

9 県下で分離された *Mycoplasma bovis* の薬剤感受性

中央家畜保健衛生所

下條 憲吾、藤井 猪一郎、吉野 文彦

鈴田 史子

牛マイコプラズマ肺炎はカタル性肺炎や間質性肺炎を主徴とする伝染性肺炎であり、特に *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) が起因菌となることが多く、家畜衛生上重要な病原体であり、症例の多くは他の微生物との混合感染の形をとる²⁾。今回、県下一農場において、呼吸器症状を呈した牛が死亡し、病性鑑定の結果、*M. bovis* による牛マイコプラズマ肺炎と診断された。また、本症例を含めて過去に分離された *M. bovis* の薬剤感受性試験を実施した。

1 発生状況

当該農場は交雑種 24 頭を飼養する哺育育成農場で、1～3 か月齢の子牛を導入後育成し、7～10 か月齢で肥育農場に出荷する形態をとっていた。平成 26 年 7 月、診療獣医師から、当該農場において呼吸器病が多いとの相談があり、23 日に立ち入りしたところ、3 頭に元気消失、起立困難、および呼吸器症状が認められた。うち、1 頭(3 か月齢、No.1)は夕方死亡し、翌日もう 1 頭(6 か月齢、No.2)が死亡した。

2 病性鑑定

(1) 剖検所見

外貌では、2 頭ともに、眼球の陥没が認められ、剖検では、気管内に泡沫物が貯留しており、肺には、前葉を中心に、多数の膿瘍が認められた(写真 - 1)。



写真-1 外貌、剖検所見

(2) 病理組織学的検査

2 頭ともに壊死性化膿性気管支肺炎が認められた。また、免疫組織化学的染色では、2 頭とも壊死巣に一致し、*M. bovis* に陽性反応が認められた(写真 - 2)。

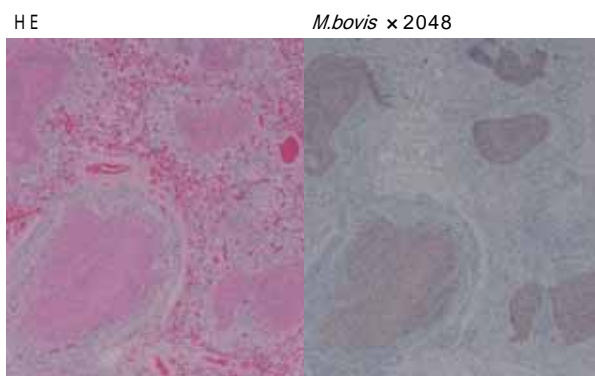


写真-2 免疫組織化学的染色

(3) 細菌学的検査

死亡牛の肺乳剤を用いた遺伝子学的検査で *M. bovis*、*Mycoplasma dispar* の特異遺伝子が検出された。定量培養では *M. bovis* が、2 頭の肺乳剤から、ともに 10^6 CCU/ml、No.2 の鼻腔拭い液から 10^5 CCU/ml 分離された。

(4) ウイルス学的検査

牛呼吸器病関連ウイルスを検出する遺伝子検査、ウイルス分離ともに陰性で、抗体検査にお

いても関与は認められなかった。

以上の成績から本症例は *M. bovis* による牛マイコプラズマ肺炎と診断された。

本症例では、2頭ともに長期にわたり呼吸器症状が認められており、それぞれ、タイロシン (TS)、チルミコシン (TMS)、エンロフロキサシン (ERFX) により、No. 1 は6月8日から7月21日に計16回、No. 2 は4月16日から7月22日にわたり計20回の治療を施されていたが、死亡の転機をとったことから *M. bovis* がこれら抗菌性物質に対して耐性を持っていた可能性が考えられた。また、これまで、県下で分離された *M. bovis* の薬剤感受性試験はないことから、本症例分離株を含め、これまで県下で分離された *M. bovis* について薬剤感受性試験を実施した。

3 薬剤感受性試験

(1) 材料

平成19年以降、本症例を含め、呼吸器症状を呈した牛から分離された *M. bovis* 7症例30株を供試した。分離地域は、最も多い県南を含め、中央、離島地域の4地域、月齢は、3~11か月であった。また、全ての症例で、*M. bovis* 以外に検出、または症例への関与が確認された病原体が存在した(表-1)。

表-1 材料

・ *M. bovis* 30株¹ (平成19年度以降分離、7症例)

分離年月	地域	品種 ²	月齢	株数	他病原体 ³
H20.3	県南	H, M	3~4	7	<i>P. multocida</i> , <i>M. haemolytica</i> , <i>M. bovirhinis</i>
H20.6	香枝	B	4~10	3	<i>P. multocida</i> , RSV
H22.2	県南	B	3~5	4	RhinoV, <i>M. dispar</i>
H22.4	五島	B	5~9	5	RSV, BCoV
H24.3	県南	B	9~11	4	PI3, RhinoV
H24.7	県南	B	4~5	5	RSV, <i>M. bovirhinis</i> , <i>M. dispar</i>
H26.7	中央	B	3~6	2	<i>M. dispar</i>

1 供試株は1株/1頭とした

2 H:ホルスタイン種 M:交雑種 B:黒毛和種

3 同症例で *M. bovis* 以外に検出、または病態への関与が確認された病原体

(2) 方法

動物用抗菌剤研究会報の方法¹⁾に基づき、微量液体希釈法により最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。供試薬剤は6系統、計8薬剤を用いた(表-2)。

