豚の早発性大腸菌症および白痢由来大腸菌の ゲンタマイシンに対する薬剤感受性

石川邦生* 黒田博之* 本郷平八郎* 鈴木和友*

(昭和 59 年 3 月 16 日受理)

Sensitivity to Gentamicin of *Escherichia coli* Strains Isolated from Porcine
Neonatal Colibacillosis and Pig Scours
KUNIO ISHIKAWA et al. (Tobu Livestock Hygiene Service Center,
Prefecture of Toyama, Toyama 930)

SUMMARY

Escherichia coli strains, including toxigenic ones, isolated from piglets affected with neonatal colibacillosis and scours were all sensitive to gentamicin at an MIC ranging from 0.78 to 3.13 $\mu\text{g/ml}$ when examined by the agar plate dilution method. The antibacterial power of gentamicin was stronger than that of ampicillin, kanamycin, or oxytetracycline and almost as strong as that of colistin. Judging from drug sensitivity, gentamicin was presumed to be effective against porcine colibacillosis.

要 約

1981 年 10 月から 1982 年 12 月にかけて分離した豚の早発性大腸菌症および白痢由来大腸菌のゲンタマイシンに対する薬剤感受性を寒天平板希釈法によって測定した。

同時に、カナマイシン、アンピシリン、オキシテトラサイクリン、コリスチンおよび ST 合剤に対する感受性を測定し、ゲンタマイシンの抗菌力測定の参考とした。

その結果、毒素原性大腸菌を含むすべての株が、ゲンタマイシンに対して MIC 値 0.78~3.13 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で感受性を示し、他の薬剤に対する耐性獲得の有無にかかわらず、耐性株は全く認められなかった。

ゲンタマイシンの抗菌力は、カナマイシン、アンピシリン、オキシテトラサイクリンよりも強く、コリスチンとほぼ同程度の値を示した。

したがって、薬剤感受性の面からみると、ゲンタマイシンが豚の大腸菌症に有効であることが示唆された。

豚の大腸菌症の発生は、今なお多くの養豚場にみられ、これによる死亡や発達遅延が畜産経営上の大きな損失となっている。

これに対し、消毒を基本とした飼育環境の改善による、本症の予防対策が定着しつつはあるが、抗菌剤の投与による予防・治療が主として行われている。

いっぽう、分離される豚由来大腸菌は、とくに抗菌剤に対する多剤耐性株が高頻度に出現しており、豚の大腸菌症の化学療法時の薬剤選択に困難をきたしている。

そこで、著者らは畜産分野では使用経験がきわめて少

ないが、グラム陰性桿菌に対し、強い抗菌力をもつとされているゲンタマイシンの有効性について、早発性大腸菌症および白痢発症豚から分離した大腸菌株を用いて、薬剤感受性の面から検討したので報告する。

1. 材 料 と 方 法

1) 供 試 菌 株

表 1 に示したとおり、早発性大腸菌症および白痢発症豚から分離した大腸菌、それぞれ 31 株と 90 株の合計 121 株を供試した。

早発性大腸菌症由来株は、1981 年 10 月から 1982 年 12 月にかけて、死亡ならびに病性鑑定のため屠殺した

* 富山県東部家畜保健衛生所 (富山市水橋金尾新 46)

表1 供 試 菌 株

由 来	農場	豚 No.	日 齢	死 殺	分離部位	毒素原性		K88 線毛抗原	菌株数
						LT	ST		
早発性大腸菌症	A	1	2	死	脳	—	+	+	5
					肺	—	+	+	2
		2	2	殺	肺	—	—	—	1
		3	2	殺	腸内容	—	+	+	2
					腸内容	—	+	—	1
					心	+	—	—	4
	B	4	3	死	肺	—	—	—	1
					腸内容	—	—	—	1
	C	5	3	死	脳	+	—	—	4
		6	1	死	腸内容	+	—	—	8
					腸内容	—	—	—	2
白 痢	D~L	1~18	10~30		白痢便	—	—	—	90

