

動物用抗菌剤研究会報

PROCEEDINGS OF THE JAPANESE
SOCIETY OF ANTIMICROBIALS
FOR ANIMALS

No. 14

March, 1993

動物用抗菌剤研究会

Japanese Society of Antimicrobials
for Animals

目 次

特別寄稿: 近年における MRSA (methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>) 研究の動向と薬剤使用状況の関連	出口 浩一	1
特集: 豚呼吸器病由来病原菌の薬剤耐性とプラスミド		
今回のシンポジウムにあたって	高橋 勇	6
1. 1989年~91年に分離された <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> の血清型と薬剤感受性	福安 嗣昭	7
2. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> 2 型菌の薬剤耐性とプラスミド	川原 一芳	13
3. <i>Haemophilus parasuis</i> の薬剤感受性とプラスミド	森腰 俊亨	18
4. <i>Pasteurella multocida</i> の薬剤耐性とプラスミド	牛島 稔大	23
総合討論		32
会務報告		33
会 則		37
動物用抗生物質・合成抗菌剤略号表 (系統別及びアルファベット別)		41

近年における MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) 研究の動向と薬剤使用状況の関連*

出口 浩一 (東京総合臨床検査センター研究部)

Special Contribution: The Relation between Studies on MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) and Actual State of the Use of Antibiotics

Koichi DEGUCHI

(Section of Studies, Tokyo Clinical Research Center)

近年の我が国においては、methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* による感染症が医学領域で問題となっているが、近年の我が国で分布している MRSA 現状と研究の動向等を解説する。

1. MRSA とは？

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* であることから、MRSA と呼称する。mec 遺伝子 (methicillin・cephems-resistant factor) 保有株が MRSA に変異することから、cephems にも耐性である。

1) 多剤耐性菌である。penicillins (PCs), cepheims (CEPs), carbapenems 等の β -lactams, 大部分の aminoglycosides, 大部分の tetracyclines, macrolides, および lincomycins 等にも耐性を示

す株が多い。

2) 我が国で近年に分離される MRSA の多くは、toxic shock syndrome toxin-1. (TSST-1) を産生することから、トキシンによるショック症状を示す症例も多い。

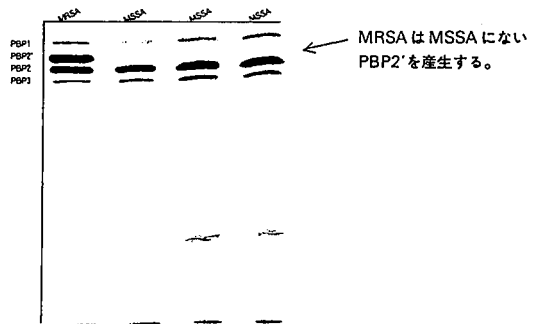


図1 MRSA と MSSA の PBP's

臨床分離 *S. aureus* の薬剤感受性パターン

mec 遺伝子	DMPPC の MICs ($\mu\text{g/ml}$)									total
	≤ 0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
(+)		2	5	14	7	4	4		2	38
(-)	12	29	2	3						46

「メチシリン耐性の遺伝的多様性」 化学療法の領域, 1991年増刊号: 平松 啓一

* 本稿は1992年4月5日に開催された本会の第19回シンポジウムにおける特別講演の要旨である。

2. MRSA の耐性機序

ブドウ球菌のムレイン架橋酵素と同質のペニシリン結合蛋白 (penicillin-binding proteins, PBPs) は、分子量の大きい順に 1~4 が主成分、その他いくつかの副成分が知られているが、ブドウ球菌においては 77 kd の PBP-2 および 74 kd の PBP-3 が必須と考えられている。

β -lactams はこれらの PBPs の阻害を主な作用とするが、CEPs は PBP-2, PCs は PBP-3 に対する親和性が高い。

一方、*mec* 遺伝子はペニシラーゼプラスミド保有株においては、容易に成立かつ安定するが、そうしたブドウ球菌は、近年に検出される臨床分離株の大部分が保有しており、*mec* 遺伝子を保有するブドウ球菌に CEPs 等が接触すると、急速に PBP-2' に分類される異質の PBPs が生じてきて、PBP-2 を代行するようになる。しかし、新たに生じてきた PBP-2' には、methicillin (DMPPC), CEPs 等の結合親和性が低いことから、これらの薬剤の抗菌力が及ばなくなる。すなわち、MRSA は β -ラクタマーゼによる耐性とは異なり、 β -lactams の主な薬剤作用点である PBPs の変異 (マイナー

チェンジ) による耐性である。

3. MRSA の同定法

MRSA が産生する PBP-2' は、heterogeneous および homogeneous な population を示すが、前者は温度感受性が高く、後者は温度感受性が低い。このため、MRSA の同定は 30°C および 37°C、さらに 2% NaCl 存在下での薬剤感受性等により同定する。しかし、我が国で近年に分離される MRSA の多くは coagulase 等の産生性も低下しており、MRSA であることを同定するには困難が伴う。

4. 多剤耐性の実態

MRSA は多剤耐性であることを上述したが、近年の我が国で分離される MRSA は、PBP-2' を構成的に産生する homogeneous な population を示す「構成型の MRSA」の分離頻度が高い。我々はこれらの株を「高度の MRSA」としているが、「高度の MRSA」においては上述した β -lactams の他にも、かつては耐性の割合が低かった fosfomycin (FOM), minocycline (MINO) 等にも耐性の

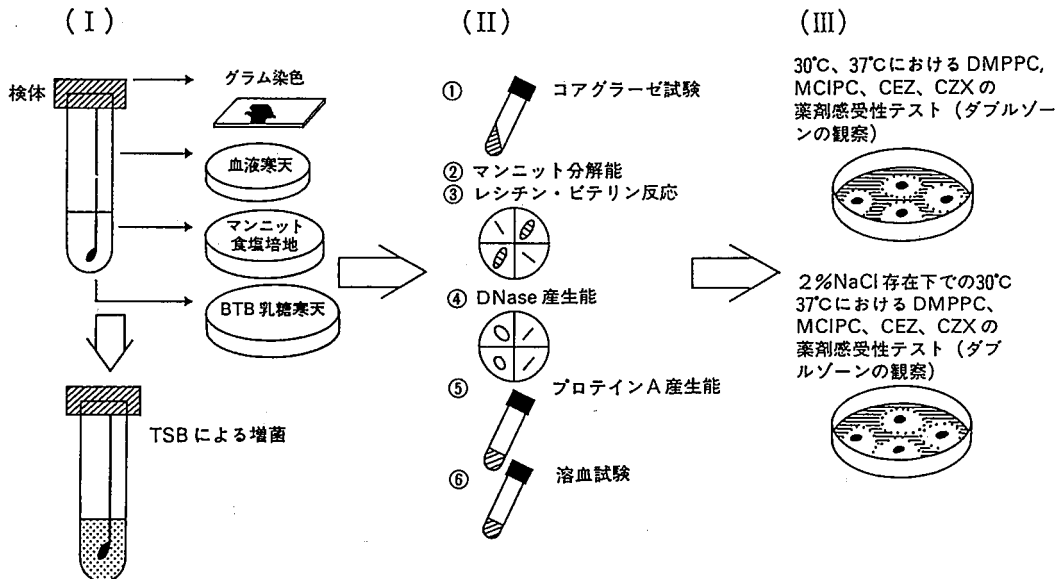


図 2 MRSA の分離から同定までの手順

株が増加している。

その少し後には欧州各国および米国でも MRSA の伝播が報告されている。

5. MRSA の疫学

MRSA は 1960 年代の前半に英国で問題となり、

我が国における MRSA の増加は 1982 年以降とされているが、一部の施設では 1960 年代においても MRSA が検出されていたとの報告がある。

表 1 MRSA の主な研究史

- 1) Sutherland, R. A, et al.: Characteristics of methicillin-resistant staphylococci. J. Bact. 87: 887~889, 1964
- 2) Barber, M.: Naturally occurring methicillin-resistant staphylococci. J. gen. Microbiol. 35: 183~190, 1964
- 3) Bulger, R. J., et al.: Ultrastructure of small colony variants of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Bact. 94: 1244~1246, 1967
- 4) Parker, M. T., et al.: Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Lancet, i: 800~804, 1970
- 5) Ubukata, K., et al.: Occurrence of a β -Lactam inducible penicillin-binding protein in methicillin-resistant staphylococci. Antimicrob. Agents & Chemother. 27: 851~857, 1985
- 6) Utsui, Y., et al.: Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin and cephalosporin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents & Chemother. 28: 397~403, 1986
- 7) Matsuhashi, M., et al.: Molecular cloning of the gene of a penicillin-binding protein suppressed to cause high resistance to β -Lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. J. Bact. 167: 975~980, 1986
- 8) Ubukata, K., et al.: Expression and inducibility in *Staphylococcus aureus* of the *mecA* gene, which encodes a methicillin-resistant *S. aureus*-specific penicillin-binding protein. J. Bact. 171: 2882~2885, 1989
- 9) 出口浩一, 橋本 一, 他: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* における薬剤感受性パターンと β -ラクタマーゼ活性の相関。第 64 回日本細菌学会総会, P. 288, March 27~29, 1991 (大阪)

表 2 世界各国で検出された MRSA のコアグラージェ型

検出年度	国名	検討株数	コアグラージェ型	検討者	検出年度	国名	検討株数	コアグラージェ型	検討者
NCTC 10442	England	1	III	*1	1985	France	1	IV	*1
NCTC 10443	England	1	III	*1	1985	Hang Kong	1	IV	*1
					1985	Austria	1	IV	*1
1961	England	2	III	*1	1985	Germany (East)	1	IV	*1
1964	England	2	III	*1	1985	Canada	1	IV	*1
1986	England	2	III	*1			1	III	*1
		2	IV	*1	1985	USA	2	IV	*1
		1	V	*1					
1985	Yugoslavia	1	IV	*1	1977~1980	Japan	9	IV(8), VII(1)	*2
1985	Hungary	1	IV	*1	1981~1983	Japan	24	II(2), III(1), IV(20), VII(1)	*2
1985	New Zealand	1	IV	*1	1984	Japan	63	II(14), IV(43), VII(3), その他(3)	*2
1985	Norway	1	IV	*1					
1985	Poland	1	IV	*1	1987~1988	Japan	151	II(55), VI(63), VII(13), その他(20)	*2
1985	Saudi Arabia	1	IV	*1	1990	Japan	1047	II(800), VI(161), VII(56), その他(30)	*2

検討者 *1. 帝京大学臨床病理学教室 生方 公子
 *2. 東京総合臨床検査センター研究部 出口 浩一

表 3

1980年以降登場した蛋白合成阻害薬剤				1980年以降登場したβ-ラクタム系薬剤				
分類・(系統)	年度	一般名		分類・(系統)	年度	一般名		
		注射	経口			注射	経口	
マクロライド系 (MLs)	1985 1986 1991		MDM-AC RKM RXM, CAM	ペニシリン系 (PCs)	1980 1981 1982 1983 1987	PIPC, TIPC MZPC	BAPC CVA/AMPC LAPC, SBTPC	
アミノグリコシド系 (AGs)	1981 1982 1985 1988 1980	SISO MCR NTL, ASTM ISP ABK			1990	CVA/TIPC		
ピリドン・ カルボン酸系 (キノロン系)	1983 1984 1985 1986 1988 1990		CINX NFLX OFLX ENX CPFZ LFLX, TFLX		セフェム系 (CEPs)	1980 1981	CFX, CMZ CTM, CTX CPZ, CFS	CFT
そ の 他	1980 1981 1991	FOM VCM	FOM VCM			1982	CXM, CZX LMOX	CCL, CXD, CDX
				1983 1984 1985 1986		CMX CMD, CTT CPM, CBFZ CAZ, CTRX, SBT/CPZ	CFIX, CFTM-PI CXM-AX CPDX-PR CTM-HE CFDN	
				1987		CZON, CPIZ, CMNX FMOX		
				1988 1989 1990 1991		CDZM		
モノバクタム系	1987 1988	AZT CRMN						
カルバペネム系	1987	IPM/CS						

「ライフ・サイエンス」 八木澤守正 監修 (1991)

1960年代に伝播した欧州各国および米国における MRSA に関する報告に共通することは、PCs の使用総量との相関が高いことにあるが、我が国におけるそれは CEPs との相関が高い。これに伴い、そこで伝播している MRSA の生物学的性状が異なる。すなわち、欧州および米国で伝播した MRSA は、β-ラクタマーゼを産生しているコアグララーゼⅢ型およびⅣ型なのに対して、我が国で伝播した MRSA は、1980年代の前半においてはコアグララーゼⅣ型であったが、1980年代の後半になってからはコアグララーゼⅡ型が圧倒的に多く、多くはβ-ラクタマーゼ非産生もしくは低産生株である。

我が国において、MRSA が急激に増加した時期は、1981年から開始されたいわゆる第三世代セフェム系注射剤の多用と一致することから、我が国における MRSA の出現は1980年代と考える人も多い。しかし、我々の施設においては1977年に

MRSA を検出していた。これらのことから、MRSA の出現および伝播のための条件は、広くβ-lactams との関わり合いにおいて多様であるものと考えられる。

6. 将来はどうか？

MRSA にも抗菌力を示す薬剤である arbekacin (ABK, 1990年12月), vancomycin (VCM, 1991年12月) が登場し、各施設における院内感染対策の強化に伴い、MRSA 感染症の増加にはやや沈静化の傾向が認められる。しかし、ブドウ球菌は自然界に分布しているだけでなく、人畜共通の常在菌でもある。加えて MRSA の出現および伝播のための多様性を考えると、今後においては家畜の感染症領域にも MRSA が関与し得る可能性も考えられる。

討 論 (座長: 八木沢守正)

質問 (佐藤静夫, 全農家衛研)

欧州での MRSA 発現に際して, 伝播の可能性が示唆されたかのように理解しましたが, 今後, 家畜領域での MRSA の問題について, 伝播をどのように考えたらいでしょうか。

答 (出口浩一)

MRSA の伝播は医療事情, 中でも抗菌剤の使用方法との相関が高く, 人から人, 動物から動物の伝播は, ほとんど考えられない。

質問 (小野浩臣, 日獣畜大)

1) MRSA 出現がセフェム系の全身投与により多発してきたと承知したが, 獣医臨床では *S. aureus* に抗菌力の強いセフェム系 (3 剤) が局所に应用されているが将来この場合の MRSA が多発することになるか。

2) コアグララーゼ II 型 MRSA に OFLX 耐性株の存在を承知したが, これは NQs 剤の多用によるものか。もともと存在していたのか。

答 (出口浩一)

1) MRSA の出現は多様であって, CEPs の注射剤だけでなく, 経口剤でも, さらには PCs でも出現の可能性はある。

2) NQ 全体の使用量と関係あり。しかし, MRSA の NQ 耐性は, MRSA に重なった, NQ 耐性と考えられる。

質問 (八木沢守正, 日本抗生物質学術協議会)

高度耐性の MRSA は β -ラクタマーゼ, コアグララーゼ, DNase などの産生が低下し, 生理的に異常なものとなっていると考えられるが, 生育や菌力という点でも低下している可能性がありますか。

答 (出口浩一)

いわゆるビルレンス・ファクターは明らかに低下している。しかし, エンテロトキシンは産生しており, そこに注目する必要がある。

特集：豚呼吸器病由来病原菌の薬剤耐性とプラスミド*

Symposium: Drug Resistance and Plasmids of Pathogenic Bacteria Isolated from Pigs with Respiratory Diseases

今回のシンポジウムにあたって

高橋 勇 (日本獣医畜産大学)

現在のわが国における豚の呼吸器病の主要病原菌である *A. pleuropneumoniae* (Ap) 及び *P. multocida* (Pm) の重要性は、いまさら言うまでもないが、さらに *H. parasuis* (Hps) も最近では問題化している。

本会では、Ap と Pm の 2 菌種の薬剤感受性に関しては、すでに第 7, 15, 16 回のシンポジウムでとりあげており、その要旨は会報の 2 号 ('81), 10 号 ('88), 11 号 ('89) に掲載されている。その当時の報告をふり返ってみると、2 菌種とも、報告者や地域等による差はあるものの、ほぼ 1980 年代の中期以降の分離株で耐性菌の増加傾向が認められている。

その後、これら 2 菌種についての検討が進み、新知見が加えられた。すなわち、Ap に関しては国内各地からの分離株で血清型がかなり多様化してきたこと、また耐性菌の増加が目立つこと、耐性型も複雑化して、これにはプラスミドが関与していることも明らかにされた。さらに Pm に関しても耐性については同様の知見が得られている。また新たに Hps でも耐性菌の出現が明らかにされた。

そこで、今回のシンポジウムでは、これらの 3 菌種について検討をされている 4 名の研究者にお願いして、成績の詳細を発表していただき、それらの問題点について討論を行うこととした。

各演者のご協力に厚くお礼を申し上げたい。

* 本特集は、1992 年 4 月 5 日に開催された第 19 回シンポジウムの講演要旨である。

1. 1989年～91年に分離された *Actinobacillus pleuropneumoniae* の血清型と薬剤感受性

福安 嗣 昭 (麻布大学獣医学部)*

豚胸膜肺炎の起因菌である *Actinobacillus pleuropneumoniae* の血清型は、1型から12型までに型別されている¹⁴⁾。わが国における *A. pleuropneumoniae* は2型菌が主流であった^{7,9,16,17)}が、ここ数年1型菌や5型菌による集団発生例^{4,5,10,15,20)}やその他血清型菌の分離報告^{1,8,18)}がみられるようになった。

