およびD型は*P. multocida* 264株の2菌株を供試した。IHA反応用抗原の作製は以下の手順で実施した。これら菌株を各々DSA平板培地(Difco Laboratories)に塗抹し、37°C、18時間培養した。その後、1平板（直径9cm）につきリン酸緩衝食塩液(PBS, pH7.2)を2ml加え集菌し、121°Cで30分間加熱した後、4°Cで9,000rpm、30分間遠心して得られた上清を抗原とした。これら抗原は適宜希釈し、1%羊赤血球液を等量加え赤血球に吸着後、各供試菌株の家兎抗血清とのボックスタイトレーションにより最適抗原量を決定して供試した。

抗体価の測定

荚膜抗原の血清型A型およびD型抗体価をIHA反応により測定した。すなわち、各供試血清0.2mlにPBS(pH7.2)を1.8ml加え、非働化した後羊赤血球を各々0.2mlずつ加え、37°C、60分間吸収処理した。その後、3,000rpm、5分間遠心処理を行い、その上清を試

料とした。マイクロプレートを用い各試料の2倍段階希釈液0.05mlに抗原吸着赤血球液を等量加え、37°Cで3時間感作後にIHA抗体価を測定した。

成績

母豚および肥育豚の抗体陽性率

26養豚場由来の母豚402頭および27養豚場由来の肥育豚1,041頭から採取した血清中の*P. multocida* 抗体をIHAにより測定し、表1に示した。母豚および肥育豚における抗体陽性率はA型では各々84.4%および52.9%であり、D型では各々11.9%および10.8%であった。各血清型の抗体陽性率を母豚と肥育豚で χ^2 検定した結果、母豚のA型抗体陽性率は肥育豚のそれよりも有意に高かった($p < 0.01$)が、D型では母豚と肥育豚の間に有意な差は認められなかった。

IHA抗体価の分布をみたところ、A型では母豚で20倍が39.9%と最も多く、10倍、40倍はいずれも25%前後であった。また、80倍以上の抗体価を示した豚はいずれも数%であった。肥育豚においても母豚と同様に、10倍、20倍で各々40.7%、38.1%と高率で、80倍以上の抗体価を示した豚はいずれも著しく低率であった。いっぽう、D型についても母豚および肥育豚における抗体価の分布は前者とほぼ同様であり、10倍が高率で各々68.8%、73.2%であったが、80倍以上の抗体価を示した豚は全く認められなかった。母豚と肥育豚の間でA型、D型に対する抗体価の分布には統計的な差は認められなかった。

表1 母豚および肥育豚の血清中*P. multocida* 抗体陽性率と抗体価の分布

供試豚	頭数	A型抗体					D型抗体					
		陽性頭数(%)	10	20	40	80	≥160	陽性頭数(%)	10	20	40	80
母豚	402	341(84.8)	93 ¹⁾	136	84	19	9	48(11.9)	33	12	3	0
			27.3 ²⁾	39.9	24.6	5.6	2.6		68.8	25.0	6.2	0
肥育豚	1,041	551(52.9)	224	210	100	13	4	112(10.8)	82	25	5	0
			40.7	38.1	18.1	2.4	0.7		73.2	22.3	4.5	0

1) 各抗体価を示した頭数、2) 抗体陽性頭数に対する比率(%)

表2 県別にみた母豚および肥育豚の血清中*P. multocida* 抗体陽性率

県	母豚			肥育豚		
	頭数	A型陽性頭数(%)	D型陽性頭数(%)	頭数	A型陽性頭数(%)	D型陽性頭数(%)
青森				282	218(77.3)	42(14.9)
岩手	4	4(100)	1(25.0)	15	2(13.3)	0(0)
宮城	83	73(88.0)	0(0)			
栃木	15	14(93.3)	0(0)	100	63(36.0)	10(10.0)
茨城	49	39(79.6)	21(42.9)	30	13(43.3)	2(6.7)
埼玉	5	5(100)	0(0)			
千葉	159	137(86.2)	16(10.1)	330	133(40.3)	21(6.4)
神奈川	34	22(64.7)	3(8.8)	10	10(100)	1(10.0)
大分	7	7(100)	1(14.3)	32	17(53.1)	5(15.6)
宮崎	15	10(66.7)	0(0)	163	64(39.3)	17(10.4)
鹿児島	31	30(96.8)	6(19.4)	79	31(39.2)	14(17.7)

