

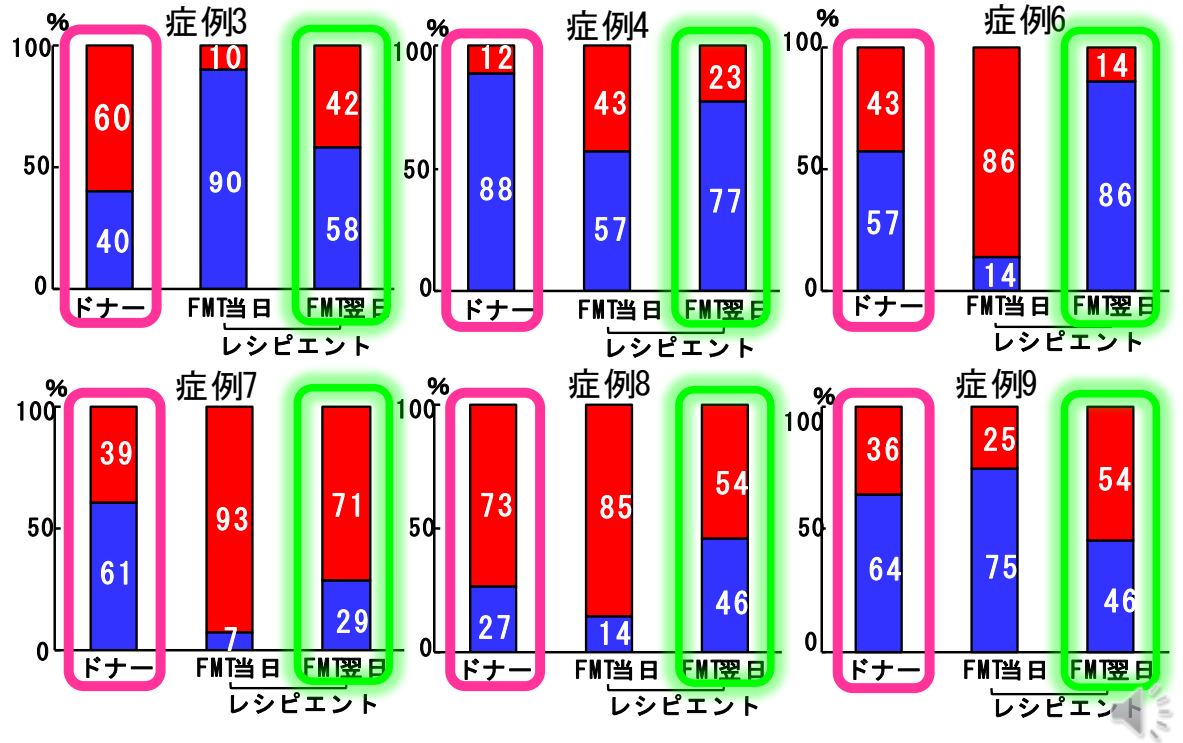
福田先生への質問と回答

	質問内容	回答
1	腸内細菌叢のプロファイルのカテゴリ化することがあるかと思いますが、腸内メタボロームの（特定の分子ではなくて）全体のプロファイルから良い状態かどうかを考えることができるのでしょうか？	健康に寄与することが明らかとなっている短鎖脂肪酸の濃度が高く、肝がんや大腸がんに関与することがわかっている二次胆汁酸であるデオキシコール酸の濃度が低ければ、良い腸内環境と言ってもいいかと思います。
2	本日はありがとうございます。質問です。ビフィズス菌でも種あるいは同種でも菌株で作用が異なることが報告されています。今回のクロストリジウム属の病原菌抑制作用についてもクロストリジウム菌種あるいは菌株の違いで作用が異なってくると思われますが、如何でしょうか？	ご指摘の通り、菌株ごとに機能が異なるケースはあるかと思いますが、関連する遺伝子等を特定し、そういった遺伝子機能を持っているかどうかを視標することが重要かと思います。
3	下部消化管で産生された短鎖脂肪酸は95%以上が腸管内で吸収されると聞いたことがあるのですが、糞便中の短鎖脂肪酸の量と消化管での短鎖脂肪酸の産生量というのは、どれくらい一致するものなのでしょうか。	マウス試験の結果ですが、盲腸内容物中のSCFA量は便中のSCFA量と比べて3倍くらい高い濃度です。しかしSCFA全体のプロファイルは類似していますので、便中の組成は腸管内の組成をある程度反映していると考えています。
4	腸内細菌叢とホストのウイルス感受性、または腸内細菌叢と腸内ウイルスの関係性についてご存知のことありましたらご紹介いただけますでしょうか。	腸内細菌叢からの酪酸産生がインフルエンザ感染を抑制することが報告されています (https://www.cell.com/immunity/pdf/S1074-7613(18)30191-2.pdf)。また腸内ウイルスに関しても特にバクテリオファージに関する報告が多数あります (https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128(20)30344-9)。

