

## 2. 豚の肺病巣から分離された *Haemophilus* (*Actinobacillus*) *pleuropneumoniae* の血清型および薬剤感受性

鈴木 祥子 (農林水産省動物医薬品検査所)

*Haemophilus pleuropneumoniae* は、豚の線維索性胸膜肺炎の原因菌として知られている。本菌に初感染した豚では、急性あるいは甚急性に死亡するものが多く、慢性に移行した豚では、発育の遅延を呈するなど、養豚経営に与える被害は少なくない。わが国では、1975年に本菌の分離が初めて報告<sup>1)</sup>されて以来、全国各地で本菌による被害が認められている。本菌の血清型は、現在1型から12型にまで分類されているが、日本で分離される菌のほとんどは、血清型2型に属している<sup>1,7,8,10)</sup>。これらのことから、2型菌不活化ワクチンが近年開発され市販されるようになったが、本不活化ワクチンでは、病気の発症は予防するが感染を防御し得ないことや、血清型特異的な免疫しか付与しないということも知られている<sup>9,12,14)</sup>。

一方、近年、わが国において2型菌以外の血清型菌も存在することが確認されており<sup>1,3,4,11,16,17)</sup>、これらの血清型菌には、現行の不活化ワクチンではその有効性が認められないことから、*H. pleuropneumoniae* 感染症の予防・治療には、抗菌剤の使用が避けられないものと考えられる。そこで、今回、1986年および1987年に、9都県で飼育され屠畜場へ搬入された豚の肺病巣から *H. pleuropneumoniae* を分離し、それら分離株の血清型および16種類の化学療法剤に対する感受性を調べた。

### 材料と方法

#### 1. 菌分離および血清型別

1986年から1987年の間に、岩手、宮城、福島、栃木、群馬、埼玉、東京、神奈川、長野の1都8県下から東京都立川屠畜場へ搬入された豚計85,580頭のうち、剖検時に豚へモフィルス感染症様肺病巣が認められた豚461頭の肺病巣から、Gilbride and Rosendal の方法<sup>2)</sup>に準じて *H. pleuropneumoniae* の分離を試みた。分離株の血清型別は、121°C 60分オートクレーブ加熱抽出抗原を用いた寒天ゲル内沈降反応により実施した。

#### 2. 薬剤感受性試験\*

各分離株の薬剤感受性の測定は、日本化学療法学会標準法に準じた寒天平板希釈法により行った。薬剤は、表1に示した計16種類を供試した。測定用基礎培地には、SDMX については Mueller-Hinton 培地 (Difco)、他の15薬剤については Trypticase Soy Agar (Difco) に  $\beta$ -NAD<sup>+</sup> (オリエンタル酵母) を 25  $\mu$ g/ml の割合で添加したものを用い、マイクロプランターで菌を接種後、好気的条件下で 37°C 16時間培養し、最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。

### 成績

#### 1. *H. pleuropneumoniae* の分離および血清型肺病巣保有豚461頭中190頭から *H. pleuro-*

\* 供試薬剤の名称は本会制定の略号表によった。

\* 共同研究者：大前憲一 (農林水産省畜産局衛生課)、大石弘司、村松昌武、高橋敏雄 (農林水産省動物医薬品検査所)、中島 誠、高木 裕、片岡辰雄、和田信章、山下征洋 (東京都多摩食肉衛生検査所)

表 1 *H. pleuropneumoniae* 分離株 190 株の薬剤感受性

薬剤	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													耐性 限界値 ( $\mu\text{g/ml}$ )	耐性 株数 (%)	
	$\leq 0.025$	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100			$>100$
PCG <sup>a</sup>				3 <sup>b</sup>	61	124							2		6.25	2(1.1)
ABPC	1	1	23	157	6								2		3.13	2(1.1)
CX									1	87	96	4	2		100	2(1.1)
MPC	6	32	37	10	4	7	22	3	7	18	42			2	100	2(1.1)
CEX					1	15	173	1								
SM									76	61	40	6	1	6	100	7(3.7)
KM								1	69	117	1			2	100	2(1.1)
GM							5	101	84							
CP				1	120	66		1	1	1					3.13	3(1.6)
OTC					22	149	3	10	1	1	2	2			25	4(2.1)
EM					1		103	86								
TS									1	6	158	25				
RPF			4	13	131	42										
CL						10	45	134			1					
SDMX					1	2	3	24	62	52	26	7	8	5		
NA						51	123	15	1							

