

資料

国内で分離された豚由来病原性大腸菌の薬剤耐性

楠 本 正 博

(国立研究開発法人 農業・産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門)

Kusumoto, M. (2022). Antimicrobial resistance of swine pathogenic *Escherichia coli* isolated in Japan*Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* 80, 7-11.

キーワード：病原性大腸菌、多剤耐性、フルオロキノロン、第3世代セファロスポリン

はじめに

抗菌剤が効かない薬剤耐性菌のまん延が世界中で進行している。有効な対策を取らなければ2050年までに薬剤耐性菌を原因とする死者が世界で年間1,000万人となり、現在の死因として最も多いがんを超えるといわれている¹⁴⁾。このように人類に対する大きな脅威となっている薬剤耐性菌の問題に対して、国際的な動きと連携し、我が国においても対策の指針となる「薬剤耐性アクションプラン」が策定された¹¹⁾。その基本的な考え方がワンヘルス（One Health）アプローチであり、ヒト、動物、環境の健康は密接に関連しているという認識の下で各分野の専門家が分野横断的に協力することで、これら三者の健康を維持・推進すべく問題解決への取り組みが行われている¹⁶⁾。

国内で流通する抗菌剤の約6割は動物に使用され¹⁷⁾、中でも使用量が最も多い豚は薬剤耐性菌の発生や拡散に関して重要な家畜と考えられる。本稿では、1991年から2019年にかけて国内で豚から分離された病原性大腸菌1,708株の性状を調査した結果について、薬剤感受性に関するデータを中心に紹介する。

1. 豚由来病原性大腸菌の病原因子による分類とO群血清型の分布

病原性大腸菌による豚の疾病は出生直後から子豚期に多く発生し、死亡や発育不良の原因となり養豚農家に経済的損失を与える。主に原因となる大腸菌は下痢を引き起こす腸管毒素原性大腸菌（enterotoxigenic *Escherichia coli*; ETEC）及び浮腫病を引き起こす志賀毒素産生性大腸菌（Shiga toxin-producing *E. coli*; STEC）である^{7,10)}。豚由来ETECは、易熱性エンテロトキシン（LT）、耐熱性エンテロトキシン（STa及び

STb）、腸管凝集性大腸菌耐熱性エンテロトキシン（EAST1）のうちいずれかまたは複数の毒素を産生する。また、豚由来STECは志賀毒素のバリエーションであるStx2eを産生し、一部の菌株はStx2e及びエンテロトキシンの両方を産生する²⁶⁾。定着因子として、豚由来ETEC及びSTECは一般に線毛性のF4(K88)、F5(K99)、F6(987P)、F18、F41などを保有する²⁶⁾。これらの病原因子（遺伝子）はファージ（プロファージ）やプラスミドなどの可動性遺伝因子上にコードされており^{1,15)}、このことが豚由来病原性大腸菌における病原因子の拡散や多様化を促進していると考えられる。

豚から分離される病原性大腸菌の血清型は特定のO群に限られる傾向があり、O8、O138、O139、O141、O147、O149、O157などの分離に関する報告が世界的に多い^{6,7)}。本研究で実施したStatens Serum Institut製の大腸菌O抗血清（O1～O188）を用いた血清型別の結果、試験した1,708株のうち1,571株（92.0%）が69種類のO群血清型に型別され、残りの137株（8.0%）が型別不能（OUT）であった。主要なO群血清型はO139（25.8%）、O149（20.4%）、O116（13.6%）、OSB9（*Shigella boydii* 9型）（7.8%）であり、これら4種類の主要O群血清型が全体の67.6%を占めていた（表1）。世界的に豚から多く分離されるO8、O138、O139、O141、O147、O149、O157は国内においても分離頻度の上位を占めていた。これに対して、著者らが引用文献12で報告したように、豚からのO116及びOSB9の分離が多い点は我が国における大きな特徴であり、豚由来病原性大腸菌の血清型が多様化する中でO116及びOSB9は2000年代の中頃から国内での浸潤を拡げ、主要O群血清型の一角を形成するに至ったと考えられる。また、主要O群血清型のうちO139は浮腫病、O149、O116、OSB9は下痢の症例から分離される割合が高いことが特徴的である（表1）。

