

## 12 種豚に発生した増殖性腸炎（急性型）

中央家畜保健衛生所

○畠中 優唯・平野 晃司・荒井 理恵

吉田 輝美・油井 武

### I はじめに

増殖性腸炎は *Lawsonia intracellularis* (Li) を原因とする伝染病で、主に豚や馬で発生する。豚では出血性下痢や突然死、貧血などが見られる急性型と、発育不良や慢性の下痢がみられる慢性型の2タイプに分けられる<sup>1~3)</sup>。前者は肥育期以降、後者は離乳後から肥育前期の若い豚での発生が多い。今回、肥育豚600頭・母豚60頭・種豚6頭を飼養する一貫経営養豚場において、平成24年6月に10か月齢の種豚が血便を呈して死亡する事例があり、増殖性腸炎（急性型）と診断されたので報告する。

### II 発生状況

平成24年3月に茨城県から導入した種豚(デュロック)1頭が、繁殖に供用し始めてから8日後の同年6月8日朝、血便を呈し1時間後に死亡した。死亡前日の食欲は普通であったが、当日の朝は若干食べ残していた。急死の原因究明のため、畜主より病性鑑定を依頼された。

### III 材料および方法

#### 1 材料

当該死亡豚1頭を、死亡当日に剖検し検査に供した。また、抗体検査のため、平成24年9月20日にステージ別(2か月齢、3か月齢、4か月齢、5か月齢および繁殖用雌豚)血清計25検体を採材した。

#### 2 剖検及び病理組織学的検査

死亡豚を剖検し、主要臓器等を採材した。各臓器は10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬後、定法に従い病理組織標本を作成し、一般染色としてヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を、特殊染色としてワーチン・スターリー染色およびグラム染色を行った。また、マウス抗Liモノクローナル抗体、ウサギ抗*Clostridium* sp. 抗体、ウサギ抗*Brachyspira hyodysenteriae* serotype-A 抗体を用いて免疫組織化学的検査を実施した。

### 3 細菌学的検査

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、心嚢水について、5%羊血液加寒天培地(CO<sub>2</sub>培養、48時間)および DHL 寒天培地(好気培養、24時間)を用いて、細菌分離を実施した。また、回腸内容を卵黄加カナマイシン含有 CW 寒天培地(嫌気培養、24時間)で、結腸粘膜を DHL 寒天培地(好気培養、24時間)および BJ 培地(嫌気培養、6日間)を用いて定量培養を行った。その他、回腸粘膜および結腸粘膜を材料に、豚増殖性腸炎、豚赤痢、結腸スピロヘータ症について、PCR 検査<sup>4, 5)</sup>を実施した。

### 4 ウイルス学的検査

扁桃の凍結切片を作成し、“京都微研”豚コレラ FA(微生物科学研究所)を用いた蛍光抗体法(以下、豚コレラ FA)により、豚コレラウイルス(以下、CSFV)抗原の検出を行った。

また、扁桃、肺、脾臓、腎臓、腸間膜リンパ節の10%乳剤および血清を接種材料とし、CPK-CS細胞、MARC細胞を用いてウイルス分離(2代7日間)を実施した。

その他、扁桃、肺、血清を材料とし、Christopher らの方法<sup>7)</sup>を用いて PRRS RT-PCR 検査を実施し、回腸内容を材料とし、Paton らの方法<sup>6)</sup>を用いて豚伝染性胃腸炎ウイルス(以下、TGE)RT-PCR 検査を実施した。

### 5 Li 抗体検査

当該農場における Li 浸潤状況を確認するため、スライド抗原を用いた間接蛍光抗体法による抗体検査をステージ別血清を用いて実施した。

## IV 成績

### 1 剖検及び病理組織学的検査

剖検では、空腸下部から直腸の管腔に血液充満が顕著に認められた。結腸および直腸粘膜には血餅が付着しており、結腸粘膜にはうっ血がみられた(図1)。HE染色像では、空腸下部から結腸にかけて出血および粘膜上皮の剥離・壊死が認められた。また粘膜固有層へのリンパ球および好中球の浸潤と、陰窩上皮の腺腫様過形成がみられた(図2)。ワーチン・スターリー染色で空腸下部から結腸にかけての陰窩上皮細胞質内に黒色菌体が確認された。特に空腸下部で菌体が多くみられた(図3)。回腸と結腸を用いた免疫組織化学的検査では、菌体と一致して陰窩上皮に Li 抗原が検出された(図4)。一方、*B. hyodysenteriae* および *Clostridium perfringens* 抗原は検出されなかった。



