

平成 18 年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査結果

農林水産省動物医薬品検査所 抗生物質製剤検査室
(独) 農林水産消費安全技術センター 肥飼料安全検査部

1. はじめに

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し、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。平成 18 年度の本調査は、食の安全・安心確保交付金実施要領（平成 17 年 4 月 1 日付け 16 消安第 10272 号消費・安全局長通知）に基づき実施された。

公衆衛生分野への影響に配慮した全国的な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まれ、4 年間で 1 調査クールが終了することになる。従って、平成 12～15 年度に第 1 クールが終了し、平成 18 年度は第 2 クールの 3 年目の調査となる。

今般、平成 18 年度に実施されたこれらの調査について、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。

なお、これまでの各年度調査結果は、動物医薬品検査所ホームページ（<http://www.nval.go.jp>）に掲載されている。

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、米国臨床検査標準協会（Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI（旧 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、CLSI が定めたものについてはその値とし、CLSI で規定されていない薬剤については、原則として平成 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 283 検体（肥育牛由来 68 検体、肥育豚由来 74 検体、採卵鶏由来 75 検体及びブロイラー由来 66 検体）中 36 検体（肥育牛由来 0 検体、肥育豚由来 5 検体、採卵鶏由来 5 検体及びブロイラー由来 26 検体、12.7%）から 64 株（肥育牛由来 0 株、肥育豚由来 9 株、採卵鶏由来 8 株及びブロイラー由来 47 株）が分離された。分離菌株の血清型は、7 種類認められ、そのうち *Salmonella* Infantis が 32 株（全てブロイラー由来）で、約半数を占めていた。

分離された 64 株の薬剤感受性試験成績を表 1 に示

表 1 サルモネラの薬剤感受性試験（平成 18 年度）						
薬剤	Range (μg/ml)	MIC50 (μg/ml)	MIC90 (μg/ml)	ブレイクポイント (μg/ml)	耐性菌株数	耐性率 (%)
ABPC	0.5->512	1	512	32*	8	12.5
CEZ	1->512	1	2	32*	2	3.1
CTF	0.5->512	1	1	8	2	3.1
DSM	2->512	64	256	32	53	82.8
GM	<0.125-1	0.5	1			
KM	1->512	2	>512	64*	25	39.1
APM	2-16	4	8			
OTC	1-512	128	256	16	50	78.1
BCM	16->512	16	>512	64	18	28.1
CP	4-16	8	8	32*	0	0.0
CL	0.5-8	1	4			
NA	2-256	4	8	32*	5	7.8
ERFX	≤0.125-0.25	≤0.125	≤0.125			
SDMX	>512	>512	>512			
TMP	≤0.125->512	0.25	512	16*	25	39.1

(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

*: NCCLS に規定されたブレイクポイント

した。供試した 15 薬剤のうち 9 薬剤（ABPC、CEZ、CTF、DSM、KM、OTC、BCM、NA 及び TMP）に耐性が認められ、その耐性率は 3.1～82.8%であった。同一個体から分離された *S. Infantis* (2 株) が、セフェム系薬剤（CEZ 及び CTF）に対して耐性を示した。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 304 検体中 51 検体（16.8%）から 83 株（肥育牛由来 4 株、肥育豚由来 28 株、採卵鶏由来 24 株及びブロイラー由来 27 株）が分離された。菌種の内訳は、*Campylobacter jejuni* 40 株及び *C. coli* 43 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 83 株の薬剤感受性について、表 2 に示した。供試した 9 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 7.2～60.2%であった。菌種別の耐性率は、EM では *C. jejuni* 0%及び *C. coli* 34.9%であった。ERFX では *C. jejuni* 42.5%及び *C. coli* 30.2%であった。*C. jejuni* において ERFX に対する耐性率が昨年に比べて上昇しているが、調査株数が例年より少ないことが影響している可能性が考えられた。

表2 カンピロバクターの薬剤感受性試験(平成18年度)

