

食の安全・安心にかかわる最近の話題3

わが国の食用動物由来耐性菌対策と耐性菌の現状

Present situations and control measures of drug resistant bacteria originated from food-producing animals in Japan

たむら ゆたか
田村 豊
Yutaka TAMURA

はじめに

1928年にフレミングによって発見されたペニシリンは、感染症治療の切り札として利用され、その後開発された多くの抗菌薬とともに“魔法の弾丸”と呼ばれた。抗菌薬は医学のみならず獣医学分野でも盛んに応用され、特に安価で安全な畜産物の安定的な生産に大きく貢献することになった。しかし、抗菌薬が汎用されることに伴い、薬剤耐性菌が出現・増加したことも歴史的事実として明らかなことである。近年、食用動物に使用される抗菌薬により出現する耐性菌が、食物連鎖を介してヒトの医療に影響することが懸念され、その封じ込めを検討するために多くの国際会議が開催されている¹⁾。当初は、食用動物への抗菌薬の使用が耐性菌を出現・増加させヒトの健康に影響する可能性は否定できないが、科学的な根拠は明らかでないとされた。しかし、最近開催された国際会議で菌種は限定されるものの、食用動物に使用される抗菌薬によって耐性菌が出現し、それによるヒトの健康に対する影響は明らかであると結論付けた²⁾。したがって、国際機関ではすでに食用動物由来耐性菌のヒトに対するリスクは明らかであり、そのリスク低減のためのリスク管理の時代に突入している。このような国際的な動きを受け、わが国でも家畜衛生分野における薬剤耐性モニタリング制度の発足、動物用抗菌薬や抗菌性飼料添加物のヒトの健康への影響に対するリスク評価の実施、そのリスクを低減化するリスク管理対策の実施などのさまざまな対策が実施されている。そこで今回は、

この問題に関する最近の国際情勢を述べるとともに、食用動物由来耐性菌に対するわが国の対応状況を紹介する。また、合わせて食用動物由来耐性菌の出現状況に関するわれわれの試験成績を紹介し、抗菌薬の慎重使用 (prudent use) の重要性を指摘したい。

I. 食用動物由来耐性菌をめぐる最近の国際情勢

1969年の「畜産および獣医療における抗生物質使用に関する共同委員会」の報告書³⁾、いわゆる“スワン・レポート”以来、食用動物における抗菌薬の使用に関連する耐性菌問題は、国際的な問題として取り上げられるようになった。その動きは、1990年代に入り、WHO (世界保健機関)、FAO (国連食糧農業機関)、OIE (国際獣疫事務局) などの国際機関がそれぞれ食用動物由来耐性菌に関する会議を開催したことで活発化し、2003年12月にFAO/OIE/WHOにより開催された「人以外への抗菌薬の使用と薬剤耐性に関する合同専門家会議」²⁾で食用動物における抗菌薬の使用がヒトの健康に影響する明らかな証拠があることが勧告され、国際的にリスク管理に向けた大きな動きへと繋がっている。OIEとWHOは、獣医療と医療の立場で、食用動物における抗菌薬の使用と食物連鎖を介した耐性菌のヒトへの伝播にともなう公衆衛生上の問題に積極的に取り組んできた。OIEは、2000年から食用動物における薬剤耐性に関するガイドラインの作成を開始し、抗菌薬消費量のサーベイランス、耐性菌に関するリスク分析、耐性菌に関するサーベイランス、抗菌薬の責任ある慎

重使用について「抗菌薬耐性に関する国際基準」⁴⁾を示し、公表以降も継続的に更新してきた。また、2012年に抗菌薬の代替物質、2013年に抗菌薬の慎重使用に関するシンポジウムを開催し、家畜衛生に関する国際機関として重要な役割を果たしている。

一方、WHOは、2000年6月に「食用動物における抗菌薬使用による耐性菌の封じ込めに関する国際的原則」⁵⁾を提唱して以来、前述のFAO/OIE/WHO合同専門家会議の開催では中心的な役割を果たし、2008年からAdvisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR)を組織して耐性菌を監視する方法の国際調和の促進を図っており、耐性菌問題に関する議論を重ねている。