今回、1989年から1991年に国内の豚の胸膜肺炎材料から分離された *A. pleuropneumoniae* の血清型と薬剤感受性について検討したので報告する。

材料と方法

1. 供試菌株

1989年から1991年の3年間に北海道から鹿児島(17県)の養豚場において胸膜肺炎発症豚の肺炎材料から *A. pleuropneumoniae* を分離した。分離 *A. pleuropneumoniae* は、1989年343株、1990年153株、1991年99株の合計595株であった。

2. 血清型別

血清型別試験は、*A. pleuropneumoniae* の血清型基準株1型(Shope 4074)、2型(1536)、3型(1421)、4型(M 62)、5型(K 17)、6型(Fem ϕ)、7型(WF 83)、8型(CCM 3803)、9型(CVJ 13261)、10型(D 13039)、11型(56153)および12型(8329)のウサギ抗血清を用いて、急速スライド凝集反応¹²⁾、試験管凝集反応²⁾、間接赤血球凝集反応¹¹⁾および免疫拡散法⁹⁾により実施した。

3. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、家畜の耐性菌研究会法⁹⁾に準じた寒天平板希釈法により実施した。供試薬剤は penicillin G (PCG**), ampicillin (ABPC), cephalothin (CET), streptomycin (SM), fradiomycin (FM), kanamycin (KM), tetracycline (TC), oxytetracycline (OTC), chlortetracycline (CTC), erythromycin (EM), spiramycin (SP), kitasamycin (LM), lincomycin (LCM), colistin (CL), novobiocin (NB), thiamphenicol (TP), chloramphenicol (CP), sulfadimethoxine (SDMX) および sulfisoxazole (SIX) の19薬剤を用いた。供試菌株の培養には β -NAD (10 μ g/ml) 加 brain heart infusion broth (Difco) を、薬剤感受性試験用培地には β -NAD (10 μ g/ml) 加 muller-hinton agar (Difco) を用いた。1夜培養菌の100倍希釈菌液をマイクロプランターで接種後、37°C、18時間、5%炭酸ガス培養し、最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

成績

1. *A. pleuropneumoniae* の血清型

1989年から1991年に豚胸膜肺炎材料から分離された *A. pleuropneumoniae* 595株の血清型は、2型が336株(56.5%)と高率で、次いで1型205株(34.5%)、5型45株(7.6%)であった(表1)。さらに、7型菌、3型菌および12型菌も1~7株分離された。年次別の分離状況をみると、1989年には2型菌が76.7%と高率であったが、翌年には約30%に低下した。しかし、1型菌および5型菌は'89年にはそれぞれ16.3%および5.8%で

* 共同研究者: Thavajchai SAKPUARAM (現: カセサート大学), 斎藤慶子 (現: 筑波大学大学院), 芦田淨美 (麻布大学獣医学部)

** 薬剤名の略号は本会制定の略号表によった。

表 1 *A. pleuropneumoniae* 血清型菌の年次別分離状況

血清型	分離年次と菌株数 (%)			菌株数 (%)
	'89	'90	'91	
1	56(16.3)	100(65.3)	49(49.5)	205(24.5)
2	263(76.7)	46(30.1)	27(27.3)	336(56.5)
3	1(0.3)			1(0.1)
5	20(5.8)	7(4.6)	18(18.2)	45(7.6)
7	2(0.6)		5(5.0)	7(1.2)
12	1(0.3)			1(0.1)
計	343	153	99	595

あったが、翌年以降増加し、1991年にはそれぞれ49.5% および 18.2% であった。

また、2型菌および1型菌はほとんどの県から分離されたが、他の血清型菌は少数の県からのみ分離された。すなわち、7型菌は北海道、秋田および群馬、5型菌は秋田と鹿児島、3型菌および12型菌はそれぞれ北海道および秋田であった。

2. *A. pleuropneumoniae* の薬剤感受性

A. pleuropneumoniae 595株の薬剤感受性試験の結果を表2に示した。ペニシリン系(PCG, ABPC), アミノ配糖体系(SM, FM, KM), テトラサイクリン系(TC, OTC: 一括して TC と表

示。以下同様)をはじめ TP, CP, サルファ剤(SDMX, SIX: SA) など多くの薬剤に対する薬剤感受性分布は2峰性以上を示し、これら薬剤に対する耐性菌も認められた。しかし、マクロライド系(SP, LM, EM), LCM, NB, CLの感受性分布はいずれも1峰性であった。

2峰性以上の感受性分布を示した薬剤について耐性限界値(表2)以上を示した菌株、いわゆる耐性菌の割合は、SA, SM および TC がそれぞれ45.2%, 39.8% と 36.2% と比較的高率であり、次いで、TP, CP, ABPC, KM, PCG, FM, CETの順であった。さらに、血清型別では菌分離率が高率であった2型菌の耐性菌の割合が41.4%と最も低率であり、次いで、1型菌の81.0%であった(表3)。しかし、菌分離率が低率であった5型菌(45株), 7型菌(7株)および12型菌(1株)は、全て薬剤耐性であった。

これら耐性菌の薬剤耐性型は血清型により異なり、1型菌(166株)ではSA, TC, SMの単剤耐性が5.5%(合計9株), SA TC耐性, SA SM耐性の2剤耐性が9.0%(合計15株)と、2剤耐性型以下の割合が14.5%であり、85.5%の菌株は3剤以上の耐性型であった(表4)。3剤以上

表 2 *A. pleuropneumoniae* 分離株 595 株の薬剤感受性

薬 剤	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										感受性 ピーク ($\mu\text{g/ml}$)	耐 性 限界値 ($\mu\text{g/ml}$)	耐 性 株 数 (%)	
	≤ 0.09	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50				≥ 100
PCG		9	142	329	28		19	21	15	23	9	0.78	3.12	87(14.6)
ABPC	29	348	70	55	15	26	21	21	2	2	6	0.19	1.56	93(15.6)
CET	16	162	340	66	5	2	4					0.39	1.56	11(1.8)
SM					13	18	108	184	27	8	237	12.5	100	237(39.8)
FM					1	53	231	232	1		77	12.5	50	77(12.9)
KM					17	170	310	8		5	85	6.25	25	90(15.1)
TC	26	15	234	85	34	7	163	16	7	8		0.39	6.25	194(36.2)
OTC			96	155	86	57	7	90	89	6	9	0.78	12.5	194(36.2)
CTC		13	194	96	100	104	55	27	2	4		0.39		
TP		13	275	168	4		12	3	3	7	110	0.39	2.12	135(22.7)
CP		70	244	149	2	1	31	45	13	28	12	0.39	3.12	130(21.8)
SDMX				24	22	47	85	84	37	27	269	6.25	100	269(45.2)
SIX			22	26	44	132	59	17	13	13	269	3.12	100	269(45.2)
SP						1	18	51	184	331	10	50		
LM			10	3	31	134	396	21				6.25		
EM				32	50	270	229	14				3.12		
LCM							75	157	342	20	1	25		
NB					1	50	147	339	56	2		12.5		
CL	2	39	172	216	136	30						0.78		

表 3 A. pleuropneumoniae 血清型別の薬剤耐性菌の割合

血清型	供試菌株数	薬剤耐性菌株数 (%)	感受性菌株数 (%)
1	205	166 (81.0)	39 (19.0)
2	336	136 (41.4)	197 (58.5)
3	1		1 (100)
5	45	45 (100)	
7	7	7 (100)	
12	1	1 (100)	
	595	358 (60.2)	237 (39.8)

の耐性型のなかで SA TC SM FM KM TP CP PCG ABPC 耐性および SA TC SM TP CP 耐性の 2 つの多剤耐性型が 1 型菌の耐性株中の約 42% を占めた。2 型菌 (139 株) の耐性型は、1 型菌のそれと著しく異なり、単剤耐性と 2 剤耐性型で 85.6% (合計 119 株) を占め、3 剤以上の耐性型は 14.4% (合計 20 株) であった。2 型耐性菌のなかで、SA SM 耐性の 2 剤耐性型が約 54% を占めていた。さらに、5 型菌は TC 耐性が高率で、7 型菌および 12 型菌は、いずれも 4 剤ある

表 4 薬剤耐性 A. pleuropneumoniae の耐性型

血清型	菌株数	薬 剤 耐 性 型	菌株数
1	166	SA TC SM FM KM TP CP PCG ABPC CET	10
		SA TC SM FM KM TP CP PCG ABPC	37
		SA SM FM KM TP CP PCG ABPC	3
		SA TC SM FM KM TP CP	15
		SA TC SM PCG ABPC CET	1
		TC FM TP CP PCG ABPC	5
		SA TC SM FM KM	2
		SA TC SM TP CP	32
		SA SM KM TP ABPC	9
		SA SM PCG ABPC	14
		SA SM TP CP	8
		SA TC TP CP	1
		TC FM TP CP	2
		TC TP CP	3
		SA TC	4
		SA SM	11
		SA SM	5
2	139	SM	3
		TC	1
		SA TC SM FM KM TP	3
		SA TC SM TP CP	1
		SA TC SM PCG ABPC	7
		SA TC TP CP	3
		SA SM KM TP CP	2
		SA TC SM	3
		SA SM KM	1
		SA TC	1
5	45	SA SM	75
		SA	13
		TC	19
		KM	8
		PCG	3
7	7	TC	38
		TC CP	7
12	1	SA SM PCG ABPC	2
		SA TC SM PCG ABPC	5
12	1	SA TC SM TP CP	1

いは5剤耐性型であった。

考 察

わが国で分離される *A. pleuropneumoniae* の血清型は従来2型であった^{7,9,16)}。1986年以降5型による胸膜肺炎の発生病例が報告^{5,10)}され、近年では1型による胸膜肺炎の発生病例^{4,15)}も多く見られるようになった。著者ら¹⁾は1991年 *A. pleuropneumoniae* 血清型について、胸膜肺炎由来では2型, 1型, 5型, 7型, 3型, 12型, また、と場搬入豚の肺炎由来では2型, 1型, 8型, 9型があることを報告した。今回、1989年から1991年に胸膜肺炎から分離した *A. pleuropneumoniae* の血清型は、1989年には2型菌が最も高率であり、これまでの多くの報告と同様な傾向にあった。しかし、1990年以降1型菌や5型菌の割合が著しく増加した。特に、1型菌の増加は、1型菌による胸膜肺炎発生病例の報告^{4,15)}が見られるようになったことと一致していた。また、少数ではあるが3型, 7型, 12型などの血清型菌も分離された。このようなことから、今後、これら血清型菌による胸膜肺炎の多発も危惧される。

一方、薬剤耐性 *A. pleuropneumoniae* は、従来非常に低率であったが、近年、SA剤, PC(ペニシリン系), TC, AG(アミノ配糖体), TPなど多くの薬剤に対する耐性菌が報告されるようになった^{1,15,18,20)}。今回1989年~'91年の3年間に分離された *A. pleuropneumoniae* のうち60.2%が供試薬剤のいずれかに耐性であった。さらに、血清型別の薬剤耐性菌は2型菌では41.4%, 1型菌は81.0%であったが、3型, 5型, 7型, 12型菌は全て薬剤耐性菌であった。このように2型菌と他の血清型菌では、薬剤耐性率や薬剤耐性型が著しく異なっていた。薬剤耐性菌の出現は血清型に関係なく、抗菌剤の使用と密接に関連しているものと考えられるが、わが国で非常に分離率の少ない血清型菌、しかも特定の地域(養豚場)に限定された由来菌がほとんど薬剤耐性であったことから、輸入豚から6型菌が検出された例¹⁰⁾のように、豚の生体輸入と同時に、国内での分離頻度が低い血清型菌でしかも薬剤耐性の *A. pleuropneu-*

moniae 保有豚の国内への持ち込みの可能性も考えられる。

いずれにしても、近年、野外胸膜肺炎の起因菌である *A. pleuropneumoniae* は、血清型の多様化、さらには、薬剤耐性化の傾向にあり、予防、治療のための薬剤やワクチンの選択に当たっては、その農場の流行している菌株の血清型あるいは薬剤感受性を把握することが重要である。

要 約

1989年~'91年に豚の胸膜肺炎材料から分離された *A. pleuropneumoniae* 595菌株の血清型別と19薬剤に対する感受性試験を実施した。血清型別の分離頻度は、2型56.3% (336菌株), 1型34.5% (205菌株), 5型7.6% (45菌株), 7型1.2% (7菌株), 3型および12型各0.2% (各1菌株)であった。3年間における分離菌の血清型別の変化では、2型は減少し、反対に1型と5型は増加した。

一方、*A. pleuropneumoniae* に対するABPC, CET, PCG, TC, TP, CPおよびCLのMICピーク値はいずれも0.78 µg/ml以下で強い抗菌活性を示した。しかし、SM, FM, KM, SA, LM, EM, およびNBのそれは、3.12~12.5 µg/mlの範囲にあり、比較的弱い抗菌活性であった。さらに、SP, LM, EM, LCM, NBおよびCLは1峰性のMIC分布を示したが、他の薬剤では2峰性以上のMIC分布を示した。595菌株中358菌株(60.2%)は数薬剤に対して耐性であった。血清型別の薬剤耐性菌の割合は、1型81.0% (166菌株/205菌株)および2型41.4% (139菌株/336菌株)であったが、5型, 7型および12型では全株(45菌株, 7菌株および1菌株)が耐性であった。また、それらの薬剤耐性型において、1型および2型は多剤耐性型が高率であったが、反対に5型, 7型および12型では低率の傾向にあった。

本試験の実施にあたり、野外での胸膜肺炎材料の採取あるいは菌株の分離に協力頂いた、明治製菓(株)生物産業事業部、日清製粉(株)中央研究所、SMC(株)およびジーピーラボラトリーズ(株)

の関係各位に感謝する。

文 献

- 1) 福安嗣昭, Thavajchai Sakpuaramu, 斎藤慶子ほか. 1991. 豚肺炎由来 *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* の血清型と薬剤感受性. 日獣会誌, 44, 11-16.
- 2) Gunnarsson, A., Biberstein, E. L., and Hurvell, B. 1977. Serologic studies on porcine strains of *Haemophilus parahaemolyticus (pleuropneumoniae)*: Agglutination reactions. Am. J. Vet. Res., 38, 1111-1114.
- 3) Gunnarsson, A., Hurvell, B., and Biberstein, E. L. 1978. Serologic studies of porcine strains of *Haemophilus parahaemolyticus (pleuropneumoniae)*: Antigenic specificity and relationship between serotypes. Am. J. Vet. Res., 39, 1286-1292.
- 4) 伊藤裕和, 岡田正二, 杉山弘行ほか. 1988. 哺乳豚にみられた *Actinobacillus pleuropneumoniae* 1 型菌による胸膜肺炎. 第 106 回日獣学会講演要旨集, 167.
- 5) 岩松 茂, 森尾 篤, 毛利 卓ほか. 1986. *Haemophilus pleuropneumoniae* 5 型菌による豚の線維索性胸膜肺炎の発生. 日獣会誌, 39, 374-377.
- 6) 家畜の耐性菌研究会. 1976. 家畜由来の細菌に対する抗生物質等の薬剤の最小発育阻止濃度測定法について. 日獣会誌, 29, 90-92.
- 7) Kawahara, K., Asano, M., Nakai, T., et al. 1989. Antibiotic susceptibility of serotype 2 and 5 strains of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* isolated from swaine from 1974 to 1986. Jpn. J. Vet. Sci., 51, 359-363.
- 8) Kume, K. and Nakai, T. 1988. Isolation of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* serovar 1, 6, or 7 from pigs. Jpn. J. Vet. Sci., 50, 589-591.
- 9) Kume, K., Nakai, T., and Sawada, A. 1984. Isolation of *Haemophilus pleuropneumoniae* from the nasal cavities of healthy pigs. Jpn. J. Vet. Sci., 46, 641-647.
- 10) 黒川 知, 福安嗣昭, 斎藤慶子ほか. 1990. *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* 血液型 5 subtype b による子豚の線維索性漿膜肺炎. 第 109 回日獣学会講演要旨集, 137.
- 11) Mittal, K. R., Higgins, R., and Lariviere, S. 1983. Determination of antigenic specificity and relationship among *Haemophilus pleuropneumoniae* serotypes by an indirect hemagglutination test. J. Clin. Microbiol., 17, 787-790.
- 12) Mittal, K. R., Higgins, R., and Lariviere, S. 1982. Evaluation of slide agglutination and ring precipitation tests for capsular serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae*. J. Clin. Microbiol., 15, 1019-1023.
- 13) Nakai, T. and Kume, K. 1987. Serological and bacteriological survey of *Haemophilus pleuropneumoniae* serovar 5. Jpn. J. Vet. Sci., 49, 1141-1144.
- 14) Nielsen, R. 1986. Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains and proposal of a new serotype: serotype 12. Acta Vet. Scand., 27, 453-455.
- 15) 岡崎好子, 稲毛幹雄, 村上覚史ほか. 1991. 千葉県において発生した豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 感染症と分離菌の薬剤感受性. 日獣会誌, 44, 581-586.
- 16) Sakpuaram, T., Fukuyasu, T., and Ashida, K. 1989. Isolation of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* from pneumonic lungs of slaughtered pigs. Jpn. J. Vet. Sci., 51, 1279-1281.
- 17) Suzuki, S., Takahashi, T., Muramatsu, M., et al. 1988. Serotype of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* isolates from pigs in slaughterhouse. Jpn. J. Vet. Sci., 50, 1264-1267.
- 18) Suzuki, S., Ohmae, K., Ohishi, K., et al. 1989. Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* isolated from pigs with pleuropneumonia. Jpn. J. Vet. Sci., 51, 450-452.
- 19) 山本和枝, 滝 俊博, 浅香俊男ほか. 1987. *Haemophilus pleuropneumoniae* 6 型によるカナダ産輸入豚の死亡例. 第 103 回日獣学会講演要旨, 118.
- 20) 山本孝史. 1989. 最近分離された *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* の薬剤感受性. 家畜抗菌剤研究会報, 10, 16-20.

