

### 3. *Treponema hyodysenteriae* の薬剤感受性

: 試験管内耐性獲得試験を中心として

北井和久

(藤沢薬品工業(株)研究技術本部 特薬研究所)\*

*In vitro* Susceptibility of *Treponema hyodysenteriae* : Effect of *in vitro* Passage of *Treponema hyodysenteriae* on Media Containing Drug

Kazuhisa KITAI

(Chemical Research Laboratories

Research Technology Group

Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.)

#### 1. *T. hyodysenteriae* の薬剤感受性について

*Treponema hyodysenteriae* (*T. h.*) の薬剤感受性について、柏崎らは、第85回日本獣医学会(1978)で、キノキサリン、ニトロイミダゾール、ニトロフラン、プロイロムチリンおよびポリエーテル系の薬剤に高い感受性を示すことおよびマクロライド系薬剤に対し感受性および耐性の株が存在しMIC値が2峰性の分布を示すことを明らかにした。<sup>1)</sup> その後、*T. h.* の薬剤感受性に関して、いくつか報告<sup>2~6)</sup>があるが、その中から、3例の報告について紹介し、あわせて、筆者らが実施した薬剤感受性および試験管内耐性獲得の成績を以下に述べる。

まず最初に、1980年に発表されたKinyonらの薬剤感受性の成績<sup>3)</sup>を紹介する。図1は、1977年から79年にかけて、米国の豚赤痢罹患豚より分離した、214株の*T. h.* および101株の*Treponema innocens* (*T. i.*) の薬剤感受性の結果より、MIC値累積分布の数字をグラフに変換したものである。カルバドックス(CBD)が非常に強い抗菌活性を示し、次いでニトロイミダゾールおよびイプロニダゾールに

強い抗菌活性が認められている。強い $\beta$ 溶血を示す*T. h.* とそれより弱い $\beta$ 溶血を示す*T. i.* との違いはほとんどなく、タイロシン(TS)では*T. i.* に感受性を示す株がやや多いのみであった。

表1は、筆者らが実施した薬剤感受性の成績で、昨年から今年にかけて、豚赤痢罹患豚より分離した8株の*T. h.* の各種抗菌剤に対する薬剤感受性の結果である。CBDが最も強い抗菌力を有し、フラゾリドン(FZ)、チアムリン(TML)およびポリエーテル系の薬剤が強い抗菌力を示した。