表 1. 1991年から2019年にかけて国内の豚から分離された大腸菌の O 群血清型

分離株の O 群血清型	分離株の数			合計 (%)
	下痢	浮腫病	その他	
O139	40	389	12	441 (25.8)
O149	333	2	13	348 (20.4)
O116	199	32	2	233 (13.6)
OSB9	106	23	4	133 (7.8)
O8	31	9	3	43 (2.5)
O141	8	35	0	43 (2.5)
O2	9	14	11	34 (2.0)
O147	31	0	3	34 (2.0)
O9	19	2	5	26 (1.5)
O86	11	6	1	18 (1.1)
O45	13	0	4	17 (1.0)
O121	4	7	3	14 (0.8)
O142	1	4	9	14 (0.8)
O180	11	2	0	13 (0.8)
O35	11	1	0	12 (0.7)
O103	4	0	7	11 (0.6)
O157	9	2	0	11 (0.6)
O98	5	3	0	8 (0.5)
O138	8	0	0	8 (0.5)
O115	3	0	3	6 (0.4)
O15	5	0	0	5 (0.3)
O20	3	0	2	5 (0.3)
O51	1	2	2	5 (0.3)
O1	0	4	0	4 (0.2)
O7	4	0	0	4 (0.2)
O25	3	0	1	4 (0.2)
O36	3	0	1	4 (0.2)
O108	2	1	1	4 (0.2)
O159	4	0	0	4 (0.2)
O4	0	0	3	3 (0.2)
O26	2	0	1	3 (0.2)
O55	1	2	0	3 (0.2)
O64	3	0	0	3 (0.2)
O84	2	1	0	3 (0.2)
O132	2	0	1	3 (0.2)
O6	0	2	0	2 (0.1)
O16	2	0	0	2 (0.1)
O23	2	0	0	2 (0.1)
O28	1	0	1	2 (0.1)
O68	2	0	0	2 (0.1)
O76	1	0	1	2 (0.1)
O77	1	1	0	2 (0.1)
O78	1	0	1	2 (0.1)
O83	0	1	1	2 (0.1)
O112	2	0	0	2 (0.1)
O160	2	0	0	2 (0.1)
O162	1	0	1	2 (0.1)
O175	2	0	0	2 (0.1)
O10	1	0	0	1 (0.1)
O29	1	0	0	1 (0.1)
O43	1	0	0	1 (0.1)
O66	0	0	1	1 (0.1)
O75	1	0	0	1 (0.1)
O88	1	0	0	1 (0.1)
O89	0	0	1	1 (0.1)
O91	0	0	1	1 (0.1)
O114	1	0	0	1 (0.1)
O118	1	0	0	1 (0.1)
O127	0	0	1	1 (0.1)
O128	1	0	0	1 (0.1)
O154	0	0	1	1 (0.1)
O161	1	0	0	1 (0.1)
O163	1	0	0	1 (0.1)
O166	0	0	1	1 (0.1)
O174	0	0	1	1 (0.1)
O177	0	0	1	1 (0.1)
O186	1	0	0	1 (0.1)
OSB17	1	0	0	1 (0.1)
OSD10	0	0	1	1 (0.1)
OUT	88	22	27	137 (8.0)
合計	1,008	567	133	1,708 (100)

SB9, *S. boydii* 9 型; SB17, *S. boydii* 17 型; SD10, *S. dysenteriae* 10 型; UT, 型別不能

2. 薬剤感受性

抗菌剤としてペニシリン系（アンピシリン、ピペラシリン）、セファロスポリン系（セファゾリン、セフロキシム、セフトキシム、セフェピム）、セファマイシン系（セフォキシチン）、オキサセフェム系（モキサラクタム）、モノバクタム系（アズトレオナム）、カルバペネム系（イミペネム、メロペネム）、アミノグリコシド系（ゲンタマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン）、テトラサイクリン系（テトラサイクリン）、クロラムフェニコール系（クロラムフェニコール）、キノロン系（ナリジクス酸）、フルオロキノロン系（シプロフロキサシン、レボフロキサシン、ガチフロキサシン）、サルファ剤（スルファメトキサゾール）・トリメトプリム合剤より括弧内に示した合計21剤を選抜し、全1,708株についてディスク拡散法⁴⁾を用いた薬剤感受性試験を行った。さらに、コリスチンについて寒天平板希釈法³⁾を用いて全1,708株の最小発育阻止濃度（MIC）を測定し、European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing（EUCAST）の基準⁵⁾に従い MIC $\geq$ 4 (mg/L) を耐性と判断した。

