

### 3. 最近分離された *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* の血清型と薬剤感受性

山本孝史 (農林水産省家畜衛生試験場\*)

先にわれわれは、1974~1982年にわが国の豚の胸膜肺炎病巣部より分離された *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* 菌株の薬剤感受性について報告した<sup>1)</sup>。供試菌株の血清型はそのほとんどが2型であったが、これは当時わが国において分離される *H. pleuropneumoniae* の血清型は、そのほとんどが2型であったことによる。1985年筆者ら<sup>2)</sup>は、5型菌株による胸膜肺炎の一発生例について報告したが、その後1986年には、Nakai & Kume<sup>3)</sup>により5型菌の広範な流行や、山本ら<sup>4)</sup>により6型によるカナダ産輸入豚の死亡例が報告されるなど、ここ数年血清型の分布に変化のきざしが認められるようになった。そこで本報告においては、1984年~1988年に分離された2, 5および未型別の各血清型菌株の薬剤感受性を測定し、各血清型間の薬剤感受性を比較した。

#### 材料および方法

供試菌株： 総計204株を供試したが、そのうち196株が1984~1988年における国内の分離株でありその内訳は、2型142株、5型38株、型別不能16株であった。本菌株の血清型別は、1~5型の参照株 (Shope 4074, S1536, S1421, M62 および K17株) に対するウサギ抗血清を用い、Mittalら<sup>5)</sup>の方法に準じて共凝集反応により実施した。型別不能株は、1~5型の抗血清で反応しなかったものである。これら196株の大部分は胸膜肺炎病巣部由来であるが、型別不能株16株中11株は、関節炎罹患豚の関節腔液あるいは関節周囲の膿瘍から分離された。さらに台湾における分離株1型

Table 1. *Haemophilus pleuropneumoniae* strains used for susceptibility test

serovar	Year of isolation					Taiwan†	Total
	'84	'85	'86	'87	'88		
1						3	3
2	11	37	37	37	20	2	144
5	27	11				3	41
unident- tified		11		1	4		16
Total	38	59	37	38	24	8	204

† Supplied by Dr. Chang, C.N., Taiwan.

3株、2型2株、5型3株の合計8株も供試した。これらの詳細については、Table 1に示した。

供試培地： Brucella Broth (Gibco) に新鮮イーストエキスを5%の割合に添加した液体培地およびこれに Agar Noble (Difco) を1.5%の割合に加えた寒天培地を供試した。

供試薬剤\*\*： Table 2~6に示した10薬剤を供した。BAY Vp 2674は、キノロンカルボン酸系の合成抗菌剤であり、バイエルジャパン(株)より分与をうけた。他の9種の抗生物質は、農水省動物医薬品検査所より購入あるいは分与された。

最小発育阻止濃度の測定： 日本化学療法学会標準法に準じて、寒天培地希釈法により実施した。すなわち、被検菌の37°C 6時間液体培養菌液をリン酸緩衝液にて10<sup>-3</sup>に希釈し、その5μl宛をマイクロプランター (佐久間製作所) を用いて被検培地に接種した。判定は37°C 20時間培養後に実施した。

#### 実験成績

供試した分離株204株の成績をTable 2に示し

\*\* 供試薬剤の名称は本会制定の略号表によった。

\* 発表時の所属は東京大学医学部付属・動物実験施設

た。ペニシリン系薬剤およびチアンフェニコール (TP) に対しては、大部分の菌株が感受性であったが、少数の菌株に耐性が認められた。テトラサイクリン系薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) は広い範囲に分布し、特にオキシテトラサイクリン (OTC) に対しては多くの耐性株が認められた。チアムリンに対しては全株低感受性であり、(MIC: 3.13~12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、リンコマイシンにたいしてはほとんど感受性を示さなかった (MIC: 12.5~50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )。キノロンカルボン酸系合成抗菌剤 BAY Vp 2674 に対しては、全株きわめて感受性であった。

次に各血清型ごとに感受性を比較すると以下のようであった。

供試した 1 型 3 株はすべてペニシリン G カリウム (PCG), アミノベンジルペニシリン (ABPC) および OTC に耐性であり、さらに 1 株は TP に対しても耐性であった (Table 3)。なお 1 型の参照株 Shope 4074 株はこれらすべてに感受性であった。

