

## 4. 薬剤耐性鶏コクシジウムの感受性への復帰

斎 藤 康 秀 (麻布大学獣医学部寄生虫学研究室)

### 緒 言

鶏コクシジウム症に対しては、化学療法が主要な対策とされているが、抗菌剤の分野と同様、薬剤耐性株の出現のために種々の問題が生じている。薬剤耐性コクシジウムは、本来死滅または発育を阻止する濃度の薬剤の存在下でも生存し、生活環を完了することができるようになったものである。このようなものは、不十分な濃度の薬剤の影響を受けながら、生活環を完了することを繰り返すことによって発生するものと考えられており、実験的にもサブオプティマルドーズ投与鶏でコクシジウムを継代することによって作出することが可能である。鶏コクシジウムの薬剤耐性に関する報告は1951年より見られ、これまで使用されたすべての薬剤に対する耐性株が知られている。新たな抗コクシジウム剤が切れめなく導入される状況下であれば、耐性化はそれほど大きな問題にならないかもしれないが、新規薬剤の導入は極めてきびしい状況にあり、現在利用できるものを有効に使用することが必要である。このためには耐性化の機構を解明することが重要であるが、その前提として現象としての耐性化や脱耐性化を理解することも重要である。ここでは、薬剤耐性のものと感受性のものとが混在しているコクシジウム個体群を薬剤が無い状態で継代した場合に薬剤感受性がどのように変化するかを知るために現在行なっている実験の概略を紹介する。

### 材料と方法

雛：採卵鶏（デカルブ種）の1日齢の雄雛を孵化業者から導入し、隔離された室内の金網ケージ

内でオーシストの投与まで育雛した。なお、感受性試験および継代にはそれぞれ12日齢および12～21日齢のものを用いた。

コクシジウム：感受性株；農林水産省家畜衛生試験場から分与され、当研究室で維持している *Eimeria tenella* を用いた。耐性株；岩手県内の養鶏場で採取した糞便より得たオーシストより分離した *E. tenella* を用いた。なお、両株の9薬剤に対する薬剤感受性を継代開始時に確認した。

継代：感受性株および耐性株のオーシストそれぞれ25および75個および10個および990個を寒天片上で正確に計数し寒天片ごと、25+75および10+990個の組み合わせでそれぞれを1羽の雛に投与した。この雛の盲腸内オーシストを、投与9日目に回収して培養した。このようにして得られたオーシストを薬剤無添加飼料を給与した雛での継代の出発材料とした。なお、各継代では投与後9日目の盲腸より回収したオーシストを次継代の投与材料とした。また、対照として感受性株および耐性株を同時に継代した。

薬剤および投薬量：ハロフギノン、ゾーレン、モネンシン、スルファジメトキシム、クロピドール、アンプロリウムプラス、ロベニジン、ナイカルバジンおよびデコキネートの9剤の常用量およびその倍量を用いた。

薬剤の効果判定：増体量、オーシスト排泄数、斃死および盲腸病変値を総合して文献<sup>2,3)</sup>に従って判定した。

### 成 績

ここでは、感受性株および耐性株のオーシストそれぞれ25個および75個を混合して投与したものを継代の出発材料とした場合の途中成績について

Table 1 Sensitivity of drug resistant line (Iwate line) of *E. tenella* to several anticoccidials

Drug concentration (ppm)	OPG ( $\log_{10}$ )				Average	Lesion score	Death	B. W. gain (%) relative
	7th	8th	9th					
halofuginone	3	6.34	5.22	5.01	5.52	4, 4, 4, 4	0/5	38.75
	6	5.52	5.14	4.96	5.21	3, 3, 4, 4	0/5	72.63
zoalene	125	6.19	5.48	4.67	5.45	4, 4, 4, 4	1/5	84.28
	250	5.58	4.98	3.30	4.62	1, 3, 3, 4, 4	0/5	76.69
monensin	80	6.43	5.13	5.53	5.70	3, 4, 4, 4	1/5	81.84
	160	5.89	5.23	5.53	5.55	1, 1, 2, 2, 2	0/5	81.84
sulfadimethoxine	1000	5.59	5.46	3.44	4.83	4, 4, 4, 4, 4	0/5	88.08
	2000	5.70	5.59	5.22	5.50	1, 1, 1, 2, 2	0/5	84.28
clopidol	125	6.81	5.57	4.82	5.73	4, 4, 4, 4, 4	0/5	78.86
	250	5.50	5.69	5.11	5.43	3, 3, 4, 4, 4	0/5	75.34
amprolium	125	6.41	5.57	5.56	5.85	4, 4, 4, 4, 4	0/5	82.66
	250	5.79	5.30	5.37	5.49	0, 0, 0, 1, 1	0/5	88.89
robenidine	33	—	<250	<250	+	0, 0, 0, 0, 0	0/5	108.13
	66	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	101.63
nicarbazin	125	—	<250	<250	+	0, 0, 0, 0, 1	0/5	108.67
	250	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	79.95
decoquinate	40	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	114.36
	80	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	115.45
N. I. C.	—	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	100.00
I. C.	—	6.07	5.51	4.65	5.41	4, 4, 4,	2/5	88.62

<250: Oocysts were detected only by the flotation method.