間接赤血球凝集反応による豚における *Pasteurella multocida* の浸潤調査

表3 養豚場別にみた母豚および肥育豚の血清中 *P. multocida* 抗体陽性率

養豚場	母 豚			肥 育 豚		
	頭数	A型陽性頭数(%)	D型陽性頭数(%)	頭数	A型陽性頭数(%)	D型陽性頭数(%)
A 1	30	30(100)	0(0)	45	21(46.7)	1(2.2)
A 2	29	28(96.6)	6(20.7)	59	25(42.4)	12(20.3)
A 3	29	25(86.2)	6(20.7)	45	12(26.7)	0(0)
A 4	29	23(79.3)	1(3.4)	97	39(40.2)	10(10.3)
A 5	25	22(88.0)	1(4.0)	45	15(33.3)	1(2.2)
A 6	16	16(100)	4(25.0)	45	23(51.1)	7(15.6)
A 7	15	15(100)	3(20.0)	43	15(34.9)	1(2.3)
A 8	15	14(93.3)	0(0)	79	48(60.8)	6(7.6)
A 9	7	7(100)	1(14.3)	28	13(46.4)	5(17.3)
A10	6	6(100)	0(0)	20	15(75.0)	2(10.0)
A11	5	0(0)	0(0)	138	45(32.6)	15(10.9)
A12	4	4(100)	1(25.0)	15	2(13.3)	0(0)
A13	2	2(100)	0(0)	3	0(0)	0(0)

B 1	25	21(84.0)	17(68.0)			
B 2	24	18(75.0)	4(16.7)			
B 3	23	14(60.9)	1(4.3)			
B 4	21	21(100)	0(0)			
B 5	20	20(100)	0(0)			
B 6	20	12(60.0)	0(0)			
B 7	15	6(40.0)	1(6.7)			
B 8	11	8(72.7)	2(18.2)			
B 9	10	10(100)	0(0)			
B10	10	9(90.0)	0(0)			
B11	5	5(100)	0(0)			
B12	4	4(100)	0(0)			
B13	2	1(50.0)	0(0)			

C 1				261	199(76.2)	40(15.3)
C 2				25	9(36.0)	2(8.0)
C 3				21	19(90.5)	2(9.5)
C 4				21	15(71.4)	4(19.0)
C 5				12	3(25.0)	2(16.7)
C 6				5	5(100)	1(20.0)
C 7				5	5(100)	0(0)
C 8				5	5(100)	0(0)
C 9				5	4(80.0)	0(0)
C10				5	3(60.0)	0(0)
C11				5	3(60.0)	1(20.0)
C12				4	4(100)	0(0)
C13				2	2(100)	0(0)
C14				3	2(66.7)	0(0)

県別にみた抗体陽性率

県別に調査した母豚および肥育豚における *P. multocida* の抗体陽性率を表2に示した。各県別の検体数に差があるために統計処理を行わなかったが、母豚についてはA型抗体は岩手、埼玉および大分では全例陽性であり、鹿児島などの5県でも79%以上の高値を示した。しかし、神奈川および宮崎では他の県の豚に比較して抗体陽性率は低い傾向にあった。D型に関してはA型と異なり、全体的に抗体陽性率が低く、宮城など4県では抗体陽性豚は全く認められなかった。肥育豚ではA型に関しては母豚と同様全ての県で抗体陽性豚がみられた

が、その陽性率は県により異なっていた。すなわち、神奈川が100%と最も高率で、逆に岩手では13.3%と低い値であった。D型では全ての県で18%以下と低率であり、岩手では抗体陽性豚は認められなかった。

養豚場別の抗体陽性率

母豚26養豚場および肥育豚27養豚場における *P. multocida* 抗体陽性率を表3に示した。母豚ではA型に対して24養豚場(92.3%)で50%以上の抗体陽性率を示し、それらのうちの12養豚場では全例抗体陽性であった。D型では大部分の養豚場で抗体陽性率は25%以下であり、半数の13養豚場では抗体陽性豚は認めら

