

動物用抗菌剤研究会報

PROCEEDINGS OF THE JAPANESE SOCIETY OF ANTIMICROBIALS FOR ANIMALS

No. 25

October, 2003

動物用抗菌剤研究会

Japanese Society of Antimicrobials
for Animals

目 次

特別寄稿：動物用医薬品の環境影響評価	遠藤裕子.....	1
特集：抗菌性飼料添加物を巡る世界情勢とわが国の取組み 今回のシンポジウムにあたって.....	小久江栄一.....	14
1. 抗菌性飼料添加物に対する世界の規制動向.....	田村 豊.....	15
2. ヨーロッパにおける抗菌性飼料添加物禁止後の影響.....	福本一夫.....	23
3. 日本における抗菌性飼料添加物の役割と課題.....	米持千里.....	33
4. 米国における動物用抗菌剤の公衆衛生に対するリスク評価の考え方	大島 慧.....	39
5. 総合討論.....		43
動物由来細菌に対する抗菌性物質の最小発育阻止濃度（MIC）測定法の改定について.....		47
動物由来細菌に対する抗菌性物質の最小発育阻止濃度（MIC）測定法.....		49
Revision of the Determination Method of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobials against Bacteria Isolated from Animals		61
The Determination Method of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobials against Bacteria Isolated from Animals		63
会務報告.....		74
動物用抗生物質・合成抗菌剤略語表（系統別およびアルファベット別）.....		80

動物用医薬品の環境影響評価

遠藤裕子

農林水産省動物医薬品検査所 (〒 185-8511 東京都国分寺市戸倉 1-15-1)

1. はじめに

抗菌剤、駆虫剤などの動物用医薬品は対象動物に投与された後、糞尿中に排泄され、〔耕地に還元される・畜舎汚水に入る・放牧地に入る〕などの経路で環境中に放出される。また、畜舎で使用される殺虫剤は使用後畜舎汚水に、水産薬は河川・海などに流入するであろう。対象動物体内での代謝・堆肥化中の分解などにより変化するものもあるだろうし、土壌や河川底質に吸着されたり、または水田の土壌より水田水に多く溶解したりといった環境中の分布も物質によって異なるであろう。動物用医薬品の想定される環境への放出と環境中運命を図1に示す。環境への導入経路はその動物用医薬品の使用法によって異なるし、環境中における分布・移動はその物質の性質によって異なることは容易に推測される。加えて、代謝産物や分解産物の存在が動物用医薬品の環境中動態の予測を困難にする。本稿ではこれよりこれら

代謝物・分解物を含めた動物用医薬品有効成分由来の物質の全体を VMP (Veterinary Medicinal Products) と表記する。

VMP は生物活性があるものが多いため、環境中に放出された場合、生態系への影響が懸念される。特に糞中に排泄されたイベルメクチンによる糞分解性昆虫への影響により、糞が長期にわたって分解されなかったという外国での報告〔1〕は広く知られているところであり、駆虫薬の環境毒性に関する総説〔2〕も出されている。

この問題に関して、欧米・オーストラリアなどでは以前から VMP の承認の際に環境影響評価を義務づけているが、日本では水産用医薬品飼料添加剤・薬浴剤の水中分解性〔3〕、食用動物に用いるニューキノロン系など製剤の環境中安定性〔4〕などの資料が要求されているものの、欧米のような環境影響評価はなされていない現状である。この問題については VICH (International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products, VMP の承認審査資料の調和に関する国際協力) 環境毒性・環境影響評価作業部会 (EcoWG) が 1996 年に設置され、2003 年 6 月現在までの間に 7 回の EcoWG の会合が開催され、欧州・米国・日本の 3 極に共通の評価方法を確立するための討議が活発になされてきた。EcoWG では VMP の環境毒性/環境影響評価ガイドラインの作成を行っており、文書の最終的な合意の時期が近づいてきているので、日本でも数年以内に、VMP 新薬の承認申請資料として環境影響評価に関する資料を

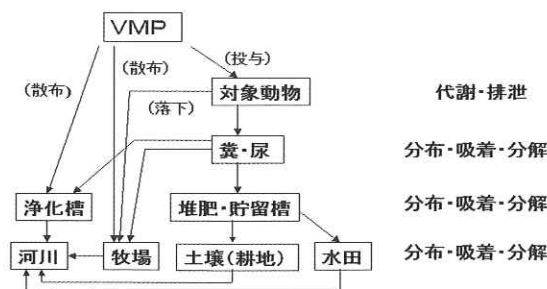


図1 VMPの環境への放出と環境中運命

本稿は 2003 年 4 月 26 日に開催された本会の第 30 回シンポジウムにおける特別講演の要旨である。

要求するようになることが予想される。筆者はEcoWGの現在の日本政府代表委員であるので、本稿においてこの動きについて紹介する。

一方、日本国内の化学物質の環境影響評価に目を向ければ、2002年1月のOECD(Organization for Economic Cooperation and Development, 経済協力開発機構)による日本の環境保全成果レビューにおいて、「化学物質管理の効果および効率をさらに向上させるとともに、生態系保全を含むように規制の範囲をさらに拡大すること」と勧告され、これを契機として高生産量化学物質・農薬などでも、環境生物の保護の観点からの新しい評価システムを構築しつつある状況である。本稿ではこの動きについても紹介する。

2. 環境影響評価とは

VMPを含めて化学物質の環境影響評価とは、環境中に放出された化学物質が環境中の生物・生態系に及ぼす影響(有害作用)を評価することである。化学物質について広く用いられている評価手法を図2に示す。環境生物に対する毒性の評価を複数の代表的生物種に対する毒性試験成績によって行い、環境生物に対する予測無影響濃度(Predicted No Effect Concentration, PNEC)を算出する。一方で、その化学物質の生産量・環境中放出量の調査を行い、環境中予測濃度(Predicted Environmental Concentration, PEC)を算出する。さらにPEC/PNECの値を1と比較し、1以上であれば環境に対する影響が無視できないとして何らかの対策(リスク管理)が必要で

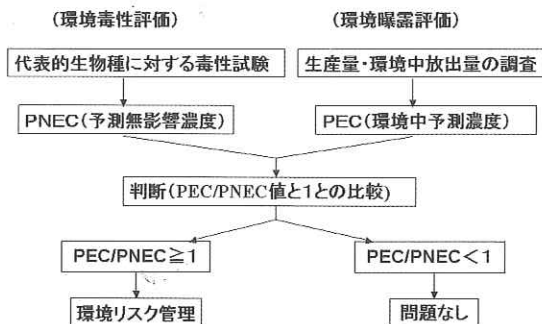


図2 化学物質の環境影響評価の手法

あると判断し、1未満であれば環境に対する影響が重大でないと判断する。なお、環境を代表するいくつかの生物種に対する毒性試験成績からPNECを算出する手法の例として、OECDの高生産量化学物質(HPV)の有害性スクリーニング評価[5]に用いられる手法を図3に示す。この手法は、淡水系における食物連鎖の3つの栄養段階(trophic level)である藻類、ミジンコ類、魚類を代表種として選定し、それぞれについて毒性試験を実施して得られた半数致死濃度(LC₅₀)、半数影響濃度(EC₅₀)または無影響濃度(No Observed Effect Concentration, NOEC)を評価係数(Assessment Factor, AF)で除して、PNECを算出するというものである。実施した試験が急性(短期)毒性試験か慢性(長期)毒性試験かによって、またいくつかの試験を実施したかによってAFの値は異なる。すなわち、急性試験より慢性試験の方が、実施した試験の種類と数が少ない場合より多い場合の方が、AFの値が小さくなる。急性毒性試験を3栄養段階について実施した場合には、AFは100を用いることが多い。

3. 世界における化学物質の環境影響評価

(1) OECDによる取り組み

化学物質の環境影響評価については、国際的にはOECDがリードしており、以下に示すような活動が進められている。これらについてはOECDのChemical Safetyホームページ[6]に詳しく紹介されており、OECDの森下によるわかりやすい日本語の解説[7]が出されているので、詳しく

1. 高生産量化学物質(HPV)の有害性スクリーニング評価に用いる基本的データセットの作成

- (1) 魚類急性毒性試験成績(LC₅₀)
- (2) 藻類生長阻害試験成績(EC₅₀)
- (3) ミジンコ類急性遊泳阻害試験成績(EC₅₀)

2. PNEC算出

- (1)~(3)の最小のLC₅₀・EC₅₀/AF(評価係数)

AFの例 :100~1000

図3 OECDにおけるPNEC算出例

はそれらを参照されたい。

- ・化学物質の健康および環境影響に関する調和統合有害性分類システム [8]

水系環境有害性の国際分類システムにおいては、急性毒性値、慢性毒性値、分解性、生物蓄積性により化学物質の環境有害性を分類する。

- ・HPVの有害性スクリーニング評価 [5]

OECDによって定義されている HPV とは少なくとも1つの OECD 加盟国で年間 1000 トン以上の製造（輸入）がなされているもので、1997年実績で4103物質あった。現在は暫定 HPV マニュアルに基づいて既存の化学物質に焦点を絞ってその有害性のスクリーニング評価が実施されている。第一次スクリーニング評価を行う SIDS（スクリーニング情報データセット）プロジェクトにおいては、水系環境においては魚類急性毒性、水生植物毒性、水生無脊椎動物急性毒性が、環境曝露・運命については光分解、水中安定性、環境媒体間の移動、生分解のデータが必須であるとされている。

- ・試験法ガイドラインの開発 [9]

OECD 試験法ガイドラインは、2002年10月31日段階で、物理的・化学的性質の試験法ガイドライン (No.100～121)、生物系への影響の試験法ガイドライン (No.201～217)、分解および蓄積の試験法ガイドライン (No.301～308)、健康影響の試験法ガイドライン (No.401～429, No.451～453, No.471～486) が最終版となっており、この他に数多くの新ガイドライン案や改正ガイドライン案がある。

(2) 環境影響（毒性）試験法

環境影響（毒性）試験法には、OECD [9]、ISO (International Organization for Standardization, 国際標準化機構)[10]、ASTM (American Society of Testing and Materials, 米国材料試験学会)[11]、SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 環境毒性および環境科学の国際学会)[12]、USEPA (U.S.Environmental Protection Agency, 米国環境保護庁)[13] などが示している方法がある。

(3) 環境影響・毒性データベース

環境影響・毒性に関するデータベースには、

HSDB (Hazardous Substance Data Bank)[14]、ECOTOX [15] などがある。HSDB は、米国 NIH (National Institution of Health) が提供する毒性情報データベース TOXNET の一部分である。ECOTOX は USEPA が提供するもので AQUIRE (水生生物)、PHYTOX (陸生植物)、TERRETOX (陸生野生生物) の3つからなる。

この他にも多くの環境影響・毒性に関するウェブサイトが国立医薬品食品衛生研究所のホームページに紹介されている [16]。

4. 日本の化学物質の環境影響評価

(1) 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法)

化審法は1973年に制定された法律で、新たに製造・輸入される化学物質の、人への有害性などに関する事前審査がこの法律に基づいて実施されている。年間約300件の新規化学物質を審査し、環境経由で人の健康を損なう恐れのある化学物質の製造・輸入・使用を規制している。この法律には環境（生態系）保全の視点がなかったため、改正案が2003年3月7日に国会に提出され、2003年5月28日に公布された。同法は公布の日から起算して1年を超えない範囲内において政令で定める日から施行することとされており、2003年6月現在、施行に向けた準備を進めている。

(2) 化審法による規制対象から除外されているもの

他の法律により十分な評価が実施されるとして化審法の規制から除外されているものは、以下の法律によって規制されているものである。VMP は薬事法によって規制されているため化審法の規制を受けていない。

- ・毒物及び劇物取締法（1950年制定）
- ・覚せい剤取締法（1951年制定）
- ・麻薬及び向精神薬取締法（1953年制定）
- ・特定物質の規制等によるオゾン層の保護に関する法律（1988年制定）
- ・食品衛生法（1947年制定）
- ・農薬取締法（1948年制定）
- ・飼料取締法（1950年制定）
- ・飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法

律 (1953 年制定)

・薬事法 (1960 年制定)

(3) これからの化学物質・農薬の環境影響評価

2002年1月に公表されたOECDによる日本の環境保全成果レビューで、「生態系の保全は、日本の化学物質管理政策の目的に一般的には健康の保護と並ぶ形で含まれていない」として、「化学物質の効果および効率をさらに向上させるとともに、生態系保全を含むように規制の範囲をさらに拡大すること」と勧告された。これと関連して、化学物質および農薬では、今後の環境影響評価の新しい方向を示す以下の2つの報告書が相次いで出された。

・生態系保全等に係る化学物質審査規制検討会報告書 (2002年3月)[17]

(概要) 本報告書では、内外の知見がレビューされ、化学物質の事前審査と製造・使用などの規制に生態系保全の観点を導入することが必要であること、化学物質の生態影響に関する試験および評価の実施が我が国でも可能であることが検証された。その上で、生態系保全に係る化学物質の審査・規制のあり方について大きな方向性が示され、さらに関連する審査・規制全体の見直しに係る検討課題について整理されている。

・農薬生態影響評価検討会第2次中間報告 (2002年5月)[18]

(概要) 持続可能な社会の構築を実現する上で、従来の対応に加え農薬の評価制度の中に実質的に生態系の保全を視野に入れた取組を強化することは喫緊の課題であるとの認識に基づき、当面具体化を図ることが可能な対策として技術的手法が確立されている水域生態系の急性毒性影響についての評価手法の在り方について取りまとめた。

さらに、関係審議会 (産業構造審議会、厚生科学審議会、中央環境審議会) において今後の審査・規制制度の在り方についての審議が行われ、2003年2月に、化学物質の動植物への影響に着目した審査・規制制度を導入するとともに、環境中への放出可能性を考慮した、一層効果的かつ効率的な措置等を講じることが必要であるとの結論が

得られた。これを踏まえ、2003年3月7日に改正法案が国会に提出され、2003年5月22日に成立し、2003年5月28日に公布された。この改正については環境省の化学物質審査規制法ホームページ [19] に紹介されている。改正法の主な内容は次の4点である。

- ・環境中の動植物への影響に着目した審査・規制制度の導入
- ・難分解・高蓄積性の既存化学物質に関する規制の導入
- ・環境中への放出可能性に着目した審査制度の導入
- ・事業者が入手した有害性情報の報告の義務付け

5. VMP の環境影響評価

(1) VMP の環境影響評価はなぜ必要か？

以下の点から日本においても VMP の環境影響評価が必要であると考えられる。

- ・多くの VMP は生理活性物質であるので、環境中の生物に影響を及ぼす可能性がある。
- ・VMP は環境に導入することを意図して使用されていない。即ち環境影響は使用目的とは異なる。
- ・集中的に使用される場合、局所的に高濃度になる。
- ・環境中に入ってしまう環境からの回収は不可能である。
- ・日本では現段階でリスクが周知されていない。

(2) VMP の環境影響評価とはどのようなものか？

- ・評価の対象とする環境は、畜舎・水産養殖施設以外の全ての場所である。
- ・影響とは、環境中に生息する生物・生態系に対する有害作用であり、人間に対する影響は含まない。
- ・評価とは、影響の範囲・程度が許容できるか否か判断することである。

(3) VMP の環境影響の特徴

多くの VMP は化学物質であり、多くの VMP は農薬または人体薬と類似の化学構造と活性を有する。それでは、化学物質・農薬・人体薬の環境影響と VMP の環境影響はどのような相違点があるのだろうか。

VMPと化学物質・農薬との大きな違いは、VMPは環境に放出される前に動物の体内を経由するため、代謝物が生成される可能性があるという点である。さらに、堆肥化などの過程で分解産物が生成される可能性があり、どこにどれだけの量のVMPがどのような化合物として放出されるかを詳細に把握することが非常に困難であるという点である。

VMPと人体薬の大きな違いは、VMPは同じ薬剤が同時に多くの動物に投与される可能性があり、しかもVMPを含有する可能性のある糞尿が農業に利用されるという点である。人体薬では基本的には患者一人一人別の薬剤を使用することを考えればこのようなVMPの局所的な環境への曝露量は、病院排水などの特殊な例を除けば人体薬と比べてかなり多くなりうる。

このようにVMPの環境への曝露は化学物質・農薬・人体薬と比べてかなり評価が難しいことが推定される。さらに、現段階の日本においては、VMPが環境に放出される可能性があることとそのリスクが十分に周知されていないという問題がある。ほとんどのVMPの使用者はVMPを使用することによって環境にVMPを放出する可能性があることを知らないであろうし、ほとんどの堆肥の使用者は堆肥がVMPを含有している可能性があることを予想できないであろう。このことがVMPの環境に対するリスクをさらに大きくすると考えられる。

(4) VMPの環境影響評価の現状

VICHには、EU、米国、日本がメンバーとして、オーストラリア・ニュージーランド、カナダがオブザーバーとして参加しているが、これらの国々における環境影響評価の現状を述べる。EUでは、VMPの許可と監督に関するEC指令(Directive 2001/82/EC)の下でVMPの環境影響評価ガイドライン[20]に基づいて、環境影響評価がなされているが、評価を実施している機関が許認可官庁と同じ国もあれば異なる国もある。米国ではNational Environmental Policy Actの下でFDA/CVM(U. S. Food and Drug Administration/Center for Veterinary Medicine, 米国食品医薬品庁／動物用医薬品審査センター)が評価を実施して

いるが、最近CVMはU. S. Federal Food, Drug & Cosmetic Actによっても審査することを表明しており、さらに絶滅危惧種にリスクがあると懸念される場合にはEndangered Species Actに基づいて関連部局と連絡を取って審査する。米国にはVMP独自のガイドラインはなく、人体用医薬品についてのガイドラインはある。VMPについてはガイドライン案を作成作業中にVICHでEcoWGが設立されたため、こちらの作業に切り替えられた。この米国の案はEcoWG設立時に提出され、EUのガイドラインとともにVICHガイドラインの基本資料となった。オーストラリアでは、Agricultural and Veterinary Chemicals Code Actの下でVMPの環境影響評価ガイドライン[21]に基づいて、Environment Australia(環境省)がVMP規制当局であるNational Regulation Authorityと連絡を取りつつ評価を実施している。カナダではCanadian Environmental Protection Actの下でHealth Canada(保健省)が評価を実施しているが、水産用の外部寄生虫駆除外剤についてはPest Control Product Actの下で評価がなされる。

日本では、人体薬・VMP・医薬部外品・化粧品を規制する法律(薬事法)の下で、VMPについては農林水産省が評価を実施している。現在の日本の承認審査制度においては、承認審査時に、水産薬については水中分解性試験資料[3]が、新キノロン剤については環境中での安定性資料[4]が求められており、消毒剤、殺虫剤などの環境に対する影響が大きいと考えられるVMPについては環境に対する影響に関しての意見を求められる場合がある[22]。新医薬品の市販後調査のうちの使用成績調査においては、環境に及ぼす影響に関する新たな知見が得られた場合にはその影響に関する積極的な調査の実施が求められている[23, 24]。また、平成4年度に開始された薬事法に基づく再評価においては、環境影響にも着目して文献等のスクリーニング作業が実施されている。

今後、後述するVICH環境毒性・環境影響評価ガイドラインが合意され施行されれば、新医薬品の承認申請時にこれに基づいた日米欧共通の環境影響評価資料が求められることになるであろう。

6. VICH 環境毒性・環境影響評価ガイドライン

(1) VICH の活動

VICH には日・米・EU の VMP の規制当局および業界がメンバーとして、オーストラリア・ニュージーランド・カナダの規制当局および業界がオブザーバーとして参加している。VICH の活動については、動物医薬品検査所年報 [25～30] に詳しく紹介されているので参照されたい。また、これまで作成された VICH ガイドラインの最終版及び作成作業中の案は、EMA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products; 欧州医薬品審査庁) のホームページ [31] に公開されている。

EcoWG の会合は、1997 年～2002 年の間に 7 回開催され、2003 年 7 月に第 8 回目を開催する予定である。VICH 環境毒性・環境影響評価ガイドラインは、第 I 相文書と第 II 相文書からなる。第 I 相文書 (VICH GL6) は、WG での論議および各極における意見募集手続き (日本においては中央薬事審議会水産用医薬品調査会・動物用医薬品等特別部会に諮られるとともに農水省ホームページ・家畜衛生週報などによる公開と意見募集がなされた) を経て WG の上部組織である運営委員会 (SC) で 2000 年 6 月に最終的に合意され、EU・米国においては 2001 年 7 月 1 日までに施行することとされ、日本においては、現在作成作業中の第 II 相ガイダンス文書案が最終版となった時に施行することとされた。EU・米国・オーストラリアにおいては既に施行されている。第 II 相ガイダンス文書案は WG での最初の作成作業中であり、第 8 回 WG で最初の合意がなされる可能性がある。

(2) VICH 環境毒性・環境影響評価ガイドラインの基本的な考え方

VICH 環境毒性・環境影響評価ガイドラインは、以下のような考え方に基づいて作成されている。

- ・評価の対象とするのは、生物学的製剤以外の VMP である。
- ・守るべき環境は、家畜飼育施設・水産養殖施設

以外の全ての場所である。

- ・環境にとって有害なものは、環境生物に毒性を及ぼすもの、環境中で長期に存在するもの (分解されないもの) および環境中生物に蓄積されるものである。
- ・ハーモナイズできるものは、判断基準を含めた評価手法および試験法であり、ハーモナイズできないものは、地域により異なるもの、例えば環境への導入経路や PEC の計算の詳細な方法などである。
- ・内分泌攪乱作用および抗菌剤の薬剤耐性については評価に含まない。

(3) VICH 環境毒性・環境影響評価ガイドラインの全体像

VICH 環境毒性/環境影響評価ガイダンス文書は、上記の考え方に基づいて作成されており、図 4 に示すような第 I 相、第 II 相 (A 段階・B 段階) からなる段階的な評価法となっている。

最初に第 I 相による評価を行い、その結果、その物質が環境に対して許容できない影響を及ぼす可能性が否定されたものは評価終了となり第 II 相は適用されないが、それ以外のものは第 II 相に進む。第 I 相においては、試験を実施せずに、その VMP の物質としての性質や使用方法などから、その物質が環境に影響を及ぼす可能性があるか、あるいはその物質が環境中にどのくらい入るかを評価する。第 II 相は物理化学的試験・急性毒性試験・分解試験などからなる A 段階と慢性毒性試験・生物濃縮試験などからなる B 段階から構成さ

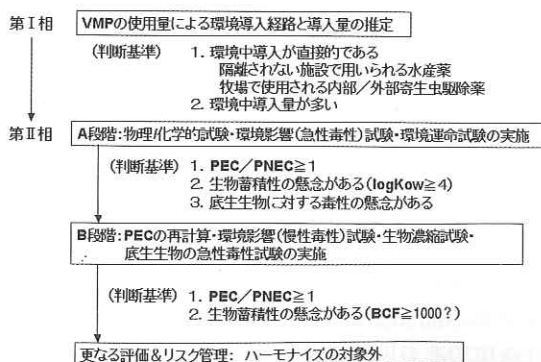


図 4 VICH VMP の環境毒性/影響評価ガイダンス文書の全体像 (2003 年 6 月 30 日現在)

れる。

(4) VICH 環境毒性・環境影響評価ガイドライン第 I 相文書

この文書は、文書の目的とその範囲、判断系図およびその説明からなる。VICH 環境毒性・環境影響評価ガイドライン第 I 相文書の判断系図を図 5 に示した。

第 I 相の評価は、図 5 に示した 19 の質問について順番に「はい」、「いいえ」で答える形式で行われる。答えによってはその物質が環境に対して許容できない影響を及ぼす可能性が否定され、評価がそこで終了する。質問 1 はその VMP がこのガイドライン文書以外の法律等により規制されるなどの理由でこのガイドラインを適用されないものかどうか、質問 2 は天然物かどうか、質問 3～5 は多く使用されるものかどうか、質問 6 は対象動物の体内で広く代謝されるかどうかを問うている。いずれも「はい」と答えると評価はそこで終了する。質問 7 はその VMP が魚などの水生動物に使用されるものかあるいは牛・豚・鶏のような陸生動物に使用されるものかによって分ける質問である。前者については質問 8～13 が、後者については質問 14～19 がさらに続く。質問 9 と質問 15 は、その VMP が環境に直接入るような場所で使用されるかどうかを、質問 10 と質問 16 はその VMP が寄生虫駆除剤であるかどうかを問うている。寄生虫駆除剤は寄生虫によく似た生物である環境中の昆虫などにも毒性を示す可能性があると考えられるので、特別慎重な扱いとなっている。質問 11 と質問 17 はその VMP が環境中にどのくらいの濃度で入ると予想されるかについての質問である。EICaquatic（水環境中導入濃度）は河川などの水環境にその VMP が入るときに予想される濃度、PECsoil（土壌中予測濃度）は堆肥などに混ざっている VMP が畑などの土壌に入ったときのその土壌中の予想される濃度であり、それぞれの VMP の使用量や使用方法から計算する。一方、様々な人体用医薬品や VMP の環境に及ぼす影響について、米国において 20 年以上にわたって集積されてきた多くの情報を分析した結果、EICaquatic としては $1\mu\text{g/L}$ 、PECsoil としては $100\mu\text{g/kg}$ 未満であれば、環境に対してほとんど

影響を及ぼすことはないであろうという結論が導かれた。したがって、計算された EICaquatic、PECsoil の値がそれぞれ $1\mu\text{g/L}$ または $100\mu\text{g/kg}$ 未満であれば、そこで評価は終了することとされている。EICaquatic、PECsoil の値は、使用された全量が環境中に放出されたと想定する簡単な計算（質問 11 および質問 17）および VMP が環境に入る前の分解や汚水処理などによる除去を考慮に入れたより正確な計算（質問 12 および質問 18）の 2 つの方法が可能である。その結果これらの値がそれぞれ $1\mu\text{g/L}$ または $100\mu\text{g/kg}$ 未満であれば、そこで評価は終了する。

第 I 相の 19 の質問で評価が終了しなかった VMP は第 II 相に進み、試験を行い、その結果に基づくより詳細な評価を実施する。

(5) VICH 環境毒性・環境影響評価ガイドライン第 II 相文書案

第 II 相文書案は、2003 年 6 月現在でまだ最初の案が WG での合意に至っていない。したがってこれ以後の記載は今後の WG または SC の論議により変更される可能性があることを予めお断りしておく。さらに、VICH 作業過程には文書の公開と意見聴取の過程があるので、最初の案が WG で合意され、SC で承認後に公開し広く国民の皆様のご意見をいただき、その結果を WG に持ち帰って論議し、修正する手続きをとる。関係諸氏の積極的なご意見を期待している。第 II 相がまだ最初の案の作成段階であり、今後変更されることが予想されることから、本稿では概略のみを説明する。

第 II 相文書案は、序論、一般要素（文書の使い方、リスク評価の手法など）共通要素（以下の 3 分岐に共通する A・B 段階のデータ要求、次の段階に進むための判断基準など）、水産養殖分岐、集約的飼育家畜分岐、牧場飼育家畜分岐、参考文献、用語集からなる。水産養殖分岐、集約的飼育家畜分岐、牧場飼育家畜分岐の各分岐は、曝露のシナリオ、環境中予測濃度（PEC）の計算法、各分岐に特有のデータ要求等を含む。

第 II 相においては、図 4 に示すように、A 段階では物理／化学的試験、環境影響（急性毒性）試験、環境運命試験を実施するとともに、環境の各コンパートメントについての PEC、例えば

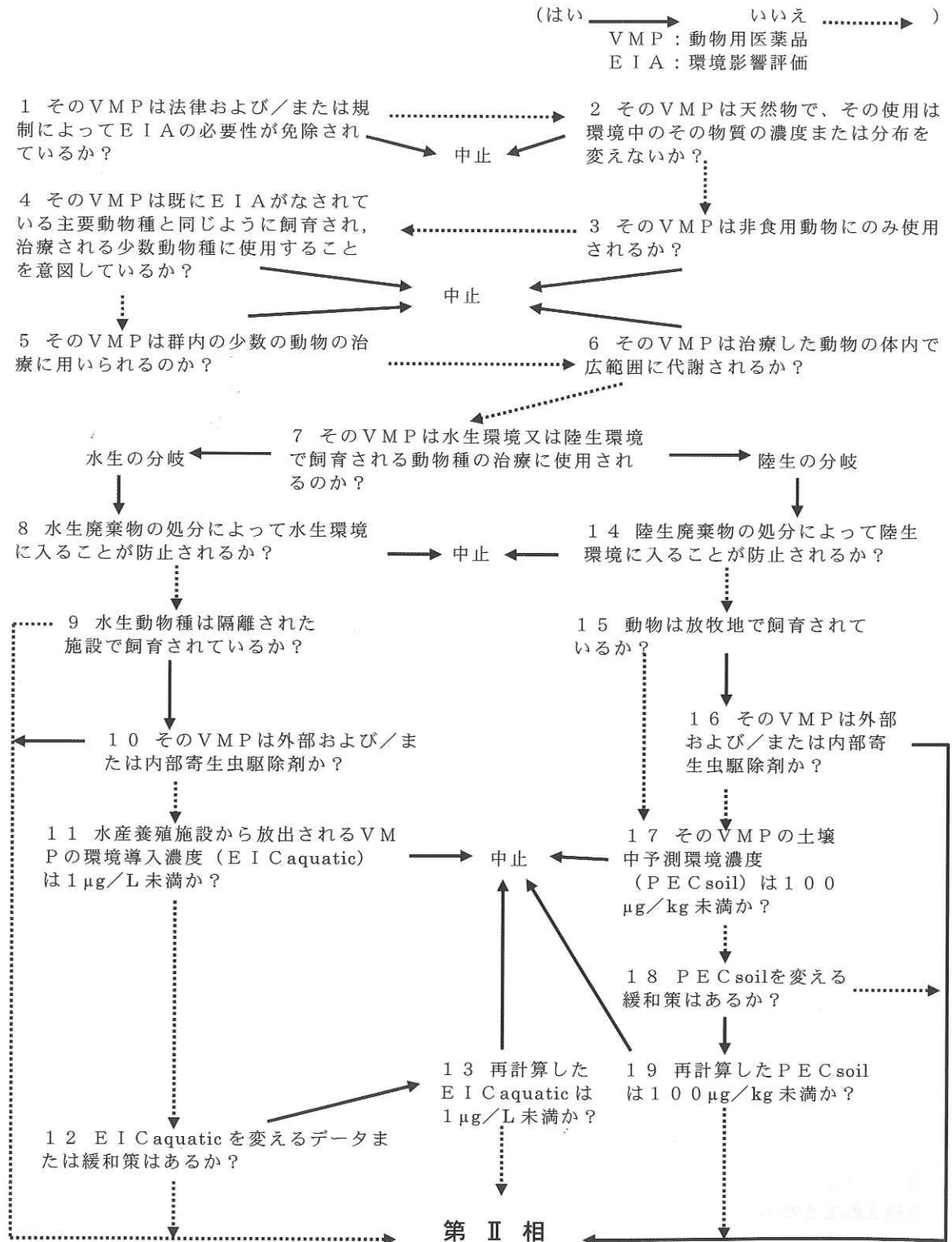


図5 VICH VMPの環境毒性/環境影響評価ガイダンス文書第I相判断系図

PECsoil, PECsw (表層水中予測濃度) を計算する。この段階での PEC の計算は、対象動物における代謝などを無いものとみなし、動物への投与量の全量が環境中に放出されたとして計算する。この PEC の値を、環境影響試験から得られた PNEC と比較して、PEC/PNEC の値を算出し、1 と比較する。ただし、この計算は各栄養段階、例えば藻類、ミジンコ類、魚類でそれぞれ実施する。この他に、図 4 に示す、生物蓄積性に対する懸念および底生生物に対する懸念についても判断基準とする。B 段階ではまず A 段階の環境運命試験の成績を考慮して再計算した PEC を用いて PEC/PNEC を計算し、1 未満となれば評価を終了する。PEC/PNEC \geq 1 の場合のみ環境影響 (慢性毒性) 試験を実施する。A 段階で生物蓄積性の懸念があった場合には、B 段階で魚類を用いた生物濃縮試験を実施する。A 段階で底生生物に対する懸念があった場合には、B 段階で底生生物の毒性試験を実施する。また、B 段階でも PEC/PNEC \geq 1 の場合や生物蓄積性の懸念がある場合には更なる評価およびリスク管理が必要とされると考えられるが、それらについては各規制当局の判断に委ねるものとし、ハーモナイズの対象外とする。表 1 に、現在の第 II 相案の中に推奨される試験法として記載されている OECD ガイドラインを示す。第 II 相案には、これら以外にも試験項目はあるが、OECD ガイドラインには試験

法がない項目であるので、現段階では規制当局のガイダンスを探ることとされている。なお、段階的な評価方法であるので、第 II 相に入ったからといってこれら全てを要求されるわけではない。

7. 抗菌剤の環境に対するリスク

まず、環境曝露の面からいえば、抗菌剤の特徴として、環境導入量が多い使用法 (飼料添加・全群・7 日間までの投与) があるので、このような使用法では PEC が大きくなることが予想される。また、水溶性が大きく、土壤吸着性が小さいような抗菌剤では水系への移行がしやすいことが考えられるし、分解しにくく環境中の持続性が高い抗菌剤があることも予想される。環境影響 (毒性) の面からいえば、水生生物では特に藻類に対する毒性が高いものがあるし、陸生生物では土壤微生物に対する影響が懸念される。さらに生物蓄積性の懸念のあるものが存在することも予想される。

この問題について関心のある方には、環境中の人体用医薬品および VMP に関する Toxicology Letters の特集号 [32]、抗菌剤の藻類に対する毒性に関する報告 [33]、VMP の土壤吸着性に関する総説 [34]、化学物質の環境毒性に関する若林の著書 [35] なども参考になるとと思われるので参照されたい。

表 1 VICH ガイドライン第 II 相案で推奨される試験法として記載されている OECD ガイドライン (2003 年 6 月 30 日現在) 化学物質の試験のための OECD ガイドライン: セクション 1—物理-化学的性質

TG No.	表 題
101	UV-VIS 吸収スペクトル (最初のガイドライン, 1981.5.12 採択)
102	融点/融解範囲 (改正ガイドライン, 1995.7.27 採択)
103	沸点 (改正ガイドライン, 1995.7.27 採択)
104	蒸気圧 (改正ガイドライン, 1995.7.27 採択)
105	水溶性 (改正ガイドライン, 1995.7.27 採択)
106	バッチ平衡法による吸着-脱着 (改正ガイドライン, 2000.1.21 採択)
107	分配係数 (n-オクタノール/水): フラスコ振とう法 (改正ガイドライン, 1995.7.27 採択)
111	pH の機能としての加水分解 (最初のガイドライン, 1981.5.12 採択)
112	水中解離定数 (最初のガイドライン, 1981.5.12 採択)
117	分配係数 (n-オクタノール/水): HPLC 法 (最初のガイドライン, 1989.3.30 採択)

