

5. 豚由来毒素産生性大腸菌の薬剤耐性

大谷利之* (静岡県中部家畜保健衛生所)

はじめに

豚の大腸菌症は感染及び発病機序の違いから、大腸菌性下痢(新生期下痢及び離乳後下痢)、大腸菌性腸管毒血症(浮腫病)、大腸菌性敗血症などの病型に大別される⁶⁾。

本症の対策として、新生期下痢には、ワクチン接種が有効であるが、すべての病型には対応できない。その為、養豚農場では本症の対策に苦慮している。

このような状況の中、防除対策を確立するため、病原変異感染症清浄化緊急対策事業として、平成8年度から静岡県をはじめとする全国25府県が、豚大腸菌症について実態調査を行ったので、その概要を報告する。

材料と方法

1. 豚大腸菌症の実態調査

大腸菌症に対する実態調査は1996年4月から98年10月にかけて、25府県の計732戸で実施した。内訳は各府県1996年度は、5戸以上、1997～98年度は10戸以上の養豚農場を対象とした。

疫学調査は各年度2回以上、対象養豚農家を巡回し、調査票に基づき飼養形態、飼養頭数、臨床症状(下痢、浮腫等)とその発生日齢頭数、離乳豚舎の構造と飼育密度、平均分娩頭数、平均離乳頭数、平均離乳日齢、過去の大腸菌症の発生、大腸菌ワクチンの使用の有無、消毒の有無とその方法、抗菌性物質使用の有無と種類および投与法に

ついて聞き取り調査を行った。

保菌調査は対象養豚農家の健康な種雌豚、哺乳豚、離乳後子豚及び肥育豚各々5頭以上の直腸便、飲水1検体の計21検体を材料として、直接DHL寒天培地に塗抹後、37°Cで18～24時間好気培養し、赤色集落10個を選定し、検査菌株とした。PCR法によりVero毒素(VT)、耐熱性腸管毒素(ST)および易熱性腸管毒素(LT)の産生性遺伝子を検出した。

2. 薬剤感受性試験

各府県で分離された毒素産生性大腸菌のうち200株について、当所で日本化学療法学会標準法⁷⁾に準拠し、寒天平板希釈で最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。培地は感受性ディスク用-N(ニッスイ)を使用した。

供試薬剤は、現在、豚大腸菌症の治療薬として使用頻度の高いABPC, KM, SM, GM, CL, OTC, CTC, CP, BCM, FZ, SDMX, SMMX, SDMXとTMPの合剤(ST), SMMXとOMPの合剤(SO), OA, ERFXの16種を用いた。なお、抗生物質9種類は、農林水産省動物医薬品検査所から分譲された常用標準品を、合成抗菌剤5種類については純末精製品を用いた。また合剤のSTおよびSOの2種類はそれぞれ9:1と3:1に調整した。

結果

1. 豚大腸菌症の実態調査

(1) 大腸菌症の発生状況

732戸中265戸(36.2%)で本症が発生し、うち大腸菌性下痢は256戸(34.9%)3,604頭、浮腫病は25戸(3.4%)193頭で発生があった。な

* 共同研究者：川嶋和晴(静岡県農林水産部家畜衛生室)

お、浮腫病発症農家のうち16戸で下痢も伴っていた。また、発生日齢については大腸菌性下痢が離乳前で3,604頭中2,706頭(75.1%)、浮腫病は離乳後で193頭中144頭(74.6%)の発生があった(表1)。

(2) 大腸菌症の衛生対策

臨床症状が確認された265戸のうち、ワクチン接種が37戸(14.0%)、抗菌剤投与が207戸(78.1%)で行われていた。一方、非発症農場でも、抗菌剤が281戸(60.2%)で予防的に使用されていた(表2)。

農場では大腸菌症以外にも呼吸器病などの疾病対策に抗菌剤が使用されており、今回、薬剤感受性試験に供した16薬剤について、使用状況を調査した結果、OTCが220戸(30.1%)、CTCが96戸(13.1%)、サルファ剤系が79戸(10.8%)と多く使用されていた。また、ERFXが28戸(3.8%)

