

家畜衛生分野における耐性菌の現状と今後の対応

¹⁾ 農林水産省動物医薬品検査所, ²⁾ 農林水産省消費・安全局, ³⁾ 酪農学園大学

高橋 敏雄¹⁾ 浅井 鉄夫¹⁾ 小島 明美¹⁾ 原田 和記¹⁾
石原加奈子²⁾ 守岡 綾子¹⁾ 木島まゆみ¹⁾ 田村 豊³⁾

Key words: JVARM, national surveillance, antimicrobial resistance, farm animals, future correspondence

1. はじめに

畜産分野における抗生物質の本格的な使用は、第二次世界大戦後に米国で開始された。それは、抗生物質発酵残渣を飼料と共に給与した家畜に発育促進が認められたことに始まる。現在、動物用として使用されている抗生物質は約60種類である。それらの多くは人体用としての歴史が古く、医療用として広範囲に使用されてきたものが殆どであって、動物専用の成分は極めて限られている。一般に動物用抗菌性物質といえ、動物用抗菌剤と抗菌性飼料添加物を含む。動物用抗菌剤は医薬品であり、主として疾病の治療を目的とし、人体薬と同様に「薬事法」の規制を受けている。抗菌性飼料添加物は、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進等を目的とし、具体的には、食用動物における発育促進及び飼料効率の改善並びにコクシジウム・内部寄生虫に感染しないことを期待して、低濃度で比較的長期間に使用され、抗菌性発育促進物質 (Antimicrobial Growth Promoter; AGP) とも呼ばれ、「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」(飼料安全法)の規制を受けている。

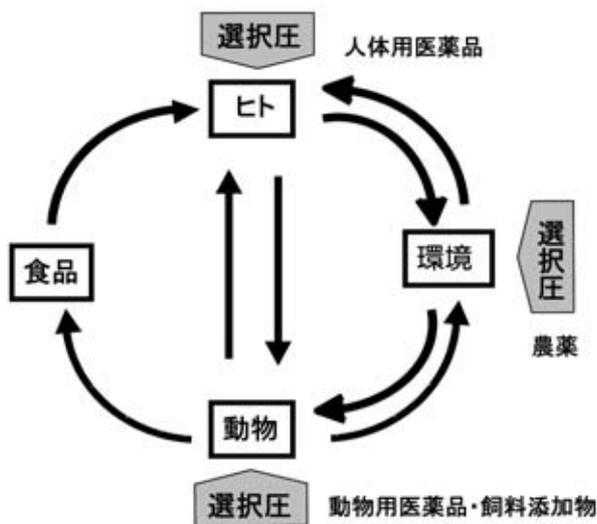
動物の各種感染症の治療に使用されている動物用抗菌剤は、人の場合と同様に、各種細菌に薬剤耐性菌の選択・増加を引き起こす要因であることが知られている。特に、抗菌剤耐性は、臨床現場で使用される抗菌剤の有効性に影響を及ぼし、治療効果を低下させる原因の一つとなっている。家畜に出現した耐性菌は、食物連鎖を介して人に伝播することが示唆され、人の健康に関わる問題として初めて取り組み、公表されたのがスワンレポート (1969年)である。我が国においては、この耐性菌問題や薬剤の残留問題に対して、動

物用抗菌性物質を食用動物に適正に使用し、畜産食品の安全性を確保するために飼料安全法の改正 (1975年)、薬事法の改正 (1979年) や「動物用医薬品の使用の規制に関する省令」の制定 (1980年) が行われた。1990年代後半以降、動物用抗菌剤をめぐる問題は世界的な動きとして再燃し、世界保健機関 (WHO) は、食用動物へ抗菌性物質を使うことにより出現した薬剤耐性菌や耐性遺伝子が食物連鎖を介して人へ伝播し (Fig. 1)、人の細菌感染症の治療を困難にする危険性について議論するため、1997年に「食用動物における抗菌性物質の使用が人に医療に及ぼす影響」についての専門家会議を開催した。それ以降、WHO、国際獣疫事務局 (OIE) 及び国連食糧農業機関 (FAO) の主催する種々な国際会議や国際誌の総説論文¹⁾¹¹⁾²⁰⁾²¹⁾の中で、食品媒介性病原菌の薬剤耐性が動物と人との間でどの程度発現・拡散して人の健康に対するリスクとなっているかが議論されると共に、疫学的な知見を得るための国レベルでの耐性菌の動向調査の重要性や国際的なネットワークの構築等が強調されてきた。その過程では、各国が実施している耐性菌の動向調査や抗菌性物質の使用量調査の方法論を調和させると共に、動物用抗菌剤の慎重使用を励行していくためのガイドライン (2002年) 及び国際的に共通な薬剤耐性の視点に立った動物用抗菌剤の承認基準に関するガイドライン (2003年) が OIE を中心として策定された。

2003年と2004年にジュネーブ及びオスロで開催された「人以外への抗菌性物質の使用と薬剤耐性に関する WHO/FAO/OIE 合同専門家会議」においては、世界各国が協調して危険因子を回避するための具体的な方策の検討も活発に進められ、食料生産システム全般に亘るリスク管理の必要性が強く唱われた。また、2004~2005年には OIE と WHO がそれぞれ、タスクホース専門家会議を招集し、獣医療上又は人医療上の

別刷請求先：(〒185-8511) 国分寺市戸倉1丁目15-1
農林水産省動物医薬品検査所検査第2部抗生物質製剤検査室 高橋 敏雄

Fig. 1 薬剤耐性菌（遺伝子）の伝播経路



重要性に基づく、抗菌性物質のランク付け作業が開始されており、リスク管理オプションの選択に向けた実質的な動きが加速してきている。

そこで、本稿では国際動向を背景に確立された国内の家畜衛生分野における耐性菌のモニタリング体制（Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System；JVARM）の仕組みと1999～2003年度に得られたJVARMの成績等を概説すると共に、今後の耐性菌対策の在り方等についても言及したい。

2. JVARMの目的とシステム概要

前述したような国際動向を受けて、わが国においては、2000年度から家畜衛生分野における抗菌性物質耐性調査を農林水産省の事業として、「家畜由来細菌の抗菌性物質感受性調査」により実施することとし、その調査体制としてJVARMが1999年度にスタートした。著者らの所属する農林水産省動物医薬品検査所は、全国の都道府県機関である約180カ所の家畜保健衛生所との間で構築されたネットワークである。JVARMの主たる目的は、前述の薬剤耐性動向のモニタリングや動物用抗菌剤の使用量調査を行い、リスク評価及びリスク管理のための基礎資料とすると共に、動物用抗菌剤の慎重使用に反映させることにある。2003年度までの5年間をJVARMの第1クールとして位置付け、全国的に農場レベルの耐性菌動向を把握・解析することを主眼に置いた調査研究が実施された。公衆衛生分野への影響を考慮したJVARMにおいては、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は腸球菌と大腸菌を調査対象とした。また、指標菌としての

