

# 日生研より

第64巻 第2号(通巻607号)  
2018年(平成30年)4月

## 挨拶・巻頭言

縁.....杉浦勝明(2)

## 発表論文紹介

日本での採卵鶏種鶏における鶏大腸菌症生ワクチンの効果.....魚谷勇介(3)

## 論文紹介

アクチノバチラス・プルロニューモニエ攻撃ブタにおける一次感染部位での宿主-病原体相互作用.....昆道葉(5)

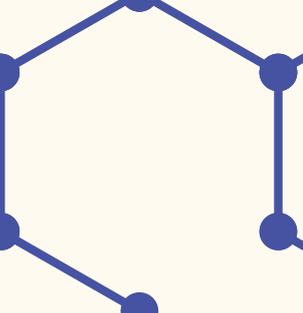
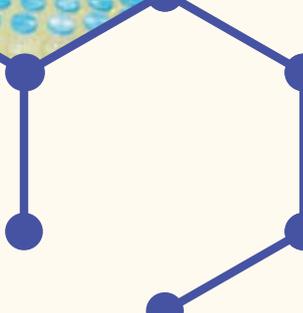
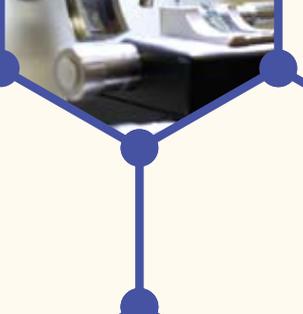
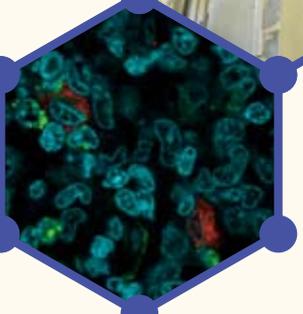
コマーシャル鶏の農場で分離された薬剤耐性サルモネラの多様性について.....横山かえで(12)

## 記録

学会発表演題.....(19)

## お知らせ

編集後記.....(20)



## 縁

杉浦勝明

先々月開催された平昌オリンピックでスピードスケート500m金メダルに輝いた小平奈緒選手は、レース翌日のインタビューで、「金メダルを取った今、ほかの選手と比べてこれだけは負けないと言えるものは何ですか」と聞かれていた。レースでだれにも負けなかった選手に向けるには興味深い質問だと思った。500mのスピードは誰にも負けません、と言われてしまえばそれまでだからだ。しかし、小平選手の答えは違った。彼女は、「人は自由に道を選べる、自分を信じて自分が選んだ道を進んでいくことに関しては今とても自信がある」と答えたのだ。

小平選手は信州大学を卒業後、大学時代のコーチから継続的に指導を受けることを希望して、自分だけでなく、自分とコーチをセットで支援してくれるスポンサーを探していたという。しかしコーチの分の給料まで面倒を見てくれる大手スポンサーはなかなかいなかった。そこで、彼女は負傷時に治療を受けた縁で懇意だった相澤病院に支援を依頼した。先方が彼女の願いを受け入れてくれて、数年後の金メダルにつながったという経緯があったのである。

確かに人との縁は運によるところも大きいですが、誰でも、タイミングの違いはあれ、それなりの良縁に出会うように人生はできているように思う。ただ、その縁を信じて、自分の糧にできるかどうかは人それぞれなのかもしれない。信じるというのは孤独と隣り合わせの心だからだ。小平選手も相澤病院が支援の手を差し伸べるまでは、このまま自分の道を進んでいか迷いもあったはずだ。どんな時も、他人が持つ強運をうらやむことなく、自分に与えられた縁を大切にすることは思っている以上に難しいことである。しかしこの良縁は人との出会いだけではない。日々浮かぶアイデアや、心をかすめる思い、一瞬抱く小さな目標、そういったものとの出会いを無視せず、それらをしっかり自分のものとして信じて、生きる指針にすることができれば、人生はもっと豊かで達成感があるものになるに違いない。

小平選手の座右の銘は「永遠に生きるかのように学び、明日死ぬかのように生きる」であるという。インド独立の父として知られるガンディーの言葉である。彼もまた、自分を信じ、与えられた縁を信じ、多くの困難を乗り越えたのであろう。

国家独立やオリンピック金メダルほどの偉業でなくとも、周囲の笑顔を生むことはできるはずである。多少の孤独に耐え、一生懸命に学び、一日一日を大切に生きていけばきっといいことがあるに違いない。たまにはゆっくりコーヒーでも飲みながら、周りの景色を楽しんで、自分の道をしっかり歩んでいきたいものである。

(評議員)

## 発表論文紹介

## 日本での採卵鶏種鶏における鶏大腸菌症生ワクチンの効果

魚谷 勇介

Efficacy of an avian colibacillosis live vaccine for layer breeder in Japan

Yusuke Uotani *et al. J. Vet. Med. Sci.* 2017. **79**: 1215–1219.

## 背景

鶏大腸菌症は肉用鶏において斃死率や淘汰の増加だけではなく、屠場での解体禁止、全廃棄の原因にもなり、その経済被害は甚大である。一方、採卵鶏での大腸菌症は今まではほとんど報告されてこなかったが、近年日本を含む世界中で採卵鶏における大腸菌症が増加しており、新たな問題となっている。大腸菌症では、感染は呼吸器や生殖器から起こり、卵管炎、卵墜、腹膜炎等の原因となって産卵率の低下、減耗を引き起こす。今までも採卵鶏で斃死率がわずかながら増加することは頻繁に報告されてきたが、はっきりとした原因まで明らかになることは少ない。

鶏大腸菌症により多くの斃死または淘汰が起こるのは、鶏にストレスがかかる産卵の立ち上がりの時期や産卵ピーク前後である。高度に汚染された農場でない場合、HD（ヘンデイ）産卵率への影響は軽微なことが多い。しかし、HH（ヘンハウス）産卵率に基づく解析では、その経済損失が決して小さくないことがわかる。

大腸菌症対策には十分な換気を行うことが重要であるが、鶏舎の換気量は温度や湿度、鶏舎構造といった複数の要因に左右されることから、適切に設定することが非常に難しい。また、採卵鶏から分離された大腸菌の多くが複数の薬剤耐性を保有していることが報告されていることから、抗生物質による治療に代わり飼養管理やワクチンによる予防が望ましい。抗生物質を使用する場合は、多剤耐性菌への対策として感受性のある薬剤を精査し、慎重に行う必要がある。

近年では大腸菌のワクチンを作成するにあたり、病原性に関与する様々な遺伝子が研究されている。すなわち、遺伝子組換え微生物を用いて発現させた *iss* (increased serum survival) 遺伝子融合タンパクの利用やサルモネラに *papA*、*papG*、*iutA*、*clpG* 等の鶏大腸菌症抗原を発現させた経口ワクチン、*ibeA* や *pst* 遺伝子の欠損による病原性の低下が報告されている。また、*aroA* 遺伝子の欠損についての報告も多く、その有効性は広く認められている。しかし、安全性については弱毒化が十分ではないため *luxS* 等他の遺伝子も併せて欠損させた方が良いとの報告

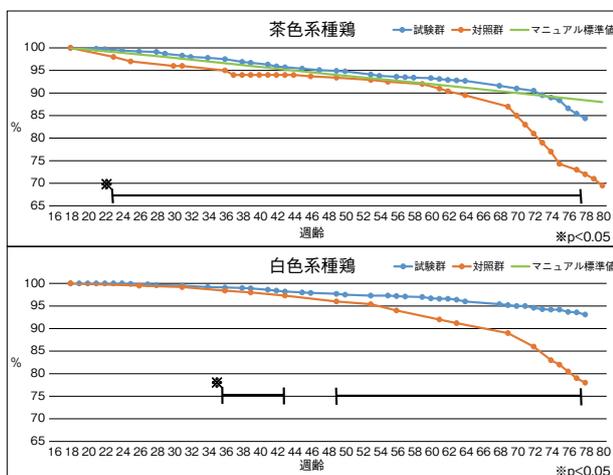


図1 育成率の推移

※カイ二乗検定により試験群と対照群に有意差が認められた期間 ( $p < 0.05$ )

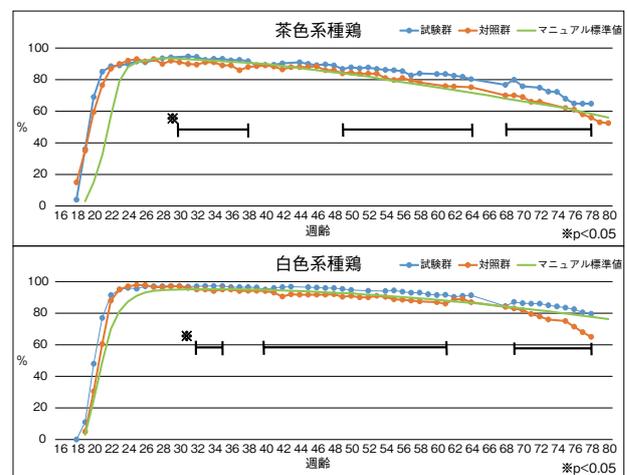


図2 産卵率の推移

※カイ二乗検定により試験群と対照群に有意差が認められた期間 ( $p < 0.05$ )

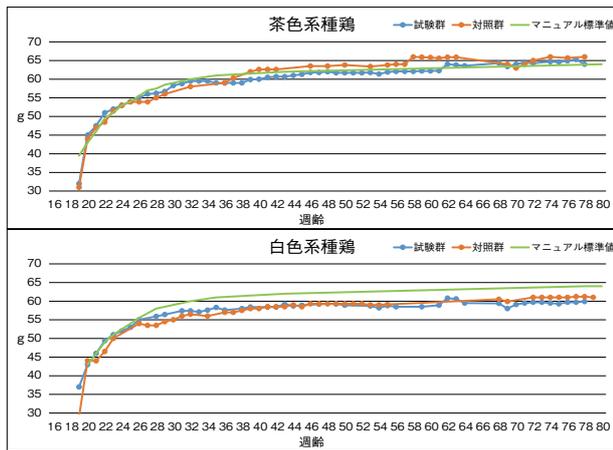


図3 平均卵重の推移

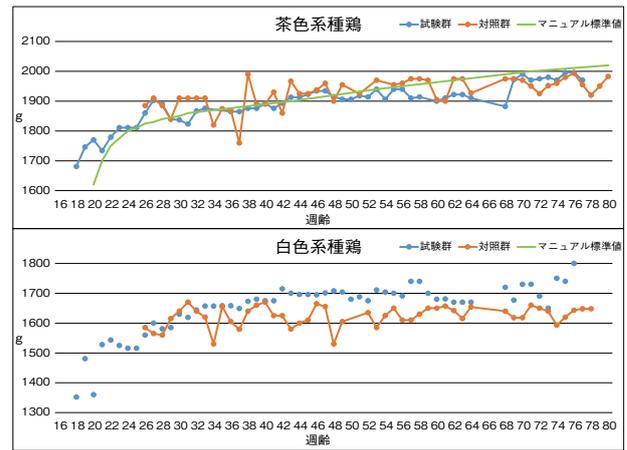


図4 平均体重の推移

もある。

既に鶏大腸菌血清型 O78 の *crp* 遺伝子欠損株の有用性については報告しており (永野ら、*Microbiol. Immunol*, 2012)、この株を用いた生ワクチン (ガルエヌテクト CBL、日生研) を 2012 年より日本国内で販売している。肉用鶏では生ワクチンの使用により生産性が改善することが示唆されており、徐々に普及してきている。本報告では日本の採卵種鶏における生ワクチンの有効性について調査したのでその成績を紹介する。