その結果、全1,708株のうち1,643株（96.2%）が試験した22剤のうち少なくとも1剤に耐性であり、4種類の主要 O 群血清型（O139、O149、O116、OSB9）のうち O116（中央値：10剤耐性）及び OSB9（中央値：9剤耐性）では、O139（中央値：5剤耐性）及び O149（中央値：5剤耐性）に比べて多剤耐性傾向が顕著であった（図1）。また、特にフルオロキノロン耐性菌の分布率は O 群血清型により大きく異なり、O139の0.7%、O149の12.6%、O116の98.3%、OSB9の81.2%がそれぞれシプロフロキサシンに耐性であった（図2）。O116及び OSB9は遺伝学的に同一の系統にあり¹²⁾、フルオロキノロン系抗菌剤に対する高い耐性率は本系統の大きな特徴である。Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System（JVARM）による2000～2005年の調査においてフルオロキノロン系抗菌剤の国内での使用量は少なく、さらに2007年の調査において国内の健康豚からフルオロキノロン耐性大腸菌は分離されなかったことが報告されている⁹⁾。したがって、フルオロキノロン耐性菌の選択圧として「治療時」のフルオロキノロン系抗菌剤の使用に注目することが自然であるが、一方で、フルオロキノロン系抗菌剤使用歴のない複数の農場からフルオロキノロン耐性 O116が分離された事例も報告されている⁸⁾。O116及び OSB9は多剤耐性傾向が顕著であり（図1）フル

