

豚胸膜肺炎由来Actinobacillus pleuropneumoniaeの血清型と薬剤感受性

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	福安, 嗣昭 齊藤, 慶子 芦田, 浄美
巻/号	49巻8号
掲載ページ	p. 528-532
発行年月	1996年8月

豚胸膜肺炎由来 *Actinobacillus pleuropneumoniae* の 血清型と薬剤感受性

福安嗣昭 齊藤慶子 芦田浄美

麻布大学獣医学部 (〒229 相模原市淵野辺 1-17-71)

(1995年2月21日受付・1996年5月12日受理)

要 約

1989～1995年に豚胸膜肺炎材料から分離された *Actinobacillus pleuropneumoniae* 1,441菌株の血清型別と薬剤感受性試験を実施した。分離菌は2型菌52.5%, 1型菌36.3%, 5型菌6.2%, 7, 8型菌1.5%, 3型菌1.4%, 12, 9型菌がそれぞれ0.5%と0.1%であった。1990年と1991年には、1型菌の分離頻度が高く、2型菌は著しく少なかった。分離1,441菌株中915菌株(63.5%)は薬剤耐性菌で、1, 3, 5, 7型菌の薬剤耐性率は80%以上であったが、2型菌と8型菌の薬剤耐性率は低くそれぞれ44.6%および61.9%と低率であった。感受性薬剤はAmpicillin (ABPC), Penicillin G (PCG), Tetracycline (TC), Oxytetracycline (OTC), Thiamphenicol (TP), Chloramphenicol (CP) および Colistin (CL) (MIC値: <0.78 μ g/ml), ついで Streptomycin (SM), Fradiomycin (FM), Kanamycin (KM), Sulfadimethoxine (SDMX), Salfisoxazole (SIX), Kitasamycin (LM), Erythromycin (EM) および Novobiocin (NB) などであった。——キーワード: *A. pleuropneumoniae*, 薬剤感受性, 血清型。

-----日獣会誌 49, 528～532 (1996)

豚胸膜肺炎の起因菌である *Actinobacillus (A.) pleuropneumoniae* の血清型は、1型から12型までに型別されている[15]。わが国では *A. pleuropneumoniae* 2型菌による豚胸膜肺炎の流行が主流であった[9, 11, 17, 18]が、約10年前から5型菌[7]、ここ数年では1型菌[5, 16]および8型菌[14]による本症例の発生例やその他の血清型菌の分離報告[2, 10, 18]がみられる。

今回、1989～1995年の7年間に国内の豚胸膜肺炎材料から分離された *A. pleuropneumoniae* の血清型と薬剤感受性について検討した。

材料および方法

供試菌株: 1989～1995年の7年間に北海道から鹿児島(29道県)の養豚場において胸膜肺炎発症豚および病性鑑定殺豚の肺炎材料から分離した *A. pleuropneumoniae* 合計1,441菌株を供試した。年次別の分離菌株数は表1に示したとおりである。

血清型別試験: 血清型別試験は、*A. pleuropneumoniae* の血清型基準株1型(Shope4074), 2型(1536), 3型(1421), 4型(M62), 5型(K17), 6型(Fem ϕ), 7型(WF83), 8型(CCM3803), 9型(CVJ13261), 10型(D13039), 11型(56153) および12型(8329)のウサギ抗血清を用いて、急速スライド凝集反応[12]、試験管凝集反応[3]、間接赤血球凝集反応[13]および免疫拡散法[4]により実施した。

薬剤感受性試験: 薬剤感受性試験は、家畜の耐性菌研究会法[8]に準じた寒天平板希釈法により実施した。供試薬剤は Penicillin G (PCG), Ampicillin (ABPC), Streptomycin (SM), Fradiomycin (FM), Kanamycin (KM), Tetracycline (TC), Oxytetracycline (OTC), Chlortetracycline (CTC), Erythromycin (EM), Spiramycin (SP), Kitasamycin (LM), Lincomycin (LCM), Colistin (CL), Novobiocin (NB), Thiamphenicol (TP), Chloramphenicol (CP), Sulfadimethoxine (SDMX) および Salfisoxazole (SIX) の18薬剤を用いた。供試菌株の培養には β -NAD (10 μ g/ml) 加 Brain Heart Infusion broth^{a)} を、薬剤感受性試験用培地には β -NAD (10 μ g/ml) 加 Müller-Hinton agar^{a)} を用いた。1夜培養供試菌の100倍希釈菌液をマイクロプランターで接種後、37 $^{\circ}$ C、18時間、5%炭酸ガス培養し、最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