II. わが国の食用動物由来耐性菌に対する対応

食用動物由来耐性菌のヒトの健康に対する影響が次第に明らかになるにつれ、国際機関で耐性菌の封じ込め対策が盛んに議論されるようになった。しかし、食用動物由来耐性菌のヒトの健康への影響が必ずしも明確に解明したわけではなく、WHO(1998)は耐性菌対策として以下の4点を勧告した⁶⁾。まず、①研究の推進、②薬剤耐性モニタリングの実施、③リスク評価の実施、④抗菌薬の慎重使用の励行である。そこで農林水産省は、WHOの勧告にしたがってすべての項目について対応している。以下に簡単に農林水産省の各項目に対する対応状況について説明したい。

1. 家畜衛生分野における薬剤耐性モニタリング体制(JVARM)の設立

食用動物由来耐性菌をめぐる国際動向を背景として、農林水産省は2000年から動物医薬品検査所を中心に全国の家畜保健衛生所とネットワークを構築し、家畜衛生分野における全国的な薬剤耐性調査を開始した。本モニタリング体制は、開始から14年を経過し、国内外にJVARM(Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program)として広く知られている(http://www.maff.go.jp/nval/tyosa_kenkyu/taiseiki/index.html)。JVARMでは、大きく3つのモニタリングを実施している。まず、食用動物における抗菌薬の使用量の調査として、実際の使用量ではないものの有効成分の純末換算量に

よる製造量または輸入量を明らかにし、動物種ごとの推定販売割合について調査している。また、野外流行株の調査として、全国の家畜保健衛生所で病性鑑定材料から分離した病原細菌を対象とした耐性菌調査を実施している。さらに、健康動物由来食品媒介性病原細菌(サルモネラとカンピロバクター)及び指標細菌(大腸菌と腸球菌)に関する耐性菌調査を実施している。最近、従来の農場でのモニタリングに加え、と畜場および食鳥処理場における調査を実施し、さらに精度の高いモニタリング方法を模索している。

2. 食品媒介性健康影響評価の実施

現在、内閣府の食品安全委員会において、農林水産省から諮問されている飼料添加物として指定されている抗菌薬およびそれと同系統の動物用医薬品の使用により選択される耐性菌と、新規の抗菌薬である動物用医薬品の承認又は再審査に際しての食品媒介性健康影響評価が実施されている。これは、いわゆるリスク評価といわれるもので、ヒトに対して危害因子となる食用動物由来耐性菌をハザードとして特定し、それについて農場での発生評価、ヒトへの曝露評価、それに影響評価を行って、ヒトの健康に対するリスクを推定している。食品安全委員会では、まず「家畜等への抗菌性物質の使用による選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針」(https://www.fsc.go.jp/senmon/hisiryou/taiseikin_hyoukasisin.pdf)を策定し、これに基づいてリスク評価が実施されている。本来なら精度の高い定量的なリスク評価が望ましいことながら、現在は他国と同様に定性的なリスク評価にとどまっている。その最大の理由はデータの不足であり、特にヒトにおける影響評価に関するデータが不十分とされている。これまでモネンシナトリウムなどの抗菌性飼料添加物26成分と抗菌性の動物用医薬品5成分の評価が終了している。動物用医薬品では、医療上最も重要な医薬品としてランク付けされている牛・豚・鶏用のフルオロキノロン薬の評価が終了し、「リスクの程度は中程度」とされた(<http://www.fsc.go.jp/fscis/evaluationDocument/show/kya20071024051>)。現在、フルオロキノロン薬と同じく最も重要な医薬品とされる牛・豚用の第三代セファロsporin薬であるセフチオフルのリスク評価が行われている。

3. リスク管理措置の設定

食品安全委員会によるリスク評価が終了すれば、農林水産省によりリスクの低減化対策が実施されることになる。食用動物に使用されるフルオロキノロン薬のリスク評価が終了したことを受け、農林水産省は「動物用抗菌性物質製剤のリスク管理措置策定指針」を発出した (<http://www.maff.go.jp/nval/risk/title.html>)。その目的は、畜水産動物に対する有効性と安全性の確保と、科学的知見に基づくリスク管理措置を策定することとされている。特に、ヒトの健康に対する悪影響を低減化することを最優先とすることである。このリスク管理策定指針に基づいて、牛・豚用フルオロキノロン薬のリスク管理措置について公表されている。具体的には、第二次選択薬として使用することを徹底すること、投与後一定期間内（3日程度）に効果判定を実施し効果が無い時は抗菌薬を変更すること、国および製造販売業者が実施する薬剤耐性モニタリングを充実することとされている。

