

健康肥育牛の鼻汁から分離された *Mannheimia haemolytica*,
Pasteurella multocida, *Mycoplasma bovis* 及び
Ureaplasma diversum の薬剤感受性

加藤敏英[†] 遠藤 洋 酒井淳一

山形県農業共済組合連合会 (〒990-0075 山形市落合町字千歳95-1)

(2013年5月27日受付・2013年9月6日受理)

要 約

2004～2012年度にかけて、山形県内の臨床的に健康な1～11カ月齢の肥育牛合計1,098頭の鼻汁を採取し、牛肺炎起因菌の分離同定を実施するとともに分離菌株の薬剤感受性を調べた。その結果、*Mannheimia haemolytica* (Mh) が225頭 (20.5%) 225株、*Pasteurella multocida* (Pm) が835頭 (76.0%) 835株、*Mycoplasma bovis* (Mb) が412頭 (37.5%) 412株及び*Ureaplasma diversum* (Ud) が270頭 (24.6%) 270株、それぞれ分離された。これらの菌種がまったく分離されなかったのは108頭 (9.8%) であった。全調査期間を通じ、MhとPmはエンロフロキサシン (ERFX) とフロルフェニコールに高感受性 ($MIC_{50}; \leq 0.031-0.5\text{mg/l}$, $MIC_{90}; \leq 0.031-2\text{mg/l}$) を示した。また、MbとUdはERFXに高感受性 ($MIC_{50}; 0.2-0.78\text{mg/l}$, $MIC_{90}; 0.25-3.13\text{mg/l}$) を示したが、一部のMbはマクロライド系に対し著しい低感受性 (MIC レンジ; $TS 1-100\text{mg/l} \leq$, $TMS 2-128\text{mg/l} \leq$) を示した。

——キーワード：薬剤感受性, 健康牛, マンヘミア, マイコプラズマ, パスツレラ。

----- 日獣会誌 66, 852～858 (2013)

近年、肥育牛農場の飼養規模拡大進行に伴い、輸送や過密な飼育形態などが呼吸器病多発の誘因となっている。この疾病の多発傾向は全国的であり、増体量低下などによる経済的損失が大きい [1, 2] ことから、国内外を問わず大きな問題となっている。治療には各種抗菌剤が広く用いられ、罹患牛由来の起因菌の薬剤感受性に関する報告は国内外を問わず数多く [3-9]、臨床現場での薬剤選択に関する重要な知見を提供している。一方、検査成績を迅速に治療に活かすためには、短期間に多くの材料を検査することが望まれる。また、呼吸器病起因菌種の多くは臨床的に健康な牛の鼻腔からも高率に分離されるため [10, 11]、健康牛の鼻汁は継続的な薬剤感受性試験を実施する材料として適している。このような検査成績を農場衛生に活用した例として、加藤ら [12] は山形県における健康牛の鼻汁由来菌株の薬剤感受性を調べ、呼吸器病治療プログラムを構築し、それが高い臨床効果を示すことを報告した。このことは、健康牛の鼻汁が呼吸器病起因菌の検査材料として活用できることを

裏付けている。しかしながら、牛呼吸器病起因菌の薬剤感受性試験はルーチンワークとしては行われておらず、これまで国内で長期間にわたり健康牛を対象として起因菌の薬剤感受性を調べた報告はほとんど見当たらない。

本研究の目的は、県内一円の主な肥育牛農場の健康牛を検査対象として、2004～2012年度までの鼻汁由来牛呼吸器病起因菌4菌種の分離同定と分離株の薬剤感受性を調べることとした。

材料及び方法

調査期間及び供試牛：2004～2012年度にかけて、山形県内の肥育牛農場または哺育育成牛農場計44農場 (各年度6～10農場で重複あり) を対象とした。供試牛はすべて臨床的に健康な1～11カ月齢の黒毛和種ならびに交雑種 (ホルスタイン種×黒毛和種) の肥育用哺乳子牛と育成牛、肥育素牛の合計1,098頭であり、検査日以前の1カ月間に抗菌剤が投与されていないものとした。

[†] 連絡責任者(現所属)：加藤敏英 (山形県農業共済組合連合会置賜家畜診療所)