### 試験方法

試験は毎ロットで大腸菌症による育成率の悪化と産卵ピークの遅れが問題となっていた九州にある開放鶏舎の農場で行った。当該農場の白色系採卵種鶏 8 千羽 (試験群 2 千羽、対照群 6 千羽)、茶色系採卵種鶏 8 千羽 (試験群 4 千羽、対照群 4 千羽) を用いて実施した。ワクチンは生理食塩水に溶解し、28

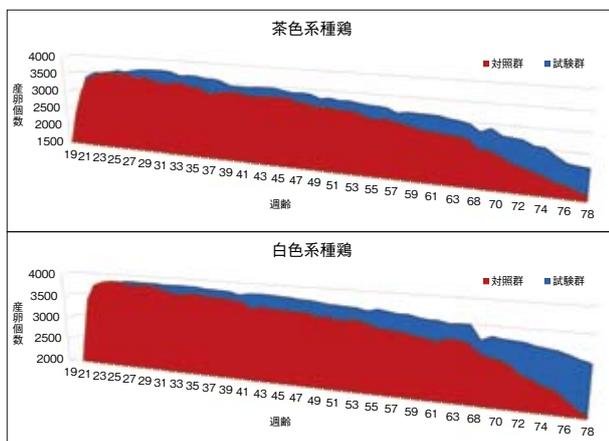


図5 HD産卵成績の推移

日齢に噴霧 (0.3 mL/羽)、64 日齢に散霧 (0.5 mL/羽) で投与した。なお、噴霧には粒子径が 100  $\mu\text{m}$  以下となるようニューコン 607 (Thomas Industries 社) を用いて投与し、散霧には粒子径が 100  $\mu\text{m}$  より大きくなるようパナスプレー (パナソニック社) を用いて投与した。120 日齢に成鶏舎へ移動し、育成率、産卵率、平均卵重、平均体重を記録し、成績を比較した。また、HD 産卵率の成績では白色系と茶色系で比較を行うために、白色系の成績を 4 千羽に換算した。

### 結果および考察

試験群では両鶏種において育成率の改善が認められ、さらに標準的な育成率をほぼ全ての産卵期間中上回った (図 1)。特に、対照群では 56 ~ 60 週齢で突然育成率が落ち、78 週齢を越えるころには 80% を下回っていたが、試験群では改善が認められた。また、対照群の産卵率は産卵開始直後を除いて標準的な値を下回っていたが、試験群では産卵ピーク後も標準的な値を上回った (図 2)。65 ~ 67 週齢にかけて飲水器の故障によって一時的に産卵率は低下したが、問題の解決に伴い産卵率は再び上昇し、78 週齢においても標準的な値を上回った。なお、大腸菌症発生の診断は、斃死率が増加した際の解剖で内蔵型大腸菌症を確認することにより判断した。

一般的に大腸菌症の発生は前述のように産卵の立ち上がりの時期や産卵ピーク前後に多い。飼養マニュアルによると、茶色系採卵種鶏の 50% 産卵は 143 日齢、産卵ピークは 26 ~ 28 週齢、白色系採卵種鶏の 50% 産卵は 147 日齢、産卵ピークは 33 ~ 36

週齢である。この高ストレス期に大腸菌症の発生を防いだ結果として、初期の育成率・産卵率が試験群では良好に推移したと考えられる。長期的な産卵率の改善は、鶏大腸菌症のコントロールにより、良好な健康状態を維持したことによる二次的な効果であると考えられた。卵重は両群間で差はなく（図3）、平均体重は試験群の方がばらつきの少ない傾向にあった（図4）。また、育成率と産卵率が改善した

ことにより、HD産卵率の比較では生産性の向上が顕著に認められた（図5）。その結果としてHH産卵個数では茶色鶏で101,470個、白色鶏で108,183個、それぞれ試験群で増加しており、ワクチン投与による十分な費用対効果が見込まれた。

以上より、鶏大腸菌症生ワクチンは日本の採卵種鶏場の生産性改善に寄与できる可能性が示唆された。（研究員）

## 論文紹介

# アクチノバチラス・プルロニューモニエ攻撃ブタにおける一次感染部位での宿主-病原体相互作用

昆 道葉

Host-pathogen interplay at primary infection sites in pigs challenged with *Actinobacillus pleuropneumoniae*  
Elena L. Sassu *et al.* *BMC Vet. Res.* 2017. 13 : 64

## 文献紹介の意図

アクチノバチラス・プルロニューモニエ（App）により引き起こされるブタ胸膜肺炎は、世界各国で多発しているブタの重要な呼吸器疾患のひとつです。急性であれば食欲不振、元気消失にあわせて発咳や呼吸困難といった顕著な症状を示しますが、これを耐化し屠畜検査時に初めて本症とわかるような慢性症例も多くあります。この場合も飼料効率及び一日平均増体量の低下等を引き起こします。保菌ブタの移動が群間伝播の主因であることから、持続感染についての研究が進められています。今回紹介する論文では、Appがブタに感染した際に起こる変化を、各臓器に対してとその臓器から検出されたAppに対しての両面から解析しています。原文はPMCからダウンロードすることができるので、興味を持たれた方は原文も参考して下さい。

## 背景

Appはブタ胸膜肺炎の原因菌であり、世界の養豚産業において死亡率を高めている。

感染状態は、臨床症状がないものの菌の上気道部

への定着が起こっている場合から、甚急性の死亡を伴う重篤な肺感染症に及ぶ場合まで幅広い。重篤度は、多様な血清型に関連する病原性や、ブタの飼養環境における生物的・非生物的因子の影響を受ける。もしブタが急性感染を耐化した場合、慢性的な肺病変や扁桃陰窩及び鼻腔にAppを保菌する可能性がある。こうして感染したブタはAppの持続的なキャリアになる。ワルダイエル咽頭輪は吸入された病原体が最初に直面する免疫学的・機械的バリアである。このバリアが不全となると、Appのこの部位への定着を許し、さらに急性な再発を引き起こす。呼吸器疾患に対する早期の自然免疫応答は一次感染部位として肺だけに限定しておらず、周辺のリンパ組織、肝臓及び唾液腺まで及ぶ。急性の免疫応答は、急性期タンパク質と炎症性サイトカインの持続的な産生が特徴である。炎症性サイトカインとしてはIL-6、TNF- $\alpha$ 及びIL-1がよく知られているが、これらの産生は特にAppのエンドトキシン（内毒素）と細孔形成型外毒素Apx I～IVの相乗効果によって増強される。したがって、これらの細菌学的病原因子は直接的にはApxの細胞毒性効果によって、間接的には炎症反応の増悪によって組織の損傷を引き起こす。

宿主 - 病原体相互作用の初期段階での洞察を得るため、著者らは実験的にブタへ気管内感染経路で App 攻撃試験を行い、感染の最初の数時間について宿主と病原体を並行して研究した。肺、肝臓、唾液腺及び扁桃における炎症性サイトカインと急性期タンパク質に関する mRNA の発現を、気管支肺胞洗浄液 (BALF)、血清及び唾液サンプル中のタンパク質レベルマーカーと共に調査した。病原性微生物の宿主組織への影響を研究するため、フーリエ変換赤外分光法 (FTIR) を用いた。FTIR は確立した振動性分光学的技術であり、幅広い範囲の生物学的材料を分光的に鑑別することができる。近年計量化学的補助式 FTIR は、病原微生物の宿主環境への代謝による適応を研究する上で有用なツールであることが明らかになった。例えば、FTIR はマウスから異なる遺伝子型と共に再分離された *Listeria monocytogenes* の代謝において、遺伝子型特異的な宿主への痕跡を検査することに成功している。別の研究では、FTIR による分娩後乳牛の子宮排出物から再分離された *Streptococcus uberis* の解析結果から、子宮の健康状態に関連する *S. uberis* の特定の生物型を明らかにした。これらの成果は、FTIR が巨大分子かつ代謝レベルでの細菌の宿主への適応を調査するのに適した技術であり、ヒトだけでなく動物の病原体に対しても運用可能であることを示している。今回の研究では、ブタが App に感染した初期段階で既に臓器特異的な代謝異常を起こしていること、またそれは宿主に検出された変化を反映していることを明らかにした。

## 材料と方法

FTIR は、感染ブタの臓器及び組織から再分離した App の代謝が宿主に与える影響について調査するために用いた。赤外スペクトルはタンパク質、核酸、多糖体及び脂肪酸の振動の伸展と屈曲を別々の振動範囲に表すことで、生細胞の生化学的構成を反映する。この仕組みによって FTIR は細菌の代謝プロファイルを作成できるため、宿主 - 病原体相互作用の研究にとって強力かつ非常に特徴的なツールになっている。代謝プロファイルを得るため、分離菌それぞれを 1 白金耳分採取し、PPLO 寒天培地上に 37°C で 24 時間、菌叢として培養した。サンプルを

既報に従い FTIR 用として調製した。概説すると、1 白金耳分の細菌を 100  $\mu\text{L}$  の滅菌蒸留水に浮遊した。次に、その菌浮遊液の 30  $\mu\text{L}$  をセレン化亜鉛光学プレート (BrukerOptics GmbH, Ettlingen, Germany) に移し、40°C で 40 分間乾燥させた。赤外吸収スペクトルは、TENSOR II FTIR 装置 (BrukerOptics GmbH) に設置した HTS-XT (High Throughput Screening eXTension) マイクロプレートアダプターによって未充填因子 4 つとブラックマン・ハリス窓 3 区間をアポダイズし、分解能 6  $\text{cm}^{-1}$ 、レンジを 4000 ~ 500  $\text{cm}^{-1}$  に変換し記録した。スキャン干渉図 32 枚の平均スペクトルは、各スペクトルのバックグラウンドを差し引いて算出した。スペクトラムデータを処理、解析し、続く計量化学解析は OPUS ソフトウェア (Version 7.2; BrukerOptics GmbH) を用いて行った。ポリサッカライド領域 (1200 ~ 900  $\text{cm}^{-1}$ ) 中のレンジ 1150 ~ 1100  $\text{cm}^{-1}$  は、階層的クラスター解析 (HCA) によって組織に関連する細菌代謝プロファイルを精査する際に最も特徴的な情報を示す。細菌の莢膜に関する特異性を精査する際に最も特徴的な波長領域は、ポリサッカライド領域 (1200 ~ 900  $\text{cm}^{-1}$ ) とタンパク質領域 (1800 ~ 1500  $\text{cm}^{-1}$ ) であった。二次微分スペクトル (9 ポイントの Savitzky-Golay フィルター) の系統樹は、再現レベル 30 に標準化したウォードのアルゴリズムを用いて作成した。粗製莢膜抽出物 (CEs) の測定は以前に発表した方法に微細な変更を加えたもので実施した。

