

家畜病性鑑定由来株の薬剤耐性動向調査 — 過去 10 年間の群馬県分離株について —

野末紫央・松浦俊幸

群馬県家畜衛生研究所（〒 371-0103 群馬県勢多郡富士見村小暮 2425-3）

1. 緒 言

国際的な議論の中で食用動物において生じた薬剤耐性菌がヒトの医療に影響を与える可能性が指摘され、家畜衛生分野においても動物用抗菌剤の慎重使用を徹底することが益々重要となってきた。全国レベルでは 1999 年以降、JVARM（家畜衛生分野での薬剤耐性モニタリングシステム）が構築され、健康家畜由来および病性鑑定由来株について、一律的な薬剤感受性調査が行われているが、本県では、実際の抗菌剤の適正な使用の一助として活用するために必要となる畜産・臨床現場における耐性菌動向の推移と現状を把握できる調査成績はない。そこで今回、過去 10 年間に収集した病性鑑定由来株の中から 3 菌種を対象に、薬剤感受性試験を実施したのでその概要を報告する。

2. 材料および方法

供試菌株は 1995 年から現在までの約 10 年間に分離された病性鑑定由来株のうち、サルモネラ、大腸菌および *Actinobacillus pleuropneumoniae* の 3 菌種を、各症例から各菌種 1 株を抽出し、それぞれ 64 株、53 株および 49 株を用いて薬剤感受性試験を実施した（表 1）。サルモネラは牛、豚、鶏由来の 3 血清型、大腸菌は豚由来株のうち、株数が多く認められた O 群 3 血清型、*A. pleuropneumoniae* は豚由来の 3 血清型を選択した。薬剤感受性試験には、アンピシリン（ABPC）、セファゾリン（CEZ）、ストレプトマイシン（SM）、カナマイシン（KM）、オキシテトラサイクリン（OTC）、ナリジクス酸（NA）およびエンロフロキサシン（ERFX）の 7 薬剤を供試し、NCCLS 法に準拠した寒天平板希釈法 [1] により、サルモネラおよび大腸菌は

表 1 供試菌株

菌 種	血清型	由来家畜と株数			計
		牛	豚	鶏	
サルモネラ	Typhimurium	23	6		64
	Enteritidis	3		17	
	Dublin	15			
大腸菌	O139		18		53
	O141		3		
	O149		32		
<i>A. pleuropneumoniae</i>	1		4		49
	2		44		
	7		1		

ミューラーヒントン寒天培地を用いて好気, *A. pleuropneumoniae* はチョコレート寒天培地を用いて5%炭酸ガス下で35℃, 20時間培養後, 最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。成績は, MIC 分布が二峰性を示した薬剤に対して微生物学的ブレイクポイント (耐性限界値) を設定し, その値について動物用医薬品検査所 (動薬検) を中心に, 全国レベルで行われている健康家畜由来株および野外流行株での調査成績 [2, 3, 4, 5, 6, 7] と比較した。また, 各菌種の耐性率は今回設定したブレイクポイントを用いて求めた。

3. 成績

1) サルモネラ

サルモネラ全体の成績を表2に示した。供試7薬剤にブレイクポイントを設定したが, CEZおよびERFXのMIC値は全体的に低く, 特にCEZにおいては, 1株がMIC値16 μ g/mLを示し, その他の63株はすべて4 μ g/mL以下であったため, その1株を耐性株とした。全国調査の成績では, CEZおよびERFXについてはブレイクポイントが設定されていないが, その他の薬剤については, 本県分離株のブレイクポイントとほぼ同じ値であった。血清型ごとの成績は以下のとおりであった (表3)。

(1) *S. Typhimurium*

供試29株は, ABPC, KMおよびOTCに対してそれぞれ72.4%, 48.2%, 72.4%と高い耐性率を示した。NAのMIC値は4~16 μ g/mLと低い値であった。豚由来株は29株中6株と少なかったが, そのうち2000~2004年に分離された3株はすべ

てABPC, SMおよびOTCに対するMIC値が512 μ g/mL前後であり, それ以前の年度分離株に比べて高い値を示した。

(2) *S. Enteritidis*

他の血清型と比較して供試薬剤のMIC値は, 全て低い値であった。しかし, SMとOTCに対しては10.0%の株が耐性を示した。また, 鶏由来株ではSMとOTCに対し, それぞれMIC値256 μ g/mL, 512 μ g/mL以上の高度耐性を示した株が2株認められた。

