

豚マイコプラズマ性肺炎を正しく対策するために ～マイコプラズマ・ハイオニューモニエの検査方法と現場の課題～

PRDC Frontiers

監修 中日本 PRDC Frontiers 座長

日清丸紅飼料(株) 技術サポート部

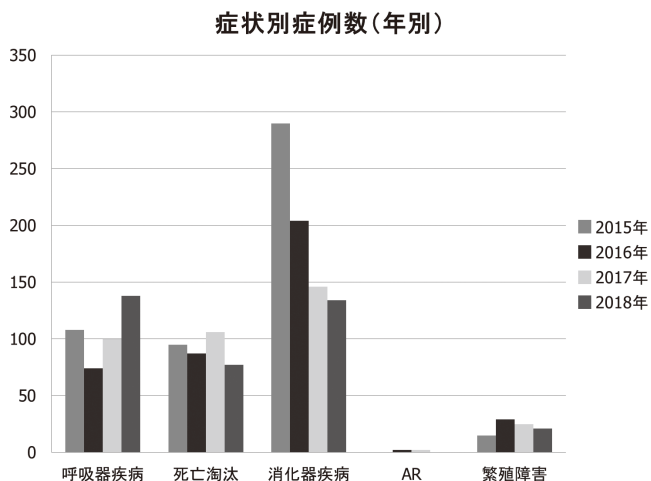
矢原芳博

前回はFrontiersがどのような理念の下で立ち上げられ、どのような議論を行ってきたのかの説明とともに、これまでの議論の成果である豚マイコプラズマ性肺炎の診断チャートを御紹介しました。今回は時計の針を少し戻して、議論のベースとなった以下の3点についてお話したいと思います。

- 1 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ（以下「マイコプラズマ」）の体内動態
- 2 各検査の意義、目的および実施方法
- 3 現場での課題

ちなみに、家畜の臨床検査ラボである日清丸紅飼料(株)総合研究所検査グループに2015～2018年にかけて送付された6682件の検査依頼のうち、病性鑑定等を目的として届いた1177検体を調査したところ、2013年以降猛威をふるっていた豚流行性下痢（PED）の発生農場が2018年までに減少してきたこと等に伴って消化器病の症例数が減少する一方、呼吸器病の症例数が増加していました（図1）。養豚場において呼吸器病は非常に必要な疾病であり、そのなかでも豚呼吸器病症候群（PRDC）の主要な要因である豚マ

図1 2015～2018年の症状別症例数



(日清丸紅飼料(株)総合研究所検査グループのデータより)

イコプラズマ性肺炎について、あらためて検討を行うことは非常に意義深いものと考えています。

マイコプラズマの体内動態

まず、Frontiersで豚マイコプラズマ性肺炎対策の検討を進めていくには、そもそもマイコプラズマとはどのような性質をもった病原体なのか、メンバーの理解をしっかりと整理して共通の認識をもつことがより深い議論を行ううえでの上台になると考えました。

マイコプラズマという病原体の性質を知ることは、きっと皆さんの農場で豚マイコプラズマ性肺炎対策を考える際にも役立つことでしょう。

①マイコプラズマの性状

マイコプラズマは気管や気管支を守る働きをもつ粘膜上皮細胞の線毛に付着してこれを破壊し、炎症性のサイトカインやリンパ球を過剰に誘導することで肺に炎症を起こします。マイコプラズマに感染した豚の肺は免疫がうまく働かなくなり、マイコプラズマ以外の病原体が増えやすい環境をもたらします。マイコプラズマに感染しているとPRRSの症状が増悪する⁽¹⁾ことから、マイコプラズマはPRDCの主因であり、スタートボタンを押す役割を担っていると言えます。