a unit/ml

b 分離株数

*pneumoniae* が分離された。分離株の血清型は、1型6株(3.2%)、2型178株(93.7%)、5型2株(1.1%)、7型4株(2.1%)であった。

## 2. 分離株の薬剤感受性

分離株 190 株の薬剤感受性成績は、表 1 に示した。分離された *H. pleuropneumoniae* は、ペニシリン系抗生物質に対して高い感受性を示し、PCG では 0.78 U/ml, ABPC では 0.2  $\mu\text{g/ml}$  で供試株の 98% 以上が発育を阻止された。一方、MPC に対する感受性分布は 3 峰性を示し、MIC 0.05~0.1  $\mu\text{g/ml}$  を示す高感受性群、MIC 1.56  $\mu\text{g/ml}$  を示す中程度感受性群および MIC 12.5~25  $\mu\text{g/ml}$  を示す低感受性群が認められた。さらに、MIC 100  $\mu\text{g/ml}$  以上を示し MPC 耐性株と考えられる 2 株は、PCG, ABPC および CX に対しても耐性を示した。

セファロスポリン系抗生物質の CEX の MIC 値は、190 株中 174 株が 1.56  $\mu\text{g/ml}$  と中程度の感受性を示しており、耐性株は検出されなかった。

アミノグリコシド系抗生物質の SM, KM および GM に対する感受性は比較的鈍く、MIC 値の

中心は 3.13~12.5  $\mu\text{g/ml}$  であった。MIC 値 100  $\mu\text{g/ml}$  以上の株が、SM で 7 株(3.7%)、KM で 2 株(1.1%)認められた。また、GM に対する耐性株は検出されなかった。

CP においては、0.78  $\mu\text{g/ml}$  で供試株の 98% 以上がその発育を阻止された。耐性株と考えられるものが 190 株中 3 株(1.6%)認められたが、その MIC 値は 3.13~12.5  $\mu\text{g/ml}$  であり、耐性度は比較的低かった。

テトラサイクリン系抗生物質である OTC の MIC 値は、0.39~50  $\mu\text{g/ml}$  と広がりを見せているが、大多数の株は、0.78  $\mu\text{g/ml}$  でその発育を阻止された。一方、MIC 25~50  $\mu\text{g/ml}$  を示す株が 190 株中 4 株(2.1%)検出され、OTC に対する低感受性株の存在が認められた。同様の傾向が SDMX でも認められ、MIC 100  $\mu\text{g/ml}$  以上の株が 5 株(2.6%)検出された。

マクロライド系抗生物質の EM に対する感受性は比較的高く、1.56  $\mu\text{g/ml}$  では供試株の約 50%、3.13  $\mu\text{g/ml}$  では全供試株がその発育を阻止された。

次に、薬剤耐性パターンと血清型との関係を表 2 に示した。分離株 190 株中 10 株(5.3%)に耐性

表 2 *H. pleuropneumoniae* 分離株の薬剤感受性と血清型との関係

薬剤耐性パターン	血清型				合計 (%)
	1	2	5	7	
SM		1 <sup>a</sup>			1(0.5)
CP		1			1(0.5)
OTC			2		2(1.1)
SM, CP		1		1	2(1.1)
SM, PTC		2			2(1.1)
PCG, ABPC, CX, MPC, SM, KM				2	2(1.1)
合計 耐性	0	5	2	3	10(5.3)
感受性	6	173	0	1	180(94.7)

a 耐性株数

が認められ、そのうちの8株は、SM, CP および OTC に対する単剤あるいは2剤耐性を示した。

1型菌6株には、耐性は認められなかった。2型菌の178株中5株は、SM, CP あるいはOTCに対して耐性を示し、5型菌では、分離株2株ともにOTCに耐性であった。7型菌の4株中3株が耐性を示し、そのうちの2株は、PCG, ABPC, CX, MPC, SM および KM に対する多剤耐性を示した。

### 考 察

屠畜場搬入豚の肺病巣から分離された *H. pleuropneumoniae* 190株の大部分は、これまでに多くの研究者が報告しているように<sup>1,7,8,10)</sup>、血清型2型が主流であった。しかしながら、一方では1,5および7型の株が計12株(6.3%)検出された。このことは、わが国でも血清型2型以外の *H. pleuropneumoniae* 感染による線維索性胸膜肺炎が流行する可能性を示すものであり、極めて注目される。

また、これら分離株190株は、供試薬剤に対して大部分が感受性を示しており、Shimizu et al.<sup>15)</sup>、Inoue et al.<sup>8)</sup> および加藤<sup>5)</sup> の報告と同様であった。

一方、薬剤耐性 *H. pleuropneumoniae* は、供試190株中10株(5.3%)と低率ではあるが認められ、近年、本菌にも薬剤耐性株が出現していることを示すものであった。これら *H. pleuropneu-*

*moniae* において、近年わが国で認められている耐性菌の出現<sup>3,6,16)</sup> は、豚における抗菌剤の使用と密接に関連していることが考えられるが、その詳細は不明である。

