

4. 鶏由来ヘモフィルス・パラガリナラムの薬剤感受性

内田幸治・原田良昭

(台糖ファイザー(株)・農産技術センター)

鶏由来病原性ヘモフィルスである *Haemophilus paragallinarum* (Hpg) は、我が国では、久米ら³⁾および沢田ら⁶⁾によって、血清型1および血清型2の2つに分類されている。現行コリーザワクチンは血清型1の感染に著効を呈するが、血清型2の感染に対しては効果に乏しく、血清型2に起因すると考えられる伝染性コリーザの予防および治療には、主に各種薬剤が使用されている。

Hpgの薬剤感受性については、1967年、松井

ら⁴⁾および1970年、清水⁷⁾が報告しているが、その成績は供試株数も少なく、かつ血清型によって薬剤感受性に差が認められるかどうかは不明である。

演者らは、1976年から1979年の4年間に全国各地から本センターに送付されたコリーザ様症状を呈する病鶏から多数のHpgを分離ならびに血清型別するとともに、各種薬剤に対する最少発育阻止濃度(MIC)を調査し、両血清型間での薬剤

表1. Hpg分離鶏群数の年次別推移

年 次	Hpg 分離鶏群数		
	血清型1	血清型2	合 計
1976秋～77春	2	13	15
77秋～78春	3	8	11
78秋～79春	2	3	5
79秋	0	4	4
合 計	7(20%)	28(80%)	35

感受性の差異を検討した。

材 料 と 方 法

1. Hpgの分離成績とMIC測定用供試菌株：

表1は年次別Hpgの分離成績と分離菌株の血清型を示す。分離鶏群数の合計は35鶏群で、うち血清型1の分離は7鶏群(20%)、血清型2の分離は28鶏群(80%)で、血清型2によるコリーザの発症例が多く認められた。

表2はMICを実施した鶏群と供試菌株数を示す。血清型1の株は6鶏群28株、血清型2の株

は21鶏群60株を、そして対照として加藤の血清型1に属するHpg 221株の合計89株を用いた。

2. 供試薬剤：

表3はMICに供試した薬剤を示す。そのうちわけは、単剤20種(ペニシリン系3剤、アミノグリコシド系3剤、クロマイ系1剤、テトラサイクリン系3剤、マクロライド系4剤、ポリペプチド系3剤、ニトロフラン系1剤、サルファ剤系2剤)と合剤2種の合計22薬剤である。

表2. MIC 供試菌株

血清型	鶏群	株数	合計
1	青森 A	10	6 鶏群 28 株
	" B	3	
	岩手 A	9	
	群馬 AA	2	
	茨城 B	2	
	" BB	2	
2	北海道 胆振	2	21 鶏群 60 株
	" 後志 A	2	
	" 空地	2	
	" 十勝	7	
	" 石狩	1	
	岩手 B	1	
	宮城 A	4	
	" C	4	
	群馬 A	2	
	" B	2	
	茨城 A	2	
	" C	1	
	千葉	3	
	神奈川	4	
	岐阜 A	6	
	岡山 A	2	
	福岡 A	3	
	" AA	3	
	宮崎 A	3	
	" B	3	
鹿児島 A	3		
1	対照 Hpg 221	1	1 株

群馬AとAA, 茨城BとBB, 福岡AとAAは同一農場別鶏群

表3. 供 試 薬 剤 (単剤 20 種, 合剤 2 種)

群 別	薬 剤 名	略 号
ペニシリン系 (PC系)	ペニシリン G	PC-G
	アミノベンジルペニシリン	AB-PC
	カルペニシリン	CB-PC
アミノグリコシド系 (AG系)	ジヒドロストレプトマイシン	DSM
	カナマイシン	KM
	ネオマイシン	NM
クロマイ系	クロラムフェニコール	CP
テトラサイクリン系 (TC系)	テトラサイクリン	TC
	オキシテトラサイクリン	OTC
	ドキシサイクリン	DOTC
マクロライド系 (Mac系)	エリスロマイシン	EM
	オレアンドマイシン	OM
	スピラマイシン	SP
	タイロシン	TS
ポリペプチド系	ポリミキシン B	PM-B
	コリスチン	CL
	バシトラシン	BC
ニトロフラン系	パナゾン	PZ
サルファ剤系	スルファモノメトキシ	SMM
	スルファジメトキシ	SDM
合 剤	オキシテトラサイクリン+ネオマイシン	OTC+NM(10:7)*
	オキシテトラサイクリン+オレアンドマイシン	OTC+OM(4:1)*

