

豚の浮腫病と離乳後下痢ならびにそれらの対策について

小林 秀 樹 (国研)農研機構 動物衛生研究部門)

Kobayashi, H. (2018). Postweaning Diarrhea and Edema Disease in Piglets Due to Enterotoxigenic- and/or Shigatoxin Producing- *Escherichia coli*.

All about SWINE 53, 13-24

豚に浮腫病や離乳後下痢を惹起する病原性大腸菌には共通した特徴があり、それ故に疾病対策もまた共通点が多い。すなわち、それぞれの病状は異なる大腸菌産生毒素によってこそ違い、腸管への感染の機序は同じであるからである。

本稿は近年報告された論文とアイオワ州立大のHPの内容を中心にそれぞれの疾病ならびに検討されてきた(いる)治療、予防対策についてまとめてみた。

[浮腫病]

定義

大腸菌 (*Escherichia coli*) のうち、いくつかの特定の血清型に起因する育成豚への急性、時に致命的な腸管毒性貧血。多くの場合、特定部位での浮腫、突然の死亡、時には脳の病変に関連する神経学的徴候が観察される。

発生

浮腫病 (ED) は、主として離乳豚に発生する。それは、集約的なブタの生産を行う国ではかなり頻繁に発生している。養豚先進国である米国においても、最新の技術をもってしても排除しきれず、かなりの損失を出している。

病因

ED は、大腸菌のうち一部の病原性血清群が小腸で産生する毒素によって引き起こされる。大部分は線毛タイプが F18 または F4 (K88) および志賀様毒素 (SLT-IIe, Stx2e, ベロ毒素, 浮腫病原体, 神経毒またはバソトキシンと呼ばれる) を有する。線毛の定着部位である腸管粘膜上皮細胞受容体は、ブタの遺伝子型に依存して決定され、可変的に存在する。実験的にブタに静脈内投与された精製 Stx2e は、典型的な浮腫疾患をもたらす。

疫学

離乳舎での ED 発生が繰り返起こることから、病原性血清群は、分娩室または育成施設の環境内に存続するか、またはキャリア候補豚によって再導入されると考えられる。

ED を引き起こす大腸菌に影響を与えるいくつかの因子が発見されている。特定の腸管細胞受容体はブタの遺伝子型から発現されるが、一部の受容体は、離乳後まで存在しない。この受容体発現の遅延は初乳や母乳中の移行抗体が原因かもしれない。ED の発生は、飼料の種類と給餌頻度によって影響を受けるため、栄養面も大きく影響す

る。高タンパク質給餌、特定の食物成分、およびロタウイルスは、腸管における腸内病原性大腸菌のコロニー形成をより有利にするものと考えられる。

病因

病原性大腸菌は、上皮細胞に対する線毛媒介性の付着によって小腸内に定着し、増殖する。病原性株によって産生されたエンテロトキシンは病気（下痢）を誘発し、Stx2eは小動脈および細動脈に損傷を引き起こす。退行性血管症は、様々な部位、とりわけ結腸、胃、小腸、眼瞼および脳における血管透過性および浮腫の蓄積をもたらす。脳の血管への損傷は、中枢神経系（CNS）障害を有する亜急性期の疾患の特徴である脳幹および基底核における軟化を引き起こす。高濃度のStx2eは、急性出血性胃腸炎または突然死を引き起こしやすくなる。

臨床徴候

この疾患の発症は、通常、離乳後約2週間である。たいていの場合、若干頭の健康優良発育子豚の突然の発症から発見される。罹患率は通常低いですが、発症したブタは死亡率が高い。徴候として、食欲不振、運動失調、昏睡および仰臥があり、しばしば游泳運動が観察される。罹患したブタを捕獲すると、喉頭浮腫が原因となった異常な鳴声で反応することがある。下痢は通常、典型的なEDを発症した個体にはみられないが、同群の他のブタにはみられることがある。顔やまぶたが腫れる場合もある。発症豚は数時間または数日で死亡する。生存する少数のブタはしばしば神経障害を示す。群におけるEDの経過は通常約2週間である。

しかし、他のバッチのブタが危険にさらされる年齢層に達すると、この病気が再発する可能性がある。

病変

罹患したブタはすべてが典型的な病変を示すわけではないので、診断には剖検が必要である。死亡したブタの中には、内臓の鬱血が唯一の大きな変化である可能性がある。通常、顔や瞼、胃粘膜下組織、または円錐結腸の腸間膜の皮下部の浮腫が観察される。体液は、腹膜腔、胸部または心嚢において増加し得る。時には、心外膜または心内膜の下に出血がみられる。脳は、影響の少ないブタの脳幹または基底核に固有の出血性および軟化性病変を有することがある。これらの病変はED罹患を示唆している。

