

# 1 1 . 県内養豚場由来 *Salmonella* Choleraesuis の分子疫学解析

大分家畜保健衛生所

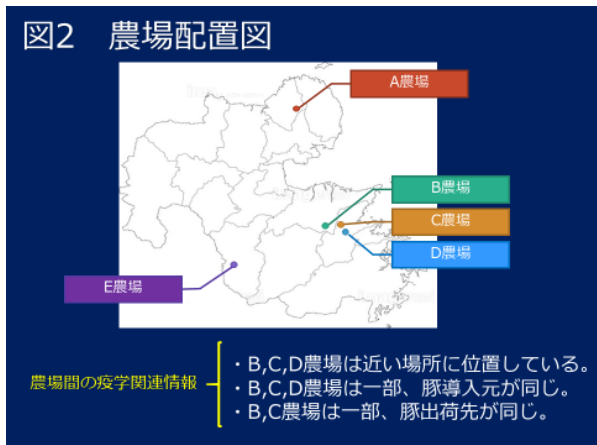
○ 病鑑 梅田麻美

## 【はじめに】

*Salmonella* Choleraesuis (以下、SC) は豚のサルモネラ症の起因菌の一つで豚に下痢や敗血症、時に流産を引き起こし、一部、人にも敗血症を引き起こすことが知られている<sup>1)</sup>。家畜伝染病予防法においては、*S. Typhimurium* や *S. Enteritidis* とともに届出伝染病に指定されており、サルモネラの中でも養豚業に大きな影響をおよぼす点で、重要である。県内においても、SC を原因とする豚のサルモネラ症が 2010 年～2020 年にかけて 5 農場 (A～E 農場) で発生した (図 1、2)。今回、今後の対策等に有効な情報を得るため菌株間の疫学的関連を調査することを目的に、分離された菌株を用いて、分子疫学解析を実施したので、その結果を報告する。

図 1 県内のSCによるサルモネラ症発生事例

農場	年度	日齢	分離菌株	臨床症状など	薬剤使用歴	解析菌株 No.
A農場	2019	35日齢	<i>Salmonella</i> <i>Choleraesuis</i> (7:c:1,5) (生物型 Kunzendorf)	下痢、発育不良	不明	1
		35日齢		下痢、発育不良	不明	13
		43日齢		急死	オキシテトラサイクリン	2
B農場	2019	2日齢		早産、流産	不明	14
		90日齢		早産、流産	オキシテトラサイクリン	15
	2020	60日齢		呼吸器症状	不明	6
		60日齢		呼吸器症状	不明	7
		120日齢		呼吸器症状、下痢	アンピシリン、 メシル酸フロキサシ	8
C農場	2010	174日齢		発育不良、チアノーゼ	不明	9
	2019	60日齢		急死	アイグロシン、ST合剤	3
		90日齢		急死、死亡増加	フロルフェニコール、ST合剤	4
	2020	90日齢		急死、死亡増加	不明	5
		150日齢		呼吸器症状、衰弱	フロルフェニコール	16
D農場	2012	90日齢		チアノーゼ、呼吸器症状	アンピシリン、テトラサイクリン、 チアムリン、ツラスロマイシン	11
	2015	91日齢		呼吸器、死亡増加	アンピシリン、テトラサイクリン、 チアムリン、ツラスロマイシン	12
E農場	2011	90日齢		発育不良、咳	フロルフェニコール、カナマイシン、 リンコマイシン、ドキシサイクリン、 アンピシリン、オルビフロキサシ、 ノルフロキサシ	10



## 【材料および方法】

### 1. 材料

県内養豚場由来 SC 16 株 (No. 1～No. 16) を材料とした。内訳は A 農場由来 2 株 (No. 1、No. 13)、B 農場由来 6 株 (No. 2、No. 6～8、No. 14、No. 15)、C 農場由来 5 株 (No. 3～5、No. 9、No. 16)、D 農場由来 2 株 (No. 11、No. 12)、E 農場由来 1 株 (No. 10)。

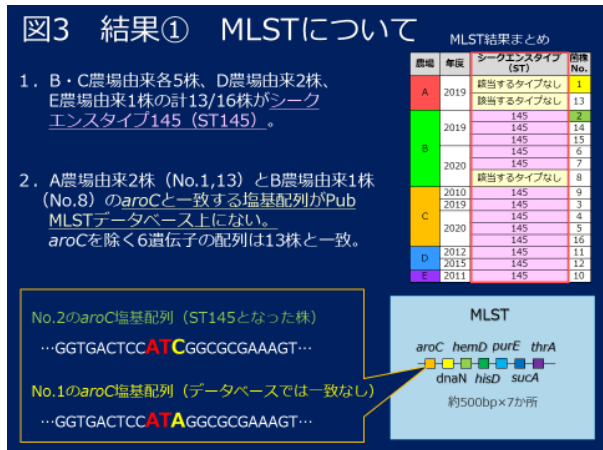
### 2. 方法

- (1) Multilocus sequence typing (MLST) を実施。7 種類のハウスキーピング遺伝子 (*aroC*, *dnaN*, *hemD*, *hisD*, *purE*, *sucA*, *thrA*) を対象とした。
- (2) Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) を実施。制限酵素 Xba I で処理した後、実施。
- (3) 薬剤感受性試験 (ディスク拡散法および寒天平板希釈法) を実施。使用した薬剤