Serotype and Antimicrobial Susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Isolated from Pigs During 1989 to 1991

Tsuguaki FUKUYASU

(School of Veterinary Medicine, Azabu University)

A total of 595 strains of *A. pleuropneumoniae* isolated from pneumonic lungs during the period of 1989 to 1991 were serotyped and examined for their susceptibility to 19 antimicrobial agents. Of these 595 isolates, 336 isolates (56.5%) were serotype 2, 205 isolates (34.5%) were serotype 1, 45 isolates (7.6%) were serotype 5, 7 isolates (1.2%) were serotype 7, and the remaining 2 isolates were serotype 3 and 12, respectively. On a secular change of each serotype strain for the isolates, the isolation ratio of serotype 2 decreased and conversely that of serotype 1 and 5 increased.

Most of these isolates were highly susceptible to ampicillin, cephalothin, benzylpenicillin, tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline, thiamphenicol, chloramphenicol, and colistin. Streptomycin, fradiomycin, kanamycin, sulfa drugs (sulfadimethoxine and sulfisoxazole), kitasamycin, erythromycin, and novobiocin showed relatively low antimicrobial activity against the isolates. All the isolates formed a single peak distribution of MIC for the 6 drugs (spiramycin, kitasamycin, erythromycin, lincomycin, novobiocin and colistin). On the other hand, 358 of 595 isolates (60.2%) were resistant to some drugs. One hundred and sixty-six of 205 isolates (81.0%) of serotype 1 were resistant to drugs, and about 85% of them were multiple resistance more than three drugs. But, 136 of 366 isolates (41.4%) of serotype 2 were resistant to drugs, and about 15% of them were the multiple resistance. All isolates of serotype 3, 5, 7 and 12 were resistant to some drugs.

討 論 (座長: 中村政幸)

質問 (井上 勇, 日大)

今年の養豚場別の成績についてお教え下さい。

答 (福安嗣昭)

年次により異なる血清型が分離されるケースが数例ある。例えば、従来2型であったが、1型に変わっていた例もあり、このようなケースでは発症月齢が若齢化の傾向にあった。

質問 (佐藤静夫, 全農家衛研)

1型菌は従来、薬剤耐性傾向が強いといわれて来たが、今回の報告では、耐性菌の比率はむしろ2型の方が高くなっており、とくにTC耐性に関しては1型は減少傾向を示している。これらの点から1型菌が薬剤耐性に関

して特殊性をもつか疑問である。この点に関して御意見を。

答 (福安嗣昭)

耐性菌の出現は薬剤との接触が基本である。血清型とは関連していないものと考えられる。1型菌のTC耐性の減少は今回の結果のみでは結論づけられないが、菌株の由来(農場)の違いによるものと考えられる。

質問 (中村政幸, 動葉検)

1991年にTC耐性菌(1型菌)が減少した理由は。

答 (福安嗣昭)

分離地域(養豚場)の違いが大きな要因であると考えられる。

2. *Actinobacillus pleuropneumoniae* 2 型菌の 薬剤耐性とプラスミド

川 原 一 芳 (北里研究所・細菌部)

Actinobacillus pleuropneumoniae は豚の線維素性胸膜炎の起因菌として知られている。本菌による胸膜炎は世界各地で発生しており、養豚経営に経済的被害を与える主要な豚病の一つとなっている。

国外では1980年代初期においてすでに本菌の薬剤耐性株の発生が報告されていた^{2,13)}が日本国内ではこの時期、耐性株の分離は稀であった^{4,15)}。ところが1984年を境にして国内においても耐性株が高頻度に分離されるようになってきた。現在では以前は見られなかった5型菌、1型菌の分離例が多く、これらの血清型菌から薬剤耐性株が高頻度に見つかっているが、1985~1986年においてはそれまでわが国の流行の主体となっていた2型菌に耐性株の出現がみられた。我々はこの時期に分離された *A. pleuropneumoniae* 2 型菌株についてその薬剤耐性を調べ、これらの多くがアミノグリコシド系抗生物質、テトラサイクリン (TC)、タイロシン、カルバドックス等に耐性を示す事、またこれらの薬剤に対する最小発育阻止濃度の分布が2峰性を示す事を見出した^{8,11)}。これらの結果から我々はこれらの薬剤耐性が薬剤耐性プラスミドによるのではないかと考え、耐性株からのプラスミドの分離を試みた⁹⁾。

材料と方法

1. 供試菌株と培養法

健康豚の鼻腔より分離した *A. pleuropneumoniae* 2 型菌のうち多剤耐性を示した12株を用いた。培養にはS培地¹⁰⁾を用い、液体培地は37°Cでの振盪培養、寒天培地の場合は37°C、5% CO₂

存在下で培養した。

2. プラスミドの分離

比較的温和な条件下でプラスミドを分離する目的で Kupersztoch-Portnoy らの方法¹²⁾を用いた。2lの培養液から集菌した後24mlの25% Sucrose 溶液に懸濁し、8本の遠心チューブに分注した。1本当たり1mlの0.25M EDTAと0.5mlのリゾチーム溶液を加えた後室温で5分間保持し、続いて0.2% TritonX-100, 4mlを加えることにより溶菌した。溶菌が起らない場合には20% TritonX-100, 1mlを追加し、60°C, 15分間加温した。なおこの条件ではすでにDNAの損傷が起るのでこの範囲内でなるべく温和に溶菌できるように菌株により加温温度と時間を調節した。溶菌液から菌体成分を除き、上清をポリエチレングリコール沈殿により濃縮し、常法に従って塩化セシウム-臭化エチジウム密度勾配超遠心分離を行ないプラスミドDNAを分取した。プラスミドバンドが検出されていない場合もプラスミドDNAがあると思われる画分を分取し、アガロースゲル電気泳動により確認した。

E. coli 形質転換体からのプラスミドの分離は Kado and Liu 法⁷⁾により行なった。

3. 形質転換

形質転換実験は *A. pleuropneumoniae* についても *E. coli* などに広く用いられている通常法¹⁴⁾を適用した。0.03MのCaCl₂で菌を処理し作成した受容菌に0.5μgのプラスミドDNAを加え、30分冷却した後に42°C, 3分間加温した。次にL-broth中で37°C, 90分間保温し、各薬剤プレ

ートにまいた。

4. プラスミド脱落実験

プラスミド保有株を生育最大許容量のノボピオン (NB) を含む液体培地中で一晚培養し、プレートに移した。出現したコロニーをレプリカ法で薬剤プレートに移植し、感受性株を選択した。

結果

1. プラスミド DNA の検出

実験に供した *A. pleuropneumoniae* 12 株のうち 2 株にプラスミド DNA が検出された。

そのうちの 1 つ, Hpn25 株は 3.7 kb と 4.1 kb の 2 種のプラスミド, およびその 2 量体と思われる 7.0 kb と 8.2 kb のプラスミドを保有していた (図 1, レーン 2)。

もう 1 つのプラスミド保有株 Hpn18 は 2.2 kb, 12 kb, 35 kb の 3 種のプラスミドを保有していた (図 1, レーン 4)。Hpn18 株のプラスミドは Hpn25 と比べて収量が悪かったが, これがプラスミドの不安定性によるものか, あるいはコピー数の違いによるものかは今のところ明らかではない。

2. Hpn25 株のプラスミドと薬剤耐性

Hpn25 株はアンピシリン (ABPC), カナマイシン (KM), ストレプトマイシン (SM) およびスルホンアミド (SA) に対して耐性を示すので, これらの薬剤耐性とプラスミドとの関連性について調べた。

Hpn25 株のプラスミド DNA を用いて *E. coli* C600 株と *E. coli* JA221 株を形質転換したところ両株共に SM, SA 耐性の形質転換体が得られた。これらの形質転換体のプラスミド DNA を分

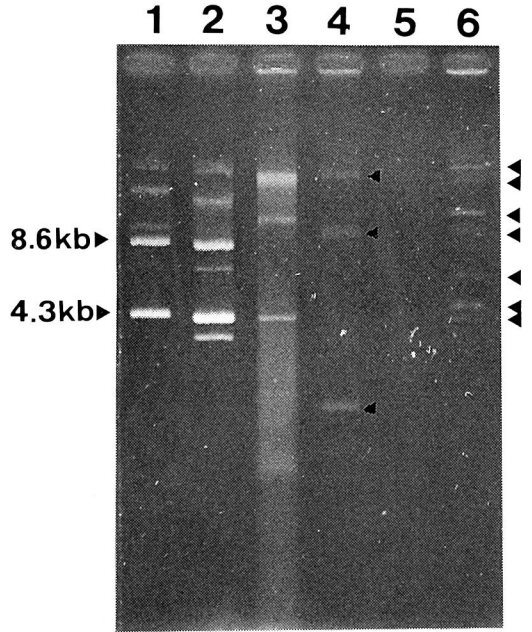


図 1 *A. pleuropneumoniae* Hpn25, Hpn18, およびその派生株のプラスミドパターン。

0.8% アガロースゲル電気泳動で分析。レーン 1, 分子サイズマーカー (pBR322); レーン 2, Hpn25, レーン 3, *E. coli* C600 Transformant; レーン 4, Hpn18; レーン 5, KD1; レーン 6, KD2。

析したところ, 4.1 kb プラスミドが検出された (図 1, レーン 3 および表 1)。従って Hpn25 株の 4.1 kb プラスミドが本菌株の SM, SA 耐性に関与している事が明らかになった。

ABPC あるいは KM 耐性の形質転換体は得られなかったので, Hpn25 株を NB 処理し薬剤感受性株を選択した。その結果, ABPC 感受性株が 3 株得られ, これらのうちの 1 株を KD3 株とした。感受性株のプラスミド DNA を分析したところ, 親株である Hpn25 株と全く同一のプラスミドパターンを示した (表 1)。これにより本菌株の

表 1 *A. pleuropneumoniae* Hpn25 株のプラスミドと薬剤耐性の関連性

菌 株	プラスミド (kb)	薬 剤 耐 性			
		ABPC	KM	SM	SA
<i>A. pleuropneumoniae</i> Hpn25	3.7, 4.1	r	r	r	r
<i>E. coli</i> C600	—	s	s	s	s
<i>E. coli</i> C600 Transformant	4.1	s	s	r	r
<i>A. pleuropneumoniae</i> KD3	3.7, 4.1	s	r	r	r

r: 耐性, s: 感受性

ABPC 耐性にはプラスミドが関与していないことが示された。

3. Hpn18 株のプラスミドと薬剤耐性

Hpn18 株は SM, テトラサイクリン (TC) およびクロラムフェニコール (CP) に対して耐性を示した。

Hpn18 株のプラスミド DNA を用いて *E. coli* の形質転換を試みたが, SM, TC, CP のいずれかに耐性となった形質転換体は得られなかった。

次に, Hpn18 株を NB 処理し上記薬剤に感受性を示す株を選択したところ, 3 剤に同時に感受性になった株が 10 株得られた。これらの感受性株はプラスミドを全くもたない株であった (図 1, レーン 5)。このうちの 1 株, KD1 を受容菌株として使用し, Hpn18 株のプラスミドを用いて形質転換 (プラスミドの再導入) を行なったところ SM と CP に対して耐性で TC に対しては感受性を示す株, KD2 が得られた。KD2 株のプラスミドを分析したところ, 元株である Hpn18 よりも高収量でプラスミド DNA が得られ, アガロース電気泳動では Hpn18 株のパターンとは異なる多くのプラスミドが検出された (図 1, レーン 6 および表 2)。これらのプラスミドのうち 12 kb と 35 kb のプラスミドに関しては Hpn18 株にみられるプラスミドと類似の分子量なので, 恐らくこれらのうちのいずれかが SM, CP 耐性に関与していると思われるがこれに関しては今後更に検討が必要であろう。

考 察

A. pleuropneumoniae の薬剤耐性株が高頻度で分離されるようになったのはわが国においては

1985 年以降であるが, 諸外国ではそれ以前から耐性株についての報告があり, 薬剤耐性プラスミドについてもすでに 1982 年に Hirsh らにより報告されている⁹⁾。彼らは ABPC と SA 耐性をコードする 3.6 Mdal のプラスミドと SM と SA 耐性をコードする 2.3 Mdal のプラスミドを見出ししており, 後者は分子量と耐性パターンの点で我々が Hpn25 株から分離した 4.1 kb プラスミドと類似している。これについては, 最近石井らにより両者の比較が行なわれた。それによると, 分子量, および制限酵素による切断パターンにおいて両者は全く一致した⁹⁾。一方, 井上らのグループにより台湾の分離菌株から見出されたプラスミド¹⁰⁾もこれらと同一のプラスミドであることが示された⁹⁾。これらの結果からこの SM, SA 耐性に関与する 4.1 Mdal のプラスミドは世界的に広く分布しており, それが 1985 年前後に日本に持込まれたものと推定された。

井上らのグループ¹⁰⁾, および石井ら⁹⁾はこれ以外にもいくつかの薬剤耐性プラスミドを見出しているがいずれも 10 kb 以下の比較的コピー数の高いものである。ところが我々が Hpn18 株に見出したプラスミドはコピー数も低く, またその分子機構は不明であるが形質転換により分子量の変化が観察された。もしも, *A. pleuropneumoniae* のプラスミドにこの種のプラスミドが多く存在するのであれば, 本菌のプラスミドの分離法およびその研究法を再検討する必要があるのではないだろうか。我々の研究以降 5 型菌および 1 型菌の分離頻度が高くなり, これらから高率で薬剤耐性株が見つかり, また新しい耐性プラスミドが分離されつつある (石井, 私信)。こうした点からも本菌のプラスミドを扱うための新しい実験系の開発が望まれるところである。

表 2 *A. pleuropneumoniae* Hpn18 株のプラスミドと薬剤耐性の関連性

菌 株	プラスミド (kb)	薬 剤 耐 性		
		SM	TC	CP
<i>A. pleuropneumoniae</i> Hpn18	2.2, 12, 35	r	r	r
<i>A. pleuropneumoniae</i> KD1	—	s	s	s
<i>A. pleuropneumoniae</i> KD2	4.1, 4.4, 6.5, 12, 15, 35, 40	r	s	r

r: 耐性, s: 感受性

要 約

1985年から1986年にかけてわが国で分離された多剤耐性を示す *Actinobacillus pleuropneumoniae* 2型菌のうち、2株からプラスミドが分離された。

そのうちの1株、Hpn25はアンピシリン (ABPC)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、およびスルホンアミド (SA) に耐性で3.7 kbと4.1 kbのプラスミドを保有していた。大腸菌を受容株に用いた形質転換実験で4.1 kbプラスミドがSMとSA耐性に関与していることが証明された。一方ノボビオン (NB) 処理により得られたABPC感受性株のプラスミドパターンには変化がなかったためABPC耐性はプラスミド支配ではないと推定された。

他の1株、Hpn18はSM、テトラサイクリン (TC)、およびクロラムフェニコール (CP) 耐性で2.2 kb, 12 kb, および35 kbのプラスミドを保有していた。NB処理によりプラスミドを除去した後、形質転換により再導入してやるとSMとCPに耐性で4.1 kb, 4.4 kb, 6.5 kb, 12 kb, 15 kb, 35 kb, および40 kbのプラスミドをもつ株が得られた。この結果より、SMとCP耐性はこれらのいずれかのプラスミドと関連していると思われるが、不明な点も多く再検討が必要である。

本菌のプラスミドには不安定で分子サイズの変化するものが時々みられるので、これらのプラスミドの研究には新しい実験系が必要であると思われる。

文 献

- 1) 阿保多佳子, 井上 玲, 野平紀夫ほか. 1984. *Haemophilus pleuropneumoniae* で見出された薬剤耐性プラスミドの大腸菌への形質転換について. 第98回日本獣医学会講演要旨: 154.
- 2) Gilbride, K. A. and Rosendal, S. 1984. Antimicrobial susceptibility of 51 strains of *Haemophilus pleuropneumoniae*. Can. J. Comp. Med. 48: 47-50.
- 3) Hirsh, D. C., Martin, L. D. and Libal, M. C. 1982. Plasmid-mediated antimicrobial resistance in *Haemophilus pleuropneumoniae*. Am. J. Vet. Res. 43: 269-272.
- 4) Inoue, A., Yamamoto, K. and Hirano, N. et al. 1984. Drug susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs. Jpn. J. Vet. Sci. 46: 175-180.
- 5) Ishii, H., Nakasone, Y. and Shigehara, S. et al. 1990. Drug-susceptibility and isolation of a plasmid in *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae*. Jpn. J. Vet. Sci. 52: 1-9.
- 6) Ishii, H., Hayashi, F. and Iyobe, S. et al. 1991. Characterization and classification of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* plasmids. Am. J. Vet. Res. 52: 1816-1820.
- 7) Kado, C. I. and Liu, S-T. 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J. Bacteriol. 145: 1365-1373.
- 8) Kawahara, K., Asano, A. and Nakai, T. et al. 1989. Antibiotic susceptibility of serotype 2 and 5 strains of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* isolated from swine from 1974 to 1986. Jpn. J. Vet. Sci. 51: 359-363.
- 9) Kawahara, K., Kawase, H. and Nakai, T. et al. 1990. Drug resistance plasmids of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* serotype 2 strains isolated from swine. Kitasato Arch. Exp. Med. 63: 131-136.
- 10) Kume, K., Sawata, A. and Nakase, Y. 1978. *Haemophilus* infection in chickens. 1. Characterization of *Haemophilus paragallinarum* isolated from chickens affected with coryza. Jpn. J. Vet. Sci. 40: 65-73.
- 11) 久米勝巳. 1989. 豚へモフィルス感染症の最近の動向と分離菌株の薬剤感受性. 家畜抗菌剤研究会報 10: 7-11.
- 12) Kupersztoch-Portnoy, Y. M., Lovett, M. A. and Helinski, D. R. 1974. Strand and site specificity of the relaxation event for the relaxation complex of the antibiotic resistance plasmid R6K. Biochemistry 13: 5484-5489.
- 13) Libal, M. C. and Gates, C. E. 1982. Antimicrobial sensitivity patterns of *Haemophilus pleuropneumoniae* isolated from pigs with pneumonia. J. Am. Vet. Med. Assoc. 180: 399.

