

〔他誌掲載論文の抄録〕

日本における家畜バイオマス重量あたりの抗菌剤使用量の評価 —細井らの方法と EU の方法による評価結果の比較—

松田真理¹, Nigel C. L. Kwan¹, 川西路子, 小池良治, 杉浦勝明¹

薬剤耐性菌の問題は現在世界的な課題となっており, 新たな耐性菌の出現と伝播を抑えるために各国において耐性菌の出現と抗菌剤の使用量の把握が求められている. EU では家畜バイオマス重量の一種である Population Correction Unit (PCU) 当たりの販売量を計算し国間比較を行っている. 本研究では 2005 年から 2013 年の農水省公表データを用い, 畜種別の抗菌剤販売量を算出し, 日本の家畜バイオマス重量については PCU を含む 2 つの方法で計算し, 最終的に PCU または家畜バイオマス重量当たりの有効成分販売量を算出し, 年次間・畜種間の比較を行った. 日本の家畜に対する抗菌剤総販売重量は調査した期間中大きな変化はなく, 多く用いられている薬剤はテトラサイクリン系, サルファ剤などであり, 最も多く投与されていた畜種は豚であった. 家畜バイオマス重量はいずれの評価法でも調査期間中その総量と畜種別の割合に大きな変化は見られなかったが, 2 つの方法を比較すると総重量および畜種別構成割合には差がみられた. 2005 年から 2013 年の PCU 当たりの年間有効成分販売量は, 全畜種平均では 210~238 mg/kg であった. 畜種別では豚での使用が最も多く 442~499 mg/kg であり, ブロイラーでは 87~124 mg/kg, 乳用牛では 45~74 mg/kg, 肉用牛では 40~64 mg/kg であった. これまでのところ農林水産省の耐性菌の調査では耐性菌の明らかな増加は認められていないが, 今後も慎重使用を促進する必要がある. 家畜の抗菌剤への暴露の度合いをできる限り正確に評価する方法について引き続き検討し, 使用量のモニタリングを実施することが重要と考える.

(家畜衛生学雑誌 2017 年第 42 巻第 4 号)

¹ 東京大学大学院農学生命科学研究科農学国際専攻国際動物資源科学研究室

健康家畜由来大腸菌におけるコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* と *mcr-2* の分布

川西路子 阿保均, 小澤真名緒, 内山万利子, 白川崇大, 嶋綾香¹, 鈴木里和¹, 山下明史¹, 関塚剛史¹, 加藤健吾¹, 黒田誠¹, 小池良治, 木島まゆみ

コリスチン (CL) は, 国内では動物用医薬品及び飼料添加物として 40 年以上使用されている. 一方, 人では, 腎機能障害, 神経毒性などの副作用が強いため, 1997 年以降ほとんど使用されていなかったが, 近年多剤耐性緑膿菌感染症などの治療のために注射剤の使用が再開され, 食品安全委員会での抗菌性物質の重要度のランク付けがきわめて高度に重要な抗菌性物質と変更された. さらに昨年 CL 耐性機構としては初のプラスミド性の薬剤耐性遺伝子である *mcr-1* が中国で報告され, 急速に伝播拡大するおそれが WHO より指摘されている. そこで, 動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARM) で収集した健康家畜由来大腸菌の CL 耐性率の調査及び *mcr-1* 及び *mcr-2* の有無の確認を行った. JVARM で 2000~2014 年度に収集した 9,306 株の菌株について CLSI 法により CL の感受性試験を実施した. MIC2 μ g/mL 以上の株について Liu ら及び Xavier らの PCR 法により *mcr-1* 及び *mcr-2* をそれぞれ検出した. また, 伝達試験は白井らの broth-mating 法により実施した. 伝達株のプラスミドのレプリコン型は Lv らの PCR 法で決定した. *mcr-1* は 2008 年以降の肉牛, 豚, 肉用鶏由来株それぞれ 5, 20, 14 株から検出された. *mcr-2* はいずれの株からも検出されなかった. *mcr-1* を保有する全 39 株のうち 8 株で伝達株が作出され, プラスミドのレ