成 績

A. pleuropneumoniae の血清型: 1989年から1995年に豚胸膜肺炎材料から分離された *A. pleuropneumoniae* 1,441菌株の血清型は、2型が757菌株(52.5%)と高率で、次いで1型523菌株(36.3%), 5型90菌株(6.2%)であった(表1)。さらに、3, 7, 8型菌が約20菌株(約

^{a)} Difco, U.S.A.

表1 豚胸膜肺炎材料から分離された *A. pleuropneumoniae* 血清型菌の年次別分離状況

血清型	分離年次と菌株数(%)						菌株数(%)	
	1989	1990	1991	1992	1993	1994		1995
1	56(16.3)	100(65.3)	49(49.5)	91(38.7)	91(33.6)	75(49.4)	61(32.5)	523(36.3)
2	263(76.7)	46(30.1)	27(27.3)	97(41.3)	135(49.8)	73(48.0)	116(61.7)	757(52.5)
3	1(0.3)			13(5.5)	2(0.7)		4(2.1)	20(1.4)
5	20(5.8)	7(4.6)	18(18.2)	17(7.2)	24(8.9)		4(2.1)	90(6.2)
7	2(0.6)		5(5.0)	6(2.6)	2(4.1)	4(2.6)	3(1.6)	22(1.5)
8				10(4.3)	11(2.2)			21(1.5)
9				1(0.4)				1(0.1)
12	1(0.3)				6(0.1)			7(0.5)
計	343	153	99	235	271	152	188	1,441

表2 豚胸膜肺炎材料から分離された *A. pleuropneumoniae* 1,441 菌株の薬剤感受性

薬剤	MIC ($\mu\text{g/ml}$, *u/ml)											薬剤耐性 株数(%)
	≤ 0.09	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	≥ 100	
PCG*	51	118	254	754	87	4	19	38	43	50	23	173(12.0)
ABPC	118	957	129	58	17	39	54	43	5	15	6	179(12.4)
SM				4	27	64	286	389	47	31	593	624(43.3)
FM					57	164	454	499	36	36	195	231(16.0)
KM				32	100	369	648	28	9	12	243	264(18.3)
TC	44	44	380	259	101	19	333	104	119	38		613(42.5)
OTC	3	5	148	307	252	113	17	191	310	75	20	613(42.5)
CTC	7	21	270	218	264	304	183	151	14	9		
TP	27	81	483	458	58	21	12	13	29	36	223	313(21.7)
CP	9	231	522	309	26	15	82	127	80	28	12	344(23.9)
SDMX				38	37	98	154	191	157	64	702	702(48.7)
SIX			22	44	96	240	158	98	38	43	702	702(48.7)
SP						14	57	126	387	775	82	
LM			10	11	83	303	933	88	13			
EM				35	166	550	662	28				
LCM					7	33	149	449	706	93	4	
NB					32	160	506	608	126	9		
CL	21	140	409	551	260	52	8					

1.5%)と12型菌および9型菌がそれぞれ数菌株分離された。年次別の分離状況をみると、2型菌は1989年に76.7%と高率であったが、1991年には約27%に低下し、1992年以降再び増加して、1995年には約60%を占めた。いっぽう、1型菌は1989年には16%であったが、翌年には約65%に急激に増加したもののそれ以降減少傾向を示し、1992年以降は30~40%の範囲で推移した。また、5型菌の年次別の分離頻度は1991年が18%と比較的高値であったが、それ以外の年次では数%の範囲で推移し、1994年以降減少傾向にあった。

さらに、この7年間に2型菌および1型菌は供試肺炎材料を採取したほとんどの県の豚から分離されたが、他の血清型菌は少数の県由来の材料からのみ分離された。すなわち、3型菌は北海道、山形、千葉、神奈川、5型菌は秋田、山形、福島、愛媛、長崎、鹿児島、7型菌は北海道、秋田、岩手、福島、群馬、神奈川、愛媛、宮崎、鹿児島、8型菌は青森、秋田、9型菌は愛知および12型

