

原 著

発酵床を利用して多頭数を1群飼育する肥育豚農場で発生した浮腫病事例の細菌学的及び病理学的検討と予防対策効果

昆野雄介^{†1)} 高橋真紀¹⁾ 熊谷芳浩¹⁾ 昆野 勝¹⁾ 佐藤裕夫²⁾

要 約

発酵床を利用する1肥育豚農場の5棟で導入後7～23日目(82～103日齢時)に死亡が増加し、1棟約560頭中2～50頭(0.4～8.7%)が眼瞼や耳根部の浮腫を示して24時間以内に死亡した。2棟由来の死亡豚4頭を病理学および細菌学的に検索した結果、全身諸組織における血管症および水腫が観察され、3頭の空腸粘膜や腸間膜リンパ節から β 溶血を示す腸管毒血症性大腸菌O139が分離された。分離株は複数の薬剤に耐性を示した。本病が発生した2棟の環境材料から溶血性大腸菌は分離されなかった。生菌製剤と炭酸亜鉛を混合して飼料添加する予防対策を実施した1棟の死亡率は0%を示し、同予防対策が本事例では有効であった。

キーワード：浮腫病、腸管毒血症性大腸菌、肥育豚、発酵床、炭酸亜鉛

豚の浮腫病は大腸菌による腸管毒血症であり、腸管毒血症性大腸菌(ETEEC)が小腸に定着して増殖し、産生された志賀毒素(Stx) 2eにより引き起こされる疾患である[1-3]。病豚の典型的な症状は元気消失と食欲不振の後に発現する中枢神経障害と急死で、眼瞼や前頭部の浮腫を伴い、主要病変は諸組織の水腫と血管症により特徴づけられる[1-3]。

本病の発生は一般に離乳後の発育が良好な子豚にみられ、危険因子として高蛋白飼料の給与や給与飼料の変更に伴う腸内環境の急変に加えて、群の再編成、輸送、収容豚房の変更、寒冷感作等の環境ストレスが指摘されている[1]。従来、本病は散発的で短期間に終息するとされていたが[1, 3]、近年では国内において大規模発生事例がいくつか報告され、発生農場の経済的被害は増大する傾向にある[3-5]。

本病の予防および治療の目的で抗菌薬が用いられているが[4-6]、原因菌の薬剤感受性の低下や多剤耐性化が報告され[7, 8]、抗菌薬に代わる予防対策の確立が望まれている。給与飼料量の制限や低タンパク飼料の給餌の有効性も知られているが[1-3]、飼養豚群の大規模化と不断給餌システムの普及が進み、飼料効率を高めて生産コスト低減を目指している養豚業の現

状を考慮すると、給餌法や飼料組成の変更による本病の予防は困難である。また、豚舎環境の消毒も本病対策のひとつとして行われているが[6]、敷料をリサイクルする発酵床を利用している農場において消毒の確実な実施は難しい。

本報告では、発酵床を利用して多頭数を1群で飼育する1肥育豚農場で発生した浮腫病の細菌学的及び病理学的検査成績を記載する。また、予防対策を検討し、その有効性を認めたので報告する。

材料及び方法

飼養管理状況：発生農場では75～180日齢の肥育豚4,500頭が8棟(1～8号棟)の豚舎で飼養され、1棟に約560頭が収容されていた。同豚舎は開放式で、1棟の構造は床面がコンクリート製の給餌エリア(床面積170m²)と発酵床を80～90cmの厚さに堆積した休息エリア(床面積450m²)から成っていた。オガクズを利用した発酵床は、3週間の空舎期間に3回攪拌して再利用されていた。

発生農場には同一の繁殖農場で生産された肥育素豚が導入されていた。肥育素豚は21～28日齢時に離乳して群を再編成され、異なる豚房へ移動後は1豚房あた

¹⁾ 水沢支会，岩手県南家畜保健衛生所 〒023-0003 奥州市水沢区佐倉河字東館41-1

²⁾ 岩手支会，岩手県中央家畜保健衛生所 〒020-0605 滝沢市砂込390-5

り80頭で群飼されていた。肥育素豚の発生農場への移動は75～85日齢時に3日間に分けて行われ、1日目と2日目には3豚房の240頭、3日目には1豚房の80頭が1台のトラックで運搬されていた。すなわち、発生農場では1号棟から8号棟まで順に肥育素豚が導入（オールイン）され、導入時の群の再編成は1棟で3日間連続して行われる状況であった。