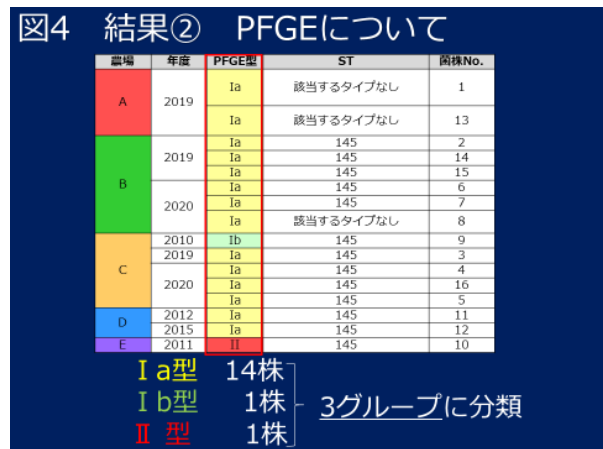
はアズトレオナム、アンピシリン(AMP)、アンピシリン/スルバクタム、イミペネム、アモキシシリン/クラブラン酸、カナマイシン(KAN)、クロラムフェニコール(CHL)、ゲンタマイシン、シプロフロキサシン、ストレプトマイシン(STR)、セファゾリン、セフェピム、セフォキシチン、セフォタキシム、テトラサイクリン(TET)、ナリジクス酸、ホスホマイシン、メロペネム、レボフロキサシン、ST 合剤(SXT)、コリスチン、スルファメトキサゾール (SUL) の 22 薬剤<sup>2)</sup>。

【結果】

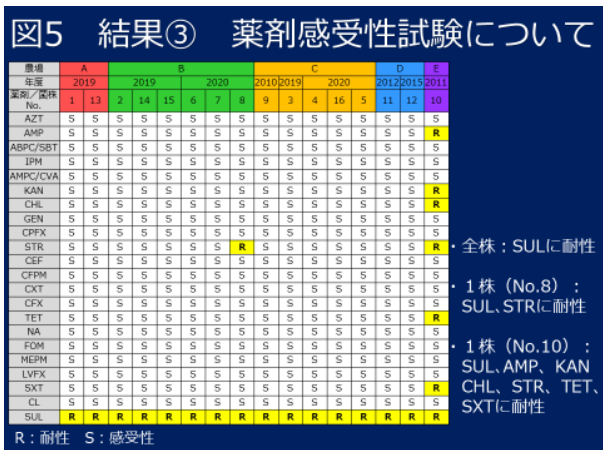
MLST の結果、16 株のうち 13 株は全て同じ配列で、シークエンスタイプ 145 となった。また、その他 3 株の A 農場由来 2 株 (No. 1, 13) と B 農場由来 1 株 (No. 8) については、7 遺伝子中の 1 遺伝子 *aroC* と一致する塩基配列がデータベース上に登録されておらず、シークエンスタイプが指定されなかった。*aroC* 以外の 6 遺伝子については、3 株と 13 株とで一致していた (図 3)。



PFGE の結果、4 本以上のバンドの相違があるものについてローマ数字で、3 本以内のバンドの相違をアルファベットで区別したところ、16 株は Ia 型 14 株 (A 農場 2 株、B 農場 6 株、C 農場 4 株、D 農場 2 株)、Ib 型 1 株 (C 農場 1 株)、II 型 1 株 (E 農場 1 株) の 3 グループに分類された (図 4)。



薬剤感受性試験の結果、16 株中 14 株は SUL 1 薬剤のみに耐性、B 農場由来 1 株は SUL に加え、STR の 2 薬剤に耐性、E 農場由来株は SUL に加え、AMP、KAN、CHL、STR、TET、SXT の 7 薬剤に耐性を示した (図 5)。



## 【考察】

MLSTの結果、13株はST145と指定され、その他3株についてはSTが指定されなかったが、13株とその他3株の差は7遺伝子のうち1遺伝子の1塩基であり、*aroC*以外の6遺伝子については、全て一致していたことから、両者は近縁な関係であると考えられた。(図6) また、SCにおける主要なシーケンスタイプはST66、ST68、ST139、ST145であり<sup>3)</sup>、その中でもST145はヨーロッパを始め、世界各国で分離されており、Enterobaseにおける登録菌株数が最も多いことから、県内流行株は特に主要なシーケンスタイプと考えられた。