②マイコプラズマが探知されるまでのステップ

マイコプラズマに感染した豚の側も黙ってやられているわけではありません。マイコプラズマが付着しやすい粘膜上皮細胞の下には、樹状細胞という異物に対するアンテナの役割をする免疫細胞が存在し、粘膜上皮細胞にマイコプラズマがとりついて線毛が破壊されると、樹状細胞がこれを感知して細胞性免疫が働き始めます。細胞性免疫が作動すると、続いて液性免疫（抗体）が誘導されてマイコプラズマの排除に働きますが、マイコプラズマ対策でより重要とされて

いるのは細胞性免疫なのです⁽²⁾。このことは、のちほど説明する検査法の特徴にも深く関係してきます。

また、マイコプラズマが呼吸器病に対する最初の関門である気道の粘膜上皮細胞を破壊するという性質上、どうしても防御のための免疫反応が遅れてしまうという点も豚マイコプラズマ性肺炎対策を考える際に重要なポイントとなります(マイコプラズマの詳細については最新の知見を含めて次号Vol.3にて詳細を述べたいと思います)。

各検査の意義、目的および実施方法

マイコプラズマとはどのような病原体なのか少し見えてきたところで、次の問題は「どうやって感染豚を見つけるのか」ということとなります。その方法の1案をまとめ、お示ししたのが前回紹介したフローチャート(図2)ですが、ここでは、各検査方法の特徴と注意すべき点について確認していきましょう(表1)。

① エライザ法

エライザ法は血液のなかの抗マイコプラズマ抗体を調べることで、その豚がマイコプラズマに感染したか否かを調べる検査方法です。検査材料は血液ですので比較的簡単に(あくまで「比較的」ですが)検体を集めることができるため、多くの豚を対象にした検査に適しています。定期的に血液を採取して健康診断を行っているような農場では、他の疾病の検査と併せてマイコプラズマについて抗体検査を実施されていることが多いのではないかと思います。この抗体検査がエライザ法によるものです。

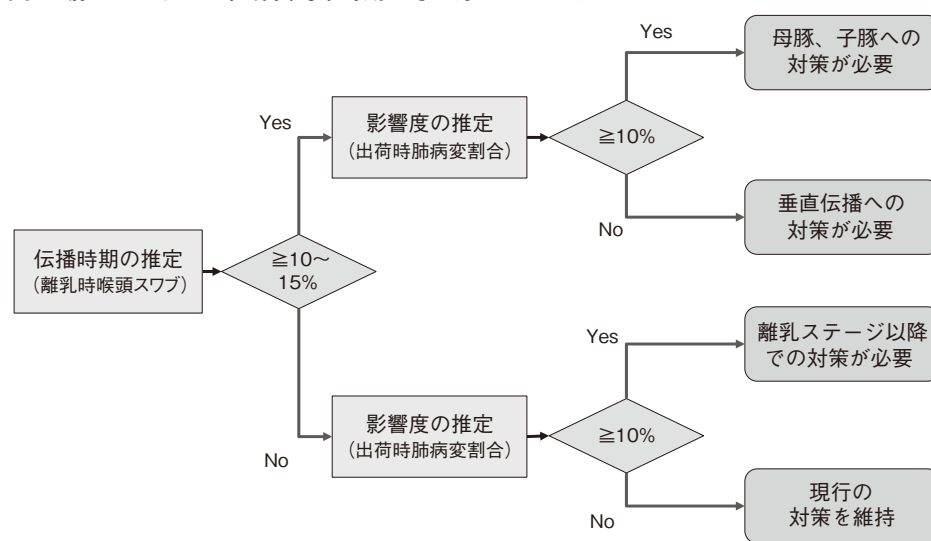
感染症の確認に幅広く活用されているエライザ法ですが、豚マイコプラズマ性肺炎対策として実施する場合には注意点があります。そ

れは、感染したあと抗体が陽転してくるまでに長期間かかること、また、感染の程度を推定することができないことです。

生まれた時点ではすべての子豚はマイコプラズマがない状態です。一般的に豚マイコプラズマ性肺炎は、①出生後母豚あるいは同居豚からマイコプラズマを受けとり、②マイコプラズマに感染し、③発症して、同居している豚への感染源になり、④場合によっては自らの子豚への感染源にもなり、⑤長い時間をかけて最終的に治癒する、という経過をたどると考えられます。しかし、エライザ法の結果のみから、農場の現状が、このなかのどのステージにあるのかを推定することは困難です。

