

動物用抗菌剤研究会報

PROCEEDINGS OF THE JAPANESE SOCIETY OF ANTIMICROBIALS FOR ANIMALS

No. 31

December, 2009

動物用抗菌剤研究会

Japanese Society of Antimicrobials
for Animals

<http://www.jantianim.jp/>

目 次

今回の特別講演・シンポジウム開催にあたって	澤田拓士	1
-----------------------	------	---

特別寄稿：

牛と豚由来病原大腸菌の薬剤感受性と毒素産生性について	末吉益雄・上村涼子・永友寛司	2
サルファ剤による <i>Bordetella bronchiseptica</i> の莢膜合成阻止作用	桑野 昭	14

特 集：

I. 家畜におけるフルオロキノロンの使用と耐性発現について

1. 家畜におけるフルオロキノロン耐性菌の疫学	浅井鉄夫	25
2. 畜産現場におけるフルオロキノロンの使用状況と臨床効果 ー特に牛呼吸器病に対するエンロフロキサシンの使用と起因菌の薬剤感受性の関係ー	加藤敏英	30
3. <i>in vivo</i> におけるフルオロキノロンの耐性獲得試験	江崙英剛	37
4. 家畜由来細菌のフルオロキノロン耐性機構	小澤真名緒	45
5. 抗菌薬の慎重使用	平山紀夫	54

II. 新効能動物用抗菌性物質製剤

1. セフチオフル（効能追加）	岩隈昭裕・野谷あずさ・森 研一	61
2. オルビフロキサシン（効能追加）	北代典幸・中井正博	70
3. ゲンタマイシン（新配合）	鈴田靖幸	74

資 料：

小動物臨床における抗菌薬の使い方ー基本的な考え方ー	片岡 康	80
---------------------------	------	----

動物用抗菌剤研究会会則		83
-------------	--	----

動物用抗菌剤研究会報投稿規程		85
----------------	--	----

会務報告		87
------	--	----

動物用抗生物質・合成抗菌薬略語表（系統別およびアルファベット別）		95
----------------------------------	--	----

目 次

今回の特別講演・シンポジウム開催にあたって	澤田拓士	1
-----------------------	------	---

特別寄稿：

牛と豚由来病原大腸菌の薬剤感受性と毒素産生性について	末吉益雄・上村涼子・永友寛司	2
サルファ剤による <i>Bordetella bronchiseptica</i> の莢膜合成阻止作用	桑野 昭	14

特 集：

I. 家畜におけるフルオロキノロンの使用と耐性発現について

1. 家畜におけるフルオロキノロン耐性菌の疫学	浅井鉄夫	25
2. 畜産現場におけるフルオロキノロンの使用状況と臨床効果 ー特に牛呼吸器病に対するエンロフロキサシンの使用と起因菌の薬剤感受性の関係ー	加藤敏英	30
3. <i>in vivo</i> におけるフルオロキノロンの耐性獲得試験	江寄英剛	37
4. 家畜由来細菌のフルオロキノロン耐性機構	小澤真名緒	45
5. 抗菌薬の慎重使用	平山紀夫	54

II. 新効能動物用抗菌性物質製剤

1. セフチオフル（効能追加）	岩隈昭裕・野谷あずさ・森 研一	61
2. オルビフロキサシン（効能追加）	北代典幸・中井正博	70
3. ゲンタマイシン（新配合）	鈴田靖幸	74

資 料：

小動物臨床における抗菌薬の使い方ー基本的な考え方ー	片岡 康	80
---------------------------	------	----

動物用抗菌剤研究会会則		83
-------------	--	----

動物用抗菌剤研究会報投稿規程		85
----------------	--	----

会務報告		87
------	--	----

動物用抗生物質・合成抗菌薬略語表（系統別およびアルファベット別）		95
----------------------------------	--	----

今回の特別講演・シンポジウム開催にあたって

澤田拓士（動物用抗菌剤研究会 理事長）

家畜の呼吸器病と下痢は特に集団飼育が盛んになって以来、畜産における最大の生産性阻害因子である。これらの疾病を治療するための抗菌薬の応用はこれまで多大な効果を発揮してきた。しかしながら、同時に耐性菌の選択的増加をもたらすこととなった。その結果、耐性菌にも有効な新薬の開発とともに、既存の抗菌薬をより適切に、慎重に使用することによって耐性菌の増加を抑制し、有効な薬剤をより永く使用可能にする努力が払われている。

これら抗菌薬の「適正使用」、「慎重使用」を進めるためには家畜の耐性菌保有状況を常に把握しておくことが基本となる。また、それら起因菌の薬剤耐性と病原性との関係を知ることも疾病対策に重要であり、抗菌薬の新たな効果の発見にも繋がることもある。そこで今回、特別講演では、依然として発病率や死亡率が高く、大きな経済的損失をもたらしている子牛および子豚の大腸菌症に関して末吉益雄先生に、起因菌が薬剤耐性を獲得しても同時に相変異が起こって病原性が弱まり、治療効果が認められる現象の解明について桑野昭先生にご講演をお願いした。

また、究極の抗菌薬ニューキノロンとして登場したフルオロキノロン系抗菌薬が動物用として承認されてから約20年が経過した。これまで何度か主として効能・効果についてシンポジウムでとりあげてきた。最近では、家畜由来細菌の耐性化傾向が報告され、本耐性菌による人への健康被害が心配されるようになった。現在このリスク評価

を食品安全委員会で検討中である。しかしながら、我々がこれらの抗菌薬の使用と耐性菌の発現の実態についてどこまで把握しているかは疑問である。そこで、臨床現場における抗菌薬の慎重使用の実践と普及をさらに促進させるために、獣医療においても極めて重要な本抗菌薬に関して実態調査や実験的解析を含む広範囲にわたる事実を認識することを目的として「家畜におけるフルオロキノロン剤の使用と耐性発現について」をテーマにシンポジウムⅠを企画した。まず、耐性菌の疫学について浅井鉄夫先生に、続いて、畜産現場における抗菌薬の使用状況と臨床効果について加藤敏英先生に、*in vivo*における耐性獲得試験について小澤真名緒先生にご講演をお願いし、最後に、抗菌薬の慎重使用について平山紀夫先生にガイドライン（案）を示して頂いた。

さらに、シンポジウムⅡでは、新しい企画として「新効能動物用抗菌性物質製剤」のテーマで、岩隈昭裕先生にはセフトロムについて、北代典幸先生にはオルビフロキサシンについて紹介して頂いた。

盛り沢山の企画であったが、何れのご講演も広範で豊富な内容の調査や試験を解りやすく纏めて話して頂き、大変勉強になった。また、討論も活発で、内容が興味深いものであったことの証と思われる。演者の先生方に改めてお礼申し上げるとともに、これらの調査・研究がさらに発展することを願っている。

牛と豚由来病原大腸菌の薬剤感受性と毒素産生性について

末吉益雄・上村涼子・永友寛司

宮崎大学農学部獣医学科獣医衛生学研究室 (〒 889-2192 宮崎県宮崎市学園木花台西 1-1)

1. はじめに

子牛および子豚の大腸菌症は発病率あるいは死亡率が依然高く、経済的に大きな損失をもたらす主要な疾病の一つである。その病原大腸菌の中で、志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 感染は下痢あるいは死亡にも関与している [2-4, 6, 8-16]。本研究では、下痢発症子牛由来および大腸菌性腸管毒血症発症子豚由来 STEC の薬剤感受性およびその毒素産生について検索した。

2. 子牛由来病原性大腸菌の薬剤感受性

(1) 材料と方法

2001年7月～2005年3月に搬入された1日齢～8カ月齢までの下痢を呈した275頭の黒毛和種育成子牛について、その糞便あるいは腸管内容物から大腸菌の検出を試みた。採取した材料をCT-sMac寒天培地に塗抹し、37℃、18～24時間培養した。発育菌の集落を白金耳で釣菌し、滅菌蒸留水に懸濁し、加熱した後、遠心し、上清中のDNAを抽出した。PCRにて、*stx1* 遺伝子 (stx1-5'-AGCTGAAGCTTTACGTTTTTCGG, stx1-3'-TTTGCGCACTGAGAAGAAGAGA), *stx2* 遺伝子 (stx2-5'-TCCATGACAACGGACAGCAGTT, stx2-3'-ATCCTCATTATACTTGAAAACTCA) および *eaeA* 遺伝子 (eae-5'-GCTTAGTGCTGGTTTAGGAT, eae-3'-TCGCCGTTTCAGAGATCGC) を検出した。また、検体をMHBに接種し、37℃、6～8時間増菌培養後、前述と同様の方法で分離した。分離された *stx* および *eaeA* 遺伝子保有分離株につい

て、メチルレッド (MR), Voges-Proskauer (VP) 反応, クエン酸塩利用, 硫化水素産生試験を実施した。*stx* 遺伝子保有大腸菌あるいは *eaeA* 遺伝子保有大腸菌について血清型別および薬剤感受性試験を実施した。*stx* 遺伝子保有大腸菌については、「VTEC-RPLA「生研」」で志賀毒素 (Stx) 産生を確認した。血清型別には、「病原性大腸菌免疫血清 (デンカ生研・東京)」を用いた。薬剤としては ABPC, PCG, AMPC, GM, KM, EM, CL, TC, OTC, CP, BCM, FOM, SDMX, OXA, NA, ERFX および NFLX を供試した。最小発育阻止濃度 (MIC) 測定は、NCCLS 寒天平板希釈法 [1] に従った。

(2) 結果および考察

採材された糞便の性状は、水様性便が149検体 (54.2%), 泥状便が78検体 (28.4%) および軟便が48検体 (17.4%) であった。週齢として、1週齢以下が全検体の約25.8%を占め、それらの検体から160株のSTECあるいはAEECが検出された。それらの血清型はO26が多かった (表1)。STECの中では、*stx1* 遺伝子保有株が多かった。薬剤感受性試験では、キノロン系薬剤、特にERFX, NFLXが極めて高い感受性を示し、次にCLおよびGMが高感受性であった (表2)。PCG, SDMX, EM, TC およびOTCについては半数以上の株が耐性を示した。

3. 豚由来病原性大腸菌の薬剤感受性と毒素産生性

(1) 材料と方法

ア. 試験①

九州の養豚場3戸において、1997～2003年に

表1 2001年7月～2005年3月に分離された子牛由来大腸菌の血清型と病原遺伝子の保有状況

血清型	病原遺伝子						
	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>stx1+2</i>	<i>stx1+eaeA</i>	<i>stx2+eaeA</i>	<i>stx1+2+eaeA</i>	<i>eaeA</i>
O8:HNT				1			
O11:HNT	1						
O15:H45	1						
O26:H11				14			
O26:H27				1			
O26:H41							1
O26:HNT	3			3			1
O26:HNM	9			11			
O29:H20					1		
O63:HNM	1						
O111:HNM	4		2	4			
O119:H16		1					
O119:H28				1			
O127:HNM							1
O136:HNT	1						
O157:H7					2		
O157:HNT					2	1	
O168:H16				1			
O168:NNM				1			
O169:H21							1
その他	31	4	2	15	4	0	34
合計	51	5	4	52	9	1	38

表2 2001年7月～2005年3月に分離された子牛由来大腸菌160株の薬剤感受性

	MIC(mg/L)													
	≤ 0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
ABPC				4	15	76	11		2			3	25	24
PCG							7	36	51	13	1	6	23	23
AMPC			1	14	15	73	1			2	1		2	51
GM	16	101	36				1			4		2		
KM			8	68	44		2		1	8			10	19
EM								1	10	120	22	2	3	2
CL	30	117	8		2					1				2
TC				6	61	4		4	1	12	61	10	1	
OTC				35	30	4			2	2	13	59	14	1
CP					1	119	9	2	13	2	3	10	1	
BCM								22	110	11	10	5		12
FOM			1	1	8	15	44	35	20	19	16			1
SDMT									4	16	27	11	2	100
OXA	125	11		1		14	6	2		1				
NA				11	104	21	1	1		12	5	3		2
ERFX	140	9	9			1		1						
NFLX	127	8	21	2	1			1						

30～80日齢の子豚が合計約10,000頭死亡する大腸菌性腸管毒血症が集団発生した [17, 21]。集団死亡事故の発生期間は14～19ヵ月におよび、月間の子豚死亡率が43%に達する月もあった。上記の発生期間のうち、1997～2001年に発生した死亡豚の腸管内容物あるいは発症豚の糞便から分離された豚由来腸管毒血症性大腸菌 (ETEEC) 57株について、好気および嫌気条件下で薬剤感受性試験を実施した。薬剤としてはABPC, PCG, AMPC, CAZ, GM, KM, SM, CL, PL, EM, CP, FOM, SDMX, SMX, TMP, OL, LCM, TC, CTC, NB, BCM, IPM, OXA, NA, NFLX, ERFX, OBFX および DFLX を供試した。

イ. 試験②

2001年11月より離乳後子豚の下痢による死亡が急増し、2003年6月に至るまで月間40～100頭の死亡事故が持続していた母豚400頭、一貫経営A養豚場の離乳子豚の下痢について病原学的検索を実施した。発症は離乳後7日前後から発生し、急性の経過では1～3日で死亡するものもあった。農場ではKM, PCG, ABPC, CL, FM, DOXY, CTFなどの抗菌剤、生菌・有機酸製剤、オリゴ糖、ミネラル製剤などの投与が行なわれていた。また、その後、2003年5月～2004年2月までの間に分離されたETEEC株についても性状を検査した。

ウ. 試験③

前述A農場由来多剤耐性3株 (2002年6月～2003年1月)、薬剤感受性3株 (2004年1月～2004年2月)、ETEEC基準株ATCC23546、非病原性大腸菌基準株ATCC25922および当該農場由来非病原性野外株MVH1369-7の合計9株を用いて生存性について比較・検討を行った。生存性比較試験はペーパーディスク法 [7] で実施した。

エ. 試験④

北海道、長崎県、大分県および宮崎県の大腸菌性腸管毒血症が発生した9農場の発生子豚 (28～115日齢) から分離されたETEEC株についてStx産生能を比較検査した。

オ. 試験⑤

大腸菌性腸管毒血症罹患豚由来ETEEC 2株

(MVH 269 および MVH 886) について菌増殖性および産生毒素量との関係を経時的に測定した。

カ. 試験⑥

薬剤添加培地におけるETEECの増殖性および毒素抑制試験を実施した。生菌数を 10^8 cfu/mlに調整し、各薬剤の最終濃度×16MIC濃度、×1MIC濃度、×1/16MIC濃度に調整し、37℃、4時間静置培養した。毒素量は培養上清を $0.22\mu\text{m}$ のメンブランフィルターを用いてろ過し、Vero細胞傷害性を測定した [5]。

(2) 結果および考察

ア. 試験①

アミノグリコシド系薬剤、ペプチド系薬剤およびBCMは比較的高い効力を保持していたが、 β -ラクタム系薬剤、マクロライド系薬剤、テトラサイクリン系薬剤、サルファ剤、ST合剤および一部のキノロン系薬剤に対して感受性の低い株が80%以上認められた (表3-1, 3-2)。さらに、培養条件による抗菌剤の感受性の差が認められ、GM, KM および NFLX は好気条件下で、CL, CTC, CP, NB, FOM および DFLX は嫌気条件下でそれぞれ感受性が高かった。

イ. 試験②

2002年6月～2003年1月の間、20検体中14検体から18株のETEECが主要な病原因子として分離された。分離18菌株は、血清型、保有する病原性遺伝子および薬剤感受性について多様な性状を示した。分離された18菌株には多剤耐性株が存在し (表4-1)、抗菌剤による疾病対策の困難が示唆され、農場の衛生管理、環境管理の徹底と共に、抗菌剤に依存しない大腸菌対策が必要と考えられ、実行された。その後、2002年からCLなど1年間以上、ほとんど抗菌剤を使用しなかった当該農場において、2003年6月までは多剤耐性株が検出されたが、2004年1月および2004年2月の調査では、多くの薬剤に対して感受性を示すETEECが有意に検出された (表4-2)。

ウ. 試験③

すべての温度条件で、ETEEC基準株ATCC23546が実験開始から1～2週間で最も早く死滅した。一方、分離された多剤耐性株と薬剤感受性株の間

表 3-1 1997～2001年に分離された子豚由来大腸菌の薬剤感受性

薬 剤 名	好気条件				嫌気条件				
	MIC の範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC _R ^{a)}	MIC の範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC _R	
β-ラクタム系薬剤	Ampicillin	3.13 → 100	> 100	> 100	1.56	0.78 → 100	> 100	> 100	0.78
	Benzylpenicillin	12.5 → 100	> 100	> 100	12.5	6.25 → 100	> 100	> 100	12.5
	Amoxicillin	3.13 → 100	> 100	> 100	3.13	1.56 → 100	> 100	> 100	1.56
	Ceftazidime	12.5 → 100	> 100	> 100	12.5	25.0 → 100	> 100	> 100	50
	Imipenem	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
アミノグリコシド系薬剤	Gentamicin	≤ 0.05 - 25.0	0.2	25	0.1	0.20 - 50.0	1.56	50	0.78
	Kanamycin	0.78 → 100	6.25	> 100	1.56	3.13 → 100	12.5	> 100	6.25
	Streptomycin	0.78 → 100	25	> 100	1.56	0.78 → 100	25	100	1.56
マクロライド系薬剤	Erythromycin	3.13 → 100	50	100	50	50.0 → 100	> 100	> 100	100
	Oleandomycin	6.25 → 100	> 100	> 100	> 100	50 → 100	> 100	> 100	> 100
	Lincomycin	25.0 → 100	> 100	> 100	> 100	25.0 → 100	> 100	> 100	> 100
ペプチド系薬剤	Colistin	≤ 0.05 - 50.0	0.39	25	0.2	0.20 - 50.0	0.39	12.5	0.2
	Polymyxin-B	≤ 0.05 → 100	1.56	12.5	12.5	0.39 → 100	1.56	25	1.56
テトラサイクリン系薬剤	Tetracycline	6.25 → 100	> 100	> 100	3.13	0.78 → 100	> 100	> 100	0.78
	Chlortetracycline	50.0 → 100	100	100	6.25	0.78 - 100	50	100	1.56
	Chloramphenicol	0.78 → 100	12.5	> 100	1.56	0.78 → 100	6.25	> 100	1.56
その他	Novobiocin	3.13 → 100	100	100	12.5	1.56 → 100	12.5	50	12.5
	Bicozamycin	12.5 → 100	25	50	25	12.5 → 100	25	100	50
	Fosfomycin	25.0 → 100	100	> 100	> 100	12.5 - 100	25	50	50
サルファ剤	Sulfadimethoxine	12.5 → 100	> 100	> 100	50	12.5 → 100	> 100	> 100	25
	Sulfamethoxazole	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
	Trimethoprim	≤ 0.05 → 100	> 100	> 100	0.2	0.1 → 100	> 100	> 100	0.39
キノロン系薬剤	Oxolinic acid	0.20 → 100	50	> 100	0.2	≤ 0.05 → 100	100	> 100	≤ 0.05
	Nalidixic acid	0.78 → 100	> 100	> 100	0.78	3.13 → 100	50	> 100	12.5
	Enrofloxacin	≤ 0.05 - 6.25	3.13	6.25	≤ 0.05	≤ 0.05 - 12.5	3.13	6.25	≤ 0.05
	Orbifloxacin	≤ 0.05 - 12.5	12.5	12.5	≤ 0.05	≤ 0.05 - 12.5	12.5	12.5	≤ 0.05
	Difloxacin	≤ 0.05 - 50.0	25	25	≤ 0.05	≤ 0.05 - 50.0	12.5	25	≤ 0.05
	Norfloxacin	≤ 0.05 - 12.5	3.13	12.5	0.78	0.20 - 50.0	25	25	0.2

^{a)} MIC_R: *E. coli* ATCC 23546 の MIC 値 (mg/L)

Uemura R, Sueyoshi M, Nagayoshi M, et al. [18] から引用一部和訳

に明らかな生存期間の違いは認められなかったが、5℃温度条件環境で、感受性の MVH1880 株がやや長い生存性を示した (図 1)。A 養豚場の発症子豚由来 ETEEC が多剤耐性株から感受性株に推移したことについて、CL などの抗菌剤を使用しない環境で多剤耐性株の生存性が弱いことも一因と示唆された。5℃、15℃および 25℃の温度条件では 25℃において最も早く菌が死滅した。

エ. 試験④

毒素産生量は、宮崎 A 農場および長崎 A 農場由来の各 1 株が基準株の ATCC23546 株と同様低産生量であったが、その他の株は ATCC23546 株以上の毒素産生が認められ、特に、宮崎 C 農場では O139 の 12 株で $9,129.0 \pm 4,504.3$ (CD₅₀)、ONT の 5 株で $9,609.0 \pm 6,213.9$ (CD₅₀) の産生量が認められ、宮崎 D の O141 の 9 株では $1,227.9$

表 3-2 1997 ~ 2001 年に分離された子豚由来大腸菌の薬剤感受性

薬剤名	MIC : mg/L														Total
	≤ 0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25.0	50.0	100	>100		
β-ラクタム系薬剤	Ampicillin					0/1 ^{a)}	0/5	6/2	2/0	0/1		1/0		48/48	57/57
	Benzylpenicillin								0/1	1/1	6/6	1/0		49/49	57/57
	Amoxicillin						0/7	8/1				0/1	1/1	48/47	57/57
	Ceftazidime									1/0	6/2	14/8	5/10	31/37	57/57
	Imipenem													57/57	57/57
アミノグリコシド系薬剤	Gentamicin	5/0	18/0	6/1	0/7	1/16	0/5	1/1	0/1	20/1	6/9	0/16			57/57
	Kanamycin					3/0	11/0	4/1	19/15	2/24	1/3	3/1	3/0	11/13	57/57
	Streptomycin					1/1	2/2	2/2	2/2	17/17	13/13	7/7	7/7	6/6	57/57
マクロライド系薬剤	Erythromycin							1/0		2/0	1/0	26/1	26/17	1/39	57/57
	Oleandomycin								1/0			1/1	2/0	53/56	57/57
	Lincomycin										2/1	4/0		51/56	57/57
ペプチド系薬剤	Colistin	2/0		15/23	22/12	5/1	0/2	1/3	3/5	2/9	6/1	1/1			57/57
	Polymyxin-B	1/0			0/1	5/13	35/20	5/7	1/0	8/7	0/7			2/2	57/57
テトラサイクリン系薬剤	Tetracycline					0/1			1/0			0/2	0/5	56/49	57/57
	Chlortetracycline					0/1			0/1		0/3	5/38	0/14	52/0	57/57
	Chloramphenicol					1/1	4/17	19/5	4/6	2/2	3/5	5/4	1/1	18/16	57/57
その他	Novobiocin						0/3	1/1	1/0	0/26	5/18	13/5	31/2	6/2	57/57
	Bicozamycin									5/20	39/30	8/1	0/1	5/5	57/57
	Fosfomycin									0/10	6/35	26/10	0/2	25/0	57/57
サルファ剤	Sulfadimethoxine									1/2	2/0	1/2	0/2	53/51	57/57
	Sulfamethoxazole													57/57	57/57
キノロン系薬剤	Trimethoprim	1/0	0/1		2/1	2/4	3/0	5/5	7/9	1/0	0/1			36/36	57/57
	Oxolinic acid			2/3	3/3	3/3	8/8	5/5	1/0	3/2	1/4	3/0	1/15	27/14	57/57
	Nalidixic acid					2/0	5/0	2/2	7/1	3/3	2/16	1/10	3/5	32/20	57/57
	Enrofloxacin	8/6	11/12	1/2	3/1	3/5	2/2	16/9	13/19	0/1					57/57
	Orbifloxacin	1/1	8/5	5/4	6/5	2/6	1/0	0/1	1/0	33/35					57/57
	Difloxacin	20/20		1/2	1/1	1/2	1/1	1/0	1/2	1/19	25/9	5/1			57/57
	Norfloxacin	2/0	4/0	5/3	7/5	7/8	3/6	1/1	1/5	27/2	0/26	0/1			57/57

^{a)} 好気条件 / 嫌気条件

Uemura R, Sueyoshi M, Nagayoshi M, et al. [18] から引用一部和訳

± 236.4 (CD₅₀) の産生量が認められた (図 2)。上記 2 農場から大量に志賀毒素を産生する強毒株が 25 株検出された。分離菌の毒素産生能と血清型あるいは浮腫病が長期持続した農場間に関連は認められなかった。

オ. 試験⑤

ETEEC の増殖曲線は、培養 6 時間後には定常期に達し、全株が同様の増殖曲線を示した (図 3)。

放出毒素は、菌増殖が定常期に達した後 (培養 6 ~ 8 時間後) に検出され始め、20 ~ 48 時間後に最高値を示した。菌体内毒素は、培養 6 時間後に検出され始め、12 ~ 36 時間後に最高値を示した。供試株は全て菌体内毒素量が放出量よりも多かった。ETEEC の産生毒素は、ヒト由来 STEC O157:H7 の産生する志賀毒素 1 と同様に蓄積型であり、菌の対数増殖期末期から毒素産生・放出量

表 4-1 2002 年 6 月～2003 年 1 月に A 養豚場において分離された ETEEC の薬剤感受性

採材時期 菌株名 薬剤名	2002.6.										2002.8.										2003.1.				
	1331	1313	1314	1360	1361-1	1361-2	1361-3	1362-1	1362-2	1362-3	1363	1368	1370	1504	1505	1506	1507	1508							
PC-G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
ABPC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
AMPC	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
CEZ	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++							
CXM	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++							
CAZ	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++							
CFIX	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++							
SM	++	-	++	++	++	-	++	+	++	-	+	-	+	+	+	+	+	+							
FRM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+							
KM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+							
GM	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+							
TC	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-							
OTC	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
DOXY	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++							
CP	+++	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	-	-	++	++	-	++	+							
CL	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-							
PL	-	+	+	+	++	+++	+	+	+	++	+	+	-	-	+	-	-	+							
FOM	+++	-	-	-	-	+++	-	++	++	++	-	+	+	++	++	++	++	++							
NB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+							
ST	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
BCM	-	-	-	-	-	++	-	-	-	++	+	++	-	++	-	-	++	-							
FF	+++	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	++	++	++	++	++							
NA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-							
NFLX	+	+	-	-	-	-	-	-	-	++	+	+	+	+	+	+	+	+							
OFLX	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+							

-: 耐性, +: 感性, ++: 感性(中等度), +++: 感性(高度) (ディスク法)

表 4-2 2003 年 5 月～2004 年 2 月に A 養豚場において分離された ETEEC の薬剤感受性

菌株名 薬剤名	2003.5.			2003.6.			2004.1.			2004.2					
	1514	1557	1558	1557	1558	1851	1870-1	1870-2	1871-3	1872-1	1872-2	1872-3	1872-6	1873	1880
PC-G	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ABPC	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMPC	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CEZ	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CXM	++	+++	++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CAZ	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CFIX	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
SM	+	-	-	-	++	-	-	+++	+++	+++	+	+	+	+	+++
FRM	-	-	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
KM	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
GM	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	+++
TC	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	+++
OTC	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	+++
DOXY	++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CP	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CL	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	++
PL	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
FOM	+++	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
NB	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	++
ST	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	+++
BCM	+	-	-	-	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+++
FF	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
NA	-	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
NFIX	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+++
OFLX	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+++

—：耐性， +：感性， ++：感性（中等度）， +++：感性（高度）（ディスク法）

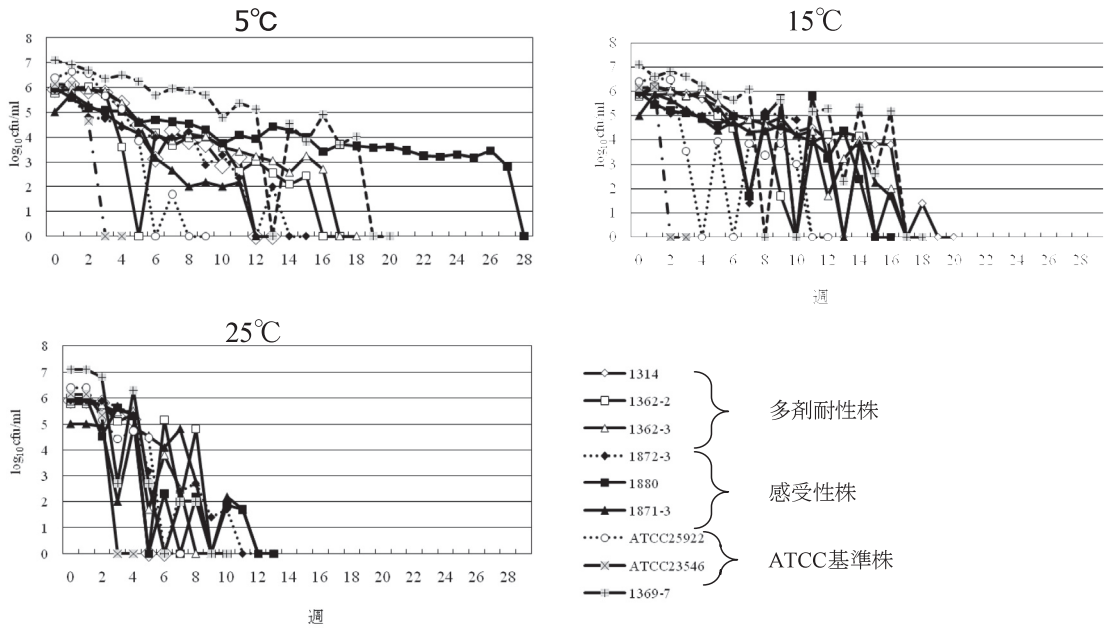


図1 ETEEC 多剤耐性株と感受性株の温度環境での生存性

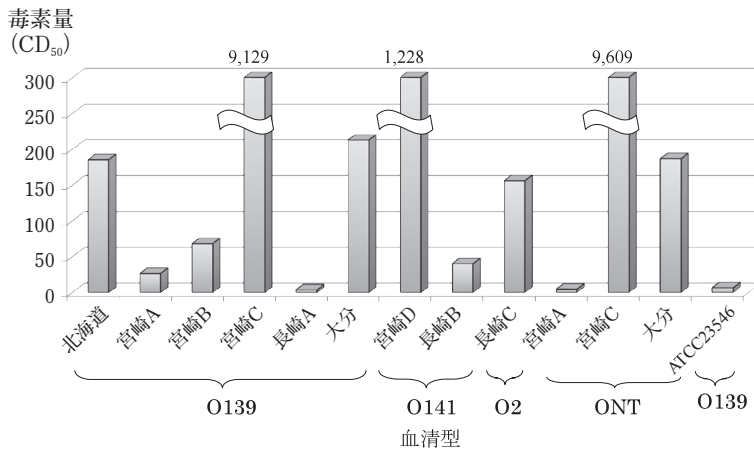


図2 農場由来 ETEEC 株間の Stx 放出量の相違
由地裕之, 末吉益雄, 永友寛司ら [21] を引用グラフ化

が増加した。

カ. 試験⑥

薬剤添加培地における ETEEC の増殖性および上清中 Stx 量試験結果 (図4) から, ABPC, CL, PL-B, OTC, ERFX, OBFX, NFLX は対照と比較して, × 1MIC 濃度で CD₅₀ 値が低く, 上清中への Stx 放出抑制が認められた。× 16MIC

濃度で CD₅₀ 値が低く, 上清中への Stx 放出抑制が認められた薬剤は前述の薬剤に加え, GM, KM, BCM, OXA, NA, DFLX であった。また, CL, PL-B, BCM, FOM, OXA, NA, ERFX, DFX, NFLX は対照と比較して, × 1MIC 濃度で菌増殖抑制が認められた。× 16MIC 濃度で菌の増殖抑制が認められた薬剤は前述の薬剤に加え,

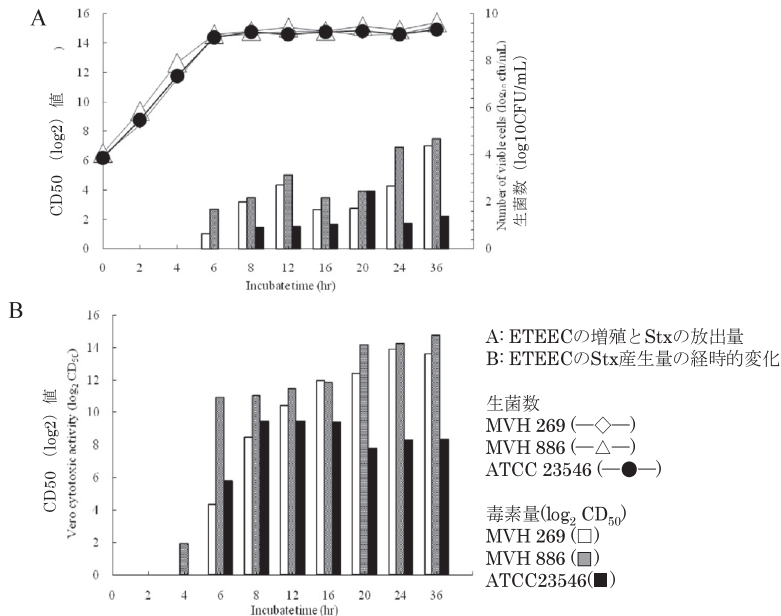


図3 ETEEC 増殖と Stx 毒素産生量

Uemura R., Sueyoshi M., Taura Y. et al. [19] から引用

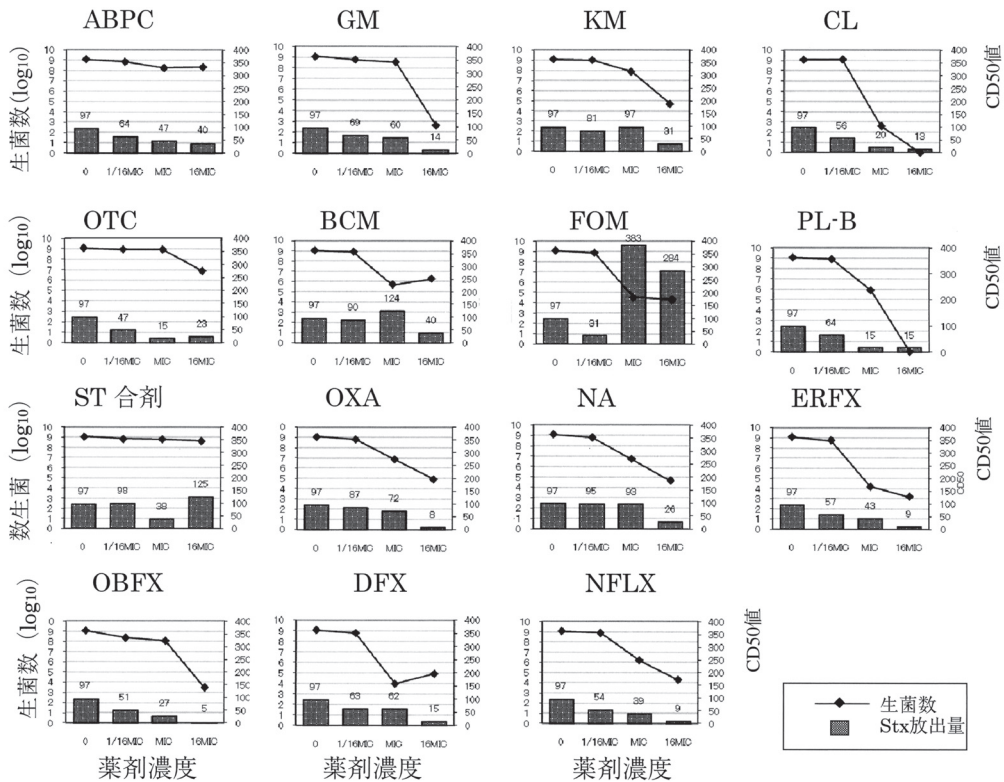


図4 抗菌剤添加時の ETEEC の増殖性と Stx 毒素放出量

末吉益雄 [15] から引用

GM, KM, OBFXであった。FOMでは対照と比較して、CD₅₀値の著明な増加を認め、培養上清中へのStx放出促進が認められた。

4. まとめ

2001年7月～2005年3月の間、下痢発症子牛の糞便あるいは腸管内容物由来 STEC 株について性状を検査した結果、血清型は O26 が多く、*stx1* 遺伝子保有株が多かった。薬剤感受性試験では、キノロン系薬剤、特に ERFX および NFLX が極めて高い感受性を示し、次に CL および GM が高感受性であった。

1997～2001年の間、大腸菌性腸管毒血症発生子豚由来 ETEEC 株について薬剤感受性試験を実施したところ、ペプチド系薬剤および BCM は比較的高い感受性を保持していた。また、9農場中2農場から強毒株が25株検出された。多剤耐性 ETEEC 株が分離された農場において、抗菌剤に依存しない対策をとったところ多くの薬剤に対して感受性を示す ETEEC 株が有意に検出された。ETEEC は人由来 STEC-O157:H7 と同様、毒素蓄積型であり、薬剤の種類あるいは濃度によって毒素放出量が異なっていた。

引用文献

- 1) Antimicrobial susceptibility methods: National Committee for Clinical Laboratory Standards. USA (2002)
- 2) Bertschinger HU, Gyle CL: Oedema disease of pigs. *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans, Gyles CL, ed, 193-219, Cab International Co., Wallingford, UK (1994)
- 3) Fairbrothe JM, Gyles CL: Postweaning *Escherichia coli* diarrhea and edema disease. Diseases of Swine, Straw BE, et al eds, 9th ed, 649-662, Blackwell Publ, Iowa (2006)
- 4) Iijima T, Sueyoshi M, Yamamoto T, Yoshida K, Nakazawa M: Diarrhea due to "Attaching and effacing *Escherichia coli* (O26)" infection in a calf. Jpn J Vet Sci, 52, 1347-1350 (1990)
- 5) 伊藤輝代, 秋野恵美, 平松啓一: 腸管出血性大腸菌 O157 に用いる抗生物質の検討. 感染症学雑誌, 71, 130-135 (1997)
- 6) 黒木昭浩, 山本慎一郎, 末吉益雄, 大田 洋, 恒吉雅治, 松田治子, 中澤宗生: 子牛の腸管接着性微絨毛消滅性大腸菌および *Enterobacter cloacae* の混合感染症の一例. 日獣会誌, 49, 9-12 (1996)
- 7) Nagatomo H, Takegahara Y, Sonoda T, Yamaguchi A, Uemura R, Hagiwara S, Sueyoshi M: Comparative studies of the persistence of animal mycoplasmas under different environmental conditions. Vet Microbiol, 82, 223-232 (2001)
- 8) 中澤宗生: 豚の浮腫病とは, 動物用抗菌剤研究会報, 21, 25-29 (2000)
- 9) 中澤宗生, 末吉益雄: ブタの浮腫病, 臨床と微生物, 23, 843-849 (1996)
- 10) 中澤宗生. 大腸菌病, 豚病学, 柏崎 守他編, 第4版, 328-337, 近代出版, 東京 (2000)
- 11) 中澤宗生, 鮫島俊哉, 秋庭正人, 末吉益雄: 志賀毒素産生性大腸菌の家畜大腸菌症における分布と下痢原性. 獣医畜産新報, 50, 655-658 (1997)
- 12) 末吉益雄, 中澤宗生, 大宅辰夫, 伊藤博哉, 田中省吾, 佐藤邦彦: ペロ毒素産生性大腸菌 (VTEC) の動物感染モデルの作出および牛における VTEC・O157:H7 実験感染試験. 農林水産省家畜衛生試験場研究報告, 104, 29-31 (1998)
- 13) Sueyoshi M, Nakazawa M: Experimental infection of young chicks with attaching and effacing *Escherichia coli*. Infect Immun, 62, 4066-4071 (1994)
- 14) Sueyoshi M, Fukui H, Tanaka S, Nakazawa M, Ito K: A new adherent form of an attaching and effacing *Escherichia coli* (*eaeA+*, *bfp-*) to the intestinal epithelial cells of chicks. J Vet Med Sci, 58, 1145-1147 (1996)
- 15) 末吉益雄: 動物における VTEC の疫学, 病態, 防除対策. 日本小児腎不全学会雑誌, 24, 60-62 (2004)
- 16) Sueyoshi M: Enterotoxaemia by *Escherichia coli* of piglets. Proc Jpn Pig Vet Soc, 48, 7-13 (2005)
- 17) 上村涼子, 末吉益雄, 田浦保穂, 永友寛司: 大腸菌性腸管毒血症による子豚の集団死亡事故の長期持続事例. 日獣会誌, 57, 231-234 (2004)

- 18) Uemura R, Sueyoshi M, Nagayoshi M, Nagatomo H: Antimicrobial susceptibilities of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from pigs with edema disease in Japan. *Microbiol Immunol*, 47: 57-61 (2003)
- 19) Uemura R, Sueyoshi M, Taura Y, Nagatomo H: Effect of antimicrobial agents on the production and release of shiga toxin by enterotoxaemia *Escherichia coli* isolates from pigs. *J Vet Med Sci*, 66, 899-903 (2004)
- 20) 由地裕之, 末吉益雄, 永友寛司, 田浦保穂: 浮腫病発生農場由来腸管毒症性大腸菌株の毒素産生能の比較調査. *日獣会誌*, 61, 530-532 (2008)
- 21) 由地裕之, 末吉益雄, 永友寛司, 田浦保穂: 1 養豚場における大腸菌性腸管毒症の大規模再発事例. *日獣会誌*, 62, 211-214 (2009)

Antimicrobial Susceptibility and Toxin Production of Shiga-toxin Producing *Escherichia coli* Isolated from Calves and Piglets

Masuo SUEYOSHI, Ryoko UEMURA and Hiroshi NAGATOMO

*Department of Veterinary Hygiene, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki,
1-1 Gakuenkibanadai-nishi, Miyazaki, 889-2192*

The O serogroup 26 and *stxI* gene positive strains were major, on the result of examination of shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from the feces or the intestinal content of calves with diarrhea between 2001 and 2005. Those STEC strains showed extremely high sensitivity against ERFX and NFLX, and were highly sensitive secondly against CL and GM, in the antimicrobial susceptibility examination. On the other hand, the enterotoxemic *Escherichia coli* (ETEEC) isolated from piglets with *E. coli*-related enterotoxaemia showed high susceptibility to peptides and BCM as well as the reference strain. In addition, twenty five virulent strains were detected from 2 farms. On the other farm where multiple drug resistant ETEECs were detected, the drug susceptible strains were mainly detected about one year after treatment without the antimicrobial administrations. These ETEECs were toxin accumulation type same as human origin STEC-O157: H7 strain, and the Stx-release dose was different by a drug variety or concentration.