注) LT: 易熱性毒素 ST: 耐熱性毒素

1~3日齢の哺乳豚(3農場6頭)の脳・心・肺および腸内容から分離したものをを用いた。

また、白痢由来株は1982年11月から12月にかけて、9農場で発生があった10~30日齢の子豚の白痢便から分離したもので、1農場当たり2頭から10株を供試した。

なお、供試菌は常法¹²⁾に従って大腸菌と同定し、毒素原性およびK88線毛抗原の検査は、LT産生能については市販(デンカ生研)のコレラー大腸菌エンテロキシン検出用キットを用いた逆受身ラテックス粒子凝集反応により、ST産生能はDEAN¹³⁾らの幼若マウス胃内投与法によった。

また、K88線毛抗原は塩野義製薬で作製されたK88抗血清を用い、スライド凝集反応によった。

2) 供 試 薬 剤

供試薬剤は、ゲンタマイシン(GM)の純末精製品を用いた。

さらに、対照薬剤としてカナマイシン(KM)、アンピシリン(AB—PC)、オキシテトラサイクリン(OTC)、コリスチン(CL)およびST合剤の各々純末精製品を用いた。

なお、ST合剤はスルファメトキサゾールとトリメトプリムを20:1の割合で混合したものを使用した。

3) 薬 剤 感 受 性 試 験

日本化学療法学会標準法⁹⁾に準拠して、寒天平板希釈法により最少発育阻止濃度(MIC)を測定した。

なお、ST合剤のMIC測定は、スルファメトキサゾールとトリメトプリムの感受性測定法²⁾に準拠し、7.5%溶血馬血液加ミューラーヒントン培地を使用した。

2. 成 績

各薬剤の供試菌に対するMIC値の分布を表2に示し

た。

GMのMIC値は0.78~3.13 μ g/mlの範囲であり、全供試菌株が本剤に対して高い感受性を有していた。すなわち、121株中41株(33.9%)が0.78 μ g/ml、67株(55.4%)が1.56 μ g/mlおよび13株(10.7%)が3.13 μ g/mlのMIC値を示しており、MIC値1.56 μ g/mlをピークとする1峰性の感受性パターンを示した。

いっぽう、KM、AB—PCおよびOTCに対する感受性分布は2峰性を示した。すなわち、これら各薬剤に対してMIC値50 μ g/ml以上を示し、耐性株と判定される菌株が、それぞれの薬剤で39株(32.3%)、19株(15.7%)および76株(62.8%)に認められた。

しかし、これら耐性株においても、GMに対してはすべて感受性であった。

他方、CLに対しては大部分の菌株がMIC値0.78 μ g/mlであり、耐性株は検出されなかった。

また、ST合剤では0.39~12.5 μ g/mlと広いMIC値の分布を示したが、大部分の供試菌株のMIC値は6.25 μ g/ml以下であり、本剤に対して感受性と判定された。

なお、供試菌株のSTまたはLT産生能およびK88線毛抗原の有無とGMに対する感受性との間には、一定の関係は認められなかった。

3. 考 察

近年、豚由来大腸菌において、薬剤耐性株が高頻度に出現していることは、多くの報告により明らかにされている^{4,5,6,11,15,17,18)}。

永井⁹⁾は、1975年に全国より集められた豚由来大腸菌841株について調査し、薬剤耐性株がテトラサイクリンで78%、ストレプトマイシン77%、KM59%、サルファ剤98%、AB—PC9%であったと報告している。