肥育豚用飼料への切り替えは、肥育素豚を移動する1週間前から繁殖農場において実施されていた。繁殖農場から発生農場へ移動する際の餌や水の制限時間は3時間程度と推定された。

発生農場の死亡豚及び環境材料を以下のとおり検索した。また、対策を実施し、本病の死亡率を推計した。

病理学的検査：死亡豚4頭（2号棟由来で83日齢の2頭、4号棟由来で93日齢の2頭）の剖検を行い、全身諸組織から得た検査材料を10%緩衝ホルマリン液で固定してパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施して鏡検した。

細菌学的検査：剖検時に得た死亡豚4頭の肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、空回腸粘膜、同付属リンパ節及び脳を、37℃の好気性及び嫌気性下で48時間培養した。好気性培養には5%羊血液加及びDHL寒天培地を、嫌気性培養には5%卵黄加GAM寒天培地を用い、後者はガスパック法で培養した。分離菌株を市販キット（アピ20、日本バイオメリュー(株)、東京）により同定した。

分離された大腸菌株の血清型を市販のO群免疫血清（病原大腸菌免疫血清「生研」、デンカ生研(株)、東京）を用いてスライド凝集法により決定した。同分離株について、Stx2e産生遺伝子（*Stx2e*）[9]、F18線毛の主要サブユニット遺伝子（*fedA*）[10]、易熱性エンテロトキシン遺伝子（*LT*）及び耐熱性エンテロトキシン遺伝子（*ST*）[11]を既報に従いPCR法により検索した。同分離株の薬剤感受性試験は1濃度ディスク拡散法により実施し、アンピシリン（ABPC）、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）、コリスチン（CL）、クロラムフェニコール（CP）、ホスホマイシン（FOM）、スルフアメトキサゾール・トリメトプリム合剤（ST）及びエンフロキサシン（ERFX）の計11種の薬剤を用いた。

環境材料の細菌学的検査：環境材料は11月5日に2棟（発病前の5号棟と発病後の4号棟）から採取し、給餌エリアからぬぐい液各5検体と休息エリアから発酵床各1検体、計12検体を得た。すなわち、市販の滅菌生理食塩水を浸した滅菌綿棒（ふきふきチェックII、栄研化学(株)、東京）で給餌器、給水器および床面を1か所あたり100cm²（10cm四方）ぬぐい1検体とした。発酵床は任意の5か所から採取して混合し、20gを計量して1検体とした。各検体を段階希釈し、前述の方法により好気性培養して溶血性大腸菌の分離を試みた。

実施した対策：発生農場では本病発生前から、肺炎や下痢の予防を目的とした抗菌薬（ドキシサイクリン、チアムリン、タイロシン）の飼料添加を肥育素豚の導入日から約30日間実施していた。本病が発生した棟では、病豚にアンピシリンまたはエンフロフロキサシンを筋肉注射し、死亡数が増加した日から減少する日までフロルフェニコールの飲水投与を併用した。

表1に示すように、本病の発生予防を目的に実施した対策は棟により異なり、2号棟由来の死亡豚の病性鑑定成績が判明した後に3号棟から開始した。3号棟及び5号棟ではコリスチンと生菌製剤、4号棟では生菌製剤、6号棟では生菌製剤と炭酸亜鉛を飼料添加した。添加した割合はコリスチンでは有効成分として0.2%、生菌製剤では製剤として0.2%、炭酸亜鉛では製剤として0.5%であり、添加期間はいずれも導入日から30日間であった。

死亡率の推計：計6棟（1～6号棟）について、導入日から出荷日までの死亡頭数と病豚の臨床症状を調査した。本病による死亡頭数は臨床症状から推定し、

表1 実施した予防対策と死亡率

棟	導入 月日	飼料添加			死亡率** (%)
		抗菌薬	生菌製剤	炭酸亜鉛	
1号棟	8/12				0.4
2号棟	8/26				8.7
3号棟	9/9	●*	●		1.6
4号棟	10/14		●		3.7
5号棟	10/28	●	●		3.1
6号棟	11/11		●	●	0.0

