

総説

豚由来細菌における薬剤耐性菌の疫学

小澤 真名緒（農林水産省動物医薬品検査所）

Ozawa, M. (2016). Epidemiology of antimicrobial-resistant bacteria isolated from pigs
Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 68, 19-23.

キーワード：薬剤耐性、疫学、選択圧、適応性

はじめに

抗菌性物質は、感染症の治療において人医療においても獣医療においても重要な役割を果たしている。しかし、その使用により薬剤耐性菌が選択される可能性が常に存在する。人医療及び獣医療のそれぞれにおいて抗菌性物質が使用されると、それが選択圧となって薬剤耐性菌が選択される。その薬剤耐性菌は、食品や環境を通じて、あるいは直接人に伝達される可能性が指摘されてきている。人に伝達された薬剤耐性菌が感染症を引き起こした場合、抗菌性物質による治療に影響を与える可能性がある。突然変異又は耐性因子の獲得によって生じた薬剤耐性菌は、まず抗菌性物質の使用によって選択され、その後伝播、定着という過程を経て広まっていくと考えられるが、このそれぞれの過程において、抗菌性物質の使用という「選択圧」及び薬剤耐性菌の「適応性 (fitness)」が関与すると考えられる。また、耐性の選択に当たっては、使用された抗菌剤によるその抗菌剤の耐性の選択（直接選択）の他に、使用された抗菌剤と他系統の抗菌剤の耐性を選択する共選択も重要な役割を果たす。

1. 選択圧と適応性

細菌が薬剤耐性を獲得する機構として、突然変異又は耐性因子の獲得が考えられる。前者は、細菌が増殖する過程で遺伝子が突然変異することにより耐性となるものである。一方、後者は、感受性菌が自然界に存在する抗生物質産生菌や既に耐性因子を獲得した耐性菌から、プラスミド、トランスポゾン、インテグロン等を通じて耐性因子を獲得することにより耐性となるものである。

耐性を獲得した菌に、抗菌性物質の使用という選択圧がかかると、感受性菌は死滅し耐性菌が選択される。薬剤耐性菌は、一般的には感受性菌と比較して適応性

（増殖性や宿主での定着性）が低下するとされている¹⁾。したがって、抗菌性物質による選択圧がなくなると、感受性菌が優勢となり、耐性菌は淘汰されてしまう。しかし、選択圧がかかり続けると、逆に感受性菌が淘汰され、耐性菌が選択され優勢となる。

選択圧の除去の例としては、デンマークにおける成長促進目的での抗菌剤の使用停止がある。この時に、豚由来腸球菌においてバージニアマイシン及びアボパルシン耐性率の低下が、豚由来 *Campylobacter coli* においてエリスロマイシン耐性率の低下が認められている¹⁸⁾。また、日本においても、テトラサイクリン系抗生物質の販売量の低下に対応すると思われる耐性率の減少が、豚由来大腸菌及び *C. coli* において認められている（図1）。このような、選択圧を除去した場合に認められる耐性率の低下は、耐性株の適応性の低下と関連があると考えられる。サルモネラにおけるキノロン耐性株や、*Campylobacter jejuni* におけるマクロライド耐性株のように、耐性を獲得した株での適応性の著しい減少が報告されている^{4,5)}。家畜におけるサルモネラのキノロン耐性率や *C. jejuni* のマクロライド耐性率は低い値が保たれているが^{15,16)}、それはこの耐性株での適応性の減少と関係している可能性がある。

一方、選択圧を除去しても耐性率が低下しない例もある。日本では、1998年以降クロラムフェニコールは食用動物に使用されていないが、大腸菌やカンピロバクターにおいてクロラムフェニコール耐性が維持されている^{15,16)}。また、米国ではフルオロキノロンの家禽への使用を2005年に禁止したが、その後鶏由来カンピロバクターで耐性率は低下していない²⁰⁾。カンピロバクターにおいては、フルオロキノロン耐性株で鶏での定着性が上昇したという報告があり¹¹⁾、選択圧がなくなっても耐性株が感受性株と共存している可能性がある。