菌は秋田、愛知で分離された。

A. pleuropneumoniae の薬剤感受性：*A. pleuropneumoniae* 1,441 菌株の薬剤感受性試験の成績を表2に示した。*A. pleuropneumoniae* に対するペニシリン系(PCG, ABPC)、テトラサイクリン系(TC, OTC：以下一括してTCと表示)、TP, CPおよびCLのMICピーク値は0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以下で、いずれも強い抗菌活性を示した。しかし、アミノ配糖体系(SM, FM, KM)、サルファ剤(SDMX, SIX：以下一括してSAと表示)、LM, EM, およびNBのそれは、3.12~12.5 $\mu\text{g/ml}$ の範囲にあり比較的弱い抗菌活性であった。多くの薬剤のMIC分布は2峰性を示し、供試菌株は薬剤感受性菌群と薬剤耐性菌群に大別された。しかし、マクロライド系(SP, LM, EM), LCM, NB, CLの感受性分布はいずれも1峰性であった。

いっぽう、MIC分布における2峰性から感受性および耐性を判定すると、SA, SMおよびTCの耐性菌の

割合はそれぞれ 48.7% (702 菌株), 43.3% (624 菌株) および 42.5% (613 菌株) と比較的高率であり, 次いで, CP (23.9%), TP (21.7%), KM (18.3%), FM (16.0%), ABPC (12.4%), PCG (12.0%) の順であった. さらに, 血清型別の薬剤耐性菌の割合は, 分離菌株数が多かった 2 型菌が 44.6% (338 菌株) と最も低率であり, 次いで 8 型菌の 61.9% (13 菌株) であった. いっぽう, 20 菌株以上分離された 1, 3, 5, 7 型菌ではいずれも約 80% 以上が薬剤耐性菌であった. また, 5 型菌のそれは 96.7% (87 菌株) と, 今回分離された血清型菌のなかで薬剤耐性菌の割合が最も高率であった (表 3).

さらに, 薬剤別の耐性菌の割合を血清型別にみると, 12 型菌はすべて SA, TC, SM の 3 薬剤に耐性を示し, 同様に 5 型菌と 8 型菌はすべて TC に, 9 型菌は SM に耐性であった. また各血清型菌の 80% 以上の菌株が耐性を示した薬剤でみると, 7 型菌では TC, PCG, ABPC の 3 薬剤, 3 型菌では SA, ABPC の 2 薬剤, 1 型菌では SA のみであった. しかし, 2 型菌ではその 80% 以上の菌株が耐性を示した薬剤はなかった (表 4).

いっぽう, 薬剤耐性菌が 10 菌株以上分離された血清型について単剤耐性菌, 2 薬剤耐性菌および 3 薬剤以上耐性菌の割合を図 1 に示した. これら耐性菌の薬剤耐性

型は血清型により著しく異なっており, 5 型菌 (87 菌株) はすべて TC 耐性であり, しかも TC 単剤耐性菌が 73.6% (64 菌株) と高率で, TC に CP あるいは SM が付加された 2 薬剤耐性菌, さらに SA が付加された 3 薬剤耐性菌の割合は 26.4% (23 菌株) と多剤耐性菌は低率であった. 次に, 2 型菌 (338 菌株) では SM, SA, TC および KM などの単剤耐性菌が 26.9% (91 菌株) であり, 2 薬剤耐性菌が 33.1% (112 菌株) を占め, 3 薬剤以上の耐性菌は 40.0% (135 菌株) であった. 2 型菌の薬剤耐性菌のなかで SA・SM 耐性菌は約 28% を占めていた. また, 8 型菌 (13 菌株) では単剤耐性菌は低率 (23.1%) で, TC・CP 耐性菌が 61.5% (8 菌株) を占めた. 反対に, 1 型菌 (432 菌株) では 3 薬剤以上の耐性型菌が 82.4% (356 菌株) と非常に高率で, SA・

