

2. 豚の胸膜肺炎由来の*Haemophilus pleuropneumoniae*及び牛の胸膜肺炎由来の*Pasteurella haemolytica* type A の薬剤感受性について

尾 田 進 (新潟県中央家畜保健衛生所)

著者らは、家畜衛生の立場から、野外における不明疾病の究明と、その対応についての模索を行っている。特に、わが国にこれまであまり報告のみられない疾病の流行に際しては、当然のことながら、当面の予防、治療法についての検討が必要である。また、その後の流行に際しても、その病原体の変化(変異)の状況を随時観察し、これに対応することも重要なことである。

このようなことから、著者らが近年始めて経験した豚の胸膜肺炎から分離した*Haemophilus pleuropneumoniae*及び牛の胸膜肺炎からの*Pasteurella haemolytica* type Aの各種化学療法剤に対する感受性を測定し、若干の成績をえたので報告する。

材料及び方法

供試材料：豚の胸膜肺炎由来の*H. pleuropneumoniae*は昭和47年から49年の間に新潟県内の3養豚場の急死例8頭および殺例1頭、計9頭の肺病変部から分離した9株を用いた。また、昭和55年に分離した3症例9株についても一部参考に供した。牛の胸膜肺炎由来の*P. haemolytica* type Aは昭和54年に某肥育農家で急死した2頭および殺した2頭、計4頭の肺病変部からの分離株27株を用いた。これら供試株は分離後-80℃のフリーザーに保存し、試験には3代継代したものをを用いた。

供試薬剤：抗生物質を中心として*H. pleuropneumoniae*は表1.に示した32種類(以下薬剤名はこの

表1. 分離*H. pleuropneumoniae*の各種薬剤に対する感受性(1974)

薬 劑 名	MIC (μg/ml) *印はu/ml<											
	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.25	12.5	25	50	100	100<
PC・G (ペニシリン) *						6	3					
AB・PC (アミノペンシリン)						9						
CER (セファロリジン) *						9						
CL (コリスチン) *										7	2	
BC (バシトラジン) *												9
MK (ミカマイシンA・B)											9	
SM (ストレプトマイシン)						9						
FM (フラジオマイシン)							9					
KM (カナマイシン)					9							
PRM (パロモマイシン)						9						
OTC (オキシテトラサイクリン)						9						
TC (テトラサイクリン)							9					
CP (クロラムフェニコール)								9				
THP (チランフェニコール)						9						
KT (ロイコマイシン)									9			
OM (オレバンドマイシン)										9		
SP (スピラマイシン)											9	
TS (タイロシン)										9		
NB (ノボピオシン)											9	
LCM (リンコマイシン)												9
SAM (スルファメサジン)												9
SAX (スルフィンキサゾール)												9
SAD (スルファジメトキシ)												9
SAC (スルファクロルピリタジン)								7	2			
SAI (スルフィソメゾール)												9
SAmT (スルファモノメトキシ)												9
3-S INa (3-S INa)												9
NA (ナリジキシク酸)						9						
FZ (フラゾリドン)						6	3					
NF (ニトロフラゾン)							9					
FMZ (フラミゾール)	7	2										
CBD (カルバドックス)										9		

表の略号による)を、また、*P. haemolytica* type Aは表 3.に示した 24 種類の化学療法剤(以下、薬剤と略)を用いた。

感受性試験及び培養方法：*H. pleuropneumoniae*はV因子を要求するため、増菌培地のトリプトソーヤブイオン(日水)及び感受性ディスク用培地(日水)にV因子¹¹⁾を5%の濃度に添加した。感受性の測定は、家畜の耐性菌研究会標準法¹⁹⁾に準じた寒天平板希釈法により、最小発育阻止濃度(以下、MICと略)を測定した。培養は炭酸ガス(10%CO₂)を用い37℃24時間培養後、判定した。

