

宮城県におけるSpaA-609G型豚丹毒菌の疫学的解析および薬剤耐性状況と情報還元による集団発生農場での終息事例

堀口 萌¹⁾・西村 英之¹⁾・後藤 郁男¹⁾・加藤 潤²⁾・荻原 康則¹⁾

1) 宮城県食肉衛生検査所

2) 宮城県動物愛護センター

要 約

近年、表面防御抗原タンパク（SpaA）をコードする遺伝子の609番目の塩基がチミンからグアニンに変異した豚丹毒菌（SpaA-609G型）の存在が報告されており、その全国的な蔓延が懸念されている中、県内出荷豚における豚丹毒発生数が増加傾向にあったことから、SpaA-609G型の県内浸潤状況と実態を把握するため、分離された豚丹毒菌について遺伝子解析および薬剤感受性試験を実施した。また、豚丹毒集団発生を認めたA農場について、家畜保健衛生所と連携して疫学調査および情報還元を行った。

遺伝子解析の結果、SpaA-609G型はA農場を含む6農場から検出され、本県中部から北部地域での浸潤が初めて明らかとなった。これら全てのSpaA-609G型はRAPD法により同一の遺伝子型を示したことから、同一クローンが蔓延しつつあると推察されたが、薬剤感受性試験によりペニシリン系薬剤が依然として有効であることも確認された。A農場で起きた集団発生は、分離株に関する情報還元により対応策がとられ、初発より1年で終息に至った。

本事例により、他の農場の抗体陰性豚群にSpaA-609G型が侵入した際にも急速な蔓延による被害が想定されるため、今後も関係機関への情報還元を効果的に実施することで、農場段階における疾病対策に繋がると考える。

I. はじめに

豚丹毒は、豚丹毒菌（*Erysipelothrix*属菌）の感染によって起こり、その病型により敗血症型、蕁麻疹型、心内膜炎型および関節炎型に分類される。本疾病は家畜伝染病予防法により届出伝染病に指定されているが、人獣共通感染症でもあり公衆衛生上も重要な疾病である¹⁾。なお、と畜検査では特に関節炎型を主体とする慢性型症例が多く発見され、病変部から本菌が分離されると全部廃棄処分となる。

近年、全国の豚丹毒届出件数は増加傾向にあり、生産農家の経済的損失も大きくなる中、表面防御抗

原タンパク（SpaA）をコードする遺伝子の609番目の塩基がチミンからグアニンに変異した豚丹毒菌（SpaA-609G型）が確認された²⁾。このSpaA-609G型は全国に広く蔓延し³⁾、従来の野外株よりも強毒性であることから⁴⁾、これを原因とした重篤な敗血症型が多数発生しており^{2,3,5-7)}、と畜場で慢性型症例からの分離も報告されている^{2,6,8,9)}。

当所が所管すると畜場でも、2011年から2015年までの豚丹毒発生数は年々増加しており¹⁰⁾、特に2015年および2016年には県内特定農場の出荷豚で慢性型症例の集団発生も認められた。そこで今回、SpaA-609G型の県内の浸潤状況とその実態を把握するた

め、県内農場由来豚丹毒菌についてSpaA遺伝子解析および薬剤感受性試験を実施した。また、集団発生を認めた県内A農場について疫学調査および情報還元を行ったので、その終息に至るまでの経緯を併せて報告する。

Ⅱ. 材料および方法

1 当所における豚丹毒発生状況の調査

精密検査台帳を用いて過去6年間の豚丹毒発生数とその推移を集計した。また、A農場出荷豚の豚丹毒発生状況も個別に集計した。

2 県内農場由来豚丹毒菌の解析

(1) 供試株

当所で2015年4月から2016年3月までに、県内11農場由来の豚丹毒菌を58株分離した。発生数の多い順にA-K農場とし、その中から31株（関節炎型16株、心内膜炎型12株、蕁麻疹型3株）を選定し試験に用いた。

(2) 遺伝子解析

試薬を用いて供試株のDNAを抽出後、SpaA遺伝子の高度可変領域432bpを標的とした特異的プライマー Erko-1F

(5'-GTGAAACACCGTATTTTAGTA-3'), Erko-2R (5'-TTCAAGAAGTTCCTGTAGTTT-3')¹¹⁾を用いてPCR法を実施し、ダイレクトシーケンス解析を行った。なお、参考に生ワクチン株である小金井株、野外参照株である藤沢株、ATCC19414株の塩基配列を遺伝子データベースより取得し比較した。また、AkopyanzらのD9355プライマー