(材料と方法の項は一部割愛いたしました)

## 結果

### 臨床上及び剖検時の所見

感染後 4 時間で全てのブタは実験的に App 感染し、呼吸困難、開口呼吸、発咳といった呼吸器症状を示した。まれな症状として嘔吐があったが、感染群と対照群両方にみられたことから、これはおそらく麻酔の副作用と考えられた。対照群は呼吸器症状を全く示さなかった (表 1)。感染群のブタに対しては追加で肉眼的及び組織学的に肺の病理学的変化を確認した。全ての感染群の肺において、肝変化による赤色病巣と小葉間浮腫による多巣性出血性病変

表1 対照群及び感染群の臨床スコア (CS)、肺病変スコア (LLS) 及び肺病変の組織学的評価

群	臨床スコア	肺病変スコア	組織学的評価
対照 (n=4)	0(0-0.75)	0(0-0.6)	好中球及びマクロファージの肺胞中隔への中等度浸潤
感染 (n=6)	4(2.75-5.5)**	7.39(3.1-16.56)**	線維素性化膿性、壊死性及び出血性胸膜肺炎

\*\* p ≤ 0.01: ウィルコクソンの順位和検定

死亡時 (8 hpi) より前の CS と剖検時の LLS は中央値 (四分位数間領域) として表した。

太字: 有意差あり

が確認された。1 個体において、初期の胸膜炎を意味する臓側胸膜上の孤立散在性フィブリン層がみられた。表 1 に示す通り、感染群における肺病変スコアは対照群のものと比較して顕著に高かった。

感染群における顕微鏡レベルでの肺組織の病変は、重度の好中球の浸潤と同様に肺胞腔及び肺胞中隔への線維素滲出が主であり、これらは呼吸細気管支の閉塞を招く。組織学的診断は線維素性化膿性、壊死性及び出血性胸膜肺炎だった (表 1)。対照群は胸膜肺炎の病理学的兆候を見せなかった。

#### 血中の細胞学的所見

感染後はどの時点をとっても 2 群間における血中好中球数の差はみられなかった。それにも関わらず、顆粒球分画では差異が検出された。感染後 8 時間における感染群の成熟好中球である分葉核好中球数は、

対照群と比較して顕著に低下していた。一方で、幼若顆粒球である桿状核球と後骨髄球について感染前の感染群サンプルと比較したところ、その両方で細胞数に著しい上昇がみられた。感染後 5 時間で既に感染群の桿状核球数は上昇していた。BALF の採取は感染後 8 ~ 10 時間に、屠体から採材した肺から行った。感染群の BALF 中細胞数において、総白血球数は有意に (p ≤ 0.01) 高く、同様にリンパ球と肺胞マクロファージも高い傾向 (p=0.057) がみられた (表 2)。

#### 宿主組織における遺伝子発現

炎症性サイトカイン (IL-6、IL-1 及び TNF- $\alpha$ )、ケモカイン IL-8 そして非炎症性サイトカイン IL-10 について、肝臓、肺、唾液腺及び扁桃での遺伝子発現を評価した。iNOS (誘導型一酸化窒素合成

表2 対照群と感染群の様々な体液中サイトカイン (IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ )、急性期タンパク質 (CRP, ハプトグロビン) 濃度及び細胞数

	対照群 (n=4) <sup>a</sup>	感染群 (n=6, <sup>c</sup> n=3)
BALF 中 サイトカイン		
IL-6 (pg/mL)	ND	434.2 (ND-2491.5)
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	ND	1166.8 (ND-2808.1)
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	129.5 (ND-410.4)	ND
BALF 中 急性期タンパク質		
CRP (ng/mL)	89.7 (39.5-189.6)	389.7 (192.6-554.4)
Hp ( $\mu$ g/mL)	6.7 (5.2-9.1)	89.7 (39.5-189.6)
BALF 中 細胞		
白血球 ( $\times 10^9/L$ )	2.9 (1.8-5.1)	<b>11.4 (7.8-16.9)**</b>
リンパ球 ( $\times 10^9/L$ )	0.1 (0-0.3)	<sup>c</sup> 2.5 (0.8-6.1)
肺胞マクロファージ ( $\times 10^9/L$ )	1.7 (1.5-2.3)	<sup>c</sup> 6.2 (4.5-10.6)
	感染群 (感染前) <sup>b</sup>	感染群 (8hpi)
血清中 急性期タンパク質		
CRP ( $\mu$ g/mL)	49.7 (18.4-71.5)	<b>202.2 (93.9-3.9)*</b>
Hp (mg/mL)	0.7 (0.2-1.1)	0.7 (0.5-1.3)
唾液中 急性期タンパク質		
CRP (ng/mL)	3 (1.3-7.4)	27.9 (8.4-37.6)
Hp ( $\mu$ g/mL)	0.4 (0.2-1)	<b>1.9 (1.3-3.6)*</b>

群平均で表記 (四分位数間範囲) \* p ≤ 0.05 \*\* p ≤ 0.01 ウィルコクソン順位検定

a: 感染直後の BALF は対照群と感染群で差あり。

b: 感染群において最終採取時 (8 hpi) と感染前に差あり。

c: 感染群のうち 3 頭では BALF 中白血球と肺胞マクロファージが検出されなかった。

太字: 有意差あり; ND: 検出限界以下

酵素)、HO1 (ヘムオキシゲナーゼ)、IL-2、IL-4 及び INF- $\gamma$  は検出限界以下であったが、この理由については本研究では考察しなかった。対照群と比較して感染群では、IL-6 の発現は肝臓 ( $p \leq 0.05$ )、肺と唾液腺 (共に  $p \leq 0.01$ ) において顕著に高かったが、扁桃においては傾向が認められるのみであった ( $p=0.06$ )。感染群の肺組織においては、全ての炎症性サイトカインと IL-8 が有意に ( $p \leq 0.05$ ) 発現上昇していた。その上、感染群の唾液腺における IL-1 の発現も有意に ( $p \leq 0.05$ ) 上昇していた。IL-10 の発現についてはどの組織においても有意差が認められなかった。扁桃においては今回検討した項目の変化が認められなかった。急性期タンパク質 (CRP、HRP 及び ASS) の mRNA 発現についても同様の組織において検査した。血清アミロイド A (SAA) 発現は扁桃以外のすべての組織で有意に ( $p \leq 0.01$ ) 発現上昇していた。唾液腺においては、全ての急性期タンパク質の発現が有意に ( $p \leq 0.01$ ) 上昇していたが、扁桃では遺伝子発現における対照群との差はみられなかった。

#### 血清、BALF 及び唾液中のタンパク質発現

炎症性サイトカイン (IL-6、IL-1 及び TNF- $\alpha$ ) 濃度は血清中及び BALF 中において、急性期タンパク質 (CRP と Hp) 濃度は血清、BALF 及び唾液中において定量した。感染群の血清中においては炎症性サイトカインの有意な変化は認められなかった (データ未公表)。

興味深いことに、TNF- $\alpha$  は感染後の BALF からは検出されなかった。これに対して、IL-6 及び IL-1 濃度は対照群では検出限界以下だったが、感染群では濃度の中央値が上昇した。急性期タンパク質の発現状況は血清と BALF で類似していた。Hp 濃度は試験を通して変化が認められず、CRP 濃度は感染後 8 時間で顕著に上昇していた (表 2)。唾液

中の CRP 及び Hp 濃度は感染群において上昇していた。特に最終ポイントにおいて、Hp 濃度は有意に ( $p \leq 0.01$ ) 上昇していたが、一方で CRP 濃度は上昇傾向を示す ( $p=0.07$ ) のみであった。対照群では全ての項目において変化がなかった。

#### 宿主組織における App の代謝プロファイル

App は感染群 6 頭全ての肺、2 頭の扁桃及び 3 頭の外鼻孔から分離された (表 3)。血清型 2 型特異的 PCR (APPcps2 PCR) を用いて、分離株が攻撃に用いた App 血清型 2 型株であることを確認した。分離株のクローン性及び遺伝的安定性は M13-PCR を用いて DNA フィンガープリント法にて確認した。全ての分離株が M13-PCR にて同一のバンドパターンを示し、これらの株は攻撃株が原株であることを示していた。宿主組織から分離されたすべての App の FTIR スペクトルを記録し、計量化学的解析に供した。

標準化し前処理したスペクトルデータを階層的クラスタ解析 (HCA) することで、分離株の明確な臓器特異的クラスタが明らかになった。これは宿主内で継代された App の代謝が臓器特異的な影響を受けたことを意味している。

IR スペクトルによれば、ポリサッカライド領域となるスペクトル窓  $1150 \sim 1100 \text{ cm}^{-1}$  は、最も高い検出強度を示し、結果として 4 つの主要クラスタが生じた (図 1)。クラスタ a はすべての肺由来株と攻撃株を包含するのに対して、上気道 (扁桃及び外鼻孔) 由来株のクラスタは、クラスタ a から分かれて b ~ d の 3 つのクラスタとなった (図 1)。さらに継代培養を重ねても、細菌の代謝順応は初代から安定なままであった。実験室内環境下での連続培養の結果、代謝の変化は可逆的なことが明らかとなった。実験室内で 5 代継代した菌の FTIR スペクトルデータにおける HCA は、上気道

表 3 急性感染動物の様々な組織から再分離された App

組織		動物					
		I1	I2	I3	I4	I5	I6
肺		○	○	○	○	○	○
外鼻孔	左	-	○	-	○	-	-
	右	-	○	-	-	○	-
扁桃	左	-	○	-	○	-	-
	右	-	-	-	○	-	-

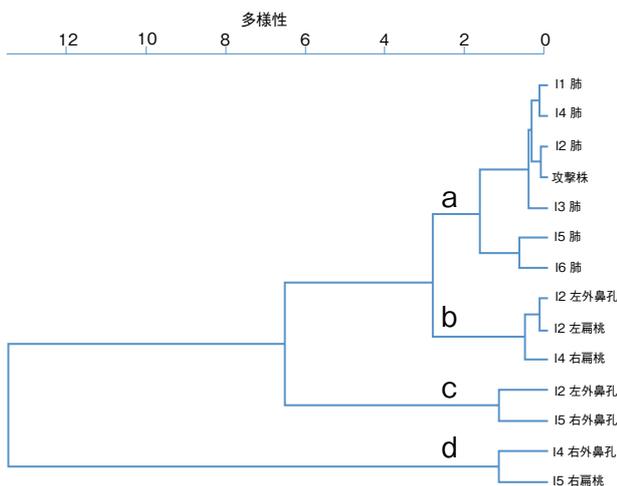


図1 感染群のブタの異なる臓器から分離された App 血清型 2 型菌を FTIR スペクトル解析した結果から作成した階層的クラスタ

及び下気道由来菌は同一クラスタとなることを明らかにした。後者の結果は、臓器特異的な環境が代謝順応の引き金であり、実験室内環境下での連続培養が原因で喪失したことを示している。

