

ウシの潜在性乳房炎に関する研究(3)

誌名	琉球大学農学部学術報告 = The science bulletin of the College of Agriculture, University of the Ryukyus
ISSN	03704246
著者	日越, 博信 八幡, 辰正
巻/号	31号
掲載ページ	p. 103-109
発行年月	1984年12月

ウシの潜在性乳房炎に関する研究

第3報 潜在性乳房炎乳汁から分離された
主要な細菌の薬剤感受性

日越博信*・八幡辰正*

Hironobu HIGOSHI and Tatsumasa HACHIMAN: A study
on latent mastitis of cattle III. Drug sensitivity of bacte-
ria isolated from latent mastitis milk

Summary

Bacteria isolated from milk produced by cows with latent mastitis were classified into 14 groups. Among these bacteria, 196 strains of *Staphylococcus (Sta.) epidermidis* the most frequent, followed by *Sta. aureus* (80 strains), *Streptococcus (Strep.)* (62 strains), *Corynebacterium (Coryne.)* (45 strains) and finally *Pseudomonas (Pseudo.)* (13 strains) were cultured. Drug sensitivity test was performed in these 396 strains, employing PCG, SP, CP, CTC, KM and SM. Minimum inhibitory concentration (MIC) was measured.

Resistance against an antibiotic was defined as growth against the concentration of 1.56 u/ml PCG (25 u/ml for *Pseudo.*). In 5 other drugs, resistance was defined as growth against the concentration of 12.5 μ g/ml (25 μ g/ml for *Pseudo.*) or above. The rate of appearance of strains resistant to one of the 6 drugs was 100% for *Pseudo.*, 62.9% for *Strep.*, 29.6% for *Sta. epidermidis*, 22.5% for *Sta. aureus* and 22.2% for *Coryne.* The resistance pattern in the resistant bacteria was mostly to PCG alone in *Sta. aureus*. With *Sta. epidermidis*, resistance pattern was SM alone, followed by double resistance of CTC-SM. With *Strep.*, most of the bacteria showed resistance pattern of KM-SM. A few strains showed resistance in *Coryne.*, but resistance to drugs other than PCG was noted. Some strains were resistant to 3 or 4 drugs. All 13 strains of *Pseudo.* were resistant to 3~4 drugs, and a tendency for resistance to multiple drugs.

* 琉球大学農学部畜産学科

琉球大学農学部学術報告 31: 103~109 (1984)

緒 言

ウシにおける臨床型および潜在性乳房炎からは、多種類の細菌が分離されている^{3,4,8,10,13,19})。これらの細菌すべてが乳房炎の発症に関与しているか否かは不明であるが、多くは何らかの役割を演じているものと思われる。しかし、いずれの乳房炎であれ分離される主な細菌は、*Staphylococcus* (*Sta.*) *aureus*, *Streptococcus* (*Strep.*), *Corynebacterium* (*Caryne.*), *Sta. epidermidis* などであり、^{3,4,10} 急性壊死性乳房炎からは大腸菌が、^{4,9,12}) さらに慢性乳房炎からは緑膿菌^{4,16})などが分離されている。従って乳房炎の治療には、主に上記のような細菌に抗菌性のある各種の化学療法剤が広く用いられ、効果もあげてきた¹⁷)。しかし一方では、乳房炎は現在でも各地で多発し、また薬剤耐性菌の出現およびその増加が問題視され、治療の困難さばかりでなく公衆衛生上も憂慮されるに至っている^{4,15,18})。

著者らは、先きに沖縄県における潜在性乳房炎の発生率が他府県のそれより若干高いが、分離される主要な細菌はほぼ同じであることを明らかにした^{2,3})。しかし、乳房炎乳汁由来細菌の薬剤感受性あるいは耐性菌の出現状況などについては、本県の場合資料が少ない。そこで、潜在性乳房炎に関する調査・研究の一環として、また本県における乳汁由来細菌の薬剤耐性菌の動向を知る手懸りとして、分離頻度の高かった細菌を中心に薬剤感受性試験を行ったので、得られた成績を報告する。

実験材料及び方法

1 供試菌株

供試した細菌は、潜在性乳房炎乳汁から分離された14種類の細菌のうち、検出率の高かった上位4種類の *Sta. epidermidis* 196 株, *Sta. aureus* 80 株, *Strep.* 62 株, *Coryne.* 45 株, および検出率は低かったが *Pseudomonas* (*Pseudo.*) 13 株を加えた、合計 396 株である。

