

# 管内農場における抗菌性物質使用歴と耐性大腸菌の定点観測

吉田輝美<sup>1)</sup>・鉢須桂一<sup>2)</sup>・多勢景人<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 埼玉県中央家畜保健衛生所 (〒 331-0821 埼玉県さいたま市北区别所町 107-1)

<sup>2)</sup> 埼玉県熊谷家畜保健衛生所 (〒 360-0813 埼玉県熊谷市円光 1-8-30)

<sup>3)</sup> 埼玉県川越家畜保健衛生所 (〒 350-0837 埼玉県川越市石田 152)

## 1. はじめに

近年、人の医療における薬剤耐性菌については、家畜への抗菌性物質の使用が原因ではないかと指摘され、公衆衛生や家畜衛生関連の様々な国際会議の場で緊急課題として取り上げられている [1]。

このような国際動向を背景とし、国内では、平成 11 年度から農林水産省動物医薬品検査所を中心として、全国的に畜産分野における薬剤耐性モニタリング調査が行われている [2]。本調査では、特に公衆衛生分野への影響に配慮しており、食品媒介性病原細菌としてサルモネラとカンピロバクターを、薬剤感受性の指標細菌として腸球菌と大腸菌を調査対象としている。各都道府県は毎年 1 菌種について調査し、調査対象となる菌種は地域に偏りがないように配慮されている。

今回、同一農場における耐性大腸菌発現状況の推移をみる目的で、薬剤耐性調査を実施した。また、農場における抗菌性物質の使用状況と耐性パターンを解析し、併せて、管内における薬剤耐性状況と全国のモニタリング調査成績を比較した。

## 2. 材料と方法

材料と方法は、動物医薬品危機管理対策事業に

係る薬剤耐性モニタリング調査に準じた。

### 1) 材 料

平成 16 年度の材料は、平成 12 年および 14 年度に調査を行った畜産農家を中心に、健康家畜の糞便を各 1 検体ずつ採材し、合計 23 検体を供した (表 1)。

既に、廃業した農家もあり、定点観測農場は 16 戸となった。

### 2) 方 法

#### (1) 大腸菌の分離

大腸菌は、糞便を DHL 寒天培地へ直接塗抹して分離後、TSI 培地および LIM 寒天培地で一次性状を確認し、アピ 20E を用いて同定率 80% 以上を大腸菌とした。

#### (2) 薬剤感受性試験

一濃度ディスク拡散法によって行い、推定 MIC 値を求め、ブレイクポイントは平成 14 年度の国の事業に準じ設定し、過去の成績と比較した。供試薬剤はアンピシリン (ABPC)、セフトオフル (CTF)、セフロキシム (CXM)、セファゾリン (CEZ)、アブラマイシン (APM)、デストマイシン (DM)、ゲンタマイシン (GM)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、オキシテトラサイクリン (OTC)、ピコザマイシン (BCM)、クロラムフェニコール (CP)、サルファジメトキ

本稿は 2005 年 4 月 23 日に開催された第 32 回シンポジウム「抗菌剤の使用と耐性菌の出現との関係 ―慎重使用に向けて―」での講演の要旨である。

表1 調査対象農場 (戸)

	平成 16 年度	平成 12・14 年度	定点観測農場*
肉用牛	6	7	5
肥育豚	9	5	4
採卵鶏	5	5	4
肉用鶏	3	4	3
合 計	23	21	16

\*：平成 16 年度と平成 H12・14 年度の両方とも採材した農場

シン (SDMX), エンロフロキサシン (ERFX), オフロキサシン (OFLX), ナリジクス酸 (NA), オキサリリン酸 (OXA), オラキンドックス (ODX) およびトリメトプリム (TMP) の 19 薬剤を用いた。

