

琉球大学学術リポジトリ

子豚糞便における薬剤耐性大腸菌の経時的消長(畜産学科)

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: 金城, 俊夫, Kinjo, Toshio メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4172

子豚糞便における薬剤耐性 大腸菌の経時的消長*

金城 俊夫**

Toshio KINJO : Persistence of drug resistant fecal
Escherichia coli in piglets

I 緒 言

抗生物質等抗菌剤は家畜の発育促進や疾病予防等の目的で飼料添加剤として広く使用されてきたが、これらが家畜由来細菌の薬剤耐性化を惹起したということ、また家畜由来薬剤耐性菌が公衆衛生上問題であるとの観点から、多くの先進諸国ではその使用を規制している。わが国でも1977年1月より「飼料の安全性の確保および品質の改善に関する法律」(以下飼料安全法と略)が実施され、抗菌剤等を飼料に添加することが厳しく規制された。

著者^{4~6)}は既に沖縄県で飼育されている各種家畜の糞便由来大腸菌を対象に薬剤耐性菌とR因子保育菌(R⁺菌と略)の検索を行ない、何れも主として抗菌剤添加飼料で飼養されている豚及び鶏由来菌の方がそうでない他の家畜由来菌より高率であることを報告し、抗菌剤の飼料添加と薬剤耐性菌の出現が関連深いことを示唆した。

今回、飼料安全法実施の薬剤耐性菌出現に及ぼす影響を調べるため、法実施後に出生した子豚の糞便由来大腸菌を対象に、耐性菌及びR⁺菌の出現消長を経時的に追ってみたので、その成績の概要を報告する。

II 実験材料および方法

1 供試子豚及び給与飼料

本学部附属農場畜産部で飼養されている母豚4頭より飼料安全法実施初年度に生産された子豚計40頭を実験に用いた。

これら子豚は生後10日目頃より人工乳粉餌を、また25日目頃から人工乳ペレットを給与されているが、両飼料共に1トン当りデスタマイシンA 10g力価、カルバドックス50gが抗菌剤として添加されていた。尚、子豚の離乳は生後21~25日に、また出荷はほぼ60日目に行なっている。

母豚は飼料安全法実施前から飼養されているものであるが、本実験期間中に給与された飼料には抗菌剤等は添加されていない。

* 本論文の要旨は第84回日本獣医学会(1977年11月、宮崎)において発表した。

** 琉球大学農学部畜産学科

琉球大学農学部学術報告 26: 395~404 (1979)

2 被検大腸菌

子豚の糞便はできるだけ直腸より直接滅菌綿棒でとるようにした。採取した糞をマッコンキー培地上に塗布し、培養後大腸菌と思われる集落を釣菌し、生物学的性状によってこれを確認した。最終的に1糞便試料より5~8株を選ぶようにした。

便宜上、出産当日(0日)より出荷60日までを表1の如く6期に区分し、若干の例外を除き、各期毎

Table 1. Design of experiment and number of fecal *E. coli* strains used

Sow	No. of piglets	Stage						Total no. of strains
		I 0-1* ¹	II 2-5	III 6-10	IV 11-20	V 21-35	VI 36-60	
A	11	0 * ²	64	168	120	145	72	569
		0	1	2	2	4	3	
B	9	132	141	72	179	68	66	658
		2	2	1	3	2	2	
C	8	64	63	128	64	31	20	370
		1	1	2	1	1	1	
D	12	168	184	96	125	120	165	858
		2	2	1	2	2	3	
Total	40	364	452	464	488	364	323	2,455

* 1 Day (s) after birth (Day 0 means the day of birth.)

