

耐性菌モニタリング調査結果  
(平成11年～14年)

( 別紙 )

## 平成11年度 家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査

平成11年度から動物医薬品検査所で開始した薬剤耐性菌対策事業(家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査)の調査成績の概要を報告する。

### 1. 材料及び方法

検査材料としては、全国47都道府県の家畜保健衛生所から送付された健康家畜の糞便515検体(肥育牛178、肥育豚179及びブロイラー158検体)を用いた。各県での採取検体は各動物種について、それぞれ4検体、原則として1農家1検体とした。糞便からのサルモネラ、カンピロバクター、腸球菌及び大腸菌の分離・同定は、生化学的性状検査等の常法に従って行った。分離菌株については、15~18種類の抗菌剤に対する感受性(薬剤の最小発育阻止濃度:MIC値)を、日本化学療法学会標準法に準拠した寒天平板希釈法により測定した。

### 2. 調査成績

#### (1) サルモネラ

サルモネラが分離された検体は全体の約12%であったが、公衆衛生上、重要となる*S. Enteritidis*などは全く検出されず、その多くがO7群に型別された。

分離された124菌株における薬剤感受性試験成績を表1に示した。CTF、ABPC、BZM、DSM、KM、OTC、CP、TMP、NA及びOAのMIC値には二峰性分布が認められ、それらの耐性率は3.2~80.6%であった。一方、ニューキノロン系抗菌剤であるERFXとOFLXに対しては、ごく一部の低感受性株を除き、MIC値0.05~0.1 $\mu$ g/mlに単一のピークをもつ極めて高い感受性を示した。

#### (2) カンピロバクター

カンピロバクターが分離された検体は全体の約21%であった。Ca

mpylobacter jejuni 115株、C.coli 49株及びC. spp 6株の合計170株について実施した薬剤感受性試験成績を表2に示した。MIC分布は、殆どの薬剤において極めて広範にわたり、ERFX、OFLX、NA、OA、EM、SP、TS、SPC及びDSMに対して、耐性株の出現（耐性率7.1～20.6%）がみられた。ERFXとOFLXにおいては、それぞれMIC値1.56 µg/ml又は3.13 µg/ml以上の耐性株が全体の16.5%に認められた。これらの耐性株は、いずれもNA又はOAに交差耐性を示したが、GMには高い感受性を示した。

### （3）腸球菌

Enterococcus faecium、E.faecalisあるいはE.duransが均等な割合で殆ど全ての検体から分離されたが、バンコマイシン耐性腸球菌、いわゆるVRE（VanA、VanBを耐性遺伝子として有するもの）は全く検出されなかった。腸球菌1,027株について実施した薬剤感受性試験成績を表3に示した。EM、TS、ABPC、OTC、BC及びLCMのMIC値には二峰性分布が認められ、それらの耐性率は0.2～66.0%であった。テトラサイクリン系とマクロライド系抗菌剤に対しては、全ての菌種で耐性株の出現がみられた。全体に、CTF、DSM及びKMに対しては耐性、GM及びCPに対しては中程度の感受性、ERFX、OFLX、ABPC、VGM及びVCMに対しては高い感受性であった。

### （4）大腸菌

一般大腸菌は、殆ど全ての検体から分離された。ペロ毒素産生性大腸菌（VTEC）は、牛39検体（21.9%）と豚25検体（14.0%）から分離された。一般大腸菌1,018株及びVTEC72株について、各種抗菌剤に対する感受性を調べた。一般大腸菌では、耐性率はOTC（53.0%）、DSM（37.4%）、ABPC（22.9%）、KM（17.6%）、CP（14.0%）の順に高く、さらに、ERFXとOFLXに対しては、それぞれ3.0%、3.2%に耐性株の出現が認められた（表4）。一方、VTECではOTC（36.1%）、DSM（27.8%）、CP（16.7%）、ABPC（9.7%）の順に耐性率が高かったが、ERFXとOFLXに対しては、全く耐性株の出現が認められず、全株ともMIC値0.1 µg/ml前後の極めて高い感受性を示

した。

### 3 . おわりに

今後、本抗菌剤感受性調査を継続し、試験成績を集積・解析すると共に、家畜由来耐性株とヒト由来耐性株との関連性について遺伝学的に解析していくことや動物由来耐性株のヒト医療に及ぼす影響に関するリスク分析を実施することが必要と考えられる。また、抗菌剤の使用の現場においては、慎重使用の観点から抗菌剤の選択は、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試験データに基づき、より慎重に行うと共に、