一般大腸菌とは別に、1999～2001年の間には食品媒介性病原菌のひとつである志賀毒素産生性大腸菌（STEC）を調査対象とした全国レベルでは最初となる健康家畜由来耐性菌のモニタリング調査も併せて実施した¹⁴。JVARMの延長線上の調査事業（動物用医薬品の製造物責任法対応業務の一環）としては、獣医療の臨床現場で使用される動物用抗菌剤の有効性を確保し、それらの慎重使用を推進することを目的として、全国の家畜保健衛生所の協力を得て、動物病原菌（ブドウ球菌¹⁹、連鎖球菌¹⁹、病原性大腸菌⁹）及び *Mannheimia haemolytica*⁴等）の野外流行株を収集し、これらの菌株についても薬剤感受性等の性状解析を併せて実施し、研究成果を公表してきている。

2000年度及び2001年度の動物用抗菌剤の販売量（動物別推定量も含めて純末換算）については、Fig. 2及びFig. 3に示した。両年度の販売量は、年間概ね1,000トンであり、2001年度では動物別で見ると、豚用が54%と最も多く、水産用22%、鶏用16%、牛用8%の順である。系統薬剤別では、テトラサイクリン系が43%と最も多く、スルホンアミド系16%、マクロライド系、ペニシリン系10%、アミノグリコシド系6%などであり、人医療上、特に重要視されるセフェム系やフルオロキノロン系の動物用抗菌剤全体に占める販売量の割合は、極めて少ないのが現状である。

全国レベルの耐性菌動向調査のための「材料及び方法」について、以下に説明する。調査検体は農場における健康家畜の糞便とし、1999年度は予備調査の位置付けで47都道府県において、肥育牛、肥育豚及び肉用鶏（ブロイラー）の糞便を収集し、各県より送付された材料から動物医薬品検査所で4菌種の分離同定を行ったが、2000年度以降は一連の作業実施を各都道府県に依頼した。原則的に、検体数は都道府県ごとに各菌種とも4畜種（肥育牛、肥育豚、採卵鶏（レイヤー）及びブロイラー）×6畜産経営体以上×1検体＝24検体以上とし、各1検体から都道府県ごとに指定された菌種を2株分離することとした。なお、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している。

本調査は、毎年実施前に当所において、都道府県担当者に対して技術研修会を実施し、対象菌種ごとに統一化、平準化された分離培養法、菌種同定及び薬剤感受性試験法により行った。菌の分離同定は、形態学的検査、生化学的性状検査及び遺伝学的検査によった。分離菌株の供試薬剤に対する感受性の定量的な測定は、日本化学療法学会又は米国臨床検査標準委員会（NCCLS）の提唱する寒天平板希釈法に準拠した方法により実施し、最小発育阻止濃度（MIC）を求めた。

Fig. 2 動物用抗菌剤の販売量

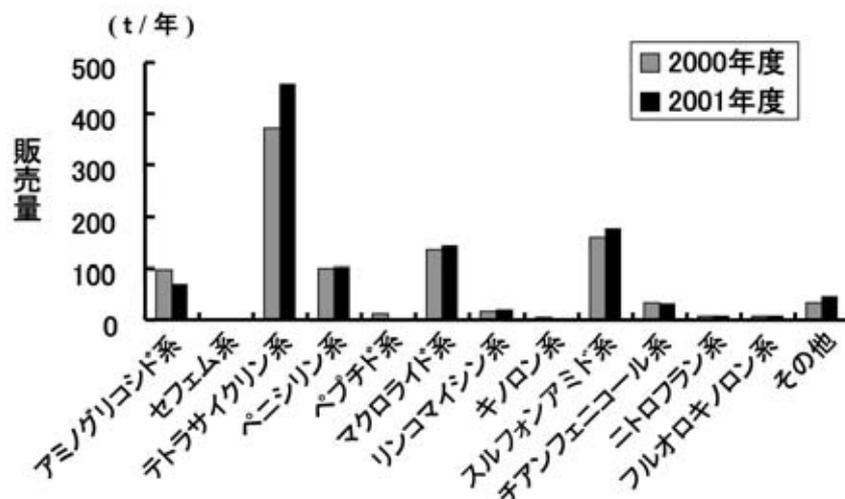


Fig. 3 動物用抗菌剤の動物別推定販売量

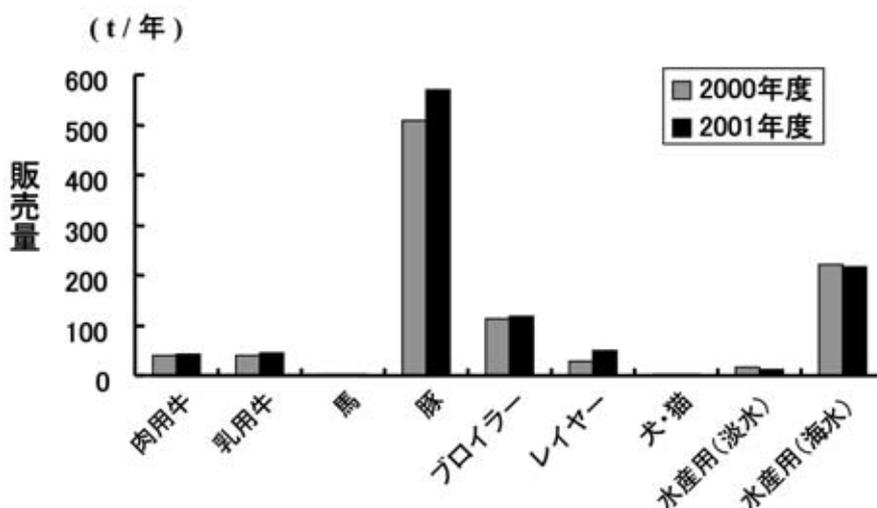


Table 1 1999～2003年度健康家畜糞便由来の調査菌株数

年度	大腸菌*	腸球菌*	カンピロバクター	サルモネラ
1999	1,018	1,024	166	124
2000	620	556	302	91
2001	580	302	239	22
2002	532	242	168	50
2003	475	286	247	20
合計	3,225	2,410	1,122	307

*一般指標菌

原則として、耐性限界値（ブレイクポイント）は、NCCLSガイドラインで規定している値を準用し、未設定のものはMIC分布が二峰性を示した場合、感受性菌と耐性菌のピークの間値を微生物学的ブレイクポイントとして設定した。

