

過去 6 年間に愛知県内で分離された豚由来病原性大腸菌の回顧調査

中央家畜保健衛生所 わたんど えり たかむらゆうじ 渡戸英里、高村祐士

【はじめに】

豚大腸菌症及び浮腫病は、それぞれ毒素原性大腸菌（ETEC）及び志賀毒素産生性大腸菌（STEC）に起因し、本県でも多くの農場で発生が認められる。国内における主要血清型は、それぞれ 0149 及び 0139 だが、近年、多剤耐性傾向の 0116 及び 0SB9 が高頻度に分離されており、前述の 4 血清型の割合は各県によって大きく異なることが報告されている¹⁾。本県の豚由来病原性大腸菌（豚 EC）の主要血清型は調査されておらず、状況は不明である。そこで、今回、県内で分離された豚 EC について回顧調査を行ったので概要を報告する。

【材料及び方法】

平成 27 年 4 月から 令和 2 年 7 月半ばまでに県内で分離された豚 EC 36 農場 66 株を材料とし、0-genotyping による遺伝子型別及び市販抗血清を用いた凝集試験による 0 群血清型別を実施した。薬剤感受性試験（1 濃度ディスク法）は、アンピシリン（ABPC）、アモキシシリン（AMPC）、セファゾリン（CEZ）、セフロキシム（CXM）、セフトロフル（CTF）、セフトキシム（CTX）、カナマイシン（KM）、ストレプトマイシン（SM）、ゲンタマイシン（GM）、オキシテトラサイクリン（OTC）、ドキシサイクリン（DOXY）、スルファメトキサゾールトリメトプリム（ST）、ナリジクス酸（NA）、エンロフロキサシン（ERFX）、オルビフロキサシン（OBFX）、ノフロキサシン（NFLX）、クロラムフェニコール（CP）の計 17 薬剤を対象に実施した。調査期間中、最も多く分離された 0149、37 株については、株間の相同性を確認するために、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）を実施した。

【結果】

供試株は 0 型別不能（OUT）を除き、11 種の血清型に型別された。0149 が 37 株（55.2%）で最も多く、次いで 0139 が 5 株（7.5%）、086 が 4 株（6.0%）、その他 8 種の血清型が 17 株（26.9%）、OUT が 3 株（4.5%）だった。0116 及び 0SB9 は分離されなかった。（図 1）その他 8 種の血清型のうち、2 種（02, 0142）は複数農場で分離されたが、6 種（01, 08, 09, 084, 0121, 0141）は 1 農場の

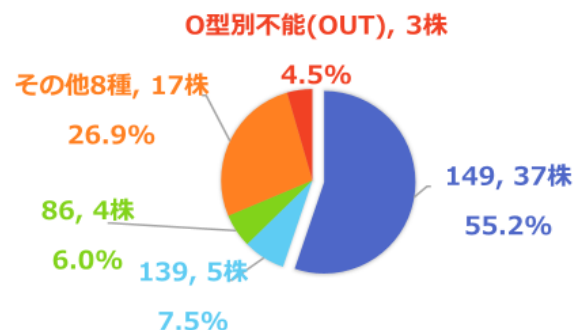


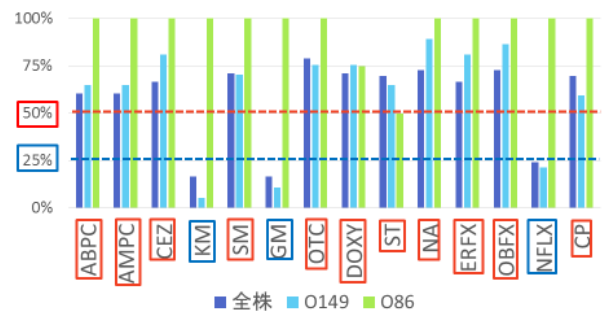
図 1 0 群血清型別結果

みで分離された。

薬剤感受性試験では、供試した全株（66 株）は 17 薬剤中 11 薬剤（ABPC, AMPC, CEZ, SM, OTC, DOXY, ST, NA, ERFX, OBFX, CP）に耐性率 50%以上を示し、中でも SM, OTC, DOXY, NA, OBFX の耐性率は 70%以上だった。一方で、第 2 世代セフェム系（CXM），第 3 世代セフェム系（CTF, CTX）に耐性を示す株はなく、アミノグリコシド系（KM, GM）の耐性率は共に 16.7%、FQ 系（NFLX）の耐性率は 24.2%だった。086（3 農場 4 株）は、17 薬剤中 12 薬剤（ABPC, AMPC, CTX, KM, SM, GM, OTC, NA, ERFX, OBFX, NFLX, CP）に耐性率 100%を示した。（図 2）また、086（3 農場 4 株）に加え、08（1 農場 2 株）及び 084（1 農場 2 株）は、分離された全株で FQ 系の阻止円が形成されなかった。0149 も一部の株で FQ 系の阻止円が形成されなかったが、その株数は、ERFX が 2 株（5.4%）、OBFX が 8 株（21.6%）、NFLX が 1 株（2.7%）で、0149 全株に占める割合は少なかった。

