

# 子馬のロドコッカス・エクイ感染症の10年間にわたる回顧的調査と対策の推進

○篠田理恵<sup>1</sup>、本間慎太郎<sup>2</sup>、武智茉里<sup>1</sup>、前田友起子<sup>1</sup>、一條満<sup>1</sup>

- 1 北海道日高家畜保健衛生所
- 2 農林水産省消費・安全局動物衛生課

## はじめに

ロドコッカス・エクイ感染症（本症）は、*Rhodococcus equi* の感染により、子馬の肺や腹腔内のリンパ節等に膿瘍を形成する難治性の疾患である。*R. equi* は莢膜を保有する土壌菌で、子馬には主に放牧地において感染するとされている。馬に病原性を示すのは、病原プラスミドを保有する強毒株であり、病原プラスミドを持たない無毒株における本症は報告されていない[1, 2, 3]。また、本症で死亡した子馬の病態は、肺にのみ膿瘍がみられる肺型、腹腔内のリンパ節のみに膿瘍がみられる腸型、両方がみられる混合型がある（図1）[4]。

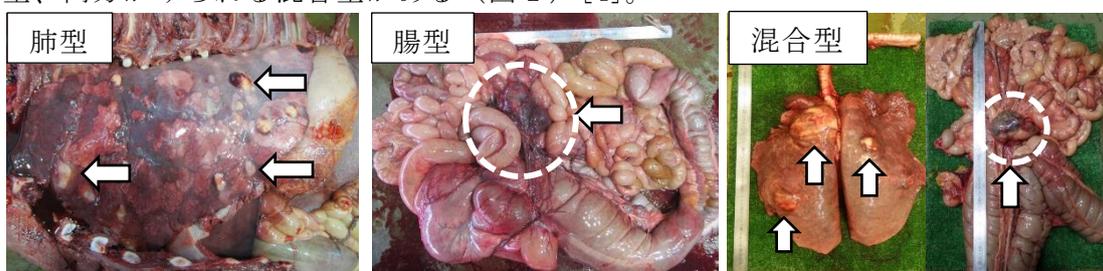


図1 *R. equi* 感染症死亡馬の病態分類

近年、日高家畜保健衛生所（当所）の病性検定において、本症を疑う検体及び *R. equi* が分離される事例が増加している（図2）。

そのため、過去10年間の回顧的調査として疫学的解析及び分離株解析を行うとともに、これまでほとんど報告がされていない *R. equi* の性状試験を実施し、増加要因の分析及び対策方法の再検討を行った。

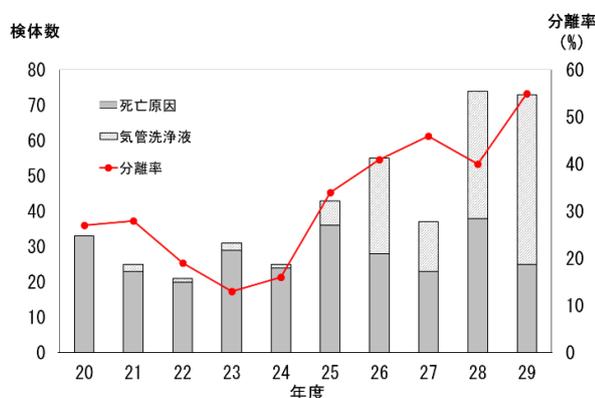


図2 病性検定における子馬からの *R. equi* 分離率

## I 材料と方法

### 1 疫学的解析

疫学的解析は、平成20年4月～29年9月末までの当所における病性鑑定データを用い、*R. equi* 分離状況、死亡子馬の病態分類及び *R. equi* 分離時日齢について分析した。

### 2 分離株解析

#### (1) 病原プラスミド解析

病原プラスミド解析は、疫学的解析と同時期に日高管内で分離した *R. equi* 322株について、高井らの手法に準じRFLP法により実施した。血液寒天培地で24時間培養した *R. equi* 株のコロニーからプラスミドを抽出し、EcoRIにて切断し、電気泳動により得られた切断パターンを分類した[5]。

