

琉球大学学術リポジトリ

ヤギ糞便由来大腸菌の薬剤耐性

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): ヤギ, 給与飼料, 大腸菌, 薬剤耐性菌, Rプラスミド キーワード (En): Goat, Feed, Escherichia coli, Drug resistance, R plasmid 作成者: 日越, 博信, 宮城, 寿満子, 諸見里, 淳子, 平川, 守彦 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3682

ヤギ糞便由来大腸菌の薬剤耐性

日越博信*・宮城寿満子*・諸見里淳子*・平川守彦*

Hironobu HIGOSHI, Sumako MIYAGI, Junko MOROMIZATO and
Morihiro HIRAKAWA : Drug resistance in *Escherichia coli* isolated
from goat feces

キーワード : ヤギ, 給与飼料, 大腸菌, 薬剤耐性菌, Rプラスミド
Key word : Goat, Feed, *Escherichia coli*, Drug resistance, R plasmid

Summary

We performed sensitivity tests to seven antibiotics on a total of 822 strains of *Escherichia coli* isolated from the feces of 73 goats from 22 goat farms in Okinawa prefecture. Transmissible R-plasmids were also examined in antibiotic-resistant strains. These results were compared by type of feed (grass only, or mixed feed of grass and concentrated feed) and by district (south or north).

A total of 147 strains (17.9%) were resistant to at least one of the seven antibiotics. The detection rates of resistant strains were similar in the grass only group (17.2%) and the mixed feed group (18.7%). However, in the grass only group, the resistance rate was higher in the northern district (31.8%) than in the southern district (5.7%); while in the mixed feed group, the rates in the northern (17.8%) and southern districts (19.2%) were similar. The detection rate of CTC resistance was highest (11.3%), followed by SA, ABPC, SM, KM and CP resistance, with no NA resistance. In the grass only group, the detection rate of CTC resistance was the highest in both the northern and southern districts, whereas in the mixed feed group, CTC resistance was the highest in the northern district, but ABPC resistance and SA resistance were the highest in the southern district; showing some difference.

Seventeen patterns of resistance were observed, ranging from single-drug to 6-drug resistance, except 5-drug resistance. Six-drug resistance was observed only in the mixed feed group in the southern district. The predominant resistance pattern in the mixed feed group was multiple resistance to 2 or more antibiotics; particularly, all the resistant strains in the southern district were multiple resistant strains. In contrast, 50 to 56% of the resistant

* 琉球大学農学部生物生産学科

strains in the grass only group showed single-drug resistance.

Seventeen of 147 resistant strains (11.6%) carried R-plasmids. Nine strains were isolated from the grass only group (8 strains in the north and 1 strain in the south). The transmissible resistance types were CTC only in 9 strains in the grass only group; SM only in 5 strains and SM-SA in 3 strains in the mixed feed group.

緒 言

畜産分野においては、家畜・家禽の感染症の予防・治療あるいは発育促進等の目的で、多種類の抗生物質及び合成抗菌剤等が多量に使用されている^{1, 7, 10, 16, 17)}ことは周知である。しかしそれに伴い、家畜・家禽における薬剤耐性菌の増加をもたらし、家畜衛生上または公衆衛生上の問題が懸念されている^{1, 7, 10, 16, 17)}ことも事実である。一方著者らは²⁻⁶⁾、これまで沖縄県における家畜・家禽由来大腸菌の薬剤耐性の動向について調査を行ってきた。その結果、糞便由来では畜種によって異なるのは勿論であるが、同じ畜種でも調査地域、農場・環境、給与飼料、日齢等によって耐性菌の検出状況、耐性型等が異なることを明らかにしてきた。

今回は、これら調査の一環としてヤギを取り上げたが、沖縄県は他府県とは異なる食文化に支えられヤギ肉の消費が盛んであり、ヤギの飼養頭数・と殺頭数¹¹⁾は全国一である。本県におけるヤギの飼養形態は、野草等の青草のみで数頭～十数頭を飼育する小規模農家から、野草・牧草に加えて濃厚飼料を給与し、数十頭～数百頭を飼育する大規模農家まで多様である¹³⁾。これらのヤギにおける薬剤耐性菌の検出状況を知る目的で、本島内の北部と南部地域で飼育されているヤギを、給与飼料によって主に野草等のみで飼育されている群、野草及び穀類等の濃厚飼料で飼育されている群に分け、これらの糞便由来大腸菌について調査を行った。また、耐性菌については伝達性Rプラスミドの検索も行ったので、得られた成績の概要を報告する。