### App の粗莢膜抽出物の解析

肺及び上気道（扁桃及び外鼻孔）由来 App の代謝プロファイルは FTIR によって得られた。これらのポリサッカライド領域およびタンパク質領域において、著しい差が明らかになった。莢膜は App において重要な病原因子であり、主成分はポリサッカライドであるため、再分離株より CE を抽出した。CE 関連タンパク質を保持するため、後半ではそれ以上の精製を行わない低水溶性フェノール莢膜抽出法を採用した。抽出した CE は、FTIR と計量化学的解析に供試した。CEs に関する FTIR スペクトルデータの  $1800 \sim 1500 \text{ cm}^{-1}$  領域（タンパク質領域）と  $1200 \sim 900 \text{ cm}^{-1}$  領域（ポリサッカライド領域）を HCA することによって、2つの主要クラスタに分かれることが明らかになった：一方のクラスタは攻撃株と感染群のブタ I1 ~ 4 及び I6 の肺由来株で構成され、もう一方は I4 の扁桃由来株から構成された（図2）。クラスタ分けの基準となった再分離株 CE の微分 FTIR スペクトル解析は、宿主器官特異的プロファイルを検索するために行った。つまり、分離 App の CE の二次微分、ベクトル正規化後の平均 FTIR スペクトルを用いて、扁桃由来株のスペクトルから肺由来株のスペクトルを差し引くことで算出した。分離株間の CE の比較によって、

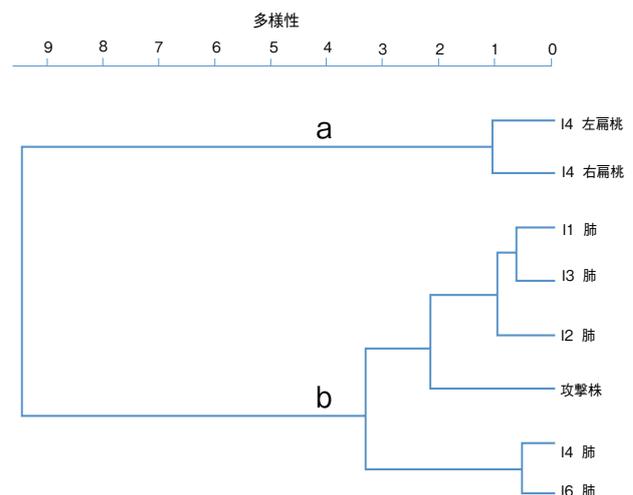


図2 App 血清型 2 型菌の CE の FTIR スペクトル解析から作成した階層的クラスタ

タンパク質領域 ( $1800 \sim 1500 \text{ cm}^{-1}$ ) 及びポリサッカライド領域 ( $1200 \sim 900 \text{ cm}^{-1}$ ) 内における有意な変化が明らかとなった。肺由来株において  $1637 \text{ cm}^{-1}$  に達する高い吸光度が記録されたが、このバンドは  $\beta$ シート構造のアミド I バンドに該当する。

もう一つの扁桃由来株の特徴的な差は、肺由来株の CE と比較して、吸光度  $984 \text{ cm}^{-1}$  にて検出された。このバンドはポリサッカロイド領域に該当することから、糖 C-O-P と P-O-P 構造が吸収する環振動が O-C、C-O 構造の優位を占めるスペクトル領域に分類される。

### 考察

初期に誘導される免疫応答は App を含む一般微生物への最初の防御ラインである。これらによる病原体の排除失敗は、結果として持続感染状態への発展を招くことになる。通常早期免疫応答が起こる急性期ブタ胸膜肺炎を本研究で検証したのはこのためである。急性期感染を誘導するため、気管内攻撃を採用した。本研究で実施した実験モデルは、結果として両側に拡散した肺炎を引き起こし、臨床症状は LLS に反映されたため、感染の再現が確認された。これらの結果は、過去の他血清型 App における感染実験の研究結果に沿うものである。この気管内攻撃モデルは、病変が均等に分布したため、他の感染経路では一般的に伴われるばらつきが少なくなった。よってこの点において、本研究の検体数が少ないことによる問題はカバーできたといえる。

感染後8時間において、成熟好中球である分葉核好中球数の減少と同時に幼若好中球である桿状核好中球数及び後骨髄球数の増加がみられた。これは成熟好中球が血中から感染部位へ遊走されるのと同様に、骨髄から血中へ未熟桿状核球が早期遊走されるという、細胞性自然免疫応答の動態を明らかにしている。感染群の肺組織での急速な好中球の浸潤と高いIL-8の発現により、本疾患の病態形成における好中球とケモカインの相互作用の重要な役割が確認された。

血清においては、IL-1の濃度に変化はみられず、感染後最初の8時間においてわずかな濃度上昇がIL-6とTNF- $\alpha$ に認められたのみであり、これは過去の研究結果と一致している。Fossumらは、App2型感染後20時間で最も早く検出できた炎症性サイトカインとしてIL-6を報告していた。近年ではWynsらが、感染実験後に全部で3つのサイトカインが上昇し、血中TNF- $\alpha$ とIL-6の平均値がピークを示すのはそれぞれ感染後12時間と10時間であったことを明らかにした。これらの炎症性サイトカインに対する知見に対して、本研究における血中CRP濃度は感染後8時間で上昇した。血清中Hp濃度は今回の感染実験中影響を受けなかった。

本研究にて得られた、感染後に血清中CRP濃度が4倍上昇するという結果は、過去の報告にみられた2~9倍上昇の範囲と一致した。健康なブタ血漿中の正常CRP濃度は、個体差が大きく11~77  $\mu\text{g}/\text{mL}$ と変動があるが、本研究結果はこの範囲に含まれている。CRP濃度に対して遅反応性急性期タンパク質Hpの濃度は、両群共に血清中で生理学的レベル(0.29~0.52  $\text{mg}/\text{mL}$ )を保っていた。血清中データに対してBALF中データでは、感染群におけるIL-6とIL-1の濃度が上昇した。この結果から、急性の細菌性気道感染は全身性よりむしろ局在性のサイトカイン応答を引き起こすという仮説が導き出された。しかしながら、TNF- $\alpha$ は感染群の肺においてmRNAが高発現であるにも関わらず、そのタンパク質は検出できなかった。同様の結果は以前の研究でも認められている。あるマウスでの研究結果では、肺サーファクタントプロテインAには分泌型白血球ペプチターゼ阻害物質(SLPI)の産生亢進能があることが示されている。SLPIは、LPSが誘導するNF- $\kappa$ Bの活性を阻害することにより、

TNF- $\alpha$ の産生を低下させることが知られている。このことからLPS誘導型NF- $\kappa$ Bの活性化も、対照群と比較して感染群のBALFでTNF- $\alpha$ の発現量低下がみられたことに関係するかもしれない。とは言うものの、これ以上の仮説のためにはさらなる実験が不可欠である。

ワルダイエル咽頭輪は気管内感染経路を迂回しているにも関わらず、自然免疫応答の検出結果は肺に限局せず、むしろ上気道器官まで広がっていた。炎症性サイトカインは全ての感染動物の肺組織から第一に誘導されていたが、唾液腺が急性期タンパク質、IL-6及びIL-1の主要発現部位であった。後者の発見は予想外であった。なぜなら扁桃と唾液腺は病原体への接触が肺に続いてほぼ同時であるにも関わらず、扁桃組織における免疫応答はむしろ欠如していたからである。

好発部位であるにも関わらず、唾液腺と扁桃は宿主免疫応答において真逆の様式を示した。扁桃組織では急性期タンパク質でも炎症性サイトカインのものでないmRNAが発現していた。末梢リンパ組織での急性期タンパク質の肝外産生は、過去に急性App感染における報告がある。しかしながら、唾液腺での急性期タンパク質の肝外産生による効果はほとんど知られていない。免疫組織化学的知見としては、Gutierrezらが唾液腺の腺房と導管上皮細胞でのHp局在化を明らかにした報告がある。本研究では、App感染ブタにおいてHpとSAAに限らずCRPも有意な上昇を示した。感染群の唾液中のHp及びCRP濃度が高い値に達していることから、この発現上昇は転写レベルとタンパク質レベルの両面において明白であった。この急性期の細菌感染における唾液腺への突出した影響が、唾液腺自体にAppが存在していたことに関連するのことは今日まで解明されていない。とは言え、解剖学的に近接した扁桃での細菌検出と、唾液腺に対するAppのコロニー形成への感受性に関する既報は、Appが唾液腺に侵襲できることを示唆している。興味深いことに、発咳や粘膜線毛エスカレーターの影響もあって扁桃組織からの再分離は可能であった。しかしながら、扁桃におけるサイトカインや急性期タンパク質の発現上昇から示される宿主免疫応答は検出されなかった。

ここ20年で、FTIRは微生物の亜種レベルまで同定可能な技術として確立した。その高い識別能力に

よって、FTIRは細菌同定のためだけでなく例えば非生物学的ストレスまたは宿主遺伝子型といった、環境からの影響を細菌の代謝プロファイル上で検証するための採用が増加している。従って、FTIRはAppの宿主への影響を探究すると同時に、App感染に対する宿主の応答を解析するツールとして最適である。

第一段階として、宿主の別々の組織から再分離されたAppを対象として分子生物学的解析を行い、攻撃株と同一の遺伝子型か確認した。すべての分離株はApp2型特異的PCRに陽性であり、M13-PCR特性も同様の結果を示した。しかし分子タイピングの結果とは異なり、FTIR解析の結果から分離株における別々のクラスター形成が明らかになった。分離株の再分離された組織に応じたクラスターは(図1)、それらの下気道から上気道への移動による生理的代謝を反映している(図1・2)。これはAppがコロニー形成または感染する体の部位に応じて、異なる適応戦略をとることを示しているのかもしれない。特に、攻撃株と肺由来株が一つのクラスターを形成しているのに対して、上気道由来株が別々のクラスターを形成していることは注目すべき点である。この知見から、本細菌は実に急速に上気道に適応するという仮説が導き出せる。この仮説は、上気道由来株の代謝プロファイルが肺由来株及び攻撃株のものとは異なっていたことが反映されている。さらに本研究の結果は、攻撃株における実験室でのPPLO培地及び培養環境が、宿主内で細菌が直面する急性肺感染環境をよく模倣できていることを明らかにした(図1)。細菌の発育環境は病原性微生物の代謝と病原因子の発現に大きな影響を与えるため、感染実験に用いる攻撃菌調整の際には必ず考慮に入れなければならないのは既知の通りである。今回観察されたAppの表現型の代謝適応は可逆的であった。これは他の細菌について近年報告された、宿主環境に起因する記憶は時間をかけて失われるという知見に沿っている。臨床症状を一切起こしていないブタの扁桃及び外鼻孔からAppが分離されることは一般的であるため、本病原体はこの部位にて持続感染すると考えられている。従って、様々な宿主臓器でコロニー形成する場合、その代謝適応の違いはAppの持続感染を促進した可能性がある。実際にHCAの結果から、肺由来株は独自のクラスターを形成す

ること、対する上気道由来株はそのクラスターに多様性をみせることが明らかになった(図1)。後者の分離株にみられたこの多様性は、発咳といった急性疾患症状それぞれの出現を反映しているのかもしれない。