さらに、ある抗菌剤の使用を抑えた結果、他の抗菌剤の耐性が増加するということもありうる。デンマー

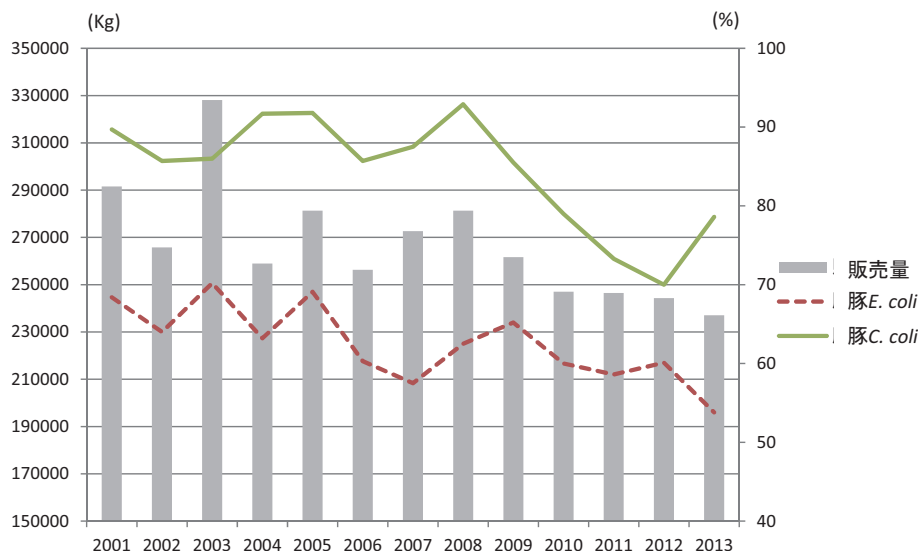


図1 豚由来*E. coli*及び*C. coli*のテトラサイクリン耐性率とテトラサイクリン系抗生物質の販売量

クにおいて、2000年に成長促進目的での抗菌剤の使用が禁止された結果、疾病の治療目的での抗菌剤の使用が増加し、豚由来 *Salmonella* Typhimurium でサルファ剤、テトラサイクリン、アンピシリンの耐性率が上昇している¹⁹⁾。また、鶏の例であるが、ふ化場におけるセフトオフルの適応外使用停止により、肉用鶏由来大腸菌におけるセファロスポリン耐性率の低下が認められている一方、因果関係は不明であるが、カナマイシンやストレプトマイシンでは耐性率の上昇が認められている⁸⁾。

2. 共選択

抗菌剤の使用による耐性の選択は、直接選択、交差選択（交差耐性による選択）、共選択（共耐性による選択）の3種類に分けられる。直接選択とは、使用した抗菌剤によるその抗菌剤の耐性の選択である。交差選択とは、使用した抗菌剤により、その抗菌剤と同系統の抗菌剤の耐性を選択するものである。共選択とは、使用した抗菌剤により、その抗菌剤と他系統の抗菌剤の耐性を選択するものである。

我が国における動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARM) において収集された健康豚由来 *C. coli* 及び大腸菌について、採材された個体における抗菌剤の使用歴と、その個体から分離された株の耐性の関係を、耐性を目的変数、使用歴を説明変数としてロジスティック回帰分析により統計的に解析した結果、豚由来 *C. coli* においてテトラサイクリン系の使用とクロラムフェニコール耐性に有意な関係が認められた¹⁷⁾。

また、マクロライド系の使用とエンロフロキサシン耐性について、有意ではなかったが強い関係が認められた¹⁷⁾。豚由来大腸菌においては、 β -ラクタム系の使用とジヒドロストレプトマイシン耐性、コリスチンの使用とカナマイシン耐性、マクロライド系の使用とアンピシリン耐性及びオキシテトラサイクリン耐性、テトラサイクリン系の使用とクロラムフェニコール耐性に有意な関係が認められた (図2)¹²⁾。ここで興味深いのは、大腸菌におけるマクロライド系の使用による共選択である。通常、大腸菌はマクロライド系に自然耐性を示すが、高度耐性株の中にはマクロライド耐性遺伝子を保有するものがあり、そのマクロライド耐性遺伝子と同じプラスミドにアンピシリン耐性遺伝子とテトラサイクリン耐性遺伝子が乗っている報告があることから²³⁾、マクロライド系の使用によりマクロライド耐性遺伝子が選択された結果、アンピシリン耐性遺伝子またはテトラサイクリン耐性遺伝子が同時に選択された共選択の可能性が考えられる。また、コリスチンの使用とカナマイシン耐性に関係が認められているが、近年、プラスミド性のコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* が報告されている¹⁰⁾。図2に示した解析に用いた株では *mcr-1* の保有については不明だが、ベトナムの豚由来大腸菌が、*mcr-1* とカナマイシン耐性遺伝子が乗ったプラスミドを持っているという報告があり¹³⁾、このプラスミドがコリスチンの使用によるカナマイシン耐性の共選択に関与している可能性がある。あるいは、*mcr-1* 以外のコリスチン耐性因子の存在も想定される。

