牛の病性鑑定材料由来サルモネラの薬剤耐性

中野達郎^{*1)} 浜岡隆文^{*2)} 寺門誠致^{*2)}

(昭和 63 年 9 月 16 日受理)

Drug Resistance and R Plasmids of *Salmonella* Isolated from Calves in 1984 to 1987

TATSUROU NAKANO (Chubu Livestock Hygiene Service Center, Saga

840-01), HIROFUMI HAMAOKA and NOBUYUKI TERAKADO

SUMMARY

A total of 76 *Salmonella* strain (70 *S. typhimurium* and 6 *S. dublin*) isolated from calves in 1984 to 1987 were examined for drug resistance and prevalence of R plasmids. High incidence of multiple drug resistance was observed in the *S. typhimurium* strain, of which over 60% showed multiple resistance to tetracycline (TC), chloramphenicol (CP), streptomycin (SM), kanamycin (KM), aminobenzympenicillin (ABPC), and sulfonamide (SA). Of 57 drug-resistant *Salmonella* strains (51 *S. typhimurium* and 6 *S. dublin*) examined, 41 (72%) were found to carry R plasmids, capable of performing a conjugal transfer.

要 約

昭和 59 年から 62 年にかけて 6 県下（福島、栃木、長野、広島、島根、佐賀）で分離された肉用子牛を主とした牛の病性鑑定材料由来 *Salmonella typhimurium* 70 株および *S. dublin* 6 株、合計 76 株について、薬剤耐性と伝達性 R プラスミドの分布状況を調査し、以下の成績を得た。

1) *S. typhimurium* は全供試菌株の約 70% がテトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CP), ストレプトマイシン (SM), カナマイシン (KM), アミノベンジル・ペニシリン (ABPC), および スルファジメトキシン (SA) に対して耐性を示し、ナリジクス酸 (NA) に対しても約 43% が耐性であった。耐性型では、供試株の約 63% が 6 剤または 7 剤の多剤耐性を示した。

2) *S. dublin* は供試菌株のすべてが TC, SM, KM, ABPC のいずれかに耐性を示し、耐性型は 3 剤または 4 剤耐性であった。

3) 耐性株からの R プラスミド検出率は、*S. typhimurium* が 71%, *S. dublin* で 83% であった。

特定血清型のサルモネラは、人畜共通感染症の原因菌として、家畜衛生のみならず公衆衛生からも関心が寄せられている。とくに、血清群の 04 の *S. typhimurium* は幼獣の下痢や敗血症の原因菌であるばかりか、ヒトの食中毒の原因菌としても重要である¹⁾。いっぽう、血清群 09 の *S. dublin* は、欧米では古くから牛の流産菌として恐れられ、わが国でも昭和 51 年に大分県下で本菌による流産の初発例が衛藤ら²⁾によって報告されて以来、各地で黒毛和牛の流産や乳用雄子牛の下痢、敗血症例から本菌が分離されている¹²⁾。

ところで、家畜由来サルモネラの薬剤耐性に関しては、昭和 51～52 年にかけて農林水産省畜産局衛生課主催による耐性菌全国調査が実施されている³⁾。そこで問題に

されたのは、肉用肥育牛（乳用雄子牛）における高率な多剤耐性菌の出現であり、これは、子牛の集約的な飼育法の普及に伴うサルモネラ症の多発とそれに対する広汎な抗生物質使用が原因したものと考えられた¹⁴⁾。しかし、当該調査後今日までの約 10 年間、サルモネラの薬剤耐性に関する広範な調査報告はほとんどなされていない。そこで今回、最近の数年間に分離された牛由来サルモネラ (*S. typhimurium* と *S. dublin*) について薬剤耐性状況を調査したので、その成績を報告する。

1. 材料および方法

1) 供試菌株

昭和 59 年から 62 年にかけて、福島、栃木、長野、広島、島根、佐賀県下の家畜保健衛生所の病性鑑定材料から分離された牛由来サルモネラ、合計 76 株を供試した（表 1）。すなわち、病性鑑定材料の大部分は乳用雄子牛の下痢便または敗血症例における各種実質臓器であり、

*1) 佐賀県中部家畜保健衛生所（佐賀市若楠2-7-4）

*2) 農林水産省家畜衛生試験場（つくば市観音台3-1-1）

表1 供試菌株

県名	血清型	株数	分離年度
福島	<i>S. typhimurium</i>	10	昭和59, 60, 61年
	<i>S. dublin</i>	6	60, 61
栃木	<i>S. typhimurium</i>	3	61
長野	<i>S. typhimurium</i>	10	61, 62
広島	<i>S. typhimurium</i>	20	60, 61
島根	<i>S. typhimurium</i>	25	60, 61
佐賀	<i>S. typhimurium</i>	2	61
計	<i>S. typhimurium</i>	70	
	<i>S. dublin</i>	6	