細菌が宿主臓器に特異的に適応した際の代謝プロファイルに対する最も顕著な影響は、スペクトル領域1150~1100 $\text{cm}^{-1}$ から分かった。この周波域はポリサッカライド領域(1200~900 $\text{cm}^{-1}$ )であり、これは糖(C-O-C、C-O-P)の伸縮環振動に起因する複合配列のピークが優位である。扁桃由来株と肺由来株のCEsから記録されたFTIRスペクトルを比較したところ、それぞれのタンパク質及びポリサッカライドの組成に大きな違いがあることが明らかとなった。このことから、莢膜が細菌の宿主臓器ごとに特異的に代謝適応するのではないかという推測が導き出される。肺由来株のCEsにおいて $\beta$ シート構造が強く検出されていたことは、 $\beta$ シート輸送タンパク質がより高発現していたことを示している。Appが観察された宿主組織特有の適応に関与している分子学的構造とその機序を解読するためには、莢膜のポリサッカライド及びタンパク質を定量的及び定性的に解析することが必要とされるが、それは今回の我々の研究範囲を明らかに越えている。現在進行形の研究(Frömbingら未発表)においても、予備試験の結果から扁桃由来株の莢膜構成成分の産生は減少していることを指摘している。*S. aureus*については、莢膜発現の減少は動物(例えば慢性骨髄炎、ウシ乳房炎)同様、人間における慢性感染を確立維持するために有利であるという報告が既にある。本結果に基づけば、感染ブタにおけるApp持続感染を解読する第一段階として、莢膜組成がブタの扁桃への適応に重要であることが推察される。

## 結論

全体を通し本研究における結果は、すでに感染後8時間で唾液腺が口腔内免疫において重要な役割を持つことを示した。肺に対する場合と対照的に、Appは扁桃の免疫応答への刺激も与えなかった。従って、代謝プロファイルで観察されたAppの特異的変化は、おそらくブタの扁桃への適応に重要である。Appは慢性感染を起こし、定着するために宿

主に適応するが、その病原巣として扁桃が担う正確な役割と寄与を解明するためには、さらなる研究が必要である。

(参考文献は割愛いたしました)

## 所感

Appによるブタ胸膜肺炎に対するワクチンは、日生研株式会社を含む複数のワクチンメーカーから販売されていますが、完全に感染を防ぐことはできないため本疾病は日本国内でも未だ継続して発生しています。抗生物質による治療は一定の効果を示しますが、他の細菌と同様 App の薬剤耐性菌の報告は増加しており、さらなる対策の研究が求められてい

るのが現状です。

本論文から、ブタ胸膜肺炎における宿主であるブタの免疫応答と、病原体である App の宿主環境への適応戦略についての興味深い知見を得ることができます。特に莢膜について、その組成は App のブタ扁桃への適応に関係する可能性を示唆しています。莢膜の抗原性の違いは血清型にも関わり、現行のワクチンは血清型特異的となっています。本論文で FTIR による解析が行われたように、従来とは異なる側面からの解析を試みることは、病原体の新しい知見を明らかにします。今後、より効果の高いワクチンを開発するためにも、新しいアイデアに挑戦していきたいと感じました。

(副研究員)

## 論文紹介

# コマーシャル鶏の農場で分離された 薬剤耐性サルモネラの多様性について

横山かえで

Diversity of antimicrobial resistance phenotypes in *Salmonella* isolated from commercial poultry farms  
Karen A. Liljebjelke *et al.* *Front. Vet. Sci.* 2017 doi : 10.3389/fvets. 2017. 00096

## 文献紹介の意図

サルモネラによる食中毒は、2000年頃と比較すると患者数は減少しているものの、未だに日本における主な食中毒の原因のひとつとなっています。厚生労働省の「平成28年(2016年)食中毒発生状況」によると、平成28年のサルモネラによる食中毒患者数は704人であり、これは、ノロウイルス、カンピロバクター、ウェルシュ菌の次に多い患者数になります。サルモネラ症の感染源は鶏卵や、鶏肉等の肉類が多いため、養鶏場や食鳥処理場でのサルモネラによる汚染防止が重要です。しかし、現在国内だけでなく、世界各地でサルモネラの薬剤耐性株が確認されており、耐性株の疫学調査等の対策が求められています。その参考として、米国のブロイラー農場における調査をまとめた上記の論文を紹介いたします。

原文は「Frontiers in Veterinary Science」から自由にダウンロードできますので、興味を持たれた方はそちらもご覧下さい。

## 要約

サルモネラは、依然として米国において食中毒の主な原因であり、食物連鎖による薬剤耐性サルモネラの拡散はサルモネラ症の治療において重要な問題である。我々は、統合されたブロイラー生産(ブロイラーインテグレーション)における抗生物質感受性株および耐性株の伝播について理解するために、このシステムにおけるサルモネラの生態について調査した。米国食品医薬品局(FDA)が全米薬剤耐性菌監視システム(NARMS)によって実施した小売鶏肉調査では、初年にブロイラー農場から薬剤耐性

サルモネラを検出しており、これに焦点を当てたレトロスペクティブ研究（後ろ向き研究）によりデータを分析した。検出されたサルモネラの63%は、NARMSのプログラムで使用されている19種の抗菌剤パネルに感受性であった。2か所のブロイラー農場から分離されたサルモネラのうち、25種の薬剤耐性株が観察された。そのうち最も多い型は、ストレプトマイシンに単独あるいは他の抗生物質と組み合わせ耐性を示した株であった（36.3%）。ストレプトマイシンおよびスルファジメトキシシンに対する耐性は、トランスポゾン *Tn21* に関連していることが示唆された。ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、スルファジメトキシシン、トリメトプリムおよびテトラサイクリンに対する薬剤耐性の組合せは、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）によって同定された種々の *Salmonella enterica* 血清型および遺伝子型において観察された。サルモネラの抗生物質感受性は、農場内および農場間で差があり、これらの違いのうち、いくつかは特定の血清型に関連していた。しかし、農場間の違いに抗生物質の使用は関連していなかった。農場固有のサルモネラ血清型に対する時間的および空間的分布の分析は、薬剤耐性サルモネラの垂直伝播を防止することで、薬剤耐性サルモネラによる屠体汚染、それに伴う人への感染リスクを減少させることを示唆している。

## 背景

サルモネラは依然として米国で流行する胃腸炎の主な原因であり、家禽食品の消費がこれらの流行のいくつかに関与しているのではないかとされている。HACCPプログラムの実施以来、処理された鶏枝肉のサルモネラ汚染のレベルは改善されてきている。しかし、米国ワシントン DC 地域の小売肉調査において、牛肉、豚肉および家禽製品に薬剤耐性サルモネラが驚異的なレベルで汚染していることが明らかになった。食物連鎖を通じた薬剤耐性サルモネラの伝播は、胃腸炎を発症した場合、特に医学的介入が必要な小児、高齢者および免疫不全の患者において治療が失敗する可能性を考慮すると、公衆衛生上重要な意義を有する。さらに、サルモネラを含む薬剤耐性細菌による感染は、より高い罹患率および死亡率と関連している。

畜産において、抗生物質の使用が食中毒の病原体における薬剤耐性株の出現の要因となっていることは以前から指摘されている。多剤耐性 *Salmonella enterica* Typhimurium フェージ型 DT104、そしてセ

フトリアキソン耐性 *S. enterica* 血清型の Heidelberg、Newport、Typhimurium の出現および急速かつ世界的な拡散は、多種の薬剤耐性菌が畜産および人の健康に脅威をもたらすことを強調している。薬剤耐性遺伝子は、病原菌、共生菌および環境細菌等の様々な菌が有している。さらに、一度薬剤耐性株が生態系に導入されると、抗生物質の選択的圧力を維持しなくても耐性株は広がり、持続することが知られている。また、薬剤耐性遺伝子のリザーバーは以前考えられていたよりも多い。このような環境下では、治療用および非治療用の抗生物質を選択的に使用することで、鶏の常在微生物叢から薬剤耐性遺伝子を獲得するサルモネラが出現する可能性がある。さらに、サルモネラが長い間、畜産農家の環境中に生存することで、耐性遺伝子を獲得する機会が増えていく。

我々は、サルモネラ汚染および薬剤耐性株の出現に対する潜在的かつ重要な制御ポイントを特定するために、家禽生産という統合された環境を利用し、ブロイラー飼育下で検出された薬剤耐性サルモネラを観察した。最終的には、薬剤耐性サルモネラによる屠体汚染レベルの減少に関連した情報を提供することを目的としている。米国食品医薬品局（FDA）が全米薬剤耐性菌監視システム（NARMS）によって実施した小売鶏肉調査では、初年にコマーシャルブロイラー農場から薬剤耐性サルモネラを検出しており、これに焦点を当てたレトロスペクティブ研究（後ろ向き研究）によりデータを分析した。薬剤耐性プロファイルの多様性にも関わらず、2003年にこれらの農場から検出された家禽のサルモネラは、動物および人の健康に重要だと考えられる抗生物質に対して、一般的に感受性があった。薬剤耐性サルモネラによる鶏の屠体汚染において、垂直伝播が最も重要な要因であることが示唆された。

## 材料と方法

### ジョージア州北東部におけるコマーシャルブロイラー養鶏場 2 か所の抗生物質使用の説明

対象農場の選択および説明については前述のとおりである。約1万7千羽の雛を農場1の各鶏舎に配置した。床敷きの交換は行わなかった。孵化場では、孵卵17日目にゲンタマイシン（0.1 mg/卵）を卵内投与した。当研究中に、この農場では治療目的で抗生物質を使用しなかった。鶏には最初の2週間、バージニアマイシン（10 g/t）（25 g/t）を含有する飼料を給餌した。最初の飼料には抗コクシジウム剤

投与を以下の順序で実施した。1群；ジクラズリル (1 g/t)、2群；ナラシン (72 g/t)、3群；モネンシン (100 g/t)、4、5群；ニカルバジン (82 g/t)、6、7群；サリノマイシン (60 g/t)。各群は次の2週間、バシトラシン (25 g/t) を含有する育雛用飼料を給餌され、その飼料には抗コクシジウム剤投与を以下の順序で添加した。1群；サリノマイシン (60 g/t)、2、3群；ナラシン (72 g/t)、4、5群；ラサロイド (82 g/t)、6、7群；ジクラズリル (1 g/t)。最後の飼料には抗コクシジウム剤投与は行わず、ビリギニアマイシン (15 g/t) を含有し、体重が市場基準になるまでの1～2週間給餌した。出荷前の最後の1週間は抗生物質および抗コクシジウム剤を含まない飼料を給餌した。出荷16時間前には飼料を回収した。

約2万羽の雛を農場2の各鶏舎に配置した。農場2においても床敷きの交換は行わなかった。孵化場では、ゲンタマイシン (0.2 mg/雛) を初生雛に皮下注射した。雛には最初の2週間、バシトラシン (25 g/t) およびサリノマイシン (50 g/t) を含有する最初の飼料を給餌し、次の2週間はバシトラシン (25 g/t) およびサリノマイシン (50 g/t) を含む育雛用飼料を給餌した。その後、1～2週間成長促進剤または抗コクシジウム剤を含まない飼料を給餌した。出荷前の最後の1週間は抗生物質または抗コクシジウム剤を含まない飼料を給餌した。出荷16時間前には飼料を回収した。農場2における3群の6週目において、B鶏舎で大腸菌性気管支炎が発生し、オキシテトラサイクリン 10.4 mg/kg/羽を1日、5.1mg/kg/羽を4日間飲水投与した。この作業では、育雛箱の床敷き、鶏舎の環境中および鶏の屠体をサンプリングした。