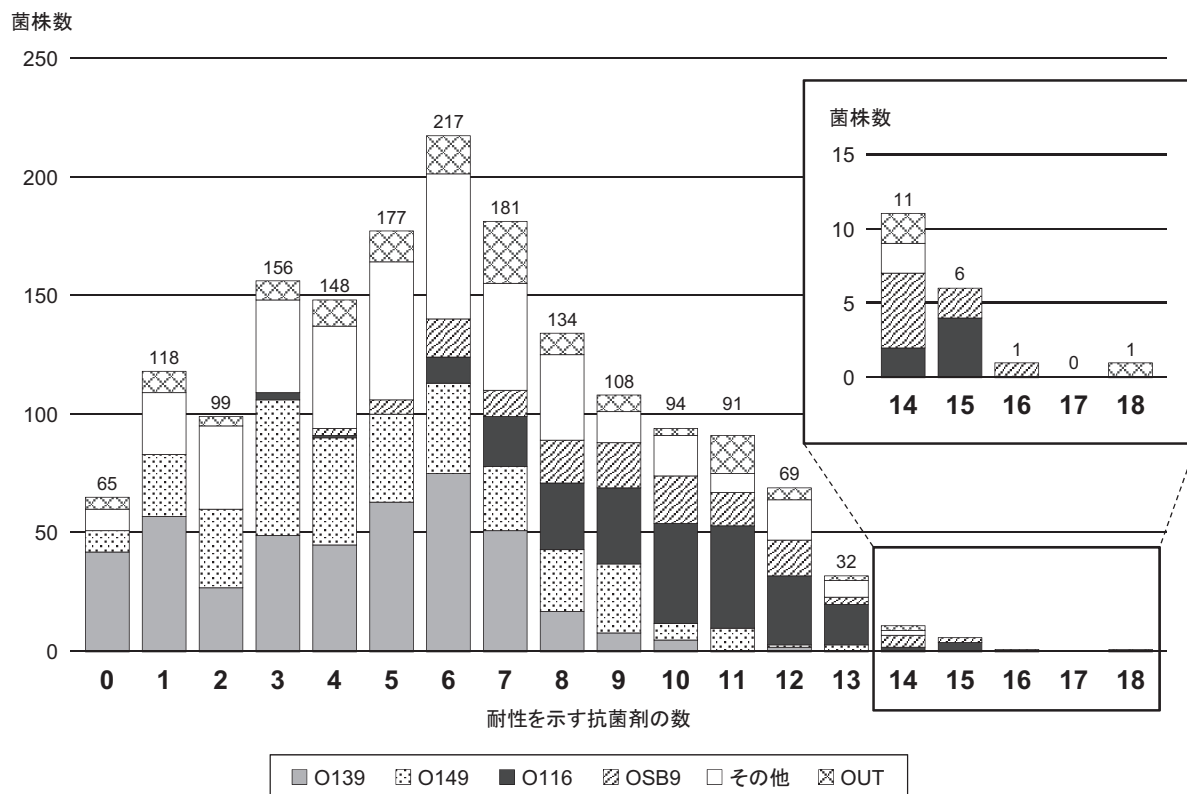


図1. O群血清型ごとの多剤耐性レベルの比較

棒グラフの上に示す数字は、各耐性抗菌剤数における菌株数（全血清型の合計）を表す。また、14～18剤耐性を示す棒グラフを囲み内に拡大表示した。

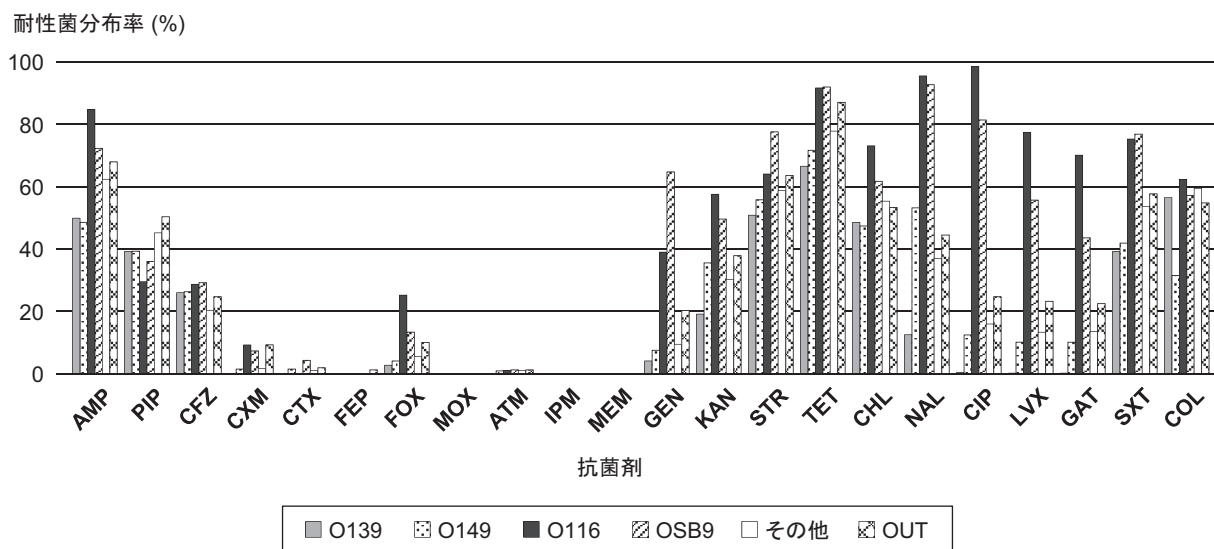


図2. O群血清型ごとの各抗菌剤に対する耐性菌分布率の比較

AMP, アンピシリン; PIP, ピペラシリン; CFZ, セファゾリン; CXM, セフロキシム; CTX, セフトキシム; FEP, セフェピム; FOX, セフォキシチン; MOX, モキサラクタム; ATM, アズトレオナム; IPM, イミペネム; MEM, メロペネム; GEN, ゲンタマイシン; KAN, カナマイシン; STR, ストレプトマイシン; TET, テトラサイクリン; CHL, クロラムフェニコール; NAL, ナリジクス酸; CIP, シプロフロキサシン; LVX, レボフロキサシン; GAT, ガチフロキサシン; SXT, スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤; COL, コリスチン

オロキノン系の他にも多くの抗菌剤に耐性である(図2)ことから、耐性菌への対策にあたっては、農場での抗菌剤使用による耐性菌の選択だけでなく他系統抗菌剤の使用による共選択や耐性菌の農場への浸潤も考慮に入れる必要がある。

第3世代セファロスポリン系抗菌剤(セフトキシム)耐性菌の分布率は全体で1.2%(20/1,708)であった(図2)。主要O群血清型ではO149の1.7%及びOSB9の4.5%がそれぞれ耐性、O139及びO116は全株が感受性であり、本抗菌剤は多剤耐性傾向の豚由来病原性大腸菌に対しても非常に有効と考えられる。第3世代セファロスポリン系抗菌剤として豚ではセフトオフルが使用されるが、豚の治療目的での本抗菌剤の使用により、農場において(セフトオフルを含む)複数の抗菌剤に耐性の大腸菌が選択され、耐性菌の中にはヒト医療で問題となっているCTX-M-14型やCTX-M-15型の基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ(extended-spectrum β -lactamase; ESBL)を産生する株も含まれることが報告されている¹³⁾。したがって、これは第3世代セファロスポリン系抗菌剤に限ったことではないが、耐性菌の農場における選択や伝播を抑え、本抗菌剤の豚での有効性を維持するため、抗菌剤使用の可否や使用する抗菌剤の選定について十分に検討した上で適正に抗菌剤を使用する必要がある。このような「慎重使用」はワンヘルスの観点からも非常に重要であり、耐性菌や耐性遺伝子のヒトへの伝播リスクを低減し、抗菌剤のヒトでの有効性の維持につながることを期待される。