2 型では 144 株中 1985 年に分離された 3 株のみが OTC および TP に耐性であり、他の菌株はすべて感受性であった (Table 4)。

5 型では 41 株中 28 株が OTC 耐性を示したが、

Table 2 Susceptibility of 204 strains of *Haemophilus pleuropneumoniae* isolated during 1988 to 1988 to selected drugs

Drug*	Minimum inhibitory concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )											
	>100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	<.05
PCG	2**	2					9	39	137	15		
ABPC	1	2		1					81	118	1	
CTC				4	12	2	32	89	65			
OTC	1		43	1	1	16	101	41				
DOXY			1	11	1	6	21	100	64			
MNC				5	6	1	1	20	119	52		
TP	4						6	175	19			
TM				54	89	61						
LCM		21	177	6								
BAY											2	202

\* PCG=Penicillin G, ABPC=Ampicillin, CTC=Chlortetracycline, OTC=Oxytetracycline, DOXY=Doxycycline, MNC=Minoocycline, TP=Thiamphenicol, TM=Tiamulin, LCM=Lincomycin, BAY=BAY Vp 2674.

\*\* Number of strains.

Table 3 Susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* serovar 1 to selected drugs

Drug*	Minimum inhibitory concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )											
	>100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	<.05
PCG	2**	1										
ABPC	1	1		1								
CTC					1	1	1					
OTC	1		2									
DOXY					1	1	1					
MNC							1	2				
TP	1						1	1				
TM						3						
LCM			3									
BAY												3

\* } See Table 2.

\*\* }

Table 4 Susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* serovar 2 to selected drugs

Drug*	Minimum inhibitory concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )											
	>100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	<.05
PCG							8**	35	96	5		
ABPC									66	78		
CTC					3		5	88	48			
OTC			3			16	99	26				
DOXY						3		86	55			
MNC								17	102	25		
TP	3						3	119	19			
TM				53	66	25						
LCM		18	122	4								
BAY											1	143

\*) See Table 2.

\*\*) See Table 2.

Table 5 Susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* serovar 5 to selected drugs

Drug*	Minimum inhibitory concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )											
	>100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	>.05
PCG								2**	29	10		
ABPC									8	32	1	
CTC							27	1	13			
OTC			27	1			1	12				
DOXY						2	20	5	14			
MNC								1	13	27		
TP								41				
TM					15	26						
LCM		3	37	1								
BAY											1	40

\*) See Table 2.

\*\*) See Table 2.

Table 6 Susceptibility of unidentified serovars of *Haemophilus pleuropneumoniae* to selected drugs

Drug*	Minimum inhibitory concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )											
	>100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	>.05
PCG		1**					1	3	11			
ABPC		1							7	8		
CTC				4	8				4			
OTC			11		1		1	3				
DOXY			1	11				1	3			
MNC				5	6	1			4			
TP							2	14				
TM				1	8	7						
LCM			15	1								
BAY												16

\*) See Table 2.

\*\*) See Table 2.

他の薬剤に対しては感受性であった (Table 5)。

型別不能株16株中、関節炎罹患豚の関節腔液あるいは関節周囲の膿瘍から分離された11株は、そのすべてが OTC 耐性であり、またこれらの菌株はクロールテトラサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン等、他のテトラサイクリン系薬剤に対しても低感受性であった。さらに胸膜肺炎病巣部由来の5株中1株は、PCG および ABPC のペニシリン系薬剤に耐性であり、またテトラサイクリン系薬剤に対しても低感受性であった (MIC: 3.13~12.5 µg/ml) (Table 6)。

## 考 察

1984~1988年に分離された *H. pleuropneumoniae* 血清型 1, 2, 5 および未型別の総計 204 菌株の薬剤感受性について検討を加えたところ、2型菌株は他の血清型に比べ、耐性菌の出現頻度が低い傾向が認められた。すなわち2型菌株では供試した144株中3株のみに耐性菌が認められたのに対し、1型(台湾由来)では3株中3株、5型では42株中28株、型別不能株では16株中12株を何らかの薬剤に耐性を示した。また耐性パターンは、5型菌株が OTC のみに耐性を示したのに対し、他の血清型では OTC 耐性に加えて、ペニシリン系薬剤あるいはチアンフェニコール等にも耐性を示す傾向が認められた。

なお1~5型の参照株 (Shope 4074, S 1536, S1421, M62 および K 17) は、供試した薬剤すべてに感受性であった。また台湾由来の2型菌2株および5型菌3株はいずれも供試した薬剤にすべて感受性であり、その MIC 値は国内の感受性であり、その値は国内の感受性株のそれとほぼ同様であった。

