1 養豚場における大腸菌性腸管毒血症の大規模再発事例

由地裕之¹⁾ 末吉益雄^{1)†} 永友寛司¹⁾ 上村涼子¹⁾ 田浦保穂²⁾

1) 宮崎大学農学部 (〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1)

2) 山口大学農学部 (〒753-8515 山口市大字吉田1677-1)

(2008年3月31日受付・2008年8月26日受理)

要 約

1 養豚場において、離乳子豚の急性経過での集団死亡事故が1997年10月から2005年6月までの間に二峰性に認められた。一峰目における死亡子豚の外貌は、発育良好で、眼瞼周囲の浮腫を特徴とし、二峰目における死亡子豚では前駆症状として下痢がみられた。病性鑑定の結果、これらの子豚は大腸菌性腸管毒血症と診断された。本疾病による離乳豚の死亡頭数は約12,000頭に達した。——キーワード：大腸菌、腸管毒血症、子豚。

----- 日獣会誌 62, 211～214 (2009)

豚の大腸菌症の一病型である大腸菌性腸管毒血症は、腸管毒血症性大腸菌 (*Enterotoxaemic Escherichia coli*: ETEEC) が経口的に豚個体に侵入した後、小腸に定着し、産生された志賀毒素 (Stx) 2e が体内組織に吸収され、標的細胞に障害を起こすことにより発症する [1-3]。離乳期および肥育前期の子豚に好発する浮腫病は大腸菌性腸管毒血症の典型であり、眼瞼周囲の浮腫、神経症状、下痢、突然死等を特徴とする疾病である [1-3]。従来、浮腫病の発生は散発的であり、短期間で自然終息していたが [4, 5]、近年、集団発生例および長期発生継続例が報告されている [6]。ここでは、長期に亘って浮腫病が発生し、一旦終息した当該農場において下痢を伴う大腸菌性腸管毒血症が続発した事例について報告する。

発 生 状 況

発生農場は母豚700頭飼養の一貫経営SPF農場であった。分娩舎および子豚舎構造はウィンドウレスシステムで、温度および換気量は自動調節され、換気は強制排気システムであった。肥育舎構造は開放式であった。離乳子豚舎は1棟8部屋に隔離され、各部屋は20豚房に分けられ、それぞれの豚房 (7m²) には20～24頭の子豚が飼養されていた。分娩舎からの離乳子豚導入は1週間に2～3回に分けて移動させ、肉豚舎への移動については、オールアウトで実施していた。給餌システムはパイプラインによる不断給餌システムを採用していた。種豚については月平均約20頭を更新し、外部導入が約15頭、自家育成が約5頭であった。また、発生期間を通じ

て、萎縮性鼻炎、マイコプラズマ病、オーエスキー病、日本脳炎、豚パルボウイルス病、豚流行性下痢 (PED) および豚伝染性胃腸炎 (TGE) に対するワクチンが接種されていた。その他、豚コレラに対するワクチンは2000年に中止され、豚胸膜肺炎および豚インフルエンザに対するワクチンは2001年9月以降では使用されていなかった。当該農場において、多数の子豚が1997年10月～2005年6月の間に死亡した (図1)。1997年以前の当該農場の子豚の死亡率は月別で3%以下であった。しかし、当該期間の死亡率はしばしば月間10%を超えた。この期間の子豚の死亡総頭数は約12,000頭であった。

第1期 (1997年10月～1999年9月)：30～50日齢の離乳豚の突然死が集団で続発し始めた。臨床症状として、元気消失、沈鬱、食欲廃絶、後軀麻痺による起立不能を呈し、急性経過で死亡した。外貌所見としては、子豚の発育状態は良好であったが、眼瞼周囲が浮腫を呈していた。また、同居耐過豚の一部が消瘦し、55～75日齢にかけて、歩様蹣跚、横臥し、遊泳運動を呈するなど神経症状を伴っていた。上記農場の死亡豚 (11頭)、発症豚 (2頭) あるいは同居豚 (1頭) について、病性鑑定を以下の方法で実施した。病理学的検査として、剖検後、主要臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、定法に従って病理組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、過ヨウ素酸シッフ (PAS) 染色およびギムザ染色を施し、鏡検した。細菌学的検査は以下のとおり実施した。発症豚あるいは同居豚の直腸便、または発症豚あるいは死亡豚の剖検時に採材した空腸および盲

† 連絡責任者：末吉益雄 (宮崎大学農学部獣医学科獣医衛生学研究室)

〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1 ☎・FAX 0985-58-7282 E-mail: a0d802u@cc.miyazaki-u.ac.jp

図1 1997年4月～2005年9月の離乳子豚の月別死亡事故率

腸内容物を供試材料として、マッコンキー寒天培地（日水製薬株，東京）および5%羊血液寒天培地（日水製薬株，東京）に直接塗抹後，37℃で20～24時間培養した。前述の各培地から乳糖分解コロニーおよび溶血性コロニーを釣菌し，生化学的性状を調べた。さらに，それらの分離菌株について，Stx2e産生遺伝子（*stx2e*），F18線毛の主要サブユニット遺伝子（*fedA*）およびエンテロトキシン（LTおよびST）遺伝子をpolymerase chain reaction（PCR）法にて検出した[7]。Stxの産生性についてはベロ細胞障害性で確認した[8]。また，O2，O138，O139およびO141抗血清（Veterinary Laboratories Agency, U.K.）を使用し，スライド凝集試験にて，O血清型別試験を実施した。細菌学的検査では，発症豚（1頭）および死亡豚（10頭）の空腸内容物および盲腸内容物から多数のβ溶血性の集落を形成する細菌が純培養的に分離された（表1）。それらはETEECと同定され，10株がO139の血清群に属していた。剖検所見では，胃腸管および腸間膜リンパ節において水腫およびうっ血が観察され，腸間膜リンパ節は著明に腫大していた。病理組織学的所見では，空腸，回腸および結腸粘膜下組織の水腫および小血管の変性が認められた。また，パイエル板のリンパ球減少および腸間膜リンパ節のうっ血および水腫が認められた。さらに，神経症状の認められた55～70日齢豚の死亡豚では，大脳，中脳，橋および脊髄において，軟化巣および血管周囲にPAS陽性の硝子滴を伴う小動脈の類線維素性壊死も認められ，脳脊髄血管症と診断された。以上の所見からこれらの事例は

ETEEC感染による典型的な浮腫病と診断された。対策として，以下のことを実施した。まず，発生豚舎については，子豚移動のオールアウト後，水洗，3日間の乾燥，逆性石鹼による消毒，9日間の乾燥を実施した後，次の離乳豚をオールインさせた。飲水については，塩素添加で消毒した。離乳豚飼料中粗タンパク量については，21%であった割合を19%に減らした。また，最近分離されたETEECは多くの薬剤に対して低感受性である[9]ことから，今回分離されたETEEC株について薬剤感受性試験を実施して，その成績に基づきカナマイシン，ゲンタマイシンおよびオルビフロキサシンを筋注投与した。しかし，それらについて著効は認められなかった。スルファジメトキシシン・トリメトプリム合剤およびオキシリン酸の投与では，反応性に死亡豚数が増加した。いっぽう，ピコザマイシン（BCM）の投与では，著効がみられた。BCMは飲水にて，20mg/kg/日量を3日間投与され，再発した場合には，再度，3日間繰り返された。それらの対策で子豚の死亡事故の沈静化がみられた。しかし，この期間に死亡した子豚頭数は計3,871頭であった。また，予防対策として，分娩舎移動後の母豚，哺乳豚および離乳前期子豚に生菌製剤の投与が実施された。

第Ⅱ期（2001年9月～2005年6月）：まず，30～50日齢の離乳子豚の死亡事故が発生し始めた（図1）。当該子豚は前駆症状として下痢を呈し，急性経過で死亡するのが特徴であった。当該死亡豚，発症豚あるいは同居豚について，臨床症状で下痢が認められていたことがか

表1 分離されたETEEC株の性状

	採材年月 (月/年)	日 齢	ETEEC 検出個体数/ 検査頭数	分離菌 株数	O血清群	β 溶血性	病原遺伝子				Vero細胞 障害性
							<i>stx2e</i>	<i>fedA</i>	<i>ST</i>	<i>LT</i>	
第Ⅰ期	3/98	45	1/2	1	ONT ^{a)}	+	+	+	-	-	+
	3/98	35	1/3	1	O139	+	+	+	-	-	+
	7/98	28	3/3	3	O139	+	+	+	-	-	+
	8/98	28~58	3/3	3	O139	+	+	+	-	-	+
	2/99	35	3/3	3	O139	+	+	+	-	-	+
第Ⅱ期	11/01	100	1/1	1	O139	+	+	-	-	-	+
	1/02	35	3/3	3	ONT	+	+	+	+	-	+
	12/02	35	2/3	2	ONT	+	+	+	+	-	+
	11/03	35	2/4	2	ONT	+	+	+	+	-	+
	12/03	50	1/1	1	ONT	+	+	+	+	-	+
	9/04	40	3/3	3	ONT	+	+	+	+	+	+
	11/04	75	1/3	1	ONT	+	+	-	-	-	+
	1/05	50	1/2	1	ONT	+	+	+	+	-	+
	1/05	28~31	14/20	14	O139	+	+	+	+	+	+