まとめ

国内で豚から分離される病原性大腸菌の主要O群血清型はO139、O149、O116、OSB9であり、これら4種類で全体の67.6%を占める。O116及びOSB9は国内でのみ分離され、高度な多剤耐性及びフルオロキノロン耐性を特徴とする菌群である。農場における抗菌剤の使用と耐性菌の分離状況が関連しない事例も多く、農場での抗菌剤使用による耐性菌の選択、他系統抗菌剤の使用による共選択、耐性菌の農場への浸潤などを考慮に入れた耐性菌対策を行う必要がある。また、第3世代セファロスポリン系抗菌剤は多剤耐性傾向の豚由来病原性大腸菌に対しても有効であり、本抗菌剤の豚での有効性を維持するため、さらには耐性菌や耐性遺伝子のヒトへの伝播リスクを低減するため、その慎重使用が極めて重要である。

利益相反状態の有無

本著者に開示すべき利益相反はない。

謝辞

本研究を進めるにあたり、大腸菌分離及び菌株情報を提供していただいた全国の家畜保健衛生所の皆様に感謝いたします。

参考文献

- 1) Beutin L, et al. (2008) Evaluation of major types of Shiga toxin 2E-producing *Escherichia coli* bacteria present in food, pigs, and the environment as potential pathogens for humans. *Appl Environ Microbiol*, 74: 4806-4816.
- 2) Blanco M, et al. (1997) Genes coding for enterotoxins and verotoxins in porcine *Escherichia coli* strains belonging to different O:K:H serotypes: relationship with toxic phenotypes. *J Clin Microbiol*, 35: 2958-2963.
- 3) Clinical and Laboratory Standards Institute (2015) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-tenth edition, Document M07-A10. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania.
- 4) Clinical and Laboratory Standards Institute (2016) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement, Document M100-S26. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania.
- 5) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2022) Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 12.0. https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (2022年5月6日閲覧)
- 6) Fairbrother JM, et al. (2005). *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim Health Res Rev*, 6: 17-39.
- 7) Frydendahl K (2002) Prevalence of serogroups and virulence genes in *Escherichia coli* associated with postweaning diarrhoea and edema disease in pigs and a comparison of diagnostic ap-

- proaches. Vet Microbiol, 85: 169-182.
- 8) 藤井勇紀ら (2017) 茨城県における豚由来病原性大腸菌の比較解析：主要血清型 O116 の解析. 日獣会誌, 70 : 643-649.
 - 9) Harada K, et al. (2010) Role of antimicrobial selective pressure and secondary factors on antimicrobial resistance prevalence in *Escherichia coli* from food-producing animals in Japan. J Biomed Biotechnol, 2010: 180682.
 - 10) Holland RE (1990) Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. Clin Microbiol Rev, 3: 345-375.
 - 11) 国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議(2016) 薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン2016-2020. <https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000120769.pdf> (2022年5月6日閲覧)
 - 12) Kusumoto M, et al. (2016) Emergence of a multidrug-resistant Shiga toxin-producing enterotoxigenic *Escherichia coli* lineage in diseased swine in Japan. J Clin Microbiol, 54: 1074-1081.
 - 13) Misumi W, et al. (2021) Association between antimicrobial treatment and resistance of pathogenic *Escherichia coli* isolated from diseased swine in Kagoshima Prefecture, Japan. J Vet Med Sci, 83: 358-369.
 - 14) O'Neill J (2016) Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. The Review on Antimicrobial Resistance chaired by Jim O'Neill May 2016. https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf (2022年5月6日閲覧)
 - 15) Shepard SM, et al. (2012) Genome sequences and phylogenetic analysis of K88- and F18-positive porcine enterotoxigenic *Escherichia coli*. J Bacteriol, 194: 395-405.
 - 16) 田村豊 (2018) One Health の視点からみた動物および環境由来耐性菌の現状. 日本化学療法学会雑誌, 66 : 715-728.
 - 17) 薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会 (2021) 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書2020. <https://www.mhlw.go.jp/content/10906000/000691720.pdf> (2022年5月6日閲覧)