P. haemolytica type Aはハートインフュージョンブイオン(日水)及びハートインフュージョン寒天培地を用い、前述の方法によりMICを求めた。なお培養は37℃、24時間好気培養後に判定した。

成 績

豚の胸膜肺炎由来の*H. pleuropneumoniae* 9株に対する各種薬剤のMICは表 1.に示したとおりである。MICが50u又は $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を示し、予防、治療剤として用いるには不適と思われた薬剤はCL, BC, KMの3種の抗生物質のほか、SAM, SAX, SAD, SAI, SAmT, 3-SiNaの6種のサルファ剤であった。これに対し、予防、治療に使用可能な範中に入ると考えられる、25u又は $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の感受性を示した薬剤はPC-G, AB-PC, CER, SM, FM, KM, PRM, OTC, TC, CP, THP, KT, OM, SP, TS, NB, LCM, SAC, NA, FZ, NF, FMZおよびCBDの23種であった。また、これら3養豚場から分離された供試株は、各々の薬剤に対して、ほぼ同一のMICを示した。しかし、2~3の薬剤に対し、明確なものとはいえないま

表 2. 養豚場での使用薬剤と分離株のMIC.

養豚場名	使用薬剤	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$. *印は u/ml)													
		0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.25	12.5	25	50	100	100<		
K	*PC-G						(6)	3							
	TS								3	(6)					
	SAD												3	(6)	
	FZ					(6)			3						
T	SP									3	(6)				
	SAD													3	(6)
Y	CL												(7)	2	
	TS								2	(7)					
	SAmT													2	(7)
	FMZ	(7)	2												

(注) 数字は薬剤使用養豚場の菌株数, ()内数字はほかの2養豚場の菌株数, 薬剤名略号は表 1.参照

でも、養豚場間に差が認められた。すなわち、表 2. に示したとおり、K 養豚場では疾病の予防、治療薬として PC-G, TS, SAD, FZ, を用いていたが、ここからの分離菌 3 株は PC-G 及び FZ に対し、他の T, Y の 2 養豚場の分離株よりも若干低い感受性を示した。また、Y 養豚場で

は当時 CL, TS, SamT および FMZ を使用しており、ここから分離された 2 株は CL 及び FMZ に対し、他の養豚場からの分離株より低い感受性を示した。なお、T 養豚場での使用薬剤は SP, SAD であった。

牛の胸膜肺炎由来の *P. haemolytica* type A,

表 3. 分離・*P. haemolytica* type A の各種薬剤に対する感受性 (1980)

薬 剤 名	最小発育阻止濃度 (MIC. u ※ 又は $\mu\text{g}/\text{ml}$)										
	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.25	12.5	25	50	100	100<
※PC・G											27
AB・PC											27
MCI・PC								27			
CER											27
OTC							6	15	6		
DSM											27
KM					23	2	2				
GM			26	1							
EM			27								
KT						27					
OM						20	7				
SP								27			
TS								27			
※BC							24	1	2		
CL		27									
TP						1	5	1	20		
MC		18	9								
CP		27									
THP				27							
NA				25	2						
OA	27										
FZ	27										
NF	27										
CBD						27					

(注) 薬剤名略号は表 1. 参照

27株に対するMICは表3に示した。これによると、50u又は $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性を示した薬剤はPC-G, AB-PC, CERおよびDSMの4種類であった。一部の株が50u又は $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性を示したものはOTC, BCおよびTPの3薬剤であった。また、25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の感受性を示した薬剤はMCI-PC, KM, GM, EM, KT, OM, SP, TS, CL, MC, CP, THP, NA, OA, FZ, NFおよびCBDの17薬剤が該当した。

考 察

現在、豚のヘモフィルス感染症のうちで、大きな被害を与えているものに*H. pleuropneumoniae* (旧:*H. parahaemolyticus*)による胸膜肺炎がある。本病は昭和47年、新潟県内の1養豚場で発見¹¹⁾されて以降、全国各地でも流行が知られている。⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁷⁾¹⁸⁾