* 2 Numerator : Number of strains tested ; Denominator : Number of times taken samples

にそれぞれ1~3回採材して、総計2,455株の大腸菌を分離し、本実験に供試した。各期毎、母豚別の供試株数等は表1の通りである。

尚、比較の意味で、4頭(A, B, C, D)の母豚の糞便からも大腸菌を分離し、検査に供した。

3 薬剤耐性試験及びR⁺菌の検索法

抗菌剤としてはアミノベンジルペニシリン(APC)、硫酸ストレプトマイシン(SM)、クロルテトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、硫酸カナマイシン(KM)及びサルファジメトキシ(SA)を、またR⁺菌の検索用としてナリジキシ酸(NA)を使用した。

薬剤耐性試験は家畜耐性菌問題研究会の標準法²⁾に準拠し、耐性限界をSAは200 μ g/ml、NAは50 μ g/mlとし、他の薬剤は何れも25 μ g/mlとした。

R⁺菌の検索は、受容菌としてNA耐性の*E. coli* K12 ML1410株を用い、既報⁴⁾の方法に準じて行なった。

II 実験成績

1 薬剤耐性菌の検出率の消長

総計 2,455 株について、6 種の抗菌剤に対する耐性試験を行ない、耐性菌の検出率を各期別及び各薬剤別に求めて表 2 に示した。尚 6 剤のうち何れか 1 剤に耐性のものの検出率も同時に示した。

Table 2. Persistence of isolation frequency of *E. coli* strains resistant to individual drugs

Drug *1	Stage						Total	(No of resist. strains)
	I	II	III	IV	V	VI		
APC	3.6	2.2	2.8	2.7	6.9	2.2	3.3	(81)
S M	14.1	8.4	26.1	19.3	47.3	74.9	29.2	(717)
TC	37.6	27.2	36.6	37.1	61.0	96.3	46.6	(1,144)
CP	1.1	0.9	0.2	0	0	4.0	0.9	(22)
K M	0.3	2.4	0.4	2.3	31.9	80.8	16.4	(403)
S A	9.3	26.3	32.5	28.3	46.2	63.5	33.2	(815)
Either*2 one	46.4	48.0	64.4	51.8	86.0	98.1	63.9	(1,568)

* 1 Abbreviations: APC, aminobenzyl penicillin; S M, streptomycine sulfate; TC, oxytetracycline hydrochloride; CP, chloramphenicol; KM, kanamycin sulfate, S A, sulfadimethoxine

* 2 Resistant to either one of the 6 drugs indicated above

耐性菌の検出率の消長をみると、I 期即ち出生当日及び翌日の糞便からも耐性菌が既に 46.4 % も検出されており、耐性化が出生直後から進んでいることを示している。その主体は TC 耐性菌で、被検菌の 37.6 % を占めている。その後 II 期から IV 期即ち 20 日目まで耐性菌の検出率は僅かに増加しているが、これは S A と S M 耐性菌の増加によるもので、TC 耐性菌の検出率は出生直後から殆んど変わっていない。V 期 (21 ~ 35 日) に至って K M 耐性菌が急激に出現し、また並行して S M, TC, S A 耐性菌もそれぞれ増加して、結局何れか 1 剤に耐性の菌が 86.1 % と高率に検出された。この傾向はさらに VI 期まで続き、出荷時の 60 日令の段階では 98.1 % と殆んど菌が耐性菌となっている。薬剤別には TC 耐性菌が 96.3 % で最も高率であるが、次いで K M の 80.8 %, S M 74.9 %, S A 63.5 % の順で、APC, CP 耐性菌は僅か検出されているに過ぎない。

各期をとおして全体では、2,455 株中 1,568 株、63.9 % が耐性菌で、薬剤別には TC, S A, S M, K M の順に高率に検出されている。

このように耐性菌は生後の日時の経過に伴って、特に 20 日目から急に増加し、60 日目頃にはほぼ 100 % 耐性菌で占められるようである。

2 多剤耐性菌の検出率の消長

前項で薬剤耐性菌の検出率の消長を求めたが、さらに耐性菌の中で特に 2 剤以上に同時に耐性を示す多剤耐性菌の検出率を求め、その各期別の消長を図 1 に棒グラフで示した。尚、図には感受性菌、また

