埼玉県で分離された豚離乳後下痢症由来大腸菌の薬剤感受性

荒井理恵

埼玉県中央家畜保健衛生所（〒 331-0821　埼玉県さいたま市北区別所町 107-1）

1．はじめに

豚離乳後下痢症（PWD）は毒素原性大腸菌を原因とする下痢症であり，離乳を直接または間接の誘因とし離乳後 3 ～ 14 日に発生する［1］。発生率は 20 ～ 30％と高く常在的に認められ，また，死亡・発育不良を引き起こし，養豚経営に重大な影響を与える。PWD の対策は一般衛生管理の徹底を原則とし，有効抗菌薬の投与も行われるが，その使用は耐性菌の出現を招く可能性がある。

埼玉県でも PWD の発生は毎年確認され，平成 18 年度までは年間数件程度，かつ限られた農場での発生であったが，平成 19 年度では 10 農場 16 件の発生と増加傾向にあった。しかしながら，分離菌の薬剤感受性と血清型，病原因子との関係についてはこれまで詳細な解析を行っていなかった。

そこで今回，過去 5 年間に PWD と診断された事例から分離された大腸菌について，薬剤耐性状況を血清型，病原因子パターンおよび農場での抗菌薬使用状況と合わせて検討した。さらに，以前に実施した健康豚の糞便由来大腸菌の薬剤感受性試験成績との比較を行った。

2．材料および方法

(1) 材　料

材料には平成 15 ～ 19 年度に県内で発生した PWD 由来大腸菌 80 株（13 農場 33 事例 68 頭）を用いた。原則として，一個体から一株を供試した。なお, これら菌株は－ 80℃で保存されていた。

(2) 方　法

ア．薬剤感受性試験

一濃度ディスク法により，以下の 10 薬剤について試験を行った：アンピシリン（AMPC），セファゾリン（CEZ), ストレプトマイシン（SM），カナマイシン（KM），ゲンタマイシン（GM），オキシテトラサイクリン（OTC），クロラムフェニコール（CP），コリスチン（CL），スルファメトキサゾール・トリメトプリム（ST），エンロフロキサシン（ERFX）。

イ．O 群血清型別

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所に依頼した。

ウ．病原因子検査

付着因子 F4，F18 および毒素 LT，ST，Stx2e について検索を行った。F4 は毒素原性大腸菌線毛抗血清（デンカ生研）を用いたスライド凝集反応法により，F18，LT，ST，Stx2e については PCR 法により検出した。なお、LT，ST は市販のプライマー（タカラ）を用い，F18，Stx2e は報告に基づき作製した［2，3］。

(3) 抗菌薬使用状況調査

原則，病性鑑定実施時の聞き取り調査に基づいたが，必要に応じ追加確認した。

3．成　績

(1) 薬剤感受性試験成績

供試菌 80 株中 78 株（97.5％）が何らかの薬剤に耐性を示した。耐性率が最も高かったのは OTC で 97.5％，以下，SM（83.8％），ST（83.8％），CP

(82.5％), ABPC (25％), KM (22.5％), ERFX (16.3％), GM（13.8％）の順であった（図 1)。CEZ および CL に対する耐性株は認められなかった。

薬剤耐性パターンは 4 剤耐性が最も多く 39 株，次いで 3 剤耐性，5 剤耐性が各 11 株であり，ERFX 耐性を含む 8 剤耐性は 5 株であった (表 1)。4 剤耐性以上の多剤耐性株は 63 株認められた。

(2) O 群血清型別検査成績

O147 が 59 株（73.7％）と最も多く分離され，その他, O116 が 9 株 (11.2％), O149 が 4 株 (5.0％), O141 が 3 株（3.8％），O146 が 1 株（1.3％），型別不能が 4 株（5.0％）であった（表 2)。