討 論 (座長: 澤田拓士 日獣大)

質問 (松本修治, 大日本住友製薬)

浮腫病に対する発表をお聞きし, *in vitro* の成績では CL とか FQ がいいように思ったのですが, 現場では投与するタイミングとかが難しいと思います。野外で効果がみられている抗菌薬と, 抗菌薬以外でいい治療法がありましたら教えていただきたい。

答 (末吉益雄)

CL が効かなくなったという話も聞きますが, ERF がよく効いています。抗菌薬以外では炭酸亜鉛の臨床効果がみられています。鶏卵蛋白も臨床効果があると聞いています。

質問 (片岡 康, 日獣大)

FOM, ST などを投薬すると放出毒素量が増えて症状が出るが, CL の場合は放出毒素量が少ないということですが, FOM は細胞壁合成阻害作用, CL は細胞膜障害作用だと思います。菌に対する抗菌薬の作用点の違いにより放出毒素に差があるならば, どの作用点が一番出てくるのでしょうか。

答 (末吉益雄)

厚労省では O157 の治療に FOM の使用を決めているが, 条件があり, 早期発見, 早期治療が基本となります。CL とか GM, KM あたりを薦めている。

質問 (片岡 康, 日獣大)

発症から3日目くらいまでは殺菌性の薬を使ってもよいということになっていますが、4日目以降は放出毒素が怖いので静菌性の薬を使うようになっていますが、先生の考えでは浮腫病が発生した場合にどのくらいで殺菌性の薬から静菌性の薬へと切り替えていけばよいのでしょうか。

答 (末吉益雄)

サルモネラでは全身感染の可能性がある場合は筋注で、保菌している場合は飲水投薬するとかの方法があるのですが、浮腫病を発症している状況では菌数がかかなり増えているので静菌性の抗菌薬を投与するとか、あまり増えていない状況で殺菌的な抗菌薬をとというふうにやって、そのリバウンドを経験しているのが怖い。将来的には、殺菌的な抗菌薬を投薬してもGB4と競合するような吸着剤を投与できればと思う。人で利用できても、高価であり家畜に応用するにはなかなか難しい。

質問 (藤倉孝夫, 動衛研 OB)

中国中南部の安徽省の農村では子牛の肥育、養豚、養鶏、養鹿が盛んであるが、コクシジウム感染による下痢症により、大きな被害を受けている。サルファ剤の大量長期間の投与により効果があるとされているが、より経済的に、省力的に有効な薬剤が開発されていれば教えていただきたいです。

答 (末吉益雄)

サルファ剤はいつまでも有効なところと効きが無くなっているところがあり、静菌剤ではサルトーゼという鶏のコクシジウムのものがあるが、どうなのか。最近ではパイコックスという抗コクシジウム剤が発売され、まだそれはフィールドでどのくらいの効果があるのか聞いていません。欧米の方では効果があると期待されていたのですが。日本では3ヵ月齢以上しかモルニシンを使用していない。アメリカではモルニシンも承認されていますので、日本とは状況が違うかもしれません。中国の承認の問題は分かりませんが、環境に強いコクシジウムですから、新しいものを応用するのは難しいと思います。

サルファ剤による *Bordetella bronchiseptica* の莢膜合成阻止作用

桑野 昭

ハムリー株式会社 筑波研究センター (〒 306-0101 茨城県古河市尾崎 2654-3)

1. はじめに

豚萎縮性鼻炎 (AR) の原因菌である *Bordetella bronchiseptica* は I 相菌, I から III 相菌への移行型である II 相菌, I 相菌の形態学的変異型である III 相菌およびラフ型菌の四つに分類される。I 相菌は莢膜抗原 (K 抗原), 線毛性赤血球凝集抗原 (HA 抗原), 鞭毛抗原 (H 抗原) および外膜の多糖抗原 (O 抗原) を有するが, III 相菌は K および HA 抗原を欠損する [5]。I 相菌は病原性と密接な関係があり, 赤血球凝集性, 溶血性, 壊死毒素 (DNT) 産生および感染防御活性などを持つが, III 相菌はこれらの活性をすべて欠いている。特に, I 相菌の莢膜は鼻粘膜上皮細胞への付着因子として, また, 感染防御抗原として極めて重要であることが報告されている [7]。AR の予防対策として I 相菌不活化ワクチン, I 相菌不活化ワクチンと抗菌薬の併用などが行われている。抗菌薬としては主にサルファ剤とテトラサイクリン系が用いられているが, 最近, 長年の使用によりサルファ剤に対する耐性菌が多く分離されるようになった。しかし, サルファ剤耐性の *B. bronchiseptica* が分離されるにもかかわらず, 臨床的あるいは病理学的にサルファ剤の効果が認められる現象が多く見受けられる。著者は, サルファ剤の一つであるスルファモノメトキシシン (SMMX) の存在下で培養したサルファ剤耐性 *B. bronchiseptica* が, 莢膜抗血清 (K 因子血清) との反応性が消失し, 莢膜が欠如する現象を偶然発見した。このことは *B. bronchiseptica* の I 相菌を病原性のない III 相菌に変異させる作用, すなわち, 豚の鼻粘膜上皮細

胞への付着因子として重要な莢膜の合成を阻止する作用を SMMX が有することが示唆され, 一連の検討を加えた。なお, 本研究は著者が第一製薬 (株) に所属していた時に実施したものであり, 本研究で実施した豚を用いた動物実験は, 第一製薬 (株) 動物実験倫理委員会の承認条件である供試頭数の削減および安楽死における全身麻酔薬の使用 (苦痛の軽減) を遵守して実施した。

2. *B. bronchiseptica* の莢膜合成に及ぼす SMMX の影響 — *in vitro* での検討 —

(1) 目的

SMMX の存在下で培養したサルファ剤耐性 *B. bronchiseptica* が, 莢膜抗血清 (K 因子血清) との反応性が消失する現象, すなわち, 豚の鼻粘膜上皮細胞への付着因子として重要な莢膜の合成を阻止する作用を *in vitro* で調べた [2]。

(2) 材料および方法

ア. 供試菌株

野外において AR の症状を示す 2~3 カ月齢の子豚の鼻腔から分離された SMMX 耐性の *B. bronchiseptica* の I 相菌 (SM2-4, NS-1, S-11) および SMMX 感受性の 3 株 (S1, FB2301, BB-18) を供試した。I 相菌の参照株として S1 株を用いた。また, III 相菌の参照株とした SM2-4-CV 株は, クリスタルバイレットを用いる Ishikawa と Isayama の方法 [1] に準じて作製した。各供試菌株の分離年, 分離地およびサルファ剤に対する薬剤感受性を表 1 に示した。

表1 *B. bronchiseptica* 供試菌株のサルファ剤に対する感受性

菌相	菌株名	分離年	分離地	MIC (mg/L)	
				SMMX ^{a)}	SDMX ^{b)}
I	SM2-4	1984	千葉県	> 400	> 400
I	NS-1	1987	群馬県	> 400	> 400
I	S-11	1985	新潟県	> 400	> 400
I	S1	・	・	0.4	0.8
I	FB2301	1984	北海道	0.1	0.2
I	BB-18	1985	千葉県	0.1	0.4
III	SM2-4-CV (SM2-4 の III 相菌)			> 400	> 400

a) スルファモノメトキシン b) スルファジメトキシン

S1 株：農水省家畜衛生試験場より分与

SM2-4-CV 株：クリスタルバイオレットを用いて作製

MIC 測定培地：Mueller-Hinton 寒天培地

イ. 使用培地と I 相菌の選定

B. bronchiseptica の I 相菌の性状を保持するため、7% 馬脱線維素血液加 Bordet-Gengou 寒天 (BGA) 培地を用いた。各菌株を BGA 培地に接種し、コンラージ棒で広げ、37℃、36 時間好気培養した。β 溶血を示す正円、灰白色の直径 1mm 以下の集落を形成し、かつ、これらの菌が K 因子血清と凝集することを確認して I 相菌とした。

ウ. K 因子血清の作製

ホルマリン不活化 I 相菌で作製した抗血清を、同じくホルマリン不活化 III 相菌の菌体で吸収して作製した。この K 因子血清に対して I 相菌の参照株である S1 株は凝集するが、III 相菌の参照株である SM2-4-CV 株は凝集を示さなかった。

エ. SMMX の最小莢膜合成阻止濃度の測定

2 倍希釈系列の SMMX を含む BGA 培地に各試験用菌液を菌接種機で接種し、37℃、36 時間培養した。培養後、発育菌の K 因子血清に対する凝集性をスライド凝集反応法で検査し、K 因子血清に対する凝集性が消失した SMMX の最小濃度を最小莢膜合成阻止濃度とした。

オ. K 因子血清に対する凝集性の復帰

K 因子血清に対する凝集性が消失した SMMX の各濃度の発育菌を SMMX を含まない BGA 培地に接種し、37℃、36 時間培養した。培養後、発育した菌の K 因子血清に対する凝集性を検査した。

(3) 成績

ア. SMMX 含有ディスクの周囲に発育した集落の観察

SMMX のディスク (400 μg) 存在下で SMMX 耐性 *B. bronchiseptica* の I 相菌を培養した結果、ディスクを中心とした半径 15mm の円内では、莢膜を欠く III 相菌の集落に極めて類似した集落が、また、ディスクの中心から 15mm 以上離れた部分では、I 相菌に類似した集落が観察された。

イ. SMMX の最小莢膜合成阻止濃度

2 倍希釈系列で 0.1 ~ 100 mg/L の SMMX を含む BGA 培地に発育した各菌株の全集落について K 因子血清に対する凝集性を検査した。その結果、SMMX 耐性の SM2-4、NS-1 および S-11 株では、SMMX の 1.56 mg/L 以上の濃度で K 因子血清に対する凝集性が消失した。一方、SMMX 感受性の S1、FB2301 および BB-18 株の各菌株では、0.4 あるいは 0.8 mg/L 以下の濃度で集落が形成されたが、これらの集落は K 因子血清に対して凝集した (表 2)。

ウ. K 因子血清に対する凝集性の復帰

SMMX の 1.56 mg/L 以上の濃度で K 因子血清に対する凝集性が消失した SMMX 耐性の SM2-4、NS-1 および S-11 の各菌株の発育集落を SMMX を含まない BGA 培地に接種し、37℃、36 時間培養した。培養後、発育した各菌株の全集落について K 因子血清に対する凝集性を検査したところ、凝集性の復帰がすべてに認められた (表 2)。

表 2 *B. bronchiseptica* の K 因子血清に対する凝集性

菌株名	SMMX の濃度 (mg/L)										
	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
SM2-4 ^{a)}	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
NS-1 ^{a)}	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
S-11 ^{a)}	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
S1 ^{b)}	+	+	+	+	・	・	・	・	・	・	・
FB2301 ^{b)}	+	+	+	・	・	・	・	・	・	・	・
BB-18 ^{b)}	+	+	+	・	・	・	・	・	・	・	・
SM2-4-CV ^{c)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+ 陽性, — 陰性, ・ 菌の発育なし

a) サルファ剤耐性株 b) サルファ剤感受性株 c) III 相菌

使用培地: Bordet-Gengou 寒天培地

(4) 考 察

BGA 培地中の SMMX 濃度が 1.56 mg/L 以上の存在下で、供試した SMMX 耐性の 3 株を培養した場合、いずれも K 因子血清に対する凝集性が消失した。一方、発育阻止濃度 (0.4 あるいは 0.8 mg/L) 以下で発育した SMMX 感受性菌は K 因子血清に対して凝集し、K 因子血清に対する凝集性の消失は、選択的に SMMX 耐性菌のみに認められることが明らかとなった。莢膜が欠損した菌は III 相菌として定義され、鼻粘膜上皮細胞への付着能および病原性を欠くことが知られている。したがって、*in vivo* においても SMMX は、サルファ剤耐性の *B. bronchiseptica* の莢膜合成を阻止し、鼻甲介組織における本菌の定着を抑制する可能性が示唆された。また、SMMX によって莢膜が欠損した菌は、SMMX を含まない BGA 培地に継代して培養すると莢膜を有する I 相菌の性状に復帰することも明らかとなった。この成績から、SMMX による本菌の莢膜合成阻止作用は、SMMX の存在下で生じる一時的なものであることが推察された。

3. *B. bronchiseptica* の莢膜合成に及ぼす SMMX の影響 — *in vivo* での検討 —

(1) 目 的

in vitro で認められた SMMX による本菌の莢膜合成阻止作用が *in vivo* でも生じるか否かを検証

する目的で SMMX 耐性 *B. bronchiseptica* の人工感染豚を用いて検討した [4]。

(2) 材料および方法

ア. 供試豚

16 日齢のランドレース系の SPF 豚 (雄) を 4 日間の予備飼育後、20 日齢から試験に供した。SMMX 投薬群および無投薬対照群の 2 群を設定し、各群 4 頭の計 8 頭を用いた。各群は別々の動物室 (室温: 23 ± 2°C, 湿度: 55 ± 10%) で飼育した。飼料および水は自由に摂取させた。飼料は抗菌性飼料添加物無添加の後期用人工乳 (日本クレア, SDS No.2) を用いた。

イ. 供試菌株

B. bronchiseptica SM2-4 株を供試した。

ウ. I 相菌の確認

BGA 培地で 37°C, 36 時間培養後、明瞭な β 溶血を示す粘稠な小集落で、K 因子血清に対して凝集し、莢膜を有する I 相菌であることを確認して供試した。

エ. *B. bronchiseptica* の接種

BGA 培地で明瞭な β 溶血を示す粘稠な I 相菌集落を釣菌し、これを PBS (pH 7.0) にマクファールランド No.5 の濁度に浮遊させた菌液 (3.0 × 10⁸ CFU/mL) の 3mL を各供試豚の鼻腔内 (左右それぞれ 1.5mL) に注射器で注入した。

オ. SMMX の投薬

抗菌性飼料添加物無添加の後期用人工乳 (SDS No.2) に SMMX が 500ppm の割合になるよう添

表3 SMMXによりK因子血清に対する凝集性が消失した *B. bronchiseptica* を SMMX を含まない培地に培養後の K 因子血清に対する凝集性

菌株名	SMMX の濃度 ^{a)} (mg/L)						
	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
SM2-4	+	+	+	+	+	+	+
NS-1	+	+	+	+	+	+	+
S-11	+	+	+	+	+	+	+

+ 陽性

a) SMMXによりK因子血清に対する凝集性が消失した濃度
使用培地：Bordet-Gengou 寒天培地

加した飼料を菌接種1日前から剖検日（菌接種後11日目または25日目）まで連続給与した。SMMXの500ppmは25mg/kgに相当し、これは臨床での投与量である。

カ. 鼻甲介の病理学的検査

菌接種後11日目または25日目に各群それぞれ2頭ずつペントバルビタール麻酔下で安楽死させた後、AR病変を肉眼的に観察した。

キ. 鼻甲介粘膜の走査型電子顕微鏡学的観察

と殺後、鼻甲介をPBS (pH 7.4) で洗浄し、3%グルタルアルデヒド液で前固定した。この組織を標本用に細切した後、常法に従って標本を処理し、走査型電子顕微鏡(日立S-800型)で観察した。

ク. 鼻甲介の細菌検査

鼻甲介を無菌的に採取し、これをPBS (pH 7.0) で軽く洗浄した後、それぞれ0.5gをガラスホモジナイザー管に秤量、分取した。これに4.5mLのPBSを加えた後、氷冷下でよくホモジナイズして、 10^1 の組織乳剤を作製した。更に、PBSで $10^2 \sim 10^8$ の希釈系列を作製した後、それぞれの希釈液0.1mLをBGA培地にコンラージ棒で広げた。37°C、36時間培養し、生菌数を測定した。

ケ. 抗体検査

菌接種1日前および剖検日に頸静脈から採血し、試験管凝集反応により血清抗体価を測定した。

(3) 成績

ア. 肉眼的AR病変

SMMX投薬群では、菌接種後11日目に剖検した1/2頭に軽度のAR病変が認められたが、残りの1頭および菌接種後25日目に剖検した2頭で

はAR病変は認められなかった。これに対し、対照群では菌接種後11日目に剖検した2/2頭および菌接種後25日目に剖検した1/2頭の計3頭が中程度のAR病変を示し、また、残りの1頭が軽度のAR病変を示した(表4)。

イ. 走査型電子顕微鏡による鼻甲介粘膜表面の観察

SMMX投薬群では、肉眼的に軽度のAR病変を示した1頭のみ、粘膜上皮細胞の変性、剥離および粘膜線毛に少数の菌体付着が観察された。AR病変を認めなかった残りの3頭では粘膜上皮細胞の異常は認められず、粘膜上皮線毛に付着した菌体も観察されなかった。対照群では、粘膜上皮細胞の変性と剥離が全頭に観察された。また、小塊状に残存している粘膜上皮線毛に菌体が多数付着している像も観察された。

ウ. 鼻甲介からの *B. bronchiseptica* の検出

菌接種後11日目における検出菌数は、SMMX投薬群の2頭では 10^4 および 10^6 CFU/g、対照群の2頭では 10^6 および 10^8 CFU/gであった。また、菌接種後25日目におけるそれは、SMMX投薬群の2頭はいずれも 10^4 CFU/g、対照群の2頭では 10^7 および 10^9 CFU/gであった(表5)。

エ. 検出された *B. bronchiseptica* の菌相

SMMX投薬群および対照群から分離された菌はすべてI相菌であった。

オ. 凝集抗体価の推移

菌接種前1日目における全供試豚の抗体価は、10倍以下で抗体は陰性であった。SMMX投薬群では、菌接種後11日目または25日目に剖検したそれぞれ2頭が、いずれも10および20倍の抗体価

表 4 鼻甲介骨萎縮病変の検査成績

群	豚 No.	A R 病変の程度	
		菌接種後 11 日	菌接種後 25 日
SMMX 投薬群	1	—	・
	2	+	・
	3	・	—
	4	・	—
対照群	5	++	・
	6	++	・
	7	・	++
	8	・	+

— 正常, ± 疑似, + 軽度, ++ 中程度

表 5 鼻甲介からの *B. bronchiseptica* の検出成績

群	豚 No.	菌 数 (CFU/g)	
		菌接種後 11 日	菌接種後 25 日
SMMX 投薬群	1	5.0×10^4	・ (未検査)
	2	1.7×10^6	・
	3	・	1.4×10^4
	4	・	1.0×10^4
対照群	5	3.3×10^6	・
	6	5.6×10^8	・
	7	・	2.7×10^7
	8	・	1.6×10^9

使用培地：Bordet-Gengou 寒天培地

を示し、経過に伴う抗体価の上昇は認められず、低値で推移した。これに対し対照群では、菌接種後 11 日目に剖検した 2 頭が 20 および 40 倍を、また、25 日目に剖検した 2 頭は 80 および 160 倍の抗体価を示し、経過とともに抗体価の上昇が認められた (表 6)。

(4) 考 察

SMMX による SMMX 耐性 *B. bronchiseptica* の莢膜合成阻止作用が、*in vivo* においても生じるか否かを人工感染豚を用いて検討した結果、*in vivo* においても SMMX の存在下で SMMX 耐性 *B. bronchiseptica* の莢膜合成が阻止され、本菌の鼻甲介への付着が抑制されることを示唆する成績が得られた。また、SMMX 投薬群および対照群から分離された菌はすべて I 相菌であったことから、*in vivo* における本菌の莢膜合成阻止は *in*

vitro と同様に SMMX の存在下においてのみ生じる一時的な作用と推察された。

4. *B. bronchiseptica* の莢膜合成に及ぼす各種サルファ剤の作用

(1) 目 的

豚に使用される 9 種のサルファ剤について *B. bronchiseptica* の莢膜合成に及ぼす影響について比較検討した [3]。

(2) 材料および方法

ア. 供試菌株

北海道、岩手県、千葉県、山梨県、新潟県および長崎県下の計 10 カ所の AR 発生養豚場から分離された *B. bronchiseptica* 計 10 株 (1 養豚場当たり 1 株) を供試した。これらの菌株に対する供試

表6 *B. bronchiseptica* の I 相菌に対する凝集抗体価の推移

群	豚 No.	菌 接 種		
		1 日 前	11 日 後	25 日 後
SMMX 投薬群	1	< 10 (倍)	10	・
	2	< 10	20	・
	3	< 10	・	10
	4	< 10	・	20
対照群	5	< 10	40	・
	6	< 10	20	・
	7	< 10	・	80
	8	< 10	・	160

・未検査

サルファ剤の MIC は 400 mg/L 以上であった。

イ. 供試サルファ剤

SMMX については、ピリミジン環の 6 位の位置に 1 個の -OCH₃ 基 (MeO 基) を有する 6-MeO-SMMX (SMMX) および 2 位の位置に 1 個の MeO 基を有する 2-MeO-SMMX の 2 剤を用いた。1 および 2 の試験で用いた SMMX は前者に属する。SMMX 以外のサルファ剤として豚で使用されるスルファジメトキシシン (SDMX), スルファドキシシン (SDX), スルファメトキサゾール (SMXZ), スルファチアゾール (STAZ), スルファメトキシピリダジン (SMPD), スルファメサジン (SMTZ) およびスルフィソキサゾール (SIXA) の 7 薬剤を供試した。

ウ. 供試サルファ剤の最小莢膜合成阻止濃度

2 倍希釈系列の供試サルファ剤を含む BGA 培地に各試験用菌液を菌接種機で接種し、37°C、36 時間培養した。培養後、発育菌の K 因子血清に対する凝集性をスライド凝集反応法で検査し、K 因子血清に対する凝集性が消失した供試サルファ剤の最小濃度を最小莢膜合成阻止濃度とした。

(3) 成 績

ア. 供試サルファ剤の最小莢膜合成阻止濃度

化学構造的にピリミジン環およびピリダジン環に MeO 基を有するサルファ剤が 1.56 ~ 3.13 mg/L の濃度で *B. bronchiseptica* の莢膜合成を強く阻止するとともに、SMMX のように MeO 基を 1 個有するサルファ剤が最も強い活性を示した。

一方、MeO 基を有しない SMXZ, STAZ, SMTZ および SIXA の最小莢膜合成阻止濃度は 100 あるいは 100 mg/L 以下であり、莢膜合成阻止活性は極めて弱いことが明らかとなった (表 7)。

イ. 供試サルファ剤の抗菌活性と莢膜合成阻止活性との相関性

供試サルファ剤のサルファ剤感受性 *B. bronchiseptica* に対する 6-MeO-SMMX, 2-MeO-SMMX, SMXZ および STAZ の MIC は、いずれも $\leq 0.1 \sim 0.4$ mg/L であり、ほぼ同等の強い抗菌活性を示したが、これらの 4 薬剤のなかで MeO 基を有する 6-MeO-SMMX および 2-MeO-SMMX の 2 薬剤のみが強い莢膜合成阻止活性を示し、抗菌活性と莢膜合成阻止活性との相関性は認められなかった (表 8)。

(4) 考 察

莢膜合成阻止活性が認められたサルファ剤は、化学構造的に MeO 基を有する化合物であり、MeO 基が莢膜合成阻止活性に深く関与していることが示唆された。また、MeO 基を有するピリミジン系サルファ剤のなかで SMMX および 2-MeO-SMMX の 2 剤は最も強い莢膜合成阻止活性を示した。一方、2 位と 5 位に MeO 基を有する SDX は、SMMX および 2-MeO-SMMX と同様な位置に MeO 基を有するにもかかわらず、それらの莢膜合成阻止活性は SMMX および 2-MeO-SMMX に比べやや劣ることも明らかとなった。これらの成績は、サルファ剤が *B. bronchiseptica* の莢膜合成を阻止するには、ピリダジン環に付く

表 7 サルファ剤耐性 *B. bronchiseptica* に対する各種サルファ剤の莢膜合成阻止活性

菌株名	最小莢膜合成阻止濃度 (mg/L)								
	6-MeO-SMMX	2-MeO-SMMX	SDMX	SDX	SMXZ	STAZ	SMPD	SMTZ	SIXA
BB113	3.13	3.13	25	25	> 100	> 100	50	> 100	> 100
SM2-4	1.56	1.56	25	12.5	> 100	> 100	50	> 100	> 100
K-5	3.13	3.13	12.5	25	> 100	> 100	50	> 100	> 100
MS-5	1.56	3.13	12.5	12.5	100	> 100	12.5	> 100	> 100
MY-931	1.56	1.56	12.5	12.5	100	> 100	12.5	> 100	> 100
YM-4	3.13	3.13	12.5	25	> 100	> 100	50	> 100	> 100
OKM-5	3.13	3.13	50	50	> 100	> 100	100	> 100	> 100
I-11	1.56	3.13	25	25	100	> 100	25	> 100	> 100
S-11	1.56	3.13	12.5	25	> 100	> 100	25	> 100	> 100
SM24-3	1.56	3.13	12.5	12.5	> 100	> 100	50	> 100	> 100

6-MeO-SMMX: 6-MeO-スルファモノメトキシシ、2-MeO-SMMX: 2-MeO-スルファモノメトキシシ、SDMX: スルファジメトキシシ、SDX: スルファドキシシ、SMXZ: スルファメトキサゾール、STAZ: スルファチアゾール、SMPD: スルファメトキシピリダジン、SMTZ: スルファメサジン、SIXA: スルフィソキサゾール

表 8 サルファ剤感受性 *B. bronchiseptica* に対する各種サルファ剤の抗菌活性

菌株名	最小莢膜合成阻止濃度 (mg/L)								
	6-MeO-SMMX	2-MeO-SMMX	SDMX	SDX	SMXZ	STAZ	SMPD	SMTZ	SIXA
S 1	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4	0.8	3.2	0.8
SP-89	0.2	0.4	0.8	0.4	0.4	0.4	0.8	1.6	0.8
IWA9-2	≤ 0.1	≤ 0.1	0.2	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	0.2	0.8	0.4

参考) 最小莢膜合成阻止濃度

・ 6-MeO-SMMX, 2-MeO-SMMX: 1.56 ~ 3.13mg/L

・ SMXZ, STAZ; 100 ~ > 100mg/L

MeO 基の数が重要であることを示唆している。この場合、MeO 基の数が 1 個であるサルファ剤が、2 個であるサルファ剤に比べ、より強い莢膜合成阻止活性を示すことが明らかとなった (図 1)。また、宇田ら [6] は莢膜と同様に鼻甲介粘膜上皮細胞の付着因子として推定されているシアル酸特異的赤血球凝集素 (HA) の活性発現に対しても、SMMX は 3.13 mg/L 以上の濃度でその活性を消失させること、さらに、その HA 活性の消失作用は MeO 基の数が 1 個である SMMX が最も強い作用を示すことを報告している。*in vitro* と *in vivo* が一致しない原因として SMMX の HA 活性の消失作用も関与しているものと考察された。

5. 豚における SMMX の体内分布 —特に鼻甲介の組織内濃度について—

(1) 目的

SMMX がサルファ剤耐性本菌の莢膜合成を阻止するには 1.56 ~ 3.13 mg/L 以上の濃度が必要である。豚に SMMX を投与した場合の体内分布については全く明らかにされていない。SMMX による *B. bronchiseptica* の莢膜合成阻止作用が、豚の鼻甲介組織で生じるか否かを体内分布の面から明らかにする目的で、SMMX 投与後の血清中濃度および組織内濃度を検討した。

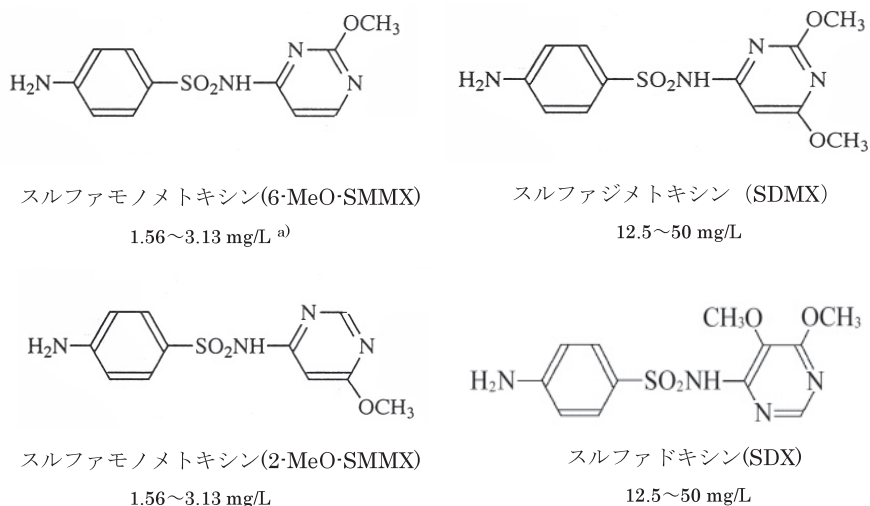


図1 供試ピリミジン系サルファ剤の化学構造
a) 最小莢膜合成阻止濃度

(2) 材料および方法

ア. 供試動物

血清中濃度の測定には SPF 豚の 5 頭 (ランドレース系, 雄, 46 日齢, 体重 12.5 ~ 16.1kg) を使用した。また, 組織内濃度の測定には SPF 豚の 5 頭 (ランドレース系, 雄, 40 日齢, 体重 9.6 ~ 10.8kg) を使用した。

イ. SMMX の投薬量および投薬方法

0.5% のカルボキシメチルセルローズナトリウム (CMC) 溶液に SMMX を懸濁 (50mg/mL) し, 経口カテーテルを用いて 25mg/kg を単回経口投薬した。

ウ. 採材

血清中濃度の測定では, SMMX 投与後, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 および 24 時間後に頸静脈から採血し, 4℃, 3,000rpm で 10 分間遠心して血清を分離し, 測定時まで -20℃ に凍結保存した。組織内濃度では, SMMX の血清中濃度が最高値を示す投与後 4 時間にペントバルビタール麻酔下で安楽死させ, 鼻甲介, 気管, 肺, 心臓, 肝臓, 腎臓, 小腸, 筋肉および脳を採取した。これらの組織は測定時まで -20℃ に凍結保存した。

エ. 定量法

高速液体クロマトグラフィー法で SMMX の未

変化体 (SMMX) とその代謝物であるアセチル体 (Ac-SMMX) を分別定量した。本法による血清中濃度の定量限界は SMMX が 0.05, Ac-SMMX が 0.1 mg/L である。また, 組織内濃度の定量限界は SMMX が 0.1, Ac-SMMX が 0.1 mg/L である。

オ. 薬物動態パラメーターの算出

血清中の SMMX と Ac-SMMX の最高濃度 (Cmax), 最高濃度到達時間 (Tmax), 生物半減期 ($t_{1/2}$) および時間曲線下面積 (AUC) を算出した。

(3) 成績

ア. 血清中濃度の推移

SMMX の濃度は, 投与後 1 時間で著明に上昇し, 投与後 3.8 時間に Cmax の 23.1 μ g/g を示した。その後, SMMX の濃度は 2.2 時間の $t_{1/2}$ で速やかに減衰し, 投与後 24 時間には 0.05 μ g/g 以下となった。一方, Ac-SMMX の濃度は, 投与後 5.6 時間に Cmax の 8.3 μ g/g を示した。その後, Ac-SMMX の濃度は 2.8 時間の $t_{1/2}$ で減衰し, 投与後 24 時間には 0.1 μ g/g 以下となった (表 9)。

イ. 組織内濃度

SMMX の血清中濃度が最高値を示す投与後 4 時間における SMMX の組織内濃度の順位は, 腎臓 > 気管, 心臓 > 筋肉 > 小腸, 肝臓 > 鼻甲介骨

表 9 豚における SMMX の経口投与後の血清中未変化体 SMMX とそのアセチル体である Ac-SMMX のファーマコカインेटィック・パラメーター (25mg/kg, n=5)

	Tmax ^{a)} (時)	Cmax ^{b)} ($\mu\text{g/g}$)	t _{1/2} ^{c)} (時)	AUC ₀₋₂₄ ^{d)} ($\mu\text{g} \cdot \text{時/mL}$)
SMMX	3.8 ± 1.1 ^{e)}	23.1 ± 4.7	2.2 ± 0.0	144.7 ± 6.4
Ac-SMMX	5.6 ± 1.0	8.3 ± 0.4	2.8 ± 0.3	72.6 ± 12.9

a) 最高濃度到達時間, b) 最高濃度, c) 生物学的半減期, d) 時間曲線下面積
e) 平均値±標準偏差

表 10 豚における SMMX の経口投与後 4 時間における組織内濃度 (25mg/kg, n=5) 単位: $\mu\text{g/g}$

組 織	SMMX ^{a)}	Ac-SMMX ^{b)}	アセチル化率 (%)
鼻甲介骨	7.09 ± 2.89 ^{c)}	6.98 ± 3.11	49.6
気 管	10.40 ± 4.39	6.57 ± 2.09	39.9
肺	6.25 ± 1.99	7.62 ± 3.69	54.9
心 臓	10.04 ± 3.51	1.93 ± 0.90	16.1
肝 臓	7.44 ± 3.11	4.89 ± 1.78	39.7
腎 臓	26.10 ± 5.75	17.61 ± 6.34	40.3
小 腸	7.82 ± 3.52	4.83 ± 1.89	38.2
筋 肉	8.01 ± 2.84	1.01 ± 0.58	11.2
脳	6.55 ± 2.34	1.21 ± 0.49	15.6

a) SMMX の未変化体, b) SMMX のアセチル体, c) 平均値±標準偏差

> 脳, 肺であった。特に, *B. bronchiseptica* の感染部位である鼻甲介における SMMX および Ac-SMMX の濃度は, それぞれ 7.09 および 6.98 $\mu\text{g/g}$ であった (表 10)。

(4) 考 察

本試験の結果から, 鼻甲介における SMMX は 7.09 $\mu\text{g/g}$ が分布することが明らかとなった。サルファ剤耐性 *B. bronchiseptica* の莢膜合成を阻止するには SMMX が 1.56 ~ 3.13 mg/L 以上の濃度が必要であるが, それ以上の濃度の SMMX が鼻甲介に分布することが示唆され, 薬物動態学的にも SMMX による莢膜合成阻止作用が *in vivo* でも十分生じることが推察された。

6. 謝 辞

本研究は, 著者が第一製薬(株)開発研究所特薬研究センターに所属していた時に実施したものである。本研究の遂行にあたり御指導と論文の御校閲

をいただいた当時の酪農学園大学大学院獣医学研究科平棟孝志教授, 梁川 良教授, 阿部光雄教授, 種池哲朗教授に深甚の謝意を表します。また, 御指導をいただいた当時の第一製薬(株)開発研究所特薬研究センター 館 裕センター長, 第一製薬(株)特薬開発部加藤正博部長, 傍士和彦博士に感謝の意を表します。さらに, 実験遂行上御協力をいただいた当時の第一製薬(株)開発研究所坂下昭夫氏をはじめ関係各位の皆様へ感謝の意を表します。

要 約

豚萎縮性鼻炎 (AR) 対策として主にサルファ剤とテトラサイクリン系が長年にわたり用いられており, サルファ剤に対する耐性菌が多く分離されるようになった。しかし, サルファ剤耐性の *B. bronchiseptica* が分離されるにもかかわらず, 臨床的あるいは病理的にサルファ剤の効果が認められる現象が多く見受けられる。著者は, スルファモノメトキシシ (SMMX) の存在下で培養したサ

ルファ剤耐性 *B. bronchiseptica* の莢膜が欠損する現象を偶然発見した。このことから、SMMX は *B. bronchiseptica* の I 相菌が豚の鼻粘膜上皮細胞への付着因子として重要な莢膜の合成を阻止する作用を有することが示唆され、一連の検討を加えたところ、次のことが明らかとなった。*in vitro* において SMMX の莢膜合成阻止作用は SMMX 耐性菌のみで生じ、その最小作用濃度は 1.56 ~ 3.13 mg/L であった。また、SMMX 耐性菌 (I 相菌) の人工感染豚において、SMMX 投薬群で AR 病変の抑制がみられ、かつ、鼻甲介粘膜上皮細胞における付着菌数の低下をきたしたことから、*in vivo* においても SMMX による莢膜合成阻止が示唆された。

また、豚に使用される 9 種のサルファ剤のなかで、化学構造的にピリミジン環およびピリダジン環に -OCH₃ 基 (MeO 基) を有するサルファ剤が *B. bronchiseptica* の莢膜合成を強く阻止するとともに、SMMX のように MeO 基を 1 個有するサルファ剤が最も強い活性を示すことが明らかとなった。さらに、薬物動態学的な面から SMMX の分布状況を調べた結果、豚の鼻甲介には 3.13 μg/g 以上の濃度で分布し、*in vivo* でも本剤による莢膜合成阻止作用が十分惹起されることを示唆する成績を得た。

引用文献

- 1) Ishikawa H, Isayama Y: *Bordetella bronchiseptica* phase variation induced by crystal violet. J Clin Microbiol, 23, 235-239 (1986)
- 2) Kuwano A: Inhibitory effect of sulfamonomethoxine on capsule antigen formation of *Bordetella bronchiseptica*. Zentralbl Veterinarmed B, 38, 685-688 (1991)
- 3) Kuwano A, Ito T, Tachi H: Comparison of the inhibitory effect of sulfamonomethoxine and other sulfonamides on the capsule formation of *Bordetella bronchiseptica*. J Vet Med Sci, 54, 1057-1059 (1992)
- 4) 桑野 昭, 舘 裕, 石井良和, 加藤正博: *Bordetella bronchiseptica* の莢膜抗原形成に及ぼすスルファモノメトキシンの影響. 日本獣医師会雑誌, 46, 463-468 (1993)
- 5) 尾形学監修: 豚の萎縮性鼻炎, 32-34, 文永堂, 東京 (1979)
- 6) 宇田庸子, 石川 整: サルファ剤の *Bordetella bronchiseptica* 菌体シアル酸特異的赤血球凝集素に対する影響. 滋賀県家畜保健衛生所業績発表収録集, 21-23 (1994)
- 7) Yokomizo Y, Shimizu T: Adherence of *Bordetella bronchiseptica* to swine nasal epithelial cells and its possible role in virulence. Res Vet Sci, 27, 15-21 (1976)

Inhibitory Effect of Sulfamonomethoxine on Capsule Antigen Formation of *Bordetella bronchiseptica*

Akira KUWANO

Tukuba Research Center, Hamri Co., Ltd., 2654-3, Osaki, Koga-shi, Ibaraki 306-0101, Japan

Bordetella bronchiseptica phase I organism possesses a capsule and has the ability to agglutinate with K antiserum, although phase III organism lacks both. The present study examined the effect of sulfamonomethoxine (SMMX) on capsule formation of *B. bronchiseptica*. The result are summarized as follows.

