

Ⅲ 研 究 報 告

〔山梨衛公研年報 第23号 30—32頁, 1979〕

ブロイラー飼料に添加した抗菌物質と耐性菌の出現

金丸佳郎 金子通治 春日徳彦

近年の抗菌物質使用量の増大に伴ない、臨床材料から分離される薬剤耐性菌も増加している。また耐性の原因として主要な位置を占める薬剤耐性因子（Rプラスミッド）に関する報告も数多い。最近分子生物学的手法によって、このRプラスミッドの本質がかなりよく理解されるようになってきた。しかし耐性菌の由来、ひいては耐性遺伝子の起源を示唆するような実験事実は極めて乏しい。これはどのような実験事実をもって耐性菌の由来を証明したことになるかが、把握されていない現状によるものと考えられる。

この観点から畜産関係では飼料に多種類の抗菌物質が添加され、長期にわたって飼育動物に投与されていることに耐性菌出現の原因を求め、家畜からの耐性菌分離およびRプラスミッドの検出が行なわれている。最近これに関する多数の報告があるが、いずれにおいても多様な耐性菌が検出され、またRプラスミッドの保有率も高い。しかし家畜から分離されたと同様な耐性菌が、飼育者あるいは土壌からも検出されることから、これは一般的な環境汚染を示すものであって、抗菌物質の使用による耐性菌の出現を説明できるとは考えられない。しかしこの方向での調査は、さらによくコントロールされた実験を設定すれば、重要な意味をもつであろう。

われわれはこのたび、農林水産省が行なったブロイラー飼料に添加された抗菌物質の定量と、その飼料のみで飼育されたブロイラーの残存抗菌物質の調査に参加する機会を得た。そこでブロイラーの製品化に際して、腸管

内容物より大腸菌を分離し、その薬剤耐性を検査したのでその結果を報告する。

材 料 と 方 法

1. ブロイラーの飼育と大腸菌の分類

表1に示したようにA, B, Cの3群にわけて飼育されたブロイラーを用いた。いずれも前期用飼料で1か月、後期用飼料で1か月間飼育し、最後に抗菌物質を含有しない飼料を1週間与えた。表中の抗菌物質含有量は農林水産省の「特定添加物の試験法」にしたがって測定したものである。ブロイラーの製品化に際してA, B, Cの各群からの3羽ずつを検査対象とした。腸内容物を分離培地に塗抹し、1羽から20コロニーずつの大腸菌と思われる菌を釣菌した。ひき続いて行なった生化学的性状検査から、得られた大腸菌はA群45株、B群43株、C群22株の計110株であった。

図1に体重増加と含有量から算定される1週間ごとの抗菌物質投与量を示した。

表1 飼料添加抗菌物質と含有量 (μg/g)

A群	前期	テトラサイクリン	34.2
	後期	コリスチン	4.3
B群	前期	テトラサイクリン	32.3
	後期	モネンシン	80.0
C群	前期	コリスチン	9.4
	後期	コリスチン	4.3

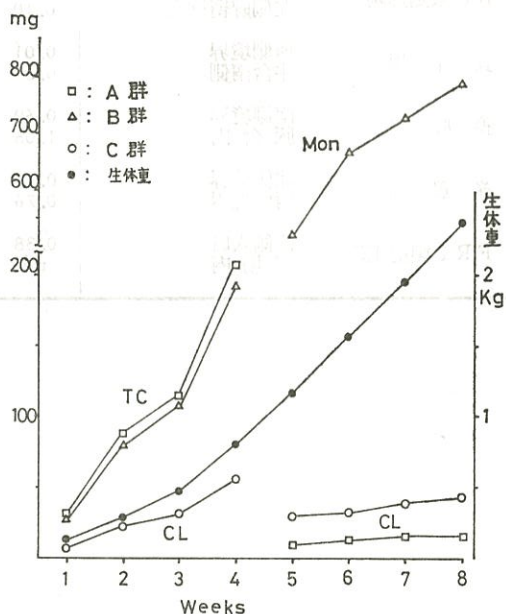


図1 薬剤投与量

2. 耐性の測定

化学療法学会の規定にしたがって、平板希釈法により行った。使用した薬剤はサルファ剤(SA)、クロラムフェニコール(CM)、テトラサイクリン(TC)、ナリジキシン酸(NA)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、コリスチン(CL)、アミノベンジルペニシリン(AB-PC)の8種類である。