2 薬剤感受性試験の方法

薬剤感受性試験は、家畜の耐性菌研究会の標準法⁵)に従って、寒天平板希釈法で最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。

使用した薬剤はペニシリンGカリウム (PCG), スピラマイシン (SP), クロラムフェニコール (CP), 塩酸クロルテトラサイクリン (CTC), 硫酸カナマイシン (KM), 硫酸ストレプトマイシン (SM) の6種類である。

各薬剤の耐性限界値は *Sta. epidermidis*, *Sta. aureus*, *Strep.* および *Coryne.* に対しては PCG が 1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 他の5薬剤が 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とし, *Pseudo.* に対するそれは PCG が 25.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 他の5薬剤が 25.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。これらの濃度またはこれ以上の濃度で発育したものを、それぞれの薬剤に対する耐性菌とした。

実 験 結 果

供試した5種類の細菌における薬剤別の耐菌性の出現状況を、表1に示した。

用いた6薬剤のいずれかに耐性であった菌株は、*Pseudo.* では供試した全13株 (100%), *Strep.* では39株 (62.9%), *Sta. epidermidis* では58株 (29.6%), *Sta. aureus* では18株 (22.5%), *Coryne.* では10株 (22.2%) であった。

これを細菌の種類別にみると、*Sta. aureus* では耐菌性の出現率は低かったが、耐性であった菌株のほとんどは PCG に対してであった。ほかには少数株の CTC および SM 耐性があったが、SP, CP および KM には全株感受性であった。*Sta. epidermidis* では SM 耐性菌が最も多く、次いで多かったのは

Table 1. Drug resistance frequency in various bacteria isolated from latent mastitis milk

Drug*1	<i>Sta. aureus</i> (80 strains)	<i>Sta. epidermids</i> (196 strains)	<i>Streptococcus</i> (62 strains)	<i>Corynebacterium</i> (45 strains)	<i>Pseudomonas</i> (13 strains)
PCG	17 (21.3)*2	3 (1.5)	0	0	13 (100)
SP	0	0	0	3 (6.7)	13 (100)
CP	0	1 (0.5)	0	4 (8.9)	4 (30.8)
CTC	2 (2.5)	21 (10.7)	0	1 (2.2)	5 (38.5)
KM	0	1 (0.5)	36 (58.1)	4 (8.9)	8 (61.5)
SM	1 (1.3)	49 (25.0)	38 (61.3)	8 (17.8)	1 (7.7)
Total of resistance	18 (22.5)	58 (29.6)	39 (62.9)	10 (22.2)	13 (100)

*1 Abbreviation : PCG, benzylpenicillin; SP, spiramycin; CP, chloramphenicol; CTC, chlortetracycline; KM, kanamycin sulfate; SM, streptomycin sulfate

*2 Number in parenthesis indicates percentage

CTC耐性菌であり、ほかにはPCG, CPおよびKM耐性菌が少数あった。*Strep.*においては、過半数の菌株がSMおよびKM耐性であり、他の薬剤に対する耐性菌はみられなかった。*Coryne.*ではPCG以外の各薬剤に対する耐性菌が少数みられたが、そのなかではSM耐性菌が最も多かった。*Pseudo.*の供試株は少なかったが、PCGおよびSPに対しては全株が耐性であり、KMには半数以上の菌株が耐性であった。その他CPおよびCTC耐性菌がみられたが、SM耐性は1株のみであった。

次に各種細菌における耐性菌の耐性型を、表2に示した。

Table 2. Drug resistance pattern and its frequency of resistant bacteria isolated from latent mastitis milk

Resistance pattern	<i>Sta. aureus</i> (18 strains)	<i>Sta. epidermids</i> (58 strains)	<i>Streptococcus</i> (39 strains)	<i>Corynebacterium</i> (10 strains)	<i>Pseudomonas</i> (13 strains)
5 PCG-SP-CTC-KM-SM	0	0	0	0	1 (7.7)
4 PCG-SP-CTC-KM	0	0	0	0	3 (23.1)
PCG-CTC-KM-SM	0	1 (1.7)*	0	0	0
SP-CP-KM-SM	0	0	0	2 (20.0)	0
3 PCG-SP-CP	0	0	0	0	4 (30.8)
PCG-SP-CTC	0	0	0	0	1 (7.7)
PCG-SP-KM	0	0	0	0	4 (30.8)
CP-KM-SM	0	0	0	2 (20.0)	0
2 PCG-CTC	2 (10.0)	0	0	0	0
PCG-SM	0	2 (3.4)	0	0	0
CTC-SM	0	12 (20.7)	0	0	0
KM-SM	0	0	35 (89.7)	0	0
1 PCG	15 (83.3)	0	0	0	0
SP	0	0	0	1 (10.0)	0
CP	0	1 (1.7)	0	0	0
CTC	0	8 (13.8)	0	1 (10.0)	0
KM	0	0	1 (2.6)	0	0
SM	1 (5.6)	34 (58.6)	3 (7.7)	4 (40.0)	0