その使用に当たっては、適応症に対応する用法・用量並びに使用上の注意事項等の遵守をより厳格にすることが、益々重要なこととなっている。

表1 サルモネラの薬剤感受性試験

抗菌剤	MIC (μg/ml)													MIC ブレイクポイント	耐性菌株数 (%)	
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	> 100			
ABPC				2	37	67	6	1		1			10	12.5	11	(8.9)
CEZ						108	6	1	1		2	2	4	25	8	(6.5)
CXM						1	32	77	10				4	50	4	(3.2)
CTF				5	91	24			2	1			1	6.25	4	(3.2)
DSM								2	16	7	4	8	87	100	95	(76.6)
KM				3	11	50	10						50	25	50	(40.3)
GM		2	18	91	10	2	1									
OTC							16	8				11	89	25	100	(80.6)
APM				3	12	83	22	3	1							
BZM									46	67	3		8	100	8	(6.5)
CL				4	91	24	5									
CP					3	36	42	39					4	50	4	(3.2)
NA							69	49					6	50	6	(4.8)
OA			14	95	8	1		6						1.56	7	(5.6)
ERFX	63	54		7												
OFLX	1	80	36	4	3											
SDM												5	119			
TMP		1	50	29	1		1	42						1.56	43	(34.7)

(注) ABPC :アンピシリン、CEZ :セファゾリン、CXM :セフロキシム、CTF :セフチオフル、DSM :ジヒドロストレプトマイシン、KM :カナマイシン  
 GM :ガンタマイシン、OTC :オキシテトラサイクリン、APM :アブラマイシン、BZM :ピコザマイシン、CL :コリスチン、CP :クロラムフェニコール  
 NA :ナリジクス酸、OA :オキソリン酸、ERFX :エンロフロキサシン、OFLX :オフロキサシン、SDM :スルファジメトキシム、TMP :トリメトプリム

表2 カンピロバクター属菌の薬剤感受性試験

抗菌剤	MIC( $\mu$ g/ml)													MIC ブレイクポイント	耐性菌株数 (%)
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100		
CTF									1	7	4	101	57		
DSM		1	14	24	62	27	4	4			2	2	30	25	34(20.0)
GM			22	63	55	29	1								
SPC					10	7	24	86	26	5			12	50	12(7.1)
EM			2	5	52	67	10	5				1	28	25	29(17.1)
SP				5	18	75	28	10	4		2	1	27	25	30(18.0)
TS		1		1		1	14	77	38	8	1		29	100	29(17.1)
OTC						2	7	9	30	22	17	51	32		
CP						18	81	43	9	8	7	2	2		
NA						2	66	41	23	6	2	12	18	50	32(18.8)
OA			14	48	43	12	15	3			1	16	18	12.5	35(20.6)
ERFX	1	71	49	20	1	1	3	20	2	2				1.56	28(16.5)
OFLX			32	72	32	6		2	16	8	2			3.13	28(16.5)
SDM					1				2		8	41	118		
TMP											37	133			

(注) SPC :スペクチノマイシン、EM :エリスロマイシン、SP :スピラマイシン、TS :タイロシン

表3 腸球菌の薬剤感受性試験

抗菌剤	MIC(μg/ml)													MICブレイクポイント	耐性菌株数 (%)
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100		
ABPC	23	9	18	118	431	328	35	59	3	1		2		50	2(0.2)
CTF	1			6	7	2	17	5	33	20	109	278	549		
DSM									10	57	364	250	346		
KM							1	3	25	116	420	176	286		
GM						11	46	122	302	401	100	7	38		
EM	2	52	343	41	59	117	51	34	20	8	10	8	282	25	308(30.0)
TS				4	28	539	85	23	1	2	1	17	327	12.5	348(33.9)
LCM		1		89	56	12	9	42	123	238	83	28	346	100	374(36.4)
OTC				40	161	141	13	3	20	92	139	199	219	6.25	672(65.4)
BC		22	178	206	53	241	148	30	149					6.25	179(17.4)
VGM			7	167	120	338	60	269	57	4	5				
VCM			15	232	484	128	156	10	2						
CP					1	2	26	742	136	48	55	16	1		
ERFX	1		2	137	404	364	47	64	6	2					
OFLX			1	9	221	322	339	118	14	3					