田中先生への質問と回答

	質問内容	回答
1	<p>ホルスタイン子牛の下痢に生菌剤を試しに FMT のようにカテーテルで経直腸で注入したことがあります。その時は水様性下痢だったのが翌日に固形便になりました。けれどその次の日にはまた下痢に戻っていました。結局生菌剤の有用菌が定着しなかったのかなと思い、やめてしまいました。糞便移植は感染症の心配もあり、不安が残ります。直腸から座薬のようにして挿入できる生菌剤があればいいなと思ったりもします…。有用菌の定着を促す方法がありますでしょうか。</p>	<p>FMT の良いところはクロストリジウム属などの多数の有用菌種とそれら菌種の産生する代謝産物が互いに影響し合うことで腸内環境の多様性を回復させ、治療効果を即効的かつ持続的に発揮するところにあると考えています。以上のことから限られた有用菌種のみではその効果は一時的であり、その有用菌種が腸管上皮内で生存・定着し続けるには他の菌種の存在やそれら菌種が産生する短鎖脂肪酸（酪酸など）といった代謝産物の存在も必要不可欠ではないかと考えております。私たちの今後の研究ではこの有用菌種と代謝産物を選抜しカクテル化し凍結乾燥処理などを施すことで安定した FMT 製剤を開発することを目標にしております。ご期待いただければ幸いです。</p>
2	<p>ドナーから糞便を投与するとグラム陽性菌からグラム陰性菌の割合が増えるとのことですが、正常な糞便でもグラム陰性菌が優位なのでしょうか？また、その理由を教えてください。</p>	<p>農場により（飼養環境の影響）、少しその様相は変わりますが陽性菌や陰性菌のバランスはほぼ同等で多様性を保っていることが多いです。抗生剤や生菌剤の持続的投与や病原体の影響でその多様性が破綻した状態（dysbiosis）を優良ドナー便の移植で改善することができる（FMT による多様性の回復）ものと考えております。ご質問いただいた症例 3 は 9 割が陽性菌で占める状態（dysbiosis）であったものが FMT 実施で多様性を回復し陰性菌の割合も 4 割強まで回復したことを示したものでアンバランスであった菌種のバランスが是正され健康ドナー便の菌叢に近似したことを示しています（下図）。</p>
3	<p>生きている菌に加え、クロストリジウムの二次代謝産物による効果も考えられると思いますが何か知見はありますか。</p>	<p>Atarashi¹⁾ や大野ら²⁾ の報告ではクロストリジウム属が食物繊維を発酵して産生する酪酸が Treg 細胞の誘導し腸炎抑制能を発揮することが示唆されています。`今回の我々の子牛での研究でも有効群の腸内で FMT 実施後、クロストリジウムが増加する傾向が認められました。</p> <p>1) Atarashi,K.,Tanoue,T.,Shima,T.,et al.Treg Induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota.Nature.2013;500;232-236</p> <p>2)Furusawa,Y.,Obata,Y.,FukudaS.,et al .Commenensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory Tcells.Nature.2013;504'446-450</p>

糞便塗抹グラム染色結果 (症例3~9)



塚原先生への質問と回答

	質問内容	回答
1	<p>抗菌薬投与によって、逆に菌の多様性が増加した例がありましたが、どのようなメカニズムが背景にあるとお考えでしょうか？</p>	<p>抗菌剤に感受性のある菌群が、腸内細菌叢の中で優勢であったためと考えられます。それまで優勢であった菌群が抗菌剤投与によって劣勢化したため、これまで存在していたが検出できていなかった劣勢菌が検出出来るようになった。というのが、正しい認識だと思います。</p>
2	<p>抗生物質の筋肉内摂取でも腸内細菌叢に影響を及ぼすのは、どのような作用機序でしょうか？</p>	<p>胆汁経由で腸管内に流入することが知られております。</p>
3	<p>塚原先生へ NQ 投与で常在大腸菌が 869 倍に増殖するとありましたが、pre で大腸菌数が 10 の 4 乗弱でしたので、正常数 10 の 7 乗近くまで戻ったと考えられませんか？ 攪乱したというより、改善したと考えられないか？ です。</p>	<p>正確にご質問内容を理解できていないかもしれませんが、常在の大腸菌数が 10^7 個/g 存在する菌叢が正常というところではないと考えております。基本的に常在大腸菌数が少ない菌叢の方が生産成績が良いと認識されております。また、投与直後は大腸菌は検出されなくなり、その後急激な増加を見せましたので、NQ 投与の効果というよりも NQ 消失による効果であると見ることが出来ますので、NQ 投与による改善という言い方も出来ないのではないかと考えております。</p>