(5'-CCGGATCCGTGATGCGGTGCG-3')を用いたRandomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD法)¹²⁾による染色体遺伝子型別検査を行った。

(3) 薬剤感受性試験

ペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、アモキシシリン (AMPC)、カナマイシン (KM)、ゲンタマイシン (GM)、ストレプトマイシン (SM)、S T 合剤 (SXT)、テトラサイクリン (TC)、ドキシサイクリン (DOXY)、ノルフロキサシン (NFLX)、エリスロマイシン (EM)、リン

コマイシン (LCM) の獣医療域で使用頻度の高い12薬剤について、一濃度ディスク拡散法により実施した。

3 A農場に関する疫学調査および情報還元

A農場出荷豚で豚丹毒集団発生を認めたことを受けて、当該農場を所管する家畜保健衛生所に情報提供を行った。2016年5月と2017年1月には、当該農場への情報還元および疫学調査を兼ねて、家畜保健衛生所のA農場への立入調査に同行した。

Ⅲ. 結果

1 当所における豚丹毒発生状況

豚丹毒発生数は2012年から2016年まで年々増加していた。特に2016年は前年の約2倍となり、その半数以上をA農場出荷豚が占めていた。A農場出荷豚では、2014年まではほぼ発生は無かったが、2015年12月に最初の集団発生が認められた。その後同様の事例が複数回発生したが、2016年12月までに終息した（図1）。

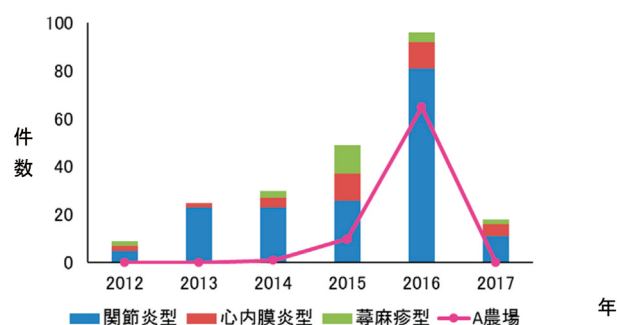


図1 過去6年間の当所における豚丹毒発生数

2 県内農場由来豚丹毒菌の解析

供試株の農場別解析結果を表1に示した。11農場のうち6農場にSpaA-609G型が浸潤しており、このうちB農場にはSpaA-609G型と従来型が混在していることが明らかとなった。薬剤感受性試験では、全ての菌株でペニシリン系薬剤には感受性、アミノグリコシド系薬剤および強化サルファ薬にはほぼ耐性を示し、B農場の従来型についてはさらにTC、DOXY、LCMに対して耐性を示した（図2）。また、RAPD法による遺伝子型別検査ではIからVパター

ンに分けられ、SpaA-609G型の菌株は全て同一のパターンIを示した(図3)。

表1 農場別豚丹毒供試株の解析結果

農場	産地※	全部廃棄 件数	番号	病型	SpaA- 609G変異	RAPD パターン
A	大崎	30	1	尋麻疹型	+	I
			2	心内膜炎型	+	
			3	心内膜炎型	+	
			4	心内膜炎型	+	
			5	関節炎型	+	
			6	関節炎型	+	
			7	心内膜炎型	+	
B	登米	9	1	関節炎型	+	I
			2	心内膜炎型	+	I
			3	関節炎型	-	II
			4	関節炎型	+	I
			5	尋麻疹型	-	II
			6	心内膜炎型	+	I
			7	関節炎型	+	
			8	心内膜炎型	+	
C	登米	5	1	関節炎型	+	I
			2	関節炎型	+	
			3	関節炎型	+	
D	栗原	4	1	関節炎型	-	III
			2	尋麻疹型	-	
			3	関節炎型	-	
			4	関節炎型	-	
E	栗原	3	1	関節炎型	-	IV
			2	関節炎型	-	
			3	心内膜炎型	-	
F	登米	2	1	心内膜炎型	-	IV
G	大崎	1	1	心内膜炎型	-	V
H	大崎	1	1	関節炎型	-	III
I	石巻	1	1	心内膜炎型	+	I
J	涌谷	1	1	心内膜炎型	+	I
K	涌谷	1	1	関節炎型	+	I