### (3) 抗菌性物質使用状況聞き取り調査

採材農場において使用している抗菌性物質の聞き取り調査を実施し、耐性菌の出現状況と使用薬剤の解析を試みた。

## 3. 成 績

### 1) 大腸菌の分離

平成 16 年度は 4 畜種から合計 45 株の大腸菌が分離された。平成 12・14 年度の調査では合計 28 株が分離された (表 2)。

### 2) 薬剤感受性試験成績

平成 16 年度の調査では、供試 19 薬剤中 6 剤に対する耐性株が認められ、耐性率は SM (33.3%), OTC (22.2%), ABPC (20.0%), TMP (17.8%), CP (13.3%), KM (6.7%) の順に高い値を示した。平成 12・14 年度には、19 薬剤中 11 剤に対する耐性株が認められ、耐性率は OTC (60.7%), ABPC (39.3%), SM (25.0%), TMP (17.9%), CP (17.9%), KM (10.7%), NA (10.7%), ERFX (7.1%), OFLX (7.1%), OA (7.1%), GM (3.6%) の順に高い値を示した (表 3)。

平成 16 年度の成績を平成 12・14 年度と比較すると、OTC の耐性率が有意に低下していた。この値は全国調査と比較しても低いものであった。

### 3) 薬剤耐性パターン

平成 16 年度に分離された大腸菌では、肥育豚

表2 分離株数

畜種	平成 16 年度	平成 12・14 年度
肉用牛	11	9
肥育豚	18	7
採卵鶏	10	6
肉用鶏	6	6
合 計	45	28

で 18 株中 14 株、肉用牛で 11 株中 4 株に単剤から 5 剤耐性が認められた。肉用鶏と採卵鶏は共に耐性株は認められなかった。また、4 剤以上の多剤耐性株はいずれも肥育豚由来株であった (表 4)。

平成 12・14 年度に分離された大腸菌では、全ての畜種で単剤から 11 剤に耐性が認められ、キノロン系耐性株も分離された。4 剤以上の耐性は肥育豚のみに認められた (表 5)。

耐性パターンを農家別、年度毎に比較した結果、採卵養鶏農家では、A 農家と C 農家は、いずれの調査においても耐性株は確認されなかった。B 農家と D 農家では、平成 12・14 年度では耐性株が確認されたが、平成 16 年度は認められなかった (表 6)。

肉用鶏農家では、平成 12・14 年度は 2 農場において耐性株が認められたが、平成 16 年度は 3 農場とも耐性株は確認されなかった (表 7)。

肉用牛農家では、S および T 農家は、いずれの調査においても耐性株は認められなかった。U および V 農家は前回よりも耐性薬剤数が増え、耐性率が増加した。一方、X 農家は、平成 14 年度に 3 剤耐性菌が認められているが、平成 16 年度は認められなかった (表 8)。

養豚農家では 4 農家を対象としており、L 農家では単剤耐性が 4 剤耐性となり耐性率は増加し

表3 薬剤別の耐性率の推移

抗菌剤	平成16年度(45株)		平成12・14年度(28株)	
	耐性菌株数	耐性率(%)	耐性菌株数	耐性率(%)
ABPC	9	20.0	11	39.3
CTF		0.0		0.0
CXM		0.0		0.0
CEZ		0.0		0.0
APM		0.0		0.0
DM		0.0		0.0
GM		0.0	1	3.6
KM	3	6.7	3	10.7
SM	15	33.3	7	25.0
OTC	10	22.2	17	60.7
BCM		0.0		0.0
CP	6	13.3	5	17.9
SDMX		0.0		0.0
ERFX		0.0	2	7.1
OFLX		0.0	2	7.1
NA		0.0	3	10.7
OXA		0.0	2	7.1
ODX		0.0		0.0
TMP	8	17.8	5	17.9

表4 薬剤耐性パターン(平成16年度)

畜種	耐性パターン	株数
肉用牛	ABPC・OTC・SM	2
	SM	2
	—	7
肥育豚	ABPC・OTC・KM・SM・TMP	1
	ABPC・OTC・SM・CP・TMP	1
	ABPC・OTC・SM・TMP	1
	ABPC・OTC・CP・TMP	1
	ABPC・SM・CP・TMP	1
	ABPC・OTC・SM	2
	SM・CP・TMP	2
	OTC・TMP	1
	KM・SM	2
	SM・CP	1
	OTC	1
	—	4
	採卵鶏	—
肉用鶏	—	6

