

平成 28 年度動物用医薬品の事故防止・被害対応業務における 病性鑑定由来細菌の調査概要

1. 変異や変遷の指標となる微生物【抗原性の調査】

平成 28 年度に収集した豚丹毒菌及びアクチノバシラス・プルロニューモニエについての調査成績をまとめたので、その調査概要を報告する。

(1) 豚丹毒菌

豚丹毒菌の血清型別については、菌株の加熱抽出抗原を用いた寒天ゲル内沈降反応により実施した。

12 道県から収集された合計 39 株の血清型別は、1a 型が 27 株 (69.2%) と最も多く、次いで 2 型が 11 株 (28.2%) であり、これまでの国内分離株における状況と同様の傾向が認められた。また、型別不能が 1 株 (2.6%) 認められた。

また、全ての株について SNP-based PCR (Shiraiwa ら、J. Microbiol. Method. 117, 2015) を実施したところ、1a 型 27 株のうち 13 株が陽性であった。

(2) アクチノバシラス・プルロニューモニエ

アクチノバシラス・プルロニューモニエの血清型別については、菌株の加熱抽出抗原を用いた寒天ゲル内沈降反応により実施した。寒天ゲル内沈降反応で型別できなかった株についてはマルチプレックス PCR により型別を行った。

19 道県から収集された合計 50 株の血清型別は、2 型が 35 株 (70.0%) と最も多く、次いで 5 型が 9 株 (18.0%)、1 型が 3 株 (6.0%) であり、これまでの国内分離株における状況と同様の傾向が認められた。その他の血清型としては 6 型が 1 株 (2.0%)、7 型が 1 株 (2.0%) 及び型別不能が 1 株 (2.0%) 認められた。

H28 年度 豚丹毒菌 血清型別まとめ

血清型	1a	2	5	UT	合計
株数	27	11	0	1	39
%	69.2	28.2	0.0	2.6	100.0

H28 年度 *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型別まとめ

血清型	1	2	5	6	7	UT	合計
株数	3	35	9	1	1	1	50
%	6.0	70.0	18.0	2.0	2.0	2.0	100.0

2. 野外微生物環境の指標となる微生物【薬剤耐性菌の調査】

平成28年度に収集した病性鑑定由来の大腸菌、パストツレラ・ムルトシダ、アクチノバシラス・プルロニューモニエ及び豚丹毒菌について、薬剤感受性試験の成績を取りまとめたので、その調査成績の概要を報告する。

薬剤感受性試験には、臨床検査標準協会（Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI）に準拠した微量液体希釈法を用い、収集した各種菌株の動物用抗菌性物質製剤の最小発育阻止濃度（MIC）値を測定した。供試した抗菌性物質製剤の種類及び略称を表1に示した。ブレイクポイント（BP、耐性限界値）として、CLSIのガイドライン及び微生物学的BPの値を採用した。なお、パストツレラ・ムルトシダ、アクチノバシラス・プルロニューモニエ及び豚丹毒菌で採用している微生物学的BPについては、当該年度の収集菌株のみで決定した値であるため暫定的BPとし、今後の収集菌株のMIC分布を考慮しJVARMで採用するBPを決定することとする。

（1）大腸菌

32都道府県から提供された225株（牛由来77株、豚由来102株及び鶏由来46株）の薬剤感受性試験には、表2に示した12成分を供した。供試薬剤に対する耐性状況は、テトラサイクリン（TC、74.2%）、ストレプトマイシン（SM、62.2%）及びアンピシリン（ABPC、55.6%）では50%以上の耐性率が認められたのに対し、シプロフロキサシン（CPFX、16.9%）、ゲンタマイシン（GM、15.6%）及びセフトキシム（CTX、5.3%）では5.3～16.9%の耐性率が維持されていた。