#### 家禽サルモネラ分離株の遺伝子型および表現型解析

この研究で検討された289株のサルモネラは、以前記載した方法と同様に単離し、血清型、ファージ型および株を同定した。*aadA1* および *merA* の存在は、Bassらによって記述されている方法で決定した。

サルモネラ分離株、計289株における薬剤感受性を特定した。試験に用いられた抗生物質の最小阻止濃度 (MIC) は、自動化された薬剤感受性システム、Sensititre® (Treck Diagnostic Systems, Westlake, OH, USA) を用いて測定し、米国臨床検査標準委員会 (NCCLS) のガイドラインに従い、微量液体希釈法によって解釈した。Sensititre® 感受性試験を製造元の説明書に従って実施し、感受性および耐

性を MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) で示した。試験に用いた抗生物質は以下のとおりである。略語3文字とブレイクポイントの濃度をカッコ内に示した。

アミカシン (AMI >64  $\mu\text{g/mL}$ )、アモキシシリン/クラブラン酸 (AUG >32/16  $\mu\text{g/mL}$ )、アンピシリン (AMP >32  $\mu\text{g/mL}$ )、アプラマイシン (APR 32  $\mu\text{g/mL}$ )、セフトリアキソン (AXO >64  $\mu\text{g/mL}$ )、セファゾリン (CEF 32  $\mu\text{g/mL}$ )、セフォキシチン (FOX >32  $\mu\text{g/mL}$ )、セフトオフル (TIO >8  $\mu\text{g/mL}$ )、セファロチン (CEP >32  $\mu\text{g/mL}$ )、クロラムフェニコール (CHL >32  $\mu\text{g/mL}$ )、シプロフロキサシン (CIP >4  $\mu\text{g/mL}$ )、カナマイシン (KAN 64  $\mu\text{g/mL}$ )、ゲンタマイシン (GEN >16  $\mu\text{g/mL}$ )、イミペネム (IMP >4  $\mu\text{g/mL}$ )、ナリジクス酸 (NAL >32  $\mu\text{g/mL}$ )、ストレプトマイシン (STR >64  $\mu\text{g/mL}$ )、スルファジメトキシシン (SMX >512  $\mu\text{g/mL}$ )、テトラサイクリン (TET >16  $\mu\text{g/mL}$ )、トリメトプリム/スルファメトキサゾール (TMS >4/76  $\mu\text{g/mL}$ )。

バシトラシンとビリギニアマイシンは、主にグラム陽性菌に対して活性があり、鶏の *Clostridium perfringens* 感染の予防に使用される。そのため、サルモネラに対するブレイクポイントがなく、このパネルには含まれていない。この試験は、2003年のFDAによる小売肉から検出された薬剤耐性食物由来細菌の調査の初期に、当時 NCCLS が推奨していたものと同じ方法および薬剤耐性ブレイクポイントを用いて実施された。

(材料と方法の項は一部割愛いたしました)

#### 結果

##### 家禽サルモネラにおける薬剤感受性および薬剤耐性株の多様性

農場での抗生物質の使用に加え、床敷きが薬剤耐性遺伝子の重要な保有場所であることにより、養鶏場に薬剤耐性サルモネラが出現することは十分に考えられる。我々は、ジョージア州北東部のコマercialプロイラー農場2か所から採材したサルモネラの薬剤感受性について、農場での抗生物質の使用と比較して調査した。サルモネラ分離株の大半 (62.6%, n=172) は、試験を行った19種の抗生物質すべてに対し、感受性が認められた。残りの薬剤耐性が認められたものはストレプトマイシン (30.9%)、ゲンタマイシン (12.6%)、スルファジメトキシシン (20.9%)、テトラサイクリン (13.9%) およびトリメトプリム/スルファメトキサゾール

(8.6%)であった(表1)。そのうち、ストレプトマイシン単独に対する耐性株(30.9%)が最も多い表現型であった(表1および2)。

コマーシャルブロイラー農場から分離したサルモネラにおいて、多様な薬剤耐性型(n=25)が観察された(表2)。我々が分離した家禽サルモネラの20%は3種類以上の抗生物質に耐性であった(表1)。同定されたうち最も共通してみられた薬剤耐性型は、ストレプトマイシン単独(36.28%)、ストレプトマイシンおよびスルファジメトキシンの組み合わせや他の抗生物質を加えた組み合わせ(41.59%)であった。また、ストレプトマイシン、スルファジメトキシンおよびゲンタマイシンの組み合わせや他の抗生物質と合わせた組み合わせ(28.32%)も多く観察された(表2)。ストレプトマイシンおよびスルファジメトキシンの耐性を示すサルモネラ分離株間には統計的に有意な関連性があった(カイ二乗検定:p<0.05)。ストレプトマイシン、スルファジメトキシンおよびゲンタマイシンに耐性を示す分離株間でも有意な関連性があった(カイ二乗検定:p<0.05)。薬剤耐性型の多様性は高い(相互シンプソン指数:1.20)が、これらの表現型の分布の均一性は低かった(0.26)。低い均一性のスコアは、ある特定の薬剤耐性型が他のもの〔ストレプトマイシン耐性(単独、41株)、ストレプトマイシン、スルファジメトキシンおよびゲンタマイシン耐性(17株)、ルファジメトキシン、トリメトプリム/スルファメトキサゾールおよびテトラサイクリン耐性(11株)、ストレプトマイシン、スルファジメトキシン、ゲンタマ

イシンおよびテトラサイクリン耐性(8株)、ストレプトマイシン、スルファジメトキシン、トリメトプリム/スルファメトキサゾールおよびテトラサイクリン耐性(7株)]と比較して広範囲に分布していることを反映した結果かもしれない。

最もよく同定された薬剤耐性株であるストレプトマイシンおよびスルファジメトキシン耐性株は、トランスポゾン Tn21 と関連していることが知られている。耐性遺伝子 *merA* および *aadA1* は、この移動性遺伝子エレメントに存在し、これらの遺伝子座の分布は検出された家禽からの分離株において、それぞれ 17.86% および 10.56% であった。これらの耐性遺伝子とストレプトマイシンまたはスルファジメトキシンに対する耐性との間には、有意な関連性があった(カイ二乗検定:p<0.05)。

#### 家禽サルモネラの薬剤感受性における農場の変動

サルモネラ分離株の薬剤感受性については農場内および農場間で相違が認められた。農場1のサルモネラ分離株は、農場2から検出された株と比較してストレプトマイシン、スルファジメトキシン、トリメトプリム/スルファメトキサゾールに耐性を持つ傾向にあった(カイ二乗検定:p<0.05)(表1)。

また、農場間と同様に農場内の特定のサルモネラ血清型間で薬剤感受性に差異があった。農場1から分離された *S. Typhimurium* は、同農場から分離された *S. Enteritidis* よりも、この試験で使用した抗生物質に対して感受性が低かった。農場1から分離した *Salmonella Kentucky* は、同農場から分離した

表1 コマーシャルブロイラー計7群の生産および処理過程で分離されたサルモネラ血清型および多く観察された薬剤耐性型の割合

<i>Salmonella enterica</i> 血清型(n=)	感受性(%)	STR(%)	GEN(%)	SMX(%)	TET(%)	TMS(%)	AMP(%)	多剤耐性(%)
<b>農場1</b>								
<i>S. Typhimurium</i> (153)	66.6 <sup>**2</sup>	36.6	9.8	12.4	5.9	1.9	0.6	11.1
<i>S. Enteritidis</i> (28)	92.8 <sup>**2</sup>	3.6	3.6	3.6	0	0	3.6	3.6
<i>S. Montevideo</i> (22)	40.9	18.2	0	54.5	59.1	59.1	0	53.8
<i>S. Kentucky</i> (13)	23.1 <sup>*1</sup>	61.5	61.5	76.9	7.7	7.7	0	53.8
<i>S. Heidelberg</i> (6)	33.3	50.0	33.3	33.3	16.7	16.7	16.7	66.7
全種(241)	60.7	35.4 <sup>*1</sup>	13.8	23.4 <sup>*1</sup>	13.3	10.4 <sup>*1</sup>	0.9	22.7
<b>農場2</b>								
<i>S. Kentucky</i> (13)	100 <sup>*1</sup>	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. Mbandaka</i> (9)	55.6	11.1	11.1	11.1	33.3	0	0	11.1
<i>S. Typhimurium</i> (13)	66.6	33.3	16.7	16.7	16.7	0	0	16.7
<i>S. Ohio</i> (5)	80	20	0	0	0	0	0	0
<i>S. Senftenberg</i> (4)	75.0	0	25.0	25.0	25.0	0	25.0	25.0
全種(48)	72.3	8.5 <sup>**2</sup>	6.4	8.5 <sup>*1</sup>	17.0	0 <sup>*1</sup>	4.3	10.6

感受性: 試験を行った19種すべての抗生物質に感受性がある株の割合

多剤耐性: 3種類以上の抗生物質に対する耐性がある株の割合

※1 農場間の分離型または血清型における抗生物質感受性に有意差あり(カイ二乗検定、p<0.05)。

※2 サルモネラ血清型間の抗生物質感受性に有意差あり(カイ二乗検定、p<0.05)。

表2 2か所の商業養鶏場から分離された薬剤耐性サルモネラの多様性割合

薬剤耐性型	株型	合計	
STR	5	41	(36.28)
STR SMX GEN	5	17	(15.04)
SMX TMS TET	4	11	(9.73)
STR SMX GEN TET	3	8	(7.08)
STR SMX TMS TET	5	7	(6.19)
STR SMX	2	3	(2.65)
STR SMX GEN TMS TET	2	3	(2.65)
CHL	2	2	(1.77)
STR SMX GEN CEP	1	2	(1.77)
STR TET CHL	1	2	(1.77)
TET	2	2	(1.77)
TET CEP CHL	2	2	(1.77)
AMP	1	1	(0.88)
STR SMX CEP	1	1	(0.88)
STR SMX AXO FOX TIO AMI APR NAL	1	1	(0.88)
STR SMX GEN AMP	1	1	(0.88)
SMX GEN	1	1	(0.88)
STR GEN	1	1	(0.88)
STR SMX GEN TET AMP	1	1	(0.88)
SMX TET TMS CEP CHL KAN	1	1	(0.88)
STR SMX TET TMS CHL	1	1	(0.88)
CEP AMP	1	1	(0.88)
SMX TMS	1	1	(0.88)
TMS TET	1	1	(0.88)
SMX	1	1	(0.88)
“STR SMX”または他の抗生物質との組み合わせ	47	(41.59)	p<0.05 <sup>*1</sup>
“STR SMX GEN”または他の抗生物質との組み合わせ	32	(28.32)	p<0.05 <sup>*2</sup>
多様性(相互シン普森指数)=1.20			
均一性=0.26			

