琉球大学学術リポジトリ

ウシの盲腸内容物由来大腸菌の薬剤耐性(生物生産学科)

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): ウシ, 盲腸内容, 大腸菌, 薬剤耐性, Rプラスミド キーワード (En): cattle, cecal content, Escherichia coli, drug resistance, R plasmid 作成者: 日越, 博信, 長田, 健司, 山城, 倫子, 平川, 守彦, Higoshi, Hironobu, Nagata, Kenji, Yamashiro, Rinko, Hirakawa, Morihiko メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3761

ウシの盲腸内容物由来大腸菌の薬剤耐性

日越博信* • 長田健司* • 山城倫子* • 平川守彦*

Hironobu HIGOSHI, Kenji NAGATA, Rinko YAMASHIRO and Morihiko HIRAKAWA : Drug resistance of *Escherichia coli* isolated from the cecal content of cattle

キーワード：ウシ，盲腸内容，大腸菌，薬剤耐性，R プラスミド
Key words : cattle, cecal content, *Escherichia coli*, drug resistance, R plasmid

Summary

As part of the study of the incidence of drug resistance of *Escherichia coli* of fecal origin in liverstock, the drug resistance of *E. coli* isolated from the cecal contents of cattle was studied.

Cecal contents were collected at a slaughter house in Okinawa Prefecture during the slaughtering and dressing of 30 beef cattle including 20 imported cattle (imported, then fattened in the Prefecture), five Japanese blacks and five Holsteins. Fecal samples were also collected from 10 Japanese blacks being fattened on a farm. A total of 343 strains of *E. coli* were isolated from these samples. Drug sensitivity testing of these strains to seven antibiotics was performed.

Of the 343 strains, 45 were resistant to at least one antibiotic, with a low isolation rate of 13.1%. The isolation rate of drug-resistant strains was 18.8% in imported cattle, 6.8% in Japanese blacks and 6.7% in Holsteins. The highest rate was found in imported cattle. Resistance to SA, CTC and KM was relatively high, with 24 strains resistant to SA, 20 to CTC and 14 to KM. Many SA-and CTC-resistant strains were isolated from the imported cattle. Strains resistant to all antibiotics tested were isolated from the Holsteins, while only KM- or SA-resistant strains were isolated from the Japanese blacks. Twelve different patterns of resistance were observed in all the strains. Nine patterns of resistance, including one- to four-agent resistance, were detected in imported cattle. Two patterns of single-agent resistance were found in Japanese blacks and two patterns of six- and seven-agent resistance were found in Holsteins.

Attempts were made to detect R plasmid in the resistant strains. It was detected in only 4 strains, all isolated from imported cattle.

*琉球大学農学部生物生産学科
琉球大学農学部学術報告 **41**：155～160（1994）

緒　言

著者らは，沖縄県における家畜の糞便由来薬剤耐性大腸菌の検出状況を調査中である。これまで子豚[3]，肥育豚[5]，ブロイラー[4]等の糞便由来について調査を行ったが，他府県[7,10,11,14,15,17,18]における調査報告同様いずれも高率に耐性菌が検出された。しかし，それら耐性菌におけるRプラスミド保有菌は，意外に低率であった。

そこで今回は，これまでの調査の一環として，ウシにおける薬剤耐性大腸菌の検出状況を知る目的で，沖縄県中央食肉衛生検査所の協力のもとに，と畜場に搬入されたウシの主として盲腸内容物由来について調査を行った。また，耐性菌についてはRプラスミドの検索も行ったので，これら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

試料は，本県内の某と畜場において，1993年9，10，11月に，と殺解体時のウシ，すなわち外産牛（素牛を外国から輸入し，本県で肥育）20頭，黒毛和種（以下和種と略）5頭及びホルスタイン種（廃用後に肥育，以下ホル種と略）5頭，計30頭の盲腸から，沖縄県中央食肉衛生検査所のと畜検査員によって採取された。これら盲腸内容物は滅菌大試験管（40×200mm）に約20g直接採取され，輸送溶液（グリセリン）を10mℓ加え，前記食肉衛生検査所に運ばれたものであり，これをよく混和後に滅菌綿棒を浸して実験室に持ち帰った。また和種については，某農場で肥育中（500kg前後）のウシ10頭から，排糞直後の糞便を滅菌綿棒で採取し，試料とした。

2　大腸菌の分離方法と同定

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，これに上記の各試料を直接塗抹し，35℃20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5個以上釣菌した。

分離菌株の同定は，医学細菌同定の手びき[13]に準拠し型の通りに行い，合計343株の大腸菌を得た。これら菌株について薬剤感受性試験を行うと共に，耐性菌については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ン（SA）の7種類である。各薬剤の耐性限界濃度は，SAが200μg／mℓ，他の6薬剤が25μg／mℓとした。なお耐性菌における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ML 1410株を受容菌として，既報[2]及び大前[12]の方法等に準拠して行った。