先に筆者ら<sup>1)</sup>は、1974年~1982年に分離された109株の *H. pleuropneumoniae* 菌株の薬剤感受性について報告した。その際供試した2型菌株106株には耐性菌は認められなかったが、3型菌1株中1株はペニシリン系およびテトラサイクリン系薬剤に耐性であったことを記載している。1982年、Nicolet & Schifferi<sup>5)</sup>は、スイスにおける2型分離株98菌株につき薬剤感受性を調べ、耐

性株はなかったと報告している。一方、Libal & Gates<sup>2)</sup>は、米国の分離株には、耐性株が多数存在することを報告している。彼らの報告には、血清型の記載はないが、当時の米国には型は存在しないことが Schults & Ross<sup>6)</sup>により報告されていることから、これらの耐性株は、2型以外と考えざるを得ない。

このように、本論文における成績ならびにスイスおよび米国における報告から、本菌の薬剤感受性と血清型との間には何らかの関係があるものと推定される。今後はその本態を解明することが必要であろう。

## 要 約

1984~1988年にわが国の豚から分離された196株および台湾で分離された8株、計204株の *H. pleuropneumoniae* 菌株の薬剤感受性について検討を加えた。その結果、2型菌株では供試した144株中3株のみに耐性菌が認められたのに対し、1型では3株中3株、5型では42株中28株、型別不能株では16株中12株を何らかの薬剤に耐性を示し、2型菌株は他の血清型に比べ耐性菌の出現頻度が低い傾向が認められた。また耐性パターンは、5型菌株がオキシテトラサイクリンのみに耐性を示したのに対し、他の血清型ではオキシテトラサイクリン耐性に加えて、ペニシリン系薬剤あるいはチアンフェニコール等にも耐性を示す傾向が認められた。

## 文 献

- 1) Inoue, A., Yamamoto, K., Hirano, N., and Murakami, T. 1983. Drug susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs, Jpn. J. Vet. Sci., 46, 175-180.
- 2) Libal, M. C. and Gates, C. E. 1982. Antimicrobial susceptibility patterns of *Haemophilus pleuropneumoniae* isolates from pigs with pneumonia, J. Am. Vet. Med. Assoc. 180, 399.
- 3) Mittal, K. R., Higgins, R. and Lariviere, S. 1983. Identification and serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* by coagglutination test, J. Clin. Microbiol., 18, 1351-1354.

- 4) Nakai, T. and Kume, K. 1987. Serological survey of *Haemophilus pleuropneumoniae* serovar 5. Jpn. J. Vet. Sci., 49, 1141-1144.
- 5) Nicolet, J. and Schifferli, D. 1982. In vitro susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* to antimicrobial substances. Proc. 7th Int. Congr. Pig Vet. Soc., Mexico, 71.
- 6) Schultz, R. A. and Ross, R. F. 1982. Results of serotyping 50 different isolates of *Haemophilus pleuropneumoniae* from swine herds in Iowa and surrounding states. Proc. 7th Int. Congr. Pig Vet. Soc., Mexico, 80.
- 7) 山本和枝ほか. 1987. *Haemophilus pleuropneumoniae* 6型によるカナダ産輸入豚の死亡例, 第103回日本獣医学会講演要旨集, 118.
- 8) 山本孝史, 伊藤正博, 白坂昭治, 興水 馨. 1985. *Haemophilus pleuropneumoniae* serovar 5 による豚の胸膜肺炎の一発生例について, 第100回日本獣医学会演題抄録集, 189.

Serotyping and Antibiotic Susceptibility Testing of 204 Strains of  
*Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* Isolated  
from Pigs During 1984 to 1988

Koshi YAMAMOTO

A total of 204 strains of *Haemophilus pleuropneumoniae* isolated from pigs in Japan and Taiwan, 196 and 8 strains respectively, during the period of 1984 to 1988 were subjected to serotyping and susceptibility testing. Of 144 serovar 2 strains only three were resistant to oxytetracycline (OTC) and thiamphenicol (TP). On the other hand, three of three strains of serovar 1, 28 of 42 of serovar 5 and 12 of 16 strains of unidentified serovar were resistant to one to four antibiotics examined. Though the 28 strains of serovar 5 were resistant to OTC only, strains belonging to other serovars were resistant to TP and/or penicillins (benzylpenicillin and aminobenzylpenicillin) as well.