## (2) 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、病原プラスミド解析を実施した株のうち 98 株について、Clinical and Laboratory Standards Institute (臨床・検査標準協会、CLSI) で定めた標準的試験法に従い、微量液体希釈法により最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。測定は、アンピシリン (ABPC)、セファゾリン (CEZ)、セフトオフル (CTF)、ゲンタマイシン (GM)、ミノサイクリン (MINO)、ドキシサイクリン (DOXY)、アジスロマイシン (AZM)、クラリスロマイシン (CAM)、リファンピシン (RFP)、エンロフロキサシン (ERFX)、マルボフロキサシン (MAR) 及びイミペネム (IPM) の抗菌剤について実施した [6, 7, 8]。なお、CLSI には馬から分離された *R. equi* に対する判定基準が示されていないため、馬において分離されたその他の病原体の結果を参考に判定した。

## 3 性状試験

### (1) 土壌中生存試験

*R. equi* の環境中における生存期間を調査した。土壌は、市販のさし芽用無菌土と、有機物が生存期間へ影響することを考慮し無菌土に有機物として馬糞便を重量 10% 添加した無菌土を用い、土 50kg に対し発症馬排菌量相当 ( $10^8$  CFU/ml) の *R. equi* 菌液を 1L 接種し、表層から深度 0cm、10cm、20cm 及び 30cm 地点における菌量について経時的に測定した。

### (2) 消毒効果試験 (実験室内)

*R. equi* に対する消毒薬の効果を調査した。試験は秋山らの方法に従い実施した。使用した消毒薬は使用説明書に記載されている推奨希釈倍率をもとに、塩素系消毒薬 (300~3,000 倍)、次亜塩素酸系消毒薬 (500~2,000 倍)、逆性石鹼 (500~2,000 倍)、10% 消石灰水溶液及びエタノールを使用した。なお、消石灰液は消石灰沈殿後の上清を使用した [9, 10]。

### (3) 消毒効果試験 (環境飼料)

環境中における消毒薬の効果を調査した。環境飼料 (重量 1 kg) に発症馬排菌量相当 ( $10^8$  CFU/ml) の *R. equi* 菌液 500ml を接種した乾草を用い、希釈した各種消毒薬 500ml 又は 1L を散布・攪拌、24 時間感作させ、乾草乳剤から菌量を測定した。使用した消毒薬は前述の 3 の (2) と同様とした。なお、消毒については 3 日間継続して実施した。

## II 結果

### 1 疫学的解析

#### (1) 子馬からの *R. equi* 分離状況

当所病性鑑定における子馬の死亡原因を検索した全 279 件のうち本症が 29.7% を占めており、死亡原因の主原因であった。呼吸器疾患の原因検索に用いた気管洗浄液全 138 件における *R. equi* の分離率は、全体の 50.0% を占めた (図 3)。