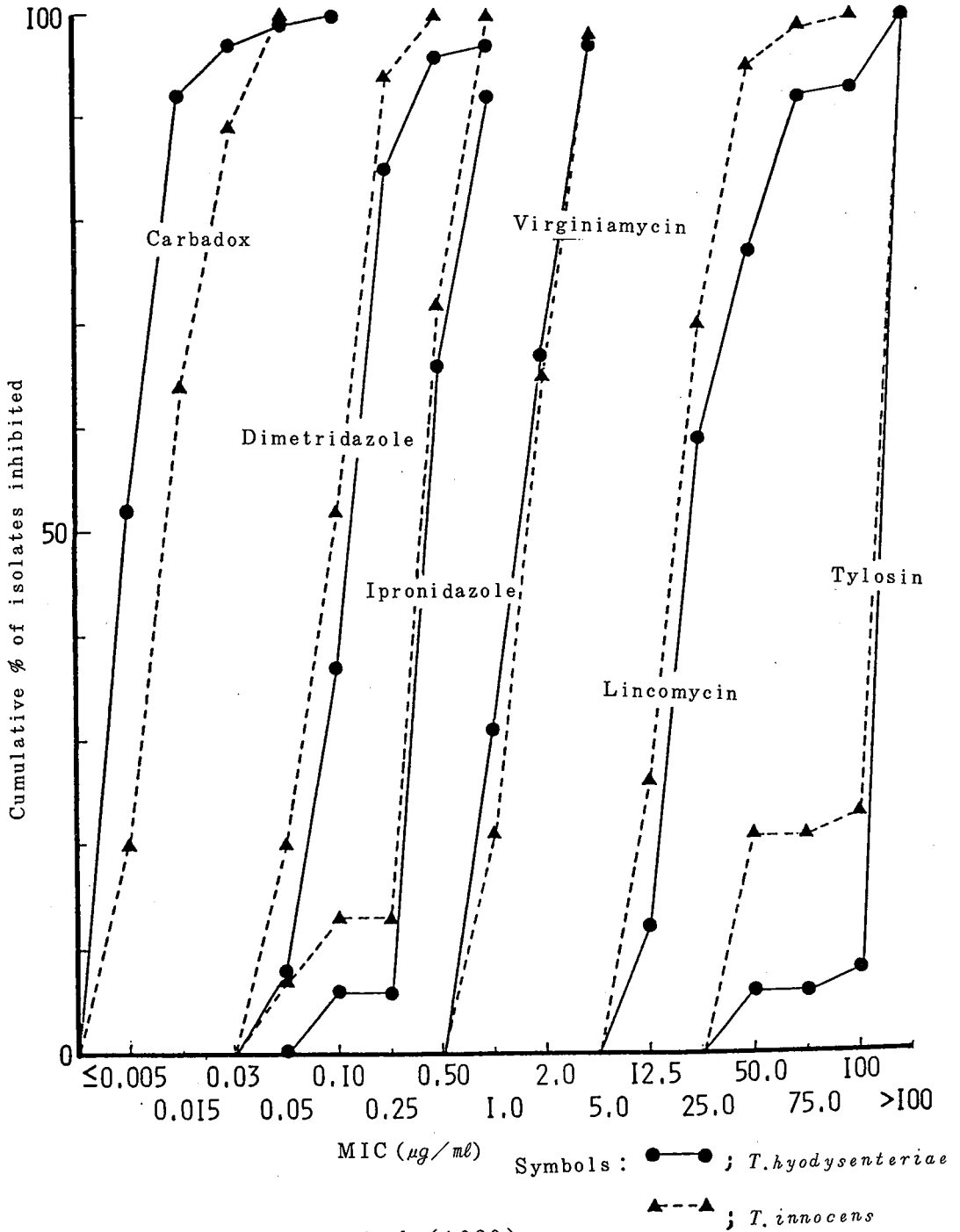
このように、かつて発表のあった成績と同様に、CBDおよびTMLなどが依然として強い抗菌活性を示している。また、内田ら(1982)<sup>7)</sup>の多数の菌株を用いた成績も同様の結果となっている。

これら試験管内の成績が、豚赤痢においても予防および治療における薬剤選択の一助となりうることは、多くの知見によって示されている。特に、表2のWilliamsら(1978)<sup>6)</sup>の感染実験の成績がそれをよく示している。

それには、TSに対し感受性および耐性を示す菌株を用いて感染させた豚にTSを100から

\* 協同研究者： 樺田清彦

Fig. 1. Cumulative percentile distribution of susceptibility of *T. hyodysenteriae* and *T. innocens* to antimicrobial agents



cited from Kinyon et al. (1980)  
2nd International Symposium of Veterinary Diagnosticians,  
Lucerne/Switzerland, June, page 24 - 26.

Table 1. Susceptibility of 8 isolates of *T. hyodysenteriae* to 14 antimicrobial agents

Antimicrobial agent	MIC		(MCG/ML)
	Range		For $\geq 75\%$ of the isolates
Carbadox	$\leq 0.0125$		$\leq 0.0125$
Olaquindox	$\leq 0.025$	0.20	0.20
Furazolidone	$\leq 0.025$	0.05	0.05
Tiamulin	0.05		0.05
Monensin	0.025	0.10	0.10
Salinomycin	0.05	0.39	0.20
Lasalocid	0.39	1.56	0.78
Virginiamycin	0.78	1.56	1.56
Lincomycin	0.78	12.5	6.25
Kitasamycin	6.25	$>100$	$>100$
Tylosin	100	$>100$	$>100$
Hygromycin B	25	50	50
Destomycin	12.5	50	50
Macarbomycin	100	$>100$	$>100$
Flavophospholipol	50	$>100$	100

Table 2. *In vivo* and *In vitro* Activity of Tylosin\* Against *T. hyodysenteriae*