* 混 合 比

3. 培 地:

増菌用培地は、還元型ニコチンアミドアデニン
デヌクレオチド (NADH) 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と 10
%鶏肉汁及び5%鶏血清を添加したトリプトソイ
ブイヨン (栄研) を用いた。感受性測定用培地は、
NADH 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と 5%鶏血清を添加したハート
インフュージョン寒天培地 (栄研) を用いた。

4. MIC の測定法:

各種薬剤に対する MIC の測定は日本化学療法
学会法に準じ、寒天平板稀釈法で行った。被検菌
を増菌用培地で 37 $^{\circ}\text{C}$ 、24 時間培養 (菌数 10^7
 $\sim 10^8$ 個/ml) 後、多目的タイピングアバラーツ
を用い、各薬剤の稀釈液 (0.2 $\sim 100 \mu\text{g}/\text{ml}$ の
10 段階) を含んだ測定用培地に接種した。5%

表 4. Hpg 血清型 1 の薬剤感受性 (6 鶏群 28 株)

薬 剤	MIC 値 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)										
	≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
PC-G	13*	8	4	3							
AB-PC	11	6	7*	4							
CB-PC	7*	2									
DSM					*			2			26
KM		2		7	13*	2					
NM		3	3	8	10	2	2*				
CP		7	19*	2							
TC		2	8	11*	4		3				
OTC		2	6	11*	6			1	2		
DOTC		2	24*	2							
EM		6	1	15*	6						
OM						2	11*	13	2		
SP						1	9	5*	13		
TS					3	10*	14		1		
PM-B							1		6	9	12*
CL					6	3	13*	4	2		
BC					3	6	3	15*	1		
PZ				9*	10	1	1	5	2		
SMM			3			2	8*	12	2	1	
SDM			1	2		2	3*	14	6		
OTC+NM			4	14*	10						
OTC+OM			1	16*	8		3				

CB-PCは4鶏群 9株の成績, *は対照Hpg 221株が示したMIC。

KM は4鶏群24 // , 太字はピークのMIC値を示す。

CO₂ ふ卵機で37°C, 48時間培養後, 実体顕微鏡下でコロニーを観察し, MICを測定した。

成 績

1. Hpg 血清型 1 の薬剤感受性:

表 4. は Hpg 血清型 1 の MIC の測定結果で, 数字は菌株数, 太字は各薬剤における MIC のピークを示し, 対照の Hpg 221 株の MIC は * 印で示した。各薬剤の MIC をピークの濃度でみると, 血清型 1 の株は PC 系薬剤 (PC-G, AB-PC,

CB-PC) に対して著しい感受性を、ついでKM, NM, CP, TC系薬剤 (TC, OTC, DOTC), EM, PZおよび合剤 (OTC+NM, OTC+OM) に対し、高い感受性(0.78~3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を示したが、EMを除くMac系薬剤 (OM, SP, TS), CL, BCおよびサルファ剤 (SMM, SDM) には低感受性(12.5 ~ 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で、DSM およびPM-Bには耐性

(>100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を示した。MICの分布は、TC, OTC およびOTC+OMでそれぞれ3株が低い感受性を、そしてサルファ剤では3株が高い感受性を示した例を除き、比較的限定した範囲の分布を呈した。Hpg 221株は、DSMの成績を除き、ピーク値とほぼ一致していた。

2. 血清型2の薬剤感受性:

表5はHpg血清型2の60株のMICの成績を

表5. Hpg血清型2の薬剤感受性(21鶏群60株)

