

家畜抗菌剤研究会報

PROCEEDINGS OF THE JAPANESE
SOCIETY OF ANTIMICROBIALS
FOR ANIMALS

No. 6

March, 1985

家畜抗菌剤研究会

目 次

特集Ⅰ： マイコプラズマの薬剤感受性試験法の検討

はじめに	佐藤静夫	1
1. 2, 3の動物由来マイコプラズマおよびウレアプラズマの 薬剤感受性測定法について	清水高正, ほか	1
2. 豚由来マイコプラズマのMIC測定法に関する検討	山本孝史, ほか	9
3. 鶏由来マイコプラズマの薬剤感受性測定法について	村田昌芳	14
4. 鶏由来マイコプラズマの薬剤感受性試験法の検討(追加発表)	内田幸治, ほか	19
総合討論および座長付記		20

特集Ⅱ： 豚赤痢トレポネーマの薬剤感受性測定法

1. 抗菌性物質に対する <i>Treponema hyodysenteriae</i> の試験管内 感受性試験方法についての若干の検討	内田幸治, ほか	24
2. <i>Treponema hyodysenteriae</i> に対する抗菌剤のMIC測定法 に関する検討 — 特に接種菌液調製における考案 —	山崎俊幸	29
3. <i>Treponema hyodysenteriae</i> の薬剤感受性試験方法の検討	足立吉数	34
総合討論		36
会 務 報 告		39
動物用抗生物質・合成抗菌剤略号表の増補改訂について		43

特集 I マイコプラズマの薬剤感受性測定法の検討*

はじめに

佐藤 静夫 (マイコプラズマの薬剤感受性測定法検討小委員会委員長)

標題の件について、今回シンポジウムが企画された経緯は次の通りである。すなわち、この問題に関して小委員会(メンバーは後記)を昭和56年に結成し、昨年までの3年間にわたり、検討を重ねた。その結果を一括して今回、三人の方に代表して発表願うことにした次第である。

その目的とした点は、当委員会のメンバーの高橋(日獣大)により、すでに印刷物(本誌P.18の村田論文の文献15)参照)に発表されている、*M. gallisepticum*の薬剤感受性測定法(試案)が、はたしてその他の鶏由来の *mycoplasma* (以下Mp.) や豚、牛由来のMpおよび *Ureaplasma* (以下Up.) にもそのまま適用してよいかどうか、修正点がないかということを明らかにするため、小委員会で検討を重ねた。その中で問題点としてあがってきたのは、①接種菌量をどの程度とすべきか、②培地として何を用いるのが適当か、③M I Oの判定法をどうするかの3点で、特に③が最も大きな問題と考えられた。

三年間の検討の結論として、各菌種それぞれに問題点があり、各種のMpあるいはUpについて、一つの方法でやるのは無理であろうという空気であり、各演者の発表を伺った上で参会者からの意見も加えて、当研究会としてまとめたい、という主旨である。

[注:小委員会のメンバー] 佐藤静夫、橋本和典、国安主税(以上家衛試)、山本孝史、跡部ヒサエ(以上東大)、村田昌芳(広島大)、清水高正(宮崎大)、高橋 勇(日獣大)。(順不同)

1. 2, 3の動物由来マイコプラズマおよびウレアプラズマの薬剤感受性測定法について

清水 高正¹⁾ 永友 寛司¹⁾ 末石 哲之²⁾ 村川 泰司³⁾
(¹⁾宮崎大, ²⁾塩野義製薬, ³⁾化血研)

A Test for the Measurement of Drug Sensitivity of Mycoplasmas and Ureaplasmas from Animals

Takamasa SHIMIZU, Hiroshi NAGATOMO (Miyazaki Univ.),
Tetsuyuki SUEISHI (Shionogi Pharm. Co., Ltd.) and
Taiji MURAKAWA (Chemo-Sero Therap. Inst.)

緒 言 M)を対象とする薬剤感受性試験の標準法が確
マイコプラズマ(*Mycoplasmales*, 以下 立されていないため、研究者により独自の方式

* 昭和59年4月9日開催の第11回シンポジウムの要旨。特集IIも同じ。

式が採用されているのが現状である。⁵⁾ その結果、同一の参考株に対する同じ薬剤による最小発育阻止濃度 (MIC) が、研究者間で数10倍もの差を呈する報告が見られるようになり、Mの薬剤感受性試験法の標準化を求める声が高まるに至った。Mに対する薬剤のMICの変動要因を報じた文献は残念ながら極めて限られているため、ここではわれわれが牛由来Mを主体に検討したMICの変動要因が話題の中心にならざるを得ないので、あらかじめ御寛容を願いたい。

供試材料と方法

1) マイコプラズマ株：基礎実験に供用した *Mycoplasma* 属 (以下M属) 11株と *Acholeplasma laidlawii* PG 8株の由来及び分解基質は表1に示す。また、牛由来 *Ureaplasma diversum* (以下Ud) 13株の名称は、図1に記したとおりで、うち9株は子牛の肺炎、4株は生殖器からの分離株である。これらの他に、*M. bovis* 50株、*M. gallisepticum* (Mg) 82株、Ud 50株を供用し、一定条件下で数

種の薬剤に対する感受性を調べた。

2) 薬剤：基礎実験はSP, DOTC, TM, TSの4剤を用いて行い、MICの分布の検査にはJM, EM, OMを加えた。

3) 培地：液体培地はPPL0ブイヨン (Difco) 70容に馬血清15容、25%新鮮イーストエキス10容、1%フェノールレッド0.2容を加えた変法Hayflick培地を使用し、供試株によりグルコース(0.5%)、L-アルギニン(1%)、TTC(0.05%；この場合は指示薬は除く)、または尿素(0.1%)を基質として添加して、Ud用培地はpHを6.2、その他の場合は7.2±0.1に修正し使用した。固型培地はPPL0寒天培地(Difco)に馬血清15%、イーストエキス10%を添加したものをを用いた。

4) MIC測定法：DOTCは直接純末から、また他の薬剤は2~4mg/ml(力価)のメタノール溶液を作成後、それぞれ1000μg/ml(力価)の水溶液を作成した。固型培地に添加する際は、滅菌蒸留水で2倍段階希釈系列を作成し、培地9容に対して1容の薬剤希釈液を添

表1. 基礎実験供用株の分解基質と由来

種・株名	分解基質	由来
<i>M. bovirhinis</i> PG43*	グルコース	牛 鼻 腔
<i>M. bovirhinis</i> BP19	グルコース	子牛肺炎
<i>M. bovirhinis</i> SN1	グルコース	子牛肺炎
<i>M. bovis</i> 22-1	T. T. O	牛乳房炎
<i>M. meleagridis</i> TK1	アルギニン	七面鳥気嚢炎
<i>M. spumans</i> PG13*	グルコース	犬
<i>M. maculosum</i> PG15*	アルギニン	犬
<i>M. arginini</i> ASO1	アルギニン	牛乳房炎
<i>M. columbinum</i> MMP1	アルギニン	ハト気管
<i>M. columborale</i> MMP4	グルコース	ハト口腔
M. sp. SN20	T. T. O	子牛肺炎
<i>A. laidlawii</i> PG8*	グルコース	下 水

*印はNCTC由来で、尾形学教授(東大:当時)から分与されたもの。

加し、平板に固めて乾燥させた後、供試菌液をマイクロピペットで5~10 μ l, またはドロップパーで25 μ lずつ接種した。液体培地法の場合は、培地で5倍に希釈して200 μ g/mlの薬剤濃度を作成後、培地を用いて2倍希釈系列を作り、試験管法の場合は薬剤希釈液1ml, マイクロプレート法(MP法)の場合は50 μ lに対し、あらかじめ新鮮培地で種々の菌数に希釈した供試菌液を同量ずつ添加し、試験管法ではゴム栓を、またMP法の場合はプレートシールで密閉を施して培養に供した。

5) 培養・観察: 培養は37℃の好気条件下で行い、いずれの場合にも7日間にわたり毎日、集落の発育(40倍率の顕微鏡使用), pHの

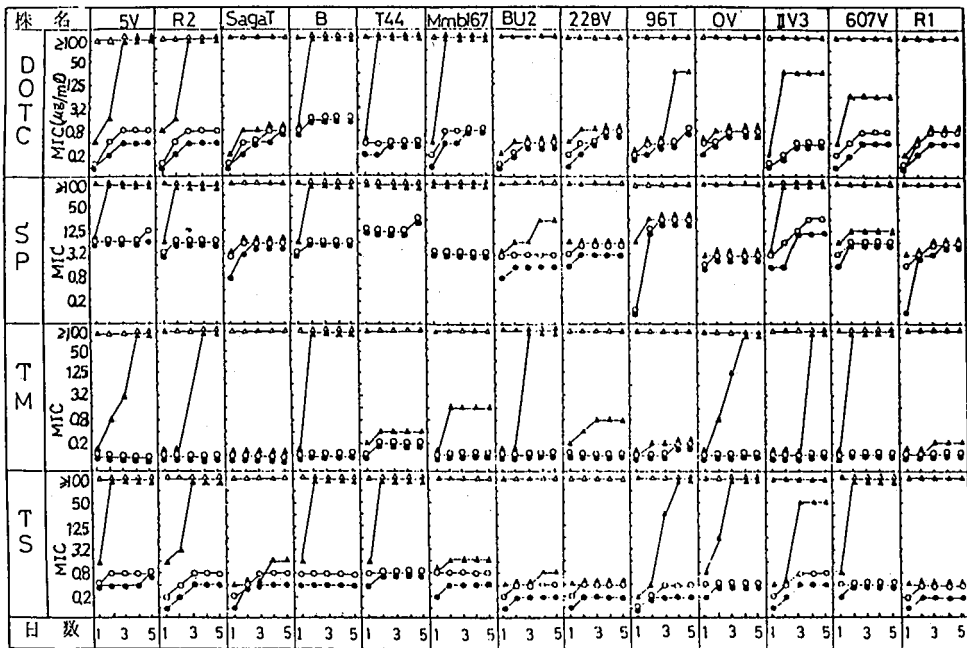
変化, あるいはTTC還元による赤色沈澱の出現の有無を観察・記録した。

6) 検討事項: 実験成績の項目に述べる事項を検討した。

結果と考察

1) 接種菌数によるMICの変動

M属とPG8株の計12株につき, 10^4 , 10^5 , 10^6 /mlの集落形成単位(CFU)の接種菌数を用いて、平板法で検査した場合のMICの変動は、培養日数の如何をとわず、いずれの薬剤も菌数の増加に従いMICが4倍以上の上昇を呈する例が1, 2株ずつ認められた⁵⁾。同じ接種菌数を用いた液体法では、MIC



Δ - Δ : 10^6 , \blacktriangle - \blacktriangle : 10^5 , \circ - \circ : 10^4 , \bullet - \bullet : 10^3 CCU/ml

図1. 13株の*U. diversum*に対する4種の薬剤のMICに及ぼす接種菌数と培養日数の影響

の変動は前者より少なかった。これに対し、13株の *Ud* の液体法による試験では、図1に示すように接種菌数によるMICの差が極めて著明であった。これらの結果から、*Ud* のMIC測定時の接種菌濃度は、 10^4 /ml以下の色変単位(COU)とするのが必須条件と思われる。

2) 培養日数によるMICの変動

液体培地法の場合、培養日数が増すとMIC

の値が上昇する事実は、一般細菌の場合同様MICについても観察されている^{1,2,3,6})。今回、3段階の希釈菌液を用いた検査の結果も、判定時期によるMICの差がかなり著明で、例として 10^5 CFU/mlを接種菌数とした場合のMICの日別変動を示すと、表2のとおりである。4剤とも、培養1日後の初期MICの4倍以上のMICを呈した例数が3日目で最高に達したが、

表2. 培養日数によるMICの変動例[§]

方法	供試株数	培養日数	薬 剤			
			SP	DOTC	TM	TS
液体培地法	8	2	4*	6	2	0
		3	7	7	6	1
		4	7	8	6	1
		5	7	8	6	1
平板法	12	4	0	0	0	0
		7	2	3	0	0

§：接種菌数はいずれも 10^5 CFU/ml

*：液体培地法では1日目、平板法では2日培養後の初期

MICに対し、4倍以上のMICの上昇を呈した株数累計。

TSではMICの上昇を示した株数が著しく少なかった。

平板法では、判定日数に伴うMICの変動は少なく(表2)、菌数を 10^4 または 10^6 /mlにした場合のMIC値も、日別変動が少なかった。

Ud の場合は図1に例示したように、接種単位が 10^5 COU/ml以上の場合の日別変動の幅及び変動期間がかなり大きいのにに対し、接種単位を少くした場合のMICはかなり安定していた。菌液の希釈によるこのような著差は、*Ud* の増殖環がM属や細菌に比べて極めて短いこと(図2)や、遊離ウレアーゼの作用などが考えられる。

3) 矮小異型集落の判定

平板法の場合、不規則に出現する種々の形状の異型集落を、発育阻止と認めるか否かによりMIC値に8ないし32倍の差を生む。液体法によるMICとの相関性や、これらの異型集落を新鮮培地に移植した場合発育しない点を勘案すると、これらは発育阻止と判定するのが適当と思われる⁵)。

4) 基礎培地の差による影響

13株の*Ud* を用い、牧江ら⁴)の処方による栄研試作培地3ロットを基礎培地として、前記のDifco製培地と比較したところ、4剤ともほとんど差のないMIC値を示した。

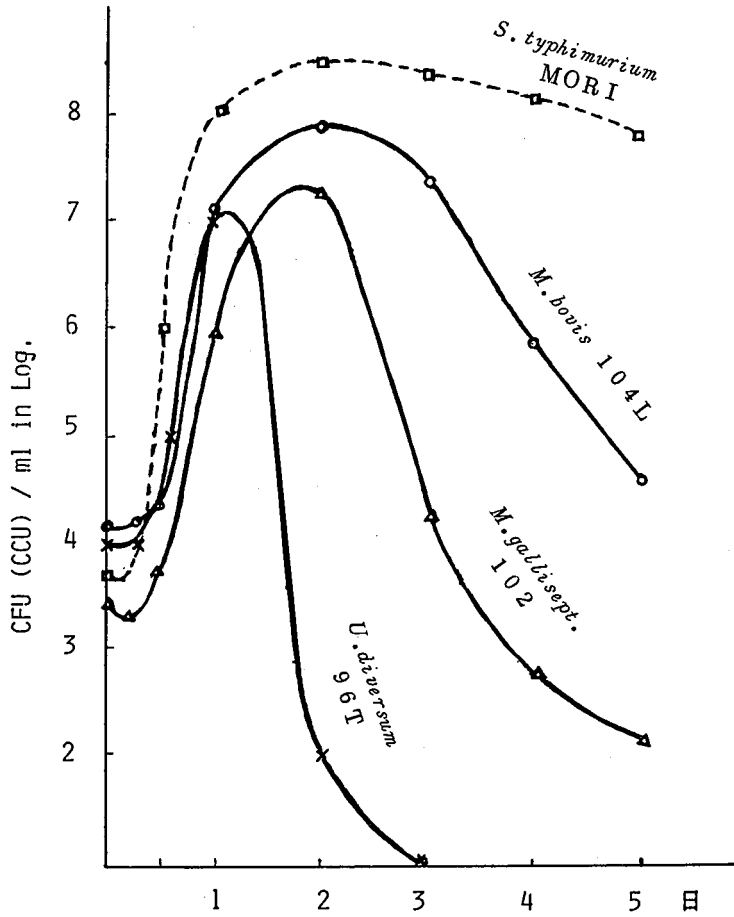


図2. マイコプラズマ、ウレアプラズマ及びサルモネラの増殖曲線

5) 供試菌液の凍結保存時のDMSO添加の影響

前記のとおり、いずれの方法を用いる場合にも、接種菌数の規制が重要な条件になるため、MIOの測定に先立って菌数を計数しその間培養液を凍結保存するか、あるいは各株の新鮮培養液の数希釈系列を供用し、同時に菌数の測定を行うかのいずれかが必要である。凍結保存法

をとる場合の生存性を、5種のM属各2株ずつと、Ud 13株を用いて検討した。各培養液は10%にdimethyl sulfoxide (DMSO)を添加または無添加の新鮮培地で10倍に希釈し、小管に分注後-70℃に凍結し、1週ごとに1管ずつ37℃で急速融解してCFU (CCU)を計測した。各種1株ずつの生存性を示すと図3のとおりで、*M. bovirhinis*では2株とも

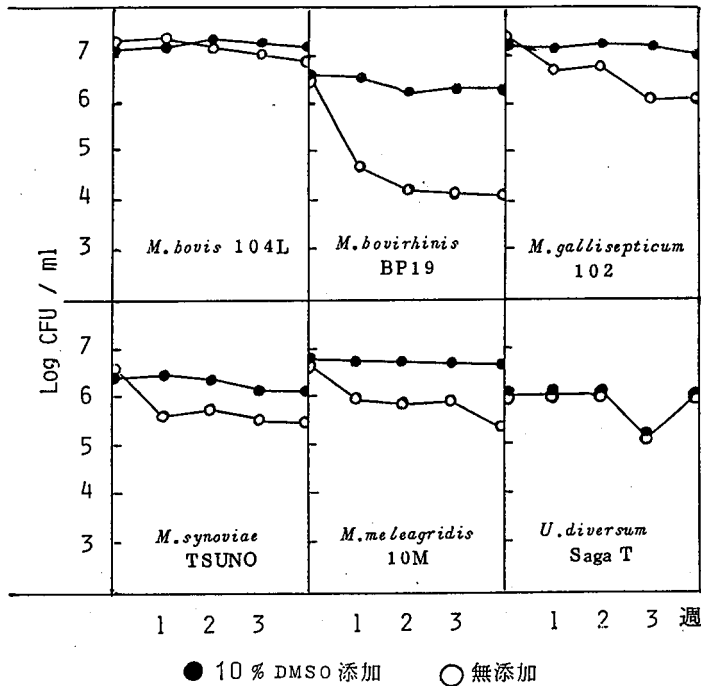


図3. 数種のマイコプラズマの凍結保存に及ぼすDMSOの影響

DMSO無添加の場合、凍結1週後の生存率は凍結前の1%程度に減少し、*M. bovis*以外のM属も生存数の低下が見られたが、DMSO添加により4週後も10%以上の生存率を示した。一方*Ud*は13株とも、DMSOの添加なしに高度の生存数を保持することが判明した。

