

in vivo におけるフルオロキノロンの耐性獲得試験

江崎英剛

(財畜産生物科学安全研究所 (〒 229-1132 神奈川県相模原市橋本台 3-7-11))

1. はじめに

近年、カンピロバクターは細菌性食中毒における主原因の一つとなっているが、諸外国および国内において過去に実施された調査研究の結果、本菌はフルオロキノロン (FQ) に耐性を獲得しやすい性質を有していることが明らかになった [1-5]。しかし、これらの試験の多くはエンロフロキサシン (ERFX) を供試しており、その他に承認されている FQ 製剤についても同様の傾向が認められるかについては、十分な知見が得られてはいない。また、多くは鶏を用いて行われているため、豚および牛においても同様の結果が得られるかについても不明である。

家畜において出現した FQ 耐性カンピロバクターの食品などを介して人の健康へ及ぼす影響が懸念されており、現在、食品安全委員会において、そのリスク評価作業が進められている。FQ が家畜に使用された場合に選択される耐性カンピロバクターの発生評価には、耐性菌の出現および伝播の程度を把握する必要がある。

以上の不明点を明らかにすることを目的として、カンピロバクターを定着させた家畜 (鶏、牛および豚) に FQ を投与した際の耐性菌出現に及ぼす影響、および家畜における FQ 耐性カンピロバクターの水平伝播の程度を調べたので、その成績を紹介する。

2. FQ 製剤を投与した鶏、牛および豚における耐性カンピロバクターの出現

(1) 目的

本試験では、被験物質である ERFX およびその他の FQ 製剤を、日本国内で承認されている用法・用量に従い、鶏、豚および牛に投与した際、FQ 耐性カンピロバクターの発生などに被験物質間で違いがあるかを調べた。

(2) 材料と方法

ア. 各動物試験において共通の検査

鶏、豚および牛について、試験期間中は経時的に糞便の採材を行い、カンピロバクターの検査を実施した。カンピロバクターの分離・同定は定法に従い、菌種同定は PCR 法により実施した [6]。

分離したカンピロバクターに対する FQ の最小発育阻止濃度測定は、Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) の方法 [7] に準じ、寒天平板希釈法により測定した。ブレイクポイントは文献値 [8] を参考に、いずれの FQ についても 2mg/L とした。

カンピロバクター分離株はパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による解析を行った。PFGE は PulseNet (<http://www.cdc.gov/pulsenet/>) の方法に準じた。

FQ 耐性菌株の *gyrA* 遺伝子解析：FQ 耐性カンピロバクター分離株については、*gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域における変異の有無を調べた [9]。

イ. 鶏を用いた試験

カンピロバクター非保有であることを確認し

た3週齢のブロイラーを各群8羽ずつ供試した。カンピロバクターの水平伝播を防ぐため、FQ製剤投与群と対照群は別室で飼育し、また、個体同士を73cm(2ケージ分)以上隔離し、かつケージに仕切り板を入れた環境下で単飼した。飼料はSPF鶏用飼料(NFS-4, 日生研株)を不断給与した。飲水については水道水を不断給与した。

接種に用いた *Campylobacter jejuni* PD123 株(鶏由来, FQ感受性, 北里大学 中村政幸教授より分譲)を, 馬血液添加ミューラーヒントン寒天培地で37℃, 48時間培養し, 0.1%ペプトン加生理食塩液に懸濁した菌液を, 胃ゾンデを用いて鶏1羽に対して1.0mLずつ経口接種した(接種菌量: 3.8×10^8 CFU/1.0mL/羽)。なお, 本菌株のブロイラーへの定着性については, 試験前に, ブロイラーに菌を接種し, 接種後2週間にわたって糞便中にカンピロバクターが検出されることを確認した。

被検物質であるFQ製剤は, 上市されている「バイトリル10%液」(成分:ERFX, バイエル薬品株)および「オキサリジン液」(成分:オフロキサシン [OFLX], 第一ファインケミカル株)を購入して用いた。菌液接種後1週間の馴化期間をおいた後, 試験群には, 被検物質である各製剤を用法・用量に従い, 3日間飲水添加により投薬した。対照群は無投薬とした。