1. Three SMMX-resistant strains of *B. bronchiseptica* phase I organisms showed loss of agglutinability with K antiserum by culturing them at a higher concentration of 1.56 mg/L of SMMX. These results indicated that capsule formation of SMMX-resistant *B. bronchiseptica* is inhibited by SMMX.

2. SMMX in form of a feed added at the level of 500 ppm was administered consecutively from one day before bacterial inoculation to the day of autopsy, which was performed 11 and 25 days after bacterial inoculation. The SMMX-administered group showed distinct inhibition of bone atrophy of the concha nasalis (AR lesion) both macroscopically and electron microscopically, in contrast to the control group. Decrease in viable cell count of *B. bronchiseptica* in the concha nasalis was noted in the former group. The serum agglutination titer in the former group decreased to a low value. The capsule formation of SMMX-resistant *B. bronchiseptica* would thus appear to be inhibited in the presence of SMMX on the pigs concha nasalis, leading to inhibition of AR lesions.
3. The inhibitory effect of SMMX and other sulfonamides on the capsule formation of sulfonamide-resistant *B. bronchiseptica* was investigated. All the sulfonamides having MeO (-OCH₃) groups inhibited the capsule formation of *B. bronchiseptica*. Strong inhibition was obtained with SMMX. Inhibition was not seen with sulfonamides having no MeO groups.
4. The turbinate bone concentration of SMMX was about 7 μg/g at Tmax of serum (4 hours after oral administration of 25mg/kg). On the other hand, the concentration of SMMX in serum continued high level until 6 hours after oral administration of SMMX. These results show that the concentration of SMMX in turbinate bone of pigs is higher than minimum inhibition capsule formation on SMMX-resistant *B. bronchiseptica*.

討 論 (座長：澤田拓士 日獣大)

質問 (原田和記, 日獣大)

B. bronchiseptica についてサルファ剤が莢膜合成阻止作用を有するというご発表内容であるが、莢膜を有する他の菌種でも同様の現象が起こりうる可能性があるかどうか、お考えがあれば聞きたい。

答 (桑野 昭)

まず薬剤については、サルファ剤以外の数種の系統の抗菌性物質でも試したが、特に効果は認められなかった。また、他の菌種についても検討する予定であったが、途中で断念した経緯がある。

質問 (澤田拓士, 日獣大)

①サルファ剤で莢膜形成が阻止された菌の毒素 (DNT) 産生性は、②他の菌で同様の現象 (作用) が認められたといった報告があるか、③本現象の遺伝

子解析などが行われたという報告等がありますか。

答 (桑野 昭)

他の菌で同様の現象 (作用) が認められたといった報告は見当たりません。また、本現象の遺伝子解析についても報告はありません。

もし、多剤耐性菌などが増えてきて、抗菌薬がほとんど効かない時代がきたとき、病原菌の病原性や毒素をなくす方法も対応策の一つとして考えるのがよいと思われる。

発言 (藤倉孝夫, 動物衛生研究所 OB)

莢膜を欠如した菌種としては *B. bronchiseptica* が知られており、現在でも弱毒ワクチン株としてアフリカ各地などで広く使われている。

家畜におけるフルオロキノロン耐性菌の疫学

浅井鉄夫

農林水産省動物医薬品検査所（〒 185-8511 東京都国分寺市戸倉 1-15-1）

1. はじめに

現在、フルオロキノロンを含む抗菌性物質を食用動物で使用する事によって食中毒菌などが薬剤耐性化し、食品や畜産物を介して人の健康に及ぼすリスクに関する食品健康影響評価が、内閣府食品安全委員会により実施されている [17]。

わが国では、半世紀以上にわたり、畜産現場において法的規制の下で抗菌性物質が使用され、安全な畜産物の安定した供給に貢献してきた。しかし、薬剤耐性菌の出現によって、医療や獣医療の現場で「抗菌薬が効かない・効きが悪い」といった問題が生じている。食用動物用のフルオロキノロンは、1991年に日本でも承認されて以来、家畜の細菌感染症の治療に使用されてきた。本稿では、わが国の食用動物におけるフルオロキノロン耐性菌の現状を概説する。

2. フルオロキノロン

キノロンはナリジクス酸から始まる一連の合成抗菌薬で、大きくオールドキノロン（ナリジクス

酸、オキソリン酸など）とフルオロキノロンに分けられている。フルオロキノロンは、キノロンの構造の中にフッ素が導入されたもので、緑膿菌を含むグラム陰性菌からグラム陽性菌に及ぶ広い抗菌スペクトルを有し、良好な経口吸収性と組織移行性から、全身性細菌感性症の治療に使用されている。

わが国では、フルオロキノロンは、1991年11月に鶏および牛用のエンロフロキサシン製剤が承認されて以来、動物の細菌感染症の治療に使用されている。現在までに動物用フルオロキノロンとして、エンロフロキサシン、オフロキサシン、オルビフロキサシン、ジフロキサシン、ダノフロキサシンおよびノルフロキサシンの計6成分が動物の細菌感染症の治療に使用されている（表1）。牛では肺炎および大腸菌性下痢を適応症とした強制経口投与薬および注射薬が、豚では細菌性下痢、マイコプラズマ肺炎および胸膜肺炎を適応症とした飲水添加薬および注射薬が、鶏では大腸菌症および呼吸器性マイコプラズマ病を適応症とした飲水添加薬が流通している。動物におけるフルオロキノロン剤の使用量は、2000～2003年で全抗菌薬の使用量の1%未満（純末換算で6.3~7.4

表1 食用動物で使用されるフルオロキノロン製剤

	成分名	剤形	対象動物	承認年月
I	エンロフロキサシン (ERFX)	液剤, 注射剤	牛, 豚, 鶏	1991年11月
II	オフロキサシン (OFLX)	液剤	鶏	1992年7月
III	メシル酸ダノフロキサシン (DNFX)	散剤, 注射剤	牛, 豚, 鶏	1992年7月
IV	オルビフロキサシン (OBFX)	注射剤	牛, 豚	1993年11月
V	塩酸ジフロキサシン (DFLX)	散剤	豚	1996年2月
VI	ノルフロキサシン (NFLX)	散剤, 液剤	豚, 鶏	1998年4月

トン) と極めて少ない [7]。

3. 作用機序と耐性機構

キノロン剤のターゲットは、DNA ジャイレース (DNA gyrase) とトポイソメラーゼ IV である。これらは、DNA の複製に要するスーパーコイル構造の形成 (DNA ジャイレース) と複製終了後の DNA 鎖の分離 (トポイソメラーゼ IV) に作用する。主なキノロン耐性化機構は、ターゲット (DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV) の変異と薬剤のターゲットへの到着阻止 (外膜透過の阻害と排出の亢進) が知られている。詳細については、本誌の小澤の報告を参考にされたい。

4. 国内におけるフルオロキノロン耐性菌の分布

(1) 有効菌種における耐性菌の発現

国内で飼育されている家畜・家禽由来細菌の薬剤感受性が調査され、耐性菌の分布が明らかにされてきた。前述したようにフルオロキノロンは、家畜の呼吸器病と大腸菌性下痢の治療薬として使われている。フルオロキノロン耐性は、鶏の大腸菌症由来株では高率に認められるが、その他の有効菌種において現状では比較的低率である。

家畜の大腸菌症由来株では、フルオロキノロン耐性は 2001～2004 年には牛由来株で 10.3%、豚由来株で 11.9% [6]、2001～2006 年には鶏由来株で 21.7% [15] に認められている。しかし、健康な家畜から分離された大腸菌では、フルオロキノロン耐性は、低率である。Japanese Veterinary

Antimicrobial Resistance Monitoring System (JVARM) による 2000～2003 年度の成績では、フルオロキノロン耐性は、ブロイラー由来株で 4.5% と最も高率であるが、牛由来株で 0.3%、豚由来株で 2.0% および採卵鶏由来株で 2.6% であった [12]。また、2004～2007 年度においても同様である [3]。

牛や豚の呼吸器病の起因菌である *Mannheimia haemolytica* や *Actinobacillus pleuropneumoniae* においてフルオロキノロン耐性が報告されている [10, 13, 14]。また、*Pasteurella multocida* や *Mycoplasma bovis* においてもフルオロキノロンに対して感受性の低下した株が認められている [16]。

このように、有効菌種におけるフルオロキノロン耐性の発現および増加は、避けられない問題である。また、フルオロキノロン耐性の発現状況は、菌種により異なっていることから、治療薬剤の選定は慎重に実施する必要がある。家畜の臨床現場での薬剤の使用状況および効果、抗菌薬の慎重使用の考え方については、本誌の加藤および平山の報告を参考にされたい。

(2) 食中毒菌における耐性菌の発現

健康な家畜から分離されたサルモネラでは、フルオロキノロン耐性株は認められていない。しかし、2001 年に豚から分離された *Salmonella Choleraesuis* [4]、2001 年および 2005 年に牛から分離された *S. Typhimurium* DT12 [9,11] において、DNA ジャイレースとトポイソメラーゼ IV に変異があるフルオロキノロン耐性株が認められている。近年、島本らの研究グループにより牛由来 *S. Typhimurium* 2 株と鶏由来 *S. Thompson* でプラスミド性キノロン耐性遺伝子

表 2 フルオロキノロン製剤の有効菌種における耐性菌の出現状況

菌種	耐性率 (耐性株数/供試株数)	調査年度	引用文献
大腸菌	牛: 10.3% (6/57)	2001-2004	[6]
	豚: 11.9% (14/118)	2001-2004	[6]
	鶏: 21.7% (18/83)	2001-2006	[15]
<i>A. pleuropneumoniae</i>	豚: 1.6% (2/125)	1999-2000	[13]
<i>M. haemolytica</i>	牛: 10.5% (11/105)	2002-2006	[10]

(*qnr*) が報告され、Typhimurium DT104 が含まれていた [1]。*qnr* 保有株ではフルオロキノロンに対する高度耐性株の出現につながる可能性も示唆されていることから、*qnr* の動向については継続的なモニタリングが必要である。

カンピロバクターは、DNA ジャイレースにおける1か所の変異で、フルオロキノロン耐性を獲得する。カンピロバクターは、サルモネラや大腸菌に比べて、容易にフルオロキノロン耐性を獲得するため、健康動物由来にもかかわらず、カンピロバクターにおけるフルオロキノロン耐性は他の細菌に比べて高率である。カンピロバクター保菌動物へのフルオロキノロン投薬による耐性獲得試験の成績については、本誌の江崎の報告を参考にされたい。

家畜由来カンピロバクターでは、1999～2003年度に行われた全国調査では牛由来 *C. jejuni* で8.8~25.0%、ブロイラー由来 *C. jejuni* で5.7~40.5%、採卵鶏由来 *C. jejuni* で2.6~4.2%および豚由来 *C. coli* で21.3~34.9%であった [18]。2004～2007年度の調査では、牛由来 *C. jejuni* で0~27.3%、ブロイラー由来 *C. jejuni* で10.8~62.5%、採卵鶏由来 *C. jejuni* で0~18.9%および豚由来 *C. coli* で27.0~56.3%であり [3]、調査年度により若干の違いが認められるが、ブロイラー由来 *C. jejuni* と豚由来 *C. coli* で耐性率の増加が懸念される。

農場レベルで使用状況とフルオロキノロン耐性株の分布を解析すると、必ずしも一致しないことがある。農場内の薬剤耐性カンピロバクターの動向を明らかにするため、フルオロキノロン耐性 *C. jejuni* が分離された2農場で経時的な調査が行われた [8]。一方の農場ではフルオロキノロンが使用されていないにも関わらず、1年半後にも同一の薬剤耐性型および遺伝子型の *C. jejuni* が分離され、他方の農場では、フルオロキノロン耐性株を含め多様な株の侵入が繰り返された。また、フルオロキノロン耐性カンピロバクターが分離された農場での、現状のフルオロキノロンの使用率はきわめて低い [2]。このように、フルオロキノロン耐性カンピロバクターの分布は、様々な要因が関与している可能性が示唆されている。

5. 食用動物由来薬剤耐性菌のリスク管理の現状および課題

これまで述べてきたように、フルオロキノロンは、医療および獣医療上極めて重要な抗菌薬であり、第一次選択薬が無効な症例への使用（第二次選択薬）、薬剤感受性試験を行った上での使用および必要最小限の使用にとどめるなどの内容が添付文書の使用上の注意に記載されている。その他、動物用医薬品製造販売業者への製造販売後の販売量や耐性菌の発現状況の詳細な調査が義務付けられている。通常、全ての動物用の抗菌薬は、薬剤耐性の発現に留意した承認審査、製造販売後調査における安全性の評価、薬事法および獣医師法に基づいた薬を含む動物用医薬品の適正使用の徹底などが図られている。

6. おわりに

フルオロキノロンが家畜の細菌性疾病の治療に使用されるようになって18年が経過した。その間、多くの動物の生命が救われ、国際的にも獣医療上極めて重要な薬剤の一つに挙げられている [5]。獣医師は、細菌感染症に対する“特効薬”の一つであるフルオロキノロンの有効性を維持していく上で、抗菌薬の慎重使用に努めていかなければならない。

7. 謝辞

家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査は、全国の家畜保健衛生所、(独)農林水産消費安全技術センターと動物医薬品検査所との共同研究によって行われたものである。また、本調査に協力いただいた畜産関係各位に深謝いたします。

要約

食用動物のフルオロキノロン剤は、1991年に日本でも承認されて以来、家畜の細菌感染症の治療に広く使用されてきた。家畜の適応症の起因菌におけるフルオロキノロンに対する耐性の出現

は、家畜衛生上の問題に繋がり、家畜に分布する食中毒菌におけるフルオロキノロン耐性の出現は、公衆衛生上の問題となる。獣医師は、フルオロキノロン耐性薬の出現を防止するため、獣医療上極めて重要な抗菌薬の一つであるフルオロキノロンの慎重使用に努めていかなければならない。

引用文献

- 1) Ahmed AM, Ishida Y, Shimamoto T: Molecular characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from animals in Japan. J Appl Microbiol, 106, 402-409 (2009)
- 2) Asai T, Harada K, Ishihara K, Kojima A, Sameshima T, Tamura Y, Takahashi T: Association of antimicrobial resistance in *Campylobacter* isolated from food-producing animals with antimicrobial use on farms. Jpn J Infect Dis, 60, 290-294 (2007)
- 3) 浅井鉄夫, 小池良治, 小島明美, 小澤真名緒, 原田和記, 鮫島俊哉, 石川 整, 高橋敏雄: 家畜衛生分野における薬剤耐性に関する実態調査及び疫学的研究. 動薬検年報 (印刷中)
- 4) Esaki H, Chiu CH, Kojima A, Ishihara K, Asai T, Tamura Y, Takahashi T: Comparison of fluoroquinolone resistance genes of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis isolates in Japan and Taiwan. Jpn J Infect Dis, 57, 287-288 (2004)
- 5) FAO/WHO/OIE: [http://www.who.int/foodborne-disease/resources/Report % 20joint % 20CIA % 20Meeting.pdf](http://www.who.int/foodborne-disease/resources/Report%20joint%20CIA%20Meeting.pdf) Joint FAO/WHO/OIE Expert Meeting on Critically Important Antimicrobials. Report of the FAO/WHO/OIE Expert Meeting. Rome, Italy, 26-30 November 2007
- 6) Harada K, Asai T, Kojima A, Oda C, Ishihara K, Takahashi T: Antimicrobial susceptibility of pathogenic *Escherichia coli* isolated from the sick cattle and pigs in Japan. J Vet Med Sci, 67: 999-1003 (2005)
- 7) 平山紀夫, 伊藤文世: わが国における抗菌性物質の使用量の推移. 動物抗菌会報, 30, 10-18 (2008)
- 8) Ishihara K, Yano S, Nishimura M, Asai T, Kojima A, Takahashi T, Tamura Y: The dynamics of antimicrobial-resistant *Campylobacter jejuni* on Japanese broiler farms. J Vet Med Sci, 68: 515-518 (2006)
- 9) Izumiya H, Mori K, Kurazono T, Yamaguchi M, Higashide M, Konishi N, Kai A, Morita K, Terajima J, Watanabe H: Characterization of isolates of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium displaying high-level fluoroquinolone resistance in Japan. J Clin Microbiol, 43, 5074-5079 (2005)
- 10) 勝田 賢: *Mannheimia haemolytica* の血清型動向と薬剤感受性. 臨床獣医, 26, 61-64 (2008)
- 11) Kawagoe K, Mine, H, Asai T, Kojima A, Ishihara K, Harada K, Izumiya H, Terajima J, Watanabe H, Honda E, Tamura Y, Takahashi T, Sameshima T: Changes of multi-drug resistance pattern in *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium isolates from food-producing animals in Japan. J Vet Med Sci, 69, 1211-1213 (2007)
- 12) Kojima A, Asai T, Ishihara K, Morioka A, Akimoto K, Sugimoto Y, Sato T, Tamura Y, Takahashi T: National monitoring for antimicrobial resistance among indicator bacteria isolated from food-producing animals in Japan. J Vet Med Sci, 71, 1301-1308 (2009)
- 13) 守岡綾子, 浅井鉄夫, 高橋敏雄: 1999 ~ 2000 年に国内で分離された *Actinobacillus pleuropneumoniae* の薬剤感受性. 日獣会誌, 59, 815-819 (2006)
- 14) Ozawa M, Asai T, Sameshima T: Mutations in GyrA and ParC in fluoroquinolone-resistant *Mannheimia haemolytica* isolates from cattle in Japan. J Vet Med Sci, 71, 493-494 (2009)
- 15) Ozawa M, Harada K, Kojima A, Asai T, Sameshima T: Antimicrobial susceptibilities, serogroups and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates in Japan. Avian Dis, 52, 392-396 (2008)
- 16) 笹村晋平: 日本におけるエンロフロキサシン (ERFX) 薬剤感受性モニタリング成績. 臨床獣医, 26, 65-67 (2008)
- 17) 食品安全委員会: http://www.fsc.go.jp/senmon/doubutu/taiseikin_hyokasisin.pdf 家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針. (2004)

- 18) 高橋敏雄, 浅井鉄夫, 小島明美, 石原加奈子, 41, 63-67 (2004)
木島まゆみ, 守岡綾子, 江寄英剛, 田村 豊:
家畜由来薬剤耐性菌の実態調査. 動薬検年報,

Epidemiology of Fluoroquinolone-resistant Bacteria in Food-producing Animals in Japan

Tetsuo ASAI

*National Veterinary Assay Laboratory, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries,
1-15-1 Tokura, Kokubunji, Tokyo 185-8511, Japan*

In Japan, since the first approval of fluoroquinolones of food-producing animals in 1991, fluoroquinolones have been used for treatment of bacterial diseases in the animals. Emergence of fluoroquinolone resistance in pathogenic bacteria, for which fluoroquinolones is indicated to be used, leads to animal health concerns. In addition, emergence of fluoroquinolone resistance in foodborne bacteria can lead to a public health issue. Veterinarians should prudently use fluoroquinolones, a critically important antimicrobial, to prevent emergence of the antimicrobial resistance in food-producing animals.

討 論 (座長：田村 豊 酪農大, 高橋敏雄 動薬検)

質問 (佐藤静夫, 科飼研)

キノロン耐性菌の発現が、農場における同薬剤の使用歴と関係ない場合がある。大腸菌における耐性菌移行経路として孵化場を指摘した論文がありますので、耐性菌の垂直伝播も検討を要するのでは。(牛,

豚での導入も含めて)

答 (浅井鉄夫, 動薬検)

検討すべき課題と考えています。あとの発表者の方が専門的でわかると思います。

畜産現場におけるフルオロキノロンの使用状況と臨床効果

－特に牛呼吸器病に対するエンロフロキサシンの使用と 起因菌の薬剤感受性の関係－

加藤敏英

山形県農業共済組合連合会（NOSAI 山形）中央家畜診療所北村山出張所
（〒 995-0201 山形県村山市大字長善寺仲田 266-2）

1. はじめに

牛呼吸器病症候群（Bovine Respiratory Disease Complex ; BRDC）は、子牛や育成牛などの若齢牛や輸送直後の肥育素牛に多発する疾病である。わが国の肉牛農場では飼養規模の大型化が急速に進んでおり、BRDC 発生率は地域を問わず増加傾向にある。BRDC は飼養環境の急変や飼育密度の過度な上昇、牛舎内のアンモニアガス、寒冷感作、栄養不足などが誘因となり、ウイルスや各種細菌が気道に感染、増殖し発症する。主な起因菌として、各種細菌やマイコプラズマなどが知られており、治療には各種抗菌性物質が広く用いられている。このような状況の中で、近年、抗菌性物質の使用による薬剤耐性菌の出現が問題視されており、人医療のみならず獣医療においても看過できない状況となっている。特に、人医療で重要とされているフルオロキノロン（FQ）や第3世代セフェム系抗菌薬は、獣医療においても同様に「切り札的役割」を担っており、これらに対する病原菌の薬剤感受性維持が最重要課題と言っても過言ではない。

FQ は 1990 年代初めから動物用医薬品として使用されているが、山形県ではそれに先んじて 1986 年より承認申請に係る臨床試験で牛細菌性呼吸器病および下痢症に用いてきた。したがって、使用量増加による起因菌の薬剤感受性低下が懸念

される状況にある。そこで、本稿では山形県で得られた 1986 年から 2008 年までの牛呼吸器病起因菌のエンロフロキサシン（ERFX）に対する薬剤感受性試験成績を中心に、同一農場の感受性の変化について考察する。

2. 材料および方法

(1) 牛呼吸器病罹患牛から分離された起因菌の ERFX に対する薬剤感受性

山形県において 1986 年度から 2003 年度に臨床症状から呼吸器病と診断された肉用子牛と肥育育成牛（合計 848 頭）について検査した。検査材料は鼻腔深部拭い液とし、以下の手順で採取した。すなわち、検査牛の頭部を保定し、アルコール綿にて鼻腔を可能な限り清拭後、長さ 30 又は 50cm の滅菌綿棒を深部まで挿入して採取した。採取した拭い液は、細菌用とマイコプラズマ用それぞれ専用の輸送培地にて冷蔵状態で検査機関に搬送した。分離対象起因菌は主に *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma bovis* および *Ureaplasma diversum* とした。なお、検査は日清製粉(株)検査所、(株)京都動物検査センター、日本全薬工業(株)中央研究所などに依頼した。

(2) 健康牛から分離された起因菌の薬剤感受性

2004 年度から 2008 年度に、NOSAI 山形の「薬

剤耐性モニタリング事業」として、県内の呼吸器病多発肉牛農場を中心に延べ 49 農場の非発症牛（健康牛）899 頭について検査した。検査材料の採取方法や検査依頼機関などについては、前述と同様であった。農場での ERFX 使用状況と薬剤感受性について調べるため、2004 年度と 2007 年度（8 農場；A～H）、2005 年度と 2007 年度（1 農場；I）または 2008 年度（7 農場；J～P）の成績を比較した。

さらに、*M. bovis* に対する ERFX の MIC 値の上昇が認められた 2 つの大規模育成農場で FQ 製剤の使用を中止または制限し、感受性の推移を調べた。

(3) 肉用牛飼養頭数と FQ 製剤購入量

ERFX をはじめ、FQ 製剤のほとんどが肉用牛に用いられることから、県内の家畜共済加入肉用牛頭数（≡飼養頭数）と NOSAI 山形の FQ 製剤の購入量について 1999 年度と 2005 年度および 2008 年度を比較した。

3. 成績

(1) 牛呼吸器病罹患牛から分離された起因菌の ERFX に対する薬剤感受性

起因菌の分離率は年度によりバラつきがみられたが、*P. multocida* が 26.5～66.7%、*M. haemolytica* が 5.4～23.1% 分離され、*M. bovis* が 6.8～79.2%、*U. diversum* が 0～69.1% 分離された（表 1）。このほか、成績には示さないが、*Mycoplasma bovirhinis*（10.6～82.4%）および *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*)（0～5.1%）も分離された。

これら起因菌の ERFX に対する薬剤感受性の推移は年度により若干差はあるものの、MIC₉₀ は概ね低い値で推移した（*P. multocida*；0.013～1.56 mg/L、*M. haemolytica*；0.013～0.78 mg/L、*M. bovis*；0.20～1.56 mg/L、*U. diversum*；0.39～1.56 mg/L）（表 2）。一方、ERFX 以外の薬剤では、例えば *P. multocida*、*M. haemolytica* に対するアンピシリン（ABPC）および *M. bovis*、*U. diversum* に対するタイロシンの MIC 値分布範囲は年代が進むごとに高い方に広がる傾向が認められた。

(2) 健康牛から分離された起因菌の薬剤感受性

調査年度ごとの起因菌分離成績をみると、*P. multocida* は 67.3～88.9%、*M. haemolytica* は 8.9～27.3%、*M. bovis* は 33.5～57.7%、*U. diversum* は 8.4～35.1% 分離された。分離率は農場により差異がみられ、*M. haemolytica* や *M. bovis* が分離されない農場もあった（表 3）。

年度ごとに起因菌に対する ERFX の感受性をみると、*P. multocida* および *M. haemolytica* に対する MIC₉₀ は 2004 年から 2007 年まで 0.031～0.25 mg/L と低い値を維持したが、2008 年には 2 mg/L と若干上昇していた。2004 年度と 2007 年度に調査した 8 農場（A～H）由来細菌に対する ERFX の感受性は調査年度による差はほとんどなかった。しかし、2005 年度に調査した 8 農場（I～P）のうち 2 農場（K および M）では 2008 年度の分離株の多くに対して MIC が 2mg/L とやや高くなっていた（表 4）。

次に、ERFX の *U. diversum* に対する MIC₉₀ はほとんど変化なく推移したが、*M. bovis* に対するそれは 2005 年度に 32 mg/L と著しく上昇していた（表 4）。これを農場ごとに分析すると、A～H ならびに K～P 農場分離株では常に低い値で推移したが、2005 年度に I 農場で分離された 37 株のうち 31 株が 32 mg/L、5 株が 16mg/L と高い MIC を示し、同様に J 農場でも 5 株の MIC が 16 mg/L と高く、明らかな二峰性分布を示した（表 4、5）。

この成績に基づき、I 農場では FQ 製剤の使用を休止し、J 農場では使用頻度を減じた結果、2007 年度あるいは 2008 年度の *M. bovis* に対する MIC が I 農場では 0.25～8 mg/L、J 農場では 0.39 と 0.78 mg/L に低下した（表 5）。

(3) 肉用牛飼養頭数と FQ 系抗菌製剤購入量

1999 年度を 100 とした時の肉用牛飼養頭数は、2005 年度が 103、2008 年度が 119 であった。また、同様に FQ 製剤のうち ERFX の購入量は 2005 年度および 2008 年度ともに 183、ダノフロキサシン（DNFX）のそれは 2005 年度が 122、2008 年度が 155 であった（図 1）。

表 1 呼吸器病罹患牛における年度ごとの起因菌分離成績

菌種	'86~'87 (n=68)	'88~'90 (n=106)	'91 (n=37)	'92~'93 (n=63)	'94~'95 (n=55)	'96~'97 (n=198)	'98~2000 (n=192)	'01~'02 (n=39)	'03 (n=90)	合計 (n=848)
<i>M. haemolytica</i>	— *	—	2 (5.4)	12 (19.0)	9 (16.4)	22 (11.1)	12 (6.3)	9 (23.1)	20 (22.2)	86 (12.8)
<i>P. multocida</i>	18 (26.5)	56 (52.8)	14 (37.8)	27 (42.9)	25 (45.5)	81 (40.9)	114 (59.4)	23 (59.0)	60 (66.7)	418 (49.3)
<i>M. bovis</i>	15 (22.1)	84 (79.2)	10 (27.0)	15 (23.8)	13 (23.6)	53 (26.8)	13 (6.8)	14 (35.9)	42 (46.7)	259 (30.5)
<i>U. diversum</i>	47 (69.1)	49 (46.2)	8 (21.6)	0	0	24 (12.1)	19 (9.9)	5 (12.8)	21 (23.3)	173 (20.4)
菌分離陽性頭数	66 (97.1)	95 (89.6)	26 (70.3)	43 (68.3)	41 (74.5)	140 (70.7)	141 (73.4)	33 (84.6)	79 (87.8)	664 (78.3)

数字は頭数, () は供試牛に対する%, * ; 検査せず

表 2 呼吸器病罹患牛由来株に対する ERFX の MIC

菌種	'86~'87	'88~'90	'91	'92~'93	'94~'95	'96~'97	'98~2000	'01~'02	'03
<i>M. haemolytica</i>	— *	—	—	—	0.013 (0.013)	0.20 (0.013~0.20)	0.39 (0.013~0.39)	0.78 (0.05~0.78)	0.39 (0.05~0.39)
<i>P. multocida</i>	0.78 (0.05~0.78)	0.025 (0.025)	—	—	0.013 (0.013)	0.05 (0.013~0.20)	0.025 (0.013~0.39)	0.10 (0.013~0.78)	1.56 (0.025~1.56)
<i>M. bovis</i>	0.39 (0.20~1.56)	1.56 (0.20~1.56)	—	—	0.39 (0.39)	1.56 (0.025~3.13)	1.56 (0.10~1.56)	0.20 (0.10~0.20)	0.78 (0.10~0.78)
<i>U. diversum</i>	—	0.39 (0.10~0.78)	—	—	—	0.78 (0.10~0.78)	0.39 (0.10~0.39)	—	1.56 (0.10~1.56)

上段が MIC₉₀, 下段が MIC の範囲 (単位 ; mg/L), * ; 検査せず

表 3 健康牛における年度ごとの起因菌分離成績

菌種	2004年 (n=202)	2005年 (n=194)	2006年 (n=191)	2007年 (n=190)	2008年 (n=112)	合計 (n=889)
<i>M. haemolytica</i>	54 (26.7)	53 (27.3)	52 (27.2)	40 (21.1)	10 (8.9)	209 (23.5)
<i>P. multocida</i>	136 (67.3)	145 (74.7)	146 (76.4)	169 (88.9)	79 (70.5)	675 (75.9)
<i>M. bovis</i>	87 (43.1)	112 (57.7)	64 (33.5)	71 (37.4)	45 (40.2)	379 (42.6)
<i>U. diversum</i>	71 (35.1)	43 (22.2)	64 (33.5)	16 (8.4)	28 (25.0)	222 (25.0)
菌分離陽性頭数	179 (88.6)	180 (92.8)	177 (92.7)	183 (96.3)	99 (88.4)	818 (92.0)

数字は頭数, () は供試牛に対する %

表 4 健康牛由来株に対する ERFX の MIC

	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年
検査農場	A~H	I~P	Q~Z	A~H,I	J~P
<i>M. haemolytica</i>	0.25 (0.031~0.25)	0.25 (0.031~0.25)	0.25 (0.031~0.25)	0.031 (0.031~0.25)	2 (0.125~2)
<i>P. multocida</i>	0.031 (0.031~1)	0.031 (0.031)	0.063 (0.031~1)	0.031 (0.031~1)	2 (0.125~2)
<i>M. bovis</i>	0.25 (0.063~0.5)	32 (0.063~32)	0.5 (0.25~8)	1 (0.25~8)	0.78 (0.20~0.78)
<i>U. diversum</i>	2 (0.5~4)	4 (2~4)	— *	—	1.56 (0.10~1.56)

上段が MIC₉₀, 下段が MIC の範囲 (単位 ; mg/L), * ; 検査せず

表 5 I および J 農場における *M. bovis* の ERFX に対する MIC の比較

I 農場	MIC	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32
2005年 株数 (n=37)				1						5	31
2007年 株数 (n=8)				3			1		4		
J 農場	MIC	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32
2005年 株数 (n=18)		2		11							5
2008年 株数 (n=8)					7 (0.39)	1 (0.78)					

MIC の単位は mg/L, J 農場の 2008 年は MIC 値が 0.39 と 0.78 mg/L

4. 考 察

山形県内の肉用牛から分離された呼吸器病起因菌に対する ERFX の感受性は、多くの農場で 1986 年から現在までほとんど変わっていない。また、NOSAI 山形の薬剤耐性モニタリング事業として 2004 年度から 5 年間、健康牛由来起因菌の薬剤感受性検査を実施した。その調査対象の大半を占めた小中規模農場由来細菌では全く変化が

みられなかったが、大規模育成農場由来細菌では ERFX の感受性低下がみられたものもあった。この要因として、小中規模農場では大規模農場に比べ BRDC 発生率が低く、ERFX の使用量が少ないことに加え、使用基準に準拠することにより使用量がある程度抑制されていることが挙げられる。一方、大規模農場の中でも哺育・育成農場では BRDC の発生率が高く、抗菌性物質使用量が多いことから、ERFX など FQ の使用量も増加することが挙げられる。

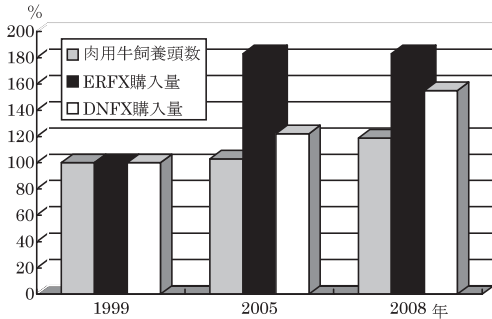


図 1 山形県の肉用牛飼養頭数と FQ 製剤購入の推移

今回の調査で 2005 年度に大規模な 2 つの育成農場で ERFX が *M. bovis* に低感受性を示した。これは同年度の検査前に当該農場で BRDC が多発し、二次感染対策として抗菌性物質を投与する機会が多く、結果的に FQ 製剤の使用量が急増していたことが一因であると推察された。そこで、これら農場での FQ 製剤の使用を休止または制限したところ、2 年後あるいは 3 年後には ERFX の *M. bovis* に対する感受性は改善された。

同様の現象が同時期に ABPC でも認められている。すなわち、BRDC 治療に ABPC を長期間第一次選択していた農場では、*P. multocida* に対する ABPC の MIC が上昇し臨床効果が低下したものの、3 年間の使用休止により MIC が再び低値を示した (未発表)。これらの成績は、臨床現場における使用量制限がその抗菌性物質に対する菌の感受性回復を促し、ひいては臨床効果の回復につながることを示唆している。抗菌力が低下したある種の薬剤がそれを回復するまでに要する期間は不明であり、薬剤の種類やそれまでの総使用量などにより農場ごとでも差があるものと推察されるが、使用制限が有効な手段の一つになり得るものと考えられた。

近年、医学および獣医学領域において、ERFX を含む FQ のさまざまな起因菌に対する耐性化に関する報告がみられる [1-6]。畜産現場における FQ 耐性に関する報告の多くは *M. haemolytica* の血清型 6 型に対するもの (二階堂と小原; 北獣会誌講演要旨, 52 (8), 2008, 勝田; 年次大会要旨集, 2009) であるが、幸い現時点では山形県で分離された *M. haemolytica* 6 型に耐性化は確認されてい

ない (未発表)。しかし、これらの成績は、抗菌性物質の使用量に加え起因菌自体の変化にも留意する必要性をも示唆している。また、山形県における肉用牛飼養頭数は今後も緩やかながら伸び続けることが予想されることから、FQ 製剤使用量もそれに伴って増加する可能性が考えられる。農場ごとの薬剤感受性試験や治療プログラム検証などを通じ、同系抗菌薬をできるだけ長く使用できる環境を整えなければならない。

成績では触れなかったが、呼吸器病多発農場で分離起因菌に対し ERFX が高い感受性を示しているにもかかわらず、臨床効果が認められなかった事例に遭遇した。病性鑑定の結果、主因は牛 RS ウイルスであることが判明し、その後のワクチン接種により呼吸器病発生数が激減した (山形県中央家畜保健衛生所調べ)。この事例から、呼吸器症状と抗菌性物質を短絡的に結ぶことの危険性ととも、疫学的アプローチの重要性を学ぶことができた。すなわち、さまざまな検査成績や情報分析が科学的根拠を生み出し、臨床現場における抗菌性物質の慎重使用を可能にすると考えられた。

要 約

1986 年度から 2003 年度に、山形県において呼吸器病罹患牛 848 頭の鼻腔拭い液から分離された起因菌のエンロフロキサシン (ERFX) に対する薬剤感受性 (MIC) を調べた。その結果、*Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma bovis* および *Ureaplasma diversum* は概ね高い感受性のまま推移していた。一方、2004 年度から 2008 年度の間に臨床的に健康な肉用牛の鼻腔拭い液から分離された起因菌の薬剤感受性を調べたところ、2005 年度に 2 つの肥育農場から分離された *M. bovis* の一部に FQ 低感受性株が認められた。この 2 農場において ERFX の使用を制限したところ、2 年後または 3 年後には MIC 値が低くなり、二峰性分布はみられなくなった。このことは、使用量と薬剤感受性との密接な関係を示唆している。一方、*P. multocida* と *M. haemolytica* に対する ERFX の MIC₉₀ は 2007 年度までは 0.031 ~ 0.25 mg/L と低値で推移したが、

2008 年度には他の 2 農場で分離された菌株の多くが 2 mg/L と 2005 年度に比べやや高くなっていった。本県の FQ 製剤購入量は現在も増加傾向にあることから、今後農場によっては同系製剤の使用頻度を制御する必要性が示唆された。

引用文献

- 1) Deguchi T, Kawamura T, Yasuda M, Nakano M, Fukuda H, Kato N, Okano Y, Kawada Y: *In vivo* selection of *Klebsiella pneumoniae* strains with enhanced quinolone resistance during fluoroquinolone treatment of urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother*, 41, 1609-1611 (1997)
- 2) 國東博之, 小林 治, 河合 伸: ニューキノロン経口抗菌薬の適用と限界. *化学療法の領域*, 18, 58-64 (2002)
- 3) 鎌田 寛: 小動物における薬剤耐性菌の動向. *動物抗菌会報*, 23, 26-35 (2005)
- 4) 秋庭正人: 動物に対するキノロン系抗菌剤の使用と耐性菌選択との関連. *動物抗菌会報*, 30, 29-33 (2008)
- 5) 高橋敏雄, 守岡綾子, 石原加奈子, 木島まゆみ, 小島明美, 大園智子, 舟橋かおり, 田村 豊: 国内における家畜由来耐性菌について. *動物抗菌会報*, 23, 9-16 (2001)
- 6) 小池新平, 井上恭一, 米山州二, 市川 優, 田島和彦: 栃木県で過去 16 年間に分離された牛呼吸器病原因菌の薬剤感受性調査. *日獣会誌*, 62, 533-537 (2009)

Current Use and Clinical Efficacy of Fluoroquinolones in Livestock Field: Use of Enrofloxacin for Bovine Respiratory Diseases and Susceptibility of Causative Bacteria to the Antimicrobials

Toshihide KATOH

*Kitamura-yama Branch Station, Central Livestock Clinic, Agricultural Mutual Aid Association of Yamagata Prefecture,
266-2 Nakata, Ooaza Chozenji, Murayama-shi, Yamagata 995-0201, Japan*

In vitro enrofloxacin (ERFX) susceptibility was examined in bovine respiratory disease-causing bacteria (*Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma bovis* and *Ureaplasma diversum*) that were recovered from nasal swabs of diseased and apparently healthy cattle in Yamagata prefecture between 1986-2003 and 2004-2008, respectively. The minimum inhibitory concentrations (MICs) for ERFX in *P. multocida* and *U. diversum* isolates from diseased cattle and *M. haemolytica* and *P. multocida* isolates from healthy cattle tended to increase. These findings may be associated with the increase of the usage of fluoroquinolones (enrofloxacin and danofloxacin) for cattle increased in the prefecture between 1999 and 2008. On the other hand, when the use of fluoroquinolones on farms where ERFX-resistant *M. bovis* isolates were isolated has been disused or regulated for two or three years, MICs for ERFX were likely to decrease. This result suggests that the regulation of fluoroquinolone usage is effective for decreasing the prevalence of fluoroquinolone-resistant bacteria in cattle.