- 14) Mandel, M. and Higa, A. 1970. Calcium-dependent bacteriophage DNA infection. *J. Mol. Biol.* 53: 159-162.
- 15) Shimizu, M., Kuninori, K. and Sakano, T. et al. 1982. Antibiotic susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida* isolated from swine. *Jpn. J. Vet. Sci.* 44: 359-363.

Drug Resistance and the Plasmids of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotype 2 strains

Kazuyoshi KAWAHARA

(Department of Bacteriology, The Kitasato Institute)

Plasmids were found in two of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 strains, which were isolated from 1985 to 1986 in Japan and showed multiple drug resistance.

One of them, Hpn25 was resistant to ampicillin (ABPC), kanamycin (KM), streptomycin (SM), and sulfonamides (SA), and harbored 3.7 and 4.1 kb plasmids. Transformation experiments using drug susceptible *E. coli* as a recipient strain proved that 4.1 kb plasmid was responsible for the resistance to SM and SA. ABPC susceptible strains were isolated by novobiocin (NB) treatment without changing the plasmid profile, suggesting that ABPC resistance was not plasmid-mediated.

Another strain, Hpn18, resistant to SM, tetracycline (TC), and chloramphenicol (CP), harbored 2.2, 12, and 35 kb plasmids. Hpn18 was cured of all these plasmids by NB treatment and the strains obtained were susceptible to all three drugs. Transformation of cured strain by using plasmid DNA of Hpn18 produced transformants, resistant to SM and CP, and harboring 4.1, 4.4, 6.5, 12, 15, 35, and 40 kb plasmids. These results suggested that SM and CP resistance was mediated by one or some of these plasmids, but further investigations are necessary to confirm the relation between drug resistance and plasmids of Hpn18 strain.

Since the plasmids of *A. pleuropneumoniae* were relatively unstable, and the alteration of molecular sizes sometimes occurred, more suitable tools and techniques are required for the study of these plasmids.

討 論 (座長: 中村政幸)

質問 (中村政幸, 動薬検)

本菌のプラスミドの分離が困難な理由は、

答 (川原一芳)

コピー数が少ないのも理由の1つだと思われるが、そ

れに加え、プラスミド自体が熱や薬剤処理に不安定なこと、菌体が溶けにくいこと、また、大腸菌内で安定な複製がされないものがある。すなわち、Host range がせいまい等の理由によると思われる。

3. *Haemophilus parasuis* の薬剤感受性と プラスミドについて

森 腰 俊 亨 (伊藤忠飼料株式会社研究所)*

Haemophilus parasuis は豚のいわゆるグレーサー病の原因菌である。グレーサー病は欧米では特に SPF 豚群に多発し、いったん発生すると甚急性の症状と高い死亡淘汰率を示す経済的被害の大きい疾病として知られている。しかし SPF 豚の普及率の低いわが国においては、コンベンショナル豚群における散発例の報告はあるものの、SPF 豚群の本病についてはあまり知られておらず、またわが国で分離される *H. parasuis* の詳細な性状も検討されていなかった。

先にわれわれは、わが国の SPF 豚群におけるグレーサー病の発生例に遭遇し、発症再現試験と投薬による予防試験、そして分離された *H. parasuis* の性状について報告した^{9,10)}。

本病の予防には不活化ワクチンが有効である^{13,14,15)}。不活化ワクチンは欧米ではすでに市販されているが、わが国では 1992 年 8 月に製造が承認された段階にある。したがって、現状ではその予防は投薬に頼る部分が大きく本菌の薬剤感受性を知ることは重要である。一般的に本菌は多くの薬剤に感受性が高いといわれている。しかし、わが国で分離される *H. parasuis* の多数株について薬剤感受性を検討したのは加藤ら⁹⁾の、またプラスミドについては両角ら¹¹⁾の報告以外に見当たらない。近年、数種の豚病原菌について薬剤耐性菌の存在や増加が報告されており、*H. parasuis* についても同様の現象が起きていることが懸念される。

そこでわれわれは、1987 年から 1989 年の間に

分離した多数の *H. parasuis* 分離株についてその薬剤感受性とプラスミドを検討し、いくつかの知見を得たので報告する。

材料と方法

1. 供試菌株

1987 年 10 月から 1989 年 11 月の間に、東北、関東および九州地方の 16 農場で飼育されていた発症豚、健康豚および輸入豚から分離した *H. parasuis* 計 174 株を供試した。分離部位別では鼻腔由来株が 111 株、病巣由来株が 63 株、PAGE 型別では PAGE-I 型菌が 74 株、PAGE-II 型菌が 100 株、血清型別では 1 型菌 4 株、2 型菌 9 株、4 型菌 24 株、5 型菌 15 株であり、残り 122 株は 1 から 5 型の抗血清と反応しなかった型別不能株であった。また、今回供試した株の中で 3 型に型別された株は無かった。

2. 薬剤感受性試験

供試した薬剤は Table 1 に示した計 13 薬剤である。各分離株の薬剤感受性はおおむね家畜抗菌剤研究会標準法に準じ、寒天平板希釈法により最少発育阻止濃度 (MIC) を測定し決定した。しかし、 β -NADH や血清を添加しても、感受性試験測定用培地上の *H. parasuis* の発育が非常に悪く判定が困難であったので、今回の測定では S 寒天培地⁷⁾を用いた。なお、同培地を用いるに先だって大腸菌 ML-1410 株とブドウ球菌 FDA-209P 株を用い、これらの菌で両培地の MIC 値に差が無いことを確認した。

菌の接種はマイクロプランター (佐久間製作所) でおこない、今回はカルバドックス (CBD) を含

* 共同研究者: 園田昭浩, 林 哲, 増村忠宏, 平野 進 (伊藤忠飼料株式会社研究所), 小林一彦 (株式会社ミック), 神野太一, 大脇正治 (伊藤忠飼料株式会社防疫センター)

Table 1 Drug susceptibility in 174 *H. parasuis* isolates to 13 kinds of antimicrobial drug.

Drug	Minimum inhibitory concentration ($\mu\text{g/ml}$)												Break point of MIC ($\mu\text{g/ml}$)
	≤ 0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	$200 \leq$	
PCG	21 ^a	14	1	46	63	5	4	6			1	13	50
ABPC	21	13	8	40	60	10	4	1		1		16	50
SM						24	78	51	2		1	18	100
KM					2	52	88	25				7	50
GM				41	65	48	18	2					50
FM					7	28	79	46	7		1	6	100
TC				20	69	50	25	6	3			1	100
OTC					21	52	21	36	34	7	3	1	200
LCM				6			19	85	51	8		5	200
CBD				9	1	31	41	59	29	2	2		200
CP			95	70	5		1	2			1		6.25
CL		1	11	39	28	60	26	5	2	1		1	200
NA					78	64	17	10			2	3	50

^a Number of strains.

むすべての薬剤について 37°C 24 時間好気培養後に判定し、Table 1 に示した break point 以上の MIC 値を示した菌株を当該薬剤に対する耐性菌と判定した。

電気泳動法により検出した。

成績

3. プラスミドの検出

S ブロース⁷⁾で 37°C 一夜培養し、集菌したものを出発材料とした。プラスミドは Kado and Liu⁸⁾の方法にしたがって抽出し、1% アガロースゲル

1. *H. parasuis* 分離株の薬剤感受性

H. parasuis 分離株 174 株の薬剤感受性試験成績を Table 1 に示した。MIC 分布曲線のピークはクロラムフェニコール (CP) では 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 、ペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、ゲン

Table 2 Drug resistant patterns of 174 *H. parasuis* isolates.

Multiplicity of resistance	Drug											No. of strain
	PCG	ABPC	KM	FM	SM	LCM	OTC	TC	CL	CP	NA	
Quadruple	R ^a	R	R	R								2
			R	R	R	R						1
Triple	R					R	R					1
	R	R								R		1
Double					R	R					R	2
	R	R										10
Single			R	R								1
						R					R	1
									R		R	1
		R										3
					R							16
								R				1
										R		2
											R	1
	14	16	7	7	19	5	1	1	1	3	5	46

^a Resistant to the drug.

タマイシン (GM), テトラサイクリン (TC) およびナリジクス酸 (NA) では $1.56 \mu\text{g/ml}$, オキシテトラサイクリン (OTC) およびコリスチン (CL) では $3.13 \mu\text{g/ml}$, ストレプトマイシン (SM), カナマイシン (KM) およびフラジオマイシン (FM) では $6.25 \mu\text{g/ml}$, リンコマイシン (LCM) および CBD では $12.5 \mu\text{g/ml}$ を示した。OTC および CL に対する MIC 値は比較的広い範囲に分布した。 β -ラクタム系の全 2 薬剤とアミノグリコシド系の 3 薬剤 (KM, FM および SM) の分布曲線は不完全ながら二峰性を示した。

分離株の薬剤耐性パターンを Table 2 に示した。合計 46 株 (26.4%) が何らかの薬剤に耐性と判定され, 4 剤耐性が 3 株, 3 剤耐性が 4 株, 2 剤耐性が 16 株に認められ, 残り 23 株は単剤耐性であった。また, β -ラクタム系 2 薬剤に対する耐性菌のうち 13 株とアミノグリコシド系の 2 薬剤 (KM および FM) に対する耐性菌のすべてがそれぞれの両薬剤に耐性であった。

2. *H. parasuis* 分離株のプラスミドについて

Table 3 に *H. parasuis* 分離株のプラスミド検出成績を, 既知の性状と比較して示した。少なくとも 5 農場由来の 9 株 (5.2%) が少なくとも 6 種類の比較的分子量の小さなプラスミドを保有していた。これら 9 株はすべて鼻腔由来の PAGE-I 型菌で, 血清型別不能株であった。また, 6 株は薬剤耐性菌であった。

考 察

H. parasuis は比較的多くの薬剤に感受性が高いといわれていた。しかし, 国内外を問わず多数の *H. parasuis* 菌株の薬剤感受性について検討した文献は見当たらない。阿部ら¹⁾はグレーサー病豚から分離した 4 株についてディスク法で薬剤感受性試験を行い, これらの株は 10 薬剤に対して高度に感受性であったがスピラマイシンとバントラシンに耐性であり, また 1 株は SM に耐性であったと報告した。平澤ら^{3,4)}は別々の症例から分離した計 5 株について薬剤感受性を調べ, これらは今回われわれが供試した 8 薬剤を含む 13 薬剤に高度に感受性であったと報告した。一方 Hannan ら²⁾は 2 株の *H. parasuis* についてキノロン系 6 薬剤と GM および OTC を含む 4 抗生物質に対する MIC を調べた。その結果キノロン系薬剤に対する MIC 値は $0.25 \mu\text{g/ml}$ かそれ以下であり, また GM に対して $1.0 \mu\text{g/ml}$, OTC に対して $2.0 \mu\text{g/ml}$ であったと報告した。

これらの報告と今回のわれわれの成績は方法が異なっており, 直接の比較はできないが今回の成績では予想以上に多剤耐性菌を含む多数の耐性菌が見いだされ, 耐性菌の増加が推察される成績となった。また, 野外で汎用されている β -ラクタム系およびアミノグリコシド系薬剤に対する耐性菌が多く交差耐性も認められたことから, 本病予防

Table 3 Properties of plasmid-mediated 9 strains in 174 *H. parasuis* isolates.¹⁾

Farm	Strain no.	Mol wt of plasmid (Mdal)	Drug						
			PCG	ABPC	KM	FM	SM	LCM	NA
A	50	1.3	R ^a	R	R	R			
	60	4.3							
B	36	4.3			R	R			
	38	1.7, 4.3	E	R	R	R			
C	120	1.5, 1.9							
D	142	2.5					R	R	R
	143	2.5					R	R	R
E	182	1.9					R		
	183	4.3							

^a Resistant to the drug.

¹⁾ All the 9 strains were derived from the nasal cavities of pigs, and belonged to PAGE type I and unknown serotypes other than 1 to 5.

のためには慎重な薬剤の選択が必要と考えられた。

われわれは先に、テトラサイクリン系薬剤で本病が良好に予防されることを報告した⁹⁾。今回の実験では TC および OTC に対する MIC 分布曲線のピークは比較的 low、また耐性菌も少なかった。この結果は、野外におけるテトラサイクリン系薬剤の効果を説明するひとつの理由になるものと考えられる。

つぎに両角ら¹¹⁾は、*H. parasuis* 供試菌株の 27% に 7 および 10 Mdal のプラスミドが検出され、プラスミド保有株はすべて PAGE-I 型菌で血清型は 3 または型別不能株であったと述べた。この報告と比べ、今回のわれわれの成績ではプラスミドの検出率が低く、またプラスミドの分子量も小さいものであった。また、今回のわれわれの供試菌株には血清型 3 型菌は含まれていなかったため、3 型菌におけるプラスミドの有無については不明であった。しかし、今回の成績ではプラスミド保有株はすべて PAGE-I 型菌で血清型別不能株であり、この点については先の両角ら¹¹⁾の報告と一致する成績であった。

病巣から分離される *H. parasuis* はほとんどが PAGE-II 型であり^{8,9,12)}、また実験的にも PAGE-I 型菌より PAGE-II 型菌の方が病原性が強いといわれている。これまでプラスミドが検出されているのは PAGE-I 型菌のみであるので、したがって本菌の場合プラスミドは病原性と関係がないとする両角らの意見をわれわれも支持するものである。

一方、薬剤菌性の機序を知る目的でプラスミド保有株のプラスミド・プロフィールと薬剤耐性の関連を調べたが、明瞭な相関は認められなかった。よって、現在のところ本菌の薬剤耐性にプラスミドが関与している可能性は少ないものと考えられた。

最後に、本研究の実施にあたり貴重なご助言を頂いた農林水産省家畜衛生試験場の両角徹雄博士に深謝します。

文 献

1) 阿部民也, 岩崎正幸, 吉川恵郷ほか. 1982. *Hae-*

mophilus parasuis による豚 Glasser 病の発生例. 家畜衛生研究報告, 84: 13-17.

- 2) Hannan, P. C. T., O'Hanlon, P. J., and Rogers, N. H. 1989. *In vitro* evaluation of various quinolone antibacterial agents against veterinary mycoplasmas and respiratory bacterial pathogens. Res. Vet. Sci., 46: 202-211.
- 3) 平澤博一, 佐藤良彦, 両角吉三ほか. 1987. 化膿性線維索性髄膜炎を主徴とした豚の *Haemophilus parasuis* 感染症例. 日獣会誌, 40: 519-522.
- 4) 平澤博一, 佐藤良彦, 太田俊明ほか. 1985. 豚の *Haemophilus parasuis* 感染症の 1 例. 日獣会誌, 38: 802-805.
- 5) Kado, C. I., and Liu, S-T. 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J. Bacteriol., 145: 1365-1375.
- 6) 加藤和好, 両角徹雄. 1977. *Haemophilus parasuis* および *Haemophilus parahaemolyticus* の抗生物質に対する試験管内感受性. 第 83 回日本獣医学会講演要旨, 42.
- 7) Kume, K., Sawata, A., and Nakase, Y. 1978. *Haemophilus* infections in chickens. 1. Characterization of *Haemophilus paragalinarum* isolated from chickens affected with coryza. Jpn. J. Vet. Sci., 40: 65-73.
- 8) Morikoshi, T., Kobayashi, K., Kamino, T., et al. 1990. Characterization of *Haemophilus parasuis* isolated in Japan. Jpn. J. Vet. Sci., 52: 667-669.
- 9) 森腰俊亨, 小林一彦, 神野太一ほか. 1988. SPF 豚のグレーサー病に関する研究 I—再現試験及び投薬による予防試験. 第 106 回日本獣医学会講演要旨, 168.
- 10) 森腰俊亨, 小林一彦, 神野太一ほか. 1988. SPF 豚のグレーサー病に関する研究 II—分離菌株の性状. 第 106 回日本獣医学会講演要旨, 169.
- 11) 両角徹雄, 竹内正太郎, 小林良則. 1987. *Haemophilus parasuis* の plasmid DNA について. 第 103 回日本獣医学会講演要旨, 115.
- 12) Nicolet, J., and Krawinkler, M. 1981. Polyacrylamide gel electrophoresis, a possible taxonomical tool for *Haemophilus*, pp. 205-212. In: *Haemophilus, Pasteurella and Actinobacillus* (Kilian, M., Frederiksen, W., and Biberstein, E. L., eds.), Academic Press, London.

