

# 琉球大学学術リポジトリ

## 肥育豚ふん便における薬剤耐性大腸菌の経時的消長(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): キーワード (En): 作成者: 日越, 博信, 野口, 蘭子, 香西, 献, Higoshi, Hironobu, Noguchi, Ranko, Kouzai, Ken メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/3805">http://hdl.handle.net/20.500.12000/3805</a>

## 肥育豚ふん便における薬剤耐性大腸菌の経時的消長

日越博信\*・野口蘭子\*・香西 献\*

Hironobu HIGOSHI, Ranko NOGUCHI and Ken KOUZAI: Changes in drug resistant *Escherichia coli* in the feces of fattening pigs

### Summary

In one pig farm, the period between the introduction and shipment of a fattening pig from various districts of Okinawa was divided into 5 stages. The mean body weight was 32 kg in stage I (introduction), 49.9 kg in stage II, 73.8 kg in stage III, 86.5 kg in stage IV and 93.4 kg in stage V (shipment period). Feces from the rectum were sampled at monthly intervals for bacteriological examination. The 651 strains of *E. coli* isolated from these samples were tested for sensitivity to ABPC, CTC, SM, CP, KM, NA and SA.

Of the 651 strains, 501 (77.0%) were resistant to 1 of the 7 antibiotics. The rate of detection of resistant bacteria in each stage was between 75.0 and 78.6%. CTC-resistant bacteria were the most common (71.7%) followed by SA-resistant (40.9%), SM-resistant (20.3%), KM-resistant (10.9%) and ABPC- and CP-resistant (5.2% each) strains. No NA-resistant *E. coli* were detected. In each stage, the order of frequency of detection of strains resistant to CTC, SA, SM, and KM remained the same. Strains resistant to 1 of 6 antibiotics were classified into 29 groups. Compared to stage I and II, the kinds of resistance patterns decreased in after stage III. Initially 60.7% of strains were resistant to more than 2 antibiotics (multi-drug resistance), but after stage III, strains with multi-drug resistance decreased and those resistant to a single antibiotic increased. In stage IV and V, strains resistant to CTC alone were significantly increased.

Transmissible R plasmid was found in 37 of 451 strains (8.2%). Twelve types of transmissible resistance were distinguished, 5 to a single antibiotic (24 strains), 3 to 2 antibiotics (9 strains) and 2 each to 3 or 4 antibiotics (2 strains each).

---

\* 琉球大学農学部生物生産学科

## 緒 言

畜産分野において、広く使用されている抗生物質等の抗菌剤は、家畜・家禽の発育促進、疾病の治療、予防などに大きな役割を果たしてきた。しかし一方では、抗生物質等の連続的な使用が家畜由来細菌の薬剤耐性化を増加させ、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ている<sup>12-15)</sup>。これらのことは、細菌による家畜疾病の治療を困難にすると同時に、耐性菌及びRプラスミド保有菌が畜産物を介してヒトへ移行することも考えられ、家畜衛生面及び公衆衛生面から問題視されている<sup>12,14,15)</sup>。

著者らは、「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」施行後の沖縄県における家畜ふん便由来薬剤耐性大腸菌の検出状況を調査中である。その一環として肥育前期（生後1週～56日齢）のブタふん便由来大腸菌について調査を行ったが、84～100%の菌株が薬剤耐性であり<sup>1)</sup>、肥育後期にはどのような消長を示すのか興味を持たれた。今回は、一養豚場において、導入時から出荷時までを5期に分け、同一のブタから約1ヵ月毎に直腸ふん便を採取し、これらふん便由来大腸菌を対象に、薬剤感受性試験とRプラスミド（以下、R<sup>+</sup>）の検索を行ったので、その概要を報告する。

## 実験材料及び方法

### 1 供試材料

供試豚は、1982年3月29日に開始された第4回沖縄パローショー（去勢豚を同一条件で105日間飼育し、生産性等を審査する共進会<sup>4)</sup>）の参加豚134頭の中から無作為に選んだ33頭である。ふん便試料の採取は、検定開始時（I期）から終了時（7月12日、V期）まで約1ヵ月毎の体重測定時に5回、同一豚の直腸から滅菌綿棒を用いて行った。

