

原 著

SPF および Conventional 豚農場由来 大腸菌の薬剤耐性

柏崎 守* 宮原 強**

現在、抗生物質をはじめとする各種抗菌剤が発育促進や感染症の予防および治療を目的として家畜に応用されている。その結果として耐性菌が増加し、公衆衛生上の問題も含めてその弊害が指摘されるに至り、今や耐性菌対策は世界各国の共通な問題となっている⁶⁾。

ところで、SPF 豚農場では Conventional 豚農場と比較して各種感染症の発生頻度がきわめて少ないことは周知の事実である。このため、結果的に抗菌剤の使用頻度や使用量がある程度制限される傾向にある。これに対し、Conventional 豚農場では各種感染症が多発する傾向がみられ、その防除対策として抗菌剤の投与を行う場合が多い。このような豚集団に対する抗菌剤の使用状況の相違が、耐性菌の出現にどのように影響しているかを知ることは今後の耐性菌対策を考える際の重要な参考資料となる。

そこで、ここでは抗菌剤の使用状況が明らかに異なる SPF および Conventional 豚農場を選び、両養豚場由来大腸菌について各種抗菌剤に対する感受性試験を行い、耐性菌の出現頻度、耐性パターンおよびRプラスミッドの検出率を比較調査した。その成績について述べる。

材料および方法

1) 調査養豚場

調査対象としたのは4養豚場で、このうち2養豚場はいわゆる SPF 豚農場と呼ばれるものである。両 SPF 豚農場はいずれも千葉県下において、畜産目的に沿った SPF 豚の飼育管理方

式が実施されていた⁴⁾。すなわち、ここでは厳重な環境規制が実施され、さらに閉鎖的に繁殖から肥育まで一貫した豚の生産方式が採用されている。SPF 豚の飼育頭数はそれぞれ約1,000および1,500頭などで、これら豚集団に対して定期的な SPF 検定が実施されてきたが⁵⁾、過去数年間に注目すべき疾病の侵入は認められていない。一方、抗菌剤の使用状況を聞き取り調査したところ、飼料はすべて市販のペレット製品が使用されており、これに抗菌剤を特別に添加するようなことはしていなかった。また、注射やその他の方法による投薬も外傷や去勢時の特殊な場合を除きほとんど行われたことがないという。

一方、他の2養豚場は一般の豚を飼育するいわゆる Conventional 豚農場と呼ばれるもので、それぞれ神奈川および栃木県下にあり、いずれも市場からの子豚導入を主体としてもっぱら肥育が行われていた。両 Conventional 豚農場とも常時約2,000頭ほどの豚が飼育されていたが、特別な環境規制は実施されておらず、また衛生状態は不良で、各種疾病の発生が多く、とくに呼吸器および消化器に関連した感染症が常在化していた。このため、これら疾病の防除対策として各種抗菌剤の飼料添加がしばしば行われており、さらに注射による投薬も汎用される傾向にあった。

2) 糞便の採取

各養豚場において体重20~60kgの一見健康な肥育豚を無作為に選び、排糞直後の糞便5~10gをビニール袋に個別別に採取した。糞便は

* 農林水産省家畜衛生試験場

** 千葉県養豚試験場

約4℃に冷蔵して6時間以内に実験室へ搬入し、ただちに培養に供試した。

3) 大腸菌の分離

糞便1gを生理食塩水9mlで10倍に希釈し、その1白金耳をマッコンキー寒天培地平板に接種した。平板培地を37℃で約18時間培養後、大腸菌類似の発育集落3~5個を選び、常法に従って同定した¹⁾。大腸菌と同定された菌株は半流動培地に培養・保存し、以後の実験に供試した。

このようにして、1970年12月に2SPF豚農場において45頭から216株、また1971年1月に2Conventional豚農場において50頭から191株の大腸菌をそれぞれ分離した。

4) 供試抗菌剤

抗菌剤はアンピシリン (ABPC), ストレプトマイシン (SM), クロラムフェニコール (CP), テトラサイクリン (TC), カナマイシン (KM), コリスチン (CL), スルファモノメトキシシン (SA) およびナリジクス酸 (NA) の8種類を供試した。

5) 感受性試験

家畜の耐性菌研究会の定める方法に準拠し、

表1 抗菌剤別にみた耐性および感受性大腸菌の出現頻度

抗 菌 剤	耐 性 株 数 (%)	
	SPF*	Conven.**
ABPC	0 (—)	8 (4.2)
SM	49 (22.7)	135 (70.7)
CP	2 (0.9)	28 (14.7)
TC	81 (37.5)	185 (96.9)
KM	44 (20.4)	93 (48.7)
CL	0 (—)	0 (—)
SA	20 (9.3)	144 (75.4)
NA	0 (—)	0 (—)
感受性株数(%)	113 (52.3)	2 (1.0)
供試株数	216	191