- 13) Nielsen, R., and Danielsen, V. 1975. An outbreak of Glasser's disease, studies on etiology, serology and the effect of vaccination. Nord. Vet. Med., 27: 20-25.
- 14) Riising, H. J. 1981. Prevention of Glasser's disease through immunity to *Haemophilus parasuis*. Zbl. Vet. Med. B., 28: 630-638.
- 15) Smart, N. L., and Miniats, O. P. 1989. Preliminary assesment of a *Haemophilus parasuis* bacterin for use in specific pathogen free swine. Can. J. Vet. Res., 53: 390-393.

Drug Susceptibility and Plasmid Profiles of *Haemophilus parasuis*

Toshimichi MORIKOSHI

(Research Laboratory of C. Itoh Feed Mill Co., Ltd.)

In vitro susceptibility to 13 antimicrobial drugs and plasmid profiles of 174 isolates of *Haemophilus parasuis* were examined. These strains were isolated from 1987 to 1989 from pigs reared at 16 farms in Tohoku, Kantoh and Kyushu districts in Japan. Of them, 46 (26.4%) strains were judged to be resistant to one or more kinds of drugs. In the drug resistant strains, 3 were quadruple resistant, 4 were triple, 16 were double and 23 were single. A typical cross resistance was observed in β -lactams (penicillin and ampicillin) and aminoglycosides (kanamycin and radiomycin). In 174 strains, 9 strains carried at least 6 kinds of small plasmid. All the plasmid-mediated strains were derived from nasal cavities of pigs, belonged to PAGE type I and unknown serotype.

From these results, it was suggested that the number of the drug resistant strains of *H. parasuis* tended to increase. And it is also suggested that the plasmids of *H. parasuis* did not control PAGE types and pathogenicity of the strains. On the other hand, a clear correlation between drug resistance and plasmid profiles was not recognized, so the mechanisms of the resistance were not elucidated in this study.

討 論 (座長: 沢田拓士)

質問 (阪野哲也, 全農家畜研)

2週間程度の抗菌剤投与で、以後の発症をも抑制しているがその機序は、投薬期間中に軽度な菌の感染をうけ、それにより産生される抗体により以後の発症が防御されていると考えてよいか。

答 (森腰俊亨)

投薬しても感染を防御できない。また、導入豚は CF 抗体 (-)→(+)になることによって質問の通りと考えられるが、導入豚の農場は Hps PAGE-I 型菌で汚染されている。よって CF では検出されない量の抗体を持っている可能性があり、抗体の量とともに質 (抗 PAGE-II 型抗体?) も大事ではないかと推察している。

質問 (沢田拓士, 日獣畜大)

- 1) 農場別で薬剤毎の MIC に差があるということで、きめ細かい対策をたてられておりますが、これは現在も続けられていますか。その効果は如何ですか。
- 2) PAGE-II 型菌は耐性株がありますか。II 型菌はプラスミドを持たないということですので、もし耐性であればこれはプラスミドによらないということですか。

答 (森腰俊亨)

- 1) 続けており、有効であります。
- 2) PAGE-II 型にも I 型菌と同様に耐性菌は有りますが、プラスミドを持っていないのでプラスミド性ではないと思います。

4. 豚の鼻腔由来 *Pasteurella multocida* の 薬剤感受性とプラスミド

牛 島 稔 大 (化学及血清療法研究所)

Pasteurella multocida には皮膚壊死毒素 (DNT) を産生し、豚の萎縮性鼻炎 (AR) の発症に関与する株があることはよく知られている。AR は養豚業において経済的損失の大きい豚の感染症のひとつである。本病の対策として *Bordetella bronchiseptica* ワクチンの応用および抗菌剤投与がなされている。わが国では *P. multocida* ワクチンの実用化がなされていないため、抗菌剤の応用は临床上重要な意義を有している。

今回著者らは、AR 発生農場の豚の鼻腔から分離した *P. multocida* D 型菌について、薬剤感受性および薬剤耐性プラスミドさらにその伝達性について検討した。

材料および方法

1) 供試株

材料は 1988 年に、国内 16 県下 38 農場で飼育されていた豚の鼻腔から分離した 100 株の *P. multocida* D 型菌を用いた。供試株の DNT 産生性は、モルモット皮内接種試験¹⁰⁾によって確認した。

2) 薬剤感受性試験

ハートインフュージョン (HI) 寒天培地 (Difco) を用い動物用抗菌剤研究会標準法に従って、寒天培地希釈法によって **Table 1** に示した 12 種の薬剤について最少発育阻止濃度 (MIC) を測定した。なお、SDMX および TMP の感受性試験は 7.5% に馬溶血液を上記寒天培地に加えて行った。供試菌は、HI ブイヨン (Difco) で 37°C、1 夜培養し、PBS で希釈 (約 10⁶ CFU/ml) 後その 0.005 ml を感受性測定用培地に接種した。判定は 37°C で 18 時間培養後に行った。

3) 薬剤耐性プラスミドの検出

供試した菌株は、SM SA 耐性 3 株 (R040, R113, R124), KM CP SA 耐性 1 株 (R221), KM SM SA 耐性 1 株 (R783), OTC 耐性 1 株 (S832) および CP 耐性 1 株 (R304) の計 7 株を用いた (**Table 2**)。Birnboim and Doly²⁾ 法によりプラスミド試料を抽出し、大腸菌を形質転換して *P. multocida* 由来薬剤耐性プラスミドの検出を行った。コンピテントセルは Kushner⁹⁾ の方法で大腸菌 C600 株より調製した。形質転換はコンピテントセル 0.2 ml に薬剤耐性株より抽出したプラスミド DNA 10 ml を加え 30 分間氷冷し、さらに 43.5°C で 30 秒間熱処理を行った後、L プロス 2 ml を加え、37°C で 1~2 時間培養して行った。形質転換体 (トランスフォーマント) の選択は検出を目的とする耐性プラスミドの薬剤を添加した L 寒天培地に培養液を接種し、37°C、1 夜培養して行った。なおトランスフォーマントの選択のため、培地に添加した薬剤の濃度は CP および OTC を 25 µg/ml また KM, SM を 50 µg/ml とした。

4) プラスミドの分子量測定

菌株の保有するプラスミドの分子量測定には、*P. multocida* および大腸菌のいずれについても Kado and Liu⁷⁾ 法によって抽出したプラスミド試料を用いた。電気泳動は 0.8% アガロースゲルで行い、常法に従ってエチジウムブロマイドで染色後、紫外線下でプラスミドを観察した。なお分子量マーカーは、Supercoiled DNA Ladder (Bethesda Research Laboratories · Life Technologies, Inc.) を使用した。

5) 接合伝達試験

接合伝達試験は、ドナーとして *P. multocida* のプラスミド DNA で形質転換された大腸菌 8 株

(Table 4), 薬剤耐性 *P. multocida* 6 株 (Table 2 および 5), およびその接合伝達試験によって得られた *P. multocida* 接合伝達体 (トランスコンジュガント) 4 株 (Table 7) を用い, これらのドナーに対するレシピエントとして, それぞれナリジクス酸 (NA) 耐性を人為的に付与した大腸菌 C600^{NA} 株, 薬剤感受性 *P. multocida* R187 株にリファンプシン (RFP) 耐性を人為的に付与した R187-1 株または大腸菌 C600 株, および KM CP SA 耐性 *P. multocida* R221 株を用いた。

ドナーとレシピエントの交雑は, Bradley ら¹⁾の述べている寒天平板交雑法を以下のように変更して行った。供試菌は 5% 馬脱線維血液加 HI 寒天培地で 37°C, 1 夜前培養し, 発育した菌苔を HI ブイヨンに接種し, さらに 37°C で 3 時間培養した。菌数約 10⁹ CFU/ml に到達したドナーおよびレシピエントの菌液を等量に混合し, その 0.3 ml を直径約 9 cm の 5% 馬脱線維血液加 HI 寒天平板に接種した。寒天平板は 37°C で約 2 時間培養した後, 2 ml の PBS に菌を回収した。回収菌液から接合伝達体 (トランスコンジュガント) の選択はドナーおよびレシピエントの耐性保有薬剤の両者を添加した HI 寒天培地で行ったが, *P. multocida* と大腸菌 (C600) の交雑試験では *P.*

multocida の耐性保有薬剤を添加した DHL 寒天培地 (日水) でおこなった。接合伝達頻度はドナーの耐性保有薬剤のみを添加した HI 寒天培地で, 回収した菌液中のドナーの菌数を計測し, トランスコンジュガントの菌数/ドナーの菌数で表現した。なお培地に添加した薬剤の濃度は SM と KM が 50 µg, CP と OTC が 25 µg, また RFP と NA が 40 µg/ml とした。

成績

1) 薬剤感受性および DNT 産生性

MIC 値の分布において SM, SDMX, CP, OTC および KM で 2 峰性が観察され, 各々 29, 37, 16, 3 および 5% の株が耐性であった。その他の薬剤ではいずれも 1 峰性の MIC 値の分布を示した (Table 1)。

供試 100 株の内訳を薬剤耐性, DNT 産生性, プラスミド保有状況及び分離農場別に Table 2 に示した。薬剤耐性株は供試株全体の 44% に達し, 耐性パターン別に内訳を見ると, 単剤から 3 剤耐性まで認められ, 3 剤耐性として SM CP SA (6%), KM CP SA (3%), KM SM SA (2%) および OTC SM SA (1%) が, 2 剤耐性は SM

Table 1. Distribution of drug susceptibility in 100 strains of type D *P. multocida* from the nasal cavities of swine

Drug ¹⁾	Minimum inhibitory concentration (µg/ml)										
	0.2	0.4	0.78	1.56	3.1	6.25	12.5	25	50	100	>100
SM					3 ²⁾	6	41	16	5		29
SDMX							9	30	9	15	37
CP	6	63	14	1	11	5					
OTC		30	59	4	4		1		2		
ABPC	89	9	2								
KM					5	54	32	3	1		5
NA		5	88	7							
SPM								3	13	38	46
EM			3	10	68	19					
TS							20	49	30	1	
RFP	15	59	26								
TMP	100										

¹⁾ SM; streptomycin, SDMX; sulfadimetoxin, CP; chloramphenicol, OTC; oxytetracyclin, ABPC; ampicillin, KM; kanamycin, NA; nalidixic acid, SPM; spiramycin, EM; erythromycin, TS; tylosin, RFP; rifampicin, TMP; trimethoprim.

²⁾ Number of strains.

Table 2. Investigation results of drug resistance, DNT production, and plasmids patterns of 100 strains of *P. multocida*

Farm	Prefecture	Number of strains	Drug-resistance	DNT	Plasmids pattern ¹⁾	Strain used for further studies ²⁾
1	Hokkaido	1	SM SA OTC	+	b	
2	Aomori	1	—	+	a	
3	Akita	2	—	+	a	
4	Akita	1	SM SA	+	b	R040
4	Akita	1	SM SA	+	c	R041
5	Iwate	2	KM SA CP	+	c	R221
6	Iwate	1	—	+	c	
7	Iwate	1	—	+	c	
8	Iwate	1	SM SA	—	b	
8	Iwate	2	—	—	—	
9	Ishikawa	1	—	+	—	
10	Ishikawa	3	—	+	a	
10	Ishikawa	2	—	—	—	
11	Chiba	1	—	+	a	
12	Gifu	2	CP	+	c	R304
13	Osaka	1	—	+	a	
14	Mie	1	—	+	c	
15	Mie	1	SA OTC	+	c	
15	Mie	1	CP	+	c	
16	Ehime	1	—	+	b	
16	Ehime	2	—	—	—	
17	Ehime	1	—	+	a	
17	Ehime	1	—	—	—	
18	Fukuoka	1	OTC	+	b	S832
19	Fukuoka	1	KM SA CP	+	c	
20	Oita	2	—	+	a	
21	Oita	2	—	+	a	
22	Saga	2	SM SA	+	c	R113
22	Saga	5	—	+	c	
22	Saga	1	SA	—	b	
23	Saga	1	—	+	b	
24	Saga	1	SM SA	—	b	
25	Saga	1	—	—	—	
26	Saga	1	SM SA CP	+	c	
27	Saga	2	SM SA	+	c	
28	Kumamoto	3	SM SA	+	c	R124
29	Kumamoto	4	SM SA CP	+	c	
29	Kumamoto	3	SM SA	+	c	
30	Kumamoto	1	SM SA	—	b	
31	Kumamoto	1	SA	—	b	
32	Kumamoto	2	—	+	a	
32	Kumamoto	1	SM SA	—	b	
33	Miyazaki	2	SM SA	+	c	
34	Miyazaki	1	—	+	—	
35	Miyazaki	1	SA	+	a	
35	Miyazaki	1	CP	+	c	
35	Miyazaki	1	CP	+	b	
35	Miyazaki	5	—	+	c	
35	Miyazaki	1	CP	—	b	
35	Miyazaki	10	—	—	—	R187

Table 2 (つづき)

36	Miyazaki	2	SM SA	+	c	
36	Miyazaki	1	—	+	a	
36	Miyazaki	5	—	+	c	
37	Kagoshima	1	SM SA CP	+	c	
38	Kagoshima	1	SA CP	—	b	
38	Kagoshima	2	KM SA SM	—	b	R783

¹⁾ a; 1.8 megadalton plasmid only, b; one or more plasmids except for a 1.8 megadalton plasmid, c; 1.8 megadalton plasmid and other plasmid(s), —; none.

²⁾ See Materials and Methods.

SA (20%), SM CP (1%) および OTC SA (1%), また単剤耐性は CP (6%), SA (3%) および OTC (1%) が認められ, このうち SM SA 2 剤耐性が最も多かった。

DNT の産生は供試株の 72% に認められ, DNT 産生株 72 のうち 34 株が薬剤耐性株であった。DNT 産生株と非産生株の薬剤耐性化率には有意差 (χ^2 乗検定) はなかった。供試株の 80% が, 分子量約 1~30 megadalton (Md) の範囲で 1~数本のプラスミドバンドを保有し, このうち 1.8 Md のプラスミドが最も普遍的 (供試株の 65%) に認められた。しかしながら本プラスミドと薬剤耐性

または DNT 産生性との間には直接的関連は認められなかった。

薬剤耐性および DNT 産生株の浸潤は, 今回供試した *P. multocida* 分離農場 (合計 38 農場) 中各々 20 農場 (52.6%) および 32 農場 (84.2%) に認められた。また同一農場から薬剤耐性, DNT 産生性あるいはプラスミドプロファイルの異なる株が分離される例も見られた (Table 2)。

2) 形質転換法による薬剤耐性プラスミドの検出

大腸菌で検出された R-プラスミドは, 秋田, 佐賀および熊本県由来の 3 株から 5.1, 5.1 および 3.9 Md の SM 耐性プラスミド, 岩手および鹿

Table 3. Drug resistance and plasmids patterns

Strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)							Molecular weight (megadalton)
	SM	SDMX	KM	CP	OTC	ABPC	RFP	
<i>P. multocida</i>								
R040	400	1600	6.25	0.4	0.4	0.2	0.4	28.5, 2.7, 2.3
R113	400	800	6.25	0.4	0.8	0.2	0.4	28.5, 5.1, 3.2, 2.7, 1.8, 1.0
R124	400	800	6.25	0.4	0.8	0.2	0.4	3.9, 2.3, 1.8
R221	12.5	1600	>100	3.1	0.4	0.8	0.4	4.7, 3.3, 2.2, 1.8
R783	400	1600	>100	0.4	0.8	0.8	0.4	28.5, 4.7, 3.6, 0.8
S832	12.5	25	6.25	0.4	50	0.2	0.4	3.0, 2.8
R304	12.5	25	1.56	3.1	0.4	0.2	0.4	3.3, 1.8
<i>E. coli</i>								
C600	1.56	200	1.56	3.13	6.25	3.13	>100	None
Transformant ¹⁾								
C600 (R040)a ²⁾	1600	>3200	3.13	3.13	6.25	3.13	>100	5.1
C600 (R113)a	1600	>3200	3.13	3.13	6.25	3.13	>100	5.1
C600 (R124)a	1600	>3200	3.13	3.13	6.25	3.13	>100	3.9
C600 (R221)b	1.56	200	>100	3.13	6.25	>100	>100	4.7
C600 (R783)b	1.56	200	>100	3.13	6.25	>100	>100	4.7
C600 (S832)c	1.56	200	1.56	3.13	>100	3.13	>100	3.2
C600 (R304)d	1.56	200	1.56	>100	6.25	3.13	>100	3.3
C600 (R221)d	1.56	200	1.56	>100	6.25	3.13	>100	3.3

¹⁾ *E. coli* C600 transformed with plasmid DNAs from *P. multocida* strains indicated in a parenthesis.

²⁾ a; SM-selected transformant, b; KM-selected transformant, c; OTC-selected transformant, d; CP-selected transformant.

