

100 豚マイコプラズマ病

| 担当 | 検査チャート |
|---------|--|
| 家畜保健衛生所 | |
| 病性鑑定施設 | |
| 判定・結果 | <p>(+) (-) (+) (-)</p> |
| 最終判定 | <p>疫学状況、細菌培養試験、PCR、病理組織検査の結果を併せて総合的に判断する。</p> |
| その他 | <ol style="list-style-type: none"> 1. 分離マイコプラズマの血清型別が必要な場合は、動物衛生研究所等の専門機関に依頼する。 2. 材料送付方法:分離菌を送付する場合は、以下のいずれかの方法で行う。 <ul style="list-style-type: none"> ・十分に発育した液体培養菌を保冷剤と共に冷凍で送付 ・1.8mlの液体培地に0.2ml接種し、培養しないでそのまま室温で送付 ・寒天培地でコロニーを十分に発育させたものを4℃で送付 |

→類似疾病検査

- ① 102 ヘモフィルス・パライス感染症(グレーサー病)
- ② 96 豚胸膜肺炎
- ③ 99 豚パスツレラ症
- ④ 84 豚インフルエンザ
- ⑤ 豚肺虫症
- ⑥ 豚パラインフルエンザ
- ⑦ 79 豚繁殖・呼吸障害症候群(PRRS)
- ⑧ 76 オーエスキー病
- ⑨ 101 豚レンサ球菌症
- ⑩ 82 豚丹毒

○ 病原体: *Mycoplasma hyopneumoniae*、*M. hyorhinitis*、*M. hyosynoviae*

(1) 疫学調査

- ① 密飼、換気不良(特に夏期のアンモニア濃度の上昇)の養豚場で群単位に発生
- ② 季節に関係なく発生し、慢性経過をとる。死亡率は低い。
- ③ 増体率、飼料効率の悪化、発育遅延をみる。

(2) 臨床検査

- ① 早発性関節炎(PA)および多発性漿膜炎(PS): *M. hyorhinitis* によって起こる。PAは生後1週齢前後、PSは1~2ヵ月齢前後にみられる。死亡率は低い。通常3ヵ月齢以降ではみられない。
- ② マイコプラズマ肺炎
M. hyopneumoniae によって起こる。臨床所見に乏しいが3ヵ月齢頃から乾性の発咳をみることもある。大半はと畜検査で発見される。死亡率は低い(1%程度)。離乳直後の若齢豚では *M. hyorhinitis* による肺炎もみられる。
- ③ マイコプラズマ関節炎
M. hyosynoviae によって起こる。3ヵ月齢以上の豚にみられる。

(3) 剖 検

- ① 肺の前葉、中葉前縁部にみられる左右対称性の肝変化、肺近傍リンパ節の腫脹、充血(マイコプラズマ肺炎)
- ② 多発性漿膜炎では腹・胸腔臓器の漿膜の肥厚、漿液と線維素の析出
- ③ 関節炎は透明で粘性の強い関節液が関節腔に貯留

(4) P C R

豚マイコプラズマ病を起こす3種のマイコプラズマ *M. hyopneumoniae*¹⁾、*M. hyorhinitis* および *M. hyosynoviae*²⁾ をそれぞれ特異的に検出するPCRが開発されている。

(5) 細菌培養試験(分離培養)

- ① *M. hyopneumoniae*: 肺病変部乳剤を BHL 液体培地を用いて分離培養する。37℃で14日間まで培養し、色調変化を生じた場合、さらに BHL 液体培地に数代継代培養を行い BHL 寒天培地に接種する。色調変化がない場合も2~3代は盲継代すること。
- ② *M. hyorhinitis* および *M. hyosynoviae*: 肺乳剤、腹水、関節液材料について5%ムチン添加 PPLO 寒天培地に接種し、37℃、5%CO₂条件下で5日間まで培養する。

(6) 病理組織検査(マイコプラズマ肺炎)

- ① 気管支粘膜上皮、ときに肺胞上皮細胞の過形成、気道腔内の漿液と炎症細胞の貯留
- ② 気管支周囲および血管周囲組織のリンパ球浸潤とリンパ濾胞の過形成
- ③ 慢性例では気管支周囲リンパ球浸潤は顕著となりリンパ結節を含む。
- ④ 混合感染により気道内の化膿性炎症は顕著となる。
- ⑤ *M. hyorhinitis* によっても肺炎は起こるが軽度