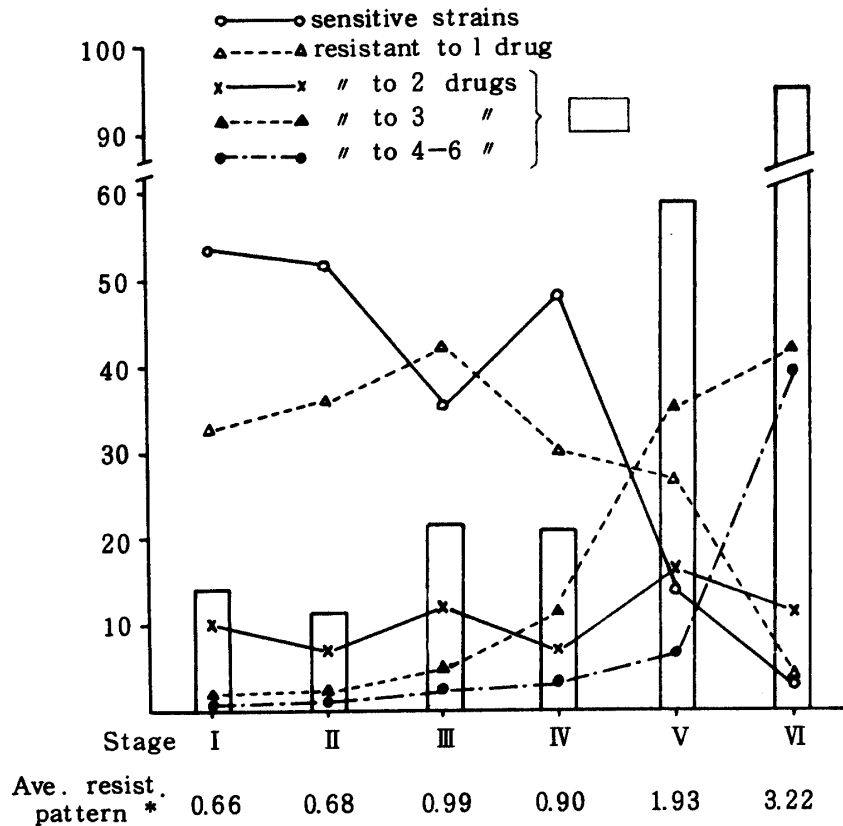


Figure 1. Persistence of isolation frequency of drug sensitive and resistant *E. coli* strains

* Average resistance pattern was calculated as follows: $[6 \times (\% \text{ of sextuple}) + 5 \times (\% \text{ of quintuple}) + \dots + 1 \times (\% \text{ of single})] / 100$

耐性菌については各耐性型の推移がそれぞれ分るように示し、さらに平均耐性型を各期毎に算出して併記した。

先ずI期の成績は、53.6%が感受性菌で最も多く、次いで耐性菌の中でも1剤即ち単剤耐性菌が多く、2剤、3剤、4剤以上の耐性菌と多剤になるに従ってその検出率は減少している。この期の多剤耐性菌の検出率は13.7%である。II期もほぼI期同様の成績で推移しているが、III、IV期になって多剤耐性菌の検出率が僅かに増加し、それぞれ22.0%及び21.3%を示している。しかしこの時期でも、感受性菌及び単剤耐性菌が優位を占めている。V期即ち生後3週目頃から、上記の構成比が大きく変化し、感受性菌はIV期の48.2%からV期には14.0%と極端に減少し、代って3剤耐性菌は11.9%から35.4%と急激に増加している。従ってこれと並行して多剤耐性菌の検出率も21.3%から59.1%に増加した。この傾向はさらにVI期まで続き、この期には感受性菌及び単剤耐性菌は極めて低率で、逆に3剤耐性菌が最も多く42.7%を占め、次いで4剤以上に耐性の菌が40.5%を占めている。多剤耐性菌が実に95.0%と高率である。

これらのことは、平均耐性型に端的に示されており、I期の0.66剤からIV期の0.90剤まで漸増し、その後V期の1.93剤、VI期の3.22剤と急に増加している。尚、図示してないが、I期からVI期までの2,455株の平均値は、感受性菌36.1%、単剤耐性菌30.3%、多剤耐性菌が33.7%で、平均耐性型が1.30剤耐性であった。

3 高頻度に検出される耐性型とその検出率

各期毎に高頻度に検出される耐性型のうち上位4つの型とそれぞれの検出率を求めて表3にまとめた。

Table 3. Four most frequently occurring resistance patterns and their isolation frequencies among *E. coli* strains in each stage