ウ. 牛を用いた試験

FQ耐性菌を保有しないことを確認した2~3カ月齢のホルスタイン種を各群4頭ずつ供試した。供試動物は同一畜舎内において単飼牛房で個別飼育し, 個体間における水平伝播を防ぐため, 個体同士を5.7m(3牛房)以上隔離した条件下で飼育した。配合飼料(牛試験用配合飼料「SDC No.2」, 日本配合飼料株)を1日1頭あたり体重の1~2%給与し, 乾草(チモシー, 明治乳業株)を不断給餌し, 飼料用ミネラル入り固形塩(ミネラル入り食塩混合飼料「パワーブロック」, 日本配合飼料株)を自由に舐食させた。飲水についてはウォーターカップを用いて水道水を自由摂取させた。

接種に用いた *C. jejuni* 11-114 株(牛由来, FQ感受性, 農林水産省動物医薬品検査所より分譲)を5%馬血液添加ミューラーヒントン寒天培地

で37℃, 48時間培養した後, 0.1%ペプトン加生理食塩液に懸濁した。本菌液を牛1頭に対して50mLずつ胃ゾンデを用いて接種した(2.6×10^9 CFU/50mL/頭)。なお, 本菌株の供試動物への定着性については, 菌投与3日後および7日後に糞便を採取し, 糞便中にカンピロバクターが検出されることを確認した。

被検物質であるFQ製剤は, 上市されている「バイトリル10%注射液」(成分:ERFX, バイエル薬品株)および「アドボシン注射液」(成分:ダノフロキサシン [DNFX], ファイザー製薬株)を購入して用い, 試験群には菌接種後7日目から3日間, 被検物質である各製剤を用法・用量に従い投与した。対照群は無投薬とした。

エ. 豚を用いた試験

18日齢の2nd-SPF豚(WLD種)を使用した。供試動物の糞便について, カンピロバクター検査を実施したところ, いずれの動物からも *C. coli* が検出されたが, いずれもFQ感受性であったことから, これらの *C. coli* のFQ耐性を調べることを目的として, FQ投与試験を実施した。隔離実験施設内の3実験室にて1室5頭を群飼した。飼料はミニブタ用飼料NSA(日生研株)を1日1回十分量を自由摂取させ, また, 水道水を自由飲水させた。

上市されている「バイトリル10%液」(成分:ERFX, バイエル薬品株)および「インフェック2%散」(成分:ノルフロキサシン [NFLX], 株科学飼料研究所)を購入して用いた。馴化期間(9日間)終了後, 試験群には被検物質である各製剤を用法・用量に従い投与した。対照群は無投薬とした。

(3) 結果

ア. 鶏を用いた試験

対照群では, 菌接種後から試験終了時まで全個体からカンピロバクターが検出されたが, 耐性菌は検出されなかった。ERFX投与群においては, 投薬開始後2日目から耐性菌の出現が認められたのに対して, OFLX投与群においては, 投与後4日目から耐性菌が検出された(表1)。また, 投与後7日目の時点で, ERFX投与群においては, 8羽中5羽からFQ耐性菌が検出され, OFLX投

表 1 FQ 投薬による動物腸管内カンピロバクターの耐性化

動物 (飼育形態)	投薬 FQ の種類	耐性菌出現日 ¹⁾	耐性菌出現頻度 ²⁾
鶏 (単飼)	ERFX	2 日目	5/8
	OFLX	4 日目	1/8
	— ³⁾	非検出	0/8
牛 (単飼)	ERFX	4 日目	3/4
	DNFX	4 日目	3/4
	—	非検出	0/4
豚 (群飼)	ERFX	4 日目	5/5
	NLFX	3 日目	5/5
	—	非検出	0/5

1) 初めて FQ 耐性菌が出現した FQ 剤投与後の日数

2) 試験期間内に FQ 耐性菌が出現した個体の割合

3) 非投薬

与群においては、耐性菌は 8 羽中 1 羽から検出された。

イ. 牛を用いた試験

対照群ではカンピロバクターは検出されたものの、耐性カンピロバクターは検出されなかった。一方、ERFX および DNFX 投与群においては、一部の個体においては、FQ 投薬開始後 3 日目以降カンピロバクターが検出されなくなった後、再び菌が検出されるようになったが、DNFX 投与群の中には試験終了時までカンピロバクターが検出されないままの個体も認められた。ERFX および DNFX 投与群のいずれにおいても、FQ 投与後 4 日目から耐性菌の出現が認められ、4 頭中 3 頭から耐性菌が検出された。

