

## 6. 各種家畜の症例由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミドについて

高橋 勇 (日本獣医畜産大学) \*

家畜由来の大腸菌の薬剤耐性とRプラスミドに関する報告は多数みられるが、その大部分は健康家畜由来株に関する報告である。一方、近年大腸菌症は家畜にかなり被害を及ぼしているが、それら症例の由来株の耐性に関する検討は十分とはいえない。

そこで我々は、野外の鶏、豚、子牛、乳牛における大腸菌症例から分離され、血清型が明らかにされた菌株について、薬剤耐性とRプラスミドに関する検討を行い、以下のような成績をえた。

### 材 料 と 方 法

#### 1. 供試菌株

次に述べるような各種家畜の大腸菌症例の由来株で、血清型が確認されたものを用いた。

a) 鶏由来株：敗血症、気のうち炎等の症例から分離された69株で、それらの血清型はO1, O78, O2等15型である。

b) 豚由来株：下痢症、浮腫病等の症例から分離された14株で、血清型はO20ab等11型である。

c) 子牛由来株：下痢症、敗血症から分離された10株で、O2, O28ac, O101等7株である。

d) 乳牛由来株：乳房炎症例から分離された21株で、O2, O88等8型である。

#### 2. 使用薬剤と薬剤感受性試験法

下記の9剤を用い、供試株について家畜の耐性菌研究会法<sup>4)</sup>による感受性試験を実施し、カッコ内の薬剤濃度で発育が認められた株を耐性と判定した。

薬剤の種類と耐性限界値(カッコ内： $\mu\text{g}/\text{ml}$ )はTC, SM, KM, CP, APC(またはAM),

表1 各由来株の薬剤別耐性菌検出頻度(%)

| 由来別<br>(株数)<br>薬剤別 | 鶏由来<br>(69株) | 豚由来<br>(14株) | 牛 由 来   |         | 合 計<br>(114株) |
|--------------------|--------------|--------------|---------|---------|---------------|
|                    |              |              | 子牛(10株) | 乳牛(21株) |               |
| TC                 | 72.5         | 57.1         | 60.0    | 9.5     | 57.9          |
| SM                 | 55.1         | 50.0         | 70.0    | 14.3    | 48.2          |
| SA                 | 81.2         | 57.2         | 70.0    | 9.0     | 63.2          |
| FZ                 | △76.8        | 21.4         | 10.0    | 9.5     | 51.8          |
| KM                 | △23.2        | 7.1          | △20.0   | 4.8     | 17.5          |
| CP                 | 4.4          | 14.3         | △50.0   | 4.8     | 9.6           |
| APC                | 2.9          | 0            | △40.0   | 0       | 5.3           |
| NA                 | 0            | 0            | 0       | 0       | 0             |
| CL                 | 0            | 0            | 0       | 0       | 0             |
| 全 体*               | 97.1         | 57.1         | 70.0    | 19.1    | 75.4          |

△印は他の由来株に比較して特に多いもの。

\*いずれか1種以上の薬剤に耐性を示した株数の供試株に対する比率(%)。

NA(それぞれ25), CL(3.1), FZ(12.5), SA(800)である。

#### 3. Rプラスミドの検査

上記で耐性と判定された株について、*E. coli* K12, ML1410 NaI<sup>r</sup> を recipient とした混合培養法(37℃, 22℃)を行い、その1白金耳を薬剤加選択平板培地上に塗抹して一夜培養後、菌の発育が認められたものは、さらに耐性型を確認し、Rプラスミドによる耐性(R<sup>+</sup>)とした。