セクション 2 - 生物系への影響

TG No.	表 題
201	藻類生長阻害試験 (改正ガイドライン, 1984.6.7 採択)
202	ミジンコ種急性遊泳阻害試験及び繁殖試験 (改正ガイドライン, 1984.4.4 採択)
203	魚類急性毒性試験 (改正ガイドライン, 1992.7.17 採択)
207	ミミズ急性毒性試験 (最初のガイドライン, 1984.4.4 採択)
208	陸生植物成長試験 (最初のガイドライン, 1984.4.4 採択)
210	魚類初期生活段階毒性試験 (最初のガイドライン, 1992.7.17 採択)
211	オオミジンコ繁殖試験 (最初のガイドライン, 1998.9.21 採択)
216	土壌微生物窒素無機化試験 (最初のガイドライン, 2000.1.21 採択)

セクション 3 - 分解および蓄積

TG No.	表 題
305	生物濃縮: 魚類を用いる試験 (改正ガイドライン, 1996.6.14 採択)
307	土壌中好氣的及び嫌氣的変化 (最初のガイドライン, 2002.4.24 採択)
308	水底質系における好氣的及び嫌氣的変化 (最初のガイドライン, 2002.4.24 採択)

8. 結 び

以上、化学物質および VMP の環境影響評価について述べてきたが、環境影響問題に関する限り、現在の日本は欧米の後を追いかけている段階にあり、今後大きく変わっていく岐路に立っていると思う。しかし豊葦原瑞穂の国の美称をもつ美しい祖国の自然とそこに生息する生物を愛する心は欧米の人々と同じであるだろう。本稿が VMP の環境影響評価に対する理解を深めることに少しでも役に立てれば幸いである。

参考文献

- Wall R, Strong L: Environmental consequences of treating cattle with the antiparasitic drug ivermectin. *Nature*, 327(6121), 418421(1987)
- McKellar, QA: Ecotoxicology and residues of antelmintic compounds. *Veterinary Parasitology*, 72, 413-435 (1997)
- 農林水産省: 動物用医薬品関係事務の取扱いについて, 平成 12 年 3 月 31 日付け農林水産省畜産局衛生課薬事室長通知 12-33, 別紙 第 4 の 2 の (1) のア (2000)
- 農林水産省: 薬事法関係事務の取扱いについて, 平成 12 年 3 月 31 日付け農林水産省畜産局長通知 12 畜 A 第 729 号, 第 2 の 2 の (2) のオ (2000)
- OECD: Manual for Investigation of HPV chemicals. <http://www.oecd.org/EN/document/0,,EN-document-525-nodirectorate-no-5-33255-8, FF.html>
- OECD: Home: Chemical Safety, <http://www.oecd.org/EN/Home/0,,EN-home-519-nodirectorate-no-no-no- -8,00.html>
- 森下哲: OECD における化学物質試験・評価・管理手法のハーモナイゼーション, *水環境学会誌*, 23 (7), 390-394 (2000)
- OECD: Harmonised integrated classification system for human health and environmental hazards of chemical substances and mixtures. <http://www.olis.oecd.org/olis/2001doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono> (2001) 6
- OECD: Home: Chemical-Testing Guidelines. <http://www.oecd.org/EN/Home/0,,EN-home-524-nodirectorate-no-no-no-8,00.html>
- ISO: ISO Homepage. <http://www.iso.org>
- ASTM: ASTM Homepage. <http://www.astm.org>
- SETAC: SETAC Homepage. <http://www.setac.org>
- EPA: EPA Homepage. <http://www.epa.gov>

- 14) NIH: Search HSDB.
<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>
- 15) EPA: Ecotox Homepage. <http://www.epa.gov/ecotox>
- 16) 国立医薬品食品衛生研究所：個々の化学物質の情報検索 (Web ガイド),
<http://www.nihs.go.jp/cheminfo/webguide.html>
- 17) 環境省：生態系保全のための化学物質の審査・規制の導入について (生態系保全等に係る化学物質審査規制検討会報告書) について,
<http://www.env.go.jp/press/press.php3?serial=3248> (2002)
- 18) 環境省：農薬生態影響評価検討会第2次中間報告について,
<http://www.env.go.jp/press/press.php3?serial=3377> (2002)
- 19) 環境省：化学物質審査規制法ホームページ,
<http://www.env.go.jp/chemi/kagaku/index.html>
- 20) EMEA: Note for Guidance: Environmental risk assessment for veterinary medicinal products other than GMO-containing and immunological products. EMEA/CVMP/055/96-FINAL(1997)
- 21) National Registration Authority: Part 7 of veterinary requirement series, environment. (1997)
- 22) 農林水産省生産局畜産部衛生課監修：動物用医薬品等製造指針, 256, 日本動物薬事協会, 東京 (2003)
- 23) 農林水産省：薬事法関係事務の取扱いについて, 平成12年3月31日付け農林水産省畜産局長通知12畜A第729号, 別紙4の3の(6) (2000)
- 24) 農林水産省：動物用医薬品関係事務の取扱いについて, 平成12年3月31日付け農林水産省畜産局衛生課薬事室長通知12-33, 別紙第4の12の(1) のオ (2000)
- 25) 農林水産省動物医薬品検査所：VICH (動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力) について, 農林水産省動物医薬品検査所年報, 34, 112-121 (1997)
- 26) 農林水産省動物医薬品検査所：VICH (動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力) について, 農林水産省動物医薬品検査所年報, 35, 95-116 (1998)
- 27) 農林水産省動物医薬品検査所：VICH (動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力) について, 農林水産省動物医薬品検査所年報, 36, 81-98 (1999)
- 28) 農林水産省動物医薬品検査所：VICH (動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力) について, 農林水産省動物医薬品検査所年報, 37, 81-110 (2000)
- 29) 農林水産省動物医薬品検査所：VICH (動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力) について, 農林水産省動物医薬品検査所年報, 38, 74-112 (2001)
- 30) 農林水産省動物医薬品検査所：VICH (動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力) について, 農林水産省動物医薬品検査所年報, 39, 99-123 (2002)
- 31) EMEA: Veterinary Medicine Homepage.
<http://emea.eu.int/index/indexv1.htm>
- 32) Dietrich DR, et al: Hot spot pollutants: Pharmaceuticals in the environment.
Toxicology letters, 131 (2002)
- 33) Holten Lützhøft H-C Halling-Sørensen B, Jørgensen SE: Algal toxicity of antimicrobial agents applied in Danish fish farming. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 36, 1-6 (1999)
- 34) Tolls J: Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environmental science & technology* 35 (17), 3397-3406 (2001)
- 35) 若林明子：化学物質と生態毒性, 産業環境管理協会, 東京 (2000)

Environmental Impact Assessments for Veterinary Medicinal Products

Yuuko S. ENDOH

*National Veterinary Assay Laboratory, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries,
1-15-1, Tokura, Kokubunji, Tokyo 185-8511, Japan*

Recently, concerns for the toxicity of chemicals to life in environments are increasing. The manner in which the hazards of chemicals are evaluated is changing rapidly. The view point from environmental toxicology is induced to the evaluation of chemicals in Japan this year (2003).

Environmental impact assessments (EIAs) for veterinary medicinal products (VMPs) are now being developed by the International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of VMPs (VICH) Ecotoxicity/EIA Working Group (WG). The WG elected to develop harmonized guidance in two phases (Phase I and Phase II). Phase I was completed and released for implementation by the VICH Steering Committee (SC) on June 15 2000. Phase I has been implemented officially in the EU, US and Australia. Phase I identifies VMPs that require a more extensive investigation of their potential to have effects on non-target organisms in the environment. Phase II includes decision trees for each of the major branches: (1) aquaculture, (2) intensively reared terrestrial animals and (3) pasture animals. Following completion of Phase II, both guidance documents are expected to be implemented in the EU, Japan, US, Australia/New Zealand and possibly Canada.

討 論 (座長: 小久江栄一, 農工大)

質問 (江口正志, 動物衛生研究所)

リスク伝達の具体的な方法は?

答 (遠藤裕子)

リスク伝達の方法としては、VMPの製造(輸入)業者からVMP使用者への伝達と行政サイドからVMP使用者や一般の方々への伝達の2つのルートがあると考えます。行政サイドからの伝達方法についてはこれから検討する必要があると考えます。

質問 (江口正志, 動物衛生研究所)

複合的な汚染の評価はどのようにするのか?

答 (遠藤裕子)

複合汚染の評価は難しい課題であり、OECDにおいてもまだ手法が確立されていないようです。VICHのWGでは現段階では検討しておりませんが、将来のガイドライン改定作業の際の課題の1つになると考えます。

質問 (藤倉孝夫, 動物衛生研究所 OB)

OECDの本来の機能(経済・開発機構)と環境評価体系を構築しようとする理由は?

答 (遠藤裕子)

OECDは将来にわたって持続的な経済活動をするためには現在の地球環境を維持していく必要を感じているようです。同時に環境を汚染するのは化学物質の製造・流通も含めて経済活動であるという認識があるようです。従って化学物質を生産し、流通させる立場から、環境に重大な影響を与えるようなものかどうかを評価する必要性を切実に感じているものと考えられます。

質問 (藤倉孝夫, 動物衛生研究所 OB)

他の国際機関との連携は如何ですか。

答 (遠藤裕子)

OECDはVMPの環境影響評価と直接関係があるわけではなく、OECDの示している環境に有害なものについての考え方や試験法をVICH環境毒性/環境影響評価ガイドラインで取り入れているに過ぎません。OECDは日本の化審法に基づく化学物質審査について環境保全の観点欠けているとの勧告を出しており、これを踏まえた形で化審法の改正案が作成

されておりますが、VMPは薬事法に基づいておりますのでこのことが直接VMPの環境影響評価に影響を与えているわけでもありません。他の国際機関との連携も現在はありませんので、今後の課題であると考えます。

質問（八木澤守正，抗生物質学協）

VMPのうちの抗菌剤については、その本質的な抗微生物作用が堆肥生産などに影響する。EIA（環境影響評価）手法が確立した後に、その行政的な取り扱いはどうのように考えておられるか？

答（遠藤裕子）

動物に使用された抗菌剤が堆肥生成過程にどの程度影響を与えるのか、さらには生成された堆肥が農業生産や耕地環境にどのような影響を与えるのかについては、まだほとんど研究がなされておらず、今後特に研究が必要な課題であると考えます。行政的な取り扱い、例えばリスク管理・リスク伝達についても今後検討が必要であると考えられ、何らかの懸念がある場合にはVMPの使用者のみではなく堆肥の使用者についても適切なリスク伝達がなされるべきであると考えます。

質問（福本一雄，日本イーライリリー株式会社）

実際の評価ではどんな動物種を使うのでしょうか→全世界共通になるのでしょうか？

答（遠藤裕子）

ガイドラインにおいては推奨される試験法を記載することになります。例えば魚類急性毒性試験に使

用が推奨されているOECD203の試験法には使用される魚種が数種類記載されています。原則的にはこの中から選択するわけですが、ガイドライン上では、生物種はその申請書の提出先の規制当局の裁量であるとされますので、ある国でAという魚で試験したデータが受け入れられたとしても別の国でその魚種が生息していないなどの理由で別の魚種の試験を要求されることもあり得ます。今後、ガイドラインがハーモナイズされていく過程で、日本政府としての推奨する生物種についての考え方も公表されていくことでしょう。また、科学的な根拠があればガイドラインとは別の試験法・生物種を使用することも可能であると考えます。

質問（阪野哲也，全農家衛研）

評価をするに当たり、環境に対するリスクのみならず、メリット（例：病原体の排泄抑制）をも含めた判断はされないのか？

答（遠藤裕子）

環境影響評価の段階ではメリットは考慮しませんが、なんらかの大きなメリットのあるVMPの場合には、環境に対するリスクが無視できないと評価された後のリスク削減の方法を検討する段階において、メリットも考慮に入れてそのVMPの有用性について判断することはあり得ると考えます。しかし、このような事項は、ケースバイケースで取り扱われるべき問題ですし、環境影響評価ガイドラインのハーモナイズすべき範囲には含まれません。

特集：抗菌性飼料添加物を巡る世界情勢とわが国の取組み

Symposium : International Trend and Present Status in Japan for Use of Feed Additive Antibiotics

今回のシンポジウムにあたって

小久江栄一（動物用抗菌剤研究会 理事長）

総会の時に行うシンポジウムの題材選びは理事会の重要な仕事である。沢山の会員の方々を集まってもらうために、ホットな話題を取り上げた。ホットな話題が見つかって人も人選で難航する場合もある。しかし、今年はテーマも人選も大変スムーズに決まった。

ご存知のように大分以前から、ニワトリや豚に使う成長促進用抗菌剤を禁止するかどうか世界中で大問題になっていた。日本はずっと静かだった。サイエンスを見つめる目が大分肥えてきたなと自負していたが、それは思い過ごしだった。農水省が突然「食の安全」と叫び、成長促進用抗菌剤禁止の方向を打ち出した。丁度そんな時期だったので、この日の理事会でも会が始まる前からその話が出ていた。そして、議題に入るとすぐにテーマはこれに決まった。お話ししていただく先生方の候補も沢山に出たと記憶している。ということで本年度のテーマは「抗菌性飼料添加物を巡る世界情勢とわが国の取組み」となり、講師の

先生も、田村豊、福本一夫、米持千里、大島慧の各氏をお願いすることになった。期待にたがわず各先生しっかりとお話しされ、参会者も多く活発な討議ができた。

特別講演の方は、VICHの環境毒性部門を担当して欧米の専門家相手に奮闘している遠藤裕子先生にお話をいただいた。これは私からの提案だった。私も環境毒性部門会議の末席に連なっており、以前から遠藤先生の活躍に頼もしい思いをしていた事もあるし、環境毒性の問題はこれからの獣医医療でも関心を払わなければならない事項とも思っていた。テーマ名は会の特性から「動物用抗菌剤の環境影響評価」としたが、動物薬全般の環境への影響の話をお願いした。これも期待にたがわぬ充実した内容であった。

沢山の方々に参加いただき密度の高い討論が出来た、本年度の特別講演、シンポジウムは成功であったと自負している。

抗菌性飼料添加物に対する世界の規制動向

田村 豊

農林水産省動物医薬品検査所 (〒 185-8511 東京都国分寺市戸倉 1-15-1)

2002年6月に米国疾病管理・予防センター (CDC) は、薬剤耐性菌についての緊急情報を発出し、世界の医療関係者を震撼させた。それは、ミシガン州在住の患者からバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌を初めて分離したとの報告であった [1]。バンコマイシン (VCM) は、多剤耐性を示し世界的に院内感染症の主因で治療が難しいメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に対する数少ない有効な抗菌剤であったからである。この VCM 耐性遺伝子の由来として、米国での使用実績がないにもかかわらず、VCM と同系統のアボパルシン (AVP) を食用動物に成長促進剤 (Antimicrobial Growth Promoter, AGP) として使用されることとの関連が指摘されている。

AGP 開発の歴史は、1940年代に発生した豚の繁殖力や成長の低下問題に遡ることができる。この問題を解決するために、当時、発見された抗貧血効果のあるビタミン B₁₂ の飼料への添加が考えられた。そこでビタミン B₁₂ の天然資源を探す過程で、クロルテトラサイクリンの発酵残渣に多量の B₁₂ が含まれ、その飼料添加が発育促進効果を示すことが明らかになった。その後、この発育促進効果は、残渣に残存するクロルテトラサイクリンそのものによることが証明された [2]。このような実験成果を基に、1949年に低濃度の抗菌性物質、すなわち AGP の食用動物への本格的な応用が米国で開始された。

それ以後、AGP は、安全で安価な畜産物の安定供給に多大な貢献をしており、世界各国での使用が急速に拡大された。一方、各国での AGP 使用量の増大とともに、薬剤耐性菌の出現という負の効果も懸念されるようになった。特に、食用動

物由来薬剤耐性菌の公衆衛生への影響に対して不安が増している。最近、人における薬剤耐性菌の増加を背景として、食物連鎖による食用動物由来薬剤耐性菌あるいは耐性遺伝子の人医療への影響が世界的に議論されており、低濃度で長期間投与される AGP の規制を強化しようとしている。

そこで、今回は AGP に的を絞って各国の規制を含めた概要とともに、最近の国際動向について紹介したい。なお、今回は AGP についてのみ記載するので、医薬品である抗菌剤については他紙を参考にされたい [3]。

1. AGP とは

世界保健機関 (WHO) の定義によれば、AGP は「食用動物における増体率および飼料効率の上昇を目的として使用される抗菌性物質」とされている [4]。日本では飼料添加物の一つとして抗生物質、抗コクシジウム剤などを、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を目的に、飼料に混和して使用している。具体的には、発育の促進および飼料効率の改善ならびにコクシジウムおよび内部寄生虫を駆除することにより生産性を向上させることを目的としていることから、WHO の定義する AGP に概ね相当する。WHO の示す範疇に、抗コクシジウム剤や駆虫剤が含まれるかどうかは、必ずしも明らかでなく議論の多いところであるが、現在、問題となっていることが薬剤耐性であることを考えれば、抗菌活性のある物質は含まれると解釈した方が良いでしょう。したがって、本文では抗コクシジウム剤などを含めて AGP と呼ぶことにしたい。

AGPの各国での取り扱いについては、必ずしも同じではない。表1に日本、米国および欧州連合(EU)の規制についてまとめた。我が国では、医薬品である抗菌剤と飼料添加物に厳密な区別がある。医薬品たる抗菌剤は、当然ながら薬事法の規制を受けており疾病の治療目的で使用される。医薬品の定義には、疾病の予防目的で使用されるものも含まれているが、我が国で承認される抗菌剤はあくまで治療用であり予防用は原則的に認めていない。これは不特定多数に投与される予防目的の使用による薬剤耐性菌の出現を防ぐ意味からである。飼料添加物と同様に飼料に混じて投与される抗菌剤(飼料添加剤)もあるが、短期間(通常は1週間以内)、高濃度に投与されるものであり、低濃度で長期間投与される飼料添加物と明らかに区別される。一方、飼料添加物は、「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。飼料添加物といえは、低濃度で長期間に渡り食用動物にのべつ幕無しに与えているとの誤解が消費者などの一部にあるが、成分、対象動物、投与時期、添加濃度が省令により厳密に決められており、違反した場合は罰則も適応されるなど、強い規制がなされている。

EUのAGPもほぼ我が国と同様な規制がなされている(表1)。一方、米国ではAGPは医薬品の範疇に入れられており、他国と際立った違いを見せている。しかし、内容的には、原則として飼料工場で添加飼料が製造され生産者に提供される他、ほとんどの製品は処方箋が不要であり、規制自体に異なるところはない。

2. 規制強化の背景

現在、国際機関やEUにおいてAGPの規制を強化しようとする背景には、人の医療における感染症の変貌が深く関与している(図1)。従来、人の感染症は赤痢やコレラなどの強毒菌による伝染性感染症が主体であった。それが、衛生知識や公衆衛生の向上、生活環境・宿主条件の改善、医薬品の開発などにより激減し、それに代わって問題となっているのが、弱毒菌による日和見感染症である。この起因菌は、通常は正常フローラとして表皮や粘膜に、あるいは環境に棲息するものであり、健康な人に感染することは稀である。しかし、現在

表1 各国におけるAGPの規制

項目	日本	米国	EU
区分	飼料添加物	医薬品	飼料添加物
飼料への添加	飼料工場	飼料工場	飼料工場
処方箋	不要	殆ど不要	不要
効能	栄養成分の有効利用	予防、治療 成長促進	成長促進
投与期間	長期	1-2週間~未指定	長期
休業期間	原則7日	個別に設定	個別に設定

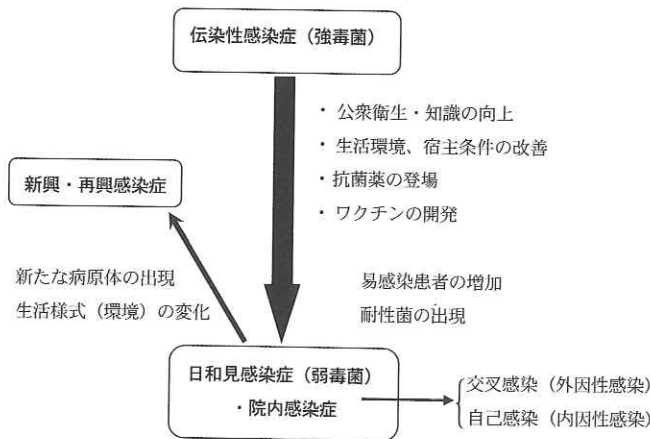


図1 感染症の変貌

のような高度医療社会や高齢化社会は、多くの易感患者を生み出し、それが日和見菌の適度な棲息環境を提供することになったのである。このため、一旦感染が成立するとこれらの細菌は多くの抗菌剤に自然耐性であり、治療に使用される抗菌剤が極めて限定される事から最も難治性の感染症となっている。したがって、現在、医療において最も重要な課題が薬剤耐性菌対策であり、限りある有効な治療薬の効力をできる限り維持したいと考えている。実際、わが国の院内感染対策サーベイランス (<http://202.255.237.164/janis/idsc/kihou/>) においても、ブドウ球菌を始めとして、大腸菌やクレブシエラや緑膿菌といった日和見菌が院内感染起因菌の主体を占めている。なお、WHO は薬剤耐性菌感染症を新興感染症に位置付け、その対策を急務の課題としている。

加えて、国際機関等が食品媒介性病原細菌、いわゆる食中毒菌の薬剤耐性に関して注視する理由として、現在の食中毒発生状況が関与していると考えられる。ここで CDC の報告を紹介すれば、1999 年に 7,600 万人 (全人口の 1/4) が食中毒に罹患し、5,000 人が死亡したと推定されている [5]。わが国では、人口に対する罹患率や死亡率がともに約 1/1,000 であり [6]、米国の食中毒問題の深刻さがうかがえる。したがって、薬剤耐性

菌が食品を介して人へ伝播することを非常に懸念しているのである。

次に、AGP と人用抗菌剤の関連について述べたい。表 2 に AGP と人用抗菌剤の関係を示した [7]。アピラマイシンはエバミノマイシン、AVP は VCM、スピラマイシン (SPM) とタイロシンはエリスロマイシン、バージニアマイシン (VGM) はシネルシッドと同系統であることが知られている。したがって、これらの AGP で出現した薬剤耐性菌は、すなわち人の治療薬であるこれらの抗菌剤にも耐性 (交差耐性) となるのである。ここで注目すべきは、AGP と関連する人用抗菌剤のほとんどがバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 感染症の治療薬であることである。VRE はご承知のように多くの抗菌剤に自然耐性を示し治療薬が極めて限定されることから、院内感染起因菌として最も恐れられている。実際、これらの AGP に対する食用動物由来細菌の耐性率を見ると、すでに多くの薬剤耐性菌が出現しており、その使用量にほぼ相関している (表 3) [7]。

以上のことをまとめると、AGP → 食用動物 → 薬剤耐性菌の出現 → 動物性食品 → 人への伝播 → 医療への影響という図式が描かれることから、AGP の使用を規制しようとしているのである。しかし、後述するように、この問題に対しては、多くの科学的な調査が実施されているが、不明な点が多い (表 4) [8]。それぞれの調査内容を見ると、その

表 2 ヨーロッパで使用される AGP と関連する人用抗菌剤⁷⁾

Growth promoter	Group	Therapeutic antibiotics
Carbadox ^{a)}	Quinoxaline	
Olaquinox ^{a)}	Quinoxaline	
Avilamycin	Oligosaccharid	Everninomicin
Avoparcin ^{a)}	Glycopeptide	Vancomycin
Bacitracin ^{a, b)}	Polypeptide	
Flavomycin	Phosphoglycolipid	
Monensin	Lonophor	
Salinomycin	Lonophor	
Spiramycin ^{a, b)}	Macrolide	Erythromycin
Tylosin ^{a)}	Macrolide	Erythromycin
Virginiamycin ^{a, b)}	Streptogramin	Synercid

a) Banned in the EU

b) Also used for therapy

表 3 1995 年時のデンマークにおけるブロイラー、豚に対する AGP の使用量と耐性菌の出現⁷⁾

Animal Species	Antibiotics agent	Consumption in 1995 (kg)	Occurrence of resistance (%)
Pigs	Tylosin	52,275	90
	Bacitracin	6,000	31
	Avoparcin	2,500	29
	Virginiamycin	1,500	47
	Avilamycin	265	2
Broilers	Avilamycin	1,400	69
	Avoparcin	1,100	59
	Virginiamycin	1,090	43
	Bacitracin	610	41
	Spiramycin	507	54

表4 動物における抗生物質 / 薬剤耐性が人の健康に及ぼす影響についての調査

国名	調査団体	調査年	概要
英国	スワン委員会	1996	飼料添加の抗生物質は耐性菌を出現させ人の健康に影響する可能性があるので使用を禁止すべき。
米国	ニューヨーク科学アカデミー	1970	動物における準治療量の抗生物質の使用と人の健康上の問題との間に決定的な関連を立証できなかった。
米国	FDA 特別委員会	1972	飼料中に抗生物質を添加して使用すると人の健康に影響があるかも知れない。
米国	国立科学アカデミー (NAS)	1980	準治療量の使用による人の健康に対する危害は証明も否定もできない。また、畜産における抗菌剤の準治療量の使用と人への影響を関連づけるデータはない。
米国	国立衛生研究所 (NIH)	1987	家畜への抗生物質の使用が人の薬剤耐性に関わる健康上の問題を増加させる証拠は見出せない。
米国	医学研究所 (IOM)	1988	既存の情報が状況証拠であったり曖昧であったり、時に矛盾していることから、飼料に抗生物質を添加使用することは人の健康に危害があると証明できなかった。
米国	技術評価事務局 (OTA)	1995	飼料に抗生物質を添加して使用することの問題の大きさを証明できなかった。
米国	国立研究審議会 (NRC)	1998	家畜への抗生物質の投与が人の健康に影響するか分からない。飼料に混ぜる程度の低濃度で耐性が生じるのか分からない。
オランダ	HAN 財団	1998	成長促進目的での抗生物質の使用に関連する人の健康上のリスクはデータがないので適正に評価できない。
オーストラリア	薬剤耐性専門家合同委員 (JETACAR)	2000	人における薬剤耐性菌は人での抗菌剤の使用による。しかし、状況によっては動物への抗菌剤使用により人の健康に影響する可能性もある。
カナダ	薬剤耐性専門家委員会	2002	薬剤耐性菌は動物から人へ伝播し、人に病気を起こし人の細菌へ耐性遺伝子を伝播している。しかし、その公衆衛生へ影響する程度は不明である。

可能性まで否定するものではないが、AGPの公衆衛生への影響に関して直接的な証拠はないというのが現時点での国際的なコンセンサスである。

3. 国際動向

(1) スワン・レポート

AGPの公衆衛生への影響について、逸早くこの問題に注目したのが英国であった。すなわち、人と子牛から分離される特定のフェージ型を示す多剤耐性ネズミチフス菌が急激に増加している事実から、「畜産および獣医領域における抗生物質の使用に関する合同委員会」は、「家畜の成長促進目的に使用される飼料添加の抗菌性物質は、薬剤耐性菌やRプラスミドの増加を促す原因ともな

り、ひいては人および家畜の健康を損なう恐れがあるので、十分な規制措置が必要」である旨を英国議会に勧告した(1969年)[9]。これが、いわゆるスワン・レポートと言われるものである。この報告が契機となり、各国でこの問題に対する各種の対応が図られた。わが国でも、1976年に飼料安全法の、畜産物における抗菌性物質の残留や薬剤耐性菌による公衆衛生への影響に配慮した改正が行われ、飼料添加の抗菌性物質を動物用医薬品(飼料添加剤)と飼料添加物とに厳密に区分された。

(2) EUの動き

1986年にスウェーデンは、AGPの食用動物への全面的な使用禁止措置をおこなった。これは当時、薬剤耐性菌が問題であったというより、むしろ

る消費者が工場生産的な食糧生産体制から、より自然に近い形での食糧生産を望む声を政治家が取り入れた結果と言われている。これはスウェーデン方式と呼ばれ、その後の薬剤耐性菌問題に関連する一連の動きの引き金となった。

その後、デンマーク（1995）とドイツ（1996）において、AVPを家畜に与えることにより出現する薬剤耐性菌が、人のMRSA感染症の重要な治療薬であるVCMと交差耐性を示すとの理由でAVPの使用を禁止した。さらにデンマークは同じくMRSAの治療薬であるストレプトグラミン系抗生物質と同系のVGMの使用を禁止した。

それに引き続きEUは、欧州委員会の家畜栄養科学委員会（SCAN）が、AGPの使用が家畜や人に危険性を及ぼす証拠がなく、動物由来薬剤耐性が人の消化管内細菌に伝達することを証明する新たな証拠は示されていないとの調査結果を提出したにも関わらず、1999年7月に人の治療薬と同系統であるとの理由で、VGM、SPM、リン酸タイロシン、亜鉛バシトラシンのAGPとしての使用を禁止した。この禁止措置に対して企業側は、科学的な根拠がないことを理由に裁判所へ異議を申し立てたが、AGPの使用と人での薬剤耐性菌の増加との間に明確な関連を見出せないものの、人の健康保護の必要性を考慮すればAGPの使用禁止措置は不相当といえないと判決された。AGP使用禁止の決定は、科学の問題ではなく、むしろ政治の問題であると裁判所は強調した。

さらにEUは、1999年9月からAGPとして使用することによる公衆衛生への影響を予測することは困難であるとの理由で、カルバドックス（CDX）、オラキンドックス（ODX）の使用を禁止した。これでEUで認められているAGPは、フラボフォスフォリポール、アピラマイシン、サリノマイシン・ナトリウム、モネンシン・ナトリウムの4種のみとなった。このようなEUにおけるAGPの使用禁止措置の後ろ盾となったのが、科学的根拠によらない“予防の原則（Precautionary principle）”〔10〕であった。これは、「科学的に不明確な状況下で重大かも知れないリスクに対して、科学的探求の結果を待たずに対応する必要があると適応されるリスク管理の方法」と定義され

暫定的な措置であるとされている。最近、欧州委員会の科学運営委員会（SSC）は、すでに禁止したAGPの再評価の結果、使用禁止措置の継続と、さらに現行のAGPの継続使用を支持する根拠がないとの理由で残り4種も2006年に禁止する方針を示した。したがって、近々にEU域内でのAGPは全くなくなることとなる。

(3) WHOの動き

このようなEUの動きに呼応するようにWHOは、人の医療における薬剤耐性菌問題が家畜における抗菌性物質の使用に主な原因があるとの観点から、食用動物における抗菌性物質の使用を抑制もしくは禁止しようとする一大キャンペーンを展開している。AGPについて見ると、1997年にベルリンにおいて「食用動物における抗菌剤の使用が医療に及ぼす影響」についての医療サイドの専門家を召集した専門家会議を開催し、特に人の治療に用いられる抗菌性物質（交差耐性を示すものを含む）の食用動物に対する成長促進目的での使用は、人の健康への危険性を増大するため、その使用を止めるべきであるとの結論を導いた〔11〕。

また、2000年にWHOは「食用動物における抗菌剤の慎重な使用に関する勧告」に関する専門家会議を開催した〔4〕。この報告は、食用動物における抗菌性物質の使用による人の健康への影響を最小限にするとともに、獣医学における抗菌性物質の安全で効果的な使用に関する勧告で、人と同系統のAGPは、リスク評価がなされていない場合、その使用を中止すべきであることが述べられている。

(4) 国連食糧農業機関（FAO）の動き

このようなWHOの動きに連動して、FAOもWHOとの提携の下、食品規格を議題とする国際食品規格委員会（Codex）の場で、適正動物飼料規範に盛り込む成長促進目的の抗菌性物質の取り扱いに関する議論が開始された。原案では、「抗生物質は、公衆への安全性評価がなされていないままに、成長促進目的で飼料に添加すべきでない」旨が述べられている。また、Codexの食品衛生部会でも、食中毒菌の薬剤耐性に関わるリスク・プロファイルが進行中であり、残留動物用医

薬品規格部会 (CC/RVDF) でも薬剤耐性を議題とした討議を開始している。現在、CC/RVDF では、薬剤耐性の最小化および抑制の実施規範が検討されており、その案文には、規制当局の責任として、「人または動物に用いられる抗菌剤の種類に属する抗菌性物質の非治療的使用は、リスクに基づく評価がない場合、終結または段階的に廃止すべきである」と記載されている。しかし、この非治療的使用の考え方について議論がなされており未だ結論が出ていない。

(5) 米国の動き

AGP について米国では、動物への成長促進目的での抗菌性物質の使用と、人の健康に対する影響について数次にわたる大規模な調査が行われたが、未だ食用動物へ抗菌性物質を使うことの危険性についての最終的な結論が得られていない (表 4)。最近では 1998 年に国立研究審議会 (NRC) は、「成長促進目的の抗生物質の使用は止めない」ことを宣言した。抗生物質を使うことの有益性と弊害を比較し、有益性が上回った結果であった。

1999 年に FDA は、動物用抗菌剤の承認手続き改正案を提示した。これは、動物用医薬品 (AGP を含む) の区分別承認、承認申請前のリスク・アセスメントの実施、薬剤耐性菌の発現閾値の設定、承認後モニタリングの確立を骨子とするものである。区分別承認とは、動物に人と同じあるいは同系統の抗菌剤を使う場合、人の治療における重要性から 3 つのカテゴリーに区分し、これに細菌が抗菌剤に暴露される可能性から、さらに分類するものである。もし仮に、医療上重要な医薬品で暴露の可能性が高いと判定された場合、膨大な申請資料が要求されることになり、動物用医薬品の開発を抑制することが懸念されている。つまり、AGP に対して極めて厳しい規制となっている。現在、公開会議等で何らかの規制措置が発動される薬剤耐性菌の発現閾値の設定について議論されているが、未だ成案を得ていない。また、2002 年に新動物用医薬品製造承認申請における薬剤耐性の潜在性を評価するガイドライン (案) が提示された。

4. わが国の規制動向

最後に、わが国における AGP の最近の規制動向について述べる。まず CDX であるが、先に述べたように EU は 1999 年から使用を禁止した。日本においては、豚の成長促進を目的とした飼料添加物として 1976 年に指定されていたが、催腫瘍性のため 1983 年に指定が取り消されている。これは EU の規制から実に 16 年前にすでに規制をかけたことになる。最近、Codex 傘下の FAO/WHO 合同食品添加物専門員会の第 60 回会議において、過去の会議で推奨された CDX の一日摂取許容量 (ADI) および最大残留許容量 (MRL) を追認できないと結論づけた。また、EU で 1999 年に禁止された同系統の ODX については、1981 年に豚用の飼料添加物として指定された。その後、指定時の付帯意見による追加試験が実施され、非常に弱いものの腫瘍の発生がうかがわれる知見が得られていたことから、2000 年に再評価が実施され、EU での禁止措置も勘案されて検討された結果、2001 年に指定の取消しが行われた。