図1 結腸の血液充満および血餅付着

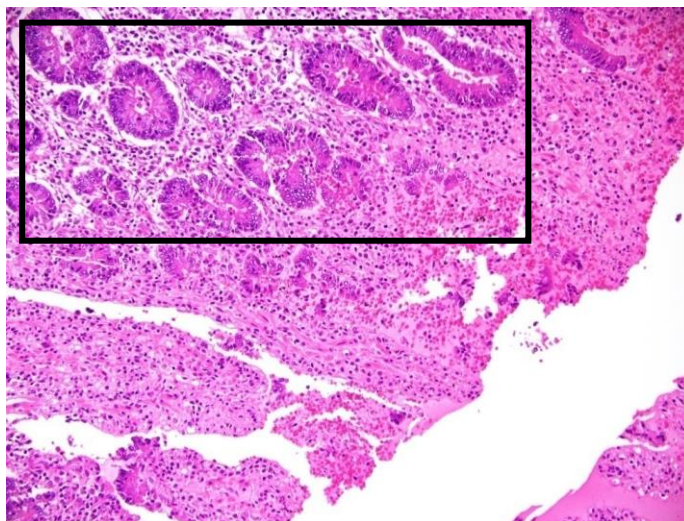


図2 回腸のHE染色像  
(四角で囲われた部分は陰窩上皮の腸腺腫様過形成)

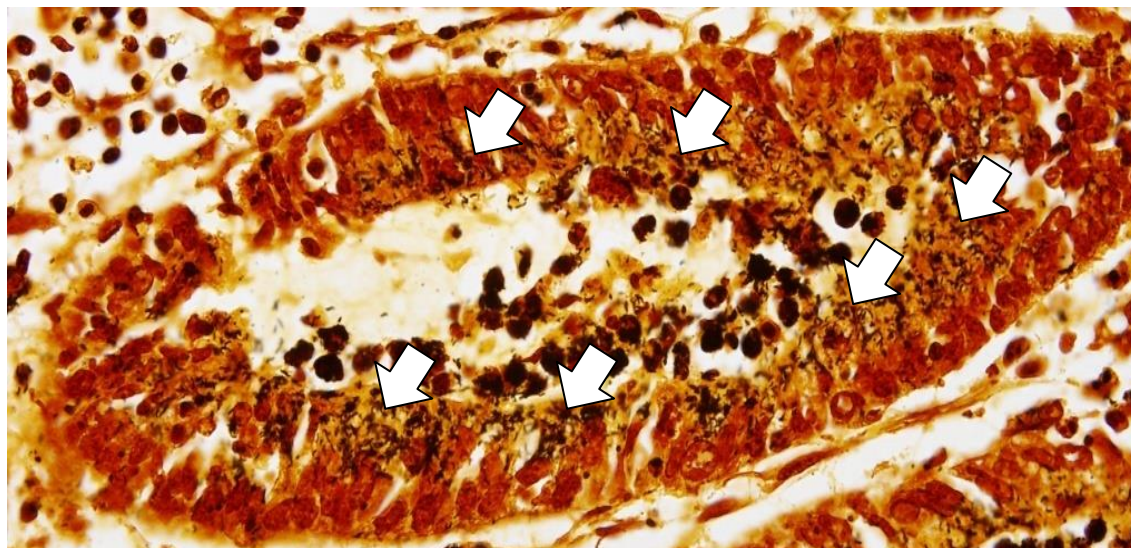
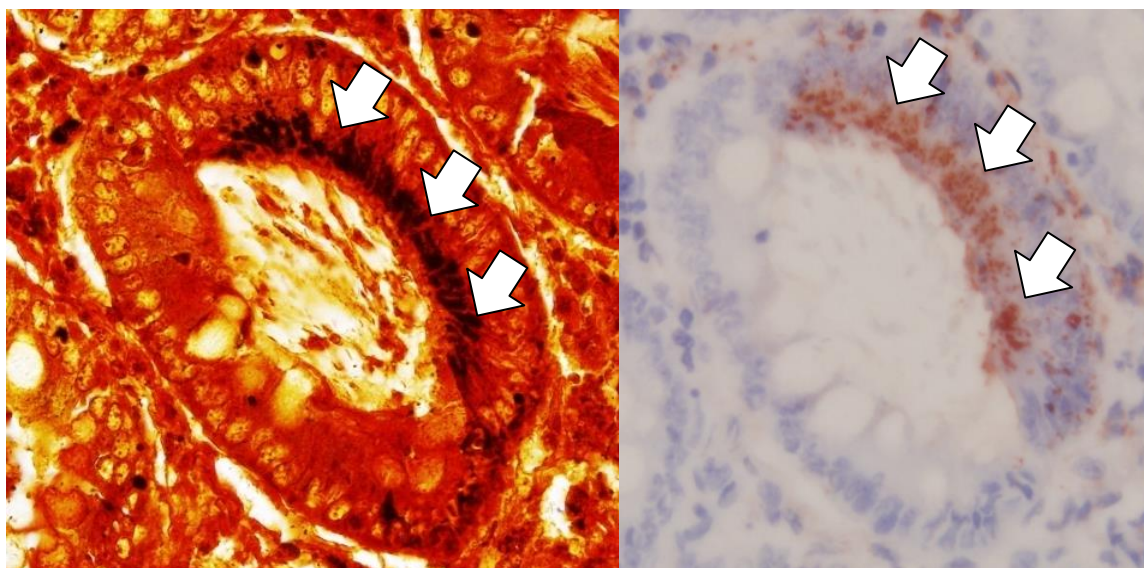