討 論 (座長：田村 豊 酪農大, 高橋敏雄 動薬検)

質問 (平山紀夫, 畜安研)

第一次選択薬の治療効果が70%で, 第二次選択薬を使うと100%になったということですか。

答 (加藤敏英)

その通りです。

質問 (川崎武志, 人と鳥の健康研究所)

過去の経験でブロイラー農場では耐性菌が出現した際, 3カ月使用せずにいると耐性菌が見られなくなったことがある。ブロイラーの飼養期間は約1.5カ月ですべての個体が入替わる。牛では2~3年使用しないと感受性が戻ってくるとのことだったが, その農場において飼養個体が全て入れ替わるのと関係するのか, 牛は農場に飼養される期間はどのくらいか。

答 (加藤敏英)

牛は農場に飼養される期間が2年から3年であるが, 農場単位としてはその間にすべての個体が入替わっている訳ではない。したがって, 農場単位で全個体が入替わることで感受性が回復したということではない。

質問 (田村 豊, 酪農学園大学)

臨床現場でサイクリング療法を行うにあたり, 獣医師の意思統一をどのように行うのか。

答 (加藤敏英)

獣医師全員で会議を重ねることにより, 意思統一

を図った。化学療法の知識が豊富な獣医師の強いリーダーシップが必要である。

質問 (松本修治, 大日本住友製薬)

①先生の発表の中に「フロルフェニコール (第一次選択) → FQ (第二次選択) と, アンピシリン → FQ」の二つのパターンが示されていますが, 第一次選択薬をFFにするか, ABPCにするかはどこで分けていますか。

②ABPCは普通の製剤とロングアクティングで「ロングアクティングの方が良かった」という経験はお持ちですか。

答 (加藤敏英)

①簡単に言うと *Mycoplasma* が混合感染しているかどうか, している場合にはフロルフェニコール, していない, あるいは *Mycoplasma* 関与の可能性が低ければアンピシリンと, 大雑把だがそういう風に分けている。関与の有無については農場の過去の治療成績から推測しているが, それでうまくいかない症例については, また新たに考えることにしている。

②ABPCの濃度をあげる必要はないと思う。したがって, ロングアクティングのものをあえて使おうという選択はしない。むしろ, ABPC系であれば, 基準量の投薬を二回に分けて行った方が効果が上がっているという事例はある。

in vivo におけるフルオロキノロンの耐性獲得試験

江崎英剛

(動物産生物科学安全研究所 (〒 229-1132 神奈川県相模原市橋本台 3-7-11))

1. はじめに

近年、カンピロバクターは細菌性食中毒における主原因の一つとなっているが、諸外国および国内において過去に実施された調査研究の結果、本菌はフルオロキノロン (FQ) に耐性を獲得しやすい性質を有していることが明らかになった [1-5]。しかし、これらの試験の多くはエンフロキサシン (ERFX) を供試しており、その他に承認されている FQ 製剤についても同様の傾向が認められるかについては、十分な知見が得られてはいない。また、多くは鶏を用いて行われているため、豚および牛においても同様の結果が得られるかについても不明である。

家畜において出現した FQ 耐性カンピロバクターの食品などを介して人の健康へ及ぼす影響が懸念されており、現在、食品安全委員会において、そのリスク評価作業が進められている。FQ が家畜に使用された場合に選択される耐性カンピロバクターの発生評価には、耐性菌の出現および伝播の程度を把握する必要がある。

以上の不明点を明らかにすることを目的として、カンピロバクターを定着させた家畜 (鶏、牛および豚) に FQ を投与した際の耐性菌出現に及ぼす影響、および家畜における FQ 耐性カンピロバクターの水平伝播の程度を調べたので、その成績を紹介する。

2. FQ 製剤を投与した鶏、牛および豚における耐性カンピロバクターの出現

(1) 目的

本試験では、被験物質である ERFX およびその他の FQ 製剤を、日本国内で承認されている用法・用量に従い、鶏、豚および牛に投与した際、FQ 耐性カンピロバクターの発生などに被験物質間で違いがあるかを調べた。

(2) 材料と方法

ア. 各動物試験において共通の検査

鶏、豚および牛について、試験期間中は経時的に糞便の採材を行い、カンピロバクターの検査を実施した。カンピロバクターの分離・同定は定法に従い、菌種同定は PCR 法により実施した [6]。

分離したカンピロバクターに対する FQ の最小発育阻止濃度測定は、Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) の方法 [7] に準じ、寒天平板希釈法により測定した。ブレイクポイントは文献値 [8] を参考に、いずれの FQ についても 2mg/L とした。

カンピロバクター分離株はパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による解析を行った。PFGE は PulseNet (<http://www.cdc.gov/pulsenet/>) の方法に準じた。

FQ 耐性菌株の *gyrA* 遺伝子解析：FQ 耐性カンピロバクター分離株については、*gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域における変異の有無を調べた [9]。

イ. 鶏を用いた試験

カンピロバクター非保有であることを確認し

た3週齢のブロイラーを各群8羽ずつ供試した。カンピロバクターの水平伝播を防ぐため、FQ製剤投与群と対照群は別室で飼育し、また、個体同士を73cm(2ケージ分)以上隔離し、かつケージに仕切り板を入れた環境下で単飼した。飼料はSPF鶏用飼料(NFS-4,日生研株)を不断給与した。飲水については水道水を不断給与した。

接種に用いた *Campylobacter jejuni* PD123 株(鶏由来, FQ感受性, 北里大学 中村政幸教授より分譲)を, 馬血液添加ミュラーヒントン寒天培地で37°C, 48時間培養し, 0.1%ペプトン加生理食塩液に懸濁した菌液を, 胃ゾンデを用いて鶏1羽に対して1.0mLずつ経口接種した(接種菌量: 3.8×10^8 CFU/1.0mL/羽)。なお, 本菌株のブロイラーへの定着性については, 試験前に, ブロイラーに菌を接種し, 接種後2週間にわたって糞便中にカンピロバクターが検出されることを確認した。

被検物質であるFQ製剤は, 上市されている「バイトリル10%液」(成分:ERFX, バイエル薬品株)および「オキサリジン液」(成分:オフロキサシン [OFLX], 第一ファインケミカル株)を購入して用いた。菌液接種後1週間の馴化期間をおいた後, 試験群には, 被検物質である各製剤を用法・用量に従い, 3日間飲水添加により投薬した。対照群は無投薬とした。

ウ. 牛を用いた試験

FQ耐性菌を保有しないことを確認した2~3カ月齢のホルスタイン種を各群4頭ずつ供試した。供試動物は同一畜舎内において単飼牛房で個別飼育し, 個体間における水平伝播を防ぐため, 個体同士を5.7m(3牛房)以上隔離した条件下で飼育した。配合飼料(牛試験用配合飼料「SDC No.2」, 日本配合飼料株)を1日1頭あたり体重の1~2%給与し, 乾草(チモシー, 明治乳業株)を不断給餌し, 飼料用ミネラル入り固形塩(ミネラル入り食塩混合飼料「パワーブロック」, 日本配合飼料株)を自由に舐食させた。飲水についてはウォーターカップを用いて水道水を自由摂取させた。

接種に用いた *C. jejuni* 11-114 株(牛由来, FQ感受性, 農林水産省動物医薬品検査所より分譲)を5%馬血液添加ミュラーヒントン寒天培地

で37°C, 48時間培養した後, 0.1%ペプトン加生理食塩液に懸濁した。本菌液を牛1頭に対して50mLずつ胃ゾンデを用いて接種した(2.6×10^9 CFU/50mL/頭)。なお, 本菌株の供試動物への定着性については, 菌投与3日後および7日後に糞便を採取し, 糞便中にカンピロバクターが検出されることを確認した。

被検物質であるFQ製剤は, 上市されている「バイトリル10%注射液」(成分:ERFX, バイエル薬品株)および「アドボシン注射液」(成分:ダノフロキサシン [DNFX], ファイザー製薬株)を購入して用い, 試験群には菌接種後7日目から3日間, 被検物質である各製剤を用法・用量に従い投与した。対照群は無投薬とした。

エ. 豚を用いた試験

18日齢の2nd-SPF豚(WLD種)を使用した。供試動物の糞便について, カンピロバクター検査を実施したところ, いずれの動物からも *C. coli* が検出されたが, いずれもFQ感受性であったことから, これらの *C. coli* のFQ耐性を調べることを目的として, FQ投与試験を実施した。隔離実験施設内の3実験室にて1室5頭を群飼した。飼料はミニブタ用飼料NSA(日生研株)を1日1回十分量を自由摂取させ, また, 水道水を自由飲水させた。

上市されている「バイトリル10%液」(成分:ERFX, バイエル薬品株)および「インフェック2%散」(成分:ノルフロキサシン [NFLX], 株科学飼料研究所)を購入して用いた。馴化期間(9日間)終了後, 試験群には被検物質である各製剤を用法・用量に従い投与した。対照群は無投薬とした。

(3) 結果

ア. 鶏を用いた試験

対照群では, 菌接種後から試験終了時まで全個体からカンピロバクターが検出されたが, 耐性菌は検出されなかった。ERFX投与群においては, 投薬開始後2日目から耐性菌の出現が認められたのに対して, OFLX投与群においては, 投与後4日目から耐性菌が検出された(表1)。また, 投与後7日目の時点で, ERFX投与群においては, 8羽中5羽からFQ耐性菌が検出され, OFLX投

表 1 FQ 投薬による動物腸管内カンピロバクターの耐性化

動物 (飼育形態)	投薬 FQ の種類	耐性菌出現日 ¹⁾	耐性菌出現頻度 ²⁾
鶏 (単飼)	ERFX	2 日目	5/8
	OFLX	4 日目	1/8
	— ³⁾	非検出	0/8
牛 (単飼)	ERFX	4 日目	3/4
	DNFX	4 日目	3/4
	—	非検出	0/4
豚 (群飼)	ERFX	4 日目	5/5
	NLFX	3 日目	5/5
	—	非検出	0/5

1) 初めて FQ 耐性菌が出現した FQ 剤投与後の日数

2) 試験期間内に FQ 耐性菌が出現した個体の割合

3) 非投薬

与群においては、耐性菌は 8 羽中 1 羽から検出された。

イ. 牛を用いた試験

対照群ではカンピロバクターは検出されたものの、耐性カンピロバクターは検出されなかった。一方、ERFX および DNFX 投与群においては、一部の個体においては、FQ 投薬開始後 3 日目以降カンピロバクターが検出されなくなった後、再び菌が検出されるようになったが、DNFX 投与群の中には試験終了時までカンピロバクターが検出されないままの個体も認められた。ERFX および DNFX 投与群のいずれにおいても、FQ 投与後 4 日目から耐性菌の出現が認められ、4 頭中 3 頭から耐性菌が検出された。

ウ. 豚を用いた試験

対照群では、カンピロバクターは検出されたものの、FQ 耐性菌の出現は認められなかった。一方、ERFX 投与群において、投薬開始後 2 日目に

カンピロバクターが検出されなくなったものの、翌日以降には再び検出されるようになり、それと同時期に耐性菌が検出されるようになった。一方、NLFX 投与群においては投薬開始後 3 日目から耐性菌の出現が認められた。ERFX および NLFX 投与群のいずれにおいても 5 頭中 5 頭から耐性菌が検出された。

エ. FQ 耐性株の *gyrA* 遺伝子の変異

鶏および牛から分離された *C. jejuni* に対する FQ の感受性を調べ、耐性株については *gyrA* 遺伝子の変異を調べた。鶏からの分離株に対する結果を表 2 に示す。感受性菌の MIC 値はいずれの FQ も ≤ 0.25 mg/L であり、FQ 耐性株に対する ERFX、OFLX および CPFYX の MIC はそれぞれ 4~8、16~32 および 8~32 mg/L であった。耐性株に対する ERFX の MIC は、OFLX および CPFYX のそれに比べて 1~2 管低かった。耐性株について、*gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域

表 2 鶏由来 *Campylobacter jejuni* に対する薬剤感受性および *gyrA* 遺伝子の変異

菌株	MIC (mg/L)			<i>gyrA</i> 遺伝子変異 (Thr ⁸⁶)
	ERFX	OFLX	CPFYX	
投与株	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	—
感受性分離株 (対照群)	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	—
耐性分離株 (ERFX 群)	8	16-32	16-32	ACA → ATA
耐性分離株 (OFLX 群)	8	32	32	ACA → ATA

について遺伝子配列を調べた (表 2)。いずれの耐性菌株においても 86 位のスレオニン (Thr) がイソロイシン (Ile) に変異していた (ACA → ATA)。牛についても同様の結果が得られ、ERFX および DNXF 投与群から分離された耐性菌は種々の FQ に対して同程度の MIC を示し、*gyrA* 遺伝子に同一の変異が確認された。

さらに、FQ 感受性株が耐性化したことを確認するため、*SmaI* および *KpnI* で制限酵素処理による PFGE 解析を実施したところ、感受性株および耐性株のいずれも同一のバンドパターンを示した。

(4) 考察

ブロイラーに対し FQ 製剤を投薬した際、ERFX、OFLX いずれの投薬群においても、腸管内 *C. jejuni* の耐性化が認められた。投与する FQ 製剤により耐性化に違いが認められ、ERFX を投与した際には、群全体に比較的速やかな耐性化が認められたが、OFLX を投与した場合、耐性菌の出現は一部の個体に限定されていた。投薬する FQ 製剤の種類により、腸管内カンピロバクターの FQ に対する耐性獲得の程度が異なる可能性が考えられた。

3. FQ 耐性カンピロバクターの水平伝播

(1) 目的

鶏、牛および豚において FQ 耐性カンピロバクター保有個体から非保有個体への耐性菌の水平伝播の程度 (頻度、速度など) を調べることを目的として実施した。

(2) 材料と方法

各畜種において、下記の同居群を 2 群ずつ設け、FQ 製剤投与と非投与の条件で試験した。なお、動物の飼育管理等の条件は、いずれの畜種においても前述の方法に従った。

鶏では、前述の試験で作出された FQ 耐性カンピロバクター保有鶏 1 羽 (6 週齢) を非保有鶏 (3 週齢) 5 羽と同居させた。

牛では、前述の試験で作出された FQ 耐性カン

ピロバクター保有牛 1 頭 (4 カ月齢) を非保有牛 3 頭 (3 ~ 4 カ月齢) と同居させた。なお、本試験は同一条件で 2 回実施した。

豚では、FQ 耐性カンピロバクター保菌豚 (2 カ月齢) 1 頭を非保有個体 (2 カ月齢) 5 頭と同居させた。FQ 投与群には、上市されている「バイトリル 10% 液」(鶏用) もしくは「バイトリル 10% 注射液」(牛、豚用) を購入して用いた。

耐性菌保有個体と非保有個体を同居させた後、経時的に糞便の採材を行い、糞便からの菌分離およびその解析については、前述の方法により行った。

(3) 結果

鶏では、ERFX 非投薬、投薬のいずれの条件においても、同居後 4 日目から耐性菌の伝播が認められた。ERFX 非投薬条件においては、非保有鶏 5 羽のうち 4 羽に、投与条件においては、5 羽全てに耐性菌の伝播が認められた (表 3)。

牛では、ERFX 非投与条件においては同居後 3 日目から伝播が確認されたのに対し、ERFX 投与条件においては、同居後 2 日目に伝播が確認された。ERFX 投薬期間中に伝播が確認されたことから、投薬による選択圧により伝播しやすくなっている可能性が考えられた。一方、ERFX 非投与、投与条件ともに非保有牛 6 頭のうち 3 頭にのみ伝播が認められた。伝播した菌について、PFGE および *gyrA* 遺伝子の変異を調べたところ、いずれの保有牛がもつ FQ 耐性菌とも同一のパターンを

表 3 動物間における FQ 耐性カンピロバクターの水平伝播

動物	ERFX 投与	伝播日 ¹⁾	伝播頻度 ²⁾
鶏	無	4 日目	4/5
	有	4 日目	5/5
牛	無	3 日目	4/6
	有	2 日目	3/6
豚	無	1 日目	5/5
	有	1 日目	5/5

1) 同居後初めて非保有個体に耐性菌が出現した日

2) 試験期間内に FQ 耐性菌の出現が認められた、耐性菌非保有個体の割合

示したことから、水平伝播したものと考えられる。

豚では、ERFX 非投薬、投薬条件のいずれにおいても、同居後 2 日目から耐性菌の伝播が認められた。ERFX 非投薬条件においては同居後 3 日目に、ERFX 投薬群においては同居後 2 日目に、全ての非保有個体に対して耐性菌の伝播が認められた。

(4) 考 察

鶏、牛および豚において、FQ 耐性菌は保有動物から非保有動物へ速やかに伝播された。牛および豚の ERFX 投薬条件においては、投薬期間中から菌の伝播が認められた。一方、伝播状況については、鶏および豚で大半の動物に伝播されたのに対して、牛においては半数の動物にしか伝播されなかった。飼育方法の違いや、鶏では床面を啄むなどの動物の習性の違いにより、動物種間で伝播の程度に違いが生じた可能性が考えられる。水平伝播が生じる要因として、動物同士の接触以外に、飼育環境の汚染を介した感染が挙げられる。環境中の汚染源を特定し、除去することが伝播を防止する上で有効な手段と考えられる。

4. おわりに

本試験は、カンピロバクター感染鶏、牛および豚における FQ 耐性カンピロバクターの出現・伝播に関する世界でも初めての総合的な試験である。今回の結果から、動物腸管内に生息するカンピロバクターは、FQ の投薬により耐性化すること、また、生じた耐性菌は動物間で伝播する可能性が示唆された。このような家畜における FQ 耐性カンピロバクターに対して、以下のリスク管理法を提案する。

- (1) FQ を使用している農場では、感染制御として、畜舎へのより厳しい感染防止策を導入し、併せて、現場の細菌学的なモニタリングを行い、病原細菌自体を持ち込まない対策を講じる。
- (2) カンピロバクターが感染した場合、FQ 投薬の中止や慎重使用を実践する。
- (3) 飼料槽および給水槽の清掃や床掃除などと

いった飼育環境の清掃・消毒を実施し、水はけを良くするなど飼育環境を乾燥した状態に保つ。

5. 謝 辞

本発表における調査・研究に際して、試験協力いただきました酪農学園大学 田村 豊教授および村松康和教授に心より感謝いたします。

本稿は、平成 18 年度に農林水産省から当研究所へ委託された「抗菌性物質薬剤耐性菌評価情報整備事業」において実施した調査研究結果をまとめたものである。

6. 要 約

(1) フルオロキノロン剤を投与した鶏、牛および豚における耐性カンピロバクターの出現
鶏、牛および豚のいずれの動物に対しても、FQ 製剤を規定量投与した際、腸管内カンピロバクターは速やかに耐性を獲得した。耐性菌出現状況は、使用した FQ 製剤の種類、動物種、飼育形態などにより以下のような違いが認められた。

鶏および牛から分離された FQ 耐性 *C. jejuni* の遺伝子解析を行ったところ、いずれの耐性株においても *gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域の 86 位のスレオニンがイソロイシンに変異していた (ACA → ATA)。また、鶏および牛から分離された FQ 耐性および感受性 *C. jejuni* についてパルスフィールド電気泳動法による解析を行ったところ、耐性株および感受性株いずれも同一のバンドパターンを示した。これらのことから、動物に投与した FQ 製剤により感受性株の *gyrA* 遺伝子に変異し、耐性化した可能性が考えられた。

なお、牛および豚については、カンピロバクターと同時に腸管内の大腸菌および腸球菌についても調査したが、FQ 投薬後、これらの菌の耐性化は確認されなかった。

- (2) フルオロキノロン耐性菌保有個体から非保有個体への耐性カンピロバクターの水平伝播
FQ 耐性カンピロバクター保有個体に非保有個

体を同居させたところ、鶏、牛および豚のいずれの動物においても、耐性菌の伝播が認められた。ERFX 投薬による選択圧が伝播速度および頻度を加速する可能性については、牛では速まる可能性が考えられたものの、他の動物種においては特に確認できなかった。ERFX 投薬の有無にかかわらず、耐性菌は同居している動物間で速やかに伝播したことから、FQ 耐性カンピロバクターの水平伝播には、動物同士の接触や排泄された糞便が大きな役割を演じることが考えられたが、エンロフロキサシン投与による選択圧が伝播速度および頻度を加速する可能性については、いずれの動物種においても確認されなかった。

引用文献

- 1) McDermott PF, Bodeis SM, English LL, White DG, Walker RD, Zhao S, Simjee S, Wagner DD: Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. *J Infect Dis*, 185, 837-840 (2002)
- 2) Luo N, Sahin O, Lin J, Michel LO, Zhang Q: In vivo selection of *Campylobacter* isolates with high levels of fluoroquinolone resistance associated with *gyrA* mutations and the function of the CmeABC efflux pump. *Antimicrob Agents Chemother*, 47, 390-394 (2003)
- 3) van Boven M, Veldman KT, de Jong MC, Mevius DJ: Rapid selection of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* but not in *Escherichia coli* in individually housed broilers. *J Antimicrob Chemother*, 52, 719-723 (2003)
- 4) Takahashi T, Ishihara K, Kojima A, Asai T, Harada K, Tamura Y: Emergence of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* in chickens exposed to enrofloxacin treatment at the inherent dosage licensed in Japan. *J Vet Med B*, 52, 460-464 (2005)
- 5) Delsol AA, Sunderland J, Woodward MJ, Pumbwe L, Piddock LJ, Roe JM: Emergence of fluoroquinolone resistance in the native *Campylobacter coli* population of pigs exposed to enrofloxacin. *J Antimicrob Chemother*, 53, 872-874 (2004)
- 6) Linton D, Lawson AJ, Owen RJ, Stanley J: PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J Clin Microbiol*, 35, 2568-2572 (1997)
- 7) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved standard—second edition M31-A2, NCCLS, Wayne, PA, USA (2002)
- 8) McDermott PF, Bodeis SM, Aarestrup FM, Brown S, Traczewski M, Fedorka-Cray P, Wallace M, Critchley IA, Thornsberry C, Graff S, Flamm R, Beyer J, Shortridge D, Piddock LJ, Ricci V, Johnson MM, Jones RN, Reller B, Mirrett S, Aldrobi J, Rennie R, Brosnikoff C, Turnbull L, Stein G, Schooley S, Hanson RA, Walker RD: Development of a standardized susceptibility test for campylobacter with quality-control ranges for ciprofloxacin, doxycycline, erythromycin, gentamicin, and meropenem. *Microb Drug Resist*, 10, 124-131 (2004)
- 9) Griggs DJ, Johnson MM, Frost JA, Humphrey T, Jørgensen F, Piddock LJ: Incidence and mechanism of ciprofloxacin resistance in *Campylobacter* spp. isolated from commercial poultry flocks in the United Kingdom before, during, and after fluoroquinolone treatment. *Antimicrob Agents Chemother*, 49, 699-707 (2005)

in vivo Study of Fluoroquinolone Resistant *Campylobacter* spp. in Food-producing Animals

Hidetake ESAKI

Research Institute for Animal Science in Biochemistry & Toxicology,
3-7-11, Hashimotodai, Sagamihara, Kanagawa 229-1132, Japan

The present experimental studies were performed to determine and compare the emergence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* spp. in chicken, cattle and pig during and after treatment with fluoroquinolones at the inherent dosage licensed in Japan. And the disseminations of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* spp. in animals were also evaluated.

To determine the molecular basis of resistant mechanism, mutations in *gyrA* gene of fluoroquinolone resistant *Campylobacter* isolates were checked. PFGE analysis were performed to confirm the relatedness of inoculated *Campylobacter* strains and resistant isolates.

Treatment with fluoroquinolones rapidly selected for high frequencies of fluoroquinolone-resistant isolates and they had been detected during and after the withdrawal period of fluoroquinolones. Fluoroquinolone-resistant isolates were selected in all fluoroquinolone-treated groups. Identical mutation in the *gyrA* gene was detected in all fluoroquinolone resistant isolates. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* isolates were transmitted in animals rapidly after the *Campylobacter* positive animal was housed in the negative animals.

From these results, three significant findings should be discussed. (1) Licensed dosages of fluoroquinolones are not always effective in *Campylobacter* in broiler, cattle and pig. (2) Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* spp. would be emerged by the de novo selection of resistance in individual chickens, cattles and pigs after the treatment of fluoroquinolones licensed in Japan. (3) Once fluoroquinolone resistant *Campylobacter* spp. emerged, the dissemination of the isolates would be occurred rapidly in the herd.

討 論 (座長: 田村 豊 酪農大, 高橋敏雄 動薬検)

質問 (秋庭正人, 動衛研)

gyrA 遺伝子上の一箇所の変異でフルオキノロン耐性になることは、他の菌とは異なると思われる。*gyrA* を含むトポイソメラーゼ遺伝子の構造がカンピロバクターでは他の菌と異なっているのか。

答 (江寄英剛)

カンピロバクターはトポイソメラーゼIVを保有しない。ジャイレースの構造が他の菌と異なるかどうかはわからない。

質問 (高橋敏雄, 動薬検)

鶏における FQ 耐性獲得試験においては、ERFX 投薬群と OFLX 投薬群との間では FQ 耐性株出現率に

顕著な差が認められている。この事象について、更なる考察をお願いしたい。

答 (江寄英剛)

一回やった試験での結果なので、たまたま OFLX 投薬群の方では 8 頭中 1 頭という出現頻度だったという可能性と、もう一つは実際にそうである可能性という風に考えられると思う。私としてはもう少し試験を繰り返してみないと本当に耐性が高いのか、低いのかはなかなかいえないと思う。高橋先生の方で実施された試験のように、耐性菌が確認されないということもあるので投与のタイミングやそのときの菌量などが要因としてあると思う。

質問 (佐藤静夫, 科学飼料研究所)

牛における実験では子牛だと思いますが, カンピロバクターの感染経過について基礎データがありますか。サルモネラでは第一胃の機能が発達していない子牛では易感染性なのか。粗飼料を主にした飼料を与えていない成牛ではサルモネラの感染は成立しないとの報告もありますが, カンピロバクターの場合は, この辺のことを考慮する必要はありませんか。

答 (江寄英剛)

今回供試した牛は2~3ヵ月齢であり, 第一胃の機能の発達についてはあまり深く考えておりませんでした。今回の結果では定着が確認されましたが, これは, カンピロバクターが牛にとって非病原性であることが関係しているかも知れません。

今回の実験は子牛を用いておりますので, 成牛とは区別する必要があるかも知れません。

家畜由来細菌のフルオロキノロン耐性機構

小澤真名緒

農林水産省動物医薬品検査所 (〒 185-8511 東京都国分寺市戸倉 1-15-1)

1. はじめに

フルオロキノロンは人医療と同様に獣医療上も極めて重要な抗菌薬であり、1991年に国内で食用動物への使用が承認されてから20年近くが経過しているが、この間、家畜由来各種細菌でフルオロキノロン耐性菌が報告されている。フルオロキノロンの耐性機構の研究は人臨床分離株において多くの研究者によって進められてきており、DNAの複製、転写、組換え、修復などに重要な役割を果たしている標的酵素 (DNA ジャイレースとトポイソメラーゼ IV) の変異、薬剤取り込み低下や薬剤排出促進が知られている。また、プラスミドやインテグロンによるキノロン耐性因子の伝達という新たな耐性機構も近年発見されているが、家畜由来細菌での報告は少ない。本稿ではフルオロキノロンの耐性機構を伝達性因子による耐性を含めて概説し、その後家畜由来各種細菌における耐性機構を実際の例に基づいて紹介する。

2. キノロンに対する耐性機構

(1) 標的酵素 (DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV) の変異による耐性

トポイソメラーゼ (topoisomerase) とは、DNAの複製、転写などの過程で2本鎖DNAを切断・再結合する酵素の総称である。このうち2本鎖DNAの一方のみを切断するものをI型トポイソメラーゼ、両方を切断するものをII型トポイソメラーゼという。キノロンの標的酵素としては、II型トポイソメラーゼであるDNA ジャイレ

ースとトポイソメラーゼ IV が知られている。DNA ジャイレースは2本鎖DNAを同時に切断・再結合することによりDNAに負のスーパーコイルを導入する。トポイソメラーゼ IV は、2本鎖DNAの切断と再結合の反復によって複製終了後のDNAの分離を行う。DNA ジャイレースは *gyrA* 遺伝子産物であるサブユニット A (GyrA) 2分子と *gyrB* 遺伝子産物であるサブユニット B (GyrB) 2分子からなる。フルオロキノロンは GyrA に作用しDNA ジャイレース活性を阻害することが明らかとなっている。その作用機序としては、キノロンは2本鎖DNAがDNA ジャイレースによって切断された切断面にはまり込み (quinolone pocket), DNA 鎖の再結合を阻害することによって抗菌作用を示すというモデルが提唱されている (図1) [30]。

DNA ジャイレース変異株はキノロンに耐性を示すことが各種細菌で報告されているが、その変異部位は大腸菌では GyrA タンパクの N 末端から 67 ~ 106 番目までの比較的狭い領域に局在しており、この領域はキノロン耐性決定領域 (quinolone resistance-determining region : QRDR) と呼ばれている [36]。QRDR は、DNA ジャイレースの作用により切断されたDNAの5'末端と共有結合する部位である122番目のチロシンの近くに位置しており、この中でも83番目のセリンと87番目のアスパラギン酸に変異が集中している。このことから、83番目のセリンと87番目のアスパラギン酸の近傍はジャイレース-キノロン-DNA複合体が相互作用を示す重要な部位であると推定されており、この近辺におけるアミノ酸の変異によって、標的酵素とキノロンの親和性

が低下しキノロンに対して耐性化すると考えられている [4]。大腸菌以外の細菌でも QRDR のアミノ酸配列が調べられているが、菌種間で配列がよく保存されており、変異部位も似ていることが報告されている [38]。トポイソメラーゼ IV もキノロンの標的酵素であり、*parC* 遺伝子産物であるサブユニット 2 分子と *parE* 遺伝子産物であるサブユニット 2 分子からなる。ParC タンパク質は GyrA と、ParE は GyrB と高い相同性を示す。トポイソメラーゼ IV は、大腸菌では 80 番目のアミノ酸のセリンと 84 番目のアミノ酸のグルタミン酸に変異が多い。

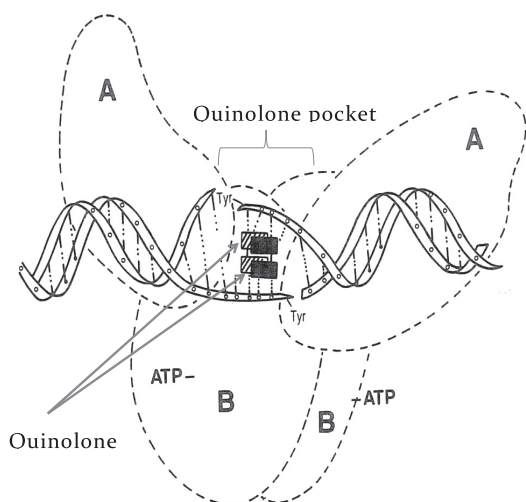


図 1 キノロンの作用モデル (Shen *et al.* [30] を改変)

DNA ジャイレースとトポイソメラーゼ IV のキノロンに対する感受性は、菌種によって異なる。一般的に、大腸菌などのグラム陰性菌では *gyrA* が、ブドウ球菌などのグラム陽性菌では *parC* がキノロンのプライマリーターゲットとなる (表 1) [14]。しかし、グラム陽性菌における *parC* については、ストレプトコッカス・ニューモニエやエンテロコッカス・フェカリスのように、キノロンの種類によってプライマリーターゲットが *gyrA* となる場合があることも報告されている [22, 25]。キノロンの作用によりプライマリーターゲットにおいて変異が起こるとキノロンの MIC の上昇が認められるが、その他の部位に変異が起こると耐性度がさらに上昇する。大腸菌においては、*gyrA* に 1 か所変異が入るとオールドキノロンであるナリジクス酸に耐性となる。フルオロキノロンの MIC は野生型と比較して上昇するが、まだ耐性とはならない。*gyrA* または *parC* にもう一か所変異が入ると MIC がさらに上昇し、フルオロキノロンにも耐性となる。さらに変異が入ると MIC が上昇し、*gyrA* に 2 カ所、*parC* に 2 カ所変異が入った株は高度耐性を示す (表 2) [29, 33]。

(2) 膜透過性の変化による耐性

大腸菌の細胞壁の外膜には、菌体内に物質が通過するための通過孔であるポーリンがある。ポーリンを形成する主要なタンパク質には OmpF と

表 1 各菌種における標的酵素 (Köhler and Pechère [14] を改変)

菌名	プライマリーターゲット	セカンダリーターゲット
グラム陰性菌		
<i>Escherichia coli</i>	GyrA	GyrB, ParC, ParE
<i>Salmonella Typhimurium</i>	GyrA	GyrB
<i>Klebsiella</i>	GyrA	ParC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	GyrA	GyrB
<i>Mannheimia haemolytica</i>	GyrA	ParC
グラム陽性菌		
<i>Staphylococcus aureus</i>	ParC	GyrA, GyrB
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	キノロンの種類によって変わる	
<i>Enterococcus faecalis</i>	キノロンの種類によって変わる	
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	ParC	GyrA

表2 大腸菌における標的酵素の変異とシプロフロキサシンに対する MIC の関係
(Webber and Piddock [33] を改変)

遺伝子型	MIC ($\mu\text{g/mL}$)
野生型	0.015
GyrA における 1 か所の変異	2-4
GyrA における 2 か所の変異	4-8
GyrA における 1 か所の変異 + ParC における 1 か所の変異	4-8
GyrA における 2 か所の変異 + ParC における 1 か所の変異	8-32
GyrA における 2 か所の変異 + ParC における 2 か所の変異	64

OmpC があるが、これらの発現のダウンレギュレーションは、細菌内のキノロンの取り込みを減少させる [20]。フルオロキノロンを含んだ培地で選択した株では、膜透過性に関与する遺伝子の変異が認められ、OmpF の減少によると考えられる感受性の低下が認められた。さらに、これらの株では LPS にも変化があり、LPS も膜透過性に関与している可能性が指摘されている [12]。

薬剤排出ポンプによる細菌内からの排出も、キノロンに対する感受性に関与する。大腸菌では RND (Resistance Nodulation Division) 型の排出システムである AcrA-AcrB-TolC がキノロンの排出に関与している [21]。緑膿菌においては、キノロン耐性変異株ではキノロンの菌体内蓄積が野生株と比較して低下していた。この取り込み量の低下はポンプ阻害剤によって回復するため、菌体内蓄積量の低下は透過性の低下ではなく菌体外への排出によることが確認されている [13]。緑膿菌では大腸菌と同じ RND 型の MexA-MexB-OprM 排出システムがキノロンの排出に関与しているが [10]、これは大腸菌の AcrA-AcrB-TolC との相同性が高い。

(3) 伝達性因子による耐性

長い間キノロン耐性には伝達性のものはないと考えられていたが、近年何種類か伝達性のキノロン耐性因子が報告されている。Qnr (後に QnrA となる) は初めて報告された伝達性のキノロン耐性因子であり、1998 年に米国で人臨床由来のク

レブシェラ・ニューモニエで発見された [18]。その後現在までに QnrB, QnrC, QnrD, QnrS が報告されており、さらに、QnrA には 6 種類、QnrB には 19 種類、QnrS には 3 種類の変異型が報告されている [5, 6]。Qnr の作用機序としては、DNA ジャイレースとトポイソメラーゼ IV に直接結合することによって、これらの酵素がキノロンの作用を受けにくくなり、感受性が低下すると考えられている [32]。大腸菌の野生株に Qnr を導入すると、ナリジクス酸に対する MIC が 2-8 倍、シプロフロキサシンに対する MIC が 4-128 倍上昇した [5]。また、Qnr を導入した株は、野生株と比較して 100 倍以上の頻度でキノロン耐性株を選択した [18]。一方、Qnr を導入した株をキノロンで選択しても、トポイソメラーゼが変異した株を選択する頻度は野生株より低いという報告もあり [8]、Qnr がキノロン耐性株の選択に与える影響は明らかではない。しかし、Qnr は MPC (Mutant Prevention Concentration) を 10 倍以上上昇させ、*in vivo* でキノロンに対する高度耐性株の選択を促進する可能性がある [28]。現在までに、人臨床由来株では世界中で、大腸菌、サルモネラ、エンテロバクター、クレブシェラなどで Qnr の存在が確認されている [5]。家畜では、中国の豚、家禽由来株で [15, 17, 37]、エジプトの子牛由来株で [3]、イタリアの家禽由来株で [7]、Qnr の存在が報告されている。日本においても、牛と鶏由来のサルモネラで QnrS1 の存在が最近報告された [1]。

違うタイプの伝達性キノロン耐性因子である *aac(6)-Ib-cr* が 2006 年に人臨床分離株の大腸菌で報告された [27]。*aac(6)-Ib* 遺伝子は、アミノグリコシド系抗菌性物質耐性に関与するアミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼの一種であるが、AAC(6)-Ib-cr はその変異型である。作用機序としては、キノロンをアセチル化して活性を低下させることにより耐性化すると考えられている。*aac(6)-Ib-cr* を導入した株では、シプロフロキサシンとノルフロキサシンで MIC が 2-4 倍上昇した [27]。また、MPC も 10 倍以上上昇するため、*in vivo* でキノロンに対する高度耐性株の選択を促進する可能性がある [27]。AAC(6)-Ib-cr につ

いても、人臨床分離株では多数の報告があるが、家畜では中国の豚、鶏由来株とエジプトの子牛由来株での報告がある。日本では家畜由来株での報告はないが、動物園の飼育動物から分離されている [2]。

QepA は最近発見された伝達性のキノロン耐性因子であり、2007 年に日本とベルギーにおいて大腸菌の人臨床分離株で報告された [26, 34]。qepA 遺伝子は、14 回膜貫通型の薬剤排出ポンプと類似したタンパク質をコードしており、作用機序としては能動的な薬剤排出によりキノロンに対する感受性が低下する。qepA を導入した株は、野生型と比べて親水性のキノロン（ノルフロキサシン、シプロフロキサシン、エンロフロキサシン）に対する MIC が 8 から 32 倍上昇した [26]。qepA は他の伝達性キノロン耐性因子と比較して、人臨床分離株での保有率が低く (0.3%) [34]、家畜での報告も中国の豚由来株のみである [15, 17]。

3. 家畜由来細菌におけるフルオロキノロン耐性

現在、国内では家畜由来の大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター、アクチノバチルス・ブルロニューモニエ、マンヘミア・ヘモリティカ、豚丹毒菌でフルオロキノロン耐性株が報告されている。これらの菌種におけるキノロン耐性機構について、標的酵素の変異に関する調査はほとんどの菌種で行われている。しかし、それ以外の耐性機構、特に伝達性因子についての調査はほとんど行われていない。ここでは、いくつかの菌種につい