(注) LCM :リンコマイシン、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

表4 一般大腸菌の薬剤感受性試験

抗菌剤	MIC(μg/ml)													MIC ブレイクポイント	耐性菌株数 (%)
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100		
ABPC					14	197	498	76	2	4	2	225		12.5	233 (22.9)
CXM				2	9	121	628	219	32	7					
CEZ			1	2	299	632	63	14	3	4				25	4 (0.4)
CTF	3	8	245	672	76	10		4						3.13	4 (0.4)
DSM					2	145	410	34	30	16	24	78	279	50	381 (37.4)
KM					5	538	289	7	3	2	4	2	168	12.5	179 (17.6)
GM		1	6	328	638	20	2	1	2	5	4		11	3.13	25 (2.5)
APM				1		67	896	47					7	12.5	7 (0.7)
CL				532	465	6	9	6						1.56	21 (2.1)
OTC					8	314	139	17	5	9	11	88	427	12.5	540 (53.0)
BZM									83	759	160	4	12	100	16 (1.6)
CP						12	151	585	100	27	23	15	105	50	143 (14.0)
NA						88	669	85	36	18	2	39	81	50	122 (12.0)
OA		9	411	404	28	35	42	44	7	1	1	4	32	12.5	45 (4.4)
ERFX	773	101	43	52	10	8	3	1	15	9	3			3.13	31 (3.0)
OFLX	169	644	67	39	52	14	5	7	13	7	1			3.13	33 (3.2)
SDM										13	29	74	902		
TMP		15	106	421	266	52	10	6		2		140		12.5	142 (13.9)



## 平成12年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査

### 1. はじめに

平成12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、抗菌性物質に対する耐性菌の発現状況等に関する情報を収集することを目的として、畜産振興総合対策事業実施要領（平成12年4月1日付け12畜B第312号農林水産省畜産局長通知）に基づき、動物用医薬品については家畜衛生対策事業、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の発現状況調査は、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11年度から本格的に開始された。

今般、平成12年度に実施されたこれら家畜衛生対策事業及び流通飼料対策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書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

検体は健康家畜の糞便とし、検体数は、各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畜産経営以上、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。菌の分離・同定は、形態学的性状検査、生化学的性状検査及び遺伝学的性状検査によった。

分離菌株の供試薬剤に対する感受性の測定は、「MIC測定用試験紙」（昭和薬品化工（株））を用いた一濃度ディスク拡散法により推定最小発育阻止濃度（MIC）を求めた。なお、耐性限界値（ブレイクポイント）は、供試菌株のMIC分布が二峰性を示した場合のみ、感受性菌と耐性菌のピークの間値として設定した。

### 3. 調査成績

#### (1) サルモネラ

サルモネラは、供試された922検体中53検体（5.7%）から93株（肥育牛21株、肥育豚29株、採卵鶏10株及びブロイラー33株）が分離された。分離菌株の血清型は、19種類認められ、そのうち*S. Infantis*が23株、*S. Typhimurium*が22株であった。

分離菌株93株の薬剤感受性試験成績を表1に示した。9薬剤には二峰性のMIC分布が認められ、それらの耐性率は2.2～57.0%であった。一方、エンロフロキサシン（ERFX）とオフロキサシン（OFLX）に対しては、ごく一部の低感受性株を除き、MIC値0.1～0.2µg/mlに単一のピークをもつ極めて高い感受性を示した。

#### (2) カンピロバクター

カンピロバクターは、供試された579検体中181検体（31.3%）から322株（肥育牛64株、肥育豚114株、採卵鶏87株及びブロイラー57株）が分離された。同定された菌種の内訳は、*Campylobacter jejuni*が139株、*C. coli*が71株及び*C. fetus*が11株であった。なお、全体の約3割を占める菌種未決定の101株については、現在、動物医薬品検査所で最終的な菌種同定のための追加試験を実施中である。

分離・同定後の死滅菌株等を除く309株の薬剤感受性試験成績を表2に示した。10薬剤には二峰性のMIC分布が認められ、それらの耐性率は3.6～60.8%であった。ERFXとOFLXに対しては、それぞれ16.2%及び14.9%に耐性株の出現が認められ、そのほとんどは、ナリジクス酸（NA）とオキシリン酸（OA）に交叉耐性を示していた。なお、遺伝子型別によって菌種同定された*C. jejuni*及び*C. coli*の間