また、DMSO添加凍結菌液と新鮮菌液の間には、4種の薬剤によるMICの値に差がなかった。

6) その他の条件

平板法の際の接種菌液量は、5 μ lでも25 μ lでもMICには差がなかった。また、液体法は試験管法及びMP法によるMICの値が良く一致した。

7) Mの薬剤感受性試験時の条件について

以上の結果から、Mに対する薬剤のMICの変動を抑える条件として、次の事項が考えられる。

① 平板法によるMIC測定：供試菌液濃度は 10^5 CFU/mlとし、この5~10 μ lを接種す

る。判定は3~5日後に行い、異型集落は発育阻止と判定する。

② 液体培地法によるMIC測定：所定の基質を含む新鮮培地で供試菌の濃度を $10^3 \sim 10^4$ CFU (またはCCU)に調整したもの1容と、同じ新鮮培地で2倍段階希釈を行った薬液1容を混合し、M属は高橋⁶⁾の提案どおり初期MIC観察後3日目、*Ud*は培養供試3日後に判定する。

③ 供試菌液を-70℃以下に凍結保存する際、*Ud*は特にDMSOを添加する必要はないが、M属にはこれを10%の割合で添加するのが安全である。

参考として、*M. bovis* 50株と*Mg* 82株に対するMICを①の条件で、また*Ud* 50株のMICを②の条件(MP法)で求めた結果を表3に示す。

表 3. 数種の薬剤の *M. bovis*, *M. gallisepticum*, *U. diversum* に対する MIC の分布

種名 (株数)	薬剤	MIC (µg / ml)										
		0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100
<i>M. bovis</i> (50 + *株)	T M	22	28*									
	T S	9*	31	5	3	1	1					
	S P		6	28*	16							
	J M		8	33	9							
	E H								14	35*	1	
	O M								7	25*	18	
<i>M. gallisepticum</i> (82 + *株)	T M	69*	9	4								
	T S	2*	2	3	7	5	1	13	26	16	7	
	S P		3	4*	8	3	2				62	
	J M	2*	4	5	2	3	3	1			62	
	E H			3*	5	7	5				62	
	O M				2	4*	7	7			62	
<i>U. diversum</i> (50 株)	T M	17	28	4	1							
	T S	13	20	12		2	1	2				
	S P					1	1	11	22	6	4	
	DOTC	13	12	24	1						5	

* : 基準株 (*M. bovis* : Donetta 株, *M. gallisepticum* : PG 31 株) を示す。

謝 辞

供用薬剤純末を分与していただいた武田薬品工業KK, 台糖フェイザーKK, 三共製薬KK, 東洋醸造KK, 山之内製薬KKの関係各位に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Allan, E.M. and Pirie, H.M. (1981) Res. Vet. Sci. 31:174-176.
- 2) Hinz, K.H. (1980) Dtsch. Tierarztl. Wschr. 87:220-223.
- 3) Kishima, M. and Hashimoto, K. (1979) Res. Vet. Sci. 27:218-222.
- 4) 牧江弘孝・田村 豊・田中正三 (1979) 動薬検年報, No 16:21-29.
- 5) 清水高正・末石哲之・永友寛司 (1981) 官大農研究報告 28:119-127.
- 6) 高橋 勇 (1980) 家畜の耐性菌研究会報, No 1:1-5.

(追加発言 : 橋本和典・家衛試)

私は、清水氏と同様に第6回(54年)の本会シンポジウムで、牛の生殖器と呼吸器病由来

の *Mycoplasma* と *Ureaplasma* の薬剤感受性成績を述べた。そのときの成績で最も問題であっ

たのは、清水氏の指適と同様に①接種菌量（をどれくらいにするか）、②平板法における（異型）コロニーの判定（をどうするか）、③マイクロプレート法での Initial MIC（IM）と Final MIC（FM）との差（をどう扱うか）、の3点であった。

その際に、接種菌量を維持するため、DMSO（を加えて凍結保存する方法）の問題についても言及したが、委員会の討議や今回の清水氏の

発表で、この点が解決されたと思う。ただ、まだ問題点として残るのは、IMとFMの（ちがいが生ずる）場合に、薬剤の種類によって、例えばOTCのように、感作期間中に著しく薬剤の力価が低下がおこるといふことがある。その他の若干の薬剤にも（同様の問題が）あるが、薬剤個々について感作期間中の安定性を含めて、問題としてとらえる必要がある。

2. 豚由来マイコプラズマのMIC測定法に関する検討

山本 孝史 ・ 跡部 ヒサエ (東京大学)

Factors Influencing the Minimal Inhibitory Concentrations of Antibiotics for Porcin Mycoplasma Koshi YAMAMOTO and Hisae ATOBE Division of Animal Research, University of Tokyo

私どもの課題は、豚由来マイコプラズマ(以下M)のMIC測定法に関する検討であり、特にアルギニン分解性のMについても検討を加えるようにということであった。そこで、ブドウ糖分解性のMとしては、主として*M. hyopneumoniae*を、アルギニン分解性のMとしては、*M. hyosynoviae*を用いて以下の点につき検討を加えた。

1) 栄研培地使用の可否。2) 接種菌数の検討。3) 寒天希釈法における微小集落および少数集落の取扱い。4) DMSO添加凍結保存菌液使用の可否。5) Initial MICおよびFinal MICの判定時間について。

材料および方法

供試菌株：*M. hyopneumoniae*は、新基準Jの他、肺炎病巣部より分離され20代以上継代されたもの、および10代以内のもの各々10株を供試した。*M. hyosynoviae*は、基準株S16の他、関節炎罹患豚の関節腔液より分離され、継代数10代以内の7株を用いた。また栄研O培地の検討および寒天希釈法における微小集落の取扱いに関する検討では、これらに加えて、*M. hyorhinis* BTS7(基準株)の他、肺炎病巣部より分離され、継代数10代以内の*M. hyosynoviae* 9株および*M. hyorhinis* 10株もあわせて供試した。

供試培地：*M. hyopneumoniae*のMIC測定にはBHL-Brothをまた*M. hyosynoviae*には、mA-Brothおよびm-Agarを用いた(表1)。

Table 1. Constituents of the medium employed for MIC determination

BHL-Broth modified for MIC determination	
BHL Basal Medium*	750 ml
0.4% Phenol red solution	5 ml
Swine serum	100 ml
Horse serum	100 ml
25% Fresh yeast extract pH 7.8 with 5% Na ₂ CO ₃	50 ml
* BHL Basal Medium	
Brucella broth (Gibco)	11.6 g
Lactalbumin hydrolysate (NBC)	4.0 g
Stock salt solution (x10)**	100 ml
Distilled water	1,400 ml
** Stock salt solution	
NaCl	80.0 g
KCl	4.0 g
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	1.2 g
KH ₂ PO ₄	0.6 g
Glucose	20.0 g
0.4% Phenol red solution	50.0 ml
Make up to 1,000 ml with distilled water.	
mA-Broth modified for MIC determination	
PFLO Broth (Difco)	21 g
Mucin Bacteriological (Difco)	5 g
L-Arginine	5 g
0.4% Phenol red solution	10 ml
Distilled water	800 ml
Horse serum	150 ml
25% Yeast extract pH 6.5-6.8 with 1N HCl	50 ml
m-Agar	
PFLO Broth (Difco)	21 g
Mucin Bacteriological (Difco)	5 g
Agar granulated (BBL)	12 g
Distilled water	800 ml
Horse serum	150 ml
25% Yeast extract pH 7.5	50 ml

また一部の試験では、栄研O培地との比較を実施した。

供試薬剤：本研究においては、実用上最も使用頻度の多いと考えられるテトラサイクリン系薬剤およびマクロライド系薬剤の中からオキシテトラサイクリンおよびタイロシンをそれぞれの代表薬剤として選び、それぞれの標準薬剤を農水省動物医薬品検査所より分与を受け供試した。凍結保存菌液の調製：*M. hyopneumoniae*は

BHL-Brothで3～5日培養後、20%にDMSOを含む同培地と等量混合後-70℃に保存した。また*M. hyosynoviae*は、アルギニンとフェノールレッドを除いたm-A-Brothで1～2日培養後、20%にDMSOを含む同培地と等量混合後、-70℃に保存した。

試験方法：栄研培地使用の可否（供試菌種*M. hyosynoviae*および*M. hyorhinis*）、および寒天希釈法における矮小集落および少数集落の取扱いに関する検討（供試菌種*M. hyosynoviae*）は、寒天平板希釈法によったが、その他の項目に関する検討は、液体培地希釈法によった。寒天平板希釈法では栄研C培地およびm-Agarを用い、常法にしたがい実施した。また液体培地希釈法では、*M. hyopneumoniae*は、平底プレートを用い、*M. hyosynoviae*はUプレートを用い、薬剤および菌液の希釈は、試験管内で実施し、各0.1 mlをドロッパーを用いてプレートの各ウェルに移した。平底プレートは、蓋と本体をビニールテープでまたUプレートは、本体上面を直接プレートシーラーで密閉した後、37℃で培養した。

実験成績

栄研C培地使用の可否：本培地においては*M. hyopneumoniae*のみならず*M. hyorhinis*も著しく発育が悪く、MICの測定は不可能であった。また*M. hyosynoviae*は、MICの測定が可能な程度には発育するが、m-Agarに比べると明らかに劣り、MIC値近辺で判定に困難を感じるが多かった。

接種菌数の検討：新鮮培養菌および凍結保存菌を用い、各種接種菌量がMICに及ぼす影響をみたのが表2～4である。これらの表から明らかなように、*M. hyopneumoniae*（表4）ではほとんど差は認められなかったが、*M. hyosynoviae*（表2,3）では、Initial MICにおいて2～8倍の差が認められた。しかしなが

Table 2(1) Influence of inoculum dose on MIC values of oxytetracycline for *Mycoplasma hyosynoviae*

Strain	Dose of inoculum (CFU/ml)	Initial MIC	1 day after	2 days after	3 days after	4 days after	
S16	3×10^7	0.8	1.6	3.2	6.3	>6.3	
	Fresh culture	3×10^6	0.2	0.8	1.6	3.2	6.3
	3×10^5	0.1	0.8	1.6	3.2	6.3	
	3×10^4	0.4	0.8	1.6	3.2	3.2	
S16	Freezed Culture	1×10^7	0.4	1.6	3.2	6.3	>6.3
	1×10^6	0.2	1.6	3.2	6.3	>6.3	
	1×10^5	0.2	0.8	1.6	3.2	6.3	
FA06	Fresh Culture	1×10^7	0.8	1.6	3.2	>6.3	>6.3
	1×10^6	0.4	0.8	1.6	6.3	>6.3	
	1×10^5	1.6	3.2	6.3	6.3	6.3	
FA06	Freezed Culture	1×10^7	0.8	1.6	3.2	6.3	>6.3
	1×10^6	0.8	3.2	6.3	6.3	6.3	
	1×10^5	0.4	1.6	3.2	3.2	6.3	
FA07	Fresh Culture	3×10^6	3.2	3.2	6.3	6.3	>6.3
	3×10^5	1.6	3.2	6.3	6.3	>6.3	
	3×10^4	1.6	3.2	6.3	>6.3	>6.3	
	3×10^3	1.6	3.2	6.3	>6.3	>6.3	
FA07	Freezed Culture	3×10^5	1.6	3.2	6.3	6.3	>6.3
	3×10^4	1.6	3.2	6.3	>6.3	>6.3	
	3×10^3	0.8	1.6	3.2	6.3	>6.3	
FA09	Fresh Culture	4×10^7	1.6	3.2	6.3	6.3	>6.3
	4×10^6	0.4	3.2	6.3	>6.3	>6.3	
	4×10^5	0.8	3.2	6.3	>6.3	>6.3	
	4×10^4	1.6	3.2	3.2	6.3	6.3	
FA09	Freezed Culture	3×10^7	1.6	3.2	6.3	6.3	>6.3
	3×10^6	0.8	3.2	6.3	6.3	>6.3	
	3×10^5	0.2	0.8	3.2	6.3	6.3	
	3×10^4	0.8	1.6	3.2	6.3	6.3	

ら、接種菌量が増加するにつれてMIC値が高くなるといった傾向は示さず、また、Initial MIC判定の翌日ではその差は2倍以内であった。

寒天希釈法における矮小集落および少数集落の取扱い：*M. hyopneumoniae*は、寒天培地における発育が、液体培地のそれよりも著しく劣りまた不定であり、寒天培地におけるMICの測定は不能であったので、*M. hyosynoviae*についてのみ実施した。ここでいう矮小集落とは、薬剤無添加の菌液対照と比較して著しく微小な集落を指し、少数集落とは、集落形態は、薬剤無添加の菌液対照に比してさして変わらないが、集落数が数個の場合を指している、供試した17株の各種接種菌量（ $10^4 \sim 10^7$ CFU/ml）

Table 2(2) Influence of inoculum dose on MIC values of oxytetracycline for *Mycoplasma hyosynoviae*

Strain	Dose of inoculum (CFU/ml)	Initial MIC	1 day after	2 days after	3 days after	4 days after
FA10	5x10 ⁶	3.2	6.3	6.3	6.3	>6.3
Fresh	5x10 ⁵	1.6	3.2	6.3	>6.3	>6.3
Culture	5x10 ⁴	3.2	6.3	>6.3	>6.3	>6.3
	5x10 ³	0.8	3.2	>6.3	>6.3	>6.3
FA10	4x10 ⁶	1.6	3.2	3.2	6.3	>6.3
Freezed	4x10 ⁵	0.4	1.6	3.2	6.3	6.3
Culture	4x10 ⁴	0.8	3.2	6.3	>6.3	>6.3
	4x10 ³	0.8	1.6	6.3	>6.3	>6.3
FA12	2x10 ⁷	0.4	1.6	1.6	6.3	>6.3
Fresh	2x10 ⁶	0.8	1.6	6.3	>6.3	>6.3
Culture	2x10 ⁵	0.2	0.8	3.2	6.3	>6.3
	2x10 ⁴	0.4	1.6	6.3	>6.3	>6.3
FA12	2x10 ⁶	0.8	1.6	3.2	6.3	>6.3
Freezed	2x10 ⁵	0.2	0.8	1.6	6.3	6.3
Culture	2x10 ⁴	0.4	1.6	3.2	3.2	6.3
FA5L	3x10 ⁷	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
Fresh	3x10 ⁶	1.6	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
Culture	3x10 ⁵	0.2	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
	3x10 ⁴	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
FA5L	1x10 ⁷	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
Freezed	1x10 ⁶	6.3	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
Culture	1x10 ⁵	1.6	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
	1x10 ⁴	6.3	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
FA08	1x10 ⁷	6.3	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
Fresh	1x10 ⁶	1.6	6.3	>6.3	>6.3	>6.3
Culture	1x10 ⁵	6.3	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
	1x10 ⁴	1.6	6.3	>6.3	>6.3	>6.3
FA08	1x10 ⁷	6.3	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
Freezed	1x10 ⁶	1.6	>6.3	>6.3	>6.3	>6.3
Culture	1x10 ⁵	3.2	6.3	>6.3	>6.3	>6.3
	1x10 ⁴	1.6	6.3	>6.3	>6.3	>6.3

Table 3(1) Influence of inoculum dose on MIC values of tylosin for *Mycoplasma hyosynoviae*

Strain	Dose of inoculum (CFU/ml)	Initial MIC	1 day after	2 days after	3 days after	4 days after
S16	3x10 ⁷	0.1	0.2	0.2	0.4	0.4
Fresh	3x10 ⁶	0.1	0.1	0.1	0.4	0.4
Culture	3x10 ⁵	0.05	0.1	0.1	0.2	0.4
	3x10 ⁴	0.1	0.1	0.1	0.2	0.8
S16	1x10 ⁷	0.1	0.2	0.2	0.4	0.4
Freezed	1x10 ⁶	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
Culture	1x10 ⁵	0.05	0.1	0.1	0.2	0.2
FA06	1x10 ⁷	0.1	0.1	0.1	0.2	0.4
Fresh	1x10 ⁶	0.05	0.1	0.1	0.2	0.2
Culture	1x10 ⁵	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1
FA06	1x10 ⁷	0.1	0.1	0.1	0.4	0.8
Freezed	1x10 ⁶	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
Culture	1x10 ⁵	0.05	0.1	0.2	0.2	0.2
FA07	3x10 ⁶	1.6	1.6	1.6	1.6	3.2
Fresh	3x10 ⁵	0.8	1.6	3.2	3.2	6.3
Culture	3x10 ⁴	0.8	3.2	3.2	6.3	6.3
	3x10 ³	0.4	1.6	1.6	3.2	3.2
FA07	3x10 ⁵	0.8	1.6	1.6	3.2	3.2
Freezed	3x10 ⁴	1.6	1.6	1.6	1.6	3.2
Culture	3x10 ³	0.4	0.8	1.6	3.2	3.2
FA09	4x10 ⁷	0.2	0.2	0.4	1.6	3.2
Fresh	4x10 ⁶	0.1	0.2	0.4	1.6	3.2
Culture	4x10 ⁵	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
	4x10 ⁴	0.1	0.1	0.2	0.2	0.4
FA09	3x10 ⁷	0.2	0.2	0.4	1.6	3.2
Freezed	3x10 ⁶	0.1	0.2	0.2	0.4	1.6
Culture	3x10 ⁵	0.05	0.1	0.2	0.2	0.8
	3x10 ⁴	0.1	0.2	0.2	0.2	0.8

中、このような集落が出現したのは3 2例あり、そのうち 小集落少数集落を非阻止とみなした方がプロス法におけるMICとより一致する場合が2 3例であり、阻止とみなした方がより一致する場合が7例であった。残りの2例は、矮小集落および少数集落の出現が2希釈以上におよび、いずれに解釈してもプロス法とそれぞれ1希釈宛高低にずれる場合であった。

DMSO添加凍結保存菌液使用の可否: *M. hyopneumoniae* は、10継代以内の新鮮分離株10株を用いてタイロシンにつき、また *M. hyosynoviae* は、基準株と10継代以内の新鮮分離株7株を用いてタイロシンおよびオキシテトラサイクリンにつき、新鮮培養菌液と、DMSOを添加して-70℃に10~15週間保存した菌

液とのMIC値を比較した。表2, 3, 5に示したように、いずれの菌種においても両者に有意の差異は見出し得なかった。

Initial MICおよびFinal MICの判定時間について: 先ず *M. hyosynoviae* とオキシテトラサイクリンについてみると(表2), 時間の経過とともにMIC値は上昇し、Initial MICの判定から4日後には全株8倍以上の上昇を示した。タイロシンにおいても同様の傾向を示したが、その上昇は大部分の株において4倍以内であった。また4日目以降では、阻止濃度の範囲内に1~2個所発育の認められるような場合が散見された。