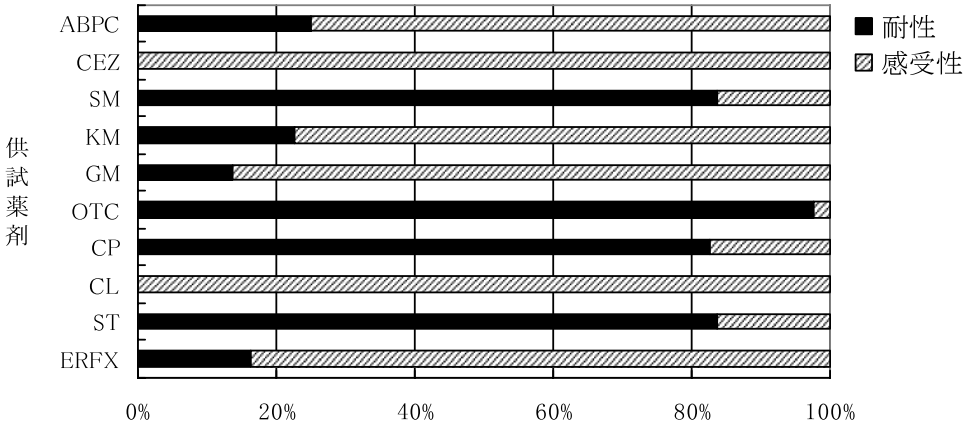

図1　分離菌の各供試薬剤に対する耐性率

表1　分離菌の薬剤耐性パターン

耐性薬剤数	分離農場数	株数	耐性パターン							
			ABPC	SM	KM	GM	OTC	CP	ST	ERFX
8	2	5	○	○	○	○	○	○	○	○
7	1	3	○	○	○	○	○		○	○
6	1	2	○	○	○		○	○	○	
	1	2		○	○		○	○	○	○
	1	1	○	○	○	○	○		○	
5	1	5		○	○		○	○	○	
	1	3	○	○			○	○	○	
	1	3		○			○	○	○	○
4	6	37		○			○	○	○	
	1	2	○				○	○	○	
3	2	2					○	○	○	
	1	5		○			○	○		
	1	2	○				○	○		
	1	2				○	○		○	
2	1	2	○				○			
	1	1		○			○			
1	1	1					○			
0	2	2								

備考　表中○は当該薬剤に耐性あり

表2　O群血清型別検査成績

O 群型別	株数	(割合)
O147	59	(73.7%)
O116	9	(11.2%)
O149	4	(5.0%)
O141	3	(3.8%)
O146	1	(1.3%)
型別不能	4	(5.0%)

表3　病原因子検査成績

病原因子パターン	株数	(割合)
F18・LT	59	(73.7%)
F18・LT・ST・Stx2e	13	(16.2%)
F4・LT・ST	4	(5.0%)
F18・LT・Stx2e	2	(2.5%)
F18・ST	1	(1.3%)
F18・ST・Stx2e	1	(1.3%)

(3) 病原因子検査成績

病原因子パターンは6種類であり，F18・LTが最も多く59株（73.7％），F18・LT・ST・Stx2eが13株（16.2％），F4・LT・STが4株（5.0％），F18・LT・Stx2eが2株（2.5％），F18・ST，F18・ST・Stx2eが各1株（1.3％）であった（表3）。

以上，(1)～(3)までの各性状の関係をみると，最も検出率の高かったO147の病原因子はいずれもF18・LT，耐性薬剤数は1～6剤とバラツキはあるものの，SM・OTC・CP・STに対しては90％以上が耐性であった（図2）。O116はいずれもF18・LT・ST・Stx2eを有し，6～8剤耐性で，ABPC・SM・KM・GM・OTC・STには全株耐性で，ERFX耐性もあった。O149およびO141も若干の違いはあるものの，血清型によりほぼ同様な組み合わせとなった。

(4) 農場別薬剤耐性パターン

農場別に薬剤耐性パターンを整理したものを表4に示した。最も分離株数の多いO147は8農場から分離され，中でもSM・OTC・CP・STの4剤耐性株が5農場から分離された。また，7剤以上の多剤耐性を示すO116が3農場から分離された。各農場由来株の薬剤耐性パターンと抗菌薬使用状況には高い関連性を認めることができなかった。また，使用頻度が比較的高いCLには全く耐性株が認められなかった。一方，テトラサイクリン系抗菌薬を使用している農場のうち，KM耐性が4農場で，ST耐性が5農場で認められた。

PWDの継続発生を確認している4農場における薬剤耐性パターンの変化を表5に示した。これらのうち3農場で事例を重ねるにつれ新たな薬剤耐性化が認められた。しかし，使用抗菌薬との明確な関連性は認められなかった。