プリコン型別は、いずれの株も中国及び国内でこれまで報告されている IncI2 であった。一方、薬剤耐性率はいずれの年も 1%以下であり、MIC2 μ g/mL 以上の株の割合も増加傾向が認められなかった。国内では現在のところ人での *mcr-1* 検出報告もなく、家畜での CL の薬剤感受性上昇傾向は認められていないが、今後も *mcr-1*、*mcr-2* 及び CL 耐性について重点リスクとしてモニタリングを継続していく必要がある。

(Prevalence of colistin resistance genes *mcr-1* and absence of *mcr-2* in *Escherichia coli* isolated from healthy food producing animal in Japan. Antimicrob Agents Chemother.27,61,1,2017)

1 国立感染症研究所

次世代シーケンスを用いた日本におけるヒトおよび鶏由来 *Campylobacter jejuni* の分子疫学的解析

大石貴幸¹、青木弘太郎¹、石井良和¹、臼井優²、田村豊²、川西路子、大西賢治³、舘田一博¹

日本における 2007 年から 2014 年の期間に検出されたヒトおよび鶏由来 *Campylobacter jejuni* を対象として、抗菌薬感受性と遺伝学的関連性について検討することを目的とした。各種抗菌薬感受性、multilocus sequence typing (MLST)による主要 sequence type (ST) および ST complex、各種抗菌薬耐性因子をコードする遺伝子の保有状況および lipooligosaccharide biosynthesis loci class (LOS locus class) について解析し、それらの関連性について検討した。その結果、ヒトおよび鶏由来株ともに ST-21 complex が主要クローンであり、これらの菌株は imipenem、chloramphenicol および erythromycin に耐性を示さず、ampicillin と streptomycin 耐性株の検出頻度は低く tetracycline、ciprofloxacin および nalidixic acid に対しては 38-49%が耐性を示した。全鶏由来株で quinolones に耐性を示した 38 株のうちの 37 株は GyrA 86 位 threonine から isoleucine (T86I) のアミノ酸変異を有していた。一方全ヒト由来株のうち nalidixic acid および ciprofloxacin に耐性を示した各々 47 株中 16 株、および 48 株中 17 株では GyrA T86I アミノ酸変異が検出されなかった。ST-21 complex に属するヒト由来株は、LOS locus class A、B、C、D および E に、鶏由来株は 1 株を除き LOS locus class C および D に分類された。

日本におけるヒトおよび鶏由来 *C. jejuni* は共通する遺伝的背景を有する菌株が認められた一方で、一部のヒトおよび鶏から分離された菌株において、薬剤感受性成績と薬剤耐性遺伝子保有の関連性、および ST と LOS locus class 分類に差異が認められた。(Molecular epidemiological analysis of human- and chicken-derived isolates of *Campylobacter jejuni* in Japan using next-generation sequencing. Journal of Infection and Chemotherapy,23, 3, 165-172, 2017)

1 東邦大学医学部

2 酪農学園大学獣医学部

3 東京都立墨東病院 感染症科

日本における慢性型及び亜急性型豚丹毒から分離された Met-203 型 SpaA を有する豚丹毒菌の性状

内山万利子、嶋崎洋子、小嶋明美、平野文哉、山本欣也、木島まゆみ、永井英貴

豚丹毒菌の主要な感染防御抗原である SpaA の高度可変領域における 203 番目アミノ酸に Met を有する株 (Met-203 型株：血清型 1a 型) が国内で多数分離されている。そこで、経済的損失の大きい亜急性型及び慢性型由来株における Met-203 型株の分布を調査するために本領域を解析し、マウス及び豚に対する病原性を確認した。2007～2014 年に分離された慢性型及び亜急性型豚丹毒菌野外株 80 株を供試株として、長井らの方法により SpaA の高度可変領域を解析し、一部の Met-203 型株及び新たな配列を有する株についてマウス LD₅₀ を調べた。また、関節炎由来 Met-203 型株について豚を用いた攻撃試験を実施した。解析の結果、Met-203 型株は 14 株分離され、慢性型にも浸潤していることが確認された。また 242 番目に Asp を有する Met-203 型株 (Met-203/Asp-242 型株) 3 株が新たに確認された。Met-203 型株 7 株、Met-203/Asp-242 型株 3 株のマウス LD₅₀ はそれぞれ 0.3～1.33、0.81～1.24 であった。攻撃試験において、接種豚は発熱、全身性発疹及び跛行等を呈した後、回復したことから、急性敗血症を引き起こす Met-203 型豚丹毒菌だけでなく、慢性型豚丹毒の関節炎型を引き起こす Met-203 型豚丹毒菌が国内に存在することが確認された。