また、1997 年に AVP 使用農家のプロイラーから VCM に対する薬剤耐性菌 (VRE) が分離された事実をもとに農業資材審議会で審議された結果、AVP およびそれと同系統のオリエンチシンの飼料添加物としての指定を取り消した。

最近、わが国における牛海綿状脳症の初発生を契機に、国の生産者よりの政策が批判されることとなり、消費者サイドに軸足を移した政策が求められるようになった。この流れの中で、飼料添加物についても指定の見直しが行われることとなった。2002 年 10 月に開催された農業資材審議会飼料分科会安全性部会において、「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飼料添加物の見直し」方針が決定された。現在、リスク分析等の科学的根拠をもとに、指定取消し成分等の検討がなされているところである。

5. おわりに

現在、医療における薬剤耐性菌問題を背景として、食用動物に使用される AGP を規制しようと

する国際的あるいは国内的な動きを紹介した。最近の動きをまとめてみると、総体的に日本を含めて規制強化の方向にあることは明らかである。EUは既にAGPの全面禁止措置を決定しており、また米国でも承認申請時の規制を強化しようとしている。しかし、ここで注目すべきは、果たして今、規制を強化する科学的な根拠があるのかという点である。表4にも示したように、この問題に対して海外の多くの科学者団体が独自の調査結果を公表しており、内容的にはAGPの使用が人の医療へ影響する可能性は否定できないものの、現時点で因果関係を直接的に証明する根拠がないというものである。そこで、EUは禁止措置の後ろ盾に「予防の原則」を利用したのである。ここで強調したいのは、前述したように「予防の原則」はリスク管理の一つの方法であり、前提としてリスク評価を実施するということである。また、この措置はあくまで暫定措置であり、基礎研究やリスク評価の継続のもとに再評価すべきものである。したがって、リスクの可能性だけで規制強化を図る根拠とはならないのである。世界的な細菌学者であり医師でもあるAcarは、「抗菌性物質の食用動物への使用制限は、科学的なデータおよび定量的なリスク分析に基づくものでなければならない」[12]と述べており、今こそ、この言葉の意味を深く考える必要があるものと思われる。

一方、AGPが応用されるようになって半世紀が過ぎている。この間、AGPはわが国のみならず世界の畜産に偉大な足跡を残した。このようなAGPは、規格、安全性、有効性、残留性の各種試験成績を基に世界各国で汎用された反面、薬剤耐性に関する基礎試験、疫学調査等の科学的なデータが絶対的に不足していることも事実である。精度の高いリスク分析の実施には、多くの科学的なデータの集積の上で成り立つものであることから、企業はもとより規制当局、研究機関、大学などの積極的な基礎研究の参画に期待するものである。

謝 辞

本文を書くにあたって、用語の定義等について懇

切丁寧なご助言を頂いた（独立行政法人）肥飼料検査所の秋元京子係長に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Center for Disease Control and Prevention: *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-United States, 2002. MMWR, 51, 565-567 (2002)
- 2) Shnayerson M, Plotkin MJ: もう抗生物質では治らない. 栗木さつき訳, p.73, NHK出版 (2003)
- 3) 田村 豊: 動物用抗菌性物質をめぐる国際動向と我が国の対応. 動薬検年報, 39, 1-13 (2003)
- 4) WHO: WHO global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. Report of a WHO meeting. Genova, 59 June (2000)
- 5) Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV: Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 5, 1-37 (1999)
- 6) 丸山 務: わが国における食中毒発生 の現状. *モダンメディア*, 46, 107-114 (2000)
- 7) Aarestrup FM: Occurrence, selection and spread of resistance to antimicrobial agents used for growth promotion for food animals in Denmark. *APMIS, Suppl*, 101, 1-48 (2000)
- 8) 大島 慧: EUが飼料添加抗生物質4種を禁止—科学対政治の新たな展開—. *獣医畜産新報*, 52, 295-299 (1999)
- 9) Swann MM, Blaxter KL, Field HI, Howie JW, Lucas IAM, Murdoch JC, Parsons JM, White EG: Joint committee on the use of antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine. Her Majesty Stationary, Office-London (1969)
- 10) 大島 慧: 予防の原則とリスクアセスメント. *日本動物薬事協会報*, 16, 7-14 (1999)
- 11) WHO: The medical impact of the use of antimicrobials in food animals. Report of a WHO meeting, Berlin 13-17 October (1997)
- 12) Acar J, Casewell M, Freeman J, Friis G, Goossens H: Avoparcin and virginiamycin as animal growth promoters: a plea for science in decision-making. *Clin Microbiol Infect.*, 6, 477-482 (2000)

International Action to Combat the Acquisition of Antimicrobial Resistance
by using Antimicrobial Growth Promoter in Food-Producing Animals

Yutaka TAMURA

National Veterinary Assay Laboratory, 1-15-1, Tokura, Kokubunji, Tokyo 185-8511, Japan

Increased antimicrobial resistance in bacterial pathogens of humans, and the spread of resistance from the closed environment of hospitals into open communities, are increasingly perceived as a threat to public health. Any use of antimicrobial agents, whether humans or animals, can lead to bacterial resistance. Use of antimicrobial growth promoters in food-producing animals is suspected to contribute significantly to this phenomenon in species of bacteria that common to humans and animals. In response to this situation, the World Health Organization (WHO) and the Food and Agriculture Organization (FAO) have formed an Ad hoc group of international experts to discuss preventive measures against antimicrobial resistance. In this paper, the international activities of the WHO and FAO on antimicrobial growth promoters are reviewed.

討 論 (座長：澤田拓士 日獣大，佐藤静夫 全農家畜衛研)

質問 (福安嗣昭，麻布大)

わが国において，人の医療には用いず動物にのみ使用する動物用専用薬との考えがあった。今，世界的にその様な方向の考えはないのか？

答 (田村 豊)

今，議論されているのは抗菌剤全体をまとめて考えられている。動物にある薬剤の使用が始まった時には動物専用であっても，その後，人の医療で同系列の薬剤が開発・使用されることもある。

質問 (藤倉孝夫，元動物衛生研究所)

予防原則を出す国の政府は科学的根拠を示すべきであり，その後も関係する研究・調査の進捗状況・知見を政府として公表すべきと考える。

答：(田村 豊)

わが国では予防原則に類するものはない。予防原則を出してもそれを裏付ける研究を続けるべきで，もし，疑いが晴れた時には，それを撤回する仕組みができるまでは，安易に予防の原則を適用すべきでないと考える。

ヨーロッパにおける抗菌性飼料添加物禁止後の影響

福本一夫

日本イーライリリー株式会社エランコアニマルヘルス事業部 (〒 651-0086 神戸市中央区磯上通り 7-1-5)

1. 使用中止に向けた動き—その歴史的背景

(1) スウェーデンにおける飼料添加物の禁止

ヨーロッパにおける抗菌性飼料添加物（飼料添加物）の規制の動きは1969年のスワン委員会の報告書に端を発するが、その当時から、ヨーロッパでは飼料添加物に対し厳しい見方がなされ、1970年代に入ると、ペニシリンやテトラサイクリンといった当時人体薬として重要視されていた抗生物質は早々に飼料添加物のリストからはずされた。一方、ヨーロッパは日本と類似し比較的小規模の生産が主で、米国のような生産性追求型の畜産と競合するのでなく、別の方向で差別化しようとの考え方が当時からあった。そのため、飼料添加物中止に向けた動きも当初は生産者団体から出た自主的なものであった。1981年、スウェーデンにおいて農業生産者連合と協同組合により抗菌性成長促進剤（成長促進剤）の禁止が提案され、これがもとで、1986年、スウェーデンにおける成長促進剤の全面禁止が法制化された。スウェーデンは、当時の西ヨーロッパの圏内でも最も小さな畜産国の一つであり、自国の消費を満たす程度の養豚産業が存在するに過ぎなかった。このため、如何に国内の畜産を保護するかが政治的にも重要であり、成長促進剤の使用を禁止する一方で、関税・助成金による保護を同時に打ち出したのである [4, 5, 6, 9]。

(2) スウェーデンからヨーロッパ全土に拡大

ところが、1990年代に入るとヨーロッパ連合（EU）設立と、その加盟に向けた動きの中で、スウェーデンにおいても農業政策の変更、政府の

支援・助成の削減が余儀なくされた。ここでスウェーデンの考えたのは、自国をEUの政策に合わせるのではなく、EUの規制を自国の政策に合わせてしまおうとの戦略である。スウェーデンは、1995～96年頃からEUへの加盟とEUの政策批准の期限1999年1月に向け、EUが自国に見習って成長促進剤を禁止するよう、北欧諸国を抱き込んだ働きかけを開始した。ここでスウェーデンにとって追い風だったのは、VRE（バンコマイシン耐性腸球菌）の家畜からの分離に伴う騒動である。当時、ヒトの医療上重要なバンコマイシンと同系統の飼料添加物アボパルシンが、ヨーロッパにおいて家畜に使用されていた。しかし、この問題以後、アボパルシンの使用規制に向けた動きが活発化し、1997年4月にはEU全体でアボパルシンの使用が禁止された。さらに、この動きに合わせて、EU圏内では、スウェーデンに見習い、飼料添加物の規制を強化しようという考えが一気に広まり、1999年7月には、ヒトに使用されるのと同ーまたは同系統の成長促進剤4剤が中止されている [4, 9]。

(3) デンマークの動き

スウェーデンに隣り合わせるデンマークだが、こちらは人口に比べた場合の豚の飼養頭数は非常に多く、EU圏内でも有数の豚肉輸出国である。しかし、デンマークであっても、米国や中南米などの国と比べると豚肉生産コストは割高で、何らかの差別化が迫られていたようだ。

デンマークの養豚に向けた取り組みは輸出国ということもあり、スウェーデンとは段違いであった。様々な飼養管理面の改善を包括的に行ない、飼料添加物はもとより、治療薬としての抗菌剤の

使用量をも減らそうとした試みはかなり先進的なものであった。デンマークの飼料添加物に対する動きは、EUにおける中止の動きを先取りするもので、1995年のアポパルシン禁止を皮切りに脱飼料添加物の動きが活発化した。1998年には、肥育段階の肉豚への飼料添加物の使用が養豚生産者団体主導で自主的に中止され、1999年に入ると最後に残った離乳子豚への使用も中止された。ただ、自主的な中止といっても個々の農家が賛同して決定されたというより、むしろ産業を支える業界団体としての意見であり、農家レベルではかなりの反対もあったようである〔4, 9〕。

(4) EUにおける飼料添加物中止にむけた動きの背景

これまでも述べてきたように、EUでは米国型農業とは違った方向を模索しているのは事実である。最近ではGMO（遺伝子組み替え食物）の規制や食用動物の愛護に関する法律の導入など、有機農業に向けたシフトは一層明確化してきている。EUの飼料添加物中止の動きについて、その表向きの理由と言えば“成長促進剤は抗生物質の適正使用に反する”というものだが、一方、フルオロキノロン問題には消極的であるなど、その方策に一貫性はない。こと、抗菌剤耐性問題と言う観点から見ると、EUは成長促進目的の飼料添加物を標的とし、一方、米国はフルオロキノロンの方がヒトの医療と耐性菌問題を考えた場合より重要視すべきとの態度である。いずれが正しいのかは別として、EU、米国ともに国際的な抗生物質耐性問題を先取りしようとの意図が見え隠れしており、政治的な要素も多分にあると考えられる。

また、EUではBSE政策の失敗以後、失墜した政府の信頼を何とか回復しようとの努力を行ってきたが、今回の飼料添加物に対する取り組みもその一つとして重要な位置付けになっている。中止の決定は「予防の原則」に基づくものであったが、この原則では“消費者や公衆の安全という名目があれば、科学的な事実と反した決定も下せる”といった危うさがあるのも事実である。しかし、BSE問題では速やかな決断が下せなかったがために、被害が拡大したとの批判が根強く、飼料添加物と抗菌剤耐性問題では、消費者の安全性

が最優先にされたのである。

EUは日本とともに成熟した社会の中で、長寿や健康といった部分への関心が非常に高く、消費者運動の盛んなことも、EU政府としては考慮せざるを得なかったと思われる。BSE、GMO、ダイオキシン、サルモネラといった様々な食をめぐる不安の一掃には、今回の飼料添加物中止のような大胆な政策転換を示す必要があったのであろう〔9〕。

2. 飼料添加物の役割、その作用機序と安全性

さて、デンマークやスウェーデンなどの飼料添加物中止後の実態について触れる前に、飼料添加物の役割とその作用機序について述べる。

(1) 作用機序

日本では飼料添加物は飼料安全法（飼料の安全性に関する法律）により規制されており、その使用目的は「飼料中の栄養成分の有効利用の促進」となっている。しかし、飼料添加物である抗菌剤の作用は多岐にわたり、その主たる役割は、飼料中の栄養成分の消化・吸収を好ましい状態に保ち、その結果、栄養成分の吸収性・利用性を高めて生産性を向上させるものと考えられている。では、この生産性改善はどのような作用機序によって達成されるのだろうか？ 現在までの研究結果から推察される機序は、腸内細菌叢の適正化と腸内細菌による有害作用の抑制によるものであるが、それには①腸内細菌によるフェノール、アンモニアなどの有害物質産生の抑制、②腸内細菌により消費される栄養成分の削減、③腸内細菌による胆汁酸分解の抑制、④乳酸産生菌の菌数を一定レベルに保ち、腸内のpHを適正化することによる蠕動運動の適正化、⑤乳酸の過剰産生抑制による、粘膜炎症とそれによる腸管壁肥厚の抑制、といった作用が考えられている〔2, 8〕。さらに、多くの飼料添加物には、不顕性に感染して生産性を阻害するような疾病を抑制する作用があり、鶏のコクシジウム症、腸内細菌異常増殖症、壊死性腸炎、豚の離乳後下痢症（大腸菌症など）、増殖性腸炎、豚赤痢その他のスピロヘータ感染症、牛のコクシジウム症と壊死性腸炎、第一胃炎、肝膿瘍

表1 飼料添加物により抑制される疾病

ブロイラー	<ul style="list-style-type: none"> ● 腸内細菌異常増殖症 (Dysbacteriosis) ● 壊死性腸炎 (Necrotic enteritis) ● 胆管肝炎 (Cholangiohepatitis)
豚	<ul style="list-style-type: none"> ● 離乳後下痢, 主に大腸菌症 (Post weaning diarrhea) ● 豚増殖性腸炎 (Porcine proliferative enteropathy, Ileitis)
牛	<ul style="list-style-type: none"> ● アシドーシス (Acidosis) ● 鼓脹症 (Bloat) ● コクシジウム症 (Coccidiosis) ● 肝膿瘍 (Liver abscess)

表2 飼料添加物の効果

生産性の改善と経済学的効果	● 増体重, 飼料要求率, 斉一性への効果
動物の健康・動物福祉	● 感染症の防止, 不顕性感染に伴う悪影響を軽減し動物の健康状態を改善
衛生的な食肉生産	<ul style="list-style-type: none"> ● 病原体の感染を減らし, 健全な動物の成長を担保することで, 衛生的な食肉生産に寄与 ● さらに, 食肉への菌の汚染を削減
環境保全への効果	<ul style="list-style-type: none"> ● 動物からの窒素などの排泄を削減し, 土壌への負荷を軽減 ● メタン等のガス排泄を削減
治療用抗菌剤使用の削減	● 治療用抗菌剤に対する菌の耐性圧力の軽減

などの疾病抑制効果が報告されている (表1) [1, 6]。

(2) 多岐に及ぶ役割

このように飼料添加物は様々な作用により結果として生産性を改善しているのだが, その貢献・役割は多岐にわたる (表2) [1, 6]。

まず, 生産性の改善と経済的効果は当然の効果として知られているが, 詳しくみると, 増体重の亢進, 飼料要求率の低下といった直接の生産性改善とともに, 肉質や斉一性を改善し, 畜舎回転率の効率化や, 食肉処理施設での処理を容易化するなど様々な点でプラスの影響を与えている。また, 不顕性の疾病を防止することで, 動物の健康状態を改善し, 衛生的な食肉生産に寄与するなど, 動物福祉面や食肉の衛生面でも貢献していると考えられている。さらに近年, 畜産活動が環境に及ぼす影響, とりわけ糞尿の排泄や, 飼料穀類の非効率的な利用, メタンなどの温室ガス排泄なども問題として取り上げられるようになってきているが, 飼料添加物には窒素蓄積作用や, 限られた穀類資源の有効利用といった作用もあり, 一部の飼料添加物ではメタン等の温室ガス排泄削減効果のあることも報告されている (表3)。

表3 飼料添加物の環境への貢献

動物種	飼料節約量 (100万頭(羽)あたり)	排泄物削減量 (100万頭(羽)あたり)
牛	54万t	メタン 13000万L
豚	11,200t	窒素 870L リン 100t スラリー 4300L
鶏	160万t	窒素 8t

(3) 治療用抗菌剤使用の削減

既に述べたとおり, 飼料添加物の多くには不顕性感染症の防止作用があるが, これにより発病が抑えられ, 間接的に治療用抗菌剤の使用量が削減される。家畜は誕生直後から効率的な成長を要求され, ブロイラーでは7週間, 肉豚でも180日といった非常に短い期間にそれぞれ3kg, 110kgという出荷体重に到達する必要がある。しかし, この時期の家畜は, 幼齢~育成段階にあるため, 様々な生理機能や免疫能が未発達で, 感染症に対する抵抗性も不十分である。このように免疫-生理機能の未熟な動物を集団で飼養する環境では当然のことながら, 様々な疾病も起こり易く, 一旦, 集団発生がおこるとその被害は甚大なものとなり, 治療用抗生物質の使用も余儀なくされる。

飼料添加物の添加は、家畜の育成段階における病原微生物の感染圧力を軽減するといった面では大きな貢献をしており、とりわけ、消化器疾病の抑制作用は、治療用抗菌剤の使用量削減と大きく結びついている。

どんな病気でもそうであるように、一旦発症した疾病を治療することは、疾病を事前に防止するよりも、時間と労力、衛生費が余計にかかり、しかも、治りきらない保菌動物を群内に保有することで、常に再発症の危険性をはらむことになる。無論、生産性も大きく阻害されるため、集団で効率的な飼養を目指すほど、予防医療は重要となり、とりわけ、消化器病の発生防止と、発生時の治療に必要な抗菌剤の削減のためには、飼料添加物の使用は非常に意義の高い選択肢と考えられる。

(4) 飼料添加物の安全性

このように、様々な面で家畜の生産に寄与してきた飼料添加物に対し、とりわけ消費者からの畜産物の安全性といった面からの懸念の声が聞かれ、新聞報道をもにぎわしている昨今ではあるが、その安全面での科学的な評価はどうなっているのであろうか？ 現在まで、日本でも様々な飼料添加物が審議され、評価されてきたわけだが、その審査には動物薬で求められるより数段厳しい基準での安全性や残留性データの提出が求められている。まず、安全性の根本となる各種毒性試験については、飼料添加物では長期の毒性評価が必須となっており、胎児への影響や発癌性、アレルギー原性といった、動物薬では求められていない事項も必須となっている。さらに、残留性については実際の使用方法に従った形で長期間の投与が行われ、しかも、実際の使用より高用量で使用した場合の残留性評価が要求される。また、土壌中や水系での動態や環境中生物への影響など、家畜から排泄された後の環境中の影響までも厳密に評価されるなど、様々な点で、動物薬よりもかなり厳しい基準となっている。

もう一つ、飼料添加物の安全な使用を担保するうえで重要なのは、飼料中への添加方法に関する規制であるが、飼料添加物は動物薬と異なり、飼料工場において、飼料製造責任者の監督のもと、規定量の添加が義務付けられ、さらに、その添加

濃度の範囲も厳密に規定されるなど、過剰添加による残留性への懸念を減らし、過小添加による不十分な効果を避けるよう配慮がなされている。これに対し、動物薬は原則として農場で添加する必要があるが、飼料中に数十 ppm という微量の添加がどこまで可能かについては疑問がもたれている。

3. ヨーロッパにおける飼料添加物中止後の影響

さて、ヨーロッパ各国では、このような飼料添加物の役割を認識しつつも、政治的な動きと消費者の食に対する懸念の高まりの中でその中止を余儀なくされたわけだが、その影響は、想定されたとおり、あるいはそれ以上のもので、生産の集約度や効率性の高い豚と鶏ではっきりと現れている。ここでは、飼料添加物中止の先駆者ともいえるスウェーデン、また、国際的な競争力を持つ畜産国として始めて中止を実行したデンマークでの影響とそれに対する取り組みについて触れていく。

3-1. スウェーデンの状況

スウェーデンにおける畜産は元々小さな産業であり、国内消費向けの対象に限定したものであったため、生産費が上がり畜産物が少々割高になっても、補助金で対応できる部分があった。

(1) 豚の事例 [4, 5, 12]

飼料添加物中止以前は、下痢予防の目的で離乳子豚へのカルバドックスやオラキンドックスの添加が日常的に行われていた。離乳後、体重 25kg に至るまで、あるいは 10～12 週齢まで、これらの飼料添加物が使用され、その後の肥育舎に移動後も、アボパルシンやバージニアマイシンといった物質が出荷時まで使用されていた。そのため、飼料添加物の中止後最初に認められたのは離乳後の下痢であり、その発生率は、中止前の 2% から 8% にも増加した。これに伴い離乳後の斃死率も 1.6% 増加し、体重が 25kg に到達する日齢は 5.2 日も延長した。この状況で最初に考えられた対策が、オラキンドックスの治療薬としての使用であったが、飼料添加物としての使用濃度 100ppm に対して 160ppm という高用量での使用が行われ

ることとなった。

スウェーデンでは治療用抗菌剤の使用の他に、飼養管理面での改善、すなわち、栄養価の低減と挽き割りした穀類の使用、酵素剤添加といった飼料処方の変更、離乳日齢の延長（5週齢離乳）、飼養密度の削減、ピッグフローの適正化とオールインオールアウト（AI/AO）の導入など、様々な対策が取られた。しかし、それだけでは離乳後下痢を解消するには至らず、そこで広がったのが、下痢の予防効果の高い酸化亜鉛の使用である。ところが、高用量の酸化亜鉛使用（2,000ppm）は、今度は環境問題を引き起こすことになる。亜鉛は家畜の健康に関与する重要な微量元素であるが、一方でその高濃度の添加は様々な有害作用を及ぼしてしまう。環境中に蓄積した高濃度の亜鉛は、飲水を通じ、また食物連鎖の中で最終的には家畜やヒトに有害作用を及ぼす可能性があり、このため高用量の有機亜鉛の使用は、深刻な環境問題として取り上げられた。無秩序な使用に業を煮やした政府は1998年になって酸化亜鉛を要指示薬とする措置をとり、その使用に対して大きな足かせをはめることになったわけである。

(2) 治療用抗生物質使用量の推移 [5, 13]

治療用抗菌剤の使用量の動向を力価の補正を行った数値で評価してみると、飼料添加物中止直後の1986年から1989年にかけては概ね使用量は一定レベルで安定していたが、その後増加傾向に転じている（図1）。1990年以後の使用量増加では、テトラサイクリンやマクロライド系のタイロシンについて、治療用量での使用が増加するとともに、少ない用量で同様の効果の得られる新規の薬剤の使用が増えており、これらにより、治療用抗菌剤使用量の一貫した増加につながっていると

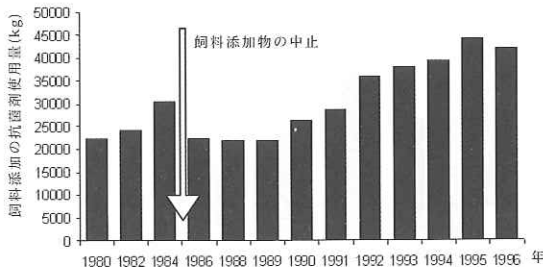


図1 スウェーデンにおける飼料添加の抗菌剤使用量の推移

考えられる。また、1992年以後は、飼料添加物中止前と比べても総使用量は増えており、飼料添加物中止が必ずしも抗菌剤使用量の低下につながらないことが明確に示されている。

(3) スウェーデンモデルから学べること

スウェーデンでは、自国消費のみの小さな市場であり、国民性もあって、他国に先駆けた、かなり早い時期の飼料添加物中止の決定が可能であったのだが、一方で、中止に向けた十分な準備ができていたかというところではない。多分にイメージが先行で、飼料添加物の実際の役割を理解せずに中止したことにより、様々な弊害が認められたのも事実である。中止後15年以上経った現在でも飼料添加物なしでの畜産を確立できたとは言い難く、近代的な畜産形態の中で飼料添加物を中止することが如何に困難であるかを実証している事例ともいえる。

3-2. デンマークの状況

デンマークはスウェーデンとは異なり、EU圏内でも屈指の養豚産業国で、主要な豚肉輸出国でもあるが、そのため、飼料添加物中止に備え、影響を最小限にするための様々な対策も事前に検討された。また、スウェーデンの事例からのフィードバックもあり、かなりの準備を行った後に、中止が実施されたわけである。

(1) 豚の事例 [1, 3, 4, 7, 10, 11]

養豚業界における飼料添加物の中止は自主的なもので、しかも中止の影響を最小限にするために肥育豚から離乳子豚へと段階的に行われた。また、スウェーデンで試みられたような、飼料処方の変更、飼養密度の低下、群編成の削減、AI/AOの励行やピッグフローの改善など様々な飼養管理面での改善が実施された。

その結果、肥育豚では、わずかな斃死率の増加と生産性の減少が認められたに留まり、治療用抗菌剤の使用量に明確な変動はみられなかった。しかし一方で、離乳子豚では下痢が明らかに増加し、その増加は離乳直後の子豚のみならず、加齢した育成段階の子豚にも認められた。前者は主に大腸菌症、後者は主に *Lawsonia intracellularis* による増殖性腸炎によるものと診断されている

(図2)。これらの下痢による影響は、第一に増体重の低下であり、体重7～35kgの離乳後育成段階の増体は7～8%も減少し、そのため、子豚の取引体重は5kg減少し、ひね子豚の増加と斃死率の若干の上昇(0.7%)が報告されている(図3)。

また治療用抗菌剤の使用量も明らかに増加し、1頭当たり140mg程度までの増加、即ち、飼料添加物中止前の2～3倍程度の増加が認められている。獣医診療を行う16施設を対象とした調査の結果では治療用抗菌剤は倍に増えており、別の調査でも2000年1～8月の間に前年比75%の増加があったと報告されている。これらの抗菌剤使用の増加は既に触れたとおり、離乳後、育成段階の下痢、即ち、大腸菌による離乳後下痢と増殖性腸炎の対策として用いられたもので、前者にはテトラサイクリンが、後者にはマクロライド系のタイロシンが主に使用されている。

飼料添加物の中止に伴う経済的な影響についてみると、生産費は1頭当たり200円前後増加しており、年間生産頭数を2,100万頭とすると、40億円もの増加になっている。このうち最も大きいのは飼料代の増加で、約29～38億円もの増加とし

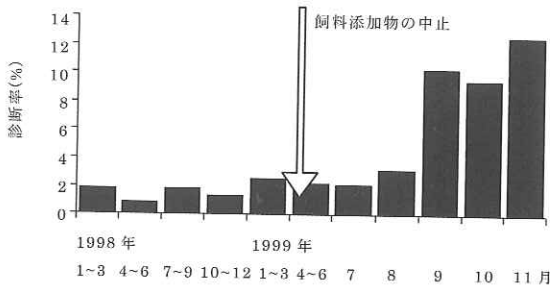


図2 飼料添加物中止前後の増殖性腸炎診断数の推移

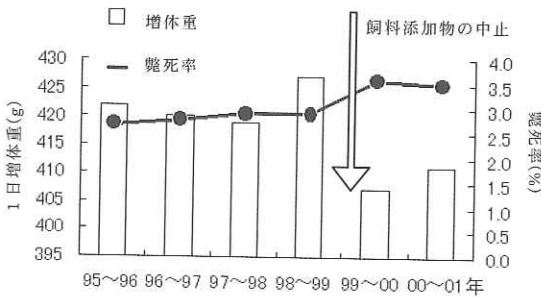


図3 飼料添加物使用中止前後での増体重と斃死率の推移

て報告されている。

(2) 鶏の事例 [4, 7]

デンマークのプロイラー産業は養豚に比べ小さな産業で、年間の生産羽数も1.2億羽程度である。このように小さな産業であり、生産性を高度に訴求する必要性もなかったことから、飼料添加物の中止の影響は大きなものではなかった。すなわち、中止の開始時には3～4ポイントの発育低下が認められ、壊死性腸炎も0.06～0.12%程度の発生率だったものが1.4%に増加したが、もともとの発生率が低かったこともあり、実質的なインパクトは小さかった。そのため臨床的には大きな問題は認められず、治療用抗菌剤の使用量も増加せず、飼料/管理の変更によりいずれの問題も改善が見られている。

また、影響の少なかった要因として忘れてならないのがイオノフォア系抗コクシジウム剤の使用である。スウェーデンの事例で触れたとおり、両国とも成長促進目的の飼料添加物は中止したものの、抗コクシジウム剤は継続して使用することができた。そのため、コクシジウム症とそれに併発する壊死性腸炎が効率的に抑制でき、これが、治療用抗生物質の使用なしに生産性低下を回避できた大きな要因であったとも考えられる。

(3) 抗菌剤使用量の推移 [7]

デンマークではもともと抗菌剤の使用量は非常に少なく、EUの10%の豚肉生産を担っているにもかかわらず、抗菌剤の総使用量についてはEU全体のわずか1%と、1動物あたりの使用量は極めて少なかった。このような状況で飼料添加物の使用を中止したため、治療用抗菌剤の使用は当然のことながら増加し、完全中止を行った1999年

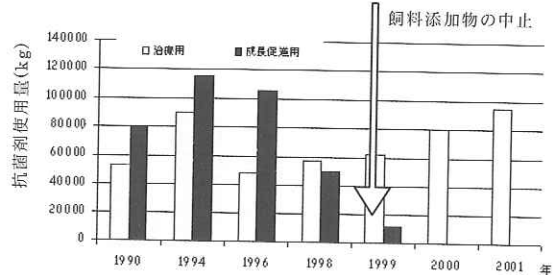


図4 デンマークにおける抗生物質の使用量の推移

から翌年にかけて17%もの増加が認められている(図4)。また、その使用量増加のほとんどが離乳子豚への使用によるもので、2001年の例をみると、総使用量96t中71tが豚に使われ、その41%が離乳子豚用であった。つまり、離乳子豚の疾病、特に大腸菌性下痢症や増殖性腸炎といった消化器疾病を抑制するためには抗菌剤の使用は非常に重要であり、この部分への使用は最低限避けて通れないものであると考えられる。

(4) デンマークの総括

デンマークではスウェーデンの事例もあり、かなりの時間と費用をかけて飼料添加物中止に向けての準備を行っており、飼養管理法と飼料の変更により対処可能であるとの考えに基づき、中止を実施に移したわけである。しかし、それでも家畜の疾病は増加し、動物福祉上の悪影響、特に離乳子豚の下痢については十分な対応はできなかった。現在でも、子豚の下痢問題については依然として解消されておらず、継続して治療用抗生物質が使用されている。また、飼料添加物の代替品として様々な物質、主に天然物が検討され、成長促進剤として蟻酸カリウムが指定を受けているものの、それらの作用は効果 / 一貫性とも抗菌性飼料添加物には及ばず、今のところ確実な代替品は無いといえる。

デンマークでは1997年以後、国家主導の抗生物質の使用実態調査と抗生物質耐性状況のサーベイ、DANMAP [7] が実施されているが、その調査結果にある耐性菌の動向についてみると、確かに、家畜由来菌の飼料添加物に対する耐性率は減少している。しかし、ヒトの耐性菌、とりわけ最

も重要視されるヒトの院内感染菌の耐性動向には明確な変化は認められていない。

3-3. その他の国の状況

ヨーロッパのその他の国、例えば、英国、フランス、ドイツ、オランダといった国では、業界や企業ベースでの自主的な、飼料添加物の中止が実施されている。しかし、いずれの場合も飼料添加物未使用の生産が成功理に進んでいるとは言い難いのが現状である。

(1) 英国の状況 - 鶏での経験 [4, 9]

英国では1999年大手インテグレート1社が自主的な成長促進剤の中止を決定したのを皮切りに多くのインテグレートがこれに追随した。しかし、その中止の直後から、消化器系の異常を中心とした問題が発生した。既にスウェーデンやデンマークで述べたように、壊死性腸炎と、それに付随した胆管肝炎が発生し、さらに、腸内常在細菌が異常に増殖する腸内細菌異常増殖症と、それに伴う消化不良、また、これらの消化器系の疾病に起因した敷料の湿潤と肢皮膚炎の増加が認められている。これらの疾病対策には治療用抗生物質が使われているが、とりわけ飲水添加剤の販売は395%も増加し、鶏用抗菌剤の総使用量は中止前の11トンから24トンへと倍増したのである。その後、多くのインテでは、使用中止に伴う様々な問題と飼料添加物使用のリスクについて再検討を余儀なくされ、飼料添加物の使用を再開するとともに、その有用性を再確認するための試験を継続している。

(2) フランス・ドイツ・オランダの状況 [4]

これらの国でも、これまで述べた国々と類似の結果がみられている。フランスでは、プロイラーの壊死性腸炎の増加がみられ、それに伴ってアンピシリン、アモキシシリン、エリスロマイシンなどの治療用抗菌剤の増加が認められている。また、ドイツやオランダでも治療用抗生物質の使用量の明らかな増加がみられており、いずれも、スウェーデンの事例を参考に対策を講じたとは言い難い状況である。