平成18年5月20日

3. 家畜衛生分野における耐性菌動向調査成績の概要

1999～2003年度までの過去5年間における健康家畜糞便由来の調査菌株数は総計7,064株である（Table 1）。主要薬剤、すなわち、β-ラクタム系、アミノグリコシド系、マクロライド系、テトラサイクリン系及びキノロン系薬剤などに対する調査4菌種の耐性率の年次推移を由来動物種別に比較した総括的な調査成績について、菌種ごとに概略を述べる。

1) サルモネラ

Fig. 4に示したように、サルモネラの健康家畜からの分離率は、ブロイラーにおいて約10～35%と最も高かった。収集株の血清型は、肥育牛及び肥育豚由来株で *Salmonella* Typhimurium が多く、ブロイラー由来株で *S. Infantis* が多かった。一方、レイヤー由来株では15種類に及ぶ多様な血清型がみられた。

Fig. 4 サルモネラの分離率

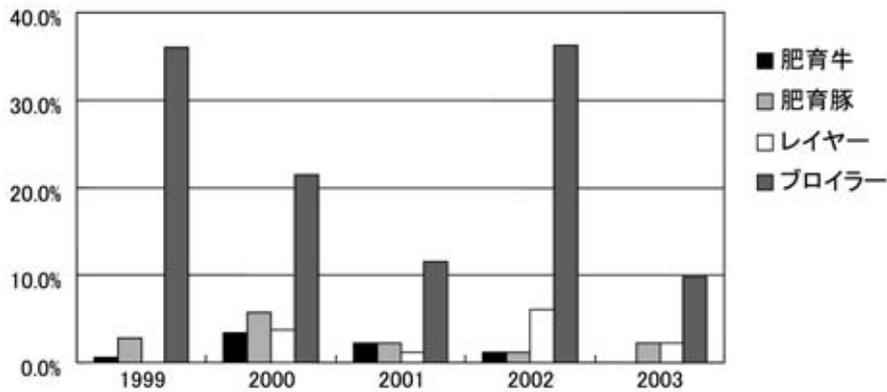


Fig. 5 サルモネラ：畜種別耐性率

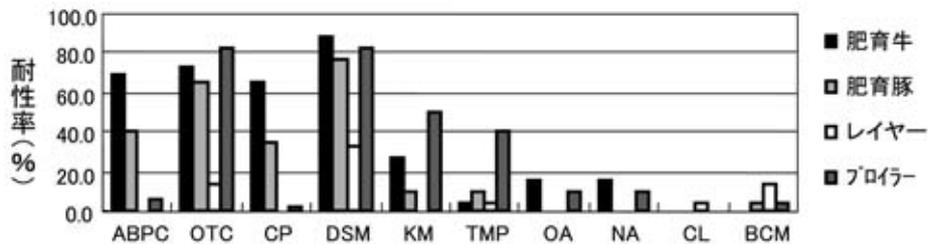
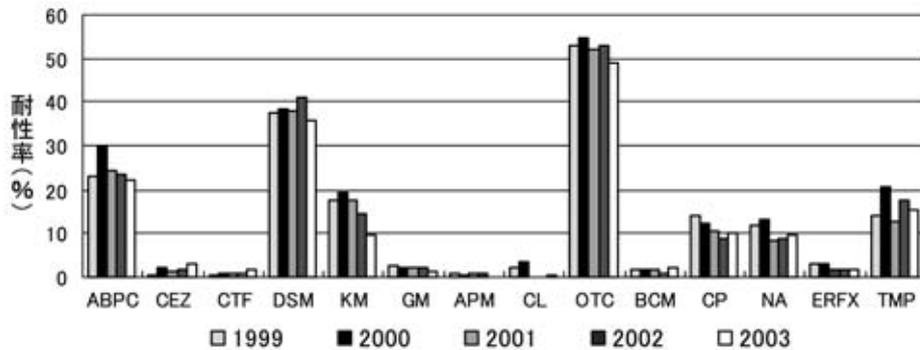


Fig. 6 大腸菌：年次別耐性率

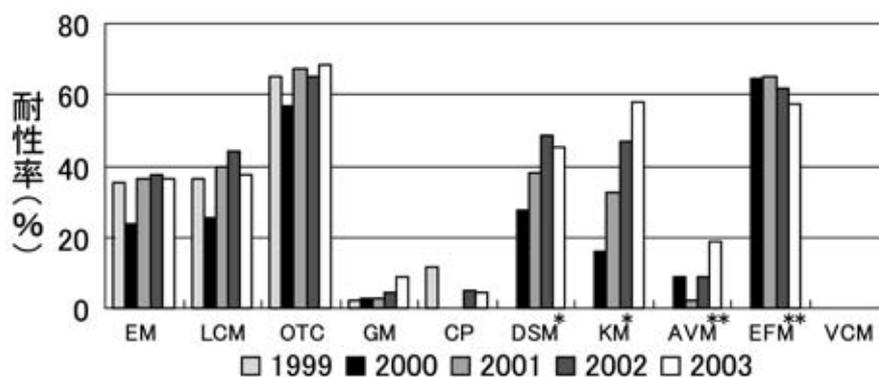


総計 307 株についての薬剤感受性試験の結果 (Fig. 5) では、供試 16 薬剤中 10 薬剤 (アンピシリン (ABPC), ジヒドロストレプトマイシン (DSM), カナマイシン (KM), コリスチン (CL), オキシテトラサイクリン (OTC), ビコザマイシン (BCM), クロラムフェニコール (CP), ナリジクス酸 (NA), オキソリン酸 (OA) 及びトリメトプリム (TMP)) に二峰性の MIC 分布が認められた。DSM 及び OTC に対しては、70% 以上が耐性株であり、耐性率は KM (37.5%), TMP (29.0%), ABPC (15.6%), CP (11.7%) の順であった。畜種別では、DSM や OTC 耐性は、肥育牛、肥育豚、プロイラー由来株で高く、レイヤー由来株は有意に低かった。ABPC 及び CP 耐性は、肥

育牛及び肥育豚を中心に認められ、その耐性率は、2000 年度が最も高かった。これは、*S. Typhimurium* における多剤耐性ファージ型 104 (DT104) の占有割合と同じ傾向であった⁷⁾。また、KM 及び TMP 耐性は、1999 年度の肥育牛の KM 耐性を除いて、主にプロイラー由来株に認められた。これは、プロイラーから分離される *S. Infantis* が、OTC, DSM, KM 及び TMP などの複数の薬剤に耐性を示す多剤耐性を保有していることと関係していた²⁾⁶⁾。また、オールドキノロン (NA 及び OA) に対する耐性は、プロイラー由来株 (9.8%) と肥育牛由来株 (15.4%) で認められ、プロイラー由来株の耐性率は、上昇する傾向が認められた。