M. hyopneumoniae においては、時間の経過によるMIC値の上昇は、*M. hyosynoviae* 程

Table 3(2) Influence of inoculum dose on MIC values of tylosin for Mycoplasma hyosynoviae

Strain	Dose of inoculum (CFU/ml)	Initial MIC	1 day after	2 days after	3 days after	4 days after
FA10	5x10 ⁶	1.6	3.2	3.2	6.3	>6.3
	Fresh 5x10 ⁵	1.6	3.2	3.2	3.2	>6.3
	Culture 5x10 ⁴	0.4	1.6	1.6	3.2	3.2
	5x10 ³	0.8	1.6	3.2	>6.3	>6.3
FA10	4x10 ⁶	0.8	1.6	3.2	6.3	>6.3
	Fresh 4x10 ⁵	0.4	1.6	1.6	3.2	6.3
	Culture 4x10 ⁴	0.8	1.6	1.6	3.2	6.3
	4x10 ³	0.4	0.8	1.6	3.2	6.3
FA12	2x10 ⁷	0.05	0.1	0.1	0.1	0.2
	Fresh 2x10 ⁶	0.05	0.05	0.1	0.1	0.1
	Culture 2x10 ⁵	0.05	0.05	0.1	0.2	0.2
	2x10 ⁴	0.025	0.05	0.05	0.1	0.2
FA12	2x10 ⁶	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
	Fresh 2x10 ⁵	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1
	Culture 2x10 ⁴	0.05	0.1	0.1	0.2	0.2
FASL	3x10 ⁷	1.6	3.2	3.2	3.2	6.3
	Fresh 3x10 ⁶	0.4	1.6	1.6	3.2	3.2
	Culture 3x10 ⁵	0.8	1.6	1.6	3.2	3.2
	3x10 ⁴	0.8	1.6	1.6	3.2	3.2
FASL	1x10 ⁷	1.6	3.2	3.2	3.2	6.3
	Fresh 1x10 ⁶	1.6	3.2	3.2	6.3	6.3
	Culture 1x10 ⁵	0.8	1.6	3.2	3.2	3.2
	1x10 ⁴	1.6	3.2	3.2	6.3	6.3
FA08	1x10 ⁷	3.2	3.2	3.2	3.2	6.3
	Fresh 1x10 ⁶	1.6	3.2	6.3	6.3	>6.3
	Culture 1x10 ⁵	3.2	6.3	6.3	>6.3	>6.3
	1x10 ⁴	1.6	6.3	6.3	>6.3	>6.3
FA08	1x10 ⁷	3.2	3.2	3.2	6.3	6.3
	Fresh 1x10 ⁶	1.6	3.2	6.3	6.3	>6.3
	Culture 1x10 ⁵	3.2	6.3	6.3	>6.3	>6.3
	1x10 ⁴	1.6	3.2	6.3	6.3	>6.3

Table 5. Comparison of initial MIC values of tylosin between fresh culture and freeze-d culture of Mycoplasma hyopneumoniae

Strain	Dose of inoculum (CCU/ml)	Fresh culture	Freezed culture
Y01	10 ⁶ -10 ⁷	0.04	0.04
Y02	10 ⁶ -10 ⁷	0.04	0.04
Y04	10 ⁶ -10 ⁷	0.08	0.08
Y05	10 ⁶ -10 ⁷	0.04	0.02
Y07	10 ⁶ -10 ⁷	0.08	0.16
Y08	10 ⁶ -10 ⁷	0.04	0.02
Y09	10 ⁶ -10 ⁷	0.04	0.02
Y10	10 ⁶ -10 ⁷	0.04	0.04
Y11	10 ⁶ -10 ⁷	0.08	0.08
Y12	10 ⁶ -10 ⁷	0.08	0.08

顕著ではなく、オキシテトラサイクリンの場合 initial MIC の判定から 4 日後においても 2 ~ 4 倍であり、タイロシンでは大部分の株において 2 倍に留まっていた (表 6)。

Table 4. Influence of inoculum dose on MIC values for Mycoplasma hyopneumoniae

Drug	Strain	Dose of inoculum (CCU/ml)	Initial MIC	1 day after	2 days after	3 days after
OTC ^{a)}	204/47	10 ⁶ -10 ⁷	1.25	1.25	1.25	1.25
	Fresh	10 ⁵ -10 ⁶	ND ^{c)}	ND	ND	ND
	Culture	10 ⁴ -10 ⁵	0.63	1.25	1.25	1.25
		10 ³ -10 ⁴	ND	ND	ND	ND
TS ^{b)}	204/47	10 ⁶ -10 ⁷	0.63	0.63	1.25	1.25
	Fresh	10 ⁵ -10 ⁶	0.63	0.63	1.25	1.25
	Culture	10 ⁴ -10 ⁵	1.25	1.25	1.25	1.25
		10 ³ -10 ⁴	0.63	0.63	1.25	1.25
TS ^{b)}	204/47	10 ⁶ -10 ⁷	0.08	0.08	0.08	0.08
	Fresh	10 ⁵ -10 ⁶	0.04	0.04	0.04	0.04
	Culture	10 ⁴ -10 ⁵	0.04	0.04	0.04	0.04
		10 ³ -10 ⁴	0.04	0.04	0.04	0.04

Remarks. a) Oxytetracycline b) Tylosin c) Not done

Table 6. Increase of MIC values for Mycoplasma hyopneumoniae

Drug	Strain	Initial MIC (CCU/ml)	1 day after	2 days after	3 days after	4 days after
OTC ^{a)}	J	0.63	0.63	1.25	1.25	1.25
	201/49	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
	204/49	0.63	0.63	1.25	1.25	1.25
	215/24	0.08	0.16	0.16	0.32	0.32
	14/5/23	0.16	0.16	0.16	0.16	0.32
	16s/23	2.5	2.5	5.0	5.0	5.0
	16L/23	2.5	2.5	2.5	2.5	5.0
	20L/23	0.32	0.63	0.63	1.25	1.25
	Y06/08	1.25	1.25	2.5	2.5	2.5
	Y13/13	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
Y14/16	0.63	1.25	1.25	1.25	1.25	
TS ^{b)}	J	0.08	0.08	0.08	0.16	0.16
	201/49	0.08	0.08	0.08	0.08	0.16
	204/49	0.04	0.04	0.08	0.08	0.08
	215/24	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
	16s/23	0.02	0.04	0.08	0.08	0.08
	16L/23	0.04	0.08	0.08	0.08	0.16
	20L/23	0.08	0.08	0.16	0.16	0.16
	Y06/08	0.04	0.04	0.04	0.04	0.08
	Y13/13	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
	Y14/16	0.08	0.08	0.08	0.16	0.16

Remarks. a) Oxytetracycline b) Tylosin

考 察

豚由来のMに関しては、栄研C培地は使用できず、*M. hyopneumoniae* ではBHL-Brothをまた*M. hyosynoviae* ではmA-Brothあるいはm-Agarを用いるべきであった。

接種菌量によるMICの変動は、Initial MICでみると2～8倍の差が認められたが、接種菌量が増加するにつれてMIC値が高くなるといった傾向は示さず、またInitial MIC判定の翌日ではその差は2倍以内であることから、この変動は判定時間のずれに起因するものと考えられた。従って供試した 10^4 から 10^7 の範囲では、両菌種とも、MIC値は接種菌量によって影響されないものと考えられた。しかしながら、*M. hyopneumoniae* の新鮮分離株の中には、 10^5 CCU/ml以下の接種菌量では、菌液対照のpHの低下が十分ではなく、判定に困難を来す場合があった。また時間の経過によるMICの変動をみると、*M. hyosynoviae* の中には、タイロシンに対し、 10^6 以上の接種菌量ではInitial MICの判定後3～4日後にInitial MICの8～32倍に達するにもかかわらず、 10^5 以下の接種菌量では2～4倍に留まっていた株(FAO9)が存在した。このことは、Final MICをみる意義が、被検菌の試験薬剤に対する耐性獲得の度合をみることにあるとするならば、接種菌量は 10^6 以上を使用すべきであることを示唆している。以上のようなことから接種菌量は、 $10^6 \sim 10^7$ CFU or CCU/mlを用いるのが最も妥当と考えられた。

寒天希釈法における少数集落および矮小集落は、非阻止とみなした方がプロス法の値とよりよく一致した。

DMSOを添加して -70°C に10～15週間保存した菌液を用いて測定したMIC値は、新鮮培養菌を用いた場合と有意の差は見出し得ず、MICの測定に供試可能と考えられた。

Initial MICおよびFinal MICに関しては、*M. hyopneumoniae* の場合は、両者に著しい差は認められなかったが、*M. hyosynoviae* では菌株および薬剤によっては、時間の経過とともにMIC値は大幅に上昇した。また本菌の場合、Initial MICの判定から4日目以降では阻止濃度の範囲内に1～2個所発育の認められる場合が散見されはじめるので、Final MICは、Initial MICの判定から3日以内とすべきであった。

アルギニン分解性のMである*M. hyosynoviae* のMIC測定に際し、ブドウ糖分解性のMと特に異なる点は見出し得なかったが、接種菌液はアルギニンを含まない培地で培養することが望ましかった。何となればアルギニンを含んだ培地で培養した菌液の 10^{-1} 希釈を用いると、菌数が $10^6 \sim 10^7$ CFU/mlであってもMIC値は著しく高くなること、およびアルギニンを含んだ培地では、最高菌量に達してから急速に死滅するため、高濃度の菌液が得にくい等の理由からであった。

3. 鶏由来マイコプラズマの薬剤感受性測定法について

村田 昌 芳

(広島大学生物生産学部衛生微生物学講座家畜衛生学研究室)

Procedure for Drug-Susceptibility Test of Fermentative Chicken Mycoplasmas

Masayoshi Murata

Department of Microbiology and Hygiene, Faculty of Biological
Science, Hiroshima University, Fukuyama 720

鶏由来の醗酵性マイコプラズマ、特に *Mycoplasma gallisepticum* (MG) および *Mycoplasma synoviae* (MS) についての薬剤感受性測定法については、国内外を通じて多くの先人により種々の方法が報告されている (3-5, 7-10, 15-17)。しかし一般細菌における⁶⁾と異なり、その標準化はごく少数例をみるに過ぎない^{14, 15, 17)}。

わが国では、さきに高橋 (1977)¹⁵⁾ が 国安・佐藤と協議のうえ、MGの薬剤感受性試験法 (試案) を提案したが、これは液体培地希釈試験管法の1種である。これを端緒として1981年本研究会の中に「家畜のマイコプラズマ薬剤感受性測定法検討委員会」ができ、各種動物由来マイコプラズマ・ウレアプラズマの薬剤感受性測定法の標準化を目的として過去3年間種々の検討を重ねて来た。

一方、外国でも Senterfit (1983)¹⁴⁾ は microtiter system によるマイコプラズマの薬剤感受性測定法の標準的な方法を記載しており、また Whithair ら (1983)¹⁷⁾ も後述するように薬剤感受性測定法の詳細な関係要因を分析したのち、鳥由来醗酵性マイコプラズマの Microtiter system による薬剤感受性測定法の標準的方法を記載している。

ここでは、以上の事柄を参考にしつつ特に前述の検討委員会の討議を踏まえて、MGとMS

についての3種の薬剤感受性測定法の標準化試案作製の参考として、筆者らが行っている方法を以下に述べ、話題提供の資とした。

1. 培 地

MG用の培地としては表1に示すとおり、基礎培地としてはニワトリ PPLO 培地 (栄研)、

表1. *M. gallisepticum* 用培地

A) 液体培地

基礎培地: ニワトリ PPLO 培地 (栄研)
(変法 Barber の培地)¹³⁾

添加: フェノール・レッド 0.002%
(マイクロタイター法の場合 0.004%)

— pH 7.8, 滅菌冷却 —

馬血清 (非働化) 10~20%
ペニシリンGカリウム 1,000U/ml

用途: 薬剤感受性測定用培地 (試験管法)
マイクロタイター法
接種菌培養, 希釈, MG分離, 培養

B) 寒天培地

上記の培地に Bacto-agar (Difco) を 1.5% に添加。

用途: MGのCFU測定

- の生残性試験
- のクローニング
- の薬剤感受性試験 (平板希釈法)

すなわち変法Barberの培地¹³⁾を用い表に示すとおりの手順で添加物質を加えて培地を調製する。本培地の液体ならびに寒天培地の用途は表1に示すとおりである。

MS用の培地としては、表2に示すFreyの培地²⁾を用いる。その基礎培地としてはMycoplasma broth base (Frey), dry-form (GIBCO)を用い、表に示す手順で添加物に加え、培地を調製する。なお、添加物としての1% NAD 1 mlと1% Lシステイン塩酸塩 1 mlは-20℃に凍結保存しておき、使用前融解して両者を混合し10分後に培地に2%の割合に添加する^{11,12)}。

このFreyの培地は、Chalquest (1962)のC培地¹²⁾で代用してもよい。

Freyの培地は各研究者により種々の変法処

方が考案されている^{1, 2, 11, 12, 17)}。なお、この培地は元来MS用とされているがMGも発育するのでMS・MG兼用培地としても用いられる。MG単独に使用する場合には、基礎培地への添加物のうちβ-NADとLシステイン塩酸塩は削除してもよい。

Freyの液体および寒天培地の用途は表2に示すとおりである。

なお、上述の両培地に添加する血清はマイコプラズマ・フリーでなければならない。

また、後述する薬剤感受性試験用の培地中の供試薬剤の最終濃度は、原則として100 μg/mlからの2倍段階希釈になるよう調製する。

2. 薬剤感受性測定法

表3. 試験管法
〔高橋(國安, 佐藤), 1977に準拠〕¹⁵⁾

小試験管を用い、全量2 mlシステム	(ml/tube)
a) 液体培地	1.6 0
b) 薬剤液 (1,000 μg/mlから2倍 master dilutionしたもの)	0.2 1
c) 接種菌液, 10 ⁶ CFU/ml (*印10 ⁵ CFU/ml)	0.2 1*
d) 対照	
i) 薬剤無添加, 菌接種培養	1本/菌株
ii) pH 7.0又は7.2の培地	1本
(又はフェノール・レッドの標準色調表と比較)	
iii) 対照菌株を用いた感受性試験	
MG: KP-13株又は1RF株	
MS: WVU 1853株	
e) 栓: MG用には通気性のシリコ(スポンジ)栓, MS用には通気性のないゴム栓をする。	
f) 培養温度: 37℃	
g) 成績の判定(毎日朝夕観察)	
i) initial MIC: 薬剤無添加菌培養の対照が pH 6.8~7.0に黄変した時点で判定	
ii) final MIC: initial MIC判定時から3日後に判定する。但し必要に応じてその後も培養10~14日目迄観察する。	
h) 試験はduplicate以上行う。	

表2. *M. synoviae* 用培地 (Freyの培地)

A) 液体培地	
基礎培地: Mycoplasma broth base(Frey), dry-form(GIBCO)	
添加: 酢酸ナトリウム, 5%液	0.5%
フェノール・レッド, 0.2%液	1%
(マイクロタイター法の場合 2%)	
— pH 7.8, 滅菌冷却 —	
β-NAD, 1%液	1%
L-システイン塩酸塩, 1%液	1% 過熱滅菌
ブドウ糖, 50%液	2%
豚血清(非働化)	12%
ペニシリンGカリウム	1,000 U/ml
用途: 薬剤感受性測定用培地 (試験管法)	マイクロタイター法
接種菌培養, 希釈	
MG, MSの分離, 培養	
B) 寒天培地	
上記の培地にBacto-agar (Difco)を1.5%に添加	
用途: MS, MGのCFU測定	
• • の生残性試験	
• • のクローニング	
• • の薬剤感受性試験(平板希釈法)	

以下、薬剤感受性測定法の術式について述べるが、MGとMSについては主に培地と一部の項目を除けば相互に共通であるので、それらを一括して述べる。

A. 試験方法(ブイオン希釈法)

前述のとおり高橋ら(1977)¹⁵⁾の方法に準じたもので、その術式は表3に示すとおりである。試験管法には表3に示すように、培地・薬剤液・接種菌液のそれぞれについての分注方式が2通りあり、すなわち表3中に分注量を(ml/tube)で示した左側のそれぞれ1.6, 0.2, 0.2のシステムと、右側の0, 1, 1のシステムである。対照以下の事項についても表に示すとおりとする。

B. マイクロタイター法(微量ブイオン希釈

法)

培地は試験管法におけると同じである。

マイクロタイター法の術式は表4に示すとおりであり、薬剤液の希釈にマイクロダイリューターを用いる方法と、それを用いず、予めMaster dilutionを作つてこれを直接Wellに分注する2つの方法がある。またマイクロダイリューター法の場合、Senterfit(1983)¹⁴⁾は菌液を0.175 ml分注する方法を採用している。

表5. 寒天平板希釈法

表4. マイクロタイター法の術式

1. 薬剤液と菌液の分注

A. マイクロダイリューターを用いる場合

- 1) 所定の方法に従いマイクロダイリューターを用いて、プレート上に0.025 ml/Wellの薬剤の2倍希釈液列を作る。
- 2) 接種菌液: 10^{6-7} CFU/mlを各Wellに0.075 ml又は0.175 mlをマイクロピペットで分注。

B. マイクロダイリューターを使わない場合。

マイクロタイター・プレートの各Wellに下記のよりに滴下。

- 1) 薬剤液 (1,000 µg/mlから
2倍master dilutionしたもの) 0.05 ml
- 2) 接種菌液: 10^{6-7} CFU/ml 0.05 ml
各菌株の元培養を小分けして70℃に保存、試験当日朝、培地で10倍に希釈し、2時間35℃で培養したものをを用いる方法もある(Senterfit, 1983)。

2. プレートをプレートシーラーで被包圧着。
3. プレートをマイクロミキサーで振とう、Well内の液を混合。
4. 対照: 試験管法に準ずる。
5. 培養温度: 37℃
6. 成績の判定: テスト・リーディング・ミラーを用いて、試験管法に準じて行う。
7. 試験はduplicate以上行う。

1. 培地

MG用: 前述の=ワトリ PPLO培地(但し馬血清は10%添加=変法Barberの培地)