なお、各時期における供試豚の平均体重はI期32.0kg、II期49.9kg、III期73.8kg、IV期86.5kg、V期93.4kgであった。また、パローショー参加豚の飼養管理は獣医師を含む3人の専門家が当たり、各ブタには、導入時から体重60kgに達するまで、テラマイシン、メカドックス、フリートミンの3薬剤を添加した飼料が給与されていた。

### 2 供試大腸菌

採取したふん便試料をマッコンキー寒天培地（栄研）平板に直接塗抹し、37℃で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3～5個釣菌し、生化学的性状などによって大腸菌の同定を行った<sup>11)</sup>。その結果、651株を得て、これらを薬剤感受性試験に供した。

### 3 薬剤感受性試験の方法

感受性試験に用いた薬剤は、アンピシリン（ABPC）、クロルテトラサイクリン（CTC）、ストレプトマイシン（SM）、クロラムフェニコール（CP）、カナマイシン（KM）、ナリジキシン酸（NA）、スルファジメトキシ（SA）の7種類である。これらの薬剤の耐性限界濃度は、これまでと同様SAが200  $\mu\text{g/ml}$ 、他の6薬剤が25  $\mu\text{g/ml}$ とした。

感受性試験は、日本化学療法学会の標準法<sup>5)</sup>に準拠し、寒天平板希釈法で実施した。また、伝達性R<sup>+</sup>の検索は、受容菌としてNA耐性の<sup>6)</sup>大腸菌ML1410株を用い、既報<sup>1)</sup>の方法に準拠して行った。

## 実験結果

肥育豚のふん便由来大腸菌における薬剤別及び時期別にみた耐性菌の検出率を、表1に示した。

供試大腸菌651株のうち、501株が使用した7薬剤のいずれか1剤に耐性であり、その検出率は77.0%であった。時期別の検出率では、Ⅳ期の75.0%からⅡ期の78.6%の範囲にあり、時期による耐性菌の検出率にはほとんど差がなかった。

Table 1 . Frequency of drug resistance in *E. coli* isolated from rectal feces of fattening pig

Drug <sup>*1</sup>	Stage					Total (651)
	I <sup>*2</sup> (135)	II (145)	III (123)	IV (128)	V (120)	
ABPC	8.1	6.9	4.1	3.1	3.3	5.2
CTC	69.6	71.0	67.5	73.4	74.2	71.3
SM	31.9	30.3	15.5	10.2	10.8	20.3
CP	3.7	11.0	5.7	1.6	3.3	5.2
KM	11.1	17.9	14.6	4.7	5.0	10.9
NA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
SA	35.6	55.9	54.5	30.5	25.8	40.9
Total of resistance	77.0	78.6	75.6	75.0	78.3	77.0

\* 1 Abbreviation : ABPC, ampicillin ; CTC, chlortetracyclin ; SM, streptomycine ; CP, chloramphenicol ; KM, kanamycin ; NA, nalidixic acid ; SA, sulfadimethoxine

\* 2 Number of strains tested

薬剤別では、CTC耐性菌が71.3%で最も高く、以下SA耐性菌が40.9%、SM耐性菌が20.3%、KM耐性菌が10.9%、ABPC及びCP耐性菌が各5.2%の検出順位であったが、NA耐性菌は検出されなかった。各時期とも、検出率は異なるが、CTC、SA、SM、KM耐性菌の検出順位は同じであった。Ⅳ期とⅤ期においては、CTC耐性菌の検出率が若干上昇したが、他の5薬剤に対する耐性菌の検出率は後期になるほど低下する傾向を示した。

