

13 多剤耐性大腸菌が分離された浮腫病を疑う豚疾病の発生とその衛生対策

熊谷家畜保健衛生所

○齊藤 史門・御村 宗人

I はじめに

近年、抗菌剤が効かない薬剤耐性菌は、WHO で国際行動計画が採択されるなど、国際的に大きな問題となっている¹⁾。我が国においても、伊勢志摩サミットに合わせ、薬剤耐性対策アクションプランを策定するなど、人と家畜を含めた動物等の分野横断的な取り組みが推進されている¹⁾。

今回、管内 1 養豚農家において、平成 28 年 7 月から 8 月にかけて浮腫病を疑う豚疾病による肥育豚の死亡が発生し、かつ多剤耐性化が進んだ病原性大腸菌が分離された事例に遭遇したので、概要を報告する。なお、当該農場では、平成 26 年 5 月において浮腫病と診断された肥育豚の死亡事例が発生しており、その発生事例概要も合わせて報告する。

II 発生概要

1 農家概要

当該農場は繁殖豚 30 頭、50 日齢までの子豚が

40 頭、約 2 ヶ月齢以降の肥育豚 200 頭を飼養する一貫経営の養豚農家で、年に 3~4 回繁殖豚を導入している。

従業者は畜主 1 名、畜舎はストール繁殖豚舎、肥育豚舎が 2 棟、道路を挟み分娩豚舎および子豚ハウスの計 5 棟である。

ワクチンは、繁殖豚でオーエスキー病、豚呼吸・繁殖傷害症候群、日本脳炎を接種しており、肥育豚には 50 日齢で全頭マイコプラズマワクチンを接種している（図 1）。

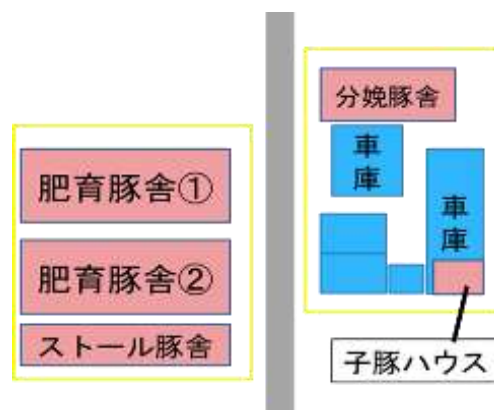


図 1 当該農場見取り図

2 平成 26 年度発生事例概要

5 月 19 日から約 4 か月齢の肥育豚で急死が散発し、5 月 27 日に死亡した肥育豚 1 頭について病性鑑定を実施した。

(1) 剖検所見

外貌は眼瞼浮腫が認められ、肺では暗赤色を呈し、全葉にわたり水腫がみられた。空腸及び回腸では腸間膜リンパ節にも水腫性腫大がみられた。

(2) 病理組織学的所見

消化管、鼠径リンパ節及び腸間膜リンパ節において、浮腫病に特徴的な小血管壁の膨化・壊死及び血管壁の破綻が認められた(図2、3)。

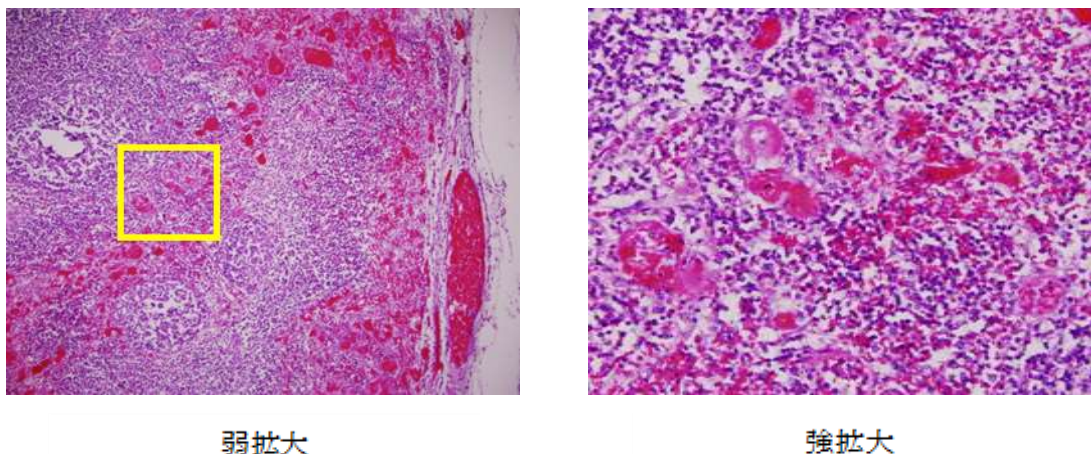
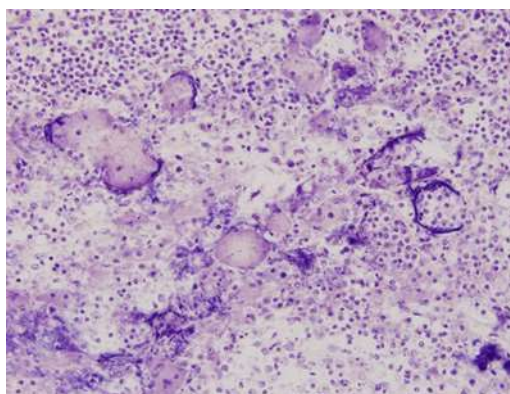