### 成 績

#### 1) 各薬剤の耐性菌検出頻度について

供試菌株について、前記9薬剤の感受性試験を行い、それぞれの薬剤に、耐性と判定された株の検出頻度(%)を各由来別に要約して表1に示した。

まず、この表の全般を通じて、TCからCPまでの6薬剤に対しては、いずれの由来株の場合にも耐性菌が認められた。またAPC耐性菌は鶏及

\* (研究協力者) 吉田孝治, 柏崎 守, 久米常夫, 高橋欽也,

び子牛由来株のみに認められた。一方、NA及びCLの耐性菌は、いずれの由来株においても認められなかった。

次に各薬剤に対する耐性菌の検出頻度を、由来別に比較してみると、以下のようないくつかの特色が認められた。すなわち 1) TC, SM, SA のそれぞれに対する耐性菌は鶏, 豚, 子牛の各由来株ではいずれも高率 (5.0.0 ~ 8.1.2%) であったが、乳牛由来株では低率 (9.0 ~ 1.4.3%) であった。2) FZ耐性菌は鶏由来株ではかなり高率 (7.6.8%) であるのに対して、他の由来株では低率 (9.5 ~ 2.1.4%) であった。3) CP耐性菌は、子牛由来株では比較的高率 (5.0.0%) であるのに対し、他の由来株では低率 (4.4 ~ 1.4.3%) であった。4) APC耐性菌も子牛由来株では比較的高率 (4.0.0%) であったが、他の由来株では鶏で低率 (2.9%) に認められただけであった。5) KM耐性菌は、鶏及び子牛由来株では2.0.0 ~ 2.3.2% であるが、他の2由来株では4.8 ~ 7.1% とかなり差が認められた。

以上供試全薬剤のいずれか1剤もしくはそれ以上の薬剤に耐性を示した株の供試株に対する比率は表1の下欄に示した通り、鶏, 子牛, 豚, 乳牛の各由来株の順に9.7.1 ~ 1.9.1% であり前の3者は高率であった。

要するに、乳牛由来株では、いずれの薬剤にも耐性菌が低率 (1.4.3% 以下) であったが、他の由来株は、TC, SM, SAの3つの耐性菌はいずれも高率であり、その他の薬剤の耐性菌は由来によって若干の特色ある差が認められた。

2) 各由来株別の耐性型とRプラスミドについて

#### a) 鶏由来株

鶏由来株は、耐性菌がきわめて高率 ( $\frac{67}{69}$  株: 97.1%) で、その耐性型は表2に示した通り16型に分けられ、そのほとんどが多剤耐性菌で、しかも3~5剤耐性菌が大部分を占めていた。なお表では省略したが単剤耐性菌は5株にすぎな

かった。耐性菌の多くは、TC, SM, SA, KM, FZの各耐性のいずれかが組合せとなったもので、5剤耐性菌の場合には以上にAPCやCPなどの耐性が加わった型であった。

表2 鶏由来株の耐性型と伝達型

| 耐性型             | 株数            | R <sup>+</sup> 株数 | 伝達耐性型                   |
|-----------------|---------------|-------------------|-------------------------|
| TC・SM・CP・SA・FZ  | 3             | 3                 | TC・SM・CP・SA<br>TC・SM・SA |
| TC・SM・KM・APC・SA | 2             | 2                 | SM・KM・SA<br>SM・KM       |
| TC・SM・KM・SA・FZ  | 7             | 2                 | TC・KM                   |
| TC・SM・SA・FZ     | 16            | 12                | TC・SM, SM・SA            |
| TC・SA・FZ        | 7             | 6                 | TC・SA*, SA              |
| TC・SM・FZ        | 1             | 0                 | -                       |
| SM・SA・FZ        | 5             | 1                 | SM                      |
| TC・KM・SA        | 2             | 2                 | TC・SM, KM               |
| KM・SA・FZ        | 5             | 5                 | KM・SA                   |
| TC・SM・SA        | 1             | 1                 | TC・SM, SA               |
| TC・FZ           | 5             | 1                 | TC                      |
| TC・SM           | 3             | 3                 | TC・SM                   |
| TC・SA           | 3             | 3                 | SA                      |
| その他3型           | 7             | 0                 | -                       |
| 計               | 67<br>(97.1%) | 41<br>(61.2%)     |                         |

R<sup>+</sup>株: Rプラスミド保有株 (%は耐性株に対する比率)

耐性株の%は供試株 (69) に対する比率。

\* 温度感受性 (1株)

これらの耐性菌67株中41株 (61.2%) は表の通りR<sup>+</sup>菌であり、原株の耐性 (FZは除く) の全部または一部がrecipientに伝達された。Rプラスミドは表にみられるように14型にわけられた。そのうち1株は温度感受性 (\*印) であった。

#### b) 豚由来株

豚由来株は耐性菌が比較的高率 ( $\frac{8}{14}$ : 57.1%) で、その耐性型は表3のように5型に分けられ、すべて、3~5剤耐性菌であった。それらの型は、TC, SM, SAの各耐性が基本となり、これにKM, FZ, CPなどの耐性が組合わさったものであった。

これら耐性菌8株中6株 (75.0%) がR<sup>+</sup>菌であり、表にみられるように、原株の耐性 (FZは除く) の全部あるいは一部がrecipientに伝