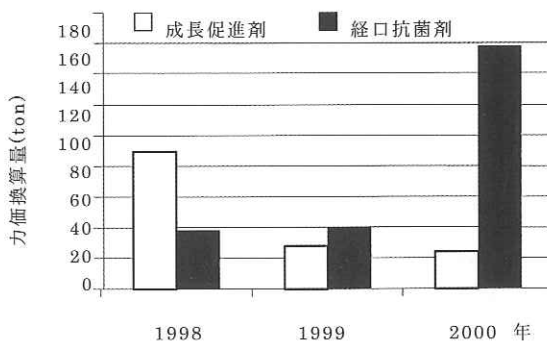


図5 フランスにおける抗生物質の使用量の推移

4. 最後に

これまで述べてきたように、ヨーロッパにおける飼料添加物の使用の中止に向けた動きは、政治的な駆け引きと、科学的根拠に基づかない、食の安全への懸念を中心にしたものであった。現在、WHO (世界保健機関)、OIE (国際獣疫事務局)、CODEX Alimentarius Committee (食品の安全性に関するコーデックス委員会) といった国際機関が、抗菌剤耐性問題に取り組んでいるが、このうちWHOは2001年に適正使用に向けた勧告を行ない、その中で“抗菌性飼料添加物については科学的な評価が必要である”との指針を定めている。つまり、直ちに中止を決めるのではなく、科学的な検証の結果、安全性の担保できたものについては使って良いとの立場である。これに対し、EUでは科学的な評価を待たずに「予防の原則」により、その使用中止を先行させてしまった。そのため、家畜衛生、動物福祉面、環境など様々な方面への有害作用が生じた一方で、耐性菌によるヒトの疾患減少には今のところ明らかな効果は認められていない。また、中止の結果として、ヒトと共通することの多い治療用抗菌剤の使用が増加し、この点からみると、抗菌剤耐性問題は解決の方向に向かうよりむしろ複雑化しているともいえる。加えて、飼料添加物の中止に便乗した形で生菌剤、有機酸、ハーブ、免疫賦活剤、亜鉛、銅など様々な代替品が上市されているが、その多くは、効果や安全性が正式には検討されていない、いわゆる混合飼料や雑品である。

単に抗菌剤や飼料添加物が“悪”といった見方でなく、もう一度、食品の安全性に対する飼料添加物の貢献とリスクについて、科学的な見地に経った冷静な評価をすることが重要と思われる。ヨーロッパ諸国の取った中止と言う選択肢とそれによる影響は、皮肉にも飼料添加物の貢献について、野外試験以上のものを提供してくれたものと考えられる。

要 約

抗菌性飼料添加物(飼料添加物)の使用の是非については、1969年に出されたスワンレポート以後、ヨーロッパを中心にくすぶりつづけ、1986年にはスウェーデンが飼料添加物の使用を全面禁止した。さらに、1990年代に入るとアボパルシンの禁止を皮切りに、人体用と共通、あるいは同系統の4物質が中止となり、昨年暮れには抗菌性成長促進剤のカテゴリーそのものをなくするという決定がヨーロッパ農業委員会で作された。しかし、これらの決定は必ずしも科学的な評価に基づいたものでなく、飼料添加物のベネフィットとリスクを十分検討せず、安易な中止に走ったがための弊害が現れている。家畜の飼養現場では様々な混乱と、治療用抗菌剤の使用量増大、動物の健康や福祉上の問題などが報告されている。本稿では、ヨーロッパにおける飼料添加物の中止に向けた動き、中止に伴い発生した家畜の生産上の問題について、スウェーデンやデンマークの事例を中心に紹介する。

参考文献

- 1) Andreasen M: Consequences of the ceased use of growth promoters. Presented at DVHS 2000, Denmark. (2000)
- 2) Anderson DB, McCracken VJ, Aminov RI et al.: Gut microbiology and growth promoting antibiotics in swine. Nutrition abstracts and reviews. Series B, Livestock Feeds and Feeding, 70-2, 101-108 (2000)
- 3) Animal Pharm: AGP withdrawal challenged. August 25th 2000, 8 (2000)
- 4) Aspinall J: Poultry feed additives-Where is the EU going. Proceedings of the Australian Poultry Society, 4-16 (2002)
- 5) Best P: Production without antibiotics-The Swedish experience. Feed International, April 1996, 8-12 (1996)
- 6) Bywater RJ: Benefits and microbiological risks of feed additive antibiotics. CIHEAM-Options

- Mediterraneennes, 77-82 (2000)
- 7) DANMAP 2001, Denmark. (2001)
- 8) Gaskins HR, Collier CC, Anderson DB: Antibiotics as growth promotants: Mode of action. Proceedings of the conference on antibiotics use in animal agriculture, Animal Biotechnology 13-1 (2002)
- 9) Tice G: Antibiotic use and food safety in Europe, Processing of DPI National Meeting on Poultry Health (2002)
- 10) Hansen CF: The role of danske slagterier in Danish pig production-focusing on cessation of using growth promoters and on Salmonella. Proceedings Society of Feed Technologists, Stratford-upon-Avon, UK. (2000).
- 11) Kjeldsen N: Producing pork without antibiotic growth promotant: the Danish experience. Advances in Pork Production, 13, 107-115 (2002)
- 12) Robertson JA, Lundeheim N: Proceedings 13th International Pig Veterinary Society Congress, Bangkok (1994)
- 13) SOU 1997 p132: Official report of commission on antimicrobial feed additives, Sweden (1997)

Impact of Antimicrobial Feed Additive ban in EU

Kazuo FUKUMOTO

Elanco Animal Health Division, Eli Lilly Japan Co. Ltd., 7-1-5 Isogami-dori, Chuo-ku, Kobe, Japan 651-0086

The antimicrobial feed additive (feed additive) use in animal production has been an issue in Europe after the Swan report in 1969. Swedish government decided the ban of feed additive use in 1986, and after this event, avoparcin ban ignited the issue again and four substances the same as or similar to human drug were suspended, and finally, at the end of last year, EU Agricultural Committee decided the termination of the category for antimicrobial growth promotant. However, since these decisions were not based on through science nor with the discussion of the benefit and risks of feed additive use, these easy decision lead to many negative impacts on animal productions. Various unfavorable events such as increase of the therapeutic antibiotic use and the many problems in animal health and animal welfare have been reported from the field.

This paper will introduce the move in Europe toward the ban of feed additives and the problems occurred in relation with the feed additive ban, with the example of Sweden or Denmark cases.

討 論 (座長：澤田拓士 日獣大, 佐藤静夫 全農家畜衛研)

質問 (江口正志, 動物衛生研究所)

日本におけるアボパルシン中止後の具体的な影響は?

答 (福本一夫)

日本におけるアボパルシン中止後の影響についての詳細は分からないが、日本ではアボパルシンと同一のカテゴリー即ち、第3欄に入る飼料添加物が複数存在し、これらがアボパルシンの代替として使用で

きるため、家畜生産における実質的な影響は無いものと思われる。また、アボパルシンによる VRE (バンコマイシン耐性腸球菌) の選択については、中止後に開始されたモニタリングでは VRE は全く検出されておらず、これが中止によるものなのか、元々低レベルであったのか現時点では推測できない。

質問 (江口正志, 動物衛生研究所)

スウェーデン、デンマークにおける影響評価で得

られた数字はどのような農場を調査して得られたものか？多くの農場に共通して言えることか？

答 (福本一夫)

スウェーデン、デンマークとも国をあげた調査を行っており、その結果と今回紹介したデータは概ね一致することから、それぞれの国の状況を代表できるデータと思われる。また、抗菌剤使用量については、国のモニタリング結果によるものであり、公式のデータである。なお、デンマークの養豚業はかなり進歩的であり、母豚数こそ米国のレベルには達していないものの、企業化により、飼養管理も徹底した農場が多く、今回紹介したデータもこのような農場から得られたものと思われる。

質問 (小野浩臣, 日獣大)

低濃度で添加する飼料添加物には発育促進効果とともに疾病予防効果があるとのことだが、その作用機序には抗菌活性以外の作用もあるのか？

答 (福本一夫)

飼料添加物として用いられる抗菌剤が家畜の免疫系に与える影響については、いくつか報告があるが、それ以上に重要なのは、病原微生物に対する直接作用であろう。

例えば、EU や日本では抗コクシジウム剤は飼料添

加物として扱われており、これらの飼料添加によりコクシジウムの発症が抑えられているのが現状である。また、日本で第3欄と呼ばれる飼料添加物のなかには、壊死性腸炎の原因菌 *C. perfringens* や増殖性腸炎の原因菌 *L. intracellularis* に活性を有するものがある。

質問 (小野浩臣, 日獣大)

EU における成長促進剤の禁止により多くの国で治療用抗菌剤の使用が増加していると聞かすが、この場合の耐性菌の発現、例えば VRE の発現への影響はあるのか？

答 (福本一夫)

現在のところ、治療用抗菌剤の使用量増加に伴うヒトの疾病への影響は顕性化していない。確かに、治療用抗菌剤を使うほど、当該動物や同居動物において当該抗菌剤に対する耐性菌が増加すると考えられるが、それが直接ヒトの耐性菌の増加につながるかは不明である。一方、VRE の増加については、バンコマイシンと同系統のアポパルシンでは、理論的には耐性を選択する可能性はある。しかし、それ以外の飼料添加物または動物薬の使用が VRE の増加につながる可能性については現時点では否定的である。

日本における抗菌性飼料添加物の役割と課題

米持千里

社団法人 日本科学飼料協会 (〒 104-0033 東京都中央区新川 2-6-16)

1. はじめに

近年、飼料添加物として用いられる抗生物質や合成抗菌剤（抗菌性飼料添加物）について、ヒトの医療分野で用いられている抗菌剤に対する耐性菌の増加が関与しているのではないかといった懸念が世界的に論議されている。このことについて、その因果関係を科学的に実証した事例はほとんど報告されておらず、現在のところ仮説の域を出ていないものといえる。しかし、欧州連合（EU）では、科学的根拠がなくとも規制措置を執ることができるとする「予防の原則」により、成長促進目的に使用されている抗菌性飼料添加物の使用を2006年には全面的に禁止しようとする動きがある。わが国においても、2002年に出されたBSE問題調査検討委員会の報告〔1〕や、飼料問題懇談会における提案〔2〕を受けて、現

在、指定の見直しが進められている。一方、飼料への抗菌性飼料添加物の利用が開始されてほぼ半世紀となるが、抗菌性飼料添加物の使用が畜産物生産の効率化に大きく貢献したことは周知の事実であり、抗菌性飼料添加物の使用を一律に中止した場合の畜産業界への影響は計り知れないほど大きいものと思われる。そこで、本稿では、わが国における抗菌性飼料添加物の使用状況、畜産物生産への効果、使用を中止した場合の経済的リスクなどを中心に考察する。

2. わが国における抗菌性飼料添加物の使用状況

現在、わが国では表1に示すように29品目（抗菌性物質23品目、合成抗菌剤6品目）の抗菌性物質が飼料添加物として指定されている。「飼料の安全性の確保及び品質の改善における法律」〔3〕

表1 わが国で指定されている抗菌性飼料添加物

(抗生物質・23成分23品目)		
オキシテトラサイクリン	セデカマイシン	ピコザマイシン
クロルテトラサイクリン	センジュラマイシンナトリウム	フラボフォスポリポール
亜鉛バシトラシン	チオペプチン	ポリナクチン
アピラマイシン	デストマイシン A	モネンシンナトリウム
エフロトマイシン	ナラシン	ラサロシドナトリウム
エンラマイシン	ノシヘプタイド	硫酸コリスチン
クタサマイシン	バージニアマイシン	リン酸タイロシン
サリノマイシンナトリウム	ハイグロマイシン B	

(合成抗菌剤・7成分6品目)		
アンプロリウム・エトパベート	ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム	
エトパベート	デコキネート	クエン酸モランテル
スルファキノキサリン	ナイカルバジン	

では、飼料添加物の用途として、1)「飼料の品質の低下の防止」、2)「飼料の栄養成分その他の有効成分の補給」、および3)「飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進」の3用途が定められており、抗菌性飼料添加物はいずれも3)の用途で、一般的にはすべて発育促進目的として指定されているが、この中には抗コクシジウム剤や抗内部寄生虫剤も含まれている。この点が、すべての抗菌性物質を動物用医薬品として一元的に取扱う米国のシステムや、発育促進目的の抗菌性物質とコクシジウム予防剤に分けて取扱っているEUのシステムと大きく異なっている。

わが国で、抗菌性物質が飼料添加物としての指定を受けるためには、安全性に関するデータ、効果に関するデータ、自然環境に及ぼすデータなど、膨大な資料が要求される〔4〕。当然のことながら、これらの資料には抗菌性スペクトル、多剤耐性、耐性獲得など、耐性菌発現に関するデータも含まれている。現在、わが国で使用されている各抗菌性飼料添加物は、いずれもこれらの資料について農業資材審議会の審査を受け、効果と安全性が科学的に確認されたうえで、農林水産大臣から飼料添加物としての指定を受けている。さらに、指定に際しては対象家畜、添加量、使用ステージなどの使用の基準が品目毎に定められ、これらの基準に基づいた適正な使用がなされるように、独立行政法人肥飼料検査所による指導・監視体制がとられている。

このような中で、近年、わが国における抗菌性飼料添加物の使用量は年々減少傾向をたどっている。一例として、肥飼料検査所が毎年公表している抗生物質飼料添加物の検定合格数量の推移を図1に示したが、1984年における検定合格数量は約400トン（力価）であったものの、スウェーデンが発育促進目的の抗生物質飼料添加物の使用を全面的に禁止する方針を打出した1986年以降、減少傾向に転じ、2002年の合格数量は160トン（力価）とピーク時の40%程度となっている〔5〕。同様に、合成抗菌剤飼料添加物についても2001年の使用量は約58トンであって、1992年における使用量（251トン）の25%程度まで減少している〔5〕。なお、この間、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）問題に関連してアボバルシンおよびオリエンチシン（1997年）が飼料添加物としての指定を取り消されている。また、2001年には安全性の再評価によりオラキンドックスも指定を取り消されている。

3. 抗菌性飼料添加物使用による効果

抗菌性飼料添加物の作用機序は多様であるが、一般的には、小腸上部における細菌叢と宿主動物との間の栄養成分の取込み競合の軽減、小腸下部における細菌叢のVFA生成の促進、宿主の成長を阻害する腸内細菌増殖の抑制などによる発育促進や飼料要求率の改善効果を促すと考えられてい

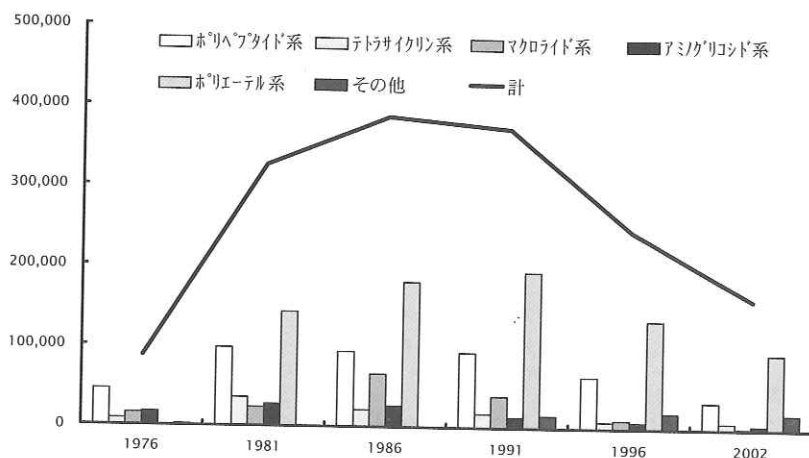


図1 抗生物質飼料添加物の検定合格数量の推移（力価 kg/年）



図2 抗菌性飼料添加物による増大量 (BWG) および飼料要求率 (FCR) の改善効果 (子豚)

る [6]。また、成長促進目的の抗菌性飼料添加物の使用を禁止したスウェーデンやデンマークの事例を見ると、さまざまな疾病の予防にも貢献している [6]。

著者らは、1977～2001年の約25年間に子豚およびブロイラーを用いた抗菌性飼料添加物の効果試験を数多く実施している。これらは、いずれも、農林水産省などからの委託事業の一環として行ったものであるが、それぞれの試験成績を各試験において設定した抗菌性飼料添加物無添加区の成績を100とした場合の指数に換算して図2および図3に示した。

これによると、子豚では計30回の試験の平均成績で、抗菌性飼料添加物の使用により発育が約15%促進され、ブロイラーにおいては計25回の平均成績で発育が約3%促進されている。

また、飼料要求率も子豚で約4%、ブロイラーでは約2%改善されており、飼料要求率の改善により、哺乳期子豚～子豚育成期において年間約12万トンもの配合飼料を節約することが出来るものと試算される。同様に、ブロイラーでは年間約7万トンの配合飼料の節約が出来ると試算され、飼料原料の大部分を海外からの輸入に頼っているわが国において、限られた飼料資源の有効利用に大きく貢献していることは明らかである。さらに、飼料要求率の改善、すなわち、増体量あたりの飼料摂取量の減少による糞尿排泄量の低減など、近年、わが国の畜産業界における大きな課題の一つとされている畜産環境の改善にも貢献している。



図3 抗菌性飼料添加物による増大量 (BWG) および飼料要求率 (FCR) の改善効果 (ブロイラー)

次に期待される効果として幼齢期の家畜における事故率の低下、育成率の向上があげられる。現在、わが国における養豚・養牛農家の多くでは、豚では生後3～4週間、牛では生後1週間以内で親から離し、代用乳や哺乳期用飼料を給与して飼育する方式が採られているが、この早期離乳技術は抗菌性飼料添加物の使用を前提として確立されたものであって、抗菌性飼料添加物は畜産物の効率的な生産や、安定生産に大きく貢献している。

4. 抗菌性飼料添加物の使用を中止した場合の経済的リスク

畜産分野において、抗菌性飼料添加物の使用を中止した場合には、前述した効果とは逆の悪影響、すなわち、発育の遅延による飼育日数の延長、飼料要求率の低下による飼料消費量の増加と糞尿排泄量の増加、幼齢期の子豚や子牛を中心とした疾病の多発による育成率の低下が予想される。

筆者らは、コクシジウムや内部寄生虫対策として利用されている品目を除く抗菌性飼料添加物の使用を中止した場合の畜産物の生産コストへの影響について試算しているが [6]、表2に示すように、ブロイラーでは飼料要求率が2%低下することにより、出荷体重に到達するまでの間に消費される飼料が0.13kg増加する結果、飼料費が5.1円/羽増加する。また、ブロイラーの飼育現場で一般的に認められるクロストリジウム感染症、大腸菌症や呼吸器疾患の治療に要する動物用医薬品費

表2 抗菌性飼料添加物の使用を中止した場合の経済的リスク (ブロイラー)

要 因	コスト上昇
飼料費の増加 飼料要求率 (全期間, 2.25 → 2.30) 飼料摂取量 (全期間, 6.30 → 6.43 kg)	5.1 円/羽
動物用医薬品費 (クロストリジウム, 大腸菌症, 呼吸器疾患の治療)	15.0 円/羽
育成率低下 (5%) による生産費の増加	25.2 円/羽
計	45.3 円/羽 (25.9 円/正肉 kg)

表3 抗菌性飼料添加物の使用を中止した場合の経済的リスク (子豚)

要 因	コスト上昇
飼料費の増加 人工乳前期 (飼料要求率 10%低下, 飼料摂取量 7.6 → 8.4kg/頭)	483.6 円/頭
人工乳後期 (飼料要求率 6.5%低下, 飼料摂取量 38.2 → 40.8kg/頭)	
子豚育成期 (飼料要求率 4.3%低下, 飼料摂取量 108.0 → 112.8/頭)	
動物用医薬品費 (大腸菌症, 呼吸器疾患の治療)	1,000 円/頭
育成率低下 (10%) による生産費の増加	1,000 円/頭
計	2,483.6 円/頭 (33.2 円/枝肉 kg)

が 15.0 円/羽, 育成率が 5%程度低下することにより出荷コストが 25.2 円/羽増加するものと見込まれる。これらの結果, 1 羽あたりの生産コストは 45.3 円 (正肉 1kg あたり 25.9 円) 上昇する。2001 年における国内のブロイラー年間出荷羽数は 56,700 万羽 [7] であることから, ブロイラー産業全体では約 260 億円の損失が生ずることになる。

次に, 子豚に関する試算は表 3 に示したとおりであって, 飼料要求率の低下により離乳直後から体重 70kg までの哺乳期から子豚育成期における飼料摂取量が 8.2kg/頭増加することにより飼料費が 483.6 円/頭増加する。また, 動物用医薬品費および育成率が 10%低下することによる生産コストが, それぞれ 1,000 円/頭増加するものと見込まれる。その結果, 子豚 1 頭あたりの生産コストは 2,483.6 円 (枝肉 1kg あたり 33.2 円) 上昇することになり, 養豚産業全体 (年間出荷頭数 16,716 千頭) の損失は約 420 億円に上ると推定される。

なお, これらの試算は直接経費だけであって, 発育低下による飼育日数の延長などに伴って発生するコスト増は考慮していないことから, ブロイラーや豚において, 実際にはこの試算以上の損失が生ずるものと推察される。

さらに, これらの影響の他に考慮しなければならない問題として, 飼料摂取量の増加に伴って発生する糞尿排泄量の増加があげられる。2004 年 11 月からは「家畜排泄物の管理の適正化および利用の促進に関する法律」[8] が完全実施され, 畜産農家に対して, より厳しい糞尿排泄物の管理が求められることになり, 抗菌性飼料添加物の使用中止がもたらす糞尿排泄量の増加は, 畜産農家にとって大きな負担増を強いることとなるものと推察される。

5. 抗菌性飼料添加物に関する今後の展望

これまで述べてきたように, わが国では, 抗菌

性飼料添加物は諸外国に例を見ないほど厳しい規制の下で使用されており、これまで、畜産物の生産性向上や安定供給に大きく貢献してきたといえる。

また、現段階では、抗菌性飼料添加物の使用とヒトにおける耐性菌の発生との関連性については科学的に立証されておらず、ヒトにおける耐性菌発生の懸念だけでいたずらに使用を中止した場合には、わが国の畜産業界のみならず、畜産物の消費者に対しても大きな負担を強いることになる。さらに、わが国における2002年における食肉の自給率は61%であって〔9〕、国内で消費される食肉のほぼ1/3は海外からの輸入に頼っている現状にある。抗菌性飼料添加物に関する問題を国内問題として処理した場合には、海外において抗菌性飼料添加物を使用して生産された安価な畜産物が輸入されることになり、わが国の畜産業界への圧迫要因ともなる。

最後に、2003年6月27日に開催された農業資材審議会飼料分科会安全性部会において、抗菌性飼料添加物に起因する薬剤耐性菌が公衆衛生に及ぼす影響に関するリスク評価の基準案が検討され、今後、新たに発足した食品安全委員会に引継がれて評価基準が策定されたのちに、すべての抗菌性飼料添加物についての見直し作業が行われることとなった。今後は、これらの検討結果を踏まえ、消費者等の理解を十分に得た上で、より安全で効果的に抗菌性飼料添加物を利用してゆくことが重要であろう。

引用文献・参考資料

- 1) BSE問題調査検討委員会：平成14年4月2日BSE問題に関する調査検討委員会報告書（2002）
- 2) 飼料問題懇談会：今後の飼料政策の展開方向，平成14年7月19日飼料問題懇談会報告書（2002）
- 3) 農林水産省：飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律，昭和28年4月11日，法律第35号（1953）
- 4) 農林水産省：飼料添加物の評価基準の設定について，昭和52年4月5日，52畜A第1200号・52水漁第1111号，農林水産省畜産局長・水産庁長官通達（1977）
- 5) 日本科学飼料協会：家畜等への抗菌性飼料添加物使用が公衆衛生に及ぼす抗菌剤耐性リスクの評価法の検討，平成14年度抗菌性物質のリスク評価事業報告書（2003）
- 6) 日本科学飼料協会・飼料の品質改善対策委員会：抗菌性飼料添加物の有用性と安全性－ヨーロッパにおける抗菌性飼料添加物使用禁止の動きに関連して－（1999）
- 7) 農林水産省生産局畜産部飼料課：流通飼料便覧2002，農林統計協会（2003）
- 8) 農林水産省：家畜排泄物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律，平成11年7月28日，法律第112号（1999）
- 9) 農畜産振興事業団：畜産の情報－国内編2002年度－（2003）

Roles and Issues on Antimicrobial Feed Additives in Japan

Chisato YONEMOCHI

Japan Scientific Feed Association 6-16, Sinkawa 2, Chuo-ku, Tokyo, 104-0033, Japan

Although there are limited reports scientifically on the relationship of cause and effect between antimicrobials use and resistant organisms, antimicrobial use has been decreasing in the world. In Japan, 23 antibiotics and 6 synthesized antimicrobials are legally permitted as feed additives. Practically the amount of antimicrobials decreased from the peak (400 ton/year) in 1986 to 160ton/year in 2002 and that of synthesized antibiologicial substances decreased from 251 ton/year in 1992 to 58 ton/year in 2001, respectively. The mechanism of antimicrobials is not completely clear, but their effects are quite significant. For example, by adding antimicrobials in feeds in 30 experimental trials for piglets, the average growth rate and feed conversion ratio (FCR) were improved by 15 and 4%. Also in 25 experimental trials for broilers, they were improved 3 and 4%, respectively. Approximate 12 thousand ton of feed for piglets and 7 thousand ton of feed for broilers are estimated to be spared annually by improving FCR. The amount of excreta are also reduced. If the use of antimicrobial feed additives would be banned, the marketing age of pigs and broilers would be longer, the amount of excreta would increase, and the rate of disease outbreak would increase. By these negative impacts, the economical loss would be calculated to 42 billions yen for pigs and 26 billions yen for broilers. From these calculations, it is expected that the use of antimicrobial feed additives should be scientifically used for the best advantage.

討 論 (座長：澤田拓士 日獣畜大, 佐藤静夫 全農家畜衛研)

追加発言 (手塚和義, 丸紅飼料)

現在、東北地方の某エサ工場で製造されているブロイラー用配合飼料の約8割には抗菌性飼料添加物が混合されていない。生産者が自ら望んで無添加飼料を選択しているのではなく、ブロイラー肉のバイヤーからの強い要望・指示に負けて無添加飼料を使用しているのが現実である。そこで、東北地方の某ブロイラー養鶏場で、抗菌性飼料添加物を使用しなかった場合の影響を調べた。試験区の4,400羽には初生時にCE製剤を投与し、前期および後期飼料とも抗菌性飼料添加物は無添加とした。対照区の8,400羽にはCE製剤を投与せず、前期および後期飼料にはポレエーテル系抗菌剤と第3欄抗菌剤を添加した。なお、仕上げ飼料は両区とも抗菌性飼料添加物無添加の同一のものをを用いた。鶏舎は両区ともオープン鶏舎であった。ワクチネーションはNB, IBDとNDを農場の常法どおり両区に同様にを行い、治療用の抗菌剤は使用しなかった。

試験区では2週齢までは問題なく経過した。15～35日齢でコクシジウム・オーチストが多量に排泄さ

れたが、死亡率は増加しなかった。下痢・軟便がみられ、糞は未消化の状態、色調は薄茶色となった。出荷時の成績をみると、出荷日齢は試験区が53日で対照区が52日、平均体重は試験区2.627kgで対照区2.890kgであり、生産指数であるPS(育成率×生体重/出荷日齢×飼料要求率)が試験区209.0で対照区246.7であった。この結果、生産コスト(ひな代、飼料代、薬品代)で生鳥1kg当り3.11円/kg試験区が劣り、生肉換算で試験区が10.39円/kg劣った。抗菌性飼料添加物を使用しないことによる、この差は生産者にとっては大きな負担である。

質問 (小野浩臣, 日獣大)

日本科学飼料協会として、抗菌性飼料添加物と耐性菌の問題について、独自あるいは委託研究などを考えているのか？

答 (米持千里)

研究の取組みを考えている。また、飼料・畜産業界としても安全性のアピールを工夫すべきではないかと思う。

米国における動物用抗菌剤の公衆衛生に対するリスク評価の考え方

大島 慧

社団法人 日本動物薬事協会 (〒 103-0082 東京都中央区日本橋本町 4-6-10)

米国政府は、抗菌剤耐性菌問題に対応して、動物用抗菌剤の規制をヒト医療における重要性を基準にして行うこととし、承認申請添付資料に定性的リスクアセスメントを取り入れようとしている。また、家禽に対するフルオロキノロンの投与を止めたら、ヒトのフルオロキノロン耐性カンピロバクター感染症が減少するというリスクアセスメントの結果にもとづいて、家禽に対する承認を取り消す提案をしている。

EUと違って、米国政府には成長促進目的の抗菌剤飼料添加だけを禁止する動きはない。もともと、米国は治療用も成長促進用も同じ動物用医薬品の範疇であり、効能と使い方が異なるだけであるから、動物用抗菌剤規制強化の一環として治療剤と同様に扱われる。

1. 動物用抗菌剤の規制を強化する考え方

米国食品医薬品庁/動物用医薬品センター (FDA/CVM) は、ヒトに対するリスクを第一に考慮する立場にあると宣言し、動物用新抗菌剤の承認申請添付資料に耐性の発生しやすさと市販後

に農場で耐性発生をモニタリングして、予め定めた耐性閾値を越えたら規制措置をとるという案 (いわゆるフレームワーク)[1] を、1999年1月に公表した。これは、方法論が確立されていない、または結果の解釈が難しい試験法が示唆されていたこと、ならびに各メーカーが農場で耐性のモニタリングをすることの困難さとその意義が問題になった。

その後2年8ヶ月を経た2002年9月に、基本的な考え方はフレームワークと同様であるが、定性

表1 #152の危害、危害因子およびリスク

・危害	特定の動物由来食品で起こり、耐性が懸念されるヒト用抗菌剤で治療される、特定の抗菌剤によるヒトの病気
・危害因子	動物用抗菌剤の使用の結果として食料生産動物に生じる、ヒトの健康に重要な抗菌剤耐性菌または耐性決定因子
・リスク	食料生産動物における抗菌剤使用に起因する耐性菌/耐性決定因子にヒトが曝露されて起こる、ヒトにおける抗菌剤の有効性の減退または喪失

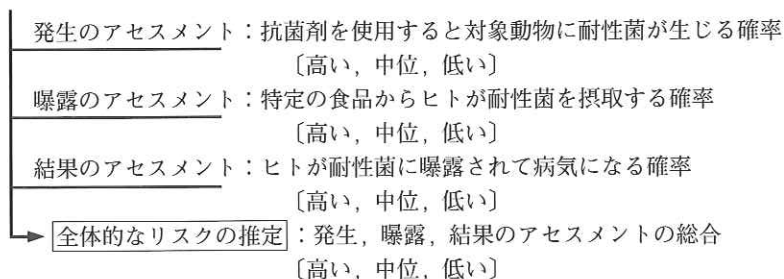


図1 #152における定性的抗菌剤耐性リスクアセスメントの方法

的リスクアセスメントを中心とし、農場におけるモニタリングに代えて全国抗菌剤耐性モニタリングシステム (NARMS) のデータを利用する、スマートになった「企業のためのガイダンス案 (#152)」[2] を公表した。

この #152 における危害、危害因子およびリスクは、表 1 に示すように、すべてヒトの健康に対するそれである。リスクアセスメントの方法は、図 1 に示すように、発生、曝露および結果のアセスメントを行って、それぞれリスクが高い、中位、低い、にランク付けし、これら 3 つのアセスメントの結果を総合して、リスクを推定する。

発生のアセスメントに考慮すべき因子は、活性機序や活性スペクトル、薬物動態、薬力学、耐性機序、耐性伝達、選択圧などである。曝露のアセスメントは、ヒトがある食品を介して細菌に曝露される確率、すなわちその細菌によって食品が汚染されている確率とその食品の 1 人当り消費量ならびにヒトが曝露される細菌が特定の抗菌剤に耐性である確率にもとづく。ヒトが細菌に曝露される確率は食肉の直近の汚染率による。<5% を低い、5 ~ 25% を中位、>25% を高いとする。たとえば、サルモネラについては、2001 年のデータを用いると、ブロイラー (11.9%) と鶏挽肉

(19.5%) が中位、七面鳥 (26.2%) が高い、にランク付けされる。カンピロバクターについては、ブロイラー (88%)、七面鳥肉 (90%)、豚肉 (32%) などが高い、七面鳥挽肉 (25%) が中位になる。肉類の消費量は、牛肉 (64.4 ポンド/人/年)、豚肉 (47.7)、鶏肉 (52.9) が高い、七面鳥肉 (13.6)、魚介類 (15.2) が中位、子牛肉、羊肉が低いにランク付けされる。汚染率と消費量の組合せにさらにそれぞれの菌種が耐性である確率 (高い、中位、低い) を当てはめるマトリックスで曝露のアセスメントが行われる。

結果のアセスメントは、ヒトの治療に重要な抗菌剤に対する耐性を重要視し、ヒト医療における各抗菌剤の重要性をランク付けして行う。重要視される抗菌剤には、利用可能な唯一のまたは限られた治療薬としてメチシリン耐性ブドウ球菌 (MRSA) に対するバンコマイシン、結核に対するストレプトマイシン、術後感染症に対するセファゾリン；選択される治療薬としてレジオネラに対するエリスロマイシン；とくに重要な活性スペクトルを持つものとして緑膿菌に対するアミノグリコシド系とフルオロキノロン系；重要な経口治療薬としてトリメトプリム+サルファ剤；食中毒治療におけるフルオロキノロン系などの例が挙げられている。

上述の発生、曝露および結果のアセスメントにおける高い、中位、低いランク付けを並べて見て、リスクの推定を行う。たとえば、低い—低い—低い、低い—低い—中位はリスクが低いと推定され、低い—中位—高いは中位、中位—高い—高いは高いと推定される。

さらに、動物に対する各抗菌剤の使用の程度を表 2 のようにランク付けする。推定されたりリスク

表 2 抗菌剤の使用程度のランク付け

使用期間	投与対象		
	個体	選定した群の一部	群全体
短い(<6日)	低い	中位	高い
中位(6~21日)	低い	中位	高い
長い(>21日)	中位	高い	高い

表 3 懸念のレベルにもとづくリスクマネジメント

承認条件	懸念のカテゴリー		
	カテゴリー 1	カテゴリー 2	カテゴリー 3
販売条件	Rx	Rx/VFD	Rx/VFD/OTC
表示外使用	不可	制限	認める
使用の程度	低い	低い/中位	低い~高い
承認後モニタリング	NARMS	NARMS	NARMS
委員会の審査	あり	場合による	なし

と使用の程度を勘案して、表3のようにリスクマネージメントを行うという規制強化案である。ヒトの治療における重要度がもっとも高いカテゴリー1の抗菌剤は、獣医師の処方が必要になり、個体の治療にしか使えず、獣医師の裁量による表示外使用はできない。カテゴリー2は、動物用飼料指令による獣医師の処方があれば飼料添加で成長促進目的に使用でき、個体および選定した群の一部の治療に使える。ヒトの治療に重要性がないカテゴリー3の抗菌剤はこれまでと同様な使い方、販売方法が可能になる。

これらの規制案に対して、動物由来食品を介して感染するわけでもないヒトの病気に重要な抗菌剤まで、動物における使用を規制するのは科学的ではない、あるいはこの#152は高度に主観的であり、FDAが反対してきた「予防の原則」に近く、獣医師の活動を制限するものである、などの反対意見があり、近く上述の定性的リスクアセスメントの方法に対するリスクアセスメントの専門家からの意見書が出される予定であるという。

2. 家禽用フルオロキノロン製剤の承認を取り消す提案

米国では、サラフロキサシンとエンロフロキサシンの2種類のフルオロキノロン系製剤が家禽に対して承認されていた。しかし、鶏に対するフルオロキノロン投与がヒトのフルオロキノロン耐性カンピロバクター感染症に及ぼす影響のリスクアセスメント [3] の「鶏にフルオロキノロン剤を使用しなければ、ヒトのフルオロキノロン耐性カンピロバクター感染症は減る」と

する結論にもとづいて、FDAは2000年10月に、これら製剤の承認取消しを提案した(表4) [4]。サラフロキサシンは事前に承認を取り下げたので、承認取消しの対象はエンロフロキサシンだけになった。2001年2月に、承認を持つバイエル社、米国動物薬事協会(AHI)、米国獣医師会(AVMA)、欧州医薬品審査庁(EMEA)などがそれぞれヒアリングに対応する意見書を提出した。主な意見は、主要な感染源は鶏肉ではない；ヒトのカンピロバクター感染症に対する第一選択薬は、フルオロキノロンではなく、エリスロマイシンである；耐性率を算出する基礎になっているNARMSのサンプリング法に問題があるなどであった。2002年4月に、FDAの行政裁判官の下でプレヒアリング公開会議が開催され、その後にヒアリングが行われた。2003年5月に行政裁判官とバイエル社の弁護士がそれぞれ相手側の主張を聞き、約1ヶ月後にお互いの主張に対する反論書を提出することになっている。2003年末には、行政裁判官がFDA長官に報告書を提出する予定であるという。

米国は、EUと対照的に、まだ獣医師や畜産家が困るような規制措置はとっていない。上述の提案などに人的資源が取られて、製薬企業は承認の大幅な遅れが生じていることに苦慮しているが、提案し、意見を聞き、再提案をし、また意見を聞くという透明性の確保という点では、米国らしさが維持されている。

HACCPの普及などによって、動物由来食品の細菌汚染は減少傾向にあり、一方、動物に抗菌剤を与えるからヒトの耐性菌が生じるとする仮説に対する反証も次々に出てきていることから、抗菌剤耐性菌問題は適正使用(必要な時に必要な

表4 さまざまな分母に対するフルオロキノロン耐性カンピロバクターのリスクレベル

分 母	確 率
米国全人口	0.019% (1:61,093)
カンピロバクター感染症のヒト	0.2265% (1:521)
カンピロバクター感染症で、診療を受けるヒト	1.739% (1:521)
カンピロバクター感染症で、診療を受け、抗菌剤を処方されるヒト	3.384% (1:32)

け)の徹底以上の措置をしないでも、これ以上激しくならないと考えるのは安易にすぎるであろうか。

要 約

米国はEUと違って、成長促進目的で抗菌剤を使用することを禁止しようとはしていない。しかし、治療用抗菌剤の承認申請資料にヒトの健康に対するリスクの定性的アセスメントを含めることを提案している。動物に耐性菌が発生するリスク、食品を通してヒトが動物の耐性菌に曝露されるリスク、その結果としてヒトに重要な抗菌剤が効かなくなるリスクを総合的に判断して、規制の程度に反映させる案である。一方、家禽用フルオロキノロン剤の承認取り消し提案は、ヒアリングから、意見聴取に至り、近くFDAとしての結論が出る予定である。これら2つの提案の検討過程はかなり透明性を持って行われている。

引用文献

- 1) FDA/CVM: Draft guidance for industry; Evaluation of the human health impact of the microbial effects of antimicrobial new animal drugs intended for use in food-producing animals. <http://www.fda.gov/cvm/fda/tocs/final12.html> (1998)
- 2) FDA/CVM: Guidance for industry; Evaluating the safety of antimicrobial new animal drugs with regard to their microbiological effects on bacteria of human health concern. <http://www.fda.gov/cvm/dguidance/dguide152>
- 3) FDA/CVM: Risk assessment on the human impact of fluoroquinolone resistant *Campylobacter* associated with the consumption of chicken. <http://www.fda.gov/cvm/fda/mappgs/ra/risk.html> (1999)
- 4) FDA/CVM: Enrofloxacin for poultry; Opportunity for hearing[Docket No. 00N-1571]. Federal Register 65 (211), 64954-64965 (2000)

Thinking of Risk Assessment Concerning Impact of Antimicrobial Animal Drugs on Human Health in USA

Satoshi OHSHIMA

Japan Veterinary Pharmaceutical Association, 4-6-10, Nihonbashi-honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-0023, Japan

Center for veterinary medicine, US food and drug administration (FDA/CVM) provided the guidance for industry (#152) on September 2002 in which current thinking on a recommended approach for assessing the safety of antimicrobial new animal drugs with regard to their microbiological effects on bacteria of human health concern. The document include a methodology of qualitative antimicrobial resistance risk assessment that is made up of assessments of release, exposure and consequence of resistant bacteria, and overall risk estimate. Risk management steps associated with the approval of antimicrobial new animal drugs in food-producing animals will be based on the level of concern as estimated by the risk assessment and classified to prescription, veterinary feed directive or over the counter drugs.