MS, MG兼用: 前述のFreyの培地

両者共に寒天培地にする時はBacto-agarを1.5%に添加する。

2. 薬剤希釈: 供試薬剤を滅菌精製水で希釈し、1,000 µg/mlから培地で2倍希釈液列(master dilution)を作る。
3. 感受性測定用寒天平板の調製: 上述の寒天培地を溶解、冷却(56℃)、これに各薬剤希釈液を10%に加え、直径9cmのシャーレに10 mlずつ分注。十分に乾燥。
4. 接種用菌液: 前述の何れかの液体培地で接種菌を培養、培地色がオレンジ黄色(pH 7.2, 菌数 10^{8-9} CFU/ml)になったもの(発育の悪い菌株では2~3代継代しておく)の 10^{-3} 希釈。
5. 菌接種: 菌接種装置(レプリケーター)を用い、3mm径のピンで約3 µl(10^{2-3} CFU)を試験用寒天平板上にスポットする。
6. 対照: 試験管法に準ずる。
7. 培養: 37℃, 5%CO₂大気中(CO₂フラン器、又はBBLガスバックCO₂用を用いる)。
8. 成績の判定: 培養3・5・7日に観察する。平板培地の発育集落を立体顕微鏡等で観察する。完全に菌発育が阻止された薬剤の最低濃度をMICとする。
矮小集落は発育阻止とみなす。
薬剤無添加対照の発育に比べて、明らかに発育が抑制された濃度以上の高濃度の薬剤含有培地に2, 3の集落が認められることがあるが、それらは発育阻止とみなす。

C. 寒天平板希釈法

寒天平板希釈法の術式は表5に示すとおりである。

3. 実験成績の判定法

A. 試験管法及びマイクロタイター法のように液体培地を用いるMIO測定法の場合は、MG又はMSの増殖によりブドウ糖が分解されて酸が形成され、それによりpH指示薬として培地に加えられたフェノール・レッド(P.R.)が赤色(アルカリ性)から黄色(弱酸性)に変色する事をもってMG又はMSの増殖陽性とみなす。これは、一般細菌の液体培地におけるように、一般にマイコプラズマは増殖しても培地をほとんど混濁させず、培地の混濁ではマイコプラズマの発育が判定しにくいためである。もし培地が1夜で黄変したり、強い黄変混濁がみられた場合は普通寒天平板培地にその黄変した培地を接種して、一般細菌の混入の有無を確認するとよい。又同時にマイコプラズマの固型培地にその黄変した液体培地を滴下して5%CO₂, 37℃培養を行ってマイコプラズマ集落の発育を確認するとよい。黄変した液体培地をグラム染色して一般細菌の混入を確認するのも一法である。

そして、表3に示したように薬剤無添加菌接種対照培地で同一菌株が発育黄変した時に認められた薬剤添加培地でのMIO値をinitial MIOと呼ぶ。その後遅れて認められた最終的なMIOをfinal MIOと呼ぶ。マイコプラズマではinitial MIO判定の3日後に判定したMIO値を通常final MIOとするのがよいとされている。そして、一般にfinal MIOをMIOとしてあらわしている。なお、マイクロタイター法の判定にはテスト・リーディング・ミラーを用いるとよい。

B. 寒天平板培地希釈法でのMIOの判定は37℃, 5%CO₂培養でMG・MSの場合、

その集落の発育を実体顕微鏡や顕微鏡の弱拡大(4~40~100倍)で確認する。なお、集落を鏡検する前にDienesの液で寒天平板上の集落を染色する¹¹⁾。MG・MS共に一般に培養の3, 5, 7日後に成績を確認するとよい。3日では集落の発育が認められなくても、5日後には集落の発育が認められる場合が殆どである。この場合もinitial MIOとfinal MIOの考え方は液体培地の場合と同様である。この際、矮小集落の発育や極く少数の集落(2~3個)の発育は発育阻止とみなす。

なお何れの場合も、完全に菌発育が阻止された薬剤の最低濃度をもって最小発育阻止濃度(MIO)とし、 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で示す。

4. 補 遺

最後に、考察にかえてWhithear(1983)¹⁷⁾が鳥由来酸酵性マイコプラズマの微量ブイオン希釈法による薬剤感受性測定法の成績に影響する種々の潜在的要因についての系統的評価を行い、標準的方法を確立した報告の概要を紹介した。その要点は下記のとおりである。培地は変法Freyの培地²⁾を用いた。培地中の血清の濃度と由来動物種等は10~25%の間で殆ど影響しなかった。試験での接種菌数、培養期間、培地のpH等は成績に強く影響する。培地中の一般細菌発育阻止剤(ペニシリン、酢酸タリウム、アモキシシリン等)の存在や抗生物質の溶媒、供試菌の処代数などは成績に重要な影響を与えなかった。成績の判定は培地色がpH7.8の濃赤色からpH7.0のオレンジ黄色に変わった時点であるのがよい。これらの種々の要因をControlする事により、再現性に富む信頼度の高い標準的な薬剤感受性測定法を開発する事ができた。

なお、以上のような方法でえられた薬剤感受性試験の成績は、あくまで*in vitro*での成績であり、必ずしも*in vivo*での成績と平行する

ものではなく、薬剤効力の最終判定には適切な *in vivo* での判定が必要であることを忘れてはならない。

文 献

- 1) Freundt, E.A. (1983) Culture media for classic mycoplasmas. pp. 127-135. In: Methods in mycoplasmaology, Vol. I. (Razin, S., and Tully, J.G. eds.), Acad. Press, New York.
- 2) Frey, M.L. et al. (1968) A medium for the isolation of avian mycoplasmas. Am. J. Vet. Res. 29: 2163-2171.
- 3) 原田良昭ほか (1984) 各地の種鶏群における *Mycoplasma gallisepticum* および *M. synoviae* の汚染実態と分離株の薬剤感受性。日獣会誌。37: 93-99.
- 4) 加藤和好, 小野島学 (1977) 種卵の *Mycoplasma synoviae* 検査成績。鶏病研報。197-198.
- 5) Kleven, S.H., and Anderson, D.P. (1971) In vitro activity of various antibiotics against *Mycoplasma synoviae*. Avian Dis. 15: 551-557.
- 6) Lorian, V. (ed.) (1980) Antibiotics in laboratory medicine. Williams & Wilkins, Baltimore.
- 7) 松井光蘭ほか (1967) *Mycoplasma gallisepticum* 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。家畜衛試研究報告。第54号: 19-23.
- 8) 村田昌芳ほか (1980) 1969~1971年に分離された *Mycoplasma gallisepticum* の主な抗生物質感受性。J. Fac. Appl. Biol. Sci., Hiroshima Univ. 19: 55-68.
- 9) 村田昌芳ほか (1983) 1983年に分離された *Mycoplasma gallisepticum* の主な抗生物質感受性。家禽会誌。20: 400.
- 10) Newnham, A.G., and Ohu, H.P. (1965) An invitro comparison of the effect of some antibacterial, antifungal and antiprotozoal agents on various strains of *Mycoplasma* (pleuropneumonia-like organisms: P.P.L.O.). J. Hyg., Camb. 63: 1-23.
- 11) 日本細菌学会教育委員会 (編)。中村昌宏ほか (1982) ヒト・および植物マイコプラズマの分離と同定。細菌学技術叢書2。菜根出版。
- 12) Olson, N.O. (1978) *Mycoplasma synoviae* infection. pp. 261-270. In: Diseases of poultry, 7th ed. (Hofstad, M.S. et al. eds.), Iowa State Univ. Press, Ames.
- 13) 佐々木正五ほか (編) (1974) マイコプラズマ。講談社, 東京。
- 14) Senterfit, L.B. (1983) Antibiotic sensitivity testing of mycoplasmas. pp. 397-401. In: Methods in mycoplasmaology, Vol. II. (Tully, J.G., and Razin, S. eds.), Acad. Press, New York.
- 15) 高橋 勇 (1977) 抗菌剤の効力試験法。pp. 155-192. In: 動物用医薬品・飼料添加物, 新飼料の有用性評価法。(小華和忠ほか編), フジテクノシステム, 東京。
- 16) 高橋 勇 (1980) 鶏由来マイコプラズマの薬剤感受性と耐性について。家畜の耐性菌研究会報。第1号: 1-5.
- 17) Whithair, K.G. et al. (1983) Evaluation and use of a micro-broth dilution procedure for testing sensitivity of fermentative avian mycoplasmas to antibiotics. Avian Dis. 27: 937-949.

4. 鶏由来マイコプラズマの薬剤感受性試験法の検討(追加発表)

内田 幸治 ・ 原田 良昭

(台糖ファイザー・農技センター)

著者らは、1979～83年に分離された種鶏由来の *Mycoplasma gallisepticum* (MG) および *M. synoviae* (MS) 株の14薬剤に対するMICを、寒天平板法で実施し報告した¹⁾。今回、そのMGの寒天法における培養日数および接種菌数とMICの変動ならびに寒天法と液体法の比較を試みた。

表1は清水ら²⁾方法に準じ実施した、著者らの方法である。判定は顕微鏡で集落の発育の有無と形態を観察し、接種部位に典型的な集落が10個以上認められたものを陽性とした。典型

的な集落に至らない微小集落あるいは、接種菌を希釈せず($10^9 \sim 10^8$ CFU/ml)にMICを実施した時に認められる苔状の集落は発育阻止とみなした。

表2は、寒天法における接種菌数および培養日数とMICの変動を示す。供試株はMG6株(宮崎大学分与PG31, 日獣大分与KP13, No.4, No.10および著者らの分離した2株), 薬剤は4薬剤(OTC, DOXY, TSおよびEM)を用いた。接種菌数は 10^8 , 10^7 および 10^6 CFU/mlの菌液を各0.003ml(接種菌量としてそれぞれ 10^5 , 10^4 および 10^3 個), 培養日数は4, 7および10日とした。

接種菌数によるMICの変動は、 10^8 と 10^6 CFU/mlの菌液接種で比較すると、OTCでMIC4倍以内、DOXYおよびTSで2倍以内と小差であった。一方、EMでは2株において100倍以上の差が認められた。

培養日数によるMICの変動は、DOXYおよびTSでほとんど認められなかった。OTCでは判定日数が延長するにつれMICの上昇が認められ、4と10日の培養で比較すると、約4倍であった。一方、EMでは 10^7 CFU/mlの菌液接種で、4と7日では100倍以上もMICの上昇が認められた。

表3は寒天法と液体法のMICの比較を示す。供試株は著者らの分離したMG8株を、薬剤は4薬剤(OTC, DOXY, TSおよびOM)を用いた。液体法は高橋³⁾の試案の試験管方法に準じた。

その結果、寒天法の4日培養のMICと液体法のInitial MICおよび寒天法の7日培養のMICとFinal MICがほぼ一致した。

表1. MG・MSの薬剤感受性試験方法
原田ら(1984)

- 1) 接種菌増菌用培地
感受性測定用培地
Haylickの液体培地
寒天培地
(MS:血清成分に10%馬血清+10%豚血清
0.01%β-NADHを加えた培地)
- 2) 接種菌液・接種量
 10^6 CFU/mlに調整(24時間培養菌)
0.003ml接種
- 3) 培養条件
5%CO₂加酸素器 37℃ 7日間
- 4) 判定
顕微鏡で接種部位に典型的な集落が10個以上認められたものを陽性とした

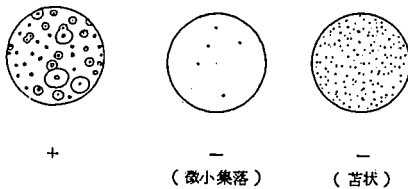
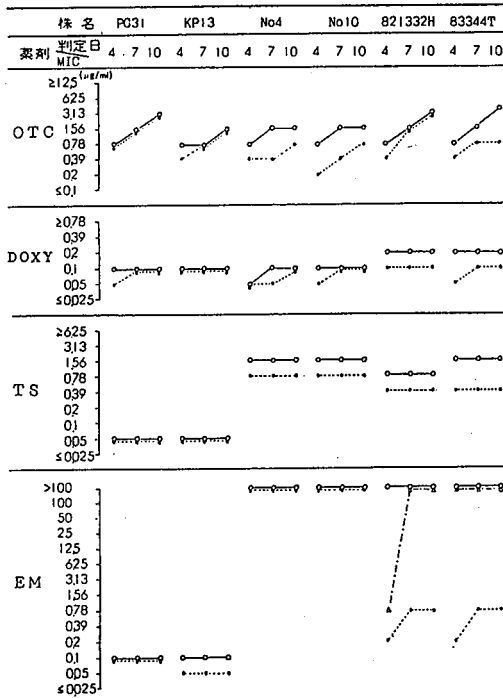


表2. *M. gallisepticum* のMICの変動(寒天法)



接種菌数: ○=10⁸, ●=10⁷, □=10⁶ CFU/ml 各0.003ml

以上の結果, 寒天法では接種菌数は10⁶ CFU/mlの菌液を0.003 ml(菌量で10³個)がパラツキが少なく, 10⁸および10⁷ CFU/mlの菌液接種よりも, 判定が容易だった。培養日数は4日で充分と判断されたが, 7日でのMICが液体法のFinal MICとほぼ一致した。Initial MICとFinal MICについてはさらに検討を要す。

文 献

- 1) 原田良昭ほか(1984) 日獣会誌, 37: 93~99.
- 2) 清水高正ほか(1983) 第95回日本獣医学会講演要旨, 166.
- 3) 高橋 勇(1977) 動物用医薬品・飼料添加物・新飼料の有用性評価法, 小華和忠ら編, 155-192, フジテクノシステム, 東京.

表3. 寒天法と液体法とのMICの比較(MG8株)

薬 剤	判 定 P ^a B ^b	MIC (µg/ml)								
		≤0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	≥1.56
OTC	4 I					1	5	2		
	7 F					1	5	2		
DOXY	4 I		1	4	3					
	7 F		2	4	2					
TS	4 I			4	8					
	7 F			4	4					
OM	4 I					2	6	4	2	
	7 F					1	1	3	4	

^a P: 寒天法(4日, 7日目判定)
^b B: 液体法(I: initialMIC, F: finalMIC)

総 合 討 論 (座 長 : 佐藤静夫・家衛試)

(座長:)以上4名の発表により, およそ宿 題に対する答えがたよりに思う。おおすじで

は村田氏の話しにもあったように、*M. gallisepticum*を例とした抗菌剤研究会の試案で、ほぼよいという結果がでたものと思う。まだ、検討課題の一つである試験実施時に使用する接種菌株の保存をどうするかという点については、DMSOを用いることにより、*Mycoplasma*ではあらかじめ調製しておくことができるという二人の演者の成績が一致しており、そう問題はないように思う。しかし最も大きな問題点は、寒天法の成績判定のさいに（発育阻止限界付近における）少数集落の出現とか、発育が非常に悪いものをどう扱うかということで、これは*Mycoplasma*の種類によって、若干差があるように思う。特に山本氏におききたいが、他の演者は、以上のような場合、（発育）阻止と（判定）した方がよいだろうという提案であるが、豚の*Mycoplasma*では、（発育として）とった方がよいとお考えなのか。

（答：山本孝史・東大） 大変むずかしい問題である。*M. hyopneumoniae*では、液体法しかなできないから問題はないが、*M. hyorhinis*と*M. hyosynoviae*の場合には、液体法と寒天法の成績が一致するという意味では、（少数集落の発育や非常に弱い発育も）非阻止とみなした方がよいように思うが、それ以上のことはいえない。

（座長） 山本氏の示した写真（豚由来）と清水氏（牛など由来）、内田氏（鶏由来）のを比較して、（発育阻止限界付近の）豚の*Mycoplasma*の集落の方が、形態的にはっきりしたもののように思うが、そのあたりを山本氏はどうお考えか。

（答：山本孝史）（他の演者が示したものは）豚の（*Mycoplasma*の集落）と若干異なる。清水氏と私の場合とでは、同じものを言っているのではないように思う。ただし、矮小集落で、少数の場合には阻止とみなしている。私の場合には発育した集落を継代すると、発育してくる。

おそらく菌種のちがいのか（と思う）。清水氏の示したようなものはでなかった。

（座長） この点については、他の人も検討していただく必要がある。

（意見：山本孝史） 同意見である。

（座長） 今お聞きの通り、今回のシンポジウムで、他の（*Mycoplasma*の）場合には、ほぼ同様の（判定法で）表現できると思うが、豚の*Mycoplasma*の判定（の問題点）については、先ほどの（問題となった）点を（考慮に）含めて実施し、山本氏の指摘の点は採用した方がよいというのが、現時点の状況である。われわれの小委員会としても、その点を割切れなかった（基準に盛り込めなかった）点が残ったが、今後検討していただきたいと思う。なお、この点に関して、（発育阻止限界付近で発育した集落を）継代して発育するか否か（という点）を確認するようにすれば、判定法として使えるように思う。この点、清水氏の場合には、（継代しても）発育してこないということなので、そのあたりを、他の薬剤、その種類との関係もあろうが、を含めて、今後実験していただくとよいと思う。

その他、特に技術的な問題について、例えば、pHとか培地の問題についてご意見がないか。

（意見：跡部ヒサエ・東大） 平板希釈法で村田氏が示された接種機械（ミクロプランター）は、沢山の株を処理する時に都合がよいと思う。

（座長） 今後当研究会としても、追加を考えたい。

（意見：橋本和典・家衛試） 村田氏の講演では基準株のことがでたが、山本、清水氏の講演中にはでてこなかったように思う。私が先に清水氏の講演に追加発言した、CTOの問題などを含め、薬剤濃度、希釈をチェックするためにはこういうシリーズ参照株あるいは基準株（ブドウ球菌の209Pのような）をおく方がよいと思うが、その点はどうか。

(座長) その点について清水氏のご意見は？

(答：清水高正・宮崎大) (マイク不使用のため録音不良)，(大意：多数の株を実験するときには、先に表3の*印で示したように、基準株をおくようにしている)。

(座長) 山本氏の場合はどうか。

(答：山本孝史) 私どもも同様に各試験ごと *M. hyopneumoniae*，*M. hyosinoviae* の場合とも基準株をおいて、成績にブレがないことを確認している。

(座長) 将来、当研究会として基準株を必要とした場合に、株の分与の問題が生じてくる。今回講演された3氏から分与してもらうことにするかどうか、事務局の高橋氏から伺いたい。

(答：高橋 勇・日猷大) 基準株は、本来ならば、当研究会の事務局で保管・分与すればよいのであるが、事務局で保管・維持するのは、人手やその他の関係で困難である。それぞれの専門に扱っている先生方のところで分与していただく方がよいと思う。先にあがった各基準株を登録の型とし、必要な人は各先生方のところへ直接分与を申込むか、あるいは事務局を通じて各先生の所へ連絡し分与という型をとるかは、後に協議したい。

