

豚の疣贅性心内膜炎から分離された *Streptococcus suis* の 薬剤感受性および耐性遺伝子検索

長崎県諫早食肉衛生検査所 ○樋渡 佐知子

はじめに

Streptococcus suis(以下、*S. suis*)は、豚レンサ球菌症の主要な原因菌の一つで養豚産業に経済的な損失を与えるだけでなく、感染した豚およびその豚肉に接触した人に髄膜炎や敗血症を引き起こす人獣共通感染症の原因菌である。特に養豚業や食肉処理業に従事する人に感染リスクが高いため、労働安全・労働衛生上、重要な病原体でもある。

国内では *S. suis* の薬剤耐性についての報告はまだ多くないことから、今回、厚生労働省が提唱する「One Health」の観点から、*S. suis* の薬剤感受性および薬剤耐性遺伝子保有状況について調査した。さらに分離期間、血清型、推定 Sequence type (ST) 型別による差異についても検討を行った。

材料及び方法

1 材料

2009年2月～2021年4月に県内食肉衛生検査所で疣贅性心内膜炎を認めた豚から分離した *S. suis* 185株のうち、分離期間（2009～2011、2014～2016、2019～2021）ごとに1農場1～3株合計50株（6県14農場）を選出した。

2 方法

(1) 莢膜合成関連遺伝子タイピング法による血清型の推定

莢膜合成関連遺伝子を検出するマルチプレックスPCRにより血清型を推定した〔1〕。

(2) 線毛関連遺伝子プロファイリングによるST型の推定

3種の線毛関連遺伝子（*sbp2*、*sep1*、*sgp1*）の有無をPCRで確認し、その株が属するST型を推定した〔2〕。

(3) 薬剤感受性試験

ディスク法により12薬剤（アンピシリン(ABPC)、セフトキシム(CTX)、カナマイシン(KM)、エリスロマイシン(EM)、クラリスロマイシン(CAM)、リンコマイシン(LCM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、ドキシサイクリン(DOXY)、バンコマイシン(VCM)、スルファメトキサゾール・トリメトプリム配合剤(SXT)、オフロキサシン(OFLX)、クロラムフェニコール(CP))について検査した。また、Fisherの直接確率計算法により、分離期間、血清型、推定ST型について各薬剤の耐性率を比較した。

(4) 耐性遺伝子の検出

テトラサイクリン(TC)耐性遺伝子は *tet(M)*、*tet(0)*、*tet(K)* および *tet(L)*、マクロライ

ド (ML) 耐性遺伝子は *erm*(A)、*erm*(B) および *mef*(A/E) について [3]、アミノグリコシド (AG) 耐性遺伝子は *aac*(6')-I e-*aph*(2'')-I a、*aph*(2'')-I b、*aph*(2'')-I c、*aph*(2'')-I d、*aph*(3')-III a および *ant*(4')-I a について [4]、PCR 法で実施した。

成績

(1) 供試菌株の血清型および推定 ST 型

血清型は 43 株が 2 または 1/2 型、1 株が 1 または 14 型、6 株がその他の血清型であった。推定 ST 型は ST1 complex (以下、ST1c) が 8 株、ST27 complex (以下、ST27c) が 36 株、その他の ST 型が 6 株であった。

(2) 薬剤感受性

50 株中 49 株 (98.0%) がいずれかの薬剤に耐性であった。50 株すべてが ABPC、OFLX および CP に対し感受性を示した。耐性の菌株が多く認められた薬剤は LCM が 47 株 (94.0%) で最も多く、次いで OTC、DOXY がそれぞれ 43 株 (86.0%)、EM、CAM がそれぞれ 38 株 (76.0%)、KM が 28 株 (56.0%)、CTX が 1 株 (2.0%) の順であった。

薬剤耐性パターンは 1 薬剤耐性から 7 薬剤耐性の 12 パターンに分類され、7 薬剤耐性菌が 2 株、6 薬剤耐性菌が 15 株、5 薬剤耐性菌が 19 株、4 薬剤耐性菌が 7 株、3 薬剤耐性菌が 2 株、2 薬剤耐性菌が 3 株、1 薬剤耐性菌が 1 株、感受性菌が 1 株であった。