同定された血清型は *S. typhimurium* が 70 株, *S. dublin* が 6 株である。

2) 供試薬剤

テトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CP), ストレプトマイシン (SM), アミノペンシル・ペニシリン (ABPC), カナマイシン (KM), スルファジメトキソン (SA), ナリジクス酸 (NA), トリメトプリム (TMP), リファンピシン (RFP) の合計 9 種類の抗菌剤を供試した。耐性限界値は, SA が 200 μ g/ml 以上を, それ以外の薬剤では 25 μ g/ml 以上とした。

3) 感受性試験

日本化学療法学会標準法⁹⁾ に準じた寒天平板希釈法で実施した。すなわち, Trypticase Soy Broth (BBL) での 1 夜培養菌液を滅菌生理食塩液で 100 倍希釈し, その 1 ユーゼを各薬剤の耐性限界が含まれる Mueller-Hinton 寒天 (Difco) 平板に接種した。37℃ で 1 夜培養後, 平板に発育が認められたものを耐性と判定した。

4) 耐性の接合伝達試験

受容菌に RFP 耐性の大腸菌 C 600 を用い, 既報¹⁴⁾ に準じて 37℃, 1 夜混合培養法で実施した。

2. 成績

各薬剤に対する耐性率をみると, *S. typhimurium* では TC, CP, SM, KM, ABPC, SA のいずれに対しても全供試菌株の約 70% が耐性を示し, NA に対しても 43% が耐性であった (表 2)。*S. dublin* の場合も, TC, SM, KM, ABPC に対する耐性株が検出された。しかし, 供試薬剤のうちで TMP と RFP に対しては, 全供試株が感受性と判定された。

耐性と判定された菌株の耐性型に関しては, *S. typhimurium* では 7 剤 (TC・CP・SM・KM・ABPC・SA・NA) 耐性と 6 剤 (TC・CP・SM・KM・ABPC・SA) 耐性が全供試株の 60% 以上を占めていたのに対して, *S. dublin* では KM 単剤と 3 剤 (SM・KM・ABPC) 耐性が各 1 株で, 残りはすべて 4 剤 (TC・SM・KM・ABPC) 耐性であった (表 3)。

表2 牛由来 *Salmonella* の各薬剤別耐性率

薬剤	血清型	
	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. dublin</i>
TC	51 (72.9%)	4 (66.7%)
CP	44 (62.9%)	0
SM	48 (68.6%)	5 (83.3%)
KM	48 (68.6%)	6 (100%)
ABPC	50 (71.4%)	5 (83.3%)
SA	51 (72.9%)	0
NA	30 (42.9%)	0
TMP	0	0
RFP	0	0
検査株数	70 (100%)	6 (100%)

表3 牛由来 *Salmonella* の検出耐性型

耐性型	血清型	
	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. dublin</i>
7 剤耐性 TC, CP, SM, KM, ABPC, SA, NA	23 (32.9%)	0
6 剤耐性 TC, CP, SM, KM, ABPC, SA	21 (30.0%)	0
5 剤耐性 TC, SM, KM, ABPC, SA	3 (4.3%)	0
4 剤耐性 TC, SM, KM, ABPC	1 (1.4%)	4 (66.7%)
3 剤耐性 TC, ABPC, SA SM, KM, ABPC	2 (2.9%) 0	0 1 (16.7%)
単剤耐性 TC KM SA NA	1 (1.4%) 0 2 (2.9%) 6 (8.6%)	0 1 (16.7%) 0 0
感受性	11 (15.7%)	0
計	70 (100%)	6 (100%)

これら耐性サルモネラにおける伝達性 R プラスミドの保有率は, *S. typhimurium* が供試した 51 株中 36 株 (71%), *S. dublin* でも 6 株中 5 株 (83%) と高い値を示し, 供試耐性菌の多くは該耐性を感受性菌へ伝達しうることがわかった。

なお, 今回の検出耐性型に関する成績を昭和 51~52 年度の全国調査成績⁹⁾と比較すると, 表 4 のようになる。本表からも明らかなように, 今回の調査では前回時には認められなかった 7 剤および 6 剤耐性型が, 全供試株の 30% および 27% にそれぞれ認められた。

表4 牛由来 *Salmonella* の耐性型の年次比較

耐性型	昭和51～52年度*	昭和62年度**
7 剤耐性	0	23 (30.3%)
6 剤耐性	0	21 (27.6%)
5 剤耐性	14 (17.9%)	3 (3.9%)
4 剤耐性	46 (59.0%)	5 (6.6%)
3 剤耐性	5 (6.4%)	3 (3.9%)
2 剤耐性	0	0
単剤耐性	5 (6.4%)	10 (13.2%)
感受性	9 (11.5%)	11 (14.5%)
計	78	76

注 *：文献 9, 14 より引用。血清型として *S. typhimurium* (20株), *S. dublin* (4 株), *S. enteritidis* (37 株), *S. agona* (1 株), *S. naestved* (16株) を含む。