ウ. 豚を用いた試験

対照群では、カンピロバクターは検出されたものの、FQ 耐性菌の出現は認められなかった。一方、ERFX 投与群において、投薬開始後 2 日目に

カンピロバクターが検出されなくなったものの、翌日以降には再び検出されるようになり、それと同時期に耐性菌が検出されるようになった。一方、NLFX 投与群においては投薬開始後 3 日目から耐性菌の出現が認められた。ERFX および NLFX 投与群のいずれにおいても 5 頭中 5 頭から耐性菌が検出された。

エ. FQ 耐性株の *gyrA* 遺伝子の変異

鶏および牛から分離された *C. jejuni* に対する FQ の感受性を調べ、耐性株については *gyrA* 遺伝子の変異を調べた。鶏からの分離株に対する結果を表 2 に示す。感受性菌の MIC 値はいずれの FQ も $\leq 0.25\text{mg/L}$ であり、FQ 耐性株に対する ERFX、OFLX および CPFEX の MIC はそれぞれ 4～8、16～32 および 8～32 mg/L であった。耐性株に対する ERFX の MIC は、OFLX および CPFEX のそれに比べて 1～2 管低かった。耐性株について、*gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域

表 2 鶏由来 *Campylobacter jejuni* に対する薬剤感受性および *gyrA* 遺伝子の変異

菌株	MIC (mg/L)			<i>gyrA</i> 遺伝子変異 (Thr ⁸⁶)
	ERFX	OFLX	CPFEX	
投与株	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	—
感受性分離株 (対照群)	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	—
耐性分離株 (ERFX 群)	8	16-32	16-32	ACA → ATA
耐性分離株 (OFLX 群)	8	32	32	ACA → ATA

について遺伝子配列を調べた (表 2)。いずれの耐性菌株においても 86 位のスレオニン (Thr) がイソロイシン (Ile) に変異していた (ACA → ATA)。牛についても同様の結果が得られ、ERFX および DNFX 投与群から分離された耐性菌は種々の FQ に対して同程度の MIC を示し、*gyrA* 遺伝子に同一の変異が確認された。

さらに、FQ 感受性株が耐性化したことを確認するため、*SmaI* および *KpnI* で制限酵素処理による PFGE 解析を実施したところ、感受性株および耐性株のいずれも同一のバンドパターンを示した。

(4) 考 察

ブロイラーに対し FQ 製剤を投薬した際、ERFX、OFLX いずれの投薬群においても、腸管内 *C. jejuni* の耐性化が認められた。投与する FQ 製剤により耐性化に違いが認められ、ERFX を投与した際には、群全体に比較的速やかな耐性化が認められたが、OFLX を投与した場合、耐性菌の出現は一部の個体に限定されていた。投薬する FQ 製剤の種類により、腸管内カンピロバクターの FQ に対する耐性獲得の程度が異なる可能性が考えられた。

3. FQ 耐性カンピロバクターの水平伝播

(1) 目 的

鶏、牛および豚において FQ 耐性カンピロバクター保有個体から非保有個体への耐性菌の水平伝播の程度 (頻度、速度など) を調べることを目的として実施した。

(2) 材料と方法

各畜種において、下記の同居群を 2 群ずつ設け、FQ 製剤投与と非投与の条件で試験した。なお、動物の飼育管理等の条件は、いずれの畜種においても前述の方法に従った。

鶏では、前述の試験で作出された FQ 耐性カンピロバクター保有鶏 1 羽 (6 週齢) を非保有鶏 (3 週齢) 5 羽と同居させた。

牛では、前述の試験で作出された FQ 耐性カン

ピロバクター保有牛 1 頭 (4 カ月齢) を非保有牛 3 頭 (3 ~ 4 カ月齢) と同居させた。なお、本試験は同一条件で 2 回実施した。

豚では、FQ 耐性カンピロバクター保菌豚 (2 カ月齢) 1 頭を非保有個体 (2 カ月齢) 5 頭と同居させた。FQ 投与群には、上市されている「バイトリル 10% 液」(鶏用) もしくは「バイトリル 10% 注射液」(牛、豚用) を購入して用いた。