(発言：橋本和典) この点は、皆の同意があり、また各先生方から基準株の指定があったならば、動物用生物学的製剤協会のような機関を通じて分与するようにしたらいと思う。

(発言：村田昌芳・広島大) 同様の意見である。もう一つ別の意見として、こういう場合、私が講演の最後にいったように、日本で生体内実験に使われている株(を基準株としてとりあげる)という考えが必要だと思う。

(座長) その点も配慮に加えたい。

(質問：末永 格・武田薬品) 山本氏の話の中で *M. hyopneumoniae* の場合に、マイクロブ

レートでフラットなものを使ったといわれたが、何か理由があるのか。

(答：山本孝史) ご承知のように、この菌は、大変増殖(の条件)がむづかしいものに入ると思う。そこで継代がすすんだ菌株を使う場合はよいが、新鮮分離株をクローニング後にすぐ使う場合には、試験管での培養が一番よく増殖する。ところがマイクロプレートだと、気層が少いためと思われるが、増殖がわるい。そこでフラットのプレートを用いると上にかなり気層があくので、増殖がよい、という点からこれを使用している。ただ問題点は、シールがピシッとできないので、2週間以上の観察は、液が減少してしまうため無理だという欠点がある。

(座長) 本日は各先生方のご協力により、種々の点についてご意見を伺い、当研究会として、各種の *Mycoplasma* について、こういう方法で行えばよい、という一応の基準ができたものと感謝する。

(座長付記) 今回のシンポジウムにおいて担当委員によって、講演ないし追加発言として発表された結果は、全般的には、すでに当小委員会のメンバーの1人である高橋氏によって試案として提出されている「*M. gallisepticum* に対する薬剤感受性検査法」の手法を応用し得ることが認められた。しかし、多種類のMpやUpに應用する前提として、培地、接種菌数および判定方法などについてみると、必しも一定化できない点もあることが明らかにされた。

培地： 各種のMpやUpの薬剤感受性の検査には種々な培地が使用されているので、一般細菌のように、検査用培地の標準化を検討した。鳥類、犬、牛由来のMpやUpには、牧江らの処方による榮研試作培地として使用し得るが、豚由来の代表的な3種のMpでは、発育が悪く、従来の培地と置換できないことが認められた。

接種菌数： MpとUpの薬剤感受性測定結果

は、接種菌数によってかなり変動するので、MICの比較は、一定の菌数の範囲で行なわれた成績でのみ可能である。検討の結果、Mpでは寒天平板法で 10^5 CFU/mlを約 $10\mu\text{l}$ (約1,000 CFU)、液体培地では $10^4 \sim 10^6$ CFU (またはCCU)、Mpの場合は $10^3 \sim 10^4$ CCUとすることが必要と認められた。また、菌数既知の接種菌液を用いるためMpとUpの冷凍保存法を検討した結果、Mpでは10%にDMSOを添加した場合、 -70°C 以下で、少くとも2箇月間は安定であること、UpではDMSO無添加でも凍結保存し得ることが明らかにされた。

MICの判定： Mpの液体培地法では、initial MIC (対照が発育した時点) 観察後

3日目にfinal MICを、また、Upは培養3日後にMICを判定すると再現性が高い。寒天法では、一般に矮小集落や小数(2~3個)の集落発現は発育阻止とみなした場合、液体法の結果と良く一致する。しかし、豚由来Mpの矮小集落は、継代可能なので、発育陽性と判定されている。この場合の矮小集落は、形態的に他の動物由来Mpのそれとは異なるようで、なお、今後の検討を要する。

基準菌株： 基準菌株の設定は、必要性が認められるが、菌株の指定ならびに分与方法などについて具体的に検討したい。菌株分与は動物生協の菌株センターなどで取扱われることが望ましい。

特集Ⅱ 豚赤痢トレポネーマの薬剤感受性測定法の検討

1. 抗菌性物質に対する *Treponema hyodysenteriae* の試験管内感受性試験方法についての若干の検討

内田 幸治 ・ 原田 良昭 ・ 杉村 雄二
(台糖ファイザー・農産技術センター)

In vitro Sensitivity Studies of Antimicrobial Agents
against *Treponema hyodysenteriae*.

Koji UCHIDA , Yoshiaki HARADA , Yuji SUGIMURA
Agricultural Technical Center, Pfizer - Taito Co., Ltd.

Treponema hyodysenteriae (*T. hyo.*) の薬剤感受性試験については、わが国では1975年、柏崎ら¹⁾が報告したのが最初で、その後Kitaiら²⁾を始めとし数名の研究者からの報告が³⁾⁴⁾⁶⁾⁷⁾ある。そのほとんどは柏崎および北井の方法に準じ実施している。1977年、高橋⁵⁾は柏崎らの行っている *T. hyo.* の最小発

育阻止濃度 (MIC) 測定法をまとめ、試案として提示した。その試案を要約すると表1のとおりである。

著者ら⁶⁾も柏崎らの行っている方法に準じ、1981年の分離 *T. hyo.* 株のMICを測定し報告した。表2はその後に実施した1982~83年の分離9株(5農場由来)のMICの成績である。

表1. *T. hyodysenteriae* の薬剤感受性試験法(試案)
高橋(1977)⁵⁾

- | |
|--------------------------------|
| 1) 接種菌増菌用培地 |
| 感受性測定用培地 |
| トリプトソイ寒天培地あるいは |
| ブレインハートインフュージョン寒天培地 |
| + |
| 5%馬脱繊血または5%羊脱繊血 |
| 2) 接種菌液の調製 |
| 3~4日培養した培地から |
| 5%血清加食塩水でかきおとす |
| 3) 接種菌量 |
| 10 ⁷ / ml になるように希釈し |
| その1白金耳量 |
| 4) 培養条件 |
| 嫌気下(ガスバック) 37℃ 3~4日間 |
| 5) 判定 |
| 塗抹部分の溶血の有無 |

表2. *T. hyodysenteriae* 9株のMIC

薬 剤	MIC (μg/ml)						
	≤0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	… >100
CBD	5	4					
OQD				4	5		
TML				8	1		
TS							9

1982~83年分離株、5農場由来

1981年分離株と類似したMICを示し、タイロシン(TS)に対しては全例が耐性であった。著者らはこれらの予備試験の中で *T. hyo.* はキノキサリン系薬剤[カルバドックス(CBD)およびオラキンドックス(OQD)]において、接種菌数によってMICが大きく変動すること

を経験した。今回、著者らは①接種菌数、②判定日数、③培地中の使用血液、の3点について比較検討した。

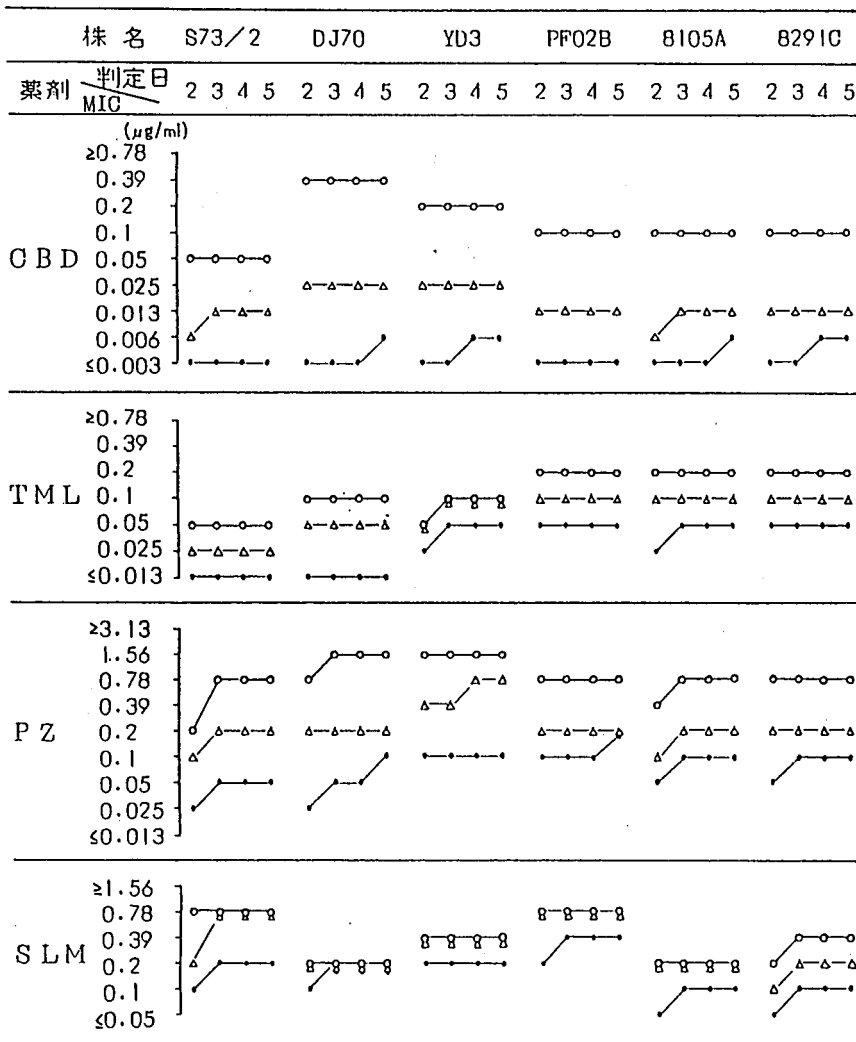
材料および方法

供試 *T. hyo.* 株：農水省分与の3株 (S73/2, DT70, YD3) および著者らが1981~82年に分離した3株の計6株を用いた。
 供試薬剤：CBD, チアムリン (TML),

ナゾン (PZ), サリノマイシン (SLM), アミノベンジルペニシリン (ABPC), オキシテトラサイクリン (OTC) およびTSの7薬剤を用いた。

接種菌液の作成：5%羊または馬血液 (日本バイオテスト) 加トリプトソイ寒天 (栄研) に、37℃, 3日間、嫌気培養 (グローブボックス) 後、菌をかきとり、5%牛胎児血清 (GIBCO) 加トリプトソイブイオン (栄研) に浮遊させた。

表3. *T. hyodysenteriae* のMICの変動(1)



接種菌数：○→10⁸、△→10⁷、●→10⁶ CFU/ml—各0.003ml

培地内血液：羊

さらに同浮遊液で 10^8 , 10^7 および 10^6 CFU/mlになるように希釈した。

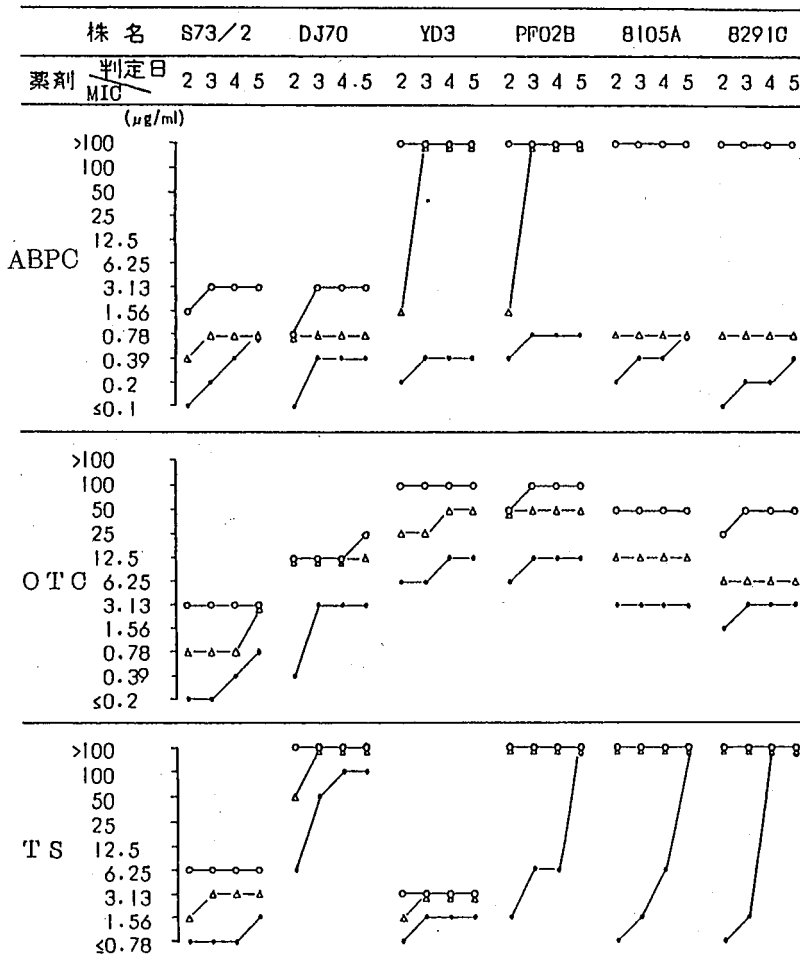
MICの測定：各被検菌液を多目的タイピングアパレーター（武藤器械店）を用い、各薬剤の希釈液を含んだ測定用培地（5%羊または馬血液加トリプトソイ寒天）に接種した。接種液量は約0.003mlである。37℃, 5日間、嫌気培養を行い、2日目から毎日β型溶血の形成の有無を観察し、MICを測定した。

結 果

表3および4に接種菌数および判定日数の差によるMICの変動を示す。培地内の血液は接種菌作成および測定用とも羊である。

接種菌数の比較：TMLおよびSLMでは、接種菌数による差は小さく 10^8 CFU/mlの菌液（ 10^8 ）接種（接種菌量は 10^5 個）のMICは 10^6 接種（同 10^3 個）より、いずれの判定日においても8倍以内であった。一方、その他

表4. *T. hyodysenteriae* のMICの変動(2)



接種菌数：○— 10^8 、△— 10^7 、●— 10^6 CFU/ml—各0.003ml

培地内血液： 羊

の5薬剤(CBD, PZ, ABPC, OTC, TS)ではその差はさらに大きく、特にABPCでは 10^8 接種で $>100\mu\text{g}/\text{ml}$ と耐性値を示したのに対し、 10^6 接種では $0.78\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下と感受性を示した株が4株認められた。 10^7 接種は各薬剤、各判定日数とも 10^8 接種と 10^6 接種のほぼ中間のMICを示した。

判定日数の比較:全体に判定日数が長くなるとMICの上昇が認められたが、その多くは2日目と3日目の間であり、その差も4倍以内であった。しかし、ABPCでの 10^7 接種では2日目と3日目を比較して、感受性域から耐性域へと128倍以上も上昇した株が2株認められた。3日目から5日目まで、 10^8 および 10^7 接種では、各薬剤ともほぼ同じMICで推移した。TSでの 10^6 接種では3日目以後もMICの上昇が大きく、感受性域から耐性域へと上昇した株が3株認められた。

培地中の血液の比較:表5に羊および馬血液加培地における*T. hyo.*のTSに対するMICの比較を示す。3日目の判定では、 10^8 および 10^7 接種でのMICは、両血液ともほぼ一致した。しかし、 10^6 接種ではその差は大きく、馬のほうが羊よりも低いMICになる傾向が認められた。一方、4日目の判定では各接種とも血液差は認められず、MICはほぼ一致した。TS以外の他の薬剤でも同様の傾向であった。

接種菌作成用培地に馬血液を、測定用培地に羊血液を用いた場合(およびその逆)、同種血液を用いた時よりも*T. hyo.*の発育が悪くMICも低かった。

考察およびまとめ

接種菌数については、多くの薬剤において 10^8 と 10^6 接種(接種菌量で 10^5 と 10^3 個)の間で、MICに大きな差が認められた。 10^7 接種(10^4 個)では 10^8 と 10^6 接種のほぼ中間のMICを示した。判定日数については、 10^8 お

よび 10^7 接種では3日目以降安定したMICを示したが2日目では若干低かった。 10^6 接種では3日目以降もMICの変動が大きかった。したがって、接種菌数は 10^7 CFU/mlの菌液を接種(菌量で 10^4 個)が、判定日数は3日が適当と考えられた。この条件で得られたMICは既知¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁶⁾の成績とほぼ一致している。

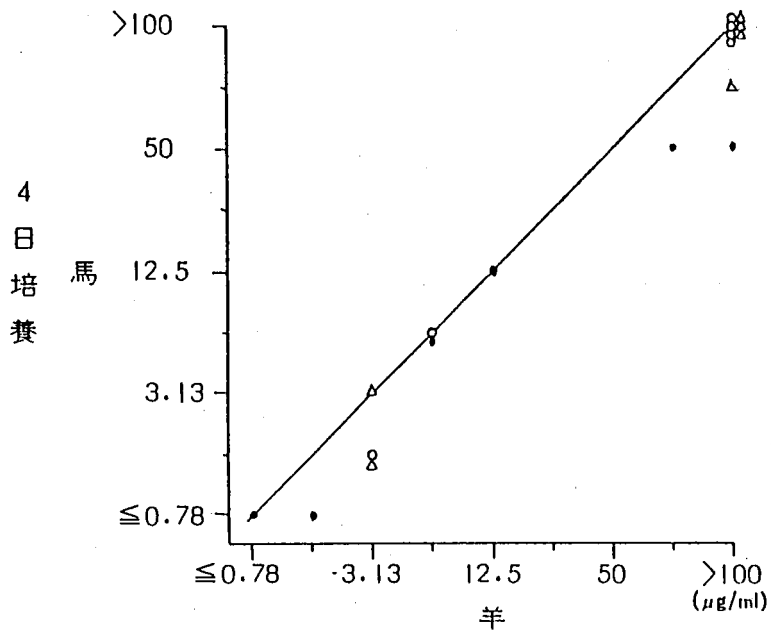
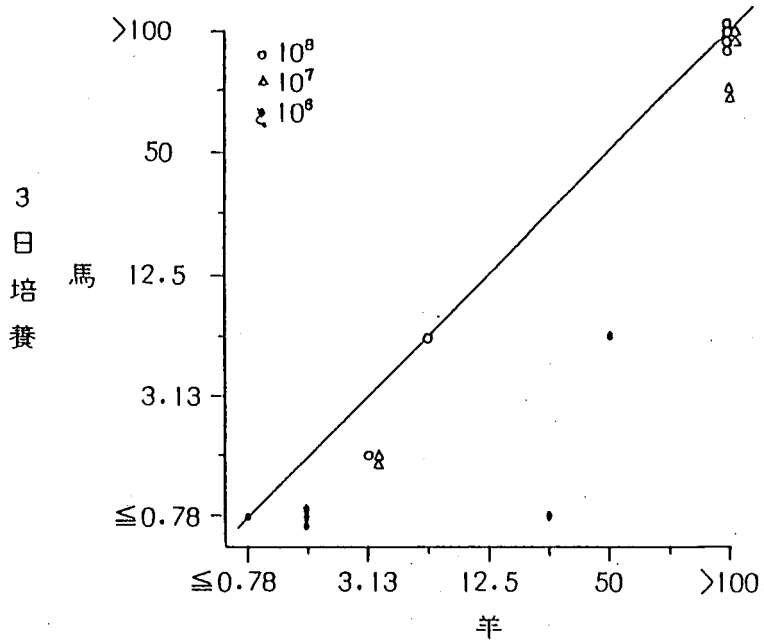
培地内の血液については、羊および馬血液加培地とも、3日目以降 10^8 および 10^7 接種でほぼMICは一致した。 10^6 接種では羊のほうが馬よりMICが高くなる傾向であった。したがって、 10^7 接種では血液差は認められず、どちらの血液でもかまわないと判断された。しかし、その場合は接種菌作成用と測定用の培地に同種の血液を用いるべきである。

以上のことから、表1に示した高橋の試案⁵⁾が、ほぼ裏づけられた。又、安定した菌数を得ることが、*T. hyo.*のMIC測定上もっとも重要と考えられた。

文 献

- 1) 柏崎 守, 高島俊弘, 久米常夫(1975) 第82回日本獣医学会講演要旨, 101.
- 2) Kitai, K., Kashiwazaki, M., Adachi, Y., Kume, T. and Arakawa, A. (1979). *Antimicrob. Agents Chemother.*, 15: 392-395.
- 3) 北井和久(1983). 家畜抗菌剤研究会報, 4: 11-16.
- 4) 西坂周允, 足立吉数, 渡瀬 弘(1981) 日本養豚研究会誌, 18: 203.
- 5) 高橋 勇(1977). 動物用医薬品・飼料添加物・新飼料の有用性評価法, 小華和忠ら編, 155-192, フジテクノシステム, 東京.
- 6) 内田幸治, 原田良昭, 塚口 誠(1983) 日獣会誌, 36: 21-24.
- 7) 山崎俊幸, 末永 格, 生川憲明(1983) 第97回日本獣医学会講演要旨, 153.