(3) *S. Dublin*

KM, NAおよびERFXのMIC値が高く, 耐性率は100%であった。NAのMIC値は, 全株が512 μ g/mL以上を示し, ERFXについてもMIC値が0.5~2 μ g/mLで, 他の血清型と比較して高い傾向であった。

2) 大腸菌

CEZ以外の6薬剤に耐性株が存在し, 特にABPC, SM, KMおよびOTCに対し, それぞれ60.4, 41.5, 41.5, 90.6%と高い耐性率を示した (表4)。O群血清型の違いによるMIC値および耐性率の差は認められず, 年度別に比較すると1995~1999年分離株のKM, NAに対する耐性率は, それぞれ34.9%, 11.6%であったが, 2000~2004年分離株はいずれの薬剤に対しても77.8%の高い耐性率を示した。

3) *A. pleuropneumoniae*

供試株の血清型は2型が最も多く, 9割を占めた。MIC値は全体的に低い値を示したが, ABPC, SM, KM, OTC, NAについてブレイクポイント

表2 サルモネラ (3血清型) の薬剤感受性成績

薬剤	MIC 分布 (μ g/mL)	MIC ₅₀ (μ g/mL)	MIC ₉₀ (μ g/mL)	ブレイクポイント (μ g/mL)		耐性 株数	耐性率 (%)
				全国調査	群馬		
ABPC	1->512	2	>512	32	32	24	37.5
CEZ	2-16	2	4	—	8	1	1.6
SM	2->512	32	256	32	128	7	10.9
KM	2->512	2	64	32	16	29	45.3
OTC	1->512	2	512	16	16	27	42.1
NA	4->512	4	512	64	64	15	23.4
ERFX	<0.125-2	<0.125	0.5	—	0.125	15	23.4

表3 サルモネラの血清型別薬剤感受性成績

血清型	薬剤	MIC 分布 (μ g/mL)	MIC ₅₀ (μ g/mL)	MIC ₉₀ (μ g/mL)	ブレイクポイント (μ g/mL)		耐性 株数	耐性率 (%)
					全国調査	群馬		
S. Typhimurium	ABPC	1->512	>512	>512	32	32	21	72.4
	CEZ	2-16	4	4	8	8	1	3.4
	SM	4->512	64	256	128	128	5	17.2
	KM	2->512	2	>512	16	16	14	48.2
	OTC	2->512	128	128	16	16	21	72.4
	NA	4-16	4	4	64	64	0	0
	ERFX	<0.125	<0.125	<0.125	0.125	0.125	0	0
S. Enteritidis	ABPC	1-2	1	1	32	32	0	0
	CEZ	2	2	2	8	8	0	—
	SM	2-256	32	64	128	128	2	10.0
	KM	2	2	2	16	16	0	0
	OTC	1->512	2	2	16	16	2	10.0
	NA	4-8	8	8	64	64	0	0
	ERFX	<0.125	<0.125	<0.125	0.125	0.125	0	—
S. Dublin	ABPC	1->512	2	>512	32	32	3	20.0
	CEZ	2-4	2	4	8	8	0	—
	SM	16-32	16	32	128	128	0	0
	KM	64->512	64	64	16	16	15	100
	OTC	1->512	1	>512	16	16	4	26.7
	NA	512->512	512	>512	64	64	15	100
	ERFX	0.5-2	0.5	2	0.125	0.125	15	100

表4 大腸菌の薬剤感受性成績

薬剤	MIC 分布 (μ g/mL)	MIC ₅₀ (μ g/mL)	MIC ₉₀ (μ g/mL)	ブレイクポイント (μ g/mL)		耐性 株数	耐性率 (%)
				全国調査	群馬		
ABPC	1->512	>512	>512	16	32	32	60.4
CEZ	2-32	4	8	32	—	0	0
SM	2->512	64	>512	32	256	22	41.5
KM	1->512	2	>512	32	32	22	41.5
OTC	2->512	256	512	16	16	48	90.6
NA	2->512	4	512	32	64	12	22.6
ERFX	<0.125-2	<0.125	0.5	4	0.125	13	24.5