Stage I		Stage II		Stage III		Stage IV		Stage V		Stage VI	
TC	59%	TC	39%	TC	30%	TC	35%	SM-TC-KM	21%	SM-TC-KM-SA	36%
SM-TC	17	SA	35	SA	27	SA	23	SA	21	SM-TC-KM	26
SM-SA	6	SM-SA	6	SM-TC	11	SM-TC-SA	21	SM-TC	12	TC-KM-SA	9
SA	5	SM-TC-SA	5	SM-TC-SA	10	TC-SA	4	TC	9	SM-KM-SA	6

I期からIV期までは、上位4型だけで耐性菌の約80%以上を占め、耐性型があまりばらついていないことを示しているが、この中でTCだけの単剤耐性型が最も高率で30%以上を占め、特にI期では59%を占めている。その他SA耐性型或いはTCにSM, SAの加った2剤、3剤耐性型が検出されている。V期からはKMの加った多剤耐性菌が優位を占め、特にVI期ではSM-TC-KM-SAの4剤型が36%で最も高率である。次いで4位までこれら4剤の種々組合わせによる3剤耐性型のみで占めており、高度に多剤耐性化していることを示している。

4 R⁺菌の検出率の消長

被検菌2,455株中1,568株(63.9%)が耐性菌であったが、これら耐性菌についてR⁺菌の検索を行ない、その成績を各期別、各薬剤別にまとめて表4に示した。

Table 4. Isolation frequency of R⁺ strains among *E. coli* strains resistant to individual drugs

Drug	Stage						Total (No. of R ⁺ / no. of resist.)
	I	II	III	IV	V	VI	
APC	46.2	70.0	61.5	38.5	76.0	100	64.2 (52/81)
SM	0	7.9	1.7	23.5	28.5	22.7	18.2 (131/717)
TC	0	4.1	4.7	20.4	22.5	10.0	11.5 (131/1,144)
CP	100	0	0	—	—	23.1	31.8 (7/22)
KM	0	9.1	0	18.2	43.1	27.2	30.8 (124/403)
SA	11.8	3.4	10.6	47.1	58.3	18.0	27.5 (224/815)
Either one	3.6	6.0	8.4	27.2	48.2	38.5	24.9 (390/1,568)

薬剤別に各期の消長をみた場合、R⁺菌の検出率に特に一定の傾向を見出せないが、6剤のうち何れか1剤に対し耐性を示すR⁺菌の検出率は生後の経過日数と共に増加の傾向が認められた。即ち、I期では3.6%であるのがその後V期における例外的急増もあるが、VI期の38.5%まで漸次増加している。全体では1,568株中390株、24.9%がR⁺菌であった。

薬剤別には、耐性菌の検出率の少なかったAPCやCPで高率に検出され、特にAPC耐性菌の場合その64.2%がR⁺菌である。次いでKM耐性菌の30.8%、SA耐性菌の27.5%、SM耐性菌の18.2

％の順でR⁺菌が検出されているが、耐性菌の検出率が最も高かったTCの場合は、R⁺菌の検出率は逆に11.5％と6剤中最も低い値となっている。

5 母豚糞便由来大腸菌の薬剤耐性とR因子及びそれらの子豚への影響

4頭の母豚の糞便大腸菌がそれらの子豚の糞便大腸菌にどのような影響を与えるのか、その関連性を薬剤耐性とR因子の面から検討した。

供試大腸菌は母豚A 62株、B 65株、C 69株、D 60株の計256株であるが、これら256株の薬剤別耐性菌の検出率はTC耐性菌の35.9％が最高で、以下SA 22.7％、SM 20.0％、KM 5.1％、APC 2.3％、CP 0％で、何れか1剤に耐性のものが53.9％となっている。前述の子豚のそれと比較すると、薬剤別の順位は全く同じであるが、検出率は何れも低く、APC、CPを除きほぼ10％程度減少しており、何れか1剤に耐性のものも子豚の63.9％に比し10％低くなっている。