亜急性または慢性的に罹患したブタでは、微小動脈変性および細小動脈変性が多くの部位で見られる。変化は時には脳に供給される血管において明らかである。脳幹および基底核の組織切片は、出血および軟化の疑いのある領域を確認するのに都合がよい箇所である。

診断

肉眼所見で暫定的な診断は可能である。

薬剤非投与の典型的な症状を示すブタ小腸の細菌培養では、溶血性大腸菌のコロニーが観察される。毒素を確認するため、分離株の毒素遺伝子を決定することは有用である。病理学的には、顕微鏡的血管病変観察診断が一般的である。

浮腫病の類症鑑別として、*Streptococcus suis*、*Salmonella Choleraesuis*、豚丹毒、または*Haemophilus parasuis*によって引き起こされる神経症状（仮性

狂犬病、水枯渴または有機砒素中毒) または敗血症および髄膜脳炎等が挙げられる。

コントロール

EDに罹患したブタの治療に関して、肉眼所見で臨床症状が確認されるようになった時点で腸内の毒素産生がかなり進んでいるので手遅れになることが多い。罹患したブタは非経口的に治療する必要がある。抗菌剤は、それほど深刻な状態でないブタでは、ある程度の効果があるかもしれない。初期であれば、アシドーシスと脱水に対する補液療法が有効である。アウトブレイク時には、危険にさらされている残り動物の発症率を減少させる努力をする。抗菌剤および酸性化剤の飲水投与は有用かもしれない。重度のアウトブレイクでは、通常飼料に換えてより少ないタンパク質、より低いパーセンテージの大豆ミール、またはより多くのロール状カラスムギを含んだ代換飼料にする必要がある。

EDの不安定な発生は対策の効果の評価を困難にするため、予防方法は普遍的に実施していく必要がある。EDによる損失を受ける農場の防除計画には次の7つの一般的戦略を考える必要がある。

- ①管理上の要因には、環境ストレス（温度変動、気流、湿度など）の最小化、異母豚群混合の制限、オールイン/オールアウト（AIAO）システムによる綿密な衛生管理。
- ②飼料はクリープ給餌、制限給餌、離乳後の複数回給餌（小量で3～6回/日）とし、飼料にはオートムギ（繊維質が高い）、飼料または水に酸性化剤（有機または無機酸）、酸化亜鉛（2,500 mg/kg = 2,500ppm）、血漿蛋白質を添加する。

- ③抗菌剤投与については注意を要する。様々な抗菌性物質が定量で飲水投与されることが多いが、EDが定期的に発生しないため、有効性を評価することは難しい。場合によっては少数のブタにしか効果がなく、一部のブタは自然免疫を獲得してアウトブレイクは自然に終焉する。薬剤耐性化は最終的にこの手法による対策を困難にしている。
- ④免疫予防は、受動的または能動的にブタをEDから守ることができる。抗体を含む経口摂取製品（牛乳、血漿タンパク質、卵粉末）は、ED菌の定着や病気の予防に役立つ。受動的保護の欠点は、コスト、線毛または毒素のタイプ間の交差免疫の欠如、および投与を止めた後に再び感染が起こる可能性である。能動免疫は、特異的定着因子または毒素に対して誘導され得る。F18またはF4（K88）線毛を含有するが、毒素産生遺伝子を欠く、生あるいは不活化菌体培養物による経口ワクチン接種は実証されている。Stx2eから調製されたトキシノイドも、EDに対して有効であることが実証されているが、商品化されていない。
- ⑤競合排除は、病原性大腸菌が利用する受容体を非病原性細菌によって占有させる手法である。現在種々検討されており、将来、この手法がEDを制御する可能性がある。
- ⑥ED陰性群は、繁殖母豚の入念な病歴調査によって病原体の侵入を防止することが賢明である。密飼の防止と消毒を用いることでED撲滅が可能かもしれない。
- ⑦F18およびF4（K88）線毛の受容体を遺伝的に欠くブタでは、EDに対する自然耐性となる。遺伝的にED耐性のブタが開発されている。

〔離乳後下痢〕

離乳後の腸内大腸菌症とも呼ばれる大腸菌による離乳後下痢（PWD）は、世界的規模で養豚業に大きな被害をもたらしている。哺乳舎での腸管毒素産生大腸菌（ETEC）感染は、離乳後1週間または2週間の間に下痢を誘発し、脱水、増体重減少、および死亡をもたらす。PWDの重症度は、離乳ストレス、食餌の変化、移行抗体の欠乏など様々な要因によってさらに変わる。