児島県由来の2株から4.7MdのKM耐性プラスミド、岩手および岐阜県由来の2株から3.3MdのCP耐性プラスミド、福岡県由来の1株から3.2MdのOTC耐性プラスミドであった (Table 2 および 3)。トランスフォーマントの薬剤耐性スペクトラムを、プラスミドを供与した *P. multocida* と比較したところ、5.1及び3.9MdのSM耐性プラスミドはいずれもSM耐性のほかにSA耐性を、また4.7MdのKM耐性プラスミドはいずれもABPC耐性をコードしていた。しかし3.2MdのOTC耐性プラスミドおよび3.3MdのCP耐性プラスミドは他の薬剤耐性のコードはみられなかった。なおKM耐性プラスミドにコードされていたABPC耐性は *P. multocida* では発現が低度 ($0.8 \mu\text{g/ml}$) で、大腸菌では高度 ($\geq 100 \mu\text{g/ml}$) であった (Table 3)。

3) 接合伝達試験

大腸菌トランスフォーマントをドナーとした接合伝達試験ではいずれも接合伝達は成立しなかった (Table 4)。

薬剤耐性 *P. multocida* 6株をドナーとした接合伝達試験では、R187-1株に対して、SM耐性伝達能を有する2株 (R041とR113) が認められ、その伝達頻度は 4.0×10^{-7} および 6.7×10^{-9} であったが (Table 5)、大腸菌に対してはいずれの株も耐性伝達を示さなかった。ドナー株のプラスミドプロフィールを調べたところ、R041株、R113株、R040株、およびR783株の4株に、分子量約28.5Mdのプラスミドが認められたが (Table 5)、耐性伝達能との関連はみられなかった。伝達頻度が高

Table 4. Transfer of drug resistance from C600 to *E. coli* C600^{NA} by mixed cultivation

Donor	Drugs of selection	Transfer frequency ¹⁾
C600 (R040)	SM+NA	$<9.1 \times 10^{-8}$
C600 (R113)	SM+NA	$<4.3 \times 10^{-8}$
C600 (R124)	SM+NA	$<1.4 \times 10^{-8}$
C600 (R221) ^{a2)}	KM+NA	$<6.7 \times 10^{-8}$
C600 (R783)	KM+NA	$<5.0 \times 10^{-8}$
C600 (S832)	CTC+NA	$<6.7 \times 10^{-8}$
C600 (R304)	CP+NA	$<5.6 \times 10^{-8}$
C600 (R221) ^{b2)}	CP+NA	$<1.2 \times 10^{-8}$

¹⁾ Transconjugants per donor cell.

²⁾ a; KM-selected transformant, b; CP-selected transformant.

かった R041株とR187-1株の交雑によって得られた接合伝達体 (トランスコンジュガント) 13株について薬剤耐性スペクトラとプラスミドプロフィールを調べたところ、いずれもSM SA耐性で3.9または5.9Mdプラスミドのいずれかもしくは両者を保有していた。またそれ以外に28.5、2.3あるいは1.8Mdプラスミドの一部を保有する株もみられた (Table 6)。次に、R041株の接合伝達性とプラスミドの関連を検討するため、これらのトランスコンジュガントの中から、28.5Mdプラスミドを保有するT1およびT16株、3.9、2.3および1.8Mdプラスミドを保有するT2株、5.9Mdプラスミドのみを保有するT8株の4株を選択してドナーとした。レシピエントとしてKM耐性 *P. multocida* R221株をもちいSM耐性の伝達を試みた。その成績では、T1およびT16株にのみ耐性伝達能が観察され、R041株の保有している

Table 5. Transfer of drug resistance from *P. multocida* to *P. multocida* R187-1 by mixed cultivation.

Donor (<i>P. multocida</i>)	Plasmid patterns	Drugs of selection	Transfer frequency ¹⁾	Spontaneous RFP-resistance reversion of donor
R040	28.5 ²⁾ 2.7, 2.3	SM+REF	$<5.0 \times 10^{-8}$	2.0×10^{-7}
R041	28.5, 3.9, 2.3, 1.8	SM+REF	4.0×10^{-7}	$<1.0 \times 10^{-8}$
R113	28.5, 5.1, 3.2, 2.7, 1.8, 1.0	SM+REF	6.7×10^{-9}	5.6×10^{-8}
R124	3.9, 2.3, 1.8	SM+REF	$<1.0 \times 10^{-8}$	3.1×10^{-8}
R783	28.5, 4.7, 3.6, 0.8	SM+REF	$<1.6 \times 10^{-8}$	1.4×10^{-8}
R221	4.7, 3.3, 2.2, 1.8	KM+REF	$<1.5 \times 10^{-8}$	not tested
R783	28.5, 4.7, 3.6, 0.8	KM+REF	$<1.4 \times 10^{-8}$	1.4×10^{-8}

¹⁾ Transconjugants per donor cell.

²⁾ Molecular weight (megadalton).

Table 6. Drug resistance and plasmids patterns

Strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)							Molecular weight (Megadalton)	
	SM	SDMX	KM	CP	OTC	ABPC	RFP		
(Parents)									
R041	200	800	6.25	0.4	0.4	0.2	0.4	28.5,	3.9, 2.3, 1.8
R187-1	12.5	25	6.25	0.4	0.8	0.2	>100	None	
(Transconjugants)									
T1	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100	28.5, 5.9	
T2	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100		3.9, 2.3, 1.8
T3	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.4	>100		3.9 1.8
T4	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.4	>100		3.9
T5	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100		3.9
T7	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100	28.5,	3.9, 2.3, 1.8
T8	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100		5.9
T9	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100	28.5, 5.9,	3.9, 1.8
T11	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100		3.9 1.8
T12	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100		3.9 1.8
T16	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100	28.5, 5.9,	3.9, 1.8
T17	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100		3.9 1.8
T18	400	1600	6.25	0.4	0.8	0.2	>100		5.9

Table 7. Effects of 28.5 megadalton plasmid originated from *P. multocida* strain R041 on R-transfer

Strain ¹⁾	28.5 Mdal plasmid	Recipient	Drugs of selection	Transfer frequency ²⁾
T1	+	R221	SM+KM	5.5×10^{-5}
T2	-			$<9.1 \times 10^{-10}$
T8	-			$<6.7 \times 10^{-9}$
T16	+			8.3×10^{-6}

¹⁾ Transconjugants were obtained from the mating strain R041 of *P. multocida* with strain R187-1 of *P. multocida*.

²⁾ Transconjugants per donor cell.

28.5 Md プラスミドは伝達性に関与するプラスミドであることが確認された (Table 7)。

考 察

P. multocida の薬剤耐性プラスミドとして, SM SA 耐性^{3,5,8,11,12)}, TC 耐性¹¹⁾, TC SM SA 耐性⁶⁾および SM SA CP KM 耐性¹²⁾プラスミドなどが報告されており, いずれも 10 Md 以下の小型のプラスミドである。これらの分子量は同じ表現型プラスミドにおいてもかなり多様である。

今回, 4 株の SM SA 耐性株から, 形質転換法

または接合伝達によって該耐性をコードするプラスミドとして 5 つのものが検出されたが, それらの分子量は 5.1 (R040 および R113 株由来), 3.9 (R124 および R041 株由来), および 5.9 Md (R041 株由来) であった。また大腸菌 C600 株を形質転換して得られたトランスフォーマント内に認められた R-プラスミドのうち, OTC 耐性ならびに SM SA 耐性プラスミドの一部は, その分子量がプラスミドを供与した *P. multocida* の保有するプラスミドの分子量と異なっていた。これと類似の現象は接合伝達においてもみられた。トランスコンジュガントはいずれも 5.9 あるいは 3.9 Md の SM SA 耐性プラスミドを保有していたが, ドナーである R041 株はこのうち 5.9 Md のプラスミドを保有していなかった。このことは, 形質転換あるいは接合伝達の過程で薬剤耐性プラスミドの自己複製機構になんらかの修飾が加えられるのか, あるいは薬剤耐性遺伝子がトランスポゾンや IS (Insertion Sequence) のような遺伝子エレメントに連動してプラスミド上に存在し, 宿主菌内で容易に共存するプラスミドと融合組換えを起こす結果, 分子量を大きく変化させるなどが考えられる。特に後者は *P. multocida* 由来薬剤耐性プラスミドの分子量の多様性についてもよく説明できるもの

と思われる。

接合により薬剤耐性の伝達が *P. multocida* でも起こることは、既に Hirshら^{4,9)}によって七面鳥由来株で報告されている。今回著者は豚由来株で、比較的接合伝達頻度の高かった R041 株について、その接合伝達性とプラスミドとの関連を検討したところ、該株の保有する 28.5 Md プラスミドとの関連が認められた。しかしながら同じ分子量のプラスミドを保有しているにも関わらず、伝達頻度が著しく低い株 (R113)、および伝達が観察されなかった株 (R040, R783) も存在した。今後これらのプラスミドの詳細な解析あるいは伝達性の発現に影響を及ぼす宿主菌側の機構などが検討されるべきである。

要 約

1988年に国内16県下の養豚場より分離した *P. multocida* D型菌100株について12の薬剤に対する薬剤感受性試験ならびに薬剤耐性プラスミドとその伝達性について検討を行った。

供試株のうち44株(44%)がサルファ剤(SA)、ストレプトマイシン(SM)、クロラムフェニコール(CP)、カナマイシン(KM)、オキシテトラサイクリン(OTC)などの薬剤に耐性であった。大腸菌C600株を用い形質転換法で薬剤耐性プラスミドの検出を試みたところ、SM SA耐性に5.3および3.9、KM AMPC耐性に4.7、OTC耐性に3.2、およびCP耐性に3.3メガダルトン(Md)の各プラスミドが検出されたが、いずれも非伝達性であった。

七面鳥由来 *P. multocida* の非伝達性 R-プラスミドを可動化するプラスミド(28.5 Md)の存在が知られているが、今回供試した豚由来株の中にも、ほぼ同じ分子量のクリプチックプラスミドを保有する SM SA 耐性株 (R041) が認められた。そこでこの株をドナーとし、薬剤感受性でプラスミド保有しない分離株にリファムピシン耐性を人為的に賦与した R187-1 株をレシピエントとし、接合伝達試験を試みた。その結果、対数値 -6.4 の頻度でトランスコンジュガントが得られ、またその約 30% に SM SA 耐性プラスミドとともにクリ

プチックプラスミドも伝達された。次に、得られたトランスコンジュガントの接合伝達性を KM CP SA 耐性株 (R221) をレシピエントとして検討したところ、クリプチックプラスミドを保有するトランスコンジュガントにのみ伝達性が認められた。

以上の成績から、豚由来 *P. multocida* の中には、薬剤耐性プラスミドを他の株へと伝達する株があり、その伝達能は該株の保有する 28.5 Md のクリプチックプラスミドと関連していることが確認された。

文 献

- 1) Bradley, D. E., Taylor, D. E., and Cohen, D. R. 1980. Specification of surface mating systems among conjugative drug resistance plasmids in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 143: 1466-1470.
- 2) Brinboim, H. C. and Doly, J. 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.* 7: 1513-1523.
- 3) Cote, S., Harel, J., Higgins, R., and Jacques, M. 1991. Resistance to antimicrobial agents and prevalence of R plasmid in *Pasteurella multocida* from swine. *Am. J. Vet. Res.* 52: 1653-1657.
- 4) Hirsh, D. C., Hansen, L. M., Dorfman, L. C. et al. 1989. Resistance to antimicrobial agents and prevalence of R plasmids in *Pasteurella multocida* from turkeys. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 670-673.
- 5) Hirsh, D. C., Martin, L. D., and Rhoades, K. R. 1981. Conjugal transfer of an R-plasmid in *Pasteurella multocida*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 20: 415-417.
- 6) Hirsh, D. C., Martin, L. D., and Rhoades, K. R. 1985. Resistance plasmids of *Pasteurella multocida* isolated from turkeys. *Am. J. Vet. Res.* 46: 1490-1493.
- 7) Kado, C. I. and Liu, S. T. 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 145: 1365-1373.
- 8) 川添公伸, 中井豊次, 久米勝巳, 寺門誠致. 1984. 豚由来 *Pasteurella multocida* の薬剤耐性と非伝達

- 性Rプラスミドについて. 第98回日本獣医学会講演要旨集, 154.
- 9) Kushner, S. R. An improved method for transformation of *Escherichia coli* with ColE1-derived plasmids. In: Boyer, H. B. and Nicosia, S. eds. Genetic engineering. Amsterdam: Elsevier North-Holland, 1978; 17.
- 10) Lugtenberg, B., van Boxtel, R., and de Jong, M. 1984. Atrophic rhinitis in swine: Correlation of *Pasteurella multocida* pathogenicity with membrane protein and Lipopolysaccharide patterns. Infect. Immun. 46. 48-54.
- 11) Silver, R. P., Leming, B., Garon, C. F. et al. R-Plasmids in *Pasteurella multocida*. Plasmid. 1979. 2. 493-497.
- 12) Yamamoto, J., Sakano, T., and Shimizu, M. 1990. Drug resistance and R plasmids in *Pasteurella multocida* isolates from swine. Microbiol. Immunol. 34. 715-721.

Drug Susceptibility and R Plasmids of *Pasteurella multocida* Isolated from Nasal Cavities of Swine

Toshihiro USHIJIMA

(The Chemo-sero-therapeutic Research Institute)

A total of 100 strains of capsular type D *Pasteurella multocida* isolated from the nasal cavities of pigs reared on farms in 16 prefectures of Japan in 1988 were examined for drug resistance and R plasmids.

Minimum inhibitory concentration of 12 antimicrobial drugs against these isolates were determined. Fourty-four isolates (44%) were resistant to multiple antimicrobial drugs such as sulfadimetoxin (SDMX), streptomycin (SM), chrolamphenicol (CP), kanamycin (KM) and oxytetracycline (OTC).

Escherichia coli K12 strain C600 was transformed with plasmid DNAs isolated from some of drug-resistant *P. multocida* isolates. Plasmids of molecular weight 5.1, 3.9, 4.7, 3.2, and 3.3 megadaltons (Md) were identified to be encoding resistance to SM SA, SM SA, KM ABPC, OTC, and CP, respectively. All of these plasmids were nonconjugative.

The transconjugation was performed by using the R041 strain of SM resistant *P. multocida* as a donor and the strain R187-1 of spontaneous rifampicin-resistance *P. multocida* as a recipient. A transfer of SM resistance was observed at a frequency of 4.0×10^{-7} . All transconjugants possessed 5.9 or 3.9 Md plasmid, thus these plasmids were suggested to be responsible for SM resistance. About 30% of the transconjugants accepted a cryptic plasmid of molecular weight 28.5 Md along with SM resistance plasmid(s). When the second transconjugations were performed by using the transconjugants as donors and the strain R221 of KM resistant *P. multocida* as a recipient, only the transconjugants accepted a 28.5 Md plasmid showed the SM resistance transfer. The results suggest that SM resistance plasmids themselves were non-conjugative and the genes necessary for the transfer of the resistance genes appeared to be associated with a 28.5 Md plasmid harboured by the R041 strain.

討 論（座長：沢田拓士）

質問（福安嗣昭，麻布大）

SDMX と TMP の感剤感受性試験用培地に 7.5% 溶血血液を添加する理由は？

答（牛島稔大）

常法通り行ったが，理由については“ST 合剤研究会，Chemotherapy, 21. 67-76, 1973”を参照されたい。

総合討論

(座長: 中村政幸・沢田拓士)

質問 (佐藤静夫, 全農家衛研) (川原氏に)

プラスミドの伝達性を調べる場合に、ヘモフィルス、パスツレラなどについては、腸管病原体における場合と異なり、*P. multocida* の場合に述べられた 28.5 Mdal のような非伝達性 R-プラスミドを可動化するプラスミドの存在を考慮した検査手法の確立が必要とも思われるが、演者の御意見を?