* Number in parenthesis indicates percentage

*Sta. aureus*の耐性型は3種類で少なかったが、耐性菌のほとんどはPCG単剤耐性型であった。ほかにPCG-CTC 2剤耐性型が2株、SM単剤耐性型が1株であった。*Sta. epidermidis*では6種類の耐性型に分かれたが、大多数株が単剤耐性型であり、なかでもSM単剤耐性型が多かった。次いで多かったのはCTC-SM 2剤耐性型であったが、PCG-CTC-KM-SMの4剤耐性型が1株あった。なお、上記2種類の細菌は同じ菌属であるが、それらの薬剤耐性型はかなり異なっていた。

*Strep.*の耐性型は、ほとんどがKM-SMの2剤耐性型であり、ほかにKMおよびSM単剤型がそれぞれ少数みられるのみであった。*Coryne.*では5種類の耐性型があったが、SM単剤耐性型の4株が最多であり、次いで4剤(SP-CP-KM-SM)および3剤(CP-KM-SM)耐性型の各2株が多かった。*Pseudo.*ではすべての菌株が3剤以上の耐性型を示し、5剤耐性型も1株あった。*Pseudo.*は、上記4種類の細菌と比較して、多剤耐性の傾向が明らかであった。

各種細菌の6薬剤に対するMICの分布は、図1および2に示した。

全体的にみて*Pseudo.*を除く4種類の細菌では、各薬剤に対するMICが低濃度域に分布していた。

まず、*Sta. aureus*の各薬剤に対するMIC分布では、PCGが3峰性、CTCが2峰性を示したが、両薬剤に対して多くの菌株は1.56 μ gまたは1.56 μ g以下の低濃度域にあった。他の4薬剤に対してはいずれも1峰性であったが、SPおよびCP(6.25~12.5 μ g)はKMおよびSM(1.56~3.13 μ g)に比較してやや高濃度域に分布した。*Sta. epidermidis*ではSPが1峰性、他の5薬剤が2~3峰性であった。多くの菌株のMIC値は、PCG、CTCおよびKMに対しては1.56 μ gまたは1.56 μ g以下に、SP、CPおよびSMに対しては3.13~12.5 μ gであった。しかし、少数株ではSM、KMおよびCPに対して100 μ g以上のものもみられた。

*Strep.*のMIC分布は、PCGが2峰性、SP、CPおよびCTCが1峰性であり、これらの薬剤に対しては大多数株が低濃度域のMIC値を示した。KMおよびSMでは3峰性を示していたが、過半数の菌株は両薬剤に対して25~100 μ gの濃度域に分布した。*Coryne.*ではPCGおよびSMが2峰性、他の4薬剤が3峰性であった。大多数株のMIC値は、SMが3.13~12.5 μ gにあったほかはいずれの薬剤も1.56 μ g以下であった。しかし、ごく少数株では2、3の薬剤に100~200 μ gの高濃度に耐性であった。

*Pseudo.*のPCGおよびSPに対するMIC値は、200 μ gまたは200 μ g以上で測定しなかつたので不明であるが、この濃度以上にあると思われた。他の4薬剤に対するMIC値は、KMに対