次に、ブタふん便由来薬剤耐性大腸菌における耐性型とその分布を、時期別に表2に示した。

耐性型は、全体では単剤耐性型から6剤耐性型まで29種類認められたが、Ⅰ期が21種類、Ⅱ期が23種類、Ⅲ期が15種類、Ⅳ期及びⅤ期が各13種類であり、Ⅰ期とⅡ期に比較してⅢ期以降では耐性型の種類が減少した。

全体的には、単剤耐性が39.3%を占め最高、以下2剤耐性型32.1%、3剤耐性型19.4%、4剤耐性型7.2%、5剤耐性型1.4%、6剤耐性型1.2%であり、2剤以上の薬剤に耐性の多剤耐性型が約60%に達した。耐性型別では、CTC単剤耐性菌が最も多く、次いでCTC-SAの2剤耐性菌、CTC-SM-SAの3剤耐性菌などが多かった。Ⅰ～Ⅲ期においては、2剤以上の多剤耐性型が70～80%を占めていたが、Ⅳ期とⅤ期では逆に単剤耐性型が過半数を占め、しかもその殆どはCTC単剤耐性菌であった。

図1には、表2を基に薬剤耐性型の分布を示したが、Ⅰ～Ⅲ期では5剤または6剤耐性型まで見られ、Ⅳ期とⅤ期においては4剤耐性型までであった。また、各時期における耐性菌の検出率は、表1で示したように、75～79%の範囲ではほぼ同じであったが、耐性型では、図から明らかなように、Ⅱ期以降時期が進むに伴って、単剤耐性型が増え、多剤耐性型が減る傾向を示した。

次に、肥育豚のふん便由来薬剤耐性大腸菌501株のうち451株について、伝達性R<sup>+</sup>菌の検出を行い、その結果を表3に示した。

供試した耐性菌451株のうち37株(8.2%)がR<sup>+</sup>保有菌であり、少なかった。時期別では、Ⅱ期及びⅢ期が12.6%と11.1%で高く、Ⅰ期が4.0%で最低であり、時期別の特徴は見られなかった。R<sup>+</sup>菌の伝達耐性型は、全体では12種類認められ、単剤伝達型が5種類の24株、2剤伝達型が3種類の9株、3剤伝達型及び4剤伝達型が各2種類の2株ずつであった。また、原菌株における薬剤耐性型は、殆ど(32株)

が2剤以上に耐性の多剤耐性菌であった。

Table 2. Drug resistance patterns of *E. coli* isolated from rectal feces of fattening pig

Resistance patterns	Stage					Total
	I	II	III	IV	V	
ABPC	0	0	0	1	0	1
CTC	26	14	20	52	58	170
SM	3	1	2	0	0	6
KM	1	0	0	0	1	2 ( 39.3) *
SA	2	5	8	1	2	18
ABPC-CTC	5	0	1	1	1	8
ABPC-SM	0	1	0	0	0	1
CTC-SM	15	12	0	1	2	30
CTC-CP	0	1	0	0	0	1
CTC-KM	3	0	0	2	1	6 ( 32.1)
CTC-SA	15	30	30	22	9	106
SM-KM	1	1	0	0	0	2
SM-SA	3	2	0	0	2	7
ABPC-CTC-SA	3	4	0	0	1	8
CTC-SM-KM	1	1	1	0	0	3
CTC-SM-SA	12	11	6	9	7	45
CTC-CP-KM	0	2	1	0	0	3
CTC-CP-SA	2	2	3	1	4	12 ( 19.8)
CTC-KM-SA	2	8	11	2	4	27
SM-CP-SA	0	1	0	0	0	1
ABPC-CTC-SM-KM	0	0	1	0	0	1
ABPC-CTC-SM-SA	2	1	2	2	2	9
ABPC-CTC-KM-SA	1	3	0	0	0	4
CTC-SM-CP-SA	1	3	2	0	0	6 ( 7.2)
CTC-SM-KM-SA	4	4	4	1	0	13
CTC-CP-KM-SA	1	1	0	1	0	3
ABPC-CTC-SM-CP-SA	0	0	1	0	0	1
CTC-SM-CP-KM-SA	1	5	0	0	0	6 ( 1.4)
ABPC-CTC-SM-CP-KM-SA	0	1	0	0	0	1 ( 0.2)
Total	104	114	93	96	94	501 ( 100.0)