またR⁺菌の検出率も子豚の24.9％に対し、母豚の場合は9.4％で低率である。

次に母豚別に子豚の耐性菌及びR⁺菌の検出率をまとめかえ、母豚のそれらと対比して表5に示した。

Table 5. Comparison of isolation frequencies of drug resistant- and R⁺-strains among *E. coli* strains isolated from sows and their baby pigs

Strains	A		B		C		D		Total	
	Sow	Baby pigs	Sow	Baby pigs	Sow	Baby pigs	Sow	Baby pig	Sow	Baby pigs
	62*	569*	65	658	69	370	60	858	256	2,455
Sensitive	54.8	25.8	56.9	45.1	39.1	23.8	33.3	41.4	46.1	36.1
Resistant	45.2	74.2	43.1	54.9	60.9	76.2	66.7	58.6	53.9	63.9
R ⁺	21.4	32.7	3.1	24.1	4.8	10.3	7.5	27.0	9.4	24.9

* Nunbar of strains tested

耐性菌の検出率は母豚の場合66.7～43.1％の範囲でD、C、A、Bの順で、これに対し子豚では76.2～54.9％の範囲でC、A、D、Bの順に高くなっており、B豚が親子共最も低率であるが、親子の間で検出率に特に相関関係は認められない。

R⁺菌の検出においては母豚ではA、D、C、Bの順であるに対し、子豚ではA、D、B、Cの順で、上位は母豚、子豚共にA、Dの順で一致している。

母子間の耐性菌及びR⁺菌の検出率或いは表示してないが薬剤別の検出率を順位からでなく、得られた数値で質的に比較してみると、両者の間で特に深い関連性はないようである。

IV 考 察

飼料安全法の実施に伴って、耐性菌がどのように消長するかを調べることは、種々の面から興味あることである。今回、法実施初年度に生産された4腹の子豚計40頭について、その出生日から60日目まで経日的に糞便由来大腸菌の薬剤耐性及びR因子の検索をすることができた。

実験豚舎は本学部付属農場畜産部にあり、飼養・管理衛生は一般農家のそれに比し良好な状況にある。子豚の分娩に際しては特に従来のそれと変わった措置はしてないが、分娩当日或いは翌日の直腸内糞便からも大腸菌は多数分離され、その46％が既に耐性菌で占められているという予想以上の汚染状況が明

らかとなった。しかもその殆んどがTC単剤耐性菌で占められていることも興味ある点である。

初生仔の糞便大腸菌の汚染についてMckay¹¹⁾はその総説の中で、まだ餌も水も与えてない初生ヒナの腸内容を培養し、分離された殆んどすべての大腸菌がTC, SM耐性であったというKiserの実験を紹介している。同様の事実は著者も確認しており、分離菌の約30%がTCやSM耐性であった。⁷⁾ またGuinee¹⁾は牛の胎糞や初生仔糞からも多剤耐性菌が検出されたことを報告している。

豚と牛や鶏では初生仔(ヒナ)の耐性菌による汚染の機作は違うことも考えられるが、何れにしても初生仔(ヒナ)が飼料給与とは無関係に既に耐性菌で汚染されていることは、その後の耐性菌の出現消長を添加剤との関連で検討する際注意しておく必要があると思われる。

出生後IV期即ち20日目頃まで日時の経過に伴って耐性菌の検出率は徐々に増加しているが、その間TC耐性菌のそれは殆んど変化なく、主としてSA耐性菌の増加によるものである。耐性菌の急激な増加はV期(21~35日)より認められ、さらに最終観察時期のVI期(36~60日)まで続き、この時期に98%と殆んどすべての大腸菌が耐性化している。尚、このV~VI期間の耐性菌検出率の増加はAPC, CPを除く他の4剤に対するそれらの増加によるものであるが、特にKM, SM耐性菌の急増が目立つ。また後期これら4剤の種々組合せによる多剤耐性菌が増加している。

子豚は10日目頃より添加剤としてデスタマイシンA及びカルパドックスを含む餌を与えられており、検出された耐性菌の耐性型と直接的に対応しうる因果関係は見出し得ないが、同じアミノグリコシド系の抗生物質であるデスタマイシンAとSM, KMとの間で交差耐性が起りうるかどうか検討する必要がある。TC耐性菌もTCを全く使用していないに拘わらずV~VI期で増加しており、VI期では分離大腸菌の96%がTC耐性菌である。給餌開始後10日目頃から急激に耐性菌が増加している事実は、間接的にせよ何らかの誘因として作用したことが考えられる。