で、各薬剤に対する耐性率を比較すると、*C.coli*の方が全体的に高い傾向にあった。

### (3) 腸球菌

腸球菌は、選択培地を用いた分離培養法では、供試された372検体中308検体(82.8%)から567株(肥育牛144株、肥育豚164株、採卵鶏146株及びブロイラー113株)が分離された。一方、バンコマイシン(VCM)添加培地を用いた系では、23検体(6.2%)から30株が分離された。畜種ごとに優勢な菌種に特徴があったが、主要な菌種は*E.faecium*、*E.faecalis*及び*E.durans*であった。また、分離されたVCM低感受性菌(MIC値 6.25 µg/ml)については、VCM耐性遺伝子(*van*遺伝子)の検索を行った結果、*vanA*遺伝子や*vanB*遺伝子を保有するVCM耐性腸球菌(VRE)は、全く認められなかった。

分離された腸球菌合計597株の薬剤感受性試験成績を表3に示した。5薬剤には二峰性のMIC分布が認められ、耐性率は21.3~63.0%であった。特にオキシテトラサイクリン(OTC)、タイロシン(TS)及びエリスロマイシン(EM)に対しては、主要な3菌種で高率な耐性株の出現がみられた。

### (4) 大腸菌

一般大腸菌は、供試された393検体中344検体(87.5%)から653株(肥育牛173株、肥育豚153株、採卵鶏169株及びブロイラー153株)が分離された。また、肥育牛由来の98検体についてペロ毒素産生大腸菌(VTEC)の分離を行ったところ、28検体(28.6%)から48株が分離された。

これら一般大腸菌及びVTECの薬剤感受性試験成績をそれぞれ表4及び表5に示した。一般大腸菌では、14薬剤には二峰性のMIC分布が認められ、それらの耐性率は0.5~53.6%であった。ERFXとOFLXに対しては、それぞれ3.2%、4.0%に耐性株の出現が認められた。一方、VTECでは、6薬剤に二峰性のMIC分布が認められ、それらの耐性率は4.2~45.8%であったが、ERFXとOFLXに対しては、全株ともMIC値0.78 µg/ml以下の高い感受性を示し、耐性株の出現はみら

れなかった。

### 3 . おわりに

今後とも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実態調査を継続し，得られた成績を順次公表していくこととしている。また，その試験成績を集積・解析するとともに，家畜由来耐性株と人由来耐性株との関連性については，分子疫学的手法等を駆使した解析や，家畜由来耐性株の人の医療に及ぼす影響に関するリスク分析を実施していくことが必要と考えられる。

また，抗菌性物質の使用に当たっては，国際的な共通認識である「慎重使用の原則」に沿った，抗菌スペクトル，薬物動態，原因菌の薬剤感受性データ等に基づき抗菌剤の選択を慎重に行うこと，適応症に対応する用法・用量及び使用上の注意を遵守して適正使用を徹底すること及び抗菌性飼料添加物についても，定められた使用の方法の基準を遵守することが求められている。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されたい。

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

表2 カンピロバクター属菌の薬剤感受性試験

抗菌性物質	MIC(μg/ml)												MIC ブレークポイント	耐性菌株数 (%)
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100		
CTF				3	2		5	18	58	93	80	50		
SM	7	4	12	41	74	49	27	6	8	5	2	74	25	81(26.2)
GM	7	8	45	81	97	44	22	2	3					
SPC	1	1	6	3	4	41	88	121	31	2	2	9	50	11(3.6)
EM	2	2	8	21	34	63	72	31	12	6	3	55	50	58(18.8)
SP	7	6	8	31	47	43	55	31	14	11	3	53	50	56(18.1)
TS			1	1	1	7	23	79	54	53	15	75	50	90(29.1)
OTC	1	3	10	14	25	50	18	9	16	23	38	102	6.25	188(60.8)
CP		3	1	3	18	87	102	42	13	24	12	4		
NA			1		3	17	52	76	65	22	8	65	50	73(23.6)
OA	1	3	12	31	84	65	34	6	5	3	2	63	25	68(22.0)
ERFX	96	58	55	36	14	6	7	14	10	13			1.56	50(16.2)
OFLX	8	17	54	108	52	24	2	3	41				3.13	46(14.9)
ODX	3	2	18	35	82	75	34	28	21	10	1			