野地先生への質問と回答

	質問内容	回答
1	野地先生へ IPP のマクロ観察として、胎生期と出生後で、IPP の長さの発生の違いはなかったでしょうか？ 元々腸管の長さも違うので、比率になると思いますが、JPP の機能成熟変化も IPP と同様と考えて良いでしょうか？	成長にあわせて、腸管が長くなりますので、IPP の長さもそれに伴い長くなりますが、発達する部位は胎生期に決まりますので、比率は変わりません。ただし、ブタの IPP は、一次リンパ組織および二次リンパ組織の双方の特徴を兼ね備えた臓器ですので、加齢による影響は大きいと考えられます。ブタの場合、6 ヶ月齢以上の個体を入手することが困難であるため、加齢によるパイエル板の萎縮など精査する研究は実施しづらいのが現状ですが、重要だと認識しております。IPP と JPP では、臓器内に存在する T 細胞と B 細胞の割合が異なっており、機能を区別して考える必要があります。
2	野地先生、出生後の外来刺激となる腸内微生物ですが、微生物の産生物による刺激なのでしょう吗？ご教示ください。	微生物そのものによる直接的刺激に加え、それらが作り出す代謝物による影響も、IPP の機能・形態形成に大きな影響を与えると考えて間違いありません。
3	外来刺激の違いでパイエル板の成長（特徴）に違いは出るのか？教えてください	無菌環境で飼育した場合の IPP は、通常飼育した際の IPP とは異なっておりますので、外来刺激（特に微生物）からの刺激は、IPP の機能・形態形成に大きな影響を与えます。
4	素晴らしいご講演に感謝です。パイエル盤が二次リンパ組織の能力を併せ持つ時期として、もっと早い時期は想定されますか？子豚の免疫性成熟を予想する材料としてのご見解を。	パイエル板の形態形成は多段階的に進むことから、胎生期、出生直後、離乳後でその発達プロセスは大きく異なります。どの時期の免疫機能を強化する必要があるのかを見定め、それを可能にするための戦略を構築する必要があると考えております。
5	野地先生、パイエル盤の機能は、単胃動物と反芻動物によって違うことはあるのでしょうか？	免疫学に関する多くの教科書には、パイエル板は腸管に発達する二次リンパ組織として説明されておりますが、ヒツジを用いた過去の研究から、その理解は、種によって大きく異なるということが分かりました。一方で、我々の研究結果では、ブタのパイエル板の機能がヒツジのパイエル板とは完全に一致していないことから、単胃動物と反芻動物の違いというより、種の特有の特徴として定義した方が良いかもしれません。ただし、反芻動物特有の特徴がパイエル板で認められれば、それは非常に興味深いことであります。

丹羽先生への質問と回答

	質問内容	回答
1	<p>丹羽先生、ご講演ありがとうございました。CET、MINO は経口投与でしょうか？腸内フローラに与える影響は抗菌剤の投与経路によって違いはありますか？</p>	<p>抗菌薬が腸内フローラに与える影響の大きさは、一般的には静脈注射よりも経口投与がより大きいと考えられています。限られたデータですが、馬では、腸内フローラへの影響は ST 合剤（経口）＞セフトフル（静注）＞ペニシリン（静注）という報告があります。ただし、同じ経口投与薬であっても薬剤の種類によって小腸までの吸収率、腸肝循環の有無などで影響の強さが異なると思われます。</p>
2	<p>ありがとうございました。一つ教えていただけますか。健康な馬に Clostridium difficile の保菌率が少ないならば、野外馬や入院馬の Clostridium difficile はどこからその菌を獲得しているのでしょうか？</p>	<p>当研究室において C. difficile 発症馬が利用した入院馬房の汚染状況を調査した際、一部の馬房では発症馬に感染した型以外の遺伝子型が複数検出されたという事例がありました。このことから、入院馬房はもともと様々な遺伝子型に汚染されていたことが明らかになるとともに、入院後 72 時間以降に発症した症例ではそれらが感染源となったと考えられます。一方、C. difficile は土壌、河川、海など環境からも分離されることもあり、野外においては C. difficile によって汚染されている環境が少なからず存在すると考えられます。</p>
3	<p>丹羽先生へ、CDI の予防として、抗菌剤使用前からの生菌剤持続投与は効果がありますか？</p>	<p>生菌剤の投与は、より研究の進んでいるヒト医療においてもエビデンスが不十分とされています。馬での有効性については残念ながら全くデータはありません。ヒトでは C. difficile に対して抗菌活性を有する二次胆汁酸の減少が CDI の発症の一因とされるとの報告がありますので、将来的にそのような機能を有する細菌を生菌剤として使用することで、予防効果が期待できるかもしれません。</p>

