

琉球大学学術リポジトリ

食鳥ふん便由来大腸菌の薬剤耐性と R プラスミド(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, 上間, 章功, Higoshi, Hironobu, Uema, Akinori メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3828

食鳥ふん便由来大腸菌の薬剤耐性と R プラスミド

日越博信*・上間章功*

Hironobu HIGOSHI and Akinori UEMA : Drug resistance and R plasmids of *Escherichia coli* isolated from broilers feces

Summary

Rectal feces was sampled from 96 broilers from 3 farms (I : 33, II : 33 and III : 30) brought to a broiler processing plant in Okinawa Prefecture, and 100 strains of *Escherichia coli* were isolated from broilers of each farm. These strains were tested for the sensitivity to such drugs as ABPC, CTC, SM, CP, KM, NA and SA. Attempts were made to detect R plasmid in resistant strains.

Resistance to at least one of 7 drugs was found in 242 of 300 strains of *E. coli* (80.7%). Resistance to SA was found most frequently (67.3%), followed by resistance to CTC (59.3%) and resistance to SM (51.3%). Resistance to CP was found only in 0.3% and none showed resistance to NA.

The patterns of resistance in resistant strains are classified into 21 types. Resistance to 3 drugs was found most frequently (32.2%), followed by that to 4 drugs (26.9%) and that to a single drug (20.2%). None showed resistance to 6 or 7 drugs. Rate of detection of resistant strains and kind of resistance showed some difference among these farms.

Among the 242 resistant strains, R plasmid was found in an unexpectedly low frequency, only in 9 strains (3.7%). Resistance to a single drug, ABPC, KM, or SA, was found in strains with R plasmid.

緒 言

抗生物質及び合成抗菌剤は、家畜・家禽の成長促進、各種疾病の治療・予防の目的で、飼料添加物等として使用され、畜産分野において大きな成果を上げたことは事実である。しかし、これら抗生物質等の家畜・家禽への連続的な使用は、家畜等における病原細菌だけでなく^{3,12,16)}、消化管内細菌、とくに大腸菌の薬剤耐性化も増加させ、さらに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^{1,14-16)}。このことは、家畜・家禽の疾病の治療を困難にすると同時に、そのような細菌が畜産物を介してヒトへ移行することも考えられ、家畜衛生面だけでなく、公衆衛生面からも問題視されている^{1,14-16)}。

*琉球大学農学部生物生産学科

一方、畜産分野において、家畜等のふん便由来大腸菌の薬剤感受性状況を把握しておくことは、疾病の治療あるいは予防に有効な薬剤を選択するのに補助的資料となることが示唆されている³⁾。このような理由から家畜由来薬剤耐性大腸菌についての調査が各地で行われている^{5-11,14,16)}。著者らも沖縄県の家畜ふん便由来大腸菌の薬剤感受性状況の動向を知る目的で、まず一養豚場の子豚についての調査報告を行った²⁾。今回は、一食鳥処理場へ搬入された食鳥について、同様の調査を行うと共に、耐性菌についてはRプラスミドの検索も行ったので、それらの概要を報告する。

実験材料及び方法

1 供試材料

今回の調査は、1990年8月、沖縄県内の一食鳥処理場へ搬入された3農場の食鳥（平均体重：1.74～1.83kg、日齢：45～48日）、合計96羽（農場Ⅰ：33羽、農場Ⅱ：33羽、農場Ⅲ：30羽）を対象とした。これら食鳥の直腸ふん便を、搬入後懸鳥され屋内の処理工程へ入る手前で、8～10羽毎に滅菌綿棒を用いて採取した。

なお、調査した3農場では、4週齢までの食鳥に、亜鉛バシトラシン、サリノマイシンナトリウム、硫酸コリスチンが添加された飼料を給与していた。

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）平板に直接塗布し、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3～5個釣菌し、生化学的性状などによって大腸菌を同定した¹³⁾。その結果、各農場100株、合計300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

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

Drug *1	Farms			Total (300)
	I (100) *2	II (100)	III (100)	
ABPC	12.0	1.0	31.0	14.7
CTC	64.0	74.0	40.0	59.3
SM	48.0	46.0	60.0	51.3
CP	0.0	1.0	0.0	0.3
KM	45.0	28.0	55.0	42.7
NA	0.0	0.0	0.0	0.0
SA	60.0	68.0	74.0	67.3
Total of resistance	75.0	83.0	84.0	80.7

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

*2 Number of strains tested.