(注) SPC:スペクチノマイシン, EM:エリスロマイシン, SP:スピラマイシン, TS:タイロシン

表3 腸球菌の薬剤感受性試験

抗菌性物質	MIC (μg/ml)											MICブレークポイント	耐性菌株数 (%)		
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50				100
ABPC		6	11	43	222	186	84	27	9	6	3				
CTF	2		2	7	20	45	37	40	60	70	314				
SM				1		1	5	10	27	37	114	402			
KM										11	229	357			
GM					2	3	39	146	149	174	42	42			
DM								2	1	2	6	586			
EM	49	56	90	56	45	57	36	39	23	19	127		50	127	(21.3)
TS	5	5	13	36	139	126	54	19	12	10	5	173	12.5	200	(33.5)
LCM			6	14	28	17	12	35	101	149	235				
SNM	26	45	37	143	249	62	20	6	9						
OTC	3	15	15	59	89	33	16	8	38	63	258		6.25	367	(61.5)
BC						1	8	13	90	64	45	376	100	376	(63.0)
VGM		1	15	68	201	111	118	79	4						
VCM	1	4	6	40	217	179	92	57	1						
CP				1	7	45	139	258	60	29	29	29			
AVM	3	6	13	21	90	171	172	57	12	14	9	29			
EFM		1	1		1	4	15	134	126	50	16	249	50	265	(44.4)
ERFX	1	1	9	73	308	102	51	25	20	7					
OFLX			2	6	38	168	231	81	32	26	13				
	0.004	0.008	0.002	0.003	0.006	0.013	0.025								
NHT	39	86	231	126	96	7	12								

(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 :アピラマイシン , EFM :エフロトマイシン ,NHT :ノシヘプタイド

表4 一般大腸菌の薬剤感受性試験

抗菌性物質	MIC (μg/ ml)												MIC ブレイクポイント	耐性菌株数 (%)
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100		
ABPC			1	24	112	215	106		1	3	21	170	6.25	195(29.9)
CEZ			1	11	109	275	178	49	15	6	1	8	50	9(1.4)
CXM			3	6	22	110	353	123	29	4	1	2		
CTF	2	12	45	343	204	21	17	3	3	1		2	25	3(0.5)
SM					2	41	93	154	139	36	60	128	25	224(34.3)
KM			1	7	25	150	270	62	14	1	1	122	25	124(19.0)
GM				21	144	369	82	7	11	6	3	10	6.25	37(5.7)
APM				2	14	100	394	121	17	4		1		
DM						1		2	96	448	78	28		
OTC		2	11	49	160	62	14	5	5	10	335		12.5	350(53.6)
BZM							1	2	24	101	276	249		
CP				1	21	205	254	72	9	18	5	68	12.5	100(15.3)
NA				3	38	166	222	93	21	12	10	88	50	98(15.0)
OA	6	58	184	222	71	20	21	16	12	7	10	26	25	43(6.6)
ERFX	160	200	197	40	22	13	1	1	8	11			3.13	21(3.2)
OFLX	41	102	196	192	62	22	12	1	8	6	11		6.25	26(4.0)
SDM									3	13	37	600		
TMP	1	1	15	89	190	128	67	12	2	1	1	146	25	148(22.7)
ODX						1	9	125	382	79	19	38	50	57(8.7)

表 5 VTECの薬剤感受性試験

抗菌性物質	MIC (μg/ ml)											MIC ブレイクポイント	耐性菌株数 (%)			
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50			100		
ABPC					9	22	7					1	9	12.5	10(20.8)	
CEZ				1	2	28	13	4								
CXM					1	10	32	5								
CTF			7	24	17											
SM						10	12	5	9			1	11	25	12(25.0)	
KM					1	12	16	10	1				8	25	8(16.7)	
GM				2	13	21	12									
APM					1	10	25	6	6							
DM									8	30	10					
OTC			3	4	17	2								12.5	22(45.8)	
BZM									4	17	21	6				
CP					3	20	19	4				2		12.5	2(4.2)	
NA					4	19	21	4								
OA		2	19	20	7											
ERFX	9	21	16	2												
OFLX	1	10	21	11	5											
SDM										2	6	40				
TMP			2	8	25	6	3						4	12.5	4(8.3)	
ODX								32	15	1						





## 動物用抗菌剤の薬剤耐性菌対策 について (その6)

### 平成13年度家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査 成績の概要について

#### 1. はじめに

最近、食用動物へ抗菌性物質を使うことにより選択された薬剤耐性菌もしくは耐性遺伝子が食物連鎖を介して人へ伝播し、人の細菌感染症の治療を困難にするという潜在的な危険性について、公衆衛生や家畜衛生関連の国際機関や欧米において、緊急課題として取り上げられている。このような国際動向を背景とし、我が国では畜産分野における薬剤耐性モニタリング調査が、平成11年度から本格的に開始され、今年で4年目を迎えている。本調査では、特に公衆衛生分野への影響に配慮しており、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調査対象としている。

平成13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、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、抗菌性物質の人と動物の健康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、畜産振興総合対策事業実施要領(平成12年4月1日付け12畜B第312号農林水産省畜産局長通知)に基づき実施された。本稿では、平成13年度における調査成績の概要を紹介する。