4. 慎重使用のガイドラインの制定

薬剤耐性菌の出現要因として最も重要なことは、抗菌薬の過剰使用と誤用にあるとされている。したがって、抗菌薬の使用に関しては、OIE や CODEX などの国際機関や多くの国で指針が作成されている。OIE では、「獣医療における動物用抗菌薬の責任ある慎重使用」⁴⁾ を定めている。また CODEX では、責任ある慎重使用を推進するため、ガイダンス「抗菌薬耐性の最小化及び抑制のための実施規範」⁵⁾ を定めている。ここでいう慎重使用とは、もともと WHO で提唱されたもので、抗菌薬を使用すべきかどうかを十分に検討した上で、抗菌薬の適正使用により最大限の効果を上げ、耐性菌の選択を最小限に抑えるように使用することである。つまり、従来の適正使用より、さらに注意して抗菌薬を使うことを意味する。農林水産省は、2013年に畜産分野において抗菌薬を使用する際の獣医師及び生産者を中心とした責任ある慎重使用ガイドラインに相当する「畜産物生産における動物用抗菌性物質製剤の慎重使用に関する基本的な考え方」を発出した (http://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/yakuzi/pdf/prudent_use.pdf)。これによると、適切な飼養衛生管理による感染症予防、

適切な病性の把握及び診断、抗菌剤の選択及び使用、関係者間の情報の共有を基本とすることが示されている。

Ⅲ. わが国における抗菌薬の使用量と食用動物由来耐性菌の現状

JVARM が開始されることによって、食用動物における耐性菌の保有状況が次第に明らかになってきた (http://www.maff.go.jp/nval/tyosa_kenkyu/taiseiki/index.html)。そこで今回、抗菌薬の使用量とともに、健康動物由来カンピロバクターと大腸菌について、特に医療上最も重要とされるフルオロキノロン薬と第三世代セファロsporin薬の耐性状況について紹介したい。また、最近、われわれが報告したフルオロキノロン薬と第三世代セファロsporin薬を対象動物に投与した時の耐性菌出現状況を紹介する。

1. 抗菌性物質の使用量

図1を見ていただければわかるように、純末換算量として人体用抗菌薬は509トン使用されているのに対し、動物では医薬品として994トン、成長促進を目的とした抗菌性飼料添加物が168トン、農薬として371トンが使用されている。つまり、人体用の2倍量強の抗菌薬が動物に使用されていることになる。動物種別に使用量を見ると、医薬品としての抗菌薬の約500トンが豚に使用され、ついで養殖魚、ブロイラーが続いている（図2）。したがって、動

