

浮腫病・豚大腸菌症履歴農場での大腸菌病原因子及び薬剤耐性調査

県央家畜保健衛生所

齋藤 匡人 横澤 ころろ
池田 知美 亀井 勝浩
荒木 尚登 和泉屋 公一

はじめに

浮腫病は志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*、以下STE C) に属する大腸菌が引き起こす浮腫や神経症状、急死を主徴とする疾病で、主に離乳後の子豚に好発する。浮腫病を引き起こすSTE Cは小腸への定着に關与する定着因子F18及びF4並びに症状に關与する毒素因子Stx2eを病原因子として保有しており、保菌母豚糞便中や環境中に含まれるSTE Cの経口摂取により子豚が保菌すると考えられている¹⁾²⁾。昨年、当所管内の複数の農場で浮腫病を疑う病性鑑定事例が散発的に発生し、病性鑑定豚からはStx2e陽性のSTE Cが分離された。分離したSTE Cについて、農場使用薬剤を中心に薬剤感受性試験を実施したところ、全ての分離株が複数の薬剤に耐性を持つ多剤耐性菌であり、ほとんどの農場使用薬剤に耐性を示す株も認められた。そこで、浮腫病が発生していない平時において健康母豚由来大腸菌の病原因子保有状況及び薬剤耐性状況を調査したので、その概要を報告する。

材料と方法

当所管内で過去に浮腫病や大腸菌症の關与が疑われた病性鑑定事例のある6農家を調査対象とした(表1)。分娩前後の臨床的に健康な繁殖母豚5頭から排泄直

後の落下糞便又は直腸スワブを採材し、DHL寒天培地で塗抹培養後、赤色変化を示した大腸菌を疑うコロニーを5個釣菌し、羊血液寒天培地とX-MG寒天培地に接種した。培養後、X-MG寒天培地上で青色コロニーを形成したものの中から、羊血液寒天培地上で溶血性が有れば該当コロニーを、

表1 対象農家

農家	形態	母豚	毒素*	定着因子*
A	一貫	151	ST2, LT1	-
B	一貫	64	VT	-
C	一貫	551	ST2, VT	F4
D	一貫	81	Stx2e	F18
E	一貫	40	Stx2e	F18
F	一貫	135	ST1	-

*過去病性鑑定時に検出

無い場合は任意のコロニーを選択し、A p i R a p i D20Eを用いて大腸菌と同定した。得られた大腸菌はT S A培地で純培養後、ミューラーヒントン寒天培地を用いて表 2 に記載した 13 薬剤について一濃度ディスク法により薬剤感受性試験を実施した。また、農家毎の母豚 5 頭分の純培養大腸菌株をプールして病原因子 S t x 2 e、F 18 及び F 4 について P C R 法により遺伝子検索を実施した。

表 2 薬剤感受性試験実施薬剤

分類	薬剤名	略称	分類	薬剤名	略称
ペニシリン系	アンピシリン	ABPC	サルファ剤/ ピリミジン系	スルファメトキサゾール・ トリメプリム合材	ST
	アモキシシリン	AMPC			
セフェム系	セフォタキシム	CTX	キノロン系	ナリジクス酸	NA
アミノグリコシド系	カナマイシン	KM	フルオロキノ ロン系	エンロフロキサシン	ERFX
	ストレプトマイシン	SM		オルビフロキサシン	OBFX
	ゲンタマイシン	GM		ノルフロキサシン	NFLX
テトラサイクリン系	オキシテトラサイクリン	OTC	ペプチド系	コリスチン	CL

成 績

6 農家 30 頭の母豚から分離した大腸菌のうち計 35 株の大腸菌を選択し、病原因子検索及び薬剤感受性試験に供した。各農家母豚 5 頭分の純培養大腸菌株をプールして S t x 2 e、F 18 及び F 4 に