て標的酵素の変異を中心とした耐性機構と関連情報を紹介する。

(1) 鶏大腸菌由来大腸菌のフルオロキノロン耐性

2001 年から 2006 年にかけて分離された鶏大腸菌由来大腸菌の 21.7% がフルオロキノロン耐性であり、フルオロキノロン耐性株の 50% が血清群 O78 に属していた。パルスフィールドゲル電気泳動による解析では、血清群 O78 のフルオロキノロン耐性株 9 株中 8 株が同じクラスターに属していた。標的酵素のタンパク質の変異を調べたところ、中等度の耐性を示すフルオロキノロン耐性株は GyrA に 2 カ所と ParC に 1 カ所の同一の変異が認められた。また、GyrA に 2 カ所、ParC に 2 カ所の変異を持つ株は、MIC が 256-512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ という高度耐性を示した (表 3)。以上の結果から、国内でフルオロキノロン耐性を示す O78 株の特定の PFGE 型が広く分布していることが示唆された [24]。

(2) マンヘミア・ヘモリティカのフルオロキノロン耐性

マンヘミア・ヘモリティカについて、2001 年から 2002 年に分離された株ではフルオロキノロン耐性はなかったが [9]、2004 年に分離された株でフルオロキノロン耐性株が認められた。感受性株と耐性株について標的酵素の変異を調べたところ、GyrA に変異が 1 カ所入るとエンロフロキサシンとナリジクス酸に対する MIC が上昇し、ナリジクス酸耐性となった。GyrA に変異が 2 カ所入ると MIC はさらに上昇した。さらに ParC

表 3 鶏大腸菌由来大腸菌における標的酵素の変異と MIC (Ozawa *et al.* [24])

株数	変 異			MIC for enrofloxacin (mg/L)
	GyrA	GyrB	ParC	
16	Ser83-Leu Asp87-Asn	-	Ser80-Ile	8-32
2	Ser83-Leu Asp87-Asn	-	Ser80-Ile Glu84-Gly	256-512

Ser, セリン; Asp, アスパラギン酸; Leu, ロイシン; Asn, アスパラギン;
Ile, イソロイシン; Glu, グルタミン酸; Gly, グリシン

に変異が1カ所入るとエンロフロキサシンに耐性を示した(表4)。このように、標的酵素の変異に応じて様々な耐性度を示す株が認められ、これは野外におけるフルオロキノロンの使用状況を反映している可能性が考えられた。また、マンヘミアにおいてはキノロンのプライマリーターゲットはGyrAであると考えられた[23]。

(3) カンピロバクターのフルオロキノロン耐性

国内における健康家畜由来カンピロバクターの2004年の薬剤感受性調査成績では、キノロン耐性率は牛由来カンピロバクター・ジェジュニで16.2%、ブロイラー由来カンピロバクター・ジェジュニで10.8%、レイヤー由来カンピロバクター・ジェジュニで10.2%、豚由来カンピロバクター・コリで26.4%であった[11]。カンピロバクターにおいても標的酵素の変異によってキノロン耐性となるが、カンピロバクターではトポイソメラーゼIVが存在せず、GyrAの変異のみでキノロン耐性となる[16]。*C.jejuni*でもっとも頻度の高いGyrAの86位のスレオニンからイソロイシンの変異は高度耐性を示すが、同じ86位の変異でもスレオニンからリジンの変異は中度耐性を示す。また、90位のアスパラギンからアスパラギン酸への変異でも中度耐性を示す[16]。カンピロバクターのキノロン耐性においては、多剤耐性に関係するポンプであるCmeABCの関与も知られている。ポンプを不活化した株では、野生株と比較して*in vitro*でキノロン耐性変異株の出現頻度が著しく減少したが、ポンプを過剰発現させた株では、キノロン耐性株の出現頻度は10倍以上になった[35]。さらに、カンピロバクターでは、キノロン

の投与により鶏の生体内で容易に耐性株が選択されるという報告もあるが、これはGyrAの変異のみで耐性化するということと、カンピロバクターの変異性の高さによると考えられる[16, 31]。

(4) 豚丹毒菌のフルオロキノロン耐性

豚丹毒菌においては長い間フルオロキノロン耐性は認められなかったが、2006年にと畜場由来株で初めてフルオロキノロン耐性株が報告された[19]。この耐性株について標的酵素の変異を調べた結果、GyrAとParCにアミノ酸の変異が認められた。*in vitro*でフルオロキノロン耐性株を選択し、標的酵素の変異を調べたところ、軽度に感受性が低下した変異株でParCに変異が生じ、さらに感受性が低下した変異株ではGyrAに変異が認められた。以上の結果から、豚丹毒菌においては他のグラム陽性菌と同様に、プライマリーターゲットはParCであると考えられた[39]。わが国では豚丹毒菌を効能として承認されているフルオロキノロン製剤はなく、この耐性株がどのような機序で発生したかは不明である。

4. おわりに

キノロンの耐性機構としては、以上説明したように標的酵素の変異、膜透過性の変化、伝達性因子が関与しており、これらの相互作用により全体的な耐性度が決定されると考えられるがその詳細は明らかではない。特に、伝達性のキノロン耐性因子については、いずれも単独で高度耐性を示すわけではないが、標的酵素の変異など他の耐性機構と共同して高度耐性化する可能性や、MPCの

表4 マンヘミア・ヘモリチカにおける標的酵素の変異とMIC (Ozawa *et al.* [23])

MIC for enrofloxacin (mg/L)	MIC for nalidixic acid (mg/L)	GyrA 変異		ParC 変異
		83	80	87
≤ 0.03	1-2	Ser	Ser	Asp
0.125	64	Ser	Ser	Asp → Gly
0.25-0.5	64-128	Ser → Phe	Ser	Asp
		Ser → Tyr		Asp
8	128	Ser → Phe	Ser → Ile	Asp → Gly

Ser, セリン; Asp, アスパラギン酸; Gly, グリシン; Phe, フェニルアラニン; Tyr, チロシン; Ile, イソロイシン

上昇により生体内で高度耐性株を選択する可能性が示唆されており、臨床上の重要性については今後検討が必要である。家畜由来細菌のキノロン耐性については、伝達性因子の分布状況の調査、キノロン耐性のリスクファクターの検討等が今後の課題と考えられる。いずれにしても、家畜にキノロンを使用する場合は、キノロンの耐性動向だけでなく、耐性機構も理解した上で慎重に使用することが望まれる。

要約

フルオロキノロンに対する耐性機構としては、DNAの複製・転写・組換え・修復などに重要な役割を果たしている標的酵素（DNA ジャイレースとトポイソメラーゼ IV）の変異、薬剤取り込み低下や薬剤排出促進、プラスミドやインテグロンによるキノロン耐性因子の伝達があげられる。主要な耐性機構である標的酵素の変化においては、キノロンに暴露されることによりキノロン耐性決定領域に点変異が起り、耐性が生じる。大腸菌、サルモネラ、マンヘミアなどのグラム陰性菌については、FQのプライマリーターゲットはDNA ジャイレースであるが、ブドウ球菌や豚丹毒菌などのグラム陽性菌についてはトポイソメラーゼ IVである。カンピロバクターについては、トポイソメラーゼ IVが存在せず、DNA ジャイレースの変異のみで耐性となる。伝達性のキノロン耐性因子であるQnr, AAC(6)-Ibc-cr, QepAについては、それぞれ標的酵素の保護、キノロンのアセチル化による活性の低下、能動的な薬剤排出によりキノロンに対する感受性が低下する。

現在までに国内において、家畜由来の大腸菌、腸球菌、カンピロバクター、サルモネラ、アクチノバチルス・プルロニューモニエ、マンヘミア・ヘモリティカおよび豚丹毒菌で耐性菌が報告されている。国内の家畜由来株を用いた動物医薬品検査所の調査では、鶏大腸菌症由来大腸菌において、血清群 O78 で標的酵素に同じ変異を持つ FQ 耐性株が国内に広く分布していることが示されている。また、マンヘミアでは、耐性株は少ないが、キノロンの耐性度に応じた標的酵素の変異が確認

されている。

キノロンに対する耐性機構としては、いくつかの要因の相互作用により全体的な耐性度が決定されると考えられるがその詳細は明らかではない。特に、伝達性のキノロン耐性因子の臨床上の重要性については今後検討が必要である。家畜由来細菌のキノロン耐性については、伝達性因子の分布状況の調査が今後の課題と考えられる。

引用文献

- 1) Ahmed AM, Ishida Y, Shimamoto T: Molecular characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from animals in Japan. *J Appl Microbiol*, 106, 402-409 (2009)
- 2) Ahmed AM, Motoi Y, Sato M, Maruyama A, Watanabe H, Fukumoto Y, Shimamoto T: Zoo animals as reservoirs of gram-negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. *Appl Environ Microbiol*, 73, 6686-6690 (2007)
- 3) Ahmed AM, Younis EE, Osman SA, Ishida Y, El-Khodery SA, Shimamoto T: Genetic analysis of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from diarrheic neonatal calves. *Vet Microbiol*, 136, 397-402 (2009)
- 4) Barnard FM, Maxwell A: Interaction between DNA gyrase and quinolones: effects of alanine mutations at GyrA subunit residues Ser(83) and Asp(87). *Antimicrob Agents Chemother*, 45, 1994-2000 (2001)
- 5) Cattoir V, Nordmann P: Plasmid-mediated quinolone resistance in gram-negative bacterial species: an update. *Curr Med Chem*, 16, 1028-1046 (2009)
- 6) Cavaco LM, Hasman H, Xia S, Aarestrup FM: qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin. *Antimicrob Agents Chemother*, 53, 603-608 (2009)
- 7) Cerquetti M, Garcia-Fernandez A, Giufre M, Fortini D, Accogli M, Graziani C, Luzzi I, Caprioli A, Carattoli A: First report of plasmid-mediated

- quinolone resistance determinant *qnrS1* in an *Escherichia coli* strain of animal origin in Italy. Antimicrob Agents Chemother, 53, 3112-3114 (2009)
- 8) Cesaro A, Bettoni RR, Lascols C, Merens A, Soussy CJ, Cambau E: Low selection of topoisomerase mutants from strains of *Escherichia coli* harbouring plasmid-borne *qnr* genes. J Antimicrob Chemother, 61, 1007-1015 (2008)
 - 9) Esaki H, Asai T, Kojima A, Ishihara K, Morioka A, Tamura Y, Takahashi T: Antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica* isolates from cattle in Japan from 2001 to 2002. J Vet Med Sci, 67, 75-77 (2005)
 - 10) Gotoh N, Tsujimoto H, Poole K, Yamagishi J, Nishino T: The outer membrane protein OprM of *Pseudomonas aeruginosa* is encoded by *oprK* of the *mexA-mexB-oprK* multidrug resistance operon. Antimicrob Agents Chemother, 39, 2567-2569 (1995)
 - 11) Harada K, Asai T, Kojima A, Sameshima T, Takahashi T: Characterization of macrolide-resistant *Campylobacter coli* isolates from food-producing animals on farms across Japan during 2004. J Vet Med Sci, 68, 1109-1111 (2006)
 - 12) Hirai K, Aoyama H, Suzue S, Irikura T, Iyobe S, Mitsuhashi S: Isolation and characterization of norfloxacin-resistant mutants of *Escherichia coli* K-12. Antimicrob Agents Chemother, 30, 248-253 (1986)
 - 13) Hirai K, Suzue S, Irikura T, Iyobe S, Mitsuhashi S: Mutations producing resistance to norfloxacin in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother, 31, 582-586 (1987)
 - 14) Köhler T, Pechère J-C: Bacterial Resistance to Quinolones: Mechanisms and Clinical Implications. In: The Quinolones. V. Andriole, ed. Academic Press, San Diego, CA. (2000).
 - 15) Liu JH, Deng YT, Zeng ZL, Gao JH, Chen L, Arakawa Y, Chen ZL: Coprevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QepA, Qnr, and AAC(6')-Ib-cr among 16S rRNA methylase RmtB-producing *Escherichia coli* isolates from pigs. Antimicrob Agents Chemother, 52, 2992-2993 (2008)
 - 16) Luo N, Sahin O, Lin J, Michel LO, Zhang Q: In vivo selection of *Campylobacter* isolates with high levels of fluoroquinolone resistance associated with *gyrA* mutations and the function of the CmeABC efflux pump. Antimicrob Agents Chemother, 47, 390-394 (2003)
 - 17) Ma J, Zeng Z, Chen Z, Xu X, Wang X, Deng Y, Lu D, Huang L, Zhang Y, Liu J, Wang M: High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, and *qepA* among ceftiofur-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from companion and food-producing animals. Antimicrob Agents Chemother, 53, 519-524 (2009)
 - 18) Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA: Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet, 351, 797-799 (1998)
 - 19) Miyao Y, Funakoshi Y, Takagi Y, Kanzaki M, Iida T, Uchiyama M, Takagi M, Imada Y: Characteristics of Erysipelas occurring in slaughter pigs at the Shibaura Meat Inspection Center over the past ten years and serotypes and antimicrobial susceptibility of the isolates. J Jpn Vet Med Assoc, 59, 409-415 (2006)
 - 20) Mortimer PG, Piddock LJ: The accumulation of five antibacterial agents in porin-deficient mutants of *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother, 32, 195-213 (1993)
 - 21) Okusu H, Ma D, Nikaido H: AcrAB efflux pump plays a major role in the antibiotic resistance phenotype of *Escherichia coli* multiple-antibiotic-resistance (Mar) mutants. J Bacteriol, 178, 306-308 (1996)
 - 22) Oyamada Y, Ito H, Inoue M, Yamagishi J: Topoisomerase mutations and efflux are associated with fluoroquinolone resistance in *Enterococcus faecalis*. J Med Microbiol, 55, 1395-1401 (2006)
 - 23) Ozawa M, Asai T, Sameshima T: Mutations in GyrA and ParC in fluoroquinolone-resistant *Mannheimia haemolytica* isolates from cattle in Japan. J Vet Med Sci, 71, 493-494 (2009)
 - 24) Ozawa M, Harada K, Kojima A, Asai T, Sameshima T: Antimicrobial susceptibilities, serogroups, and

- molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates in Japan. Avian Dis, 52, 392-397 (2008)
- 25) Pan XS, Fisher LM: Targeting of DNA gyrase in *Streptococcus pneumoniae* by sparfloxacin: selective targeting of gyrase or topoisomerase IV by quinolones. Antimicrob Agents Chemother, 41, 471-474 (1997)
- 26) Perichon B, Courvalin P, Galimand M: Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother, 51, 2464-2469 (2007)
- 27) Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, Macielag M, Abbanat D, Park CH, Bush K, Hooper DC: Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. Nat Med, 12, 83-88 (2006)
- 28) Rodriguez-Martinez JM, Velasco C, Garcia I, Cano ME, Martinez-Martinez L, Pascual A: Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones for *Enterobacteriaceae* expressing the plasmid-carried quinolone resistance determinant *qnrA1*. Antimicrob Agents Chemother, 51, 2236-2239 (2007)
- 29) Saenz Y, Zarazaga M, Brinas L, Ruiz-Larrea F, Torres C: Mutations in *gyrA* and *parC* genes in nalidixic acid-resistant *Escherichia coli* strains from food products, humans and animals. J Antimicrob Chemother, 51, 1001-1005 (2003)
- 30) Shen LL, Mitscher LA, Sharma PN, O'Donnell TJ, Chu DW, Cooper CS, Rosen T, Pernet AG: Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: a cooperative drug-DNA binding model. Biochemistry, 28, 3886-3894 (1989)
- 31) Takahashi T, Ishihara K, Kojima A, Asai T, Harada K, Tamura Y: Emergence of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* in chickens exposed to enrofloxacin treatment at the inherent dosage licensed in Japan. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health, 52, 460-464 (2005)
- 32) Tran JH, Jacoby GA: Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. Proc Natl Acad Sci U S A, 99, 5638-5642 (2002)
- 33) Webber M, Piddock LJ: Quinolone resistance in *Escherichia coli*. Vet Res, 32, 275-284 (2001)
- 34) Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Konda T, Arakawa Y: New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother, 51, 3354-3360 (2007)
- 35) Yan M, Sahin O, Lin J, Zhang Q: Role of the CmeABC efflux pump in the emergence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* under selection pressure. J Antimicrob Chemother, 58, 1154-1159 (2006)
- 36) Yoshida H, Bogaki M, Nakamura M, Nakamura S: Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrA* gene of *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother, 34, 1271-1272 (1990)
- 37) Yue L, Jiang HX, Liao XP, Liu JH, Li SJ, Chen XY, Chen CX, Lu DH, Liu YH: Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in poultry and swine clinical isolates of *Escherichia coli*. Vet Microbiol, 132, 414-420 (2008)
- 38) 吉田博明: 細菌におけるキノロン耐性メカニズム. 日本細菌学雑誌, 51, 973-992 (1996)
- 39) 山本欣也, 内山万利子, 新田早人, 守岡綾子, 高木昌美, 高橋敏雄: フルオロキノロン耐性豚丹毒菌における DNA ジャイレース及びトポイソメラーゼ IV 変異の解析. 第 142 回日本獣医学会学術集会講演要旨集, 101 (2006)

Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance in Bacteria Isolated from Food Producing Animals

Manao OZAWA

National Veterinary Assay Laboratory, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries,
1-15-1, Tokura, Kokubunji, Tokyo 185-8511, Japan

In Japan, fluoroquinolone was first approved for food producing animals in 1991 and there have been many reports about fluoroquinolone-resistant isolates from food producing animals. The mechanisms of resistance to fluoroquinolones are mutations in the bacterial enzymes (DNA gyrase and DNA topoisomerase IV), decreased outer-membrane permeability, over-expression of efflux systems and plasmid-mediated quinolone resistance (Qnr, AAC(6)-Ib-cr and QepA). Quinolone-resistant isolates from food producing animals have been reported in *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mannheimia haemolytica* and *Erysipelothrix rhusiopathiae* in Japan. The study using avian pathogenic *E. coli* (APEC) isolates showed that the fluoroquinolone-resistant APEC isolates belonging to serogroup O78 had the same point mutations in *gyrA* and *parC* and most of these isolates were classified into an identical cluster in PFGE analysis. In *M. haemolytica*, the increased number of mutations in *gyrA* and *parC* was correlated to the elevated level of quinolone resistance same as *E. coli*. Since wide-ranging study regarding dissemination of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in food producing animals has not yet been carried out, the investigation of these determinants may be needed.

討 論 (座長：田村 豊 酪農大, 高橋敏雄 動薬検)

質問 (田村 豊, 酪農大)

FQ 耐性の増殖性や病原性に対しての影響についてどこまで理解されているか。

答 (小澤真名緒)

一般に耐性菌は感受性菌に比べて増殖性が悪いといわれている。病原性に関しては、耐性菌の方が強いと報告されているが、逆に低下するとの報告もある。

質問 (川崎武志, 人と鳥の健康研究所)

要旨中に「鶏大腸菌症由来大腸菌において、血清群 O78 で標的酵素に同じ変異を持つ FQ 耐性株が国内に広く分布していることが示されている」とあるが、その分布に地域性や薬剤使用歴との関係はあるか。

答 (小澤真名緒)

中部地方から西に分布する傾向にありますが、使用履歴との関係ははっきりしなかった。

質問 (加藤敏英, NOSAI 山形)

FQ 製剤の使用量増加による病原菌の感受性低下

(耐性獲得) は主にどの耐性機構が働いていると考えられるのか。

答 (小澤真名緒)

今回お話しした FQ については、使用することで *gyrA* や *parC* に変異が入って耐性が起こる。

質問 (高橋敏雄, 動薬検)

qnr などによる FQ 耐性の伝達頻度 (*in vitro*) について、公表文献などにに基づき、最新の知見を伺いたい。

答 (小澤真名緒)

伝達頻度についてはまだあまり報告がないと思います。

qnr に関しては、急に耐性にはならないと言うか、それほど MIC は高くならないと思いますが、標的酵素の変異と共同して活性化させるという話があって、それについては、そういう作用は無いという報告もあるんですけども、実際どうなのかっていうのはまだ分かっていないということです。

抗菌薬の慎重使用

平山紀夫

(財)畜産生物科学安全研究所 (〒 229-1132 神奈川県相模原市橋本台 3-7-11)

1. はじめに

わが国ではフルオロキノロンが動物用医薬品として承認されたのは、1991年からであったので、既に18年を経過したことになる。フルオロキノロンは、人医療に重要な医薬品であるため、家畜に使用されたフルオロキノロンにより発現する耐性菌の人への健康影響について、現在、食品安全委員会でリスク評価が進められている。リスクの程度によりリスク管理手法は異なってくるが、仮にリスクが極めて高いと評価されれば、アメリカのFDAが行ったような承認取り消しというリスク管理が行われる可能性もある。このようなリスクに対する管理手法の一つとして、抗菌薬の慎重使用の実践が考えられる。国際的には、2001年、OIEが先駆的な慎重使用のガイドライン [1, 3] を作成したのが契機となり、各機関がガイドライン [4, 5] を作成している。これらのガイドラインでは、薬剤耐性菌の出現を極力抑え、抗菌薬の有効性を最大限に発揮する「責任ある慎重使用」という概念が提唱されている。

わが国では、抗菌性物質は、薬事法、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律、獣医師法などにより、承認・指定から製造、販売、使用に至る各過程で厳密に管理されており、これまでも「適正使用」という概念で、薬剤耐性菌問題に対応してきた。慎重使用は、適正使用よりさらに注意して抗菌薬を使用するもので、臨床現場で重要な役割を果たす獣医師が実践・普及することが期待されている。そこで、農林水産省は、「獣医師における抗菌薬の責任ある慎重使用のガイドラ

イン」を作成すべく、抗菌性物質薬剤耐性菌評価情報整備事業の一環で当研究所にガイドライン案の作成を委託した。

本稿では、まず、なぜ慎重使用のガイドラインが必要であるかについてフルオロキノロンを例に考え、作成したガイドライン案の概要を紹介する。

2. なぜ慎重使用のガイドラインが必要か

(1) フルオロキノロンの規制について

フルオロキノロンは、人医療上重要な抗菌薬であることから、薬事法での製造販売承認の取得などに特別の規制がかけられている [7]。

ア. 承認申請時の規制

フルオロキノロンは、人体用医薬品の再審査期間終了後でなければ、動物用医薬品としての製造販売承認申請を受け付けない。水産用は再審査期間終了後であっても受け付けていない。

イ. 厳しい審査

承認審査のための資料には、通常添付する資料以外に、公衆衛生および家畜衛生に関する追加資料の添付が義務付けられている。

公衆衛生に関しては、人での使用実績やその重要性、耐性メカニズムや耐性菌の分布状況、当該薬が動物に使用された場合の人に対するリスクなどの資料が要求されている。

家畜衛生に関しては、当該薬が必要とされる疾病の重要性、代替薬の有無、当該薬を使用した場合の動物に対するリスクなどの資料が要求されている。さらに、物理化学的試験資料として、*in vitro*での耐性株出現頻度や*in vivo*での耐性獲得の資料も求められている。

このように承認審査段階で相当厳しい審査が行われ、承認の条件として、第一次選択薬が無効の症例にのみ使用することとされ、使用上の注意にその旨を記載しなければならない。

ウ. 承認後の規制

承認後も再審査期間中（6年間）はもちろん、再審査終了後も使用量や有効菌種および公衆衛生に係る4菌種の薬剤感受性調査結果を国に報告することが義務付けられている。

(2) フルオロキノロンの販売量と耐性菌

フルオロキノロンの販売量は、1992年度1.2トンであったが、その後徐々に増加し2003年度には7.4トンと6倍に増加した[2]。この量は、動物用の抗菌性物質製剤の販売量約850トンの0.9%にしか過ぎない。動物種別に2001年度から2003年度の平均販売量を表1に示したが、その50%はブロイラーに、20%が豚に販売されている。

食中毒起因菌であるサルモネラおよびカンピロバクターについてエンロフロキサシン耐性率をみると、サルモネラではほとんど耐性菌は出現していないが、カンピロバクターでは1999～2005年度20%前後であったものがその後36%と増加した[6]。

(3) フルオロキノロン耐性カンピロバクターのリスク

以上のようにフルオロキノロンは、法的規制が厳しく、大量に使用されていないにもかかわらず、耐性カンピロバクターが増加している。カンピロバクターは、動物には病気を起こさず、単に腸管に棲息しているだけで、マイコプラズマ病や大腸菌症の治療薬として使用されたフルオロキノロンにより耐性化するため、やっかいなリスクを持つ

菌である。また、フルオロキノロンは、カンピロバクターに対して容易に耐性菌を発現させ、水平伝播することが実験的に証明されている。フルオロキノロン耐性カンピロバクターは、畜産食品を介してヒトに食中毒を起こした場合、人の治療を困難にするリスクが高いと考えられている。

(4) フルオロキノロンに対するリスク管理

最も厳しい措置としてはFDAが行ったような承認取り消しがあり得る。それより緩い措置としては、使用の制限、例えば、一時的な使用禁止、投与経路を注射のみに限定する、投与期間を短くするなど考えられる。しかし、このような措置は、二次的リスクを生じる可能性がある。すなわち、切れの良い治療薬がなくなる・使用しづらくなることから、疾病が増加し、生産性が低下する、あるいは、代替薬の使用が増え、その耐性菌が増加し、それによる人への影響が出るなどである。

従って、生産現場に携わるものとしては、自らの治療薬を確保しつつ、二次的リスクを避けるための措置を取るべきである。そのような措置の一つとして、国際的にも推奨されている慎重使用の推進・徹底を図ることが重要となり、そのための慎重使用のガイドライン作成が急務となっている。

3. 獣医師における抗菌薬の責任ある慎重使用のガイドライン（案）

本ガイドライン（案）の構成を表2に示す。このうち、下線を引いた部分の概要を紹介し、解説を括弧書きする。

(1) 目的

- ア. 家畜での抗菌薬の有効性を維持する。
- イ. 家畜での薬剤耐性菌の発現・伝播を極力抑

表1 動物種別フルオロキノロン製剤の販売量

	肉牛	乳牛	豚	ブロイラー	レイヤー	犬猫	合計
2001～2003年度の平均	0.3	0.2	1.3	3.5	0.2	1.2	6.8
割合(%)	5	3	20	51	3	18	100

(単位：トン)

表2 獣医師における抗菌薬の責任ある慎重使用のガイドライン (案) の構成

はじめに

I. 目的

II. 定義

III. 抗菌薬及び薬剤耐性菌の概要

IV. 獣医師の責務

1. 飼養衛生管理基準の遵守等に関する指導

2. 抗菌薬の使用に関する留意事項

3. 薬剤感受性試験

4. 臨床現場での抗菌薬使用の実際の手順

5. 獣医師間の情報の共有

6. 畜種別の留意事項

V. 参考文献

える。

ウ. 家畜から人への薬剤耐性菌又は耐性決定因子の伝達を抑え、人医療に使用する抗菌薬の有効性を維持する。

エ. 抗菌薬による畜産食品への残留を防ぎ、消費者を保護する。

(アおよびイは、家畜衛生上、自らの治療薬を確保・維持する意味で重要であり、イからエは、人に対するリスクを少なくする意味で重要である。)

(2) 獣医師の責務

ア. 飼養衛生管理基準の遵守などに関する指導
良好な飼養衛生管理を促進し、疾病の発生そのものを予防することは、薬剤耐性菌の発現を制御する上で、罹患家畜への抗菌薬治療を効果的に実施することとならんで最も重要であることから、生産者に対し、家畜伝染病予防法施行規則第21条の飼養衛生管理基準 [8] を遵守させるよう指導する。また、以下の事項についても実践させるよう指導する。

- ・動物の生体防御システムに影響するストレスの低減
- ・適切なワクチン、消毒薬などを用いた衛生プログラムの遵守
- ・免疫を抑制する薬物の使用への注意
(飼養衛生管理基準は、だれでも実行できる基本的な事項が記載されており、農林水産省から指導指針および畜産農家向けの Q & A

が出されている [8].)

イ. 抗菌薬の使用に関する留意事項

ア) 抗菌薬の使用又は使用の指示の直前に、対象家畜を診察し、的確な診断に基づき抗菌薬を使用すべきである。現場で直接診断できないような場合には、現在の対象家畜の状態を把握するのに十分な頻度で診察を行っており、過去の経験、農場の疫学的状況に関する知識などに基づき判断する。(診察することの解説として、「獣医師法第18条の診察とは、獣医学的見地からみて疾病に対して一応の診断を下しう程度の行為をいい、獣医師が自ら定期的に巡回するなどして常に当該農場の飼育動物の健康状態を把握している場合などにおいて飼育者から病状の聴取などをもって行うものも含まれる」とされているので、比較的柔軟に対応できるものと思われる。)

イ) 飼料添加物、特に抗菌性の飼料添加物の使用状況を把握すること。

ウ) 抗菌薬を選択する場合、対象感染症の病勢、推定又は確定原因菌に対する有効性、投与方法、対象となる薬剤の体内動態および残留性などを総合的に考えること。また、薬剤感受性試験の結果、過去の使用経験、周辺の農場における発生状況にも配慮すること。以下に、抗菌薬選択時の留意事項を示す。

- ・一般的に、抗菌スペクトルの広い抗菌薬は、より多くの微生物に対して選択圧を及ぼすことから、第一次選択薬は、できるだけ抗菌スペクトルの狭いものを選択すること。
- ・フルオロキノロン、新規のセフェムなどの人医療で重要な抗菌薬と同系統の薬剤は第一次選択薬が無効の場合にのみ選択すること。
- ・投与経路は、可能な限り抗菌薬の腸管内細菌への暴露が少ないものを選択すること(選択順位の例：注射剤 > 経口投与剤)。
- ・個体投与を原則とし、群投与は避けることが望ましい。ただし、一群の複数の動物が

明らかに感染症の兆候を示しているような場合には、発症している動物の治療と感染症の拡散を抑制し、残りの動物の発症を防ぐ目的で発症している動物と健康な動物の両者に治療量の抗菌薬の投与が必要な場合がある。

エ) 抗菌薬を使用し又は使用の指示を行う場合、用法・用量、効能・効果、投与間隔、投与期間および使用禁止期間／休薬期間を正確に把握し、対象動物に必要最小限量および期間とすること。特に、動物の所有者／飼育管理者に投薬の一部を行わせる場合には、用量、投薬期間、使用禁止期間／休薬期間などを文書に記載して指示すること。また、残余の抗菌薬は適切に廃棄するよう指導すること。

オ) 適用外使用は、行わないこと。

(「適用外使用」とは、承認されラベルなどに表示されている用法・用量および効能・効果以外で使用するをいうと定義づけている。適用外使用は、獣医師の責任に基づいて行うことができるが、その際、生産される畜産物への残留が食品衛生法に違反しないよう、適切な休薬期間を指示しなければならない。しかし、通常、適切な休薬期間を指示するための根拠となるデータが皆無であることから、責任を負うことは不可能である。)

カ) 抗菌薬の予防的投与は、獣医師の責任において極めて限定された条件の下で厳格に適用されるべきである。また、予防的投与は、飼養衛生管理に関する事項を含む体系化された疾病制御プログラムの一部として実施されるべきものであり、予防的投与の必要性については、恒常的にその妥当性が再検討される必要がある。

(「予防的投与」とは、感染症が常在しているなどの理由から健康家畜に対し、発症が予測される感染症に有効な抗菌薬を予め投与することをいうと定義付けている。抗菌性物質は、治療薬として承認されているので、予防的には使用できないことになって

いる。しかし、獣医師には裁量権があることから、本ガイドラインでは抗菌薬の予防的投与に注意喚起を行っている。)

キ) 抗菌薬の予防的治療は、獣医師の責任において感染症の特性、飼育されている家畜の生理的健康状態などを総合的に診断し、最小限の範囲で実施すべきである。また、予防的治療は、それを行わない場合に動物群に感染症が拡大する可能性が高いと判断される場合に限定されるべきである。

(「予防的治療」とは、一部の家畜に疾病が認められた場合に発症のおそれのある全ての家畜に対して発症前に抗菌薬を投与することをいうと定義付けている。「予防的治療」という語句は、予防的投与と紛らわしいことから「準治療」という語句の使用も検討されている。)

ク) 抗菌薬の併用は、毒性の増強による副作用の出現を助長し、有効性を阻害するような薬理的拮抗をもたらしたり、使用禁止期間／休薬期間に影響を与える恐れもあることから、極力避けること。しかし、感染症の原因菌が特定できず、最初の治療に用いた抗菌薬が有効でなく、明らかに死亡率、罹患率の増加が認められる、あるいは疾病が重症化する場合には、より広い抗菌スペクトルをカバーするために抗菌薬の併用が正しい場合もある。

ケ) 日本で動物用医薬品として承認されていない抗菌薬は使用しないこと。

コ) 起因菌に対する動物の抵抗性を高め、抗菌薬の有効性を十分に発揮させるため、体力の消耗の激しい場合や、下痢により重度の脱水症状を示している場合には、その症状の改善、緩和をはかるための対症療法(補液など)の併用を考慮すること。

ウ. 臨床現場での抗菌薬使用の実際の手順

ア) 患畜が飼われている農場およびその周辺農場における疾病の発生状況・経過、化学療法の内容・結果、予後などに関する情報を収集、整理し、記録・保存すること。

イ) 獣医師は、患畜の所有者又は管理者から

発病時期、発病後の経過および措置などについて聞き取りを行い、必要に応じて血液、乳汁、糞便などを材料とした臨床病理検査などを行って感染症の原因病原体の推定／確定などを行い、病勢を把握すること。

- ウ) 可能であれば、抗菌薬投与前に、菌分離を行い、分離された原因菌については、薬剤感受性試験を行うことが望ましい。
- エ) 以上から総合的に判断し、使用する抗菌薬の種類、投与経路、投与量、投与期間などを決定し、治療が必要な動物に対してのみ使用し又は使用を指示すること。
- オ) 抗菌薬投与後の病状の変化から、初診時に使用した抗菌薬の治療効果を勘案し、使用の継続か、変更かを判断すること。抗菌薬を変更する場合の抗菌薬の選定は、薬剤感受性試験の結果に基づいて行うことが望ましい。

4. おわりに

これまで用いられた適正使用とは、法令、用法・用量を遵守し、使用上の注意を守り正しく使用することであったが、慎重使用とは、使用すべきか否かの判断を含め、抗菌薬の必要な時に適正に使用し、その効果を最大限に発揮させ、耐性菌の発現を最小限に抑えるように使用することで、適正使用より更に注意して使用するという概念である。

慎重使用のガイドライン案が多くの関係者により検討され、正式に決定され、一日も早く実施されることを祈念する。

本稿は、平成 20 年度に農林水産省から当研究所へ委託された「抗菌性物質薬剤耐性菌評価情報整備事業」の一部として作成中の「獣医師における抗菌薬の責任ある慎重使用のガイドライン(案)」の概要をまとめたものである。

要 約

家畜に使用された抗菌薬により発現する耐性菌

が人の健康に及ぼすリスクに対して、リスク管理手法の一助とするために「獣医師における抗菌薬の責任ある慎重使用のガイドライン(案)」を作成した。獣医師の責務として規定した主な事項は以下のとおりである。

1. 生産者に飼養衛生管理基準の遵守を指導すること。
2. 抗菌薬の使用の直前に対象動物を診察すること。
3. 抗菌性の飼料添加物の使用状況を把握すること。
4. 抗菌薬の選択に際し、対象感染症の病勢、原因菌に対する有効性、残留性等を総合的に考えること。特に、第一次選択薬としては抗菌スペクトルの狭いものから選択し、フルオロキノロン等は第一次選択薬が無効の場合にのみ選択すること。
5. 用法・用量、効能・効果、休薬期間などを正確に把握し、対象動物に必要な最小限量および期間で使用すること。
6. 適用外使用は、行わないこと。
7. 抗菌薬の予防的投与は、極めて限定された条件下で厳格に適用すること。
8. 抗菌薬の予防的治療は、総合的な診断を行い、最小限の範囲で実施すること。
9. 抗菌薬の併用は、極力避けること。
10. 日本で承認されていない抗菌薬は、使用しないこと。
11. 症状により補液などの併用を考慮すること。
12. 可能な限り薬剤感受性試験を行うこと。
13. 抗菌薬に関する情報を獣医師間で共有すること。

引用文献

- 1) Anthony F, Acar J, Franklin A, Franklin A, Gupta R, Nicholls T, Tamura Y, Thompson S, Threlfall EJ, Vose D, van Vuuren M, White DG: Antimicrobial resistance: responsible and prudent use of antimicrobial agent in veterinary medicine. Rev sci tech, Off int Epiz, 20, 829-839 (2001)
- 2) 平山紀夫, 伊藤文世: わが国における抗菌性物

- 質の使用量の推移. 動物抗菌会報, 30, 10-18 (2008)
- 3) 田村 豊: 食用動物における耐性菌抑制の方策
—抗菌剤の慎重使用の原則—. 動物抗菌会報.
29. 11-17 (2007)
- 4) Antibiotic resistance and prudent use of antibiotics in veterinary medicine : <http://www.fve.org/news/publications.php>
- 5) Code of practice to minimize and contain antimicrobial resistance CAC/RCP61-2005 : http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang=en
- 6) 家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査 : <http://www.maff.go.jp/nval/>
- 7) 農林水産省畜産局長通知: 薬事法関係事務の取扱について. 平成 12 年 3 月 31 日付け 12 畜 A 第 729 号
- 8) 飼養衛生管理基準 : http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/eisei/e_kanri_kizyun/kizyun.html

Prudent Use of Antimicrobials

Norio HIRAYAMA

*Research Institute for Animal Science in Biochemistry & Toxicology,
3-7-11, Hashimotodai, Sagamihara-shi, Kanagawa 229-1132, Japan*

The Guideline for Prudent and Responsible Use of Antimicrobials for Veterinarians (Draft) has been compiled to help veterinarians to minimize the possible human health risk from bacterial resistance that may develop from antimicrobial use in livestock animals. The guideline principles and veterinarian's responsibilities are:

1. Provide guidance to producers on practicing the standards of rearing hygiene management.
2. Perform a clinical examination and diagnose immediately before the use of antimicrobials.
3. Know the current use of antimicrobial feed additives.
4. Take a comprehensive approach to antimicrobial selection by assessing conditions of the infectious disease in question, antimicrobial effectiveness against the causative pathogen and the risk of residual drug. The first choice must be the antimicrobial agent with a narrow spectrum of activity. Fluoroquinolones should be used only for the treatment of infections that are refractory to the first-line choices.
5. Use a minimally required dosage for the required time period based on a thorough review of label directions, dosage, indications and withdrawal period.
6. Extra-label drug use is not recommended.
7. Non-therapeutic, prophylactic use of antimicrobials intended for disease prevention should be strictly exercised under controlled conditions.
8. Therapeutic use of antimicrobials intended for prevention of dissemination of an existing infectious disease should be minimized and exercised only after a comprehensive assessment.
9. Do not use combination antimicrobial therapy unless absolutely necessary.
10. Do not use antimicrobials that are not approved for use in Japan.
11. Consider fluid replacement or other supportive therapy according to the clinical conditions.
12. Perform antimicrobial susceptibility testing whenever possible.
13. Share information on antimicrobials among veterinarians.