ブタの大腸菌性下痢はETEC、ベロ、または志賀毒素産生大腸菌、壊死性大腸菌、腸管病原性大腸菌、腸管出血性大腸菌、腸管凝集性大腸菌、および腸管侵入性大腸菌によっておこる。これらの中で、ETECは、哺乳豚および離乳豚の水様性下痢の最も一般的な原因となっている。

近年、ブタの大腸菌感染症は、世界的にみて養豚業における突然死または深刻な下痢の最大の原因となった。原因となった大腸菌分離株は、スペクチノマイシン、アブラマイシン、トリメトプリム-スルホンアミド、およびネオマイシンを含む広範囲の抗菌剤に耐性であることが多い。抗生物質の予防的使用は薬剤耐性化に関与することが明らかとなっている。現在では、アボパルシン、バシトラシン、スピロマイシン、タイロシンなどの抗菌性成長促進剤（AGP）はEU、韓国、米国で禁止されており、他の国々にもこの傾向が追随されている。実際には、飼料中のAGPの除去は、主に離乳豚において大腸菌によって引き起こされる下痢、体重減少、および死亡率の増加をもたらした。しかしながら、長期的に飼料中のAGP除去を続けることは、結局のところ、ETEC株の薬剤耐性率を低下させることとなり、ブタの生産性

向上に寄与することとなるだろう。現状はETEC株による大腸菌関連の下痢および薬剤耐性の発生率の増加に伴い、従来のAGPの使用に替わる問題解決策を開発することが重要かつ急務となっている。

ETECの病原因子

ETECは、小腸の粘膜上皮細胞に接着する。細胞に対し有害な形態変化を直接誘導することはないが、細胞への吸水性を低下させることによって細胞機能を損なう腸管毒素（エンテロトキシン）を分泌する。宿主によって発現される定着因子とエンテロトキシンは、ETEC株と宿主間において特異的である。

1. フィンブリエ（Fimbriae）とアドヘシンの関係

発症への第一段階は、大腸菌が粘膜上皮細胞の形態学的破壊を伴わずに微小絨毛へ付着することである。フィンブリエは、ETECの最も一般的なタイプの接着性表面抗原である。PWD豚からのETECで見出される線毛の一般的なタイプは、F18およびF4である。一般的にPWDは、F18およびF4線毛の両方に関連するが、早発性下痢は、主にF4線毛に関連する。

1-1. F18 フィンブリエ

F18 フィンブリエは0.5～1.5 μ mの細長い線毛である。細菌の表面上100～300本分布している。線毛は形態学的に2つに分類される。ペリーは剛性構造（直径7～8nm、軸方向の穴）を有しているのに対し、フィブリルは比較的薄く柔軟であり、直径は不定である。フィブリルに属するF18 フィンブリエは、ヘリカル軸の周りにジグザ

グパターンを有する FedA (15.1kDa) と呼ばれる主要な構造タンパク質から成る 1～2 μ m のフィラメントである。F18 線毛には、2つの抗原変異体、F18ab および F18ac が知られ、「a」は共通の抗原因子であり、「b」、「c」は特定の因子となっている。1995 年以前は、F18 線毛を F107 (現在の F18ab)、2134P、または 8813 (現在の F18ac) と呼んでいた。F18ab はインビトロではほとんど発現されず、通常は志賀毒素産生大腸菌 (STEC) および ETEC で見出されるが、F18ac はインビトロでも発現しやすく、通常は ETEC のみで見出される。F18 ETEC 株は、STa や STb などの耐熱性エンテロトキシンを産生することが多いのに対し、易熱性エンテロトキシン (LT) はほとんど産生しない。小腸における ETEC のコロニー形成は F18 線毛の小腸への微絨毛上の糖タンパク質に結合することからはじまる。なお F18ac フィンブリエと F18ab フィンブリエは 9～12 個のアミノ酸の違いがある。遺伝的に、一部のブタは F18 線毛の受容体を欠いており、したがってこれらのブタは F18 ETEC のコロニー形成がおこらない (感染しない)。

1-2. F4 (K88) 線毛

F4 線毛は、長いフィラメント状ポリマー表面を有するタンパク質である。また、F4 線毛の構造は、薄く、柔軟で、拡張された構造のものからより広い、剛性の、そして凝縮された構造まで様々に変化し得る。F4 線毛は、3つの抗原性変異体 (F4ab, F4ac, および F4ad) が知られている。「a」は共通の抗原因子であり、「b」、「c」および「d」は特定の因子である。これらの 3つの F4 変異体は、それらの主要サブユニット (FaeG) 上でわ

