

JVARM における抗菌剤の使用と耐性との関係解析について

浅井鉄夫

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. 緒言

家畜の感染症の治療に使用されている抗菌剤は、動物の健康を維持し、安全な畜産物を安定して食卓へ運ぶ上で、重要な生産資材となっている。一方、抗菌剤を使用することが選択圧となり、抗菌剤耐性菌の出現につながっている。抗菌剤耐性菌は、獣医臨床現場での抗菌剤による治療効果を低下させると共に、食物連鎖を介して人の細菌感染症の治療を困難にするという危険性をはらんでいる。このような点から、抗菌剤耐性菌は、動物の健康や福祉に関わる問題であり、公衆衛生上の問題としてとらえられている。

JVARM (Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System) は、家畜衛生分野における抗菌剤耐性に関する調査システムである [12]。この調査は、1999 年から開始され、食中毒菌 (サルモネラ [2, 3], カンピロバクター [6]), 指標細菌 (腸球菌, 大腸菌 [8]) および動物病原菌 (ブドウ球菌 [9], レンサ球菌 [9], マンヘミア・ヘモリティカ [1], アクチノバチラス・ブルロニューモニエなど) を対象として抗菌剤感受性を調査している。また、2001 年からは調査農場における抗菌剤の使用状況に関して、使用した抗菌剤の種類や投与経路などについての情報蓄積がなされている。今回、この調査で得られた成績に基づいて、抗菌剤耐性菌の出現と抗菌剤の使用状況との関係について紹介する。

2. 全国レベルにおける各種抗菌性物質の販売量と耐性率との関係

動物用医薬品の取扱数量は、「動物用医薬品等取締規則」(昭和 36 年 2 月 1 日農林省令第 3 号) 第 18 条 (平成 17 年 4 月 1 日以降は、平成 16 年 12 月 24 日農林水産省令第 107 号の第 81 条) の規定に基づく報告を元に集計されていたが、その集計は、販売高を中心としたものであった。

OIE 抗菌剤耐性ガイドライン (2001 年 12 月) などで勧告された国際的なモニタリング手法の調和を図ると共に、世界各国の抗菌剤の使用量との比較を行う上でも、動物種ごとの有効成分の使用量についての調査成績が必要となってきた。そこで、国内においても、2000 年から有効成分および系統ごとの製造量または輸入量、また、その動物種ごとの推定使用量、投与経路および剤型ごとの使用量に関する調査が始まった [11]。

抗菌剤の使用は、耐性菌の選択圧となるため、その使用量は、抗菌剤耐性菌の出現状況を反映することが予想される。抗菌剤耐性菌のモニタリングにおいて指標細菌として抗菌剤耐性動向が調査されている大腸菌は、動物の腸管内に広く分布するため、様々な細菌感染症の治療に利用されている抗菌剤に暴露される機会が最も多い。そこで、動物種ごとの各有効成分の推定使用量と大腸菌の耐性菌の分布を比較した。

各種抗菌性物質の使用量は、「各種抗生物質・

本稿は 2005 年 4 月 23 日に開催された第 32 回シンポジウム「抗菌剤の使用と耐性菌の出現との関係 ―慎重使用に向けて―」での講演の要旨である。

合成抗菌剤・駆虫剤・抗寄生虫剤の販売高と販売量平成13年(2001)から得られた数値を利用した。すなわち、各区分の原末換算量と対象動物別推定販売割合から動物別の販売(使用)量を積算し、動物別の1年間の使用量とし、大腸菌の抗菌剤耐性率は、平成13年度の全国調査成績を用いた[10]。これらの使用量と耐性率は、直線回帰により統計的に解析した。

図1に示すように、国内で使用量の多い抗菌剤に対して、耐性菌が高頻度に出現している傾向が認められ、抗菌性物質の使用量と耐性率は、動物種間で相関係数のバラツキが認められたが、全ての動物種で相関していた。また、使用量が多く、耐性率の高い系統であるペニシリン系、テトラサイクリン系およびストレプトマイシン系の抗菌剤の成績を除外すると、この相関は、ブロイラーと採卵鶏では認められなくなったが、牛($r=0.800$)および豚($r=0.832$)では認められた。したがって、国内の全体的な各系統の抗菌剤の使用量は、牛や

