

豚エンテロウイルス性脳脊髄炎の発生事例

姫路家畜保健衛生所 病性鑑定課 名部 美琴

【はじめに】

豚エンテロウイルス性脳脊髄炎は後躯麻痺や四肢麻痺を特徴とする伝染性神経疾患である。原因となる病原体は、豚テシオウイルス (PTV)、豚サペロウイルス (PSV)、豚エンテロウイルス B (PEV-B) である。これらのウイルスは国内外の多くの農場に分布し、ほとんどの豚に感染していると考えられており、発症豚や不顕性感染豚の糞便を介して伝播する。本病は届出伝染病に指定されており、診断には、1) 神経症状、2) 中枢神経系の非化膿性炎像、3) 中枢神経系からのウイルス分離、これら3点がそろうことが必要であるが、確定診断に至らない症例も多く、国内での発生報告は少ない。

今回、管内の農場で子豚が神経症状を呈した症例で国内4例目となる本病の確定診断に至ったので報告する。

【農場の概要】

繁殖豚300頭規模の一貫経営農場で、子豚は21日齢で離乳、78日齢から肥育豚舎へ移動させていた。母豚にはAR、豚丹毒、豚インフルエンザ、PRRS、パルボ、日本脳炎ウイルスのワクチン、子豚には、マイコプラズマ、豚胸膜肺炎、豚サーコウイルス2型 (PCV2) のワクチンを接種していた。

【病性鑑定】

平成26年2月、離乳豚舎で起立不能や死亡が増加した。起立不能の豚の中には回復する個体もあったが、多くは死亡に至った。

抗生物質により治療していたが、効果が見られず事故率が3%を超えたため3月3日、病性鑑定依頼があり、3月19日までの間に起立不能豚3頭 (35~42日齢)、死亡豚3頭 (30~58日齢) の病理解剖を実施した。

発症豚は起立不能、後躯麻痺を呈していた (図1)。主要臓器、神経系に肉眼的な所見は無かつ

たが、大腸粘膜に写真のように白斑が散在している個体が6頭中3頭で見られた。



図1 剖検所見

【材料と方法】

(1) ウイルス検査

神経系、扁桃を材料としてPTV、PSV、PEV-B、PCV2、PRRS、豚コレラ、オーエスキー病の遺伝子検査を実施した。さらに、CPK細胞を用いてウイルス分離を行った (図2)。

さらに、分離株についてPTVのVP1遺伝子領域のPCR、シーケンスを実施し、標準株との比較により遺伝学的に血清型を分類した。

ウイルス学的検査

(1) 遺伝子検査

材料: 大脳、小脳、脳幹、脊髄 (頸部、胸部、腰部)、扁桃
項目: PTV、PSV、PEV-B、PRRS、PCV2、CSFV、ADV

(2) ウイルス分離

材料: 大脳、小脳、脳幹、脊髄 (頸部、胸部、腰部)、扁桃
方法: 10%乳剤の遠心上清をCPK細胞に接種
12穴シャーレにて7日間37°C静置培養、5代まで盲継代

