

と畜場における豚の腸腺腫症とサルモネラ属菌の保菌状況

北海道八雲食肉衛生検査所 ○岡柚芽子 大野博士 黒田裕介 藤吉英邦 竹下日出夫
北海道立衛生研究所 池田徹也

1 はじめに

腸腺腫症は *Lawsonia intracellularis* (以下 Li) に起因し、主に遠位小腸および近位大腸の上皮細胞の異常増殖による粘膜の肥厚(腺腫様過形成)を特徴とする消化器疾患である。わが国において 90% 以上の農場が Li に汚染されているとされているが、本菌の分離は非常に困難であるため、その性状や病原性について不明な点が多い¹⁾。また、腸腺腫症は特徴的な臨床症状に乏しく、下痢等の臨床症状を示す他の伝染性消化器疾患との類症鑑別が容易ではないこと、増体率の低下等を引き起こすこと、さらに、サルモネラ属菌等との複合感染により病態が悪化するとの報告²⁾もあり、養豚業界において経済的損失を与える非常に重要な疾病の一つとも言われている。当所所管と畜場に搬入される豚の一部廃棄率は約 40% で、そのうち腸の廃棄は約 30% である。さらに、当所では大矢らの検査基準³⁾に従い内臓検査を実施しており、腸廃棄のうち約 30% が腸腺腫症として高率に廃棄されている。

昨年度、黒田らが当所所管と畜場に搬入される豚の直腸便からサルモネラ属菌が 16.5% と非常に高率に分離され、うち 95.8% が血清型 O4:i- であったことを報告した⁴⁾。この血清型は、近年道内の家畜、患者から広く分離されており^{5) 6)}、平成 30 年 4 月に家畜伝染病予防法において、血清型 Typhimurium と同様に取り扱うこととされたことから、注目されている血清型である。

そこで今回、腸腺腫症の軽減とサルモネラ属菌等に対する衛生管理の向上に資するため、農場ごとの腸腺腫症の廃棄状況およびサルモネラ属菌の保菌状況を調査し、その関連性について検証した。

2 材料および方法

(1) 材料

当所所管と畜場に搬入される農場で、腸腺腫症による廃棄が多い農場を中心とした 13 農場を調査対象とし、平成 30 年 4 月から 5 月に腸腺腫症として廃棄した 77 頭(A 群)、大小腸炎として廃棄した 83 頭(B 群)ならびに腸廃棄のなかった 150 頭(C 群)を採材した。A 群、B 群では小腸回盲部粘膜ならびに直腸便、C 群では直腸便を本調査の検体とした。

第 1 表 腸腺腫症：小腸回盲部粘膜の肉眼での分類

	軽度	中程度	重度
肥厚	軽度	ゴムホース状	ゴムホース状
充血	なし～軽度	中程度	重度
水腫	なし	軽度	軽度～重度
偽膜	なし	なし	あり



(2) 肉眼的重症度による分類

腸腺腫症は肉眼的に軽度、中程度および重度に分類した(第 1 表)。

(3) Li 検査

A 群と B 群の小腸回盲部粘膜を検体として、腸腺腫症や大小腸炎で廃棄した豚の Li 浸潤状況を調査した。遺伝子検査では小腸回盲部粘膜を 100mg 程度搔爬し、DNeasy Blood&Tissue Kit (QIAGEN 社)を用いたシリカメンブレン法で DNA を抽出し、probe 法によるリアルタイム PCR⁷⁾を実施した。陽性対照は、Li と確定したものを使用した。病理学的検査では、遺伝子検査で Li 遺伝子が検出された検体に対し、HE 染色およびワーチン・スタリー染色を実施し、菌体の有無を確認した。