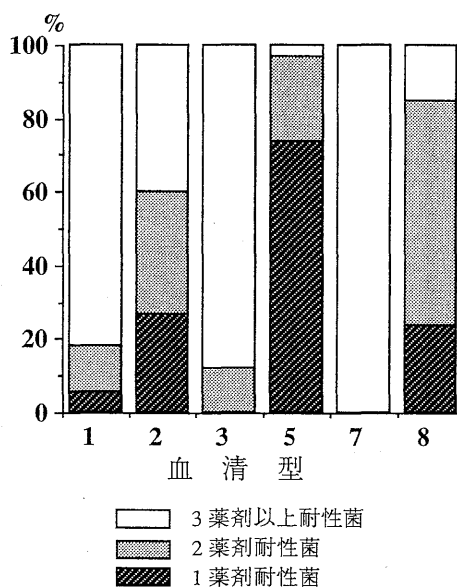


図 1 供試 *A. pleuropneumoniae* 血清型別の多剤耐性菌の割合

表 3 供試 *A. pleuropneumoniae* の血清型別の薬剤耐性菌の割合

血清型	分離菌株数	薬剤耐性菌株数 (%)
1	523	432(82.6)
2	757	338(44.6)
3	20	17(85.0)
5	90	87(96.7)
7	22	21(95.5)
8	21	13(61.9)
9	1	1(100)
12	7	6(85.7)
計	1,441	915(63.5)

表 4 供試 *A. pleuropneumoniae* の血清型・薬剤別の耐性菌の割合

血清型	薬剤耐性菌株数	耐性薬剤									
		SA ¹⁾	TC ²⁾	SM	FM	KM	CP	TP	PCG	ABPC	
1	432	383(88.7)	303(70.1)	344(79.6)	153(35.4)	153(35.4)	259(60.0)	235(54.4)	104(24.1)	113(26.2)	
2	338	261(77.2)	172(50.9)	231(68.3)	68(20.1)	87(25.7)	73(21.6)	53(15.7)	37(10.9)	34(10.1)	
3	17	15(88.2)	13(76.5)	9(52.9)	8(47.1)	12(70.6)	5(29.4)	3(17.6)	9(52.9)	14(82.4)	
5	87	11(12.6)	87(100)	8(9.2)			9(10.3)				
7	21	16(76.2)	19(90.5)	14(66.7)	2(9.5)	4(19.0)	2(9.5)	6(28.6)	19(90.5)	19(90.5)	
8	13		13(100)					8(61.5)	2(15.4)	2(15.4)	
9	1			1(100)							
12	6	6(100)	6(100)	6(100)			1(16.7)				
計	915	692(75.6)	613(67.0)	613(67.0)	231(25.2)	256(28.0)	349(38.1)	305(33.3)	171(18.7)	182(19.9)	

¹⁾ SDMX および SIX ²⁾ TC および OTC

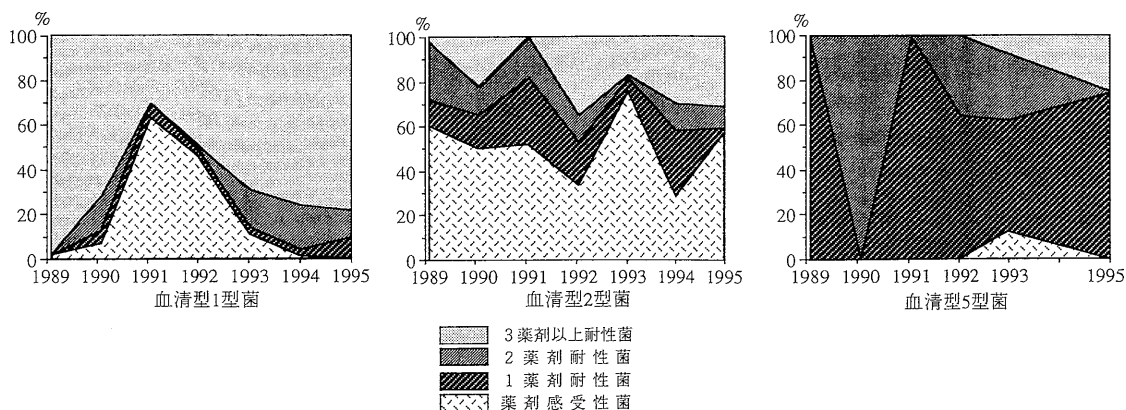


図2 供試 *A. pleuropneumoniae* 血清型1, 2, 5型菌の感受性菌と耐性菌の年次推移

TC・SM・FM・KM・TP・CP・PCG・ABPCおよびSA・TC・SM・TP・CPの2つの多剤耐性型を示した菌株の合計が約24% (104菌株)を占めていた。同様に3型菌 (17菌株)および7型菌 (21菌株)では、それぞれ3薬剂以上の耐性型菌が88%および100%を占めていた。