* SPF 豚農場

**Conventional 豚農場

寒天平板希釈法によって実施した²⁾。各抗菌剤は2倍段階に希釈して用いた。なお、耐性限界値は最小発育阻止濃度の分布状況からSAで200μg/mlまたはそれ以上、その他の抗菌剤では25μg/mlまたはそれ以上とした。

6) 耐性伝達試験

先に報告した方法に従い、混合培養法で調べた³⁾。受容菌として用いた大腸菌K-12の派生株ML-1410 (NA耐性)へ、耐性の伝達が認められるものをRプラスミッドによる耐性と判定した。なお、本調査における耐性伝達試験はすべて37℃で行った関係上、温度感受性Rプラスミッドについては調べられていない。

成 績

① SPF および Conventional 豚農場由来大腸菌における各抗菌剤に対する耐性の出現頻度は、表1に示したとおりである。この表から明らかのように、SPF豚農場由来大腸菌の半数以上はいずれの供試抗菌剤に対しても感受性を示したが、Conventional豚農場由来のもので感受性を示したのはごく少数で、大部分の大腸菌はいずれかの抗菌剤に対して耐性を示した。また、両養豚場由来大腸菌ともTCに対して耐性を示すものが最も高率に認められ、さらにSM, KM, SAなどに対する耐性も比較的多く認められた。しかし、CLおよびNAに対してはすべての大腸菌が感受性を示した。

② 表2および3は、SPF および Conventional 豚農場由来耐性大腸菌における耐性パターンをそれぞれ示したものである。SPF豚農場由来耐性大腸菌では、各抗菌剤に対する耐性の組み合わせによって1~4剤耐性まで認められ、その耐性パターンは13種類におよんでいた。このうち、TCやKMの単剤耐性が最も多く、ついで多いのがSM・TCやSM・TC・KMの2~3剤耐性であり、4剤耐性の大腸菌はごく少数みられたにすぎなかった。これに対し、Conventional豚農場に由来した耐性大腸菌のそれはさらに複雑化していた。すなわち、各抗菌剤の組み合わせで1~5剤耐性、合計17種類の

表2 SPF 豚農場由来大腸菌の耐性パターンおよびRプラスミッドの検出率*

耐性パターン	株数(%)	R ⁺ 株数(%)**
SM・CP・TC・SA	1	0
SM・TC・KM・SA	1	1
SM・TC・KM	20	8
SM・TC・SA	7	1
SM・TC	12	2
SM・SA	7	7
CP・TC	1	0
TC・KM	9	1
TC・SA	3	0
KM・SA	1	1
SM	1	0
TC	27	2
KM	13	2
合 計	103	25 (24.3)

*温度感受性Rプラスミッドは含まれていない

**各耐性パターン(1~4剤耐性)の株数に対する割合

表3 Conventional 豚農場由来大腸菌の耐性パターンおよびRプラスミッドの検出率*

耐性パターン	株数(%)	R ⁺ 株数(%)**
ABPC・SM・CP・TC・KM	5	2
SM・CP・TC・KM・SA	3	3
ABPC・CP・TC・KM	3	2
SM・CP・TC・KM	1	1
SM・CP・TC・SA	12	2
SM・TC・KM・SA	37	13
CP・TC・KM・SA	1	0
SM・TC・KM	25	20
SM・TC・SA	48	19
CP・TC・KM	2	1
CP・TC・SA	1	0
TC・KM・SA	14	10
TC・KM	2	0
TC・SA	27	5
SM・SA	1	1
SM	3	3
TC	4	0
合 計	189	82 (43.4)

*温度感受性Rプラスミッドは含まれていない

**各耐性パターン(1~5剤耐性)の株数に対する割合

耐性パターンが認められた。しかもこれらパターンのうち、SM・TC・SA や SM・TC・KM・SA の3~4剤耐性が大部分を占め、5剤耐性も少なからず認められた。しかし、単剤耐性や2剤耐性の出現は SPF 豚農場の場合に比較して少なく、とくに単剤耐性 (SM および TC) はごく少数認められたにすぎなかった。

一方、R プラスミッドの検出成績は表2および3に示したとおりである。この表から明らかなように、SPF 豚農場由来耐性大腸菌におけるR プラスミッドの検出率は、Conventional 豚農場におけるそれに比較して低かった。なお、R プラスミッドにおける耐性パターンは表に示していないが、供試大腸菌における耐性の全部または一部が受容菌へ伝達された。

考 察

以上の成績から明らかなように、SPF 豚農場における耐性菌の出現状況は Conventional 豚農場のそれに比較してかなり相違していた。すなわち、SPF 豚農場においては耐性大腸菌の出現率およびRプラスミッドの検出率はいずれも低く、さらに耐性パターンをみても単純化する傾向にあった。