\* Number in parenthesis indicates percentage

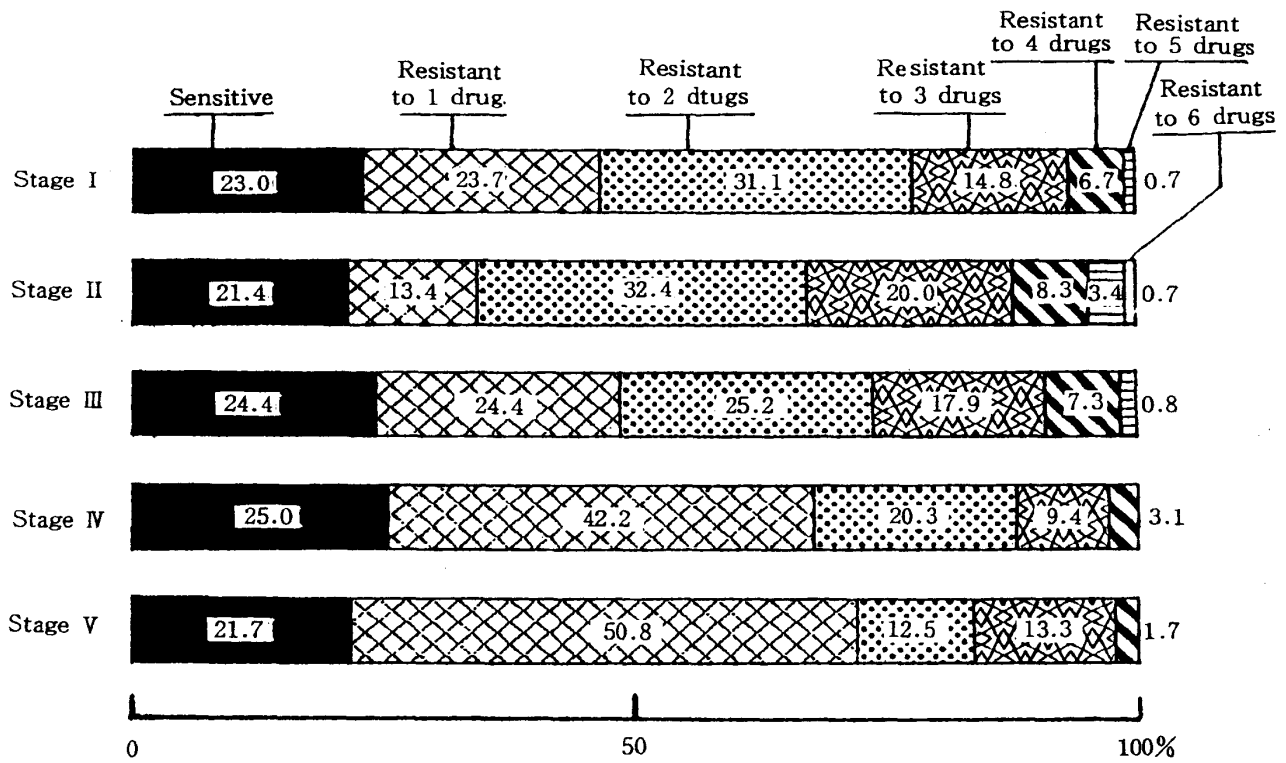


Figure 1. Distribution of isolation frequency of drug sensitive and resistant *E. coli* strains.