豚では抗菌剤耐性菌の出現状況を強く反映することが示唆された。

次に、使用量の多いペニシリン系、テトラサイクリン系およびストレプトマイシン系抗菌剤のそれぞれの成績が、相関係数に与える影響を検討した。ペニシリン系抗菌剤の成績を除外しても、全ての動物種で、相関係数はほとんど変化しなかった。しかし、ストレプトマイシン系抗菌剤の成績を除外したところ、全ての動物種で相関係数の増加が認められた。このことは、ストレプトマイシンの使用量と耐性率は、他の抗菌剤における関係から乖離していると考えられた。また、テトラサイクリン系抗菌剤の成績を除外したところ、相関係数は、牛と採卵鶏では、相関係数の低下が見られたが、豚とブロイラーでは上昇した。このように、抗菌剤の使用量は、抗菌剤の種類や動物種によって耐性率に与える影響が異なっていることが示された。今後、全体的な使用量だけでなく、耐性機構、使用状況(投与経路や投与期間)およ

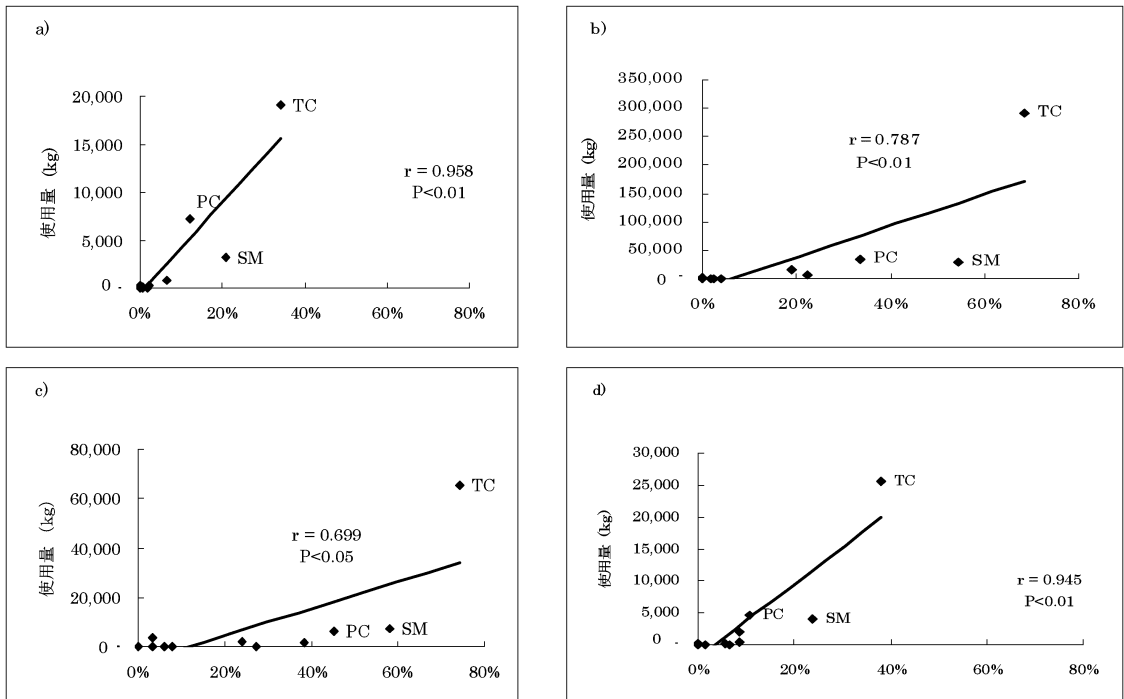


図1 家畜における薬剤使用量と耐性率

a) 肉牛; b) 豚; c) ブロイラー; d) 採卵鶏

び畜種間の生産状況の違いなども含めた多面的な検討を進めていく予定である。

3. 農場レベルにおける抗菌剤の使用歴と抗菌剤耐性菌の出現

JVARM では、抗菌剤耐性菌の実態調査を行っている農場において、過去6か月間の動物用抗菌剤の使用状況について聞き取り調査が行われている。そこで、抗菌剤耐性菌が分離された農場における抗菌剤の使用状況を解析した。