〒992-0002 米沢市窪田町矢野目3668-3 ☎0238-37-6286 FAX 0238-37-6049

E-mail : tosihide_katou@yynosai.or.jp

表1 健康牛における年度別起因菌分離成績

菌種	2004 ¹⁾ (n=175)	2005 (n=135)	2006 (n=180)	2007 (n=190)	2008 (n=104)	2009 (n=101)	2010 (n=85)	2011 (n=65)	2012 (n=63)	計 (n=1,098)
<i>M. haemolytica</i>	46 ²⁾ (26.3)	39 (28.9)	50 (27.8)	40 (21.1)	10 (9.6)	7 (6.9)	12 (14.1)	9 (13.8)	12 (19.0)	225 (20.5)
<i>P. multocida</i>	123 (70.3)	90 (66.7)	142 (78.9)	169 (88.9)	76 (73.1)	78 (77.2)	62 (72.9)	52 (80.0)	43 (68.3)	835 (76.0)
<i>M. bovis</i>	79 (45.1)	62 (45.9)	64 (35.6)	71 (37.4)	45 (43.3)	36 (35.6)	21 (24.7)	12 (18.5)	22 (34.9)	412 (37.5)
<i>U. diversum</i>	68 (38.9)	42 (31.1)	64 (35.6)	16 (8.4)	24 (23.1)	48 (47.5)	— ⁵⁾	—	—	262 (29.6)
菌分離陽性頭数 ³⁾	162 (92.6)	120 (88.9)	170 (94.4)	183 (96.3)	94 (90.4)	90 (89.1)	65 (76.5)	58 (89.2)	48 (76.2)	990 (90.2)
混合感染頭数 ⁴⁾	87 (53.7)	68 (56.7)	94 (55.3)	77 (42.1)	45 (47.9)	52 (57.8)	20 (30.8)	9 (15.5)	19 (39.6)	471 (47.6)

1) 検査牛頭数, 2) 被分離頭数, カッコ内数字は%を示す, 3) 上記いずれかの菌が分離されたもの, 4) 細菌 (*M. haemolytica* and/or *P. multocida*) とマイコプラズマ (*M. bovis* and/or *U. diversum*) が同時に分離されたもの, 5) 検査せず

表2 *M. haemolytica* の年度別薬剤感受性

薬剤 ¹⁾	2004 ²⁾ (n=46)	2005 (n=39)	2006 (n=50)	2007 (n=39)	2008 (n=10)	2009 (n=7)	2010 (n=12)	2011 (n=9)	2012 (n=12)
ABPC	MIC ₅₀	0.125	0.125	0.125	0.125		≤0.125		0.25
	MIC ₉₀	0.25	8	32	0.25		16		0.25
	Range	0.063~ 0.25	≤0.031~ 32	≤0.031~ 32	≤0.031~ 8	≤0.125~ 0.25	≤0.125~ 0.25	≤0.125~ 16	≤0.125~ 8
KM	MIC ₅₀	4	4	4	4		8		
	MIC ₉₀	8	8	8	8		8		— ³⁾
	Range	2~32	2~128≤	1~8	2~128≤	4~8	1~128≤	4~16	8~128
OTC	MIC ₅₀	1	0.5	0.5	1		0.5		
	MIC ₉₀	2	0.5	0.5	2		2		—
	Range	0.5~8	0.25~0.5	0.25~2	0.25~16	0.25~1	0.25~16	0.5~8	
TP	MIC ₅₀	1	1	1	1				1
	MIC ₉₀	2	2	1	2				2
	Range	0.5~128	0.25~2	0.5~1	≤0.031~ 64				1~2
FF	MIC ₅₀	1	0.5	0.5	1		1		1
	MIC ₉₀	1	1	1	1		1		1
	Range	0.5~1	0.5~1	0.5~1	0.25~1	0.25~2	0.25~1	0.5~1	0.25~1
TS	MIC ₅₀	32	32	32	64				
	MIC ₉₀	32	32	32	64				
	Range	8~32	8~64	16~128≤	0.5~64				
TMS	MIC ₅₀	8	8	8	8				
	MIC ₉₀	8	16	8	16				
	Range	4~16	8~16	4~16	0.063~32				
ERFX	MIC ₅₀	≤0.031	≤0.031	≤0.031	≤0.031		≤0.125		≤0.125
	MIC ₉₀	0.25	0.25	0.25	≤0.031		≤0.125		≤0.125
	Range	≤0.031~ 0.25	≤0.031~ 0.25	≤0.031~ 0.25	≤0.031~ 0.25	0.125~2	0.125	≤0.125~ 0.5	≤0.125~ 0.25