さらに、1989~1995年までの期間に分離菌株が多かった血清型、すなわち1型菌、2型菌および5型菌について薬剂感受性菌と耐性菌の割合の年次別推移を図2に示した。分離菌株が最も多かった2型菌では各年次とも約50%以上の菌株が感受性菌であったが、年次の経過とともに単剤と2薬剂耐性菌が減少し3薬剂耐性菌が増加する傾向にあった。1型菌では薬剂感受性菌の割合は1991年と1992年でそれぞれ約60%と45%を占め高率であったが、他の年次では低率であった。しかも、耐性菌の薬剂数は3薬剂以上が70%以上を占め、単剤と2薬剂の割合は非常に低率であった。いっぽう、5型菌では1989年から1991年までは単剤耐性菌あるいは2薬剂耐性菌のみであったが、1992年以降多剤耐性化の傾向を示し、1995年では約20%の菌株が3薬剂耐性菌であった。

考 察

わが国で高頻度に分離される *A. pleuropneumoniae* の血清型は当初、2型菌であった [9, 11, 17] が、1986年以降5型菌 [7] や1型菌 [5, 16] による胸膜肺炎の発症例も多く見られるようになった。さらに、最近では8型菌による発症例も報告されている [14]。今回、1989~1995年に胸膜肺炎から分離された *A. pleuropneumoniae* の血清型は2型菌が最も高率であり、これまでの多くの報告と同様な傾向にあった。しかし、1990年以降1型菌や5型菌の割合が著しく増加した。特に、1型菌の増加は、1型菌による胸膜肺炎発症例の報告 [5, 16] がみられ

るようになったことと一致していた。また、少数ではあるが3型、7型、8型、9型、12型などの血清型菌も分離された。このようなことから、今後、これら血清型菌による胸膜肺炎の多発症も危惧される。

いっぽう、薬剂耐性 *A. pleuropneumoniae* は、従来非常に低率であったが、近年、サルファ剤やペニシリン系、テトラサイクリン系、アミノ配糖体などの抗生物質およびチアムフェニコールなど多くの薬剂に対する耐性菌が報告されるようになった [1, 2, 16, 18, 20]。今回1989~1995年の7年間に分離された *A. pleuropneumoniae* のうち63.5%が供試薬剂のいずれかに耐性であった。さらに、血清型別の薬剂耐性菌の割合は2型菌が44.6%と最も低率で、次いで8型菌の61.9%であったが、1型、3型、5型および7型はいずれも約80%以上が薬剂耐性菌であった。また、血清型により薬剂耐性率や薬剂耐性型が著しく異なっていた。このような血清型と薬剂耐性率や薬剂耐性型との関連性については、これまでの報告 [1, 6, 18, 20] と同様であった。しかし、今回の7年間の試験結果から、同一血清型菌でも分離年次あるいは分離された地域 (養豚場) により薬剂感受性や薬剂耐性型が異なっていた。一般的には薬剂耐性菌の出現は抗菌剤の使用と密接に関連しているものと考えられる。しかし、わが国で非常に分離率が低く、しかも特定の地域 (養豚場) に限定された分離菌がほとんど薬剂耐性であったという事実は、豚の生体輸入によって薬剂耐性 *A. pleuropneumoniae* が国内へ持ち込まれた可能性を示唆する。

いずれにしても、近年、胸膜肺炎例から分離される *A. pleuropneumoniae* は、血清型の多様化、さらには、薬剂耐性化の傾向にあり、本症の予防、治療のための薬剂の選択に当たっては、その農場で流行している菌株の血清型あるいは薬剂感受性を把握することが重要である。