1) 大腸菌

2001～2003年度の実態調査における調査報告書の抗菌剤の使用記録と抗菌剤耐性菌の分布データを利用し、国内で使用量の多いペニシリン系、テトラサイクリン系、ストレプトマイシン系およびトリメトプリム系抗菌剤を対象に行った。4系統の抗菌剤の代表として、アンピシリン (ABPC)、オキシテトラサイクリン (OTC)、ジヒドロストレプトマイシン (DSM) およびトリメトプリム (TMP) に関する抗菌剤感受性試験の成績を使用した。抗菌剤耐性菌が分離された農場で使用された抗菌剤は、採材時点から半年前までの期間内に使用した抗菌性物質を「同系統抗菌剤を使用」と「他の抗菌剤 (同系統抗菌剤以外) を使用」と「未使用」に分類して集計した (図2)。

4 抗菌剤に対する耐性菌が分離された農場において、抗菌剤は50～70%の農場で使用されていた。抗菌剤の系統別では、ABPCまたはOTC耐性株のうち、同系統抗菌剤 (ペニシリンまたはテトラサイクリン系抗菌剤) を使用した農場と耐性を示した同系統以外の抗菌剤を使用した農場から分離された株は、それぞれ10%程度であった。また、DSM耐性株とTMP耐性株では、同系統抗菌剤を使用した農場から分離された株は5%程度であった。また、それぞれの株の耐性パターンに含まれる同系統以外の抗菌剤を使用した農場から分離された株は、ABPC、DSM およびTMP耐性株の10%程度、OTC耐性株では3%であった。このことから、抗菌剤の系統による差はあるが、飼育中に発生する様々な疾病の治療に使用される抗菌

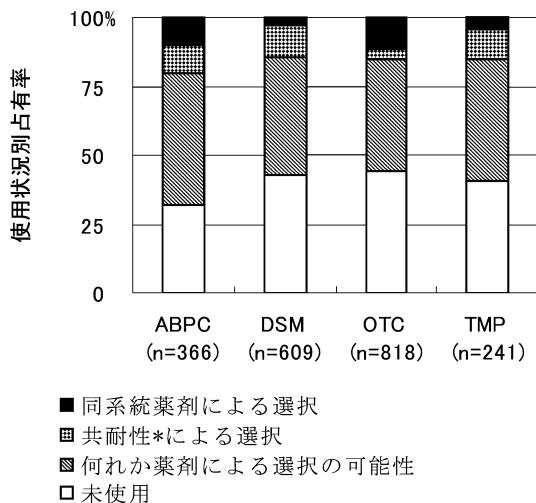


図2 抗菌剤耐性大腸菌分離農場における抗菌性物質の使用状況 (2001-2003)

剤に関連した出現率は、健康動物に分布する抗菌剤耐性大腸菌の約20%であると考えられた。

2) カンピロバクター

2001～2003年度の実態調査において同様に収集したデータを利用し、公衆衛生上、注目されているエリスロマイシン (EM) およびフルオロキノロン剤 (ニューキノロン剤) であるエンロフロキサシン (ERFX) 耐性カンピロバクターについて、大腸菌と同様の解析を行った (図3)。

EM耐性株が分離された農場のうち、交差耐性を示すマクロライド系抗菌剤 (主にタイロシン) を使用した農場は、10%であった。また、ERFX耐性が分離された農場の2%程度でフルオロキノロン剤が使用されていた。カンピロバクターのEMやERFXに対する耐性株の多くは、抗菌剤の結合部位をコードする遺伝子のポイントミューテーションによって活性部位の立体構造が変化することで耐性を獲得している。したがって、EMやERFXの存在下でのみ、それぞれの耐性が選択されると考えられる。しかし、今回の成績のように、ほとんど関係が見られないことから、採材時から半年以内に使用した同系統抗菌剤がEM耐性やERFX耐性の出現に関与するケースは少なく、

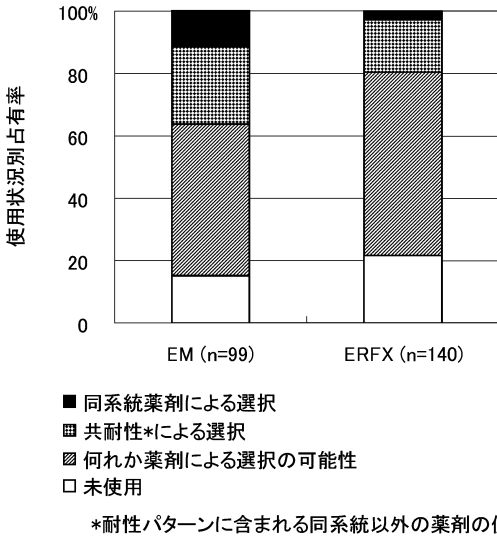


図3 抗菌剤耐性カンピロバクター分離農場における抗菌性物質の使用状況 (2001-2003)