1) アンピシリン; ABPC, カナマイシン; KM, オキシテトラサイクリン; OTC, チアンフェニコール; TP, フロルフェニコール; FF, タイロシン; TS, チルミコシン; TMS, エンロフロキサシン; ERFX, 2) 検査菌株数, 3) 検査せず

細菌学的検査: 消毒綿を用いて鼻腔周辺及び粘膜を可能な限り清拭した後, 長さ約30cmまたは50cmの滅菌綿棒を鼻腔内深部まで挿入し鼻腔ぬぐい液(鼻汁)を採取した。採取した鼻汁はただちに輸送培地(Tryptic

Soy Broth及びHayflick培地)に保存し, 冷蔵状態で検査室(2004~2009年度は日本全業工業(株)中央研究所, 2010~2012年度は(株)京都動物検査センター)へ搬送した。分離対象は, *Mannheimia haemolytica*, *Pas-*

表3 *P. multocida*の年度別薬剤感受性

薬 剤 ¹⁾	2004 ²⁾ (n=123)	2005 (n=90)	2006 (n=140)	2007 (n=166)	2008 (n=76)	2009 (n=78)	2010 (n=62)	2011 (n=52)	2012 (n=43)	
ABPC	MIC ₅₀	0.25	0.125	0.063	0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125
	MIC ₉₀	64	0.125	0.125	64	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125
	Range	0.063~ 128≤	≤0.031~ 32	≤0.031~8	≤0.031~ 128≤	≤0.125~ 32	≤0.125	≤0.125~ 0.25	≤0.125~ 16	≤0.125~ 64
KM	MIC ₅₀	8	8	4	8	8	4	8	8	— ³⁾
	MIC ₉₀	16	32	16	128≤	512<	16	16	16	—
	Range	2~128≤	1~128≤	0.5~32	1~128≤	0.5~512<	2~16	2~32	2~512<	—
OTC	MIC ₅₀	4	1	0.5	2	2	1	1	—	—
	MIC ₉₀	8	2	1	8	16	4	4	—	—
	Range	0.5~64	0.125~64	0.25~32	≤0.031~ 64	≤0.125~ 32	≤0.125~ 32	0.25~32	—	—
TP	MIC ₅₀	1	0.5	0.5	1	—	—	—	0.5	1
	MIC ₉₀	128≤	1	1	32	—	—	—	1	1
	Range	0.25~ 128≤	0.25~ 128≤	0.25~ 128≤	0.5~128≤	—	—	—	0.25~2	≤0.125~4
FF	MIC ₅₀	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	MIC ₉₀	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1
	Range	0.25~1	0.063~ 0.5	0.125~1	0.063~1	0.25~1	≤0.125~1	0.25~1	0.25~0.5	≤0.125~1
TS	MIC ₅₀	16	16	16	16	—	—	—	—	—
	MIC ₉₀	64	32	32	64	—	—	—	—	—
	Range	4~64	2~64	0.5~128≤	0.031~ 128≤	—	—	—	—	—
TMS	MIC ₅₀	8	8	4	16	—	—	—	—	—
	MIC ₉₀	16	16	8	32	—	—	—	—	—
	Range	1~32	0.5~32	0.25~32	0.25~64	—	—	—	—	—
ERFX	MIC ₅₀	≤0.031	≤0.031	≤0.031	≤0.031	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125
	MIC ₉₀	≤0.031	≤0.031	0.063	≤0.031	2	0.25	≤0.125	≤0.125	0.25
	Range	≤0.031~1	≤0.031~ 0.125	≤0.031~1	≤0.031~1	≤0.125~2	≤0.125~1	≤0.125	≤0.125~1	≤0.125~ 0.5