過去 5 年間の JVARM 調査ではフルオロキノロン

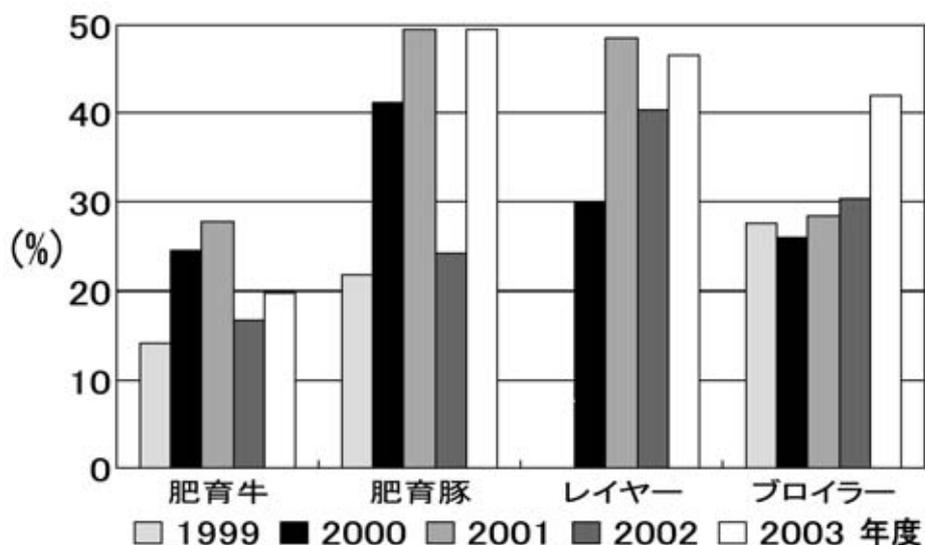
Fig. 7 一般腸球菌：年次別耐性率



* : 1999年のDSM及びKMについては、ブレイクポイントが設定されなかったため耐性株を記載せず。

** : 1999年は、AVM及びEFMは検査せず。

Fig. 8 カンピロバクターの分離率



耐性やセフェム耐性を示すサルモネラは、健康家畜の糞便から全く分離されていない。ただし、2001年には国内では初めて病豚からフルオロキノロン耐性 *S. Choleraesuis* が分離された⁶⁾。この耐性株について、キノロン耐性決定領域における遺伝子変異を台湾で分離された同時期の流行株と比較した結果、両株とも *gyrA* 遺伝子に2カ所と *parC* 遺伝子に1カ所、それぞれ変異を起こしていたが、その変異様式は明らかに異なっていた⁵⁾。なお、基礎応用研究の一環として、今後のモニタリングにおけるキノロン耐性サルモネラの検出迅速化を目的に、サイクリングプローブとリアルタイムPCRを用いて、DNA ジャイレースの⁸⁷Aspの変異を対象とした一塩基遺伝子多型性検出法（リアルタイムSNP型別）の開発を行った⁸⁾。

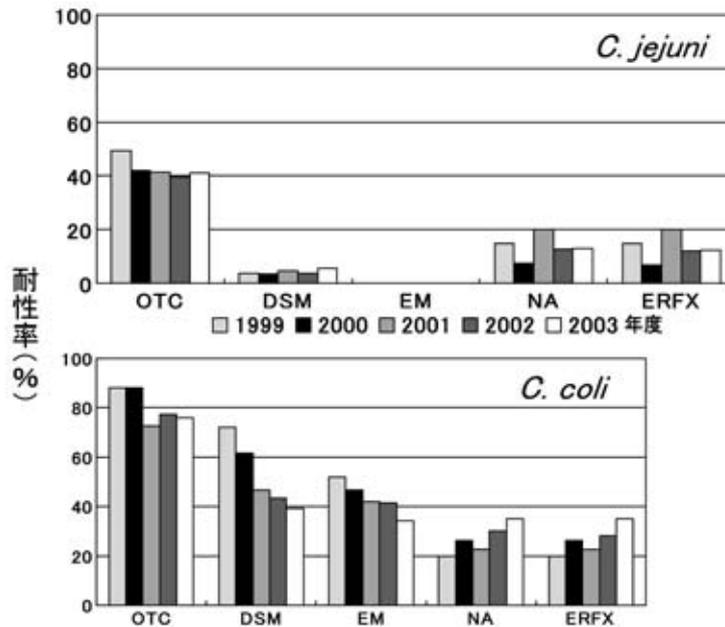
2) 大腸菌

調査した5年間に分離収集された総計3,225株について、薬剤感受性を調べた成績¹⁵⁾をFig. 6に示した。調査期間中、供試した20薬剤のうち、17薬剤（ABPC、セファゾリン（CEZ）、セフロキシム（CXM）、セフチオフル（CTF）、DSM、KM、ゲンタマイシン（GM）、アプラマイシン（APM）、CL、OTC、BCM、CP、NA、OA、エンロフロキサシン（ERFX）、オフロキサシン（OFLX）及びTMP）に対して耐性株の存在が認められた。耐性率が高い薬剤はOTC（49.1～54.7%）であり、次いでDSM（35.8～41.2%）、ABPC（21.9～30.0%）、TMP（12.6～20.8%）、KM（9.9～19.2%）、CP（9.0～14.0%）、NA（8.3～13.2%）の順であった。耐性率が高かった薬剤につい

Table 2 分離されたカンピロバクターの由来動物種と菌種との関係

菌種	由来	1999	2000	2001	2002	2003
<i>C. jejuni</i>	肥育牛	34	43	28	26	34
	肥育豚	3	1	0	2	0
	ブロイラー	72	53	43	32	40
	レイヤー	—	77	59	52	48
<i>C. coli</i>	肥育牛	0	3	5	2	2
	肥育豚	47	98	68	37	86
	ブロイラー	3	1	4	5	15
	レイヤー	—	5	11	12	22

Fig. 9 カンピロバクター：菌種・年次別耐性率



て動物種別に耐性の内訳を見ると、OTCは肥育豚とブロイラーが最も高く、次いでレイヤー、肥育牛の順であった。DSMの耐性率は、肥育豚とブロイラーが最も高く、肥育牛、レイヤーの順であった。ABPCは、ブロイラーが最も高く、次いで肥育豚、レイヤー、肥育牛の順に高い耐性率を示した。その他の多くの薬剤についても、肥育豚とブロイラーは肥育牛やレイヤーに比べて耐性率が高い傾向にあった。