過去の使用時に出現した耐性菌が、農場内で継続的な感染環を形成している可能性が考えられる。

しかしながら、EM や ERFX 耐性株の中にも、耐性を示した同系統以外の抗菌剤を使用した農場から分離された株は、EM 耐性では約 25% と ERFX 耐性では約 10% に認められた。このことから、大腸菌と同様、EM や ERFX を含む多剤耐性株が飼育中に治療に使用された抗菌剤によって選択される可能性もあるため注意が必要である。

3) 抗菌剤未使用農場における抗菌剤耐性菌の分布

近年、テトラサイクリン系とストレプトマイシンに耐性を示す *Salmonella Infantis* がプロイラー農場から分離されるが、*S. Infantis* の分離された 24 農場における抗菌性物質の使用状況を調査したところ、3 農場で抗菌剤が使用され、耐性パターンに含まれるトリメトプリムが使用されていたのは、1 農場のみであった。TC-SM 耐性 *S. Infantis* は、1997 年以降鶏肉から分離されるサルモネラで優勢になり、長期間分離され続けている。前述のように抗菌剤の使用実態調査で、ABPC、OTC、DSM あるいは TMP に対する耐性大腸菌が分離された農場のうち、半年以内に抗菌剤を使用していない農場は、30 ~ 40% であった

(図 2)。また、EM あるいは ERFX に対する耐性カンピロバクターが分離された農場のうち、半年以内の抗菌剤を使用していない農場は、20% 程度であった (図 3)。これらの成績から、抗菌剤の使用と関係のない耐性菌の農場内循環 (継続的な感染) や外部から農場への侵入・定着の可能性も考えられ、単に抗菌剤の使用をコントロールするだけではなく、“家畜衛生” 面の対策も強化していく必要がある。

4. 使用中止抗菌剤における耐性菌の分布 — クロラムフェニコール耐性を例に —

抗菌剤耐性菌の割合が増加する要因として、抗菌性物質の使用による選択圧が知られている。実際、病畜から分離された大腸菌の各種抗菌剤に対する耐性率は、健康家畜のものに比べて高い。しかし、前述のようにある抗菌剤に対する耐性菌は、その抗菌剤を使用していなくても、ある程度は分布する。また、その抗菌剤の使用を中止しても、継続して分布している。そこで、1998 年以降、食用動物で使用されていないクロラムフェニコール (CP) に対する耐性菌の現状を紹介する。

健康動物から分離された大腸菌の CP 耐性は、1999 年では牛由来株の 3.1% で、豚由来株の 22.3% であった [7]。1970 年代に行われた成績と比べて、牛では明らかな減少が見られるが、豚では大きな変動は見られていない。一方、2001 ~ 2003 年に病畜から分離された大腸菌では、牛由来株の 43.2% および豚由来株の 36.1% で CP 耐性株が認められた [5]。CP 耐性株が分布する要因として、同系統の抗菌剤であるチアンフェニコール (TP) やフロルフェニコール (FFC) の影響が考えられるが、TP に比べて FFC の流通量は少なく、TP は、豚で約 10t (牛では約 0.03t) とされている。これらのことから、交差耐性 (cross-resistance) による影響は、豚に比べて牛では少ないものと推察される。

病畜由来株を対象に CP 耐性遺伝子の同定を行ったところ、牛 (*cat1* が中心) と豚 (*cat1* と *cmlA* が半々) では CP 耐性遺伝子の分布に違いが認められた (Harada K. et al, 投稿中)。これらの株で

は、牛由来株は ABPC, DSM, OTC および TMP に対する耐性率が高く、豚由来株は DSM および TMP に対する耐性率が高かった。これらの系統の抗菌剤は、治療用抗菌剤として使用量の多いものであることから、病畜における CP 耐性の増加は、共耐性 (co-resistance) による CP, TP および FFC 以外の抗菌剤の使用によって引き起こされていると考えられる。仮に、CP 耐性をコントロールする場合には、CP, TP および FFC だけではなく、他系統の抗菌剤による影響も念頭に置く必要があると考えられる。