耐性菌の薬剤耐性型と飼料添加剤との間に因果関係があることがSmith & Crabb¹³⁾の報告以来多数あるが、しかし逆に関連がないとするいくつかの成績もMckay¹¹⁾の総説で紹介されている。Guinee¹⁾はTCとFZ添加飼料給与でAPC耐性菌が増えたこと、さらに薬剤が全く添加されていない飼料給与によってもTC, KM, CP, APC耐性菌が増加したことを認め、むしろ初生仔の糞便菌の耐性型が重要であると述べている。しかし、TC添加飼料でTC耐性菌が著るしく増加したことも認め、添加薬剤が選択の役割を果たしている事実も指摘している。Smith¹²⁾はTC耐性菌の生存にSMやSAの使用が関与しているであろうと述べている。また、Lintonら⁹⁾はTC耐性菌の出現とTCの飼料添加とは無関係で、ごく少濃度に存在するであろう環境内抗生物質が選択的役割を果たすか或いはそれ以上に他の薬剤との交差耐性が問題であることを指摘している。このように耐性菌の出現消長と飼料添加剤との関連は解析が困難で、色々複雑な要素が関与しているようである。

耐性菌中R⁺菌の占める割合は、I~III期は10%以下で低率であるが、耐性菌検出率の増加に先行してIV期から増え、V期には48%と最高に達し、VI期の39%と推移している。R⁺菌の増加の結果として、耐性菌全体の検出率を高めていることになるが、しかしこれらR⁺菌の耐性型をみた場合、例えば耐性菌の検出率が最も高かったTCがR⁺菌の検出率は最低を示し、絶対数でもSA型のR⁺菌より少ない。従ってV~VI期の耐性菌の急増の原因をすべてR因子に結びつけることはできない。

子豚がどのような過程で耐性菌やR⁺菌に汚染されていくかについて、母豚からの経路が最も有力であると思われるが、今回の4頭の母豚とそれぞれの子豚の耐性型を比較した結果は必ずしもそのような経路のみによるものともいえない。過去長期間にわたって抗菌剤を使用したことによって、子豚をとりまく環境が既に耐性菌によって濃厚に汚染されており、このような環境からの再汚染が考えられる。事実、著者⁷⁾は畜舎内は勿論のことその周辺の土壌等からもSM, TC, SA耐性の大腸菌を高率に分離し、耐性菌による環境の汚染がかなり進んでいることを確認している。Kelch & Lee³⁾はこのような環境に由来する河川や港湾の汚泥からも薬剤耐性の大腸菌を多数分離し、環境の汚染を指摘している。

また、Sturtevant & Feary¹⁴⁾も下水から多剤耐性菌が高率に分離されることを報告している。

飼料安全法の実施によっても、少くとも生後60日目の成績では耐性菌の出現に何ら効果を示してないが、これは環境からの耐性菌の再汚染によるもので、さらにこれに子豚用飼料添加抗菌剤が何らかの機作で選択的働きをしたのでなかろうかと思われる。このことは抗菌剤添加飼料を与えられてない母豚の場合、子豚と同一豚舎で飼育されているに拘わらず、使用した4頭共耐性菌の検出率(43~67%)が子豚のVI期のそれ(98%)より極めて低いことから類推される。河本ら⁸⁾も抗菌剤添加飼料と非添加飼料をそれぞれ給与した肥育豚由来菌を比較し、同じような成績を示している。このようなことから耐性菌の出現を抑えるためには、単に抗菌剤の飼料添加規制のみでなく、既に耐性菌で汚染されている豚をとりまく環境の浄化対策も並行して行う必要があると思われる。

Smith¹²⁾は薬剤の飼料添加規制後4年経過しても100%の豚がTC耐性菌を排出していたと述べているが、今回初生仔糞や豚舎環境から特にTC単剤耐性菌が多く分離されていることと関連して興味深いことで、今後特にTC耐性菌の除去対策を充分検討する必要があるだろう。