薬 剤	MIC 値 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)										
	≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
PC-G	34*	14	7	4		1					
AB-PC	27	12	6*	14			1				
CB-PC	28*	2		1							
DSM	1	5	13	5*	5	1	1	4	5	2	18
KM	3	1	6	15	4*	6	2	4	3	1	2
NM	2	3	10	10	14	9	6*		2	3	
CP	2	15	37*	4							
TC	4	11	9	17*	11	5		2	1		
OTC		16	9	21*	9	3	2				
DOTC	9	19	11*	17	4						
EM	4	23	15	13*		2			1		2
OM		3	2	2	3	22	14*	8	1	3	2
SP		2	1	3	13	15	12	7*	3		4
TS		1	4	18	12	23*	2				
PM-B						1	3	11	3	9	24*
CL			2	12	8	2	7*	6	4	1	10
BC		1	3	5	17	4	12	5*	4		
PZ	4		2	16*	20	4	6	5	3		
SMM			12	8	5	6	10*	10	5		4
SDM		1	10	9	6	3	9*	8	9	1	4
OTC+NM		1	23	19*	11	4	2				
OTC+OM	1	10	6	20*	20	2	1				

CB-PCは13鶏群31株の成績、*は対照Hpg 221株が示したMIC。

KM は15 " 47 " , 太字はピークのMIC値を示す。

示す。各薬剤におけるMICのピークの濃度で見ると、PC系薬剤、DOTCおよびEMに対し、著しい感受性(≤0.2~0.39 μg/ml)を示し、DSMを除くAG系(KM, NM), TC系(TC, OTC), CL, BC, サルファ剤および合剤に対しては高い感受性(0.78~3.13 μg/ml)を呈したが、EMを除くMac系薬剤には低い感受性(6.25~12.5 μg/ml)で、DSMおよびPM-Bには耐性(>100 μg/ml)を示した。MICの分布で見ると、血清型2の菌はAG系薬剤、TSを除くMac系薬剤、CLおよびサルファ剤で高感受性域から耐性域まで幅広く分布し、株によるバラツキが大きかった。Hpg 221株は血清型2の菌のMICピーク値に比べかなり異なる値を示し

た。Hpg血清型1の菌の成績と比較すると、Hpg血清型2の菌はほとんどの薬剤で高い感受性を示す例が多く、とりわけDSMでその傾向が顕著であった。DSMでは、血清型1の28株中26株(92.8%)は100 μg/ml以上と耐性を示し、残りの2株も25 μg/mlと発育阻止に高濃度を要した。一方、血清型2の菌では、25 μg/ml以上を示す株は60株中29株(48%)しか認められず、残りの株は高い感受性(12.5 μg/ml以下)を示した。その他の薬剤、たとえばAG系、Mac系およびサルファ剤などに対しては耐性と考えられる株も若干認められたが、全体としてDSMを除き薬剤感受性で血清型1および2の菌の間に差は認められなかった。

表6. Hpg血清型2のDSMに対する由来農場別のMIC

鶏 群	MIC値(μg/ml)			
	≤0.2 { 0.78	1.56 { 6.25	12.5 { 52	≥100
北海道 空地		2		
" 石狩		1		
岩手 B		1		
茨城 A	2			
" C		1		
神奈川	4			
岐阜 卓 A	6			
福岡 A	3			
" AA	2	1		
北海道 十勝	1	2	2	2
千葉	1			2
宮崎 A		1	1	1
" B		2		1
北海道 胆振			2	
" 後志 A			2	
宮城 A				4
" C				4
岡山 A				2
" B			2	
岡山				2
鹿児島 A			1	2

3. 鶏群別のDSMに対する感受性：

表6はHpg血清型2の菌のDSMに対するMIC値分布を鶏群別に示した。血清型1の菌はMIC値ですべて25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上と耐性の傾向を示したのに対し、血清型2の菌では由来鶏群によってバラツキが大きく、9鶏群はDSMに対する感受性の高い鶏群、4鶏群は株によるバラツキの大きい鶏群、および8鶏群は感受性の低い鶏群に分かれた。

