

平成 16 年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査

農林水産省 動物医薬品検査所
独立行政法人 肥飼料検査所

1. はじめに

平成 16 年度の薬剤耐性菌の発現状況調査(家畜由来細菌の抗菌性物質感受性調査)は、主要な抗菌性物質に対する耐性菌の発現状況等の動向を把握すると共に、家畜に使用する抗菌性物質の人の健康と獣医療に対するリスク分析の基礎資料を得ることを目的としたものである。本調査は、総合食料対策事業実施要領(平成 16 年 4 月 1 日付け 15 消安第 7339 号農林水産省事務次官依命通知)に基づき、①動物用医薬品については家畜衛生対策事業、②飼料添加物については流通飼料対策事業によって実施された。

公衆衛生分野への影響に配慮した薬剤耐性菌発現状況調査は、4 菌種すなわち、食品媒介性病原細菌としてサルモネラとカンピロバクターを、薬剤感受性の指標細菌としては腸球菌と大腸菌を対象に平成 12 年度から本格的に開始された。本調査においては、各都道府県が毎年 1 菌種を調査し、調査対象となる菌種は地域に偏りがないようにローテーションが組み、4 年間で 1 調査クールが終了することになる。したがって、平成 16 年度は 5 年目(第 2 クールの初年度)の事業となる。

今般、平成 16 年度に実施されたこれらの事業による調査について、各都道府県より提出された報告を取りまとめたので、その概要を紹介する。

2. 材料及び方法

(1) 調査検体数

第 1 クールと同様に検体は健康家畜の糞便とし、検体数は都道府県ごとに各菌種とも 4 畜種(肥育牛、肥育豚、採卵鶏及びブロイラー)×6 畜産経営体以上×1 検体=24 検体以上(流通飼料対策事業の調査も実施する県は 8 経営体以上、32 検体以上)を原則と

し、1 検体から都道府県ごとに指定された菌種を 2 株まで分離することとした。

(2) 試験方法

本調査は、対象菌種ごとに統一化、平準化された分離培養法、菌種同定法及び薬剤感受性試験法により実施した。同定は、形態学的及び生化学的性状検査により行った。

分離菌株の供試薬剤に対する感受性の測定は、米国臨床検査標準委員会(NCCLS)の提唱する寒天平板希釈法に準拠した方法により実施し、最小発育阻止濃度(MIC)を求めた。なお、耐性限界値(ブレイクポイント)は、NCCLS が定めたものについてはその値とし、NCCLS で規定されていない薬剤については、平成 13 年度の値(二峰性を示す MIC 分布の中間点)とした。

3. 調査成績

(1) サルモネラ

サルモネラは、供試された 390 検体(肥育牛由来 125 検体、肥育豚由来 104 検体、採卵鶏由来 99 検体及びブロイラー由来 62 検体)中 23 検体(肥育牛由来 0 検体、肥育豚由来 4 検体、採卵鶏由来 7 検体及びブロイラー由来 12 検体、5.9%)から 35 株(肥育牛由来 0 株、肥育豚由来 8 株、採卵鶏由来 10 株及びブロイラー由来 17 株)が分離された。分離菌株の血清型は、10 種類認められ、そのうち *Salmonella* *Infantis* が 14 株(ブロイラー由来 14 株)、*S.* *Typhimurium* が 4 株(肥育豚由来 4 株)であった。

分離された 35 株の薬剤感受性試験成績を表 1(エクセル:128KB)に示した。供試した 16 薬剤のうち 8 薬剤(ABPC, DSM, KM, OTC, BCM, CP, NA 及び TMP)に耐性が認められ、その耐性率は 5.7~60.0%であった。セフェム系薬剤(CEZ 及び CTF)及びフルオロキノロン剤(ERFX)に対しては全て感受性を示した。

(2)カンピロバクター

カンピロバクターは、供試された310検体中120検体(38.7%)から219株(肥育牛由来37株、肥育豚由来75株、採卵鶏由来70株及びブロイラー由来37株)が分離された。菌種の内訳は、*Campylobacter jejuni* 133株及び*C.coli* 86株であった。肥育牛、採卵鶏及びブロイラーからは主に*C. jejuni*が、肥育豚からは*C.coli*が分離された。