※県内産の豚は主に県北地域から搬入されている

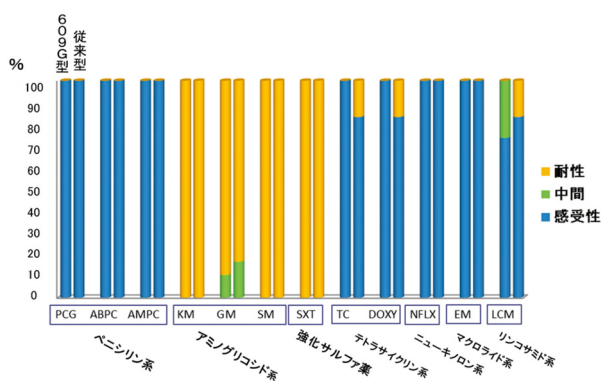


図2 薬剤感受性試験結果

3 A農場への立入調査結果

畜主への聴取により、2015年の春から豚丹毒ワクチンを接種していなかったが、同年12月に肥育豚3頭が急死した際に豚丹毒が疑われたため、管理獣医師の指示のもと生ワクチンの接種再開とペニシリンによる治療を開始していたことが判明した。その後農場での急死例は発生していないが、と畜場での慢

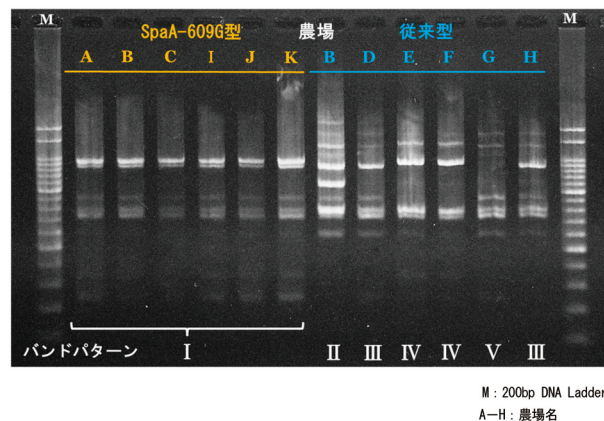


図3 RAPD法による染色体遺伝子型別検査

性型症例の集団発生が続いたため、2016年5月に畜主への立入調査および情報還元を行った。この際、A農場由来株が変異型であり蔓延防止等の防疫対策の必要性を伝えたところ、翌月には不活化ワクチン接種を開始した。その後も家畜保健衛生所が継続した防疫指導を行った結果、初発から1年でと畜場での発生が終息した。さらに、2017年の1月に再度立入調査に同行し、今後の疾病管理について検査結果をふまえた総括的な情報還元を行った。

IV. 考 察

近年、全国的にSpaA-609G型による豚丹毒の発生とその強毒性が相次いで報告されている^{2,3,5-9)}が、今回の調査で、主な出荷地である本県の中部から北部地域でもこの遺伝子変異型が浸潤していることが初めて明らかとなった。さらにRAPD解析の結果から、これらSpaA-609G型は遺伝子的に同一株である可能性が高く、その由来や発生源は不明であるものの同一クローンが蔓延しつつあると推察された。しかしながら、SpaA-609G型は、豚丹毒の治療に有効とされるペニシリン系薬剤に感受性があり、生・不活化ワクチンに関わらず従来のワクチンで防御可能とされている^{4,13,14)}。今回実施した薬剤感受性試験の結果からも、従来型、SpaA-609G型に関わらず豚丹毒の治療の際はペニシリン系薬剤が依然として有効であると改めて確認された。また、B農場の従来型は他の菌株と異なりTC、DOXY、LCMに耐性を示したが、これらに対する耐性菌の出現はすでに報告

されている^{1,8,9,15)}。

今回A農場出荷豚で集団発生が認められたが、これはワクチンの未接種と強毒性であるSpaA-609G型の侵入等が重なり、これが農場内で蔓延したものと推察され、情報還元と家畜保健衛生所との連携により終息させることができた。なお、その後は現在までこの農場出荷豚において豚丹毒は発生していない。