3. 耐性の伝達

耐性検査によってTC 12.5 µg/ml以上の耐性度を示した菌株すべてについてTC耐性の伝達を行なった。受容菌としてNA耐性を付与した*E. coli* K12 W3630 NA^rを使用した。ペナッセイブロス中でそれぞれ18時間培養した供与菌と受容菌を等量混合し、さらに等量のブロスを加えて2時間静置培養した。適当に希釈してNAとTCを含む選択培地に塗抹した。選択濃度はTC50または12.5 µg/ml および NA 25 µg/ml である。

結果と考察

A群から得られたTC・SA・KM耐性の1株を除いては、耐性菌はすべてTC 1剤のみに耐性であり、他の薬剤に対する耐性株は分離されなかった。A, B, Cの各群から得られた菌株のテトラサイクリンに対する耐性度の分布を図2に示した。前期テトラサイクリン、後期コリスチンを投与したA群と、前・後期ともコリスチンを投与したC群とを比較してみると25 µg/ml以上の濃度では耐性度の分布はほぼ同様である。特徴的なのは1.6 µg/ml以下の感受性と、6.25~25 µg/mlの中等度耐性においてである。テトラサイクリンを投与していないC群の鶏から得られた菌は65%がテトラサイクリン感受性であるのに比し、A群由来の菌ではわずか2%が感受

性であったに過ぎない。この関係は中等度耐性においてちょうど逆転する。これは前期に投与されたテトラサイクリンが感受性菌を減少させて、中等度耐性菌が優位を占めるフローラを成立させ、後期に投与したコリスチンはそのフローラをそのまま維持させた結果であると解釈することができる。B群より分離された菌は、AとC由来の菌の中間に位置する。これは抗コクシジウム剤のモネンシンは、フローラを維持するような抗菌力を示さないためとも考えられる。テトラサイクリン耐性を伝達させた結果を表2に示した。C群由来の1株を除いて、伝達されたTCの耐性度はすべて50 µg/ml以上の高度耐性であった。A群では14株の高度耐性株のうち2株(14.3%)、B群では30株中8株(26.7%)であった。C群では6株の高度耐性株があったが伝達されるものはなかった。

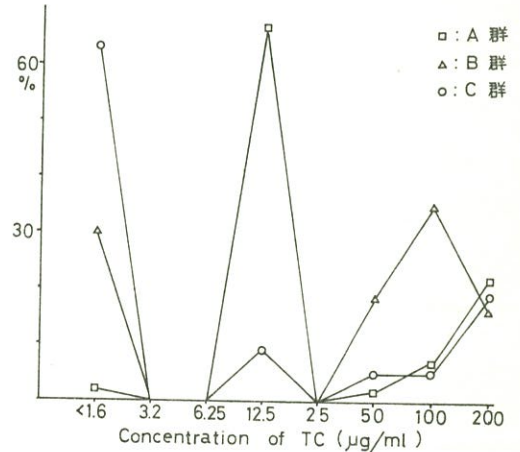


図2 テトラサイクリン耐性の分布

表2 テトラサイクリン耐性の伝達

群	原株の耐性	原株のTC耐性値 (µg/ml)	耐性の伝達頻度	伝達株の耐性
A	TC	200	1.4×10^{-7}	TC
	TC・SA・KM	50	2.0×10^{-8}	TC・SA
B	TC	100	1.5×10^{-5}	TC
	TC	50	1.5×10^{-5}	TC
	TC	50	1.7×10^{-5}	TC
	TC	50	1.6×10^{-5}	TC
	TC	50	1.4×10^{-7}	TC
	TC	50	1.0×10^{-7}	TC
	TC	50	1.8×10^{-5}	TC
	TC	50	1.2×10^{-7}	TC
C	TC	12.5	1.0×10^{-7}	TC