No. Isolate	No. Experiments	No. pigs Treated	Percent Morbidity**	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
B100TP	1	6	67	$>40$
B141TP	4	31	0	2.5
B148TP	1	6	60	$>40$
total	6	43		
range			0-67	2.5- $>40$

\* 100 to 110ppm in feed

\*\* Number of pigs with swine dysentery in treatment group / Number of pigs with swine dysentery in untreated group  $\times 100$

cited from B.J. Williams et al. (1978): *Vet. Med./Small anim. clin.* March 351

110 ppmに飼料添加で投薬した感染防禦試験の成績が示してある。TSのMIC値が40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ をこえる耐性株を用いた感染群では罹患率が60%以上であり、2.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ のMIC値の感受性株では罹患率が0%になっている(表2)。

さらに、彼らは、耐性獲得の成績についても発表<sup>7)</sup>している。それは、*T. h.*を塗抹した平板にCBDが5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ に含まれるディスクをおいて培養し、阻止円の周囲に発育した菌を順次に20代まで、CBDのディスクをおいた平板で継代する方法を用いている。結果は、継代前および継代後の株に対するCBDのMIC値がいずれも0.01  $\text{mcg}/\text{ml}$ 未満を示し同じであった。

## 2. 著者による*T. hyodysenteriae*の試験管内耐性獲得試験の成績

これらの知見をもとに、筆者らは、薬剤増量

継代法を用いて、テトラサイクリン(TC)、CBDおよびTSの試験管内耐性獲得について実験を行った。

筆者らが実施した実験方法を以下に述べる。供試菌株は、TSに感受性の*T. h.* S 73/2 (英国Taylor博士分与)およびYD3(家畜試分与)を用いた。それぞれの菌株について、菌量を約 $10^7$  CFU/mlに調製し、薬剤が2倍系列に含まれる羊血液加平板に0.1 mlを塗抹接種した。37°C 1週間Gas pak法(BBL)嫌気性培養後、供試菌が育成した最高濃度の平板からMAC(脚注)の平板までの菌をかきとり、濁度により、継代開始時の菌数に調整後、さらに薬剤加平板に接種し、順次6代まで継代した。MIC測定は、6代継代後に、全く薬剤にふれずに継代した同じ菌数と同時に行った。

Table 3. *In vitro* MAC and MIC of tetracycline, chlortetracycline and oxytetracycline against *T. hyodysenteriae* S 73/2 and YD3 by passages on media containing tetracycline

Test Drug	No. of Passages	S 73/2		YD3	
		MAC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MAC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
Tetracycline	0	0.20	1.56	0.39	6.25
	6	0.10	12.5	3.13	12.5
Chlortetracycline	0	N. D.*	12.5	N. D.	12.5
	6	N. D.	25	N. D.	12.5
Oxytetracycline	0	N. D.	6.25	N. D.	12.5
	6	N. D.	12.5	N. D.	12.5

\*Not done

(注) 通常よく用いられるMICとは、寒天稀釈法を例にとると、薬剤加平板上で供試菌の発育を完全に阻止した濃度のことをいう。一方MACとは、薬剤加平板上での発育が薬剤無添加の対照平板上と同程度の最大濃度がそれにあたる。よって、MIC値のすぐ下の濃度が必ずしもMAC値とはならないので、注意を要する。

表3は、TCの成績である。S73/2株は、1代目で0.20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ のMACを示し、6代目は0.10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。YD3株では、1代目は0.39  $\mu\text{g}/\text{ml}$ のMACで、6代目は3.13  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

MIC測定の結果では、TCは、S73/2の原株(0代)に対し1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、6代継代

株には12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。YD3株では、それぞれ6.25および12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。TCと同系のクロルテトラサイクリン(CTC)およびオキシテトラサイクリン(OTC)のMIC値は、S73/2株で2倍でありYD3株は変わらなかった。

Table 4. *In vitro* MAC and MIC of carbadox against *T. hyodysenteriae* S73/2 and YD3 by passages on media containing carbadox

Test drug	No. of passages	S73/2		YD3	
		MAC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MAC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
Carbadox	0	0.0063	0.0125	0.0031	0.025
	6	0.0063	0.025	0.0125	0.025