感受性試験に使用した薬剤は、アンピシリン (ABPC)、クロルテトラサイクリン (CTC)、硫酸ストレプトマイシン (SM)、クロラムフェニコール (CP)、硫酸カナマイシン (KM)、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。これらの薬剤の耐性限界濃度は、SAが200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、他の6薬剤が25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。

感受性試験は、日本化学療法学会標準法¹⁾に準拠し、寒天平板希釈法で実施した。また、伝達性Rプラスミドの検索は、受容菌としてNA耐性の大腸菌ML-1410株を用い、既報²⁾の方法で行った。

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

Resistance patterns	Farms			Total	
	I	II	III		
CTC	9	11	4	24	49 (20.3)*
SM	0	0	1	1	
KM	2	1	5	8	
SA	4	8	4	16	
CTC - SM	0	3	0	3	33 (13.6)
CTC - KM	3	1	1	5	
CTC - SA	1	8	10	19	
SM - SA	0	1	5	6	
ABPC - SM - KM	0	0	1	1	78 (32.2)
ABPC - SM - SA	1	0	0	1	
ABPC - KM - SA	1	0	0	1	
CTC - SM - KM	0	0	1	1	
CTC - SM - SA	15	24	7	46	
CTC - KM - SA	7	9	1	17	
SM - KM - SA	2	0	9	11	
ABPC - CTC - SM - KM	1	0	2	3	65 (26.9)
ABPC - CTC - SM - SA	0	0	1	1	
ABPC - SM - KM - SA	1	0	19	20	
CTC - SM - KM - SA	20	16	5	41	
ABPC - CTC - SM - CP - SA	0	1	0	1	17
ABPC - CTC - SM - KM - SA	8	0	8	16	(7.0)
Total	75	83	84	242	(100)

* Number in parenthesis indicates percentage

実験結果

食鳥ふん便由来大腸菌における薬剤別にみた耐性菌の検出率を、農場別に表1に示した。

供試した大腸菌300株のうち、242株(80.7%)が使用した薬剤のいずれか1剤に耐性であった。農場別の検出率では、農場Ⅱと農場Ⅲがほぼ同じであったが、これら農場に比べて農場Ⅰの検出率は低かった。

薬剤別では、SA耐性菌が67.3%で最も高く、以下CTC耐性菌が59.3%、SM耐性菌が51.3%、KM耐性菌が42.7%、ABPC耐性菌が14.7%、CP耐性菌が0.3%の順であり、NA耐性菌は検出されなかった。

各薬剤に対する耐性菌の検出率は農場によって異なっているものの、検出率の順位では農場Ⅰと農場Ⅱが同じであり、農場Ⅲにおける順位は他2農場と若干異なっていた。また、農場Ⅲにおける各薬剤に対する耐性菌の検出率は、他の2農場に比べて、CTC耐性菌以外はいずれも高い値を示した。

次に、薬剤耐性大腸菌における耐性型とその分布を、表2に示した。

耐性型は、全体では単剤耐性型から5剤耐性型まで21種類認められたが、農場Ⅲが17種類で最も多く、農場Ⅰが14種類、農場Ⅱが11種類であり、農場によって異なっていた。耐性型では、3剤耐性型の出現率が32.2%で最も高く、次いで4剤耐性型(26.9%)、単剤耐性型(20.3%)、2剤耐性型(13.6%)、5剤耐性型(7.0%)の順であった。3剤耐性型以上の多剤耐性型が、全耐性菌の66%を占めていた。しかし、この3剤以上の多剤耐性型の出現率は、農場Ⅰが75%で最も高く、農場Ⅱが60%で最低であった。また、耐性型の内容も農場によって若干の違いが見られた。