1)~3): 表2 参照

teurella multocida (以上, Columbia 5%羊血液寒天培地または馬血液加ハートインフュージョン寒天培地を用い37℃で18時間培養), *Mycoplasma bovis* (Hayflick液体培地を用い10倍階段希釈し37℃で1週間培養後, 同固形培地に培養液を接種して37℃, 5% CO₂下で培養) ならびに *Ureaplasma diversum* (Taylor-Robinson培地またはLT-brothを用い10倍階段希釈し37℃で5日間培養) とした. 菌の同定はPCR法 [13-15] により行い, 2010~2012年度の *M. haemolytica* と *P. multocida* については菌種同定キット (Api20NE, シスメックス・ビオメリュー(株, 東京) を用いた.

薬剤感受性試験: 県内で牛呼吸器病治療に汎用されている抗菌剤8種 (アンピシリン; ABPC, カナマイシン; KM, オキシテトラサイクリン; OTC, タイロシン; TS, チルミコシン; TMS, エンロフロキサシン; ERFX, フロルフェニコール; FF, チアンフェニコール; TP) を供試し, 最小発育阻止濃度 (MIC) と菌株の50%ならびに90%の発育を阻止する濃度 (MIC₅₀,

MIC₉₀) を調べた. MICは米国臨床検査標準委員会により提唱された標準的試験法 [16] または動物用抗菌剤研究会で定めた方法 [17] に準拠し寒天培地希釈法にて測定した.

成 績

細菌学的検査成績 (表1): 全調査期間で, 供試牛1,098頭のうち990頭から少なくとも1種以上の菌が分離された. 分離菌種のうち, *M. haemolytica* は225頭 (20.5%), *P. multocida* は835頭 (76.0%), *M. bovis* は412頭 (37.5%) ならびに *U. diversum* は270頭 (30.5%) から分離された. *Pasteurella multocida* の分離率は全期間を通じ66.7~88.9%と最も高く推移し, *M. haemolytica* の分離率は2008年度及び2009年度に低くそれぞれ9.6%, 6.9%であった. また, *M. bovis* は2010年度と2011年度の分離率はそれぞれ24.7%と18.5%であったが, このほかの年度においては約35~45%の分離率であった. *Ureaplasma diversum* も2007

表4 *M. bovis* の年度別薬剤感受性

薬 剤 ¹⁾	2004 ²⁾ (n=49)	2005 (n=62)	2006 (n=59)	2007 (n=61)	2008 (n=45)	2009 (n=36)	2010 (n=21)	2011 (n=12)	2012 (n=22)
ABPC	MIC ₅₀	128≤	128≤	128≤	128≤	— ³⁾	—	—	—
	MIC ₉₀	128≤	128≤	128≤	128≤	—	—	—	—
	Range	128≤	128≤	128≤	128≤	—	—	—	—
KM	MIC ₅₀	16	8	16	8	12.5	6.25	6.25	—
	MIC ₉₀	16	16	16	8	25	12.5	12.5	—
	Range	0.5~16	4~16	8~32	2~16	3.13~25	3.13~25	6.25~12.5	—
OTC	MIC ₅₀	16	16	32	32	50	25	25	50
	MIC ₉₀	32	16	32	64	50	50	50	100
	Range	8~32	8~16	16~32	16~64	25~100≤	12.5~50	6.25~50	12.5~50
TP	MIC ₅₀	8	8	8	8	—	—	—	12.5
	MIC ₉₀	8	8	16	8	—	—	—	12.5
	Range	2~16	4~8	4~16	2~16	—	—	—	3.13~12.5
FF	MIC ₅₀	8	8	8	8	6.25	6.25	6.25	6.25
	MIC ₉₀	8	8	8	8	6.25	12.5	12.5	6.25
	Range	4~8	4~8	4~8	2~16	6.25~12.5	6.25~12.5	3.13~12.5	1.56~6.25
TS	MIC ₅₀	16	16	32	16	50	50	50	50
	MIC ₉₀	32	32	64	16	100≤	100≤	100≤	50
	Range	1~64	4~32	4~64	2~32	12.5~100≤	12.5~100≤	12.5~100≤	12.5~50
TMS	MIC ₅₀	128≤	128≤	128≤	128≤	—	—	—	—
	MIC ₉₀	128≤	128≤	128≤	128≤	—	—	—	—
	Range	2~128≤	64~128≤	32~128≤	8~128≤	—	—	—	—
ERFX	MIC ₅₀	0.25	0.25	0.25	0.5	0.39	0.2	0.2	0.2
	MIC ₉₀	0.25	0.5	0.5	1	0.78	0.39	1.56	3.13
	Range	0.125~0.5	0.063~16	0.25~8	0.25~8	0.1~0.78	0.1~0.78	0.2~3.13	0.1~6.25