#### 2. 平成13年度調査成績の概要

調査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、産卵鶏及びブロイラー)×6畜産経営以上×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畜産経営以上、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各検体2株分離することとした。なお、各都道府県は毎年1菌種について調査し、調査対象となる菌種は地域に偏りがないように配慮されている。

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、菌種同定及び薬剤感受性試験法により実施した。菌の分離・同定は、形態学的、生化学的性状検査及び遺伝学的検査により行った。分離菌株の供試薬剤に対する感受性の測定は、「MIC測定用試験紙」(昭和薬品化工(株))を用いた一濃度ディスク拡散法に

より推定最小発育阻止濃度(MIC)を求めた。MIC値は、米国臨床検査標準委員会(NCCLS)の提唱する表示法に準拠して2の乗数値 $\mu\text{g/mL}$ で表した。なお、耐性限界値(ブレイクポイント)は、供試菌株のMIC分布が二峰性を示した場合のみ、感受性菌と耐性菌のピークの間中値として設定した。

#### (1) サルモネラ

糞便からのサルモネラの分離は、ハーナテトラチオン培地での遅延二次増菌培養を併用することにより行った。その結果、供試332検体中13検体(5.8%)から22株(肥育牛由来4株、肥育豚由来4株、ブロイラー由来13株及び産卵鶏由来1株)が分離され、由来動物ごとの分離率は、ブロイラーが10.8%と最も高かった。分離菌株の血清型別では、7種類の血清型が検出され、その主要な血清型は主にブロイラーから分離されるS. Infantis及び肥育牛と肥育豚から分離されるS. Typhimuriumであり、両者で全体の半数以上を占めた。

分離菌22株の薬剤感受性試験成績を表1に示した。供試20薬剤中9薬剤に二峰性のMIC分布が認められ、その耐性率はピコザマイシン(BCM)77.3%、カナマイシン(KM)27.3%、オキシテトラサイクリン(OTC)22.7%、アンピシリン(ABPC)18.2%、クロラムフェニコール(CP)18.2%、ジヒドロストレプトマイシン(DSM)18.2%、オラキンドックス(ODX)13.6%、ナリジクス酸(NA)9.1%及びオキシリン酸(OA)9.1%の順であった。セフェム系薬剤(セファゾリン(CEZ)、セフロキシム(CXM)、セフトオフル(CTF))に対する耐性株は認められなかった。由来動物ごとの各薬剤に対する耐性率には特徴がみられ、OTCに対しては、産卵鶏以外の動物由来株において、いずれも50%以上の高い耐性率を示した。ABPCに対しては、肥育牛由来株は全てMIC値 $64\mu\text{g/mL}$ 以上の耐性を示した。また、DSMに対しては、肥育牛及び肥育豚由来株の約半数が耐性であった。一方、フルオロキノロン剤であるエンロフロキサシン(ERFX)及びオフロキサシン(OFLX)に対しては、極めて高い感受性を示した。産卵鶏由来株にはBCM耐性を除き、耐性株の出現は認められなかった。分離菌株の耐性パターンを調べた結果、単剤~6剤まで12種類の耐性パターンが確認され、全体に多剤耐性化の傾向が窺えた。近年、特に欧米においてABPC・CP・DSM・OTC・スルファジメトキシ(SDM)の5剤に対して耐性を示すS. Typhimurium

ファージ型 104 (DT104) が公衆衛生上の重要な問題となっているが、今回分離された *S. Typhimurium* 6 株のうち 4 株が DT104 と型別され、これらは全て牛由来であった。分離された DT104 の中には、5 剤に加え、BCM に耐性を示す株が認められたが、キノロン耐性を示すものは認められなかった。現在、多剤耐性 DT104 に関しては、PL 法対応業務の一環として当所において全国の家畜保健衛生所等から収集した病性鑑定材料由来 DT104 の野外流行株も含めて、パルスフィールド電気泳動法等の分子疫学的手法を用いた遺伝子解析を進めている。

## (2) カンピロバクター

カンピロバクターは、家禽等の食肉を原因食品とした人の下痢症の原因菌であり、欧米では最も多発する散発性食中毒の原因菌である。最近では、カンピロバクター腸炎の治療薬であるフルオロキノロン剤の耐性株が人の症例や畜産食品等からの分離が報告され、その薬剤感受性動向が注目されている。