実験材料及び方法

1 実験材料及び採取方法

調査対象のヤギは、本島北部地域（名護市，今帰仁村，恩納村，読谷村）11戸，南部地域（北谷町，西原町，与那原町，東風平町，大里村）11戸，計22戸で飼育中の外見上健康な主として成獣，合計73頭である。野草等（ススキ，シロバナセンダングサ，甘藷つる等）のみが給与されている群（以下，野草のみ）は，北部7戸18頭，南部9戸24頭，野草・牧草等と濃厚飼料（フスマ，大豆粕，圧偏大麦，トウモロコシ，糠等）が給与されている群（以下，野草+穀類）は，北部4戸14頭，南部2戸17頭である。糞便試料は，1997年7～8月，すのこ飼い方式ではその下に新聞紙又はビニールシートを敷き，つなぎ飼い方式でも同様に処置し，その上に落下した排糞直後のものであり，その2，3粒をアルコール綿で消毒したピンセットを用いて採取した。ヤギによっては，土間あるいはコンクリート上に落下した糞便も採取した。

なお，1戸当たりの飼育頭数は，数頭～十数頭であったが，南部における野草+穀類の2戸では数十頭～数百頭であった。試料は，これらのヤギから無作為に採取された。

2 大腸菌の分離と同定

大腸菌の分離にはマッコンキー寒天培地(栄研)平板を用いた。糞便2，3粒に滅菌生理食塩水2mlを加え，滅菌ガラス棒で泥状にした後，その1白金耳(内径2mm)量を上記平板に塗抹し，37℃24時

間培養した。培養後、大腸菌と思われる集落を1試料当たり10個前後を釣菌した。

分離菌株の同定は医学細菌同定の手びき¹¹⁾に準拠し型の通りに行い、合計822株（各試料の菌株数については表1を参照）の大腸菌を得た。これら菌株について薬剤感受性試験を行うとともに、耐性菌については伝達性Rプラスミドの検索も行った。

3 薬剤感受性試験の方法

薬剤感受性試験は、日本化学療法学会標準法⁸⁾に準拠し、寒天平板希釈法で行った。使用した薬剤は、アンピシリン (ABPC)、クロラムフェニコール (CP)、クロルテトラサイクリン (CTC)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、ナリジキシ酸 (NA)、スルファジメトキシシン (SA) の7種類である。各薬剤の耐性限界濃度は、SAが200 μ g/ml、他の6薬剤が25 μ g/mlとした。なお耐性菌における伝達性Rプラスミドの検索には、耐性菌を供与菌とし、NA耐性の大腸菌ML1410株を受容菌として、既報及び大前¹²⁾の方法等に準拠して行った。

実験結果

ヤギ糞便由来大腸菌における薬剤耐性の検出状況を、給与飼料別に表1に示した。全体では、147株が供試した7薬剤のいずれかに耐性であり、その検出率は17.9%であった。給与飼料別の耐性菌検出率では、野草のみが17.2%、野草+穀類が18.7%で、両者ほぼ同率であった。しかし、これを地域別にみると、野草のみでは北部が31.8%、南部が5.7%であり、前者がかなり高率であったのに対し、野草+穀類で北部17.8%、南部19.2%であり、両地域ほぼ同じであった。なお、頭数別の耐性菌検出率では、野草のみが45.2%、野草+穀類が38.7%で、前者の方が高かった。さらに地域別の検出率では、野草のみ及び野草+穀類ともに北部が高く、北部の野草のみは特に高率であった。表示はしていないが、野草のみでは両地域とも各2戸の、野草+穀類では両地域各1戸の、ヤギからは耐性菌が検出されなかった。

Table 1. Drug resistance in *Escherichia coli* isolated from goat feces

Feed	District	No. of farms	No. of samples (heads)	No. of strains	Drug resistance			
					Samples		Isolates	
					number	per cent	number	per cent
Grass only	North	17	18	192	10	55.6	61	31.8
	South	9	24	244	9	37.5	14	5.7
Subtotal		16	42	436	19	45.2	75	17.2
Grass and concentrate	North	4	14	152	6	42.9	27	17.8
	South	2	17	234	6	35.3	45	19.2
Subtotal		6	31	386	12	38.7	72	18.7
Total		22	73	822	31	42.5	147	17.9

表2には、薬剤別の耐性菌検出率を示した。全体では、CTC耐性が11.3%で最も高く、以下SA、ABPC、SM、KM、CP耐性の順であり、NA耐性は検出されなかった。野草のみ及び野草+穀類ともに、南部では低率ながらもNAを除く各薬剤で耐性菌が検出されたが、北部では野草のみが4種薬剤で、野