渡辺先生への質問と回答

	質問内容	回答
1	<p>渡辺先生、貴重なご講演ありがとうございます。尿路感染症の耐性調査は大腸菌の例をご紹介頂きましたが、呼吸器感染症を起こす腸内細菌科細菌（肺炎桿菌など）の耐性傾向は、近年上昇しているのでしょうか。よろしくお願ひ致します。</p>	<p>ご質問をありがとうございます。結論から言いますと、呼吸器感染症を起こす腸内細菌科細菌（肺炎桿菌など）の耐性化はほぼ起こっておりません。別添のスライドは、私が委員長を務めていた3学会合同抗菌薬感受性サーベイランスにおける成績を2017年頃にまとめたものです。2006年から化学療法学会が、2009年からは感染症学会と臨床微生物学会が加わって抗菌薬感受性サーベイランスを行っていますが、全国の延べ300以上の大学や基幹病院から感染症原因菌を集め、北里大学抗感染症薬研究センターで一括してMICその他を測定しているものであり、同大学の大村 智先生からは多大のご指導をいただいております。7枚目に肺炎桿菌の成績が出ておりますが、他の多くの菌種を含めて総じて呼吸器感染症原因菌の耐性化は進んでおりません。耐性化が進んでいるという根拠としてよく使われるのは、厚労省が行っているJANIS（院内感染対策サーベイランス事業）のデータであり、それを見ると確かに尿路感染症の大腸菌を筆頭に多くの菌種で耐性化が進行しているかに見えます。しかしながら、このJANISの成績は、全国の中小病院を含めたかなり膨大な数の施設からそれぞれの施設の成績をただ単に集計しているものであり、技術レベルはもちろん、感受性測定の方法も微妙に異なるものを集めただけのものであり、また、感染症原因菌なのか？抗菌薬治療後に出現しがちでその感染症の原因菌とは断定できない耐性菌が入っていないのか定かではなく、信頼してよいのか疑問です。そのような問題意識から始めたのが我々の3学会合同サーベイランスであり、原因菌そのものを集めて一つの方法で一括測定するという原則を貫いております（中小規模の施設が入っていないのが悩みです）。</p>

2	<p>素晴らしい口演でした。ありがとうございました。先ほど、お答え頂きましたが、我々も各獣医師で使用方法が千差万別でコントロールが出来ていません。先生が抗生物質の適正使用を成功させるアイデアをお持ちであればご教示ください。</p>	<p>ご質問をありがとうございます。抗菌薬適正使用の目的は治療効果を最大限に上げて副作用と耐性菌出現を抑えることだと思っております。獣医療の分野に既にあるのかもしれませんが、まずは抗菌薬療法ガイドラインのようなものを作るのではないかと思います。例えば、ヒトの呼吸器感染症治療の分野では2000年以前にはガイドラインがありませんでした。1993年に米国胸部学会が市中肺炎ガイドラインを制定し、わが国にもガイドラインが必要なのではないかとという機運が高まり、それを議論する pro and con のシンポジウムが呼吸器学会で開催されたりしました。私はその時、シンポジストとしてガイドライン反対の立場でしたが、その理由は、ガイドライン通りに皆が同じ抗菌薬を使い始めたら耐性菌が増えるのは明らかであり、何より医師一人一人が考えることなくワンパターンの治療を行うことを危惧したからです。というわけでいったん機運はしぼみましたが、そうすると今度は、米国のガイドライン通りにやれば良いという医師が続出しました。医療の背景や使える薬、行える検査その他が異なる国のガイドライン通りの治療がまかり通るのは疑問??です。そのような状況になったのであれば、わが国の実情に合ったガイドラインを作る方がよいと宗旨替えし、ガイドラインの作成を始め、2000年に最初の市中肺炎ガイドライン（日本呼吸器学会）を世に問いました。若手からこれを現場で検証する成績が学会報告や論文としてたくさん出てきたのは思わぬ副産物でしたが、現在は改訂を重ねて2017年に第3版を出したところです。私がいつも思うのは、個々の症例の違いをよく見極めて感染症治療が本当に必要な症例なのか？ そうではないのか？ 必要ならば1例ごとに抗菌薬を選択し、それをガイドラインと照合しながら修正を加え、抗菌薬は高用量・短期間で完結すべき、ということです。高用量にするのは治療効果を高めて耐性菌を抑える（低用量を続けるほうが耐性を選択しやすい）ためであり、「短期間」は副作用と耐性菌の防止です。冒頭に挙げた適正使用の目的を達成するための方法だと思っております。ところが、自信のない医師ほど投与終了を決断できません。私はいつも講演で、抗菌薬のただら長期投与は医師の自信のなさの表れであり、有害であると思っております。</p>
---	---	--