(7) 免疫組織化学検査

M. hyopneumoniae および *M. hyorhinitis* について、免疫組織化学検査が利用でき、病変部にマイコプラズマ抗原を検出する。

その他:

(分離培地)

① ムチン PPLO 培地

(基礎培地)

| | |
|-------------------------------|--------|
| PPLO broth w/o CV (Difco) | 21 g |
| Mucin bacteriological (Difco) | 5 g |
| 蒸留水 | 815 ml |

(添加物)

| | |
|---------------------|--------|
| 馬血清 (0.45µmろ過滅菌済み) | 150 ml |
| 25% (w/w) 新鮮イーストエキス | 25 ml |
| 2.5% 酢酸タリウム液 | 10 ml |
| ペニシリンGカリウム | 100万単位 |

- 1) 基礎培地の作製順として、2L の三角コルベンに PPLO 培地を 815 ml の蒸留水で溶解させてから 5 g のムチンを加える。よく攪拌して (30 分以上) ムチンのダマが完全に消失したら沸騰水中で 30 分間加熱する。冷却後 9,000 g 以上で遠心し上清を集め NA900 フィルターをセットしたザイツ型ろ過器でろ過をする。大量に作製する場合 (2L 以上) は NA900 フィルターろ過の前に NA500 フィルターで前ろ過を行うと効率的である。
- 2) 115°C 15 分間オートクレーブ滅菌し、冷却後、添加物を無菌的に加える。通常 pH は 7.6 前後となるので pH 調整は不要。冷蔵庫で 3ヵ月まで保存可能。寒天培地の場合は基礎培地に Agar Noble (Difco) を 12g 加えてオートクレーブする。

② BHL 培地

(基礎培地)

| | |
|------------------------|--------|
| Brucella broth (Difco) | 5.8 g |
| ラクトアルブミン水解物 (ナカライ) | 20 g |
| 塩類ストック液 * | 50 ml |
| 蒸留水 | 700 ml |

(添加物)

| | |
|-----------------------|--------|
| 馬血清 (0.45µmろ過滅菌済み) | 100 ml |
| 豚血清 (0.45µmろ過滅菌済み) | 100 ml |
| 25% (w/w) 新鮮イーストエキス | 50 ml |
| アンピシリンナトリウム (1 mg/ml) | 10 ml |

- 1) 基礎培地を作製後、115°C 15 分間オートクレーブ滅菌し、冷却後、添加物を無菌的に加える。
- 2) 5% 炭酸ナトリウム液で pH 7.6 ~ 7.8 に修正する。
- 3) 寒天培地の場合は基礎培地に Agar Noble (Difco) を 10g 加えてオートクレーブする。

* 塩類ストック液: NaCl 80.0g、KCl 4.0g、Na₂HPO₄ · 12H₂O 1.2g、KH₂PO₄ 0.6g、グルコース 20.0g、0.4% フェノールレッド液 50ml を蒸留水に溶かし、全量を 1,000ml とする。115°C 15分間オートクレーブ滅菌し冷蔵庫で保存する。10 年以上保存可能

豚マイコプラズマと適合培地

| | | | |
|-------------------------|---------|-------------|--------|
| マイコプラズマ培地 マイコプラズマ菌種 | PPLO 培地 | ムチン PPLO 培地 | BHL 培地 |
| <i>M. hyopneumoniae</i> | × | × | ◎ |
| <i>M. hyorhinis</i> | ○ | ◎ | ○ |
| <i>M. hyosynoviae</i> | △ | ◎ | △ |

◎: 発育に適する

○: 分離株は発育するが初代分離には不適

△: 培地に馴化した分離株は発育する

×: 発育しない

PPLO 培地は牛肺疫の項を参照。

(血清型別)

分離マイコプラズマ株について各菌種リファレンス株から作製した抗血清を用いた代謝阻止試験で同定する。

分離マイコプラズマの血清学的性状検査が必要な場合は動物衛生研究所等の専門機関に依頼する。

(参考文献)

・Thacker, E.L. & Minion, F.C. In: Diseases of Swine (Zimmerman, J.J., et al. eds.), 10th ed. 779-797, Wiley-Blackwell, Iowa (2012).

1) Caron, J., et al.: J. Clin. Microbiol. 38, 1390-1396 (2000).

2) Kobayashi, H., et al.: J. Vet. Med. Sci. 58, 109-113 (1996).