PFGEの結果、SC16株は3グループ(Ia型、Ib型、II型)に分類されたが、そのうちIa型とIb型のバンドの相違は3本以内であり、テノバーらの基準に基づく<sup>4)</sup>、Ia型とIb型は疫学的に密接な関係があると考えられ(図6)、県内にはこれらIa、Ib型とII型の2つの異なる系統の株が浸潤していると考えられた<sup>5)</sup>。さらに、PFGE Ia型は16株中14株であり、本県の主要なPFGE型であると考えられた。

薬剤感受性試験結果の結果、16株中15株はほぼ同じ薬剤耐性状況であったが、1株については、系統の異なる複数の薬剤に耐性を示す多剤耐性株であり、家畜衛生上、今後もモニタリングが必要だと思われた。また、異なる年度や農場から分離された株でも、遺伝的に近縁と考えられる株については、薬剤耐性状況がほぼ同じであり、薬剤耐性化の点においてはあまり変化していないと考えられた。さらに、国内で分離されているSC株の薬剤耐性状況では、ストレプトマイシンやテトラサイクリンの耐性率が高い傾向にあるとの報告があり<sup>6)</sup>、県内流行株とは系統の異なる株である可能性が考えられた。

これらの分子疫学解析結果および薬剤感受性試験結果を総合的に考えると、県内のSCを起因とするサルモネラ症(豚)の多くは同一由来株によるものであると考えられた(図7)。

**図6 結果まとめ表**

農場	年度	PFGE型	ST	薬剤耐性パターン	菌株No.
A	2019	Ia	該当するタイプなし	SUL	1
		Ia	該当するタイプなし	SUL	13
		Ia	145	SUL	2
B	2019	Ia	145	SUL	14
		Ia	145	SUL	15
		Ia	145	SUL	6
	2020	Ia	145	SUL	7
		Ia	該当するタイプなし	STR, SUL	8
C	2010	Ib	145	SUL	9
		Ib	145	SUL	3
	2019	Ia	145	SUL	4
		Ia	145	SUL	16
		Ia	145	SUL	5
D	2012	Ia	145	SUL	11
	2015	Ia	145	SUL	12
E	2011	II	145	AMP, CHL, KAN, STR, SUL, SXT, TET	10

・PFGE Ia型とIb型は疫学的に密接な関係があると考えられる。  
 ・ST145と該当するタイプなしは近縁な関係にあると考えられる。

**図7 考察**

- ・PFGE Ia型とIb型は疫学的に密接な関係があると考えられる。
- ・ST145と該当するタイプなしは近縁な関係にあると考えられる。
- ・県内には大きく2つの系統の異なるSC株が浸潤している。
- ・SC16株のうち、PFGE Ia型(A、B、C、D農場由来)は分離年度や薬剤耐性状況、PFGE型、STを考慮すると、**同一由来株**であると考えられる。
- ・疫学的関連がないと思われる異なる農場からも**同一由来株**と思われるSCによるサルモネラ症(豚)が発生しており、SCが長期間にわたり、残存し、県内の農場間で維持されている可能性が考えられる。
- ・多剤耐性化傾向を示すSCの増加が懸念される。

## 【今後の対策】

本解析結果から、県内で発生したSCを起因とするサルモネラ症の多くは同一由来株によるものと考えられ、疫学的な関連がないと思われる複数の農場に何らかの経路で侵入している可能性が示唆された。

サルモネラ症をはじめとする疾病対策において、外部からの病原体の侵入を防止することは大変重要であり、今一度、飼養衛生管理基準の再確認・再徹底が必要であると考

えられた。また、一部、多剤耐性化傾向を示す SC が分離されていることから、One Health の一環でもある薬剤耐性菌対策に今後も継続的に取り組むことが重要であると考えられた。

#### 【参考文献】

- 1) 浅井鉄夫, 豚の *Salmonella* Choleraesuis 感染症—と畜場のサルモネラ症—, All About Swine, 30, 20-24 (2007)
- 2) 抗菌薬感受性検査のための標準法-第 24 版 JCCLS 著
- 3) Mark Achtman et al., 2012, Multilocus Sequence Typing as a Replacement for Serotyping in *Salmonella* enterica, Plos Pathogens
- 4) Tenover et al., Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995 ; 33 : 2233—9.
- 5) 北元憲利ら, パルスフィールド核酸電気泳動法によるサルモネラ食中毒の分子疫学調査, 感染症学雑誌第 79 巻第 2 号, 122-128
- 6) 柴田淑子ら, 平成 24 年度神奈川県家畜保健衛生所業績発表会集録, 60-66