Table 2. Frequency of drug resistance in *Escherichia coli* isolated from goat feces

Drug	Grass only		Grass & concentrate		Total (822)
	North (192)*	South (244)	North (152)	South (234)	
ABPC	14.1	2.0	0	18.8	9.2
CP	0	0.4	0	4.7	1.5
CTC	24.5	4.5	15.8	4.7	11.3
KM	0	1.2	0	5.1	1.8
SM	8.3	1.6	0	18.4	7.7
NA	0	0	0	0	0
SA	8.9	2.0	13.8	18.8	10.6
Total of resistance	31.8	5.7	17.8	19.2	17.9

* Number of strains tested

Table 3. Drug resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from goat feces

Resistance patterns	Grass only		Grass & concentrate		Total(%)	
	North	South	North	South		
ABPC		2			2	
CTC	20	4	6		30	50
SA	14	1	3		18	(34.0)
ABPC-CTC	9	2			11	
ABPC-SM				1	1	
ABPC-SA				1	1	32
CTC-SA			18		18	(21.8)
SM-SA				1	1	
ABPC-CTC-SM	15	1			16	
ABPC-CTC-SA	2				2	
ABPC-KM-SA				1	1	50
ABPC-SM-SA				30	30	(34.0)
CTC-SM-SA		1			1	
ABPC-CTC-SM-SA	1				1	
CP-CTC-SM-SA		1			1	4
CTC-KM-SM-SA		2			2	(2.7)
ABPC-CP-CTC- KM-SM-SA				11	11	(7.5)
Total	61	14	27	45	147	(100.0)

Table 4. Transmitted resistance patterns of R plasmid in resistant *Escherichia coli* strains

Resistance patterns of isolates	Resistance patterns of R plasmid	Grass only		Gras & concentrate		Total [147]
		North [61]* ¹	South [14]	North [27]	South [45]	
CTC	CTC		1			1
ABPC-CTC	CTC	6				6
ABPC-CTC-SA	CTC	2				2
ABPC-CP-CTC- KM-SM-SA	SM				5	5
“	SM-SA				3	3
Total		8 (13.1)* ²	1 (7.1)	0 (0.0)	8 (17.8)	17 (11.6)

*1 : Number in brackets indicates strains tested

*2 : Number in parenthesis indicates percentage

草+穀類では2種薬剤のみで耐性菌が検出され、地域による違いがみられた。各薬剤の耐性菌検出率は異なるが、野草のみでは北部、南部ともにCTC, ABPC, SA, SM耐性の検出順位であり、ほぼ同様の傾向を示した。しかし野草+穀類では、北部が上記のようにCTC, SA耐性の2種薬剤のみであり、南部がABPCとSA耐性同率で1位、次いでSM耐性などであり、地域によって若干異なった。

ヤギ糞便由来薬剤耐性大腸菌における耐性型を、表3に示した。耐性型の種類は、全体では5剤型を除く単剤型から6剤型まで17種類認められた。野草のみでは北部6種類、南部8種類、野草+穀類ではそれぞれ3種類と6種類であり、いずれも南部が多かった。全体では66%が、また野草+穀類でも67または100%が2剤型以上の多剤耐性菌であり、南部では耐性菌すべてが多剤耐性であった。特に6剤耐性型すべてが南部の野草+穀類由来であったが、これらは一農家の1頭のヤギから分離された菌株であった。一方野草のみでは、上記と逆に南部の50%と北部の56%が単剤型であり、給与飼料による違いがみられた。

ヤギ糞便由来薬剤耐性大腸菌147株について伝達性Rプラスミドの検索を行い、その成績は表4に示した。全体では17株(11.6%)がRプラスミドを保有していたが、北部の野草+穀類では検出されなかった。野草のみが9株(北部8株、南部1株)、野草+穀類が南部のみ8株であり、給与飼料別のRプラスミド保有率では前者12%(9/75株)、後者11%(8/72株)でほぼ同じであった。Rプラスミド保有菌の伝達耐性型は、野草のみの9株がすべてCTC単剤型、野草+穀類では5株がSM単剤型、3株がSM-SA 2剤型であった。またこれらの原菌株におけ薬剤耐性型は、ほとんどが多剤耐性型であった。特に野草+穀類で検出された8株は6剤耐性型であり、これらは上記のように一農家の1頭から分離された菌株であった。