採取した糞便はシードスワブ（輸送用培地）を用いて実験室に輸送し、CCDA 培地による直接分離培養及び CEM 培地による増菌培養も併用し、カンピロバクターの分離を行った。分離菌株について、生化学的性状検査及び PCR 法により菌種同定を行った。本調査では、肥育牛 90 検体中 25 検体 (27.7%)、肥育豚 91 検体中 45 検体 (49.5%)、産卵鶏 91 検体中 44 検体 (48.4%) 及びブロイラー 88 検体中 25 検体 (28.4%) から計 239 株のカンピロバクターが分離された。その同定された菌種の内訳は *C.jejuni* 130 株、*C.coli* 88 株及びその他 18 株であった。肥育牛、産卵鶏及びブロイラーからは主に *C.jejuni* が、肥育豚からは主に *C.coli* が分離された。これら分離成績には、過去 2 年間の調査と同様な傾向がみられた。分離株の薬剤感受性試験は、5%馬脱線血添加ミューラーヒントン寒天培地を用いた一濃度ディスク拡散法により行った。その培養条件は 37℃、微好気、48 時間とした。

分離菌 239 株の薬剤感受性試験成績を表 2 に示した。供試した 16 薬剤中、10 薬剤において MIC 分布に二峰性が認められ、その耐性率は OTC 61.1%、タイロシン (TS) 28.9%、DSM21.8% の順に高い結果となった。由来動物別に耐性率を比較すると、キノロン剤である NA、OA、ERFX 及び OFLX を除く薬剤においては肥育豚由来株の耐性率がもっとも高く、それに肥育牛、ブロイラー及び産卵鶏由来株が

続いた。フルオロキノロン剤である ERFX 及び OFLX については、ブロイラー由来株が最も高い耐性率を示した。フルオロキノロン耐性株が分離された 32 検体のうち、キノロン剤の投与歴が報告されたのは肥育豚 1 検体とブロイラー 1 検体のみであった。また、カンピロバクターが分離された検体のうち、フルオロキノロン剤が投与されていたのは耐性株が分離された 2 検体に加え、肥育牛 1 検体であり、今回の調査では投与歴が認められなかった検体からもフルオロキノロン耐性株が分離されていた。

人のカンピロバクター腸炎の感染源として重要視されているのが鶏肉であることから、ブロイラー由来株のフルオロキノロン耐性率が高かったことは注目すべき結果である。今後とも薬剤感受性動向を注視し、調査を続けると共に、その出現背景・要因等を特定する目的で、フルオロキノロン耐性株が分離された養鶏農家において飼育環境を含めた追跡調査を実施することを計画している。

## (3) 腸球菌

腸球菌の選択培地である Bile Esculin Azide 培地 (BEA) から、一般腸球菌として *Enterococcus faecalis* 及び *E.faecium* の 2 菌種を分離し、かつ同じ検体について BEA に 6 µg/mL のバンコマイシン (VCM) を添加した培地 (VCM-BEA) から、VCM 低感受性腸球菌の分離を試みた。供試した糞便 391 検体中、174 検体 (44.5%) から 302 株 (肥育牛 43 株、肥育豚 68 株、産卵鶏 111 株及びブロイラー 80 株) の一般腸球菌が分離された。一方、VCM 低感受性腸球菌は、同じ糞便 391 検体中、69 検体から 119 株が分離された。VCM 低感受性腸球菌を構成する菌種は、ほとんどが VanC タイプの低度自然耐性を示す運動性腸球菌 (*E.gallinarum*、*E.casseliflavus* 及び *E.flavescens*) であった。

分離された一般腸球菌 302 株の薬剤感受性について、表 3 にまとめた。供試した 20 薬剤のうち、EM、TS、OTC、アピラマイシン (AVM) 及びエフロトマイシン (EFM) の 5 薬剤について、二峰性の MIC 分布が認められた。特に、OTC (64.6%) 及び EFM (64.2%) に対する耐性株が多く、動物種別で見ると、OTC では肥育豚 (80.9%)、次いでブロイラー (67.5%) の順に耐性率が高かった。

VCM に対して低感受性を示した株について、Multiplex-PCR 法により、VCM 耐性遺伝子の保有状況を調べた。その結果、人の医療現場において問

題となる、いわゆる VRE が保有する VCM 高度耐性を担う *van A* あるいは *van B* は全く検出されなかった。一方で、VCM 低感受性腸球菌のほとんどは、性状試験で判定された菌種を反映し、*Van C* タイプの耐性を示す *van C1* あるいは *van C2/3* を耐性遺伝子として保有する株であった。