分離された219株の薬剤感受性について、表2(エクセル:141KB)にまとめた。供試した10薬剤のうち7薬剤(ABPC,DSM,EM,OTC,CP,NA及びERFX)に対する耐性株が認められ、それらの耐性率は10.5~56.2%であった。菌種別の耐性率は、EMでは*C. jejuni* 0.75%及び*C.coli* 52.3%であった。ERFXでは*C. jejuni* 12.0%及び*C.coli* 25.6%であった。

(3)腸球菌

一般腸球菌(*Enterococcus spp*)は、供試された326検体中281検体(86.2%)から、513株(肥育牛由来132株、肥育豚由来138株、採卵鶏由来140株及びブロイラー由来103株)が分離された。一方、バンコマイシン(VCM)を12 μ g/ml添加した培地による選択分離では、326検体中4検体(牛由来3検体と豚1検体、1.2%)から7株が分離された。

一般腸球菌513株の薬剤感受性試験成績を表3(エクセル:123KB)に示した。供試した15薬剤のうち9薬剤(DSM,GM, KM, OTC, EM, LCM,ERFX, CP及びAVM)に対する耐性株が存在し、その耐性率は5.1~54.6%であった。このうち71株(肥育牛由来11株、肥育豚由来21株、採卵鶏由来19株及びブロイラー由来20株)が*E.faecium*として分離された。一方、VCM添加選択培地で分離された7株のVCMに対するMIC値は16 μ g/ml以下であり、これらは全てVCM耐性遺伝子として*vanC*を保有しVCMに対し自然耐性を示す運動性腸球菌(*E.gallinarum*又は*E.casseliflavus*)であった。

(4)大腸菌

大腸菌は、供試された314検体中271検体(86.3%)から、511株(肥育牛由来124株、肥育豚由来136株、採卵鶏由来120株及びブロイラー由来131株)が分離された。

これらの大腸菌511株の薬剤感受性試験成績を表4(エクセル:119KB)にまとめた。供試した16薬剤のうち13薬剤(ABPC, CEZ, CTF, DSM, GM, KM, OTC, BCM, CP, CL, NA, ERFX 及び TMP)に対する耐性株が存在し、それらの耐性率は0.2~45.4%であった。

4. おわりに

平成11年度の予備調査(全国の都道府県より送付された健康家畜の糞便から動物医薬品検査所で4菌種の分離同定と薬剤感受性試験を実施)及びそれ以降に本格的に開始された全国調査第1クール(平成12~15年度)で集積された各種細菌の薬剤感受性試験成績等は、畜産分野における年次別及び由来動物別の耐性菌動向として取りまとめを行い、「動物医薬品検査所年報(第41号,63-67,2004)」に公表した。平成16年度の調査は第2クール目の初年度となり、現在、全国レベルでの畜産分野における各種細菌の抗菌性物質感受性調査と農場における抗菌性物質の使用状況調査を継続していく中で、調査データの更なる集積・解析を進めている。特に、野外での抗菌性物質の使用状況と分離菌の薬剤感受性の年次変化との関係についての解析を詳細に行っていきたい。同時に、公衆衛生や食品衛生の関係機関、部署等との協力、連携を一層深め、情報交換や調査データの共有化等を推進しながら、畜産業における抗菌性物質の使用が人の医療に及ぼす影響の評価、リスク管理に向けた取り組みを実施していく計画である。

抗菌性物質の使用に当たっては、国際的共通認識である「慎重使用の原則」に従い、①動物用医薬品については、抗菌性物質の選択は添付文書等の有用な基本情報(抗菌スペクトル、薬物動態等)や原因菌の薬剤感受性データに基づき慎重に行うこと、②適応症に対応する用法・用量並びに使用上の注意事項の厳守等をより厳格にすること及び③抗菌性飼料添加物については、定められた使用の方法の基準を遵守することが重要である。

今回取りまとめた調査成績については、畜産現場における抗菌性物質の適正な使用の一助として活用していただきたい。

表1 サルモネラの薬剤感受性試験

薬剤	Range ($\mu\text{g/ml}$)	MIC50 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC90 ($\mu\text{g/ml}$)	ブレイクポイント ($\mu\text{g/ml}$)	耐性菌株数	耐性率 (%)
ABPC	0.5 - >512	1	4	32	3	8.6
CEZ	1 - 2	1	2			
CTF	0.5 - 2	1	2			
DSM	2- >512	64	128	32	21	60.0
GM	0.25 - 1	0.5	1			
KM	0.5 - >512	2	>512	64	9	25.7
APM	0.5 - 4	2	4			
OTC	0.5 - 256	64	256	16	19	54.3
BCM	16 - >512	16	32	64	2	5.7
CP	1 - 128	4	16	32	2	5.7
CL	0.5-4	1	2			
NA	1 - >512	4	8	32	3	8.6
ERFX	≤ 0.125 - 0.25	≤ 0.125	≤ 0.125			
SDMX	512 - >512	>512	>512			
TMP	≤ 0.125 - 512	1	512	16	14	40.0
ODX	8- >128	16	32			

