

81 萎縮性鼻炎〔届〕

担当	検査チャート
家畜保健衛生所	
病性鑑定施設	<p>(4) 細菌培養試験</p> <p><分離培養></p> <p>(5) 細菌性状分析</p> <p><i>P. multocida</i> <i>B. bronchiseptica</i></p> <p>(6) 毒素産生能試験</p> <p>(+) (-) (+) (-)</p>
判定・結果	<p>(+)</p> <p>(-)</p> <p>(+)</p> <p>(-)</p>
最終判定	細菌培養試験、細菌性状分析、毒素産生能試験の結果を基に、臨床検査、剖検等の結果により判断する。
その他	

→類似疾病検査

- ① 100 豚マイコプラズマ肺炎 ② 99 豚パスツレラ症 ③ 84 豚インフルエンザ

○ 病原体: *Bordetella bronchiseptica*、毒素産生性 *Pasteurella multocida*

(1) 疫学調査

- ① 子豚および母豚のワクチン接種の有無
② 増体率の減少、飼料効率の悪化、発育遅延をみる。

(2) 臨床検査

- ① くしゃみの頻発、鼻汁、流涙、アイパッチ
② 顔の変形、鼻曲がり、狎面、鼻出血
③ 歯の不正咬合

(3) 剖 検

- ① 腹鼻甲介、背鼻甲介の萎縮または消失、骨組織の吸収と骨組織形成不全による鼻甲介の萎縮、消失、骨変化が鼻中隔および顔面骨に拡大することがある。
② 鼻甲介粘膜の急性あるいは慢性のカタル性炎
③ 鼻腔粘膜の水腫性肥厚、粘稠性帯黄色滲出物、出血

(4) 細菌培養試験(分離培養)

鼻腔スワブはリン酸緩衝食塩液等に浸漬して輸送し(4~8℃)、24時間以内に培養する。

血液寒天によく発育し、37℃で24時間(*P. multocida*)あるいは48時間(*B. bronchiseptica*)の培養により集落を形成する。分離には選択培地(後記)の使用が推奨されるが、個体および飼育環境により保有する細菌叢が大きく異なるため、いずれの培地も汎用性が高いとはいえない。

- ① *B. bronchiseptica* は、隆起した真珠様、円形小集落を形成する(2~3ヵ月齢までのもので検出率が高く、以後低下する。)
② *P. multocida* は、湿潤で光沢のある灰白色半透明の集落を形成する。特有の甘い臭気を放つ。溶血性はない。

(5) 細菌性状分析

分離菌の性状

- ① *B. bronchiseptica* は、血液加 Bordet-Gengou 培地でβ溶血環、グラム染色(-)、短桿菌、ブドウ糖(-)、硝酸塩還元(+)、ウレアーゼ(+)、シモンズクエン酸塩(+)、オキシダーゼ(+)、カタラーゼ(+)、6.5%食塩下での発育(+)
② *P. multocida* は、グラム染色(-)、両端染色性を示す多形性の桿菌、運動性(-)、カタラーゼ(+)、オキシダーゼ(+)、ウレアーゼ(-)、ブドウ糖(+、発酵型)、インドール(+)、MacConkey 寒天培地に発育しない。

(6) 毒素産生能試験

(毒素産生性 *P. multocida*)

超音波処理菌液の遠心上清をモルモット皮内に接種する。48時間以内に直径10mm以上の出血壊死斑を形成するものを陽性とする。

in vitro においても EBL 細胞あるいは Vero 細胞に CPE を導く。マイクロタイター・プレートに調製された単層細胞培養を用いて、ろ過滅菌後の培養(ブレイン・ハート・インフュージョン・ブロス、37℃、24時間)上清中の毒素を検出する。

その他:

(選択培地)

B. bronchiseptica の選択培地

- ・1%ブドウ糖、20μg/mlのフラタルドンを含むマッコンキー寒天
- ・変法 Smith-Baskerville 培地(20μg/mlのペニシリン、20μg/mlのフラタルドン、0.5μg/mlのゲンタマイシンを含むペプトン寒天)
- ・40μg/mlのセファレキシンを含む血液寒天

P. multocida の選択培地

- ・変法 Knight 培地(5μg/mlのクリンダマイシン、0.75μg/mlのゲンタマイシンを含む牛血液寒天)

- KPMD (3.75 U/ml のバシトラシン、5 µg/ml のクリンダマイシン、0.75 µg/ml のゲンタマイシン、2.25 µg/ml のアンフォテリシン B を含む牛血液寒天)

B. bronchiseptica および *P. multocida* を同時に分離するための選択培地

- 5 µg/ml の塩酸クリンダマイシン、0.75 µg/ml の硫酸ゲンタマイシン、2.5 µg/ml の亜テルル酸カリウム、5 µg/ml のアンフォテリシン B、15 µg/ml のバシトラシンを含む血液寒天(亜テルル酸カリウムは D 型 *P. multocida* の発育を抑制することがある。)

(抗体検査)

現在のところ、毒素産生性 *P. multocida* に感染・発病している動物を摘出するための信頼できる血清学的試験はない。毒素産生株は非産生株と多くの抗原を共有しているため、抗 *P. multocida* 抗体検出は有用ではない。*B. bronchiseptica* 感染はホルマリン処理菌体を用いた凝集試験により血清学的に検出され得る。本菌は外見上健康な多くの豚群に存在するため、陰性群の状況をモニタリングする目的以外には、ほとんど価値はない。

(PCR)

集落形態と細菌性状分析は毒素産生性 *P. multocida* および *B. bronchiseptica* 同定の基本である。しかしながら、豚由来毒素産生性 *P. multocida* あるいは *B. bronchiseptica* 検出のための PCR^{1), 2), 3)} を用いた試験は、より迅速・特異的で高感度な診断ツールとしての有用性が期待される。

また、*P. multocida* 莢膜型別では、マルチプレックス PCR アッセイ⁴⁾ により信頼性の高い結果が得られている。

(参考文献)

- 1) Kamp, E.M., et al.: J. Vet. Diagn. Invest. 8, 304-309 (1996).
- 2) Lichtensteiger, C.A., et al.: J. Clin. Microbiol. 34, 3035-3039 (1996).
- 3) Nagai, S., et al.: J. Clin. Microbiol. 32, 1004-1010 (1994).
- 4) Townsend, K.M., et al.: J. Clin. Microbiol. 39, 924-929 (2001).