5. 最後に

家畜由来の抗菌剤耐性菌において重要なものの代表としては、フルオロキノロン耐性カンピロバクター、多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium DT104、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) などが挙げられている [7]。また、これまでの全国調査で、これらの耐性菌は低率ではあるが、国内に分布していることが明らかとなっている [4, 6, 10]。耐性菌を農場から排除することは、畜種、飼養形態や規模、細菌の種類によって非常に難しい課題となる。一方、これらの耐性菌が国内に出現し、定着する過程で抗菌剤が関与した可能性は、否定できない。そのため、耐性菌の出現や分布をコントロールしていく上で、抗菌剤耐性菌や抗菌剤使用に関するモニタリングを継続していくと共に、抗菌剤の慎重使用が重要となる [11]。そのためには、生産者などへの啓蒙活動や各種臨床分野の獣医師との情報の共有化を積極的に進めることが重要である。また、抗菌性物質の慎重使用だけでは、耐性菌のコントロールは困難であるため、防疫対策を含めた家畜衛生的な飼養管理技術面での啓蒙も併せて行わなければならない。

抗菌剤耐性菌や抗菌剤使用に関するモニタリングは、全国の家畜保健衛生所との共同研究によって行われたものである。また、データの解析は、動物医薬品検査所において、高橋敏雄、小島明美、原田和記、石原加奈子 (現 農水省・消費・安全局)、田村 豊 (現 酪農学園大) と共同で実施した。

要 約

動物用抗菌剤は動物の健康を維持する上で重要な生産資材であるが、抗菌剤耐性菌を誘発する選択圧として働く場合がある。耐性菌の出現は、獣医臨床現場での抗菌剤による治療効果を低下させると共に、食物連鎖を介して、人の細菌感染症の治療を困難にするという危険性ははらんでいる。このような点から、食用動物における抗菌剤耐性は、動物の健康や福祉に関わる問題であり、公衆衛生上の問題としてとらえられている。JVARM (Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System) は 1999 年から開始され、動物病原菌、指標細菌および食中毒菌を調査対象として抗菌剤感受性を調べている。

全国レベルにおける各種抗菌性物質の販売量と耐性率との関係について解析を試みた。国内で使用量の多い抗菌剤に対して、抗菌剤耐性大腸菌が高頻度に出現している傾向が認められ、抗菌性物質の使用量と耐性率は、全ての動物種で相関していた。一方、農場レベルにおける薬剤の使用歴と薬剤耐性菌の出現との関係では、薬剤耐性大腸菌およびカンピロバクターが分離された農場で、耐性に関係する薬剤が必ずしも使用されているわけではなかった。

今後も JVARM による抗菌剤耐性菌の動向や抗菌剤の使用状況のモニタリングを継続し、耐性菌の出現や伝播の防止に向けた取り組みに繋げていく必要がある。

参考文献

- 1) Esaki H, Asai T, Kojima A, Ishihara K, Morioka A, Tamura Y, Takahashi T: Antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica* isolates from cattle in Japan from 2001 to 2002. J Vet Med Sci. 67, 75-77 (2005)
- 2) Esaki H, Chiu CH, Kojima A, Ishihara K, Asai T, Tamura Y, Takahashi T: Comparison of fluoroquinolone resistance genes of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis isolates in Japan and Taiwan. Jpn J