(Pathogenic characterization of *Erysipelothrix rhusiopathiae* Met-203 type SpaA strains from chronic and subacute swine erysipelas in Japan, 2016, J. Vet. Med. Sci., 79(1):18-21 英文)

寒天ゲル内沈降反応により血清型が型別不能であった豚胸膜肺炎菌の血清型再解析

守岡綾子、嶋崎洋子、内山万利子、鈴木祥子

豚胸膜肺炎菌において、寒天ゲル内沈降反応により血清型が型別不能となる株が増加した。血清型を再解析するために 47 株について迅速スライド凝集反応及びマルチプレックス PCR により血清型の再解析を行った。その結果、25 株が血清型 1 型、20 株が血清型 2 型、2 株が血清型 15 型に分類された。寒天ゲル内沈降反応で型別不能となった原因を調べるために、抗原抽出温度の影響を検討した。再解析により血清型 2 型に分類された株は、抗原抽出温度の影響を受けなかったが、血清型 1 型及び 15 型に分類できた株の抗原は、抗原抽出温度の影響を受けることがわかった。次に、抗原性と遺伝子型の関係を調べるために PFGE 解析を行った。再解析により血清型 2 型に分類された株の優勢な PFGE パターンは、寒天ゲル内沈降反応で血清型 2 型と分類された株の優勢な PFGE パターンと同一であった。これより血清型 2 型と再解析により血清型 2 型に分類された株の抗原性に違いは、PEGE パターンに反映しないことが示唆された。

(Serotyping reanalysis of unserotypable *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates by agar gel diffusion test. J. Vet. Med Sci. 2016. 78(4) 723-725. 英文)

家畜由来大腸菌における第3世代セファロスポリンに対する薬剤感受性調査および分子遺伝学的解析に関する研究

比企 基高

第3世代セファロスポリン (TGC) はヒト用のみならず牛および豚用の動物用医薬品としても承認され、使用されている。家畜由来細菌の薬剤耐性モニタリング (JVARM, Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System) では、1999年から家畜におけるTGCに対する耐性状況のモニタリングを開始しており、1999年から2002年に分離された家畜 (牛、豚、採卵鶏および肉用鶏) 由来の大腸菌のうち、TGCが承認されていない肉用鶏から分離された大腸菌において、TGCに対する耐性株が認められたことを報告した。そこで本研究は、(1) 2004年から2009年に収集された家畜由来大腸菌におけるTGC耐性大腸菌の推移を調べるとともに、耐性菌の分子遺伝学的解析を行い、(2) TGCが承認されていない肉用鶏にTGC耐性大腸菌が出現した要因を、農場における抗菌性物質使用歴およびTGC耐性大腸菌に認められる特徴から調べ、(3) 農場以外の要因が農場の肉用鶏由来大腸菌のTGC耐性に与えた影響を調べた。

(Investigation into factors affecting the emergence of resistance to third generation cephalosporins among Escherichia coli isolates from livestock in Japan、麻布大学)

日本における馬破傷風抗毒素標準品 (動物用) の確立について

平野文哉、今村彩貴、佐々木貴正、瀧川義康、澤田章、山本明彦、内山万利子、嶋崎洋子、小島明美、永井英貴

動物医薬品検査所 (NVAL) 馬破傷風抗毒素標準品を確立するため、標準品候補の抗毒素を作成した。品質管理試験として、水分量、真空度、色調、透明度、および異物の有無を確認し、計115本を標準品とした。

候補品の抗毒素力価を推定するために、3箇所の実験室にて既存の抗毒素標準品を基にした平行線定量を行った。その結果、推定力価は38IUから42IUであった。作成直後のバイアルと製造から2年後のバイアルの試験データを比較したところ、力価に差は認められなかった。実験室間の変動係数は3.2%であり、実験室内の変動係数は2.4-3.1%の範囲であった。以上の結果より、抗毒素標準品の力価は、40単位/バイアル (1ml) と決定された。この抗毒素標準品は、国内初の馬の破傷風抗毒素の標準品として2015年9月に配布が開始された。

(Establishment of an equine tetanus antitoxin reference standard for veterinary use in Japan Biologicals Volume 44, Issue 5, September 2016, Pages 374-377. 英文)