実験結果

ウシの盲腸内容物由来大腸菌343株における薬剤別にみた耐性菌の検出状況を，ウシの品種等別に表1に示した。全体では，45株がいずれか1薬剤に耐性であり，その検出率は13.1％で，極めて低率であった。ウシの品種等別には，外産牛由来が18.8％，和種由来が6.8％，ホル種由来が6.7％であり，和種とホル種ではほぼ同率であったが，外産牛ではそれらに比較して高い値を示した。

Table 1. Frequency of drug resistance in *E. coli* isolated from cecal content of cattle

Drug	Imported cattle	Japanese black	Holstein	Total
	181*1	132	30	343
ABPC	2 (1.1)*2	0 (0.0)	2 (6.7)	4 (1.2)
CP	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (3.3)	2 (0.5)
CTC	18 (9.9)	0 (0.0)	2 (6.7)	20 (5.8)
KM	5 (2.8)	7 (5.3)	2 (6.7)	14 (4.1)
SM	7 (3.9)	0 (0.0)	2 (6.7)	9 (2.6)
NA	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (6.7)	2 (0.5)
SA	20 (11.0)	2 (1.5)	2 (6.7)	24 (7.0)
Total	34 (18.8)	9 (6.8)	2 (6.7)	45 (13.1)

*1 : Number of strains tested
*2 : Number in parenthesis indicates percentage

また薬剤別の耐性菌の検出率は，いずれの薬剤に対しても低率であったが，そのなかでも SA 耐性は最も高い検出率を示し，以下 CTC, KM, SM 耐性などの順であった。外産牛由来では SA, CTC, SM 耐性が比較的多く検出されたが，和種由来では KM 及び SA 耐性のみであり，またホル種由来では菌株は少ないものの 7 薬剤すべてに耐性が見られ，ウシの品種等によって耐性菌の検出状況が異なっていた。

薬剤耐性大腸菌における耐性型を表 2 に示したが，全体では単剤型から 7 剤型まで 12 種類認められた。外産牛由来では 9 種類あったが，過半数の菌株は単剤型であった。また，和種及びホル種由来ではそれぞれ 2 種類であったが，前者は単剤型のみ，後者は 6 剤型と 7 剤型各 1 株であり，耐性型もウシの品種等によって異なった。

Table 2. Drug resistance patterns of *E. coli* isolated from cecal content of cattle

Resistance patterns	Imported cattle	Japanese black	Holstein	Total	(%)
CP	1			1	28 (62.2)
CTC	7			7	
KM		7		7	
SM	1			1	
SA	10	2		12	
CTC-KM	4			4	13 (28.9)
CTC-SA	5			5	
KM-SM	1			1	
SM-SA	3			3	
ABPC-CTC-SM-SA	2			2	(4.4)
ABPC-CTC-KM-SM-NA-SA			1	1	(2.2)
ABPC-CP-CTC-KM-SM-NA-SA			1	1	(2.2)
Total	34	9	2	45	(100.0)

これら薬剤耐性大腸菌のうちNA耐性（ホル種由来の2株）を除く43株について，伝達性Rプラスミドの検索を行った。成績については表示しなかったが，4株（9.3%）がRプラスミド保有菌であり，すべて外産牛由来であった。そして4株とも単剤伝達型（SM伝達性2株，KM伝達性1株，SA伝達性1株）であり，また原菌株の薬剤耐性型はいずれも2剤耐性型であった。

考　察

畜産分野においては抗生物質が汎用されているが，これに伴って家畜由来大腸菌の薬剤耐性化を促し，薬剤耐性を感受性菌に伝達するRプラスミド保有菌をも増加させたと言われる[1,15,16,18]。家畜における薬剤耐性大腸菌がヒトに直接影響を及ぼすことは殆どないと考えられるが，それら耐性菌のうちRプラスミド保有菌が病原細菌に薬剤耐性を伝達する可能性も捨てきれず，公衆衛生上も問題視されている[1,6,15,16,18]。

今回著者らは，ウシにおける薬剤耐性大腸菌の検出状況を知る目的で，と畜場でと殺解体時に採取したウシ盲腸内容物について，ウシの品種等別に調査を行った。その結果，全体での耐性菌の検出率は13.1%であり，極めて低率であった。ウシ由来大腸菌の耐性菌の検出率については，家畜保健衛生所から収集した菌株で，中村ら[10,11]による健康な乳雄子牛及び肉牛における調査（53.1～68.8%），また細田ら[7]による病性鑑定材料の肉用子牛における成績（69.7%）があるが，いずれも極めて高率である。一方，と畜場または農場で採取された糞便由来大腸菌では，北海道での寺門ら[17]による乳牛由来で8.8%が，群馬県での鈴木ら[14]による乳牛由来で34.0%が，本県での金城[9]によるウシ由来で23.0%が，それぞれ耐性であったと報告され，いずれも家畜保健衛生所での分離菌より低い。著者らの今回のと畜場での調査成績は，寺門ら[17]の成績より若干高いが，鈴木ら[14]及び金城[9]の成績よりは低い値であった。これらの違いは，調査したウシの年齢，調査時期及び地域などによるのかもしれない。また，一般的にウシ糞便由来大腸菌では，ブタ及びニワトリ糞便由来に比較して耐性菌の検出率が低いとされている[15,18]。これは，ウシが薬剤を添加した配合飼料などを給与される機会が少ないこと，飼養期間が長いこと，耐性菌の定着性の問題などがあると思われる。