て紹介する。

耐性株は継代開始時にデコキネートの常用量でオーシストの排泄が阻止された。また、ロベニジンおよびナイカルバジンの常用量ではわずかではあるがオーシストの排泄がみられ、感受性の低下傾向がみられた。これら以外の6剤では常用量の倍量でも感染対照に類似した数のオーシストの排泄がみられ、耐性と判定された (Table 1)。感受性株では、継代開始時に、モネンシンおよびクロピドールの常用量の投薬で、それぞれ感染対照と同様または半数程度のオーシストの排泄がみられ、これら両剤に対しては弱い感受性の低下と判定された。これ以外の薬剤では、常用量の投薬でオーシストの排泄が阻止され、感受性と判定された (Table 2)。

15 継代後には、スルファジメトキシシ、ロベニジン、ナイカルバジンおよびデコキナネートの常用量の投薬でオーシストの排泄が阻止された。また、アンプロリウムプラスでは、常用量の投薬でオーシストの排出数が著しく減少し、ゾーレン、クロピドールおよびモネンシンの常用量の投薬で

オーシスト排泄数の減少がみられた (Table 3)。

## 考 察

途中経過であることおよび実験の一部の成績のみを紹介したことを先にお断りする。

実験的に薬剤耐性にした *E. acervulina* を薬剤無添加の雛で100 継代しても感受性に変化が無いことを経験している (斉藤: 未発表)。このように獲得された耐性は遺伝子の変異に基づくもので安定しているとされている<sup>9)</sup>。今回の実験では、耐性と判定される個体群の中にも混在することが予想される感受性のものの効果を知るために、人工的に感受性のものと耐性のものとを混合感染したものより得られたオーシストを出発材料にしてこれを薬剤のない状態で継代することによる感受性の変化を検討した。その結果、15 継代でスルファジメトキシシは、感受性に復帰した。また、アンプロリウムプラスでは感受性側への変化の兆しがみられた。このように感受性のものと耐性のものとを競合させると感受性のものが優占して来る場合

**Table 2** Sensitivity of drug sensitive strain (NIAHJPN strain) of *E. tenella* to several anticoccidials

Drug	concentration (ppm)	OPG ( $\log_{10}$ )				Lesion score	Death	B. W. gain (%) relative
		7th	8th	9th	Average			
halofuginone	3	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	110.05
	6	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	111.03
zoalene	125	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	119.12
	250	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	89.71
monensin	80	5.13	4.77	5.11	5.00	1, 0, 0, 0, 0	0/5	111.52
	160	<250	—	—	+	0, 0, 0, 0, 0	0/5	74.02
sulfadimethoxine	1000	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	110.05
	2000	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	115.69
clopidol	125	<250	3.86	4.90	2.92	1, 1, 2, 3, 3	0/5	96.32
	250	—	<250	<250	+	1, 1, 0, 0, 0	0/5	99.26
amprolium	125	—	—	—	—	1, 1, 0, 0, 0	0/5	100.49
	250	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	108.82
robenidine	33	—	—	—	—	0, 0, 0, 1, 2	0/5	100.25
	66	—	—	—	—	0, 0, 1, 1, 1	0/5	113.97
nicarbazin	125	—	—	—	—	0, 1, 1, 1, 4	0/5	73.28
	250	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	74.02
decoquinatate	40	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	125.00
	80	—	—	<250	+	0, 0, 0, 0, 0	0/5	127.70
N. I. C.		—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	100.00
I. C.		6.15	5.32	4.89	5.45	4, 4, 4, 4	1/5	61.34

**Table 3** Sensitivity of Iwate line and NIAHJPN strain of *E. tenella* mixed with 75 and 25 oocysts respectively, after 15 passages to several anticoccidials