耐性菌保有個体と非保有個体を同居させた後、経時的に糞便の採材を行い、糞便からの菌分離およびその解析については、前述の方法により行った。

(3) 結 果

鶏では、ERFX 非投薬、投薬のいずれの条件においても、同居後 4 日目から耐性菌の伝播が認められた。ERFX 非投薬条件においては、非保有鶏 5 羽のうち 4 羽に、投与条件においては、5 羽全てに耐性菌の伝播が認められた (表 3)。

牛では、ERFX 非投与条件においては同居後 3 日目から伝播が確認されたのに対し、ERFX 投与条件においては、同居後 2 日目に伝播が確認された。ERFX 投薬期間中に伝播が確認されたことから、投薬による選択圧により伝播しやすくなっている可能性が考えられた。一方、ERFX 非投与、投与条件ともに非保有牛 6 頭のうち 3 頭にのみ伝播が認められた。伝播した菌について、PFGE および *gyrA* 遺伝子の変異を調べたところ、いずれの保有牛がもつ FQ 耐性菌とも同一のパターンを

表 3 動物間における FQ 耐性カンピロバクターの水平伝播

動物	ERFX 投与	伝播日 ¹⁾	伝播頻度 ²⁾
鶏	無	4 日目	4/5
	有	4 日目	5/5
牛	無	3 日目	4/6
	有	2 日目	3/6
豚	無	1 日目	5/5
	有	1 日目	5/5

1) 同居後初めて非保有個体に耐性菌が出現した日

2) 試験期間内に FQ 耐性菌の出現が認められた、耐性菌非保有個体の割合

示したことから、水平伝播したものと考えられる。

豚では、ERFX 非投薬、投薬条件のいずれにおいても、同居後 2 日目から耐性菌の伝播が認められた。ERFX 非投与条件においては同居後 3 日目に、ERFX 投薬群においては同居後 2 日目に、全ての非保有個体に対して耐性菌の伝播が認められた。

(4) 考 察

鶏、牛および豚において、FQ 耐性菌は保有動物から非保有動物へ速やかに伝播された。牛および豚の ERFX 投与条件においては、投薬期間中から菌の伝播が認められた。一方、伝播状況については、鶏および豚で大半の動物に伝播されたのに対して、牛においては半数の動物にしか伝播されなかった。飼育方法の違いや、鶏では床面を啄ばむなどの動物の習性の違いにより、動物種間で伝播の程度に違いが生じた可能性が考えられる。水平伝播が生じる要因として、動物同士の接触以外に、飼育環境の汚染を介した感染が挙げられる。環境中の汚染源を特定し、除去することが伝播を防止する上で有効な手段と考えられる。

4. おわりに

本試験は、カンピロバクター感染鶏、牛および豚における FQ 耐性カンピロバクターの出現・伝播に関する世界でも初めての総合的な試験である。今回の結果から、動物腸管内に生息するカンピロバクターは、FQ の投薬により耐性化すること、また、生じた耐性菌は動物間で伝播する可能性が示唆された。このような家畜における FQ 耐性カンピロバクターに対して、以下のリスク管理法を提案する。

- (1) FQ を使用している農場では、感染制御として、畜舎へのより厳しい感染防止策を導入し、併せて、現場の細菌学的なモニタリングを行い、病原細菌自体を持ち込まない対策を講じる。
- (2) カンピロバクターが感染した場合、FQ 投薬の中止や慎重使用を実践する。
- (3) 飼料槽および給水槽の清掃や床掃除などと