Table 3. Transmitted resistance pattern of R plasmid in resistant *E. coli* strains

Resistance pattern of R plasmids	Stage					Total 451
	I 99 <sup>*1</sup>	II 103	III 81	IV 84	V 84	
ABPC	0	3	0	0	1	4
CTC	3	0	6	0	1	10
CP	0	1	0	0	1	2
KM	0	0	1	0	1	2
SA	0	5	0	0	1	6
ABPC-SA	0	1	0	0	0	1
CTC-SA	0	0	0	2	1	3
CP-SA	1	1	1	2	0	5
ABPC-KM-SA	0	1	0	0	0	1
CTC-KM-SA	0	0	0	0	1	1
ABPC-SM-CP-SA	0	0	1	0	0	1
CTC-CP-KM-SA	0	1	0	0	0	1
<b>Total</b>	<b>4</b> (4.0) <sup>*2</sup>	<b>13</b> (12.6)	<b>9</b> (11.1)	<b>4</b> (4.8)	<b>7</b> (8.3)	<b>37</b> (8.2)

\* 1 Number of resistant strains

\* 2 Number in parenthesis indicates percentage

## 考 察

家畜における薬剤耐性大腸菌に関する調査は、家畜の感染症の治療・予防に使用する薬剤選択の間接的な資料となる。また、これらの耐性菌は、直接的あるいは間接的にヒトへの移行も考えられ、特に R<sup>+</sup> 保有菌の移行の場合は公衆衛生学の面からも問題視されている<sup>12,14,15)</sup>。

著者らは、肥育前期のブタ（生後1週間から56日の体重がほぼ30kgまで）ふん便由来大腸菌についての調査を行い、特に生後2週以降のブタ由来では100%の菌株が耐性であり、その後の消長に興味を持たれた<sup>1)</sup>。今回、30kg前後で導入された沖縄バローショー参加豚について、出荷時（検定終了時）まで同一豚を経時的に追跡して、そのふん便由来大腸菌の薬剤耐性を調査することができた。

成績については前述したように、耐性菌の検出率は77%であり、肥育前期のブタ由来<sup>1)</sup>に比較して著明に低下した。また、時期別にみた検出率でも75~79%の範囲にあって、ブタの導入時から出荷時までほぼ同じであった。同一豚を経時的に調査した成績は殆ど見られないが、本県での金城<sup>6-8)</sup>の調査を含む、全国各地におけるブタふん便由来大腸菌についての調査成績では、80%台後半~100%が耐性菌であり<sup>3,9,10,12,14)</sup>、これらに比較して今回の成績は低い検出率であった。

ブタふん便由来大腸菌における薬剤別の耐性では、全国的にTC系（CTCまたはOTC）、SM、SA耐性が上位を占め、さらに他の動物では検出頻度の低いKM耐性も検出率が高く、検出順位もほぼこの順序である<sup>3,8-10,14)</sup>。また耐性型では、これらの4薬剤を基礎とした多剤耐性型が高い検出率を示している。今回の調査においても、検出率及び検出順位は若干異なるものの全国の傾向と同様に、CTC、SA、SM、KM耐性菌が上位4位までを占めたが、KM耐性菌の検出率はかなり低かった。またこれら耐性菌の検出順位はブタの導入時から出荷時まで同じであったが、I~III期までは多剤耐性菌が多いのに対し、IV期以降では単剤耐性菌が多くなった。この単剤耐性菌の増加はCTC単剤耐性菌の増加によるものであり、これは調査豚が60kgになるまでテラマイシン添加飼料を給与されていたことと関係していると考えられる。

しかし、CTC耐性菌以外は肥育の進むほど減少したのに、CTC耐性菌だけが投薬中止後ほぼ2ヵ月経過したV期まで高率に検出され続けたのは、テラマイシン投与の他に何か要因があるかも知れない。一方、導入前各ブタにどのような薬剤が使用されたのかは不明だが、導入後はTC系以外の薬剤が使用されていないので、肥育の進むほど他の薬剤耐性菌が次第に排菌され減少したと思われる。