討 論 (座長：田村 豊 酪農大, 高橋敏雄 動薬検)

質問 (秋庭正人, 動物衛生研究所)

ご説明頂いたガイドラインは家畜生産現場での使用を念頭に置いたものと考えられるが, 小動物臨床現場向けのガイドライン作成や薬剤耐性菌モニタリングに関して何か動きがあれば教えて欲しい。

答 (平山紀夫)

今のところ動きはありません。小動物臨床の現場における適用外使用を規制することは難しいと思われま

発言 (藤倉孝夫, 元家畜衛生試験場)

ご提示頂きました抗菌薬の慎重使用に関する原則はそのまま医療現場へも利用できるのではないかと思われる。牛, 豚, 鶏を用いてのフルオロキノロン投与, 耐性菌保菌動物と非保菌動物との同定実験は

人体で起こるであろうアナロジーとして十分説得力があるのではないかと

質問 (鷺谷敏一, 全農家畜衛生研究所)

ブロイラーのカンピロの耐性化が人への治療に影響するとのことで, FDAはFQの鶏への投与を禁止したが, 日本では慎重使用のレベルである。この日米の差はなぜか。

答 (平山紀夫)

鶏のフルオロキノロン剤についての評価を, 今始めたところで, 予測できません。先程もお示ししました通り, 一番難しいのは鶏で, ガイドラインをみんなでうまく使うことによってリスクが少しでも低くなれば, 慎重使用のレベルで済むかもしれません。

セフトオフル（効能追加）

岩隈昭裕・野谷あずさ・森 研一

ファイザー株式会社 アニマルヘルス事業部（〒151-8589 東京都渋谷区代々木3丁目22-7）

1. 開発の経緯

セフトオフル（ceftiofur, 以下CTFと略）は米国アップジョン社（現ファイザー社）により、動物専用薬として製剤化に着手したセファロスポリン系抗生物質であり、その抗菌範囲は広く、グラム陽性菌・陰性菌に対して強い抗菌力を有し、β-ラクタマーゼにほぼ安定である。当初、ナトリウム塩の製剤化に着手し、同剤は注射用蒸留水にて用時溶解して用いる凍結乾燥製剤として、1988年米国、カナダなどにて上市された。現在、CTFはナトリウム塩、溶解済み剤型である塩酸塩およびCrystalline Free Acid（結晶CTF）の注射剤および乳房炎用注入剤（塩酸塩）が世界数十カ国にて牛、豚、馬、羊、山羊、鶏、七面鳥、犬などへ応用されている。本剤は米国においては市販開始後、既に20年を超えた製品であるが、ターゲットとする細菌の耐性化傾向は現在のところ報告されていない。

一方、国内においては1996年にCTFのナトリウム塩が牛の肺炎および豚胸膜肺炎の適応症にて承認され、翌年には搾乳牛における使用が承認された。その後、2004年には乳における使用禁止期間がそれまでの出荷前36時間から24時間への短縮が認められ、国内における動物用抗菌性物質注射剤の中において最短の使用禁止期間（2009年4月現在）を有する製剤となった。さらに、趾間フレグモーネ（趾間ふらん）（本稿では以下、「趾間フレグモーネ」という。）および産褥熱の適応症がそれぞれ2006年および2007年に追加承認され、また、2008年には肉における使用禁止期

間について豚：3日、牛：7日へ短縮が認められたことにより、生産者の利益確保および疾病対策はもとより、獣医師の効率良い診療に一層の貢献が可能となった。

本稿では新たに追加承認された適応症である、趾間フレグモーネおよび産褥熱についての成績概要を紹介する。なお、製剤の詳細については既報[6]を参照されたい。

2. 追加適応症概要

(1) 趾間フレグモーネ

ア. 疾病概要

趾間フレグモーネは趾間隙の炎症と壊死を特徴とする細菌感染症であり、発熱、疼痛による跛行、泌乳量の低下や空胎期間の延長などの繁殖成績の低下を引き起こし、経営に多大な損失を与えることが知られている[1, 3, 4, 7, 17, 24, 28, 29]。原因は趾間隙皮膚の微小損傷や外傷から侵入した*Fusobacterium necrophorum*がエンドトキシンとともに、白血球を殺滅する外毒素ロイコトキシンを産生することによる[16, 31]。また、*F. necrophorum*は、膿瘍形成や白血球の貪食阻止などに働く*Porphyromonas asaccharolytica*と共力関係にあり、双方が発病に関わっていると考えられている[16, 31]。

一方、本剤の開発段階において、趾間フレグモーネの適応症を有する抗菌注射剤は持続型オキシテトラサイクリン製剤しか存在せず、当該製剤は搾乳牛には使用できないことから、事実上、趾間フレグモーネを発症した搾乳牛に対しては承認の範囲内で使用できる抗菌剤は存在しなかった。

このことから、CTFの趾間フレグモーネへの開発および適応症取得の意義は大きいといえる。

イ. 抗菌活性

国内臨床試験および2008年に終了した製造販売後使用成績調査において分離された *F. necrophorum* および *P. asaccharolytica* に対するCTFの最小発育阻止濃度は、それぞれ $\leq 0.063 \sim 4$ mg/L および $\leq 0.063 \sim 16$ mg/Lの範囲にあり、MIC₉₀はそれぞれ、0.5 ~ 2 mg/L および1 ~ 4 mg/Lの範囲にあった(表1)。

ウ. 有効性

国内15施設にて計94頭の趾間フレグモーネ罹患牛を供試し、セフトオフルとして1mg/kgあるいは2mg/kgの用量にて1日1回3日間筋肉内注射する野外臨床試験を実施し、有効性を評価した。評価は跛行、腫脹および病変の程度を表2に示した基準に基づきスコアリングし、試験開始当日(0日目)に対する試験開始6日目の総臨床スコアの改善率が85%以上であった症例を著効、70%以上85%未満を有効、70%未満を無効とした。その結果、CTF 1mg/kgの有効率は72.1%、2mg/kgでは76.3%となり、投与群間で有意差は検出できなかったが、いずれも有効率は高く、CTFが奏功したことが認められた。試験開始時の臨床スコアが10以上の重症例のみの跛行スコアを図1に示した。重症例においては、試験開始翌日より2mg/kg投与群が無投与群に比べて有意にスコアを改善したことから、1mg/kg投与群より早期に跛行を改善させていることが認められた。

以上のことから、CTFは趾間フレグモーネに対して有効であることが認められた。ただし、臨床現場において、治療効果は牛床の状態や蹄の管理などに左右されると考えられる。上記因子は細菌感染以外の二次的な誘引因子ではあるものの、期待される治療効果を得るためにはこれらの十分な衛生管理が望まれるため、使用上の注意に追記した(表5)。

また、本試験の詳細は佐野ら[19]により報告されているので参照されたい。

(2) 産褥熱

ア. 疾病概要

産褥熱は産褥期の子宮および膣などの産道損傷部位への細菌感染を原因とする熱性疾患の総称で、発熱、食欲不振～廃絶、泌乳量低下、頻脈、呼吸促迫、結膜充血、鼻鏡乾燥を呈する[20-21, 26]。産褥熱の原因疾患として、産褥性子宮炎および産褥性膣炎があるが、臨床現場にて遭遇する産褥熱は産褥性子宮炎を原因疾患とする場合が一般的である。一方で、産褥熱は食欲不振～食欲廃絶の一因となることから、二次的に泌乳量低下を引き起こすことになる[11, 22]。また、産褥性子宮炎は、より重篤な子宮内膜炎および子宮蓄膿症へ病態移行することが報告されている[11]。すなわち、加療により解熱はしても、悪露性状の回復ないし正常化には時間がかかる。細菌の子宮内感染は黄体形成ホルモンの分泌低下、卵胞の発育阻害および排卵障害の原因となり[13-15,

表1 追加有効菌種に対するセフトオフルの最小発育阻止濃度(MIC: mg/L)

菌種	試験の種類	株数	範囲	MIC ₉₀
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	臨床 ¹⁾	20	$\leq 0.063 - 4$	2.0
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	製造販売後 ²⁾	9	$\leq 0.063 - 0.5$	0.5
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	臨床 ³⁾	29	$\leq 0.06 - 0.125$	≤ 0.06
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	臨床 ¹⁾	33	$\leq 0.063 - 8$	4.0
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	製造販売後 ²⁾	21	$\leq 0.063 - 16$	1.0
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	臨床 ³⁾	151	$\leq 0.06 - 0.25$	≤ 0.06
<i>Escherichia coli</i>	臨床 ³⁾	168	$\leq 0.06 - >128$	1.0

1) 趾間フレグモーネ適応症申請のための臨床試験

2) 趾間フレグモーネ製造販売後使用成績調査

3) 産褥熱適応症申請のための臨床試験

(社内成績)

表2 趾間フレグモーネ野外臨床試験に用いた評価項目および基準

跛行スコア：

- 0 = 正常： 起立時，歩行時とも背は水平で，歩様に異常は認められない。
- 1 = 軽度の跛行： 起立時に異常はみられないが，歩行時に背弯姿勢をとることがある。歩様に異常は認められない。
- 2 = 中等度の跛行： 起立時及び歩行時に明瞭な背弯姿勢をとる。歩様には若干の影響がみられ，患肢の歩幅が短縮する。
- 3 = 明瞭な跛行： 常に明瞭な背弯姿勢をとり，一步を踏み出すのに時間がかかる。患肢あるいは他の肢を気にするが，部分的な負重は可能である。
- 4 = 重度の跛行： 患肢への負重を全くしない，あるいは極端に嫌がる。起立動作に困難を生じており，自発的な歩行は認められない。

腫脹スコア：

- 0 = 腫脹はみられない
- 1 = 趾間隙の開放（内外蹄の離開）はないが，趾間部から繫に軽度の腫脹が認められる。
- 2 = 内外蹄の軽度の離開があり，趾間部から繫に軽度の腫脹が認められる。
- 3 = 内外蹄の軽度の離開があり，趾間部から繫に軽度から中等度の腫脹が認められる。
- 4 = 内外蹄の明らかな離開があり，趾間部から繫に中等度の腫脹が認められる。
- 5 = 内外蹄の明らかな離開があり，蹄冠，趾間部から繫に重度の腫脹が認められる。

病変スコア：

- 0 = 病変はない。または痂皮あるいは治癒した病変がある。
- 1 = 趾間隙に小さな亀裂がある。
- 2 = 趾間隙に浅い亀裂があり，滲出液を排する。
- 3 = 趾間隙に浅い亀裂と壊死があり，滲出液を排する。
- 4 = 趾間隙に深い亀裂と壊死があり，滲出液を排し，壊死臭がある。
- 5 = 趾間隙に深い亀裂と壊死があり，過剰な肉芽組織が形成される。

臨床スコア改善率算出式：

$$\text{合計臨床スコア改善率} = \frac{\text{投薬前スコア合計点} - \text{投薬後スコア合計点}}{\text{投薬前スコア合計点}} \times 100$$

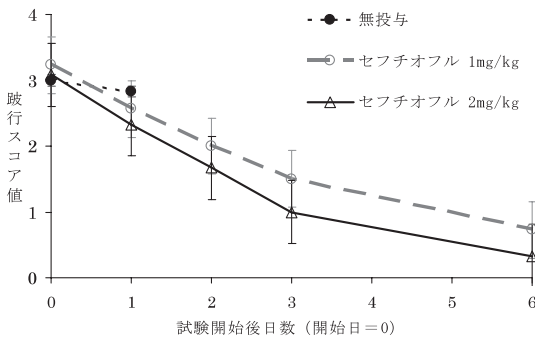


図1 趾間フレグモーネ重症例¹⁾におけるセフチオフルナトリウム投与後の跛行スコアの推移
合計臨床スコアが10以上の症例（社内成績）

23], 空胎期間の延長, 受胎率の低下, 不受胎など繁殖成績の低下となることも報告されており [2, 5, 10, 25], 飼養者への経済的影響は病名から受ける印象以上にはるかに大きいといえる。

産褥期における子宮感染症の主要原因菌は *Escherichia coli*, *F. necrophorum*, *Arcanobacterium pyogenes* および *Prevotella melaninogenica* の4菌種と考えられていることから [30], 産褥期における産褥性子宮炎による産褥熱の主要原因菌もこれら4菌種とみなすことができる。また産褥性腔炎の原因菌としては *E.coli*, *A. pyogenes* が知られている [8-9, 27]。

以上のことから, 産褥熱発症牛の早期発見は, 分娩後の母牛管理として極めて重要であるにも関わらず, その一番の方法と思われる体温測定がそれほど実施されていない状況があるのも事実であ

る。分娩後 10 日間体温をモニターした我々の複数の調査成績では、20～30%の牛が分娩後 10 日間の間に 39.5℃以上の発熱を呈した（社内資料，1999，2000，2001）。また、産道を損傷あるいは感染を助長する事例，すなわち、難産や分娩介助，双子や死産，胎盤停滞，子宮脱の修復などの分娩時あるいは事後経過があると、産褥熱の発生リスクが高くなることが報告されている [18, 32]。さらには、我々の調査において、これらの分娩時あるいは分娩後に何らかの経過を伴った牛のうち、10 日間の体温モニタリング中に 39.5℃以上の発熱が観察された牛は、特に搾乳牛では乳量の大幅な減少が観察された（社内資料，図 2）。したがって、分娩後の母牛管理においてはハイリスク牛のモニターと早期発見のために、基本管理の一つである体温測定の重要性をあらためて認識

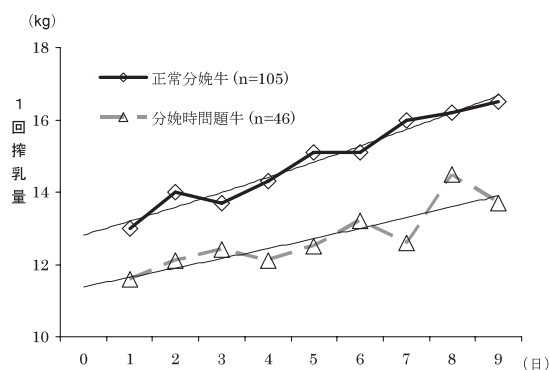


図 2 分娩後 10 日間の体温モニターにおいて 39.5℃以上の体温が計測された牛（正常分娩牛あるいは分娩時間問題牛¹⁾）における翌日（発熱日=0）からの乳量変化（細線はそれぞれの近似曲線）
1) 分娩時/分娩後に難産，介助，胎盤停滞，双子，死産等の経過があった牛（社内成績）

し、啓蒙すべきであると考える。

イ. 抗菌活性

国内臨床試験において分離された *F. necrophorum*，*A. pyogenes* および *E. coli* に対する CTF の最小発育阻止濃度は、それぞれ $\leq 0.063 \sim 0.125$ mg/L， $\leq 0.06 \sim 0.25$ mg/L および $\leq 0.06 \sim >128$ mg/L の範囲にあり，MIC₉₀ はそれぞれ ≤ 0.06 mg/L， ≤ 0.06 mg/L および 1.0 mg/L の範囲にあった（表 1）。なお，*P. melaninogenica* は本試験においては分離されなかった。また，上記菌種に対する MIC₅₀ および MIC₉₀ についてセファゾリンおよびアンピシリンとの比較を表 3 に示した。CTF はこれら 2 種の抗生物質と同等かそれ以上の強い抗菌力を有していることが認められた。

ウ. 子宮粘膜，悪露などへの移行

CTF の塩酸塩製剤を用い，牛に CTF として 1mg/kg を単回皮下注射した後の血漿，子宮粘膜，子宮小宮および悪露中の CTF 濃度推移の成績が報告されている（図 3） [12]。CTF は子宮粘膜において，*F. necrophorum*，*A. pyogenes* および *E. coli* に対する MIC₉₀ 以上の濃度を 24 時間維持可能であることが認められた。

エ. 有効性

国内 25 施設の 175 頭を供試し，CTF として 1mg/kg あるいは 2mg/kg の用量にて 1 日 1 回 5 日間筋肉内注射する野外臨床試験を実施して有効性を評価した。供試牛の臨床評価は初回投与日（投薬前，試験 0 日目）および試験 1，2，3，4，5 および 14 ± 1 日目の計 7 回実施した。なお，供試牛は悪露スコアが 3 以上，且つ，直腸体温が 39.5℃以上の牛とした。評価および有効率の算定方法は表 4 に示したとおりであり，試験開始 5

表 3 産褥熱罹患牛の子宮から分離された 3 種類の細菌に対する各種抗生物質の抗菌力 (MIC₅₀ および MIC₉₀)

菌種	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>		<i>Fusobacterium necrophorum</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	株数		株数		株数	
	151		29		168	
薬物	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
セフトオフル	≤ 0.06	≤ 0.06	≤ 0.06	≤ 0.06	0.5	1.0
セファゾリン	0.25	1.0	≤ 0.06	≤ 0.125	2.0	4.0
アンピシリン	≤ 0.06	≤ 0.06	≤ 0.06	≤ 0.125	2.0	64.0

単位：mg/L

(社内成績)

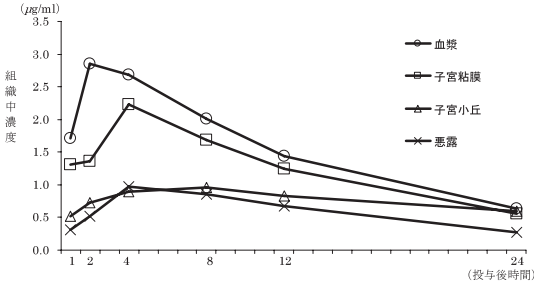


図3 牛に塩酸セフトチオフルをセフトチオフルとして1mg/kg 単回皮下投与した後の血漿、子宮粘膜、子宮小宮および悪露中におけるセフトチオフル濃度推移 (Okker ら, 2002)

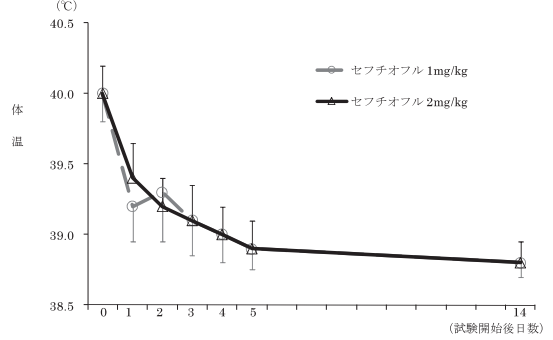


図4 産褥熱発症牛におけるセフトチオフルナトリウム投与後の体温推移 (社内成績)

表4 産褥熱野外臨床試験に用いた評価項目および有効率算定方法

悪露スコア：

- 0 = 悪露はない、または悪臭を伴わない悪露 (粘性あり)
- 1 = 悪臭を伴わない悪露：粘性
- 2 = 悪臭を伴わない悪露：膿性または粘液膿性。
- 3 = 悪臭を伴う悪露：漿液または水様で壊死組織を含む場合あり。

(1) 試験5日目の有効率

$$\text{試験5日目における有効率} = \frac{\text{直腸体温が } 39.5^{\circ}\text{C 未満へ低下した症例数}}{\text{試験5日目における評価可能症例数 (治療無効症例数を含む)}} \times 100$$

(2) 試験14日目の有効率

$$\text{試験 } 14 \pm 1 \text{ 日目における有効率} = \frac{\text{直腸体温が } 39.5^{\circ}\text{C 未満へ低下かつ悪露スコアが } 1 \text{ 以上減少した症例数}}{\text{試験 } 14 \pm 1 \text{ 日目における評価可能症例数 (治療無効症例数を含む)}} \times 100$$

日目および試験 14 ± 1 日目において、有効率が 70% 以上の場合に CTF は産褥熱に対して有効であると判定した。その結果、試験 5 日目に体温が 39.5°C 未満へ下降した牛は 1mg/kg 群で 90.0%、2mg/kg 群で 89.6% であった (図 6)。また、悪露性状の回復は徐々に認められ (図 5)、試験 14 ± 1 日目に体温が 39.5°C 未満へ下降し、悪露の悪臭が消失した牛は 1mg/kg 群で 81.3%、2mg/kg 群で 91.2% であった (図 6)。

また、他剤無効例に対する効果を確認するため、本臨床試験と同一の判定基準を用いてアンピシリンあるいはアンピシリンとクロキサシリンナトリウムの合剤による治療にて無効と判断された症例 11 例に対し、CTF 2mg/kg 5 日間投与による有効

性を調査したところ、試験 5 日目および 14 日目の両日とも有効率 100% であった。

以上のことから、CTF は産褥熱発症牛に対して有効であることが認められた。

3. 要約

セフトチオフル (ceftiofur; CTF) はグラム陽性菌・陰性菌に対して強い抗菌力を有し、β-ラクタマーゼにほぼ安定な動物専用のセファロスポリン系抗生物質である。現在、CTF は注射剤および乳房炎用注入剤として世界数十カ国にて使用されている。本剤は米国では市販開始後、既に 20 年を超えた製品であるが、ターゲットとする細菌の耐性

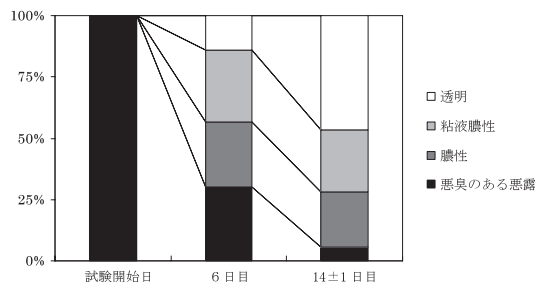


図5 産褥熱発症牛におけるセフトオフルナトリウム投与後の悪露性状の変化 (社内資料)

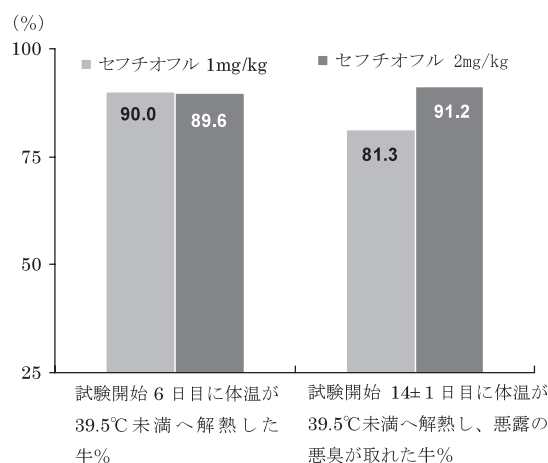


図6 産褥熱発症牛にセフトオフルナトリウム 1mg/kg あるいは 2mg/kg を 5 日間投与した試験成績

化傾向は現在のところ報告されていない。

国内においては牛の肺炎および豚胸膜肺炎の適応症にて 1996 年に承認を得、その後、搾乳牛への適応拡大が認められている。CTF は乳における使用禁止期間が国内における動物用抗菌性物質注射剤の中で最短 (2009 年 4 月現在) である 24 時間を有する製剤であり、肉においても使用禁止期間は豚で 3 日、牛で 7 日と短い。2006 年に牛の趾間フレグモーネ (趾間ふらん) および 2007 年に産褥熱の適応症が追加承認された。

趾間フレグモーネ (趾間ふらん) の原因菌である *F. necrophorum* および *P. asaccharolytica* に対する CTF の MIC₉₀ はそれぞれ 0.5 ~ 2 mg/L および 1 ~ 4 mg/L の範囲にあり、国内 15 施設にて実施

した野外臨床試験において、CTF は 1mg/kg あるいは 2mg/kg 1 日 1 回 3 日間筋肉内注射することで、それぞれ 72.1% および 76.3% の有効率が得られ、CTF の有効性が認められた。

一方、産褥熱の原因菌である *F. necrophorum*, *A. pyogenes* および *E. coli* に対する CTF の MIC₉₀ はそれぞれ ≤ 0.06 mg/L, ≤ 0.06 mg/L および 1.0 mg/L の範囲にあった。国内 25 施設にて実施した野外臨床試験では、CTF 1mg/kg あるいは 2mg/kg の用量にて 1 日 1 回 5 日間筋肉内注射することにより、試験 5 日目に、体温が 39.5℃ 未満へ下降した牛は、それぞれ 90.0% および 89.6% となった。悪露性状の回復は徐々に認められ、試験 14 ± 1 日目に体温が 39.5℃ 未満へ下降し、悪露の悪臭が消失した牛はそれぞれ 81.3% および 91.2% であった。また、他剤無効例 11 例に対し、CTF 2mg/kg 5 日間投与による有効性を調査したところ、試験 5 日目および 14 日目共に有効率 100% であった。以上のことから、CTF は産褥熱発症牛に対しても有効であることが認められた。

4. 参考

CTF の製剤名と承認事項および使用上の注意は表 5 の通りである。

参考文献

- 1) Berg JN, Loan RW: *Fusobacterium necrophorum* and *Bacteroides melaninogenicus* as etiological agents of foot rot in cattle. *Am J Vet Res*, 36, 1115-1122 (1975)
- 2) Borsberry S, Dobson H: Periparturient diseases and their effect on reproductive performance in five dairy herds. *Vet Rec*, 124, 217-219 (1989)
- 3) Hernandez J, Shearer JK, Webb DW: Effect of lameness on the calving-to-conception in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc*, 218, 1611-1614 (2001)
- 4) Hernandez J, Shearer JK, Webb DW: Effect of lameness on milk yield in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc*, 220, 640-644 (2002)
- 5) Hirvonen J, Huszenicza G, Kulcsár M, Pyörälä

表5 セフチオフルナトリウムの製剤名と承認事項および使用上の注意

製剤名：エクセネル注

製造所名：ファイザー株式会社

成分分量：1バイアル（20 mL 容器）中にセフチオフルナトリウム 1 g（力価）を含有する。

1バイアル（80 mL 容器）中にセフチオフルナトリウム 4 g（力価）を含有する。

効能効果：

適応症：牛：肺炎，趾間フレグモーネ（趾間ふらん），産褥熱

豚：豚胸膜炎

有効菌種：マンヘミア（パスツレラ）ヘモリチカ，パスツレラ ムルトシダ，アクチノバチルス プルロニューモニエ，フソバクテリウム ネクロフォーラム，ボルフィロモナス アサッカロリチカ（バクテロイデス メラニノジェニカス），アルカノバクテリウム ピオゲネス，本剤感受性の大腸菌

用法用量：本剤は，表示力価に従い 1 mL 当たり 50 mg（力価）となるよう注射用水で溶解して用いる。

1日1回体重 1 kg 当たりセフチオフルとして下記のとおり筋肉内に注射する。

牛：肺炎：1～2 mg（力価），3～5日間

趾間フレグモーネ（趾間ふらん）：1～2 mg（力価），3日間

産褥熱：1～2 mg（力価），5日間

豚：1～3 mg（力価），3日間

使用上の注意：（特に今回の追加適応症に関係する項目のみ記載する）

[牛及び豚に対する注意]

3. 適応上の注意

(3) 趾間フレグモーネの治療に際しては，治療効果を上げるため牛床の衛生管理とともに，敷料の使用等により牛蹄の負担を和らげること，患部を乾燥した状態に保つこと等の牛蹄の衛生管理についても留意すること。

(4) 趾間フレグモーネの治療に際しては，患部の汚物除去及び洗浄を行うこと。必要な場合には，局所治療を併用すること。

その他：

注意：獣医師の処方せん・指示により使用すること

注意：使用基準の定めるところにより使用すること

注意：本剤は薬事法第 83 条の 4 の規定に基づき上記の用法及び用量を含めて使用者が遵守すべき基準が定められた医薬品ですので，使用対象動物（牛，豚）について上記の用法及び用量並びに次の使用禁止期間を遵守して下さい。

牛：食用に供するためにと殺する前 7 日間，又は食用に供するために搾乳する前 24 時間

豚：食用に供するためにと殺する前 3 日間

S: Acute-phase response in dairy cows with acute postpartum metritis. *Theriogenology*, 51, 1071-1083 (1999)

6) 岩隈昭裕：セフチオフルについて。動物抗菌会報，26, 21-30 (2004)

7) Johnson DW, Dommert AR, Kingler DG: Clinical investigations of infectious foot rot of cattle. *J Am Vet Med Assoc*, 155, 1886-1891 (1969)

8) 加茂前秀夫：雌の繁殖障害。獣医繁殖学，森 純一，金川弘司，浜名克己 編，第 2 版，274，文英堂出版，東京（1995）

9) 金田義宏，小笠 晃：雌畜の繁殖障害。最新家畜臨床繁殖学，山内 亮 監修，231-232，朝倉書店，東京（1998）

10) Leblanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, Johnson WH: Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci*, 85, 2223-2236 (2002)

11) 中尾敏彦：牛子宮内膜炎の診断と治療。家畜診療，48, 717-725 (2001)

12) Okker H, Shmitt EJ, Vos PL, Scherpenisse P, Bergwerff AA, Jonker FH: Pharmacokinetics of ceftiofur in plasma and uterine secretions and tissues after subcutaneous postpartum administration in lactating dairy cows. *J Vet Pharmacol Therap*, 25, 33-38 (2002)

13) Opsomer G, Grsomer, Hertl J, Coryn M, Deluyker

- H, de Kruif A: Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium. *Theriogenology*, 53, 841-857 (2000)
- 14) Peter AT, Bosu WTK: Relationship of uterine infections and folliculogenesis in dairy cows during early puerperium. *Theriogenology*, 30, 1045-1051 (1988)
 - 15) Peter AT, Bosu WTK, DeDecker RJ: Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of *Escherichia coli* endotoxin. *Am J Vet Res*, 50: 368-373 (1989)
 - 16) Radostits OM, Blood DC, Gay CC: *In: Veterinary Medicine: a textbook of cattle, sheep, pigs, goats, and horses*. 9th ed. London, Bailliere Tindall, 867-870, (2000)
 - 17) Radostits OM, Blood DC, Gray CC: Diseases caused by bacteria-V. *In: Veterinary Medicine: a textbook of cattle, sheep, pigs, goats, and horses*. 9th ed. London, Bailliere Tindall, 948-950 (2000)
 - 18) Risco CA, Hernandez J: Comparison of ceftiofur hydrochloride and estradiol cypionate for metritis prevention in dairy cows affected with retained fetal membranes. *Theriogenology*, 60: 47-58 (2003)
 - 19) 佐野公洋, 田口 清, 丸山賀子, 野谷あずさ, 藤井 武: 牛の趾間フレグモーネに対するセフトオフル筋肉内投与の有効性. *獣畜新報*, 60, 203-208 (2007)
 - 20) 澤向 豊: 産褥熱. 新版 主要症状を基礎にした牛の臨床, 前出吉光, 小岩政照 監修, 637-639, デーリーマン社, 札幌 (2003)
 - 21) 澤向 豊, 中尾敏彦: 周産期の異常. *獣医繁殖学*, 森 純一, 金川弘司, 浜名克己 編, 第2版, 380-384, 文英堂出版, 東京 (1995)
 - 22) Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO: Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65, 1516-1530 (2006)
 - 23) Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H: Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*, 123, 837-845 (2002)
 - 24) Sparrow DGS, Gard S, Buret A, Ceri H, Olson M, Morck DW: Expression of tumor necrosis factor-alpha (TNF α) and granulocyte macrophage colony stimulation factor (GM-CSF) by bovine endothelial cells *in vitro*. *Clin Infect Dis*, 25, S178-S179 (1997)
 - 25) Studer E, Morrow DA: Postpartum evaluation of bovine reproductive potential, comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. *J Am Vet Med Assoc*, 172: 489-494 (1978)
 - 26) 鈴木善祐, 中原達夫 監修: 新繁殖学辞典 (家畜繁殖学会編), 165-166, 文英堂出版, 東京 (1992)
 - 27) 鈴木善祐, 中原達夫 監修: 新繁殖学辞典 (家畜繁殖学会編), 353, 文英堂出版, 東京 (1992)
 - 28) 田口 清: 蹄疾患. 生産衛生向上飼養管理技術の開発—牛の疾患発生状況調査実績報告書. 日本獣医学会編 (2002)
 - 29) Warnick LD, Janssen D, Guard CL, Gröhn YT: The effect of lameness on milk production in dairy cows. *J Dairy Sci*, 84, 1988-1997 (2001)
 - 30) Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM: Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63, 102-117 (2005)
 - 31) 全国農業共済会: 家畜共済の診療指針 I. 平成14年4月 (2002)
 - 32) Zhou C, Boucher JF, Dame KJ, et al: Multilocation trial of ceftiofur for treatment of postpartum cows with fever. *J Am Vet Med Assoc*, 219, 805-808 (2001)

Ceftiofur (New indication)

Akihiro IWAKUMA, Azusa NOTANI and Kenichi MORI

Pfizer Animal Health, Pfizer Japan Inc., 3-22-7 Yoyogi, Shibuya-ku, Tokyo 151-8589, Japan

Ceftiofur (CTF) is an animal-specific broad spectrum cephalosporin with resistance for β -lactamase. Over 20 years have been passed from the first launch in the world; however, there is no official report on tendency of resistant against targeted bacteria. In 1996, the product was approved for treatment of bovine pneumonia and pleuropneumonia of swine in Japan. Then, claim extensions i.e., usage in lactating cow in 1997, the shortest withholding period in milk in the antimicrobial injectable products in Japan at 24 hours in 2004, foot rot in 2006, puerperal fever in 2007 and shortened withholding period in meat in 2008 were approved in turn.

MIC₉₀ of CTF against causative bacteria of foot rot in cattle, *Fusobacterium necrophorum* and *Porphyomonas asaccharolytica* were ranged 0.5-2 mg/L and 1-4 mg/L, respectively. In the clinical studies using 94 cows at 15 locations, CTF 1 mg/kg or 2 mg/kg once per day for 3 days of intramuscular injection against cattle with foot rot resulted in 72.1% and 76.3% of efficacy rate, respectively.

On the other hand, MIC₉₀ of CTF against causative bacteria of puerperal fever in cattle, *F. necrophorum*, *Arcanobacterium pyogenes* and *Escherichia coli* were ≤ 0.06 mg/L, ≤ 0.06 mg/L and 1.0 mg/L, respectively. From the results of the clinical studies that were conducted using 175 cows at 25 locations, CTF 1 mg/kg or 2 mg/kg once per day for 5 days of intramuscular injection showed 90.0% and 89.6% of efficacy rate on day 6 when evaluating fever, respectively. The efficacy rate on day 14 ± 1 when evaluating both fever and disappeared bad smell of lochia were 81.3% and 91.2%, respectively. In addition, efficacy rate of CTF 2mg/kg for 5 days administration for 11 cows which were not cured by ampicillin alone or combined with cloxacillin treatment, were 100%.

In conclusion, CTF is an efficacious antimicrobial agent against not only respiratory disease but also foot rot and puerperal fever in cattle.

討 論 (座長：片岡 康 日獣大)

質問 (大西 守, 根室地区 NOSAI)

上市された後は臨床獣医師の使い方次第ですが、エクセネルが多用されすぎると、CTX-M2, CTX-M9, CMY-2 型耐性大腸菌を拡散させる可能性が高いと思われるのがいかがでしょうか。

答 (岩隈昭裕)

日米で分離された第3世代セファロsporin耐性大腸菌の型が異なっており、セフトオフル使用との因果関係ははっきりしていません。また、本剤は米国においては第一次選択薬として使用できますが、日本においては第二次選択薬として規制されておりますので、ご留意願いたい。

オルビフロキサシン（効能追加）

北代典幸・中井正博

大日本住友製薬株式会社 アニマルサイエンス部企画開発グループ

(〒 553-0001 大阪府大阪市福島区海老江 1-5-51)

1. 開発の経緯

オルビフロキサシン (orbifloxacin, OBFX) は大日本住友製薬株式会社が創製したフルオロキノロンである (図 1)。OBFX は細菌の DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV の作用を阻害し、殺菌的な作用を示す。

OBFX は動物専用のフルオロキノロンとして開発され、これまで牛・豚用の注射剤 (承認: 1993 年)、犬・猫用としては注射剤 (承認: 1995 年)、錠剤 (承認: 1997 年) および外用剤 (承認: 1998 年、対象動物は犬のみ) が販売されている。また、注射剤は韓国、錠剤は欧米でも販売されている。

外用剤は、東興薬品工業株式会社が特許を有する親水性軟膏を使用したクリーム剤であり、OBFX、ミコナゾール硝酸塩およびトリアムシロンアセトニドの合剤である。そのため、細菌および真菌の単独あるいは混合感染による外耳炎や皮膚感染症に対して効果を示すとともに、かゆみ、

発赤および腫脹などの炎症症状を速やかにしずめることにより、優れた治療効果を発揮する。

外用剤については、犬を対象動物として承認を取得した後、猫への応用について検討を開始した。外耳炎および皮膚炎に罹患した猫について患部から菌分離を行ったところ、次のことが明らかとなった。

- ・約 60% の症例から複数の細菌が分離される。
- ・30% 以上の症例から細菌と真菌の両方が分離される。
- ・分離菌には抗生物質耐性菌が認められる。

以上の結果より、猫の外耳炎および皮膚感染症の起因菌の分離状況は犬と同様な傾向であり、犬用として開発された外用剤 (商品名: ピクタス SMT クリーム) の有用性が猫においても期待されることから、本剤を猫用として開発した。

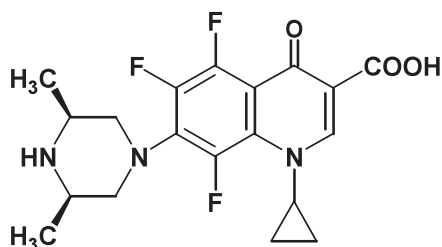
2. 安全性

猫の背部皮膚に、本剤を 7 日間連続塗布して猫に対する安全性を確認した。その結果、投与部位局所、一般状態、飼料摂取量、増体重、体温、血液学的検査および血液生化学的検査の全試験項目において特に問題となる所見は認められなかった。

3. 薬物動態

(1) 皮膚内移行

背部皮膚 1cm² 当たり本剤 0.02g を 1 日 1 回 7 日間連続で塗布したところ、OBFX とトリアムシ



分子量: 395.38

分子式: C₁₉F₂₀F₃N₃O₃

図 1 オルビフロキサシンの化学構造式

表1 猫由来菌株に対する OBFX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀

菌種名 (株数)	MIC range (mg/L)	MIC ₅₀ (mg/L)	MIC ₉₀ (mg/L)
スタフィロкокカス属菌 (79)	≤ 0.05 ~ 100	0.39	6.25
シュードモナス属菌 (22)	0.05 ~ 12.5	0.78	6.25
大腸菌 (9)	0.1 ~ 100	0.1	100

表2 臨床観察項目の評価とスコア

臨床観察項目	スコア	0	1	2
痒み		無	弱	強
発赤		無	弱	強
腫脹		無	軽	重
化膿		無	軽	重
糜爛		無	軽	重
潰瘍		無	軽	重
皮膚の落屑		無	少	多
痂皮形成		無	少	多
被毛の状態		正常	粗剛	—
体表面の状態		乾燥	湿潤	—
臭い		無	弱	強
リンパ節の腫脹		無	軽	重
色素沈着		無	低	高

$$\text{スコア改善率 (\%)} = \frac{\text{投与前スコア合計} - \text{最終投与終了後翌日スコア合計}}{\text{投与前スコア合計}} \times 100$$

ノロンアセトニドは投与3日目まで皮膚内濃度の上昇が認められ、それ以降は同等の濃度で推移した。一方、ミコナゾール硝酸塩は、投与期間中は一定の皮膚内濃度を示した。

(2) 消失

皮膚からの消失は、上記の皮膚内移行と同様に試験を実施したところ、3薬剤ともに休薬後5日目までは急速に減少し、それ以降は緩やかに減少した。皮膚に浸透した薬剤は、代謝や分解によらず皮膚の新陳代謝等で減少するものと考えられた。

(3) 有効性

ア. 抗菌作用

猫の外耳および皮膚の患部から分離された、スタフィロкокカス属菌、シュードモナス属菌および大腸菌に対する OBFX の MIC を表1に示す。

表3 効果判定基準

効果判定	判定基準
著効	スコア改善率が90%以上
有効	スコア改善率が70%~90%未満
効果少ない	スコア改善率が50%~70%未満
効果なし	スコア改善率が50%未満

$$\text{有効率 (\%)} = \frac{\text{著効例数} + \text{有効例数}}{\text{有効性解析症例数}} \times 100$$

スタフィロкокカス属菌に対する OBFX の MIC range は ≤ 0.05 ~ 100mg/L で、MIC₅₀ および MIC₉₀ はそれぞれ、0.39mg/L および 6.25mg/L であった。シュードモナス属菌に対する OBFX の MIC range は 0.05 ~ 12.5mg/L で、MIC₅₀ および MIC₉₀ はそれぞれ、0.78mg/L および 6.25mg/L であった。大腸菌に対する OBFX の MIC range は 0.05 ~ 100mg/L で、MIC₅₀ および MIC₉₀ はそれぞれ、0.1mg/L および 100mg/L であった。

イ. 臨床試験

外耳炎 (全国 25 施設) および皮膚感染症 (全国 23 施設) と診断された猫を対象に実施した。本剤の投与期間は7日間を上限とし、1日1回、適量を患部に塗布した。有効性の評価は、表2に示す臨床観察項目を本剤の投与前後に観察してスコア化し、下式によりスコア改善率を求めることにより実施した。効果判定は表3に示す基準により行い、有効率を算出した。

その結果、外耳炎に対する有効率は75.0% (51/68)、皮膚感染症に対する有効率は71.7% (43/60) であった。なお、臨床試験における有害事象は認められず、犬と同様に猫に対しても安全性が高い薬剤であることが確認された。

(参考) 本剤の製剤名と承認事項および使用上の注意は表4のとおりである。

表 4 製剤名と承認事項および使用上の注意

製剤名	ビクタス SMT クリーム
製造販売元	東興薬品工業株式会社
販売	大日本住友製薬株式会社
成分・分量	本剤 1g 中, オルビフロキサシン 10mg, ミコナゾール硝酸塩 10mg, トリアムシノロンアセトニド 1mg 含有する。
用法・用量	1日1回, 患部に適量を塗布する。
効能・効果	有効菌種 犬: 有効菌種: スタフィロコッカス属菌, ストレプトコッカス属菌, シュードモナス属菌, 大腸菌, マラセチア・パチデルマチス, 皮膚糸状菌 猫: 有効菌種: スタフィロコッカス属菌, シュードモナス属菌, 大腸菌, マラセチア・パチデルマチス, 皮膚糸状菌 適応症 犬・猫: 細菌性および真菌性外耳炎, 細菌性および真菌性皮膚感染症
	【一般的注意】
	(1) 本剤は要指示医薬品であるので獣医師等の処方せん・指示により使用すること。 (2) 本剤は第一次選択薬が無効の症例のみに限り使用すること。 (3) 本剤は効能・効果において定められた適応症の治療のみに使用すること。 (4) 連続8日以上塗布は行わないこと。 (5) 本剤は定められた用法・用量を厳守すること。 (6) 本剤の使用に当たっては, 耐性菌の発現等を防ぐため, 原則として感受性を確認し, 適応症の治療上必要な最小限の期間の投与に止めること。 (7) 本剤は重症例においては有効性が低いため使用を避けること。 (8) 本剤は塗布後患者が患部を舐めないような処置を講ずること。
	【使用者に対する注意】
使用上の注意	(1) 誤って薬剤を飲み込んだ場合は, 直ちに医師の診察を受けること。 (2) 本剤の有効成分トリアムシノロンアセトニドには, 実験動物で催奇形性を有するとの文献報告があるので, 妊娠又は妊娠している可能性のある使用者は注意し, 慎重に使用すること。 (3) 本剤は副腎皮質ホルモン系薬剤に対する過敏症の既往歴がある人は, 直接素手で取り扱わないこと。 (4) 使用した後あるいは, 直接皮膚に付着した場合は, 直ちに石けん等で洗浄すること。
	【犬及び猫に対する注意】
	1. 制限事項 (1) 本剤の有効成分トリアムシノロンアセトニドには, 実験動物で催奇形性を有するとの文献報告があるので, 妊娠又は妊娠している可能性のある動物での使用は注意すること。 2. 副作用 (1) 副作用が認められた場合には, 速やかに獣医師の診察を受けること。 3. 適用上の注意 (1) 本剤は外用以外に使用しないこと。
	【取扱い上の注意】
	(1) 使用済みの容器は, 地方公共団体条例等に従い処分すること。
	【保管上の注意】
	(1) 小児の手の届かないところに保管すること。 (2) 直射日光や高温を避け, 涼しいところに密栓して保管すること。 (3) 誤用を避け, 薬の品質を保つために, 他の容器に入れかえないこと。
包装	5g, 20g
貯法	室温保存

要 約

OBFX, ミコナゾール硝酸塩 (MCZ) およびト

リアムシノロンアセトニド (TA) を含有する製剤 (ビクタス SMT クリーム, 以下本剤という) を猫用に開発した。本剤は猫の細菌性および真菌性の外耳炎あるいは皮膚感染症の治療剤として,

2005年に新効能追加が承認され、販売されている。

猫に本剤を7日間塗布して安全性試験を実施した結果、特に問題となる所見は認められなかった。

猫に本剤を7日間塗布し皮膚内濃度の推移および皮膚からの消失を検討した。その結果、OBFXとTAが3日間投与まで皮膚内濃度は上昇し、MCZは、投与期間中一定の濃度を示した。また、休薬後3薬剤ともに5日目まで急速に減少した。

分離菌株に対するOBFXのMIC₉₀は、スタフィロコッカス属菌：6.25mg/L、シュードモナス属菌：6.25mg/L、大腸菌：100mg/Lであった。

臨床試験における猫の外耳炎および皮膚感染症に対する本剤の有効率は、外耳炎：75.0%、皮膚感染症：71.7%を示した。また、試験期間中に有害事象は認められなかった。これらのことから、猫においても犬と同様に本剤の有用性が確認された。

Orbifloxacin

Noriyuki KITADAI and Masahiro NAKAI

*Animal Health Products, Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.,
5-51, Ebie 1-chome, Fukushima-ku, Osaka 553-0001, Japan*

DSP developed VICTAS[®] S MT Cream (VMTC) containing the three active pharmaceutical ingredients (APIs) of orbifloxacin (OBFX), miconazole nitrate (MCZ) and triamcinolone acetonide (TA). The additional marketing approval of VMTC was given to include the indications for cats of topical treatment of bacterial and/or fungal otitis externa and dermal infection in 2005 and VMTC has been marketed.