#### (4) 大腸菌

一般大腸菌については DHL を、O157 (志賀毒素産生性大腸菌) については BCM O157 寒天培地 (栄研化学 (株)) をそれぞれ用いて分離を試みた。供試した糞便 342 検体中、305 検体 (89.2%) から 577 株 (肥育牛 169 株、肥育豚 152 株、産卵鶏 139 株及びブロイラー 117 株) の一般大腸菌が分離された。O157 は 318 検体中、肥育牛の 2 検体から 3 株が分離された。

これら一般大腸菌及び O157 の計 580 株の薬剤感受性について、表 5 にまとめた。供試した 20 薬剤のうち、ABPC、CEZ、CXM、CTF、APM、DSM、NA、OA、ERFX、OFLX、OTC、CP 及びトリメトプリム (TMP) の計 13 薬剤について、二峰性の MIC 分布が認められた。特に OTC (50.3%)、DSM (29.5%) 及び ABPC (24.1%) に対する耐性株が多かった。由来動物別でみると OTC では肥育豚 (70.4%)、次いでブロイラー (65.8%) の耐性率が高く、DSM ではブロイラー (48.7%)、次いで肥育豚 (41.4%) の耐性率が高く、ABPC ではブロイラー (41.9%)、次いで肥育豚 (34.9%) の耐性率が高かった。セフェム系薬剤 (CEZ、CXM、及び CTF) に対しては、耐性株は主にブロイラーから分離され、肥育牛や肥育豚では認められなかった。フルオロキノロン系薬剤 (ERFX 及び OFLX) に対しては、低率ながらもそれぞれ 2.1% 及び 2.2% に耐性株が認められ、その多くは鶏由来であった。

O157 の薬剤感受性については、一般大腸菌で耐性株が認められた 13 薬剤の MIC 値と比較すると、全体に高い感受性を示し、耐性株の出現は認められなかった。今回分離された O157 の VT 遺伝子の保有状況を PCR で確認したところ、同一検体から分離された 2 株が VT1 と VT 2 の両遺伝子を有し、他の検体から分離された残り 1 株は VT2 遺伝子のみを有していた。

#### 1. おわりに

本稿では、平成 13 年度に実施した家畜由来細菌の

抗菌剤感受性調査成績の概要を紹介した。今回の調査 4 菌種における由来動物別の主要薬剤、すなわち、 $\beta$ -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表 6 に示した。いずれの菌種でも、由来動物ごとに耐性率に差が認められた。OTC に対しては菌種、由来動物により差は認められるものの、産卵鶏由来のサルモネラ以外で高い耐性率が認められた。しかし、産卵鶏由来株における耐性株の出現は、いずれの菌種でもブロイラー由来株に比べて全体に少なく、野外での限定的な抗菌剤の使用実態 (産卵鶏に使用が認可されている抗菌剤は極めて少ない) を反映しているものと推察された。フルオロキノロン系薬剤に対する耐性株は、過去 2 年間の調査と同様に、カンピロバクターと大腸菌分離株の一部に認められており、今後とも耐性動向を特に注視しなければならない。

従って、今後とも全国レベルでの畜産分野における各種細菌の抗菌剤感受性調査を継続し、得られた成績を集積・解析後、順次それらの試験調査データを公表していくこととしている。また、平成 13 年度以降、各種抗菌剤の活性成分ごとの使用量が動物別に集計される予定であり、これら統計情報データ等に基づき、野外での抗菌剤の使用実態と薬剤感受性の変化との関係についても、詳細な解析を進めていきたい。また、畜産業における抗菌性物質の使用が人医療に及ぼす影響について、リスク分析を実施していくこととしている。そのためにも、調査事業の遂行上、医学関係機関や食品衛生関係部署との協力・連携を深め、これら国内外の機関との情報交換及び調査データの共有化等を図っていくことが不可欠であり、一昨年 9 月より「国立感染研・国立衛研・都衛研・動薬検技術連絡会議」(動薬検ニュース No.250 参照) を定期的で開催し、共同研究等の取組みを協議している。

耐性菌問題に対する獣医領域の主要な対応策は、人の医療分野と同様であり、国際的な共通認識となっている「慎重使用の原則」の遵守である。すなわち、抗菌性物質の使用の現場においては、原因菌の薬剤感受性試験データや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) に基づく薬剤選択が、益々重要なこととなっている。

( 抗生物質製剤検査室 高橋 敏雄、小島 明美、  
石原加奈子、江寄 英剛、  
検査第二部長 田村 豊 )