3	<p>獣医療のどのような要因が耐性菌問題として医療分野に影響を与えると考えているか。また、医療分野から獣医療に対する要望はどのようなことがあるかお教えいただけますか。</p>	<p>ご質問をありがとうございます。私が最初の論文（総説ですが）を書いたのは医学生の際ですが、公衆衛生学の自由研究で行ったフィールドワークのレポートを担当教授がこれは面白いと言って、ご自分が関与する学術誌に載せてくれたものです。「養殖漁業における薬剤（＝抗菌薬）投与の問題点」というものであり、1974年でした。宮城県内の養殖業者から県の漁業試験場、東北大学農学部などを訪ね歩いて取材し、そこで知ったのは宮城県は養殖漁業では後進県であること、それでもヒトの医療の何倍も抗菌薬を使用していること（テトラサイクリン系薬が「成長促進剤」などとして飼料にまぜられていることも知りました）、先進地域である瀬戸内沿岸などではさらにその何倍も使い、厚飼いも桁違い、また、当時の畜産分野にあった要指示薬制度が水産分野にはまだなく、出荷直前まで抗菌薬投与が行われていたこと、などでした。グリコペプチド系薬耐性菌などは畜産分野からヒトの世界に入ってきたなどともいわれておりますが、もともとヒトの感染症の殆どが動物の世界からもたらされてきたのですから、しょうがないと言えばしょうがないと思います。しかし、先のガイドラインの必要性などのところで述べたように、ワンパターンの投与を避け、それぞれの場面で投与の可否を決め（一つの飼育棟内の全家畜への投与が避けがたいなど大変なことは分かっておりますが）、高用量はよいとしても長期間の投与は避ける、などをお考えいただければと思っております。</p>
4	<p>現在は抗菌薬の適切使用、慎重使用が行われていますが、今後耐性菌はどのような経過をたどっていくとお考えですか(増加、減少、あまり変化しないなど)</p>	<p>ご質問をありがとうございます。ヒトの世界で行われている抗菌薬の「適正使用」、特にわが国の厚労省主導で行われている「適正使用」は名ばかりであって単なる「使用抑制」であり、臨床現場では必要な場面での抗菌薬投与が控えられもしています。そして、その弊害が2017年以降の突然の肺炎死亡の急増に表れていることを講演でお伝えいたしました（抗菌薬の使用が1割強減ったのに合わせるかのように肺炎死亡が1割以上増えました）。一方で、使用量が減少したにもかかわらず耐性菌が減ったという確たる報告はありません。ヒトの医療に携わる者が唯々諾々とこのようなことを続けていっても所期の目的が達成できるのか非常に疑問です。今のままではあまり変化しないだろう、その一方で感染症死亡は特に高齢者で増えるだろう、と思っております。</p>

5	<p>風邪の原因として多くはウイルスが挙げられます。しかし細菌の感染によって引き起こされる場合もあります。講演で示された6項目を満たしていれば抗菌薬適応になるそうですが、この6項目に当てはまらなかったが細菌が原因になる場合もあるのではないかと思います。このような場合はどのように処置していくのが適切なのでしょうか。経験的に抗菌薬を処方するのでしょうか。</p>	<p>ご質問をありがとうございます。「この6項目に当てはまらなかったが細菌が原因になる場合」はもちろん存在します。それが多いのはどのような症例なのか？も大体わかっております。高齢者、各種の慢性疾患（心・肺疾患、糖尿病、膠原病、腎疾患、その他）保有者、もともとあるいは抗がん剤投与や免疫抑制治療のために免疫抑制状態にある例、高度肥満者、などなどであり、こうした方々に対しては早め早めに抗菌薬を投与する方がよい、といつも講演で話しております。実はこういった方々はインフルエンザワクチンや肺炎球菌ワクチンの優先接種対象者でもあり、そうした予防も必要であると話しております。なお、この6項目すべてに当てはまって初めて抗菌薬投与を考えるのではなく、講演でもお示したように3項目以上に合致すれば抗菌薬投与が有意に効果を上げる、という検証結果でした。自分たちで検証したのですが、大変有意義であったと考えております。</p>
---	--	--