—: 検査した全ての薬剤に感受性

た。P農家では4剤耐性が3剤耐性に、Q農家では11剤耐性が5剤耐性となり、耐性率は低下した。R農家では耐性株は全く認められなかった(表9)。

R農家は衛生状態も良く、抗菌性物質の使用に非常に気を遣っており、添加剤の投与も疾病の発生しやすい季節のみに用いるなど慎重に使用しているため、疾病が発生した際にも早期に終息している。

以下、R農場で発生した浮腫病が早期に清浄化された事例を紹介する。

#### 4. 事例紹介

##### 1) 農家の概要

R農家は、繁殖母豚90頭、肥育豚約1,200頭を飼養している一環経営の農家である。豚舎は全て開放豚舎で、繁殖候補豚を静岡県袋井市場から

表 5 薬剤耐性パターン (平成 12・14 年度)

畜種	耐性パターン	株数
肉用牛	OTC・KM・SM	1
	OTC・ABPC	3
	OTC・SM	1
	—	4
肥育豚	OTC・ABPC・KM・SM・CP・ERFX・OFLX・NA・OXA・TMP	2
	OTC・ABPC・CP・TMP	1
	OTC・SM	1
	OTC	1
	—	1
採卵鶏	OTC・SM	1
	OTC	1
	—	4
肉用鶏	OTC・KM・SM	1
	OTC・SM・CP	1
	OTC・ABPC・CP	1
	OTC・SM	1
	ABPC・TMP	1
	—	1

—：検査した全ての薬剤に感受性

表 6 抗菌性物質使用歴と耐性パターン (採卵鶏)

農家名	年度—菌株	OTC	SM	使用抗菌性物質*		備 考
				飼料添加物	動物医薬品	
A	H14-1			CL, VGM, SQ, ETB	—	・初生導入
	H16-1					・添加物のみ
	H16-2					
B	H12-1					・大雛導入
	H12-2					
	H14-1	○		—	—	
	H16-1					
	H16-2					
C	H14-1					・初生導入
	H16-1			—	—	・抗菌性物質使用しない方針
	H16-2					
D	H14-1	○	○			・中雛導入
	H16-1			SLM, AVM	—	
	H16-2					

\*：使用抗菌性物質：普段農場において使用されている薬剤（採材した個体に投与された薬剤とは限らない）  
 ○：当該薬剤に耐性 —：使用せず  
 コリスチン（CL），バージニアマイシン（VGM），アピラマイシン（AVM），サリノマイシン（SLM），  
 スルファキノキサリン（SQ），エトパペート（ETB）

表7 抗菌性物質使用歴と耐性パターン (肉用鶏)

農家名	年度-菌株	ABPC	OTC	SM	使用抗菌性物質*		備考
					飼料添加物	動物医薬品	
E	H14-1	○	○		CL, ER,		・初生導入
	H16-1				SQ, APL	—	・地鶏
	H16-2				ETB		
F	H14-1				CL, ER,	SQ (口)	・初生導入
	H16-1				VGM, APL	OFLX (口)	・地鶏
	H16-2				ETB		
G	H12-1	○	○				・初生導入
	H12-2		○	○			
	H16-1				SLM, AVM	LCM (口)	
	H16-2						

○：当該薬剤に耐性 —：使用せず (口)：経口薬  
 リンコマイシン (LCM), エンラマイシン (ER), アンプロリウム (APL)

表8 抗菌性物質使用歴と耐性パターン (肉用牛)

農家名	年度-菌株	ABPC	OTC	KM	SM	使用抗菌性物質*		備考
						飼料添加物	動物医薬品	
S	H14-1							・育成牛導入
	H16-1					—	—	・交雑種
	H16-2							
T	H14-1							・育成牛導入
	H16-1					—	—	・交雑種
	H16-2							
U	H12-1	●	○					・哺育牛導入
	H12-2	●	○			BC, CL	PC (注)	・交雑種, 乳用種
	H14-1	●	○				KM (注)	
	H16-1	●	○		○		S-T合剤(注)	
	H16-2	●	○		○			
V	H14-1							・哺育牛導入
	H16-1				○	BC, CL,	—	・交雑種
	H16-2				○	MNS, CTC		
X	H14-1		○	●	○			・哺育牛導入
	H16-1					BC, CL,	PC (注)	・交雑種, 乳用種
	H16-2					MNS, CTC		