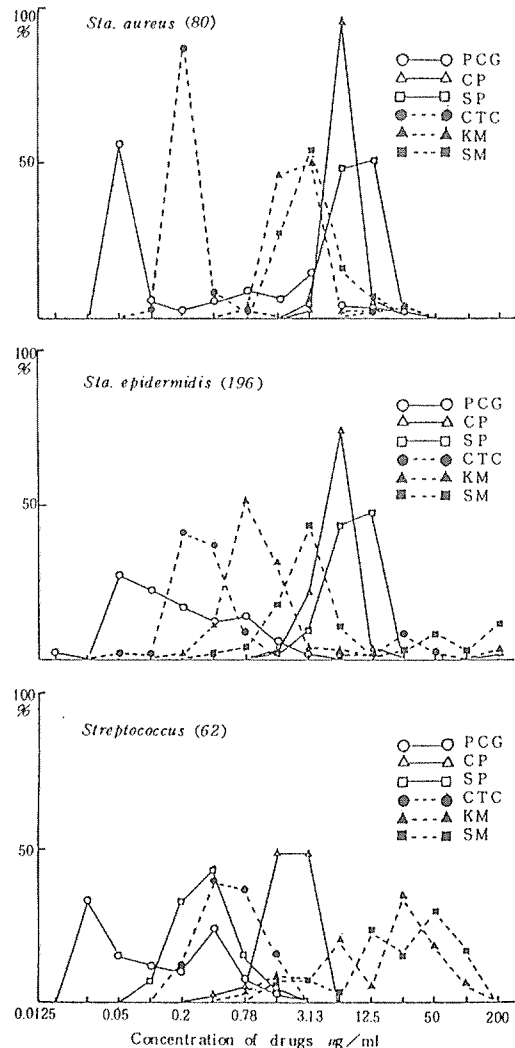


Fig 1. Distribution curves of MIC of various drugs

して少数株が低濃度域にあったほかはいずれも 6.25 μg 以上であった。

考 察

潜在性乳房炎乳汁から分離された細菌のうち、分離頻度の高い上位 4 種類の細菌、および分離頻度は低いが薬剤に対して自然耐性が多いとされる *Pseudo.* を加えた 5 種類の細菌について、6 薬剤に対する感受性試験を行った。全体的には他府県での成績^{1, 4, 6, 7, 11, 14, 19)}と比較して、耐性を示した薬剤の種類が少なく、また各薬剤に対する耐性菌の出現率も低いようであった。さらに、高濃度 MIC 値を示す耐性菌も少なかったことから、本県では余り耐性化が進んでいないと考えられた。しかし、他府県における成績は、多くの場合臨床型乳房炎由来の細菌であるか、潜在性乳房炎由来であっても 1 濃度ディスク法によるものであり、著者らの成績と単純に比較するのは適当でないかもしれない。

Sta. aureus は、臨床型乳房炎から最も高頻度に分離されると同時に、薬剤耐性菌の増加と高度耐性化が心配されている⁴⁾。今回著者らが供試した本菌は、PCG 耐性が 21.3% で最も高く、次いで CTC (2.5%)、SM (1.3%) の順であり、CP、SP および KM にはすべて感受性であった。*Sta. aureus* の PCG 耐性菌の出現率は、潜在性乳房炎由来では数寄ら⁶⁾の 19.2%、中村¹⁴⁾の 20.4% という報告があり、著者らの成績とはほぼ同じである。しかし、臨床型乳房炎由来では PCG 耐性菌が 27.4~46.5% であり、^{1, 11, 19)} 著者らの成績を含めて本乳房炎由来の方が高い。また、彼らの報告ではいずれも *Sta. aureus* が PCG 以外の 4~5 種類の薬剤にも耐性を示しており、特に堂本ら¹⁾は本菌の 3 剤および 4 剤耐性型も検出していた。さらに本菌の PCG に対する MIC 値も、著者らの成績は堂本らの成績に比較して低濃度域にあった。これらの成績と著者らの成績を比較すると、潜在性乳房炎由来 *Sta. aureus* の薬剤耐性化はそれほど進んでいないように思われた。

Sta. epidermidis における薬剤耐性菌の出現率は 29.6% であったが、そのなかでは SM 耐性菌が最多であった。本細菌は今後さらに細分される種類のものであり、また乳房炎あるいは正常乳由来の本菌について薬剤感受性試験を行った報告はほとんどみられない。今回の成績では、SM および CTC 耐性菌が多く、PCG 耐性菌が少なかった点で *Sta. aureus* と異なったが、その他の 3 薬剤に対する MIC 分布は両者細菌とも同様の傾向を示した。

Strep. は一般に各種薬剤に高度の感受性を示すといわれている⁴⁾が、乳房炎由来の本菌では各種薬剤に対する耐性菌が報告されている^{6, 7, 19)}。今回の成績では、本菌の過半数のものが KM および SM 耐性であったが、他の薬剤にはすべて感受性であった。*Strep.* が KM および SM に対して高率に耐性であることは熊谷ら⁷⁾、吉田・星野¹⁹⁾、数寄ら⁶⁾もみており、特に熊谷ら⁷⁾は高濃度に耐性であったと報告している。さらに、彼らの成績では他の薬剤にもかなりの耐性菌が出現しており、今回の成績とは異なったが、*Strep.* も薬剤耐性化が進行しているようである。