ずかに異なるアミノ酸組成を有する。F4ab および F4ad の主要サブユニットは 264 個のアミノ酸残基から構成され、F4ac の主要サブユニットは 262 個のアミノ酸残基を有する。3つの F4 変異体のうち、F4ac がより一般的である。今までの調査により、PWD から分離された F4 ETEC 分離株のうち、F4ab および F4ad 線毛遺伝子を保持している割合は 5% に満たないことが明らかとなっている。線毛遺伝子の発現は、通常、温度、pH、および培地を含む環境因子によって影響される。

すべての F4 アドヘシンは、腸管粘膜上皮細胞および腸粘液上の糖タンパク質の炭水化物に結合する。一方、F4ad アドヘシンは、特に糖脂質に結合するが、F4ab および F4ac アドヘシンは糖タンパク質に結合すると考えられている。

1-3. 他の接着因子

フィンブリエ型に基づいて、F5 (K99)、F6 (987P)、F17 (Fy / Att25)、および F41 がブタおよび子牛の両方で見出される。これらの線毛は、通常、哺乳豚の ETEC 下痢に関連し、これらの線毛は、PWD の ETEC 上の F18 または F4 と一緒に、あるいは単独ないし 3 種以上で一緒に見出される。Kwon らは、PWD 由来の ETEC のそれぞれ 4%、10% および 2% で F5、F6 および F41 の遺伝子が F4 等と共に存在することを見出した。

2. 腸管毒素

エンテロトキシンは、ETEC から分泌される細胞外タンパク質またはペプチドである。それらは腸管粘膜上皮細胞に効力を示す。エンテロトキシンは、低分子量 (1～5kDa) の耐熱性ペプチド

毒素 (ST) および大分子量 (88kDa) の LT に分類される。

2-1. 易熱性エンテロトキシン

大腸菌 LT は、A : B5 タンパク質構造からなる。サブユニット A は、5 量体であるサブユニット B と非共有結合的に会合する単一の酵素である。5 量体サブユニット B は毒素をその受容体に結合するのに役割を果たす。2 つのサブユニット A および B は、それぞれ 240 および 103 個のアミノ酸を含む。サブユニット A は、A1 (ADP-リボシルトランスフェラーゼ) および A2 (ペプチド) の 2 つのフラグメントからなり、B サブユニットの孔を通過するズルフィド結合で接続されている。サブユニット A および B は、もともと細胞質で合成され、ペリプラズムでホロ毒素を構造化するように処理される。サブユニット B は、主に、細胞表面上のモノシアロテトラヘキソースガングリオシド (GM1) 受容体に結合する。この工程の後、A1 の断片は小胞体に転位し、アデニル酸サイクラーゼ系を活性化して、細胞の環状アデノシン一リン酸 (cAMP) を増加させ、液体および電解質の分泌を増加させ、それらの吸収を減少させる。

腸管毒性の機能に加えて、LT は、腸管上皮細胞表面上の GM1 への細菌の結合のための接着としても作用し得る。LT 遺伝子を除去した株では ETEC の定着が減少することが示されている。

2-2. 耐熱性エンテロトキシン

耐熱性エンテロトキシンには、STa および STb が知られる。ST のうち最初に発見された変異体は、3 つのズルフィド結合を有する 18 アミノ酸

からなる低分子量ペプチドである STa である。STa は水およびメタノールに可溶性であり、タンパク分解酵素によって消化される。これは 15 分間の沸騰に耐え、ズルフィド結合を切断する薬剤によって不活性化することができる。STb は、2 つのズルフィド結合に関与する 4 つのシステイン残基を有する 48 アミノ酸からなるペプチドである。STb はメタノールには溶解しないが、タンパク分解酵素によって消化することができる。動物の早発性下痢を起こす ETEC のほぼ全てが STa に由来するが、PWD の原因ともなっている。STb はブタの ETEC に特徴的である。

3. 離乳後下痢における ETEC の血清群および血清型

フィンブリエ (fimbriae) 遺伝子よりも毒素をコードする遺伝子間でバリエーションが大きい場合、特異的ビルレンス遺伝子を同定するために ETEC の血清群型別が実施される。ETEC 血清群は、それぞれ、リポ多糖類および鞭毛に基づいて決定される O および H 血清群によって決定される。PWD を引き起こす大腸菌の主要な血清群は O149 である。ブタで頻繁に PWD を引き起こす他の血清群は、O8, O138, および O141 である。H 血清群は、鞭毛抗原によって決定され、有用な抗原マーカーおよび ETEC ワクチンの潜在的成分として役立つ。O 群血清型と比較して ETEC に関連する H 血清型はほんのわずかであり、H4, H6, H10, H19, H43 および H- であり、O 群血清型と強く関連している。