1)~3): 表2 参照

年度の分離率が8.4%と低かったが、他の年度は23.1~47.5%で推移した。一方、当該菌種分離陽性牛のうち *P. multocida* あるいは *M. haemolytica* とマイコプラズマ類 (*M. bovis*, *U. diversum*) が同時に分離された個体は、全調査期間を通じ常時50%前後で推移した。

薬剤感受性試験成績 (表2~5): 224株の *M. haemolytica*, 830株の *P. multocida*, 367株の *M. bovis* 及び2008年度(24株)と2009年度(48株)の *U. diversum* を供試した試験において、*M. haemolytica* はERFX及びFFに対して全期間を通じMIC₉₀で≤0.031~1mg/lのレンジを示した。特に、ERFXに対するMIC₉₀は0.25mg/l以下であった。TPとOTCに対するMIC₉₀は2mg/l以下で推移し、MICレンジも狭かったが、KMに対してはMICレンジが2~128mg/l以上というように広範囲を示した。また、ABPCに対する2006年度のMIC₉₀は32mg/lであり、MICが32mg/lの菌株は9農場中3農場に集中していた。*Pasteurella multocida* は *M. haemolytica* とほぼ同様の感受性パターンを示した。すなわち、ERFXとFFに対するMIC₉₀は≤0.031~2mg/lのレンジを示し、特にFFに対してはMICレンジが全期間を通じ0.063~1mg/lと狭かつ

た。これに対して、ABPCとTPに対するMIC₉₀は年度により差があり、一部の農場では菌株によりMICが64あるいは128mg/l以上を示した。このほか、KM及びOTCに対するMICレンジはすべての年度で2~512<mg/lや≤0.031~64mg/lなどと広範囲を示した。一方、*M. bovis*のERFXに対するMIC₅₀及びMIC₉₀はそれぞれ0.2~0.39mg/l, 0.25~3.13mg/lで推移した。また、マクロライド (ML) 系の2剤 (TS, TMS) に対するMICレンジは1~64mg/lや2~128mg/l以上などと広範囲であり、TMSは調査した2004~2007年度までMIC₉₀が128mg/l以上であった。同様にTSにおいては2008年度以降、MIC₅₀が50mg/l, MIC₉₀が50または100mg/l以上で推移した。このほか、FF及びTPに対するMIC₉₀は6.25~12.5mg/lで推移し、MICレンジにもほとんど差はみられなかった。また、*U. diversum*のERFXに対するMIC₉₀は1.56または3.13mg/l, FFに対しては6.25または12.5mg/lであり、*M. bovis*とほぼ同等の成績であった。しかし、TSに対するMIC₉₀は2008, 2009年度とも0.78mg/lであり *M. bovis*に比べ低かった。

表5 *U. diversum* の年度別薬剤感受性

薬 剤 ¹⁾		2008 (n=24) ²⁾	2009 (n=48)
ABPC	MIC ₅₀	— ³⁾	—
	MIC ₉₀	—	—
	Range	—	—
KM	MIC ₅₀	12.5	25
	MIC ₉₀	50	50
	Range	1.56~100	1.56~100
OTC	MIC ₅₀	1.56	1.56
	MIC ₉₀	6.25	6.25
	Range	0.2~6.25	0.39~6.25
TP	MIC ₅₀	—	—
	MIC ₉₀	—	—
	Range	—	—
FF	MIC ₅₀	6.25	3.13
	MIC ₉₀	12.5	6.25
	Range	0.39~12.5	0.78~12.5
TS	MIC ₅₀	0.39	0.2
	MIC ₉₀	0.78	0.78
	Range	0.05~0.78	0.025~12.5
TMS	MIC ₅₀	—	—
	MIC ₉₀	—	—
	Range	—	—
ERFX	MIC ₅₀	0.78	0.78
	MIC ₉₀	1.56	3.13
	Range	0.1~1.56	0.05~6.25