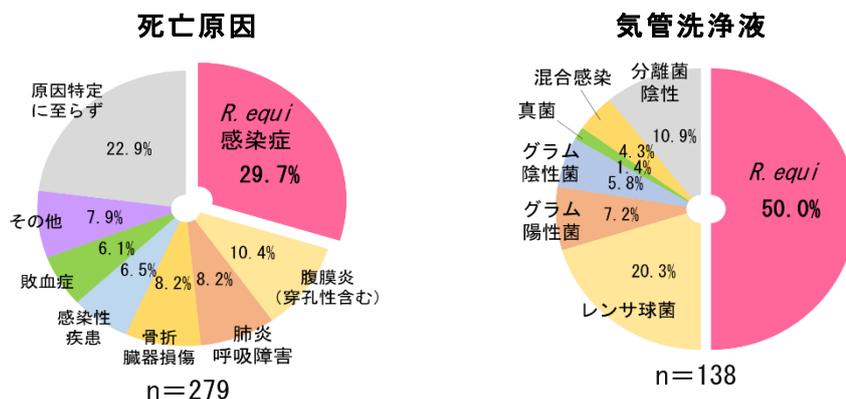


図 3 子馬からの分離状況

(2) 本症で死亡した子馬の病態分類

病態は、混合型が最も多く 61.5%、肺型は 32.5%、腸型は 6.0%であった。なお、各年度における病態の傾向に大きな差はみられなかった (図 4)。

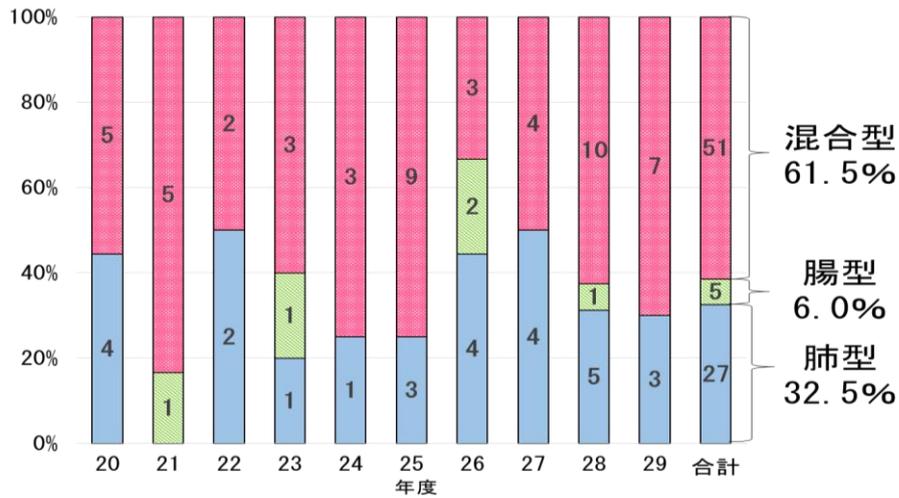


図 4 病態分類

(3) *R. equi* 分離時の日齢

本症の死亡時平均日齢は 84.2 (23~295) 日で、40 日齢以下の若齢で死亡した例も確認できた。気管洗浄液の *R. equi* 分離時の平均日齢は 55.9 (30~123) 日で、60 日齢以下が 72.4%を占め、40 日齢以下では 18.8%であった (図 5)。

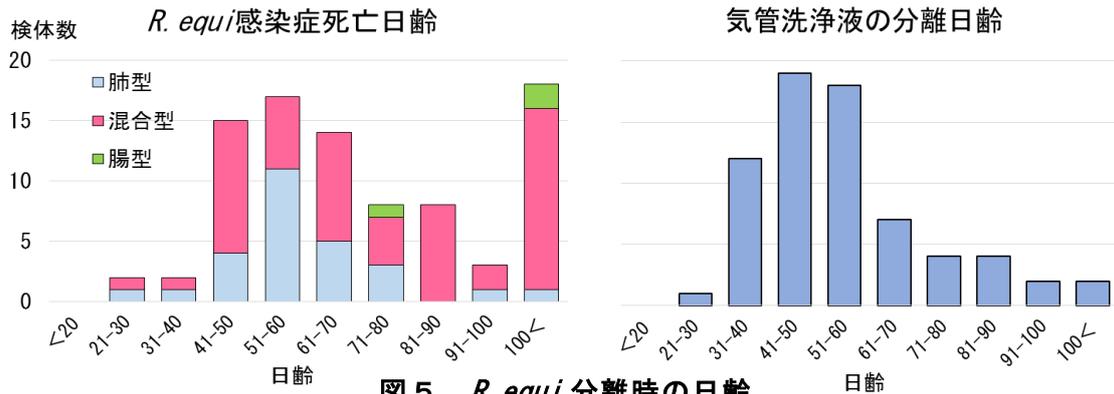


図 5 *R. equi* 分離時の日齢

2 分離株解析

(1) 病原プラスミド解析

病原プラスミドは、87kbIIa 型が 73.3%、90kbI 型が 17.1%で、2つのタイプが多くを占めていた。また、国内未報告の 85kbI 型が 1 株確認されたが、各年度におけるプラスミド型の傾向に、大きな差はみられなかった (図 6)。

	年度									合計 (割合)		
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29		
85kbI								1			1	0.3%
87kbIIa	8	20	50	52	45	1	15	7	18	20	236	73.3%
87kbIIc	1		2	1							4	1.2%
87kbIIe				2							2	0.6%
90kbI		7	8	8	20		1	3	5	3	55	17.1%
90kbIV			1								1	0.3%
型別不能		4		3		5	6	4	1		23	7.1%

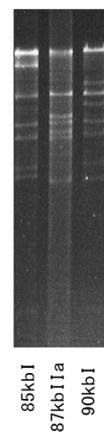


図 6 病原プラスミド解析成績

## (2) 薬剤感受性試験成績

各抗菌剤におけるMICの成績について、これまで管内では報告されていない、リファンピシン耐性株8株、テトラサイクリン系耐性2株、マクロライド系耐性7株、ニューキノロン系耐性29株が確認された(表1)。