しかし，今回の著者らの調査のように，同じ成牛由来大腸菌でもウシの品種等によって耐性菌の検出率，耐性の内容，耐性型などが大きく異なり，興味がもたれた。すなわち，耐性菌の検出率は，和種及びホル種由来ではほぼ同じであったが，これらに比較して品種は不明だが外産牛由来では高い値を示した。また，外産牛由来ではCTC, SA, SM耐性が比較的多かったが，和種由来ではKM及びSA耐性の2種類であり，ホル種由来では供試した7薬剤すべてに耐性が見られた。耐性型は，外産牛由来では単剤型から4剤型まで9種類認められたが，過半数は単剤型であった。和種由来では上記2薬剤耐性の単剤型のみであったのに対し，ホル種由来では6剤型と7剤型，各1株であった。さらに，Rプラスミド保有菌は4株（9.3%）検出されたが，すべて外産牛由来であった。

このように品種等によってなぜ異なったのかは，今回の調査がと畜場に搬入されたウシを無作為に抽出したため不明である。これらは，恐らく給与飼料，飼養環境，飼養期間の長短，薬剤投与または治療歴などの違いによるものと考えられるが，今後これらを含め，調査頭数をさらに増やして検討する必要がある。

摘　要

沖縄県における家畜糞便由来薬剤耐性大腸菌の検出状況の調査の一環として，今回はと畜場で解体直後のウシの盲腸内容物由来について調査を行った。

ウシの盲腸内容物試料は，品種等別に外産牛20頭，黒毛和種5頭，ホルスタイン種5頭，計30頭か

ら採取し，黒毛和種については農場で肥育中のウシ10頭の糞便も採取した。これらの試料から合計343株の大腸菌を分離し，7薬剤に対する薬剤感受性試験を行った。

供試した大腸菌343株のうち45株がいずれか1薬剤に耐性であり，その検出率は13.1%と低率であった。ウシの品種等別では，外産牛が18.8%，黒毛和種が6.8%，ホルスタイン種が6.7%であり，外産牛で高かった。

薬剤別の耐性菌は，全体ではSA耐性24株，CTC耐性20株，KM耐性14株などが比較的多かった。外産牛ではSA及びCTC耐性が多く，またホルスタイン種では各薬剤に対する耐性菌が検出されたが，黒毛和種ではKM及びSA耐性のみであった。耐性型は，全体では12種類認められたが，外産牛では単剤型から4剤型まで9種類，黒毛和種では単剤型のみ2種類，ホルスタイン種では6剤型と7剤型の2種類であつた。耐性菌におけるRプラスミド保有菌は4株あり，すべて外産牛由来であった。

試料を提供して頂いた沖縄県中央食肉衛生検査所微生物検査室の本田善美，平安常寛，与那原良克，新垣千賀子の各氏，試料の提供を許可して頂いた大城孝喜所長に感謝致します。

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）米国におけるPC・TC系飼料添加剤問題をめぐって，日獣会誌，**39**：285～289
2．日越博信，藤沢倫彦，高田潤一　1984　乳牛の分房乳から分離した大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド，琉大農学報，**31**：111～117
3．日越博信，猪俣隆一　1985　子豚ふん便由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド，琉大農学報，**32**：133～141
4．日越博信，上間章功　1991　食鳥ふん便由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド，琉大農学報，**38**：17～22
5．日越博信，野口蘭子，香西　献　1992　肥育豚ふん便における薬剤耐性大腸菌の経時的消長，琉大農学報，**39**：13～19
6．Hinton, M. H.　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
7．細田紀子，伊藤博哉，鮫島俊哉，浜岡隆文，寺門誠致　1990　牛および豚の病性鑑定材料由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド，日獣会誌，**43**：25～28
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，日畜会誌，**50**：542～548
10．中村政幸，大前憲一，小枝鉄雄　1978　1976年に分離した牛，豚由来大腸菌の薬剤耐性およびRプラスミドの分布，動薬検年報，**15**：21～27
11．中村政幸，大前憲一，吉村治郎，小枝鉄雄　1979　1977年に分離した牛，豚由来大腸菌の薬剤耐性およびRプラスミドの分布，動薬検年報，**16**：31～37
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．坂崎利一訳　1981　医学細菌同定の手びき，2版，東京，近代出版
14．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
15．高橋　勇　1977　家畜における薬剤耐性菌の発現機構と現状，獣医界，**112**：16～35
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，畦地速見，前田博之，森永修正　1971　家畜および健康人由来大腸菌の *in vitro* におけ

る化学療法剤感受性とR因子について，日獣会誌，**25**：295～301
18. 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