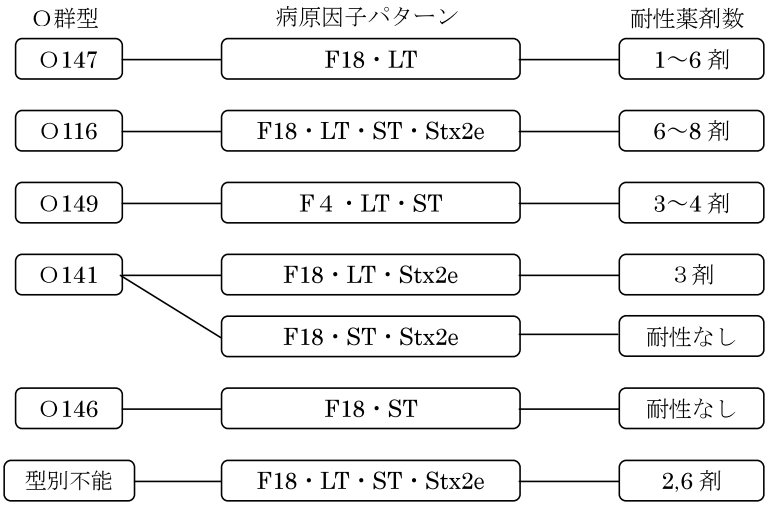

図2　血清型，病原因子パターン，耐性薬剤数との関係

表4 分離菌の薬剤耐性パターン（農場別）

農場	O型	耐性薬剤数	耐性パターン ABPC	SM	KM	GM	OTC	CP	ST	ERFX	使用抗菌薬
A	147	6	○	○	○		○	○	○		CTC，SM，LCM，CL
B	147	5		○	○		○	○	○		OTC，ST，PCG，ABPC，BCM
C	147	5		○			○	○	○	○	ERFX
D	147	4		○			○	○	○		FF，ST
E	147	4		○			○	○	○		FRM，ERFX，PCG，KM，ST，TS
F	147	4		○			○	○	○		不明
G	147	4		○			○	○	○		CTC，CL
H	147	4		○			○	○	○		AVM，CL，ST，TS，ABPC
	149	4	○				○	○	○		
I	116	8	○	○	○	○	○	○	○	○	AVM，CL，OTC，ABPC
	UT	2	○				○				
J	116	7	○	○	○	○	○		○	○	PCG
K	UT	6		○	○		○	○	○	○	CL
L	116	8	○	○	○	○	○	○	○	○	CTC，PCG
	146	0	○				○				
M	141	3				○	○		○		不明
	141	0									

備考 UT：型別不能
各農場とも直近の耐性パターンを示す。
使用抗菌薬は農場としての使用抗菌薬を示す（使用対象には拘らない）。
表中塗り潰しは当該農場での使用抗菌薬（各系統として）を示す。

表5 PWD継続発生農家における薬剤耐性パターンの変化

農場	分離年月	O型	耐性パターン ABPC	SM	KM	OTC	CP	ST	ERFX	使用抗菌薬
A	H19.6	147		○		○	○	○		CTC，SM，LCM，CL
	H19.10	147	◎	○		○	○	○		
	H19.11	147	○	○	◎	○	○	○		
D	H18.3	147		○		○	○	○		FF，ST
	H18.6	147		○		○	○	○		
	H18.9	147		○		○	○	○		
E	H15.9	147				○				FRM，ERFX，PCG，KM，ST，TS
	H15.9	147				○	○	○		
	H19.5	147		◎		○	○	○		
	H19.6	147		○		○	○	○		
H	H15.5	149	○			○	○	○		AVM，CL，ST，TS，ABPC
	H15.10	149	○			○	○			
	H16.3	147		○		○	○			
	H16.3	147		○		○	○			
	H17.10	147		○		○	○	◎		
	H17.11	147		○		○	○	○		
	H17.12	147		○		○	○	○		
	H18.3	147		○		○	○	○		
	H18.6	147		○		○	○	○		
	H18.10	147		○		○	○	○		

備考 使用抗菌薬は農場としての使用抗菌薬を示す（使用対象には拘らない）。
表中塗り潰しは当該農場での使用抗菌薬（各系統として）を示す。
表中◎は新たに耐性化が認められたもの。

4．健康豚糞便由来大腸菌の薬剤感受性試験

健康肥育豚および母豚糞便由来大腸菌を対象とした薬剤感受性試験を以前に実施したので，その成績を PWD 由来大腸菌のものと比較した。ただし，肥育豚由来大腸菌では ST の替わりにトリメトプリム（TMP）について実施した。

(1) 健康肥育豚由来大腸菌

平成 14 年度および 16 年度に県独自の調査および動物用医薬品危機管理対策事業により実施した。県内全域を対象とし，農場数，分離株数などは表 6 に示した。耐性株の割合，多剤耐性率ともに PWD 由来大腸菌に比べ低かった。また，各薬剤の耐性率も総じて PWD 由来大腸菌より低い傾向にあった（図 3）。