伝達性Rプラスミドの検出状況などについては、表3に示した。

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

Resistance patterns of original Strain	Resistance pattern of R plasmids	Farms			Total
		I	II	III	
K M	K M	0	1	0	1
ABPC - KM - SA	〃	1	0	0	1
S A	S A	0	0	1	1
CTC - SA	〃	0	0	3	3
ABPC - CTC - SM - KM - SA	ASPC	2	0	1	3
Total		3	1	5	9

食鳥ふん便由来薬剤耐性大腸菌242株のうち、伝達性Rプラスミドを保有していたのは9株(3.7%)であり、意外に少なかった。検出された伝達耐性型は、KM、SA、ABPCの単剤型のみであり、それぞれ2株、4株、3株であった。

考 察

家畜由来細菌における薬剤耐性菌の増加が問題視されだして久しく、これらの調査は病原細菌ばかりでなく、ふん便由来大腸菌についても多くの報告がある^{5-11,14-16)}。著者らも、沖縄県における家畜等のふん便由来大腸菌の薬剤感受性状況を調査中であるが²⁾、今回はその一環として、食鳥ふん便由来大腸菌についての調査を行った。

その結果、3農場の食鳥ふん便由来大腸菌の80.7%が、使用した7薬剤のいずれかに耐性であった。この耐性菌の検出率は、Kinjo⁹⁻¹¹⁾が本県で「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」施行前に、鶏（日齢は不明）について調査した成績の95~97%、及び施行直後に今回とほぼ同日齢の採卵用の中雛（4~9週齢）についての成績96%、に比較すると低い。これは、中雛までは薬剤添加飼料が給与される採卵用鶏と、出荷1週間前からは薬剤無添加の飼料が給与される食鳥との違いによるものと思われる。現に金城¹⁰⁾は、薬剤無添加の飼料が給与されている大雛（80%）及び産卵中の成鶏（60%）では、耐性菌の検出率が低いことを報告している。

一方、金井ら⁵⁻⁸⁾は群馬県において食鳥ふん便由来大腸菌についての調査を行い、農場で飼養中の幼若齢の食鳥由来では93%~98%が耐性菌であり、また食鳥処理場で採取したふん便由来でもほとんど全株が耐性であったことを報告している。これらの成績に比較して、今回著者らが調査した食鳥ふん便由来大腸菌における耐性菌の検出率は低い。これが地域あるいは農場による差なのか、飼養方法などの違いなのかは不明である。しかし、今回の著者らの成績を含めて、食鳥及び採卵鶏のふん便由来大腸菌が共に、かなり高率に耐性化していることを示している。

薬剤別にみた耐性菌の検出率ではCTC、SA、SM耐性菌が比較的高率（51~67%）であり、これらに加えてKM耐性菌（43%）も高かった。TC系、SA、SMの3薬剤に対する耐性菌は、金井ら⁵⁻⁸⁾の食鳥由来及び金城¹⁰⁾の採卵鶏由来に限らず、他の家畜ふん便由来大腸菌でも高率に検出され、しかも全国的な傾向のように思われる¹⁴⁻¹⁶⁾。また、耐性型もCTC-SA-SMの3剤耐性型を含む3剤型（32%）が最高で、次いで4剤型（27%）であった。全国的に、家畜由来薬剤耐性大腸菌における多剤耐性化の増加が言われているが^{15,16)}、今回の食鳥ふん便由来薬剤耐性大腸菌でも66%が3剤型以上の多剤耐性型であり、それを裏付けている。