本菌の各種薬剤に対する感受性はDHOLAKIA³⁾によるとPC, SM, FM, TC, CPおよび、Sulphonamidesに感受性を示したと述べている。著者らの分離株ではMICが0.75~0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と極めて高い感受性を示した薬剤はAB-PC, CER, SM, KM, PRM, OTC, TC, CP, THPおよびFMZが該当し、有望な治療剤と思われたが、サルファ剤では耐性を示した。本菌が分離された当初は、今般動物用医薬品の使用に対する関心が、今日のように厳しい時代ではなく、当然のことながら、多剤耐性株の存在と新たな薬剤に対する耐性獲得も予想された¹²⁾しかし、その後、昭和51年7月24日付けでなされた飼安法の改正²⁰⁾により事情は急変した。

これまで、各研究者により報告⁶⁾⁷⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹⁸⁾されている薬剤感受性試験成績のうち、同一手法(日水、一濃度ディスク法)によるものを表4に示した。これによると昭和47年から51年頃の

表4. 研究者・年度別・豚由来・*H. pleuropneumoniae*の薬剤感受性試験成績

年 症例数 使用ディスク 研究者 (県名) 薬剤別	S47	50	50	51	53	53	55
	1	4	5	1	1	7	3
	昭和	昭和	昭和	昭和	昭和	昭和	昭和
	尾田ら (新潟)	長江ら (岡山)	上田ら (山口)	磯部ら (滋賀)	金城ら (沖縄)	岩淵ら (千葉)	尾田ら (新潟)
PC	#	#~#	+~#	#	#	#	#
AB-PC	#	#
CL	#	+	+~#	#	#	#	#
PM-B	#	#	.	#	.	#	#
MK	#	#
SM	+	-	+~#	+	#	#	#~#
FM	#	.	+~#	.	.	.	#
KM	+	+~#	#	+	#	+~#	#
TC	#	#	+~#	#	#	#~#	#
OTC	#	.	#~#	.	.	.	#
CP	#	#	#	#	#	#	#
EM	#	#	#~#	-	#	#~#	#~#
OM	-	+	+~#	-	#	+~#	-
KT	-	+	#	.	#	+~#	#~#
SP	-	+~#	+~#	-	+	+~#	-
NB	-	+~#
LCM	.	+	.	.	+	+~#	-
SAD	-
SAmT	-	.	-	.	.	.	-
SAX	-	-	.	.	+	-~#	-~+
SAI	-	-~#
NA	.	#	.	#	#	+~#	#
FZ	#	#	#
DOME	#	#	.	#	#	.	#

注) # : 高い感受性, + : 中等度の感受性, + : 低い感受性, - : 耐性。
薬剤名略号は表1参照。

分離株は、地域、年代等の差があるにもかかわらず、比較的多くの薬剤に対し低い感受性を示している。しかし、昭和53年以降では、これまでと異なり多くの薬剤に対して、高い感受性を示す株が分離されている。事実、著者らの分離株についても昭和47年に分離されたものに比べ53年のものでは多くの薬剤に対し高い感受性を示し、とくに2・3のサルファ剤に対し感受性を示す株も分離された。

近年、*P. haemolytica*による牛の胸膜肺炎が報告⁴⁾¹⁶⁾され、牛の新しい疾病として注目され始めている。*P. haemolytica*の薬剤感受性はCHANGら²⁾によると、牛由来の127株中、SMでは、92.9%、TC59.1%、PC61.4%およびCPでは1.6%が耐性であったと述べている。また鈴木ら¹⁶⁾は多種類の糖を分解する本菌を分離し、これらの株ではTHP、CTC、TC、CP、CL、ジハイドロオキシメチルフラトリジンおよびPMBに極めて感受性であったと報告した。