いった飼育環境の清掃・消毒を実施し、水はけを良くするなど飼育環境を乾燥した状態に保つ。

5. 謝 辞

本発表における調査・研究に際して、試験協力いただきました酪農学園大学 田村 豊教授および村松康和教授に心より感謝いたします。

本稿は、平成 18 年度に農林水産省から当研究所へ委託された「抗菌性物質薬剤耐性菌評価情報整備事業」において実施した調査研究結果をまとめたものである。

6. 要 約

(1) フルオロキノロン剤を投与した鶏、牛および豚における耐性カンピロバクターの出現
鶏、牛および豚のいずれの動物に対しても、FQ 製剤を規定量投与した際、腸管内カンピロバクターは速やかに耐性を獲得した。耐性菌出現状況は、使用した FQ 製剤の種類、動物種、飼育形態などにより以下のような違いが認められた。

鶏および牛から分離された FQ 耐性 *C. jejuni* の遺伝子解析を行ったところ、いずれの耐性株においても *gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域の 86 位のスレオニンがイソロイシンに変異していた (ACA → ATA)。また、鶏および牛から分離された FQ 耐性および感受性 *C. jejuni* についてパルスフィールド電気泳動法による解析を行ったところ、耐性株および感受性株いずれも同一のバンドパターンを示した。これらのことから、動物に投与した FQ 製剤により感受性株の *gyrA* 遺伝子に変異し、耐性化した可能性が考えられた。

なお、牛および豚については、カンピロバクターと同時に腸管内の大腸菌および腸球菌についても調査したが、FQ 投薬後、これらの菌の耐性化は確認されなかった。

- (2) フルオロキノロン耐性菌保有個体から非保有個体への耐性カンピロバクターの水平伝播
FQ 耐性カンピロバクター保有個体に非保有個

体を同居させたところ、鶏、牛および豚のいずれの動物においても、耐性菌の伝播が認められた。ERFX 投薬による選択圧が伝播速度および頻度を加速する可能性については、牛では速まる可能性が考えられたものの、他の動物種においては特に確認できなかった。ERFX 投薬の有無にかかわらず、耐性菌は同居している動物間で速やかに伝播したことから、FQ 耐性カンピロバクターの水平伝播には、動物同士の接触や排泄された糞便が大きな役割を演じることが考えられたが、エンロフロキサシン投与による選択圧が伝播速度および頻度を加速する可能性については、いずれの動物種においても確認されなかった。

引用文献

- 1) McDermott PF, Bodeis SM, English LL, White DG, Walker RD, Zhao S, Simjee S, Wagner DD: Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. *J Infect Dis*, 185, 837-840 (2002)
- 2) Luo N, Sahin O, Lin J, Michel LO, Zhang Q: In vivo selection of *Campylobacter* isolates with high levels of fluoroquinolone resistance associated with *gyrA* mutations and the function of the CmeABC efflux pump. *Antimicrob Agents Chemother*, 47, 390-394 (2003)
- 3) van Boven M, Veldman KT, de Jong MC, Mevius DJ: Rapid selection of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* but not in *Escherichia coli* in individually housed broilers. *J Antimicrob Chemother*, 52, 719-723 (2003)
- 4) Takahashi T, Ishihara K, Kojima A, Asai T, Harada K, Tamura Y: Emergence of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* in chickens exposed to enrofloxacin treatment at the inherent dosage licensed in Japan. *J Vet Med B*, 52, 460-464 (2005)
- 5) Delsol AA, Sunderland J, Woodward MJ, Pumbwe L, Piddock LJ, Roe JM: Emergence of fluoroquinolone resistance in the native *Campylobacter coli* population of pigs exposed to enrofloxacin. *J Antimicrob Chemother*, 53, 872-874 (2004)
- 6) Linton D, Lawson AJ, Owen RJ, Stanley J: PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J Clin Microbiol*, 35, 2568-2572 (1997)
- 7) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved standard—second edition M31-A2, NCCLS, Wayne, PA, USA (2002)
- 8) McDermott PF, Bodeis SM, Aarestrup FM, Brown S, Traczewski M, Fedorka-Cray P, Wallace M, Critchley IA, Thornsberry C, Graff S, Flamm R, Beyer J, Shortridge D, Piddock LJ, Ricci V, Johnson MM, Jones RN, Reller B, Mirrett S, Aldrobi J, Rennie R, Brosnikoff C, Turnbull L, Stein G, Schooley S, Hanson RA, Walker RD: Development of a standardized susceptibility test for campylobacter with quality-control ranges for ciprofloxacin, doxycycline, erythromycin, gentamicin, and meropenem. *Microb Drug Resist*, 10, 124-131 (2004)
- 9) Griggs DJ, Johnson MM, Frost JA, Humphrey T, Jørgensen F, Piddock LJ: Incidence and mechanism of ciprofloxacin resistance in *Campylobacter* spp. isolated from commercial poultry flocks in the United Kingdom before, during, and after fluoroquinolone treatment. *Antimicrob Agents Chemother*, 49, 699-707 (2005)

in vivo Study of Fluoroquinolone Resistant *Campylobacter* spp. in Food-producing Animals