今回の調査結果から、他の農場の抗体陰性豚群にSpaA-609G型が侵入した際にも急速な蔓延による被害が想定される。しかし本事例のように、食肉衛生検査所におけるより詳細な精密検査の実施と、家畜保健衛生所および生産農家等への効果的な情報還元が、農場段階における迅速な疾病対策に繋がると考えられる。

引用文献

- 1) 岡谷友三アレシャンドレ, 加藤行男, 林谷秀樹 (2007) 豚丹毒とは—古くて新しい人獣共通感染症—, モダンメディア, 53, 231-237
- 2) 神田章, 小林千恵, 矢彦沢小百合ら (2011) 新しい遺伝子型を示す豚丹毒菌が分離された敗血症型豚丹毒の発生事例, 獣医畜産新報, 64(11), 905-909
- 3) 神田章, 小林千恵, 矢彦沢小百合ら (2012), 609G遺伝子型豚丹毒菌株感染による敗血症型豚丹毒の発生事例とその制御, 日本豚病研究会報, 60, 17-20
- 4) Uchiyama M, Kinya Y, Mariko O et al. (2014), Prevalence of Met-203 type spaA variant in *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates and the efficacy of swine erysipelas vaccines in Japan, *Biologicals*, 42, 109-113
- 5) 元村泰彦, 浦川了, 平井良夫ら (2011), 新しい遺伝子型を示す豚丹毒菌による急性敗血症型豚丹毒の続発例, 平成23年度長崎県家畜保健衛生業績発表会集録, 57-60
- 6) 福留静, 篠川有理, 田中健介ら, 新しい遺伝子型を示す豚丹毒菌の解析と農場抗体調査, 平成24年度新潟県家畜保健衛生業績発表会集録 (<http://www.pref.niigata.lg.jp/chikusan/1356753058176.html>)
- 7) 小林亜由美, 和田好洋, 林紘太郎, 急性敗血症型豚丹毒の発生事例, 第61回北海道家畜保健衛生業績発表会集録 (<http://www.pref.hokkai-do.lg.jp/ns/tss/kaho/gyouseki2013.htm>)
- 8) 小菅千恵子, 篠崎隆, 英俊征ら (2013), と畜場出荷豚から分離された県内養豚場由来豚丹毒菌の性状解析, 平成25年度神奈川県家畜保健衛生業績発表会集録, 65-71
- 9) 西田直哉, 大山み乃り, 中込健次ら (2016), 沖縄県内のと畜場由来豚丹毒菌の血清型分布およびSpaA遺伝子解析, 平成28年度獣医公衆衛生研究, 22-25
- 10) 堀口萌, 後藤郁男, コンベンショナルPCRによる豚丹毒の迅速診断について, 平成27年度宮城県食肉衛生検査所業績発表会集録 (<http://www.pref.miyagi.jp/soshiki/sh-meat/gyousekihappyou-h27.html>)
- 11) To H, SATO H, Tazumi A et al. (2012), Characterization of *Erysipelothrix rhusiopathiae* Strains Isolated from Recent Swine Erysipelas Outbreaks in Japan, *J.Vet.Med.Sci.*, 74(7), 949-953
- 12) Natalia Akopyanz, Nickolai O.Bukanov, T.Ulf Westblom et al. (1992), DNA diversity among clinical isolates of *Helicobacter pylori* detected by PCR-based RAPD fingerprinting, *Nucleic Acids Research*, 20(19), 5137-5142
- 13) To H, Tsutsumi N, Tazumi A et al. (2013), Protection of immunized mice and swine to challenge exposure with *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains obtained from recent swine erysipelas outbreaks in Japan, *ACTA VET BRNO*, 82, 119-124
- 14) 幸野亮太, 伊豆一郎, 坂本佑希乃, 新しい遺伝子型を示す豚丹毒菌の浸淫状況調査, 熊本県食肉衛生検査所HP, 平成26年度版事業概要 (https://www.pref.kumamoto.jp/kiji_9744.html)
- 15) 高橋敏雄, 澤田拓士 (1999), 豚病学 (第4版), 近代出版, 342-352