考 察

沖縄県におけるヤギ飼養農家の多くは小規模であり¹³⁾、給与飼料も野草等の青草が主で、単品の穀類を除いて配合飼料はほとんど給与していないと考えられ、ヤギ糞便由来薬剤耐性大腸菌の検出率は低いものと予測された。今回調査した農家は配合飼料を給与せず、薬剤等の使用もないとのことであったが、全体での耐性菌検出率は17.9%であり、意外な結果であった。ヤギ糞便由来大腸菌の薬剤耐性についての報告は少ないが、鈴木ら¹⁵⁾による群馬県畜産試験場で飼育中のヤギ14頭についての調査では、耐性菌が検出されていない。しかし金城⁹⁾は、本県で牧草とふすまが給与されていたヤギの調査を行い、22.4%が耐性菌であったと報告している。この検出率は、今回の成績よりやや高いが、著者ら²⁾が以前に調

査した成績(22.2%)とほぼ同じであり、これらが本県の現状かもしれない。

今回の成績を少し詳しくみると、野草のみの耐性菌の検出率は野草+穀類とほぼ同じで、給与飼料による違いがないように見える。しかし、南部の野草のみの検出率は予測どおり最低であったが、北部の野草のみのそれは、野草+穀類の北部及び南部のそれより高く、最高値を示した。頭数別の検出率でも、野草のみが野草+穀類より高く、特に北部は高率であった。また南部の野草+穀類は、大規模農家1戸のみから検出され、中規模農家では検出されなかった。なお、野草のみでは両地域各2戸、野草+穀類では北部1戸と南部の中規模農家で、耐性菌が検出されなかった。さらに同じ大規模農家のヤギでも約半数で耐性菌が検出されず、これらの結果は何を意味するのだろうか。

薬剤別の検出率は、全体ではCTC耐性が最高で、以下SA, ABPC, SM耐性などの順であり、NA耐性は検出されなかった。これら上位4薬剤に対する耐性菌の検出順位は入れ替わることもあるが、金城⁹⁾の報告あるいは著者ら³⁻⁵⁾のウシ由来でもほぼ同じ傾向を示し、これら4薬剤に対する耐性菌は各家畜に広く分布していると言えそうである。また給与飼料または地域別にみると、野草のみ及び野草+穀類ともに、検出率は異なるが、南部では低率ながらも各薬剤に耐性がみられた。一方北部は、野草のみが4種薬剤に、野草+穀類が2種薬剤のみに耐性であり、給与飼料による違いよりも地域による違いが大きいうように見える。特に野草+穀類は、南部ではABPC, SA, SM耐性が比較的高率であったが、北部ではCTC, SA耐性の2種類であり、地域による違いが明らかであった。

薬剤耐性型は、全体では5剤型を除く単剤型から6剤型まで17種類認められたが、66%が2剤型以上の多剤耐性型であった。特に野草+穀類は、耐性菌検出率が野草のみとほぼ同じでありながら、北部の67%、南部の100%が多剤耐性型であった。北部ではCTC-SAの2剤型が主であったが、南部ではABPC-SM-SAの3剤型及び6剤型が多く、地域で異なった。なお6剤型は1頭のヤギから検出されたものであったが、このヤギは外見上他と変わったことはなかった。上記のように、この農家は薬剤等の使用がないにもかかわらず、なぜ多剤耐性菌が高率を占めるのか理解しがたい。家畜における耐性菌の多剤耐性化がいわれており^{10, 15-17)}、金城⁹⁾の成績でも耐性菌の過半数は多剤耐性菌であったことから、ヤギでもその傾向にあり、野草+穀類でより強く現れた。一方野草のみでは南部の50%、北部の56%が、逆に単剤型であった。これらは単に給与飼料の穀類等が関与しているのか、穀類を給与する農家は規模も比較的大きいために、飼育環境が多剤耐性菌に汚染されているのか、判断がつかない。しかし、野草のみの農家でも耐性菌が高率に検出される反面、野草+穀類の農家では耐性菌が検出されないこともあり、地域または農家によって異なるとみたほうがよいのかもしれない。

ヤギ糞便由来薬剤耐性大腸菌147株のうち17株(11.6%)が伝達性Rプラスミドを保有していた。この保有率は金城⁹⁾の成績(10.8%)とほぼ同じであったが、著者らの以前の成績(18%)より低かった。なお給与飼料別には野草のみ(12%)と野草+穀類(11%)でほとんど同じであった。これらの伝達耐性型は、野草のみがCTC単剤伝達性、野草+穀類がSM単剤伝達性とSM-SA 2剤伝達性であり、給与飼料で若干異なった。またRプラスミド保有菌における原菌株の薬剤耐性型は、すでに指摘されているように^{9, 17)}、多剤耐性型が主であった。野草+穀類における保有菌8株はすべて6剤耐性型から検出され、これらは上記のように一農家の1頭のヤギから分離されたものであり、このような個体もいることに注意を払う必要があろう。