達された。Rプラスミドの耐性型は6型に分けられ、5剤耐性菌からは2種類のものが検出され、そのうち1株は温度感受性であった。

表3 豚由来株の耐性型と伝達性

| 耐性型            | 株数           | R <sup>+</sup> 株数 | 伝達耐性型                     |
|----------------|--------------|-------------------|---------------------------|
| TC・SM・CP・SA・FZ | 1            | 1                 | TC・SM・CP・SA*,<br>TC・CP・SA |
| TC・SM・SA・FZ    | 2            | 2                 | TC・SM・SA                  |
| TC・SM・KM・SA    | 1            | 0                 | -                         |
| TC・SM・SA       | 3            | 2                 | TC・SM・SA,<br>SM           |
| TC・CP・SA       | 1            | 1                 | TC・CP・SA                  |
| 計              | 8<br>(57.1%) | 6<br>(75.0%)      |                           |

R<sup>+</sup>株：Rプラスミド保有株（%は耐性菌に対する比率）。  
耐性株の%は供試株（14）に対する比率。  
\*温度感受性

c) 子牛由来株

子牛の由来株は耐性株が高率（ $\frac{7}{10}$  : 70.0%）であり、その耐性型は表4上欄に示した通り、すべて4~5剤耐性であった。その型は、TC, SM, SA, CP, KM, APCなどの耐性が種々組合せとなった5型にわけられた。これらの耐性菌7株中6株（85.7%）がR<sup>+</sup>菌であり、原株の耐性型（FZを除く）の全部または一部がrecipientに伝達された。Rプラスミドは表のように、5型にわけられ、そのうち1株は温度感受性であった。

表4 牛由来株の耐性型と伝達性

|       | 耐性型             | 株数           | R <sup>+</sup> 株数 | 伝達耐性型                         |
|-------|-----------------|--------------|-------------------|-------------------------------|
| 子牛由来株 | TC・SM・CP・APC・SA | 1            | 1                 | TC・SM・CP・APC・SA<br>TC・CP・APC* |
|       | TC・SM・KM・APC・SA | 2            | 2                 | KM・APC・SA                     |
|       | TC・SM・CP・SA・FZ  | 1            | 1                 | TC・SM・CP・SA                   |
|       | TC・SM・CP・SA     | 2            | 2                 | TC・SM・CP・SA                   |
|       | SM・CP・APC・SA    | 1            | 0                 | -                             |
| 計     |                 | 7<br>(70.0%) | 6<br>(85.7%)      |                               |
| 乳牛由来株 | TC・SM・CP・SA・FZ  | 1            | 1                 | TC・SM・CP・SA                   |
|       | TC・SM           | 1            | 0                 | -                             |
|       | SM・KM           | 1            | 1                 | SM・KM                         |
|       | FZ              | 1            | 0                 | -                             |
| 計     |                 | 4<br>(19.1%) | 2<br>(50.0%)      |                               |

R<sup>+</sup>株：Rプラスミド保有株（%は耐性株に対する比率）。  
耐性株の%は供試株に対する比率。  
\*温度感受性

d) 乳牛由来株

乳牛由来株は、他の由来株に比較して、耐性菌が低率（ $\frac{4}{21}$  : 19.1%）であり、その耐性型は表4下欄の通り、4株中3株は1~2剤耐性で、1株のみが5剤耐性であった。これらの4株中2株（50%）がR<sup>+</sup>株で、原株の耐性型（FZを除く）の全部がrecipientに伝達された。

総括と考察

以上の成績を要約したものが表5である。

今回の供試株中で鶏由来株以外のものは、株数あまり多くないので、若干の問題はあるが、各由来株の成績を比較すると次の通りである。

表5 各家畜大腸菌症由来株の耐性の要約

| 由来 | 病名           | 被検株数 | 耐性株数(%)  | R <sup>+</sup> 株数(%) |
|----|--------------|------|----------|----------------------|
| 鶏  | 敗血症<br>気のう炎等 | 69   | 67(97.1) | 41(61.2)             |
| 豚  | 浮腫病<br>下痢等   | 14   | 8(57.1)  | 6(75.0)              |
| 子牛 | 敗血症<br>下痢等   | 10   | 7(70.0)  | 6(85.7)              |
| 乳牛 | 乳房炎          | 21   | 4(19.1)  | 2(50.0)              |
| 合計 |              | 114  | 86(75.4) | 55(63.9)             |

R<sup>+</sup>株：Rプラスミド保有株（%は耐性株に対する比率）。  
耐性株の%は供試株数に対する比率。

耐性菌の検出頻度は、表に示した通り、鶏由来株が最も高率で、以下子牛、豚、乳牛の各由来株の順であり、乳牛由来株は他の3由来株よりかなり低率であった。またこれらの耐性菌のうちR<sup>+</sup>菌の検出率は、表のように、いずれの由来株の場合も50%以上で、特に子牛由来株では85.7%に達した。