今回のブタふん便由来薬剤耐性大腸菌におけるR<sup>+</sup>保有菌の検出率は8.2%で、他の報告（32~48%）<sup>3,8-10,14)</sup>に比べてかなり低く、また各時期とも低率であった。本県においては、他の動物由来でもR<sup>+</sup>保有菌が低率であり<sup>2)</sup>、減少傾向にあるように思える。なお、R<sup>+</sup>保有菌37株のうち24株は単剤伝達型であったが、3剤及び4剤伝達型も2株検出され、少ないなりに注目される。

今回の肥育豚を経時的に追跡した調査では、全国のレベルよりは低いものの出荷時まで高率に薬剤耐性菌が検出され、これらを減少させるのは容易ではなさそうである。これは、ブタへの連続的な薬剤投与、あるいは飼育環境からの再汚染も関係があるのかも知れない。しかし、耐性型の内容は、肥育の進行に伴って多剤耐性菌から単剤耐性菌へと大いに変化しており、このあたりに耐性菌を減少させる道があることを示唆しているように思われる。

## 摘 要

一養豚場において、肥育豚の導入時（I期）から出荷時（V期）までを5期に分け、約1ヵ月毎に直腸ふん便を採取した。これらふん便由来大腸菌、合計651株について、ABPC, CTC, SM, CP, KM, NA, SAの7薬剤に対する感受性試験を行った。

供試大腸菌651株のうち、501株（77.0%）が使用した7薬剤のいずれか1薬剤に耐性であった。時期

別にみた耐性菌の検出率は75.0～78.6%の範囲にあり、ほぼ同じであった。薬剤別では、CTC耐性菌が71.1%で最高、以下SAが40.9%、SMが20.3%、KMが10.9%、ABPCとCPが各5.2%であり、NA耐性菌は検出されなかった。各時期ともCTC、SA、SM、KM耐性菌の検出順位は同じであった。耐性型は、全体では単剤耐性型から6剤耐性型まで29種類認められたが、I期とII期に比べてIII期以降では種類が減少した。また、2剤以上の薬剤に耐性の多剤耐性菌が60.7%を占めたが、III期以降では多剤耐性菌が減少し、単剤耐性菌が増加した。特に、IV期とV期においては、CTC単剤耐性菌が顕著に増加した。

耐性菌451株について伝達性Rプラスミドの検索を行ったが、そのうち37株(8.2%)がRプラスミド保有菌であった。伝達耐性型は12種類あり、単剤伝達型が5種類(24株)、2剤伝達型が3種類(9株)、3剤及び4剤伝達型が各2種類(各2株)であった。

ふん便試料の採取にあたり、パローショー開催関係者に多大のご協力を戴いた、これらの方々に感謝を申し上げる。

### 引用文献

1. 日越博信、狩俣隆一 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
2. 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
3. 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
4. 上村俊一、大城義正、知花和弘 1984 105日間の生産性審査をもつ肉豚共進会(沖縄パローショウ)の成績について、*日豚研誌*、21(1)：18～26
5. 河喜多龍祥 1987 薬剤感受性検査、1版、p66～69、東京、近代出版
6. Kinjo, T. 1974 Drug resistant strains of bacteria isolated from domestic animals in Okinawa. II Distribution of R factor in *E. coli* strains isolated pig and chickens, *Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus*, 21；389～402
7. 金城俊夫 1979 子豚糞便における薬剤耐性大腸菌の経時的消長、*琉大農学報*、26：395～404
8. 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、*日畜会報*、50：542～548
9. 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
10. 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*、16：31～36
11. 坂崎利一訳 1974 *Cown* 医学細菌同定の手びき、2版、東京、近代出版
12. 高橋 勇 1977 家畜における薬剤耐性菌の発現機構と現況、*獣医界*、112：16～36
13. 高橋美幸 1984 豚における動物用医薬品と使用基準、*畜産の研究*、38：221～228
14. 寺門誠致、佐藤儀平、斉田 清、佐藤昭子、金井 久 1985 三橋ら編、*薬剤耐性菌による環境汚染*、1版、東京、学会出版センター
15. 寺門誠致 1990 薬剤耐性菌の功罪、*動薬研究*、43：27～40