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	$\leq 0.125-64$	4	16	32	6	7.2
DSM	$0.5 \rightarrow 512$	1	>512	32	30	36.1
GM	$0.25-4$	0.5	4			
OTC	$\leq 0.125 \rightarrow 512$	32	256	16	50	60.2
CP	$0.25-64$	4	32	16	14	16.9
EM	$0.25 \rightarrow 512$	2	>512	32	15	18.1
NA	$2-256$	8	256	32	29	34.9
ERFX	$\leq 0.125-8$	≤ 0.125	4	2	30	36.1
SDMX	$16 \rightarrow 512$	128	>512			

(注)EM:エリスロマイシン

(3) 腸球菌

腸球菌は、一般腸球菌 (*Enterococcus spp.*) の選択培地による分離では、供試された 272 検体中 235 検体（86.4%）から 421 株（肥育牛由来 108 株、肥育豚由来 103 株、採卵鶏由来 119 株及びブロイラー由来 91 株）が分離された。一方、バンコマイシン (VCM) 添加培地を用いた選択分離においては、336 検体中 1 検体（0.3%）から 2 株が分離された。

分離された一般腸球菌 421 株の薬剤感受性試験成績を表 3 に示した。調査薬剤のうち 10 薬剤（DSM、GM、KM、OTC、EM、LCM、ERFX、CP、AVM 及び VCM）に対して耐性株が存在し、その耐性率は一般腸球菌で 1.4～54.6%であった。このうち 89 株（肥育牛由来 23 株、肥育豚由来 21 株、採卵鶏由来 19 株及びプロ

イラー由来 26 株）が *E. faecium* として分離されたが、VGM に対する低感受性株は存在しなかった。また、一般腸球菌の選択培地で分離された菌のうち、採卵鶏から分離された 4 株が VCM に対する MIC 値が $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ であり耐性を示した。この 4 株について、菌種及び VCM 耐性遺伝子を確認したところ、2 株が *E. faecalis* で他の 2 株が *E. gallinarum* であり、いずれも高度耐性を示す遺伝子 (*vanA* 及び *vanB*) を保有しておらず、自然耐性菌であった。

一方、VCM 添加選択培地でブロイラーから分離された 2 株が、VCM に対する MIC 値は $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ であり耐性を示した。これらの VCM 耐性遺伝子及び菌種同定を実施した結果、いずれも VCM 耐性遺伝子 (*vanA*) を保有する *E. durans* であり、VCM 高度耐性の VRE であった。

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	$\leq 0.125-8$	0.5	2	16*	0	0
DSM	$4 \rightarrow 512$	32	≥ 512	128	84	19.9
GM	$1-64$	8	32	32	47	11.1
KM	$1 \rightarrow 512$	32	≥ 512	128	102	24.1
OTC	$\leq 0.125 \rightarrow 512$	16	256	16*	231	54.6
CP	$1-128$	8	16	32*	26	6.1
BC	$1 \rightarrow 512$	64	≥ 512			
EM	$\leq 0.125 \rightarrow 512$	0.5	≥ 512	8*	75	17.7
LCM	$\leq 0.125 \rightarrow 512$	16	≥ 512	128	88	20.8
ERFX	$\leq 0.125-32$	1	2	4	21	5.0
AVM	$0.5 \rightarrow 128$	2	8	16	37	8.7
SNM	$\leq 0.125-32$	1	2			
VCM	$0.25 \rightarrow 32$	1	4	32*	4	1.4
VGM	$\leq 0.125-64$	(1)	(8)			
	(0.25-64)					
NHT	$\leq 0.00099 \rightarrow 32$	0.0156	0.0195			

(注) LCM: リンコマイシン、SNM: サリナマイシン、BC: バシトラシン、VGM: パージニアマイシン、VCM: バンコマイシン、AVM: アピラマイシン、NHT: ノンヘプタイド

VGM欄の()内の数値は、*E. faecium* のみを抽出して集計した場合の数値

*: NCCLSに規定されたブレイクポイント

(4) 大腸菌

大腸菌は、供試された 291 検体中 273 検体（93.8%）から、500 株（肥育牛由来 149 株、肥育豚由来 126 株、採卵鶏由来 120 株及びブロイラー由来 105 株）が分離された。