**表1 薬剤感受性試験成績** (n=98)

薬剤名	濃度											系統別耐性株数
	<0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	16<		
ABPC							1	22	69	6		75
CEZ										98		196
CTF										98		
GM				8	42	44	4					0
MINO				5	10	79	3		1			
DOXY	2		6	5	28	56			1			2
AZM						3	90	4		1		7
CAM	1	6	67	22				2				
RFP	13	34	26	14	2	1	1		1	6		8
ERFX				1	32	55	8	2				
MAR					5	74	18		1			29
IPM	21	73	4									0

※塗りつぶし部分はブレイクポイント以上の耐性と判定

## 3 性状試験

### (1) 土壌中生存試験

定期的に深度0~30cmの菌量を測定した結果、菌量の減少はみられるものの、有機物の添加に関わらず、各深度の土壌中で6週間以上生存していた(図7)。

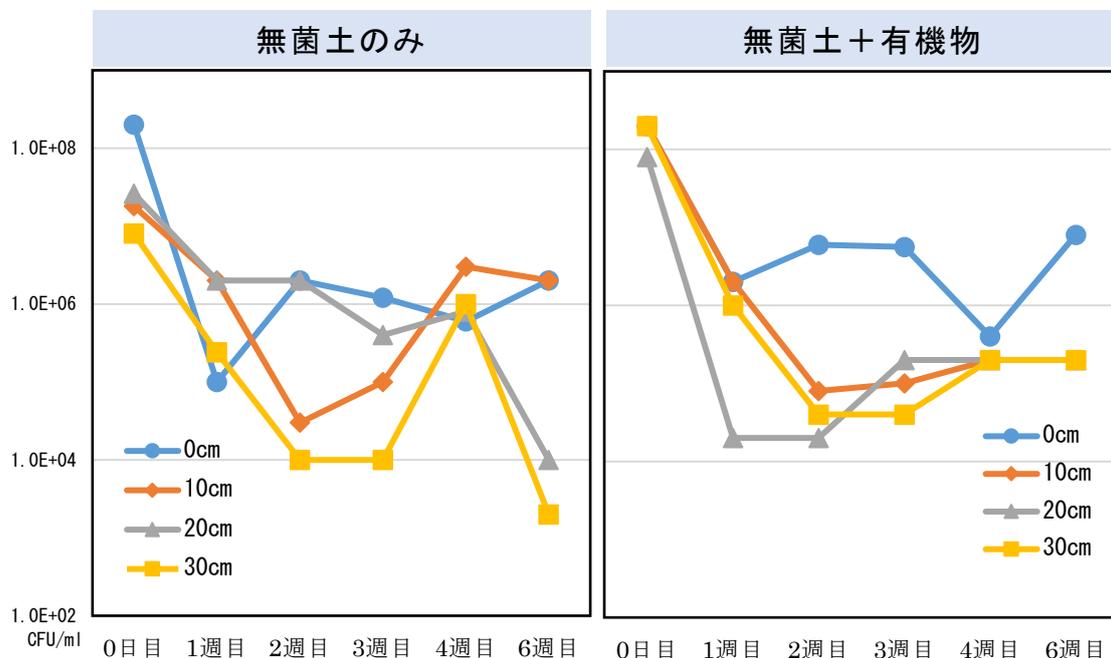


図7 土壌中生存試験

### (2) 消毒効果試験(実験室内)

実験室内試験では、使用説明書に記載される推奨希釈倍率における塩素系及び複合次亜塩素酸系の消毒薬で、エタノールは50%以上の濃度で効果がみられた。推奨希釈倍率における逆性石鹼及び10%消石灰液では効果はみられなかった(表2)。

表2 実験室内における消毒効果試験

消毒薬	畜舎消毒推奨希釈倍率	感作時間			
		30秒	1分	5分	10分
逆性石鹼	500~2,000	250倍	250倍	250倍	250倍
塩素系	300~3,000	6,400倍 ≤	6,400倍 ≤	6,400倍 ≤	6,400倍 ≤
複合次亜塩素酸系	500~2,000	4,000倍	6,400倍 ≤	6,400倍 ≤	6,400倍 ≤
10%消石灰液	—	効果なし	効果なし	効果なし	効果なし
エタノール	消毒用70%	50%以上	50%以上	50%以上	50%以上