a) ONT：大腸菌O群血清O2, O138, O139およびO141に反応しない株

ら、前述した検査に以下の方法を追加して病性鑑定を実施した。ノボビオシン (Sigma, U.S.A.) 加DHL (日本製薬株, 東京) およびカナマイシン加CW培地 (日本製薬株, 東京) にて、サルモネラおよびクロストリジウムについて検査した。寄生虫学的には、直腸便または腸管内容物について、シヨ糖浮遊法で検査し、さらにクリプトスポリジウムのオーシストの検出にはKinyounの抗酸染色法も実施した。また、ロタウイルス抗原検出キット (ROTACLONE[®], Meridian, U.S.A.) を用いてロタウイルス検査を実施した。その結果、死亡豚あるいは発症豚の腸管内容物から多数のSTおよびLT遺伝子の両方あるいはどちらかを保有するETEECが分離された (表1)。血清型別試験では、ほとんどが大腸菌O群血清O2, O138, O139 およびO141に対して反応しなかった。剖検所見では、腸間膜リンパ節の著明な腫脹とうっ血が認められた。病理組織学的検査では、腸間膜リンパ節のうっ血および腸管粘膜下組織、大脳、脊髄の小動脈の変性が認められた。また、PEDウイルス、TGEウイルスあるいはA群以外のロタウイルスについてはその感染を完全には否定できないが、小腸絨毛の萎縮が組織学的所見として観察されなかったことから、下痢発症との関連はないと判断された。以上の所見から、本事例は下痢を伴う大腸菌性腸管毒血症と診断された。対策として、衛生管理の見直しに加えて、第Ⅰ期で効果が認められたBCM投与あるいは生菌剤投与を実施したが、第Ⅱ期においては著効が認められなかった。また、第Ⅱ期で分離された菌株の薬剤感受性試験に基づき、フラジオマイシンを投与したところ、症状が悪化し、死亡豚数の増加が認められた。第Ⅱ期は第Ⅰ期よりも長期に及んだ。第Ⅰ期～第Ⅱ期を通じて、換気システム、子豚の移動方法、給餌システム、種豚の導入など農場一般管理システ

ムは同じであった。2005年7月になって、同様症状による子豚の死亡事故は終息した。この期間に死亡した子豚頭数は計7,834頭であった。

当該農場内でのETEECの動態調査：2006年に2回、2007年に3回、計25頭 (下痢発症死亡豚3頭および下痢発症豚22頭) について細菌学的検査を実施した。その結果、ETEECは分離されず、それらの25頭中の15頭から腸管毒素原性大腸菌が分離された。また、死亡豚の2頭からウェルシュ菌およびレンサ球菌が分離された。

近年、国内で、大腸菌性腸管毒血症の発生の長期間継続例が母豚400頭以上の大型一貫経営農場において報告されている [6]。しかし、1農場でタイプの異なる大腸菌性腸管毒血症の続発で子豚が10,000頭以上死亡した報告は今までにない。

考 察

第Ⅰ期～第Ⅱ期を通じて、大腸菌性腸管毒血症の発生子豚舎に偏りはなかった。このことから、子豚舎環境の衛生管理に問題はなく、伝播経路として、母豚からの垂直感染と子豚舎移動後の水平感染が疑われたので、母豚の糞便からETEECの検出試験を実施したが、保菌母豚は特定されなかった。

当該農場を含めた国内9農場由来ETEEC株についてStx産生能の比較調査を実施したところ、強毒株と大腸菌性腸管毒血症が長期持続した農場間に関連は認められなかった [10]。

当該農場の第Ⅰ期と第Ⅱ期に分離されたETEEC株の血清型および病原遺伝子の保有状況は異なっていた。上村ら [6] の長期持続報告例において分離されたETEEC株も、2000年以前では、ST, LT遺伝子を保有