わが国における過去の豚由来大腸菌の薬剤耐性の実態は高橋¹⁵⁾の総説にまとめられているが、これらと今回の法実施初年度の成績を比較しても、耐性菌がそれ程減少したとはいえない。この確認のため現在2年目の実験を継続中であり、後日結論を出したい。しかし、法実施の主旨を生かし、またその効果を高めるためには、前述の如く環境の浄化を積極的に進める必要がある。

V 要 約

飼料安全法実施初年度において、本法の薬剤耐性菌及びR因子保有(R⁺)菌の出現に及ぼす影響を調べるため、4腹の子豚40頭の糞便由来大腸菌を対象に経時的に調査した。

便宜上、子豚の出生当日から出荷される60日目までを6期(I期、出生当日~翌日; II期2~5日; III期6~10日; IV期11~20日; V期21~35日; VI期36~60日)に区分し、各期より被検菌を分離し、総計2,455株を得て6種の抗菌剤(APC, SM, TC, CP, KM, SA)に対する耐性試験とR⁺菌の検索を行った。得られた成績は以下の通りである。

1. 耐性菌はI期の糞便からも46.4%と比較的高率に検出されたが、その主体はTCの単剤耐性菌であった。耐性菌の検出率はその後SA及びSM耐性菌の増加によりIV期の51.8%まで僅かに上昇している。しかしV期に至ってKM耐性菌の急激な出現及びSM, TC, SA耐性菌の増加によって、耐性菌の検出率は86.1%に急上昇し、さらにこの傾向はVI期まで続いて、60日令の段階では98.1%と殆んど菌が耐性菌となった。

2. 各期をとおして全体では、2,455株中1,568株、63.9%が耐性菌で、薬剤別ではTC耐性菌が46.6%で最も高く、以下SA 33.2%, SM 29.2%, KM 16.4%, APC 3.3%, CP 0.9%の順であった。

3. 耐性菌の検出率が生後日数の経過に伴って増加するのは、多剤耐性化に起因する。即ちI期では単剤耐性菌が主であったのが、漸次多剤耐性菌と代り、VI期では3剤或いは4剤以上に耐性の高次多剤耐性菌が主体を占めた。

4. 耐性菌1,568株中R⁺菌は390株で、24.9%に相当した。各期別の消長をみると、I期が3.6%と最も低く、その後漸次増加して、V期には最高の48.2%に達しているが、VI期には逆に38.5%とやゝ減少している。薬剤別にR⁺菌の検出率をみると、耐性菌の検出率の低かったAPC, CPがそれぞれ64.2%, 31.8%と高く、逆に耐性菌の検出率が最も高かったTCが11.5%と最低値を示した。

5. 4頭の母豚の糞便由来大腸菌計256株についても、耐性菌とR⁺菌の検索を行ない、それぞれの子豚の成績と比較したが、子豚糞便大腸菌の耐性化の原因をその母豚のそれに結びつけるだけの明確な

データは得られなかった。

6. 出荷時の子豚の成績から飼料安全法実施後も耐性菌及びR⁺菌が高率に検出されており、従って耐性菌等の出現を抑えるためには既に汚染された環境の清浄化等も同時に進める必要のあることを考察した。

