

## 薬剤耐性菌発現状況調査の検査成績とその有効活用に向けて

紀北家畜保健衛生所  
○豊吉久美 亀位 徹  
山田陽子 鳩谷珠希

### 【目的】

家畜衛生分野での薬剤耐性モニタリング体制(JVARM)の一環として、全国的な薬剤耐性菌発現状況調査(以下本調査)が行われている。和歌山県もその初年度平成12年度より毎年参加しており、平成25年度で第5クールを終えた。参加各都道府県で年1~2菌種が割り振られ、この調査により全国的な薬剤耐性についてデータを蓄積し抗菌性物質のリスク評価の基礎資料となっている。しかし、本調査は調査対象が農家1戸につき健康家畜1頭羽ということ、JVARMのとりまとめがあり検査結果がすぐに確定しないなど諸処の事情により今まで検査成績のフィードバックを行っていなかった。そこで、今までの成績をまとめるとともに、活用法について検討したので報告する。

### 【検査対象及び方法】(図1、2)

第1・2クール(平成12~19年度)は調査菌種や検査方法の変更等があり本調査の基礎と捉えており、今回は第3~5クール(平成20~25年度)を対象とし、大腸菌のみ第2クールを加え解析を行った。対象菌種は薬剤感受性指標細菌として大腸菌(Ec)と腸球菌(En)、食品媒介性病原細菌としてカンピロバクター(Ca)で、和歌山県はEcが平成16、20、22、24年度、Caが平成21、23、25年度、Enが平成20、22、24年度に実施した。検査材料は各菌種とも肥育牛(B)、肥育豚(P)、採卵鶏(L)、ブロイラー(C)各2~6農家を選定した。選定数はその年度で指定された数に従った。1農家につき健康家畜糞便1検体で原則として菌2株を分離した。細菌の分離・同定・薬剤感受性試験及び解析法については、農林水産省動物医薬品検査所でその年度で指定された方法に従った。薬剤感受性試験法は平成15~21年度はCLSI(臨床検査標準協会:旧NCCLS)提唱の寒天平板希釈法、平成22年度からは同じくCLSI提唱のマイクロプレートによる微量液体希釈法で実施した。この2法は相関性が認められているため結果については同じものと見なされる。検査薬剤数はその年度・菌種により8~13種類実施した。結果については、得られた最少発育阻止濃度(MIC)を耐性限界値(ブレイクポイント)により感受性(S)、耐性(R)と判定しその割合で耐性率とした。また、2種以上の薬剤に耐性を示した株を多剤耐性とした。

### 【結果 1】

Ec の分離菌あたりの耐性株数は B45 株中 17 株、P22 株中 10 株、L28 株中 12 株、C32 株中 26 株であった。Ca の菌分離率は B28.6%、P57.1%、L53.8%、C 分離なし、分離菌あたりの耐性株数は 6 株中 5 株、P4 株中 4 株、L7 株中 2 株であった。En の分離菌あたりの耐性株数は B34 株中 13 株、P12 株中 9 株、L18 株中 13 株、C19 株中 14 株であった。耐性菌全体での多剤耐性は 83 株 (66.4%) で、2~3 種の耐性を持つ株が多く最多で 9 薬剤に耐性を示す株があった。また、C の Ec に多剤耐性が多かった (図 3)。

### 【結果 2】

薬剤耐性率について菌種・家畜種で成績をまとめ、全国の耐性率と比較した。オキシテトラサイクリン (OTC) で Ec、Ca がともに 44.4%、En32.5%、家畜別では Ec の C、Ca の P と L、En の C で高い耐性率を示した (表 1)。アンピシリン (ABPC) で Ec25.2%、Ca17.6%、家畜別では Ec の C、Ca の P で高い耐性率を示した (表 2)。ジヒドロストレプトマイシン (DSM) で Ec31.7%、Ca22.2%、En19.3%、家畜別では Ca の P で高い耐性率を示した (表 3)。ナリジクス酸 (NA) で Ec13.6%、Ca35.3%、家畜別では Ca の BC で高い耐性率を示した (表 4)。エンロフロキサシン (ERFX) で Ec3.2%、Ca9.1%、En22.9%、家畜別では En の P で高い耐性率を示した (表 5)。耐性率については全体として全国傾向とほぼ同様であった。

### 【結果 3】

これらの成績を活用するため、対象農家について検証した。肥育牛 A 農家では En でのみ耐性株が分離され、B 農家では耐性率はあまり高くないが、分離されたのは多剤耐性株であった (図 4)。肥育豚 C 農家では、テトラサイクリン系薬剤に耐性の傾向がみられ、D 農家では 3 菌種で耐性に違いが見られた (図 5)。採卵鶏では 2 農家ともに耐性率は低いものの色々な薬剤に耐性がみられた (図 6)。ブロイラー農家では、2 菌種の結果で 2 農家とも耐性率は高く、多剤耐性の傾向がみられた (図 7)。

### 【まとめ】

耐性菌の 6 割以上が多剤耐性を示し、ブロイラー由来の大腸菌で多い傾向を示した。菌種ごと、対象家畜ごとに耐性に差がみられ、その傾向は全国とほぼ同様だった。1 年 1 頭羽の検査ではあるが、今までの調査により農場ごとの成績がまとめられるようになった。また、同じ農場内から分離された菌株であっても、菌種の違いによって耐性に差が認められた。

## 【考 察】

今まで薬剤感受性検査は、主に病畜由来分離菌についてどの薬剤が有効かを調べるために実施してきた。本調査は約10年をかけて菌種・家畜種ごとの耐性菌を調査、その成績の積み重ねにより県内の詳細な耐性菌の状況を知ることができた。農家サイドでは今なお薬剤使用に頼る飼養形態が実情となっているが、今までの成績をわかりやすく農家へフィードバックすることにより、抗菌剤の適正使用、さらには慎重使用の指導に活用していきたい。今後は抗菌剤使用実態との比較と整合性、病畜由来耐性菌株との比較、遺伝子レベルでの解析の実施などを考えており、耐性菌増加の因果関係や耐性獲得の条件の解明、疫学情報の取得等に近づければと思っている。本調査は今後も継続するが、成績の有効活用を考えながら進めていこうと思う。