FDA/CVM proposed to withdraw approval of the new animal drug application of the enrofloxacin in poultry based on CVM's risk assessment that the use of the drug in poultry causes the fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* which is a cause of fluoroquinolone-resistant human campylobacteriosis. Bayer, Animal Health Institute, American Veterinary Medical Association, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products etc. submitted their opinions to the proposal to FDA/CVM respectively, and are waiting decision of FDA's administrative law judge.

総 合 討 論

(座長：澤田拓士 日獣大，佐藤静夫 全農家畜衛研)

福本一夫 (日本イーライリリー)

何故，食中毒の原因となるカンピロバクターは鶏由来が多いのか？

田村 豊 (農水省・動薬検)

カンピロバクターは乾燥に弱い。われわれの調査では，鶏のみならず牛，豚からも分離されているが，食中毒の原因として問題となるのは鶏肉である。これには新鮮な鶏肉の提供を前提としているので，と殺後の処理や流通のシステムが関係していると考えられる。

澤田拓士 (日獣大)

鶏肉の処理や流通段階で乾燥させる過程をとれないからではないか。

大島 慧 (動薬協)

家庭で調理した肉でカンピロバクターの食中毒にならないのは，加熱調理をするからだろうと医師は言っている。外食や海外旅行時の食中毒には，一人感染もあるのではとの意見もある。カンピロバクター食中毒の追跡調査はできないと言うアメリカの医師もいる。アメリカでは毎年，食品由来疾患で5,000人死んでいるがカンピロバクター食中毒での死者はいないといわれており，不思議に思う。

福本一夫 (日本イーライリリー)

アメリカでは鶏肉の処理段階で塩素剤を使用しており，仮に鶏が食中毒菌に汚染していても，鶏肉は清浄になっているとかは考えられないか？

大島 慧 (動薬協)

日本でも鶏肉処理過程のチラータンクでの塩素剤の使用が許可されており，使用している。しかし，連続して多量の鶏肉が入ってくるので効果が低下し，生存するカンピロバクターもみられる。鶏からカンピロバクターを完全に排除するのは無理であり，消費者に正しく加熱調理すればカンピロバクターは死滅し，何ら問題とならないことをもっと伝えるべきだ。

佐藤静夫 (全農家畜衛研)

カンピロバクターの汚染は日本のみならず世界的な悩みである。牛，豚も保菌しているが，と殺後の冷蔵時に乾燥して死滅する。しかし，鶏肉は新鮮なものが好まれ，と殺後直ちにパッキングし冷蔵されるが，これはカンピロバクターの生存に都合良くしているようなものだ。処理過程のチラータンクで塩素剤が使用されているが，塩素の濃度を高くできない。以前，150ppmの濃度になるとサルモネラも殺菌されると食品衛生の関係者は言ったが，肉に臭いがつき実用的ではなく，実際には50ppm前後の濃度で使用されている。カンピロバクターを皆無にするのは難しく，日本もアメリカもカンピロバクター汚染の実態は同様であると感じており，サルモネラ以上に難しいのでは。

澤田拓士 (日獣大)

カンピロバクターは耐性菌よりも食肉の汚染問題といえると思う。抗菌性飼料添加物と耐性菌に関しての発言を。

田村 豊 (農水省・動薬検)

カンピロバクターの薬剤感受性に関するわが国における全国調査は，今，動物医薬品検査所が全国を4ブロックに分けて実施しているのが唯一であるが，全国の成績がまとまるまでに後2年間かかる。われわれの立場としては，現時点でカンピロバクターの耐性菌の状況について議論する状況にないと考えている。

澤田拓士 (日獣大)

日本科学飼料協会として抗菌性飼料添加物問題に関して，最近取組んでおられる内容などを紹介いただけないか。

米持千里 (科飼協)

抗菌性飼料添加物問題対策検討委員会を設置し，関係の先生方にも参加いただき，リスク評価のあり方などを検討している。また，日本科学飼料協会で

実施している種々の事業の成果については協会のホームページに掲載しているのを見ていただきたい。

田村 豊（農水省・動薬検）

米持先生の講演の中で示された抗菌性飼料添加物を除いた場合の経済的損失は、ブロイラー肉で26円/kg、豚肉で33円/kgとなっていたが、この費用を消費者が安全・安心のために負担すると判断した場合、抗菌性飼料添加物の必要性をどの様に考える？
米持千里（科飼協）

先ほど手塚先生も追加発言で述べられたが、アップした生産コストは畜産物の販売価格には反映できず、生産者が被ぶっているのが現状である。中央畜産会が、有機（オーガニック）畜産で生産した畜産物をどの程度までのコストアップなら購入するかを、消費者にアンケート調査した結果では、1割以内のアップであった。しかし、オーガニックの生産コストは2～3割アップする。アップしたコストを生産物に加算すればオーガニック志向の消費者にも買ってもらえないのが現実である。

もっと大きな問題は輸入畜産物との兼ね合いである。もし、日本のみが抗菌性飼料添加物を先鋭的に規制しても、規制の甘い海外の畜産物がどんどん輸入されると、整合性がとれなくなると危惧している。

大島 慧（動薬協）

先ほど、手塚先生も追加発言で抗菌性飼料添加物を除いた飼料で飼育したブロイラーでないスーパーに買ってもらえないと話しておられた。昨年、VICH2 公開会議があり、アメリカやヨーロッパの業界の人達と、本当の消費者の声はどのようにしたら聴けるのかが話題となり、スーパーのバイヤーや一部小売店の声に脅かされているのではないかというのが共通した意見であった。

最近、「不活化ワクチンに含まれているホルマリンが残留するのでは?」、「ワクチンとはどのような抗生物質?」といった質問がある。本当の消費者の声を聴いて、消費者に対応するにはどのようにすればよいのか、皆、困っているのでは。

福本一夫（日本イーライリリー）

最近、生産段階に関わる人にとって一番怖いのは消費者ではなく、スーパーのバイヤーであり、そこ

からの突き上げが強い。日本人の特性かもしれないが「隣の店が無薬にしたから、私の店にも無薬の物を」といった発想である。ブロイラー生産において、抗コクシジウム剤をも除いた完全無薬は日本ぐらいである。ヨーロッパは日本よりも涼しく鶏にとってストレスは少ないが、デンマーク、スウェーデンにおいても抗コクシジウム剤は使用している。このような条件下で、完全無薬による生産が日本でいつまでも持続できるか心配である。また、行政、関係団体からももう少しリスクコミュニケーションに関する発信をすべきでは。

濱本修一（農水省・飼料課）

今回、本シンポジウムで抗菌性飼料添加物を取り上げられたことに感謝する。抗菌性飼料添加物について一般の人々に話しをし、理解していただくのは難しい。今回の様なシンポジウムに一般の人々に参加いただき、情報提供していくことが重要と考えている。メーカーによる自主的なシンポジウムでリスクコミュニケーションをやっていただくし、われわれも行政の報道に抗菌性飼料添加物、耐性菌を披露、状況を説明し、また、最近は国会でも話題として取り上げられるので、正しく答弁している。リスクコミュニケーションには力を入れているが、この話題は難しいので皆様からの積極的な情報提供にも期待している。

小久江栄一（農工大）

各演者の先生方から、成長促進用の抗生物質を止めたらどうなるか、成長促進用抗生物質は公衆衛生上どの様なリスクがあるかを聴いた。その中で耐性菌によるリスクの話は出てきたが、成長促進用抗生物質が食中毒の発生を防ぐメリットの話は出てこなかった。食中毒防止メリットを期待するのは間違いか？

大島 慧（動薬協）

食中毒は耐性菌でなくても発生するので、抗菌剤を使用せず感受性菌がいても起こる。当然、治療用・成長促進用の抗生物質を投与しないと、もしかすると、サルモネラの感染が起こるかも知れない、また、カンピロバクターが多いかも知れない肉を人が食べることになり、かえって危ない。抗生物質を使用し耐性菌ができるリスクと、使用せずに病気になるリスクの両方について、人と動物についてのり

スクアセスメントをする必要があると思う。

小久江栄一（農工大）

新しいフィードスタッフ誌で読んだが、バージニアマイシンを止めるとカンピロバクター食中毒が増加すると記載されていた。ニワトリの腸組織がもろくなって、解体処理中に破れてしまうことが原因らしい、と書いてあった。耐性菌発現よりも食中毒発生率増加の方が怖いのではないか。同じようにサルモネラも怖い。一般消費者へ情報提供するとき、耐性菌発現のリスクだけではなく、食中毒防止のメリットもプロバガンダして欲しい。先ほどの話にあった100グラム20～30円位高くても、売り方によっては消費者は買う。人の命にかかわる問題であることを多めに強調してほしい。

大島 慧（動薬協）

そのとおりだと思う。

福本一夫（日本イーライリリー）

英国において、プロイラーでアピラマイシンを止めると、床材が汚れ、脚の疾病が増え、それに伴って鶏の体も汚れ病気も増加した。この様に、抗菌性飼料添加物を止めることにより、鶏が汚れ、疾病が増加することは、食中毒、人の健康の観点からも検討すべきではと感じている。

阪野哲也（全農家畜衛研）

米持先生が先ほど、繰返し実施されている抗菌性飼料添加物の使用の有無における生産性成績の差を示されましたが、試験によりその差にかなりのバラツキがみられています、その理由は？

米持千里（科飼協）

示した成績は1967年頃以降約30年の間に実施した、豚およびプロイラーでの各々25～30回位の試験結果であり、試験ごとに供試した抗菌性飼料添加物の種類が異なっていること、また、鶏種や実施した季節の違いなど多くの要因が考えられる。

阪野哲也（全農家畜衛研）

抗菌性飼料添加物を使用しない生産において、①常に安定した生産性をいつまでも維持できるか、②技術レベルが高い生産者では、抗菌性飼料添加物を使用しなくともある程度の生産は可能かも知れないが、若干、技術が劣ると壊滅的な状態になると考えられ、産業としての維持のうえでも問題が大きい、③農場における長期間の生産性を考えると、回転率の低

下、空舎・消毒期間の延長など、単一の試験では示せないものもあり、これらをも含めた評価をすべきではないか。

米持千里（科飼協）

私が示したデータは飼料代、動物用医薬品などの増加についてのみである。例えば、豚においては発育遅延日数から、年間の豚舎の回転数に及ぼす影響をも加味した試算は可能である。その値は今回、私が示したものよりもはるかに高いレベルのものとなる。

福本一夫（日本イーライリリー）

先ほどの講演では話さなかったが、デンマークでは抗菌剤をかなり減らしても成功しているのは、オールイン・オールアウトの体制が確立していることと、離乳後から出荷まで同じ豚房で飼育するシステムがかなり普及していることが大きいと思う。この方法は日本では、豚舎に余裕がなく現実的ではない。日本の一部ではスリーサイト方式が取り入れられだしているが、養豚密集地帯では、他の農場も在り、必要な豚舎間距離がとれないところが多い。この様な実態を考えると、抗菌性飼料添加物の必要性は日本と諸外国では違ってくるのではと考える。

藤倉孝夫（元動物衛研所）

昔から、家畜の衛生対策として、薬剤による方法、SPFなどが研究されてきたのに、何故、いまだに疾病が大きな問題になるのか。今一度、原点にもどって畜産のあり方を考え、そのうえで、薬剤の適正使用を考えてみる必要があるのでは。

澤田拓士（日獣大）

私も、ふと、そのように思うときもあるが、今日の畜産の発達により、我々も美味しい物を安く食べることができ、体格・生活レベルも向上したことも含めて考える必要があると思う。

黒川 知（明治製菓）

大島先生の講演によると、アメリカでは、リスクアセスメントにおいてリスクレベルをかなり詳しく分けて評価がなされている。ヨーロッパでは、人体用としては古い薬剤で、人の医療にはほとんど用いられていない抗菌剤に対して、どの様に考えられているのか？

大島 慧（動薬協）

ヨーロッパでは治療用抗菌剤については、人体用

として重要あるいは、重要でないかにかかわらず何ら規制をしていない。飼料添加物用と治療用の抗生物質の両方を規制することは現実的でないからだろう。とりあえず、人体用と同じ系列の抗生物質の飼料添加物用としての使用を止めたのであり、今後、あと4剤を止める科学的根拠はないと最初から言っている。

黒川 知 (明治製菓)

今後、日本において検討する場合、日本全体の産業・国益から、人体用としてほとんど使用されていない薬剤をも人体薬だからと同一分類で、重要と考えるのは問題ではないか。

田村 豊 (農水省・動薬検)

日本の動物における抗菌剤には2つのカテゴリーが

ある。一つは医療上重要な薬剤、もう一つはそれ以外である。たぶん、ご心配のことはないのではないかと。

澤田拓士 (日獣大)

抗菌性飼料添加物については、動物用医薬品の再審査のように、使用後の耐性菌出現状況の追跡調査まで課せられているのか？

米持千里 (科飼協)

飼料添加物は飼料安全法によるが、動物医薬品の様に承認後、何年で再審査とのシステムではない。

秋元京子 (独行法・肥飼検)

3年前から、肥飼検も動薬検の耐性菌調査事業に協力してやりだした。現時点で、飼料添加物に関して中間的な取りまとめはやっていない。

動物由来細菌に対する抗菌性物質の最小発育阻止濃度（MIC）測定法の改定について

2003年9月6日

動物用抗菌剤研究会 MIC 測定法標準化委員会

委員長 江口正志（（独）農業・生物系特定産業技術研究機構動物衛生研究所）

委員 甲斐明美（東京都健康安全研究センター）

片岡 康（日本獣医畜産大学）

桑野 昭（第一製薬株式会社）

高橋敏雄（農林水産省動物医薬品検査所）

廣野育生（東京海洋大学）

アドバイザー 田村 豊（農林水産省動物医薬品検査所）

薬剤耐性菌対策プログラムのひとつとして教育、研究およびサーベイランスの重要性が指摘されている。この内、薬剤耐性菌研究やサーベイランスのための基本的な手技として MIC 測定法があり、さまざまな場面で汎用されている。現在、日本をはじめ各国では、それぞれ独自のガイドラインに準拠してディスク拡散法、液体希釈法あるいは寒天平板希釈法が実施され、分離菌株の MIC が測定されている。しかし、現状ではそれぞれの方法で得られた MIC の相互比較が極めて困難であることから国際的な手法の統一化が求められている。2000年に国際獣疫事務局（OIE）は薬剤耐性専門家委員会を開催し、薬剤耐性の検出と定量化のための検査法の標準化と調和に関するガイドライン（案）を提示した〔1〕。このガイドラインでは、MIC を精度保証・精度管理された手法による再現性のある定量値として示し、将来的には方法の標準化を検討し、国際的に調和した MIC 測定法の設定が勧告されている。

一方、わが国の動物由来細菌の MIC 測定法については、1997年3月に日本化学療法学会標準法（1981）に準拠した寒天平板希釈法が動物用抗菌剤研究会標準法として制定されている〔2〕。しかし、本法は供試薬剤の希釈系列のほか、さまざまな点において各国で実施されている方法と相違し

ており、本法によって得られた成績は、昨今叫ばれている国際的な薬剤感受性試験成績の共有化には適していない。現在、国際的に使用されている動物由来細菌の MIC 測定法として米国臨床検査標準委員会（NCCLS）が制定した方法〔3〕があり、しかも本法は基本的に人由来細菌を対象とする方法とも一致していることから、本法により測定された MIC は国際的な成績の共有化に耐えることができるばかりでなく、動物由来細菌と人由来細菌の MIC を同一レベルで比較検討することを可能とする。

そこで今般、このような国際情勢を背景として、動物用抗菌剤研究会に MIC 測定法標準化委員会を立ち上げ、国際的な薬剤感受性試験成績の共有化に耐えうる動物由来細菌 MIC 測定法に改定した。この中には魚類由来細菌の MIC 測定法も含まれている。改訂法は基本的に NCCLS 法〔3〕に準拠したものであることから、国際的にも受け入れられるものとなっている。今後、動物由来細菌の MIC 測定に際しては、本法に準拠した方法で測定して頂くことをお願いしたい。

なお、OIE のガイドライン（案）〔1〕では、MIC 測定法の精度および担当者の能力を検証するための外部品質保証プログラムを確立することが勧告されている。これは国内・国外を問わず成

續の共有化，比較を行うために極めて重要な要素であるものの，現時点ではその方法や実施機関が未定であることから今回の改定に含めないこととし，将来の課題とした。

1) White DG et al.,: Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 20 (3), 849-858 (2000)

- 2) 動物用抗菌剤研究会 MIC 測定法改訂委員会：
動物用抗菌剤研究会報，18，p40-41 (1997)
- 3) National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS document M31-A2, 22(6) (2002)

動物由来細菌に対する抗菌性物質の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法

(動物用抗菌剤研究会 2003 年改定標準法)

今後、動物由来細菌の抗菌性物質（抗生物質および合成抗菌剤）に対する感受性は、ここに示した寒天平板希釈法もしくは微量液体希釈法（動物用抗菌剤研究会 2003 年改訂標準法）により測定することを推奨する。この方法は原則として、米国臨床検査標準委員会 (NCCLS) により提唱された標準的試験法 (2002) [1] に準拠した方法である。現行の動物用抗菌剤研究会標準法 [2] による MIC 測定は、動物用抗菌剤研究会 2003 年改定標準法による成績と比較する目的以外では使用しないことが望ましい。

なお、これまでに動物用抗菌剤研究会が報告した豚呼吸器病原菌 (*Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma hyopneumoniae*), 牛呼吸器病原菌 (*Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma spp.*), 豚・牛下痢病原菌 (*Escherichia coli*), 牛乳房炎起因菌の薬剤感受性試験法 [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9] はマイコプラズマの薬剤感受性試験法を除き廃止する。

多くの研究者等による測定 MIC の共有, 比較のためには MIC の精度管理が極めて重要となる。今般の改訂に当たり, NCCLS 法と同様の精度管理用菌株を内部精度管理を目的として指定し, それらの菌株については, NCCLS が規定している薬剤の MIC の範囲 (精度管理限界値) をそのまま記載した。さらに, NCCLS が規定していない薬剤, 菌種についても, 農林水産省動物医薬品検査所その他で実施された試験データに基づき設定した暫定的な精度管理限界値 (参考値) を参考資料 1 および 2 に記載したので, 薬剤感受性試験の実施に際しては, 精度管理の参考とされた。なお, 外部精度管理も重要であるが, 現時点ではその方法や実施機関が未定であることから今回の改定には含めないこととし, 将来の課題とした。

参考資料 3 として, 現在わが国で実施されている薬剤耐性モニタリング (Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System: JVARM) [10] で対象となっている薬剤および菌種を示したので, あわせて薬剤感受性試験の参考にされたい。

1. 寒天平板希釈法

(1) 一般細菌 (ミュラーヒントン培地に 35℃, 好氣的条件で発育する細菌)

以下の項目以外の術式は, 米国臨床検査標準委員会 (NCCLS) により提唱された標準的試験法 [1] に準拠する。

ア. 供試材料

(ア) 感受性測定用培地: ミュラーヒントン寒天培地 (報告書などには製造所を明記する。)

(イ) 増殖用培地: トリプチックブローズ (報告書などには製造所を明記する。)

(ウ) 薬剤原液の希釈用液: 滅菌蒸留水または表 1 に示した 0.1M リン酸塩緩衝液 (pH6.0 または pH8.0)

イ. 薬剤の調製

(ア) 薬剤の入手

常用標準品またはその同等品を入手して供試する。なお, 動物専用の薬剤については農林水産省動物医薬品検査所で配布しているものもあるので相談願いたい。

(イ) 薬剤 (標準品粉末) の保存方法

薬剤は, 吸湿防止のためにデシケーターに入れ -20℃ 以下で保存する。使用に際しては, 常温に戻してから秤量する。吸湿性のものであるので, 秤量は相対湿度 45% 以下の条件下で行う。

表1 試験薬剤の溶解に使用する溶媒と希釈液

薬 剤	略号	溶 媒	希釈液
ペニシリン系抗生物質			
アモキシシリン	AMPC	緩衝液-1 ¹⁾	緩衝液-1 ¹⁾
アンピシリン	ABPC	緩衝液-2 ²⁾	緩衝液-1 ¹⁾
ペニシリン	PC	蒸留水	蒸留水
セフェム系抗生物質			
セファゾリン	CEZ	緩衝液-1	蒸留水
セフチオフル	CTF	蒸留水	蒸留水
セフロキシム	CXM	緩衝液-1	蒸留水
アミノグリコシド系抗生物質			
アブラマイシン	APM	蒸留水	蒸留水
デストマイシン	DM-A	蒸留水	蒸留水
ジヒドロストレプトマイシン	DSM	蒸留水	蒸留水
ゲンタマイシン	GM	蒸留水	蒸留水
カナマイシン	KM	蒸留水	蒸留水
スペクチノマイシン	SPC	蒸留水	蒸留水
マクロライド系抗生物質			
エリスロマイシン	EM	95%エタノール	蒸留水
ジョサマイシン	JM	95%エタノール	蒸留水
キタサマイシン	KT	95%エタノール	蒸留水
スピラマイシン	SP	95%エタノール	蒸留水
タイロシン	TS	95%エタノール	蒸留水
リンコマイシン系抗生物質			
リンコマイシン	LCM	蒸留水	蒸留水
ペプチド系抗生物質			
コリスチン	CL	蒸留水	蒸留水
ノシヘプタイド	NHT	ジメチルホルムアミド	蒸留水
バンコマイシン	VCM	蒸留水	蒸留水
バージニアマイシン	VGM	少量のメタノール+蒸留水	蒸留水
ポリエーテル系抗生物質			
サリノマイシン	SLM	メタノール	蒸留水
テトラサイクリン系抗生物質			
オキシテトラサイクリン	OTC	少量の 0.1N HCl + 蒸留水	蒸留水
その他の抗生物質			
アピラマイシン	AVM	アセトン	蒸留水
バシトラシン	BC	蒸留水	蒸留水
ピコザマイシン	BCM	蒸留水	蒸留水
クロラムフェニコール	CP	95%エタノール	蒸留水
エフロトマイシン	EEM	メタノール	蒸留水
フロルフエニコール	FF	95%エタノール	蒸留水
ホスホマイシン	FOM	蒸留水	蒸留水

ノボピオシン	NB	蒸留水	蒸留水
キノロン系合成抗菌薬			
エンロフロキサシン	ERFX	下記 ³⁾ 参照	蒸留水
ミロキサシン	MLX	下記 ³⁾ 参照	蒸留水
ナリジクス酸	NA	下記 ³⁾ 参照	蒸留水
オキシリン酸	OA	下記 ³⁾ 参照	蒸留水
オフロキサシン	OFLX	下記 ³⁾ 参照	蒸留水
サルファ剤			
スルファジメトキシシン	SDMX	下記 ⁴⁾ 参照	蒸留水
スルファモノメトキシシン	SMMX	下記 ⁴⁾ 参照	蒸留水
その他合成抗菌薬			
フルメキン	FMQ	下記 ³⁾ 参照	蒸留水
オラキンドックス	ODX	ジメチルホルムアミド	蒸留水
チアンフェニコール	TP	95%エタノール	蒸留水
トリメトプリム	TMP	1/10 量 0.05 N HCL + 蒸留水	温かい蒸留水

1) 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH6.0) の調製法

リン酸二水素カリウム (KH₂PO₄) 7.0g, リン酸一水素ナトリウム (Na₂HPO₄ · 12H₂O) 6.0g に蒸留水約 750mL を加え, 1 分以上煮沸して溶かす。必要があれば, 1N NaOH またはリン酸を用いて pH を 5.9 - 6.1 に調製した後, 更に蒸留水を加えて 1,000mL とする。

2) 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH8.0) の調製法

(1) リン酸一水素カリウム (16.73 g) / リン酸二水素カリウム (0.523 g)

(2) リン酸一水素カリウム (無水) (13.2 g) / リン酸二水素カリウム (0.91 g)

(1) または (2) の処方による。いずれも上記分量をとり, 蒸留水約 750 mL を加えて溶かし, 必要があれば, リン酸を用いて pH を 7.9 - 8.1 に調整した後, 更に蒸留水を加えて 1,000 mL とする。

3) 蒸留水 1/2 容量を加えた後, 1N NaOH を溶解するまで滴下し, 蒸留水でメスアップする。

4) 熱い蒸留水 1/2 容量を加えた後, 2.5N NaOH を溶解するまで滴下し, 蒸留水でメスアップする。

(ウ) 薬剤の溶解

水溶性の薬剤は原則として, 全て滅菌蒸留水を用いて溶解する。ただし, 水に不溶性ないし難溶性の薬剤については, 必要に応じてエタノールや水酸化ナトリウム溶液などの溶媒を用いて, できるだけ少量に溶解した後, 滅菌蒸留水で希釈して薬剤原液を調製する。薬剤原液は通常, 5,120 mg/mL または mg (力価)/mL の濃度に調整する。

ほとんどの薬剤原液はガラス, ポリエチレン, ポリプロピレンまたはポリスチレン製の滅菌バイアルに入れて, -70°C 以下の保存条件で, 約 6 ヶ月間は保存可能である。ただし, 一度溶解したものは, 全てその日のうちに使用しなければならない。

(エ) 薬剤濃度の調整法

供試薬剤を秤量後, 表 1 に例示した規定

の溶媒で溶解する。溶解に必要な溶媒の量は下記の計算式により計算する。

$$\text{溶媒量 (mL)} = \frac{\text{薬剤の力価 (mg/mg)} \times \text{秤量 (mg)}}{\text{原液の濃度 (mg/mL)}}$$

ウ. MIC 測定法の実際

(ア) 薬剤の希釈

表 2 の (1) に例示した方法などにより, 5,120mg/mL を薬剤原液とした 2 倍段階希

表 2 薬剤の希釈調製法の例

(1) 寒天平板希釈法のための希釈例
マスター希釈

5,120 mg/mL	…… A 液	
1,280 mg/mL	…… B 液	A 液 1 容 + 蒸留水 3 容
160 mg/mL	…… C 液	B 液 1 容 + 蒸留水 7 容
20 mg/mL	…… D 液	C 液 1 容 + 蒸留水 7 容
2.5 mg/mL	…… E 液	D 液 1 容 + 蒸留水 7 容

薬剤の溶液

段階	濃度 $\mu\text{g/mL}$	容量 mL	+蒸留水* mL	中間濃度 $\mu\text{g/mL}$	寒天での1:10希釈における 最終濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	\log_2
1	5,120 (A液)	—	—	5,120	512	9
2	5,120 (A液)	1.0	1.0	2,560	256	8
3	5,120 (A液)	1.0	3.0	1,280	128	7
4	1,280 (B液)	1.0	1.0	640	64	6
5	1,280 (B液)	1.0	3.0	320	32	5
6	1,280 (B液)	1.0	7.0	160	16	4
7	160 (C液)	1.0	1.0	80	8	3
8	160 (C液)	1.0	3.0	40	4	2
9	160 (C液)	1.0	7.0	20	2	1
10	20 (D液)	1.0	1.0	10	1	0
11	20 (D液)	1.0	3.0	5	0.5	-1
12	20 (D液)	1.0	7.0	2.5	0.25	-2
13	2.5 (E液)	1.0	1.0	1.25	0.125	-3

*: ABPCの場合は0.1Mリン酸塩緩衝液, pH6.0を用いる。

(2) 微量液体希釈法のための希釈例
マスター希釈

1,280 mg/mL …… A液
160 mg/mL …… B液 A液1容+蒸留水7容
20 mg/mL …… C液 B液1容+蒸留水7容
2.5 mg/mL …… D液 C液1容+蒸留水7容

薬剤の溶液

段階	濃度 $\mu\text{g/mL}$	容量 mL	+CAMHB* mL	最終薬剤濃度 $\mu\text{g/mL}$	\log_2
1	1,280 (A液)	2.0	18.0	128	7
2	1,280 (A液)	1.0	19.0	64	6
3	1,280 (A液)	0.5	19.5	32	5
4	160 (B液)	2.0	18.0	16	4
5	160 (B液)	1.0	19.0	8	3
6	160 (B液)	0.5	19.5	4	2
7	20 (C液)	2.0	18.0	2	1
8	20 (C液)	1.0	19.0	1	0
9	20 (C液)	0.5	19.5	0.5	-1
10	2.5 (D液)	2.0	18.0	0.25	-2
11	2.5 (D液)	1.0	19.0	0.12	-3
12	2.5 (D液)	0.5	19.5	0.06	-4

*CAMHB: 陽イオン調整ミューラーヒントン液体培地。

積列 (3連続以上の希釈を行わない) を作製する。

(イ) 薬剤含有感受性測定用寒天培地の調製

ミューラーヒントン寒天培地を溶解、滅菌して 48 - 50°C に保持する。前項で調製した薬剤の各希釈液 1 : 培地 9 の割合 (直径 90mm のシャーレを使用する場合には希釈液 2mL と培地 18mL) で十分に混合し、混合液をシャーレに分注した後に固化させる。最終的な寒天培地の厚さは、約 4mm にしなければならない。同時に、薬剤無添加の対照平板も作成する。室温で固化させた寒天培地は、使用前に、約 30 分間ふ卵器内で寒天表面を乾燥させ、表面に水滴が付いていないことを確認する。

(ウ) 接種用菌液の調製

寒天平板培地で純粋培養した被検菌株の 3 - 5 コロニーの先端を白金耳で触れ、増殖用培地に接種し、35°C で培養後、約 1 - 2 × 10⁸CFU/mL (McFarland 標準液 No. 0.5 に相当) となるように濃度を調整する。接種用に直径 1mm の金属製ピン (0.5μL/spot) を使用する場合には、希釈せずにそのまま接種用菌液とする。ただし接種用に直径 3mm の金属製ピン (2μL/spot) を使用する場合には、さらに 10 倍希釈して接種用菌液とする。なお、濃度調整した菌液は、調製後 30 分以内に使用しなければならない。