1)~3): 表2 参照

考 察

本研究では、先ず2004年度から9年間にわたり農場の健康牛の鼻汁を用いて牛呼吸器病起因菌を分離した。この成績を、罹患牛を検査対象とした加藤ら [9] の報告と比較すると、*M. haemolytica* と *P. multocida* の分離率が高かったほか、*M. bovis* と *U. diversum* のそれはほぼ同等であった。このことは、主要な牛呼吸器病起因菌は健康牛の上部気道に常在し、罹患牛と比べても分離率にほとんど差はないことを示し、これまでの報告 [10, 11, 18] とほぼ一致していた。また、菌分離陽性牛のうち、細菌とマイコプラズマ類の混合感染の割合は加藤ら [9] の報告を大きく上回っていた。野外例の多くはさまざまな病原体の混合感染であることが知られているが、今回の調査によって多くの個体の上部気道では未発症の段階ですでに混合感染が成立していることが分かった。次に、分離菌の薬剤感受性を調べた結果、*M. haemolytica* と *P. multocida* は ERFX と FF に対しおおむね感受性が高く、高い臨床効果が期待された。また、ABPC に対する低感受性株が一部の農場で認められたが、事後の調査でこれらの農場では呼吸器病発生率が著しく高かったため、ペニシリン系薬剤を5年間以上第

一選択薬として使用していることが明らかになった。一般に、耐性菌出現と抗菌剤使用量との間には正の相関があるといわれている [19] が、今回の成績はこのケースに当てはまるものと考えられた。また、Katsuda ら [20] は *M. haemolytica* の血清型6型株にフルオロキノロン (FQ) 系を含む多剤耐性株が多いと報告しているが、今回2004年度と2007年度に分離された6型株にはABPC耐性が一部にみられたものの、FQ耐性はみられなかった (成績には示さず)。一方、*M. bovis* が高い感受性を示した薬剤はFQ系のERFXのみであり、TSやTMSなど本来高感受性を示すML系に対してはほとんどの株が低感受性あるいは耐性を示した。特に、TSに対するMIC値は加藤ら [9] の報告と比較すると著しく高く、臨床効果の低下が懸念される。*M. bovis* のML系に対する感受性低下については、近年、国内外を問わず報告が数多い [21-25]。わが国の臨床現場でも難治性のマイコプラズマ感染症が増加していることから、今後感受性の動向を注視する必要がある。

上部気道由来菌の薬剤感受性に関しては、Allen ら [10] や DeRosa ら [18] が健康牛と罹患牛を用いた調査で、牛群または個体において下部気道由来菌と類似していたと報告している。これらの報告に本研究の成績を併せると、計画的採材が可能な健康牛の上部気道由来菌は検査材料として有用性が高いと評価された。MICと治療成績は関連しないという報告 [26] があるように、薬剤によっては感受性と臨床効果は完全に一致するものではない。しかしながら、薬剤耐性菌株は農場によって存否が明確であることから、農場ごとの薬剤感受性を把握することは、効率的治療と抗菌剤の慎重使用の観点からきわめて重要であると考えられた。