これらの大腸菌 500 株の薬剤感受性試験成績を表 4 に示した。供試した 15 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 0.2～46.6%であった。

表4 大腸菌の薬剤感受性試験(平成18年度)

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	$0.5 \rightarrow 512$	4	>512	32*	117	23.4
CEZ	$0.25 \rightarrow 512$	2	4	32*	16	3.2
CTF	$\leq 0.125 \rightarrow 512$	0.5	1	8	14	2.8
DSM	$1 \rightarrow 512$	4	512	32	158	31.6
GM	$0.5-128$	1	2	16*	10	2.0
KM	$1 \rightarrow 512$	4	>512	64*	68	13.6
APM	$2-64$	8	16			
OTC	$0.5 \rightarrow 512$	4	512	16	233	46.6
BCM	$8 \rightarrow 512$	32	64	128	9	1.8
CP	$1 \rightarrow 512$	8	16	32*	33	6.6
CL	$0.25 \rightarrow 128$	1	2	16	1	0.2
NA	$1 \rightarrow 512$	4	64	32*	60	12.0
ERFX	$\leq 0.125 \rightarrow 64$	≤ 0.125	0.25	2	14	2.8
SDMX	$64 \rightarrow 512$	>512	>512			
TMP	$\leq 0.125 \rightarrow 512$	0.5	>512	16*	77	15.4

*: NCCLSに規定されたブレイクポイント

4. おわりに

平成 11 年度の予備調査及びそれ以降に全国の都道府県の協力により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。現在、畜産での抗菌性物質の使用状況と分離菌の薬剤感受性の動向について情報を蓄積しながら、詳細な解析を行っている。

本稿では、平成 18 年度に実施した家畜由来細菌の抗菌性物質感受性試験成績の概要を紹介した。表 5 には調査 4 菌種における主要薬剤、すなわち、β-ラクタム系、アミノグリコシド系、マクロライド系、テトラサイクリン系及びキノロン系薬剤に対するそれぞれの耐性率を比較した成績をまとめた。特に、フルオロキノロン剤に対する耐性株については、こ

表5 動物別耐性率の比較

		耐性率(%)			
		サルモネラ	カンピロバクター	腸球菌	大腸菌
ABPC	牛	-	0	0	8
	豚	22	0	0	25
	肉用鶏	9	19	0	44
	産卵鶏	25	4	0	23
DSM	牛	-	50	4	16
	豚	78	86	33	46
	肉用鶏	92	7	31	41
	産卵鶏	38	8	15	28
EM	牛	NT	0	NT	NT
	豚	NT	54	NT	NT
	肉用鶏	NT	0	NT	NT
	産卵鶏	NT	0	NT	NT
OTC	牛	-	50	28	28
	豚	67	86	66	60
	肉用鶏	89	74	68	58
	産卵鶏	25	17	58	45
NA	牛	-	0	NT	2
	豚	0	39	NT	5
	肉用鶏	11	63	NT	31
	産卵鶏	0	4	NT	16
ERFX	牛	-	0	1	0
	豚	0	36	2	1
	肉用鶏	0	67	13	9
	産卵鶏	0	8	5	3

-:分離株なし
NT:実施せず

れまでの成績と同様、肥育豚由来株とブロイラー由来株を中心にカンピロバクターと腸球菌、大腸菌分離株の一部で依然として認められており、今後とも耐性動向を注視しなければならない。

また、畜産分野で使用されている抗菌性物質は、内閣府食品安全委員会により作成された「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針」（平成 16 年 9 月）に基づき、リスク評価が行われている。今後、リスク評価の答申をふまえて、現状のリスク管理の見直しを含めた検討が行われていくこととなる。その中で、国内を網羅した本調査成績は、リスク評価に資する極めて重要なものとなっている。

抗菌性物質は、家畜の感染症の治療（動物用抗菌剤）や成長促進（抗菌性飼料添加物）を目的に使用されているが、承認又は指定・流通・使用の各段階での様々な規制は、薬剤耐性菌の出現の抑制につながっている。抗菌性物質を使用する場合、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適正に選択すること、適応症に対応する用法・用量及び使用上の注意事項等を厳守すること、並びに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。