で使用され、そのほかニューキノロン系ではOBFXが12戸(1.6%)、DNFXが9戸(1.2%)で使用されていた(表3)。

(3) 毒素産生性大腸菌の保菌状況

毒素産生性大腸菌の保菌状況は、12,890頭中588頭(4.6%)であり、臨床症状が確認された農場では、4,489頭中334頭(7.4%)から分離された。一方、非発症農場においても8,401頭中254頭(3.0%)で保菌が確認された。また、菌株の毒素産生性はVT産生株が223頭(37.9%)で最も多く、以下ST産生株128頭、LT産生株121頭の順で、複数の毒素産生性を持つ株も認められた(表4)。

2. 薬剤感受性試験

毒素産生性大腸菌200株について行ったところABPC, KM, SM, OTC, CTC, CP, BCM, ST

表1 大腸菌症の発生状況

| 病型 | 農場数 | 発生頭数 | 発 生 日 齢 | | | |
|----|------|-------|---------|-------|-------|-----|
| | | | <10 | 11~離乳 | 離乳~50 | 51< |
| 下痢 | 256* | 3,604 | 1,034 | 1,672 | 760 | 138 |
| 浮腫 | 25* | 193 | 9 | 39 | 141 | 3 |
| 合計 | 265 | 3,604 | 1,043 | 1,709 | 901 | 141 |

* 下痢と浮腫の双方が認められた16農場を含む

表2 大腸菌症の衛生対策

| 症状 (内訳) | 農場数 | 対 策 方 法 | |
|------------|------|-----------|------------|
| | | ワクチン(%) | 抗菌剤(%) |
| 有 | 265 | 37 (14.0) | 207 (78.1) |
| (下痢) | 256* | 35 (13.7) | 204 (79.7) |
| (浮腫) | 25* | 5 (20.0) | 22 (88.0) |
| 無 | 467 | 26 (5.6) | 281 (60.2) |
| 計 | 732 | 63 (8.6) | 448 (66.7) |

* 下痢と浮腫の双方が認められた16農場を含む

表3 薬剤の使用状況

| 薬 剤 | 農場数(%) | 薬 剤 | 農場数(%) |
|------|------------|--------|-----------|
| ABPC | 56 (7.7) | CP | 10 (1.4) |
| KM | 40 (5.5) | BCM | 2 (0.3) |
| SM | 10 (1.4) | FZ | 12 (1.7) |
| GM | 15 (2.0) | サルファ剤系 | 79 (10.8) |
| CL | 55 (7.5) | ST合剤 | 63 (8.6) |
| OTC | 220 (30.1) | OA | 16 (2.2) |
| CTC | 96 (13.1) | ERFX | 28 (3.8) |

表4 毒素産生性大腸菌の保菌状況

| 症状有無 | 検査頭数 | 分離頭数 (%) | 毒 素 産 生 型 別 | | | | | |
|------|--------|-----------|-------------|-----|-----|-------|-------|-------|
| | | | VT | ST | LT | ST+LT | ST+VT | LT+VT |
| 有 | 4,489 | 334 (7.4) | 120 | 76 | 75 | 27 | 31 | 5 |
| 無 | 8,401 | 254 (3.0) | 113 | 52 | 46 | 30 | 12 | 1 |
| 計 | 12,890 | 588 (4.6) | 223 | 128 | 121 | 57 | 43 | 6 |