●：当該薬剤に耐性 (同系統薬剤を使用) ○：当該薬剤に耐性 (同系統薬剤の使用なし)

\*：使用抗菌性物質：普段農場において使用されている薬剤 (採材した個体に投与された薬剤とは限らない)

(注)：注射薬, —：使用せず

バシトラシン (BC), モネンシン (MNS), クロルテトラサイクリン (CTC)

表 9 抗菌性物質使用歴と耐性パターン (肥育豚)

農家名	年度・菌株	ABPC	CP	ERFX	GM	KM	NA	OFLX	OTC	OXA	SM	TMP	使用抗菌性物質*		備 考	
													飼料添加物	動物医薬品		
L	H14-1								●					クエン酸モランテル, CL, AVM, EFM	PC (注), DOXY (口), S-T 合剤 (口・注)	一貫経営
	H16-1	●							●		○	●				
	H16-2															
P	H12-1	●	○						○				●	クエン酸モランテル, CL, AVM, EFM	PC (注), S-T 合剤 (注)	一貫経営
	H12-2	●							○				●			
	H16-1		○								○	●				
	H16-2		○								○	●				
Q	H14-1	●	○	●	○	●	○	○	●	○	○	○		クエン酸モランテル, DMA, CL, NHT, AVM	PC (注), KM (注), CTC (口), ERFX (注), FFC (注)	一貫経営
	H16-1	●	○						●		○	○				
	H16-2	●				●			●		○	○				
R	H14-1													クエン酸モランテル, DMA, CL, NHT, AVM	PC (注), KM (注), TS (口), CTC (口), SMMX (口), S-T 合剤 (注)	一貫経営
	H16-1															
	H16-2															

●：当該薬剤に耐性 (同系統薬剤を使用) ○：当該薬剤に耐性 (同系統薬剤の使用なし)

\*：使用抗菌性物質：普段農場において使用されている薬剤 (採材した個体に投与された薬剤とは限らない)

(口)：経口薬, (注)：注射薬, -：使用せず

デストマイシン A (DM-A), タイロシン (TS), ノシヘプタイド (NHT), ドキシサイクリン (DOXY), エフロトマイシン (EFM), スルファモノメトキシ (SMMX), フロルフェニコール (FFC)

導入しており、導入の際はすぐに豚舎には入れず、オーエスキー病 (AD) と豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) の陰性を確認するまで隔離している。

ワクチンは繁殖豚に AD, 日本脳炎および豚パルボウイルス病を、肥育豚に豚丹毒を接種している。衛生対策として、人や物の場内への入場制限を行うほか、豚の出荷や導入時は自家車両を用い、その都度洗浄・消毒を実施している。

## 2) 発生概要

発生時期は、平成 15 年 10 月 15 日～18 日までの 4 日間に、28 豚房ある育成舎において No.9, 10, 11 の 3 豚房で約 5 週齢の豚がそれぞれ 5 頭, 3 頭, 2 頭死亡した。また、後駆麻痺や軟便、軽度の発咳、発熱などを呈する個体も認められた。

その間に、PC と KM での治療を行っていたが、薬剤感受性試験成績によりスルファドキシシと TMP の合剤の注射を実施したところ 4 日間で終息した。

当該農家で普段治療に使用している薬剤は PC と KM のみで他の薬剤は基本的に使用していな

かった。

## 3) 病性鑑定成績

死亡豚 4 頭と、同居豚 3 頭の糞便について病性鑑定を行ったところ、病理解剖所見で全身性の浮腫病変、組織所見で腸間膜に分布する動脈のフィブリノイド変性と壊死が認められた。

細菌分離により、Vero 毒素 Stx2e を産生する大腸菌が分離されたことから、浮腫病と診断された。

## 4) 症例間の薬剤感受性比較

分離された Stx2e 産生大腸菌の薬剤感受性試験成績では、ABPC や SM を始め、多くの薬剤に対して高い感受性が認められた。一方、当所の管内では過去 3 年間に 5 例の大腸菌症の発生が確認されたが、そのうち 4 例 (K 市・下痢症, I 市・浮腫病, T 市・浮腫病) は肥育豚の 1～3 割が死亡し、いずれも大きな被害がもたらされた。また、終息までに 1～3 ヶ月の長期間を要した。