大腸菌の病原性

大腸菌によって引き起こされる PWD は、大腸

菌の強い増殖力と関連し、小腸粘膜上皮または粘液被覆上皮の受容体への細菌付着を介して小腸でのコロニー形成に関連する。実験的に、下痢を誘発するために必要な菌数は $10^9 \sim 10^{10}$ 個であることが判明している。コロニー形成の程度は、感染症の発症で判断する。フィンブリエは、腸管上皮細胞の細胞膜上の特異的な受容体に付着し、また細胞をコートした粘液を介して非特異的に腸管上皮に付着する。フィンブリエ F5, F6 および F41 を有する ETEC は、大部分が空腸遠位部および回腸に定着し、F4 ETEC は、空腸および回腸全体に定着する能力を有する。F4 接着は、主としてブタにみられる。

ブタにおいて、F4 レセプターは、新生時から成豚まで全ての期間に発現するが、F18 レセプターは約 20 日齢まで全く発現されない。したがって、F18 線毛を有する大腸菌は、新生豚では病気を引き起こさないが、11 週齢のブタでは F18 ETEC に起因する下痢症状がみられる。一部のブタは、腸管上皮細胞上の F4 アドヘンシンに対する受容体を持たないため、F4 ETEC による感染に対して遺伝的耐性を示す。

初乳および乳汁から得られる抗体（免疫グロブリン）は、腸内の大腸菌株の増殖から哺乳豚を保護する。しかしながら、離乳時の子豚は移行抗体が減少するため大腸菌の腸内感染に対してより感受性が高くなる。ウイルスが腸に感染し、これが細菌感染を促進させている可能性もある。Lecceらは、ロタウイルスと ETEC 株の 2 つの感染が、それぞれ個々の感染よりも重篤な下痢を引き起こし、上皮のウイルス性損傷が大腸菌のコロニー形成を増強する可能性があることを示した。

一般に、ETEC を保有するブタは ETEC 感染後、

約 1～5 日持続する水様の下痢を示すことがある。ブタによっては、下痢症状はないが腸管浮腫を伴う急死がみられる。下痢は、通常、腸が水分を再吸収または吸収することができないか、または腸内に分泌される体液が大幅に増加するために、著しい脱水をもたらす。LT および ST エンテロトキシンによる基本的メカニズムは、小腸粘膜上皮細胞の機能を損ない、水および電解質 (Na^+ および Cl^-) の分泌を増加させ、水分吸収を減少させ、脱水およびアシドーシスを増加させることである。

LT エンテロトキシンの構造および作用機序はよく解明されており、コレラ菌毒素 (CT) に類似している。前述のように、LT の B サブユニットは、主に細胞表面上の GM1 受容体に結合する。エンテロトキシンが細胞表面に接着した直後に、A ドメイン (A1) の断片が細胞に移行し、cAMP レベルを上昇させるアデニル酸サイクラーゼ系を活性化する。次いで、プロテインキナーゼ A が、囊胞性線維症膜貫通コンダクタンス調節因子 (CFTR) をリン酸化し、次いで腸管細胞の内腔表面から Cl^- 分泌を引き起こす cAMP によって刺激されることで下痢がおこる。

STa は、グアニル酸サイクラーゼ系を刺激してサイクリックグアノシンリン酸 (cGMP) の細胞内蓄積を誘導し、水および電解質 (Na^+ 共役 Cl^-) の絨毛先端への吸収を損ない、最後に水および Cl^- の分泌を上昇させる。しかしながら、STb がどのように疾患症状を引き起こすかの分子メカニズムはよく理解されていない。Dubreuilらは、STb が腸管上皮細胞のスルファチド (3-O-スルホガラクトシルセラミド) に結合し、次いで細胞に内在化することを示した。一方、Whipp

らは、STb が上皮細胞における環状ヌクレオチドレベルを増加させず、腸管上皮細胞からの非塩化アニオンの分泌を増強することを見出した。

ETEC に関連する離乳後下痢予防

1. ETEC 感染症の診断

ETEC 感染症の診断には、アドヘシンやエンテロトキシンなどの病原因子の検出を項目に入れるべきである。これらは、スライドラテックス凝集試験および ELISA を含む古典的な *in vitro* 試験によって検出することができる。接着性線毛は、モノクローナル抗体または吸収ポリクローナル抗フィンガープリント抗体を用いた免疫蛍光法で効率的に検出される。線毛と比較して、エンテロトキシンは、高度な分子レベル技術が必要で、一般的な方法を用いた *in vivo* での検出は困難である。DNA ベースの分子検出法 (PCR および DNA ハイブリダイゼーション) は、一般に、既知のビルレンス因子を検出するために使用される。さらに、リアルタイム PCR は、ETEC を検出するためによく使用される。しかしながら、従来の ETEC 検出法も、遺伝子発現を測定し、あるいは新しいビルレンス因子を発見するにあたり依然として必要とされている。