質問1への回答の付表

実施年度 領域	2006	2007	2008	2008	2009	2009	2009	2010	2010	2011	2011	2012	2012	2013	2013	2014	2014	total
	RTI	RTI	RTI	UTI様	RTI	UTI 単	尿道炎	RTI	SSI	UTI様	ENT	RTI	尿道炎	皮膚科	歯科	RTI	SSI	
1 Staphylococcus aureus	205	226	189		130			206	142	55	112	232		579		335	160	2571
2 Staphylococcus lugdunensis														62				62
3 S. lugdunensis 以外のCoNS						20								178				198
4 Streptococcus pneumoniae	200	257	211		127			189			113	225				265		1587
5 Streptococcus pyogenes	9	6	6		4			4			63	16		41		29		178
6 Streptococcus anginosus group															106			106
7 Streptococcus spp. (上記6以外)														80				80
8 Enterococcus faecalis				140					134	209							170	653
9 Haemophilus influenzae	164	206	187		123			182			106	231				283		1482
10 Moraxella catarrhalis	91	120	106		70			74			55	147				164		827
11 Escherichia coli				255		301			95	382								1185
12 Klebsiella pneumoniae	74	122	126	93	78			139	53	132		167				207	56	1247
13 Klebsiella oxytoca										41								41
14 Enterobacter cloacae									58								96	154
15 Proteus mirabilis				42						59								101
16 Serratia marcescens				44						26								70
17 Pseudomonas aeruginosa	143	171	162	114	103			160	108	93	15	218				254	136	1677
18 Neisseria gonorrhoeae									83				103					186
19 Chlamydia trachomatis								19					39					58
20 Bacteroides spp.										108								113
21 Prevotella spp.											75					246		321
22 Porphyromonas spp.											2					27		29
23 Fusobacterium spp.											20					88		108
24 嫌気性グラム陰性球菌											40					179		219
total (測定株数)	886	1108	987	688	635	321	102	954	698	997	601	1236	142	860	726	1537	883	13361
Enterobacteriaceae (11+12+13+14+15+16)	74	122	126	434	78	301		139	206	640		167				207	304	2798
MSSA	75	91	76	54				102	39	83	113		438			189		1260
MRSA	130	135	113		76			104	103	55	29	119		141		146		1151
2 嫌気性菌 (20+21+22+23+24)									108	137				540		113		898

1

2

S.aureus の分離数とMRSA分離数の推移

領域	分離年	分離総数	MSSA	MRSA	R%
RTI	2006	205	75	130	63.4
	2007	226	91	135	59.7
	2008	189	76	113	59.8
	2009	130	54	76	58.5
	2010	206	102	104	50.5
	2012	232	113	119	51.3
	2014	335	188	147	43.9
SSI	2010	142	39	103	72.5
	2014	160	74	86	53.8
皮膚科	2013	579	438	141	24.4
耳鼻科	2011	112	83	29	25.9
Total		2516	1333	1183	47.0

3

3

肺炎球菌分離数とPISP、PRSP分離数の推移

領域	分離年	分離総数	PSSP	PISP	PRSP	I%	R%
RTI	2006	200	122	70	8	35.0	4.0
	2007	257	166	78	13	30.4	5.1
	2008	211	111	75	25	35.5	11.8
	2009	127	71	34	22	26.8	17.3
	2010	189	81	79	29	41.8	15.3
	2012	225	144	70	11	31.1	4.9
	2014	264	148	103	13	39.0	4.9
耳鼻科	2011	113	57	42	14	37.2	12.4
合計		1586	900	551	135	34.7	8.5

4

4

H.Influenzae の分離数とBLNAR、BLPARの推移

領域	分離年	分離総数	S	I	BLNAR	BLPAR	BLNAR%	BLPAR%
RTI	2006	164	74	35	47	8	28.7	4.9
	2007	206	91	41	60	14	29.1	6.8
	2008	187	101	26	50	10	26.7	5.3
	2009	123	67	26	23	7	18.7	5.7
	2010	182	69	32	61	20	33.5	11.0
	2012	231	79	53	86	13	37.2	5.6
	2014	283	97	48	115	23	40.6	8.1
耳鼻科	2011	106	36	16	38	16	35.8	15.1
合計		1482	614	277	480	111	32.4	7.5