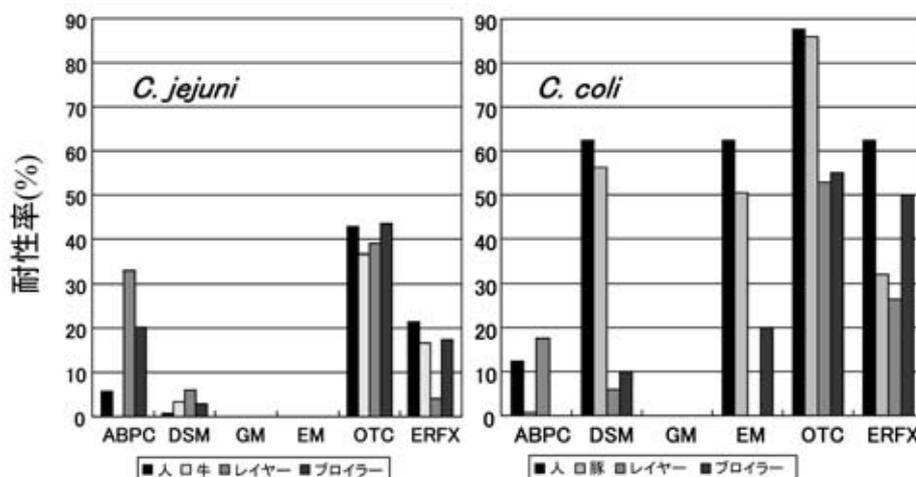
フルオロキノロンやセフェム系薬剤に対する耐性率はいずれも2%前後で維持されていた。これを動物種別に見ると、フルオロキノロン耐性はブロイラーとレイヤーで他の動物種より高い傾向にあり、フルオロキノロン耐性のカンピロバクターやオールドキノロン耐性のサルモネラがブロイラーで多いことと関連しているとも考えられた。一方、セフェム系薬剤耐性に関して、第1～3世代セフェムを通してブロイラー由来が、他の動物種由来よりも耐性率が高い傾向にあった。国

内では、家畜におけるセフェム系薬剤(第1世代3種、第2世代1種及び第3世代2種)の適用が認められている対象動物は牛と豚であり、その剤型も注射剤及び乳房炎治療用乳房注入剤として限定された使用に限られている。しかし、今回の一連の調査では本剤の適用が全く認められていないブロイラーに最も多くセフェム系薬剤耐性菌が認められ、CTX-M型のESBL(基質拡張型 β -ラクタマーゼ)産生菌も供試株全体の約0.2%に含まれていた¹⁶⁾。これらについては、家畜衛生及び公衆衛生の見地から、継続的な調査でその出現や分布を監視する必要があると考える。

3) 腸球菌

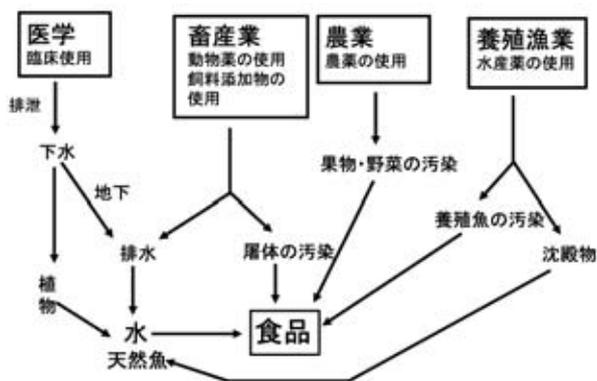
1999～2000年度は、一般腸球菌として *Enterococcus* spp. を対象としており、家畜ごとの分離される菌種の特徴としては、肥育牛では *E. durans* 及び *E. faecium* が優勢菌種であり、*E. faecalis* の分離率が低く、肥育豚では主としてこの3菌種が同率で分離され、レイ

Fig. 10 2001-2003年度に分離されたカンピロバクター家畜由来株と人症例由来株との耐性率の比較



C. jejuni 355株 (人126株, 牛60株, レイヤー100株及びブロイラー69株) *C. coli* 183株 (人8株, 豚121株, レイヤー34株及びブロイラー20株)

Fig. 11 薬剤耐性菌の環境/生態系における循環



ヤー及びブロイラーでは *E. faecalis*, 次いで *E. faecium* が優勢菌種であり, *E. durans* の分離率が低かった. 2001~2003年度は, 一般腸球菌を *E. faecalis* と *E. faecium* に限定して分離したことから, 肥育牛からは一般腸球菌の分離率が低い傾向にあった.

分離収集された総計2,822株 (一般腸球菌2,410株とバンコマイシン (VCM) 低感受性腸球菌412株) において, 5年間を通して耐性株が認められた薬剤は, マクロライド系 (エリスロマイシン (EM): 16.8~40.0%; タイロシン (TS): 13.4~43.3%), リンコマイシン (LCM) (14.3~56.7%), テトラサイクリン系 (OTC: 44.5~80.0%), アミノグリコシド系 (GM: 3.0~50.0%; DSM: 16.8~48.3%; KM: 16.2~58.0%), CP (5.9~25.5%), アピラマイシン (AVM) (2.3~18.5%) 及びエフロトマイシン (EFM) (57.3~96.7%) であった. 2000~2003年度の一般腸球菌分離

株における薬剤感受性試験成績をFig. 7に示した. 一般腸球菌に比べ, VCM低感受性腸球菌 (VCMを6 μ g/mL添加した選択培地での分離株) は, 各薬剤に対する耐性率が全体に低い傾向にあった. これはVCM低感受性腸球菌の多くの菌株が, VCM低度自然耐性である運動性腸球菌 (低度耐性遺伝子として *vanC* を有する) であったこと, 一方, 一般腸球菌では *E. faecalis* の分離率が高く, かつ, 分離株の約99%が供試薬剤のいずれかに耐性を示していたことから, 菌種による影響と思われる. EFMに対する耐性率が, VCM低感受性腸球菌 (93.9~96.7%) は一般腸球菌 (57.3~64.9%) より高い傾向も, 各々の優勢菌種による影響が大きいと考えられる. 由来動物種別の薬剤耐性率の傾向としては, 肥育豚及びブロイラー由来株でいずれの薬剤に対しても肥育牛やレイヤー由来株より高い傾向が認められた.