(3) 消毒効果試験 (環境飼料)

環境飼料試験では、重量1kgの乾草に対し500倍希釈の塩素系消毒薬1Lを散布した場合と70%エタノール500mlを散布した場合に効果がみられた。実験室内で効果があった複合次亜塩素酸系では効果はみられず、10%消石灰液では実験室と同様に効果はみられなかった(図8)。

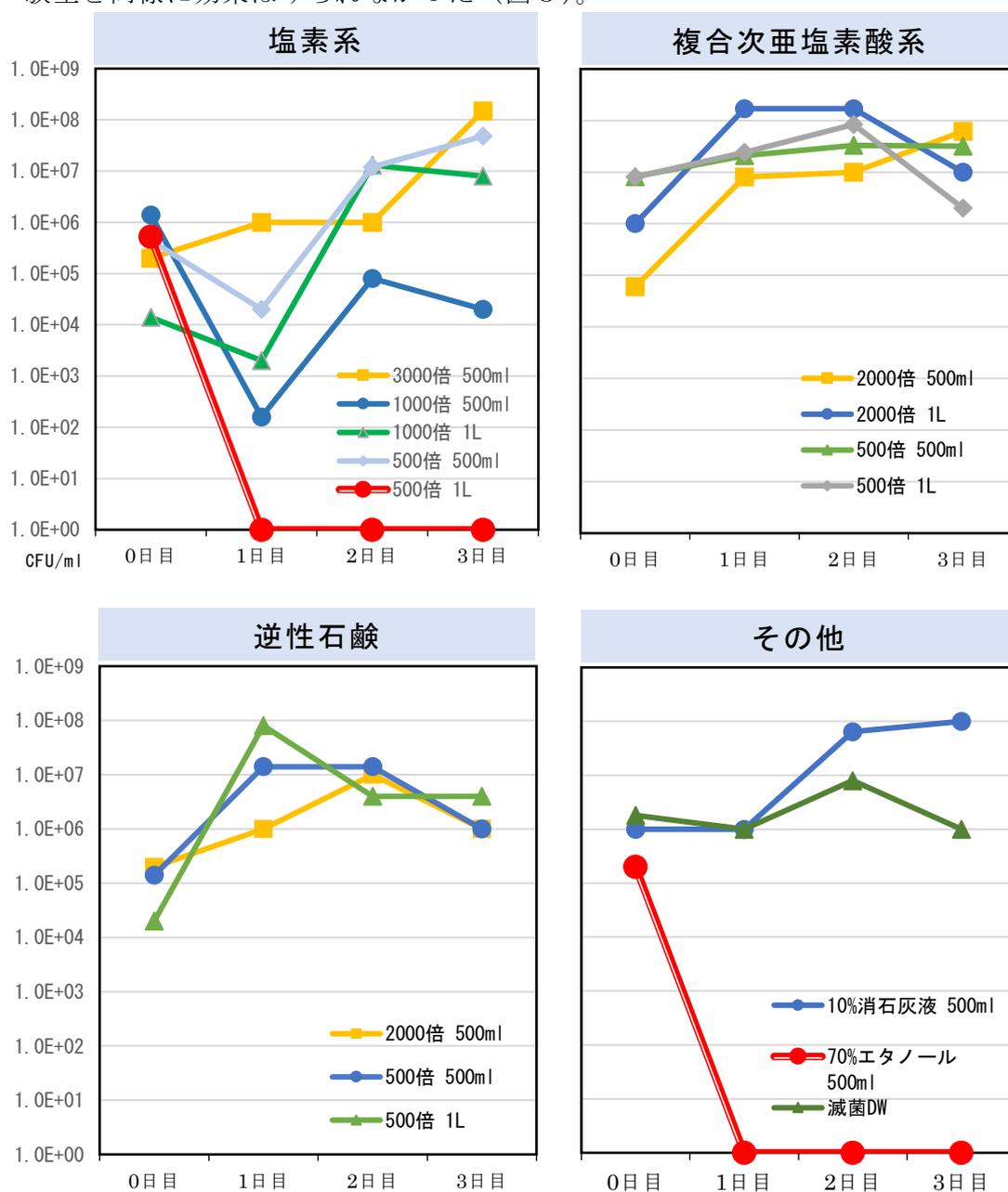


図8 環境飼料における消毒効果試験

### III 考察

10年間の疫学的解析で、本症は病性鑑定における子馬の死亡原因の29.7%を占め、死亡時の平均日齢は84.2日であったが、40日齢以下の若齢馬の死亡例も確認された。呼吸器疾患の原因検索に用いた気管洗浄液では、全体の50%から*R. equi*が分離され、分離時の日齢は、60日齢以下が72.4%を占めていた。各年度における病態分類の傾向に大きな変化はみられず、本症は子馬の死亡及び呼吸器疾患の主たる原因であることが改めて確認された。また、40日齢以下の子馬でも18.8%から*R. equi*が分離されたことから、生後1カ月には*R. equi*に感染していると推察された。この時期は、放牧地より厩舎内の滞在期間が長いいため、感染リスクは厩舎内の方が高いと考えられた。

分離株解析では、国内初報告の株が1株確認されたが、各年度におけるプラスミド型や病態分類の傾向に大きな変化はみられなかった。一方、薬剤感受性試験においてリファンピシン等に対する耐性株が出現しており、耐性株による治療効果の低減が考えられた。以上のことから、新たなプラスミド型の流行等は確認されなかったが、当管内では馬の移動等に伴う新たなプラスミド型や耐性株の侵入と流行のリスクが懸念される。

性状試験では、有機物の有無に関わらず土壌中で6週間以上生存することが確認された。消毒効果は塩素系では期待できるが、牧場で一般的に使用されている逆性石鹼では期待できず、環境で長期生存可能な*R. equi*は厩舎内で保持される可能性が考えられた。また、敷料の消毒は塩素系やエタノールで効果が認められるものの実用性に欠くことから、現場での実施は困難と考えられた。

### IV まとめ

今回の調査結果から、これまで放牧地における対策が主体であった本症の対策について、当所では再検討が必要であると考えたため、次のことを提案する。

- (1) 気管洗浄液の培養は早期診断法として有用であるため、汚染度が高い牧場では、一定月齢の子馬全頭を対象にした健康検査を検討する。