図2 腸間膜リンパ節で認められた小血管壁の膨化・壊死及び血管壁の破綻



強拡大・PATH 染色

図3 腸間膜リンパ節で認められた小血管壁のフィブリノイド変性

(3) 細菌学的検査成績

細菌分離では有意な菌は分離されなかったが、小腸内容定量培養において溶血性を示す大腸菌の有意な増数が認められ(表4)、病原因子検査より、分離された大腸菌は定着因子としてF18因子、毒素因子として志賀毒素2e型を保有していた。

また、薬剤感受性試験より、コリスチンを含む7薬剤に感受性を示し、12種の薬

剤中 4 種で耐性が認められた (表 5)。

表 4 小腸内容定量培養成績

培地条件	菌種	溶血	成績 (CFU/ g)
BA (CO ₂)	<i>E. coli</i>	+	4.2 × 10 ⁸

表 5 薬剤感受性試験成績

菌種	S:感性 I:中間 R:耐性											
	ABPC	CEZ	KM	GM	SM	CL	OTC	DOXY	CP	ST	ERFX	NFLX
<i>E. coli</i>	I	S	S	S	R	S	R	R	S	R	S	S

(4) 診断及び対策

以上の病性鑑定成績から、平成 26 年 5 月に病性鑑定を実施した死亡豚を浮腫病と診断した。

対策として、当時分離された大腸菌で感受性を有していたコリスチンを飼料添加したところ、発生は沈静化した。

3 平成 28 年度発生概要

7 月中旬から肥育舎において約 3~4 ヶ月齢の肥育豚で発咳がみられ、7 月 22 日に 3 か月齢の肥育豚が 3 頭死亡した。肥育豚の死亡は 8 月 4 日まで連日相次ぎ (表 6)、7 月 22 日から 8 月 4 日までの間で計 16 頭の肥育豚の死亡が確認され、7 月 27 日及び 8 月 4 日に病性鑑定を実施した。

また、畜主からの聞き取りより、浮腫病の発生した平成 26 年 5 月から継続して繁殖豚及び肥育豚へコリスチンの飼料添加が行われていた。

表 6 平成 28 年度発生事例死亡状況

		単位：頭数										
		7/22	7/23	7/25	7/27	7/28	7/29	7/31	8/3	8/4		
月 齢	3か月 齢	3	1								1	2
	4ヶ月 齢			1	2	2	2	1		1		
場 所		肥育豚舎 ① (豚房1)		肥育豚舎② (豚房2)					肥育豚舎 ② (豚房3)			
備 考		コリスチンを飼料添加 (平成26年5月~)										

III 材料及び方法

7月27日に死亡した約4ヶ月齢の肥育豚及び8月4日に死亡した約3か月齢の肥育豚をそれぞれNo. 1、No. 2とした。

1 病理学的検査

No. 1 及び No. 2 共に剖検した後、常法に従い主要臓器の HE 染色を実施した。

2 細菌学的検査

No. 1 及び No. 2 の主要臓器と下顎、鼠径及び腸間膜リンパ節を材料として、血液寒天培地（37℃、CO₂条件下）、DHL 寒天培地（37℃、好気条件下）を用いて細菌分離を実施した。また、小腸内容を材料として上記2種の寒天培地を用いて小腸内容定量培養を実施した。

また、分離された大腸菌については PCR 法による病原因子検査及び薬剤感受性試験を実施した。

3 ウイルス学的検査

No. 1 の扁桃、肺、脾臓、腸間膜リンパ節及び No. 2 の扁桃、肺、脾臓、腎臓、鼠径リンパ節をそれぞれ材料として、CPK-CS 細胞を用いたウイルス分離を実施した。

IV 成績

1 病理学的検査成績

(1) 剖検所見

No. 1 では腹部にチアノーゼがみられ、肺は全葉暗赤色を呈しており、退縮不全がみられた。消化器系では空腸から結腸にかけて腸壁の菲薄化及び腸間膜リンパ節の腫脹が認められた。