エライザ法で分かることは、「過去にこの豚はマイコプラズマに感染したことがあるか」の1点です。従って、豚の年齢や健康状況、過去の検査の結果、他の疾病の検査結果などを踏まえて上手に結果を読み解く必要があります。

図2 豚マイコプラズマ性肺炎対策時期の考え方フローチャート



※フローチャートの説明
 離乳時喉頭スワブで10~15%以上だった場合(上図のYesに進んだ場合)において、出荷時肺病変割合が10%未満(Noに進む)であれば、「垂直伝播への対策」となり、離乳時喉頭スワブで10~15%未満だった場合(Noに進む)において、出荷時肺病変割合が10%以上だった場合(Yesに進む)は「離乳ステージ以降の対策」が必要となります。

表1 マイコプラズマ検査方法とその特徴

検査手法	検査の位置づけ	Mhp 顕在化	影響度の推定	伝播時期の推定	備考
ELISA	免疫応答(液性免疫)	◎	×	×	感染履歴の有無以外は検証困難
肺病変モニタリング	肺病変の程度	◎	◎	△	マイコプラズマの影響を推定できる
喉頭スワブ(PCR)	遺伝子検査	○~△	○	○	母豚からの垂直伝播を検証可能(検出感度に注意)

②と畜場での肺病変のモニタリング

次に肺病変のモニタリング、いわゆる「と畜場サーベイランス」です。具体的な判定法の1例や、一般的な留意点は前号で紹介しましたので、ここではその意義を他の検査法との比較で考えてみたいと思います。

まず、肺病変モニタリングの優れている点は、直接その目で出荷された豚の肺の状態を知ることができるという点です。当たり前だと思う方がいるかもしれませんが、他の検査法が血液中の抗体や遺伝子から病気の状況を知ろうとするのに対して、実際に肺を目の前にして病変を確認できることは大きなメリットとなります。犯罪の捜査に例えるなら、他の方法が間接的な証拠を集める作業であるのに対して、肺病変モニタリングは現行犯を逮捕しようとするものです。これにより、出荷時点でのマイコプラズマによる被害の状況を知ることができます。

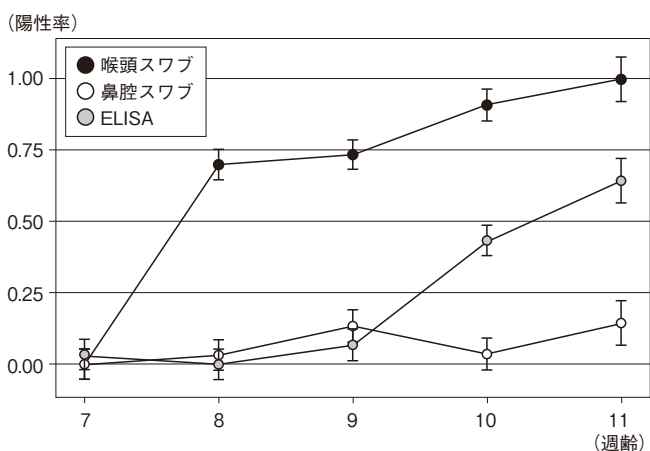
また、1度にモニタリングできる頭数が多い点もこの方法の優れた点だと考えます。少々手間はかかりますが、数十頭の豚の肺を一気に直接評価することで、出荷豚の群としての被害が見えてきます。

一方で、この方法の弱点はあくまで出荷時点の肺の病変を見ているという点です。本当は離乳前後にマイコプラズマに感染していてその後の増体に大きな影響があったとしても、そのせいで出荷日齢が大きいうしろ倒しになっていたとしても、出荷時に既に病変が治癒していれば「病変なし」、「きれいだね」ということとなります。