Drug	concentration (ppm)	OPG ( $\log_{10}$ )				Lesion score	Death	B. W. gain (%) relative
		7th	8th	9th	Average			
halofuginone	3.0	6.60	5.72	5.83	6.05	4, 4, 4, 4, 4	0/5	75.93
	6.0	6.32	5.89	5.41	5.87	4, 4, 4, 4, 3	0/5	72.21
zoalene	125	3.98	4.90	5.34	4.74	4, 4, 4, 4, 3	0/5	84.42
	250	<250	2.40	4.16	2.19	1, 1, 0, 0, 0	0/5	117.74
monensin	80	3.90	4.83	5.17	4.63	1, 0, 0, 0, 0	0/5	99.47
	160	—	—	<250	+	0, 0, 0, 0, 0	0/5	85.31
sulfadimethoxine	1000	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	95.22
	2000	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	75.31
clopidol	125	3.98	5.52	6.03	5.18	4, 4, 4, 4, 4	0/5	77.52
	250	—	—	4.24	1.41	1, 1, 1, 0, 0	0/5	95.93
amprolium	125	—	<250	<250	+	0, 0, 0, 0, 0	0/5	98.58
	250	—	<250	—	+	0, 0, 0, 0, 0	0/5	106.73
robenidine	33	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	103.01
	66	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	97.17
nicarbazin	125	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	88.85
	250	—	—	—	—	1, 1, 1, 0, 0	0/5	87.26
decoquinatate	40	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	104.42
	80	—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	95.93
N. I. C.		—	—	—	—	0, 0, 0, 0, 0	0/5	100.00
I. C.		6.61	5.67	5.78	6.02	4, 4, 4	2/5	44.25

&lt;250 : Oocysts were detected only by the flotation method.

が有ることが明かとなった。しかしながら、薬剤によって差異がみられ、これは薬剤により作用機序が異なることより耐性の機構にも相異があることによるものと考えられた。今回の成績は、短期間で耐性から感受性への復帰や復帰する兆しがみられた薬剤があったことより、従来言われている複数薬剤の計画的使用や薬剤の変更が重要であることの実験的な証明といえる。現在、さらに継代を重ねた場合の各薬剤に対する態度の変化を検討するために実験を継続中である。

### 要 約

鶏コクシジウム症に対しては、化学療法が主要な対策とされているが、他の治療・予防のために広範囲に薬品が用いられている分野と同様、薬剤耐性株の多発のために種々の問題が生じている。薬剤耐性コクシジウムは、本来死滅または発育を阻止する濃度の薬剤の存在下でも生存し、生活環

を完了することができるようになったものである。薬剤耐性のものと感受性のものとを混在させたコクシジウム個体群の表現型としての薬剤感受性がこのような個体群を薬剤が無い状態で継代した場合にどのように変化するかを検討した。その結果、15 継代でスルファジメトキシンは、感受性に復帰した。また、アンプロリウムプラスでは感受性側への変化の兆しがみられた。

### 文 献

- 1) 傍士和彦：鶏コクシジウム剤—開発の歴史，分類作用機序—動物の原虫病，4，1-41 (1993)
- 2) 斎藤康秀：鶏コクシジウムの感染と発育，獣医寄生虫検査マニュアル，今井壯一，神谷正男，平詔亨，茅根士郎編，192-194 (1997) 文永堂，東京
- 3) 角田 清，石井俊雄：コクシジウムの検査法，鶏病研究会，30 pp. (1971)
- 4) 角田 清：薬剤耐性，鶏コクシジウム症，角田 清監修，87-93 (1983) チクサン出版社，東京

## Change of Anticoccidial Sensitivity of Coccidium Populations Passed in the Chicken without Anticoccidial Drug

Yasuhide SAITOH

*Department of Parasitology, School of Veterinary Medicine, Azabu University,  
Sagamihara, Fuchinobe, Kanagawa 229-8501, Japan*

Anticoccidial drugs were widely used for controlling coccidiosis in the poultry industry. But, acquisition of resistance by coccidia is a major cause of the failure of drugs to control fowl coccidiosis. In this experiment, I tried to observe the change of anticoccidial sensitivity of the coccidium populations passed in chicken without anticoccidial drug. After 15 passages, the population of *Eimeria tenella* showed the reversion to be sensitive against sulfadimethoxine and also showed a tendency to be sensitive in the case of amprolium plus.

### 討 論 (座長: 桑野 昭, 第一製薬)

質問 (小久江栄一, 東京農工大)  
多剤耐性化すると増殖力、感染力は低下するのか?  
答 (斎藤康秀)

十分なデータがないので、現在のところ不明である。経験的には、耐性化したものが増殖力や感染力を低下させているとは判断していない。