日本の豚由来大腸菌やカンピロバクターにおいてク

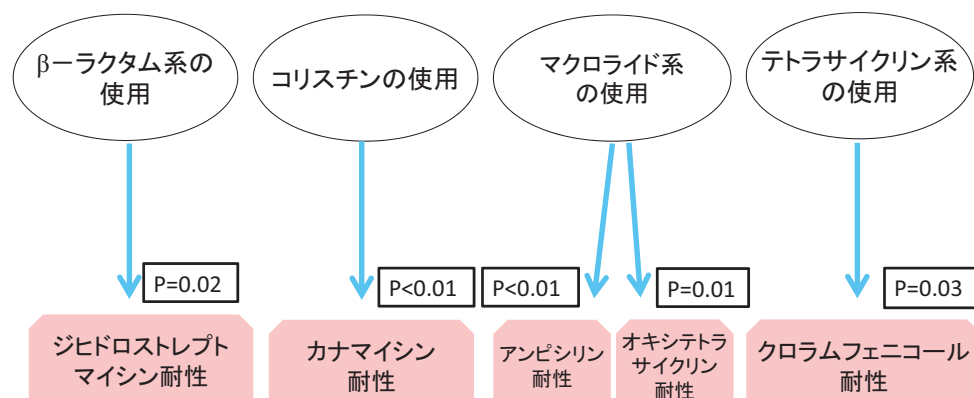


図2 豚由来大腸菌における抗菌剤使用と耐性の解析(共選択)

ロラムフェニコール耐性が維持されている例についても、病豚由来大腸菌で耐性遺伝子の解析を行ったところ、クロラムフェニコール耐性遺伝子保有株は非保有株と比較して、ジヒドロストレプトマイシン及びトリメトプリムにおいて有意に高い耐性率を示した⁶⁾。さらに、クロラムフェニコール耐性遺伝子保有株はクラス1インテグロンを高率に保有しており、このクラス1インテグロン内にはストレプトマイシン系あるいはメトプリム系または双方の耐性遺伝子が検出された。したがって、クロラムフェニコール耐性の維持について、ストレプトマイシン系及びメトプリム系抗菌剤の使用による共選択の可能性が示唆されている⁶⁾。

3. 豚由来各種細菌の薬剤耐性

(1) *Actinobacillus pleuropneumoniae*

2002年から2005年にかけて病豚から分離された *A.*

pleuropneumoniae (n=110) において、オキシテトラサイクリン耐性率が最も高く (27.7%)、次いでジヒドロストレプトマイシン (10.9%)、チアンフェニコール (10.9%) であった。また、1986年から1987年、1999年から2000年、2002年から2005年にかけて分離されたオキシテトラサイクリン耐性株について耐性遺伝子を検索したところ、*tetA*、*tetB*、*tetH* 及び *tetO* が検出された。この中で *tetB* が最も優勢であったが、1986年から1987年と比較してそれ以降では特に *tetB* 保有株が増加しており、それに伴いオキシテトラサイクリン耐性率も上昇していた¹⁴⁾。

(2) *S. Typhimurium*

病豚から分離された *S. Typhimurium* の耐性率の推移を図3に示す。主にアンピシリン、ジヒドロストレプトマイシンまたはストレプトマイシン、オキシテト