表-2 方法

・微量液体希釈法によるMIC値測定

・供試薬剤

系統	薬剤名	略称
マクロライド系	タイロシン	TS
	チルミコシン	TMS
テトラサイクリン系	オキシテトラサイクリン	OTC
アミノグリコシド系	カナマイシン	KM
チアンフェニコール系	チアンフェニコール	TP
	フルルフェニコール	FF
その他の抗生物質	チアムリン	TML
フルオロキノロン系	エンロフロキサシン	ERFX

(3) 成績

各薬剤のMIC₉₀はTSおよびTMSが最も高く128µg/ml以上を示した。また、チアムリン(TML)はMIC₅₀、MIC₉₀ともに他薬剤より低く、最も高感受性であった。

ERFXについては2峰性の分布を示し、ブレイクポイント(BP)を2µg/ml、4株(13.3%)を耐性と判断された。他の4薬剤についてはMIC₅₀が4~16、MIC₉₀が16~32µg/mlであった(表-3)。

表-3 成績

	MIC (µg/ml)											MIC ₅₀	MIC ₉₀	BP	耐性率 (株数)	
	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128					>128
TS						2	5	16	2	2		3	16	>128		
TMS						1	1	3	13	12		128	>128			
OTC				1	7	14	8						8	16		
KM						2	16	10	2				16	32		
TP						4	21	5					8	16		
FF					1	17	8	4					4	16		
TML	23	3	4									0.13	0.5			
ERFX				14	7	5	1	1	2				0.5	8	2	13.3% (4/30)

また、症例由来2株は同じMIC値を示し、TMSのMIC値は128µg/ml以上と高い値を示した(表-4)。

表 - 4 成績

	MIC (µg/ml)												MIC ₅₀	MIC ₉₀	BP	耐性率 (株数)	
	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128					
TS						2	5	16	2	2			3	16	>128		
TMS								1	1	3	13	12	128	>128			
OTC				1	7	14	8						8	16			
KM						2	16	10	2				16	32			
TP						4	21	5					8	16			
FF						1	17	8	4				4	16			
TML	23	3	4										0.13	0.5			
ERFX		14	7	5		1	1	2					0.5	8	2	13.3%	(4/30)

○ 症例由来株の成績

(4) 既報との比較

M. bovis の薬剤感受性試験成績について、国内分離株について試験が実施された既報²⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾の MIC₅₀、MIC₉₀ と比較したところ、マクロライド系抗生物質、特に TMS で高く、一方、TML で低い、本試験と同様の傾向であった。ERFX については、本県で、耐性株が確認され、MIC₉₀ が既報と比べて高値を示した。その他の4薬剤については、報告によっては、MIC₅₀、MIC₉₀ の高い薬剤も認められた他は、概ね他報告と同様であった(表-5)。

表 - 5 既報との比較

報告 分離地域 分離時期	長崎		山形		栃木		九州		兵庫、石川、栃木	
	2008~14		2004~05		2005~08		2008~09		2010以前	
薬剤	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
TS	16	>128	16	32	25	50	128	128	25	50
TMS	128	>128	NT		100	>100	>512	>512	100	>100
OTC	8	16	16	16	25	50	16	128	25	50
KM	16	32	16	16	25	25	8	64	25	50
TP	8	16	4	16	12.5	12.5	>512	>512	12.5	12.5
FF	4	16	2	8	12.5	12.5	NT		6.25	12.5
TML	0.13	0.5	NT		0.2	0.39	NT		0.2	0.4
ERFX	0.5	8	0.25	0.25	0.78	1.56	0.25	1	0.8	1.56

加藤ら(2007)、小池ら(2011)、上村ら(2010)、小林(2010)

4 考察

M. bovis の薬剤感受性について、TS および TMS の耐性化が進んでいるとの報告⁴⁾があるが、本県の分離株も TS および TMS の MIC₉₀ は他薬剤と比較して高く、マクロライド系抗生物質に対する感受性の低下が判明した。また、本症例では治療薬として、TS、TMS および ERFX が使用されていたが、分離株の TMS の MIC 値は>128 であったこと、更に、ERFX について耐性株が確認されたことから、治療効果は少なかったものと推察

され、治療薬剤の選択には注意が必要であると考えられた。

Mycoplasma 属菌を有効菌種とする抗菌性物質は限られており、また、薬剤感受性試験データが乏しい状況にあることから、今後も継続して分離株の薬剤感受性状況を調査し、適切な治療薬剤の選択を行うことで、本病の迅速かつ的確なまん延防止に寄与できるものと思われる。

5 参考文献

- 1) 動物用抗菌剤研究会：牛呼吸器病病原菌(マイコプラズマ)の薬剤感受性試験法，動物抗菌会報 18，53-54 (1997)
- 2) 加藤敏英ら：薬剤感受性試験に基づいた牛呼吸器感染症治療プログラムの臨床効果，日獣会誌，61，249-298 (2008)
- 3) 小林秀樹：牛のマイコプラズマ肺炎，牛病学(第三版)，274-275 (2013)
- 4) 小林秀樹：牛・豚由来のマイコプラズマのマクロライド耐性機構と耐性株の現状，動物抗菌会報 32，25-30 (2010)
- 5) 小池新平ら：*Mycoplasma bovis* の薬剤感受性とマクロライド耐性株の 23S リボソーム RNA ドメイン V 領域の解析，日獣会誌，64，45-49 (2011)
- 6) Uemura R, Sueyoshi M, Nagatomo H: Antimicrobial Susceptibilities of Four Species of *Mycoplasma* Isolated in 2008 and 2009 from Cattle in Japan, *J. Vet. Med. Sci*, 72(12), 1661-1663 (2010)