を設定した(表5)。低い割合ではあったが、耐性株が存在し、NAに対する感受性では、MIC値32 μ g/mL以上を示す株が2株存在し、それら以外は2 μ g/mL以下であった。全国調査の成績ではSM, KMおよびOTCにブレイクポイントが設定されており、本県分離株の値とほぼ同じであった。血清型別の成績を表6に示した。1型ではSM, KMおよびOTCのMIC値は、それぞれ16~256 μ g/mL, 4~512 μ g/mL, 16~32 μ g/mLであり、NAのMIC値が32 μ g/mLまたは128 μ g/mL

を示す株も1株ずつあり、全体的に耐性化傾向が認められた。7型の分離株は1株ではあったが、SM, OTCに対して512 μ g/mL, 32 μ g/mL以上と高い値を示した。一方、2型の44株に耐性株の出現は認められなかった。

4. 考 察

動薬検を中心に全国で行われている薬剤耐性菌のモニタリング調査で、健康家畜由来のサルモネ

表5 *A. pleuropneumoniae* の薬剤感受性成績

薬剤	MIC 分布 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	ブレイクポイント ($\mu\text{g/mL}$)		耐性 株数	耐性率 (%)
				全国調査	群馬		
ABPC	<0.125-8	<0.125	0.25	—	1.0	3	6.1
CEZ	0.5-2	1	1	—	—	0	0
SM	16->512	16	64	32	64	4	8.2
KM	4->512	8	16	32	64	3	6.1
OTC	2-64	2	16	4	8	5	10.2
NA	1-128	2	2	—	8	2	4.1
ERFX	<0.125	<0.125	<0.125	—	<0.125	0	0

表6 *A. pleuropneumoniae* の血清型別薬剤感受性成績

薬剤	血清型1型		血清型2型		血清型7型	
	MIC 分布 ($\mu\text{g/mL}$)	耐性率 (%)	MIC 分布 ($\mu\text{g/mL}$)	耐性率 (%)	MIC 分布 ($\mu\text{g/mL}$)	耐性率 (%)
ABPC	<0.125	0	<0.125-1	0	8	100
CEZ	0.5-1	0	1-2	0	2	0
SM	16-256	50.0	16-32	0	>512	100
KM	4-512	75.0	8-16	0	8	0
OTC	16-32	100	2	0	32	100
NA	2-128	50.0	1-4	0	2	0
ERFX	<0.125	0	<0.125	0	<0.125	0

ラはジヒドロストレプトマイシン (DSM) と OTC に、また、大腸菌は OTC, DSM および ABPC に対して耐性率が高いという成績が示されている [8, 9]。本県分離株では耐性率に差があるものの、全ての菌種において SM, KM および OTC に対する耐性株が存在した。また、本県分離株で今回設定されたブレイクポイントは、全国調査による健康家畜由来株および病性鑑定由来株の成績と大きな差は認められず、薬剤感受性動向には同様の傾向が窺われた。供試3菌種では、キノロン系の NA および ERFX に対してはサルモネラと大腸菌に耐性株が存在し、*A. pleuropneumoniae* においては MIC 値の高い株が散見されたため、臨床上重要なキノロン系薬剤の使用に対しては、注意喚起する必要があると思われた。サルモネラや *A. pleuropneumoniae* については、血清型の違いにより、薬剤に対する感受性が異なることが既に報告されており [10, 11, 12]、今回の成績にも同様の傾向が見られた。血清型ごとに特徴をもつ菌種については、血清型の優位性を意識した抗菌剤選択が適正使用につながると考えられる。

薬剤耐性菌の出現頻度と薬剤使用量との間には一定の条件下で関連性があることが指摘されている [13, 14]。農林水産省が行った調査 [15] によれば、テトラサイクリン系、サルファ剤、マクロライド系、ペニシリン系、アミノグリコシド系は販売量が上位になっており、本県における耐性菌出現傾向もそれを反映しているものと推察された。また、分離年度を前後5年毎に区分して耐性率を比較したところ、大腸菌においては KM および NA、サルモネラにおいては、特に豚由来の *S. Typhimurium* における ABPC, SM および OTC など一部の薬剤に対する耐性率に年次変化認められたが、それら以外の薬剤では大きな違いはみられなかった。セフェム系やキノロン系薬剤のように牛と豚において経口薬として使用される頻度の少ない薬剤は、全体の薬剤使用量に占める割合も低く、耐性率に大きな年次変動を与えなかったものと考えられる。現在、県内における動物用抗菌剤の使用実績や流通量を知る十分なシステムがなく、薬剤の使用状況と耐性菌の出現動向との関係を農場段階も含めて継続的にモニターしていくこ