- (2) 薬剤耐性株の出現を抑えるため、抗菌剤の予防的投与は実施せず慎重使用し分離された菌については、耐性株モニタリングを継続的に実施する。
- (3) *R. equi*は環境中で長期生存が可能のため、牧場では、分娩シーズンにおける敷料の再利用を行わず、分娩房や馬房の消毒には塩素系を使用する。

これらのことを関係機関・団体と連携して普及・啓発し、本症の対策を推進していきたい。

稿を終えるにあたり、分離株の解析及び薬剤感受性試験にご指導・ご協力いただきました日本中央競馬会競走馬総合研究所の丹羽秀和先生、データ提供等にご協力いただきましたみなみ北海道農業共済組合日高支所家畜高度診療センターの樋口徹先生に深謝いたします。

### 引用文献

- [1] 片山芳也、他：子馬のロドコッカス感染症第2版、2016
- [2] 加藤昌克、石山敏郎、他：第43回家畜保健衛生業績発表会集録、(1995)
- [3] N. M. Solvis, Equine Disease Quarterly, 13-3, July (2004)
- [4] 高井伸二、樋口 徹、加藤昌克、他：日本獣医学雑誌、50巻 (1997)
- [5] 高井伸二：日本獣医学雑誌、51巻 (1996)
- [6] National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performances standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Second edition, Approved Standard. NCCLS document M31-A2, 22(6) (2002)

- [7] 動物由来再起人に対する抗菌性物質の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法 (動物用抗菌剤 2003 年改訂標準法)
- [8] Anne Riesenber, Andrea T. Feßler<sup>1</sup>, Erdal Erol, et al : J Antimicrob Chemother 69, 1045-1049 (2014)
- [9] 山本敦子、原田健弘、伊藤 満、他 : 第 63 回家畜保健衛生業績発表会集録、(2015)
- [10] 秋山 茂、小林正枝、岩下正人、他 : 感染症学雑誌、63 (6)、575-583 (1989)