表5. 羊および馬血液加培地における
T. hyo. のTSに対するMICの比較



2. *Treponema hyodysenteriae* に対する抗菌剤のMIC測定法に 関する検討 — 特に接種菌液調製における一考案 —

山崎 俊 幸

(武田薬品工業 (株) 畜産研究開発部)*

An improved method of determining MIC against *Treponema
hyodysenteriae* : agar block method for preparing inocula

Toshiyuki Yamazaki

Department of Research and Development, Animal Health
Products Division, Takeda Chemical Industries, Ltd.

Treponema hyodysenteriae (以下 *T. hyo.*) の抗菌剤感受性測定には種々な方法^{1~5)}がとられておりわが国では北井ら³⁾の方法が一般的である。しかし研究者により手技的に若干の相違がみられ標準法の設定が望まれる。接種菌液の調製において広く用いられている方法は血液寒天平板上の生育菌をかきとり懸濁液とし Mac Farland の濁度標準により調製するものである。しかし *T. hyo.* の平板上での発育は微弱なため一定の濁度の菌液を得るにはかなりの時間と労力を要する。そこで接種菌液調製の簡略化を主目的として平板から菌をかきとる代わりに培養平板から一定の大きさの寒天片を切りとり希釈液の中で強振し、その静置上清を接種菌液とする方法(寒天ブロック法と仮称)を考案し、これに関連する諸条件の検討を行った。更に本法で調製した菌液を用いてMICに及ぼす接種菌量、判定までの培養日数の影響等についても若干検討を行ったので合せて報告する。

材 料 と 方 法

菌株は主に *T. hyo.* DJ70P1および78/A(いずれも家衛試よりの分与株)を、培地は菌液調製およびMIC測定のいずれにも馬脱線血を5%添加した Trypticase soy agar (BBL)

(以下TS)を用いた。培養はGas Pak[®]嫌気システムにより37℃または42℃で行った。菌液の調製は20mlのTSを直径9cmのシャーレに分注固化し、約 10^7 /mlの *T. hyo.* 菌液を滴下後L型ガラス棒で塗り上げ、37℃、4日間培養した。次いで菌の発育によって生じた溶血斑の辺縁部より内径8×20mmのステンレス製棒で寒天片を切りとり、これを2mlの希釈液を入れた小試験管に移し、ミキサーで約10秒間強振後その静置上清を原菌液とした。なお希釈液には特に記載しない限りGAMプロス(ニッスイ)を用いた。Lankacidin A (LGA), carbadox (CDX), tiamulin (TML)およびlincomycin (LCM)のMIC測定のための菌接種にはマイクロプランター(佐久間製作所製)を用い5μlを接種した。

結 果

1. 希釈液中での *T. hyo.* の生存性

リン酸緩衝食塩水(PBS)(pH7.0), Trypticase soy broth(グルコース不含TSB)(BBL), 10%牛胎児血清加TSBおよびGAMプロス中での *T. hyo.* の生菌数(溶血斑により測定)の経時的変動をFig. 1に示す方法により測定した。いずれの希釈液中でも室温

* 研究協力者: 末永 格, 松原幸雄, 森嶋克己

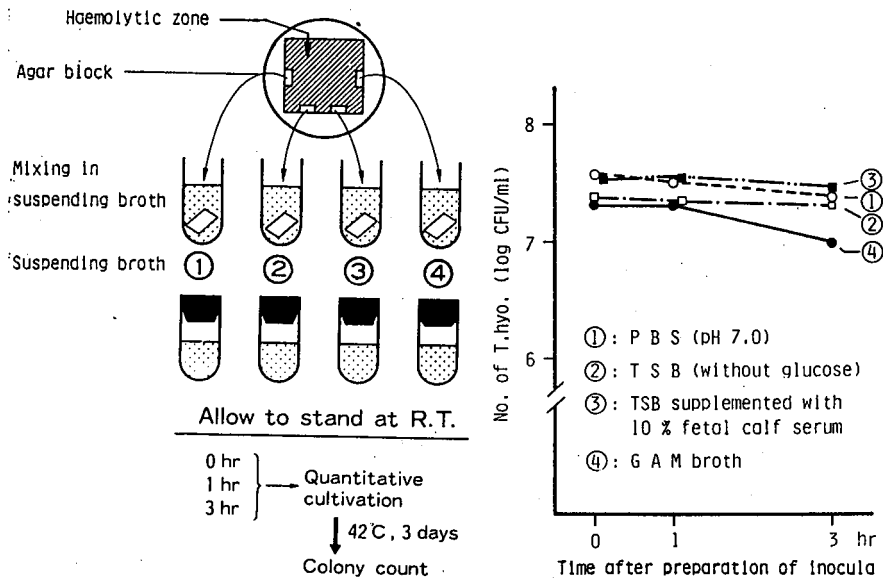


Fig. 1 Preparation of Inocula by Agar Block Method and Changes of Viability of *T. hyodysenteriae* DJ70P1 in Various Suspending Broths

1時間までの放置では菌数の変動は全くみられず3時間後に若干減少し、GAMブロスでその傾向が著明であった。しかし $10^7/ml$ 以下に減少することはなかった (Fig. 1)。

2. 培養日数、寒天片切りとり位置と生菌数

T. hyo. をTS平板に接種後2, 3, 4, 5日目に平板の溶血斑中央部と辺縁部より寒天片を切りとり寒天ブロック法により調製したそれぞれの菌液の生菌数を測定した。各单位時間毎に4枚の平板を用いて得た平均菌数を Fig. 2に示した。中央部よりの菌数は培養3日目に最高に達した後、急激に減少した。一方、辺縁部のそれは3日目に最高に達した後わずかに減少した。また Umemotoら⁶⁾の方法に準じて中央部と辺縁部より作製した走査電顕試料の観察により中央部の菌体中に菌体の中央または末端部が

球状に膨化した菌体像を多数認めた。

3. 寒天ブロック法で調製した各菌株の菌数

新鮮野外分離株13株を含め計15株の *T. hyo.* について寒天ブロック法による菌株間の菌数の差について調べた成績を Fig. 3に示した。各菌株の菌数は $1.1 \sim 3.6 \times 10^7/ml$ の範囲にあり菌株間の差は小さかった。

4. 寒天片からの haemolysin によるスポット接種時の溶血斑出現の有無

寒天ブロック法により調製した菌液をスポット接種した部分に *T. hyo.* の生育と無関係の溶血斑が出現する可能性が考えられたのでその有無を検討した。即ち、寒天ブロック法により *T. hyo.* DJ70P1の菌液(約 $10^7/ml$)を調製後寒天片を入れたまま室温に放置し調製直後および1, 3時間目に菌液の一部をそのまま、ま

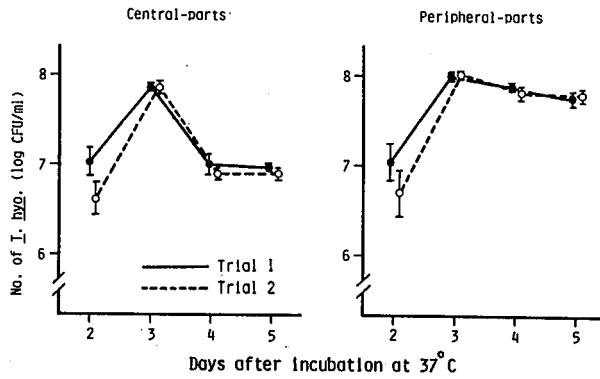


Fig. 2 Changes in Cell Number of T. hyodysenteriae DJ70P1 at Central- and Peripheral-Parts of Haemolytic Zone

Vertical bars indicate ranges.

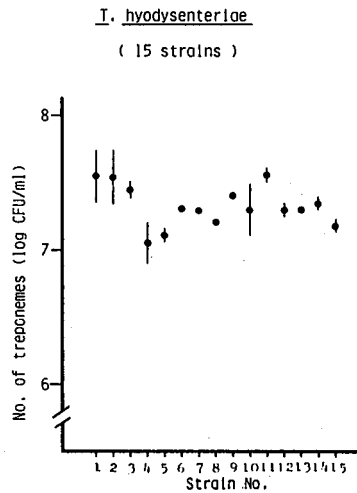


Fig. 3 Relationship between Strains of T. hyodysenteriae and Cell Number in Inocula Prepared by Agar Block Method

Vertical bars indicate ranges.

た一部は pore size 0.2 μm のメンブラン透過により除菌しその上清液それぞれ 5 μl を TS 平板上にスポットし前者は好氣的に、後者は嫌氣的に 37°C, 2 日間放置した。その結果 3 日間放置したものにおいてもその菌液および除菌上清いずれのスポット部分にも溶血斑は認められなかった。

5. 接種菌量, 培養日数と薬剤の MIC

T. kyo. 78/A に対する LCA, CDX, TML および LCM の MIC に及ぼす接種菌量および MIC 判定までの培養日数の影響について検討した。培養日数と MIC については 10^6 /

ml 菌液接種時の、また接種菌量とのそれは培養 2 日目で判定した時の成績を Fig. 4 に示した。LCA を除く他の薬剤では培養日数の延長による MIC の変動は少なく、1 から 4 日目までの上昇は 2 倍であった。また LCM と TML では 2 日目以後変動はみられず CDX では 2 日目と 3 日目で一段階濃度上昇したに留まった。しかし、LCA では著明な MIC の上昇がみられた。供試した 4 薬剤ともその MIC は接種菌量の増加に伴い著しい上昇がみられたが CDX では少い菌量間での変動が小さい反面、菌量を多くした場合極端に変動した。

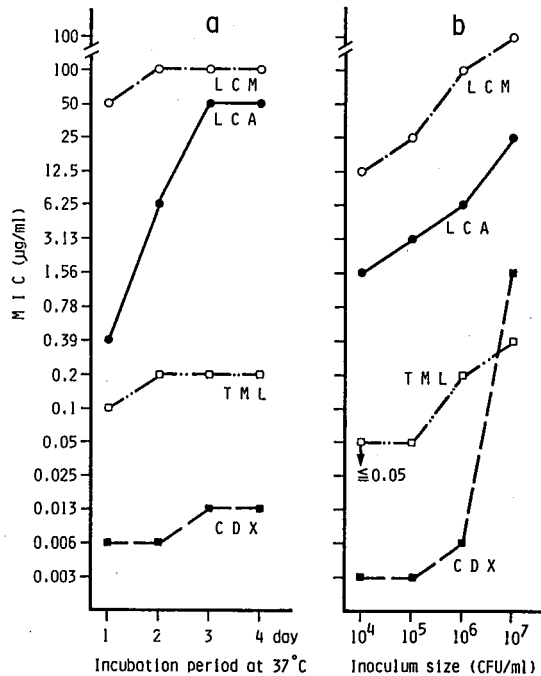


Fig. 4 Influence of Inoculum Size and Incubation Period on MIC of Antimicrobials against *T. hyodysenteriae* 78/A

a : Inoculum size : 1.2×10^6 CFU/ml.

b : MIC were determined after 2 days of incubation at 37°C.

考 察

供試した4種の希釈液中での *T. hyo.* の生菌数は室温1時間放置で全く減少はみられず3時間でわずかに減少する希釈液もあったがいずれも $10^7/ml$ 以上の菌数を保持した。従って短時間に菌液調製が可能な寒天ブロック法では供試した希釈液はいずれも用いる。しかしその選択に経済的要素を加味するならばPBS, TSB, GAMプロス, 10%牛胎児血清加TSBの順となる。

スピロヘータでは長期間の培養, 生育環境の悪化等により異常形態を示すことが古くから報告されている⁶⁻⁸⁾。*T. hyo.* DJ70P1を用いた検討で溶血斑中央部の生菌数が培養3日目以後急激に減少し, 走査電顕的観察により中央部では菌体の一部が球状に膨化した像が多数認められたことより中央部の *T. hyo.* の陳旧化が示唆された。従って新鮮で生存性の高い菌液を得るには辺縁部の寒天片を用いることが妥当と判断された。なお辺縁部の菌数も3日目以後わずかに減少する傾向がみられたが菌株間で生育速度に遅速があることから本法では培養4日目の平板を用いた。

薬剤を含まないTS平板に *T. hyo.* を接種した場合, $10^7/ml$ 菌液接種では培養1日目に, また $10^6/ml$ では2日目に明瞭な β 溶血斑を生じ充分な菌の発育が示唆された。従って前者では培養1日目に, 後者では2日目にMIOの判定を行うことに支障はないと考えられた。なお, $10^6/ml$ 菌液接種で2日目に判定したMIO値は他の研究者³⁻⁴⁾が報告している値に近似した。

ま と め

T. hyo. の接種菌液調製法の簡略化について検討を行い寒天ブロック法を考案した。本法は簡単な操作で約 $10^7/ml$ の菌液を調製しうるので多数の菌株の薬剤感受性測定を実施する場合の菌液調製に有用である。

T. hyo. に対する抗菌剤のMIOは接種菌量の影響を受け易く, また薬剤によっては培養日数の延長によりその値に著しい変動を示すものがある。従って接種菌量と培養日数は再現性の高いデータを得る為に特に留意する必要がある。

文 献

- 1) Degeeter, M.J. and Harris, D.L. (1975). J. Anim. Sci., 41, 1333-1338.
- 2) Williams, M.S. and Babcock, W.E. (1976). VM/SAC., 71:957-959.
- 3) Kitai, K., Kashiwazaki, M., Adachi, Y., Kume, T. and Arakawa, A. (1979). Antimicrob. Agents and Chemther., 15:392-395.
- 4) Kinyon, J.M. and Harris, D.L. (1980). 2nd International Symposium of Veterinary Laboratory Diagnostics. Lucerne, Switzerland. pp 39, 125-128.
- 5) 内田幸治(1983)。家畜の耐性菌研究会報 4号:5-10.
- 6) Umemoto, T., Namikawa, I. and Yamamoto, M. (1984). Microbiol. Immunol., 28:11-22.
- 7) Bryant, M.P. (1952). J. Bact., 64, 325-335.
- 8) Ozekalowski, J.W. and Eaves, G. (1954). J. Bact., 67:619-627.