(2) 健康母豚由来大腸菌

平成 19 年度に県独自の調査により実施した。対象地域は県内 A 地域であり，当該地域は平成 19 年度に入り，PWD の発生を 3 農場 6 件確認している。農場数・分離株数などを表 6 に示した。耐性株の割合，多剤耐性率ともに PWD 由来大腸菌に比べ低く，また，各薬剤の耐性率も総じて PWD 由来大腸菌より低い傾向にあった（図 3）。なお，耐性パターンも PWD 由来大腸菌とは異なっていた。

(1)・(2) ともに PWD 由来大腸菌と同じく CEZ および CL には 100％感受性であった。また，使用抗菌薬との明確な関連性は PWD 由来大腸菌と同じく認められなかった。

表6　健康豚糞便由来大腸菌薬剤感受性試験成績

調査対象	県内全域（健康肥育豚）		県内 A 地域（健康母豚）
年度	平成 14 年度	平成 16 年度	平成 19 年度
農場数	15	9	12
検体数	30	9	25
分離農場数	12	9	12
分離株数	12	18	50
耐性株数	8（66.7％）	14（77.8％）	38（76.0％）
耐性薬剤数	1 ～ 8 剤	1 ～ 5 剤	1 ～ 5 剤
多剤耐性株数	2	5	8

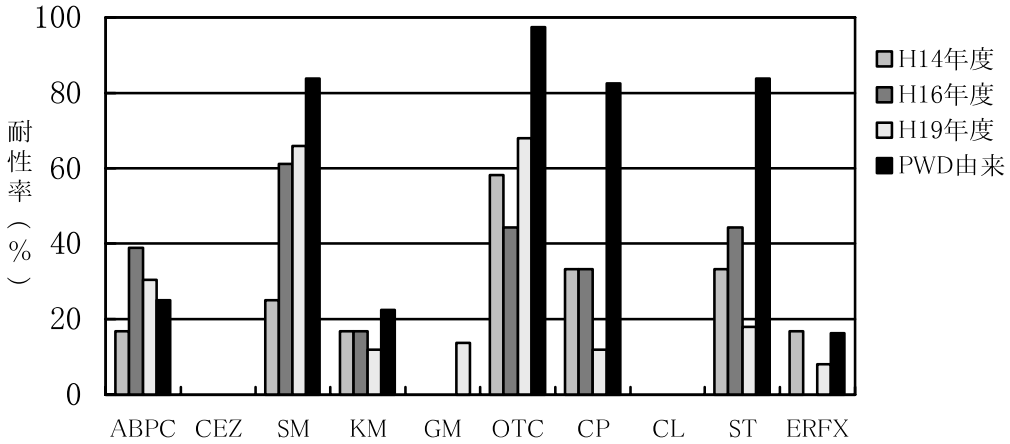

図3　PWDおよび健康豚由来大腸菌の薬剤耐性率

5．まとめと考察

県内で分離されたPWD由来大腸菌について薬剤感受性を調査した結果，OTC，SM，STおよびCPで耐性率が高く，また，多剤耐性の傾向があった。薬剤耐性，O群血清型別および病原因子パターンには相関性が認められた。特に，O116は分離された全ての株が多剤耐性，さらに9株中8株がERFX耐性であり，今後，注意が必要と考えられた。テトラサイクリン系抗菌薬使用農場でKMおよびSTの耐性が認められたことは，原田らの報告［4］で示されたように，テトラサイクリン系抗菌薬の使用がKMやST（TMP）の耐性を選択した可能性が考えられた。

耐性パターンは農場により異なっており，各農場での抗菌薬使用状況を反映しているものと推測されたが、使用が認められない抗菌薬に耐性を示しているなど，明確な関連性を認めることができなかった。これはPWD継続発生農家での薬剤耐性化においても同様である。また，農場での使用頻度が比較的高いCLに対して耐性を示す株が全く存在していなかったことは興味深い。PWD継続発生農場では，発生が重なるにつれ新たな耐性化が認められた。使用抗菌薬との関連は不明ではあるが，継続発生農家での抗菌薬の使用にあたってはより慎重に行う必要があると考えられた。

健康豚由来大腸菌はPWD由来大腸菌に比較して各薬剤に対する耐性率は低い傾向にあり，多剤耐性率も低いものであった。これらの結果が非病原性／病原性大腸菌の特性によるものなのか，今回分離された血清型（O147やO116など）の特性によるものなのか，またはそれら以外の理由によるものなのかは現段階では不明である。今後も追加調査・追跡調査を実施していきたい。