GPEが確認された培養上清はPTV、PSV、PEV-BのPCRを行い、シーケンスで塩基配列を決定後標準株との同源性解析を実施

分離株は、VP1遺伝子領域のPCRとシーケンスを実施 (La Rosa, 2006)、遺伝学的に血清型を分類

図2 ウイルス検査

(2) 細菌検査

細菌検査は一般細菌の分離と、小腸内容物の定量培養とあわせて毒素検査等を実施した(図3)。

(3) 病理検査

病理検査は神経系、主要臓器についてHE染色を、発症豚1頭、死亡豚1頭について豚丹毒、PRRS、PCV2の免疫染色を動物衛生研究所に依頼して行った(図3)。

細菌学的検査

(1) 菌分離
主要臓器、大脳、小脳を定法により培養

(2) 定量培養
豚No.1~5の小腸内容物をDHL、血液寒天培地を用いて培養

病理学的検査

(1) HE染色
材料: 大脳、小脳、脳幹、脊髄(頸部、胸部、腰部)、扁桃、主要臓器

(2) 免疫染色 * 動物衛生研究所に依頼
材料: 発症豚1頭、死亡豚1頭の肝、腎、大脳、脊髄
項目: 豚丹毒、PRRS、PCV2

図3 細菌検査・病理検査

【結果】

(1) ウイルス検査成績

発症豚、死亡豚ともに小脳や脳幹部、脊髄でPTV又はPEV-B遺伝子が陽性であった。PSV、PRRS等他のウイルスは全検体陰性であった。発症豚1、2、死亡豚4、5の脊髄、小脳について、3~5代目でCPEがみられ、PCRでPTV遺伝子を確認した(表1)。PEV-B遺伝子は検出されず、分離陰性と判定した。

表1 ウイルス分離成績(PTV)

◆ 3~5代目でCPEを確認し、PCRでPTV遺伝子を検出

	発症豚			死亡豚		
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6
大脳	-	NT	NT	+	+	-
小脳	-	-	-	(小脳2プール)	(小脳2プール)	-
脳幹部	-	-	-	NT	NT	NT
脊髄・頸部	+	+	-	-	-	-
脊髄・胸部	-	+	-	NT	NT	-
脊髄・腰部	-	+	-	NT	NT	-
扁桃	NT	+	+	+	+	-

PEV-Bは分離陰性

分離ウイルス4株とPTV各血清型の標準株との同源性解析では、各標準株と95.7~99.3%と高い一致率であり、PTVと同定した。遺伝学的に血清型分類するために行ったVP1領域の遺伝子解析を実施したところ、PTV-1~11までの標準株との同源性は46.6~81.4%であったが、PTV-4標準株・既知株とは86.2~88.0%と他の血清型よりも高い一致率を示したことから、分離株はPTV-4に分類されると判定した(図4)。

◆ 分離ウイルス4株とPTV標準株との同源性解析(5'-UTR領域)

分離ウイルス(No.1、2、4、5 由来株)

↑ 95.7~99.3%の同源性

PTV標準株

PTV-1(Talfan)、PTV-2(T80)、PTV-3(O2b)、PTV-4(PS36)、PTV-5(F26)
PTV-6(PS37)、PTV-7(F43)、PTV-8(UKG/173/74)、PTV-9(Vir-2899/84)
PTV-10(Vir 461/88)、PTV-11(Dresden)

◆ 分離ウイルスの遺伝学的血清型分類(VP1領域)

分離ウイルス(No.2由来株)

↑

PTV標準株(PTV-1~3、5~11) 46.6~81.4%の同源性

PTV-4標準株・既知4株 86.2~88.0%の同源性

分離株はPTV-4で他の血清型よりも高い一致率

図4 PTV分離株の遺伝子解析

(2) 細菌検査成績

Streptococcus suis (*S. suis*) が死亡豚2頭の脳、心臓、肺から少数分離された。また、小腸内容物に大腸菌群数の多い個体が散見されたが、毒素検査、定着因子は検出されなかったことから浮腫病は否定した(図5)。剖検で肉眼的にみられた大腸の白斑は病理組織学的に軽度の腸炎像であること、消化管内の大腸菌群数の増加を認めたことから腸炎を併発した個体もあったと考えられた。

◆ *Streptococcus suis* (*S. suis*) 死亡豚2頭(No.4、5)の脳、心臓、肺

◆ 定量培養(大腸菌群数)、毒素遺伝子検査、定着因子の検査

	大腸菌群数 (cfu/g)	毒素検査 PCR	定着因子 PCR
No.1	1x10 ⁷	-	-
No.2	1x10 ⁶	-	-
No.3	5x10 ⁷	-	-
No.4	1x10 ⁴	-	-
No.5	1x10 ⁷	-	-

⇒ 浮腫病を否定

大腸菌群数の増加(発症豚 3/3頭、死亡豚 1/2頭)
+
剖検所見 大腸白斑(病理所見 軽度の腸炎像)