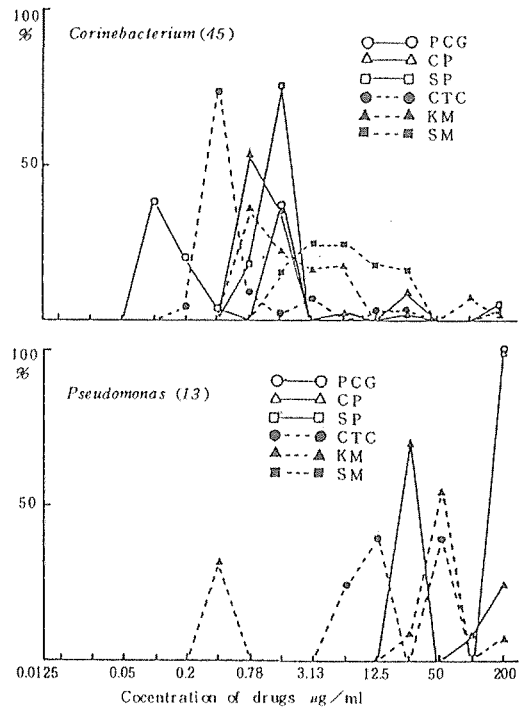


Fig. 2. Distribution curves of MIC of various drugs

一般に *Coryne.* は各種薬剤に感受性であるとされている⁴⁾が、乳汁由来の *Coryne.* における薬剤感受性試験の報告は少ない。久米⁴⁾は未経産牛乳房炎由来 *C. pyogenes* 25株について試験を行い、少数株が SP, SMなどに耐性であったが、多くは各種薬剤に感受性であったことを報告している。今回の成績でも薬剤耐性菌の出現率は低く、PCG以外の5薬剤に少数の耐性菌がみられたにすぎない。しかし、ごく少数株とはいえ3剤および4剤耐性型もみられ、2, 3の薬剤に200 μ gの高濃度にMIC値をもつものもあり、注意が必要であろう。

緑膿菌は、多くの薬剤に自然耐性であり、本菌による乳房炎は治療が困難とされている^{4, 16)}。事実、今回供試したこれと同属の *Pseudo.* 13株すべてが耐性菌であり、しかも3剤以上の耐性型を示した。しかし、SMに対しては1株のみが耐性であり、またCPおよびCTCに対しても多くの菌株は感受性であった。*Pseudo.* の各薬剤に対するMIC値は、これまで記述した4種類の細菌のそれより高濃度域にあったが、大前ら¹⁶⁾らが臨床型乳房炎由来緑膿菌について行った成績と比較すると、同一薬剤では低いMIC値を示した。

潜在性乳房炎由来の主要細菌の薬剤感受性では、全体的にみると薬剤耐性菌の出現率が低く、また各薬剤に対するMIC分布も低濃度域にあった。薬剤耐性菌の増加および高度耐性菌の出現は、薬剤の使用頻度とある程度一致するといわれる¹⁸⁾。その点今回の潜在性乳房炎由来の細菌は、薬剤と接触する機会が少なかったか、または本県では薬剤の使用頻度が高くなかったのかもしれない。薬剤耐性菌の出現率が低く、また耐性菌であっても比較的low濃度にMIC値をもつ細菌であることは、薬剤による治療を容易にすることであり、好ましいことと考える。潜在性乳房炎の治療が臨床型乳房炎のそれと同じである必要はないが、潜在性から臨床型へ移行することもあるだろうし、また細菌の種類によっては潜在性乳房炎も抗菌剤による治療を応用すべきであろう。しかし、細菌の薬剤耐性は多種多様であり、最終的には原因菌の同定とその薬剤感受性試験を行ったうえで、使用薬剤を選択することが望ましい。

摘 要

潜在性乳房炎乳汁から分離された細菌のうち、分離頻度の高かった上位4種類の *Sta. epidermidis* 196株, *Sta. aureus* 80株, *Strep.* 62株, *Coryne.* 45株, および分離頻度は低かったが *Pseudo.* 13株を加えた、合計396株について薬剤感受性試験を行った。用いた薬剤はPCG, SP, CP, CTC, KM, SMの6種類であり、これらに対する最小発育阻止濃(MIC)を測定した。