図3 各種検査手法と検出時期

・ 4週齢までに自然感染 ⇒ 7週齢から5週間モニタリング

咳	0%	5%	20%	25%	30%
口腔液	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性



Deegan et al., AASV Annual Meeting (2017)

- ・ 喉頭スワブPCRは、鼻腔スワブPCR、ELISAよりも検出率が高い
- ・ ELISAの検出時期は、喉頭スワブの検出時期より遅れる

また、豚インフルエンザなどの肉眼病変が類似している疾病は判別が難しいため、確定診断には病理検査が必要であることは前号での説明のとおりです。

③喉頭スワブを使用したPCR法

豚がマイコプラズマに感染したあと、抗体が上昇するには約6週間程度の時間を要するとされていますが、それに先立って、喉頭(こうとう)スワブからの遺伝子検出が可能で(図3)。また、離乳時の喉頭スワブの陽性率からその後の肥育での病気の程度およびリスク、即ちマイコプラズマが関与する程度を予測できるという報告⁽³⁾もあります。早期の判定が可能であり、その後の被害の推定に活用できることがこのPCR法の長所と考えられます。

一方デメリットは、採材の手技のレベルにより陽性率が変化するなど、その感度は決して高いとは言えないことと、そもそも採材方法が広く浸透していないことではないでしょうか。そこで、本稿では喉頭スワブの採材方法をできる限り具体的に説明してみたいと思います。

【必要な器具】

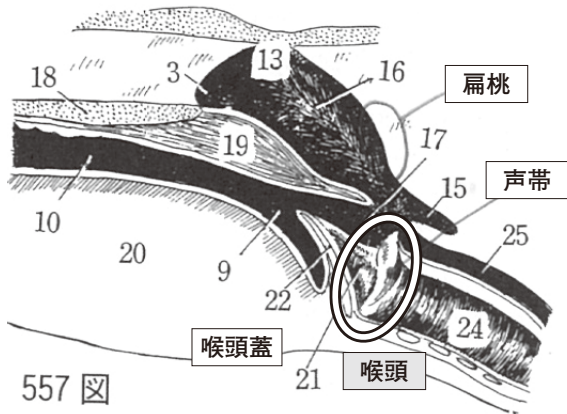
まずは喉頭スワブの採材にあたり必要な器具をリストアップしてみました(表2)。基本的に市販のもので対応が可能ですし、表のなかにもあるとおり、離乳子豚であれば作業の手を使って子豚の口を開かせることが可能なので、開口器は必ずしも必要ありません。喉頭スワブ採材用の綿棒については、ナイロンスワブ等、採材する部位が固いもの

表2 喉頭スワブの採材に必要なとなる器具の1例

器具	用途	製品例、器具選定時のポイント
綿棒	喉頭スワブ採材用	ナイロンスワブ等、採材部位が硬いものが好ましい
培地	採材場所から検査機関までの輸送用	生食、PBS等でも代用可
開口器	子豚の開口用	豚のサイズに合わせ、必要に応じて準備 離乳時程度のサイズであれば、素手で開口可能
ライト	子豚口腔内の照明用	ヘッドライト等、手に持たずに照らせるものが好ましい
ニッパー	綿棒の柄の切断用	市販のもので差し支えない
ゴム手袋	採材時に使用	市販のもので差し支えない
培養液	採材したサンプルを入れる	他の畜種用のもの(市販)が利用可能

M. Pieters et al., Veterinary Microbiology 203 (2017) 103-109を基に一部改変

図4 喉頭スワブの採材部位



豚の喉頭の位置
(家畜比較解剖図説新編第3版)



