

県内の病性鑑定豚から分離された *Salmonella* Choleraesuis の性状について

家畜病性鑑定所

小菅 千恵子	高田 香織
松尾 綾子	窪田 英俊
荒井 眞弓	福岡 静男
稲垣 靖子	

はじめに

Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar Choleraesuis (以下、S C) は、豚に宿主特異性が強く急性敗血症等を起こすことが知られている²⁾。本県の病性鑑定では平成9年に初めて発育不良豚から分離され、矢島らにより報告³⁾されている。以後、これまでに22件28頭から分離されているが、今年度、増加傾向を認めたため、その性状について比較検討した。

材料と方法

表 1 病性鑑定豚からのSC分離状況

平成9年～20年度までに病性鑑定を実施した豚のうち、S Cが分離された22件28頭(表1)について細菌学的検査及び疫学的検討を行った。

生物型及び薬剤感受性試験については、平成9年～10年度の分離株11頭22株、平成12年～16年度の8頭11株、平成20年度の5頭7株、計40株を供試した。

さらに、うち21株についてプラスミドプロファイルとパルスフィールドゲル電気泳動(以下、PFGE)を実施した。

生物型はT S I培地で37℃24時間培養し、硫化水素産生能により、Kunzendorf型とCholeraesuis型に区分した。

No.	年度	頭数	市	農場名
1	H9	2	A	A1
2		1	F	F1
3		1	A	A2
4		2	A	A3
5	H10	1	D	D1
6		2	B	B1
7		1	A	A4
8		1	A	A4
9	H11	2	A	A5
10	H12	1	E	E1
11		2	E	E1
12	H14	1	C	C1
13		1	A	A4
14	H15	1	D	D1
15		1	A	A6
16	H16	1	C	C2
17	H17	1	C	C3
18	H18	1	B	B2
19	H20	1	B	B2
20		1	B	B3
21		1	B	B3
22		2	A	A4

薬剤感受性試験は一濃度ディスク法により実施し、ストレプトマイシン（SM）、オキシテトラサイクリン（OTC）、ナリジクス酸（NA）、カナマイシン（KM）、アンピシリン（ABPC）、スルファメトキサゾール・トリメトプリム（ST）、クロラムフェニコール（CP）、コリスチン（CL）、セファゾリン（CEZ）、エンロフロキサシン（ERFX）の計10薬剤を用いた。

プラスミドプロファイルは、Dolyの方法によりプラスミドを抽出し、0.8%アガロースゲルを用いて、通電電圧100Vの条件で電気泳動を実施した。

PFG Eは制限酵素Xba Iを用いて実施し、パルスタイム2.2~54.2s (liner ramp)、角度120°、6.0V/cm、19hrの条件で泳動を行った。

成績

1 分離状況

年度別分離状況では、平成9年に初めて発育不良豚から分離され、9、10年が各4件5頭以上と多かった。その後は平均して年1件2頭程度と少なく推移してきたが、20年は4件5頭と増加した。（図1）

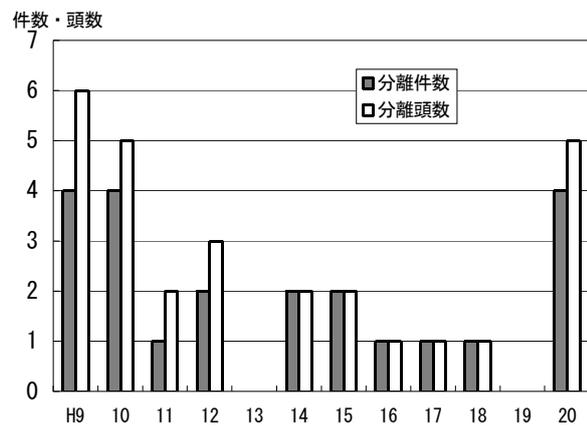


図1 年度別分離状況



図2 地域別分離状況

地域別ではS Cが分離された農場は6市15戸に分布し、A市が6戸と多かった。S Cは、はじめA市で分離され、10年までに4市7戸に広がり、その後12年にE市、14年にC市からも分離された。今年度はA市と隣接するB市の3戸で分離され、年度をまたがって複数回分離される農場もあった。（図2）

日齢ステージ別では若齢豚からは分離されず、60～120日齢未満の肥育前期が半数を、次いで30～60日齢未満の育成期が約30%を占めていた。また、120日齢以上の出荷に近い肥育後期での症例もみられた。共通して削そう、チアノーゼ、発咳等を認めた。(図3)