考 察

各種薬剤に対するHpgの*in vitro*における感受性は、55年、BORNSTEINら¹⁾がストレプトマイシンに感受性であることを報告した。その後、1962年、PAGE⁵⁾はHpgがOTCおよびEMに感受性で、スルファテアゾールおよびDSMに耐性であると述べている。1967年、松井ら⁴⁾は米国で分離された株⁵⁾と我が国で分離した7株(うち1株はHpg 221株)の計8株を用い、33種の薬剤に対するMICの成績を報告している。その成績によれば、HpgはPC系、TC系、CP系薬剤およびEMに対し高い感受性を示した。著者らのHpg 221株の成績は、測定法は若干異なるが、松井ら⁴⁾の成績とほぼ一致した結果が得られた。したがって、今回供試したHpg 221株は、1967年当時の性状と差が認められず、本試験の対照株として用いた。血清型1の菌は、Hpg 221株の成績との比較で、すべての株が耐性であったDSMについてのみ大差が認められた。DSMに対する感受性は、加藤²⁾によれば、1960年から66年の分離例では5.6%の菌に、また、1969年から70年の分離例では4.4%の株に耐性株を認めており、今回供試した血清型1のすべての株が耐性であったことから、年とともにDSMに対する耐性化が進行していることは明らかである。DSMとともにコリーザの治療薬としてよく用いられてきたサルファ剤については、加藤⁸⁾のSMMに対する成績があり、感受性のバラツキと耐性株を認めている。著者らのSMMおよ

びSDMに対する成績とほぼ一致したが、サルファ剤は測定用培地の種類によってMIC値の変動が大きいので、さらに検討を要する。合剤については、清水⁷⁾のOTC+OM(混合比1:1)に関する成績があり、抗菌性の強い方の薬剤のMIC値で阻止されたと報告している。著者らの2種の合剤についても、OTC単独の成績とほぼ一致しており、清水の成績が裏付けられた。一方、Hpg血清型2の菌では、Hpg 221株ならびに血清型1の菌の成績と比較して、全体的に同じ傾向と考えられた。しかし株によるMICの差は大きく、特にAG系、Mac系薬剤およびサルファ剤に対しては、耐性と考えられる株が多かった。血清型2の菌のMIC値のバラツキのでた理由は、由来鶏群数が血清型1の菌のそれに比べ4倍多いことによるものと考えられた。今回、Hpg血清型1およびHpg血清型2の菌はともにPC系、TC系薬剤、CP、EMおよび合剤に対し高い感受性を示した。これらの成績は松井ら⁴⁾および清水⁷⁾の成績と一致した。従って、これら薬剤は伝染性コリーザの予防および治療薬として今後も期待されるものと考ええる。

ま と め

1976年から79年にかけて分離された*H. paragallinarum* (Hpg) 88株(27鶏群由来)の*in vitro*における各種薬剤(単剤20種、合剤2種)に対する感受性試験(MIC)を実施した結果、以下の成績を得た。

1. Hpg血清型1の菌(6鶏群28株)は、PC系薬剤(PC-G, AB-PC, CB-PC)、TC系薬剤(TC, OTC, DOTC)、CP、EMおよび合剤(OTC+NM, OTC+OM)に高い感受性を示した。MICの分布はまとまり、ピーク値はDSMを除きHpg 221株と一致した。
2. Hpg血清型2の菌(21鶏群60株)は、Hpg血清型1の菌と同様にPC系薬剤、TC系薬剤、2種合剤系に高い感受性を示した。MICの分布

は特にAG系薬剤(DSM, KM), Mac系薬剤(EM, OM, SP), CL, およびサルファ剤(SMM, SDM)などで, 株および鶏群差によるバラツキが大きく, 耐性と考えられる株も数株認められた。ピーク値は, 血清型1の菌と比較し, やや高い感受性を示した。