5

5

E.coli の分離数とESBL産生株数、CRE分離数の推移

領域	分離年	総株数	ESBL	R%	CRE	R%
C-UTI	2008	255	13	5.1	0	0.0
C-UTI	2011	382	58	15.2	0	0.0
A-UTI	2009	301	14	4.7	—	—
SSI	2010	95	9	9.5	0	0.0
	2014	152	35	23.0	0	0.0
合計		1185	129	10.9	0	0.0 (0/884)

6

6

K.pneumoniae の分離数とESBL産生株数、CRE分離数の推移

領域	分離年	総株数	ESBL	R%	CRE	R%
RTI	2006	74	2	2.7	1	1.4
	2007	122	0	0	0	0.0
	2008	126	4	3.2	0	0.0
	2009	78	1	1.3	0	0.0
	2010	139	4	2.9	1	0.7
	2012	167	7	4.2	0	0.0
	2014	207	19	9.2	0	0.0
C-UTI	2008	93	0	0	0	0.0
C-UTI	2011	132	6	4.5	0	0.0
SSI	2010	53	0	0	0	0.0
	2014	56	6	10.7	1	1.8
合計		1247	49	3.9	3	0.2

7

7

K.oxytoca の分離数とESBL産生株数、CRE分離数の推移

領域	分離年	総株数	ESBL	R%	CRE	R%
C-UTI	2011	41	1	2.4	0	0.0

E.cloacae の分離数とESBL産生株数、CRE分離数の推移

領域	分離年	総株数	ESBL	R%	CRE	R%
SSI	2010	58	0	0.0	13	22.4
	2014	96	0	0.0	27	28.1
合計		154	0	0.0	40	26.0

8

8

P.mirabilis の分離数とESBL産生株数、CRE分離数の推移

領域	分離年	総株数	ESBL	R%	CRE	R%
C-UTI	2008	42	5	11.9	0	0.0
C-UTI	2011	59	4	6.8	0	0.0
合計		101	9	8.9	0	0.0

S.marcescens の分離数とESBL分離数、CRE分離数の推移

領域	分離年度	総株数	ESBL	R%	CRE	R%
C-UTI	2008	44	0	0.0	4	9.1
C-UTI	2011	26	0	0.0	0	0.0
合計		70	0	0.0	4	5.7

9

9

ESBL産生株数、CRE分離数の推移(全体)

(E.coli, K.pneumoniae, K.oxytoca, E.cloacae, P.mirabilis, S.marcescens の総株数)

領域	分離年	総株数	ESBL	R%	CRE	R%
RTI	2006	74	2	2.7	1	1.4
	2007	122	0	0.0	0	0.0
	2008	126	4	3.2	0	0.0
	2009	78	1	1.3	0	0.0
	2010	139	4	2.9	1	0.7
	2012	167	7	4.2	0	0.0
2014	207	19	9.2	0	0.0	
C-UTI	2008	434	18	4.1	4	0.9
C-UTI	2011	640	69	10.8	0	0.0
A-UTI	2009	301	14	4.7	-	-
SSI	2010	206	9	4.4	13	6.3
	2014	304	41	13.5	28	9.2
合計		2798	188	6.7	47	1.9

(47/2497)

10

10

緑膿菌分離数とMDRP分離数、MBL産生株数の推移

領域	分離年	総株数	MDRP	MBL	MDRP%	MBL%
RTI	2006	143	1	3	0.7	2.1
	2007	171	1	2	0.6	1.2
	2008	162	3	4	1.9	2.5
	2009	103	3	2	2.9	1.9
	2010	160	1	1	0.6	0.6
	2012	218	3	3	1.4	1.4
	2014	254	0	1	0.0	0.4
C-UTI	2008	114	2	3	1.8	2.6
C-UTI	2011	93	4	5	4.3	5.4
耳鼻科	2011	15	0	0	0	0
SSI	2010	108	0	0	0	0
	2014	136	0	0	0	0
合計		1677	18	24	1.1	1.4

11

11

淋菌の総株数と耐性菌株数の推移

領域	分離年度	分離株数	β -actamase(+)	β (+)%	CPFX-R	CPFX-R%
尿道炎	2009	83	6	7.2	65	78.3
尿道炎	2012	103	2	1.9	81	78.6
合計		186	8	4.3	146	78.5