In a cat safety study that VMTC was applied to the dorsal skin once a day for 7 days, no drug-related toxicological effects were observed.

Intradermal pharmacokinetics of VMTC was observed by intradermal concentration measurement of APIs and their disappearance from skin. As a result, the intradermal concentrations of OBFX and TA increased for three days after application, while MCZ concentration was maintained at a constant level throughout drug application period. All APIs concentrations decreased rapidly by the fifth day after withdrawal.

MIC₉₀ of OBFX against clinical isolates of *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp. and *Escherichia coli* were 6.25mg/L, 6.25mg/L and 100mg/L, respectively.

The clinical efficacy rates of VMTC were 75.0% and 71.7% for otitis externa and dermal infection in cats, respectively. No adverse events related to VMTC were observed during study.

These findings demonstrate the efficacy and safety of VMTC in cats as well as in dogs.

討 論 (座長：片岡 康 日獣大)

質問 (片岡 康, 日獣大)

オルビフロキサシンというフルオロキノロン剤を使用したクリームであるが、投与期間に制限はない

のか。

答 (北代典幸)

8日以上使用しない注意書きがある。

ゲンタマイシン（新配合）

鈴木靖幸

日本全薬工業株式会社 研究開発事業本部 開発部（〒 963-0196 福島県郡山市安積町笹川字平の上 1-1）

1. はじめに

硫酸ゲンタマイシン（gentamicin ; GM）は1963年にアメリカ合衆国のシェリング社により発見され、医薬品として開発されたグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して広範な抗菌活性を示すアミノグリコシド系の抗生物質である。動物用医薬品としての歴史も古く、日本国内においてはシェリング・プラウ株式会社が犬用点眼剤として、また、住化エンビロサイエンス株式会社が牛・豚用製剤として、日本全薬工業株式会社が犬用注射剤としての動物用医薬品の製造販売承認をそれぞれ取得している（表1）。

本稿では、日本において2006年に承認され、現在、日本全薬工業が輸入販売を行っているGM配合犬用外耳炎治療剤「オトマックス®」（以下、本剤）についてその製品概要を抗菌剤GMの抗菌活性を中心に紹介する。

2. 開発の経緯

米国シェリング・プラウアニマルヘルス社では、犬の各種皮膚疾患起因菌に対し優れた抗菌力を示す抗菌剤GMと、強い抗炎症作用を有する抗炎症剤吉草酸ベタメタゾンとは、特に難治性である犬の外耳炎の治療薬として有用と考え、外耳炎専用の2剤配合剤を開発した。しかし、犬の外耳炎

表1 日本国内におけるGMを配合した動物用医薬品

商品名称	製造販売業者名	投与経路	対象動物	効能効果 / 有効菌種	適応症
動物用ゲントシン点眼液	シェリング・プラウ	点眼	犬, 猫	本剤感受性のブドウ球菌	犬・猫：結膜炎, 角膜炎, 眼瞼炎
動物用ゲンタリン細粒	住化エンビロサイエンス	飲水添加 飼料添加	牛 / 3月齢以下 豚 / 4月齢以下	大腸菌, サルモネラ	子牛の細菌性下痢症 子豚の細菌性下痢症
動物用ゲンタリンピッグポンプ	住化エンビロサイエンス	強制経口投与	豚 / 10日齢以下	大腸菌	子豚の細菌性下痢症
動物用ゲンタミン注射液	日本全薬工業	筋肉内注射	犬	ゲンタマイシン感受性の緑膿菌, プロテウス, ブドウ球菌, 大腸菌, クレブシエラ	犬の細菌性泌尿器感染症
オトマックス	日本全薬工業	滴下	犬	本剤感受性の <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Malassezia pachydermatis</i>	犬の感染性外耳炎

(動物用医薬品等データベース；動物用医薬品検査所 より抜粋)

にはマラセチアの混合感染が頻繁に見られ、特に難治例では抗真菌剤の配合が強く望まれたため、シェリング・プラウアニマルヘルス社はさらに抗真菌剤クロトリマゾール (CTZ) を加えた3剤配合の本剤を開発した。1989年にカナダでの承認取得を皮切りに、以後世界30カ国以上で20年の長きにわたり、本剤は犬の外耳炎の治療に広く用いられている。

2006年に漸く日本国内においても本剤の承認が取得された。

3. 製品概要

本剤は1g中にアミノグリコシド系の抗生物質 GM 3mg (力価)、ステロイド系抗炎症剤吉草酸ベタメタゾン 1.214mg (ベタメゾンとして1mg) および抗真菌剤 CTZ 10mg を配合する犬の外耳炎治療薬である。

表2 犬への投与量

犬の体重	7.5g チューブ	215g ボトル
15kg 未満	4 滴	2 滴
15～24kg 未満	6 滴	3 滴
24kg 以上	8 滴	4 滴

表3 犬の外耳道より分離した菌株の感受性細菌数 (%)

菌種	供試数	抗生物質									
		BC	PL-B	FRM	AMPC	Cf	GM	TC	TMZ+SDZ	PCG	CP
CNS	130	99	74	99	52	130	130	95	124	52	118
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44	0	44	6	0	0	32	0	0	0	0
<i>Proteus</i>	33	0	0	32	32	32	32	0	33	0	29
<i>Enterococcus</i>	30	6	0	0	30	4	0	14	26	0	29
β - <i>Streptococcus</i>	29	28	0	0	29	29	11	8	28	28	29
<i>Escherichia coli</i>	22	0	20	22	18	13	22	20	21	0	21
<i>Diphtheroid</i>	14	14	8	14	13	14	14	13	9	13	9
<i>Pseudomonas</i> 属	9	0	7	2	2	2	7	2	2	0	1
<i>Klebsiella</i>	5	0	5	2	0	2	2	2	2	0	2
<i>Providencia</i>	2	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0
Group-D Non-Enterococcus	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1

BC : bacitracin, PL-B : polymyxin-b, FRM : fradiomycin, AMPC : ampicillin, Cf : cephalosporin, GM : gentamicin, TC : tetracycline, TMZ+SDZ : trimethoprime+sulfadiazine, PCG : benzylpenicillin, CP : chloramphenicol

[Kowalski JJ *et al.* (1988) [1]]

効能・効果は、本剤感受性の *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, ならびに *Malassezia pachydermatis* を有効菌種とし、適応症としては、犬の感染性外耳炎である。

包装規格は、7.5g チューブならびに 215g プラスチックボトルの2つの規格があり、用法・用量としては、規格毎に表2記載の量を、犬の外耳内に、片耳当たり1日1～2回滴下することとされている。

なお、投薬するにあたり、①外耳内の異物、汚物、痂皮化した滲出物等は非刺激性の洗浄液で取り去り、治療部位に生えている余分な毛は引き抜くこと、②外耳道内における薬液の拡散を図るため、本剤の投薬後は耳を軽くマッサージすることとされている。

4. 抗菌活性 (有効性)

(1) 犬の外耳道より分離された菌株に対する各種抗生物質の感受性

外耳炎の症状を呈した犬から分離された菌株について、各種抗生物質に感受性のある菌株数を調べた [1] (表3)。その結果、検出頻度が最も多かった *Staphylococcus* 属分離株 130 株に対して GM と

セファロスポリン系薬剤 (Cf) は、分離株全て (130/130; 100%) に対して感受性が認められた。次に検出頻度が高い *P. aeruginosa* 分離株 44 株に対して Cf はすべてが耐性株であったのに対し、GM は 32 株 (32/44; 73%) に感受性が認められた。また 3 番目に多かった *Proteus* 属に対してもすべての分離株にて感受性が確認された (33/33; 100%)。このことから犬の外耳炎起因菌に対し GM は有効であると考えられた。

(2) 国内臨床試験において分離された犬外耳炎由来分離株に対する薬剤感受性成績

国内で実施された臨床試験で分離された菌株の GM に対する薬剤感受性試験において、最も検出頻度の高かった *S. intermedius* に対する MIC₅₀ が 0.10 mg/L、2 番目に多く分離されたコアグラゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) に対する MIC₅₀ が 0.05 mg/L であるなど、犬外耳炎由来の国内分離株に対しても GM の有効性は確認された (表 4)。

(3) 長期使用国 (カナダ) において分離された犬外耳炎由来分離株に対する薬剤感受性成績

カナダにおいて市販後 10～15 年目にあたる 1999～2003 年に採取した犬の外耳炎分離菌 1,819 株について、ディスク拡散法による各種抗生物質の感受性試験を行った結果、GM は *S. intermedius* 660 株に対して耐性株の割合は 2%、*P. aeruginosa* は 319 株に対して 15%、*Streptococcus*

属 219 株に対して 29%、*Proteus* 属 184 株に対して 13% でありそれぞれの外耳炎由来野分分離株に対して GM の有効性は維持されていた [2] (表 5)。

(4) GM 以外の有効成分の抗菌活性：抗真菌剤 クロトリマゾール (CTZ) の効果

国内で実施された臨床試験で分離された *M. pachydermatis* 40 株に対する CTZ の薬剤感受性を寒天平板希釈法で測定した結果、MIC は 1.56～25mg/L に分布し、ピークは 6.25mg/L であった (表 6)。

また、臨床試験で分離された *M. pachydermatis* の薬剤投薬後の減少率は、ナイスタチン配合の対照薬が 33.3% であったのに対し、本剤 1 回投薬群で 67.7%、2 回投薬群で 55.6% と有効であった (表 7)。

(5) GM 以外の有効成分の抗菌活性：抗真菌剤 クロトリマゾール (CTZ) の効果

国内で実施された臨床試験で分離された *M. pachydermatis* 40 株に対する CTZ の薬剤感受性を寒天平板希釈法で測定した結果、MIC は 1.56～25mg/L に分布し、ピークは 6.25mg/L であった (表 6)。

また、臨床試験で分離された *M. pachydermatis* の薬剤投薬後の減少率は、ナイスタチン配合の対照薬が 33.3% であったのに対し、本剤 1 回投薬群で 67.7%、2 回投薬群で 55.6% と有効であった (表 7)。

表 4 国内臨床分離株の GM に対する薬剤感受性試験

菌種	供試株数	MIC (mg/L)										MIC ₅₀	
		≤ 0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5		25
<i>Staphylococcus intermedius</i>	42		15 ¹⁾	19	3 ²⁾	1	1	1	2				0.10
CNS	40	12	8	12	2	1		2	3				0.05
<i>Staphylococcus canis</i>	11					3	3	5					0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13							3	1	6	2	1	6.25
<i>Pseudomonas</i> 属	6							2	1	3			6.25
<i>Escherichia coli</i>	9					3	6 ³⁾						0.78

1) 参照株 *S. intermedius* ATCC29663 を含む

2) 参照株 *S. aureus* 209P を含む

3) 参照株 *E. coli* NIHJ を含む

表5 長期使用国(カナダ)において分離された犬外耳炎由来分離株に対する薬剤感受性成績

抗生物質	検査株数と(耐性株の割合%)					
	<i>S. intermedius</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Streptococcus</i> 属	<i>Proteus</i> 属	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus</i> 属
AMK	660 (2)	319 (11)	219 (72)	184 (5)	178 (1)	44 (59)
AMPC	660 (0)	306 (94)	220 (0)	184 (3)	178 (6)	44 (0)
ABPC	660 (64)	306 (94)	219 (0)	184 (14)	178 (21)	44 (0)
CEX	651 (1)	285 (100)	219 (3)	176 (19)	171 (13)	44 (91)
CP	651 (0)	289 (99)	217 (0)	175 (15)	170 (3)	44 (11)
CLDM	659 (4)	290 (100)	219 (2)	176 (100)	171 (99)	44 (89)
DOXY	651 (7)	285 (98)	219 (12)	176 (98)	171 (16)	44 (16)
ERFX	651 (1)	290 (38)	219 (6)	176 (2)	171 (2)	44 (11)
EM	660 (5)	290 (100)	220 (2)	176 (99)	171 (97)	44 (18)
FA	651 (3)	285 (100)	219 (22)	176 (95)	171 (99)	44 (52)
GM	660 (2)	319 (15)	219 (29)	184 (13)	178 (1)	43 (30)
PCG	651 (65)	290 (100)	219 (0)	176 (36)	171 (99)	44 (2)
TMP+SDZ	660 (18)	309 (95)	219 (3)	184 (17)	178 (6)	44 (7)

AMK : amikacin, AMPC : amoxicillin, ABPC : ampicillin, CEX : cephalixin, CP : chloramphenicol, CLDM : clindamycin, DOXY : doxycycline, ERFX : enrofloxacin, EM : erythromycin, FA : fusidic acid, GM : gentamicin, PCG : benzylpenicillin, TMP+SDZ : trimethoprim+sulfadiazine

[Hariharan H *et al.* (2006) [2]]

表6 国内臨床分離 *Malassezia pachydermatis* のCTZに対する感受性

菌種	供試株数	MIC (mg/L)				
		1.56	3.13	6.25	12.5	25
<i>Malassezia pachydermatis</i>	40	1	7	18	12	2

5. 安全性

GMは耳毒性を有することは良く知られているため、シェリング・プラウアニマルヘルス社研究所において、GMを本剤の2倍にあたる製剤1gあたり6.17mgを含有するGBC製剤(1g中、GM6.17mg, 吉草酸ベタメゾン1.25mg, CTZ10.30mgを含有)を耳に傷害を与えた上で細菌を感染させた犬に、通常臨床用量の5倍までの投薬量を3倍の投薬期間(21日間)連続投薬するという苛酷な条件での試験を実施した。その結果、臨床用量の3倍、あるいは5倍投薬によっても、耳毒性の所見は認められなかった。しかし、5倍用量群においてステロイドに由来すると思われる嘔吐が観察された。そのため、健常犬を用い

て5倍用量7日間の連続投薬により追加試験を実施したが、嘔吐は観察されなかった(シェリング・プラウアニマルヘルス社, 1986)。

以上より、本剤の通常量投薬の安全性は高いと考えられるが、長期、大量投薬は避けるべきであると考えられた。

また、国内臨床試験において本剤を投薬した145頭のうち1頭(0.7%)において配合成分に対する過敏症が要因と思われる挙動不審が認められたが、それ以外の重篤な有害事象は認められなかった。

6. おわりに

以上のように抗生物質GM, ステロイド系抗炎

表7 国内臨床試験における CTZ による *Malassezia pachydermatis* の減少率

投与群	症例数	投与前		投与後		減少率 (%) ¹⁾
		分離数	分離率 (%)	分離数	分離率 (%)	
オトマックス®1 回投与群	31	31	100	67.7 ^{a)}	32.3	67.7 ^{a)}
オトマックス®2 回投与群	27	27	100	55.6 ^{a)}	44.4	55.6 ^{a)}
ナイスタチン配合対照薬群	15	15	100	33.3 ^{b)}	66.7	33.3 ^{b)}

1) : 減少率 (%) = (投与前の分離数 - 投与後の分離数) / 投与前の分離数 × 100

a), b) : 異なる文字間で優位差あり (p<0.05, χ^2 検定)

[(株)京都動物検査センター, (勸)鳥取県動物臨床医学研究所]

症剤吉草酸ベタメタゾンおよび抗真菌剤 CTZ を配合する本剤は、犬の外耳炎の起因菌として知られている細菌 *S. intermedius* や真菌 *M. pachydermatis* が関与する複雑な犬外耳の炎症治療の第一次選択薬として有効な治療剤であると考えられた。

要約

本剤は抗生物質 GM, ステロイド系抗炎症剤吉草酸ベタメタゾンおよび抗真菌剤 CTZ を主剤とする犬の外耳炎治療薬で、日本においては 2006 年に承認された。

GM は他の抗生剤と比較して、外耳炎の症状を呈した犬から分離された菌株のうち検出頻度が多い *Staphylococcus* 属分離株, *Pseudomonas aeruginosa* 分離株に対し、それぞれ 100%, 73% と高い感受性が確認された。

また、国内の臨床試験においても最も検出頻度の高かった *Staphylococcus intermedius* に対する MIC₅₀ は 0.10 mg/L であり、有効であることが確認された。

市販後 10 年以上経過しているカナダにおいて、犬外耳炎に由来して分離された *S. intermedius* に対しての耐性株の割合は 2% であり GM の有効性が維持されていた。

CTZ を配合している本剤投薬による国内臨床

試験にて分離された外耳炎起因の真菌 *Malassezia pachydermatis* の減少率は、1 回投薬群で 67.7%, 2 回投薬群で 55.6% と有効であった。

本剤の耳毒性の有無を確認するため、GM を 2 倍含有する製剤を耳に傷害を与えた上で細菌を感染させた犬に、通常臨床用量の 5 倍の投薬量を 3 倍の投薬期間連続投薬するという苛酷な条件での試験を実施したが、耳毒性の所見は認められなかった。また、国内臨床試験においても副反応が認められたのは 145 頭中 1 頭 (0.7%) のみであった。

以上のように本剤は、犬の外耳炎の起因菌として知られている細菌 *S. intermedius* や真菌 *M. pachydermatis* が関与する複雑な犬外耳炎治療の第一次選択薬として有効な治療剤であると考えられた。

引用文献

- 1) Kowalski JJ: The microbial environment of the ear canal in health and disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 18, 743-754 (1988)
- 2) Hariharan H, Coles M, Poole D, Lund L, Page R: Update on antimicrobial susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa. *Can Vet J*, 47, 253-255 (2006)

Gentamicin (New combination)

Yasuyuki SUZUTA

*Development Division, Research and Development Division, Nippon Zenyaku Kogyo Co., LTD.**1-1 Tairanoue Sasagawa, Asakamachi, Koriyama, Fukushima 963-0196, Japan*

Otomax[®] was approved as a veterinary pharmaceutical for the treatment of canine otitis externa by JMAFF at 2006 in Japan. Its active ingredients are betamethasone valerate, gentamicin sulfate (GM), and clotrimazole (CTZ).

The MIC₅₀ of GM was 0.10 mg/L for 42 strains of *Staphylococcus intermedius* isolated in clinical studies in Japan and 0.05 mg/L for 40 CNS (coagulase-negative staphylococcus) strains. These results suggested that GM is effective against bacteria causing canine otitis externa.

Otomax[®] has been used for over 10 years in Canada, and GM-resistant strains were found to be only 2 percent of the investigated 660 strains of *S. intermedius*, isolated from the dogs' ears suffering otitis externa between 1999 and 2003, after 10 to 15 years from launch in Canada. These data shows that MIC of GM was kept at a low level and there was little emergence of drug-resistant strains of *S. intermedius* for over 10 years from launch.

The MIC₅₀ of CTZ was 6.25 mg/L for 40 strains of *Malassezia pachydermatis* isolated in clinical studies in Japan. These results suggested that CTZ is effective against the yeast causing canine otitis externa.

In the tolerance study under excessive condition, samples that consist of double GM content compared to Otomax[®] was confirmed to be safe when administrated at 5 times the recommended dose and for 3 times the usual treatment period to model dogs with injured ears infected with bacteria. Also, in the field studies in Japan, the side effects were only 0.7 percents (1/145 dogs).

These data suggested that Otomax[®] is a very effective and appropriate treatment against canine otitis externa in Japan, identical to the clinical experiences in other countries.

討 論 (座長：片岡 康 日獣大)

質問 (片岡 康, 日獣大)

点耳薬で犬の大きさに投薬量の違いがありますか。

答 (鈴田靖幸)

犬のみの提供としており、体重別となっている。

質問 (大西 守, 根室地区 NOSAI)

緑膿菌性乳房炎に対する GM 軟膏上市の予定は。

答 (鈴田靖幸)

今のところ考えておりません。

小動物臨床における抗菌薬の使い方

—基本的な考え方—

片岡 康

日本獣医生命科学大学獣医微生物学教室 (〒 180-8602 東京都武蔵野市境南町 1-7-1)

1. はじめに

小動物臨床の中で細菌感染症の症例に遭遇することは日常茶飯事と考えられるが、いったいどのように細菌感染症であるのかを確定診断し、原因菌に対して感受性のある抗菌薬を治療薬として処方しているのだろうか。

ここでは、細菌感染症をいかに的確に診断し、かつ感受性のある抗菌薬を選択でき、治療薬として抗菌薬を投与できるのか、ということを中心に返って考えてみたい。

2. 細菌感染症の確定診断

細菌感染症の確定診断は、どのように行っているのだろうか？症例に対して抗菌薬を処方するときが一番大事なことは、その症例が本当に細菌が感染した感染症であることを確定診断しなければならないことである。抗菌薬というのは「細菌」に対して選択的に働く治療薬であるから、ウイルス感染や真菌感染には全く無効である。そのため、これらの感染症に対して抗菌薬を処方することは、過剰な獣医療行為と判断されてしまう。

症例が細菌感染症であることを確定診断するために最も重要なことは、病変部に原因となる細菌が存在するか否かである。これを確認するためには、病変部の塗抹標本の顕微鏡検査が必要となる。単純に病変部の塗抹標本といっても、抗菌薬を選

択することを考えれば、塗抹標本のグラム染色を行い、グラム染色性、細菌の形態を観察し、症例の臨床症状と感染部位から、考えられる原因菌を推定することが重要となる。未染色標本(生標本)や単染色(デフクイック、ギムザなど)では、細菌の形態や判別ができるが、原因菌の推定が全くできないことを理解してほしい。

例えば、細菌性下痢の症例の場合、多くに臨床の先生方は下痢便または直腸便の生標本でカバーグラスを載せ400倍の倍率で標本を観察し、運動性の活発ならせん状の細菌が見えるとカンピロバクター腸炎であると診断するケースが多いと考えられる。しかしながら、未染色標本で、かつ400倍という倍率ではたして細菌を観察できるのであるか？答えは簡単で、400倍の倍率では細菌の形態など判定できないのである。つまり、細菌を観察するためには1,000倍の倍率で観察しなければならないのである。

病変部の塗抹標本を作製しても、適切な顕微鏡検査をしなければ細菌感染症を的確に診断できないことを知ってほしい。

3. 抗菌薬の選択

病変部の塗抹標本のグラム染色を行うことで、抗菌薬の選択が「経験に基づく抗菌薬の選択」から「科学的根拠に基づく抗菌薬の選択」に近づくことができる。抗菌薬の中には、グラム陽性菌に特に効果が認められる抗菌薬とグラム陰性菌に対

して効果の認められる抗菌薬が存在することは、周知の事実である。したがって、グラム染色を行うだけでも、科学的根拠に基づいた効果的な抗菌薬治療が行えるのである。

抗菌薬は、細菌に対する作用点により以下のように分類されている。

(1) 細胞壁合成阻害薬

ペニシリン系、セファロスポリン系、カルバペネム系、モノバクタム系、ホスホマイシン、バンコマイシン、バシトラシン

(2) 蛋白合成阻害薬

テトラサイクリン系、クロラムフェニコール系、マクロライド系、アミノグリコシド系、リンコマイシン系

(3) 核酸合成阻害薬

フルオロキノロン系

(4) 葉酸合成阻害薬

サルファ剤、トリメトプリム

(5) 細胞膜合成阻害薬

ペプチド系

さらに抗菌薬は、細菌に対する作用により殺菌

性抗菌薬（ペニシリン系、セファロスポリン系、カルバペネム系、モノバクタム系、アミノグリコシド系、フルオロキノロン系、ホスホマイシン）と静菌性抗菌薬（マクロライド系、リンコマイシン系、テトラサイクリン系、クロラムフェニコール系、サルファ剤、トリメトプリム）に分けられている。どちらを治療薬として用いるかは、症例の臨床症状により判断することになる。

もし第一次選択薬を投与したにもかかわらず効果が認められなかった場合には、抗菌薬を変更することになるが、この時、同じ作用点を持つ抗菌薬に変えても、作用点と同じであるため効果は同じであると判断すべきである。例えば、初期治療としてペニシリン系のアンピシリンを投与したが効果が現れないためにセファロスポリン系のセファレキシンに抗菌薬を変更した。これは正しいのか？と考えると、間違った抗菌薬の変更である。いずれの薬剤もβ-ラクタム薬であるため、原因細菌の細胞壁合成阻害に働くのである。最初に投与したアンピシリンが効果がなければ、作用点の異なる抗菌薬に変更するべきである。したがって、

表1 塗抹標本による臨床的判別点

塗抹標本の処理	細菌の存在	感染の有無	原因菌の推定	抗菌薬の選択
無染色標本	ある程度 判定可能	判定できず	判定できず	判定できず
単染色標本	判定可能	判定可能	判定できず	判定できず
グラム染色標本	判定可能	判定可能	判定可能	判定可能

表2 細菌に対する作用点の違いによる抗菌薬の分類

作用点	系 統	代表的抗菌薬
細胞壁合成阻害	ペニシリン系	PCG, ABPC, AMPC
	セフェム系	CEZ, CEX
	ホスホマイシン系	FOM
蛋白合成阻害	アミノグリコシド系	SM, KM, GM, AMK
	クロラムフェニコール系	CP, TP
	テトラサイクリン系	TC, MINO, DOXY
	マクロライド系	EM, CAM
	リンコマイシン系	LCM
核酸合成阻害	フルオロキノロン系	ERFX, OTLX, OBFX
補酵素阻害剤	サルファ剤	SDMX
	その他	TMP
細胞膜阻害剤	ペプチド系	CL, PL-B

表 3 PK/PD パラメーターによる抗菌薬の分類

PK/PD パラメーター	抗菌効果	抗菌薬
C _{max} /MIC タイプ	濃度依存性殺菌作用	フルオロキノロン系 アミノグリコシド系
Time above MIC タイプ	時間依存性殺菌作用	ペニシリン系 セフェム系 カルバペネム系 マクロライド系
AUC/MIC タイプ	時間依存性殺菌作用と長い持続効果	テトラサイクリン系 フルオロキノロン系 グリコペプチド系

抗菌薬療法に一定の効果が見られない、あるいは長期間の抗菌薬治療を試みる場合には、原因菌への作用点をよく考えて抗菌薬を選択すべきである。

4. PK/PD パラメーター

抗菌薬を投与する場合には、薬物動態 (PK) と薬力学 (PD) を考えることにより、抗菌薬の最大効果を得るための適切な用量・用法の設定が可能となる。

抗菌薬は PK/PD パラメーターを考えたときに、血中濃度のピークが高いほど効果的なもの (C_{MAX}/MIC タイプ)、MIC 濃度を超える薬物暴露量を確保すると効果的なもの (AUC/MIC タイプ)、MIC を超える血中薬物濃度の時間を長くするほど効果的なもの (Time above MIC タイプ) の 3 種類に分類される。

C_{MAX}/MIC タイプの抗菌薬は、アミノグリコシド系、フルオロキノロン系であり、これらのタイプの抗菌薬は、1 回の投与量を増やすことで最大の効果を得ることができる。AUC/MIC タイプに分類される抗菌薬は、フルオロキノロン系、テトラサイクリン系、ペプチド系などで、これらのタイプの抗菌薬は 1 回投与量を増やすとともに投与総量を増やすことで最大効果が得られる。一方、Time above MIC タイプの抗菌薬は、ペニシ

リン系、セファロスポリン系、カルバペネム系、グリコペプチド系などで、これらの抗菌薬は投与間隔を短くすることで最大効果が得られるのである。

その他、抗菌薬の分布容により感染部位に分布するのかを考慮し、さらに排泄経路や代謝臓器、副作用などを考慮し、その症例に最も効果的な抗菌薬を選択し投与しなければならない。

5. おわりに

小動物臨床における抗菌薬の使用には、ヒトの医療や食用動物に対する抗菌薬の使用と同様に、今後は「科学的根拠に基づいた抗菌薬の処方」が望まれるであろう。その理由は、薬剤耐性菌の問題である。現状では難治性細菌感染症以外に、薬剤耐性菌による感染症は問題になっていないと考えられる。しかしながら、薬剤耐性菌による難治性細菌感染症の治療の難しさを経験すれば、近未来にはヒトの医療と同様に薬剤耐性菌の問題が大きな社会問題となることが理解できると思う。抗菌薬は、有効な細菌感染症の治療薬である。その唯一の特効薬が使えなくならないためにも、「薬剤耐性菌」のことを是非考え、抗菌薬の適正使用ということを一人一人の獣医師が目指してほしい。

動物用抗菌剤研究会会則

第1章 総 則

(名 称)

第1条 本会は「動物用抗菌剤研究会」と称する。

(目 的)

第2条 本会は動物用抗菌剤（抗菌性物質）の基礎面と応用面並びに薬剤耐性菌（以下耐性菌と略称）に関する研究調査、知識および技術の普及を行い、動物の衛生ならびに公衆衛生上の問題点を検討し、もって薬剤使用の適正化をはかり、畜・水産振興に寄与することを目的とする。

(事 業)

第3条 本会は前条の目的を達成するため次号の事業を行う。

1. 動物の抗菌剤の基礎的並びに応用上の問題点に関する検討および文献、情報の収集。
2. 家畜・家禽・魚類等の耐性菌の実態調査ならびに耐性菌出現機序およびその防止策の検討。
3. 細菌の薬剤感受性および耐性菌に関する文献、情報および菌株の収集。
4. 細菌の薬剤感受性および耐性菌に関する検査技術基準の作成。
5. 抗菌剤の畜・水産物への残留に関する文献、情報の収集。
6. 関連学会および専門家との交流。
7. 上記各号における事業の成果については講演会、研究発表会の開催および参考資料の配布等を行い、その知識技術の普及をはかる。
8. その他本会の目的を達成するために必要な事業。

第2章 会 員

(会 員)

第4条 本会会員は次の者で構成する。

1. 個人会員
家畜衛生、臨床、魚病、畜・水産、飼料および動物医薬品等に関する技術者その他本会の趣旨に賛同する者。
2. 賛助会員
法人もしくは団体であって、本会の趣旨に賛同する者。
3. 名誉会員
本会の発展に顕著な功績があった者は総会において名誉会員に推挙することができる。

(入 会)

第5条 本会に入会しようとする者は入会申込書によって申し込むものとする。

(会 費)

第6条 個人会員および賛助会員は総会で定められた個人会費あるいは賛助会費を納入しなければならない。但し名誉会員は会費を免除する。

(会員の資格の喪失)

第7条 会員は次の事項に該当するときは会員の資格を失うものとする。

1. 会員の意思による退会。
2. 会員の死亡または解散。
3. 会費未納の場合。
4. 理事会が会員として不適当と認めた場合。

第3章 役 員

(役 員)

第8条 本会に次の役員をおく。

理 事 長 1名

副理事長 1名
理事 30名以内
監事 2名
任期は3年とし、再任を妨げない。
なお、若干名の顧問をおくことができる。

(役員を選出)

第9条 役員を選任は次の各号による。

1. 理事長、副理事長は理事の互選により決定する。
2. 理事、監事は会員の中から選出する。

(役員を任務)

第10条 役員を任務は次の各号による。

1. 理事長は本会を代表し、会務を統合する。
2. 副理事長は理事長を補佐し、事故あるときはその職務を代行する。
3. 理事は理事会を組織して会務を審議する。
4. 監事は本会の会計監査にあたる。

第4章 会の運営

(総会)

第11条 総会は通常総会および臨時総会とする。

1. 通常総会は年1回開催し、次の次項について議決する。
 - ア. 事業計画および収支予算の決定。
 - イ. 事業報告および収支決算の承認。
 - ウ. 会費および賛助会費等の経費の決定。
 - エ. 会則の変更。
 - オ. 理事および監事の選出。
2. 臨時総会は理事会が特に必要と認めたと

きに開催する。

3. 総会の議決は出席者の過半数できめる。

(組織)

第12条 本会に理事会、専門部会、事務局をおく。

1. (理事会)

理事会は理事長が招集し、本会の目的達成のために必要な運営方針の決定、事業計画の立案およびその実施にあたる。

2. (専門部会)

専門部会は理事長が委嘱する研究者およびこれに準ずる者若干名で構成し、専門事項に関し、理事会に意見を具申し、理事会の指示にもとづき、調査研究をおこなう。

3. (事務局)

事務局は理事会の指定する場所におき、理事会の指示にもとづき本会の庶務を担当する。

第5章 経理

(経費)

第13条 本会の経費は会費、賛助会費、補助金およびその他の収入をもってあてる。

(会計年度)

第14条 本会の会計年度は毎年4月1日に始まり翌年3月31日をもって終わるものとする。

附 則

(附 則)

本会則は平成4年4月1日より実施する。

平成20年9月13日改定

1. 投稿区分

(1) 解説・総説

すでに認められた業績・技術あるいは情報などについての解説・総説で、編集委員会が依頼したもの。

(2) 研究論文

当研究会の趣旨に沿った内容で他の学術誌に未発表な知見を含む学術論文として投稿された原著論文。

(3) 特別寄稿

当該年度のシンポジウムに合わせて実施した特別講演内容について記述された論文。

(4) 特集

当該年度のシンポジウム内容について記述された論文。

(5) 参考資料

- ア. 当研究会の事業として検討した課題に関する報告。
- イ. 当研究会の趣旨に沿う、学術情報、技術資料、調査資料、統計資料、通達などで理事会又は編集委員会において掲載が望ましいと判断されたもの。
- ウ. 新薬などについての学術的総説などで編集委員会から依頼、又は投稿されたもの。
- エ. 編集委員会において掲載が望ましいと判断された解説など。

2. 執筆要領

(1) 著者

「特別寄稿」および「特集」の著者は原則として特別講演・シンポジウムでの演者とするが、必要により若干の共著者を加えることができる。

(2) 原稿は可能な限り次の要領で執筆する。

ア. 原稿は原則としてワードプロセッサで作

成し、A4版に印刷し、1部とフロッピーディスクなどを提出する。

イ. 記述要領は原則として「日本産業動物獣医学会誌投稿規程」に従うが、下記については本規定による。

ア) 原稿は本文、図表等を含め原則として刷り上がり10頁以内とする。10頁を超えた場合、超過分の印刷費などを著者負担とする場合がある。

イ) 第1頁目は表紙とし、標題、著者名(全員)、所属機関名および所在地(郵便番号を含む)を和文で記述する。

下段に連絡責任者の電話、FAX、Eメールアドレスを記載する。なお、表題が20字を超える場合は20字以内のランニングヘッドを記載する。

ウ) 第2頁目以降は本文とし、はじめに、材料および方法、成績、考察、謝辞(必要な場合のみ)、和文要約、引用文献、英文SUMMARY(英文の標題、著者名、所属機関名および所在地を含む)の順に記述する。その後、図、表、写真などを添付する。