表2 早発性大腸菌症および白痢由来大腸菌 121 株の各薬剤に対する感受性

薬剤名	MIC [μg (力価)/ml]											
	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
GM				18 ^(S.7) 23 ^(L.8)	13 ^(S.3) 54 ^(L.3)	13						
KM					2	53	14	1		2(S.1)	2(S.2)	15 ^(S.6) 20 ^(L.7)
AB-PC					6	37	34	3				9(S.8) 10
CL			1(S.1)	30 ^(S.9) 82 ^(L.16)	8							
OTC							11(L.9)					20 ^(S.10) 44 ^(L.7)
							24	10		10	2	
ST 合剤				13(L.11)	7(L.5)	10(S.10)		1				
		1		23	5	2	44	15				

注) 上段: 早発性大腸菌症由来 31 株 下段: 白痢由来 90 株
() 内の S は ST 産生株数, L は LT 産生株数を表わす

このことは、大腸菌に起因した疾病の化学療法時の有効薬剤の選択が、困難になってきていることを示している。

事実、これらのことは臨床の場においては少なからぬ影響を与えている。

いっぽう、今回供試した GM は、WEINSTEIN ら¹⁹⁾によって報告されたアミノグリコシド系抗生物質の一つであり、医学分野においては、緑膿菌感染症に広く応用されている。また、本剤は緑膿菌ばかりでなく、他のグラム陰性桿菌、とくに多数の常用化学療法剤に耐性を示す菌にも、強い抗菌力をもつことから、豚の大腸菌症の治療薬としてもその有効性が推定されるものの一つである。

他方、豚由来大腸菌の本剤に対する感受性を検討した報告は 2、3 みられるが、寺門ら¹⁷⁾は、1970 年に豚由来 385 株、牛由来 136 株、健康人由来 416 株の大腸菌を用いて、GM に対する感受性を測定し、いずれも MIC 値 1.56~12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲に分布し、豚由来株は 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をピークとする 1 峰性を示したとしている。

また、1979 年に高橋ら¹⁸⁾は、鶏、牛、豚の大腸菌症に由来する 98 株の本薬剤に対する感受性について、さらに 1983 年に大前ら¹⁰⁾が、肥育豚の直腸便から分離した大腸菌 576 株の、本薬剤に対する感受性を調査し、それぞれ GM に対する耐性株がみられなかったことを報告している。

しかし、彼らの報告は主として健康豚由来株を用いた成績であり、化学療法上より重要と考えられる病豚由来

株のそれについては明らかにされていない。

そこで、今回著者らは、毒素原性大腸菌を含む病豚由来株を用いて、これら菌株における GM の感受性を検討したところ、他の薬剤に対する耐性獲得の有無にかかわらず、その MIC 値は 0.78~3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲にあり、本薬剤の耐性限界値が MIC 値 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であること²⁰⁾からみて、すべて感受性株と判定された。

このことは、GM が *in vitro* においては、現在分離される豚由来耐性大腸菌に対し、有効な薬剤となることを示唆している。

いっぽう、GM は医学領域では 1968 年にその承認がなされたが、1975 年には GM 耐性株出現に関する報告がなされている^{13,14)}。

また、1976 年に小酒井および小栗²¹⁾は、人の各種臨床材料から分離した大腸菌、*Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus morganii*, *Proteus rettgeri* および緑膿菌に、GM 低感受性株または耐性株が低率ではあるが存在していることを報告している。

さらに、彼らは GM 耐性株の出現率は病院により差があること、また、これらの差は各病院における GM 使用量などの影響であろうことも指摘している。

これらのことは、現在豚由来大腸菌においては、GM 耐性菌が検出されていないが、今後、本物質の使用頻度との関連で、GM 耐性大腸菌が出現する可能性がきわめて強いことを示している。