(注) ABPC: アンピシリン、CEZ: セファゾリン、CTF: セフトリオキサム、DSM: ジヒドロストレプトマイシン、GM: ゲンタマイシン、KM: カナマイシン、APM: アプラマイシン、OTC: オキシテトラサイクリン、BCM: ビコザマイシン、CP: クロラムフェニコール、CL: コリスチン、NA: ナリジクス酸、ERFX: エンロフロキサシン、SDMX: スルファジメトキシム、TMP: トリメトプリム、ODX: オラキンドックス

表2 カンピロバクター属菌の薬剤感受性試験

薬剤	Range ($\mu\text{g/ml}$)	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 (%)
ABPC	<0.125-64	4	32	32	23	10.5
DSM	0.25->512	1	>512	32	47	21.5
GM	<0.125-256	0.5	1			
OTC	<0.125->512	16	128	16	123	56.2
CP	0.5-128	2	16	16	27	12.3
EM	<0.125->512	2	512	32	46	21.0
NA	<0.125-512	4	128	32	42	19.2
ERFX	<0.125-8	<0.125	4	2	38	17.4
SDMX	2->512	512	>512			
ODX	<0.125-256	1	4			

(注) EM: エリスロマイシン

表3 一般腸球菌の薬剤感受性試験

薬剤	Range ($\mu\text{g/ml}$)	MIC50 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC90 ($\mu\text{g/ml}$)	ブレイクポイント ($\mu\text{g/ml}$)	耐性菌株数	耐性率 (%)
ABPC	$\leq 0.125-4$	0.5	2	16	0	0
DSM	$1-\geq 512$	64	≥ 512	128	149	29.0
GM	$\leq 0.125-\geq 512$	8	16	32	29	5.7
KM	$4-\geq 512$	64	≥ 512	128	135	26.3
OTC	$\leq 0.125-\geq 512$	16	256	16	280	54.6
CP	$\leq 0.125-128$	8	16	32	32	6.2
BC	$1-\geq 512$	32	≥ 512			
EM	$\leq 0.125-\geq 512$	0.25	≥ 512	8	122	23.8
LCM	$\leq 0.125-\geq 512$	16	≥ 512	128	131	25.5
ERFX	$\leq 0.125-32$	0.5	2	4	26	5.1
AVM	$1-128$	2	8	16	39	7.6
SNM	$0.25-16$	1	4			
VCM	$\leq 0.125-8$	1	2	32	0	0
VGM	$\leq 0.125-32$	2	8			
NHT	$\leq 0.00099-16$	0.0078	0.031			

(注) LCM: リンコマイシン、SNM: サリノマイシン、BC: バシトラシン、VGM: バージニアマイシン、VCM: バンコマイシン、AVM: アビラマイシン、NHT: ノシヘプタイド

表4 平成16年度 大腸菌の薬剤感受性試験

薬剤	Range ($\mu\text{g/ml}$)	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 (%)
ABPC	$0.5-\geq 512$	4	≥ 512	32	125	24.5
CEZ	$1-\geq 512$	1	4	32	21	3.8
CTF	$\leq 0.125-\geq 512$	1	1	8	19	3.7
DSM	$0.25-\geq 512$	2	256	32	160	32.3
GM	$\leq 0.125-128$	1	1	16	11	2.2
KM	$0.25-\geq 512$	2	128	64	58	11.4
APM	$1-32$	4	8			
OTC	$0.25-\geq 512$	2	256	16	232	45.4
BCM	$8-\geq 512$	32	32	128	5	1.0
CP	$2-\geq 512$	8	32	32	60	11.7
CL	$0.25-128$	1	2	16	1	0.2
NA	$1-\geq 512$	4	64	32	61	11.9
ERFX	$\leq 0.125-\geq 32$	≤ 0.125	0.25	2	12	2.3
SDMX	$64-\geq 512$	≥ 512	≥ 512			
TMP	$\leq 0.125-\geq 512$	1	≥ 512	16	90	17.6
ODX	$8-\geq 32$	32	32			