3. DSMに対し, 両血清型の菌はともに耐性の傾向を示し, コリーザの治療薬として不適と考えられた。

〈本報告の大部分については, 1979年, 鶏病研究会報第15巻第1号(13~17)および3号(109~115)に発表した。〉

文 献

- 1) BORNSTEIN, S. & SAMBERG, Y. (1955). The therapeutic effect of streptomycin on infectious coryza of chickens caused by *Haemophilus gallinarum*. III. *In vitro* and *in vivo* sensitivity of *Haemophilus gallinarum* to streptomycin. *Amer. J. Vet. Res.* 16, 321~324.
- 2) 加藤和好(1966). 伝染性コリーザおよび本病と*M. gallisepticum*との混合感染症に対する治療について, 鶏病研報, 2(第1回シンポジウム抄録号), 13~14.
- 3) 久米勝己, 沢田 章, 中瀬安清(1978). 鶏のヘモフィルス感染症に関する研究. I. 伝染性コリーザ発症鶏から分離されたヘモフィルス・パラガリナルムの性状, 日獣誌, 40, 65~73.
- 4) 松井光蘭, 佐藤静夫, 野々村勲, 安藤敬太郎, 大久保輝夫, 速水稔夫(1967). *Haemophilus gallinarum*の抗生物質およびニトロフラン剤に対する試験管内での感受性, 家衛試研究報告, No. 55, 27~29.
- 5) PAGE, L. A. (1962). *Haemophilus* infections in chickens. III. Factors in intra-flock transmission of infections coryza and its chemical and antibiotic therapeutics. *Avian Diseases*. 6, 211~225.
- 6) 沢田 章, 久米勝己, 中瀬安清(1978). 鶏のヘモフィルス感染症に関する研究. II. 伝染性コリーザ発症鶏から分離されたヘモフィルス・パラガリナルムの菌型ならびにヘモフィルス・ガリナルム221株との関係. 日獣誌, 40, 645~652.
- 7) 清水 晃(1970). Oleandomycin, Oxy-tetracycline および Panfuran-S に対する *Mycoplasma gallisepticum*, *Haemophilus gallinarum*, *Staphylococcus aureus* および *Escherichia coli* の試験管内感受性. 北獣会誌, 14, 148~152.
- 8) 高橋 勇(1974). 細菌の薬剤耐性の機構ならびに家畜における薬剤耐性菌の現況(2). 鶏病研報, 10, 95~103. (より引用)

(追 加 発 表)

鶏由来ヘモフィルス・パラガリナルムの薬剤感受性
加藤 和好(動物医薬品検査所)

1960年から1966年の間にわが国で分離された*H. paragallinarum* について, 数種薬剤に対する感受性を調べた。結果は表1に示した通りで, DSMに対しては75株中8株(10.7%)が, SPに対しては21株中2株(9.5%)が, またSMMに対しては58株中3株(5.2%)がすでに耐性であった。

in vitro の成績と *in vivo* の効果を比較するため, ABPC, DSM, KM, KDM(表注参照), EM, TS, NB, CTC, THP, CP, NA, NF, SDM, SMM, SQ(サルファキノキサリン), SI(スルフイソメゾール), およびSMph(表注参照)を用い, 臨床症状と, 投薬終了後7~10日目における剖検および眼窩下洞の菌培養によって治療効果を調べた。その結果, *in vitro* の成績と各薬剤の治療効果との間には著

しい相異が認められ、伝染性コリーザの治療には、
薬剤の吸収および安定性よりも持続性の高い薬剤
が治療効果も高いことが認められた。このことよ

り、豚のヘモフィルス感染症の治療に当っても、
in vitro の成績のみで薬剤を選択することには
問題があろうと思われる。

表1. *H. paragallinarum* の薬剤感受性
(1960~1966年分離菌)

薬 剤	供試 菌株数	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)										
		0.2	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
DSM	75					4	39	21	3			8※1
KM	50							45	5			
KDM※2	24						21	2	1			
SP	21							1	5	1	2	2
NB	10			5	5							
CP	20		2	16	2							
THP	10			9	1							
NA	11			9	2							
SMM	58			5	6	14	18	9	2		1	3
SD	21			2	1	6	11	1				
SI	12					2	8	2				
SMph ※3	28			1	8	9	6	1	2			
Sph	24				3	9	8	1	3			

※1：菌株数 ※2：カネンドマイシン ※3：スルファメチルフェナゾール