答 (川原一芳)

たしかに *E. coli* K-12 を使っている現在のやりかたは無理があるので各々の菌種でのレシピエント株の確立が必要である。その点で、牛島氏が *P. multocida* の感受性株をレシピエントに使ったのは興味深い。

質問 (川原一芳, 北里研)

A. pleuropneumoniae の薬剤耐性は小型のプラスミドにのっているようなので血清型と薬剤耐性は関係ないかもしれないが 1 型 (9, 11 型) と 16S RNA の塩基配列, LPS の O-抗原, 病原性の点で 2 型とは異なるようである。この点について皆様どう思いますか。

答 (森腰俊享)

A. pleuropneumoniae についてはわかりません

が、*H. parasuis* の場合も血清型と病原性には関連が有るという報告があります。その他、PAGE 型によっても病原性が違うようなので、*A. pleuropneumoniae* の場合もマーカーは相当複雑だろうと思います。

質問 (沢田拓士, 日獣畜大)

1) *P. multocida* のプラスミドのサイズが小さい、不安定である、伝達性が低いなどの性状は *in vivo* でも同様であると考えてよろしいか。(牛島氏に)

2) 由来臓器で分離菌の薬剤感受性に差はありますか。(福安氏に)

答 (牛島稔大)

In vivo では、必ずしも、*in vitro* で伝達性がないからといって、耐性遺伝子の授受がないとは言えないと考えている。又、species 間のみならず、パスツレラからヘモフィルスあるいは逆の伝達等も起こるのではないかと想像している。

答 (福安嗣昭)

同一血清型の場合は差がないと思います。ただし、由来臓器により血清型は異なる場合が多々ある。

会 務 報 告

1. 平成4年度定期総会の報告

平成4年度定期総会は第113回日本獣医学会の開催期の後日、平成4年4月5日(日)午後1時から日本獣医畜産大学の312講義室において、後述の第19回シンポジウムに先立って行われた。

まず最初に高橋 勇理事長から挨拶の後、恒例に従って同氏が議長となり、執行部から提出された以下の各議案について審議が行われた。

(1) 平成3年度事業報告

年度内に次の事業が実施されたとの報告があった。1) 会報13号(約60頁)を発行・配布(印刷の関係で大幅に遅延)。2) 抗菌性物質に関する参考資料の発行・配布。内容は①動物由来菌の薬剤耐性菌関係文献リスト(欧文)、②抗菌性物質の家畜感染症への有効性及び残留性に関する国外及び国内文献リスト(以上2点は1990~1991年分)、③抗菌性物質に関する参考資料(6点合本)、以上3点であった。3) 平成3年度定期総会開催(平成3年4月1日)。第18回シンポジウム開催(前記総会に引き続き実施)。その内容は会報13号に掲載済。5) 動物用抗生物質・合成抗菌剤略号表の改訂を実施(会報第13号末尾に掲載)。6) 事業の拡大と会員の拡充に関し検討を行った。7) 上記の2)に関連して資料、情報の収集を実施。などであった、と報告された。

(2) 平成3年度収支決算報告

別表1の通り、決算報告があり、引き続き監査報告が行われた。

以上2議案を一括審議の上、可決承認。

(3) 平成4年度事業計画

平成4年度事業計画は、上記平成3年度の事業の1)~7)をほぼ継承するが、本年度から会名を実際に「動物用抗菌剤研究会」と改称することから、幅広く動物(魚類を含む)における化学療法的基础及び応用面に関する問題点並びに動物(魚類を含む)由来の耐性菌に関する問題点を取り上げて行く方針であることがつけ加えられた。

(4) 平成4年度予算

別表2の予算案が執行部から提出され、補足説明が行われた。

以上2議案を一括審議の上、承認可決。

(5) 会則の一部改正

執行部から以下のように会則の一部改正の件が提案された(→印の後の字句が改正点)。

第1章 総則

(名称) 第1条 家畜抗菌剤研究会→動物用抗菌剤研究会

(目的) 第2条 家畜の→動物の、家畜衛生→動物の衛生、畜産振興→畜・水産振興

(事業) 第3条 1. 家畜抗菌剤→動物の抗菌剤
2. 家畜・家禽等の→家畜・家禽・魚類等の
5. 抗菌剤の畜産物への→抗菌剤の畜・水産物への

第2章 会員

(会員) 第4条 1. 個人会員
家畜衛生、臨床、公衆衛生、畜産、飼料および→家畜衛生、臨床、魚病、公衆衛生、畜・水産、飼料および

(付則) 本会則は平成3年4月1日より→本会則は平成4年4月1日より。

と改めることが提案され、審議の上、承認された。

最後に高橋理事長から会員の一層のご支援をお願いしたい旨の挨拶があり、総会を閉じた。

2. 第19回シンポジウムの開催

上記の総会に引き続き、4月5日午後1時30分から同所において第19回シンポジウムが行われた。特別講演として、出口浩一先生(東京総臨検センター)による「近年におけるMRSA研究の

動向と薬剤使用状況の関連」の講演が1時間にわたり行われ、大変有益であった。次いで「豚呼吸器病由来病原菌の薬剤耐性とプラスミド」のテーマで4名の演者により講演が行われたが、討論も

活発で、実りの多い催しとなった。これらの要旨は本号に特別寄稿並びに特集として掲載されている。

会員へのお願い

1. 会員の拡充についてのお願い

毎年お願いしているところであるが、本会の会員の内訳は、これまでのところ、家畜衛生や公衆衛生関係官公庁や製薬、飼料会社の勤務獣医師が大半であり、臨床関係者や水産関係者はあまり多くはない。

しかし、近年本会の目的と運営方針が、抗菌性物質の適正利用の面に重点をおくようになったことから、牛、豚、鶏の臨床面や、小動物の臨床面にたずさわっている獣医師にも、入会をお願いして、抗菌性物質に関して、正しい認識をもち、適正な利用をされるように情報を提供することが会の使命として重要であると考えられる。またこれとともに、実際応用の面で生じている種々の問題点を提起していただくことが、今後の会の運営に大切であろうと思われる。さらに、水産関係者の抗菌性物質の応用上の問題点や残留ならびに耐性菌などの問題に対する関心も高まっており、本会の使命として、水産、魚病関係への事業拡張も計りつつある。このようことから水産関係者の本会への参加もみられるようになってきた。そこで、各会員へのお願いとして、周囲の方々に入会を呼びかけてい

ただいて、会の活動をより活発なものとしていきたい。

なお入会手続は、はがきに住所（勤務先でも可）、氏名、年齢、勤務先名と専門別（例：具職員、研究員、製薬会社学術担当、大動物臨床など）を明記の上、本会宛申込のこと。折返し会費納入用振替用紙を発送する。

（会費年間3,000円）

2. 動物由来菌の薬剤感受性や耐性菌、動物への抗菌剤の応用、残留等関連事項の情報収集についてご協力をお願い

本会はこの数年来動物への抗菌剤の応用面の問題を積極的に会の事業にとり入れていくこととしてきたが、会の情報収集能力には限度があるので、関係者の方々の一層のご協力をお願いしたい。

すなわち会員が標題の件に関し、研究発表や総説等を発表されたときには、その別刷あるいはコピーを本会あてにお送りいただきたい。また、会員の周囲の方で本件に関して、発表された場合や関係文献等で目にふれた適当なものがあれば、ご一報いただきたい。これらを機会をみて会員に紹介してゆきたいと考える。

(別表1)

平成3年度収支決算書

収入の部

科 目	予算額	決算額	比較増減		備 考
			増	減	
個人会費	600,000	513,000		87,000	1,000円×1 2,000円×1 3,000円×170
賛助会費	610,000	590,000		20,000	10,000円×3社 20,000円×17社 30,000円×6社 40,000円×1社
繰越金	569,005	569,005			
雑収入	100,000	205,863	105,863		シンポジウム参加費, 利子, 資料売上代
合 計	1,879,005	1,877,868		1,137	

支出の部

科 目	予算額	決算額	比較増減		備 考
			増	減	
事務費	265,000	159,461		105,539	
事務手当	150,000	96,000		54,000	
印刷費	40,000	18,280		21,720	会費納入のお願い, コピー代
通信費	30,000	5,680		24,320	切手代
消耗品費	10,000	4,332		5,668	宛名ラベル, その他事務用品等
交通費	25,000	11,100		13,900	通勤, 都内交通費
雑費	10,000	24,069	14,069		清水前理事香料 10,000円 懇親会負担分 12,000円
会議費	60,000	30,689		29,311	
総会費	10,000	10,560	560		総会通知印刷代等
役員会議費	30,000	20,129		9,871	
専門部会会議費	20,000	0		20,000	
事業費	1,380,000	1,014,875		365,125	
資料配布費	250,000	294,650	44,650		文献リスト, 参考資料印刷発送費
講演会費	120,000	104,943		15,057	謝礼, 運営費, 要旨印刷費
会報発行費	850,000	554,324		295,676	印刷費(概算払), 発送費
資料収集費	60,000	60,958	958		文献, 資料収集費
その他の事業費	100,000	0		100,000	
雑費	10,000	0		10,000	
予備費	164,005	0		164,005	
(小) 合計		1,205,025			
次年度へ繰越		672,843			
合 計	1,879,005	1,877,868			

繰越金 672,843 { 郵便振替 0 三菱銀行普通貯金 69,111
(内訳) { 郵便預金 554,003 現 金 49,729

監査の結果以上の通り相違ありません。

平成4年3月28日

監事 小野浩臣◎
監事 伊佐山康郎◎

(別表2)

平成4年度収支予算書(案)

収入の部

科 目	平成4年度 予算額	平成3年度 予算額	比較増減		備 考
			増	減	
個人会費	600,000	600,000			3,000円×200名分 10,000×59口分 シンポジウム参加費, 利子等
賛助会費	590,000	610,000		20,000	
繰越金	672,843	569,005	103,838		
雑収入	100,000	100,000			
合 計	1,962,843	1,879,005	83,838		

支出の部

科 目	平成4年度 予算額	平成3年度 予算額	比較増減		備 考
			増	減	
事務費	265,000	265,000			封筒等, 印刷代, コピー代 切手代 事務用品 事務員通勤費等
事務手当	150,000	150,000			
印刷費	40,000	40,000			
通信費	30,000	30,000			
消耗品費	10,000	10,000			
交通費	25,000	25,000			
雑費	10,000	10,000			
会議費	60,000	60,000			資料印刷代
総会費	10,000	10,000			
役員会議費	30,000	30,000			
専門部会会議費	20,000	20,000			
事業費	1,410,000	1,380,000	30,000		印刷, 編集, 送料 謝礼, 編集, 送料, アルバイト 印刷, 編集, 送料 文献, 資料収集等 事業拡充対策費
資料配布費	250,000	250,000			
講演会費	150,000	120,000	30,000		
会報発行費	850,000	850,000			
資料収集費	60,000	60,000			
その他の事業費	100,000	100,000			
雑費	10,000	10,000			
予備費	217,843	164,005	53,838		
合 計	1,962,843	1,879,005	83,838		

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，公衆衛生，畜・水産，飼料および動物用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
本会の発展に著明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ぬ。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. 会員の意志による退会。
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、重任を妨げない。

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。

(役員の仕事)

第 10 条 役員の仕事は次の各号による。

1. 理事長は本会を代表し、会務を統括する。
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、次の事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)

専門部会は理事会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。

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
1993年3月 (増補・改正)

ANTIBIOTICS

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
PENICILLIN ANTIBIOTICS (PCs)			
<i>Aminobenzylpenicillin</i>	see Ampicillin		
Amoxicillin		N,1,2,3	AMPC
Ampicillin	<i>Aminobenzylpenicillin</i>	N,1,2,3	ABPC
Benzylpenicillin	<i>Penicillin G</i>	N,1,2,3	PCG
Clavulanic acid		N,4	CVA
Cloxacillin	<i>Methylchlorophenylisoxazolympenicillin</i>	N,1,2,3	MCIPC(CX)
Dicloxacillin	<i>Methyldichlorophenylisoxazolympenicillin</i>	N,1,2	MDIPC(DCX)
<i>Ethoxynaphthylpenicillin</i>	see Nafcillin		
Hetacillin	<i>Isopropylidenaminobenzylpenicillin</i>	N,2	IPABPC
<i>Isopropylidenaminobenzylpenicillin</i>	see Hetacillin		
<u>Mecillinam</u>		1	MPC
<i>Methylchlorophenylisoxazolympenicillin</i>	see Cloxacillin		
<i>Methyldichlorophenylisoxazolympenicillin</i>	see Dicloxacillin		
<i>Methylphenylisoxazolympenicillin</i>	see Oxacillin		
Nafcillin	<i>Ethoxynaphthylpenicillin</i>	1	NFPC
Oxacillin	<i>Methylphenylisoxazolympenicillin</i>	N,4	MPIPC
<i>Penicillin G</i>	see Benzylpenicillin		
<i>Penicillin V</i>	see Phenoxymethylpenicillin		
Phenoxymethylpenicillin	<i>Penicillin V</i>	N,3	PCV
CEPHEM ANTIBIOTICS (CEPs)			
<i>Cefacetrile</i>	see Cefacetrile		
<i>Cefalexin</i>	see Cephalexin		
<i>Cefaloridine</i>	see Cephaloridine		
<i>Cefapirin</i>	see Cephapirin		
Ceftiofur		2	CTF
Cefivitril		4	CEVR
Cefoxitin		N,4	CFX
Cefuroxime		N,1	CXM
○Cefquinone		4	CQN
Cefazolin		N,1	CEZ
Cefacetrile	<i>Cefacetrile</i>	N,4	CEC
Cephalexin	<i>Cefalexin</i>	N,2,3	CEX
<u>Cephalonium</u>		1,2,3	CEL
Cephaloridine	<i>Cefaloridine</i>	N,2	CER
Cephapirin	<i>Cefapirin</i>	N,2	CEPR
Cephoxazole		3,4	CXZ
Latamoxef	<i>Moxalactam</i>	N,4	LMOX
<i>Moxalactam</i>	see Latamoxef		

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS (AGs)			
<i>Aminocidin</i>	<i>see Paromomycin</i>		
<u>Apramycin</u>		1,4	APM
<u>Destomycin A*</u>		1	DM-A
Dihydrostreptomycin		N,1,2	DSM
Fradiomycin	<i>Neomycin, Framycetin</i>	N,1,2	FRM(FM,NM)
<i>Framycetin</i>	<i>see Fradiomycin</i>		
Gentamicin		N,1,2	GM
<u>Hygromycin B*</u>		1,2	HM-B
Kanamycin		N,1,2	KM
<i>Neomycin</i>	<i>see Fradiomycin</i>		
Paromomycin	<i>Aminocidin</i>	N,4	PRM
Spectinomycin		N,1,2,3	SPCM(SPCT)
Streptomycin		N,1,2,3	SM
MACROLIDE ANTIBIOTICS (MLs)			
<u>Acetylisoaleryltylosin</u>		1	AIV-TS
Carbomycin		2	CRM
Detreomycin		4	DRM
Erythromycin		N,1,2	EM
Josamycin		N,1	JM
Kitasamycin*		N,1	LM(KT)
<i>Leucomycin</i>	<i>Leucomycin</i>		
<i>Miporamycin</i>	<i>see Kitasamycin</i>		
<i>Mirosamicin</i>	<i>see Mirosamicin</i>		
Mycinamicin	<i>Miporamycin</i>	1	MRM
Oleandomycin*		4	MNM
<u>Sedecamycin</u>		N,1,2	OL(OM)
Spiramycin*		1	SCM
○Terdecamycin		N,1	SPM(SP)
Tilmicosin		1	TDM
Turimycin		4	TMS
<u>Tylosin*</u>		4	TUM
		1,2,3	TS
LINCOSAMINID ANTIBIOTICS (LCMs)			
Lincomycin		N,1,2,3	LCM
PEPTIDE ANTIBIOTICS (PTs)			
Ardacin		4	ADC
<u>Avoparcin*</u>		1,3	AVP
Bacitracin*		N,1,2,3	BC
<i>Bambermycin</i>	<i>see Flavophospholipol</i>		
Colistin*		N,1	CL
<u>Enramycin*</u>		N,1	ER
<i>Flavomycin</i>	<i>see Flavophospholipol</i>		
<u>Flavophospholipol*</u>	<i>Bambermycin, Flavomycin</i>	1	FV
Macarbomycin		(1)	MC(MCB)
<u>Nosiheptide*</u>		1,4,5	NHT
Polymyxin-B	<i>Sulfomyxin</i>	N,2	PL(PM-B)
Quebemycin		(1)	QM
<i>Sulfomyxin</i>	<i>see Polymyxin-B</i>		

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
(CONTINUED)			
<u>Thiopeptin</u> *		1	TPT
<u>Virginiamycin</u> *		1,2,3	VGM
POLYETHER ANTIBIOTICS (PEs)			
<u>Lasalocid</u> *		1,2	LLC(LS)
Lonomycin		4	LNM
Lysoceillin		4	LSC
Maduramicin		4	MDRM
<u>Methylsalinomycin</u>	see Naracin		
<u>Monensin</u> *		1,2,3	MNS(MN)
Naracin	<i>Methylsalinomycin</i>	2,4	NRC
<u>Salinomycin</u> *		1	SNM(SLM)
Senduramicin		4	SDRM
Tetronasin		4	TNS
TETRACYCLINE ANTIBIOTICS (TCs)			
Chlortetracycline*		N,1,2,3	CTC
Doxycycline		N,1	DOXY
Methacycline		N,3	MTC
Oxytetracycline*		N,1,2,3	OTC
Tetracycline		N,1,2,3	TC
ANTIFUNGAL ANTIBIOTICS			
Amphotericin-B		N,3	AMPH
Griseofulvin		N,1,2,3	GRF
<u>Nanaomycin</u>		1	NNM
Nystatin		N,1,2,3	NYS
Siccanin		N,1	SCN
OTHER ANTIBIOTICS			
Avilamycin		4	AVM
<u>Bicozamycin</u> *	<i>Bicyclomycin</i>	1	BCM(BCZ)
<i>Bicyclomycin</i>	see Bicozamycin		
Chloramphenicol		N,1,3	CP(CM)
Efrotomycin		4	EFM
Fosfomycin		N,1	FOM
Fusidic acid		N,3	FA
<i>Nourseothricin</i>	see Streptothricin		
Novobiocin		N,1',2,3	NB
Perjmycin		4	PRIM
Polynactin		N,1	PNT
Rifampicin	<i>Rifampin</i>	N,4	RFP
<i>Rifampin</i>	see Rifampicin		
Streptothricin	<i>Nourseothricin</i>	4	STR
<u>Tiamulin</u>		1,3	TML
Tyrothricin		4	TTC
Vancomycin		4	VCM