* ●：実施した対策

** 死亡率：導入後30日間の死亡頭数／導入頭数

表2 死亡状況

棟	死亡月日	日 齢	導入後日数	死亡頭数/導入頭数	死亡率(%)
1号棟	8/25	90	14	2 / 565	0.4
2号棟	9/1~9/17	82~98	7~23	50 / 572	8.7
3号棟	9/23~10/1	90~98	15~23	9 / 557	1.6
4号棟	10/21~11/1	92~103	8~19	20 / 547	3.7
5号棟	11/8~11/13	86~91	12~17	17 / 546	3.1



図1 2号棟由来の剖検豚(83日齢)の外観。上眼瞼および下眼瞼は顕著に腫脹している。

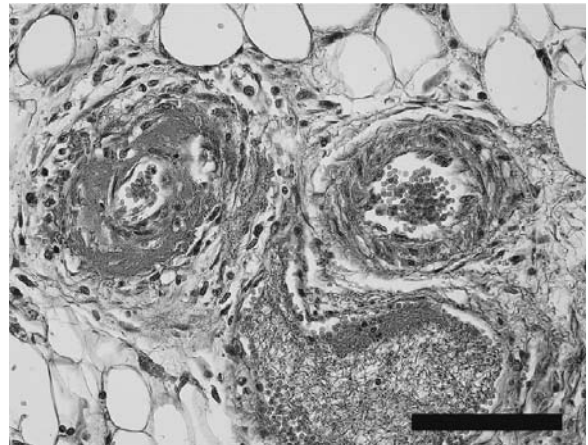


図2 4号棟由来の剖検豚(93日齢)の空腸動脈。内皮細胞の腫大、中膜の硝子様変性および外膜への軽度な細胞浸潤が観察される。(HE染色 Bar=100 μ m)。

すべての棟において導入後30日間の死亡頭数の累計とした。死亡率は棟ごとに算定し、前述の死亡頭数の累計を導入頭数で除した値とした。

成 績

発生した事例の所見：2012年8月から10月に導入された5棟(1~5号棟)に本病が発生した。82日ないし103日齢の豚が導入後7~23日目に死亡し、1棟あたりの死亡率は0.4~8.7%に及んだ(表2)。病豚は眼瞼や耳根部の腫脹を示した後24時間以内に死亡し、発育が良好な個体に好発した。前駆症状がみられないまま死亡して発見された個体も存在した。病豚に下痢は観察されなかった。

病理学的検査成績：剖検した4頭に同様の所見が認められた。眼瞼は腫脹し(図1)、胃腸壁は弛緩して腹腔に水様内容物が貯留し、空回腸付属リンパ節は腫大していた。重度ないし中等度の水腫が胃腸漿膜、腸間膜、心外膜、眼瞼皮下組織及び肺にみられ、肺ではうっ血を伴っていた。

主要な組織学的病変は全身諸組織の血管症と水腫であった。血管病変は胃から回盲部に至る消化管の粘膜下組織と漿膜ならびに腸間膜に好発した。同病変は内皮細胞の腫大と中膜構成細胞の水腫性膨化から成り、

少数の動脈では内膜及び中膜構成細胞の硝子様変性と外膜への軽度な細胞浸潤を伴っていた(図2)。同様の血管病変は、肝臓、腎臓及び脾臓にもまれに観察された。

細菌学的検査成績：3頭(2号棟由来の2頭と4号棟由来の1頭)の空腸粘膜あるいは空回腸付属リンパ節からETEECが分離された。分離株は β 溶血性を示し、抗O139血清により凝集し、*Stx2e*および*fedA*を有していた。同菌株から*LT*および*ST*は検出されなかった。3頭由来の菌株は共通してABPC, SM, OTC, CPに耐性を示し、2号棟由来の1頭から分離された株は*ST*に、4号棟由来の1頭から分離された株はGMとCLにも耐性を示した。他薬剤には中間ないし感受性であった。嫌気培養により有意菌は分離されなかった。