(4) サルモネラ属菌検査

A 群、B 群ならびに C 群の直腸便を検体とし、定法に従い分離・同定し、分離株について遺伝子解析を実施した。

(5) 関連性の評価

ア 腸腺腫症による廃棄率とサルモネラ属菌の保菌状況の関連性について検証するため、平成 29 年 2 月から 5 月および平成 30 年 4 月から 6 月における腸腺腫症の月別廃棄率とサルモネラ属菌の分離状況の推移を比較した。

イ A 群において病変が中程度から重度のものを①群、A 群において病変が軽度のものならびに B 群を②群、C 群を③群とし、それぞれの群におけるサルモネラ属菌の保菌率に有意な差を認めるか検証した。

ウ A 群において Li 遺伝子が検出され、かつ病理検査で菌体が確認された検体を Li 陽性とし、A 群各農場の Li 陽性率・肉眼的重症度とサルモネラ属菌分離数をそれぞれ順位化し、スピアマンの順位相関係数(rs)を用いて統計解析した。

3 結果

(1) Li 検査

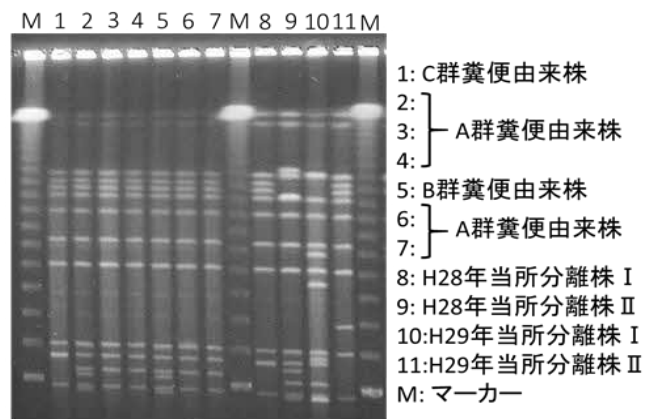
今回調査対象とした 13 農場のうち 12 農場 (92.3%)で Li 遺伝子が検出され、各農場の遺伝子検出率は 50~100%であった。A 群では 77 頭中 69 頭 (89.6%)、B 群では 83 頭中 47 頭 (56.6%)で Li 遺伝子が検出され、そのうち A 群では 36 頭 (52.2%)、B 群では 24 頭 (51.1%)で菌体が確認された(第 2 表)。

第 2 表 Li とサルモネラ属菌検査結果

廃棄名	遺伝子	菌体	肉眼的重症度	頭数	サルモネラ属菌分離数
腸腺腫症 (A群: 77頭)	+ (69)	+ (36)	重度	10	1
			中程度	12	4
			軽度	14	
	- (8)	- (33)		33	
大小腸炎 (B群: 83頭)	+ (47)	+ (24)		24	
				23	
	- (36)			36	1
腸廃棄のなかった直腸便 (C群: 150頭)				150	1

(2) サルモネラ属菌検査

全体の分離数は 310 頭中 7 頭(2.3%)であった。A 群では 5 頭(6.5%)で分離され、その全てにおいて Li 遺伝子が検出され、菌体を認めた。肉眼所見の重症度は中程度から重度のものであった。B 群では 1 頭でサルモネラ属菌が分離されたが、Li 遺伝子が検出されなかった検体であった。C 群では 1 頭で分離された(第 2 表)。分離された 7 株は全て O4:i- であった。昨年度に比べ分離数は少なかったが、昨年度分離されなかった農場から分離された。PFGE 法において、C 群から分離された 1 株は平成 28 年に当所で分離された株と同じ泳動パターンを示したが、他の 6 株は過去に分離されたいずれとも異なる 2 つのパターンを示した(第 1 図)。