図3 空腸下部のワーチン・スターリー染色像(矢印は黒色に染まったコマ状菌体)



ワーチン・スターリー染色像

免疫組織化学的染色像

図 4 結腸のワーチン・スターリー染色像および免疫組織化学的染色像(抗 Li 抗体)  
(矢印は染色された菌体)

## 2 細菌学的検査

回腸および結腸粘膜を用いた PCR 検査において、Li 特異遺伝子が検出された。主要臓器および心嚢水から細菌は分離されなかった。また、結腸粘膜から *Salmonella* 属菌および *Brachyspira* 属菌は分離されなかった。

回腸内容から *C. perfringens* C 型が  $1.1 \times 10^7$  CFU/g 分離されたが、病理組織学的検査の結果を鑑み、有意でないと判断した。

## 3 ウイルス学的検査

扁桃から CSFV 抗原は検出されず、いずれの臓器からも有意なウイルスは分離されなかった。

RT-PCR 検査では、PRRS ウイルスの特異遺伝子が肺から検出されたが、病理組織学的検査において、PRRS を疑う肺病変は認められなかった。また、TGE の特異遺伝子については検出されなかった。

## 4 Li 抗体検査

農場全体の抗体陽性率は 80%(20/25 検体)であった。ステージ別の抗体陽性率は、2 か月齢では 20%(1/5 検体)であったのに対し、3 か月齢と 5 か月齢では 100%(5/5 検体)、繁殖豚では 100%(5/5 検体)であった。

## V まとめおよび考察

血便を呈し急死した種豚の病性鑑定を実施した結果、病理組織学的検査および細菌学的検査により増殖性腸炎と診断した。本症例は10か月齢であることや、消化管の重度出血を認めたことから、急性型に分類した。急性型の増殖性腸炎は、その剖検所見が豚赤痢、壊死性腸炎、サルモネラ症、伝染性胃腸炎や結腸スピロヘータ症と酷似しているため、これらの疾病との鑑別が必要である<sup>8~10)</sup>。しかし本症例ではすべて否定された。増殖性腸炎の原因菌であるLiは長期間感染力を保持するため、汚染糞便が長靴やねずみを介して運ばれると、農場全体に広まる可能性がある。したがって、豚舎ごとの踏み込み消毒槽の設置や、日ごろの衛生管理が感染予防に重要となる<sup>11)</sup>。