環境材料の細菌学的検査成績：環境材料から溶血性大腸菌は分離されなかった。

死亡率：棟ごとの死亡率は、予防対策実施前の1号棟で0.4%、2号棟で8.7%であった。予防対策実施後は、コリスチンと生菌製剤を飼料添加した3号棟及び5号棟でそれぞれ1.6%及び3.1%、生菌製剤を単独で飼料添加した4号棟で3.7%、生菌製剤と炭酸亜鉛を飼料添加した6号棟で0%であった(表1)。以降、

2013年6月までに導入され、生菌製剤と炭酸亜鉛を混合して飼料添加した棟に本病を疑う死亡は認められなかった。

考 察

1 肥育豚農場の5棟に導入された豚が導入後7～23日目に死亡し、1棟あたりの死亡率は0.4～8.7%に及んだ。病豚は眼瞼や耳根部の腫脹を示した後24時間以内に死亡し、死亡前に症状がみられない個体も存在した。2棟由来の病豚を検索した結果、諸組織に水腫と血管症が観察され、空腸粘膜および腸間膜リンパ節からETEECが分離された成績より浮腫病と診断した。他3棟の病豚について原因検索は行われなかったものの、死亡時期や病豚の症状から浮腫病が死因と考えられた。

浮腫病の発生が継続した事例では、分離菌株に殺菌効果を示す抗菌薬の予防的投与では症状の改善や死亡率の低下に効果はみられず [12]、発生初期に効果を示した抗菌薬が発生後期には効果を示さなかったことが報告されている [5]。また、ある種の抗菌薬は投与した病豚の症状を悪化させ、死亡率を増加させることも指摘されている [5, 6]。

本事例においても、抗菌薬を予防的に飼料添加した2棟の死亡率は1.6及び3.1%で、発病を完全に予防することはできなかった。病豚からの分離株が複数の薬剤に耐性を示した成績からも、抗菌剤の使用は発病豚の治療に限ることが望ましいと考えられた。

海外では酸化亜鉛が抗菌薬の代替品として推奨され、下痢の低減や発育の向上を目的として2,400～3,000ppmの亜鉛が子豚の飼料に添加されている [1]。亜鉛の作用として、腸管毒素原性大腸菌の腸細胞への付着と侵入を抑制することが報告されているが [13]、浮腫病起因菌であるETEECへの影響は明らかにされていない。

本事例では、炭酸亜鉛と生菌製剤を混合して飼料添加した棟で本病の発生は認められず、炭酸亜鉛と生菌製剤の同時利用は有効な結果となった。生菌製剤を単独で飼料添加した棟では発生が継続したことから、炭酸亜鉛が浮腫病予防に効果を示す可能性が示唆された。他方、亜鉛が高濃度に含まれる豚糞やその堆肥を介した土壌の蓄積性汚染が環境面の課題として指摘されている [14, 15]。本事例で採用した高濃度の炭酸亜鉛を飼料添加する対策は、豚由来の糞尿による土壌汚染を助長することから、一時的な活用に留め、糞尿を土壌に還元する農場では採用しないことが望ましいと考えられた。

本病の感染源として、分娩房での母豚からの感染に

加え、保菌子豚からの水平感染や豚舎環境からの感染が指摘されている [3]。本事例では豚舎の環境材料から溶血性大腸菌は分離されず、検索した範囲で感染源は特定できなかった。