表 5 毒素産生性大腸菌200株の薬剤感受性

| 薬 剤 | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | | | | | | |
|------|--------------------------|-----|------|------|------|------|------|------|-----|-----|------------|
| | ≤ 0.1 | 0.2 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | $100 \leq$ |
| ABPC | | | | | 17* | 101 | 22 | 2 | 4 | 1 | 53 |
| KM | | | | | 82 | 43 | 2 | | 3 | 1 | 69 |
| SM | | | | | 13 | 37 | 7 | 11 | 20 | 20 | 92 |
| OTC | | | | | 17 | 4 | 1 | 1 | 2 | 4 | 171 |
| CTC | | | | | 6 | 13 | 6 | 1 | 34 | 112 | 28 |
| CP | | | | | 11 | 61 | 37 | 23 | 24 | 1 | 43 |
| BCM | | | | | | | | 27 | 136 | 29 | 8 |
| ST | | | 6 | 5 | 64 | 51 | 10 | 12 | 10 | | 42 |
| SO | | | 3 | 13 | 64 | 39 | 18 | 13 | 6 | 1 | 43 |
| GM | | | 60 | 102 | 28 | | | 2 | 3 | 1 | 4 |
| CL | | 40 | 142 | 5 | 1 | 3 | 8 | | 1 | | |
| OA | | 75 | 53 | 6 | 25 | 23 | 6 | 6 | | 2 | 4 |
| ERFX | 147 | 24 | 12 | 6 | 3 | 2 | 6 | | | | |
| FZ | 2 | 2 | 38 | 35 | 55 | 33 | 16 | 9 | 9 | 1 | |

| 薬 剤 | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | | | | | | |
|------|--------------------------|------|------|------|----|----|-----|-----|-----|-----|-------------|
| | ≤ 1.56 | 3.13 | 6.25 | 12.5 | 25 | 50 | 100 | 200 | 400 | 800 | $1600 \leq$ |
| SDMX | | | | | | | | 21 | 35 | 4 | 140 |
| SMMX | | | | | 12 | 27 | 18 | 9 | 6 | 4 | 124 |

*：菌株数

及び SO に対しては 2 峰性を示し、1.56~25 $\mu\text{g/ml}$ に感受性菌群が、また 50~100 $\mu\text{g/ml}$ 以上に耐性菌群が分布した。GM, CL, OA 及び ERFX に対しては、MIC 0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以下の高い感受性を示した。FZ では 0.1~50 $\mu\text{g/ml}$ の広範囲に株が分布した。また SDMX, SMMX に対しては、1,600 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性ピークがみられた (表 5)。

石丸ら²⁾の報告と今回 MIC 分布の結果から、各薬剤の耐性限界値を ABPC, SM, OTC, CP では 50 $\mu\text{g/ml}$, KM 及び CTC では 25 $\mu\text{g/ml}$, GM 及び CL では 3.13 $\mu\text{g/ml}$, OA では 6.25 $\mu\text{g/ml}$, BCM, ST 及び SO では 100 $\mu\text{g/ml}$, SDMX 及び SMMX ではそれぞれ 800 $\mu\text{g/ml}$, 400 $\mu\text{g/ml}$ と推定とした。

各薬剤に対する耐性の出現率は、OTC (87.5%), CTC (87.0%), SDMX (72.0%), SMMX (67.0%) の 4 剤が高率であった。一方、CL (6.0%), GM (5.0%), BCM (4.0%) の 3 剤に対しては低率であった (表 6)。

系統の異なる 8 種類 (ABPC, KM, CL, OTC, CP, SDMX, ST, OA) の薬剤について耐性菌の

表 6 各薬剤別の耐性出現率

| 薬 剤 | 株 数 (%) | 薬 剤 | 株 数 (%) |
|------|------------|-----|-----------|
| OTC | 175 (87.5) | CP | 44 (22.0) |
| CTC | 174 (87.0) | SO | 43 (21.5) |
| SDMX | 144 (72.0) | ST | 42 (21.0) |
| SMMX | 134 (67.0) | OA | 18 (9.0) |
| SM | 112 (56.0) | CL | 12 (6.0) |
| KM | 73 (36.5) | GM | 10 (5.0) |
| ABPC | 54 (27.0) | BCM | 8 (4.0) |