一方、BIBERSTEINら¹⁾は*P. haemolytica* type AのMICを求め、PCでは0.08~0.32u/ml、AB-PC0.125~0.1μg/ml、CET0.1~0.8μg/ml、KM0.8~3.1μg/ml、GM0.4~1.6μg/ml、CP0.1~0.8μg/ml、TC0.1~0.4μg/ml、EM0.2~0.8μg/mlおよびFuradantin0.8~3.1μg/mlであり、これら7種の薬剤に対し高い感受性を示している。これに対し、著者らの分離株ではPC、AB-PC、CERおよびDSMには100u又はμg/ml以上の耐性を示し、前者に比べ多剤耐性であった。

ま と め

著者らは豚の胸膜肺炎から分離した*H. pleuropneumoniae* および牛の胸膜肺炎由来の*P. haemolytica* type Aの各種薬剤に対する感受性試験を行い以下の成績をえた。

1. 豚由来の*H. pleuropneumoniae* はPC-G、AB-PC、CER、SM、FM、KM、PRM、

OTC、CP、THP、KT、OM、SP、TS、NB、LCM、SAC、NA、FZ、NF、FMZ、およびCBDの23種の薬剤に25u又はμg/ml以下のMICを示し治療・予防薬として有望視された。

2. 牛由来の*P. haemolytica* type AではMC、I-PC、KM、GM、EM、KT、OM、SP、TS、CL、MC、CP、THP、NA、OA、FZ、NFおよびCBDの17種の薬剤に対し25μg/ml以下のMICを示した。

3. 豚由来、*H. pleuropneumoniae*のごく最近の分離株では多くの薬剤に対し高い感受性を示す傾向がみうけられた。

稿を終るにあたり、終始ご指導を賜りました、農林水産省動物医薬品検査所、加藤和好室長並びに日本獣医畜産大学家畜微生物学教室、高橋勇教授に対し謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) BIBERSTEIN, E.L., KIRKHAM, C. (1979). *Res. Vet. Science.*, 26, 324~328.
- 2) CHANG, W.H., CARTER, G.R. (1976). *J. Amer. Vet. med. Ass.*, 169, 710~712.
- 3) DHOAKIA, P.M. (1972). *Ind. Vet. J.*, 49, 883~886.
- 4) 後藤, 高橋, 多田, 明石, 西原, 小林, (1976). 第24回北海道家保業績集録, 79~90.
- 5) 橋本, 直井, 関, 豊浦 (1978). 昭51-52年神奈川県家保業績集録, 114~117.
- 6) 磯部, 橋本, 武居 (1977). 昭51年滋賀県家保業績集録, 1~8.
- 7) 岩淵, 内村, 金子, 鈴木, 藤井 (1979). 昭53年千葉県家衛研業務年報. 6, 82~93.
- 8) 加藤, 両角 (1976). 第81回日本獣医学会講演要旨. 132.
- 9) 金城, 本永, 国場, 又吉, 知花 (1979).

昭53年沖縄県家保業績集録. 27~30.

- 10) 長江, 藤原, 河田, 泰野, 藤原, 井上, 岡本, 岡, 岡田, 古好, 守屋, 難波(1977). 獣畜新報, 670, 267~273.
- 11) 尾田, 鶴巻, 渡辺, 鍋谷, 安原, 富所, 宮田, 神野, 池村(1975). 日獣会誌, 28, 584~588.
- 12) 尾田, 渡辺, 安原, 宮田, 仁田原(1977). 日獣会誌, 30, 330~333.
- 13) 尾田, 鍋谷, 本間, 遠藤, 安原, 古川(平), 石田, 古川(岩), 栗山(1980). 昭54年新潟県家保業績集録, 64~73.
- 14) 鈴木, 加藤(1974). 第77回日本獣医学会講演要旨. 28.
- 15) 鈴木, 金子, 広池, 小野, 古関, 唐仁原, 坂巻, 新城, 井上, 萩田, 池田, 布施, 村島, 桜井, 高橋, 菰田(1975). 第79回日本獣医学会講演要旨, 31.
- 16) 鈴木, 古屋, 金子, 藤井, 荘司, 蒔, 宇田川(1977). 日獣会誌, 30, 550~554.
- 17) 張, 山本, 小西, 尾形, 高, 深沢, 渡辺, 尾崎, 佐藤, 小峰(1975). 第80回日本獣医学会講演要旨, 14.
- 18) 上田, 久楽, 石津(1977). 昭51年山口県家保業績集録, 69~73.
- 19) 家畜の耐性菌研究会(1976). 日獣会誌, 29, 90~92.
- 20) 箕浦: 飼料安全法ハンドブック, 農林省畜産局流通飼料課法制・技術研究会編(1976), 1~248, 東京, 大成出版社.