しないタイプであったのが、2002年以降はSTあるいはLT遺伝子を保有しているタイプであった。

また、第Ⅰ期と第Ⅱ期では、給与飼料が異なっていた。第Ⅰ期の飼料中には、動物性蛋白質の血粉、血しょう蛋白が含有していたが、第Ⅱ期では、それらは含有していなかった。それは、国内でのBSE発生を機に飼料中の蛋白は動物性から植物性に国策として変更されたためであった。この飼料成分の変化が異なるタイプのETEECの腸内での増殖・定着に有利であった可能性も考えられた。この飼料成分と病型の関連は今後検証していかねばならない。

BCMはETEECの増殖と*Stx2e*の産生を抑制することが報告されている[8]。第Ⅰ期では、BCM投薬の有効性が認められた。しかし、第Ⅱ期では著効を示さなかった。さらに、いくつかの抗菌剤では、子豚の症状が悪化し、死亡頭数が増加した事例もあった。今後、抗菌剤とETEECの関係について、薬剤感受性の動向、毒素産生性、LPS放出性あるいは投与方法等について検討する必要がある。

引用文献

- [1] Fairbrother JM, Gyles CL : Postweaning *Escherichia coli* diarrhea and edema disease, Disease of Swine, Straw BE et al eds, 9th ed, 649-662, Blackwell Publ, Iowa (2006)
- [2] 中澤宗生：浮腫病，豚病学，柏崎 守他編，第4版，333-335，近代出版，東京（1999）
- [3] Bertschinger HU, Gyles CL : Oedema disease of pigs, *Escherichia coli* in domestic animals and humans, Gyles CL ed., 193-219, Cab International Co, Wallingford (1994)
- [4] Kernkamp HC, Sorensen DK, Hanson LJ, Nielsen NO : Epizootiology of edema diseases in swine, J Am Vet Med Assoc, 146, 353-357 (1965)
- [5] 目見田清，菊池正健，大澤哲也，山崎 勝，藤岡一彦，田中 博，山崎伸二，竹田美文：豚浮腫病由来大腸菌のVero毒素産生性，日獣会誌，44，1167-1171（1991）
- [6] 上村涼子，末吉益雄，田浦保穂，永友寛司：大腸菌性腸管毒血症による子豚の集団死亡事故の長期持続事例，日獣会誌，57，231-234（2004）
- [7] Johnson WM, Pollard DR, Lior H, Tyler SD, Rozee KR : Differentiation of genes coding for *Escherichia coli* verotoxin 2 and the verotoxin associated with porcine edema disease (VTe) by the polymerase chain reaction, J Clin Microbiol, 28, 2351-2353 (1990)
- [8] Uemura R, Sueyoshi M, Taura Y, Nagatomo H : Effect of antimicrobial agents on the production and release of shiga toxin by enterotoxaemic *Escherichia coli* isolates from pigs, J Vet Med Sci, 66, 899-903 (2004)
- [9] Uemura R, Sueyoshi M, Nagayoshi M, Nagatomo H : Antimicrobial susceptibilities of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from pigs with edema disease in Japan, Microbiol Immunol, 47, 57-61 (2003)
- [10] 由地裕之，末吉益雄，永友寛司，田浦保穂：浮腫病発生農場由来腸管毒血症性大腸菌株の毒素産生能の比較調査，日獣会誌，61，530-532（2008）

Secondary Mass-Outbreak of Enterotoxaemia with *Escherichia coli* on a Pig Farm

Hiroyuki YUJI*, Masuo SUEYOSHI†, Hiroshi NAGATOMO, Ryoko UEMURA
and Yasuho TAURA

* Department of Veterinary Hygiene, University of Miyazaki, 1-1 Gakuenkibanadai-nishi, Miyazaki, 889-2192, Japan

SUMMARY

The acute death of postweaning piglets occurred persistently from October 1997 until June 2005 on a pig farm. The appearance of the affected piglets showed remarkable palpebral edema in the first peak, and diarrhea was confirmed as a prodromal symptom in the latter peak. The piglets were diagnosed as having enterotoxaemia with *Escherichia coli*. A total of approximately 12,000 piglets died in this case.

— Key words : *E. coli*, enterotoxaemia, piglet.

† Correspondence to : Masuo SUEYOSHI (Department of Veterinary Hygiene, University of Miyazaki)
1-1 Gakuenkibanadai-nishi, Miyazaki, 889-2192, Japan
TEL · FAX 0985-58-7282 E-mail : a0d802u@cc.miyazaki-u.ac.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 62, 211 ~ 214 (2009)