摘 要

沖縄県内のヤギ飼養農家22戸、73頭の糞便由来大腸菌合計822株について、7薬剤に対する感受性試験を、また耐性菌については伝達性Rプラスミドの検索も行った。これらの成績を給与飼料別(野草のみと野草+穀類)、地域別(北部と南部)に比較した。

7薬剤のいずれかに耐性の大腸菌は、全体では147株(17.9%)であった。給与飼料別の検出率では

野草のみが17.2%，野草+穀類が18.7%でほぼ同率であった。しかし，野草のみでは北部31.8%，南部5.7%で，前者が高率であったのに対し，野草+穀類では北部17.8%，南部19.2%でほぼ同じであった。薬剤別ではCTC耐性が11.3%で最高，以下SA，ABPC，SM，KM，CP耐性の順であり，NA耐性は検出されなかった。野草のみでは，CTC耐性が両地域とも1位の検出率を示したが，野草+穀類では，北部でCTC耐性が1位を，南部でABPC耐性とSA耐性が同率1位を示すなど，若干異なった。

耐性型の種類は，全体では5剤型を除く単剤型から6剤型まで17種類認められた。野草のみでは北部6種類，南部8種類，野草+穀類ではそれぞれ3種類と6種類であり，いずれも南部が多かった。また6剤型は南部の野草+穀類でのみ検出された。野草+穀類では2剤以上の薬剤に耐性の多剤耐性型が大多数を占め，特に南部の全株が多剤耐性型であったが，野草のみでは50～56%が逆に単剤型であった。

耐性菌147株のうち，17株（11.6%）が伝達性Rプラスミドを保有し，野草のみ9株（北部8株，南部1株），野草+穀類8株（南部のみ）であった。これら菌株の伝達耐性型は，野草のみの9株がCTC単剤伝達性，野草+穀類では5株がSM単剤伝達性，3株がSM-SA 2剤伝達性であった。

試料採取にご協力頂いた中央家畜保健衛生所の方々，畜産試験場の山城倫子氏，農家の各位に感謝致します。

引用文献

1. 吐山豊秋 1986 薬剤耐性菌による畜産食品汚染(1)，日獣会誌，39：285～289
2. 日越博信，田崎正仁 1990 ヤギふん便由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド，沖縄県獣医師会年報，13号：131～134
3. 日越博信，長田健司，山城倫子，平川守彦 1994 ウシの盲腸内容物由来大腸菌の薬剤耐性，琉大農学報，41：155～160
4. 日越博信，具志堅宏，平川守彦 1995 肉用牛糞便由来大腸菌の薬剤耐性，琉大農学報，42：33～38
5. 日越博信，東江靖晴，平川守彦 1996 乳用牛直腸便由来大腸菌の薬剤耐性，琉大農学報，43：7～12
6. 日越博信，親里真理子，宮平良成，平川守彦 1997 産卵鶏糞便由来大腸菌の薬剤耐性，琉大農学報，44：131～138
7. Hinton, M.H. (戸塚耕二訳) 1991 家禽産業における抗生物質の使用と公衆衛生，畜産の研究，45：46～48
8. 河喜多龍祥 1987 薬剤感受性検査，1版，p66～69，東京，近代出版
9. 金城俊夫 1979 沖縄県における各種動物および人糞便由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド，日畜会報，50：542～548
10. 中村政幸 1984 動物用抗生物質の現状，日畜会報，55：291～298
11. 農林水産省畜産局 1997 平成8年家畜衛生統計，平成9年12月
12. 大前憲一 1982 薬剤感受性試験とRプラスミドの検査法，日獣会誌，35：662～666
13. 沖縄県農林水産部畜産課 1997 おきなわの畜産，平成9年3月
14. 坂崎利一訳 1981 医学細菌同定の手びき，2版，東京，近代出版
15. 鈴木 要，磯貝誠吾，橋本 一 1970 反芻獣より分離した薬剤耐性大腸菌と，そのR因子について，日細菌誌，25：145～148
16. 寺門誠致 1990 薬剤耐性菌の功罪，動薬研究，43：27～40
17. 寺門誠致，佐藤儀平，斉田 清，佐藤昭子，金井 久 1985 三橋 進ら編，薬剤耐性菌による環境汚染，1版，p121～151，東京，学会出版センター