(エ) 接種用菌液の平板への接種

前項で調製した接種用菌液を、マイクロプランターなどにとり、これを薬剤含有平板もしくは対照平板に静かにスポットする。接種の順番は最初に対照平板へ接種し、次いで薬剤ごとに最も低濃度の薬剤を含む平板培地から接種を開始し、次第に高濃度の培地に接種していく。雑菌の混入がないことを確かめるために、少なくとも最初と最後に対照平板に接種する。平板表面の菌液が乾いた後、シャーレを反転し、35°C で 16 - 20 時間培養し、判定を行う。

(オ) エンドポイントの決定

原則として、接種菌の薬剤含有培地での発育が完全に阻害された薬剤の最小濃度をエンドポイントと判定し、その値を最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) とする。

単一のコロニーの発育または軽微な発育は無視し、発育阻止とみなす。

(カ) 精度管理

薬剤感受性試験法の精度と正確性を確保する目的で、*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (JCM 2874)、*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (JCM 7783)、*Escherichia coli* ATCC 25922 (JCM 5491) および *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (JCM 6119) を精度管理用菌株に定め、NCCLS が提示している各菌株に対する薬剤ごとの MIC の精度管理限界値 (MIC 範囲) を表 3 に示した。なお、NCCLS が規定していない薬剤については、下記に示す NCCLS ガイドラインに記載されているその基本的な考え方に準拠し、薬剤ごとに精度管理限界値を各試験施設が独自に規定しなければならない。更に詳細な精度管理の手法については、NCCLS ガイドラインを参照されたい。試行的に本稿では、NCCLS が規定していない薬剤についても、農林水産省動物医薬品検査所で実施された試験成績に基づき暫定的に設定した精度管理限界値 (参考値) を参考資料 1 に示した。

a. NCCLS の精度管理限界値設定における基本的考え方

- ・3 ロットのミューラーヒントン寒天培地を用い、複数の試験施設で上記の精度管理用菌株について実施した少なくとも 7 回の試験で得られた成績に基づき、NCCLS 小委員会が一定のルールに従って精度管理限界値を設定する。
- ・理想的には設定する MIC 範囲は、少なくとも 95% 信頼限界を含むことが望ましい。
- ・精度管理限界値は 3 管以内での設定が

表3 NCCLSが規定する薬剤におけるMIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)の精度管理限界値

(1) 一般細菌の精度管理限界値

薬剤		ABPC	CEZ	CTF	APM	GM	KM	EM	TS	VCM	CP	NA	ERFX	TMP
精度管理用菌株														
<i>S. aureus</i>	ATCC29213	0.5-2	0.25-1	0.25-1	2-8	0.12-1	1-4	0.25-1	0.5-2	2-8	-	0.03-0.12	1-4	0.5-4
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212	0.5-2	-	-	-	4-16	16-64	1-4	1-4	4-16	-	0.12-1	≤ 1	0.5-4
<i>E. coli</i>	ATCC25922	2-8	1-4	0.25-1	2-16	0.25-1	1-4	-	-	2-8	1-4	0.008-0.03	0.5-2	>32
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853	-	-	16-64	2-16	0.5-2	-	-	-	-	-	1-4	>64	>32

(2) *Campylobacter* spp. の精度管理限界値

薬剤		EM	GM	NA	CPFX	DOXY	TC
精度管理用菌株							
<i>C. jejuni</i>	ATCC33560	1-8	0.5-4	8-32	0.12-1	0.5-2	1-4

(3) 微量液体希釈法による *Actinobacillus pleuropneumoniae* および *Haemophilus somnus* の精度管理限界値

薬剤		CTF	ERFX	FF	GM	PCG	TC	TML	TMS	TMP-SMX (1/19)
精度管理用菌株										
<i>A. pleuropneumoniae</i>	ATCC27090	0.004-0.015	0.015-0.06	0.25-1	8-32	0.12-1	0.25-2	8-32	4-32	0.015-0.06
<i>H. somnus</i>	ATCC700025	0.0005-0.004	0.015-0.06	0.12-0.5	8-32	0.015-0.06	0.12-1	-	2-16	0.03-0.125

薬剤の略号は動物用抗菌剤研究会報最新号の動物用抗生物質・合成抗菌剤略語表を参照。

望ましいが、実際には4管以内の設定が必要となる場合もある。

b. 精度管理用菌株の入手法

理化学研究所 (JCM 菌株番号) および ATCC の規程上、他機関へ当該菌株を再分与することは禁じられている。従って、薬剤感受性試験を実施する場合には、各機関は理化学研究所あるいは ATCC (国内代理店を通じて) から直接、精度管理用菌株を購入されたい。

c. 精度管理用菌株の保存

各精度管理用菌株は安定剤中で -60°C 以下または凍結乾燥状態で保存する。保存菌株は寒天平板培地で2回継代培養した後に使用する。

(2) 特殊細菌(特殊な発育条件を必要とする細菌)

以下の項目以外は、1. 寒天平板希釈法、(1) 一般細菌の試験法に準拠して実施することとする。

ア. *Actinobacillus pleuropneumoniae* および *Haemophilus somnus*

(ア) 感受性測定用培地：チョコレート寒天培地 (基礎培地はミューラーヒントン寒天培地)。

(イ) MIC 判定のための培養温度ならびに時間： 35°C 、5-7% CO_2 、20-24 時間

(ウ) 精度管理：精度管理限界値の設定については今後、検討することとする。

イ. *Campylobacter* spp.

(ア) 感受性測定用培地：5%の割合に羊脱線維素血液を添加したミューラーヒントン寒天培地 (報告書等には製造所を明記する。)

(イ) 菌浮遊液：ミューラーヒントン液体培地 (報告書等には製造所を明記する。), 滅菌蒸留水または生理食塩液

(ウ) 薬剤含有感受性測定用寒天培地の調製：ミューラーヒントン寒天培地を溶解、滅菌して $48-50^{\circ}\text{C}$ に保持する。使用時に5%の割合で羊脱線維素血液を添加し、感受性測定用寒天培地とする。以降の調製は一般細菌と同様に行う。

- (ニ) 接種用菌液の調製：5%羊脱線維素血液加ミューラーヒントン寒天平板培地で37℃48時間または42℃24時間、微好気下(10% CO₂, 5% O₂, 85% N₂)で培養した被検菌株のコロニーをミューラーヒントン液体培地、蒸留水または生理食塩液に直接浮遊させる。その菌液は約1-4×10⁸CFU/mL (McFarland 標準液 No. 0.5に相当)となるように濃度調整する。以降の調製方法は一般細菌と同様に行う。
- (ホ) 接種用菌液の平板への接種：一般細菌の平板への接種法に準拠して接種した後、35-37℃微好気下(10% CO₂, 5% O₂, 85% N₂)で培養し、判定を行う。
- (ヘ) 精度管理：薬剤感受性試験法の精度と正確性を確保する目的で、*Campylobacter jejuni* ATCC 33560 (本菌種の基準株)を精度管理用菌株に定め、NCCLSが提示している各菌株に対する薬剤ごとのMICの精度管理限界値を表3に示した。
- ウ. 魚類由来病原細菌
- 魚類由来病原細菌の薬剤感受性は、以下の項目以外は1. 寒天平板希釈法、(1)一般細菌の試験法に準拠して実施することとする。なお、精度管理限界値の設定については今後、検討することとするが、参考資料2に暫定的に設定した精度管理限界値(参考値)を示した。
- (ア) *Aeromonas hydrophila*
- 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25℃, 24時間
 - MIC判定のための培養温度ならびに時間：25℃, 24時間
- (イ) *Aeromonas salmonicida*
- 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：20℃, 24時間
 - MIC判定のための培養温度ならびに時間：20℃, 24時間
- (ウ) 非定型 *Aeromonas salmonicida*
- 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25℃, 24時間
 - MIC判定のための培養温度ならびに時間：25℃, 24時間
- (エ) *Edwardsiella tarda*
- 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25-30℃, 24時間
 - MIC判定のための培養温度ならびに時間：25-30℃, 24時間
- (オ) *Flavobacterium columnare* (syn. *Chondrococcus columnaris*)
- 感受性測定用培地：Cytophaga 寒天培地 [0.05% (w/v) tryptone, 0.05% (w/v) yeast extract, 0.05% (w/v) sodium acetate, 0.02% (w/v) beef extract, 1.0% (w/v) agar, pH 7.2-7.4, 滅菌方法：121℃, 15分]
 - 増殖用培地：Cytophaga 液体培地 (Cytophaga 寒天培地から寒天を除いた培地)
 - 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：20-25℃, 48時間
 - MIC判定のための培養温度ならびに時間：20-25℃, 48時間
- (カ) *Flavobacterium psychrophilum* (syn. *Cytophaga psychrophila*)
- 感受性測定用培地：Cytophaga 寒天培地もしくはTYE寒天培地 [0.4% (w/v) tryptone, 0.04% (w/v) yeast extract, 0.05% (w/v) MgSO₄·7H₂O, 0.05% (w/v) CaCl₂·2H₂O, 1.0% (w/v) agar, pH 7.2, 滅菌方法：121℃, 15分]
 - 増殖用培地：Cytophaga 液体培地もしくはTYE液体培地 (TYE寒天培地から寒天を除いた培地)
 - 接種用菌液調整のための培養温度ならびに時間：15-20℃, 96時間
 - MIC判定のための培養温度ならびに時間：15-20℃, 96時間
- (キ) *Flavobacterium branchiophilum*
- 感受性測定用培地：Cytophaga 寒天培地
 - 増殖用培地：Cytophaga 液体培地
 - 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：15-20℃, 96時間

- d. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：15 - 20°C, 96 時間
- (ク) *Lactococcus garvieae*
- a. 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25°C, 24 時間
- b. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：25°C, 24 時間
- (ケ) *Mycobacterium* sp.
- a. 感受性測定用培地：Middlebrook ADH enrichment 添加 Middlebrook 7H11 寒天培地
- b. 増殖用培地：Middlebrook ADH enrichment 添加 Middlebrook 7H11 液体培地
- c. 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25°C, 144 時間
- d. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：25°C, 144 時間
- (コ) *Nocardia seriolae*
- a. 感受性測定用培地：Middlebrook ADH enrichment 添加 Middlebrook 7H11 寒天培地
- b. 増殖用培地：Middlebrook ADH enrichment 添加 Middlebrook 7H11 液体培地
- c. 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25°C, 96 時間
- d. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：25°C, 96 時間
- (カ) *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* (*Pasteurella piscicida*)
- a. 感受性測定用培地：2% NaCl - ミューラーヒントン寒天培地
- b. 増殖用培地：2% NaCl - ミューラーヒントン液体培地
- c. 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25 - 30°C, 24 - 48 時間
- d. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：25 - 30°C, 24 - 48 時間
- (キ) *Pseudomonas* spp. (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. plecoglossicida*, *P. anguilliseptica*)
- a. 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25°C, 24 時間
- b. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：25°C, 24 時間
- (ク) *Renibacterium salmoninarum*
- a. 感受性測定用培地：KDM-2 寒天培地 [0.05% (w/v) yeast extract, 0.1% (w/v) L-cystein-HCl, 1.0% (w/v) tryptone, 20% (v/v) bovine serum, 1.5% (w/v) agar, pH7.2, 滅菌方法：121°C, 15 分]
- b. 増殖用培地：KDM-2 液体培地
- c. 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：18°C, 24 時間
- d. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：18°C, 24 時間
- (ケ) *Streptococcus iniae*
- a. 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25°C, 24 時間
- b. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：25°C, 24 時間
- (コ) *Tenacibaculum maritimum* (syn. *Flexibacter maritimus*)
- a. 感受性測定用培地：30%以上の海水を用いて作製した *Cytophaga* 寒天培地もしくは *TCY* 寒天培地 [0.1% (w/v) tryptone, 0.1% (w/v) casamino acids, 0.02% (w/v) yeast extract, 3.13% (w/v) NaCl, 0.07% (w/v) KCl, 1.08% (w/v) MgCl₂·6H₂O, 0.1% (w/v) CaCl₂·2H₂O, 1.0% (w/v) agar, pH 7.2, 滅菌方法：121°C, 15 分]
- b. 増殖用培地：30%以上の海水を用いて作製した *Cytophaga* 液体培地もしくは *TCY* 液体培地 (*TCY* 寒天培地から寒天を除いた培地)
- c. 接種用菌液調整のための培養温度ならびに時間：20 - 25°C, 48 時間
- d. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：20 - 25°C, 48 時間
- (カ) *Vibrio* spp. (*V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. damsela*)
- a. 感受性測定用培地：2% NaCl - ミューラーヒントン寒天培地
- b. 増殖用培地：2% NaCl - ミューラーヒ

ントン液体培地

- c. 接種用菌液調製のための培養温度ならびに時間：25℃，24時間
d. MIC 判定のための培養温度ならびに時間：25℃，24時間

2. 微量液体希釈法

(1) 一般細菌 (ミュラーヒントン培地に 35℃, 好氣的条件で発育する細菌)

以下の項目以外の術式は、NCCLS により提唱された標準的試験法 [1] に準拠する。

ア. 供試材料

- (ア) 感受性測定用培地：陽イオン調整ミュラーヒントン液体培地 (CAMHB) (報告書などには製造所を明記する。)

Ca²⁺：20 - 25mg/L および Mg²⁺：10 - 12.5mg/L に調整された市販品を使用する。

Ca²⁺ および Mg²⁺ が調整されていないミュラーヒントン液体培地 (MHB) (報告書などには製造所を明記する。) を使用する場合は、精製水で下記に示す CaCl₂ および MgCl₂ の溶液を事前に作製し、ろ過滅菌 (メンブランフィルター) 後、4℃ に保存しておく。これらの溶液は MHB の 1L 当たり CaCl₂ 溶液は 5mL, MgCl₂ 溶液は 2.5mL を添加・混和して感受性測定用液体培地とする。

CaCl₂ 溶液：CaCl₂ · 2H₂O の 3.68g を 100mL に溶解する (Ca²⁺；10mg/mL)

MgCl₂ 溶液：MgCl₂ · 6H₂O の 8.36g を 100mL に溶解する (Mg²⁺；10mg/mL)

- (イ) マイクロプレート：滅菌処理された U 型の 96 穴マイクロプレート

- (ウ) 薬剤原液の希釈用液：1. 寒天平板法, (1) 一般細菌, ア. 供試材料, (ウ) 薬剤原液の希釈用液と同じ。

イ. 薬剤の調製

薬剤の調製は 1. 寒天平板法, (1) 一般細菌, イ. 薬剤の調製と同じ。

ウ. MIC 測定法の実際

- (ア) 薬剤含有感受性測定用液体培地の調製

表 2 の (2) に例示した方法などにより, 1,280 μg/mL の薬剤原液を 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12, 0.06 μg/mL となるよう CAMHB で希釈 (3 連続以上の希釈は行わない) し, 薬剤含有感受性測定用液体培地を作製する。この感受性測定用液体培地をマイクロプレートの 1 ウエルあたり 0.1 ± 0.02 mL 分注する。

感受性測定用培地は検査当日に作製する。もし, 当日使用しない場合は 4℃ あるいは氷水中で保存する。

(イ) 接種用菌液の調整

MHB で McFarland 標準液の No. 0.5 の濁度まで増菌, あるいは寒天平板培地の新鮮培養菌を用いて McFarland 標準液の No. 0.5 の濁度に調整する (1 - 2 × 10⁸ CFU/mL)。いずれの場合も CAMHB で 10 倍希釈し, 接種用菌液とする (1 - 2 × 10⁷ CFU/mL)。

- (ウ) 接種用菌液の感受性測定用液体培地への接種

マイクロプレートに分注した 0.1mL の感受性測定用液体培地に接種用菌液を 0.005mL (5 μL) 添加する。従って, 各ウエルの菌数は約 5 × 10⁴ CFU になる。

(エ) 培養

菌接種後 35℃ で 16 - 20 時間培養し, 判定する。なお, 標準的には菌接種後, 15 分以内に培養を始める。

(オ) エンドポイントの決定

接種菌の薬剤含有培地での発育を対照培地での発育と比べ, 肉眼的に見て発育が完全に阻止された最小濃度を MIC とする。

(カ) 精度管理

精度管理は 1. 寒天平板希釈法, (1) 一般細菌, ウ. MIC 測定法の実際, (カ) 精度管理と同じ。

(2) 特殊細菌 (特殊な発育条件を必要とする細菌)

以下の項目以外は, 2. 微量液体希釈法, (1) 一般細菌の試験法に準拠して実施することとする。

ア. *Actinobacillus pleuropneumoniae* および *Haemophilus somnus*

(ア) 感受性測定用培地：1Lあたり下記の成分を含むVFM培地（Veterinary Fastidious Medium）。

CAMHB	22 g
Beef extract	3 g
Acid hydrolysis casein	17.5 g
Starch	1.5 g
Yeast extract	20 g
馬溶血液*	20 mL
Supplement C (Difco)	20 mL

* 馬溶血液の作製法

馬血液を3回、凍結融解（凍結温度：-20℃もしくはそれ以下）した後、3,000×gで20分間遠心し、その上清を馬溶血液として使用する。

- (イ) 接種用菌液の調製：一夜（20－24時間）培養した寒天平板から直接釣菌し、滅菌したCAMHB、蒸留水あるいは0.9%食塩水を用いてMcFarland標準液のNo. 0.5に調整したものの接種菌液とする。粘性を示す*Actinobacillus pleuropneumoniae*の菌株では菌数調整が難しいこともあるので注意が必要である。
- (ウ) 培養：35℃、5－7%CO₂、20－24時間
- (エ) 精度管理用菌株：VFM培地を使用した微量液体希釈法における精度管理用菌株*A. pleuropneumoniae* ATCC 27090および*Haemophilus somnus* ATCC 700025のMIC（μg/mL）の精度管理限界値を表3に示した。

参考文献

- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performances standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Second edition, Approved Standard. NCCLS document M31-A2, 22 (6) (2002)
- 動物用抗菌剤研究会 MIC 測定法改訂委員会（高橋勇，内田幸治，吉村治郎，高橋敏雄，澤田拓士），動物由来の細菌に対する薬剤の最小発育阻止濃度（MIC）測定法，動物用抗菌剤研究会報，18，p40-41（1997）
- 動物用抗菌剤研究会臨床評価検討委員会，豚呼吸器病原菌（*Actinobacillus pleuropneumoniae*）の薬剤感受性試験法，動物用抗菌剤研究会報，18，p51-52（1997）
- 動物用抗菌剤研究会臨床評価検討委員会，豚呼吸器病原菌（*Pasteurella multocida*）の薬剤感受性試験法，動物用抗菌剤研究会報，18，p52（1997）
- 動物用抗菌剤研究会臨床評価検討委員会，豚呼吸器病原菌（*Mycoplasma hyopneumoniae*）の薬剤感受性試験法，動物用抗菌剤研究会報，18，p52-53（1997）
- 動物用抗菌剤研究会臨床評価検討委員会，牛呼吸器病原菌（*Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*）の薬剤感受性試験法，動物用抗菌剤研究会報，18，p53（1997）
- 動物用抗菌剤研究会臨床評価検討委員会，牛呼吸器病原菌（マイコプラズマ）の薬剤感受性試験法，動物用抗菌剤研究会報，18，p53-54（1997）
- 動物用抗菌剤研究会臨床評価検討委員会，豚・牛下痢病原菌（*E. coli*）の薬剤感受性試験法，動物用抗菌剤研究会報，18，p54（1997）
- 動物用抗菌剤研究会臨床評価検討委員会，牛乳房炎起因菌の薬剤感受性試験法，動物用抗菌剤研究会報，19，p45（1998）
- 田村 豊，動物用抗菌性物質と薬剤耐性，モダンメディア，47（9），p219-226（2001）

参考資料 1 NCCLS が規定していない薬剤の寒天平板希釈法による MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の精度管理限界値 (参考値)

薬剤		CXM	DM	DSM	LCM	CL	BC	NHT	VGM	SNM
精度管理用菌株										
<i>S. aureus</i>	ATCC29213	0.5-2	32-256	1-8	0.25-2	64-128	32-128	≤ 0.008	0.25-1	0.5-2
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212	≥ 64	≥ 256	16-64	8-32	≥ 256	32-128	≤ 0.015	1-4	0.25-2
<i>E. coli</i>	ATCC25922	2-8	16-128	1-4	≥ 256	0.5-2	≥ 256	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853	≥ 128	16-128	4-32	≥ 256	0.5-2	≥ 256	-	-	-

薬剤		OTC	AVM	BCM	EFM	OA	OFLX	ODX	SDMX
精度管理用菌株									
<i>S. aureus</i>	ATCC29213	≤ 1	0.5-2	≥ 512	≥ 128	0.25-2	≤ 0.5	-	-
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212	4-16	0.25-2	≥ 512	≥ 128	4-32	1-4	-	≥ 256
<i>E. coli</i>	ATCC25922	0.25-2	-	16-64	≥ 128	≤ 0.25	≤ 0.25	8.32	≥ 256
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853	2-16	-	≥ 512	≥ 128	8-64	1-4	-	≥ 512

薬剤の略号は動物用抗菌剤研究会報最新号の動物用抗生物質・合成抗菌剤略語表を参照。

参考資料 2 魚類由来病原細菌の MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の精度管理限界値 (参考値)(1) *Lactococcus garvieae* の MIC 測定条件時

薬剤		ABPC	CP	DSM	EM	EREX	FOM	FF
精度管理用菌株								
<i>S. aureus</i>	ATCC29213	≤ 0.5	0.5-2	1-4	<0.125	<0.125	1-4	0.5-2
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212	0.25-1	0.5-2	16-64	0.5-2	≤ 0.5	8-32	0.5-2
<i>E. coli</i>	ATCC25922	2-4	2-8	1-4	4-16	<0.125	2-8	2-8
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853	≥ 256	16-42	2-8	8-32	≤ 0.5	2-8	16-64
<i>A. salmonicida</i>	ATCC33658	≤ 0.125	0.25-1	2-8	1-4	<0.125	0.5-2	0.25-1
<i>L. garvieae</i>	ATCC49156	0.25-1	0.5-2	32-128	<0.125	0.25-1	64-256	0.5-2
<i>L. garvieae</i>	ATCC49157	0.25-1	0.5-2	16-64	<0.125	0.25-1	8-32	0.5-2

薬剤		FMQ	GM	KM	LCM	OTC	SMMX	TMP
精度管理用菌株								
<i>S. aureus</i>	ATCC29213	0.25-1	≤ 0.5	0.5-2	0.25-1	<0.125	8-32	≤ 0.5
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212	8-32	8-32	16-64	4-16	1-4	>512	<0.125
<i>E. coli</i>	ATCC25922	≤ 0.5	0.25-1	0.5-2	≥ 256	≤ 0.5	128-512	0.5-1
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853	2-8	0.25-1	>512	≥ 256	0.5-2	≥ 512	64-256
<i>A. salmonicida</i>	ATCC33658	<0.125	0.25-1	1-4	128-512	<0.125	≥ 256	0.25-1
<i>L. garvieae</i>	ATCC49156	8-32	4-16	16-64	<0.125	<0.125	>512	4-16
<i>L. garvieae</i>	ATCC49157	8-32	2-8	8-32	<0.125	<0.125	>512	2-8

(2) *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* の MIC 測定条件時

薬剤		ABPC	BCM	CP	DSM	ERFX	FF	FMQ
精度管理用菌株								
<i>S. aureus</i>	ATCC29213	0.25-1	>512	1-4	8-32	<0.125	1-4	0.25-1
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212	0.25-1	>512	1-4	32-128	0.25-1	1-4	16-64
<i>E. coli</i>	ATCC25922	1-4	16-64	1-4	4-16	<0.125	2-8	≤ 0.5
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853	>512	>512	64-256	8-32	0.5-2	64-256	8-32
<i>A. salmonicida</i>	ATCC33658	<0.125	8-32	≤ 0.5	4-16	<0.125	0.25-1	<0.125
<i>P. damsela</i>	ATCC51736	<0.125	2-8	0.25-1	8-32	<0.125	≤ 0.5	<0.125
<i>P. damsela</i>	ATCC17911	<0.125	2-8	0.25-1	4-16	<0.125	≤ 0.5	<0.125

薬剤		FOM	GM	KM	OA	OTC	SMMX	TMP
精度管理用菌株								
<i>S. aureus</i>	ATCC29213	2-8	2-8	4-16	0.25-1	≤ 0.5	8-32	0.25-1
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212	16-64	32-128	64-256	8-32	4-16	>512	<0.125
<i>E. coli</i>	ATCC25922	1-4	1-4	4-16	<0.125	0.5-2	64-256	1-4
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853	4-16	2-8	>512	4-16	1-4	≥ 512	64-256
<i>A. salmonicida</i>	ATCC33658	0.5-2	0.5-2	2-8	<0.125	≤ 0.5	128-512	1-4
<i>P. damsela</i>	ATCC51736	1-4	4-16	8-32	<0.125	<0.125	32-128	0.25-1
<i>P. damsela</i>	ATCC17911	0.25-1	2-8	4-16	<0.125	<0.125	4-16	≤ 0.5

薬剤の略号は動物用抗菌剤研究会報最新号の動物用抗生物質・合成抗菌剤略語表を参照。

参考資料 3 国内家畜衛生分野におけるモニタリングの調査対象薬剤および菌種

薬剤感受性 検査の対象抗菌性物質	対象菌種				
	サルモネラ	大腸菌	カンピロバクター	腸球菌	
アンピシリン	(AMPC)	○	○	×	○
セファゾリン	(CEZ)	○	○	×	×
セフトオフル	(CTF)	○	○	×	×
アプラマイシン	(APM)	○	○	×	×
ジヒドロストレプトマイシ	(DSM)	○	○	○	○
ゲンタマイシン	(GM)	○	○	○	○
カナマイシン	(KM)	○	○	×	○
エリスロマイシン	(EM)	×	×	○	○
リンコマイシン	(LCM)	×	×	×	○
コリスチン	(CL)	○	○	×	×
ノシヘプタイド	(NHT)*	×	×	×	○
バンコマイシン	(VCM)	×	×	×	○
バージニアマイシン	(VGM)*	×	×	×	○
サリノマイシン	(SNM)*	×	×	×	○
オキシテトラサイクリン	(OTC)	○	○	○	○
アビラマイシン	(AVM)*	×	×	×	○
バシトラシン	(BC)	×	×	×	○
ピコザマイシン	(BCM)	○	○	×	×
クロラムフェニコール	(CP)	○	○	○	○
エフロトマイシン	(EFM)*	×	×	×	○
ナリジクス酸	(NA)	○	○	○	×
エンロフキサシン	(ERFX)	○	○	○	○
スルファジメトキシ	(SDMX)	○	○	○	×
オラキンドックス	(ODX)*	○	○	○	×
トリメトプリム	(TMP)	○	○	×	×

* は飼料添加物専用抗菌性物質

Revision of the Determination Method of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobials against Bacteria Isolated from Animals

September 6, 2003

The Japanese Society of Antimicrobials for Animals, the Committee for Standardization of MIC Determination Method

- Chairman: Masashi Eguchi (National Institute of Animal Health, National Agriculture and Bio-oriented Research Organization)
- Member: Akemi Kai (Tokyo Metropolitan Institute of Public Health)
Yasushi Kataoka (Nippon Veterinary and Animal Science University)
Akira Kuwano (Daiichi Pharmaceutical Co. Ltd.)
Toshio Takahashi (National Veterinary Assay Laboratory, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan)
Ikuo Hirono (Tokyo University of Marine Science and Technology)
- Advisor: Yutaka Tamura (National Veterinary Assay Laboratory, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan)

The importance of education, research and surveillance as part of programs for measures for antimicrobial-resistant bacteria has been pointed out. The MIC determination method, which has been widely used for various purposes, is a fundamental technique for researches or surveillances of antimicrobial-resistant bacteria. Currently, in many countries including Japan, MIC of isolated strains is determined by disk diffusion method, broth dilution method or agar dilution method in compliance with their own guidelines. However, as it is extremely difficult to compare MIC obtained in various methods each other in practice, international standardization of techniques is required. In 2000, International Office of Epizootics (OIE) held the Panel Meeting of Experts of Antimicrobial Resistance and presented the guideline (plan) on standardization and harmonization of examination methods for detection and quantification of antimicrobial resistance (1). In this guideline (plan), MIC is presented as a reproducible

quantified measurement which is determined by the quality-assured and -controlled method. In addition, it is recommended that standardization of the MIC determination method should be examined to establish the internationally harmonized method in the future.

On the other hand, as for the MIC determination method for bacteria isolated from animals in Japan, the agar dilution method was established as the Standard Method of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals in March 1997 which was complied with the Standard Method of the Japanese Society of Chemotherapy (1981) (2). However, since this method is different from those used in other countries in various points, for example, dilution series of the test antimicrobials, the results obtained with this method are not suitable for sharing with those obtained by international antimicrobial susceptibility tests, the necessity of which has been argued nowadays. Currently, the method established by National

Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) of the USA is internationally used as the MIC determination method for bacteria isolated from animals (3). As this method basically conforms to the method for bacteria of human origin, the MIC obtained with this method is not only good enough for sharing with international results but it is also possible to compare MIC of bacteria of animal origin to that of human origin at the same level.

In this recent international situation, the Japanese Society of Antimicrobials for Animals set up the Committee for Standardization of MIC Determination Method and revised the MIC determination method for bacteria isolated from animals to such that is capable of sharing the results of international antimicrobial susceptibility tests. This includes the MIC determination method for bacteria isolated from fishes. Since the revised method basically conforms to NCCLS method (3), it can be accepted internationally. It is recommended hereafter that the method which complies with this method should be used for determining MIC

of bacteria isolated from animals and fishes.

In addition, the OIE guideline (plan) (1) recommends establishing the external quality assurance program for verifying the accuracy of MIC determination method as well as capability of persons in charge. Though such program is an extremely important factor for comparing and sharing the results of domestic and foreign tests, it shall not be included in this revision as methods or implementing organizations have not been decided yet. This should be discussed as a future issue.

- 1) White DG et al., Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 20(3), 849-858 (2000)
- 2) Committee for Revision of MIC Determination Method, the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, Proceedings of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 18, p40-41 (1997)
- 3) National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS document M31-A2, 22(6) (2002)

The Determination Method of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobials against Bacteria Isolated from Animals

(Revised Standard Method of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals in 2003)

Proceeding of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 25 (2003), 63-73

Hereafter, it is recommended that the susceptibility of bacteria isolated from animals to antimicrobials (antibiotics and synthetic antimicrobials) should be determined by the agar dilution method or the broth microdilution method described here (Revised Standard Method of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals in 2003). This method, in principle, complies with the Standard Method (2002) (1) advocated by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) of the USA. It is desirable that the current MIC determination method by the Standard Method of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals (2) should not be used except for the purpose of comparing the results to those obtained with the Revised Standard Method of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals in 2003.

In addition, the antimicrobial susceptibility test methods for porcine respiratory disease pathogens (*Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma hyopneumoniae*), bovine respiratory disease pathogens (*Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma* spp.), porcine and bovine diarrhea pathogens (*Escherichia coli*) and bovine mastitis pathogens reported by the Japanese Society of Antimicrobials for Animals (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) shall be abolished except for antimicrobial susceptibility test methods for mycoplasma.

Quality control of MIC determination method is extremely important in order that many researchers can share and compare the MIC values. In revising the method this time, the same quality control

strains as in the NCCLS method are designated for the purpose of internal quality control. For these strains, the ranges of MIC of antimicrobials defined by NCCLS (quality control limit) are described as they are. Though external quality control is also important, it shall not be included in this revision as methods or implementing organizations have not been decided yet. This should be discussed as a future issue.

1. Agar dilution method

(1) General bacteria (bacteria which grow in Mueller-Hinton medium at 35 °C under aerobic condition)

The techniques except for items below shall be complied with the Standard Method (1) advocated by NCCLS.

I. Reagents and materials

- (i) Medium for susceptibility determination: Mueller-Hinton agar medium (manufacturer shall be specified in reports or the like)
- (ii) Growth medium: Tryptic soy broth (manufacturer shall be specified in reports or the like).
- (iii) Diluent for stock solution of antimicrobials: sterilized distilled water or 0.1 M phosphate buffer (pH 6.0 or pH 8.0) in Table 1.

II. Preparation of antimicrobials

- (i) Acquisition of antimicrobials
Antimicrobial standards, reference powders

Table 1. Solvents and diluents used for dissolution of test antimicrobials

Antimicrobial	Abbreviation	Solvent	Diluent
Penicillin antibiotics			
Amoxylin	AMPC	Buffer 1 ¹⁾	Buffer 1 ¹⁾
Ampicillin	ABPC	Buffer 2 ²⁾	Buffer 1 ¹⁾
Penicillin	PC	Distilled water	Distilled water
Cephem antibiotics			
Cefazolin	CEZ	Buffer 1	Distilled water
Ceftioful	CTF	Distilled water	Distilled water
Cefuroxime	CXM	Buffer 1	Distilled water
Aminoglycoside antibiotics			
Apramycin	APM	Distilled water	Distilled water
Destomycin	DM-A	Distilled water	Distilled water
Dihydrostreptomycin	DSM	Distilled water	Distilled water
Gentamycin	GM	Distilled water	Distilled water
Kanamycin	KM	Distilled water	Distilled water
Spectinomycin	SPC	Distilled water	Distilled water
Macrolide antibiotics			
Erythromycin	EM	95% ethanol	Distilled water
Josamycin	JM	95% ethanol	Distilled water
Kitasamycin	KT	95% ethanol	Distilled water
Spiramycin	SP	95% ethanol	Distilled water
Tyrosine	TS	95% ethanol	Distilled water
Lincomycin antibiotics			
Lincomycin	LCM	Distilled water	Distilled water
Peptide antibiotics			
Colistin	CL	Distilled water	Distilled water
Nosiheptide	NHT	Dimethylformamide	Distilled water
Vancomycin	VCM	Distilled water	Distilled water
Virginiamycin	VGM	Small amount of methanol + Distilled water	Distilled water
Polyether antibiotics			
Salinomycin	SLM	Methanol	Distilled water
Tetracycline antibiotics			
Oxytetracycline	OTC	Small amount of 0.1N HCl + Distilled water	Distilled water
Other antibiotics			
Avilamycin	AVM	Acetone	Distilled water
Bacitracin	BC	Distilled water	Distilled water
Bicozamycin	BCM	Distilled water	Distilled water
Chloramphenicol	CP	95% ethanol	Distilled water
Efrotomycin	EFM	Methanol	Distilled water
Florfenicol	FF	95% ethanol	Distilled water
Fosfomycin	FOM	Distilled water	Distilled water
Novobiocin	NB	Distilled water	Distilled water
Quinolone antimicrobials			
Enrofloxacin	ERFX	Refer to the note ³⁾ below	Distilled water
Miloxacin	MLX	Refer to the note ³⁾ below	Distilled water
Nalidixic acid	NA	Refer to the note ³⁾ below	Distilled water
Oxophosphoric acid	OA	Refer to the note ³⁾ below	Distilled water
Ofloxacin	OFLX	Refer to the note ³⁾ below	Distilled water

Sulfa drugs			
Sulfadimethoxine	SDMX	Refer to the note ⁹ below	Distilled water
Sulfamonomethoxine	SMMX	Refer to the note ⁹ below	Distilled water
Other synthetic antimicrobials			
Flumequin	FMQ	Refer to the note ³⁰ below	Distilled water
Olaquinox	ODX	Dimethylformamide	Distilled water
Thiamphenicol	TP	95% ethanol	Distilled water
Trimethoprim	TMP	1/10 amount of 0.05 N HCl + Distilled water	Warm distilled water

1) Preparation method of 0.1 M phosphate buffer (pH 6.0)

About 750 mL of distilled water is added to 7.0 g of potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) and 6.0 g of sodium hydrogen phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$). The solution is dissolved by boiling for more than one minute. If necessary, pH is adjusted to 5.9-6.1 with 1N NaOH or phosphoric acid. Distilled water is further added to make 1000 mL solution.