次に耐性菌の耐性型をみると、各由来株を通じて、多剤耐性菌がほとんどを占め、その内訳はTC, SM, SAの各耐性が主体となり、これにCP, KM, APC, FZ等の耐性が加わったもの

であったが、前述の通り、鶏由来株と子牛由来株では若干の特色があった。

供試株の血清型と耐性やRプラスミドの保有との間には特に一定の関係は見出されなかった。

家畜の症例由来大腸菌の耐性に関する報告は、これまでにあまりみられないが、今回の我々の成績とそれらの成績<sup>1~3, 11, 12, 15, 16)</sup>を比較すると、次の通りであった。まず耐性菌とR<sup>+</sup>菌の検出頻度は、鶏<sup>15)</sup> 豚<sup>2, 3, 16)</sup> 子牛<sup>2)</sup>の各由来株ではあまり大きな差は認められないが、乳牛由来株では我々と同様の成績<sup>11)</sup>とより高率のもの<sup>12)</sup>があった。なお今回の成績と、最近の国内の健康家畜由来株の耐性菌とR<sup>+</sup>株検出頻度<sup>5~10, 13, 14)</sup>と比較してもあまり大きな差はなかった。

さらに耐性の内訳について、今回の成績と他の症例由来株の報告<sup>1~3, 11, 12, 15, 16)</sup>とを比較してみたところほぼ同じ傾向で、特にCP, APCの耐性菌が野外の症例において増加しつつあることがうかがわれた。なお乳房炎由来株では若干異なる成績<sup>11)</sup>あった。また今回の成績と健康家畜由来株<sup>5~10, 12, 13)</sup>の耐性の内訳を比較したところ、両者とも各家畜由来株でTC, SM, SAの各耐性菌が高率であった点は共通であったが、その他の薬剤の耐性は鶏と子牛由来株では、前述の通り、健康家畜とは異った特色が認められた。

(本講演の概要は1979年の第87回日本獣医学会で発表した)。

## 文 献

- 1) ADEN, D.P., et al (1969). *Appl. Microbiol.*, **18**, 961.
- 2) ADETOSOYE, A.I., et al (1979). *Vet. Rec.*, **29**, 236.
- 3) GUINÉE, P.A.M. (1971). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **182**, 40.
- 4) 家畜の耐性菌研究会 (1976). 日獣会誌, **29**, 20. [家畜の耐性菌研究会報1号, 29(1980)]

- 5) 金井 久ほか (1980). 第89回日本獣医学会講演要旨, 108及び家畜の耐性菌研究会報, **3**, (1981).
- 6) 金井 久ほか (1981). 第91回日本獣医学会講演要旨, 117.
- 7) 金井 久ほか (1981). 日獣会誌, **34**, 62.
- 8) 金城俊夫ほか (1979). 日本畜産学会報, **50**, 542.
- 9) 中村政幸ほか (1978). 動薬検年報, No **15**, 21.
- 10) 中村政幸ほか (1979). 動薬検年報, No **16**, 31.
- 11) 芥田 清ほか (1980). 第89回日本獣医学会講演要旨, 108.
- 12) SINCOWEY, H., ほか (1978). 第85回日本獣医学会講演要旨, 24及び私信.
- 13) 高橋 勇ほか (1974). 第77回日本獣医学会講演要旨, 27. [鈴木 弘 (1974) 日本獣医畜産大学, 修士論文]
- 14) 寺門誠致ほか (1972). 日獣会誌, **25**, 295.
- 15) 渡辺 満ほか (1977). 第36回日本細菌学会関東支部会講演, (要旨) 北里メディカルニュース, **24**, 9 (1977).
- 16) 渡辺 満ほか (1979). 第87回日本獣医学会講演要旨, 95.

(質問: 佐藤儀平) 供試株中に温度感受性Rプラスミドはなかったか。

(答) 成績中に示したように、一部の株で認められた。

(意見: 清水 健) この報告は症例由来株に関するものなので、治療薬剤の影響があるものと予想していたが、それを裏づけするような耐性としては、子牛のCPとAPCの耐性であり、他のTC, SM, SA耐性は以前から健康家畜の大腸

菌で広く認められているので、結局、症例由来株の耐性の特色としては、一般の飼料添加剤の影響に治療薬剤の影響が加わったように見受けられ、どこが境か判然としないという印象をうけた。