耐性菌の出現状況が、両養豚場のあいだで異なった原因として種々のことが推定されるが、まず抗菌剤の使用頻度や使用量を指摘することができよう。調査対象となった2 SPF 豚農場では、いずれも子豚期(体重約20 kg)まで抗菌剤の添加された市販飼料が給与されていたものの、それ以後においては抗菌剤の添加はまったくなされておらず、また注射による投薬もほとんど必要としなかった。このように、SPF 豚農場における抗菌剤の使用はかなり制限されていたものとみられるが、Conventional 豚農場ではこれとは対照的に汎用される傾向にあった。すなわち、当養豚場における衛生状態は不良で、種々の疾病、とくに呼吸器および消化器に関連した慢性感染症の発生が多く、これら疾病の防除対策として各種抗菌剤が飼料に添加されることがあり、さらに注射やその他の方法による投薬が子豚期以後においてもしばしば行われ

ているとのことであつた。このような抗菌剤の汎用は、当然のことながら耐性菌の出現を容易にさせるとともに、耐性パターンにも大きく影響するものと考えられる。

さらに、飼育管理方法が SPF と Conventional 豚農場とではかなり異なつた部分があり、このことが耐性菌の出現状況に直接または間接的に影響をおよぼしたことも考えられる。すなわち、SPF 豚農場では周囲からの各種疾病の侵入を防止する目的で、微生物制御に重点をおいた厳重な環境規制が実施されている。このため、環境規制内と外部とのあいだで耐性菌が交流する機会は少なく、周囲の飼育環境における耐性菌の出現状況がそのまま反映され難い状態にあるといえよう。一般に、耐性菌の交流は豚の移動とともになされる場合が多いと考えられるが、移動は SPF 豚農場間のみで行われ、いわゆる Conventional 豚の導入はまったく行われぬ。これに対し、Conventional 豚農場では外部(子豚市場)から常時多数の豚が導入されており、さらに環境規制もほとんどなされていない状態にあつた。このような飼育管理方法がなされているところでは、外部とのあいだで耐性菌の交流が常時行われているとみられる。このため、当養豚場における抗菌剤使用の有無にかかわらず、周囲における耐性菌の出現状況にかなり影響されることは想像に難くない。

今回の調査においては各養豚場における使用抗菌剤の種類、使用量、使用頻度、投薬法などの詳細について必ずしも明確に把握できない部分が多くあつた。しかし、調査対象となつた 2 Conventional 豚農場では明らかに大量の各種抗菌剤が調査時に使用されており、不良な衛生環境下での抗菌剤の使用が耐性菌の出現率、耐性パターン、Rプラスミッドの検出成績に少なからぬ影響を与えていたことは想像に難くない。このことは抗菌剤の使用がきわめて制限されていた 2 SPF 豚農場における成績と比較すればなおのこと明らかであろう。従来から抗菌剤の応用と耐性菌の出現とは表裏一体の関係にあることがしばしば指摘されてきたが⁷⁾ 本調査においてこのことが再確認されたといえよう。

要 約

SPF および Conventional 豚農場由来大腸菌について、数種の抗菌剤 (ABPC, SM, CP, TC, KM, CL, SA および NA) に対する感受性を調べ、また耐性菌については R プラスミッドの検出を行い、つぎの成績を得た。

- 1) SPF 豚農場由来 216 株中 113 株 (52%) は感受性を示した。これに対し、Conventional 豚農場由来 191 株のうち感受性を示したのは 2 株 (1%) のみであつた。
- 2) 耐性パターンをみると、SPF 豚農場からは単剤耐性のものが多く検出されたのに対し、Conventional 豚農場からは多剤耐性菌が多く検出される傾向にあつた。
- 3) SPF および Conventional 豚農場由来耐性菌のうち、R プラスミッドによるものはそれぞれ 103 株中 25 株 (24%) および 189 株中 83 株 (43%) であつた。

文 献

- 1) Cowan, S. T. : Cowan and Steel's Manual for identification of medical bacteria, 2nd ed. Cambridge University Press, England, (1974) 坂崎利一訳 : 医学細菌同定の手びき, 第 2 版, 近代出版, 東京 (1974)
- 2) 家畜の耐性菌研究会 : 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 (1976)
- 3) Kashiwazaki, M., Namioka, S. and Terakado, N. : Distribution of transferable drug-resistance factors in fecal *Escherichia coli* from healthy pigs. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 12, 17~22 (1972)
- 4) 宮原 強 : 千葉県 SPF 豚実用化システムの概要および実用化状況について. SPF Swine, 4, 33~39 (1973)
- 5) 波岡茂郎 : SPF 検定法. SPF Swine, 2, 15~18 (1971)
- 6) Report of Joint Committee on the use of Antibiotics in Animal Husbandry and Veterinary Medicine : Her Majesty's Stationary Office, London, (1969)
- 7) 寺門誠致 : 抗生物質の飼料添加と耐性菌について. SPF Swine, 2, 38~43 (1971)