Liの浸潤率は世界的に極めて高く、日本でも農場の抗体陽性率はIFA法で95.8%<sup>12)</sup>、ELISA法で100%と報告されている<sup>13)</sup>。また、県内においても農場の抗体陽性は100%であった<sup>14)</sup>。本症例の発生農場における抗体調査では、2か月齢では抗体陽性率が低いのに対して3か月齢以降のステージではほぼ100%であった。したがって、移行抗体が消失し始める2か月齢前後に感染し、その後水平感染により農場内に蔓延していることが推察された。

当該農場ではその後急性型、慢性型ともに発生は認められておらず、被害は確認されていない。今後の対応としては、畜主と相談の上、新たに発症を認めた場合や豚を導入する際に状況に応じた対策をとることを考えている。

## VI 謝辞

免疫組織化学的検査にご協力いただいた動物衛生研究所、芝原友幸先生、また抗体検査の実施にあたりスライド抗原を分与いただいた、日清丸紅飼料の関係各位に深謝いたします。

## VII 参考文献

- 1) Steven McOrist, Jasni S, Mackie RA, MacIntyre N, Neef N, Lawson GH: Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiont intracellularis. *Infect Immun.*, 1993, 61(10):4286-4292
- 2) 能勢泰宏: 増殖性腸炎-豚の古くて新しい病気-, *臨床獣医*, 1997, 15(10):71-77
- 3) Vannucci FA, Pusterla N, Mapes SM, Gebhart C.: Evidence of host adaptation in *Lawsonia intracellularis* infection. *Vet. Res.*, 2012, 43, 53
- 4) Jones GF, Ward GE, Murtaugh MP, Lin G, Gebhart CJ.: Enhanced detection of intracellular

- organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont intracellularis, in feces by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol., 1993, 31(10):2611-2615
- 5) La T, Phillips ND, Hampson DJ. :Development of a duplex PCR assay for detection of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli* in pig feces. J. Clin. Microbiol., 2003, 41(7):3372-3375
- 6) Christopher-Hennings, J., Nelson, EA., et al. :Detection of Porcine and Respiratory Syndrome Virus in Boar Semen by PCR. J. Clin. Microbiol., 1995, 33(7):1730-1734
- 7) Paton, D., Ibata, G., Sands, J., McGoldrick, A. :Detection of transmissible gastro-enteritis virus by RT-PCR and differentiation from porcine respiratory coronavirus. J. Virol., 1997, 66:303-306
- 8) Brandt D, Kaim U, Baumgärtner W, Wendt M. : Evaluation of *Lawsonia intracellularis* infection in a group of pigs in a subclinically affected herd from weaning to slaughter. Vet. Microbiol., 2010, 146(3-4):361-365
- 9) 農林水産省消費・安全局:病性鑑定マニュアル, 全国家畜衛生委員会, 2008, 第三版, 267
- 10) 大宅辰夫ら:豚病学, 近代出版, 1999, 第四版:323-327
- 11) Collins A, Love RJ, Pozo J, et al. :Studies on the ex vivo survival of *Lawsonia intracellularis*. Swine Health Prod., 2000, 8(5):211-215.
- 12) 矢原芳博:特集豚増殖性腸炎、日本における浸潤状況, 臨床獣医, 2004, 22(1), 13-16
- 13) Kawashima K et al. :*Lawsonia intracellularis* in Japanese pig farms ; epidemiological survey results using a specific ELISA. Poster presentation of the 4th APVS congress, 2009
- 14) 吉田輝美ら:県内一養豚場で発生した豚増殖性腸炎と県内浸潤状況. 平成18年度埼玉県家畜保健衛生業績発表会発表抄録, 2006, 9