表4 肥育豚の血清中 *P. multocida* 抗体陽性率と抗体価の分布

月 齢	頭 数	A 型 抗 体					D 型 抗 体					
		陽性頭数(%)	10	20	40	80	≥160	陽性頭数(%)	10	20	40	80
離乳以降 3カ月未満	386	57(14.8)	42 ¹⁾ 73.7 ²⁾	13 22.8	2 3.5	0 0	0 0	13(3.4)	11 84.6	1 7.7	1 7.7	0 0
3カ月以上 6カ月未満	495	367(74.1)	149 40.6	143 39.0	65 17.7	8 2.2	2 0.5	76(15.4)	53 69.7	19 25.0	4 5.3	0 0
6カ月以上 出 荷 前	160	127(79.4)	33 26.0	54 42.5	33 26.0	5 3.9	2 1.6	23(14.4)	18 78.3	5 21.7	0 0	0 0

1) 各抗体価を示した頭数, 2) 抗体陽性頭数に対する比率 (%)

れなかった。肥育豚では A 型に対して 50%以上の抗体陽性率を示した養豚場が 15 養豚場 (55.6%) と母豚のそれよりも低率であった。D 型では全ての養豚場が約 20%以下の抗体陽性率であり、10 養豚場では抗体陽性豚は認められなかった。

いっぽう、同一養豚場における母豚と肥育豚の抗体陽性率の関連性をみると、母豚の A 型抗体陽性率は 12 養豚場で約 80%以上を示したが、肥育豚では 0%から 75%と広い範囲にあった。いっぽう、D 型に関しては A 型に比較していずれの養豚場とも抗体陽性率が低かった。しかし、得られた成績でみる限り A 型、D 型ともに養豚場ごとの母豚と肥育豚における抗体陽性率には明らかな関連性は認められなかった。

肥育豚の月齢別の抗体

肥育豚を離乳から 3カ月齢未満、3カ月齢から 6カ月齢未満および 6カ月齢から出荷前の 3つに区分して *P. multocida* 抗体陽性率と IHA 抗体価の分布を表 4 に示した。A 型については加齢に伴い抗体陽性率が上昇する傾向を示した。いっぽう、D 型では A 型に比べ抗体陽性率は低かった。これら月齢別の抗体陽性率を χ^2 検定をした結果、A 型では 3カ月齢未満と 3カ月齢以上の群間に危険率 1%で有意差が認められた。D 型では 3カ月齢未満と 3カ月齢から 6カ月齢未満および 6カ月齢以上との間に各々危険率 1%および 5%で有意差が認められた。しかし、A 型、D 型ともに 3カ月齢から 6カ月齢未満と 6カ月齢以上の間には統計的な有意差は認められなかった。

IHA 抗体価についてみると、A 型に対して 6カ月齢未満では 10 倍、6カ月齢以上では 20 倍を示したものが最も高率であった。また、80 倍以上の抗体価を示した豚は 3カ月齢未満では認められず、加齢に伴い抗体価も上昇する傾向を示した。D 型ではいずれの月齢の豚でも 10 倍の抗体価を示した豚が最も高率であった。このような月齢ごとの抗体価の分布を χ^2 検定をした結果、抗体陽性率と同様に A 型および D 型ともに 3カ月齢未満と 3カ月齢から 6カ月齢未満および 6カ月齢以上の間には危険率 1%で有意差が認められたが、3カ月齢から 6

カ月齢未満と 6カ月齢以上との間には統計的な有意差はみられなかった。

考 察

P. multocida の莢膜および菌体抗原は血清学的に特異的であり、それらの組合せにより多くの血清型に分類されている。莢膜抗原は血清学的に A 型、B 型、D 型、E 型および F 型の 5 つに型別されており^{2,9)}、その同定には IHA 試験が用いられている。