Hidetake ESAKI

Research Institute for Animal Science in Biochemistry & Toxicology,
3-7-11, Hashimotodai, Sagamihara, Kanagawa 229-1132, Japan

The present experimental studies were performed to determine and compare the emergence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* spp. in chicken, cattle and pig during and after treatment with fluoroquinolones at the inherent dosage licensed in Japan. And the disseminations of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* spp. in animals were also evaluated.

To determine the molecular basis of resistant mechanism, mutations in *gyrA* gene of fluoroquinolone resistant *Campylobacter* isolates were checked. PFGE analysis were performed to confirm the relatedness of inoculated *Campylobacter* strains and resistant isolates.

Treatment with fluoroquinolones rapidly selected for high frequencies of fluoroquinolone-resistant isolates and they had been detected during and after the withdrawal period of fluoroquinolones. Fluoroquinolone-resistant isolates were selected in all fluoroquinolone-treated groups. Identical mutation in the *gyrA* gene was detected in all fluoroquinolone resistant isolates. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* isolates were transmitted in animals rapidly after the *Campylobacter* positive animal was housed in the negative animals.

From these results, three significant findings should be discussed. (1) Licensed dosages of fluoroquinolones are not always effective in *Campylobacter* in broiler, cattle and pig. (2) Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* spp. would be emerged by the de novo selection of resistance in individual chickens, cattle and pigs after the treatment of fluoroquinolones licensed in Japan. (3) Once fluoroquinolone resistant *Campylobacter* spp. emerged, the dissemination of the isolates would be occurred rapidly in the herd.

討 論 (座長：田村 豊 酪農大, 高橋敏雄 動薬検)

質問 (秋庭正人, 動衛研)

gyrA 遺伝子上の一箇所の変異でフルオキノロン耐性になることは、他の菌とは異なると思われる。*gyrA* を含むトポイソメラーゼ遺伝子の構造がカンピロバクターでは他の菌と異なっているのか。

答 (江寄英剛)

カンピロバクターはトポイソメラーゼⅣを保有しない。ジャイレースの構造が他の菌と異なるかどうかはわからない。

質問 (高橋敏雄, 動薬検)

鶏における FQ 耐性獲得試験においては、ERFX 投薬群と OFLX 投薬群との間では FQ 耐性株出現率に

顕著な差が認められている。この事象について、更なる考察をお願いしたい。

答 (江寄英剛)

一回やった試験での結果なので、たまたま OFLX 投薬群の方では 8 頭中 1 頭という出現頻度だったという可能性と、もう一つは実際にそうである可能性という風に考えられると思う。私としてはもう少し試験を繰り返してみないと本当に耐性が高いのか、低いのかはなかなかいえないと思う。高橋先生の方で実施された試験のように、耐性菌が確認されないということもあるので投与のタイミングやそのときの菌量などが要因としてあると思う。

質問 (佐藤静夫, 科学飼料研究所)

牛における実験では子牛だと思いますが, カンピロバクターの感染経過について基礎データがありますか。サルモネラでは第一胃の機能が発達していない子牛では易感染性なのか。粗飼料を主にした飼料を与えていない成牛ではサルモネラの感染は成立しないとの報告もありますが, カンピロバクターの場合は, この辺のことを考慮する必要はありませんか。

答 (江寄英剛)

今回供試した牛は2~3ヵ月齢であり, 第一胃の機能の発達についてはあまり深く考えておりませんでした。今回の結果では定着が確認されましたが, これは, カンピロバクターが牛にとって非病原性であることが関係しているかも知れません。

今回の実験は子牛を用いておりますので, 成牛とは区別する必要があるかも知れません。