本試験の実施にあたり、胸膜肺炎材料の採取あるいは菌株の

分離に協力いただいた明治製菓(株)生物産業事業部およびCRセンター、日清製粉(株)中央研究所検査センター、SMC(株)およびジービーラボラトリーズ(株)の関係各位に感謝する。

引用文献

- [1] Asawa T, Kobayashi H, Mitani K, et al : J Vet Med Sci, 57, 757-759 (1995)
- [2] 福安嗣昭, Sakpauramu T, 齊藤慶子, 他 : 日獣会誌, 44, 11-16 (1991)
- [3] Gunnarsson A, Biberstein EL, Hurvell B : Am J Vet Res, 38, 1111-1114 (1977)
- [4] Gunnarsson A, Hurvell B, Biberstein EL : Am J Vet Res, 39, 1286-1292 (1978)
- [5] 早川祐二, 小前博文, 井出久義, 他 : 日獣会誌, 44, 790-795 (1991)
- [6] 市川 隆, 中西俊明, 小林弘志, 他 : 日獣会誌, 47, 353-356 (1994)
- [7] 岩松 茂, 森尾 篤, 毛利 卓, 他 : 日獣会誌, 39, 374-377 (1986)
- [8] 家畜の耐性菌研究会 : 日獣会誌, 29, 90-92 (1976)
- [9] Kawahara K, Asano M, Nakai T, et al : Jpn J Vet Sci, 51, 359-363 (1989)
- [10] Kume K, Nakai T : Jpn J Vet Sci, 50, 589-591 (1988)
- [11] Kume K, Nakai T, Sawada A : Jpn J Vet Sci, 46, 641-647 (1984)
- [12] Mittal KR, Higgins R, Lariviere S : J Clin Microbiol, 15, 1019-1023 (1982)
- [13] Mittal KR, Higgins R, Lariviere S : J Clin Microbiol, 17, 787-790 (1983)
- [14] 中里雅臣, 吉田ひろみ, 真山 隆, 他 : 日獣会誌, 47, 394-397 (1994)
- [15] Nielsen R : Acta Vet Scand, 27, 453-455 (1986)
- [16] 岡崎好子, 稲毛幹雄, 村上寛史, 他 : 日獣会誌, 44, 581-586 (1991)
- [17] Sakpauram T, Fukuyasu T, Ashida K : Jpn J Vet Sci, 51, 1279-1281 (1989)
- [18] Suzuki S, Ohmae K, Ohishi K, et al : Jpn J Vet Sci, 51, 450-452 (1989)
- [19] Suzuki S, Takahashi T, Muramatsu M, et al : Jpn J Vet Sci, 50, 1264-1267 (1988)
- [20] 山本孝史 : 家畜抗菌研報, 10, 16-20 (1989)

Serotypes and Antimicrobial Susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Isolated from Pigs with Pneumonia

Tsuguaki FUKUYASU*, Keiko SAITO and Kiyomi ASHIDA

* School of Veterinary Medicine, Azabu University, 1-17-71 Fuchinobe, Sagamihara 222, Japan

SUMMARY

A total of 1,441 isolates of *A. pleuropneumoniae* from swine pneumonic lungs collected during 1989 to 1995 were examined for serotypes and susceptibility to antimicrobial agents. Of the 1,441 isolates, 757 (52.5%) and 523 (36.3%) were of serotypes 2 and 1, respectively, while 90 (6.2%), 22 (1.5%), 21 (1.5%) and 20 (1.4%) isolates were of serotypes 5, 7, 8, and 3, respectively. The remaining 7 (0.5%) and 1 isolates were of serotypes 12 and 9. In 1990 and 1991, the isolation rate of serotype 2 were lower and that of serotype 1 were higher. All the isolates were highly sensitive to spiramycin, kitasamycin, erythromycin, lincomycin, novobiocin and colistin, whereas 915 (63.5%) were resistant to some drugs. The resistant isolates were 338 (44.6%) of 757 of serotype 2, 13 (61.9%) of 21 of serotype 8, and most isolates of serotypes 1, 3, 5, 7, 9 and 12.

—Key words : *A. pleuropneumoniae*, antimicrobial susceptibility, serotype.

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 49, 528~532 (1996)