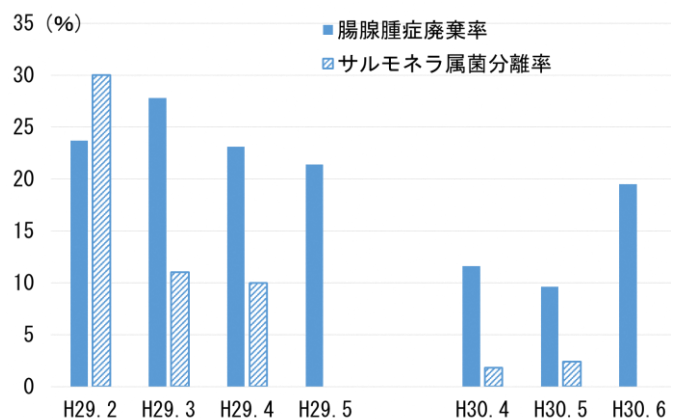


第 1 図 当所分離 O4:i- 株の PFGE 法解析結果

(3) 関連性の評価

ア サルモネラ属菌の分離率は平成 29 年

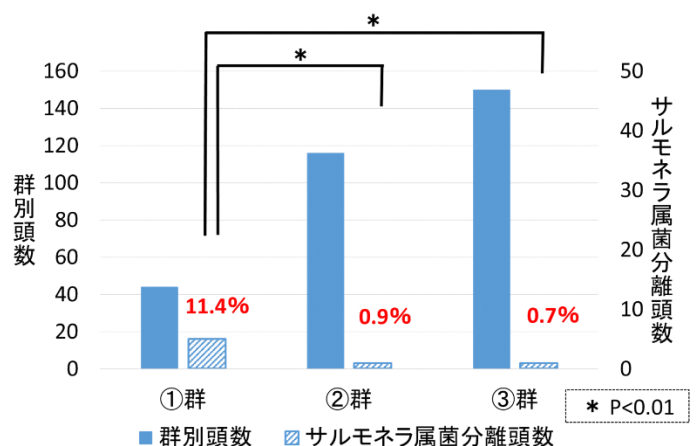
(16.5%)と比較して、平成 30 年(2.3%)は減少していた。腸廃棄の中の腸腺腫症による廃棄率(以下、腸腺腫症廃棄率)は平成 29 年(24.2%)と比較して、平成 30 年(13.3%)は減少していた。また、平成 29 年 2 月から 4 月にかけてサルモネラ属菌の分離率が減少し、3 月から 5 月にかけて腸腺腫症廃棄率が減少していた。一方、平成 30 年 4 月から 5 月にかけてサルモネラ属菌の分離率はわずかに上昇し、5 月から 6 月にかけて腸腺腫症廃棄率が上昇していた(第 2 図)。



第 2 図 H29~30 年の推移

イ 13 農場 310 頭において、①群のサルモネラ属菌分離率(11.4%)は②群(0.9%)ならびに③群(0.7%)に比べ有意な差($P<0.01$)を認めた(第 3 図)。

ウ A 群各農場の Li 陽性率・肉眼的重症度とサルモネラ属菌分離数との間には有意な相関性が認められなかった($rs=0.38$ 、 $T=0.2992$ 、 $P>0.05$)。