表 7 耐性型と検出率

| 耐性型 | 株 数 (%) | 耐性型 | 株 数 (%) |
|-------|-----------|-------|-----------|
| 7 剤耐性 | 3 (1.5) | 3 剤耐性 | 38 (19.0) |
| 6 剤耐性 | 9 (4.5) | 2 剤耐性 | 52 (26.0) |
| 5 剤耐性 | 18 (9.0) | 単剤耐性 | 35 (17.5) |
| 4 剤耐性 | 36 (18.0) | 感受性 | 9 (4.5) |

出現率を検討した結果、耐性型は、2~4 剤耐性型が 200 株中 126 株 (63.0%) を占め、さらに 7 剤耐性型も 3 株 (1.5%) 検出された (表 7)。

まとめと考察

全国 25 府県の無作為抽出した 732 戸の農場で、豚大腸菌症の実態調査を行った。その結果、疫学調査では 732 戸のうち約 1/3 の 265 戸で大腸菌症の発生がみられ、本症が広く浸潤しているものと考えられた。また、発生農場でみられた病型のほとんどが大腸菌性下痢であり、浮腫病は 25 戸と少なく、多くが下痢を伴っていた。好発日齢では、大腸菌性下痢は 11 日齢～離乳までが多く、次いで 10 日齢以下、離乳後の子豚と続き、浮腫病は離乳後で多くみられ、従来の報告⁸⁾とほぼ一致した。

保菌調査では、無発症農場でも 8,401 頭中 254 頭 (3.0%) が毒素産生性大腸菌を保菌しており、これらの保菌豚が、ストレス等による発症や他の豚への感染源となる可能性も示唆され、今後も農場における大腸菌の把握が必要と思われた。

全国で分離された毒素産生性大腸菌のうち 200 株について、16 薬剤に対する薬剤感受性試験を行ったところ、テトラサイクリン系とサルファ剤系に対し 70～90% と著しく高い耐性出現率であるが、この傾向は、疫学調査において、農場での薬剤使用状況を反映する成績であった。第二選択薬として使用が限定されているニューキノロン系薬剤を使用している農場もみられ、今回、ERFX に対する耐性限界値を石丸ら²⁾の報告と同様に MIC 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と推定すると、8 株 (4.0%) が耐性となり本剤の耐性化が進んでいるものと推察された。また、系統の異なる 8 薬剤における耐性菌の出現率をみると、2～4 剤耐性型が 63.0% を占め、さらに 7 剤耐性型も 3 株 (1.5%) 検出されたことから、既報^{1,4,5,8)}と同様、依然、多剤耐性化傾向にあると思われた。

今回の調査の結果、本症の対策は、抗菌剤投与が主体で、多剤耐性菌も存在することから、日頃から、抗菌剤の使用を抑え、飼養管理、ストレスの緩和等の衛生対策が重要と思われた。しかし、治療に際し、抗菌剤を使用する際には、必ず薬剤感受性試験に基づく、薬剤選択を指導すべきである。

要 約

豚大腸菌症の防除対策確立のため、平成 8 年度より全国 25 府県で病原変異感染症清浄化緊急対策事業 (豚型) を実施し、その実態調査、細菌分離および薬剤感受性試験成績などにより次のことが明らかとなった。

- (1) 調査対象 732 戸のうち 256 戸 3,604 頭で大腸菌性下痢が、25 戸 193 頭で浮腫病の発生があった。また発生日齢は、大腸菌性下痢が離乳前で 2,706 頭 (75.1%)、浮腫病は離乳後で 144 頭 (74.6%) の発生があった。
- (2) 大腸菌症の対策として 488 農場 (66.7%) で薬剤投与が実施されていた。
- (3) 症状の認められない農場でも 8,401 頭中 254 頭 (3.0%) が毒素産生性大腸菌を保菌していた。
- (4) 薬剤感受性試験を実施した 200 株のうち、テトラサイクリン系とサルファ剤系に対する耐性は 70～90% であるのに対し BCM, CL, GM の耐性の出現率は 5% 前後であった。
- (5) 系統の異なる 8 薬剤を検査したところ 9 株 (4.5%) には耐性が認められなかったものの、3 剤以上の多剤耐性株は 104 株 (52.0%) であった。