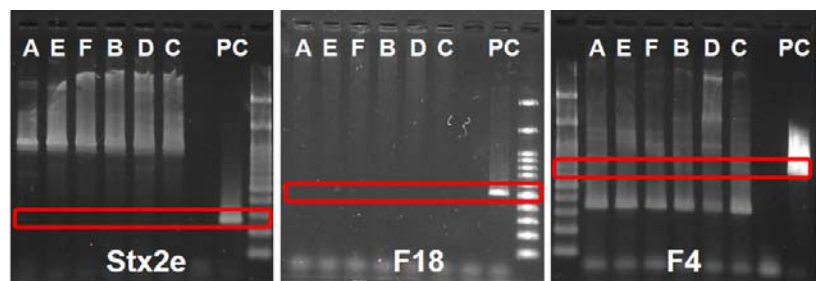


図 1 S t x 2 e、F 18、F 4 遺伝子検索結果

ついて P C R を実施したところ、全ての検体で S t x 2 e、F 18 及び F 4 遺伝子は検出されなかった (図 1)。

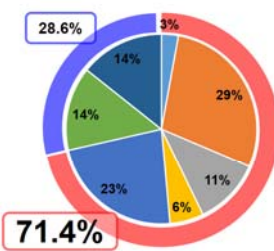
薬剤感受性試験結果について、35 株全ての薬剤耐性パターンは、全ての薬剤に感受性の株が 5 株 (14.3%)、一つの薬剤にのみ耐性が認められる単剤耐性株が 5 株 (14.3%) であったのに対し、2 剤以上の薬剤に耐性を持つ多剤耐性菌は 25 株と全体の約 71.4% を占めた。最も多い耐性パターンは 5 剤耐性で 10 株 29%、最も多くの薬剤に耐性を持っていた株は 7 剤耐性株であった。全体の平均薬剤耐性数は 2.9 剤であったが、農家毎の平均薬剤耐性数は 4.6 剤から 1.3 剤と差が認められた (図 2)。

薬剤毎の耐性率は、耐性率が高い薬剤から順にSM74%、OTC57%、ST合剤49%、ABPC40%、AMPC40%であった。特にSMでは耐性及び中間と判定された株を合わせると100%となり、感受性と判定された株は認められなかった。また、耐性率は低いが、二次選択薬であるCTXやOBFXに耐性を持つ株も認められた。

ABPC、CTX、KM、SM、GM、OTC、CL、ST及びNA(図3において枠で囲った薬剤)について、我が国の家畜衛生分野における薬剤耐性モニタリング体制(以下、JVARM)での平成27年度家畜由来細菌(大腸菌)の抗菌性物質感受性実態調査結果³⁾と比較した。JVARMの調査ではST合剤の調査を実施していないため、トリメトプリムに対する耐性率を参考とした。ほとんどの薬剤でJVARMにおける調査結果と類似した耐性傾向であったが、SM及びST剤ではJVARMにおける耐性率のおよそ2倍と高い耐性率であった(図3)。

■薬剤耐性パターン

耐性数	株数
耐性なし	5
単剤耐性	5
2剤耐性	8
3剤耐性	2
4剤耐性	4
5剤耐性	10
7剤耐性	1



■平均薬剤耐性数

全農家	A農家	B農家	C農家	D農家	E農家	F農家
2.9剤	4.6剤	1.3剤	3.8剤	3.2剤	2.2剤	1.6剤

図2 薬剤耐性パターンと平均薬剤耐性数

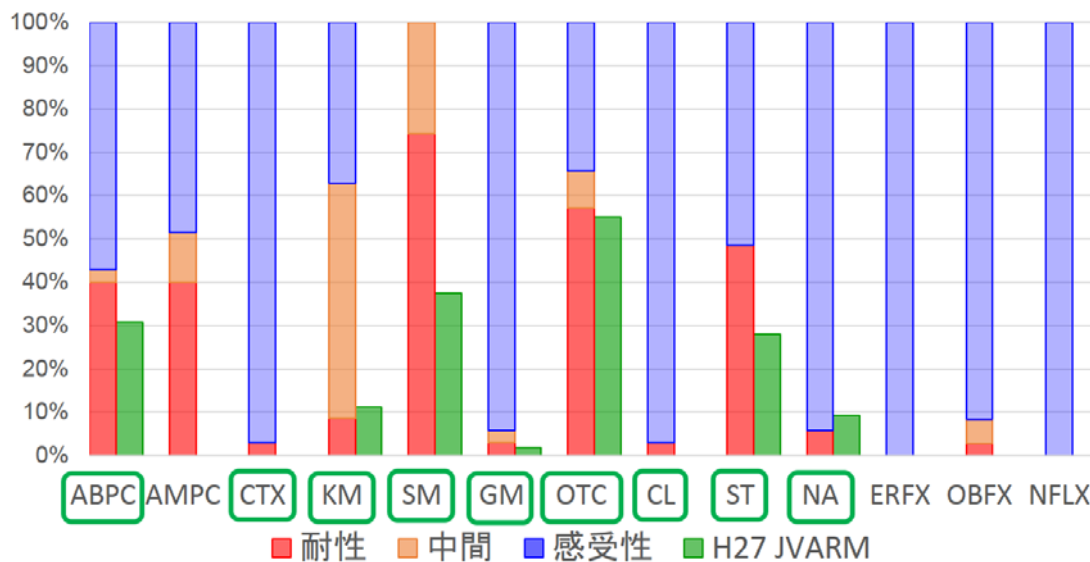


図3 薬剤別耐性率とJVARM調査との比較

農家毎に各薬剤の薬剤耐性率と使用薬剤の関係を表3に示した。飼料添加している薬剤に着目すると、A農家では使用している4薬剤全てで耐性率が50%を上回った。B農家では5薬剤中1薬剤で、C農家では4薬剤中3薬剤で、D農家では1薬剤中1薬剤で、E農家では5薬剤中2薬剤で、F農家