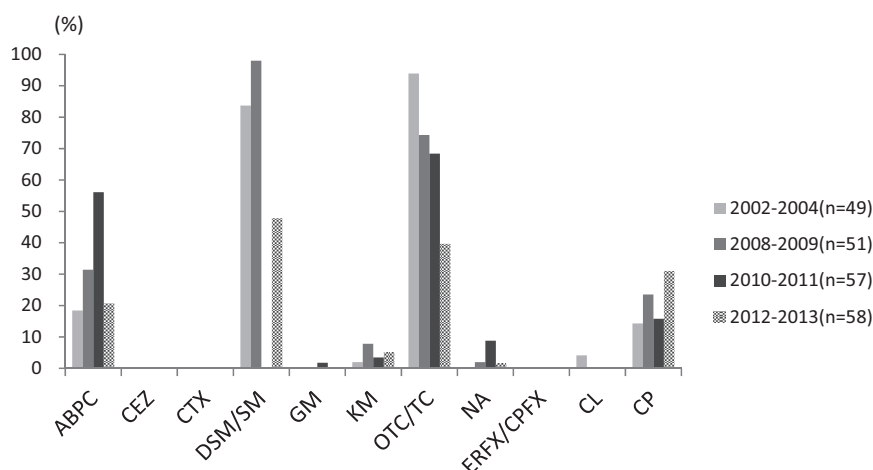


図3 病豚から分離された *S. Typhimurium* の薬剤感受性

ABPC: アンピシリン、CEZ: セファゾリン、CTX: セフトキシム、DSM/SM: ジヒドロストレプトマイシン/ストレプトマイシン、GM: ゲンタマイシン、KM: カナマイシン、OTC/TC: オキシテトラサイクリン/テトラサイクリン、NA: ナリジクス酸、ERFX/CPFX: エンロフロキサシン/シプロフロキサシン、CL: コリスチン、CP: クロラムフェニコール

※ 2010-2011のDSM/SMは試験を実施していない。

ラサイクリンまたはテトラサイクリン、クロラムフェニコール耐性が認められている。セファロsporin及びフルオロキノロン耐性は認められていない。テトラサイクリン系の耐性は経時的に減少している一方、クロラムフェニコール耐性は上昇傾向が認められている。

(3) *S. Choleraesuis*

病豚から分離された*S. Choleraesuis*の耐性率の推移を図4に示す。ジヒドロストレプトマイシンまたはストレプトマイシン、オキシテトラサイクリンまたはテトラサイクリンに対して90%以上と高い耐性率が認められている。*S. Typhimurium*と同様にセファロsporin及びフルオロキノロン耐性は認められていない一方、ゲンタマイシン耐性が30%程度、ナリジクス酸耐性が高い時で40%程度認められている。クロラムフェニコール耐性は2008年から2009年では40%を越えていたが、その後10%以下となっている。

(4) 大腸菌

2001年から2003年にかけて分離された病豚由来大腸菌に対して、オキシテトラサイクリンの耐性率が最も高く(80.5%)、次いでジヒドロストレプトマイシン(66.9%)、アンピシリン(44.1%)の順に高い耐性率を示した⁷⁾。これらの耐性率は、以前に報告されている健康豚由来大腸菌の耐性率⁹⁾より有意に高い値を示していた。これらの結果から、病豚に対する抗菌剤の治療による選択圧が、耐性率を上昇させている可能性

が示唆されている。さらに、*stx* 遺伝子を保有する株(STEC)と保有しない株で耐性率を比較した結果、STECでコリスチンとエンロフロキサシンの耐性率が有意に高かった。これは、STECによる浮腫病の治療にコリスチンとエンロフロキサシンが頻用されている可能性を示している⁷⁾。

おわりに

これまでみてきたように、選択圧を除去すると、感受性菌と比較して適応性が減少している耐性菌は淘汰され、それらが変化しない、又は増加している耐性菌はそのまま維持され则认为られる。また、代替薬の使用等により、他の抗菌性物質の耐性率が増加することもありうる。さらに、他系統の抗菌性物質による共選択が関与する場合もあると认为られる。

このように、選択圧、耐性菌の適応性及び共選択は薬剤耐性菌の疫学を考える上で重要なファクターである。養豚の現場においては、他の家畜と比較して抗菌剤を使用する機会が多くなっているが、今後もさらなる慎重使用の徹底により、できる限り選択圧を下げていく必要がある。それにより、耐性菌の選択の予防、伝播の防止、定着の抑制が期待される。選択圧を下げて耐性が維持される場合も想定されるが、そのような場合においては選択圧を下げることによって新たな耐性菌の選択を防ぐとともに、飼養衛生管理の向上によって既に存在する耐性菌を排除していく必要がある。また、耐性菌の選択、伝播、定着全ての過程において、耐