2. 免疫予防

離乳豚は受動的な乳汁誘導免疫が欠如している (移行抗体の消失) ため感染防除には能動的な腸管粘膜免疫が必要である。PWD のワクチンは、粘膜免疫系および抗原特異的免疫グロブリン (A および M) 応答を活性化して、防御性粘膜免疫を誘導する必要がある。

ブタには、ETEC 用の 3 種類のワクチンが実験

的に適用されている。ひとつめは、腸内細菌レベルにおいて非病原性のものを多く保つために血中抗体を増加させる全身性免疫を刺激するための筋肉注射用ワクチンである。F4 線毛抗原の筋肉内注射は、全身免疫グロブリン A (IgA) 応答を誘導し、F4 大腸菌の排泄を増強した。ふたつめは、ブタに対して線毛アドヘシンを保有する弱毒化または野生型腸管毒素非産生性大腸菌株の経口投与である。接種は、予想される下痢発症の少なくとも 1 週間前に、授乳中のブタに経口投与するか、哺乳豚に飲水投与で行う。これは、腸からの抗体分泌を誘導するこれらの大腸菌による腸内のコロニー形成を刺激し、最終的に ETEC の付着を阻止する。多くの農場において、弱毒生菌または非毒素性 F4 大腸菌の経口投与実験の結果、死亡率の低下および抗生物質使用の減少が示されている。最後の 3 つめは、全菌体の代わりに精製線毛抗原のブタへの経口投与である。そのようなワクチンの使用は、腸での特異的粘膜免疫応答をもたらし、病原性大腸菌の糞便排泄の有意な減少を引き起こし得る。これまでの研究において、精製 F4 線毛を用いた哺乳豚の経口免疫が、その後の F4 ETEC チャレンジから豚を保護する F4 特異的全身および粘膜免疫応答を誘導することを実証している。このワクチンの実用化には、精製線毛抗原とコーティングポリマーとの相互作用が、精製線毛抗原の生物学的活性を低下させ、生物学的活性を失うことなく、精製線毛抗原を小腸に送達する効果的な方法を見出すことがポイントであり、さらなる研究が必要である。一方で、精製フィンブリエ抗原を経口的に腸内溶性ペレットに封入して小腸に送達する手法も開発されてきた。

3. 抗菌ミネラル

亜鉛は、腸管上皮細胞が障害を受けるのを防ぎ、細胞の機能を維持する上で重要な役割を果たすことが示されている。数多くの研究により、酸化亜鉛 (ZnO) による治療が育成豚の成長性能を改善することが実証されている。Roselli らは、ZnO が F4 ETEC 感染によって誘発された腸管粘膜上皮細胞の細胞膜への損傷を減少させることを示した。Nusrat らは、哺乳豚の成長を促進する ZnO のメカニズムは、その抗菌活性によるだけでなく、炎症性サイトカインを調節することによって腸管上皮タイトジャンクション機能および構造を増強することを示した。

銅は、成長刺激剤およびブタの細菌感染の潜在的阻害剤として作用することが示されている。銅の細菌細胞への直接接触は、活性酸素の産生を引き起こし、細菌細胞膜および DNA に酸化的損傷を引き起こすと考えられている。銅はまた、細菌細胞膜の損傷、細胞質内銅の増加、および最終的には細菌 DNA の分解によって、細菌の接触死滅の原因であることが示されている。Robert らは、銅が細菌細胞膜の酸化的損傷を引き起こし、膜の完全性が失われ、結果的に大腸菌が死滅することを見出した。銅の殺菌効果は銅合金および硫酸銅 (CuSO_4) から得られた。

CuSO_4 は、その抗菌活性を有する成長促進飼料添加物として広く使用されている。1,700 mg/kg (1,700 ppm) の CuSO_4 を含む飼料を与えた育成豚は、糞便中大腸菌数と腸管内大腸菌数において有意な減少を示した。

4. 酸性化剤

胃から分泌された塩酸は、抗菌物質として作用

する。しかし、離乳時には、固形飼料を摂取すると胃腸管内の pH が上昇する。したがって、有機酸の栄養補給は、胃腸管の pH および胃および腸における細菌の増殖を制御する有効な方法であり得る。

乳酸またはクエン酸の栄養補給は、PWD を予防し、したがって育成豚の成長を促進するのに有効である。Bosi らは、蟻酸の栄養補給が大腸菌全体の糞便排泄を減少させる一方で、腸の形態および成長性能を向上させることを示した。インビトロの研究では、ギ酸または複数の酸を液体飼料に補充すると腸内細菌数が減少することが示された。PWD 発生時には、様々な有機酸の栄養補給が、下痢の発生と重症度、および腸内の F4 ETEC の数量を減少させるのに有効である。