2) Preparation method of 0.1 M phosphate buffer (pH 8.0)

(1) Potassium hydrogen phosphate (16.73 g) / potassium dihydrogen phosphate (0.523 g)

(2) Potassium hydrogen phosphate, anhydrate (13.2 g) / potassium dihydrogen phosphate (0.91 g)

(1) or (2) is used. In each case, the amount mentioned above is weighed, to which about 750 mL of distilled water is added and dissolved. If necessary, pH is adjusted to 7.9-8.1 with phosphoric acid. Distilled water is further added to make 1000 mL solution.

3) After 1/2 volume of distilled water is added, 1 N NaOH is dropped until the antimicrobial is dissolved. Then, the solution is adjusted with distilled water.

4) After 1/2 volume of hot distilled water is added, 2.5 N NaOH is dropped until the antimicrobial is dissolved. Then, the solution is adjusted with distilled water.

or the equivalent shall be obtained and used for tests. Some of antimicrobials exclusively for animals may be distributed by the National Veterinary Assay Laboratory of the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. Please contact the division in charge.

(ii) Storage condition of antimicrobials (standards or reference powders)

To avoid moisture absorption, antimicrobials shall be stored in a desiccator under -20°C . The antimicrobials shall be brought to room temperature and weighed before use. As some may be hygroscopic, they should be weighed at relative humidity under 45%.

(iii) Dissolution of antimicrobials

All water-soluble antimicrobials, as a rule, shall be dissolved in sterilized distilled water but antimicrobials which are insoluble in water or hardly soluble in water, if necessary, shall be dissolved in as small amount of solvent as

possible such as ethanol or sodium hydroxide and diluted with sterilized distilled water to obtain the stock solutions of antimicrobials. The stock solutions of antimicrobials are usually prepared at $5,120 \mu\text{g/mL}$ or μg (potency)/mL. Most stock solutions can be stored in glass, polyethylene, polypropylene or polystyrene sterile vials under -70°C for about 6 months. However, once thawed, it should be used within the day.

(iv) Concentration adjustment

After weighing the test antimicrobials, they are dissolved in the solvents designated in Table 1. The volume of solvent required for dissolution is calculated by the following formula.

$$\text{Volume of solvent (mL)} = \text{Potency of antimicrobial} \\ (\mu\text{g/mg}) \times \text{Weight (mg)} \div \text{Concentration} \\ \text{of stock solution } (\mu\text{g/mL})$$

III. Determination of MIC

(i) Dilution of antimicrobials

Table 2. Example of dilution method

(1) Dilution example for agar dilution method

Master dilution		
5,120 $\mu\text{g/mL}$	Solution A	
1,280 $\mu\text{g/mL}$	Solution B	1 volume of Solution A + 3 volumes of distilled water
160 $\mu\text{g/mL}$	Solution C	1 volume of Solution B + 7 volumes of distilled water
20 $\mu\text{g/mL}$	Solution D	1 volume of Solution C + 7 volumes of distilled water
2.5 $\mu\text{g/mL}$	Solution E	1 volume of Solution D + 7 volumes of distilled water

Solution of antimicrobials

Stage	Concentration of master dilution ($\mu\text{g/mL}$)	Volume of master dilution (mL)	Added distilled water* (mL)	Intermediate concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Final concentration in agar at 1: 10 dilution ($\mu\text{g/mL}$)	\log_2
1	5,120 (Solution A)	—	—	5,120	512	9
2	5,120 (Solution A)	1.0	1.0	2,560	256	8
3	5,120 (Solution A)	1.0	3.0	1,280	128	7
4	1,280 (Solution B)	1.0	1.0	640	64	6
5	1,280 (Solution B)	1.0	3.0	320	32	5
6	1,280 (Solution B)	1.0	7.0	160	16	4
7	160 (Solution C)	1.0	1.0	80	8	3
8	160 (Solution C)	1.0	3.0	40	4	2
9	160 (Solution C)	1.0	7.0	20	2	1
10	20 (Solution D)	1.0	1.0	10	1	0
11	20 (Solution D)	1.0	3.0	5	0.5	-1
12	20 (Solution D)	1.0	7.0	2.5	0.25	-2
13	2.5 (Solution E)	1.0	1.0	1.25	0.125	-3

* 0.1 M phosphate buffer (pH 6.0) is used for ABPC.

(2) Dilution example for broth microdilution method

Master dilution		
1,280 $\mu\text{g/mL}$	Solution A	
160 $\mu\text{g/mL}$	Solution B	1 volume of Solution A + 7 volumes of distilled water
20 $\mu\text{g/mL}$	Solution C	1 volume of Solution B + 7 volumes of distilled water
2.5 $\mu\text{g/mL}$	Solution D	1 volume of Solution C + 7 volumes of distilled water

Solution of antimicrobials

Stage	Concentration of master dilution ($\mu\text{g/mL}$)	Volume of master dilution (mL)	Added CAMHB* (mL)	Final concentration ($\mu\text{g/mL}$)	\log_2
1	1,280 (Solution A)	2.0	18.0	128	7
2	1,280 (Solution A)	1.0	19.0	64	6
3	1,280 (Solution A)	0.5	19.5	32	5
4	160 (Solution B)	2.0	18.0	16	4
5	160 (Solution B)	1.0	19.0	8	3
6	160 (Solution B)	0.5	19.5	4	2
7	20 (Solution C)	2.0	18.0	2	1
8	20 (Solution C)	1.0	19.0	1	0
9	20 (Solution C)	0.5	19.5	0.5	-1
10	2.5 (Solution D)	2.0	18.0	0.25	-2
11	2.5 (Solution D)	1.0	19.0	0.12	-3
12	2.5 (Solution D)	0.5	19.5	0.06	-4

* CAMHB is cation-adjusted Mueller-Hinton broth.

According to an example of dilution method indicated in Table 2, 5,120 $\mu\text{g/mL}$ stock solution is sequentially diluted by two-fold dilution method (more than three consecutive dilution shall not be conducted).

(ii) Preparation of antimicrobial-containing agar medium for susceptibility determination

Mueller-Hinton agar medium is dissolved, sterilized and maintained at 48-50°C. One part of each diluent of antimicrobials prepared in the previous section is mixed thoroughly with nine parts of the medium (when a Petri dish with the diameter of 90 mm is used, 2 mL of the diluent and 18 mL of the medium are mixed). The mixture is dispensed into a Petri dish and solidified. Final thickness of the agar medium should be about 4 mm. Control plates without antimicrobials are also prepared simultaneously. The solidified agar medium at room temperature shall be put in an incubator prior to use for about 30 minutes to dry the surface of the agar. It should be confirmed that there are no drops of water on the surface of the agar.

(iii) Preparation of inoculum

A top of 3-5 colonies of pure cultures of the test strains cultivated on the agar plate medium is touched with a wire loop and inoculated into the growth medium. After incubation at 35°C, the concentration is adjusted to be about $1-2 \times 10^8$ CFU/ml (equivalent to the McFarland Standard Solution No. 0.5). When a metal pin with 1 mm of diameter ($0.5 \mu\text{L/spot}$) is used for inoculation, the solution is used for inoculation without dilution. However, when a metal pin with 3 mm of diameter ($2 \mu\text{L/spot}$) is used for inoculation, ten-fold dilution is used. The concentration-adjusted inoculum should be used within 30 minutes after preparation.

(iv) Inoculation of inoculum onto plate

The inoculum prepared in the previous section is spotted gently onto the plates containing antimicrobials or the control plates using a microplanter or the like. First, the inoculum is inoculated onto the control plate, and then, onto the plate containing each antimicrobial of from lower concentration to higher concentration sequentially.

To confirm that there is no contamination, the inoculum shall be inoculated onto the control plates at least at the beginning and at the last. After the culture inoculum on the surface of the plates is dried, the Petri dish is reversed and incubated at 35°C for 16-20 hours.

(v) Determination of endpoint

As a rule, the lowest concentration of an antimicrobial which completely inhibits the growth of the culture on the medium containing it is considered to be an endpoint and the concentration is regarded as the minimum inhibitory concentration (MIC). A single colony or faint haze caused by inoculum is regarded as growth inhibition and neglected.

(vi) Quality control

In order to secure accuracy and precision of antimicrobial susceptibility tests, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (JCM 2874), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (JCM 7783), *Escherichia coli*

ATCC 25922 (JCM 5491) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (JCM 6119) are designated as quality control strains. The quality control limits of MIC (MIC range) of these antimicrobials against each strain presented by NCCLS are shown in Table 3. For the antimicrobials of which NCCLS has not established MIC ranges, each test laboratory should independently establish the quality control limits for these antimicrobials in accordance with the fundamental concept described in the NCCLS Guideline. For the detailed technique for quality control, refer to the NCCLS Guideline.

a. Fundamental concept on establishment of quality control limits by NCCLS

Based on the results obtained in at least 7 tests conducted in plural laboratories using the aforementioned quality control strains in 3 lots of Mueller-Hinton agar medium, an NCCLS subcommittee establishes quality control

Table 3. Quality control limits of MIC ($\mu\text{g/mL}$) of antimicrobials defined by NCCLS

(1) Quality control limit of general bacteria

Antimicrobial		ABPC	CEZ	CTF	APM	GM	KM	EM	TS	VCM	CP	NA	ERFX	TMP
Quality control strain														
<i>S. aureus</i>	ATCC29213	0.5-2	0.25-1	0.25-1	2-8	0.12-1	1-4	0.25-1	0.5-2	2-8	-	0.03-0.12	1-4	0.5-4
<i>E. faecalis</i>	ATCC29212	0.5-2	-	-	-	4-16	16-64	1-4	1-4	4-16	-	0.12-1	≤ 1	0.5-4
<i>E. coli</i>	ATCC25922	2-8	1-4	0.25-1	2-16	0.25-1	1-4	-	-	2-8	1-4	0.008-0.03	0.5-2	>32
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC27853	-	-	16-64	2-16	0.5-2	-	-	-	-	-	1-4	>64	>32

(2) Quality control limit of *Campylobacter* spp.

Antimicrobial		EM	GM	NA	CPFY	DOXY	TC
Quality control strain							
<i>C. jejuni</i>	ATCC33560	1-8	0.5-4	8-32	0.12-1	0.5-2	1-4

(3) Quality control limit of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Haemophilus somnus* with broth microdilution method

Antimicrobial		CTF	ERFX	FF	GM	PCG	TC	TML	TMS	TMP-SMX (1/19)
Quality control strain										
<i>A. pleuropneumoniae</i>	ATCC27090	0.004-0.015	0.015-0.06	0.25-1	8-32	0.12-1	0.25-2	8-32	4-32	0.015-0.06
<i>H. somnus</i>	ATCC700025	0.0005-0.004	0.015-0.06	0.12-0.5	8-32	0.015-0.06	0.12-1	-	2-16	0.03-0.125

As for the abbreviation of antimicrobials, refer to the Abbreviation Table for Antibiotics and Synthetic Antimicrobials for Animals in the latest Proceedings of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals.

limits in compliance with a certain rule.

- Ideally, it is advisable that the established range of MIC contains at least 95% confidence limit.
- It is desirable to establish the quality control limit by using within 3 serial dilution ($\times 2^3$), but actually sometimes it is necessary to establish it by using within 4 serial dilution ($\times 2^4$).

b. Acquisition of quality control strains

The regulations of Japan Collection of Microorganisms (JCM), the Institute of Physical and Chemical Research and ATCC prohibit re-endowment of the strains which are endowed by those organizations to other organizations. Therefore, in implementing antimicrobial susceptibility tests, each laboratory shall purchase the quality control strains directly from JCM or ATCC (via domestic agents).

c. Storage of quality control strains

Each quality control strain shall be stored with stabilizer under -60°C or in lyophilized condition. The stored strains are used after two subcultures on agar plate medium.

(2) Special bacteria (bacteria which require special growth conditions)

The techniques except for items below shall be complied with 1. Agar dilution method, (1) General bacteria.

I. *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Haemophilus somnus*

- (i) Medium for susceptibility determination: Chocolate agar medium (basic medium is Mueller-Hinton agar medium).
- (ii) Incubation temperature and period for MIC determination: 35°C , 5-7% CO_2 , 20-24 hours.
- (iii) Quality control: Establishment of quality control limit shall be discussed in the future.

II. *Campylobacter* spp.

- (i) Medium for susceptibility determination: Mueller-Hinton agar medium containing ovine

defibrinized blood at a rate of 5% (manufacturer shall be specified in reports or the like).

- (ii) Reagents for preparing inoculum: Mueller-Hinton broth (manufacturer shall be specified in reports or the like), sterilized distilled water or physiological saline.
- (iii) Preparation of antimicrobial-containing agar medium for susceptibility determination: Mueller-Hinton agar medium is dissolved, sterilized and maintained at $48-50^\circ\text{C}$. In use, ovine defibrinized blood is added at a rate of 5%. The same procedure as for general bacteria is used for subsequent preparation.
- (iv) Preparation of inoculum: The colonies of the test strains which were cultured on Mueller-Hinton agar plate medium containing 5% ovine defibrinized blood at 37°C for 48 hours or at 42°C for 24 hours under microaerobic condition (10% CO_2 , 5% O_2 , 85% N_2) are directly suspended in Mueller-Hinton broth or sterilized distilled water or physiological saline. The concentration of the inoculum shall be adjusted to about $1-4 \times 10^8$ CFU/mL (equivalent to the McFarland Standard Solution No. 0.5). The same procedure as for general bacteria is used for subsequent preparation.
- (v) Inoculation of inoculum onto plates: After the inoculum is inoculated onto agar plates in compliance with the inoculation method for general bacteria, it is incubated at $35-37^\circ\text{C}$ under microaerobic condition (10% CO_2 , 5% O_2 , 85% N_2).
- (vi) Quality control: In order to secure accuracy and precision of antimicrobial susceptibility tests, *Campylobacter jejuni* ATCC 33560 (reference strain for *C. jejuni*) is established as a quality control strain. Quality control limits of the antimicrobials against this strain presented by NCCLS are shown in Table 3.

III. Bacterial pathogens isolated from fishes

Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens

isolated from fishes is tested in compliance with 1. Agar dilution method, (1) General bacteria except for the following items. Establishment of quality control limits shall be discussed in the future.

(i) *Aeromonas hydrophila*

- a. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 25°C, 24 hours.
- b. Incubation temperature and period for MIC determination: 25°C, 24 hours.

(ii) *Aeromonas salmonicida*

- a. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 20°C, 24 hours.
- b. Incubation temperature and period for MIC determination: 20°C, 24 hours.

(iii) Atypical *Aeromonas salmonicida*

- a. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 25°C, 24 hours.
- b. Incubation temperature and period for MIC determination: 25°C, 24 hours.

(iv) *Edwardsiella tarda*

- a. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 25-30°C, 24 hours.
- b. Incubation temperature and period for MIC determination: 25-30°C, 24 hours.

(v) *Flavobacterium columnare* (syn. *Chondrococcus columnaris*)

- a. Medium for susceptibility determination: Cytophaga agar medium (0.05%(w/v) tryptone, 0.05%(w/v) yeast extract, 0.05%(w/v) sodium acetate, 0.02%(w/v) beef extract, 1.0%(w/v) agar, pH7.2-7.4. Sterilization: 121°C, 15 minutes)
- b. Medium for growth: Cytophaga broth (agar is removed from Cytophaga agar medium)
- c. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 20-25°C, 48 hours.
- d. Incubation temperature and period for MIC determination: 20-25°C, 48 hours.

(vi) *Flavobacterium psychrophilum* (syn. *Cytophaga psychrophila*)

- a. Medium for susceptibility determination: Cytophaga agar medium or TYE agar medium (0.4%(w/v) tryptone, 0.04%(w/v) yeast extract,

0.05%(w/v) MgSO₄ · 7H₂O, 0.05%(w/v) CaCl₂ · 2H₂O, 1.0%(w/v) agar, pH7.2, Sterilization: 121°C, 15 minutes)

- b. Medium for growth: Cytophaga broth or TYE broth (agar is removed from TYE agar medium)
- c. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 15-20°C, 96 hours.
- d. Incubation temperature and period for MIC determination: 15-20°C, 96 hours.

(vii) *Flavobacterium branchiophilum*

- a. Medium for susceptibility determination: Cytophaga agar medium
- b. Medium for growth: Cytophaga broth
- c. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 15-20°C, 96 hours.
- d. Incubation temperature and period for MIC determination: 15-20°C, 96 hours.

(viii) *Lactococcus garvieae*

- a. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 25°C, 24 hours.
- b. Incubation temperature and period for MIC determination: 25°C, 24 hours.

(ix) *Mycobacterium* sp.

- a. Medium for susceptibility determination: Middlebrook-ADH-enrichment-added Middlebrook 7H11 agar medium.
- b. Medium for growth: Middlebrook-ADH-enrichment-added Middlebrook 7H11 broth
- c. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 25°C, 144 hours.
- d. Incubation temperature and period for MIC determination: 25°C, 144 hours.

(x) *Nocardia seriolae*

- a. Medium for susceptibility determination: Middlebrook-ADH-enrichment-added Middlebrook 7H11 agar medium.
- b. Medium for growth: Middlebrook-ADH-enrichment-added Middlebrook 7H11 broth.
- c. Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 25°C, 96 hours.
- d. Incubation temperature and period for MIC determination: 25°C, 96 hours.

- (xi) *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* (*Pasteurella piscicida*)
- Medium for susceptibility determination: 2% NaCl · Mueller-Hinton agar medium
 - Medium for growth: 2% NaCl · Mueller-Hinton broth
 - Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 25-30°C, 24-48 hours.
 - Incubation temperature and period for MIC determination: 25-30 °C, 24-48 hours.
- (xii) *Pseudomonas* spp. (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. plecoglossicida*, *P. anguilliseptica*)
- Incubation temperature and period for adjustment of inoculum fluid for inoculation: 25 °C, 24 hours.
 - Incubation temperature and period for MIC determination: 25°C, 24 hours.
- (xiii) *Renibacterium salmoninarum*
- Medium for susceptibility determination: KDM-2 agar medium (0.05%(w/v) yeast extract, 0.1%(w/v) L-cystein-HCl, 1.0%(w/v) tryptone, 20%(v/v) bovine serum, 1.5%(w/v) agar, pH7.2. Sterilization: 121°C, 15 minutes)
 - Medium for growth: KDM-2 broth
 - Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 18°C, 24 hours.
 - Incubation temperature and period for MIC determination: 18°C, 24 hours.
- (xiv) *Streptococcus iniae*
- Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 25°C, 24 hours.
 - Incubation temperature and period for MIC determination: 25°C, 24 hours.
- (xv) *Tenacibaculum maritimum* (syn. *Flexibacter maritimus*)
- Medium for susceptibility determination: Cytophaga agar medium or TCY agar medium (0.1%(w/v) tryptone, 0.1%(w/v) casamino acids, 0.02%(w/v) yeast extract, 3.13%(w/v) NaCl, 0.07%(w/v) KCl, 1.08%(w/v) MgCl₂ · 6H₂O, 0.1%(w/v) CaCl₂ · 2H₂O, 1.0%(w/v) agar, pH7.2. Sterilization: 121°C, 15 minutes) prepared with more than 30% of sea water
- Medium for growth: Cytophaga broth or TCY broth (agar is removed from TCY agar medium) prepared with more than 30% of sea water
 - Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 20-25°C, 48 hours.
 - Incubation temperature and period for MIC determination: 20-25°C, 48 hours.
- (xvi) *Vibrio* spp. (*V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. damsela*)
- Medium for susceptibility determination: 2% NaCl · Mueller-Hinton agar medium
 - Medium for growth: 2% NaCl · Mueller-Hinton broth
 - Incubation temperature and period for adjustment of inoculum: 25°C, 24 hours.
 - Incubation temperature and period for MIC determination: 25°C, 24 hours.

2. Broth microdilution method

(1) General bacteria (bacteria which grow in Mueller-Hinton medium at 35 °C under aerobic condition)

The techniques except for items below shall be complied with the Standard Method (1) advocated by NCCLS.

I. Reagents and materials

- Medium for susceptibility determination: cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMBH) (manufacturer shall be specified in reports or the like).

Commercially available products (adjusted to Ca²⁺: 20-25 mg/L and Mg²⁺: 10-12.5 mg/L) shall be used.

When Mueller-Hinton broth without adjustment of Ca²⁺ and Mg²⁺ (MHB) (manufacturer shall be specified in reports or the like) is used, the CaCl₂ and MgCl₂ solution mentioned below are prepared previously, sterilized by filtration (membrane filter) and stored at 4°C.

5 mL of CaCl_2 solution and 2.5 mL of MgCl_2 solution per 1 L of MHB are mixed to obtain the medium for susceptibility determination.

CaCl_2 solution: 3.68 g of $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ is dissolved in 100 mL (Ca^{2+} : 10 mg/mL)

MgCl_2 solution: 8.36 g of $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ is dissolved in 100 mL (Mg^{2+} : 10 mg/mL)

- (ii) Microplate: sterilized U type 96 well microplate
- (iii) Diluent for stock solution of antimicrobials: Same as 1. Agar dilution method, (1) General Bacteria, I. Reagents and materials, (iv) Concentration adjustment.

II. Preparation of antimicrobials

Preparation of antimicrobials is conducted in the same manner described in 1. Agar dilution method, (1) General bacteria, II. Preparation of antimicrobials.

III. Determination of MIC

- (i) Preparation of antimicrobial-containing broth for susceptibility determination

According to an example of dilution method indicated in table 2, 1,280 $\mu\text{g}/\text{mL}$ stock solution of microbial is diluted with CAMHB to prepare 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12 and 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ solution (more than three consecutive dilution shall not be conducted). These are antimicrobial-containing broth for susceptibility determination. 0.1 \pm 0.02 mL of these broth for susceptibility determination is dispensed into each well of microplates.

The broth for susceptibility determination is prepared on the day of tests. If it is not used on the day, it shall be stored at 4°C or in ice water.

- (ii) Preparation of inoculum

Bacteria is augmented to the turbidity of the McFarland Standard Solution No.0.5 with MHB or adjusted to the turbidity of the McFarland Standard Solution No.0.5 with freshly cultured bacteria on agar plate medium

(1-2 $\times 10^8$ CFU/mL). In each cases, 10-fold dilution is conducted with CAMHB to obtain culture fluid for inoculation (1-2 $\times 10^7$ CFU/mL).

- (iii) Inoculation of inoculum into broth for susceptibility determination
0.005 mL (5 μL) of inoculum is added to 0.1 mL of the broth for susceptibility determination dispensed in microplates. Therefore, the number of bacteria in each well is about 5 $\times 10^4$ CFU.
- (iv) Incubation
After inoculation, plates are incubated at 35 °C for 16 to 20 hours. Ordinarily, incubation starts within 15 minutes after inoculation.
- (v) Determination of end point

The lowest concentration of an antimicrobial which macroscopically inhibits the growth of the bacterium in the medium containing it completely compared to that in the control medium is considered to be end point and the concentration is regarded as MIC.

- (vi) Quality control

Quality control is implemented in the same manner described in 1. Agar dilution method, (1) General bacteria, III. Determination of MIC, (vi) Quality control.

(2) Special bacteria (bacteria which require special growth conditions)

The techniques except for items below shall be conducted in compliance with 2. Broth microdilution method, (1) General bacteria.

I. *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Haemophilus somnus*

- (i) Medium for susceptibility determination: VFM medium (Veterinary Fastidious Medium) containing the following components per 1 L of it.

CAMHB	22 g
Beef extract	3 g
Acid hydrolysis casein	17.5 g
Starch	1.5 g

Yeas extract	20 g
Equine hemolyzed blood*	20 mL
Supplement C (Difco)	20 mL

* Preparation method of equine hemolyzed blood:

After freezing and thawing of equine blood is repeated three times (frozen temperature: -20°C or under), it is centrifuged at 3,000 x g for 20 minutes and the supernatant is used as the equine hemolyzed blood.

- (ii) Preparation of inoculum: The culture collected directly from the agar plate incubated overnight (20-24 hours) is adjusted to the turbidity of the McFarland Standard Solution No. 0.5 with sterilized CAMHB or distilled water or 0.9% saline. This is the inoculum. Attention should be paid for viscous *Actinobacillus pleuropneumoniae* as it may be difficult to adjust the number of bacteria.
- (iii) Incubation: 35°C, 5-7% CO₂, 20-24 hours.
- (iv) Quality control strain: The quality control limits of MIC (μ g/mL) of quality control strains, *A. pleuropneumoniae* ATCC 27090 and *Haemophilus somnus* ATCC 700025 with the broth microdilution

method with VFM are shown in Table 3.

References

- 1) National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS document M31-A2, 22(6) (2002)
- 2) Proceeding of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 18, 40-41 (1997)
- 3) Proceeding of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 18, 51-52 (1997)
- 4) Proceeding of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 18, 52 (1997)
- 5) Proceeding of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 18, 52-53 (1997)
- 6) Proceeding of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 18, 53 (1997)
- 7) Proceeding of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 18, 53-54 (1997)
- 8) Proceeding of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 18, 54 (1997)
- 9) Proceeding of the Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 19, 45 (1998)

会 務 報 告

1. 平成 15 年度定期総会の報告

平成 15 年度定期総会は、平成 15 年 4 月 26 日(土)午前 10 時から日本獣医畜産大学の 312 講義室において、後述の第 30 回シンポジウムに先立って行われた。

最初に小久江 栄一理事長から挨拶の後、恒例に従って同氏が議長となり、執行部から提出された以下の各議案について審議が行われた。

(1) 平成 14 年度事業報告

年度内に次の事業が実施されたとの報告がなされた。

- 1) 会報第 24 号 (54 頁) および会報第 24 号増刊号 (28 頁) を発行した。
- 2) 会員名簿を印刷・配布 (会報第 24 号に掲載) した。
- 3) 平成 14 年度定期総会を開催した (14 年 4 月 27 日)。
- 4) 第 29 回シンポジウムを開催し (上記総会に引き続き実施)、その内容を会報 24 号に掲載した。

5) 事業報告

① MIC 測定法標準化検討事業

委員会 (江口委員長, 甲斐, 田村, 桑野, 高橋, 廣野, 片岡各委員, アドバイザー: 田村)

第 1 回委員会を平成 14 年 8 月 17 日, 第 2 回委員会を平成 14 年 12 月 7 日, 第 3 回委員会を平成 15 年 4 月 5 日に開催し, 以下の事項について検討した。

第 1 回委員会

- ・MIC 測定法標準化委員会設置の経緯について
- ・委員長の選出
- ・NCCLS 法の内容, 記載方法に準拠して原案の作成

第 2 回委員会

- ・群馬大学医学部佐竹幸子先生から「薬剤感受性試験の精度管理について」の講演
 - ・寒天平板希釈法および微量液体希釈法について
 - ・NCCLS 水産部会報告
- 第 3 回委員会
- ・寒天平板希釈法および微量液体希釈法について
 - ・特殊細菌に関する試験条件について
 - ・日本化学療法学会の薬剤感受性試験標準法改訂の動きについて

② 出版事業

委員会 (田村委員長, 内田, 江口, 大島, 桑野, 小久江, 澤田, 高橋各委員)
「動物用抗菌剤マニュアル」編集作業の進捗状況

- ・各論は現在各製薬会社へ送付し, 確認作業中
- ・総論は残りの原稿を催促し, 早急にまとめる

③ 犬および猫における抗菌剤の使用実態調査事業

委員会 (片岡委員長, 左向, 内田, 熊井各委員, アドバイザー: 内野)

第 2 回委員会を平成 14 年 8 月 22 日に開催し, 以下の事項について検討した。

- ・抗菌剤使用状況に関するアンケートの調査方法
- ・アンケート実施動物病院

平成 14 年 9 月より東京多摩地区を中心にアンケート開始し, さらに全国的調査へと拡大中である。

④ 魚類用抗菌剤耐性菌と公衆衛生の検討事業委員会 (青木委員長, 畑井, 廣野各委員)

ブリ養殖場における魚類病原菌,

Pasteurella piscicida の薬剤耐性菌の疫学調査を行った。

- ・ブリ養殖場において分離された魚類病原菌 *Pasteurella piscicida* の薬剤耐性株は多剤耐性を示し、多くは伝達性 R プラスミドによるものであった。
- ・ *Pasteurella piscicida* の分離地域が異なっても、得られた R プラスミドの遺伝子構造はほぼ一致した。
- ・ R プラスミドの耐性マーカーが異なっても基本的遺伝子構造は一致した。
- ・典型的な R プラスミドを選び、構成する遺伝子の塩基配列を決定した。

(2) 平成 14 年度収支決算報告

別表 1 のとおり決算報告があり、引き続き監査報告が行われた。

以上 2 議案が一括審議され可決・承認された。

(3) 平成 15 年度事業計画

基本方針として、動物（魚類を含む）における化学療法の基礎および応用面に関する問題点ならびに動物の耐性菌に関する問題点を取り上げるとともに、薬剤感受性試験方法の国際標準化ならびに抗菌剤ごとの耐性限界値の制定を行う。併せて、会の事業拡大と会員の増加を図ることが提案された。

平成 15 年度の事業計画として、上記の平成 14 年度事業をほぼ継承・発展させる考えから、下記事項が提案された。

- 1) 抗菌性物質および耐性菌に対する技術・知識の普及
 - ・会報第 25 号の発行・配布
 - ・本研究会設立 30 周年記念としての内容を検討する
- 2) MIC 測定法標準化検討事業
 - ・動物用抗菌剤研究会 MIC 測定法標準法(案)を作成・提案
- 3) 出版事業
 - ・「動物用抗菌剤マニュアル」を出版予定
- 4) 犬および猫における抗菌剤の使用実態調査事業
 - ・アンケートの継続
 - ・アンケート集計およびデータ解析

- 5) 魚類用抗菌剤耐性菌と公衆衛生の検討事業
 - ・ブリ養殖場における魚類病原菌、*Pasteurella piscicida* および *Lactococcus garvieae* の薬剤耐性菌の疫学調査および薬剤耐性株より検出された R プラスミドの遺伝子構造解析

6) 新規事業

- ・動物用抗菌剤の臨床試験実施基準（小動物）(案) の検討委員会を内田、桑野両委員を中心として組織し、具体的実施方法等について検討する。
- ・動物用抗菌剤研究会公式ホームページの制作・開設を検討する。

- 7) その他本会の目的達成に必要な事項の検討
 - ・耐性菌問題について関連機関と強調・強化を行う。

8) 平成 15 年度定期総会の開催

(4) 平成 15 年度予算

別表 2 の予算案が執行部から提出され、補足説明が行われた。

上記 2 議案を一括審議のうえ、承認・可決した。

(5) 役員改選

役員の任期（3 年）は本年 3 月で満了となったので、改選が行われた。執行部から理事候補 28 名（前期役員のうち退任 3 名、新任 3 名、留任 25 名）および監事候補 2 名（留任）が提案され、承認された。そして、理事長に小久江栄一氏、副理事長に澤田拓土氏、事務局担当理事に片岡康氏が再任された。

2. 第 30 回シンポジウムの開催

上記の総会に引き続き、4 月 26 日午前 10 時 30 分から同講義室において第 30 回シンポジウムが行われた。まず、特別講演として、農林水産省動物医薬品検査所の遠藤裕子先生に「動物用抗菌剤の環境影響評価」と題して、化学物質および動物用医薬品有効成分の環境影響評価について解説、世界の現状について説明いただいた。次いで、「抗菌性飼料添加物を巡る世界情勢とわが国の取組み」と題するシンポジウムで、農林水産省動物医薬品検査所の田村豊先生に「抗菌性飼料添加

物の世界の規制動向」を、日本イーライリリー(株)の福本一夫先生に「ヨーロッパにおける抗菌性飼料添加物禁止後の影響—デンマークとスウェーデンの現状—」を、日本科学飼料協会の米持千里先生に「日本における抗菌性飼料添加物の役割と課題」を、日本動物薬事協会の大島 慧先生に「米国における動物用抗菌剤の公衆衛生に対するリスク評価の考え方」について講演いただいた。いずれの講演も、最近、注目されている内容

であり、討論も終始活発で、大変有意義であった。これらの内容は本号に特別寄稿ならびに特集として掲載されている。

3. 設立 30 周年記念祝賀会の開催

上記のシンポジウム終了後、日本獣医畜産大学において、設立 30 周年記念祝賀会が開催された。昭和 48 年設立以来の思い出なども披露され、和やかで有意義な場であった。

会員の拡充・投稿論文募集のお願い

会員の拡充については毎年お願いしているところではあります。これまでのところ本会々員の内訳をみると、家畜衛生や公衆衛生関係の官公庁、製薬や飼料会社の勤務獣医師が大半で、臨床関係者や水産関係者はあまり多くありません。

近年、本会では薬剤耐性菌問題や抗菌剤の適正使用に係わる内容に重点をおいた運営を行っています。特に、重要な課題については専門家による委員会を設置し、検討を重ねております。今まで以上に牛、豚、鶏のみならず小動物の臨床獣医師にも役立つ抗菌剤の適正使用に関する情報の提供ができると考えています。また、水産・魚病関係における抗菌

剤の使用、残留や耐性菌に対する関心も高まっており、本会もこれら分野への事業の拡充を計りつつあります。そこで、本会の活動をより活発なものとするため、各会員の周辺におられる方々に積極的に入会を呼びかけて下さい。

また、会報のさらなる充実を図るため、本研究会の主旨に合致した研究論文の投稿を広く受け付けております。積極的な投稿をお願い致します。

入会希望者は、葉書に住所(会報等発送先)、氏名、年齢、勤務先名を明記し、本会事務局に連絡下さい。(年会費 3,000 円)