とは難しい。今後、家畜に対する抗菌剤の効果的な使用だけでなく、人が畜産物の摂取から受ける影響についても意識した適正な薬剤の使用が求められていく中で、動物用抗菌剤の使用実態が各県レベルで把握できるようなシステムを構築することも課題の一つと考える。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、ご助言、ご校閲いただいた農林水産省動物医薬品検査所高橋敏雄室長に深謝します。

要 約

群馬県での薬剤耐性菌の現状を把握するため、病性鑑定由来株のうち、サルモネラ 64 株、大腸菌 53 株、*Actinobacillus pleuropneumoniae* 49 株について寒天平板希釈法で最小発育阻止濃度 (MIC 値) を測定した。MIC 値が二峰性の分布を示した薬剤については耐性限界値を設定し、耐性率を求めた。供試薬剤は、ABPC、CEZ、SM、KM、OTC、NA、ERFX の 7 剤とした。サルモネラは供試 7 薬剤すべてに耐性株が存在した。血清型別には *S. Typhimurium* で ABPC、KM、OTC に耐性率が高かった。*S. Enteritidis* は全ての薬剤に対して MIC 値は低かったが、SM、OTC に耐性株が存在した。*S. Dublin* は KM、NA および ERFX に 100% 耐性であった。大腸菌は、CEZ 以外の 6 剤に耐性株が存在し、特に ABPC、SM、KM、OTC の耐性率が高かった。*A. pleuropneumoniae* の MIC 値は全体的に低く、血清型 1 および 7 型に耐性株が存在

した。本県分離株の耐性限界値は、全国の健康家畜由来および野外流行株における調査で設定された値とほぼ同様であった。

引用文献

- 1) 動物用抗菌剤研究会 MIC 測定標準化委員会：動物用抗菌剤研究会報，25，49-60 (2003)
- 2) 動物医薬品検査所：動薬検ニュース，257，3-7 (2003)
- 3) 農林水産省生産局衛生課：家畜衛生週報，2633，4-6 (2000)
- 4) 農林水産省生産局衛生課：家畜衛生週報，2683，1-5 (2001)
- 5) 農林水産省生産局衛生課：家畜衛生週報，2735，2-5 (2002)
- 6) 農林水産省生産局衛生課：家畜衛生週報，2819，2-6 (2004)
- 7) 動物医薬品検査所：動薬検ニュース，258，3-5 (2004)
- 8) 高橋敏雄ら：動物医薬品検査所年報，41，63-67 (2004)
- 9) M. Kijima-Tanaka, K. Ishihara, et al.: J Antimicrob Chemother, 51, 447-451 (2003)
- 10) Suzuki S, et al.: Jpn J Vet Sci, 51 (2), 450-452 (1989)
- 11) Yoshimura H, et al.: Vet Res Commun, 26, 11-19 (2002)
- 12) Yoshimura H, et al.: Vet Rec, 147, 48-50 (2000)
- 13) Emborg H D: DANMAP, 2002 (2002)
- 14) 田村 豊：畜産の研究，56，1，4-8 (2002)
- 15) 田村 豊：日獣会誌，56，685-691 (2003)

Investigation on Antimicrobial Resistance of Bacteria Isolated from Diseased Animals in Gunma Prefecture for the Past 10 years

Shion NOZUE and Toshiyuki MATSUURA

Gunma Livestock Health Laboratory, 2425-3, Kogure, Fujimi, Gunma 371-0103, Japan

A total of 166 strains of *Salmonella* (64), *Escherichia coli* (53) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (49) obtained from diagnostic submission of clinical cases of food-producing animals in Gunma prefecture during 1995-2004 were tested for antimicrobial susceptibility. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of 7 antimicrobials were determined using an dilution method based on the guidelines of the NCCLS. Resistant strains of *Salmonella* were identified in all antimicrobials, and were characterized by serotype. Resistant isolates of *E. coli* were found in 6 antimicrobials and the resistant rates to ABPC, SM, KM and OTC were especially high. In total, MIC levels of *A. pleuropneumoniae* were low and serotype 2 were sensitive to all antimicrobials, but serotypes 1 and 7 were resistant to some antimicrobials. The breakpoints of antimicrobials in isolates were almost the same as those of JVARM report, nationwide investigation.