5. 血漿

育成豚に血漿添加飼料を給餌することは、ETEC の腸内定着に対する阻害効果となり得る。Owusu-Asiedu らは、血漿中の特定の抗 ETEC 抗体を含む飼料を与えられた初期離乳豚の増体重および ETEC 関連下痢の減少効果を確認した。Bosi らは、血漿非媒介飼料が粘膜上皮細胞増殖能力を増強し、ETEC 感染に対する F4 受容体を保護し、ETEC 誘発炎症応答を低下させることを見出した。非免疫血漿粉末を補充した飼料は、F18 ETEC の糞便排泄を減少させる有意な効果を有した。このように、高レベルの血漿 Ig 含有量飼料が、腸のバリア機能および小腸の健康を維持するのに役立つ可能性があることを示している。

6. 卵黄抗体

特定の細菌性線毛抗原で免疫された産卵鶏から

得られる卵黄抗体は、ブタの ETEC 感染を防御する能力を有する比較的経済的な抗体源である。ETEC 感染を予防する際の卵黄抗体 (EYA) のメカニズムを解明するために、研究者らは、EYA を投与した子豚の小腸への F4 ETEC の結合をモニターした。結果は、ブタに EYA を投与した場合、小腸粘膜上皮への F4 ETEC の付着の減少が確認された。これは、EYA が ETEC 感染前に粘膜受容体への ETEC 線毛の結合をブロックし得ることを示している。Marquardt らは、精製 F4 で免疫化したニワトリからの EYA を給餌した哺乳豚が、F4 ETEC チャレンジ後の下痢および死亡率を減少させることを示した。Kiarie らは、EYA を摂取したブタが F4 ETEC の経口投与後に絨毛の深さを増加させ、回腸の pH を低下させたことを確認した。

一方、いくつかの研究では、ブタに EYA を与えたときの下痢や死亡率の差は認められなかったと報告するものもある。育成豚への給餌を実際に適用するには、EYA の役割を検証するためのさらなる研究が必要である。

7. 直接給餌微生物 (DFM)

直接給餌される微生物 (DFM) とは、「腸内微生物叢の定着および組成に正の影響を及ぼし、消化プロセスおよび宿主の免疫に刺激効果を有する生きた微生物」と定義されている。Roselli らは、*Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium lactis*, *Bacillus toyoi* などの特定の DFM が、病原性 ETEC および腸炎症反応の腸内感染の低減に有効であることを論じている。Zhang らは、*Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) が F4 ETEC によって誘発された離乳豚の下痢改善に有効であることを示した。これは

腸内微生物叢を調節し、腸内抗体防御を増強し、全身性炎症性サイトカインの産生を調節することが理由となっている。*Bacillus toyoi* または *B. licheniformis* を補給した飼料は、下痢の発生率および重症化ならびに腸内の ETEC の数を減少させた。Jin と Zhao は、*Enterococcus faecium* が、F4 ETEC の接着性線毛の受容体が存在する腸管粘膜層への F4 ETEC の接着を阻害することを見出した。

しかしながら、DFM の有効性は、ブタの系統または状態に依存する可能性もある。他のいくつかの研究では、飼料に個々に添加した場合、特定の DFM は効果がないことが示された。Sanders と Huis in't Veld は、多系統および多種 DFM が、単系統 DFM より効果的であることを考察した。Huang らは、複合乳酸菌製剤が、離乳後 2 週間にわたりブタの健康を改善し、消化管における大腸菌感染に対する抵抗性を増強したことを示した。

最近の研究 (Loftus, 2015) では、単一株 DFM と多系統 DFM の有効性を比較したところ、*L. acidophilus*, *L. casei*, *B. thermophilum*, および *E. faecium* の 4 菌株を用いた DFM の多剤投与による増体重効果は認められなかった。一方、別の最近の研究 (Sun, 2013) では、*L. acidophilus*, *L. casei*, *B. thermophilum*, および *E. faecium* に基づく多系統 DFM が、F18 ETEC で経口チャレンジされたブタの成長能力が増強されたことを示した。また、豚に多系統 DFM を補給した飼料を与えた場合、F18 ETEC で曝露された哺乳豚の小腸の粘膜上皮において、F18 ETEC に関連する疾病発生が減少した。

8. フィトバイオティクス

植物性飼料添加物としても知られるフィトバイ

オティックスは、腸の健康を増強することによってブタの成長能力を改善するために飼料に供給される植物由来製品である。フィトバイオティクスの形態は主に精油であり、様々なハーブ、スパイス等に由来する。EUにおける抗菌性 AGP の全面的な禁止後、植物性生物は動物飼料において魅力的な選択肢となった。成長促進剤、抗菌剤、抗酸化剤、および他の特性における植物抽出物および精油の役割を調べるために、様々な研究が行われている。