株型：薬剤耐性を有する異なる *S. enterica* 血清型または株型の数

「合計」の ( ) 内：同定された薬剤耐性株の割合

※1 STR および SMX に耐性を示すサルモネラ分離株間に有意な関連性あり

(カイ二乗検定、 $p < 0.05$ )。

※2 STR、SMX および GEN に耐性を示すサルモネラ分離株間に有意な関連性あり

(カイ二乗検定、 $p < 0.05$ )。

他のサルモネラおよび農場2から分離した *S. Kentucky* よりも著しい薬剤耐性を示した(表1)。農場2でのテトラサイクリン処理の結果として、サルモネラ分離株は、テトラサイクリンに耐性を示さない可能性が示唆された。これは、フィッシャーの正確確率検定 ( $\alpha = 0.05$ 、片側、 $p = 0.0046$ ) によって示され、他の抗生物質に対しても同様であった(コ克蘭=マンテル=ヘンツェル検定、 $p = 0.0046$ )。テトラサイクリンを用いた大腸菌性気管支炎の治療的処置は、その後の鶏群から分離されたサルモネラの薬剤耐性を増強させるわけではないことが示唆された。さらに、2つの養鶏場間で、テトラサイクリンに耐性を示すサルモネラ分離株には、統計的に有意な差はなかった(カイ二乗検定： $p = 0.34$ )。

## 鶏肉における薬剤耐性サルモネラの拡散に関するものは水平あるいは垂直伝播であるか

*S. Typhimurium* ( $n = 159$ ) は、本研究において最も広く存在が認められた血清型であり、この血清型は農場1から頻繁に分離された。血清型 *Typhimurium* 分離株は大方汎感受性であった(66.6%)。一方で薬剤耐性株もみられ、代表的な型はストレプトマイシン(6.6%)、スルファジメトキシシン(12.4%)、ゲンタマイシン(9.4%)、テトラサイクリン(6.4%)であった(表3)。試験した他の14種の抗生物質に対する耐性はほとんど観察されなかった( $\leq 5\%$ )。*S. Typhimurium* 分離株の11%は3種以上の抗生物質に対して耐性であった。よく観察された *S. Typhimurium* の薬剤耐性株はストレプトマイシン単独(23.7%)およびストレプトマイシン、ゲンタマイシン、スルファジメトキシシン、テトラサイクリンに対する多剤耐性型(5.3%)であった。PFGEによって同定された3種の *S. Typhimurium* 遺伝子型において、薬剤耐性型の多様性( $n = 9$ )が認められた(表3)。ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、スルファジメトキシシンおよびテトラサイクリンに対する耐性の組み合わせは、耐性株の85.3%を占めた(表3)。PFGEタイプ T1.3 はアンピシリン耐性が有意に高い( $\alpha = 0.05$ )ことが示唆されたが、それを除くと農場1から分離された3種の *S. Typhimurium* 遺伝子型間の抵抗性に有意差はなかった。

農場1に存在する3種の *S. Typhimurium* 遺伝子型(T1.1、T1.2およびT1.3)のうち、2種(T1.1 T1.2)がブローラー農場の鶏およびこれらの群に由来する鶏屠体から検出された例が3例みられた(表4)。また、他の3例ではこれらの *S. Typhimurium* 遺伝子型が、農場の環境中および鶏屠体から分離された。鶏の屠体から検出された唯一の薬剤耐性 *S. Typhimurium* 株は、農場に搬入した雛から分離されたものと一致し、このことは耐性 *S. Typhimurium* 株が種鶏群から垂直伝播したことを示唆している。

## 考察

2か所の養鶏場から分離されたサルモネラの薬剤感受性およびプロファイルは、他の研究で報告されている薬剤感受性のデータを反映していた。2001年のNARMSの調査によると、サルモネラ分離株の大半(51.6%)は汎感受性であった。また、最も共通して同定された薬剤耐性は、テトラサイクリン(26.7%)、ストレプトマイシン(23.7%)、ス

ルファジメトキシシ (9.1%)、ゲンタマイシシ (6.3%) およびアンピシリン (15.1%) に対する耐性であった。2002 年の NARMS の小売調査では、

表3 コマーシャルブローラー農場から分離された *Salmonella enterica* 血清型の薬剤耐性および株型

サルモネラ血清型 (ファージ型) <sup>*1</sup>	PFGE 型	薬剤耐性型	分離株数
S. Enteritidis (PT8)	E1.1	感受性 AMP STR SMX GEN	18 1 1
	E1.2	感受性	8
S. Typhimurium (DT193)	T1.1	感受性	50
		STR	16
		STR SMX	1
		STR SMX GEN TET	3
		STR SMX TET TMS	1
(DT107)	T1.2	感受性 STR STR SMX CEP STR SMX GEN STR SMX GEN TET STR SMX AXO FOX TIO AMI APR NAL	47 21 1 5 3 1
(U302)	T1.3	感受性 STR GEN SMX AMP	5 1
(NT)	T2	感受性	1
	T3	感受性	1
S. Montevideo	V1.1	感受性	6
	V1.2	SMX TET TMS	3
	V1.3	SMX TET TMS	1
	V1.5	SMX TET TMS	6
		STR SMX TET TMS	3
	NT	感受性 STR CHL	1 1 1
S. Kentucky	NT	感受性	16
		STR SMX	2
		GEN SMX	1
		STR SMX GEN	6
		STR SMX GEN TET TMS	1
S. Senftenberg	S1	感受性	3
		STR GEN	1
		STR SMX GEN	4
		STR SMX GEN TET AMP	1
		STR SMX GEN CEP	2
S. Gaminara	G1.1	SMX TET TMS CEP CHL KAN	1 2
		STR TET CHL	2
		STR SMX TET TMS CHL	1
	G1.2	感受性	2
	G2.1	CEP AMP	1
G3.1	感受性	1	
S. Mbandaka	M1	感受性 STR SMX GEN TET	4 2
	NT	感受性 TET	1 1
S. Anatum	A1	STR SMX TET TMS	1
	A2	STR SMX TET TMS SMX TET TMS	1 1
	A3	感受性	1
		STR SMX TET TMS	1
S. Ohio	O1	STR	1
	NT	感受性	3
S. Tennessee	T1	SMX TMS	1
		TET TMS	1
S. California	C1	感受性	1
S. Heidelberg	H1	感受性	3
		STR	2
		STR SMX GEN	1
		AMP CEP AUG FOX	1
S. Jerusalem	J1	TET	1
S. Lille	L1	TET CEP CHL	1
	NT	TET CEP CHL	1
		CHL	1
S. Muenchen	U1	SMX	1

感受性：試験を行った 19 種すべての抗生物質に感受性がある株

NT：ファージ型別または PFGE によって型別できない株

※ 1 ファージ型別は S. Enteritidis および S. Typhimurium 分離株のみに実施した。

鶏肉から分離されたサルモネラは大半 (66.6%) が汎感受性であり、最もよく確認された薬剤耐性は、スルファジメトキシシ (18.7%)、ストレプトマイシシ (32.3%)、ゲンタマイシシ (3.4%)、アンピシリン (5.1%)、トリメトプリム/スルファメトキサゾール (1.7%) およびテトラサイクリン (34.3%) に対する耐性であった。本研究のサンプリング時期と近時している 2003 年の NARMS の小売肉調査では、サルモネラ分離株の 47% が汎感受性であると報告された。また、テトラサイクリン (27.4%)、ストレプトマイシシ (26.2%)、スルファジメトキシシ (14.3%)、ゲンタマイシシ (6.0%)、アンピシリン (33.3%) で耐性が認められた。最近の NARMS の小売肉調査 (2015 年) では、家禽のサルモネラ分離株の 50% が 12 の抗生物質パネルに感受性であった。この調査では、小売肉から分離されたサルモネラは、テトラサイクリン (37.3%)、ストレプトマイシシ (37.3%)、スルファジメトキシ

表4 コマーシャルブローラー計 7 群の生産において、抗生物質に感受性または耐性を示す S. Typhimurium 株型の時間的および空間的分布

農場 1 の群	S. Typhimurium PFGE 型	薬剤耐性型	採材場所 <sup>*1</sup>		
			孵化場	鶏舎	屠体
1	T1.1	感受性	2		
		STR	2		
		STR SMX TET TMS	1		
		STR SMX GEN TET TMS	2		
2	T1.1	感受性	5		
		T1.2	感受性	3	16
	T1.3	STR	2	1	1
		STR SMX GEN	2		
		STR SMX GEN TET	1		
		感受性	4		
3	T1.1	STR SMX GEN AMP	1		
		感受性	1	4	1
		STR	1	3	5
4	T1.1	STR SMX	1		
		感受性	4		
		STR	1		
5	T1.1	感受性	3		
		STR	14		
		STR	1		
6	T1.1	感受性	8		
		STR	2		
		STR	5		
7	T1.1	感受性	2		
		STR	2		
	T1.2	感受性	2		
		STR	9		
8	T1.1	STR SMX CEP	1		
		MDR	1		
		感受性	7		
		STR SMX GEN TET	3		
9	T1.2	感受性	15		
		STR	2		
		STR SMX GEN	3		
		STR SMX GEN TET	2		

感受性：試験を行った 19 種すべての抗生物質に感受性がある株

MDR：STR、SMX、FOX、AMI、AXO、NAL、TIO、APR に対する多剤耐性株

※ 1 各場所で採材されたサルモネラ分離株の数

ン (8.5%)、ゲンタマイシン (5.1%) およびアンピシリン (8.5%) に対して耐性であった。

我々の家禽サルモネラ分離株には、多様な薬剤耐性型があることがわかった。この多様性にもかかわらず、ストレプトマイシンおよびスルファジメトキシン耐性または他の抗生物質を加えた耐性は、コマーシャル養鶏場から分離されたサルモネラに多くみられた。これらの薬剤耐性を付与する遺伝子は、自然界では薬剤耐性の広範な伝播の原因となる移動性遺伝子エレメントに存在することが多い。トランスポゾン *Tn21* は、水銀耐性遺伝子である *merA* や、ストレプトマイシン耐性遺伝子である *aadA1*、スルファジメトキシン耐性遺伝子である *sul1* を含む。このトランスポゾンは、しばしば自然界で水銀および抗生物質耐性の蔓延に関与しており、家禽のサルモネラ菌および大腸菌が広く保持している。我々は、耐性遺伝子 *merA* および *aadA* とストレプトマイシン/スルファジメトキシン耐性との間に関連性があることを確認したが、ストレプトマイシンに耐性のあるサルモネラのうち、*aadA1* を有しているのは 17.72% のみであった。これは、他の薬剤耐性遺伝子がストレプトマイシン耐性の原因となっていること、さらにこれらの分離株で観察された薬剤耐性型の根底に多様性があることを表している。