臓器別では、3臓器以上から分離されたのは頭数ベースで約54%であり、主に肺、肝、脾等から分離された。

他の検査では、PCR検査で豚サーコウイルス2型（以下、PCV2）特異遺伝子が今年度SC分離豚全頭から検出された。

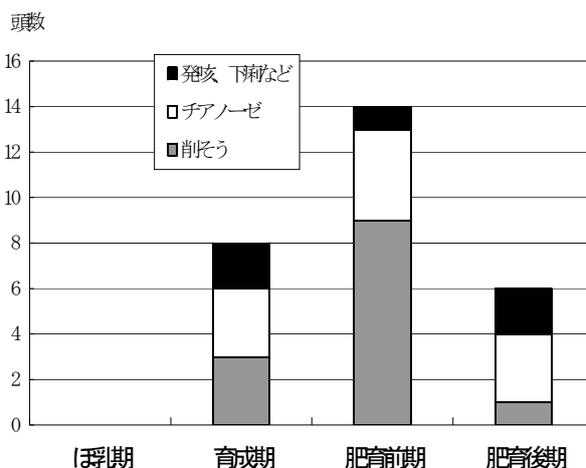


図3 日齢ステージ別分離状況

2 細菌学的検査

(1) 生物型

分離されたSCは、37株がKunzendorf型で、12年10、12月にE1農場3頭から分離された3株のみがCholeraesuis型だった。

(2) 薬剤感受性

表2 薬剤感受性成績

年度	H9～10年度																				H12～16年度										H20年度												
	A1								F1								A2	A3	D1	B1	A4	E1	C1	A4	D1	A6	C2	B2	B3	A4													
番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40			
SM	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
OIC	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R		
NA	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	I	R	R	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R		
KM	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	R	S	I	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S		
AFPC	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
ST	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
CP	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
CL	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
CEZ	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BRFX	2	3	2	3	3	2	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2			

注) R:耐性、I:中間、S:感性 3:高感受性、2:低感受性

薬剤感受性は、表2のとおり、SMに対し全ての株が耐性、OTCには90%以上の株が耐性を示した。NA、KM、ABPCなどは株により差がみられ、ERFXについては、耐性株はなかったが、38%の株が低感受性であった。4薬剤以上の耐性株は4戸で見られ、農場毎にほぼ同様の耐性パターンを示し、複数回分離された農場でも、年度により耐性パターンに大きな変化は認められなかった。

(3) プラスミドプロファイル

プラスミドプロファイルの成績を写真1に示す。マーカーとして50と6.8kbpの既知プラスミドを保有するSC参照株を用いた。21株中20株が50kbpを保有し、16株は50kbpのみを、他は個別パターンを示した。

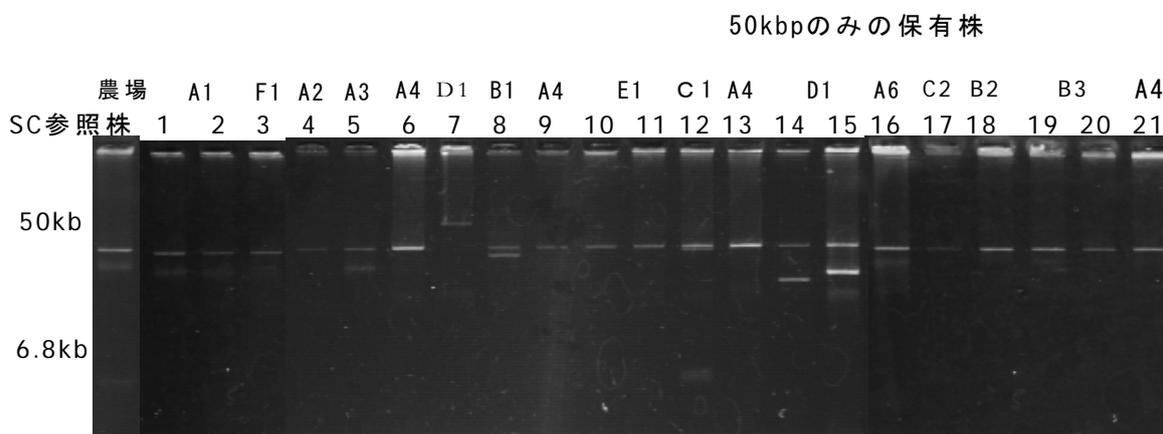


写真1 プラスミドプロファイル

(4) P F G E

Xba I で処理した P F G E パターンを写真2に示す。マーカー (M) として *Salmonella* Braenderup H9812 PulseNet standard株を用いた。P F G E のバンドの相違はわずかな遺伝子変異によっても生じることから、7本以上の相違を別グループとして区分した。

SC21株は、9~10年のⅠ群、12年のⅡ群、14年以降のⅢ群及び個別のⅣ~Ⅵの6グループに分類された。Ⅱ群のNo.10、11は他の株と大きく異なる P F G E パターンを示した。また、今年度分離された株は全てⅢ群に分類された。