引用文献

- [1] Fairbrother JM, Gyles CL : Colibacillosis, Diseases of swine, Zimmerman JJ. et al. eds, 10th ed, 723-749, John Wiley & Sons, West Sussex (2012)
- [2] 中澤宗生：大腸菌病，豚病学，柏崎守，他編，第四版，328-337，近代出版，東京（1999）
- [3] 末吉益雄：子豚の下痢を伴う浮腫病（大腸菌性腸管毒血症），豚病会報，48，7-13（2006）
- [4] 上村涼子，末吉益雄，田浦保穂，他：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）
- [5] 由地裕之，末吉益雄，永友寛司，他：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，日獣会誌，62，211-214（2009）
- [6] 川嶋和晴，影山 実，伊藤謙一，他：豚大腸菌性腸管毒血症の集団発生病例，日獣会誌，50，89-91（1997）
- [7] Uemura R, Sueyoshi M, Nagayoshi M, et al. : Antimicrobial susceptibilities of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from pigs with edema disease in Japan, Microbiol Immunol, 47, 57-61（2003）
- [8] 又吉正直，大城 聡，安里 仁，他：浮腫病由来志賀毒素産生大腸菌の病原遺伝子，薬剤感受性および薬剤耐性遺伝子，豚病会報，56，7-11（2010）
- [9] Yamasaki S, Lin Z, Shirai H, et al. : Typing of verotoxins by DNA colony hybridization with poly- and oligonucleotide probes, a bead-enzyme-linked immunosorbent assay, and polymerase chain reaction, Microbiol Immunol, 40, 345-352（1996）
- [10] 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）
- [11] 伊藤文明，山岡弘二，荻野武雄，他：下痢原性大腸菌におけるPCR法，臨床病理，43，772-775（1995）

- [12] 秦 守男, 橋本尚美, 福富豊子, 他: 飲水を介した離乳豚の大腸菌性腸管毒血症の発生, 日獣会誌, 51, 659-661 (1998)
- [13] Roselli M, Finamore A, Garaguso I, et al.: Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by *Escherichia coli*, J Nutr, 133, 4077-4082 (2003)
- [14] 磯部 等, 関本 均: 栃木県における豚用飼料, 豚ふんおよび豚ふん堆肥の重金属含量の実態, 日本土壤肥科学雑誌, 70, 39-44 (1999)
- [15] 伊藤篤史, 村山重俊, 池田順一, 他: 家畜ふん堆肥連用畑土壌におけるカリウム, マンガン, 鉄, 銅, および亜鉛の存在形態と希塩酸抽出性, 日本土壤肥科学雑誌, 81, 563-572 (2010)

文 献 抄 録

カナダの野生カナダガン、ナキハクチョウおよびコブハクチョウにおける鳥類ボルナウイルスの病理学および診断：回顧的研究

Delnatte P, Ojkic D, DeLay J, Campbell D, Crawshaw G and Smith DA
(オンタリオ獣医大学, カナダ)
Avian Pathol, 42, 114-128 (2013)

1992年から2011年の間で、オンタリオ州における野生のカナダガン、ナキハクチョウ、コブハクチョウから集められた955の病理症例は、鳥類ボルナウイルス (ABV) 感染との病理学的関連を回顧的に評価された。症例は、上部消化管の重積や中枢神経系の組織病理学または、ABV感染を示唆する病歴を基準として選択された。これらの基準に少なくとも一つをみたす鳥類の割合は、オンタリオ州のその他の地域 (21/823) よりもトロント動物園 (30/132) で著しく高値であった。中枢、末梢および自律神経系組織では、組織病理学的にリンパ球や形質細胞の出現が評価された。ウイルスの出現は凍結脳

組織、ホルマリン固定されたパラフィン包埋組織において、免疫組織化学やRT-PCRにより検査された。選ばれた症例のうち、86.3% (44/51) は組織病理学的に陽性と考えられ、56.8% (29/51) は免疫組織化学的に陽性であり、RT-PCRでは凍結脳組織の88.2% (15/17)、ホルマリン固定されたパラフィン包埋サンプルでは78.4% (40/51) が陽性であった。組織病理学的病変は、グリオーシスや脳 (97.7%)、脊髄 (50%)、末梢神経 (55.5%)、筋層間神経叢または神経 (62.8%) におけるリンパ形質細胞性の囲管性細胞浸潤であり、オウムにおける腺胃拡張症の病変と類似していた。7羽のガンからのヌクレオカプシド遺伝子の部分的アミノ酸配列は、ガン自身で100%の相同性を示し、水禽では98.1から100%がアメリカにおいて近年報告されているものと一致した。ABVは明らかに健康なガンで同定されてきたが、我々の研究ではABVもまた野生の水禽種の重要な病気と関連するということが確かめられた。

(岩手大学獣医病理学研究室)