JVARMが1999年度に開始されてから初めて, 2003年度の調査においてVCM耐性遺伝子 (*vanA*) を保有する *E. faecium*, いわゆるVCM高度耐性腸球菌 (VRE) が, ブロイラーから分離された (1検体から2株). 当該分離株の *in vitro* 伝達頻度は 10^{-8} ~ 10^{-9} と低く, VCM耐性因子を担う *Tn1546-like element* の構造も人由来株とは異なっていた. 国内では, アボパルシン (抗菌性飼料添加物) は1997年度以降, 使用が禁止されているが, 本調査で現在も極めて低率ではあるものの分離されたことは, 過去の使用によって出現したVREが残存している, 又は場外から農場に侵入した可能性が示唆され, 現在, 原因究明及び清浄性確認に向けた追跡調査が分離された地域で進められて

いる。

4) カンピロバクター

カンピロバクターの健康家畜の糞便からの分離率を Fig. 8に、由来動物種と菌種との関係を Table 2にそれぞれ示した。菌種としては肥育牛、レイヤー及びブロイラーからは *Campylobacter jejuni* が、肥育豚からは *C. coli* がそれぞれ優位に分離された。この傾向は5年間を通して変わらず、世界各国の報告と同様であった。一方、家畜から分離される前述の主要な2菌種以外のものとして、検出頻度は低率であったが、1999年度の全国調査では *C. lanienae* が豚から分離されることを初めて明らかにした²²⁾。

Fig. 9に示したように、分離収集された *C. jejuni* と *C. coli* の総計1,122株における薬剤感受性の全体傾向としては、OTCの耐性率が最も高かった¹²⁾。また、菌種間で耐性率に差が認められ、ほとんどの薬剤で *C. coli* の耐性率が *C. jejuni* のそれより高かった。特にマクロライド系薬剤 (EM, スピラマイシン (SP) 及び TS) に対しては、*C. coli* の約半数が耐性であるのに対し、*C. jejuni* に耐性株は全く認められなかった。一方、2002年度から供試薬剤として追加された ABPC は、唯一 *C. jejuni* の耐性率が *C. coli* より高かった。一般に、カンピロバクターは大腸菌やサルモネラなどとは異なり、キノロン耐性化に関係する遺伝子の点変異により、オールドキノロン剤だけではなく、フルオロキノロン剤にも耐性を示すことが知られている。年度平均でみると、国内における *C. jejuni* のフルオロキノロン耐性率はブロイラー由来株で19.5%、レイヤー由来株で3.5%であり、世界各国のモニタリングデータの中では比較的、低レベルにランク付けされる。

2001~2003年度に分離された人症例由来株と健康家畜由来株で薬剤感受性を比較した成績を Fig. 10に示した。その結果、① *C. jejuni* の ABPC 耐性率は人由来株に比べてブロイラー由来株が有意に高いこと、②マクロライド系には人と家畜由来の *C. jejuni* のいずれも耐性がないこと及び③キノロン系の耐性率は家畜由来株に比べて人由来株が若干高いことがわかった¹³⁾。

現在、カンピロバクターの耐性菌問題で最もホットな国際的課題は、2000年末の米国食品医薬品局 (FDA) による最初の勧告以降、米国製薬業界 (バイエル社) や獣医師会等との間で様々な論議が繰り返されてきたが、ついに2005年7月末に FDA コミッショナーの最終裁定が下された米国における家禽用フルオロキノロン剤 (飲水添加剤: 品名「バイトリル液」) の承認の取り消しである。この承認取り消しの背景には、①米国においては、1995年に獣医療用に

フルオロキノロン剤が認可・導入され、それに呼応するかのようになり、*C. jejuni* を主たる起因菌とした人のカンピロバクター腸炎 (米国内の細菌性食中毒では患者数は圧倒的な第1位 (食中毒全体の約14%を占有): 1999年度米国疾病対策・予防センター (CDC) による公表データ¹⁸⁾によれば、年間患者数は約10,000人、死亡者数も約100人) の症例由来株、食品由来株及び家畜由来株のフルオロキノロン耐性率が増加傾向にあること、②カンピロバクターを腸管内に定着させた鶏を用いた耐性獲得試験において、本剤投薬後は速やかにフルオロキノロン耐性株が高率に選択されること¹⁷⁾、③本症の原因食品の殆どが鶏肉であること及び④本症に対する治療の第二次選択薬がフルオロキノロン剤であり、その起因菌が耐性化することで人での治療が困難となり、本事象は人の健康にとって大きな脅威となること等に関しての定性的リスク評価の実施があった。

国内における獣医療用フルオロキノロン剤は、1992年に鶏呼吸器性マイコプラズマ病や鶏大腸菌症の蔓延やそれに伴う甚大な経済的損失に対する防疫対策等を目的として導入されたが、認可条件として極めて限定的な用量規定及び要指示医薬品・要診察医薬品として第二次選択薬での限定的投薬等が付加されてきた。さらに、規制当局である農林水産省は、本剤の認可を有する製薬メーカーに対しては、実際の本剤使用農場におけるカンピロバクターを含めた耐性菌実態調査等の継続的な実施とデータの報告を求め、その有用性を適宜評価している。FDAが承認取り消しの対象とした「バイトリル液」は、国内でも鶏用に認可されているが、米国やEUでの承認用量とは異なり、「50ppm, 3日間」(投薬期間が短く設定)であり、著者ら²³⁾の実験成績では前述の *in vivo* 耐性獲得試験におけるフルオロキノロン耐性株の選択頻度や出現パターンは必ずしも既報¹⁷⁾²⁴⁾とは同等ではないことが明らかとなってきている。いずれにしても、国内における「人のカンピロバクター腸炎」の発生件数は米国と比べて遥かに少なく、また、その起因菌がフルオロキノロンに耐性化したため抗菌剤治療が無効となった症例報告は国内では殆どない。

4. 耐性菌対策における今後の方向性

近年、食品の安全性確保に対する国民の関心が高まる中で、2002年10月に開催された農業資材審議会において、「医療において問題となる薬剤耐性菌を選択する可能性のある抗菌性飼料添加物について指定を取り消し」とする当面の見直し方針が決定された。これを受け、2003年12月、農林水産省は抗菌性飼料添加物29成分とこれらと同一または同系統で交差耐性が認められる動物用医薬品34成分によって選択される

耐性菌について、食品安全委員会に対し食品健康影響評価を諮問した。食品安全委員会は2004年9月、国内外の評価基準を参考として、「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針」を策定した。今後、この評価指針によって、食品安全委員会、農林水産省、飼料添加物等製造業者などが資料の収集・整備を行い、これらに基づくリスク評価が行われることになる。

家畜由来の薬剤耐性菌において重要なのは、家畜における抗菌性物質の使用が耐性菌の出現に関連するとされるもので、その代表としてはVRE、フルオロキノロン耐性カンピロバクター、多剤耐性*S. Typhimurium* DT104等が挙げられている。これまでの全国調査で、これらの耐性菌が低率ではあるが、国内に分布していることが明らかとなり、家畜由来耐性菌のコントロールに向けた更なる取り組みが必要であると思われる。しかし、調査対象としている菌種は、腸内細菌叢の一部でもあるため、オールアウトによる清浄化が難しい畜種では耐性菌のコントロールは、非常に難題と言える。