これらの分離株における *Tn21* の高保有率にもかかわらず、2 か所のコマーシャルブロイラー農場において、薬剤耐性型はサルモネラ血清型間に均一に分布していなかった。あるサルモネラ血清型は、これらの薬剤感受性パターンとは異なっていた。*Salmonella* *Enteritidis* は汎感受性である傾向があったが、*S. Typhimurium* は、多様な薬剤耐性型が観察された。NARMS の小売肉調査 (2003 年、2015 年) および HACCP 調査 (2003 年、2014 年) で報告されたこれらのサルモネラ血清型についても、同様の傾向が観察されていた。*S. Typhimurium* の系統間でも、薬剤感受性には違いがあった。農場 1 由来の *S. Typhimurium* PFGE タイプ T1.1 は、ファージタイプ (PT) 193 として同定された。PT は一般的にヒトの病気に関連しているが、このサルモネラの PT は、牛、家禽、豚および犬からも分離されている。*S. Typhimurium* の DT104 型と同様に、PT193 分離株は一般に 3 つ以上の抗生物質に対する耐性を示すが、報告されている耐性型は様々である。農場 1 から我々が分離した *S. Typhimurium* PT DT193 株の大部分 (68.0%) は汎感受性であったが、32% は以下の抗生物質に耐性を示した。ストレプトマイシン単独、ストレプトマイシン、スルファジメ

トキシシン、テトラサイクリンおよびトリメトプリム/スルファメトキサゾールの組み合わせ、ストレプトマイシン、スルファジメトキシシン、ゲンタマイシン、テトラサイクリンおよびトリメトプリム/スルファメトキサゾールの組み合わせが挙げられる。他の *S. Typhimurium* PFGE タイプ T1.2 および T1.3 は、それぞれ PT DT107 および PT U302 と同定された。この研究から、*S. Typhimurium* PT DT107 および PT DT193 は、PFGE によって決定されるように遺伝子的に関連していることが示唆される。また、他の研究では *S. Typhimurium* および *S. Enteritidis* の異なる PT は、遺伝子的に近縁関係であることが PFGE によって決定されたと報告されている。*S. Typhimurium* DT107 分離株は、大部分が汎感受性 (59.6%) であり、最も多い薬剤耐性型がストレプトマイシンにのみ耐性 (25.4%) であるという点で、*S. Typhimurium* DT193 分離株と類似していた。

家禽の床敷きは、薬剤耐性遺伝子の大きなリザーバーであるとも言える。我々は以前の研究で、家禽の床敷きにおいて、これらの薬剤耐性遺伝子の多くが多様な細菌種間で共有されていることを示してきた (例: コリネバクテリウムとサルモネラの *aadA1* 遺伝子)。したがって、この環境下では、薬剤耐性が環境中からサルモネラに移行する可能性があり、それに伴い、新たなサルモネラの耐性株が家禽に水平伝播する可能性がある。農場の環境中から分離された *S. Typhimurium* からは 8 種の薬剤耐性型が検出されたが、それらは処理済みの鶏屠体から分離された *S. Typhimurium* からは全く検出されなかった。この発見は、ブロイラーの鶏舎環境に存在する薬剤耐性 *S. Typhimurium* の多様性にもかかわらず、これらの薬剤耐性株のいずれも、処理工場を通じて鶏の屠体に伝達されなかったことを示唆している。入雛時の雛に存在する薬剤耐性株のみが加工時の鶏に残っていた。したがって、我々のデータは、垂直伝播経路が食物連鎖を通じた薬剤耐性サルモネラの伝播に重要であることを示唆している。

## 結論

テトラサイクリンの治療目的での使用は、サルモネラに新たな薬剤耐性を引き起こす重要な指標ではなかった。この結果は驚くべきことではない、なぜなら、コマーシャル鶏の業界で取り入れているオールインオールアウトの生産方法は、病原体の感染サイクルを断ち切るよう設計されており、群間における病原体の伝播が防止されている限り、薬剤耐性株

の発育は最小限に抑えられるはずである。しかし、薬剤耐性のリザーバーは、農場環境中に留まっている。治療を行った農場における薬剤耐性人獣共通細菌の今後の出現を防ぐために、床敷きの管理および害虫駆除を伴うさらなる措置が必要となるかもしれない。さらに、ストレプトマイシンが家禽生産用にはほとんど使用されず、これらの農場で使用されていなかったことを考慮すると、家禽サルモネラにおけるストレプトマイシン耐性率は、驚くほど高かった。これは、ストレプトマイシン耐性遺伝子や他の耐性遺伝子、あるいは競合的に有利な遺伝子（バクテリオシン、シデロボア等）が関与している、または、それらの遺伝子がサルモネラのストレプトマイシン耐性を維持している染色体に組み込まれており、抗生物質の非存在下においても耐性が生じるためであろう。一方で、ゲンタマイシンは鶏の腹膜炎に対する予防として卵内ワクチン接種で一般的に使用されているため、サルモネラの本抗生物質に対する耐性レベルをある程度説明することができるかもしれない。このことに加え、ストレプトマイシンまたはゲンタマイシンに関連する薬剤耐性遺伝子の物理的なつながりが、ストレプトマイシンを使用していないにも関わらず、サルモネラが耐性を持続できる理由なのかもしれない。ゲンタマイシンは両方の養鶏会社で使用されていたため、サルモネラのゲンタマイシン耐性がどの程度持続するかは定かではない。当研究において、養鶏場で使用された他の抗生物質であるバシトラシンおよびバージニアマイシンは、家禽の *C. perfringens* 感染を制御するために使用されている。これらの抗生物質はサルモネラまたは他のグラム陰性の腸内細菌には影響を与えないが、鶏のグラム陽性の腸内細菌叢に影響を及ぼす。バシトラシンおよびバージニアマイシンに応答し、変化した鶏の腸内細菌叢が、どのようにサルモネラの有病率、増殖または薬剤耐性パターンに影響するかは今のところ不明である。

環境からの水平伝播よりも、種鶏群からの垂直伝播が薬剤耐性サルモネラによる屠体汚染において重

要な役割を果たすことが示唆された。もし、抗生物質の使用が薬剤耐性サルモネラの鶏肉への出現および拡散に関与するならば、問題は家禽生産のプロイラーレベルではなく、種鶏レベルにあるのかもしれない。薬剤耐性サルモネラの伝播を阻止する1つの方法は、種鶏レベルでの淘汰またはワクチン接種等を適用することである。農場1では、最近プロイラー種鶏レベルでのサルモネラワクチン接種プログラムを会社規模で開始した。この緩和的戦略が、特に農場1において、プロイラー養鶏場から分離されたサルモネラの薬剤耐性や家禽の価格を大きく変えたかどうかは興味深い。

(参考文献は割愛いたしました)

#### 所感

当論文では、薬剤耐性サルモネラの疫学調査を通して、サルモネラ汚染に対して重要な制御ポイントを特定することを目的としていました。サルモネラの薬剤耐性型は多様であり、様々な薬剤耐性遺伝子が関与していることから、単純に使用した抗生物質に対して耐性が生じるというわけではない点が興味深く、また、薬剤耐性サルモネラの制御は容易ではないと感じました。調査結果から米国で多く同定された耐性株は、ストレプトマイシン、スルファジメトキシシンおよびテトラサイクリンに対するものでした。特に、*S. Typhimurium* は日本でも主なサルモネラ食中毒の原因菌であるため、日本における耐性菌の疫学調査や感染予防、抗生物質の適正使用等が重要だと考えられます。また、当論文で重要な制御ポイントとして挙げられたのは、垂直伝播経路でした。入雛時の雛に存在していた薬剤耐性株のみが加工時の屠体でも検出されたという点では、種鶏レベルでのワクチン接種等によるサルモネラ汚染防止を徹底する必要があるのではないかと考えられます。

(副研究員)

#### 学会発表演題 (2017年4月～2018年3月)

##### ● The 8th Asian Pig Veterinary Society Congress

会 期：2017年5月12日～5月15日

開 催 地：中国、武漢

発表演題：Cross-protection efficacy of APM777 vaccine in pigs challenged with *Actinobacillus*

*pleuropneumoniae*

○ Oshima Atsushi<sup>1</sup>、Kamada Takashi<sup>1</sup>、To Ho<sup>1</sup>、Teshima Kaho<sup>1</sup>、Tsutsumi Nobuyuki<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>Nippon Institute for Biological Science)

## ●第 160 回日本獣医学会学術集会

会 期：2017 年 9 月 13 日～9 月 15 日

開 催 地：鹿児島大学 郡元キャンパス

発表演題：日本国内における豚サーコウイルス 2 型 (PCV2) の分子疫学的解析および豚サーコウイルス 3 型 (PCV3) の検索

○林志佳<sup>1</sup>、佐藤哲朗<sup>1</sup>、大島義之<sup>1</sup>、古谷嘉章<sup>1</sup>、長尾重貴<sup>1</sup>、小祿和希<sup>1</sup>、堤信幸<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>日生研)

## ●日本畜産衛生学会第 87 回大会

会 期：2017 年 12 月 15 日

開 催 地：Meiji Seika ファルマ (株) 本社講堂

発表演題：豚胸膜肺炎ワクチン免疫血清への LPS ELISA の応用

○手島香保<sup>1</sup>、To Ho<sup>1</sup>、堤信幸<sup>1</sup>、鎌田崇<sup>1</sup>、小玉敏明<sup>1</sup>、近藤朋美<sup>1</sup>、眞柄麗<sup>1</sup>、岩崎紗枝<sup>1</sup>、  
 渋谷一元<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>日生研)

## ●第 5 回獣医病理学専門家協会学術集会スライドフォーラム

会 期：2018 年 3 月 29 日～3 月 30 日

開 催 地：いわて県民情報交流センター アイーナ

発表演題：ブタの肝臓

○小野浩輝 (日生研)

## 編 集 後 記

日増しに暖かになりましたが、皆様におかれましてはいかがお過ごしでしょうか。平成 29 年度の編集委員で行ってまいりました編集作業は、今号をもって終了させていただきます。関係者の皆様には不慣れな点から行き届かない部分が多々ありましたことをこの場をお借りして深くお詫び申し上げます。また、多大なるご協力を賜り、心より厚く御礼申し上げます。さて平成 30 年度より、小野浩輝 (委員長)、安田早織、近内将記が編集を担当いたします。

読者の皆様におかれましては、季節柄どうかご自愛ください。今後とも、引き続き日生研たよりをご愛読賜りますよう、宜しく願い申し上げます。



—— テーマは「生命の連鎖」——  
 生命の「共生・調和」を理念とし、生命体の豊かな明日と、研究の永続性を願う気持ちを快いリズムに整え、視覚化したものです。カラーは生命の源、水を表す「青」としています。

表紙題字は故中村稔治博士による揮毫です。

日生研たより 昭和 30 年 9 月 1 日創刊(年 4 回発行)  
 (通巻 607 号) 平成 30 年 3 月 25 日印刷 平成 30 年 4 月 1 日発行(第 64 巻第 2 号)  
 発行所 一般財団法人日本生物科学研究所  
 〒 198-0024 東京都青梅市新町 9 丁目 2221 番地の 1  
 TEL : 0428(33)1520(経営企画部) FAX : 0428(31)6166  
 URL : <http://nibs.lin.gr.jp/>  
 発行人 土屋耕太郎  
 編集室 委 員/近内将記(委員長)、手島香保、小野浩輝  
 事 務/経営企画部  
 印刷所 株式会社 精興社  
 (無断転載を禁ず)