12

12

三澤先生への質問と回答

	質問内容	回答
1	<p>抗血清を用いたウエスタンブロッティング解析で、陽性牛と陰性牛にパターンの違いは見分けられますでしょうか（感染防御に関わる抗体産生がなされているか？）</p>	<p>ウエスタンブロッティング解析を行ったところ、菌株間で陽性牛の血清との結合性が大きく異なることから、菌株間の抗原性の多様性が確認されました。このことから、共通する（感染防御）抗原は乏しいと考えられます。BDD は再発しますし、有効なワクチンがないことも、そのことを裏付けていると思います。分離されたトレポネーマ (<i>T. phagedenis</i>) の全ゲノム解析から分かったことは、遺伝子の組換えが起りやすい構造となっており、抗原変異も起こしやすいと考えられます。一方、まだ分離培養に成功していないトレポネーマやその他の細菌が病変内に存在しますので、今後の研究を待たねばなりません。また、細胞性免疫の動きも調べていく必要があります。</p>
2	<p>三澤先生、貴重なご講演ありがとうございます。1.トレポネーマ属菌は、タイトジャンクションの開放 (TEER の減少) による細胞間隙の通過と、細胞内侵入を経た上皮細胞層の通過の双方の性質を持つと理解してよろしいでしょうか？ 2.IL-8 の上昇ですが、例えば LPS 刺激だと数時間後に急増し、すぐに規定値に戻ると理解していますが、24 時間後にかなりの上昇が見られるということは、上皮細胞がトレポネーマ属菌を認識するパターン認識に何か特徴があるのでしょうか？</p>	<p>BDD 病変には複数のトレポネーマ菌種が感染しているケースが多く、それぞれで侵入の様式も異なっています。例えば、<i>T. phagedenis</i> は細胞内を貫通するのに対し、<i>T. denticola</i> は細胞間を貫通する結果が観察されています。これは、培養細胞を使った <i>in vitro</i> の実験ですので、実際の病変内でも同じことが起こっているかは分かりません。また、多種類の微生物が感染症に関与するポリマイクロバイアル感染症 (Polymicrobial infection) では、トレポネーマ以外のプロテアーゼを産生する菌の助けによって、タイトジャンクションを破壊して細胞間を侵入できる場合もあると考えられます。</p> <p>トレポネーマ属菌はグラム陰性菌の持つ LPS と同じ構造物ではないことが報告されています。今回観察された IL8 の上昇は、LPS ではない耐熱性の菌体成分が関与しているのかもしれませんが、詳細は不明です。また、宿主側の認識メカニズムについても分かっていません。ただ、BDD の病態として、持続した激しい炎症反応が認められていること、<i>in vitro</i> の実験では、IL8 の産生量が非常に高いことを考えると、特徴的な炎症反応を惹起するメカニズムがあるのかもしれない。</p>

3	フリーストールの環境から当該菌を駆逐できる必殺技はありますか？	BDD の病変形成に関与しているのは、ほとんどが嫌気性菌ですので、床が糞便の堆積などで嫌気状態にならないようにすること（常に清浄な状態にすること）が重要かと思います。また、フリーストールに比べ、フリーバーンのほうが発生率が低いとの報告もあることから、床が乾燥していたほうが BDD の発症を抑えられると思われます。前肢より後肢のほうが好発するのも、負重の違いに加え、糞尿により湿潤状態になっていることが影響しているのかもしれない。
4	ワサオーロは、水等に溶かして蹄浴に使用することもできますか？	ワサオーロの主成分は揮発性ですので、水に溶けた状態で殺菌効果を発揮できるかは不明です。蹄浴に使用して効果があるかはメーカーにお尋ねしていただいたほうがよいと思います。
5	貴重なご講演ありがとうございました。BDD 由来のトレポネーマ属菌のバイオフィルム形成能力について、病原性に関与しているのかどうか、in vivo または in vitro での知見がありましたら教えていただけないでしょうか？	バイオフィルム形成能は病原性の有無にかかわらず、殆どの細菌に備わっていると考えられています。菌が増殖する際に産生・菌体外に放出されるスライムまたはグリコカリックスと呼ばれるポリマーによって菌体同士が接着し、バイオフィルムが形成されると言われています。しかしながら、トレポネーマの増殖速度は極端に遅いため、in vitro ではバイオフィルムの形成能は高くありません。しかしながら、BDD は多数の細菌種が関与しているため、その他の菌が作ったバイオフィルムを利用することも考えられます。バイオフィルムの利点は、環境中でも乾燥、薬剤、バクテリオファージ等から身を守ることができることですが、現時点では、ご質問の内容に回答できる明快なデータはありません。