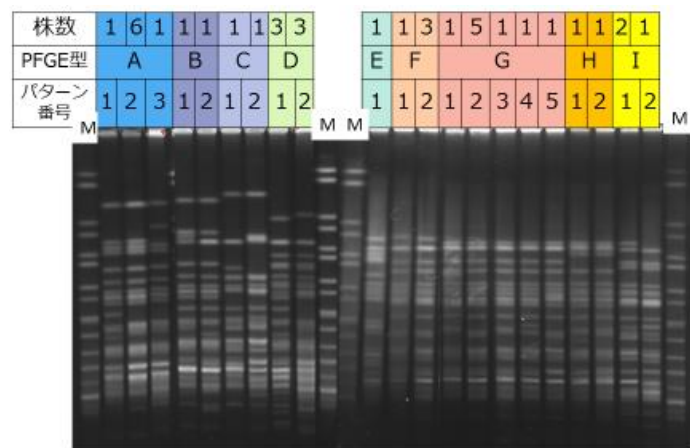
0149 は PFGE で 9 種の型に分けられた。（図 3）9 種のうち 3 種は全て同一農場の株、1 種は全て同一市内の株、1 種は全て同一年代の株、1 種は同一市内、同一年代かつ FQ 系の阻止円が形成されない株で構成されていた。残り 3 種には特定の傾向はなく、分離地域、年代共にばらつきが認められた。

調査期間中に豚 EC が継続的に分離された農場は 36 農場中 16 農場あり、このうち 13 農場の株は 1~2 年以内に継続して分離された。その他 3 農場の内訳は、4 年に渡って継続して分離された 1 農場、2 年継続して分離され、3 年後に再び分離された 1 農場、1 度分離され、3 年後に再び分離された 1 農場だった。農場ごとに確認された 0-genotype (0g) は 1 種が 9 農場、2 種が 6 農場、4 種が 1 農場だった。同一 0g が複数分離された農場は 16 農場中 13 農場認められ、このうち 0149 が複数分離された 9 農場中 7 農場で同一 PFGE 型の株が認められた。



第2世代セフェム系（CXM），第3世代セフェム系（CTF, CTX）に耐性を示す株はなし

図 2 薬剤感受性試験結果（耐性率）



バンドの違い2~3本以内を同一由来と判断し、M:マーカー 同一PFGE型(アルファベット)に整理

図 3 0149PFGE 結果

【考察】

調査期間全体を通し、愛知県内の豚 EC は 0149 が優勢で、近年国内で増加している 0116 や 05B9 は検出されなかった。調査期間後半（平成 30 年 4 月～令和 2 年 7 月）で 0149 が高頻度に分離され（前半 10/26 株、後半 27/40 株）、後半 27 株ほぼ全てが ERFX 及び OBFX に耐性を示したことから、単一の 0149FQ 耐性株が県内で流行している可能性を疑ったが、これらの PFGE パターンには多様性が認められ、単一株の流行は否定された。後半に 0149 の分離率が増加した原因は不明だが、0149 に限らず県内豚 EC は ERFX 及び OBFX の耐性率が高く、国内では FQ 系の耐性率は低いとされている 0139 も¹⁾ERFX 及び OBFX の耐性率が 60% 以上だった。このことから、県内では ERFX 及び OBFX が治療薬としての使用頻度が高く、これらの株の選択圧となっている可能性が推測され、県内の各農場における二次選択薬の使用歴と耐性率の相関関係について、別途調査が必要と思われた。一方で、CXM, CTF, CTX, KM, GM, NFLX の耐性率は低く、県内豚 EC は二次選択薬を用いなくても、一次選択薬の KM, GM で治療効果が得られる可能性が高いと考えられた。

また、086, 08, 084 については多剤耐性傾向が認められた。特に 086 は複数農場から分離されており、既報でも多剤耐性であることから²⁾、多剤耐性の血清型である可能性が示唆された。このような株が分離された場合には、有効な抗菌剤の選択肢が少ないため、消毒等の衛生対策も併用する必要があると思われる。086, 08, 084 は県内豚 EC 全株に占める割合は少なかったが、今後もこれらの血清型が分離された場合には、薬剤感受性のデータを集積すると共に、対策に留意する必要がある。

1 農場で豚 EC が継続して分離された場合、同じ血清型が複数回分離されたケースが 16 農場中 13 農場、PFGE 型も同一であったケースが、0149 が複数回分離された 9 農場中 7 農場存在し、同一農場で継続的に分離される豚 EC は同一性状の株である場合が多いことが分かった。このことから、外部から新たな株の侵入があった場合を除き、各農場で問題となる血清型は限られており、ストレスなどを契機に、農場内に常在化している株によって発症を繰り返している可能性が示唆された。今後も 0-genotyping による遺伝子型別や薬剤感受性試験のデータを蓄積することで、各農場で問題となっている株の特徴を把握でき、対策の一助になるとと思われる。

【謝辞】

稿を終えるに当たり、ご指導、ご助言を賜りました、動物衛生研究部門の楠本正博先生に深謝いたします。

【参考文献】

- 1) Masahiro Kusumoto, Yuna Hikoda, Yuki Fujii, Misato Murata, Hirotsugu Miyoshi, Yoshitoshi Ogura, Yasuhiro Gotoh, Taketoshi Iwata, Tetsuya Hayashi, Masato Akiba : Emergence of a multidrug-resistant Shiga toxin-producing enterotoxigenic *Escherichia coli* lineage in diseased swine in Japan, J Clin Microbiol, 2016 Apr;54(4):1074-81
- 2) 藤井勇紀、田邊ひとみ、西野弘人、大谷芳子、都筑智子、大内義尚、秋庭正人、楠本正博：茨城県における豚由来病原性大腸菌の比較解析：主要血清型 0116 の解析, 日獣会誌 70, 643 ~ 649 (2017)