表4は、CBDの場合である。S73/2株に対するMACは、1代目が0.0063  $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、6代目も0.0063  $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示した。YD3株では、1代目のMACが0.0031  $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、6代目は0.0125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

次にCBDのMIC測定では、S73/2株の6代継代株に対しては原株の2倍の0.025  $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示し、YD3株では同じであった。

Table 5. *In vitro* MAC and MIC of tylosin, erythromycin and kitasamycin against *T. hyodysenteriae* S73/2 and YD3 by passages on media containing tylosin

Test Drug	No. of passages	S73/2		YD3	
		MAC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MAC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
Tylosin	0	3.13	6.25	0.78	3.13
	6	25	>1600	200	>1600
Erythromycin	0	N.D.*	12.5	N.D.	12.5
	6	N.D.	>1600	N.D.	>1600
Kitasamycin	0	N.D.	3.13	N.D.	3.13
	6	N.D.	800	N.D.	400

\*Not done

表5は、TSの成績である。S73/2株では、1代目のMACが $3.13\mu\text{g}/\text{ml}$ で、6代目は $25\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。YD3株に対するMACは、11代目が $0.78\mu\text{g}/\text{ml}$ で、6代目は $200\mu\text{g}/\text{ml}$ を示した。

MIC測定では、S73/2およびYD3株ともに、6代継代株に対しては、TSの $1600\mu\text{g}/\text{ml}$ でも発育が阻止されず、いずれも256倍以上を示した。他のエリストロマイシン(EM)およびキタサマイシン(KT)においても、6代継代株に対し大幅なMIC値の上昇が認められた。

以上のように、薬剤増量継代法を用いた本実験結果で、TCおよびCBDに耐性獲得は認められなかったが、マクロライド系のTSの場合には6代の継代により、耐性獲得が認められ、さらに他のマクロライド系薬剤に対する交叉耐性も示した。

ところで、一般に野外で得られる耐性菌と試験管内で得られる耐性菌とでは、耐性機構や耐性形質が本質的に異なるものとされている。<sup>8)</sup> *T.h.*においても、今回の実験のように人為的に耐性菌が得られることが判明したところから、内田ら<sup>7)</sup>が発表した野外での耐性株とについて、今後種々検討していくことが、*T.h.*のマクロライド系薬剤に対する特異な感受性分布についての解明の手がかりになるものと考えられる。

## 文 献

- 1) Kitai, K., Kashiwazaki, M., Adachi, Y., Kume, T. and Arakawa, A. (1979). *In vitro* activity of 39 antimicrobial agents against *Treponema hyodysenteriae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 15:392-395.
- 2) Williams, B.J. and Babcock, W.E. (1976). *In vitro* susceptibility of *Treponema hyodysenteriae* to carbadox, virginiamycin and tylosin. *Vet. Med./Small Anim. Clin.* July 957-959.
- 3) Kinyon, J.M. and Harris, D.L. (1980). *In vitro* susceptibility of *Treponema hyodysenteriae* and *Treponema innocens* by the agar dilution method. 2nd International Symposium of Veterinary Laboratory Diagnosticians. Lucerne, Switzerland. pp 39, 125-128.
- 4) 西坂周允, 足立吉数, 渡瀬弘 (1981). 豚由来の弱い溶血性のスピロヘーターの薬剤感受性について。第35回日本養豚研究大会発表 No. 20.
- 5) Williams, B.J. and Shively, J.E. (1978). *In vitro* antitreponemal activities of carbadox, virginiamycin, olaquinox and tylosin as indices of their effectiveness for preventing swine dysentery. *Vet. Med./Small Anim. Clin.* March 349-351.
- 6) Williams, B.J. and Babcock, W.E. (1978). *In vivo* and *in vitro* susceptibility of *Treponema hyodysenteriae* to carbadox before and after repeated *in vitro* passage in sublethal concentrations of drug. *Vet. Med./Small anim. Clin.* April 432-436.
- 7) 内田幸治, 原田良昭, 塚口誠 (1982). 下痢頻発農場由来糞便からのトレポネーマの分離と各種薬剤に対する感受性, 第93回日本獣医学会講演要旨, V-55.
- 8) 三橋進 (1970). 薬剤と耐性菌, 南江堂書店, 175.