稿を終えるにあたり、*M. haemolytica* の血清型検査に協力いただいた動物衛生研究所、勝田 賢先生に深謝する。

引 用 文 献

- [1] Snowden GD, Van Vleck LD, Cundiff LV, Bennett GL : Bovine respiratory disease in feedlot cattle: Environmental, genetic, and economic factors, J Anim Sci, 84, 1999-2008 (2006)
- [2] Griffin D : Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle, Vet Clin North Am Food Anim Pract, 13, 367-377 (1997)
- [3] Portis E, Lindeman C, Johansen L, Stoltman G : A ten-year (2000-2009) study of antimicrobial susceptibility of bacteria that cause bovine respiratory disease complex - *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, and *Histophilus somni* - in the United States and Canada, J Vet Diagn Invest, 24, 932-944 (2012)
- [4] Kroemer S, Galland D, Guérin-Faubleé V, Giboin H, Woehrlé-Fontaine F : Survey of marbofloxacin sus-

- ceptibility of bacteria isolated from cattle with respiratory disease and mastitis in Europe, *Vet Rec*, 170, 53 (2012)
- [5] Welsh RD, Dye LB, Payton ME, Confer AW : Isolation and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens from bovine pneumonia: 1994–2002, *J Vet Diagn Invest*, 16, 426–431 (2004)
- [6] Wallmann J : Monitoring of antimicrobial resistance in pathogenic bacteria from livestock animals, *Int J Med Microbiol*, 296, 81–86 (2006)
- [7] Esaki H, Asai T, Kojima A, Ishihara K, Morioka A, Tamura Y, Takahashi T : Antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica* isolates from cattle in Japan from 2001 to 2002, *J Vet Med Sci*, 67, 75–77 (2005)
- [8] 小池新平, 井上恭一, 米山州二, 市川 優, 田島和彦 : 栃木県で過去16年間に分離された牛呼吸器病原菌の薬剤感受性, *日獣会誌*, 62, 533–537 (2009)
- [9] 加藤敏英, 小屋正人, 渡辺栄次, 酒井淳一, 小形芳美, 曳沼 徹 : 肺炎罹患牛の鼻汁由来細菌およびマイコプラズマの薬剤感受性, *日獣会誌*, 49, 81–84 (1996)
- [10] Allen JW, Viel L, Bateman KG, Rosendal S, Shewen PE, Physick-Sheard P : The microbial flora of the respiratory tract in feedlot calves: associations between nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage cultures, *Can J Vet Res*, 55, 341–346 (1991)
- [11] Shoo MK : Comparing different isolates of *Pasteurella haemolytica* from beef calves using their *in vitro* antimicrobial sensitivity patterns, *Vet Microbiol*, 20, 73–78 (1989)
- [12] 加藤敏英, 山本高根, 小形芳美, 漆山芳郎, 荻野祥樹, 齋藤博水 : 薬剤感受性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, 294–298 (2008)
- [13] Christensen H, Bisgaard M, Larsen J, Olsen JE : PCR-detection of *Haemophilus paragallinarum*, *Haemophilus somnus*, *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*, *Mannheimia* spp., *Pasteurella trehalosi* and *Pasteurella multocida*, *Method Mol Biol*, 216, 257–274 (2003)
- [14] Pinnow CC, Butler JA, Sachse K, Hotzel H, Timms LL, Rosenbusch RF : Detection of *Mycoplasma bovis* in preservative-treated field milk samples, *J Dairy Sci*, 84, 1640–1645 (2001)
- [15] Vasconcellos Cardoso M, Blanchard A, Ferris S, Verlengia R, Timenetsky J, Florio Da Cunha RA : Detection of *Ureaplasma diversum* in cattle using a newly developed PCR-based detection assay, *Vet Microbiol*, 72, 241–250 (2000)
- [16] National Committee for Clinical Laboratory Standards : Performances standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Second edition, Approved Standard. NCCLS document M31-A2, 22 (6) (2002)
- [17] 清水高正, 永友寛治, 末石哲之, 村川泰司 : 2, 3の動物由来マイコプラズマ及びウレアプラズマの薬剤感受性測定法について, *動物用抗菌会報*, 6, 1–8 (1985)
- [18] DeRosa DC, Mechor GD, Staats JJ, Chengappa MM, Shryock TR : Comparison of *Pasteurella* spp. simultaneously isolated from nasal and transtracheal swabs from cattle with clinical signs of bovine respiratory disease, *J Clin Microbiol*, 38, 327–332 (2000)
- [19] 田村 豊 : 動物用抗菌剤の使用動向と薬剤耐性菌対策—特に診療獣医師の果たす役割について—, *日獣会誌*, 56, 685–691 (2003)
- [20] Katsuda K, Kohmoto M, Mikami O, Uchida I : Antimicrobial resistance and genetic characterization of fluoroquinolone-resistant *Mannheimia haemolytica* isolates from cattle with bovine pneumonia, *Vet Microbiol*, 139, 74–79 (2009)
- [21] 小池新平, 宇佐美佳秀 : *Mycoplasma bovis*の薬剤感受性とマクロライド耐性株の23SリボゾームRNAドメインV領域の解析, *日獣会誌*, 64, 45–49 (2011)
- [22] Uemura R, Sueyoshi M, Nagatomo H : Antimicrobial susceptibilities of *Mycoplasma* isolated in 2008 and 2009 from cattle in Japan, *J Vet Med Sci*, 72, 1661–1663 (2010)
- [23] Gerchman I, Levisohn S, Mikula I, Lysnyansky I : In vitro antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma bovis* isolated in Israel from local and imported cattle, *Vet Microbiol*, 137, 268–275 (2009)
- [24] Rosenbusch RF, Kinyon JM, Apley M, Funk ND, Smith S, Hoffman LJ : In vitro antimicrobial inhibition profiles of *Mycoplasma bovis* isolates recovered from various regions of the United States from 2002 to 2003, *J Vet Diagn Invest*, 17, 436–441 (2005)
- [25] Francoz D, Fortin M, Fecteau G, Messier S : Determination of *Mycoplasma bovis* susceptibilities against six antimicrobial agents using the E test method, *Vet Microbiol*, 105, 57–64 (2005)
- [26] McClary DG, Loneragan GH, Shryock TR, Carter BL, Guthrie CA, Corbin MJ, Mechor GD : Relationship of in vitro minimum inhibitory concentrations of tilmicosin against *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* and in vivo tilmicosin treatment outcome among calves with signs of bovine respiratory disease, *J Am Vet Med Assoc*, 239, 129–135 (2011)