したがって、GM の畜産領域での使用にあたっては、

採 卵 鶏 の 封 入 体 肝 炎

今後ともその有効性を保つ上からも、GM耐性株の出現を極力避けるために、とくに慎重かつ限定的に使用する必要性のあることが示唆された。

終わりに、ご指導賜わった農林水産省動物医薬品検査所の大前憲一技官、ならびに薬剤および抗血清を提供された塩野義製薬株式会社に深甚なる謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) DEAN, A. G., CHING, Y. C., WILLIAMS, R. G., et al.: *J. Infect. Dis.*, 125, 407~411 (1972).
- 2) 藤井良知, ほか: *Chemotherapy*, 21, 67~74 (1973).
- 3) グラム陰性桿菌感染症研究会: *Chemotherapy*, 15, 581~587 (1967).
- 4) 金井 久, 五十嵐丈人, 池 康嘉, ほか: 第 89 回日獣学会講演要旨, 108 (1980).
- 5) 金井 久, 鈴木 要, 清水 健: 日獣会誌, 34, 62~67 (1981).
- 6) 河本治郎, 和田栄一, 吉田 勉: 獣医畜産新報, 660, 430~432 (1976).
- 7) 小酒井 望, 小栗豊子: *Jpn. J. Antibiotics*, XXIX—3, 229~236 (1976).
- 8) 三橋 進, ほか: *Chemotherapy*, 29, 76~79 (1981).
- 9) 永井 裕: モダンメディア, 22, 229~236 (1976).
- 10) 大前憲一, 中村政幸: 動薬研ニュース, 65, 1~7 (1983).
- 11) 阪野哲也, 永井 裕, 遠藤典夫: 第 83 回日獣学会講演要旨, 41 (1977).
- 12) 坂崎利一: 腸内細菌(Ⅲ)各論(2)第 2 版, 近代出版, 東京(1980).
- 13) 島田 馨, 稲松孝思, 紺野昌俊, ほか: *Chemotherapy*, 23, 2599~2604 (1975).
- 14) 島田 馨, 稲松孝思: *Chemotherapy*, 23, 994~996 (1975).
- 15) 鈴木 要, 五十嵐丈人: モダンメディア, 22, 237~247 (1976).
- 16) 高橋 進, 吉田孝治, 高橋欽也: 第 88 回日獣学会講演要旨, 125 (1979).
- 17) 寺門誠致, 畦地速見, 前田博之, ほか: 日獣会誌, 25, 295~301 (1971).
- 18) 渡辺 満, 石原文之, 中瀬安清, ほか: 第 87 回日獣学会講演要旨, 95 (1979).
- 19) WEINSTEIN, M. J., LUEDEMANN, G. M., ODEN, E. M., et al.: *J. Med. Chem.*, 6, 463~464 (1963).

採 卵 鶏 の 封 入 体 肝 炎

渡辺義計* 菊畑正喜* 長江勘次郎*

(昭和 59 年 3 月 16 日受理)

Inclusion Body Hepatitis in Laying Hens

YOSHIKAZU WATANABE et al. (Animal Hygienic Laboratory, Hayashi Yakuhin Co., LTD. Okudahonmachi, Okayama 700)

SUMMARY

A disease which could be diagnosed as inclusion body hepatitis (IBH) was found among laying hens examined at a diagnostic laboratory in Okayama over a period from August, 1976, to January, 1978. Hens 63~100 days old began to suffer from anemia. Hematocrit value was less than 20% in 90% of them. Death occurred within several days. Pathologically, adiposis was noticed in hepatic cells and bone marrow and atrophy in the lymphatic apparatus of the thymus and the bursa of Fabricius at a high frequency. Hepatic inclusion bodies were found in some cases.

Virus was isolated from the livers containing inclusion bodies and other organs. When a chicken kidney cell culture inoculated with it was stained with acridine orange-nucleic acid, it was confirmed to contain green inclusion bodies by fluorescent microscopy and adenovirus particles by electron microscopy. It was presumed that adenovirus might induce inclusion body hepatitis in laying hens, as well as in broilers.

要 約

1976 年 8 月から 1978 年 1 月に至る間、岡山県下で飼育されていた採卵鶏を病性鑑定したところ、封入体肝炎 (IBH) と診断できるものがあった。

* 林薬品(株)家畜衛生研究所 (岡山市奥田本町 8-7)