図5 細菌検査成績

(3) 病理検査成績

ウイルス分離成績と一致してNo. 1、2、4、5の個体で非化膿性脳脊髄炎がみとめられた(図6)。また、死亡豚4、5の小脳においてはごく軽度の化膿性炎がみられた。しかし豚連鎖球菌症に特徴的な化膿性髄膜炎はいずれの個体にもみられなかった。

豚丹毒、PRRS、PCV2の免疫染色はすべて陰性であり、これらの関与はないと考えた。

	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6
中枢神経系 非化膿性炎	+	+	-	+	+	-
化膿性炎	+(軽度)	-	-	+(軽度)	+(軽度)	-
免疫染色 (PRRS/PCV2/ 豚丹毒)	-	NT	NT	NT	NT	-

非化膿性炎(グリア結節) 非化膿性炎(単核細胞集積)

図6 病理検査成績

【考察】

発症豚2頭(No. 1、2)は臨床的に神経症状を示し、中枢神経系に非化膿性炎をみとめ、PTVが分離されたことから、豚エンテロウイルス性脳脊髄炎と診断した。死亡豚2頭(No. 4、5)は死後発見のため神経症状を確認できず、確定診断には至らなかった。

今回分離された株は、緩やかな病態を示す豚から分離報告のあるPTV-4に分類された。今回の非化膿性炎の組織像はいずれも軽度で、死亡には他の要因も関与していたと思われる。死亡豚2頭から*S. suis*が分離され、PTV以外に*S. suis*の関与も示唆されたが、豚レンサ球菌症に特徴的な化膿性髄膜炎は無く、飼料添加抗生物質により軽度な化膿性炎に抑えられたと推察した(図7)。

- 発症豚2頭は神経症状を示し、神経系に非化膿性炎を認めPTVが分離された
 - ➡ 豚エンテロウイルス性脳脊髄炎と診断
- 死亡豚2頭は死後発見のため神経症状を確認できず、確定診断に至らなかった
- 今回分離された株は緩やかな病態を示す豚から分離報告のあるPTV-4に分類された
- 非化膿性炎の組織像は軽度であり、死亡には他の要因も関与していたと思われる
- 死亡豚2頭から*S. suis*が分離され、PTV以外に*S. suis*の関与も示唆されたが、豚レンサ球菌症に特徴的な化膿性髄膜炎は無く、飼料添加抗生物質により軽度な化膿性炎に抑えられたと推察

図7 考察

【まとめ】

当該農場では2月上旬から症状を示す豚がみられ、発症日齢、後躯麻痺などの特徴的の症状、検査成績から本病の可能性が高いと考えた。ウイルス分離による確定診断までは時間を要するが、本病が日和見感染の性質を持つことから、飼養密度、環境温度、換気、消毒方法を見直すよう指導した。本農場では12月から排水設備に問題があり、水洗と消毒の回数を減らしていることが判明したため空豚房ごとに水洗・消毒を徹底するよう指導したところ、3月下旬から豚房ごとに症状を示す豚は無くなった(図8)。

本病の原因ウイルスは多くの農場に分布し、どの農場で発生してもおかしくない疾病であるが、衛生管理の徹底により本病の発生を予防することが可能と思われた。

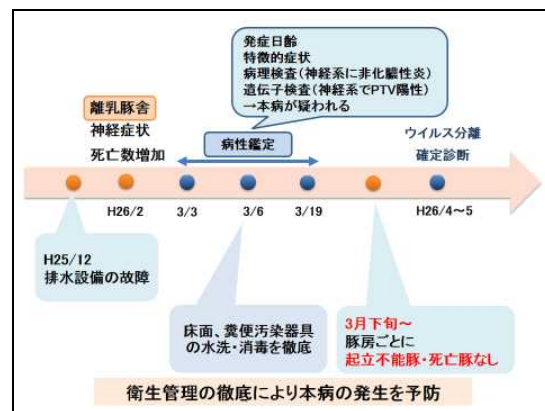


図8 まとめ