Antibiotic Susceptibility of *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*,
Mycoplasma bovis and *Ureaplasma diversum* Isolates from Nasal Swabs
of Clinically Healthy Cattle

Toshihide KATO[†], Hiroshi ENDO and Jun-ichi SAKAI

* Yamagata Prefectural Federation of Agricultural Mutual Aid Associations, 95-1 Chitose,
Ochiai, Yamagata, 990-0075

SUMMARY

Nasal swabs from clinically healthy cattle for fattening were bacteriologically examined from 2004 to 2012 in Yamagata prefecture. The pathogenic bacteria described below were found in 990 out of 1,098 cattle (90.2%); *Mannheimia haemolytica* (Mh) was isolated from 225 heads, *Pasteurella multocida* (Pm) was isolated from 835 heads, *Mycoplasma bovis* (Mb) was isolated from 421 heads and *Ureaplasma diversum* (Ud) was isolated from 270 heads, respectively. Both enrofloxacin (ERFX) and florfenicol to Mh and Pm isolates, showing a minimum 50% inhibitory concentration (MIC₅₀) of $\leq 0.031 \sim 0.5$ mg/l and a MIC₉₀ of $\leq 0.031 \sim 2$ mg/l. Mb and Ud had high sensitivity to ERFX, showing a MIC₅₀ of $0.2 \sim 0.78$ mg/l and a MIC₉₀ of $0.25 \sim 3.13$ mg/l, but Mb showed remarkably low sensitivity to macrolides (MIC range; vs. TS $1 \sim 100$ mg/l \leq , vs. TMS $2 \sim 128$ mg/l \leq).

—Key words : antibiotic susceptibility, healthy cattle, *Mannheimia*, *Mycoplasma*, *Pasteurella*.

[†] Correspondence to (Present address) : Toshihide KATO (Yamagata Prefectural Federation of Agricultural Mutual Aid Associations)

95-1 Chitose, Ochiai, Yamagata, 990-0075

TEL 0238-37-6286 FAX 0238-37-6049 E-mail : toshide_katou@yynosai.or.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 66, 852 ~ 858 (2013)