3. *Treponema hyodysenteriae* の薬剤感受性試験方法の検討 (追加発言)

足立吉数 (農水省家畜衛試)

豚赤痢トレポネーマの薬剤感受性試験は、これまで、Kitaiら(1979)の方法にもとずいて、行なわれてきたが、この方法においても(1)基礎培地 (2)血液の種類 (3)菌の浮遊のための希釈液 (4)接種菌の培養日数 (5)接種菌量 (6)判定基準等について検討を要する。しかし、一度にすべての条件を変えて検討するのは、非常な困難をとまらるので、この試験においては、血液の種類、および接種菌量について検討した。

試験における諸条件およびその検討法

1) 薬剤感受性試験および接種菌培養のための培地：トリブチケース・ソイ寒天培地(TSAと略す；BBL)に5%羊血液を加えたものを用いた。

2) 希釈液：トリブチケース・ソイ・ブロス(TSBと略す，BBL)に10%に牛胎児血清を加えたもの、TSBのみ、ハートインフュージョン、ミューラーヒントン、リン酸緩衝液、生食、および蒸留水中での菌の生残菌数について経時的に検討した。このうち、TSBに牛胎児血清を加えたもの、および、ミューラーヒントンブロスに浮遊した菌が最もその活性を保っていた。この試験には、TSBに牛胎児血清を加えた培地を用いた。

3) 血液の種類：羊、牛、および馬の血液寒天培地を作製し、その薬剤感受性試験結果を比較した。

4) 接種菌の培養日数：72および96時間血液寒天培地で培養した菌を、McFarland No.3になるように、牛胎児血清加TSBに浮遊し、その菌液を暗視野用の菌数計算盤(日臨)で測定した値と生菌数値を比較した。72時間培養菌では、両測定値の間で、それほど大きな差はなかったが、96時間培養菌の場合、両者の間に

かなりの差のあるものも観察された。そのため、接種菌として、72時間培養菌を用いた。

5) 試験に用いる接種菌量の決定：McFarland No.3に調製した菌液を $1/10$ 、 $1/100$ に希釈し、これらの接種菌量でのMIO値を測定すると同時に、暗視野用の菌計算盤で、菌数値を測定し、その生菌数を算出した。これら調製菌液を、ミクロプランターで0.005ml、被検薬剤添加培地に接種した。

表1. 計算盤による菌数値と生菌数値との比較

菌名	1 回		2 回	
	測定菌数	生菌数	測定菌数	生菌数
ATCC 27164	2.6×10^8	3.1×10^8	3.6×10^8	3.5×10^8
ATCC 31212	3.8×10^8	3.0×10^7	2.3×10^8	1.0×10^7
Nagano-3a	1.5×10^8	1.1×10^8	5.4×10^8	5.0×10^8

6) 判定：判定限界は、溶血環あるいは、菌のフィルム状のコロニーが確認できるところまでとし、その接種菌による溶血が、MIO値の高いところまで、尾をひく場合には、それら溶血部分から、菌をかきとり、抗菌剤無添加培地に継代することによって、菌の生死を確かめ、菌が生きているところまでをその菌に対するMIC値とした。

結果および考察

表1は、接種菌の活性を、計算盤による菌数値と生菌数値を比較することによって調べたもので、この表から、ATCC312/2の計算盤による測定値と生菌数の間でやや異っている以外、他の2株ではほぼ両菌数値が同じであった。このような活性ある菌液を薬剤感受性試験に用

いた。表2は、羊、牛および馬の血液寒天培地でのキタサマイシンのMIC値を示したもので、菌の浮遊濃度を、McFarland No.3に調製し、これをさらに1/10、1/100に希釈した菌液を接種した場合の値である。この値から、McFarland No.3では、羊血液の場合に比べ、牛および馬では、そのMIC値が、やや高い傾向にあった。しかし、1/10あるいは1/100希釈菌液を用いたならば、いずれの血液を用いても、ほぼ同じ値が得られるものと考えられた。

ただ、気をつけなければならないのは、接菌培養のために用いた血液と同じ種類の血液を薬

剤感受性試験のための培地作製に用いた方がよい。何故なら、菌株によっては、血液が異なることによって発育の悪くなるものがあるからである。

以上の結果から、少なくとも、菌の活性を保っているかぎり適性な菌量を接種するならばかなり再現性の高い値が得られるものと考えられた。しかし、これら使用した培地いずれもが、かなりの血清成分を含んでおり、抗菌剤の活性への影響も否定できない。これらの問題点を含め、先に示した諸条件についてさらに検討していく必要がある。

表2. 羊、牛、および馬の血液加寒天培地でのキタサマイシンの抗菌活性 (MIC値)

菌名	菌の濃度 (Mc 3)	羊		牛		馬	
		1 ²⁾	2 ²⁾	1	2	1	2
ATCC 27164	1/1	6.25	3.13	6.25	1.56	2.50	3.13
	1/10	0.78	0.78	3.13	1.56	1.56	1.56
	1/100	0.78	0.78	1.56	0.78	1.56	0.78
ATCC 31212	1/1	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	1/10	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	1/100	100	50	>100	100	>100	50
Nagano-3a ¹⁾	1/1	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	6.25
	1/10	1.56	1.56	3.13	1.56	3.13	3.13
	1/100	0.78	0.78	1.56	—	3.13	0.78

1) Nagano-3a は weak beta 性の溶血を示す

2) 1および2は、1および2回目の成績を示す。

総合討論（座長：柏崎 守・家衛 試）

（座長） 以上3人の演者から *T. hyodysenteriae* のMIC測定法の基準化に関するお話があり、それに加えて、それぞれのご意見があったが、各氏の話の内容には、3つほど共通点があったと思う。すなわち①予想されていたように、接種菌数が非常にMICの値に影響するという点、②接種菌数とのかねあいだと思われるが、培養日数もまたMICの値に大きな影響を及ぼすという点、③山崎氏やあるいは足立氏の話の中にもあったと思うが、いわば接種菌の活力（のちがい）といった点、すなわち、あまり弱った菌を接種すると、MICの値が低くなる、という意見があった。

この3点に絞って討議を加えてみたいと思う。山崎氏の成績で、接種菌数のちがいにより(MICの値が)大分異なるというのがあったし、内田氏の成績も同様だったと思う。また内田氏も山崎氏も、 10^6 ぐらいの(接種)菌数が相当であろうというご意見であったように思う。一方高橋氏(日獣大)が、1977年に本菌のMIC測定法の試案という形で書物(頁の文献15参照)に発表しているが、多分あの時の接種菌数は 10^7 と書かれていたと思う。今回の各演者の成績では、それより1ケタ低い(方がよい)ということなので、修正が必要だということもでてくるが、やはり、今回のデータでは、 10^7 と 10^6 ではMIC値に差がみられるようである。そのあたりについてご意見をお願いしたい。

（答：山崎俊幸・武田薬品） 結論的なことはいえないが、(接種菌量が) 10^7 でもMIC値は測定可能である。われわれの馬血液を用いた場合のことに話は限定されるが、 10^7 の場合だと1日でも十分判定できる。だから早くMICをみる必要がある、という条件下では 10^7 でもよいのではないかとということであるが、 10^6 がよいという根拠は、一般細菌で 10^6 が使われ

ているという点と馬血液の場合には、2日目に対照培地で十分な β 溶血がみられるという点の2つからである。したがって、どちらの菌数がよいかということは(いまは)いえない。

（座長） (山崎, 内田両氏に)この場合(の菌数)は、 10^6 CFU/mlか。また接種量は0.01mlか。

（答：山崎俊幸） 5 μ mlである。

（答：内田幸治・台精ファイザー） 3 μ lである。

（座長） 両氏のちがいは接種装置によるちがいと思うが。

（答：山崎俊幸） 私の使っているマイクロランターは5 μ g (の接種量)である。

（発言：内田幸治） 私の場合には、(接種菌量が) 10^7 ぐらいが一応適当であったということである。おそらく、(接種した菌に)活力が低下しているものも相当含まれていて、オーダーが高くなったのではないと思う。 10^6 だと非常にバラつきがあり、判定日数ものびるし、(成績が)不安定だったということである。

（座長） 山崎氏の場合(Fig 1参照)、内田氏の方法と異なる点は、寒天の辺縁の方を用いている点、つまり非常に新鮮な菌を用いている可能性がかなり高いのではないかとと思うが。

（答：山崎俊幸） その通りである。

（座長） 内田氏の場合には、菌をすべてかきとっているの、足立氏が指適されたように、接種菌の活力という点も組合さり、非常に複雑となっていると思う。

（質問：内田幸治） (山崎氏に)集落の真中のもやしのような部分の菌を用いてやった成績はないのか。

（答：山崎俊幸） やっていないが、大変興味ある点である。

（座長） ということは、(寒天培地の)辺

縁部と中央部の(発育)菌でやったMIC値(のちがい)はわからないわけである。この点について足立氏のご意見はどうか。

(答:足立吉数・家衛試) (培地に加える血液の種類が)羊血液と馬血液とではちがうもので、よくわからないが、(成績が)安定しているという点では、羊血液の方がよいのではないかと思う、というのは、馬(の血液)は溶血性が先にすすんでしまうという傾向が強いように感じるからである。しかし、中にみえる菌(の集落)はまだ小さいので、(むしろ)溶血幅と菌(の発育)の幅とが比較的一致しているのが羊血液の(場合)ように思う。

(座長) それでは、そのことと培養日数、例えば2日培養と4日培養の場合に、MIC値に影響するかどうかという点は?

(答:足立吉数) その点は、先述のように、4日培養だと生菌数と計算盤で算定した菌数が非常に差がでるということで、あまりよくないと思う。3日培養がよい。

(座長) (高橋氏へ)先述した高橋試案というのに、われわれは非常に拘束されているので、その辺について意見を伺いたい。

(高橋 勇・日猷大) いま柏崎氏が述べた私の試案というのは、あの本(前述)を執筆するときに、一般細菌とともに、*T. hyodysenteriae*のMIC測定法も掲載しようということで、その当時、柏崎氏から意見をうかがって、まとめたものであり、特に私の考えというものは入っていない。

足立氏に伺いたいが、先の話の中で、生菌数と計算盤により測定した菌数の差が菌株によって、かなり幅があるということであったがその辺をもう少し詳しく聞きたい。

(答:足立吉数) マクファーランドで調製してみると、両者の幅が大きい菌株とあまり差がない株とがある。

(質問:高橋 勇) それは培養日数が、3

日でも、4日でもみられるということか。

(答:足立吉数) 3日でみている。

(座長) いずれにしても、山崎氏のデータでは 10^6 個接種と 10^7 個接種とで(MIC値が)かなり異なるという点を示されたわけで、内田氏の場合は、 10^7 と 10^8 個では大分異っており、また 10^6 と 10^7 個とでは 10^7 個の場合がMIC値が高くでいたということに理解してよいのか。

(答:内田幸治) 10^7 と 10^8 とでは薬剤の種類により大分異なる。 10^6 、 10^7 、 10^8 とやったが、判定日数のことも含めて、全体としてみて、カルバドックス以外は、(10^7 が) 10^6 と 10^8 の丁度中間(の値)となる。

(座長) 大変レスポンスがよいということになるわけですね。

(答:内田幸治) その通りで、 10^6 はとにかく判定しづらかったというわけで、 10^7 ぐらいが適当であろうと判断した次第です。

(座長) 以上のことから、本日の結論をだして、接種菌数や培地の種類を決定する義務は多分ないと思うが、本日参加の皆様方には問題を理解されたと思う。つまり接種菌数であれば、 10^6 か 10^7 (が適当)だということになるろうし、培養日数は2日ないし3日(が適当)であろうという点、それにもう一つの問題は、接種菌は1週とか10日培養した菌を用いるのは、非常にまずいということも、今回の成績で明らかになった点である。

将来的には(本菌のMIC測定法の)基準化はどうしてもやらなければならないことであるが、当面のところは、先ほどから討論された3つの点、すなわち①接種菌数、②使用培地と血液の種類を、成績に明記し、③それに加えて(接種菌の)培養日数が、非常に成績に影響するようなので、この点もはっきりさせておくこと、これらの点をふまえて、実験を行い、研究成績の発表をされるならば、少くともここに参

加している方がたには、成績の意義を読みとるときの大きな参考とならうものと思う。

今後、*T. hyodysenteriae* のMIC値を測定するにあたっては、今回問題となったようなこと

を十分念頭において、その上で仕事をされるようにしていただきたい。

以上、各位のご協力に深謝する。

(以上)

(事務局より) 以上、シンポジウムⅠ、Ⅱの各討論の内容は、当日の録音テープから事務局の責任において集録した。

それぞれの方の発言の読し言葉をそのまま文章化したのでは、かえってわかりづらい部分が少なくなかったので、事務局の判断により、前後の関係から適当な言葉をカッコ内に補足したり、若干文章的な表現に改めたりした場合もあり、また紙面の関係上やや要約した部分もあるが、各発言の主旨はできる限り正確に読者に伝わるよう努力を払ったつもりである。

しかし発言の内容が録音からよく聞きとれなかった場合もあり、意味のとりちがえもないとはいえない。その場合にはご遠慮なく指摘いただき、後日訂正することとしたい。

1 昭和59年度定期総会の報告

昭和59年度定期総会は、第97回獣医学会の開催を機会に、同年4月9日午後1時から、東京麹町の食糧会館で、次の2で述べるシンポジウムとあわせて開催された。

まず柴田理事長による当研究会の今後の方向性についての抱負をまじえた挨拶が行われた後、同氏が議長となり、議事に入り、次の議案が事務局から提出され、審議が行われた。

(1) 昭和58年度事業報告

年度内に実施した主要な事業は、次の通りであると報告された。1) 会報第5号の発行・配布、2) 家畜への抗菌性物質の適正利用に関する資料(5点合本)の配布、3) 動物由来菌の薬剤耐性菌関係文献(欧文)リストの発行・配布、4) 抗菌性物質の略号表の増補改訂案を作製し、会員に配布の上、意見を求め、次年度に正式化する予定である、5) 第11回シンポジウムの開催(本誌に要旨を掲載)、6) 家畜由来のマイコプラズマの薬剤感受性測定法の標準化の検討(その成果を2)のシンポジウムで公表)、7) その他、家畜に対する抗菌剤の有効性および残留性に関する文献や情報の収集、その他である。

(2) 昭和58年度収支決算報告

別表(1)のように、決算報告があり、引続き監査報告が行われた。

以上2議案を一括審議の上で承認。

(3) 昭和59年度事業計画

58年度の会名変更とそれに伴う会の基本方針の一部変更の線に沿って、上記の前年度事業報告であげた1~5)、7)の事業を継承するとともに、これに加えて、抗菌性物質の有効性と残留性に関する文献リストを発行・配布することにしたい旨の提案が行われた。

(4) 昭和59年度収支予算案

上記の事業計画に沿って、別表(2)の予算案が

事務局から提案された。

以上2議案を一括審議の上で可決。

2 第11回シンポジウムの開催

上記の総会に引続き約80名の参加の下で、同所でシンポジウムが開催された。

まず特別講演として、高島英伍氏(摂南大学薬学部)による「畜産物における抗菌性物質の残留について」の題名で一時間にわたり講演が行われ、聴衆は残留問題に関する認識を深めることができた。

次いでシンポジウムに入り、本号に掲載された2つのテーマのもとに追加発言者を加え8名の講演が行われた。特に今回の2つのテーマはいずれも、目下注目されている、家畜感染症の原因菌である、マイコプラズマと豚赤痢トレポネーマの薬剤感受性測定法の標準化に関するものだけに、活潑な討論が行われ、きわめて有益であった。

3 家畜の抗菌剤および耐性菌関係資料の会員への配布

本年度の配布資料として、①家畜への抗菌性物質の適正利用に関する資料(7点合本)、②家畜由来菌の薬剤耐性菌関係欧文文献リストに加えて、③本年度は抗菌性物質の家畜への有効性と残留性に関する国内文献、欧文文献リストを本誌とともに会員へ配布する。③のリストは最初の発行でもあり、まだ不統一な点なども若干あるが、漸次改善してゆきたい。また経費節減と省力の関係上、原版にワープロを使用した関係上、学名も一般字体を使用したのでご諒承いただきたい。

なお③のリスト編集については、昭和59年度から新規事業として加えることとしたもので、その編集にあたっては次のメンバーによる検討小委員会を結成し、数次にわたる打合せと1年にわたる資料集収を経てリストを作製・発行となったものである。

検討委員のメンバーは、高橋勇（日獣大）、
斉藤敏純（協和醸酵）、加藤正浩（第一製薬）
神崎俊彦（武田薬品）の各理事および山崎俊幸
氏（武田薬品）である（順不同）。

また従来から発行している②の耐性菌関係欧
文リストの編集は小野浩臣理事（日獣大）が担
当している。

4 抗菌性物質の略号表の増補・改訂につ いて

この点については、昨年お知らせした通り、

略号改訂小委員会が作製した原案を昭和59年
の総会の議を経て、さらに祐余期間において会
員からの意見や要望もとり入れ、一部修正の上
で正式決定し、本誌（p 43）に掲載した。

なお改訂小委員会のメンバーは、高橋勇、小
野浩臣（日獣大）、八木沢守正（抗生物質学術協
議会）の3理事である。また抗生物質学術協議
会から多大の協力をえた。

会 員 へ の お 願 い

1 会費値上げと納入について

本会の会費は、昭和54年に2,000円に値上
げて以来、6年間を経過したが、諸経費の上
昇と会の事業の拡充に伴って、支出が増大し、
経費節減には努力したが、それでもなお、財政
が著しく窮迫し、会の事業を遂行する上に支障
をきたすに至った。このため、昭和60年度総
会において、会費値上げを提案し、これを決定
の上で改めて4月中旬に会員に通知し、納入を
お願いする予定にしている。各位には以上の事
情をご覧察の上、会務の円滑化を計るため、会
費の早期納入にご協力を賜りたい。

2 会員の拡充についてご協力をお願い

本会の会員の内訳は、これまでのところ、家
畜衛生や公衆衛生関係官公庁や製薬、飼料会社
の勤務獣医師が大部分であり、臨床関係者は少
数であった。

しかし、本会の目的と運営方針が、抗菌性物
質の適正利用の面にも重点をおくようになった
ことにかんがみ、牛、豚、鶏の臨床面や、小動
物の臨床面にたずさわっている獣医師にも、入

会 員 へ の お 願 い

会をお願いして、抗菌性物質に関して、正しい
認識をもち、適正な利用をしていただくことに
、実際応用の面で生じている種々の問題点を
提起していただくことが、今後の会の運営に重
要であろうと思われる。会員は周囲の方々に入
会を呼びかけていただいて、会の活動をより活
発なものとして行きたい。

3 家畜由来菌の薬剤感受性や耐性菌、家畜 への抗菌剤の応用等関連事項の情報収集に ついてご協力をお願い

本会はこの数年来家畜への抗菌剤の応用面の
問題を積極的に会の事業にとり入れていくこと
となったが、会の情報収集能力には限度がある
ので、関係者の方々の一そうのご協力をお願い
したい。

会員が上記の件に関し研究発表や総説等を発
表されたときには、その別刷あるいはコピーを
本会あてにお送りいただきたい。また、会員の
周囲の方で本件に関して、発表された場合や関
係文献等で目にふれた適当なものがあれば、ご
一報いただきたい。

(別表 1)

昭和 58 年度 収支決算書

収入の部

科 目	予算額	決算額	較 減		備 考
			比 増	較 減	
個人会費	450,000	495,000	45,000		2,000円×247名分 1,000円1名
賛助会費	270,000	280,000	10,000		5,000×56口分(26社)
繰越金	214,546	214,546			
雑収入	50,000	64,000	14,000		シンポジウム参加費
合 計	984,546	1,053,546	69,000		

支出の部

科 目	予算額	決算額	較 減		備 考
			比 増	較 減	
事務費	153,000	138,875		14,125	
事務手当	60,000	56,000		4,000	
印刷費	40,000	33,755		6,245	会名変更のお知らせ 業書印刷(23,100)
通信費	20,000	22,600	2,600		
消耗品費	20,000	8,140		11,860	
交通費	8,000	12,140	4,140		
雑費	5,000	6,240	1,240		
会議費	80,000	98,560	18,560		
総会費	20,000	69,700	49,700		58,59年度会場借上費
役員会議費	40,000	28,860		11,140	
専門部会会議費	20,000	0		20,000	
事業費	700,000	628,180		71,820	
資料配布費	200,000	241,000	41,000		資料3点 印刷費送料
講演会費	120,000	100,000		20,000	講師謝礼, 運営費
会報発行費	280,000	287,180	7,180		寄稿者別刷代を含む
資料収集費	30,000	0		30,000	
その他	70,000	0		70,000	
雑 費	10,000	0		10,000	
予 備 費	41,546	38,800		2,746	故小堀理事長香料, 新会印作製
(小) 合 計	984,546	904,415		80,131	
次年度へ繰越		149,131			
合 計		1,053,546			