(参考) 犬の喉頭

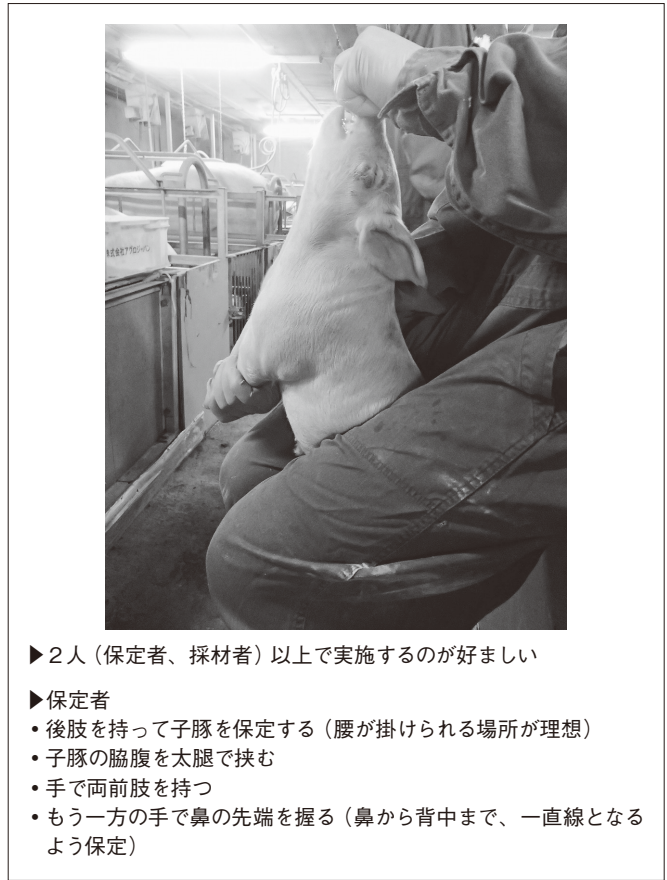
ほうが採材しやすいです。また、培養液については他の畜種用として市販されているマイコプラズマ用液体培地が利用可能です。一部の資材はCOVID-19の影響で入手困難という情報もありますので、実施される際は早めの準備をお勧めします。

【採材部位と採材方法】

次に、採材部位(図4)と採材方法について、以下に説明します。

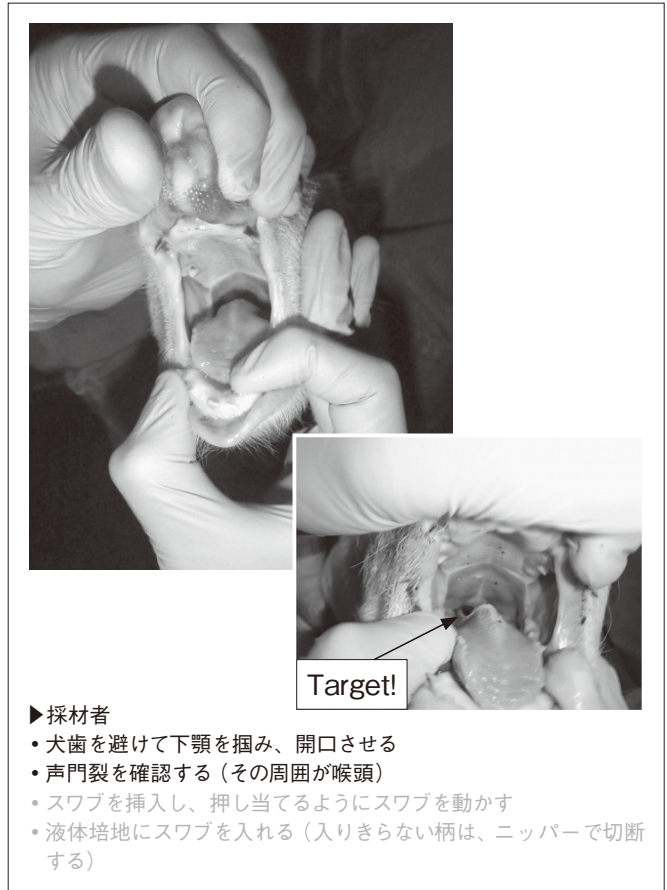
- 1) まず、保定者が椅子に腰かけた体制で、保定者側を背中にして上を向かせた状態の離乳子豚を両足で挟み固定します。次に、前肢を片手(利き手ではないほう)で固定し、残りの手で鼻の先端をもって口を開かせます。背骨から鼻の先までが真直ぐに上を向くイメージで保定してください(図5)
- 2) 上記1)で保定された豚の口のなかをヘッドランプ等で照らして覗き込むと、採材部位となる喉頭が声門裂の両側に確認できます。一度目視しておくで挿入する綿棒の長さのおおよそが推定でき、採材もスムーズになります(図6)
- 3) 極力他の部位に触れないように注意しながらスワブを挿入し、喉頭に押し当てます。喉頭表面の粘膜を軽く擦り取るようなイメージです(図7)
- 4) 採材したスワブをあらかじめ用意した液体培地中に入れ、