この様な長期間の発生と、甚大な被害を被った

理由として、分離された大腸菌がいずれも多剤耐性を有していたこと、また、農場が PRRS を始めとする多岐な疾病に汚染されていたこと、衛生管理が十分でないことなどが考えられた。

H 町の症例では、感受性の高い薬剤が多く認められるが、この農家では獣医師による衛生的な管理が行われていた (表 10)。

## 5) 対策

この浮腫病対策として、生菌製剤の増量と発生豚房の消石灰による消毒や発症豚の隔離の徹底、薬剤感受性試験成績に基づく適切な薬剤投与等を実施した。同時に、一般的衛生対策として、密閉しない、環境の改善などの指導も行った。

## 6) 考察

今回の浮腫病が早期に清浄化できた理由として、熱心な飼養管理のため発症豚を早期に見てきたこと、AD や PRRS が陰性であったため、複合感染症が起こらなかったこと、普段薬剤をほとんど使用しないため薬の効果が高かったこと、家畜保健衛生所への信頼感が強く病性鑑定の依頼がとても早かったこと、などが挙げられる。

これらがお互いに相乗効果を奏しており、飼養管理、衛生管理が良いからこそ薬に頼らない管理ができ、いざ疾病が発生したときに高い治療効果が得られた良い事例であると思われる。

## 5. まとめと考察

今回、同一農場における耐性菌の推移を見る目的で、大腸菌の薬剤耐性調査を実施した。

平成 16 年度の調査では、単剤から 5 剤耐性が認

められたが、キノロン系、第 3 セフェム系薬剤に対する耐性株は認められなかった。また、農場毎に比較した場合でも耐性薬剤数が減った農家が増えた農家を上回り、耐性率は低下した。この理由の 1 つとして、ワクチンや生菌剤、ビタミン剤などの利用が増え、家畜の状態が良好となり、抗菌性物質を使用する機会が減少したことが考えられる。

平成 16 年度の調査でも平成 12・14 年度と同様に、4 剤以上の多剤耐性株は肥育豚のみに確認された。耐性株の出現率も圧倒的に豚が多かったが、このことは豚では疾病の発生が多く抗菌剤に頼る機会が多いことを裏付けるものと考えられる。

このように、耐性株の多い養豚においても、抗菌性物質を慎重に使用している農家では、耐性株が認められなかった。この農家においては、治療が困難で終息までに長期間を要す浮腫病が発生した際にも、原因菌は多くの治療薬に高感受性であり、速やかに終息している。全く抗菌性物質を使用しない農家からも耐性株は認められず、抗菌剤の使用がなければ耐性株が出現しにくいこと、また、使用していてもその使い方が適正であれば耐性株が出現しにくく、効率的な生産ができることが示唆された。そのためには、畜産現場における臨床獣医師の指導の下、適正に使用することが大切であると思われる。

また、安全で安心な畜産物を求められている中で、本調査を継続しデータを蓄積して還元することは、農家指導に有用と思われる。

## 謝 辞

本調査の実施に当たりご助言いただいた動物医

表 10 病性鑑定症例由来大腸菌の薬剤感受性

病名	市町	発生時期	PCG	ABPC	SM	KM	OTC	CL	BCM	ST	SO	OA	ERFX
浮腫病	M市	H 15.10	M	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
下痢症	K市	H 14.10	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R
浮腫病	I市	H 14. 8	NT	S	R	S	R	M	NT	R	R	R	S
下痢症	K市	H 14. 5	M	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S
浮腫病	T市	H 13.10	NT	S	M	M	R	M	S	R	R	R	R
浮腫病	H町	H 13.10	NT	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S: 感受性 (高度感受性), M: 中間 (中等度感受性), R: 耐性

薬品検査所抗生物質製剤検査室高橋室長，調査に協力していただいた畜産農家の方々に深謝します。

## 要 約

耐性菌出現動向と抗菌性物質使用歴の関係を定点観測により調べた。平成 16 年度に管内の畜産農家 23 戸の健康な家畜の糞便由来大腸菌 45 株について，一濃度ディスク拡散法で薬剤感受性を調査し，平成 12・14 年度の成績と比較した。平成 16 年度分離株では供試 19 薬剤中 6 剤に耐性株を認め，耐性率はストレプトマイシン (33.3%)，オキシテトラサイクリン (22.2%)，アンピシリン (20.0%)，トリメトプリム (17.8%)，クロラムフェニコール (13.3%)，カナマイシン (6.7%) で