**：血清型として *S. typhimurium* (70株), *S. dublin* (6 株) を含む。

3. 考 察

肉用肥育牛由来サルモネラの薬剤耐性に関しては、寺門ら¹³⁾は昭和 45 年から 46 年にかけて苦小牧市郊外の乳用雄子牛牧場で分離した *S. typhimurium* の薬剤耐性状況を調査し、供試株 65 株のすべてが TC, SM, SA のいずれかに耐性を示し、耐性株の 94% は 3 剤 (TC・SM・SA) 耐性であったと報告している。また、昭和 51 年から 52 年に実施された全国耐性菌調査でも、多剤耐性化はさらに顕著になり、感受性菌を含む全供試菌株 78 株中 60 株 (79%) が 4 剤または 5 剤耐性であった^{9, 14)}。このような牛由来サルモネラにおける高率な多剤耐性菌の出現は、肉用化を目的としてわが国に導入された乳用雄子牛の集団飼育法に付随して認められるようになった現象といえる。すなわち、集約的飼育環境がサルモネラ症の集団発生を高め、それに対する予防用および治療用抗生物質の汎用がサルモネラが多剤耐性化を促進させたものと考えられる。

なお、昭和 45 年代を境とした牛由来サルモネラの高率な薬剤耐性化、とくに CP 耐性を伴った多剤耐性化は、わが国のみならず世界的な現象であり、その背景として前述の肉用子牛の集約的飼育法の普及と薬剤の多用が多くの研究者から指摘されている^{4, 5, 10, 11, 16)}。

今回の調査で明らかにされたことは、牛由来サルモネラでの依然顕著なる多剤耐性化現象である。とくに、*S. typhimurium* で認められた 7 剤や 6 剤耐性菌の高率な出現は、前回の全国耐性菌調査では認められなかった現象であり、きわめて注目される。同様に、前回時には耐性菌が検出されていなかった *S. dublin* に関しても、今回の調査で 4 剤耐性菌の出現が確認された。また、これら

多剤耐性菌からは高率に伝達性 R プラスミドが検出されている。このことは、すでに多くの研究者からも指摘されているように、R プラスミドと細菌の薬剤耐性化との密接なる関連性を示唆したものといえよう。

いずれにせよ、耐性菌の出現と薬剤使用との因果関係に関しては、これまでの多くの疫学調査や遺伝的研究からみても疑いの余地はないものと思われる。欧米では、乳、肉、卵といった畜産物を介した食中毒発生の際、原因菌が耐性菌であると必ずといってよいほど、家畜への抗生物質使用が公衆衛生面からも問題にされている^{1, 2, 6, 7, 15)}。したがって、家畜での耐性菌問題に対しては、家畜衛生のみならず公衆衛生や環境衛生等を含めた多方面からの監視が必要であろう。

今回の調査にあたって、菌株採取にご協力いただいた福島県郡山家畜保健衛生所の塩井一二三氏、栃木県西那須野家畜保健衛生所の矢田谷健氏、長野県松本家畜保健衛生所の市川憲一氏、広島県久井家畜保健衛生所の井田孝司氏、島根県家畜衛生研究所の原文雄氏に感謝いたします。

引用文献

- ANDERSON, E. S. and LEWIS, M. J.: *Nature*, 206, 579～583 (1965).
- BUDIANSKY, S.: *Nature*, 311, 407 (1984).
- 衛藤宗人, 小野 譲, 森 泰良: 第 84 回日本獣医学会講演要旨 (宮崎) 125 (1977).
- GRANT, R. B., BANNATYNE, R. M. and SHAPLEY, A. J.: *J. Infect. Dis.*, 134, 354～361 (1976).
- HARIHARAN, H., BARNUM, D. A. and MITCHELL, W. R.: *Can. J. Com. Med.*, 38, 213～221 (1974).
- HOLMBERG, S. D., MICHAEL, M. D., OSTERHOLM, T., et al.: *New England Med.*, 311, 617～622 (1984).
- HOLMBERG, S. D., WELLS, J. G. and COHEN, M. L.: *Science*, 225, 833～835 (1984).
- 三橋 進, 五島嗟智子, 除 慶一郎, ほか: *Chemotherapy*, 29, 76～77 (1981).
- 農林水産省畜産局: 動物用抗菌剤耐性菌調査事業成績, 昭和 53 年 3 月 (1978).
- SATO, G., FURUTA, Y., KODAMA, H., et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 36, 839～841 (1975).
- 高橋 勇: モダンメディア, 22, 248～259 (1976).
- 寺門誠致: 日獣会誌, 37, 633～639 (1984).
- 寺門誠致, 畦地速見, 小山敬之, ほか: 動薬検年報, No. 9, 51～57 (1972).
- TERAKADO, N., OHYA, T., UEDA, H., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 42, 543～550 (1980).
- 寺門誠致, 佐藤儀平, 斎田 清, ほか: 薬剤耐性菌による環境汚染, 三橋 進ら編, 121～151, 学会出版センター, 東京 (1985).
- TIMONEY, J. F.: *J. Infect. Dis.*, 137, 67～73 (1978).