第 3 図 全体(13 農場 310 頭)で評価

4 考察

今回、調査した農場において Li 遺伝子の検出率が高かった(92.3%)こと、昨年度の調査では分離されなかった農場からサルモネラ属菌が分離されたことから、道内における Li の広い浸潤状況と豚における O4:i:-の広がりが見込まれた。また、今回分離された 7 株のうち 6 株は平成 28 年に当所で分離された株と近縁であると思われるが、PFGE 法の泳動パターンに差異が認められた。これらのことから、腸腺腫症廃棄率ならびにサルモネラ属菌の分離率は減少しているが、今後も経済的・公衆衛生的観点から対策を行う上で、動向に注目しなければならないと考えられた。サルモネラ属菌の分離率が高かった平成 29 年の腸腺腫症廃棄率が平成 30 年の調査時に比べ多かったこと、腸腺腫症(中程度から重度)群とその他の群で、サルモネラ属菌の分離率に有意な差が認められたことから、サルモネラ属菌が腸腺腫症の病態悪化に何らかの影響を及ぼしている可能性が見込まれた。また、サルモネラ属菌等腸内細菌叢が Li の感染において何らかの役割を示す可能性があること⁸⁾、Li の感染によりサルモネラ属菌の腸管内における増殖および糞便中への排菌が促進される^{9) 10)}という報告、さらに、Li とサルモネラ属菌が共に感染している豚では、Li に対する弱毒生ワクチン投与により、サルモネラ属菌の排菌が有意に減少したという報告¹¹⁾があることから、家畜生産の場においては、サルモネラ属菌等における一般的な衛生対策に留まらず、Li への対策も必要であることが見込まれた。一方、腸腺腫症として廃棄した群内では、Li 陽性率・肉眼的重症度とサルモネラ属菌分離数に有意な相関性が認められなかった。このことから、サルモネラ属菌と腸腺腫症の病態悪化との関連性は弱いと思われるが、今回の調査では、サルモネラ属菌の分離数が少ないこと、また、全道の豚のサルモネラ症の発生状況を見ると O4:i:-によるサルモネラ症は増加と減少を繰り返す傾向が見られること⁵⁾から、今後、調査頭数や時期など条件を考慮し、さらなる検証が必要であると考えられた。

今回の結果を他機関に情報提供し、家畜生産現場におけるサルモネラ属菌・腸腺腫症の対策、検査機関における検査基準の平準化に向けた取り組み、およびと畜場における衛生対策に活用することで、食肉の安全性確保の一助とすることは、公衆衛生ならびに家畜衛生上ワンヘルスの観点からも非常に重要であると考えられた。

5 参考文献

- 1) Nagai,S. and Koyama T. Recent progress in the research on porcine proliferative enteropathy and its causative agent *Lawsonia intracellularis*. *Proc.Jpn.Pig Vet.Soc.*,46,8-15(2004)
- 2) David Burch, Ileitis(porcine proliferative enteropathy)-treatment and control. Veterinarian,Octagon Services Ltd,Old Windsor,Berkshire,UK
- 3) 大矢ら「と畜場における腸腺腫症の診断基準の検討について」北海道獣医師会雑誌通巻 680.113
- 4) 黒田ら「と畜場に搬入された豚の直腸便由来サルモネラ属菌血清型 O4:i:-保菌状況調査」北海道獣医師会雑誌通巻 788.112
- 5) 北海道農政部生産振興局畜産振興課編：平成 23～29 年度版北海道家畜保健衛生所事業成績書
- 6) 国立感染症研究所ホームページ,Infectious Agents Surveillance Report <http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/1524-iasrgb.html>

- 7) R. H. Lindecrona et al. Application of a 5' Nuclease Assay for Detection of *Lawsonia intracellularis* in Fecal Samples from Pigs. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, p. 984-987(Mar. 2002)
- 8) STEVEN McORIST et al. Reproduction of Porcine Proliferative Enteropathy with Pure Cultures Of Ileal Symbiont Intracellularis. INFECTION AND IMMUNITY, p.4286-4292 (Oct.1993)
- 9) Klaudyna A. Borewicz et al. Changes in the Porcine Intestinal Microbiome in Response to Infection with *Salmonella enterica* and *Lawsonia intracellularis*. PLoS ONE 10(10): e0139106. doi:10.1371/journal.pone.0139106.(October 13,2015)
- 10) Beloeil PA et al. Risk factor for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* shedding by market-age pigs in French fallow-to-finish herds. Prev Vet Med. 30;63(1-2):103-20 (Apr.2004)
- 11) Fernando Leite et al. Vaccination against *Lawsonia intracellularis* decreases shedding of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in co-infected pigs and changes the host gut microbiome.12th International Symposium on the Epidemiology and Control of Biological Chemical and Physical Hazards in Pig and Pork.August 21-24(2017)