繰越金内訳 { 郵便振替 10,000 銀行預金 375
郵便貯金 76,665 現 金 62,091

監査の結果以上の通り相違ありません。

昭和 59 年 3 月 24 日

監 事 大 熊 俊 一 ㊟

- 4 1 - 黒 川 和 雄 ㊟

(別表 2)

昭和 59 年度 収支予算書

収入の部

科 目	59年度 予算額	前年度 予算額	比 較		備 考
			増	減	
個人会費	480,000	450,000	30,000		2,000×240
賛助会費	280,000	270,000	10,000		5,000×56口
繰越金	149,131	214,546		65,415	
雑収入	60,000	50,000	10,000		シンポジウム参加費 利子等
合 計	969,131	984,546		15,415	

支出の部

科 目	59年度 予算額	前年度 予算額	比 較		備 考
			増	減	
事務費	150,000	153,000		3,000	
事務手当	70,000	60,000	10,000		
印刷費	20,000	40,000		20,000	封筒印刷, 通信文印刷費
通信費	20,000	20,000			切手代, 電話代
消耗品費	20,000	20,000			文具代等
交通費	10,000	8,000	2,000		
雑費	10,000	5,000	5,000		
会議費	70,000	80,000		10,000	資料印刷代等
総会費	10,000	20,000		10,000	58年度繰越分含む
役員会議費	40,000	40,000			
専門部会会議費	20,000	20,000			
事業費	720,000	700,000	20,000		
資料配布費	220,000	200,000	20,000		配布資料印刷費, 発送費
講演会費	120,000	120,000			抄録印刷費, 運営費
会報発行費	320,000	280,000	40,000		会報第6号印刷費 発送費等
資料収集費	30,000	30,000			関係資料, 情報収集費
その他の事業費	30,000	70,000		40,000	新規事業費等
雑費	10,000	10,000			
予備費	19,131	41,546		22,415	
合 計	969,131	984,546			

動物用抗生物質・合成抗菌剤

略号表の増補，改訂について

1 抗菌性物質の略号制定の意義と今回改訂の趣旨

本会の前身である，家畜の耐性菌研究会が，発表当初にとりあげた事業の一つに抗菌性物質（抗生物質および合成抗菌剤）の略号の制定があった。

最初の略号表は昭和49年に作製され，77品目が集録された。その後2回の増補，改訂を経て，今回の大幅な増補改訂が行われ，会務報告の4で述べた通りの経過で正式決定され，別表で示した通りその掲載品目は126種類にのぼる。

本会で，この略号を制定した意義と今回の改訂の趣旨は次の点にある。

1) 近年，家畜に应用される抗菌性物質は，かなり多種類となり，しかもこれらの抗菌性物質に関する研究発表や刊行物などが年々増加しつつある。ところが，これらに使用されている略号は著者により，異なる場合があり，混乱を生じている。

2) 医学と共通する抗菌性物質は，医学との比較，交流の点から考えて，すでに医学領域で使用されている略号と同一のものを使用するのが望ましい。

3) 本会が制定したこれまでの略号表では，サルファ剤をはじめ合成抗菌剤は一部しかとりあげていなかったが，特に獣医学領域では，これらの略号の必要性が大きい。

4) 以上のようなことから，家畜に使用される抗菌性物質について，この方面の専門機関である当研究会が，基準となるような略号を作製し，広く獣医学全体にこれを提示して参考に供する必要がある。

これらの点が略号表を制定し，さらに今回大幅な増補・改訂を実施した趣旨である。

なお，今後において新規に登場する抗菌性物質については，略号を定め，追加してゆく予定である。

2 改訂の基準

今回は旧略号表発表以後に多数登場した新しい動物用医薬品および飼料添加物としての抗菌性物質も加えた。また旧家畜の耐性菌研究会において当初より定められていた略号の中には，慣例上の都合から，一部のものに医薬品の略号と異なるものもあったが，日本細菌学会などの医学との共通の場における呼称上の便宜から，少くとも人畜共通の抗菌剤は日本化学療法学会の略号を採用することを基本とし，以下のような基準によって作製した。

なお，収録の範囲はわが国において承認された動物用医薬品および指定された飼料添加物のほかに米国および英国において承認および市販されているもの（これらの区別は表の注を参照）も加え，また合成抗菌剤については，動物用医薬品の特色を加味して，できるだけ多種の収録をはかった。

一方，旧略号表では，動物用の抗生物質のほかに参考のため，主要な医薬用抗生物質名も集録してあったが，今回の改訂では繁雑さを避けるために，一部のものを除外した。それらの略号を使用する場合には，日本化学療法学会制度の略号表を参照されたい。改訂表の要点は次の通り。

1. 医薬品と共通の動物用抗菌剤は，日本化学療法学会の抗微生物用薬略号を基準とした。

2. 旧家畜の耐性菌研究会の略号表で，略号に付けられていたハイフォンは，すべて除くこととした（例：アンピシリンAB-PCはABPC）。一方，今回の略号表においては，アルキル基等を付けられた抗菌剤，例えばアセチルスルファメトキサゾールの場合には，Ac-SMXZとしてハイフォン付きとした。

3. 医薬用，動物用の抗菌剤とも慣習的に用いられている一般名の略号については，例えばアンピシリンの場合のAMは括弧内に入れてABPC(AM)とした。

4. 合成抗菌剤のうち，わが国で動物用医薬品として承認されているもの，外国で承認，市販されているものの他に文献に記載の多いものについてもできるだけ収録することにした。

5. 略号表の分類は、示す抗生物質、合成抗菌剤に大別し、さらに各グループ別毎に細分し、それぞれABC順に配列した。

6. 名称が二種類ある薬剤は、広く用いられている名称を普通字体で示し、他をイタリックで示した。

参考文献および資料

- 1) 日本化学療法学会制定(1984). 抗微生物薬略号(Abbreviation of Antimicrobial Agents).
- 2) 日本動物薬事協会編(1981). 動物用医薬品用具要覧.
- 3) 厚生省薬務局監修(1982). 日本抗生物質医薬品基準解説, 日本抗生物質学術協議会.
- 4) The Office of the Federal Register, National Archives and Records Service, General Services Administration, USA (1983). Code of Federal Regulation.
- 5) The Association of the British Pharmaceutical Industry (1981).
Compendium of Data Sheets for Veterinary Products 1980-81, Datapharm Publication Ltd.
- 6) 薬業研究会(1982). 医薬品略名一覧, 保健薬事典521~527, 薬業時報社.
- 7) Marler, E.E.J. (1983). Pharmacol. and Chemical Synonyms, 7th Ed., Excerpta Medica.

(昭和60年3月)

家畜抗菌剤研究会

動物用抗生物質・合成抗菌剤略語表
(飼料添加物を含む)

家畜抗菌剤研究会
昭和 60年 3月

ANTIBIOTICS

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
PENICILLINS (PCs)			
<i>Aminobenzylpenicillin</i>	see Ampicillin		
Amoxicillin		N,2,3	AMPC
Ampicillin	<i>Aminobenzylpenicillin</i>	N,1,2,3	ABPC
Benzylpenicillin	<i>Penicillin G</i>	N,1,2,3	PCG
Cloxacillin	<i>Methylchlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	N,1,2,3	MCIPC (CX)
Diocloxacillin#	<i>Methyldichlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	N,1,2	MDIPC(DCX)
<i>Ethoxynaphtylpenicillin</i>	see Nafcillin		
Hetacillin	<i>Isopropylidenaminobenzylpenicillin</i>	N,2	IPABPC
<i>Isopropylidenaminobenzylpenicillin</i>	see Hetacillin		
<i>Methylchlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	see Cloxacillin		
<i>Methyldichlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	see Diocloxacillin		
<i>Methylphenylisoxazolylpenicillin</i>	see Oxacillin		
Nafcillin#	<i>Ethoxynaphtylpenicillin</i>	1	NFPC
Oxacillin	<i>Methylphenylisoxazolylpenicillin</i>	N,4	MPIPC
<i>Penicillin G</i>	see Benzylpenicillin		
<i>Penicillin V</i>	see Phenoxymethylpenicillin		
Phenoxymethylpenicillin	<i>Penicillin V</i>	N,3	PCV
CEPHEM ANTIBIOTICS (CEPs)			
<i>Cefacetrile</i>	see Cefacetrile		
<i>Cefalexin</i>	see Cephalexin		
<i>Cefaloridine</i>	see Cephaloridine		
<i>Cefapirin</i>	see Cephapirin		
Cefacetrile	<i>Cefacetrile</i>	N,4	CEC
Cephalexin	<i>Cefalexin</i>	N,2	CEX
Cephalonium		2,3	CEL
Cephaloridine	<i>Cefaloridine</i>	N,2	CER
Cephapirin	<i>Cefapirin</i>	N,2	CEPR
Cephoxazole		3	CXZ
AMINOGLYCOSIDES (AGs)			
Apramycin		4	APM
<u>Destomycin A*</u>		1	DM-A
Dihydrostreptomycin		N,1,2	DSM
Fradiomycin*	<i>Neomycin</i>	N,1,2	FRM (FM)
Gentamicin		N,2	GM
<u>Hygromycin B*</u>		1,2	HM-B
Kanamycin		N,1,2	KM
<i>Neomycin</i>	see Fradiomycin		
Spectinomycin#		N,1,2,3	SPCM (SPCT)
Streptomycin		N,1,2,3	SM

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
MACROLIDE ANTIBIOTICS (MLs)			
Carbomycin		2	CRM
Erythromycin		N,1,2	EM
Kitasamycin*	<i>Leucomycin</i>	N,1	LM (KT)
<i>Leucomycin</i>	<i>see Kitasamycin</i>		
Oleandomycin*		N,1,2	OL (OM)
Spiramycin*		N,1	SPM (SP)
<u>Tylosin*</u>		1,2,3	TS
LINCOMYCINS (LCMs)			
Lineomycin		N,1,2,3	LCM
POLYPEPTIDE ANTIBIOTICS (PTs)			
Avoparcin		3	AVP
Bacitracin*		N,1,2,3	BC
Bambermycin	<i>see Flavophospholipol</i>		
Colistin*		N,1	CL
Enramycin*		N,1	ER
<u>Flavophospholipol*</u>	<i>Bambermycin</i>	1	FV
<u>Macarbomycin*</u>		1	MC (MCB)
Polymyxin-B		N,2	PL (PM-B)
<u>Quebemycin</u>		1	QM
<u>Thiopeptin*</u>		1	TPT
<u>Virginiamycin*</u>		1,2,3	VGM
POLYETHER ANTIBIOTICS (PEs)			
<u>Lasalocid*</u>		1,2	LLC (LS)
Lonomycin		4	LNM
<i>Methylsalinomycin</i>	<i>see Naracin</i>		
<u>Monensin*</u>		1,2,3	MNS (MN)
Naracin	<i>Methylsalinomycin</i>	4	NRC
<u>Salinomycin*#</u>		1	SNM (SLM)
TETRACYCLINES (TCs)			
Chlortetracycline*		N,1,2,3	CTC
Doxycycline#		N,1	DOXY
Methacycline		N,3	MTC
Oxytetracycline		N,1,2,3	OTC
Tetracycline		N,1,2,3	TC
ANTIFUNGAL ANTIBIOTICS			
Amphotericin-B		N,3	AMPH
Griseofulvin		N,1,2,3	GRF
Nystatin		N,1,2,3	NYS
Siccanin		N,1	SCN

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
OTHER ANTIBIOTICS			
<u>Bicozamycin</u> *#	<i>Btcyclomycin</i>	1	BCM (BCZ)
<i>Btcyclomycin</i>	see Bicozamycin		
Chloramphenicol		N,1,3	CP (CM)
Fusidic acid		N,3	FA
Novobiocin		N,1,2,3	NB
Rifampicin	<i>Rifampin</i>	N,4	RFP
<i>Rifampin</i>	see Rifampicin		
<u>Tiamulin</u> #		1,3	TML

SYNTHETIC ANTIBACTERIAL AGENTS

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
SULFA DRUGS (SAs)			
Acetylsulfamethoxazole		1	Ac-SMX
Homosulfamine		1'	HS
Phthalylsulfacetamide		3	Ph-SAA
Phthalylsulfathiazole	<i>Sulfaphthalythiazole</i>	3	Ph-STZ
Succinylsulfathiazole			
Sulfachlorpyrazine	<i>Sulfaclozine</i>	2	SCPZ
Sulfachlorpyridazine		1,2,3	SCPD
<i>Sulfaclozine</i>	see Sulfachlorpyrazine		
Sulfadiazine	<i>Sulfapyrimidine</i>	2,3	SDZ
Sulfadimethoxine	<i>Sulfadimethoxyprymidine</i>	1,1',2,3	SDMX
<i>Sulfadimethoxyprymidine</i>	see Sulfadimethoxine		
<i>Sulfadimethylprymidine</i>	see Sulfadimidine		
Sulfadimidine	<i>Sulfamethazine, Sulfadimethylpyrimidine</i>	1',2,3	SDD
Sulfadoxine	<i>Sulfomethoxine</i>	1',3	SDOX
Sulfaethoxypridazine		2	SEPD
<i>Sulfafurazole</i>	see Sulfisoxazole		
Sulfaguanidine		3	SGD
Sulfisomidine, Sulf(a)isomidine		1	SID
Sulfisoxazole, Suf(a)isoxazole	<i>Sulfafurazole</i>	2,3	SIX
Sulfisozole		1	SIZ
Sulfamerazine	<i>Sulfamethylpyrimidine</i>	1',2,3	SMR
<i>Sulfamethazine</i>	see Sulfadimidine		
<i>Sulfamethiazole</i>	see Sulfamethizole		
Sulfamethizole	<i>Sulfamethiazole, Sulfathiodiazole</i>	3	SMTZ
Sulfamethoxazole	<i>Sulfisomezole</i>	1	SMX
Sulfamethoxypridazine		1,2,3	SMPD
<i>Sulfamethyloxazole</i>	see Sulfamoxole		
Sulfamethylphenazole		1	SMPZ
<i>Sulfamethylphenylpyrazole</i>	see Sulfapyrazole		
<i>Sulfamethylpyrimidine</i>	see Sulfamerazine		
<i>Sulfamine</i>	see Sulfanilamide		

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
Sulfamonomethoxine		1, 1'	SMMX
Sulfamoxole	<i>Sulfamethyloxazole</i>	4	SMOX
Sulfanilamide	<i>Sulfamine</i>	3	SA
Sulfanitran		2	SNT
<i>Sulfaphthalylthiazole</i>	<i>see Phthalylsulfathiazole</i>		
Sulfapyrazole	<i>Sulfamethylphenylpyrazole</i>	3	SPZ
Sulfapyridine		3	SPD
<i>Sulfapyrimidine</i>	<i>see Sulfadiazine</i>		
Sulfaquinoxaline**		1',3	SQ
Sulfathiazole		1',2,3	STZ
<i>Sulfathiodiazole</i>	<i>see Sulfamethizole</i>		
<i>Sulfisomezole</i>	<i>see Sulfamethoxazole</i>		
<i>Sulfomethoxine</i>	<i>see Sulfadoxine</i>		
FURAN DERIVATIVES			
Difurazon	<i>Nitrovin, Panazon</i>	1,3	DFZ
Furaltadone		2,3	FTZ
Furazolidone		1,2,3	FZ
<i>Nitrofuracin</i>	<i>see Nitrofurantoin</i>		
<i>Nitrofuraf</i>	<i>see Nitrofurazone</i>		
Nitrofurantoin	<i>Nitrofuracin</i>	2,3	NFT
Nitrofurazone	<i>Nitrofuraf</i>	2	NFZ
<i>Nitrovin</i>	<i>see Difurazon</i>		
Nifurprazine		1	NPZ
<i>Panazon</i>	<i>see Difurazon</i>		
ANTIPROTOZOAN AGENTS			
Amprolium**		1,3	APL
Arprinocid		3,4	APC (ARP)
Beclorhiamine		1	BT
Clomidol*		1	CLP
Decoquinat*		1	DEC
Diminazene		1	DNZ
Dinitolumid	<i>Zoalene</i>	1	DTM (ZL)
Ethopabate		1'	ETB
Glycarbylamide		1	GCA
Harofuginone		3	HFN (HFG)
Nicarbazin*		1,3	NCZ
Pamaquine		1	PMQ
Primaquine		1	PRQ
Pyrimethamine		1',3	PYR
Robenidine		1	RBD
Ronidazole		3	RDZ
<i>Zoalene</i>	<i>see Dinitolumid</i>		

GENERIC NAME		CITATION	ABBREVIATION
OTHERS			
Caprylhydroxamic acid*		1	CHXA
Carbadox		1,2,3	CDX (CBD)
Dimetridazole		2,3	DTZ
Halquinol		3	HQN
Ipronidazole		2	INZ
Miloxacin		4	MLX (MXC)
Nalidixic acid		1	NA
Olaquinox*		1	ODX (OQD)
Ormetoprim		1',2	OMP
Oxolinic acid#		1	OXA (OA)
Piromidic acid		1	PA (PMA)
Quinoxin		4	QDX
Thiamphenicol		1	TP
Trimethoprim		1',2,3	TMP

N : 日本抗生物質医薬品基準(1982)記載の医薬品 ただし塩の部分は省略。

1 : わが国において現在承認されている動物用薬品ならびに飼料添加物。

1' : 1のうち配合剤の成分。

2 : 米国で承認されている動物用薬品 (FDA)。

3 : 英国で市販されている動物用薬品。

4 : 学会報告、専門誌などに見られるもの。

アンダーライン : 動物専用抗生物質。

、' : 飼料添加物、飼料添加物配合成分。

: 再評価中に新規承認されたもの。

()内 : 慣用略号。

家畜抗菌剤研究会報 第6号

昭和60年3月20日発行

発行所 家畜抗菌剤研究会

(〒180) 東京都武蔵野市境南町1-7-1

日本獣医畜産大学獣医微生物学教室内

(電話)(0422)31-4151

振替 東京4-145535

発行者 柴田重孝

編集者 高橋 勇

印刷所 栄和印刷株式会社

(電話)(044)733-4716