2003年12月にはWHO/FAO/OIEにより「人以外への抗菌性物質の使用と薬剤耐性に関する専門家会議」が開催され、その中で食用動物における抗菌性物質の使用が人の健康に影響する明らかな証拠があることが勧告され、動物用抗菌剤のリスク管理へ向けた取り組みに大きな影響を与えている。全国調査の第1クールに位置付けられる過去5年間のJVARMの中で得られた成績は、①国内において分離される食用動物由来病原細菌等の抗菌性物質に対する感受性の変化を継続的に監視し、②その現状を的確に把握することにより、獣医療における抗菌剤の慎重使用を喚起してその有効性を確保すると共に、③抗菌性物質の使用により出現した薬剤耐性菌・遺伝子の伝播の可能性を含めて、家畜由来株の人医療に及ぼす影響評価に資するための科学的データになり得ると考えている。

2000年度以降、各種動物用抗菌剤の活性成分ごとの使用量が動物別に集計されており、これら使用量データに基づき、野外における抗菌剤の使用実態と薬剤感受性の変化との関係について解析を進めている。2001年度の使用量と大腸菌の耐性率については、各畜種ごとに解析したところ、使用量の多い系統の薬剤に対する耐性率は高い傾向が認められている³⁾。また、クロラムフェニコール（1998年以降、食用動物における使用禁止）に対する耐性を一つのモデルとして、選択圧のない状況下での耐性菌の出現についても、耐性遺伝子レベルでの解析を進めている¹⁰⁾。一連のモニタリングの継続は、これらの使用量と耐性率の関連を明らかにするためにも重要である。

一方、耐性菌問題は、抗菌剤を使用する生産現場への取り組みが最も重要であることから、生産者等への啓蒙活動や臨床分野の獣医師との各種情報交換等を積極的に進める必要がある。豚で抗菌剤の使用量が多い原因のひとつとして、呼吸器感染症などの多因性疾病の浸潤が挙げられる。したがって、疾病の抗菌剤治療に伴う病原菌や常在菌の耐性化といった単純な問題ではなく、抗菌剤の使用量を低減させるためには、養豚における総合的な衛生対策が必要となる。今後もJVARMによるモニタリングを継続し、抗菌剤使用量等の関連情報の収集等を行いながら、調査結果に基づく適正な抗菌剤の選択に結びつく有用情報の提供を行うと共に、現在、その実用化が検討されている動物専用薬剤感受性ディスク（体外診断用医薬品）等も活用した慎重使用の徹底や生産現場への耐性菌の侵入・伝播の防止に向けた取り組みに繋げていかなければならない。

5. まとめ

JVARMにおける第1クールとして、全国的に農場レベルでの耐性菌の動向を把握・解析することを目的に、1999～2003年度までの5年間の調査研究が実施された。この中では、薬剤感受性試験におけるNCCLS（National Committee for Clinical Laboratory Standards）—薬剤感受性試験国際標準法の導入等、国際的調査手法への調和とシステムの構築及び家畜由来各種細菌における全国レベルでの耐性菌出現動向の把握を行った。今後は第1クールで確立した調査手法と畜産分野における耐性菌分布データに基づき、2004年度からの第2クールにおいては、継続的な耐性菌動向の把握に努めると共に、①抗菌剤の使用実態と薬剤耐性との関係についての多面的な要因解析、②畜産現場における耐性菌の出現背景や疫学的要因等を解明するための農場での継続的な追跡調査の実施、③耐性菌と耐性遺伝子の生態系における人—動物環境間での交流（Fig. 11）も想定した家畜由来株、環境由来株、食品由来株及び人由来株の遺伝学的性状の比較解析等を進め、家畜由来株の人医療に及ぼす影響評価に資する科学的データの構築を行っていききたい。

また、2003年度には家畜衛生分野の関係機関としては、当所と（独）動物衛生研究所を、人医療・公衆衛生分野の関係機関としては、国立感染症研究所、国立医薬品食品衛生研究所、東京都健康安全研究センター及び埼玉県衛生研究所をそれぞれ分担研究機関とした省庁横断的な耐性菌研究班による「食中毒菌の薬剤耐性に関する疫学的・遺伝学的研究」（厚生労働科学研究費補助金食品安全確保研究事業（課題番号：H15-食品-012））が開始されたことから、今後とも関係機関との連携強化を図りながら、JVARMを推進して

いきたい。

いずれにしても、耐性菌問題に対応するための調査研究目標、すなわち、大命題としては以下の事項が考えられる。

(1) 食用動物に抗菌剤を使用することによりどの程度のレベル・頻度で耐性菌が選択されるのか？

(2) 動物で生じた耐性菌又は耐性遺伝子が食物連鎖及び生態系等を介して人へ伝播される確率や頻度は？

(3) 本事象は医療・公衆衛生面にどのように影響し、人の細菌感染症の治療を困難にする潜在的危険性(健康危害)をどの程度もたらすのか？

JVARMにおいては、主に(1)と(2)の一部を達成目標の中心に置き、(2)と(3)については、前述の家畜衛生分野と人医療・公衆衛生分野との省庁横断的研究班の中で総括的に取り組みたい。この連携強化の充実により、「リスク分析」や「耐性閾値」の概念を盛り込むことができるものとする。

謝辞：本調査研究は主として、動物用医薬品危機管理対策事業において得られた成績を取り纏め、それらのデータを解析したものであり、多大なるご尽力を頂きました全国の家畜保健衛生所等の関係各位に深謝します。

文 献

- 1) Angulo FJ, Nargund VN, Chiller TC : Evidence of association between use of anti-microbial agents in food animals and anti-microbial resistance among bacteria isolated from humans and the human health consequences of such resistance. J Vet Med B 2004 ; 51 : 374—9.
- 2) Asai T, Itagaki M, Shiroki Y, Yamada M, Tokoro M, Kojima A, *et al.* : Antimicrobial resistance types and genes in *Salmonella enterica* Infantis isolates from retail raw chicken meat and broiler chickens on farms. J Food Prot 2006 ; 69 : 214—6.
- 3) Asai T, Kojima A, Harada K, Ishihara K, Takahashi T, Tamura Y : Correlation between the usage volume of veterinary therapeutic antimicrobials and resistance in *Escherichia coli* isolated from the feces of food-producing animals in Japan. Jpn J Infect Dis 2005 ; 58 : 369—72.
- 4) Esaki H, Asai T, Kojima A, Ishihara K, Morioka A, Tamura Y, *et al.* : Antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica* isolates from cattle in Japan from 2001 to 2002. J Vet Med Sci 2005 ; 67 : 75—7.
- 5) Esaki H, Chiu CH, Kojima A, Ishihara K, Asai T, Tamura Y, *et al.* : Comparison of fluoroquinolone resistance genes of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis isolates in Japan and Taiwan. Jpn J Infect Dis 2004 ; 57 : 287—8.
- 6) Esaki H, Morioka A, Ishihara K, Kojima A,