糞便材料の採取にご便宜を与えて下さった本学部附属農場の古謝瑞幸助教授並びに同畜産部の宮城盛時、前当正範両技官に深謝致します。

文 献

1. Guinee, P. A. M. 1971 Bacterial drug resistance in animals, Ann. N. Y. Acad. Sci., 182 : 40~51
2. 家畜の耐性菌研究会 1976 家畜由来の細菌に対する抗生物質等の薬剤の最小発育阻止濃度測定法について, 日獣会誌, 29 : 90~92
3. Kelch, W. J. and Lee, J. S. 1978 Antibiotic resistance patterns of gram-negative bacteria isolated from environmental sources, Appl. Environ. Microbiol., 36 : 450~456
4. Kinjo, T. 1974 Drug resistant strains of bacteria isolated from domestic animals in Okinawa II. Distribution of R factors in fecal *E. coli* strains isolated from pigs and chickens, Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus, 21 : 389~402
5. Kinjo, T., Nakachi, H. and Akamine, Y. 1975 Drug resistant strains of bacteria isolated from domestic animals in Okinawa III. Drug resistance and distribution of R factors among fecal *E. coli* isolated from cattle, goats and horses, Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus, 22 : 331~342
6. 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
7. 金城俊夫 未発表
8. 河本治郎・和田栄一・吉田勉 1976 豚由来大腸菌の薬剤耐性, 獣医畜産新報, 660 : 430~432
9. Linton, A. H., Howe, K. and Osborne, A. D. 1975 The effects of feeding tetracycline, nitrovin and quindoxin on the drug resistance of coli-aerogenes bacteria from calves and pigs, J. appl. Bact., 38 : 255~275
10. Loken, K. I., Wagner, L. W. and Henke, C. L. 1971 Transmissible drug resistance isolated from calves given antibiotics, Amer. J. vet. Res., 32 : 1207~1213
11. Mckey, W. M. 1975 The use of antibiotics in animal feeds in the United Kingdom: The impact and importance of legislative controls, World's Poult. Sci. J., 31 : 116~128
12. Smith, H. W. 1975 Persistence of tetracycline resistance in pig *E. coli*, Nature, 258 : 628~630
13. Smith, H. W. and Crabb, W. E. 1957 The effect of the continuous administration of diets containing low levels of tetracycline on the incidence of drug-resis-

- tant *Bacterium coli* in the faeces of pigs and chickens, Vet. Rec., **69**: 24~30
14. Sturtevant, A. B. and Feary, T. W. 1969 Incidence of infectious drug resistance among lactose-fermenting bacteria isolated from raw and treated sewage, Appl. Microbiol., **18**: 918~924
15. 高橋勇 1979 家畜における耐性菌の諸問題と抗菌剤の臨床応用上に必要な基礎的知識〔Ⅱ〕, 家畜診療, **188**: 35~46

Summary

Legislative control of the use of antimicrobial drugs in animal feeds in Japan became effective in January 1977.

To confirm the effect of this control for incidences of drug resistant and R factors-carrying (R^+) *E. coli* strains, the present experiments were performed.

A total of 2,455 *E. coli* strains isolated from rectal swabs from 40 piglets of 4 litters during first 60 days of their lives were tested for resistance to 6 antimicrobial drugs, i.e. APC, SM, TC, CP, KM, and SA. The experimental periods, for convenience, were divided into 6 stages as follows; stage I, 0 (the day of birth) -1 day after birth; stage II, 2-5 days; stage III, 6-10 days; stage IV, 11-20 days; stage V, 21-35 days and stage VI, 36-60 days.

The results are summarized as follows:

1. A relatively high proportion (46.4 %) of the strains of stage I was resistant to drugs, mainly to TC, and the proportion gradually increased until stage IV. At stage V, however, the percentage of resistant strains markedly increased up to 86.1 % with sudden increase in those of KM resistant strains. This tendency continued until stage VI, when the percentage was 98.1.

2. Totally, of 2,455 strains, 1,568 (63.9 %) were found to be resistant. The percentages of strains resistant to TC, SA, SM, KM, APC and CP were 46.6, 33.2, 29.2, 16.4, 3.3 and 0.9 %, respectively.

3. Isolation frequencies of multiple resistant strains were increased with the lapse of days after birth of piglets from which the strains originated. At stage VI, 95.0 % of strains tested were multiply resistance, of which patterns were mainly composed of SM, TC, KM and SA.

4. Of 1,568 resistant strains, 390 (24.9 %) were found to carry R factors. The isolation frequencies of the R^+ strains among the resistant strains at stages I to VI were 3.6, 6.0, 8.4, 27.2, 48.2 and 38.5%, respectively.

5. Isolation frequencies of resistant and R^+ strains among 256 fecal *E. coli* strains isolated from 4 sows from which the piglets were derived were also tested and compared with those of piglets. No definite relations which may support a vertical contamination of resistant strains were obtained.

6. From the data obtained in the present experiments, it could be said that incidence of drug resistant strains was uncontrollable only by taking off the drugs from animal feeds. Therefore, clean up of already contaminated environments should be necessary.