これらのことから、豚の *H. pleuropneumoniae* 感染症の予防には、血清型多価ワクチン、あるいは、本菌の共通感染防御抗原によるワクチン等の開発実用化が望まれるが、現段階における本症の予防・治療には、現行の不活化ワクチンの使用とともに、抗菌剤の応用が必要と考えられる。しかしながら、抗菌剤の使用に当たっては、耐性菌の出現を勘案した適切な薬剤の選択および適正な使用を行っていく必要がある。

### 文 献

- 1) Chan, C., Yamamoto, K., Konishi, S., and Ogata, N. 1978. Jpn. J. Vet. Sci. 40: 103-107.
- 2) Gilbride, K. A., and Rosendal, S. 1983. Can. J. Comp. Med. 47: 445-450.
- 3) Inoue, A., Yamamoto, K., Hirano, N., and Murakami, T. 1984. Jpn. J. Vet. Sci. 46: 175-180.
- 4) 岩松 茂, 宮本修治, 山本孝史. 1986. 日獣会誌, 39: 374-377.
- 5) 加藤和好, 1981. 家畜の耐性菌研究会報, 2:1-4.
- 6) 川原一芳, 浅野昌彦, 中井豊次, 久米勝巳, 檀原宏文. 1987. 第103回日本獣医学会講演要旨, 120.
- 7) Kume, K., Nagano, I., and Nakai, T. 1986. Jpn. J. Vet. Sci. 48: 965-970.
- 8) Kume, K., Nakai, T., and Sawata, A. 1984. Jpn. J. Vet. Sci. 46: 641-647.
- 9) Kume, K., Nakai, T., and Sawata, A. 1985. Jpn. J. Vet. Sci. 47: 201-206.
- 10) Mitsui, T., Onaga, H., Nagasawa, Y., Nomura, Y., and Kuramasa, S. 1981. Vet. Microbiol. 6: 339-349.
- 11) Nakai, T., and Kume, K. 1987. Jpn. J. Vet. Sci. 49: 1141-1144.
- 12) Nielsen, R. 1976. Nord. Veterinaermed. 28: 337-348.
- 13) 尾田 進, 鶴巻藤太郎, 渡辺藤四郎, 鍋谷政広, 安原敏治, 富所寿男, 宮田萬司, 神野一夫, 池村謙吾. 1975. 日獣会誌, 28: 584-588.

- 14) Rosendal, S., Miniats, O.P., and Sinclair, P. 1986. *Vet. Microbiol.* 12 : 229-240. 間 邦彦, 1987. 第103回日本獣医学会講演要旨, 118.
- 15) Shimizu, M., Kuninori, K., Sakano, T., and Terashima, T. 1982. *Jpn. J. Vet. Sci.* 44 : 359-363. 17) 山本孝史, 伊藤正博, 白坂昭治, 興水 馨, 1985. 第100回日本獣医学会講演要旨, 189.
- 16) 山本和枝, 滝俊博, 浅香俊雄, 永田哲男, 金井良三, 宮沢英次良, 山城富男, 千田英一, 白下 登, 18) 山本純也, 清水幹夫, 阪野哲也, 矢挽輝武, 深見直, 桜井謙一郎, 高浜伸嗣, 1984. 第97回日本獣医学会講演要旨, 155.

### Serotype and Antimicrobial Susceptibility of *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* Isolates from Lung Lesions of Swine

Shoko SUZUKI (National Veterinary Assay Laboratory)

*Haemophilus pleuropneumoniae* was isolated from pneumonic lung tissues of 190 (41.2%) of 461 apparently healthy slaughter pigs in Japan during the period from June 1986 to June 1987. These 190 isolates were serotyped and examined for their susceptibility to 16 antimicrobial agents. Of these 190 isolates, 6 isolates (3.2%) were serotype 1, 178 isolates (93.7%) were serotype 2, 2 isolates were serotype 5, and the remaining 4 isolates (2.1%) were serotype 7.

Most of these isolates were highly susceptible to benzylpenicillin, ampicillin, chloramphenicol (CP), and rifampicin, and were moderately susceptible to cephalexin, erythromycin, colistin and nalidixic acid. Streptomycin (SM), kanamycin and gentamicin showed relatively low activity against the isolates. Oxytetracycline (OTC) and dihydrostreptomycin showed wide range of minimum inhibitory concentrations. On the other hand, 10 of 190 isolates (5.3%) were resistant to some drugs. Five of 178 isolates of serotype 2 were resistant to SM, CP or OTC. Two isolates of serotype 5 were resistant to OTC, and 2 isolates of serotype 7 were multidrug resistant.