養豚農家では疾病の予防・治療に抗菌薬を使用する傾向が他畜種に比較して高い。今回の調査では薬剤耐性と使用抗菌薬との明確な関連性は認められなかったが，安易な抗菌薬の使用はこれら大腸菌の更なる耐性化を招くばかりか，他病原菌にも耐性化を招く可能性があることを考慮しなければならない。今後も薬剤耐性の動向を監視・把握し，抗菌薬の適切な使用について指導すると共に，同時に，抗菌薬に頼らない飼養管理の指導にも努めていきたい。

6．謝　辞

本稿を終えるにあたり，O群血清型別を実施いただきました独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所 中澤宗生先生に深謝します。

要　約

1　平成15～19年度に県内で発生した豚離乳後下痢症（PWD）由来大腸菌80株（13農場33事例68頭）を用い，薬剤感受性試験，O群血清型別，病原因子検査および農場での抗菌薬使用状況調査を実施した。さらに健康豚由来大腸菌の薬剤感受性との比較を行った。

2　80株中78株で薬剤耐性が認められた。OTC，SM，ST，CPの順に耐性率が高く，一方，CEZ，CLには耐性株が認められなかった。多剤耐性株は63株認められ，特に5株はERFX耐性を含む8剤耐性であった。薬剤耐性・病原因子・O群血清型別にはある程度の相関性が認められた。

3　耐性パターンと使用抗菌薬との明確な関連性は認められなかった。PWD継続発生農場の一部では新たな耐性化が認められた。

4　健康豚由来大腸菌の薬剤耐性率はPWD由来大腸菌に比べ低いものであった。

引用文献

1）中澤宗生：豚の大腸菌性下痢．最新ブタの病気，農林水産省家畜衛生試験場監修，128～131，家の光協会，東京（2000）

2）Imberechts H, De Greve H, Schlicker C, et al.：Characterization of F107 fimbriae of *Escherichia coli* 107/86, which causes edema disease in pigs, and nucleotide sequence of the F107 major fimbrial subunit gene, fedA. Infect Immun, 60, 1963-1971（1992）

3）Johnson WM, Pollard DR, Lior H, et al.：Differentiation of genes coding of *Escherichia coli* verotoxin 2 and the verotoxin associated with porcine edema disease（Vte）by the polymerase chain reaction. J Clin Microbil, 28, 2351-2353（1990）

4）Harada K, Asai T, Kojima A, et al.：Contribution of multi-antimicrobial resistance to the population of antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from apparently healthy pigs in Japan. Microbiol Immunol, 51, 493-499（2007）

Drug Resistance of Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) Isolated from Porcine Postweaning Diarrhea (PWD) in Saitama Prefecture

Rie ARAI

Saitama Prefectural Chuo Livestock Health Station, 107-1 Bessyo-cho, Kita-ku, Saitama, 331-0821, Japan

Eighty isolates of ETEC isolated from 68 postweaning diarrheal piglets reared on 13 farms (63 cases) in Saitama prefecture between 2003 and 2007 were investigated for drug resistance (10 drugs), serotypes, virulence factors (F4, F18, LT, ST, Stx2e). And their drug resistances were done for the relationship with antibiotics using on each farms.

Seventy-eight isolates of them were resistant to one to 8 drugs. The resistance rate of isolates to OTC (97.5%), SM (83. 8%), ST (83. 8%), CP (82. 5%) was very high, whereas all isolates were sensitive to CEZ and CL. Of 80 isolates, the number of strain resistant to 4 drugs was most prevalent, for 39 isolates, and 3 or 5 drugs were each for 11 isolates. Five isolates were resistant to 8 drugs including ERFX. Sixty-three isolates were multiple drug resistant. Drug resistances were more or less correlative with serotypes and virulence factors. Fifty-nine isolates were serotyped as O147 with F18, LT, resistant to 1 to 6 drugs, especially the resistance rates to SM, OTC, CP and ST were over 90%. O116s had F18, LT, ST, Stx2e as virulence factor, were resistant to 6 to 8 drugs, especially completely to ABPC, SM, KM, GM, OTC and ST. In addition most of them were resistant to ERFX. Acording to farms the drug resistance patterns were different. Although we assumed that the drug resistance patterns reflected the antibiotics using on each farms, these relationships were not clarified in this study. The number of resistant drug increased in a part of farms the occurrences of PWD lasting in.

Previously we investigated the drug resistance of *E. coli* isolates from healthy pigs in Saitama prefecture. As a result those were resistant to ABPC, SM, KM, GM, OTC, CP and TMP, etc. The resistance rates to each drug were 20 to 50%, which were lower than the rates of ETEC associated with PWD.