各薬剤に対する耐性限界値を、PCGでは1.56u/ml (*Pseudo.* は25u/ml), 他の5薬剤では12.5 μ g/ml (*Pseudo.* は25 μ g/ml)とすると、いずれか1剤に耐性であった菌株の出現率は、*Pseudo.* 100%, *Strep.* 62.9%, *Sta. epidermidis* 29.6%, *Sta. aureus* 22.5%, *Coryne.* 22.2%であった。これら耐性菌の耐性型は、*Sta. aureus* ではほとんどがPCG単剤耐性型であり、*Sta. epidermidis* では大多数がSM単剤耐性型、次いでCTC-SM2剤耐性型が多かった。*Strep.* ではほとんどがKM-SM2剤耐性型であった。*Coryne.* では耐性菌は少なかったが、PCG以外の薬剤に対する耐性菌がみられ、4剤および3剤耐性型があった。*Pseudo.* では13株すべてが3~5剤耐性型であり、多剤耐性の傾向を示した。

引用文献

1. 堂本憲司, 浜田義雄, 久米常夫 1976 牛の乳房炎乳汁由来 *Staphylococcus aureus* の薬剤耐性, 家畜衛生研究報告, 73: 14~19
2. 日越博信, 八幡辰正, 仲本聖輝, 香西献, 宇治達哉, 藤沢倫彦 1982 ウシの潜在性乳房炎に関する研究 I, 琉大農学報, 29: 217~223

日超・八幡：ウシの潜在性乳房炎に関する研究(Ⅲ)

3. 日越博信, 八幡辰正 1983 ウシの潜在性乳房炎に関する研究 II, 琉大農学報, 30 : 533 ~ 540
4. 飯塚三喜, 久米常夫, 原茂, 野附巖 1979 牛の乳房炎, 1版, 東京, 日本獣医師会
5. 家畜耐性菌研究会 1976 家畜由来の細菌に対する抗生物質等の薬剤の最小発育阻止濃度測定法について, 日獣会誌, 29 : 90 ~ 92
6. 数寄芳郎, 佐藤彰, 三浦和郎, 小泉敏夫, 瀬能昇 1969 疫学的立場からみた乳房炎, 北獣会誌, 13 : 168 ~ 175
7. 熊谷信一, 磯部尚, 久米常夫, 生方公子, 紺野昌俊, 嵯峨井均, 志村武雄 1981 牛の乳房炎乳汁由来レンサ球菌の分類と薬剤感受性, 家畜衛試研究報告, 81 : 1 ~ 7
8. 久米常夫 1970 潜在性乳房炎とその治療 I & II, 獣医界, 93 : 1 ~ 5 & 94 : 9 ~ 12
9. ——— 1977 Enterobacteriaceae による牛の乳房炎, 畜産の研究, 31 : 15 ~ 21
10. ———, 平棟孝志, 村瀬信雄 1970 牛の臨床型および潜在性乳房炎と乳汁の細菌叢, 家畜衛試研究報告, 61 : 37 ~ 44
11. 三原修正, 久米常夫 1970 北海道における乳房炎乳汁由来ブドウ球菌の薬剤感受性の動向, 北獣会誌, 14 : 152 ~ 156
12. 森永修正, 工藤幸也, 松尾秀人, 工藤忠明 1970 大腸菌による牛の壊死性乳房炎について, 北獣会誌, 14 : 78 ~ 81
13. 村瀬信雄 1976 牛の乳房炎：一つの考え方, 日獣会誌, 29 : 307 ~ 315
14. 中村茂美 1977 乳房炎由来黄色ブドウ球菌の薬剤感受性試験成績について, 家畜診療, 167 : 33 ~ 35
15. 小川信雄 1982 動物用医薬品の使用規制と適正使用, 畜産の研究, 36 : 93 ~ 95
16. 大前憲一, 寺門誠致, 小山敬之, 小枝鉄雄, 畦地速見, 清水健 1974 動物由来緑膿菌の薬剤感受性と血清型について, 日獣会誌, 27 : 386 ~ 390
17. 小野浩臣 1983 畜産衛生に役立つ薬剤とその正しい使い方 I, 乳牛の乳房炎用薬剤の応用と問題点, 畜産の研究, 37 : 55 ~ 57
18. 高橋勇 1977 家畜における薬剤耐性菌の発現機構と現況, 獣医界, 112 : 16 ~ 36
19. 吉田正明, 星野邦夫 1979 乳汁より分離した乳房炎起炎菌の分布とその薬剤感受性について, 家畜診療, 190 : 12 ~ 18