わが国では、と場搬入豚の肺病変部より血清型 A 型の *P. multocida* が多く分離されたことが報告されている⁴⁾。また、野外豚から分離される *P. multocida* の血清型は肺由来では A 型が⁶⁾、さらに鼻腔由来では D 型が多いことが報告されている⁷⁾。今回母豚 402 頭および肥育豚 1,041 頭の野外豚血清について、*P. multocida* の莢膜抗原の血清型 A 型および D 型抗体価を IHA により測定した。その結果、母豚および肥育豚ともに D 型よりも A 型に対する抗体陽性率が高率であった。このような傾向は豚から *P. multocida* A 型菌が高率に分離されるという報告^{4,6)}と一致していた。したがって、今回の豚血清中 *P. multocida* 抗体の調査の結果からも、わが国においては D 型菌よりも A 型菌の方が広く浸潤していることが確認された。今回、A 型の抗体陽性豚の約 10%から、同時に D 型抗体が認められたが、このことは野外豚における *P. multocida* 感染において、単独の血清型菌による感染だけではなく、複数の血清型菌による混合感染の可能性を示唆しているものと推察される。

いっぽう、養豚場別に抗体陽性率をみると、A 型では全体的に高く、また陽性率にかなりの差がみられたが、D 型では全体的に低値を示した。このように養豚場により *P. multocida* 抗体の陽性率が異なる要因として、飼養形態の違い、衛生管理および飼養管理の失宜など¹⁾が考えられる。また、一般的に同一養豚場においては母豚から子豚 (肥育豚) へ感染が拡散する。しかし、今回、*P. multocida* の浸潤度において母豚と肥育豚との間に関連性がみられないという成績であった。これは供試した検体数が影響しているものと考えられるので、このこと

に関してはさらに検討する必要があるであろう。

さらに、肥育豚の月齢ごとの抗体陽性率をみると、A型およびD型とともに3カ月齢以上で急激に上昇する傾向がみられた。このような傾向は体重40~60kgの豚から高率に *P. multocida* が分離されるという成績¹³⁾を裏付けるものであろう。SAKPUARAMら¹⁰⁾は豚胸膜肺炎の原因菌である *Actinobacillus pleuropneumoniae* に対する血清中抗体価は加齢に伴い高くなることを報告しているが、今回の成績では *P. multocida* 抗体でも同様の傾向を示した。これらのことは *P. multocida* のみならず他の呼吸器感染症、すなわち豚流行性肺炎、豚萎縮性鼻炎および豚胸膜肺炎なども加齢に伴い、養豚場内において徐々に浸潤して行くことを示唆しているものと推察される。

引用文献

- 1) 東 量三：豚の呼吸器病，東 量三編，1~22，チクサン出版社，東京（1984）
- 2) CARTER G R： Am J Vet Res, 16, 481~484 (1955)
- 3) CARTER G R, RAPPAY D E： Brit Vet J, 118, 289~292 (1962)
- 4) IWAMATSU S, SAWADA T： Jpn J Vet Sci, 50, 1200~1206 (1988)
- 5) MUKKUR T K S： Am J Vet Res, 39, 1269~1273 (1978)
- 6) 満来辰也，天田順久，斎藤慶子ほか：家衛研会報，33, 5~9 (1991)
- 7) NAMIOKA S, MURATA M： Cornell Vet, 51, 507~521 (1961)
- 8) NAMIOKA S, MURATA M： Cornell Vet, 54, 520~534 (1964)
- 9) RIMLER R B, RHOADES K R： J Clin Microbiol, 25, 615~618 (1987)
- 10) SAKPUARAM T, 福安嗣昭，芦田浄美：第106回日獣学会講演要旨，252 (1988)
- 11) SAWADA T, RIMLER R B, RHOADES K R： J Clin Microbiol, 15, 752~756 (1982)
- 12) 沢田拓士：豚病学，熊谷哲夫ほか編，第三版，388~394，近代出版，東京（1987）
- 13) 殿村勝人，山中進吾：日獣会誌，27, 629 (1973)

KITASATO
動物用医薬品

豚Hpn2型ワクチン「北研」

要指示医薬品


豚Hpn2価ワクチン「北研」

要指示医薬品

豚Hpn2型CF抗原「北研」

豚Hpn5型CF抗原「北研」


発売元



第一製薬株式会社

東京都中央区日本橋三丁目4番10号

製造元



1914

社団法人 北里研究所

東京都港区白金五丁目9番1号