では2薬剤中1薬剤で耐性率が50%を上回り、全体では延べ21薬剤中12薬剤(57.1%)で耐性率が50%を上回った。一方、治療薬としてのみ使用している薬剤に着目すると、耐性率が50%を上回ったのは、全体で延べ13薬剤中2薬剤(15.3%)だけであった。また、二次選択薬であるCTXやOBFXに耐性株が認められた農家では、CTXと同じ第三世代セフェム系抗菌剤であるセフトオフルや、OBFXと同じフルオロキノロン系抗菌剤であるERFXを治療薬として使用していた。

表3 農家毎の薬剤別耐性率(%)と使用薬剤の比較

薬剤	A農家	B農家	C農家	D農家	E農家	F農家
ABPC	88*	14*	40*	40***	20*(40)	20
AMPC	88*	14*(42.9)	40*(60)	40***	20*(40)	20
CTX	0**	0	0	0	0	20**
KM	25(75)	0(85.7)	0(20)	20	0(100)	0(60)
SM	100	57(100)	100	80(100)	60(100)	40(100)
GM	0	0	0	20	0(20)	0
OTC	63(100)	29	40	80	80	60
CL	0	0	0	20	0	0
ST	100	14	100	20	40	0
NA	0	0	40	0	0	0
ERFX	0	0	0	0	0	0
OBFX	0(12.5)	0	20(40)	0	0	0
NFLX	0	0	0	0	0	0

太字
…
飼料添加している薬剤
治療に使用している薬剤

*:農場ではペニシリンを飼料添加

**：農場では同世代のセフトオフルを使用

***:農場ではペニシリンを使用

()内は中間もしくは耐性となり感受性と判定されなかった割合

考 察

今回の調査では、母豚から分離した大腸菌から病原因子は検出されず、STECは分離されなかった。健康母豚からのSTEC検出に関する報告は多くはないが、浮腫病発生農場における母豚糞便からの浮腫病病原因子検出に関する報告によると、浮腫病発症期の母豚糞便117頭でのStx2e保有率が47%であるのに対し、浮腫病終息後の母豚糞便106頭ではStx2eは検出されなかった⁴⁾とのことであり、平時ではたとえSTECを保菌していたとしても、STECを分離することは容易ではないと考えられる。また、薬剤感受性を調査するために、本調査では母豚1頭あたり1株もしくは2株の大腸菌についてのみPCR法による病原因子検索を実施したが、STECを保菌す

る母豚のスクリーニングだけを目的とするのであれば、既報に順じてPCR法に供するコロニー数を増やす、浮腫病発生時期に母豚の調査を実施する等の工夫が必要と思われる。

また、平成29年に病性鑑定を実施した2農家において、病豚由来STECと本調査で分離した中で最も耐性薬剤数が多い株を比較したところ、感受性の異なる薬剤は認められるものの、薬剤耐性パターンに大きな差は認められなかった(表4)。このことから、平時から、農場の薬剤感受性状況を把握しておくことは、使用薬剤の有効性を判断する上で有用と考えられる。

使用薬剤と薬剤感受性の関係につ

表4 病豚由来株と健康豚由来株の薬剤感受性比較

いては、今回の結果からも、全体的に飼料添加している薬剤では薬剤耐性率が高くなる傾向で、治療薬としてのみ使用している薬剤では感受性となる傾向が認められた

農家		PC	ABPC	SM	GM	OTC	CL	ERFX
D	病性鑑定豚由来株	R	-	I	S	R	R	S
	健康母豚由来株(*)	-	R	R	R	R	S	S
E	病性鑑定豚由来株	R	R	R	-	R	R	S
	健康母豚由来株(*)	-	R	R	S	R	S	S

(*)分離された株の中で最も耐性数の多い株を記載

ことから、病畜発生時等に使用する治療薬より、一定期間飼料添加して使用する薬剤の方が耐性菌の選択圧は強くなると推察された。浮腫病や大腸菌症を引き起こす病原性大腸菌は、非病原性大腸菌よりも多剤耐性傾向を示すため、非病原性大腸菌の薬剤耐性を放置すると、疾病発生時に抗菌性物質による治療の選択肢を狭めることにつながる恐れがある。耐性率が高い薬剤については、添加の有無や添加期間、異なる薬剤の使用等を検討し薬剤感受性の回復を図る必要があるが、新たな薬剤耐性菌が生じないような薬剤の慎重使用、更には薬剤の使用を必要最低限とするための飼養衛生管理の徹底は疾病をコントロールする上で必要不可欠である。平成28年4月の薬剤耐性対策アクションプラン策定以降、畜産分野における薬剤耐性対策の重要性が声高に叫ばれている情勢を鑑み、人医療分野への影響が生じないよう、また、なにより家畜への抗菌剤の有効性を確保するためにも、本調査結果を生かし、家畜保健衛生所として必要な衛生指導を行っていくことで薬剤耐性対策に取り組んでいきたい。

引用文献

- 1) 小林秀樹：All About Swine、28、16-22 (2006)
- 2) 末吉益雄：豚病会報、48、7-13 (2006)
- 3) 動物医薬品検査所ホームページ：平成27年度の調査結果の概要について (2016)
- 4) 鈴木幹一郎：日本獣医師会学会関係情報、68、716-717