エ) 図、写真などは可能な限り白黒とする。カラーでの印刷の場合は下記の費用負担に従う。

オ) タイトル番号は、1. (1) ア. ア) の順とする。

カ) ヒト、動物種名は可能な限り「漢字」で記述する。ただし、難解な漢字はカタカナとし、ひらがなは使用しない。

キ) 抗菌剤は可能な限り抗菌薬と記述する。

ク) 抗菌薬名は成分名とし、商品名は使用しない(主成分およびその含有濃度などで記載)。

ケ) 抗菌剤名および系統名およびその略語は本会制定に従う。なお、本文中に初出の名称はフルネームに併せて略語を括弧内に記述し、以降、略語で記述する。図表のみに記述される抗菌剤名は略語のみを記述し、脚注に「本会制定の略号」に従った旨を記述してもよい。

コ) MIC の単位は可能な限り mg/L を用いる。

サ) 「ペット」の用語は可能な限り使用せず、「伴侶動物」「コンパニオンアニマル」とする。

(3) その他

新規承認薬剤の紹介において、使用上の注意事項のうち、特に注意すべき事項については、表などのみではなく本文中にも分かりやすく記述する。

3. 審査等

(1) 「特別寄稿」, 「特集」, 「解説・総説」, 「参考資料」については編集委員会および編集委員会

が委嘱した査読委員により確認し、用語、構成などで不都合な事項について修正を求める。

(2) 「研究論文」については編集委員を含む2名以上が審査し、編集委員長が採否を決定する。

(3) 動物の取扱いに倫理上の問題がある場合は採用しない。

4. 費用負担

原則として無料とするが、下記のものについては著者負担とする。

(1) 別冊の実費。但し、50部以下の場合は無料とする。

(2) カラー印刷など、印刷に高額な費用を要するものについてはその実費。

5. 原稿の送付先

投稿先は本会事務局とする。

〒180-8602 東京都武蔵野市境南町1-7-1
日本獣医生命科学大学獣医微生物学教室
動物用抗菌剤研究会

☎ 0422-31-4151 (内線253~255)

FAX 0422-31-4560

1. 平成21年度総会

平成21年度定期総会は平成21年4月25日（土）午前10時から日本獣医生命科学大学D棟D-211講義室にて、後述の第36回シンポジウムに先立って行われた。

最初に澤田理事長から挨拶があり、その後、恒例に従って同氏が議長となり、執行部から提案された以下の議案について審議が行われた。

(1) 平成20年度事業報告

年度内に次の事業が実施されたことが報告された。

ア. 会報第30号（82頁）を発行・配布した。

会報第30号には、特別寄稿として、「抗菌性物質の使用と耐性発現」および「新規に開発された伴侶動物用抗菌剤の基礎と臨床」を掲載した。

イ. 平成20年度定期総会の開催

平成20年4月26日（土）に開催した。

ウ. 第35回シンポジウムの開催（上記定期総会に引き続き開催）

特別講演として、「欧米における飼料添加剤・添加物規制後の比較」という演題で日本イーライリリー(株)の福本一夫先生に講演いただいた。

続いてシンポジウムⅠでは、「抗菌性物質の使用と耐性発現」をテーマに、「わが国における抗菌性物質の使用量の推移」という演題で(財)畜産生物科学安全研究所の平山紀夫先生に、「抗菌剤使用による家畜由来大腸菌の交差耐性および共耐性の農場レベルでの影響について」という演題で農林水産省動物医薬品検査所の原田和記先生に、「動物におけるキノロン系抗菌薬の使用と耐性菌選択との関連」という演題で(独)動物衛生研究所の秋庭正人先生に、「埼玉県内で分離された豚離乳

後下痢症由来大腸菌の薬剤感受性」という演題で埼玉県中央家畜保健衛生所の荒井理恵先生にそれぞれ講演いただいた。

シンポジウムⅡでは、「新規に開発された伴侶動物用抗菌剤の基礎と臨床」をテーマに、「注射用セフォバジンナトリウム」という演題でファイザー(株)の香川尚徳先生に講演いただいた。

エ. 事業報告

ア) 魚類用抗菌剤耐性菌と公衆衛生の検討事業

委員会（青木委員長、畑井、廣野各委員）
既報（DNA データバンク）の塩基配列を基に70mer のオリゴをデザインし、特異的オリゴDNA を1枚のスライドガラスにスポットし、薬剤耐性遺伝子オリゴDNA マイクロアレイを作製し、薬剤耐性遺伝子の迅速検出法と薬剤耐性遺伝子のクラス分けを行った。

イ) 家畜における臨床試験評価基準の検討事業

委員会（左向委員長、内田、米竹、岡野、廣瀬、加藤、板垣、杉山、渡辺、山田、小澤、澤田、片岡各委員）

平成20年5月30日（金）に第3回委員会を、平成20年8月22日（金）に第4回委員会を、平成20年12月12日（金）に第5回委員会をそれぞれ開催した。

ウ) 新規事業検討委員会

委員会（澤田委員長、青木、内田、五十君、岩崎、鎌田、阪野、桜井、高橋、田村、中村、濱本、平山、広瀬、片岡各委員）

平成20年9月20日（土）に新規事業検討委員会を開催し、そして平成21年4月11日（土）に理事会にて新規事業に関し検討し

た。それらを受け、まずは動物用抗菌薬の臨床試験における適応症ごとの有効性評価のための重要項目の検討を新規事業とすることとした。

エ) 第5回日本獣医内科学アカデミーにおける教育講演

平成21年2月14日(土)に、「小動物における抗菌剤の使い方」をテーマに、日本大学の鎌田寛先生、日本獣医生命科学大学の片岡康先生に教育講演をしていただいた。

オ) 平成20年度理事会

平成20年度理事会が、平成21年4月11日(土)に、日本獣医生命科学大学教育棟B-331教室で開催され、平成20年度事業報告および決算報告内容、平成21年度事業計画(案)および予算(案)内容、役員改選(案)、新規事業、第36回シンポジウムの内容について検討した。

カ) その他

平成20年9月13日(土)に編集委員会(阪野委員長、鎌田、金子、桜井、高橋各委員および澤田、片岡査読委員)を開催し、動物用抗菌剤研究会報No.30の編集作業を行った。

平成21年1月31日(土)にシンポジウム委員会(澤田委員長、平山、高橋、鎌田、金子、内田、佐藤、阪野、桜井、桑野各委員および事務局)を開催し、第36回シンポジウムの内容および演者について検討し、草案を作成した。

(2) 平成20年度決算報告

別表1のとおり決算報告があり、引き続き監査報告が行われた。

以上2議案が一括審議され、可決・承認された。

(3) 平成21年度事業計画

基本方針として、動物(魚類を含む)における化学療法の基礎および応用面に関する問題点ならびに動物の耐性菌に関する問題点を取り上げるとともに、薬剤感受性試験方法の国際標準化ならびに抗菌剤ごとの耐性限界値の制定を行

う。併せて、会の事業拡大と会員の増加を図ることが提案された。

平成21年度の事業計画として、上記の平成20年度の事業をほぼ承継・発展させ、また新規事業にも取り組む観点から、下記の事業が提案された。

ア. 抗菌性物質および耐性菌に対する技術・知識の普及

会報第31号を発行・配布する。

イ. 魚類用抗菌剤耐性菌と公衆衛生の検討事業

ウ. 家畜における臨床試験評価基準の検討事業

本年度は、臨床試験評価基準改訂(案)を用いた試験的臨床評価を継続的に行い、最終取りまとめを会報に掲載する予定である。

エ. 新規事業

動物用抗菌薬の臨床試験における適応症ごとの有効性評価のための重要項目について検討する。

オ. 第6回日本獣医内科学アカデミーにおける教育講演

平成21年度に開催予定の日本獣医内科学アカデミーにおいて教育講演を予定している。

カ. 平成21年度定期総会の開催

平成21年4月25日(土)に開催する予定。

キ. 第36回シンポジウムの開催

定期総会と同日に開催し、特別講演として、「牛と豚由来病原大腸菌の薬剤感受性と毒素産生性について」を末吉益雄先生(宮崎大学)に、「サルファ剤による *Bordetella bronchiseptica* の莢膜合成阻止作用について」を桑野昭先生(ハムリー株)に講演していただく予定である。

シンポジウムIでは、「家畜におけるフルオロキノロン剤の使用と耐性発現について」をテーマに、浅井鉄夫先生(農林水産省動物医薬品検査所)、加藤敏英先生(NOSAI山形)、江崎英剛先生(助畜産生物科学安全研究所)、小澤真名緒先生(農林水産省動物医薬品検査所)および平山紀夫先生(助畜産生物科学安全研究所)の講演を予定している。

シンポジウムIIでは、「新効能動物用抗菌性物質製剤」をテーマに、岩隈昭裕先生(ファ

イザー(株)、北代典幸先生(大日本住友製薬(株))、鈴田靖幸先生(日本全薬工業(株))の講演を予定している。

ク. その他本会の目的達成に必要な事項

(4) 平成21年度予算

別表2のとおり予算案が執行部から提案され、補足説明が行われた。

以上2議案が一括審議され、可決・承認された。

(5) 役員改選

役員の任期(3年)は本年3月で満了となったので、改選が行われた。

執行部から理事候補29名(前期役員のうち退任2名、新任2名、留任27名)および監事候補2名(留任)が提案され、承認された。

2. 第36回シンポジウム

特別講演として「牛と豚由来病原大腸菌の薬剤感受性と毒素産生性について」との演題で宮崎大学の末吉益雄先生に、また「サルファ剤による *Bordetella bronchiseptica* の莢膜合成阻止作用」との演題でハムリー(株)の桑野 昭先生に講演をいただいた。

続いてシンポジウムⅠでは、「家畜におけるフ

ルオロキノロン剤の使用と耐性発現について」をテーマに、「家畜におけるフルオロキノロン耐性菌の疫学」との演題で農林水産省動物医薬品検査所の浅井鉄夫先生に、「畜産現場におけるフルオロキノロン剤の使用状況と臨床効果」との演題でNOSAI山形の加藤敏英先生に、「*in vivo*におけるフルオロキノロンの耐性獲得試験」との演題で(財)畜産生物科学安全研究所の江崎英剛先生に、「家畜由来細菌のフルオロキノロン耐性機構」との演題での農林水産省動物医薬品検査所の小澤真名緒先生に、「抗菌薬の慎重使用」との演題で(財)畜産生物科学安全研究所の平山紀夫先生にそれぞれ講演いただいた。これらはいずれも現在世界的に問題となっているフルオロキノロン剤の耐性に係わる貴重な内容であり、討論も終始活発であり大変有意義であった。

続いて、シンポジウムⅡでは、「新効能動物用抗菌性物質製剤」をテーマに、「セフトロフル」についてファイザー(株)の岩隈昭裕先生に、「オルピフロキサシン」について大日本住友製薬(株)北代典幸先生に、「ゲンタマイシン」について日本全薬工業(株)の鈴田靖幸先生に講演いただいた。

シンポジウムの内容は本号に特別寄稿、特集として掲載されている。

(別表 1) 平成 20 年度収支決算書

[収入の部]

(単位：円)

科 目	予算額	決算額	比較増減		備 考
			増	減	
個人会費	435,000	435,000			3,000 × 145 名分 10,000 × 39 口分 シボゾウム, 抗菌剤マニュアル販売・印税
賛助会費	300,000	390,000	90,000		
繰越金	848,149	848,149			
雑収入	200,000	194,912		5,328	
合 計	1,783,149	1,868,061	84,672		

[支出の部]

(単位：円)

科 目	予算額	決算額	比較増減		備 考
			増	減	
事務費	235,000	104,536		130,484	切手代, はがき代 事務用品 通勤費, 都内交通費 プロバイダー料金
事務手当	50,000	24,400		25,600	
印刷費	30,000	23,520		6,480	
通信費	10,000	11,780	1,780		
消耗品費	25,000	4,321		20,679	
交通費	60,000	2,400		57,600	
H P 維持費	50,000	38,115		11,885	
雑費	10,000	0		10,000	
会議費	225,000	137,900		87,100	総会資料印刷代 交通費等
総会費	50,000	9,900		40,100	
役員会議費	75,000	30,900		44,100	
専門部会議費	100,000	97,100		2,900	
事業費	1,120,000	771,419		348,581	謝礼, 要旨印刷等 編集・印刷費, 送料等 文献・資料収集費 印刷費
資料配布費	40,000	0		40,000	
講演会費	300,000	175,459		124,541	
会報発行費	400,000	403,360	3,360		
資料収集費	20,000	9,800		10,200	
調査事業費	350,000	182,800		167,200	
雑費	10,000	0		10,000	
予備費	3,149	0		3,149	
特別事業費等積立金	200,000	200,000			特別事業費等
小 計		1,213,855			
次年度繰越		654,206			
合 計	1,783,149	1,868,061		378,019	

繰越金 654,206 三菱東京 UFJ 銀行普通預金 95,046 郵便振替 0
郵便貯金 525,670 現金 33,490
特別事業費等積立金 三菱東京 UFJ 銀行普通預金 1,202,804
監査の結果, 以上の通り相違ありません

平成 21 年 4 月 11 日

監事 佐藤 静 夫 ㊟
監事 小久江 栄 一 ㊟

(別表2) 平成21年度予算(案)

[収入の部]

(単位:円)

科 目	平成21年度 予算額	平成20年度 予算額	比較増減		備 考
			増	減	
個人会費	435,000	435,000			3,000 × 145 名分 10,000 × 30 口分 (18 会員 + 6 社理事) シンポジウム (会員 70 名 + 非会員 20 名)
賛助会費	300,000	300,000			
繰越金	654,206	848,149		193,943	
雑収入	200,000	200,000			
合 計	1,589,206	1,783,149		193,943	

[支出の部]

(単位:円)

科 目	平成21年度 予算額	平成20年度 予算額	比較増減		備 考
			増	減	
事務費	186,000	235,000		49,000	印刷代, コピー代 切手代, はがき代 事務用品, 印鑑 通勤費, 都内交通費 プロバイダー料金
事務手当	50,000	50,000			
印刷費	30,000	30,000			
通信費	10,000	10,000			
消耗品費	15,000	25,000		10,000	
交通費	30,000	60,000		30,000	
H P 維持費	50,000	50,000			
雑費	1,000	10,000		9,000	
会議費	180,000	225,000		45,000	総会資料印刷代 会場使用料, 交通費等 会場使用料, 交通費等
総会費	30,000	50,000		20,000	
役員会議費	50,000	75,000		25,000	
専門部会会議費	100,000	100,000			
事業費	1,021,000	1,120,000		99,000	封筒印刷代, タックシール代 謝礼, 要旨印刷等 編集・印刷費, 送料等 文献・資料収集費 事業費等
資料配布費	10,000	40,000		30,000	
講演会費	300,000	300,000			
会報発行費	400,000	400,000			
資料収集費	10,000	20,000		10,000	
調査事業費	300,000	350,000		50,000	
雑費	1,000	10,000		9,000	
予備費	2,206	3,149		943	
特別事業等 積立金支出	200,000	200,000			特別事業費等
合 計	1,589,206	1,783,149		193,943	

役員および所属 (平成 21 年 4 月～平成 24 年 4 月)

顧問	柴田 重孝	麻布大学名誉教授
顧問	高橋 勇	日本獣医生命科学大学名誉教授
顧問	鈴木 昭	元北里大学
理事長	澤田 拓士	日本獣医生命科学大学
副理事長	平山 紀夫	(財)畜産生物科学安全研究所
事務局担当	片岡 康	日本獣医生命科学大学
理事	青木 宙	東京海洋大学
〃	五十君 静信	国立医薬品食品衛生研究所
〃	* 稲毛 幹雄	千葉県中央家畜保健衛生所
〃	岩崎 利郎	東京農工大学
〃	内田 幸治	ファイザー(株)
〃	岡野 圭介	(株)インターベット
〃	加地 祥文	厚生労働省食品安全部監視安全課
〃	金井 久	群馬県東部家畜保健衛生所
〃	金子 一幸	麻布大学
〃	金子 誠二	東京都健康安全センター
〃	鎌田 寛	日本大学
〃	熊谷 進	東京大学
〃	阪野 哲也	(株)科学飼料研究所
〃	左向 敏紀	日本獣医生命科学大学
〃	田村 豊	酪農学園大学
〃	高橋 敏雄	農林水産省動物医薬品検査所
〃	中井 正博	大日本住友製薬(株)
〃	中澤 宗生	(独)動物衛生研究所
〃	中村 政幸	北里大学
〃	畑井喜司雄	日本獣医生命科学大学
〃	廣瀬 和彦	明治製菓(株)
〃	* 福本 一夫	日本イーライリリー(株)
〃	宮尾 陽子	東京都市場衛生検査所
〃	福安 嗣昭	麻布大学
〃	矢ヶ崎忠夫	(社)日本動物用医薬品協会
〃	八木澤守正	慶應義塾大学薬学部・大学院薬学研究科
監事	小久江栄一	元東京農工大学
〃	佐藤 静夫	(株)科学飼料研究所

* : 新任理事・監事, 他は留任

(所属は平成 21 年 4 月 25 日時点)

賛 助 会 員

株式会社インターベット キャトル&スワイン事業部

〒163-1033 東京都新宿区西新宿3-7-1
新宿パークタワー S 棟33階

ファイザー株式会社 アニマルヘルス事業部

〒151-8589 東京都渋谷区代々木3-22-7
新宿文化クイントビル

株式会社科学飼料研究所

〒101-0047 東京都千代田区内神田2-1-2
第5中央ビル

フォート・ダッジ株式会社

〒104-0031 東京都中央区京橋1-10-3
服部ビル 9 F

川崎製薬株式会社

〒210-0818 川崎市川崎区中瀬3-19-11

フジタ製薬株式会社 東京研究所臨床センター

〒193-0942 東京都八王子市栲田町1211

共立製薬株式会社 信頼性保証本部

〒102-0073 東京都千代田区九段北1-12-4
徳海屋ビル 1 F

ベーリンガーインゲルハイム

ベトメディカジャパン株式会社 臨床開発部
〒141-6017 東京都品川区大崎2-1-1

コーキン化学株式会社 開発部

〒579-8014 大阪府東大阪市石切町3-7-49

ThinkPark Tower 16階

千寿製薬株式会社事業開発部

〒541-0046 大阪府中央区平野町2-4-9

明治製菓株式会社 動薬飼料部開発グループ

〒104-0031 東京都中央区京橋2-4-16

日本イーライリリー株式会社

エランコアニマルヘルス事業部
〒651-0086 兵庫県神戸市中央区磯上通7-1-5
三宮プラザビル

全農飼料畜産中央研究所

〒300-4204 茨城県つくば市作谷1708-2

全農家畜衛生研究所

〒285-0043 千葉県佐倉市大蛇町7

日本全薬工業株式会社

〒963-0196 福島県郡山市安積町笹川字平ノ上1-1

(財)日本抗生物質学術協議会

〒141-0032 東京都品川区上大崎2-20-8

ノバルティス アニマルヘルス株式会社 薬事部

〒106-0031 東京都港区西麻布4-12-24
興和西麻布ビル 7 階

(財)日本動物用医薬品協会

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町4-6-10
サトービル 6 F

バイエル薬品株式会社

〒100-8265 東京都千代田区丸の内1-6-5
丸の内北口ビル

会員の拡充・投稿論文募集のお願い

会員の拡充については毎年お願いしているところであります。これまでのところ本研究会々員の内訳をみると、家畜衛生や公衆衛生関係の官公庁、製薬や飼料会社などの勤務獣医師が大半で、臨床関係者や水産関係者はあまり多くありません。

近年、本研究会では薬剤耐性菌問題や抗菌剤の慎重使用に係わる内容に重点をおいた運営を行っています。特に、重要な課題については専門家による委員会を設置し、検討を重ねております。今まで以上に牛、豚、鶏のみならず伴侶動物の臨床獣医師にも役立つ抗菌剤の適正使用に関する情報の提供ができると考えております。また、水産・魚病関係における抗菌剤の使用、残留や耐性菌に対する関心も高まっており、本研究会もこれら分野への事業の拡充を図りつ

つあります。

そこで、本研究会の活動をより活発なものとするため、各会員の周囲におられる方々に積極的に入会を呼びかけて下さい。

また、会報のさらなる充実を図るため、本研究会の主旨に合致した研究論文の投稿を広く受け付けております。投稿規定を本号および本研究会ホームページ (<http://www.jantianim.jp/>) に掲載しておりますので、積極的な投稿をお願い致します。

入会希望者は、本研究会ホームページ (<http://www.jantianim.jp/>) の入会フォームまたは葉書に住所 (会報等の送付先)、氏名、年齢、勤務先を明記し、本研究会事務局に連絡して下さい (年会費 3,000 円)。

動物用抗生物質・合成抗菌剤略語表
(飼料添加物を含む)

動物用抗菌剤研究会
2008年9月13日

ANTIBIOTICS (抗生物質)

GENERIC NAME	OTHER NAME	ABBREVIATION	
PENICILLIN ANTIBIOTICS (PCs) : ペニシリン系抗生物質			
Amoxicillin		AMPC	動医薬
Ampicillin	<i>Aminobenzylpenicillin</i>	ABPC	動医薬
Aspoxicillin		ASPC	動医薬
Benzylpenicillin	<i>Penicillin G</i>	PCG	動医薬
Cloxacillin	<i>Methylchlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	MCIPC	動医薬
Dicloxacillin	<i>Methyldichlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	MDIPC	動医薬
Hetacillin	<i>Isopropylidenaminobenzylpenicillin</i>	IPABPC	
Mecillinam		MPC	動医薬
Nafcillin	<i>Ethoxynaphtylpenicillin</i>	NFPC	動医薬
Oxacillin	<i>Methylphenylisoxazolylpenicillin</i>	MPIPC	
Ticarcillin		TIPC	
Tobicillin		TBPC	動物薬
CEPHEM ANTIBIOTICS (CEPs) : セフェム系抗生物質			
Cefaclor		CCL	
Cefadroxil		CDX	
Cefixime		CFIX	
Cefotaxime		CTX	
Ceftiofur		CTF	動医薬
Cefivitril		CEVR	
Cefotetan		CTT	
Cefoxitin		CFX	
Cefuroxime		CXM	動医薬
Cefovecin		CFV	動医薬
Cefquinome		CQN	動医薬
Cefazolin		CEZ	動医薬
Cephacetrile	<i>Cefacetrile</i>	CEC	
Cephalexin	<i>Cefalexin</i>	CEX	動医薬
Cephalonium		CEL	動医薬
Cephaloridine	<i>Cefaloridine</i>	CER	
Cephalothin		CET	
Cephapirin	<i>Cefapirin</i>	CEPR	動医薬
Cephoxazole		CXZ	
Cephradine		CED	
Clavulanic acid		CVA	
Latamoxef	<i>Moxalactam</i>	LMOX	
AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS (AGs) : アミノグリコシド系抗生物質			
Amikacin		AMK	
Apramycin		APM	

GENERIC NAME	OTHER NAME	ABBREVIATION	
Destomycin A Dihydrostreptomycin Fradiomycin Gentamicin Hygromycin B Kanamycin Paromomycin Spectinomycin Streptomycin Tobramycin	<i>Neomycin, Framycetin</i> <i>Aminocidin</i>	DM-A DSM FRM GM HM-B KM PRM SPCM SM TOB	飼添物 動医薬 動医薬 動医薬 動医薬 動医薬 動医薬
MACROLIDE ANTIBIOTICS (MLs) : マクロライド系抗生物質 Acetylisovaleryltylosin Azithromycin Carbomycin Clarithromycin Erythromycin Josamycin Kitasamycin Mirosamicin Oleandomycin Roxithromycin Sedecamycin Spiramycin Terdecamycin Tilmicosin Turimycin Tylosin	<i>Magnamycin</i> <i>Leucomycin</i> <i>Miporamycin, Mycinamicin</i>	AIV-TS AZM CRM CAM EM JM LM MRM OL RXM SCM SPM TDM TMS TUM TS	動医薬 動医薬 動医薬 飼添物 動医薬 飼添物, 動医薬
LINCOSAMINID ANTIBIOTICS (LCMs) : リンコマイシン系抗生物質 Clindamycin Lincomycin Pirlimycin		CLDM LCM PLM	動医薬 動医薬
PEPTIDE ANTIBIOTICS (PTs) : ペプチド系抗生物質 Aibellin Avoparcin Bacitracin Colistin Enramycin Flavophospholipol Macarbomycin Nosiheptide Orienticin Polymyxin-B Quebemycin Teicoplanin Thiopeptin Thiostrepton Vancomycin Virginiamycin	<i>Bambermycin, Flavomycin</i> <i>Sulfomyxin</i>	ABL AVP BC CL ER FV MC NHT OET PL-B QM TEIC TPT TST VCM VGM	飼添物 飼添物, 動医薬 飼添物 飼添物 飼添物 動医薬 飼添物

GENERIC NAME	OTHER NAME	ABBREVIATION	
POLYETHER ANTIBIOTICS (PEs) : ポリエーテル系抗生物質 Laidlomycin Lasalocid Lonomyein Lysocellin Maduramicin Monensin Narasin Salinomycin Semduramicin Tetronasin	<i>Methylsalinomycin</i>	LDM LLC LNM LSC MDRM MNS NRS SNM SDRM TNS	飼添物 飼添物 飼添物 飼添物
TETRACYCLINE ANTIBIOTICS (TCs) : テトラサイクリン系抗生物質 Chlortetracycline Doxycycline Minocycline Oxytetracycline Tetracycline		CTC DOXY MINO OTC TC	飼添物，動医薬 動医薬 飼添物，動医薬
ANTIFUNGAL ANTIBIOTICS (AFAs) : 抗真菌性抗生物質 Amphotericin-B Griseofulvin Miconazole Nanafrocin Nystatin Perimycin Pimaricin Siccanin		AMPH-B GRF MCZ NNF NYS PRIM PMR SCN	動医薬 動医薬 動医薬
OTHER ANTIBIOTICS (Etc) : その他の抗生物質 Ardacin Avilamycin Bicozamycin Chloramphenicol Efrotomycin Fosfomycin Fusidic acid Nisin Novobiocin Polynaectin Rifampicin Streptothricin Tiamulin Valnemulin	<i>Bicyclomycin</i> <i>Rifampin</i> <i>Nourseothricin</i>	ADC AVM BCM CP EFM FOM FA NS NB PNT RFP STR TML VML	飼添物 飼添物，動医薬 動医薬 飼添物 動医薬 動医薬 動医薬

GENERIC NAME	OTHER NAME	ABBREVIATION	
Enoxacin Esafloracin Fleroxacin Ibafloxacin Lomefloxacin Marbofloxacin Miloxacin Nalidixic acid Norfloxacin Ofloxacin Orbifloxacin Oxolinic acid Pefloxacin Pipemidic acid Piromidic acid Rosoxacin Sarafloxacin Sparfloxacin Tosufloxacin	<i>Apixoxacin</i>	ENX ESFX FLRX IBFX LFLX MBFX MLX(MXC) NA NFLX OFLX OBFX OXA PFLX PPA PA RSX SRFX SPFX TFLX	動医薬 動医薬 動医薬 動医薬 動医薬 動医薬
ANTIPROTOZOAN AGENTS Amprolium Arprinocid Beclorhiamine Buparvaquone Clopidol Decoquinat Diclazuril Diminazene Dinitolmide Ethopabate Glycarbylamide Halofuginone Imidocarb Isometamidium Nicarbazin Obioactin Pamaquine Parvaquone Primaquine Pyrimethamine Quinapyramine Robenidine Ronidazole Toltrazuril	<i>Zoalene</i>	APL APC BT BPVQ CLP DEC DLZ DNZ DTM ETB GCA HFN IDC ITD NCZ OAT PMQ PVQ PRQ PYR QPM RBD RDZ TTZ	飼添物 飼添物 動医薬 飼添物 飼添物 飼添物、動医薬 動医薬
OTHERS (Etc) : その他の合成抗菌薬 Baquiloprim Carbadox Dimetridazole Florfenicol Flumequine Halquinol Iprnidazole		BLP CDX DTZ FFC FMQ HQN INZ	動医薬

GENERIC NAME	OTHER NAME	ABBREVIATION	
Metronidazole		MNZ	
Morantel		MRT	飼添物
Olaquinox		ODX	
Ormetoprim		OMP	動医薬
Quindoxin		QDX	
Thiamphenicol		TP	動医薬
Trimethoprim		TMP	動医薬

飼添物：わが国において飼料添加物（飼料添加物配合成分）として指定されているもの。

動医薬：わが国において動物用医薬品（単剤・合剤）として販売されているもの（動物用医薬品医療機器要覧 2008 年版に掲載）。

Antibiotics (alphabetical order)

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Acetylisovaleryltylosin(MLs)	AIV-TS	
Aibellin(PTs)	ABL	
Amikacin(AGs)	AMK	
Amoxicillin(PCs)	AMPC	
Amphotericin-B(AFAs)	AMPH	
Ampicillin(PCs)	ABPC	Aminobenzylpenicillin
Apramycin(AGs)	APM	
Ardacin(Etc)	ADC	
Aspoxicillin(PCs)	ASPC	
Avilamycin(Etc)	AVM	
Avoparcin(PTs)	AVP	
Azithromycin(MLs)	AZM	
Bacitracin(PTs)	BC	
Benzylpenicillin(PCs)	PCG	Penicillin G
Bicozamycin(Etc)	BCM	Bicyclomycin
Carbomycin(MLs)	CRM	Magnamycin
Cefaclor(CEPs)	CCL	
Cefadroxil(CEPs)	CDX	
Cefazolin(CEPs)	CEZ	
Cefivitril(CEPs)	CEVR	
Cefixime(CEPs)	CFIX	
Cefotaxime(CEPs)	CTX	
Cefotetan(CEPs)	CTT	
Cefovecn(CEPs)	CFV	
Cefoxitin(CEPs)	CFX	
Cefquinome(CEPs)	CQN	
Cefuroxime(CEPs)	CXM	
Ceftiofur(CEPs)	CTF	
Cephacetrile(CEPs)	CEC	Cefacetrile
Cephalexin(CEPs)	CEX	Cefalexin
Cephalonium(CEPs)	CEL	
Cephalothin(CEPs)	CET	
Cephaloridine(CEPs)	CER	Cefaloridine
Cephapirin(CEPs)	CEPR	Cefapirin

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Cephoxazole(CEPs)	CXZ	
Cephradine(CEPs)	CEd	
Chloramphenicol(Etc)	CP	
Chlortetracycline(TCs)	CTC	
Clarithromycin(MLs)	CAM	
Clavulanic acid(PCs)	CVA	
Clindamycin(LCMs)	CLDM	
Cloxacillin(PCs)	MCIPC	Methylchlorophenyloxazolympenicillin
Colistin(PTs)	CL	
Destomycin A(AGs)	DM-A	
Dicloxacillin(PCs)	MDIPC	Methyldichlorophenyloxazolympenicillin
Dihydrostreptomycin (AGs)	DSM	
Doxycycline(TCs)	DOXY	
Efrotomycin(Etc)	EFM	
Enramycin(PTs)	ER	
Erythromycin(MLs)	EM	
Flavophospholipol(PTs)	FV	Bambermycin, Flavomycin, Moenomycin
Fosfomycin(Etc)	FOM	
Fradimycin(AGs)	FRM	Neomycin, Framycetin, Moenomycin Neomycin-B
Framycetin(AGs)		
Fusidic acid(Etc)	FA	
Gentamicin (AGs)	GM	
Griseofulvin (AFAs)	GRF	
Hetacillin(PCs)	IPABPC	Isopropylidenaminobenzylpenicillin
Hygromycin B(AGs)	HM-B	
Josamycin(MLs)	JM	
Kanamycin(AGs)	KM	
Kitasamycin(MLs)	LM	Leucomycin
Laidlomycin(PEs)	LDM	
Lasalocid(PEs)	LLC	
Latamoxef(CEPs)	LMOX	Moxalactam
Lincomycin(LCMs)	LCM	
Lonomycin(PEs)	LMN	
Lysocellin(PEs)	LSC	
Macarbomycin(PTs)	MC	
Maduramicin(PEs)	MDRM	
Mecillinam(PCs)	MPC	
Miconazole(AFAs)	MCZ	
Minocycline(TCs)	MINO	
Mirosamicin(MLs)	MRM	Miporamycin, Mycinamicin
Monensin(PEs)	MNS	
Nafcillin(PCs)	NFPC	Ethoxynaphthylpenicillin
Nanafrocin(AFAs)	NNF	Nanaomycin
Narasin(PEs)	NRS	Methylsalinomycin
Nisin(Etc)	NS	
Nosiheptide(PTs)	NHT	
Novobiocin(Etc)	NB	
Nystatin(AFAs)	NYS	
Oleandomycin(MLs)	OL	
Orienticin(PTs)	OET	
Oxacillin(PCs)	MPIPC	Methylphenyloxazolympenicillin
Oxytetracycline(TCs)	OTC	
Paromomycin(AGs)	PRM	Aminocidin
Perimycin(AFAs)	PRIM	
Pimaricin	PMR	

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME	
Pirlimycin(LCMs)	PLM	Sulfomyxin	
Polymyxin-B(PTs)	PL-B		
Polynactin(Etc)	PNT		
Quebemycin(PTs)	QM		
Rifampicin(Etc)	RFP		Rifampin
Roxithromycin(MLs)	RXM		
Salinomycin(PEs)	SNM		
Sedecamycin(MLs)	SCM		
Semduramicin(PEs)	SDRM		
Siccanin(AFAs)	SCN		
Spectinomycin(AGs)	SPCM		Nouseothricin
Spiramycin(MLs)	SPM		
Streptomycin(AGs)	SM		
Streptothricin(Etc)	STR		
Teicoplanin(PTs)	TEIC		
Terdecamycin(MLs)	TDM		
Tetracycline(TCs)	TC		
Tetronasin(PEs)	TNS		
Thiopeptin(PTs)	TPT		
Thiostrepton(PTs)	TST		
Tiamulin(Etc)	TML		
Ticarcillin(PCs)	TIPC		
Tilmicosin(MLs)	TMS		
Tobicillin(PCs)	TBPC		
Tobramycin(AGs)	TOB		
Turimycin(MLs)	TUM		
Tylosin(MLs)	TS		
Valnemulin(Etc)	VML		
Vancomycin(Pts)	VCM		
Virginiamycin(PTs)	VGM		

Synthetic antibacterial agents (alphabetical order)

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Acetylsulfamethoxazole(SAs)	Ac-SMX	Vebufloxacin
Amprolium(APAts)	APL	
Arprinocid(APAts)	APC	
Baquiloprim(Etc)	BLP	
Beclothiamine(APAts)	BT	
Benfloxacin(PCAs)	BFLX	
Binfloxacin(PCAs)	BNFX	
Buparvaquone(APAts)	BPVQ	
Carbadox(Etc)	CDX(CBD)	
Cinoxacin(PCAs)	CINX	
Ciprofloxacin(PCAs)	CPFX	
Clopidol(APAts)	CLP	
Danofloxacin(PCAs)	DNFX	
Decoquinatate(APAts)	DEC	
Diclazuril(APAts)	DLZ	
Difloxacin(PCAs)	DFLX	

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Difurazon(FDs)	DFZ	Nitrovin, Panazon
Dimetridazole(Etc)	DTZ	
Diminazene(APAts)	DNZ	
Dinitolmide(APAts)	DTM	Zoalene
Enoxacin(PCAs)	ENX	
Enrofloxacin(PCAs)	ERFX	
Esafloxacin(PCAs)	ESFX	Apiroxacin
Ethopabate(APAts)	ETB	
Fleroxacin(PCAs)	FLRX	
Florfenicol(Etc)	FFC	
Flumequine(Etc)	FMQ	
Furaltadone(FDs)	FTZ	
Furazolidone(FDs)	FZ	
Glycarbylamide(APAts)	GCA	
Halquinol(Etc)	HQN	
Halofuginone(APAts)	HFN	
Homosulfamine(SAs)	HS	
Ibafloxacin(PCAs)	IBFX	
Imidocarb(APAts)	IDC	
Ipronidazole(Etc)	INZ	
Isometamidium(APAts)	ITD	
Lomefloxacin(PCAs)	LFLX	
Marbofloxacin(PCAs)	MBFX	
Metronidazole(Etc)	MNZ	
Miloxacin(PCAs)	MLX	
Morantel(Etc)	MRT	
Nalidixic acid(PCAs)	NA	
Nicarbazin(APAts)	NCZ	
Nifurstyrene(FDs)	NFS	
Nitrofurantoin(FDs)	NFT	Nitrofuracin
Nitrofurazone(FDs)	NFZ	Nitrofuracil
Norfloxacin(PCAs)	NFLX	
Obioactin(APAts)	OAT	
Ofloxacin(PCAs)	OFLX	
Olaquinox(Etc)	ODX	
Orbifloxacin(PCAs)	OBFX	
Ormetoprim(Etc)	OMP	
Oxolinic acid(PCAs)	OXA	
Pamaquine(APAts)	PMQ	
Parvaquone(APAts)	PVQ	
Pefloxacin(PCAs)	PFLX	
Pipemidic acid(PCAs)	PPA	
Piromidic acid(PCAs)	PA	
Primaquine(APAts)	PRQ	
Pyrimethamine(APAts)	PYR	
Quinapyramine(APAts)	QPM	
Quindoxin(Etc)	QDX	
Robenidine(APAts)	RBD	
Ronidazole(APAts)	RDZ	
Rosoxacin(PCAs)	RSX	
Sarafloxacin(PCAs)	SRFX	
Sparfloxacin(PCAs)	SPFX	
Succinylsulfathiazole(SAs)	Sc-STZ	
Sulfabromomethazine(SAs)	SBM	

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Sulfachloropyrazine(SAs)	SCPZ	Sulfaclozine
Sulfachlorpyridazine(SAs)	SCPD	
Sulfadiazine(SAs)	SDZ	Sulfapyrimidine
Sulfadimethoxine(SAs)	SDMX	Sulfadimethoxyypyrimidine
Sulfadimidine(SAs)	SDD	Sulfamethazine, Sulfadimethylpyrimidine
Sulfadoxine(SAs)	SDOX	Sulfomethoxine
Sulfaethoxyypyridazine(SAs)	SEPD	
Sulfamerazine(SAs)	SMR	Sulfamethylpyrimidine
Sulfamethizole(SAs)	SMTZ	Sulfamethiazole, Sulfathiodiazole
Sulfamethoxazole(SAs)	SMX	Sulfisomezole
Sulfamethoxyypyridazine(SAs)	SMPD	
Sulfamethylphenazole(SAs)	SMPZ	
Sulfamoidapsone(SAs)	SMD	
Sulfamonomethoxine(SAs)	SMMX	
Sulfamoxole(SAs)	SMOX	Sulfamethyloxazole
Sulfanilamide(SAs)	SA	Sulfamine
Sulfanitran(SAs)	SNT	
Sulfaphenazole(SAs)	SPHZ	
Sulfapyrazole(SAs)	SPZ	Sulfamethylphenylpyrazole
Sulfapyridine(SAs)	SPD	
Sulfaquinoxaline(SAs)	SQ	
Sulfasalazine(SAs)	SSZ	
Sulfathiazole(SAs)	STZ	
Sulfisomidine, Sulf(a)isomidine(SAs)	SID	
Sulfisoxazole, Sulf(a)isoxazole(SAs)	SIX	Sulfafurazole
Sulfisozole(SAs)	SIZ	
Sulfomyxin(SAs)	SFMX	
Thiamphenicol(Etc)	TP	
Toltrazuril(APAts)	TTZ	
Tosufloxacin(PCAs)	TFLX	
Trimethoprim(Etc)	TMP	

動物用抗菌剤研究会報 第31号

2009年12月3日 発行

発行所 動物用抗菌剤研究会

〒180-8602 東京都武蔵野市境南町1-7-1

日本獣医生命科学大学獣医微生物教室

電話 0422-31-4151 (内線253~255)

FAX 0422-31-4560

HPアドレス (URL) : <http://www.jantianim.jp/>

メールアドレス : info@jantianim.jp

郵便振替 00140-0-145535

発行者 澤田拓士

編集委員 阪野哲也, 高橋敏雄, 金子一幸, 金井 久, 片岡 康

査読委員 澤田拓士

製作 佐藤印刷(株) 〒305-0051 茨城県つくば市二の宮4-4-21