あった。畜種別では，肥育豚で単剤～5 剤耐性が 18 株中 14 株，肥育牛で単剤～3 剤耐性が 11 株中 4 株確認された。肉用鶏と採卵鶏では耐性株を認められなかった。平成 12・14 年度は全畜種で耐性株が確認され，肥育豚でキノロン剤を含む 11 剤，10 剤耐性が各 1 株あったが，平成 16 年度にはその様な多剤耐性株は認められなかった。定点観測農場 16 戸を比較したところ，耐性率低下農場は 7 戸，増加農場は 3 戸で，抗菌性物質使用歴のない農家と慎重使用励行農家を含む 6 戸は何れの年度も耐性株を認めなかった。

## 参考文献

- 1) 高橋敏雄：畜産の研究，56(2)，9-16 (2002)
- 2) 高橋敏雄ら：動薬検ニュース，257，3-7 (2004)



## Fixed Point Observation of Relatedness between Usage of Antimicrobial Agents and Isolation Frequencies of Resistant-*Escherichia coli* from Food-producing Animals

Terumi YOSHIDA\*, Keiichi HACHISU and Keito TASEI

\*Corresponding author: *Saitama Prefectural Chuo Live Stock Hygiene Service Center, 107-1, Besshocho, Kita-ku, Saitama, 331-0821, Japan*

A total of 45 *E. coli* strains isolated from feces of healthy animals fed on 23 farms in western area of Saitama Prefecture were submitted for antimicrobial susceptibility test using a disk diffusion method, and the occurrence of antimicrobial resistant bacteria and the usage history of antimicrobials on the farms during the period of 2000 to 2004 under a fixed point observation were compared.

Isolates in the current year (2004) showed resistance to 6 of 19 antimicrobials tested. Frequency of strains resistant to streptomycin, oxytetracycline, ampicillin, trimethoprim, chloramphenicol, kanamycin was 33.3%, 22.2%, 20.0%, 17.8%, 13.3%, 6.7%, respectively. Moreover, 14 of 18 porcine isolates and 4 of 11 bovine isolates exhibited resistance to 1 to 5 antimicrobials and 1 to 3 antimicrobials, respectively. On the other hand, no drug resistance could be found in the isolates from broiler and layer chickens.

In isolates from all animal species in the past year (2000 and 2002), a wide variety of resistance patterns were detected, and 2 strains showed multiple resistance to 10 or 11 antimicrobials including fluoroquinolones. However, such resistance pattern could not be found among isolates in the current years.

On 16 farms where fixed point observation were completely conducted, 7 farms had a decreasing tendency and 3 farms had a increasing tendency of antimicrobial resistance rates. It should be noted that there were no appearance of resistant strains on the remaining 6 farms including farms without antimicrobial usage and/or enforcing rigidly the principle of prudent use.

### 討 論 (座長：澤田拓士 日獣大, 高橋敏雄 動薬検)

質問 (浅井鉄夫, 動薬検)

導入動物の農場到着時の耐性菌の保有状況は調べたことはあるか?

答 (吉田輝美)

ありません。今回の調査を行って、採材個体のステージや農場の衛生状況を整理して調査することは興味深く感じました。

質問 (高橋敏雄, 動薬検)

今後の定点観測調査の継続へ向けての基本方針および具体的方法 (改良点も含めて) を伺いたい。

答 (吉田輝美)

採材方法, 具体的には抗生剤が投与されている期間と出荷前の投薬していない期間の比較や採材株数, また, 対象農家などを検討し, 取り組んでいきたいと思っています。

意見 (佐藤静夫, 科飼研)

定点観測的な仕事は重要と思うが, 検査菌株数をもう少し増やしていただければと思います。また, プロイラーなどでは入糞直後の菌と出荷前の菌など複数時点での菌株についてみていただければ孵化場での汚染菌の耐性状況もわかるのではと思いますので調査をお願いします。