セファゾリン（CEZ）のBPについては、今年度からCLSIの改訂値に合わせて8 µg/mLとし、改訂前のCLSIのBPを採用した場合の耐性率を参考として示した。

（2）パストツレラ・ムルトシダ

27都道府県から提供された147株（牛由来116株、豚由来26株及び鶏由来5株）のうち、無症状の動物由来株を除く133株（牛由来102株、豚由来26株及び鶏由来5株）について、表3に示した12成分に対する薬剤感受性試験を実施した。ABPC及びTCについてはCLSIに規定されたBPを採用し、二峰性のMIC分布が認められたその他の薬剤については、微生物学的BPを設定した。供試薬剤に対する耐性状況は、ナリジクス酸（NA、33.8%）で30%以上の耐性率が認められたが、ABPC（8.3%）、コリスチン（CL、6.8%）及びCEZ（4.5%）では10%未満の耐性率が維持されていた。

（3）アクチノバシラス・プルロニューモニエ

19道県から提供された豚由来50株のうち49株（1株は薬剤感受性試験の培地に生育しなかったため感受性試験が実施できなかった）の薬剤感受性試験には、表4に示した12成分を供した。ABPC及びTCについてはCLSIに規定されたBPを採用し、二峰性のMIC分布が認められたその他の薬剤については、微生物学的BPを設定した。供試薬剤に対する耐性状況は、TC（38.8%）で30%以上の耐性率が認められたが、カナマイシン（KM、8.2%）、CL（8.2%）、ABPC（4.1%）、CEZ（2.0%）では10%未満の耐性率が維持されていた。

（4）豚丹毒菌

12道県から提供された39株の豚丹毒菌の薬剤感受性試験には、表5に示した8成分を供した。エリスロマイシン（EM）についてはCLSIに規定されたBPを採用し、二峰性のMIC分布が認められたその他の薬剤については、微生物学的BPを設定した。BPが設定されたTC（7.7%）、NA（5.1%）、CPFX（5.1%）及びEM（0.0%）の全薬剤で、10%未満の耐性率が維持されていた。またABPCでは全株のMICが $\leq 0.12\mu\text{g/mL}$ であり、感受性が維持されていた。

（5）まとめ

本調査において、平成27年度に調査した病性鑑定由来の牛、豚及び鶏由来の大腸菌に加え、平成28年度より病性鑑定由来のパスツレラ・ムルトシダ、アクチノバシラス・プルロニューモニエ及び豚丹毒菌を調査対象として追加し薬剤感受性を調べた。アクチノバシラス・プルロニューモニエ及び豚丹毒菌については血清型別も実施した。

大腸菌は、供試薬剤のうち、ABPC、SM及びTCでは50%を超える耐性率であったが、CTX、GM及びCPFXでは20%未満の耐性率であった。

パスツレラ・ムルトシダは、NAでは30%を超える耐性率であったが、ABPC、CL及びCEZでは10%未満の耐性率であった。

アクチノバシラス・プルロニューモニエは、TCでは30%を超える耐性率であったが、その他の薬剤ではCPの10.2%以外全て10%未満の耐性率であった。

豚丹毒菌は、供試薬剤のうち耐性率が10%を超えるものはなく、ABPCでは全株のMICが $\leq 0.12\mu\text{g/mL}$ であり、感受性が維持されていた。

動物用抗菌性物質製剤を家畜の重要な資材として使用し続けるためには、産学官連携の元に獣医師、家畜保健衛生所、製造販売業者、店舗販売業者および生産者等の関係者間で動物用抗菌性物質製剤の使用について情報を共有し、「動物用抗菌性物質製剤の慎重使用に関する基本的な考え方について」（平成25年12月24日付け畜水産安全管理課長通知）に基づき、①適切な飼養衛生管理により感染症を予防して動物用抗菌性物質製剤の使用機会を減らすこと、②適切に病性を把握して診断すること、③薬剤感受性の結果等を踏まえて、適切な動物用抗菌性物質製剤を選択して使用することが重要である。さらに抗菌剤の使用量を抑え、動物の健康を守るためには有効なワクチン接種の有用性は非常に高く、そのためには野外の流行菌株の性状を把握することは必須であり、今後も調査を続行していく予定である。