- Shiroki S, Tamura Y, *et al.* : Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella* isolated from cattle, swine and poultry (2001—2002) : report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. J Antimicrob Chemother 2004 ; 53 : 266—70.
- 7) Esaki H, Morioka A, Kojima A, Ishihara K, Asai T, Tamura Y, *et al.* : Epidemiological characterization of *Salmonella* Typhimurium DT104 prevalent among food-producing animals in the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program (1999—2001). Microbiol Immunol 2004 ; 48 : 553—6.
- 8) Esaki H, Noda K, Otsuki N, Kojima A, Asai T, Tamura Y, *et al.* : Rapid detection of quinolone-resistant *Salmonella* by real time SNP genotyping. J Microbiol Meth 2004 ; 58 : 131—4.
- 9) Harada K, Asai T, Kojima A, Oda C, Ishihara K, Takahashi T : Antimicrobial susceptibility of pathogenic *Escherichia coli* isolated from sick cattle and pigs in Japan. J Vet Med Sci 2005 ; 67 : 999—1003.
- 10) Harada K, Asai T, Kojima A, Ishihara K, Takahashi T : Role of co-resistance in the development of chloramphenicol resistance in *Escherichia coli* isolated from sick cattle and pigs. Am J Vet Res 2006 ; 67 : 230—5.
- 11) Hurd HS, Doores S, Hayes D, Mathew A, Maurer J, Silley P, *et al.* : Public health consequences of macrolide use in food animals : A deterministic risk assessment. J Food Prot 2004 ; 67 : 980—92.
- 12) Ishihara K, Kira T, Ogikubo K, Morioka A, Kojima A, Kijima-Tanaka M, *et al.* : Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food-producing animals on farms (1999—2001) : results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. Int J Antimicrob Agents 2004 ; 24 : 261—7.
- 13) Ishihara K, Yamamoto T, Satake S, Takayama S, Kubota S, Negishi H, *et al.* : Comparison of *Campylobacter* isolated from humans and food-producing animals in Japan. J Appl Microb 2005 ; 100 : 153—60.
- 14) Kijima-Tanaka M, Ishihara K, Kojima A, Morioka A, Nagata R, Kawanishi M, *et al.* : A national surveillance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food-producing animals in Japan. J Vet Med B 2005 ; 52 : 230—7.
- 15) Kijima-Tanaka M, Ishihara K, Morioka A, Kojima A, Ohzono T, Ogikubo K, *et al.* : A national surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from food-producing animals in Japan. J Antimicrob Chemother 2003 ;

- 51 : 447—51.
- 16) Kojima A, Ishii Y, Ishihara K, Esaki H, Asai T, Oda C, *et al.* : Extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002 : report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *Antimicrob Agents Chemother* 2005 ; 49 : 3533—7.
- 17) Mcdermott PF, Bodeis SM, English LL, White DG, Walker RD, Zhao S, *et al.* : Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. *J Infect Dis* 2002 ; 185 : 387—40.
- 18) Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, *et al.* : Food-related illness and the United States. *Emerg Infect Dis* 1999 ; 5 : 607—25.
- 19) Morioka A, Asai T, Ishihara K, Kojima A, Tamura Y, Takahashi T : *In vitro* activity of 24 antimicrobial agents against *Staphylococcus* and *Streptococcus* isolated from diseased animals in Japan. *J Vet Med Sci* 2005 ; 67 : 207—10.
- 20) Phillips I, Casewell M, Cox T, Groot BD, Friis C, Jones R, *et al.* : Dose the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J Antimicrob Chemother* 2004 ; 53 : 28—52.
- 21) Salisbury JG, Nichols TJ, Lammerding AM, Turnidge J, Nunn MJ : A risk analysis framework for the long-term management of antibiotic resistance in food-producing animals. *Int J Antimicrob Agents* 2002 ; 20 : 153—64.
- 22) Sasaki Y, Fujisawa T, Ogikubo K, Ohzono T, Ishihara K, Talahashi T : Characterization of *Campylobacter lanienae* from pig feces. *J Vet Med Sci* 2003 ; 65 : 129—31.
- 23) Takahashi T, Ishihara K, Kojima A, Asai T, Harada K, Tamura Y : Emergence of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* in chickens exposed to enrofloxacin treatment at the inherent dosage licensed in Japan. *J Vet Med B* 2005 ; 52 : 460—4.
- 24) Van Boven M, Veldman KT, De Jong MCM, Mevius DJ : Rapid selection of quinolone resistance in *Campylobacter jejuni* but not in *Escherichia coli* in individually housed broilers. *J Antimicrob Chemother* 2003 ; 52 : 719—23.

Present Situation of National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Bacteria Isolated from Farm Animals in Japan and Correspondence to the Issue

Toshio TAKAHASHI¹⁾, Tetsuo ASAI¹⁾, Akemi KOJIMA¹⁾, Kazuki HARADA¹⁾, Kanako ISHIIHARA²⁾, Ayako MORIOKA¹⁾, Mayumi KIJIMA¹⁾ & Yutaka TAMURA³⁾
National Veterinary Assay Laboratory¹⁾ and Food Safety and Consumer Affairs Bureau²⁾,
Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, ³⁾Rakuno Gakuen University

The Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System (JVARM) was formed in 1999 in response to international concerns about the impact of antimicrobial resistance on public health. The aim of the present investigation was to provide insight into the occurrence of antimicrobial resistance among bacterial strains isolated from cattle, swine and poultry on farms across Japan. In this paper, we summarize a nationwide investigation (1999-2003) on antimicrobial susceptibility of the targeted bacterial species for the JVARM, namely *Salmonella*, *Campylobacter*, *Enterococcus* and *Escherichia coli*, isolated from the feces of healthy domestic animals. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of 10-18 antimicrobial agents including the major generic groups were determined using an agar dilution method according to the international NCCLS guideline in principle.

The outline of present results is as follows : ①A total of 307 *Salmonella*, 3,225 *Escherichia coli*, 2,822 *Enterococcus* and 1,122 *Campylobacter* were isolated from healthy domestic animals and examined for antimicrobial susceptibility. ②The isolates of all targeted bacterial species represent high rates of antimicrobial resistance to both oxytetracycline (OTC) and dihydrostreptomycin (DSM). ③Among the isolates of *Campylobacter* and *E. coli*, the frequency of isolation of resistance to fluoroquinolones ranged from 14 to 24% and 2 to 3%, respectively. ④Resistance to fluoroquinolones was not observed among the isolates of *Salmonella* or *Enterococcus*.

Continuous investigation at the nation level of antimicrobial resistance among the isolates from healthy domestic animals remains a high priority for the JVARM program. Furthermore, appropriate and prudent use of antimicrobials for diseased animals should be considered essential.

[J.J.A. Inf. D. 80 : 185~195, 2006]