SYNTHETIC ANTIBACTERIAL AGENTS

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
SULFA DRUGS (SAs)			
Acetylsulfamethoxazole		1'	Ac-SMX
Homosulfamine		1'	HS
Phthalylsulfacetamide		3	Ph-SAA
Phthalylsulfathiazole	<i>Sulfaphthalythiazole</i>	3	Ph-STZ
Succinylsulfathiazole		4	Sc-STZ
Sulfabromomethazine		2	SBM
Sulfachloropyrazine	<i>Sulfaclozine</i>	2	SCPZ
Sulfachloropyridazine		1,2,3	SCPD
<i>Sulfaclozine</i>	<i>see Sulfachloropyrazine</i>		
Sulfadiazine	<i>Sulfapyrimidine</i>	1',2,3	SDZ
Sulfadimethoxine	<i>Sulfadimethoxyypyrimidine</i>	1,1',2,3	SDMX
<i>Sulfadimethoxyypyrimidine</i>	<i>see Sulfadimethoxine</i>		
<i>Sulfadimethylpyrimidine</i>	<i>see Sulfadimidine</i>		
Sulfadimidine	<i>Sulfamethazine,Sulfadimethylpyrimidine</i>	1',2,3	SDD
Sulfadoxine	<i>Sulfomethoxine</i>	1',3	SDOX
Sulfaethoxyypyridazine		2	SEPD
<i>Sulfafurazole</i>	<i>see Sulfisoxazole</i>		
Sulfaguanidine		3	SGD
Sulfisomidine,Sulf(a)isomidine		1	SID
Sulfisoxazole,Sulf(a)isoxazole	<i>Sufafurazole</i>	2,3	SIX
Sulfisozole		1	SIZ
Sulfamerazine	<i>Sulfamethylpyrimidine</i>	1',2,3	SMR
<i>Sulfamethazine</i>	<i>see Sulfadimidine</i>		
<i>Sulfamethiazole</i>	<i>see Sulfamethizole</i>		
Sulfamethizole	<i>Sulfamethiazole,Sulfathiodiazole</i>	3	SMTZ
Sulfamethoxazole	<i>Sulfisomezole</i>	1	SMX
Sulfamethoxyypyridazine		1,2,3	SMPD
<i>Sulfamethyloxazole</i>	<i>see Sulfamoxole</i>		
Sulfamethylphenazole		1	SMPZ
<i>Sulfamethylphenylpyrazole</i>	<i>see Sulfapyrazole</i>		
<i>Sulfamethylpyrimidine</i>	<i>see Sulfamerazine</i>		
<i>Sulfamine</i>	<i>see Sulfanilamide</i>		
Sulfamonomethoxine		1,1'	SMMX
Sulfamoxole	<i>Sulfamethyloxazole</i>	4	SMOX
Sulfanilamide	<i>Sulfamine</i>	3	SA
Sulfanitran		2	SNT
Sulfaphenazole		4	SPHZ
<i>Sulfaphthalythiazole</i>	<i>see Phthalylsulfathiazole</i>		
Sulfapyrazole	<i>Sulfamethylphenylpyrazole</i>	3	SPZ
Sulfapyridine		3	SPD
<i>Sulfapyrimidine</i>	<i>see Sulfadiazine</i>		
Sulfaquinoxaline*		1',3	SQ
Sulfathiazole		1',2,3	STZ
<i>Sulfathiodiazole</i>	<i>see Sulfamethizole</i>		
<i>Sulfisomezole</i>	<i>see Sulfamethoxazole</i>		
<i>Sulfomethoxine</i>	<i>see Sulfadoxine</i>		

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
FURAN DERIVATIVES			
Difurazon	<i>Nitrovin, Panazon</i>	1,1',3	DFZ
Furaladone		2,3	FTZ
Furazolidone		1,2,3	FZ
<i>Nitrofuracin</i>	<i>see Nitrofurantoin</i>		
<i>Nitrofurural</i>	<i>see Nitrofurazone</i>		
Nitrofurantoin	<i>Nitrofuracin</i>	2,3	NFT
Nitrofurazone	<i>Nitrofurural</i>	1,1',2	NFZ
<i>Nitrovin</i>	<i>see Difurazon</i>		
Nifurprazine		1	NPZ
Nifurstyrene		1	NFS
<i>Panazon</i>	<i>see Difurazon</i>		
PYRIDONECARBOXYLIC ACID (PCAs)			
<i>Apiroxacin</i>	<i>see Esafloxacin</i>		
○Benofloxacin		1	BFLX
Binofloxacin		4	BNFX
Cinoxacin		4	CINX
Ciprofloxacin		4	CPFX
Danofloxacin		4	DNFX
Difloxacin		4	DFLX
Enrofloxacin		4	ERFX
Enoxacin		4	ENX
Esafloxacin	<i>Apiroxacin</i>	4	ESFX
Fleroxacin		4	FLRX
Ibafloxacin		4	IBFX
Miloxacin		1,4	MLX(MXC)
Nalidixic acid		1	NA
Norfloxacin		4	NFLX
Ofloxacin		4	OFLX
Oxolinic acid		1	OXA(OA)
Pefloxacin		4	PFLX
Pipemidic acid		4	PPA
Piromidic acid		1	PA(PMA)
Rosoxacin		4	RSX
Sarafloxacin		4	SRFX
ANTIPROTOZOAN AGENTS			
Amprolium**		1',3	APL
Arprinocid		3,4	APC(ARP)
Beclothiamine		1	BT
Buparvaquone		4	BPVQ
Clopidol*		1	CLP
Decoquinat*		1	DEC
Diclazuril		4	DLZ(DZR)
Diminazene		1	DNZ
Dinitolimid	<i>Zoalene</i>	1	DTM(ZL)
Ethopabate**		1'	ETB
Glycarbylamide		1	GCA
Harofuginone*		3	HFN(HFG)
Imidocarb		4	IDC
Isometamidium		4	ITD

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
(CONTINUED)			
Nicarbazin*		1,3	NCZ
Obioactin		4	OAT
Pamaquine		1	PMQ
Parvaquone		4	PVQ
Primaquine		1	PRQ
Pyrimethamine		1',3	PYR
Quinapyramine		4	QPM
Robenidine		(1)	RBD
Ronidazole		3	RDZ
Sulfamoildapsone		4	SMD(SDDS)
Toltrazuril		4	TTZ
Zoalene	see Dinitolumid		
OTHERS			
○ Baquiloprim		4	BLP
Carbadox		1,2,3,5	CDX(CBD)
Dimetridazole		2,3,5	DTZ
Florfenicol		4	FFC(FP)
Flumequine		4	FMQ
Halquinol		3	HQN
Ipronidazole		2,5	INZ
Metronidazole		4	MNZ
Olaquinox*		1,5	ODX(OQD)
Ormetoprim		1',2	OMP
Quindoxin		4	QDX
Thiamphenicol		1	TP
Trimethoprim		1',2,3	TMP

N : 日本抗生物質医薬品基準 (1986) 収載の医薬品 ただし塩の部分は省略。

1 : わが国において現在承認、ならびに指定されている動物用薬品ならびに飼料添加物。

1' : 1のうち配合剤の成分。

2 : 米国で承認されている動物用薬品 (FDA)。

3 : 米国で市販されている動物用薬品。

4 : 獣医・畜産関係等の学会報告、専門誌などに見られるもの。

5 : 国外 (ECなど) において承認されている飼料添加物。

アンダーライン : 動物専用抗生物質。

、' : 飼料添加物、飼料添加物配合成分。

() 内 : 慣用略号。

○ : 新規に本表に収載されたもの。

(編集: 小野浩臣・高橋 勇、協力: 獣 日本抗生物質学術協議会)

☆ 本表に新しく収載された薬剤 (○印) の略号について、今後3ヶ月以内 (1993年6月末) に会員からのご異議がなければ、それ以後、本会制定の正式略号といたします。

Antibiotics (alphabetical order)

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Acetylisovaleryltylosin (MLs)	AIV-TS	
Amoxicillin (PCs)	AMPC	
Amphotericin-B (AFAs)	AMPH	
Ampicillin (PCs)	ABPC	Aminobenzylpenicillin
Apramycin (AGs)	APM	
Ardacin (PPs)	ADC	
Avilamycin (Etc)	AVM	
Avoparacin (PTs)	AVP	
Bacitracin (PTs)	BC	
Benzylpenicillin (PCs)	PCG	Penicillin G
Bicozamycin (Etc)	BCM (BCZ)	Bicyclomycin
Carbomycin (MLs)	CRM	
Cefazolin (CEPs)	CEZ	
Cefivitril (CEPs)	CEVR	
Cefoxitin (CEPs)	CFX	
Cefquinone (CEPs)	CQN	
Cefuroxime (CEPs)	CXM	
Ceftiofur (CEPs)	CTF	
Ceftriaxone (CEPs)	CTAX	
Cephacetrile (CEPs)	CEC	Cefacetrile
Cephalexin (CEPs)	CEX	Cefalexin
Cephalonium (CEPs)	CEL	
Cephaloridine (CEPs)	CER	Cefaloridine
Cephapirin (CEPs)	CEPR	Cefapirin
Cephoxazole (CEPs)	CXZ	
Chloramphenicol (Etc)	CP (CM)	
Chlortetracycline (TCs)	CTC	
Clavulanic acid (PCs)	CVA	
Cloxacillin (PCs)	MCIPC (CX)	Methylchlorophenylisoxazolylpenicillin
Colistin (PTs)	CL	
Destomycin A (AGs)	DM-A	
Detreomycin (MLs)	DRM	
Dicloxacillin (PCs)	MDIPC (DCX)	Methyldichlorophenylisoxazolylpenicillin
Dihydrostreptomycin (AGs)	DSM	
Doxycycline (TCs)	DOXY	
Efrotomycin (Etc)	EFM	
Enramycin (PTs)	ER	
Erythromycin (MLs)	EM	
Flavophospholipol (PTs)	FV	Bambermycin, Flavomycin
Fosfomycin (Etc)	FOM	
Fradiomycin (AGs)	FRM (FM, NH)	Neomycin, Framycetin
Framycetin (AGs)		Neomycin-B
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	

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Kitasamycin (MLs)	LM(KT)	Leucomycin
Laidlomycin (Etc)	LDM	
Lasalocid (PEs)	LLC (LS)	
Latamoxef (CEPs)	LMOX	Moxalactam
Lincomycin (LCMs)	LCM	
Lonomylin (PEs)	LNM	
Lysocellin (PEs)	LSC	
Macarbomycin (PTs)	MC (MCB)	
Maduramicin (PEs)	MDRM	
Mecillinam (PCs)	MPC	
Methacycline (TCs)	MTC	
Mirosamicin (MLs)	MRM	Miporamycin
Monensin (PEs)	MNS (MN)	
Mycinamicin (MLs)	MNM	
Nafcillin (PSc)	NFPC	Ethoxynaphthylpenicillin
Nanaomycin (AFAs)	NNM	
Naracin (PEs)	NRC	Methylsalinomycin
Neomycin		Fradiomycin
Nosiheptide (PTs)	NHT	
Novobiocin (Etc)	NB	
Nystatin (AFAs)	NYS	
Oleandomycin (MLs)	OL (OM)	
Oxacillin (PCs)	MPIPC	Methylphenylisoxazolylpenicillin
Oxytetracycline (TCs)	OTC	
Paromomycin (AGs)	PRM	Aminocidin
Penicillin V (PCs)	PCV	Phenoxyethylpenicillin
Perilmycin (Etc)	PRIM	
Polynactin (Etc)	PNT	
Polymyxin-B (PTs)	PL (PM-B)	Sulfomyxin
Quebemycin (PTs)	QM	
Rifampicin (Etc)	RFP	Rifampin
Salinomycin (PEs)	SNM (SLM)	
Sedecamycin (MLs)	SCM	
Senduramicin (PEs)	SDRM	
Siccanin (AFAs)	SCN	
Spectinomycin (AGs)	SPCM (SPCT)	
Spiramycin (MLs)	SPM (SP)	
Streptomycin (AGs)	SM	
Streptothricin (Etc)	STR	Nouseothricin
Terdecamycin (MLs)	TDM	
Tetracycline (TCs)	TC	
Tetronasin (PEs)	TNS	
Thiopeptin (PTs)	TPT	
Tiamulin (Etc)	TML	
Tilmicosin (MLs)	TMS	
Turimycin (MLs)	TUM	
Tylosin (MLs)	TS	
Tyrothricin (Etc)	TTC	
Vancomycin (Etc)	VCM	
Virginiamycin (PTs)	VGM	

Synthetic antibacterial agents (alphabetical order)

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Acetylsulfamethoxazole (SAs)	Ac-SMX	
Amprolium (APAts)	APL	
Arprinocid (APAts)	APC (ARP)	
○ Baquiloprim (Etc)	BLP	
Beclothiamine (APAts)	BT	
○ Benofloxacin (PCAs)	BFLX	
Binfloracin (PCAs)	BNFX	
Buparvaquone (APAts)	BPVQ	
Carbadox (Etc)	CDX (CBD)	
Cinoxacin (PCAs)	CINX	
Ciprofloxacin (PCAs)	CPFEX	
Clopidol (APAts)	CLP	
Danofloxacin (PCAs)	DNFX	
Decoquinat (APAts)	DEC	
Diclazuril (APAts)	DLZ (DZR)	
Difloxacin (PCAs)	DFLX	
Difurazon (FDs)	DFZ	Nitrovin, Panazon
Dimetridazole (Etc)	DTZ	
Diminazene (APAts)	DNZ	
Dinitolumid (APAts)	DTH (ZL)	Zalene
Enoxacin (PCAs)	ENX	
Enrofloxacin (PCAs)	ERFX	
Esafloxacin (PCAs)	ESFX	Esafloxacin
Ethopabate (APAts)	ETB	
Fleroxacin (PCAs)	FLX	
Florfenicol (Etc)	FFC (FP)	
Flumequine (Etc)	FMQ	
Fural tadone (FDs)	FTZ	
Furazolidone (FDs)	FZ	
Glycarbylamide (APAts)	GCA	
Halquinol (Etc)	HQN	
Harofuginone (APAts)	HFN (HFG)	
Homosulfamine (SAs)	HS	
Ibafloxacin (PCAs)	IBFX	
Imidocarb (APAts)	IDC	
Ipronidazole (Etc)	INZ	
Isometamidium (APAts)	ITD	
Metronidazole (Etc)	MNZ	
Miloxacin (PCAs)	MLX (MXC)	
Nalidixic acid (PCAs)	NA	
Nicarbazin (APAts)	NCZ	
Nifurprazine (FDs)	NPZ	
Nifurstyrene (FDs)	NFS	
Nitrofurantoin (FDs)	NFT	Nitrofuracin
Nitrofurazone (FDs)	NFZ	Nitrofurail
Norfloxacin (PCAs)	NFLX	
Obioactin (APAts)	OAT	
Ofloracin (PCAs)	OFLX	
Olaquinox (Etc)	ODX (OQD)	
Ormetoprim (Etc)	OMP	

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Oxolinic acid (PCAs)	OXA (OA)	
Pamaquine (APA ts)	PMQ	
Parvaquone (APA ts)	PVQ	
Pefloxacin (PCAs)	PFLX	
Phthalylsulfacetamide (SAs)	Ph-SAA	
Phthalylsulfathiazole (SAs)	Ph-STZ	Sulfaphthalythiazole
Pipemidic acid (PCAs)	PPA	
Piromidic acid (PCAs)	PA (PMA)	
Primaquine (APA ts)	PRQ	
Pyrimethamine (APA ts)	PYR	
Quinapyramine (APA ts)	QPM	
Quindoxin (Etc)	QDX	
Robenidin (APA ts)	RBD	
Ronidazole (APA ts)	RDZ	
Rosoxacin (PCAs)	RSX	
Sarafloxacin (PCAs)	SRFX	
Succinylsulfathiazole (SAs)	Sc-STZ	
Sufamonomethoxine (SAs)	SMX	
Sulfabromomethazine (SAs)	SBM	
Sulfachloropyrazine (SAs)	SCPZ	Sulfaclozine
Sulfachlorpyridazine (SAs)	SCPD	
Sulfadiazine (SAs)	SDZ	Sulfapyrimidine
Sulfadimethoxine (SAs)	SDMX	Sulfadimethoxypyrimidine
Sulfadimidine (SAs)	SDD	Sulfamethazine, Sulfadimethylpyrimidine
Sulfadoxine (SAs)	SDOX	Sulfomethoxine
Sulfaethoxyypyridazine (SAs)	SEPD	
Sulfaguanidine (SAs)	SGD	
Sulfamerazine (SAs)	SMR	Sulfamethylpyrimidine
Sulfamethiazole (SAs)	SMTZ	Sulfamethiazole, Sulfathiodiazole
Sulfamethoxazole (SAs)	SMX	Sulfisomezole
Sulfamethoxyypyridazine (SAs)	SMPD	
Sulfamethylphenazole (SAs)	SMPZ	
Sulfamoildapsone (APA ts)	SMD (SDDS)	
Sulfamoxole (SAs)	SMOX	Sulfamethyloxazole
Sulfanilamide (SAs)	SA	Sulfamie
Sulfanitrin (SAs)	SNT	
Sulfaphenazole (SAs)	SPHZ	
Sulfapyrazole (SAs)	SPZ	Sulfamethylphenylpyrazole
Sulfapyridine (SAs)	SPD	
Sulfaquinoxaline (SAs)	SQ	
Sulfathiazole (FDs)	STZ	
Sulfisomidine, Sulf (a) isomidine (SAs)	SID	
Sulfisoxazole, Sulf (a) isoxazole (SAs)	SIX	Sulfafurazole
Sulfisozole (SAs)	SIZ	
Thiamphenicol (Etc)	TP	
Toltrazuril (APA ts)	TTZ	
Trimethoprim (Etc)	TMP	

動物用抗菌剤研究会報 第14号

1993年3月31日発行

発行所 動物用抗菌剤研究会

(〒180) 東京都武蔵野市境南町1-7-1

日本獣医畜産大学獣医微生物学教室内

電話 (0422) 31-4151 (内線 255)

振替 東京 4-145535

発行者 高橋 勇

編集委員 阪野哲也 (全農家衛研) 佐藤静夫 (全農家衛研) 沢

田拓士 (日獣畜大) 高橋 勇 (日獣畜大) 中村政幸 (動

葉検)

製作 有限会社 学術製版

東京都港区東新橋2-9-11

電話 (03) 3591-0970