No. 2 では肺水腫、腸間膜リンパ節の腫脹が認められた。

(2) 病理組織学的検査成績

No. 1 及び No. 2 の両検体で死後変化が強く、詳細な検討を行えなかった。

2 細菌学的検査成績

(1) 細菌分離成績

No. 1 からは細菌は分離されなかったが、No. 2 の腸間膜リンパ節から細菌が分離され、その性状から溶血性大腸菌と同定された（表 7）。

(2) 小腸内容定量培養成績

No. 1 及び 2 で溶血性大腸菌の有意な増数が認められた（表 8）。

(3) 大腸菌病原因子検査成績

No. 1 及び No. 2 の両検体から分離された溶血性大腸菌に対して、PCR 法による大腸

菌病原因子検査を実施したところ、定着因子として F18 因子、毒素として志賀毒素 2e 型の特異遺伝子が検出された (表 9)。

表 7 細菌分離成績

検体No. (病鑑日)	培地条件	肝	脾	腎	心	肺	下顎 リンパ 節	鼠径 リンパ 節	腸間膜 リンパ 節
No. 2 (8月4日)	BA (CO ₂)	-	-	-	-	-	-	-	++※
	DHL	-	-	-	-	-	-	-	++※

※*E. coli* と同定

表 8 小腸内容定量培養成績

単位 : CFU/ g

培地条件	菌種	溶血	No. 1 (7月27日病鑑)	No. 2 (8月4日病鑑)
BA (CO ₂)	<i>E. coli</i>	+	7.3×10^8	4.2×10^8
		-	4.6×10^8	-
DHL		/	2.6×10^8	5.7×10^8

表 9 大腸菌病原因子検査成績

No.	由来	溶血	定着因子				毒素		
			F18	LT	ST	Stx2e			
1 (7月27日)	小腸内容	+	+	-	-	+			
2 (8月4日)	小腸内容	+	+	-	-	+			
	腸間膜 リンパ節	+	+	-	-	+			

(4) 薬剤感受性試験成績

No. 1 から分離された大腸菌は 14 種の薬剤のうち 10 種、No. 2 から分離された大腸菌は 10 種のうち 8 種の薬剤に耐性を有していた (表 10)。また、いずれの大腸菌も コリスチンに対して耐性を有していた。

表 10 薬剤感受性試験成績

No	由来	菌種	ABPC	AMPC	CEZ	KM	GM	SM	FRM	CL	TS	FOM	OTC	CP	ST	ERFX
1	小腸内容	<i>E. coli</i>	R	R	I	R	S	R	R	R	R	I	R	R	R	S
2	小腸内容 及び 腸間膜 リンパ節		-	R	R	R	S	R	-	R	-	-	R	R	R	S

S:感性 I:中間 R:耐性 -:NT

3 ウイルス学的検査成績

No. 1 及び 2 からウイルスは分離されなかった。

V 診断及び対策

以上の病性鑑定成績より、本事例を浮腫病が疑われる豚疾病と診断した。対策として、豚房のオールアウト後の清掃・消毒・乾燥の徹底及び多剤耐性大腸菌の薬剤感受性回復のため、コリスチンの飼料添加の中止を指導した。また、発症のコントロール及び予防的措置として、生菌剤・有機酸・酸化亜鉛の飼料添加を指導した。その結果、肥育豚の死亡は沈静化した。

VI まとめ及び考察

今回、管内 1 養豚場から、多剤耐性大腸菌が分離された豚疾病が発生し、臨床症状や細菌学的検査から、本事例は浮腫病が疑われたため、抗生剤に頼らない浮腫病に対する衛生対策を指導した。本事例より分離された大腸菌の特徴としては、薬剤耐性化の進行が認められた点であり、平成 26 年 5 月の死亡豚から分離された大腸菌と比較して、コリスチン等を含むより多くの薬剤で耐性化が認められた。

この理由として、畜主からの聞き取りより、平成 26 年 5 月に浮腫病が発生して以来、コリスチンの飼料添加を継続していたことがわかり、今年度分離された大腸菌がコリスチンの長期飼料添加により耐性を獲得した可能性が考えられた。しかし、コリスチン以外の使用歴のない薬剤に対しても耐性化が進んでいたため、多剤耐性大腸菌が導入等により外部から侵入した可能性も考えられた。

豚では飼料などに経口的に、群単位で抗生剤が使用されるため、薬剤耐性菌が出現しやすい状況と言える。特に、豚の大腸菌に特効薬的に用いられているコリスチンは、食品安全委員会におけるリスク評価で、リスクの程度が中程度とされ、今後、飼料添加物としての使用の是非も含め検討されている¹⁾。

そのため、今回のような多剤耐性大腸菌が分離された事例に対しては、抗生剤の一時使用中止や慎重使用の徹底^{1)、3)}、そして予防的措置としての生菌剤・炭酸亜鉛・有機酸の投与²⁾ならびに飼養衛生管理の改善など、抗生剤を使用しない衛生対策を実施し、耐性菌の出現の抑制と薬剤感受性の回復及び発症のコントロールを行うことが重要であると考えられる。

Ⅶ 参考文献

- 1) 農林水産省 消費・安全局 畜水産安全管理課：薬剤耐性(AMR)対策アクションプランについて、畜産の情報 2016.11、125-131 (2016)
- 2) 志賀明：下痢対策と浮腫病克服への道のり、Pig Journal 2006.9、41-44(2006)
- 3) 浅井鉄夫：食用動物における抗菌剤の使用と耐性の出現、動薬検年報 第 42 号、1-8(2005)