表 1 供試薬剤の種類及び略号

略号	薬剤
ABPC	アンピシリン
CEZ	セファゾリン
CL	コリスチン
CTX	セフォタキシム
CP	クロラムフェニコール
CPFX	シプロフロキサシン
EM	エリスロマイシン
GM	ゲンタマイシン
KM	カナマイシン
NA	ナリジクス酸
SM	ストレプトマイシン
TC	テトラサイクリン
TMP	トリメトプリム

表2 平成28年度に病性鑑定材料から分離された大腸菌における薬剤耐性菌の分布 (%)

薬剤	BP ($\mu\text{g/mL}$)	牛 n=77	豚 n=102	鶏 n=46	総計 n=225
ABPC*	32	37.7	74.5	43.5	55.6
CEZ*	8	15.6	34.3	15.2	24.0
CTX**	4	7.8	2.9	6.5	5.3
SM*	32	49.4	74.5	56.5	62.2
GM*	16	10.4	21.6	10.9	15.6
KM*	64	16.9	46.1	50.0	36.9
TC**	16	54.5	87.3	78.3	74.2
NA**	32	18.2	48.0	56.5	39.6
CPFX**	4	11.7	24.5	8.7	16.9
CL*	4	10.4	56.9	8.7	31.1
CP**	32	19.5	69.6	21.7	42.7
TMP	16	23.4	62.7	23.9	41.3
CEZ 参照***	32	9.1	18.6	10.9	13.8

* 牛、豚又は鶏に対して承認がある薬剤

** 牛、豚又は鶏に対して承認がある薬剤と耐性機序が類似の薬剤

*** CEZ（セファゾリン）のBPは、今年度からCLSIの改訂値に合わせて8 $\mu\text{g/mL}$ とし、改訂前のCLSIのBPを採用した場合の耐性率を参考として示した。

表3 平成28年度に病性鑑定材料から分離されたパステラ・ムルトシダにおける薬剤耐性菌の分布 (%)

薬剤	BP*** ($\mu\text{g/mL}$)	牛 n=102	豚 n=26	鶏 n=5	総計 n=133
ABPC*	2	9.8	3.8	0.0	8.3
CEZ*	8	4.9	3.8	0.0	4.5
CTX**	—	MIC 範囲 : $\leq 0.5 \sim 4$	MIC 範囲 : $\leq 0.5 \sim 1$	MIC 範囲 : ≤ 0.5	MIC 範囲 : $\leq 0.5 \sim 4$
		MIC ₅₀ : ≤ 0.5	MIC ₅₀ : ≤ 0.5	MIC ₅₀ : ≤ 0.5	MIC ₅₀ : ≤ 0.5
		MIC ₉₀ : ≤ 0.5	MIC ₉₀ : ≤ 0.5	MIC ₉₀ : ≤ 0.5	MIC ₉₀ : ≤ 0.5
SM*	64	18.6	3.8	0.0	15.0
GM**	—	MIC 範囲 : $\leq 0.5 \sim 8$	MIC 範囲 : $1 \sim 4$	MIC 範囲 : $2 \sim 4$	MIC 範囲 : $\leq 0.5 \sim 8$
		MIC ₅₀ : 2	MIC ₅₀ : 2	MIC ₅₀ : 2	MIC ₅₀ : 2
		MIC ₉₀ : 4	MIC ₉₀ : 2	MIC ₉₀ : 4	MIC ₉₀ : 4
KM*	64	15.7	0.0	0.0	12.0
TC**	8	17.6	11.5	20.0	16.5
NA**	16	40.2	11.5	20.0	33.8
CPFX**	—	MIC 範囲 : $\leq 0.03 \sim 1$	MIC 範囲 : $\leq 0.03 \sim 1$	MIC 範囲 : $\leq 0.03 \sim 0.25$	MIC 範囲 : $\leq 0.03 \sim 1$
		MIC ₅₀ : ≤ 0.03	MIC ₅₀ : ≤ 0.03	MIC ₅₀ : ≤ 0.03	MIC ₅₀ : ≤ 0.03
		MIC ₉₀ : 1	MIC ₉₀ : 0.06	MIC ₉₀ : 0.25	MIC ₉₀ : 1
CL	16	8.8	0.0	0.0	6.8
CP**	8	13.7	11.5	0.0	12.8
TMP	4	16.7	19.2	0.0	16.5