(別表1) 平成14年度収支決算書
収入の部

科 目	予算額	決算額	比較増減		備 考
			増	減	
個人会費	450,000	474,000	24,000		3,000 × 158名分
賛助会費	520,000	560,000	40,000		10,000 × 56口分
繰越金	1,338,896	1,338,896			
雑収入	200,000	368,060	168,060		シンポジウム, 会報資料販売
合 計	2,508,896	2,740,956	232,060		

支出の部

科 目	予算額	決算額	比較増減		備 考
			増	減	
事務費	180,000	69,540		110,460	
事務手当	50,000	24,400		25,600	
印刷費	15,000	15,000			コピー代
通信費	40,000	18,290		21,710	切手代・はがき代
消耗品費	5,000	9,450	4,450		事務用品
交通費	60,000	2,400		57,600	通勤費
雑費	10,000	0		10,000	
会議費	200,000	79,620		120,380	
総会費	25,000	19,200		5,800	総会資料印刷代
役員会議費	75,000	36,120		38,880	
専門部会会議費	100,000	24,300		75,700	交通費等
事業費	1,320,000	907,258		412,742	
資料配布費	0	28,080	28,080		封筒印刷代
講演会費	200,000	304,371	104,371		謝礼, 施設利用料等
会報発行費	650,000	553,470		96,530	編集・印刷費, 送料等
資料収集費	20,000	21,337	1,337		
他の事業費	450,000	0		450,000	
雑費	10,000	0		10,000	
予備費	298,896	0		298,896	
小 計		1,056,418			
次年度繰越		1,684,538			
合 計	2,508,896	2,740,956	232,060		

繰越金 1,684,538 東京三菱銀行普通預金 892,699 郵便振替 0
郵便貯金 749,578 現金 42,261

監査の結果, 以上の通り相違ありません

平成15年4月12日

監事 小野浩臣 ㊟

監事 佐藤静夫 ㊟

(別表2)

平成15年度収支予算書

収入の部

科 目	平成15年度 予算額	平成14年度 予算額	比較増減		備 考
			増	減	
個人会費	513,000	450,000	63,000		3,000 × 171 名分 10,000 × 54 口分 (21 + 4 会員) シンポジウム (70 + 20)
賛助会費	540,000	520,000	20,000		
繰越金	1,684,538	1,338,896	345,642		
雑収入	200,000	200,000			
合 計	2,937,538	2,508,896	428,642		

支出の部

科 目	平成15年度 予算額	平成14年度 予算額	比較増減		備 考
			増	減	
事務費	200,000	180,000	20,000		印刷代, コピー代 切手代 事務用品 通勤費, 都内交通費
事務手当	50,000	50,000			
印刷費	15,000	15,000			
通信費	40,000	40,000			
消耗品費	25,000	5,000	20,000		
交通費	60,000	60,000			
雑費	10,000	10,000			
会議費	475,000	200,000	275,000		総会, 30周年祝賀会等 会場使用料, 交通費等
総会費	200,000	25,000	175,000		
役員会議費	75,000	75,000			
専門部会会議費	200,000	100,000	100,000		
事業費	1,670,000	1,330,000	340,000		謝礼, 要旨印刷等 編集・印刷費, 送料等 文献・資料収集費 新規事業費, HP 製作費
資料配付費	40,000	0	40,000		
講演会費	300,000	200,000	100,000		
会報発行費	650,000	650,000			
資料収集費	20,000	20,000			
他の事業費	650,000	450,000	200,000		
雑費	10,000	10,000			
予備費	392,538	298,896			
特別事業等 積立金支出	200,000		200,000		特別事業費
合 計	2,937,538	2,508,896	428,642		

役員及び所属 (任期 平成 15 年 4 月～平成 18 年 3 月)

顧問	柴田 重孝	(元麻布大学)	理事	桑野 昭	(第一製薬)
顧問	高橋 勇	(日獣畜大学名誉教授)		阪野 哲也	(全農家畜衛生研究所)
顧問	鈴木 昭	(元北里大学)		桜井 健一	(埼玉県中央家畜保健衛生所)
理事長	小久江栄一	(東京農工大)		左向 敏紀	(日本獣医畜産大学)
副理事長	澤田 拓士	(日本獣医畜産大学)		神保 勝彦	(東京都健康安全研究センター)
事務局担当理事				高橋 雄二	(畜産生物科学安全研究所)
	片岡 康	(日本獣医畜産大学)		田村 豊	(農林水産省動物医薬品検査所)
理事	青木 宙	(東京水産大学)		野沢雄一郎	(神奈川県食肉衛生検査所)
	*五十君静信	(国立医薬品食品衛生研究所)		中田 勝久	(大日本製薬)
	内田 幸治	(ファイザー製薬)		中村 政幸	(北里大学)
	江口 正志	(動物衛生研究所)		畑井喜司雄	(日本獣医畜産大学)
	*岡野 圭介	(武田シェリングプラウアニマルヘルス)		福安 嗣昭	(麻布大学)
	貝塚 一郎	(日本動物薬事協会)		八木澤守正	(日本抗生物質学術協議会)
	*加地 祥文	(厚生労働省)		山根 義久	(東京農工大学)
	金井 久	(群馬県中部家畜保健衛生所)	監事	小野 浩臣	(日本獣医畜産大学)
	金子 一幸	(麻布大学)		佐藤 静夫	(全農家畜衛生研究所)
	鎌田 寛	(日本大学)			
	熊谷 進	(東京大学)			

*：新任理事，他は留任（理事名は五十音順，敬称略，各役員所属は平成 14 年 4 月現在）

賛助会員

第一製薬株式会社	ノバルティス アニマルヘルス株式会社
コーキン化学株式会社	バイエル株式会社
協和発酵株式会社	日本全薬工業株式会社
ファイザー製薬株式会社	武田シェリング・プラウ
デンカ製薬株式会社	アニマルヘルス株式会社
三共株式会社	フォートダッジ株式会社
明治製菓株式会社	ヒプロ・ジャパン株式会社
旭ヴェット株式会社	全農飼料畜産中央研所
ベーリンガーインゲルハイム	全農家畜衛生研究所
シオノギ ベトメディカ株式会社	日本抗生物質学術協議会
大日本製薬株式会社	日本動物薬事協会
株式会社科学飼料研究所	(以上 22 会社・団体，順不同)
フジタ製薬株式会社	

動物用抗生物質・合成抗菌剤略語表
(飼料添加物を含む)

動物用抗菌剤研究会
2002年12月

ANTIBIOTICS (抗生物質)

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
PENICILLIN ANTIBIOTICS (PCs) :			
ペニシリン系抗生物質			
<i>Aminobenzylpenicillin</i>	see Ampicillin		
Amoxicillin		N,D,1,2,3	AMPC
Ampicillin	<i>Aminobenzylpenicillin</i>	N,D,1,2,3	ABPC
Aspoxicillin		N,1	ASPC
Benzylpenicillin	<i>Penicillin G</i>	N,D,1,2,3	PCG
Clavulanic acid		N,4	CVA
Cloxacillin	<i>Methylchlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	N,D,1,2,3	MCIPC(CX)
Dicloxacillin	<i>Methyldichlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	N,D,1,2	MDIPC(DCX)
<i>Ethoxynaphthylpenicillin</i>	see Nafcillin		
Hetacillin	<i>Isopropylidenaminobenzylpenicillin</i>	N,2	IPABPC
<i>Isopropylidenaminobenzylpenicillin</i>	see Hetacillin		
<u>Mecillinam</u>		D,1	MPC
<i>Methylchlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	see Cloxacillin		
<i>Methyldichlorophenylisoxazolylpenicillin</i>	see Dicloxacillin		
<i>Methylphenylisoxazolylpenicillin</i>	see Oxacillin		
Nafcillin	<i>Ethoxynaphthylpenicillin</i>	D,1	NFPC
Oxacillin	<i>Methylphenylisoxazolylpenicillin</i>	N,4	MPIPC
<i>Penicillin G</i>	see Benzylpenicillin		
Ticarcillin		2	TIPC
○Tobicillin		1	TBPC
CEPHEM ANTIBIOTICS (CEPs) :			
セフェム系抗生物質			
<i>Cefacetrile</i>	see Cephacetrile		
Cefadroxil		2	CDX
<i>Cefalexin</i>	see Cephalixin		
<i>Cefaloridine</i>	see Cephaloridine		
<i>Cefapirin</i>	see Cephapirin		
Ceftiofur		D,1,2	CTF
Cefivitril		4	CEVR
Cefoxitin		N,4	CFX
Cefuroxime		N,D,1	CXM
Cefquinome		D,4	CQN
Cefazolin		N,D,1	CEZ
Cephacetrile	<i>Cefacetrile</i>	N,4	CEC
Cephalixin	<i>Cefalexin</i>	N,2,3	CEX
<u>Cephalonium</u>		D,1,2,3	CEL
Cephaloridine	<i>Cefaloridine</i>	N,2	CER
Cephapirin	<i>Cefapirin</i>	N,D,1,2	CEPR
Cephoxazole		4	CXZ
Latamoxef	<i>Moxalactam</i>	N,4	LMOX
<i>Moxalactam</i>	see Latamoxef		

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
<p>AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS (AGs) : アミノグリコシド系抗生物質</p> <p>Amikacin <i>Aminocidin</i> Apramycin <i>Destomycin A***</i> Dihydrostreptomycin Fradiomycin <i>Framycetin</i> Gentamicin <i>Hygromycin B***</i> Kanamycin <i>Neomycin</i> Paromomycin Spectinomycin Streptomycin</p>	<p>see Paromomycin</p> <p><i>Neomycin, Framycetin</i> see Fradiomycin</p> <p>see Fradiomycin <i>Aminocidin</i></p>	<p>3</p> <p>D,(1),4 1 D,1,2,3 N,D,1,2,3</p> <p>N,D,1,2,3 D,1,2 N,D,1,2</p> <p>N,4 N,D,1,2,3 N,D,1,2,3</p>	<p>AMK</p> <p>APM DM-A DSM FRM(FM,NM)</p> <p>GM HM-B KM</p> <p>PRM SPCM(SPCT) SM</p>
<p>MACROLIDE ANTIBIOTICS (MLs) : マクロライド系抗生物質</p> <p><u>Acetylisovaleryltylosin</u></p> <p>○Azithromycin Carbomycin Erythromycin Josamycin Kitasamycin* <i>Leucomycin</i> <i>Magnamycin</i> <i>Miporamycin</i> <u>Mirosamicin</u> Mycinamicin Oleandomycin Roxithromycin <u>Sedecamycin*</u> Spiramycin <u>Terdecamycin</u> <u>Tilmicosin</u> Turimycin Tylosin*</p>	<p><i>Magnamycin</i></p> <p><i>Leucomycin</i> see Kitasamycin see Carbomycin see Mirosamicin <i>Miporamycin</i></p>	<p>D,1 4</p> <p>N,D,1,2,3 N,D,1 N,D,1</p> <p>(1) D,4 N,D,1',2 4 D,1 N,D,1 D,(1) D,1,3 4 D,1,2,3</p>	<p>AIV-TS AZT 2 CRM EM JM LM(KT)</p> <p>MRM MNM OL(OM) RXM SCM SPM(SP) TDM TMS TUM TS</p>
<p>LINCOSAMINID ANTIBIOTICS (LCMs) : リンコマイシン系抗生物質</p> <p>Clindamycin Lincomycin** Pirlimycin</p>		<p>2 N,D,1,2,3 2</p>	<p>CLDM LCM PLM</p>
<p>PEPTIDE ANTIBIOTICS (PTs) : ペプチド系抗生物質</p> <p>Aibellin Avoparcin Bacitracin*** <i>Bambermycin**</i> Colistin*</p>	<p>see Flavophospholipol</p>	<p>4 (1),3 N,D,1,2,3 2 N,D,1</p>	<p>ABL AVP BC CL</p>

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
(CONTINUED)			
<u>Enramycin</u> *		N,1	ER
<u>Flavomycin</u>	see Flavophaspholipol		
<u>Flavophospholipol</u> *	<i>Bambermycin, Flavomycin</i>	1,2,3	FV
Macarbomycin		(1)	MC(MCB)
<u>Moenomycin</u>	see <i>Bambermycin</i> (Flavophaspholipol)		
<u>Nosiheptide</u> *		1,4,5	NHT
Orienticin		(1)	OET
Polymyxin-B	<i>Sulfomyxin</i>	N,2'	PL(PM-B)
Quebemycin		(1)	QM
<u>Sulfomyxin</u>	see Polymyxin-B		
○Teicoplanin		4	TPN
<u>Thiopeptin</u> *		1	TPT
○Thiostrepton		4	TST
Tyrothricin		4	TTC
Vancomycin		N,4	VCM
<u>Virginiamycin</u> ****		1,2,3	VGM
POLYETHER ANTIBIOTICS (PEs) : ポリエーテル系抗生物質			
<u>Laidlomycin</u> **		4	LDM
<u>Lasalocid</u> ****		1,2	LLC(LS)
Lonomycin		4	LNM
Lysocellin		4	LSC
Maduramicin**		4	MDRM
<u>Methylsalinomycin</u>	see <i>Naracin</i>		
<u>Monensin</u> ****		D,1,2,3	MNS(MN)
Narasin**	<i>Methylsalinomycin</i>	2,4	NRS
<u>Salinomycin</u> ****		1	SNM(SLM)
<u>Semduramicin</u> ****		1,4	SDRM
Tetronasin		4	TNS
TETRACYCLINE ANTIBIOTICS(TCs) : テトラサイクリン系抗生物質			
Chlortetracycline****		N,D,1,2,3	CTC
Doxycycline		N,D,1,2	DOXY
Oxytetracycline****		N,D,1,2,3	OTC
Tetracycline		N,3	TC
ANTIFUNGAL ANTIBIOTICS(AFAs) : 抗真菌性抗生物質			
Amphotericin-B		N,3	AMPH
Griseofulvin		N,D,1,2,3	GRF
Miconazole		2	MCZ
<u>Nanafrocin</u>		D,1	NNF
Nystatin**		N,D,1,2,3	NYS
Perimycin		4	PRIM
Siccanin		N,1	SCN

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
OTHER ANTIBIOTICS(Etc) : その他の抗生物質			
Ardacin		4	ADC
<u>Avilamycin*</u>		1,4	AVM
<u>Bicozamycin*</u>	<i>Bicyclomycin</i>	D,1	BCM(BCZ)
<i>Bicyclomycin</i>	see Bicozamycin		
Chloramphenicol		N,1,3	CP(CM)
<u>Efrotomycin*</u>		1,2,3,4	EFM
Fosfomycin		N,D,1	FOM
Fusidic acid		N,4	FA
△Nisin		4	NS
<i>Nourseothricin</i>	see Streptothricin		
Novobiocin**		N,D,1',2,3	NB
<u>Polynactin*</u>		1	PNT
Rifampicin	<i>Rifampin</i>	N,4	RFP
<i>Rifampin</i>	see Rifampicin		
Streptothricin	<i>Nourseothricin</i>	4	STR
<u>Tiamulin**</u>		D,1,3	TML
Tyrothricin		4	TTC
○Valnemulin		4	VML

SYNTHETIC ANTIBACTERIAL AGENTS (合成抗菌薬)

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
SULFA DRUGS (SAs) : サルファ剤			
Acetylsulfamethoxazole		1'	Ac-SMX
Homosulfamine		1'	HS
Succinylsulfathiazole		4	Sc-STZ
Sulfabromomethazine		2	SBM
Sulfachloropyrazine	<i>Sulfaclozine</i>	2	SCPZ
Sulfachlorpyridazine		1,2,3	SCPD
<i>Sulfaclozine</i>	see Sulfachloropyrazine		
Sulfadiazine	<i>Sulfapyrimidine</i>	1',2,3	SDZ
Sulfadimethoxine**'	<i>Sulfadimethoxyprymidine</i>	1,1',2,3	SDMX
<i>Sulfadimethoxyprymidine</i>	see Sulfadimethoxine		
<i>Sulfadimethylprymidine</i>	see Sulfadimidine		
Sulfadimidine**'	<i>Sulfamethazine,Sulfadimethylprymidine</i>	1',2,3	SDD
Sulfadoxine	<i>Sulfomethoxine</i>	1',3	SDOX
Sulfaethoxyprydazine		2	SEPD
<i>Sulfafurazole</i>	see Sulfisoxazole		
Sulfisomidine,Sulf(a)isomidine		1	SID
Sulfisoxazole,Sulf(a)isoxazole	<i>Sulfafurazole</i>	(1),2	SIX
Sulfisozole		1	SIZ
Sulfamerazine	<i>Sulfamethylprymidine</i>	1,3	SMR
<i>Sulfamethazine</i>	see Sulfadimidine		
<i>Sulfamethiazole</i>	see Sulfamethizole		
Sulfamethizole	<i>Sulfamethiazole,Sulfathiodiazole</i>	3'	SMTZ
Sulfamethoxazole	<i>Sulfisomezole</i>	1	SMX
Sulfamethoxyprydazine		1,2,3	SMPD
<i>Sulfamethyloxazole</i>	see Sulfamoxole		
Sulfamethylphenazole			SMPZ

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
(CONTINUED)			
<i>Sulfamethylphenylpyrazole</i>	see Sulfapyrazole		
<i>Sulfamethylpyrimidine</i>	see Sulfamerazine		
<i>Sulfamine</i>	see Sulfanilamide		
Sulfamoildapsona		1	SMD(SDDS)
Sulfamonomethoxine		1	SMMX
Sulfamoxole	<i>Sulfamethyloxazole</i>	4	SMOX
Sulfanilamide	<i>Sulfamine</i>	3	SA
Sulfanitran		2'	SNT
Sulfaphenazole		1	SPHZ
Sulfapyrazole	<i>Sulfamethylphenylpyrazole</i>		SPZ
Sulfapyridine			SPD
<i>Sulfapyrimidine</i>	see Sulfadiazine		
Sulfaquinoxaline*		1',3	SQ
Sulfathiazole		1,3'	STZ
<i>Sulfathiodiazole</i>	see Sulfamethizole		
<i>Sulfisomezole</i>	see Sulfamethoxazole		
Sulfomyxin		2	SFMX
<i>Sulfomethoxine</i>	see Sulfadoxine		
FURAN DERIVATIVES (FDs) : フラン誘導体			
Difurazon	<i>Nitrovin, Panazon</i>	1,1'	DFZ
Furaltadone		4	FTZ
Furazolidone		1,2,3	FZ
<i>Nitrofuracin</i>	see Nitrofurantoin		
<i>Nitrofurural</i>	see Nitrofurazone		
Nitrofurantoin	<i>Nitrofuracin</i>	2,3	NFT
Nitrofurazone	<i>Nitrofurural</i>	1,1',2	NFZ
<i>Nitrovin</i>	see Difrazon		
Nifurstyrene		1	NFS
<i>Panazon</i>	see Difurazon		
PYRIDONECARBOXYLIC ACID(PCAs) : ピリドンカルボン酸系 (ニューキノロン系)			
<i>Aproxacin</i>	see Esafloxacin		
Benofloxacin	see <i>Vebufloxacin</i>	(1)	BFLX
Binofloxacin		4	BNFX
Cinoxacin		4	CINX
Ciprofloxacin		4	CPFX
Danofloxacin		1,4	DNFX
Difloxacin		1,2,4	DFLX
Enrofloxacin		1,2,3,4	ERFX
Enoxacin		4	ENX
Esafloxacin	<i>Aproxacin</i>	4	ESFX
Fleroxacin		4	FLRX
Ibafloxacin		4	IBFX
Marbofloxacin		4	MBFX
Miloxacin		1,4	MLX(MXC)
Nalidixic acid		1	NA

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
(CONTINUED)			
Norfloxacin		4	NFLX
Ofloxacin		1	OFLX
Orbifloxacin		1,2	OBFX
Oxolinic acid		1	OXA(OA)
Pefloxacin		4	PFLX
Pipemidic acid		4	PPA
Piromidic acid		1	PA(PMA)
Rosoxacin		4	RSX
Sarafloxacin		1,2,4	SRFX
Sparfloxacin		4	SPFX
Tosufloxacin		4	TFLX
Vebfloxacin	see Benfloxacin	1	VBFX
ANTIPROTOZOAN AGENTS			
Amprolium****		1,3	APL
Aprinocid		3,4	APC(ARP)
Beclothiamine		(1)	BT
Buparvaquone		4	BPVQ
Clopidol		(1)	CLP
Decoquinat****		1,2,3	DEC
Diclazuril		4	DLZ(DZR)
Diminazene		1	DNZ
Dinitolmide	Zoalene	(1)	DTM(ZL)
Ethopabate****		(1')	ETB
Glycarbylamide		(1)	GCA
Halofuginone****		1,2	HFN(HFG)
Imidocarb		2,4	IDC
Isometamidium		4	ITD
Nicarbazin****		1,3	NCZ
Obioactin		4	OAT
Pamaquine		1	PMQ
Parvaquone		4	PVQ
Primaquine		1	PRQ
Pyrimethamine		1'	PYR
Quinapyramine		4	QPM
Robenidine**		(1)	RBD
Ronidazole		4	RDZ
Toltrazuril		4	TTZ
Zoalene	see Dinitolmid		

GENERIC NAME	OTHER NAME	CITATION	ABBREVIATION
OTHERS(Etc) :			
その他の合成抗菌薬			
Baquiloprim		4	BLP
Carbadox**		1,2,3,5	CDX(CBD)
Dimetridazole			DTZ
Florfenicol		1,2	FFC(FF)
Flumequine		1,4	FMQ
Halquinol		4	HQN
Ipronidazole		5	INZ
Metronidazole		4	MNZ
Olaquinox*		1,5	ODX(OQD)
Ormetoprim**		1',2	OMP
Quindoxin		4	QDX
Thiamphenicol		1	TP
Trimethoprim		1',3'	TMP

N : 日本抗生物質医薬品基準 (1998) 記載の医薬品 ただし塩の部分は省略。

D : 動物用抗生物質医薬品基準 (2001)

1 : わが国において現在承認、ならびに指定されている動物用薬品ならびに飼料添加物。

1' : 1のうち配合剤の成分。

(1) : 現在は承認および指定が取り消されている。

2 : 米国で承認されている動物用薬品、飼料添加物 (FDA)。

3 : 米国で市販されている動物用薬品、飼料添加物。

4 : 獣医・畜産関係等の学会報告、専門誌などに見られるもの。

5 : 国外 (ECなど) において承認されている飼料添加物。

アンダーライン: 動物専用抗生物質 (日本)。

、': 飼料添加物、飼料添加物配合成分 (日本)、**、**' (米国)。

○: 新規に本表に収載されたもの。

△: 訂正されたもの

() 内 : 慣用語。

参考資料: 日本動物薬事協会編 (1998) : 動物用薬品用量要覧、Code of Fed. Reg.(U.S.A.) (1996)、Feed Additive Compendium(1997)、

日本抗生物質学術協議会編 (2000) : 抗生物質医薬品ハンドブック2000

農林水産省畜産局編 (2001) : 動物用抗生物質医薬品基準

(編集: 小野浩臣・高橋 勇、協力: 獣日本抗生物質学術協議会)

☆ 本表に新しく収載された薬剤 (○印) の略語について、今後3ヶ月以内 (2003年6月末) に会員からのご異議がなければ、それ以後、本会制定の正式略語といたします。

Antibiotics (alphabetical order)

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Acetylisovaleryltylosin(MLs)	AIV-TS	
Aibellin(PTs)	ABL	
Amikacin(AGs)	AMK	
Amoxicillin(PCs)	AMPC	
Amphotericin-B(AFAs)	AMPH	
Ampicillin(PCs)	ABPC	Aminobenzylpenicillin
Apramycin(AGs)	APM	
Ardacin(Etc)	ADC	
Aspoxicillin(PCs)	ASPC	
Avilamycin(Etc)	AVM	
Avoparcin(PTs)	AVP	
○Azithromycin(MLs)	AZT	
Bacitracin(PTs)	BC	
Benzylpenicillin(PCs)	PCG	Penicillin G
Bicozamycin(Etc)	BCM(BCZ)	Bicyclomycin
Carbomycin(MLs)	CRM	Magnamycin
Cefadroxil(CEPs)	CDX	
Cefazolin(CEPs)	CEZ	
Cefivritil(CEPs)	CEVR	
Cefoxitin(CEPs)	CFX	
Cefquinome(CEPs)	CQN	
Cefuroxime(CEPs)	CXM	
Ceftiofur(CEPs)	CTF	
Cephacetrile(CEPs)	CEC	Cefacetrile
Cephalexin(CEPs)	CEX	Cefalexin
Cephalonium(CEPs)	CEL	
Cephaloridine(CEPs)	CER	Cefaloridine
Cephapirin(CEPs)	CEPR	Cefapirin
Cephoxazole(CEPs)	CXZ	
Chloramphenicol(Etc)	CP(CM)	
Chlortetracycline(TCs)	CTC	
Clavulanic acid(PCs)	CVA	
Clindamycin(LCMs)	CLDM	
Cloxacillin(PCs)	MCIPC(CX)	Methylchlorophenylisoxazolylicillin
Colistin(PTs)	CL	
Destomycin A(AGs)	DM-A	
Dicloxacillin(PCs)	MDIPC(DCX)	Methyldichlorophenylisoxazolylicillin
Dihydrostreptomycin (AGs)	DSM	
Doxycycline(TCs)	DOXY	
Efrotomycin(Etc)	EFM	
Enramycin(PTs)	ER	
Erythromycin(MLs)	EM	
Flavophospholipol(PTs)	FV	Bambermycin, Flavomycin, Moenomycin
Fosfomycin(Etc)	FOM	
Fradiomycin(AGs)	FRM(FM,NM)	Neomycin, Framycetin, Moenomycin
Framycetin(AGs)		Neomycin-B
Fusidic acid(Etc)	FA	
Gentamicin (AGs)	GM	
Griseofulvin (AFAs)	GRF	
Hetacillin(PCs)	IPABPC	Isopropylidenaminobenzylpenicillin
Hygromycin B(AGs)	HM-B	
Josamycin(MLs)	JM	
Kanamycin(AGs)	KM	

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Kitasamycin(MLs)	LM(KT)	Leucomycin
Laidlomycin(Etc)	LDM	
Lasalocid(PEs)	LLC(LS)	
Latamoxef(CEPs)	LMOX	Moxalactam
Lincomycin(LCMs)	LCM	
Lonomycin(PEs)	LNM	
Lysocellin(PEs)	LSC	
Macarbomycin(PTs)	MC(MCB)	
Maduramicin(PEs)	MDRM	
Magnamycin(MLs)		Carbomycin
Mecillinam(PCs)	MPC	
Miconazole(AFAs)	MCZ	
Mirosamicin(MLs)	MRM	Miporamycin
Monensin(PEs)	MNS(MN)	
Mycinamicin(MLs)	MNM	
Nafcillin(PCs)	NFPC	Ethoxynaphthylpenicillin
Nanafrocin(AFAs)	NNF	Nanaomycin
Narasin(PEs)	NRS	Methylsalinomycin
Neomycin		Fradiomycin
Nisin	NS	
Nosiheptide(PTs)	NHT	
Novobiocin(Etc)	NB	
Nystatin(AFAs)	NYS	
Oleandomycin(MLs)	OL(OM)	
Orienticin(PTs)	OET	
Oxacillin(PCs)	MPIPC	Methylphenylisoxazolylpenicillin
Oxytetracycline(TCs)	OTC	
Paromomycin(AGs)	PRM	Aminocidin
Perimycin(AFAs)	PRIM	
Pirlimycin(LCMs)	PLM	
Polymyxin-B(PTs)	PL(PM-B)	Sulfomyxin
Polynactin(Etc)	PNT	
Quebemycin(PTs)	QM	
Rifampicin(Etc)	RFP	Rifampin
Roxithromycin(MLs)	RXM	
Salinomycin(PEs)	SNM(SLM)	
Sedecamycin(MLs)	SCM	
Semduramicin(PEs)	SDRM	
Siccanin(AFAs)	SCN	
Spectinomycin(AGs)	SPCM(SPCT)	
Spiramycin(MLs)	SPM(SP)	
Streptomycin(AGs)	SM	
Streptothricin(Etc)	STR	Nouseothricin
Terdecamycin(MLs)	TDM	
Tetracycline(TCs)	TC	
Tetronasin(PEs)	TNS	
Thiopeptin(PTs)	TPT	
Tiamulin(Etc)	TML	
Ticarcillin(PCs)	TIPC	
Tilmicosin(MLs)	TMS	
○Tobicillin(PCs)	TBPC	
Turimycin(MLs)	TUM	
Tylosin(MLs)	TS	
Tyrothricin(PTs)	TTC	
○Valnemulin(ETc)	VML	

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Vancomycin(Pts)	VCM	
Virginiamycin(PTs)	VGM	

Synthetic antibacterial agents (alphabetical order)

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Acetylsulfamethoxazole(SAs)	Ac-SMX	
Amprolium(APAts)	APL	
Arprinocid(APAts)	APC(ARP)	
Baquiloprim(Etc)	BLP	
Beclothiamine(APAts)	BT	
Benofloxacin(PCAs)	BFLX	Vebufloxacin
Bifloxacin(PCAs)	BNFX	
Buparvaquone(APAts)	BPVQ	
Carbadox(Etc)	CDX(CBD)	
Cinoxacin(PCAs)	CINX	
Ciprofloxacin(PCAs)	CPFX	
Clopidol(APAts)	CLP	
Danofloxacin(PCAs)	DNFX	
Decoquate(APAts)	DEC	
Diclazuril(APAts)	DLZ(DZR)	
Difloxacin(PCAs)	DFLX	
Difurazon(FDs)	DFZ	Nitrovin, Panazon
Dimetridazole(Etc)	DTZ	
Diminazene(APAts)	DNZ	
Dinitolmide(APAts)	DTM(ZL)	Zoalene
Enoxacin(PCAs)	ENX	
Enrofloxacin(PCAs)	ERFX	
Esafoxacin(PCAs)	ESFX	Apiroxacin
Ethopabate(APAts)	ETB	
Fleroxacin(PCAs)	FLRX	
Florfenicol(Etc)	FFC(FF)	
Flumequine(Etc)	FMQ	
Furaladone(FDs)	FTZ	
Furazolidone(FDs)	FZ	
Glycarbylamide(APAts)	GCA	
Halquinol(Etc)	HQN	
Halofuginone(APAts)	HFN(HFG)	
Homosulfamine(SAs)	HS	
Ibafloxacin(PCAs)	IBFX	
Imidocarb(APAts)	IDC	
Ipronidazole(Etc)	INZ	
Isometamidium(APAts)	ITD	
Marbofloxacin(PCAs)	MBFX	
Metronidazole(Etc)	MNZ	
Miloxacin(PCAs)	MLX(MXC)	
Nalidixic acid(PCAs)	NA	
Nicarbazin(APAts)	NCZ	
Nifurstyrene(FDs)	NFS	
Nitrofurantoin(FDs)	NFT	Nitrofuracin
Nitrofurazone(FDs)	NFZ	Nitrofurul
Norfloxacin(PCAs)	NFLX	

GENERIC NAME	ABBREVIATION	OTHER NAME
Obioactin(APAts)	OAT	
Ofloxacin(PCAs)	OFLX	
Olaquinox(Etc)	ODX(OQD)	
Orbifloxacin(PCAs)	OBFX	
Ormetoprim(Etc)	OMP	
Oxolinic acid(PCAs)	OXA(OA)	
Pamaquine(APAts)	PMQ	
Parvaquone(APAts)	PVQ	
Pefloxacin(PCAs)	PFLX	
Pipemidic acid(PCAs)	PPA	
Piromidic acid(PCAs)	PA(PMA)	
Primaquine(APAts)	PRQ	
Pyrimethamine(APAts)	PYR	
Quinapyramine(APAts)	QPM	
Quindoxin(Etc)	QDX	
Robenidine(APAts)	RBD	
Ronidazole(APAts)	RDZ	
Rosoxacin(PCAs)	RSX	
Sarafloxacin(PCAs)	SRFX	
Sparfloxacin(PCAs)	SPFX	
Succinylsulfathiazole(SAs)	Sc-STZ	
Sulfabromomethazine(SAs)	SBM	
Sulfachloropyrazine(SAs)	SCPZ	Sulfaclozine
Sulfachlorpyridazine(SAs)	SCPD	
Sulfadiazine(SAs)	SDZ	Sulfapyrimidine
Sulfadimethoxine(SAs)	SDMX	Sulfadimethoxypyrimidine
Sulfadimidine(SAs)	SDD	Sulfamethazine,Sulfadimethylpyrimidine
Sulfadoxine(SAs)	SDOX	Sulfomethoxine
Sulfaethoxypyridazine(SAs)	SEPD	
Sulfafurazole(SAs)	SFRZ	
Sulfamerazine(SAs)	SMR	Sulfamethylpyrimidine
Sulfamethizole(SAs)	SMTZ	Sulfamethiazole,Sulfathiodiazole
Sulfamethoxazole(SAs)	SMX	Sulfisomezole
Sulfamethoxy pyridazine(SAs)	SMPD	
Sulfamethylphenazole(SAs)	SMPZ	
Sulfamoildapsone(SAs)	SMD(SDDS)	
Sulfamonomethoxine(SAs)	SMMX	
Sulfamoxole(SAs)	SMOX	Sulfamethyloxazole
Sulfanilamide(SAs)	SA	Sulfamine
Sulfanitran(SAs)	SNT	
Sulfaphenazole(SAs)	SPHZ	
Sulfapyrazole(SAs)	SPZ	Sulfamethylphenylpyrazole
Sulfapyridine(SAs)	SPD	
Sulfaquinoxaline(SAs)	SQ	
Sulfathiazole(SAs)	STZ	
Sulfisomidine,Sulf(a)isomidine(SAs)	SID	
Sulfisoxazole,Sulf(a)isoxazole(SAs)	SIX	Sulfafurazole
Sulfisozole(SAs)	SIZ	
Sulfomyxin(SAs)	SFMX	
Thiamphenicol(Etc)	TP	
Toltrazuril(APAts)	TTZ	
Tosufloxacin(PCAs)	TFLX	
Trimethoprim(Etc)	TMP	
Vebugloxacin(PCAs)	VBFX	Benofloxacin

動物用抗菌剤研究会報 第25号

2003年10月31日発行

発行所 動物用抗菌剤研究会

〒180-8602 東京都武蔵野市境南町1-7-1

日本獣医畜産大学獣医微生物学教室

電話 0422-31-4151(内線253~255)

FAX 0422-31-4560

振替 00140-0-145535

発行者 小久江栄一

編集委員 阪野哲也, 桜井健一, 金子一幸, 鎌田 寛

査読委員 小久江栄一, 澤田拓士, 佐藤静夫, 片岡 康

製作 佐藤印刷(株) 茨城県つくば市二の宮4-4-21