図5 喉頭スワブの採材方法(1)



- ▶ 2人(保定者、採材者)以上で実施するのが好ましい
- ▶ 保定者
 - 後肢を持って子豚を保定する(腰が掛けられる場所が理想)
 - 子豚の脇腹を太腿で挟む
 - 手で両前肢を持つ
 - もう一方の手で鼻の先端を握る(鼻から背中まで、一直線となるよう保定)

図6 喉頭スワブの採材方法(2)



- ▶ 採材者
 - 犬歯を避けて下顎を掴み、開口させる
 - 声門裂を確認する(その周囲が喉頭)
 - スワブを挿入し、押し当てるようにスワブを動かす
 - 液体培地にスワブを入れる(入りきらない柄は、ニッパーで切断する)

図7 喉頭スワブの採材方法 (3)



▶採材者

- 犬歯を避けて下顎を掴み、開口させる
- 声門裂を確認する（その周囲が喉頭）
- スワブを挿入し、押し当てるようにスワブを動かす
- 液体培地にスワブを入れる（入りきらない柄は、ニッパーで切断する）

余計な柄の部分はニッパーなどで落として蓋をします。あとは通常のPCR法の要領でこの検体を検査するだけです



多少の準備は必要ですが、離乳豚であればそれほど苦労せずに採材が可能です。農場のマイコプラズマ浸潤状態を知り、適切なPRDC対策に繋げることは多くの農場にとって生産性の向上に直結する取組と考えますので、皆さんもぜひ一度、試してみたいはいかがでしょうか。

現場での課題

豚マイコプラズマ性肺炎がPRDCの主要な要因であることに議論の余地はなく、多くのメーカーからワクチンが発売されており投与率も高い状況であることは皆さんの共通認識だと考えています。また、抗体検査や遺伝子検査の方法そのものは既に確立されており、定期的に、あるいは豚の様子を見ながらこれらの試験を実施している方も多いのではないのでしょうか。

こうした状況にありながら、農場でとられた対策がどのように効果を発揮しているのかを的確にモニタリングすることは容易ではありません。複数の手法を用いて、総合的に判断することが必要になりますが、そうした判断の1つの基準としてFrontiersの検討結果が活かされ、さらに洗練されていくことを期待しています。

今回は、もう少し詳しくマイコプラズマを眺めつつ、最近分かってきたことも含めて今後の問題・課題についてお話してみたいと思います。

参考文献

- 1) Thacker, et al., *Mycoplasma hyopneumoniae* potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia. J of Clinical Microbiol. 1999. 37:620-627.
- 2) Tajima, et al., *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs immunosuppressed by thymectomy and treatment with antithymocyte serum. Am. J of Vet Res. 1984. 45: 1928-1932.
- 3) Fano, et al., Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* colonization at weaning on disease severity in growing pigs. Can J of Vet Res. 2007. 71:195-200.

※本稿はゾエティス・ジャパン(株)の協力により掲載いたします。