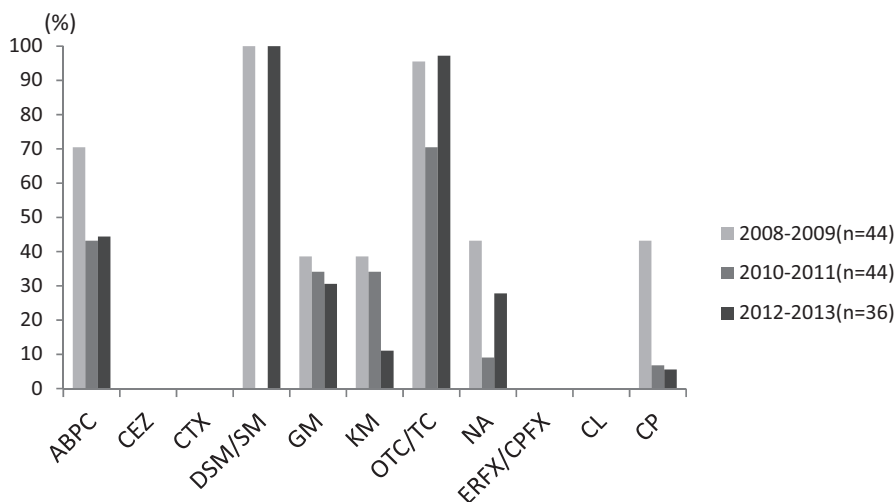


図4 病豚から分離された*S. Choleraesuis*の薬剤感受性

ABPC: アンピシリン、CEZ: セファゾリン、CTX: セフトキシム、DSM/SM: ジヒドロストレプトマイシン/ストレプトマイシン、GM: ゲンタマイシン、KM: カナマイシン、OTC/TC: オキシテトラサイクリン/テトラサイクリン、NA: ナリジクス酸、ERF/CPFX: エンロフロキサシン/シプロフロキサシン、CL: コリスチン、CP: クロラムフェニコール

※ 2010-2011のDSM/SMは試験を実施していない。

性菌のモニタリングによる実態把握も必要である。実態を把握したうえで耐性菌の疫学を考慮し、慎重な使用をすることが、今後も抗菌剤の有効性を維持するうえで重要である。

引用文献

- 1) Andersson DI, et al. (1999) The biological cost of antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol*, 2: 489-493.
- 2) Andremont, A et al. (1986) Plasmid-mediated high-level resistance to erythromycin in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 29: 515-518.
- 3) Arthur M, et al. (1986) Contribution of two different mechanisms to erythromycin resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 30: 694-700.
- 4) Giraud E, et al. (2003) Fitness cost of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J Med Microbiol*, 52: 697-703.
- 5) Hao H, et al. (2009) 23S rRNA mutation A2074C conferring high-level macrolide resistance and fitness cost in *Campylobacter jejuni*. *Microb Drug Resist*, 15: 239-244.
- 6) Harada K, et al. (2006) Role of coresistance in the development of resistance to chloramphenicol in *Escherichia coli* isolated from sick cattle and pigs. *Am J Vet Res*, 67: 230-235.
- 7) Harada K, et al. (2005) Antimicrobial susceptibility of pathogenic *Escherichia coli* isolated from sick cattle and pigs in Japan. *J Vet Med Sci*, 67: 999-1003.
- 8) Hiki M, et al. (2015) Decreased resistance to broad-spectrum cephalosporin in *Escherichia coli* from healthy broilers at farms in Japan after voluntary withdrawal of ceftiofur. *Foodborne Pathog Dis*, 12: 639-643.
- 9) Kijima-Tanaka M, et al. (2003) A national surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from food-producing animals in Japan. *J Antimicrob Chemother*, 51: 447-451.
- 10) Liu YY, et al. (2016) Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*, 16: 161-168.
- 11) Luo N, et al. (2005) Enhanced in vivo fitness of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter jejuni* in the absence of antibiotic selection pressure. *Proc National Acad Sci USA*, 102: 541-546.
- 12) Makita K, et al. (2016) Multivariable analysis of the association between antimicrobial use and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from apparently healthy pigs in Japan. *Microb Drug Resist*, 22: 28-39.
- 13) Malhotra-Kumar S, et al. (2016) Colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring *mcr-1* isolated from food animals in Hanoi, Vietnam. *Lancet Infect Dis*, 16: 286-287.
- 14) Morioka A, et al. (2008) Recent trends in antimicrobial susceptibility and the presence of the tetracycline resistance gene in *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates in Japan. *J Vet Med Sci*, 70: 1261-1264.
- 15) National Veterinary Assay Laboratory (2009) A report on the Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring system: 2000 to 2007.
- 16) National Veterinary Assay Laboratory (2013) A report on the Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring system: 2008 to 2011.
- 17) Ozawa M, et al. (2012) Associations of antimicrobial use with antimicrobial resistance in *Campylobacter coli* from grow-finish pigs in Japan. *Prev Vet Med*, 106: 295-300.
- 18) Statens Serum Institut (2001) DANMAP 2001 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark.
- 19) Statens Serum Institut (2005) DANMAP 2005 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark.
- 20) U.S. Food and Drug Administration (2014) National Antimicrobial Resistance Monitoring System executive report 2011.