耐性遺伝子は *tet*(0) が 41 株、*erm*(B) が 5 株、*aph*(3')-III a が 1 株から検出され、それぞれ TC 系薬剤 (OTC、DOXY)、ML 系薬剤 (EM、CAM)、AG 系薬剤 (KM) に耐性を示した。いっぽう、*tet*(0) が検出されなかった 9 株のうち 2 株が TC 系薬剤に耐性、*erm*(B) が検出されなかった 45 株のうち 33 株が ML 系薬剤に耐性、*aph*(3')-III a が検出されなかった 49 株のうち 27 株が AG 系薬剤に耐性を示した。

考察

豚やヒトに髄膜炎や敗血症などを引き起こす菌株は、ほとんどの血清型が 2 型であり、また、ST 型の多くが ST1c 及び ST27c に含まれている。今回の調査で疣贅性心内膜炎由来株から血清型 2 型かつ ST1c または ST27c と推定される株が 41 株 (82%) 検出され、疾病との関連性が改めて強く示唆された。

薬剤感受性試験では EM、CAM、LCM、OTC、DOXY に対して 70% 以上が耐性を示した。このことは動物に対する EM、LCM、OTC の使用頻度の高さとの関連が考えられるとともに、CAM、DOXY など同系列の薬剤への耐性率にも影響を及ぼしていると思われた。分離期間、血清型、推定 ST 型別による薬剤耐性率の差異は EM および CAM が血清型 2 または 1/2 型、OTC および DOXY が ST1c および ST27c で有意に高く ($p < 0.05$)、疾病と関連性があるとされる血清型、推定 ST 型はこれら薬剤に暴露される機会が多いためではないかと考えられた。分離期間別の薬剤耐性率の有意差 ($p < 0.05$) は認められなかった。

耐性遺伝子は *tet*(0)、*erm*(B)、*aph*(3')-III a が確認されたが、遺伝子を保有しない耐

性株も存在し、これらの耐性機構は今回検出を試みた遺伝子以外によるものと考えられた。また、他県の報告〔5〕ではML系薬剤耐性株の100%が *erm*(B)を保有していたが、今回、13.2%の保有率であった。*erm*(B)保有株は高度耐性を示しやすいことが報告されており〔6〕、最小発育阻止濃度との関連を検証する必要があると思われた。今回、耐性遺伝子陰性のTC系薬剤耐性株が他県の報告〔5〕と同様に2014年以降に、*erm*(B)、*aph*(3')-III *a*保有株が2019年以降に検出されていることから、*S. suis*の多剤耐性化に耐性遺伝子を含む新たな耐性機構が関与している可能性も考えられた。

まとめ

今回の調査で疣贅性心内膜炎由来株のほとんどが人に対しても疾病リスクの高い強毒株であることが判明した。また、薬剤感受性試験では、50株中48株(96.0%)が2剤以上の薬剤に耐性を示し、一般に使用頻度の高い薬剤に耐性株が多く認められ、耐性菌の出現を考慮した薬剤使用法の検討が必要であると思われた。今後、農場ごとの菌株の疫学的特徴を明らかにし疾病発生予防に役立てるとともに、引き続き薬剤耐性株の動向を調査し薬剤耐性対策に努めていきたい。

- (1) Okura M, *et al*: J Clin Microbiol, 52, 1714-1719 (2014)
- (2) Takamatsu D, *et al*: Vet Microbiol, 138, 132-139 (2009)
- (3) Malhotra-Kumar S, *et al*: Antimicrob Agents Chemother, 49, 4798-4800 (2005)
- (4) Vakulenko SB, *et al*: Antimicrob Agents Chemothe, 47, 1423-1426 (2003)
- (5) 市川隆ら: 獣医公衆衛生研究, 22, 46-48 (2019)
- (6) 生方公子: 日化療会誌, 54, 69-94 (2006)