Macleaya cordata (Wild) R.Br の抽出物を 15 ~ 50mg / kg の範囲で飼料添加物として使用することにより、肥育豚において増体の改善および下痢発生の減少が観察された。Tatara らは、老化したニンニク抽出物中の機能的成分としてアリシンを供給された哺乳豚の増体重増加を示した。Devi らは、F4 ETEC による食物チャレンジ後に植物性添加物の組み合わせ（クローブ、シナモン、およびフェヌグリーク）を摂取することにより、増体重増加および見掛けの総消化率上昇を確認した。シナモン、タイムおよびオレガノのブレンド抽出物の栄養補給は、哺乳豚の腸における病原性大腸菌のコロニー形成を阻害した。ニュートン (Newton) らによる研究および Liu らは、サンギナリンがブタの GIT 中の有益な細菌の増殖を促進し、病原性細菌のコロニー形成を阻害することによって抗菌剤として作用することを明らかにした。哺乳豚において、混合植物抽出物（オレガノ、シナモン、メキシコペッパー）を供給すると、総細菌量が減少し、回腸腸内細菌に対する乳酸菌の割合が増加した。Khan らは、大腸菌の病原性株が以下の植物抽出物：*Acacia nilotica*, *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*

に感受性であることを示した。酸化反応に対する最も一般的な成分は、ミントからの揮発性油、特にローズマリーからの製品であった。多くの植物性化合物の抗酸化能は、飼料脂質酸化の保護に寄与すると推測される。よく研究されていた他の非抗菌性 AGP とは異なり、植物性生物は比較的新しいタイプの飼料添加物であり、効能効果の解明と応用においてさらなる研究が必要である。

9. バクテリオファージ

バクテリオファージは、細菌に感染するウイルスの総称であり、対象細菌を高い種特異性で溶菌する。バクテリオファージは、ETEC によって引き起こされる PWD に対する抗生物質使用の代替物として養豚において広くかつ治療的に用いられる。

10. ヌクレオチド

ヌクレオチドは、代謝、構造、および調節機能ならびに免疫系の維持および再ドックスバランスにおいて役割を果たす生物活性分子として作用する。一般的に、離乳餌は十分な量のヌクレオチドを含まないが、離乳豚の飼料中のヌクレオチドの栄養補給は、成長能力、腸管発達および免疫刺激に正の効果を示している。Li らは、F4 ETEC を経口投与した哺乳豚に給餌したヌクレオチドの補助栄養が、生育能力、栄養素消化率、免疫状態、微生物動態および下痢の減少を促進することを示した。

11. その他の潜在的なサプリメント

その他として、成長性能、薬剤耐性菌の著しい改善等をもくろんで、プレバイオティクスオリゴ

サッカライド、粘土鉱物、及び乳副産物（ウィーバーらを補充した飼料を与え、離乳豚における下痢の頻度、重症度の減少および持続時間を記録）等について研究している。

まとめ

子豚の腸の健康は、その農場成績と経営に密接に関連する。残念ながら腸管毒素原性大腸菌の感染によってしばしば下痢が引き起こされる。抗菌剤はPWDを防止する最も効果的な方法であったが、それら薬剤に対する耐性問題から、抗菌剤の代替が急務となってしまった。粘膜ワクチン等の応用の他、有機酸、機能性飼料（血漿および卵黄抗体など）、直接飼料微生物およびバクテリオ

ファージによる免疫防御および栄養への応用は、潜在的にETECに関連するPWDを防ぐことができる可能性がある。ヌクレオチド、飼料酵素、プレバイオティックオリゴ糖、および粘土鉱物のような他の飼料添加物もまた、腸の健康を増強し、間接的に病気予防の一助となりうるだろう。

著者が2006年に浮腫病について纏めた報告があります。現状の研究進捗と比較のため、本稿と併せて一読いただければ幸いです。

「豚の浮腫病—古くて新しい病気—」, All about Swine, 28: 16-22 (2006).

ETECのF線毛の種類とその性状

F線毛種類	直径 (nm)	作用点分子量 (kDa)	マンノース感受性	関係するO群血清型	受容体
F4 (K88) ab, ac, ad	2.1	27.6	耐性	O8, O141, O149	Sialo-glycoprotein
F5 (K99)	5	16.5	耐性	O8, O20, O101	Glycolipid (NeuGC-GM3)
F6 (987P)	7	17.2	耐性	O9, O20	Glycoprotein/lipid (sulfatide)
F18ab, ac	3.5	17	耐性	O139, O141, O147, O157	Glycoprotein
F41	3.2	29	耐性	O101	Glycoprotein
F165	4 to 6	17.5, 19	耐性	O115	Glycoprotein