以上のように、抗菌剤投与が主体とされている本症の対策においては、多剤耐性菌が存在する。今後、薬剤選択に十分な注意が必要と考えられた。

終わりに実態調査と菌株の分離を実施して頂いた各府県の家畜保健衛生所の方々に深謝します。

文 献

- 1) 細田紀子, 伊藤博哉, 鮫島俊哉, ほか: 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 (1990)
- 2) 石丸雅敏, 遠藤祐子, 吉村治郎: 1992～1994 年に家畜家禽から分離された大腸菌, サルモネラ及び黄色ブドウ球菌の各種抗菌剤に対する薬剤耐性, 動薬検年報, 33, 1-20 (1996)
- 3) 柏崎 守: 豚病学, 熊谷哲夫, 他編, 第 3 版, 395-401, 近代出版, 東京 (1987)
- 4) 又吉正直: 牛・豚由来 Vero 毒素産生性大腸菌

- (VTEC) の抗菌薬感受性試験, 沖縄家衛試年報, 32, 39-44 (1997)
- 5) 目見田清, 大本健路: 豚浮腫病発生農家における分離大腸菌の薬剤耐性調査, 臨床獣医, 10, 50-57 (1992)
- 6) 中澤宗生: 豚の大腸菌症, 動生協会会報, 20, 13-20 (1987)
- 7) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会: Chemotherapy, 29, 76-79 (1981)
- 8) 高橋清人, 高橋直治, ほか: 哺乳豚から分離された毒素原性大腸菌の薬剤耐性と R プラスミド, 日獣会誌, 440, 897-900 (1991)

The Drug-Resistant Toxigenic Colibacillus Isolated from Pigs

Toshiyuki OHTANI and Kazuharu KAWASHIMA

*Chubu Livestock Hygiene Service Center, Shizuoka Prefecture,
1-2-45 Aoba-cho, Fujieda 426-0066, Japan*

To establish the control measures against swine colibacillosis as the infection with pathogenic modification surveillance project as emergency measures was undertaken in 25 prefectures around the country since 1996. From the results of fact-finding study for raising, bacterial isolation and antimicrobial susceptibility, clarified are as follows.

(1) Among 732 farms, 256 outbreaks of colibacillary diarrhea were observed in 3,604 pigs, and edema disease was in 193 pigs of 25 farms respectively. Diarrhea occurred in 2,706 piglets (75.1%) before weaning period. Edema diseases appeared in 144 piglets (74.6%) after weaning period.

(2) For the control of colibacillosis, medication was applied in 488 farms (66.7%).

(3) 254 (3.0%) of 8,401 pigs carried toxicogenic *Escherichia coli* in the symptom-less farms.

(4) 200 isolates were resistant to tetracyclines and sulfa drugs (70~90%). However 5% of the isolates were resistat to oxolinic acid, colistin, gentamicine.

(5) 104 (52%) isolates showed multiple resistance against more than 3 antimicrobials.

As described above, measures against the disease depend on medication with antimicrobials and multiple resistant bacteria may arise. Therefore, care must be taken fully for appropriate choose of antimicrobials in medication.

討 論 (座長: 阪野哲也, 全農家衛研)

質問 (吉村治郎, 動薬検)

毒素原性大腸菌についての耐性株出現率を発表されたが、文献との比較で結構だが、健康動物由来株との間に違いがあったか。

答 (大谷利之)

農水省動物医薬品検査所が行った全国調査成績 (動薬検年報, 1996) と今回の成績はほぼ一致した。しかし、エンロフロキサシンに対し、高い MIC 値を示す株が出

現しており、これは農場におけるニューキノロン系薬剤の使用歴を反映しているものと思われた。

質問 (大角貴幸, 全農家衛研)

毒素産生性の株で、5 剤以上の耐性株が確認されているが、薬剤は特に固定されているか (OTC, その他)。

答 (大谷利之)

OTC, サルファ剤, KM, 及びこれらにその他の薬剤が加わった耐性型が多くみられた。