- Infect Dis. 57, 287-288 (2004)
- 3) Esaki H, Morioka A, Ishihara K, Kojima A, Shiroki S, Tamura Y, Takahashi T: Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated from cattle, swine and poultry (2001-2002): report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. J Antimicrob Chemother. 53, 266-270 (2004)
 - 4) Esaki H, Morioka A, Kojima A, Ishihara K, Asai T, Tamura Y, Izumiya H, Terajima J, Watanabe H, Takahashi T: Epidemiological characterization of *Salmonella* Typhimurium DT104 prevalent among food-producing animals in the Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring program (1999-2001). Microbiol Immunol. 48, 553-556 (2004)
 - 5) Harada K, Asai T, Kojima A, Oda C, Ishihara K, Takahashi T: Antimicrobial susceptibility of pathogenic *Escherichia coli* isolated from sick cattle and pigs in Japan. J Vet Med Sci. 67, 997-1001 (2005)
 - 6) Ishihara K, Kira T, Ogikubo K, Morioka A, Kojima A, Kijima-Tanaka M, Takahashi T, Tamura Y: Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food-producing animals on farms (1999-2001) results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. Int J Antimicrob Agents. 24, 261-267 (2004)
 - 7) 泉谷秀昌, 渡辺治雄: 耐性菌の現状と問題点, 獣医畜産新報. 56, 828-832 (2003)
 - 8) Kijima-Tanaka M, Ishihara K, Morioka A, Kojima A, Ohzono T, Ogikubo K, Takahashi T, Tamura Y: A national surveillance of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from food-producing animals in Japan. J Antimicrob Chemother. 51, 447-51 (2003)
 - 9) Morioka A, Asai T, Ishihara K, Kojima A, Tamura Y, Takahashi T: *In vitro* activity of 24 antimicrobial agents against *Staphylococcus* and *Streptococcus* isolated from diseased animals in Japan. J Vet Med Sci. 67, 207-210 (2005)
 - 10) 高橋敏雄, 浅井鉄夫, 小島明美, 石原加奈子, 木島まゆみ, 守岡綾子, 江崎英剛, 田村 豊: 家畜由来細菌の抗菌剤感受性実態調査, 動薬検年報. 41, 63-67 (2004)
 - 11) 田村 豊: 動物用抗菌剤の使用動向と薬剤耐性菌対策—特に臨床獣医師の果たす役割について—, 日獣会誌. 56, 685-691 (2003)
 - 12) Tamura Y: The Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring system (JVARM). OIE international standards on antimicrobial resistance, 2003. 206-210 (2003)

Trial Analyses of Relationships between Therapeutic Use of Antimicrobials and Emergence of Resistance in Zoonotic and Indicator Bacteria in Japan

Tetsuo ASAI

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

Veterinary antimicrobial agents are essential for treatment of sick animals, but its use may lead to antimicrobial resistance. While this involved in the reducing efficiency of antimicrobial therapy, this represents a potential hazard to human medicine through food-borne infection. Emergence of antimicrobial resistances in food-producing animals is a great concern of public health throughout the world. Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System (JVARM) was formed in 1999 in order to monitor antimicrobial susceptibility of animal pathogens, indicator and zoonotic bacteria. Since 2001, veterinary use of antimicrobials has been monitored in JVARM.

We compared the overall usage of veterinary therapeutic antimicrobials in Japan, to the resistance profile of *Escherichia coli* isolated from the feces of apparently healthy food-producing animals. The antimicrobial resistance rates of the isolates are significantly correlated to the usage of antimicrobial agents in cattle, pig, broiler and layer production. On the other hand, in the investigation of the relationship between antimicrobial use on farms and antimicrobial resistance in *E. coli* and *Campylobacter jejuni/coli* in food-producing animals, antimicrobial usage is not closely related to the prevalence of antimicrobial-resistant bacteria.

We will continue to monitor antimicrobial resistance in targeted bacteria and usage of antimicrobials in food-producing animals in order to prevent emergence and dissemination of antimicrobial-resistant bacteria.

討 論 (座長：澤田拓士 日獣大, 高橋敏雄 動薬検)

質問 (藤倉孝夫, 日本シルバーボランティアズ)

家畜集団での抗菌剤耐性菌は、直接使われた抗菌剤によるもの以外にも、人間を介して抗菌剤を全く使われたことのない開発途上国の家畜集団へも伝播されているのではないかとと思われる研究資料もあるのでないか。また、このような研究も必要ではないか。

答 (浅井鉄夫)

非常に重要な点である。現実的に、国内にもセファロスポリン耐性 *Salmonella* Newport が家畜から分離されているが、米国などで分離されているものと酷似しているものである。どのようなルートで国内に侵入したかは不明であるが、国内の抗菌剤使用とは関連が低いのではと考えられる。また、英国では、多剤耐性サルモネラとして知られる *Salmonella* Typhimurium DT104 の比率が減少しているが、国内においても同様

の傾向が見られている。耐性菌の種類によっては、その分布状況は、抗菌剤の選択圧による影響だけで単純に説明できない。

質問 (佐藤静夫, 科学飼料研究所)

耐性菌の自然界における消長は、直接・間接的に人・家畜の耐性菌問題にリンクしていると思われるので、この面の検討も必要ではないか。

答 (浅井鉄夫)

自然界における耐性菌の実態調査は、非常に重要な問題と考えている。しかし、JVARM は、食用動物における抗菌性物質耐性に関するモニタリングシステムであるため、現状の JVARM の枠組で取り上げる課題となっていない。本研究会や大学などで、その分野の調査・研究が進展することを期待したい。