討 論(座長: 清水 健)

(質問: 村田昌芳) いま示されたうちの豚の成績で, サルファ剤などについては感受性菌がふえているということであったが, 一般に野外で耐性菌が増加している現状からみて一見奇異な感じがする。その理由は何によるものか。

(答) 養豚農家で以前には大腸菌症などに対

してかなり本剤を用いていたが, ここ5, 6年は使わなくなったという事実があり, 薬剤がある期間使用されないとそれに対する感受性菌が増加してくるのでないかと思う。

(質問: 村田昌芳) いまのことに感受性の測定法の進歩等が関係しているのではないか。

(答) 以前と同一方法で測定しているのです。そのようなことはない。また引用した他の人の成績も昭和ディスクを用いた成績のみを選んだので問題は無い。

(質問: 村田昌芳) 牛で *P. haemolytica* の関与する疾患の場合に, ウイルス特にパラミクソウイルス等の関与はなかったか。

(答) パラミクソウイルスの抗体は(-)であった。

(座長: 清水 健) ヘモフィルスの保存については多くの人が苦勞しているが, 演者のお話では臓器を凍結保存しておいて菌を分離し検査したということだが, この場合一体どれぐらいの低温で, どれぐらいの期間の保存が可能か。

(答) -80℃で3, 4年は可能である(乾かないように注意)。

(座長: 清水 健) -20℃保存の場合にはどうか。また培養菌を培地のまま保存する場合はどうか経験をお聞かせ願いたい。

(答: 加藤和好) ヘモフィルスの保存は-20℃保存では不安定で, ふつうの冷蔵庫保存より劣る。-40℃以下ならば安定で, -80℃とほとんど変わらない。次に培養菌の保存には固型培地の分離菌を液体培地で増菌し, そのままゴム栓して-40℃以下で保存すれば, 1~2年は保存できる。

(座長: 清水 健) こういうことは, 実際に菌を扱う場合に重要な問題なので, この際皆さんから質問なり, 経験を速慮なくだしてほしい。

(意見: 村田昌芳) 私の知見では, リン菌の場合, 培養をふつうの冷蔵庫で保存すると1週間ぐらいしかもたないが, 2%シュークロス液に

懸濁して -20°C 保存でも2~3週間は生きており、凍結乾燥以外でもっともよいのは1%シュエーロス液の懸濁で -80°C で保存するのが一番よいという。ヘモフィルスの場合、この点はどうか。

(答：尾田 進) 2%スキンミルク液にV因子を入れて、 -80°C 保存してもよい。

(意見：加藤和好) ヘモフィルスの凍結乾燥には脱センイ血液を加えるとよい。

(質問：佐藤静夫)：(加藤氏へ) ヘモフィルスの菌株を送付する場合に、培地は何がよいか。

(答：加藤和好) 本菌の送付には小試験管

にチョコレート寒天あるいは血液寒天の斜面培養、あるいは半流動培地にX、V因子(酵母エキスで可)を加え、穿刺培養して送ればよい。なお培養時間は24時間よりは短かくし1夜(12時間ぐらい)でよい。

(質問：高橋 勇)：(加藤氏へ) いまお話しを送付用培地について、*H. suis* などの場合GAM培地(日水)ではどうか。

(答：加藤和好) GAM培地に接種して発育したものならば、それでも充分だという経験がある。