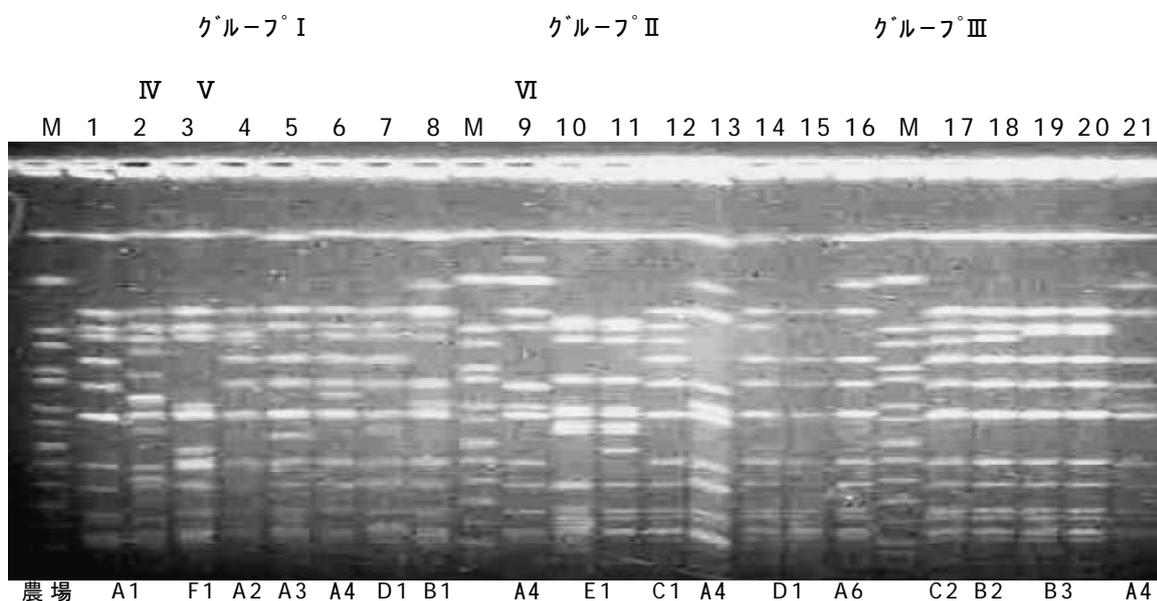


写真2 P F G Eパターン (*Xba* I 処理)

まとめ及び考察

本県の病性鑑定では、S Cは平成9年にはじめて発育不良豚から分離され、9、10年は各4件5頭と多かったが、11年以降0～2件と少なく、今年度4件5頭と増加した。地域別では6市15農場に分布し、A市が6戸と多く、今年度はA市と隣接するB市の3戸で分離された。日齢別では若齢豚からは分離されず、60～120日齢未満の肥育前期が半数を占め、共通して削そう、チアノーゼ、発咳等を認めた。S Cは肺、肝、脾等から分離され、P C R検査ではP C V 2特異遺伝子が今年度S C分離豚全頭から検出された。

生物型は、ほとんどが硫化水素産生を示し、関東地方で分布が多いとされる硫化水素非産生株¹⁾は12年10、12月に1戸3頭から分離された3株のみであった。

薬剤感受性では、90%以上の株がS M、O T Cに耐性を示した。4剤以上の耐性株が4農場にみられたが、薬剤耐性と農場の薬剤使用状況との関連はみられなかった。

プラスミドプロファイルでは、21株中20株でS Cに特異的な50kbpの病原プラスミドを認めた。また、プラスミドは薬剤耐性との関連も示唆されているが、今回の分離株については、薬剤耐性との関連性は認められなかった。

P F G Eパターンでは、9～10年のⅠ群と12年のⅡ群及び14年以降のⅢ群及び個別のⅣ～Ⅵの6グループに分類され、分離年度や地域区分を反映していた。12年10、12月にE1農場から分離された株は、生物型はCholeraesuis型で、P F G Eパターンでも他の株と大きく異なったパターンを示し、また、他農場との間に地域や豚の導入ルートなどの関連はみられず、他と独立した当該農場のみの由来をもつ株と推測された。一方、A1農場からは、同一年度で薬剤耐性及びP F G Eパターンが異なっている株が分離され、また、A4農場は10年、14年、20年と3回分離されたが、異なる3グループのP F G Eパターンを示したことから、県内S C株の由来は複数あるものと考えられた。

以上のように、今年度分離株は、生物型、薬剤感受性、プラスミドプロファイル、P F G Eパターンのすべてで同様な性状を示し、今年度の増加は、新たなS Cの侵入によるものではなく、PCV2等の他要因の関与によるものと考えられた。

最後にP F G Eの実施にあたりご指導・ご助言を頂いた神奈川県衛生研究所 黒木 俊郎先生、石原ともえ先生に深謝いたします。

引用文献

- 1)：浅井鉄夫ら：第140回日本獣医学会学術集会、122、(2005)
- 2)：鮫島俊哉：豚病学(第4版)、310-314、近代出版(1999)
- 3)：矢島真紀子ら：平成9年度神奈川県業績発表会集録、45-49(1997)