* 牛又は豚に対して承認がある薬剤、

** 牛又は豚に対して承認がある薬剤と耐性機序が類似の薬剤

*** BPが設定されていない薬剤については、MIC範囲、MIC₅₀及びMIC₉₀を記載 (単位は $\mu\text{g/mL}$)

表4 平成28年度に病性鑑定材料から分離されアクチノバシラス・プルロニューモニエにおける薬剤耐性菌の分布 (%)

薬剤	BP** ($\mu\text{g/mL}$)	豚 n=49
ABPC*	2	4.1
CEZ	8	2.0
CTX*	—	MIC 範囲 : $\leq 0.5 \sim 1$ MIC ₅₀ : ≤ 0.5 MIC ₉₀ : ≤ 0.5
SM	—	MIC 範囲 : $32 \sim > 128$ MIC ₅₀ : 64 MIC ₉₀ : > 128
GM	—	MIC 範囲 : $4 \sim 16$ MIC ₅₀ : 16 MIC ₉₀ : 16
KM	128	8.2
TC*	2	38.8
NA	—	MIC 範囲 : $1 \sim > 128$ MIC ₅₀ : 2 MIC ₉₀ : > 128
CPFX*	—	MIC 範囲 : $\leq 0.03 \sim 0.5$ MIC ₅₀ : 0.06 MIC ₉₀ : 0.5
CL	8	8.2
CP*	16	10.2
TMP	—	MIC 範囲 : $\leq 0.25 \sim 32$ MIC ₅₀ : ≤ 0.25 MIC ₉₀ : 2

* 豚に対して承認がある薬剤と耐性機序が類似の薬剤

** BP が設定されていない薬剤については、MIC 範囲、MIC₅₀ 及び MIC₉₀ を記載 (単位は $\mu\text{g/mL}$)

表 5 平成 28 年度に病性鑑定材料から分離された豚丹毒菌における薬剤耐性菌の分布 (%)

薬剤	BP*** ($\mu\text{g/mL}$)	豚 n=39
ABPC*	—	MIC 範囲 : ≤ 0.12 MIC ₅₀ : ≤ 0.12 MIC ₉₀ : ≤ 0.12
SM	—	MIC 範囲 : $2 \sim > 128$ MIC ₅₀ : 128 MIC ₉₀ : 128
GM	—	MIC 範囲 : $16 \sim > 256$ MIC ₅₀ : 256 MIC ₉₀ : > 256
TC**	8	7.7
NA	64	5.1
CPFX	1	5.1
CP	—	MIC 範囲 : $2 \sim 8$ MIC ₅₀ : 4 MIC ₉₀ : 8
EM*	1	0.0

* 豚に対して承認がある薬剤

** 豚に対して承認がある薬剤と耐性機序が類似の薬剤

*** BP が設定されていない薬剤については、MIC 範囲、MIC₅₀ 及び MIC₉₀ を記載 (単位は $\mu\text{g/mL}$)

表 6 平成 28 年度に病性鑑定材料から分離された *Actinobacillus pleuropneumoniae* の血清型別

血清型	1	2	5	6	7	判定不能	合計
株数	3	35	9	1	1	1	50
%	6.0	70.0	18.0	2.0	2.0	2.0	100.0

表 7 平成 28 年度に病性鑑定材料から分離された豚丹毒菌の血清型別

血清型	1a	2	5	判定不能	合計
株数	27	11	0	1	39
%	69.2	28.2	0.0	2.6	100.0