薬剤耐性菌における伝達性Rプラスミドの検出率は、3.7%と低率であった。金井ら⁵⁻⁸⁾は、食鳥由来薬剤耐性大腸菌のうち代表株でRプラスミドの検出を行い、40~48%が保有していたことを報告している。また、本県において金城¹⁰⁾は、採卵鶏のふん便由来薬剤耐性大腸菌についての調査で、27~36%がRプラスミドを保有し、また法の施行前後で差がなかったと報告している。これらの成績に比較して、今回の食鳥ふん便由来薬剤耐性大腸菌におけるRプラスミド保有率はかなり低いことがうかがえる。さらに、今回のRプラスミド保有率は、先に著者ら²⁾が子豚ふん便由来大腸菌で調査した成績（17.7%）よりも低い。これが本県内の食鳥由来薬剤耐性大腸菌の特徴なのか、あるいはRプラスミド保有菌が減少傾向にあるのか、今後とも調査を続けてその動向を見ていく必要がある。

なお、今回3農場の食鳥について調査を行ったが、農場によって薬剤別の耐性菌検出率及び耐性型に若干の違いが見られた。しかし、3農場とも給与飼料に添加されている薬剤は同じであり、薬剤との関係を確認できなかった。現在使用されている薬剤ばかりでなく、過去の使用状況、さらには飼養環境などについても、総合的に調査する必要があると考えられる。

摘 要

沖縄県における家畜ふん便由来大腸菌の薬剤耐性状況を知る一環として、今回は、食鳥ふん便由来大腸菌について調査した。

試料は、1990年8月、本県の一食鳥処理場へ搬入された食鳥を対象に、3農場の合計96羽から採取した直腸ふん便である。これらのふん便試料から各農場100株ずつの大腸菌を分離し、ABPC、CTC、SM、CP、KM、NA、SAの7薬剤に対する感受性試験を行い、耐性菌についてはRプラスミドの検索を行った。

供試した大腸菌300株のうち242株（80.7%）が、いずれか1薬剤に耐性であった。薬剤別では、SA耐性菌が67.3%で最高、次いでCTC耐性菌59.3%、SM耐性菌51.3%などが高く、CP耐性菌は0.3%、

NA耐性菌は検出されなかった。

耐性菌における耐性型は21種類に分かれ、3剤耐性型が32.2%で最も高く、以下4剤耐性型26.9%、単剤耐性型20.3%、2剤耐性型13.6%、5剤耐性型7.0%の順であり、6剤及び7剤耐性型は検出されなかった。各薬剤に対する耐性菌の検出率及び耐性型の種類には、農場によって若干の違いがみられた。

耐性菌242株のうちRプラスミド保有菌は9株(3.7%)であり、意外に少なかった。Rプラスミド保有菌の伝達耐性型は、ABPC(3株)、KM(2株)、SA(4株)の3種類の単剤型であった。

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、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
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. 河喜多龍祥 1987 薬剤感受性検査、1版、p66~69、東京、近代出版
5. 金井久、五十嵐丈人 1980 育成中の1ブロイラー群(1日齢と28日齢)から分離された大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド、家禽会誌、17:193~198
6. Kanai T., Hashimoto H. and Mitsuhashi S. 1983 Drug resistance and conjugative R plasmids in fecal *Escherichia coli* strains isolated from healthy younger animals (chickens, piglets, calves) and children, Microbiol. Immunol., 27:1031~1041
7. ———, ———, ——— 1983 Drug resistance and R plasmids in *Escherichia coli* strains isolated from broilers, Microbiol. Immunol., 27:471~478
8. 金井久、阿部伸司 1991 健康ブロイラー直腸便由来大腸菌の主要抗菌剤に対する感受性、畜産の研究、45:296~304
9. Kinjo T. 1974 Drug resistant strains of bacteria isolated from domestic animals in Okinawa. II. Distribution of R factor in fecal *E. coli* strains isolated from pigs and chicken, Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus, 21:389~402
10. 金城俊夫 1978 発育期を異にするニワトリの糞便由来大腸菌の薬剤耐性とR因子、琉大農学報、25:399~409
11. ——— 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
12. 中野達郎、浜岡隆文、寺門誠致 1988 牛の病性鑑定材料由来サルモネラの薬剤耐性、日獣会誌、41:806~808
13. 坂崎利一訳 1981 Cown 医学細菌同定の手びき、2版、東京、近代出版
14. 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
15. 寺門誠致 1990 薬剤耐性菌の功罪、動薬研究、43:27~40
16. 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