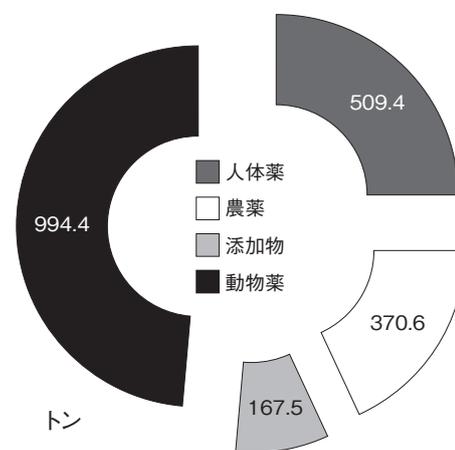


図1 抗菌薬の販売数量（2001と2002年の平均値）

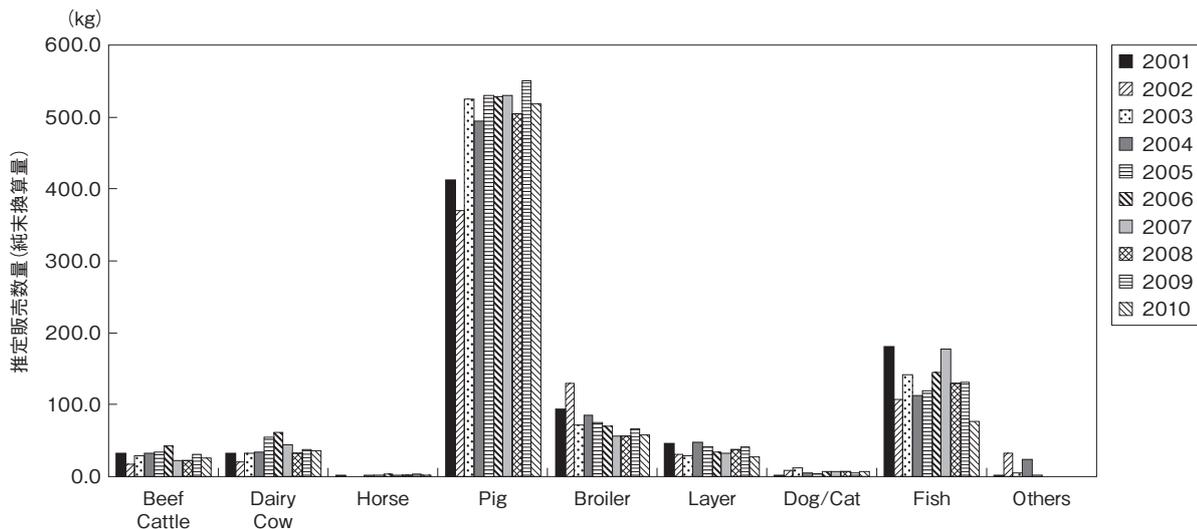


図2 動物種別抗菌薬の推定販売数量

〔各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量〕
(農林水産省)を改変

物に使用される抗菌薬の約50%が豚に使用されていることになり、後述の耐性菌の出現状況を見ると、その必要性について再検討する必要がある。

2. 健康食用動物由来カンピロバクターの薬剤耐性状況

カンピロバクターは、細菌性食中毒の起因菌として最も重要なものである。その内、起因菌の90%以上は *Campylobacter jejuni* であり、残りが *C.coli* であるとされている。両菌種はカンピロバクター食中毒起因菌として同等に取り扱われているが、図3で示されるように、健康動物から分離された両菌種の薬剤感受性は全く異なり同列に論議することはできない。*C.jejuni* の40%の株はオキシテトラサイクリン(OTC)に耐性を示し、約20%の株が動物専用のフルオロキノロン薬であるエンロフロキサシン(ERFX)に耐性を示している。*C.jejuni* による食中毒は、ほとんどが治療を必要としないものであるが、重症例ではマクロライド系抗生物質が第一選択薬となる。図でも明らかなように、健康動物由来 *C.jejuni* では、1999年以來マクロライド系のエリスロマイシン(EM)に対する耐性株は全く認められていない。しかし、第二選択薬で使用されるフルオロキノロン薬に対して耐性株が認められ、年ごとに上昇傾向が伺えることが懸念される。なお、わが国の *C.jejuni* のEMおよびERFXに対する耐性状況は、他国と比べ突出したものでなくアメリカとほぼ同じ

傾向にあるとされている。

一方、*C.coli* の多くの株はEMを含む調査したすべての抗菌薬に対して耐性を示し、特にOTCに対して高い耐性率を示している。*C.coli* は主に豚から分離されるカンピロバクターであり、先に述べたように豚に対して抗菌薬が汎用されていることとの関連が示唆される。また、*C.jejuni* と同様にERFXに対する耐性率が年々上昇する傾向が伺える。

3. 健康家畜由来大腸菌の薬剤耐性状況

腸管に常在する大腸菌は、常に生体内に生息しており、抗菌薬曝露の指標となるとされている。そこで牛、豚、産卵鳥(レイヤー)、肉養鶏(ブロイラー)の糞便から分離した大腸菌のフルオロキノロン薬と第三世代セファロスポリン薬に対する薬剤感受性を調べた。図4に示されているようにブロイラー由来株は、ナリジクス酸やフルオロキノロン薬に対して他の動物由来株より高い耐性率を示している。

一方、ブロイラー由来株のセファゾリンやセフトキシムに対する耐性率はさらに顕著で、2002年ころから急激に増加し、2011年には約20%に達している。この傾向は牛、レイヤーや豚由来大腸菌に比べても極めて特異的な傾向にあり、他国での同様の現象を考え合わせれば特別な理由の存在が伺えた。鶏に対してセファロスポリン薬は承認されておらず、一般的に高価であることから経済性からも使用は考えられない。そこで調査したところ、利便性

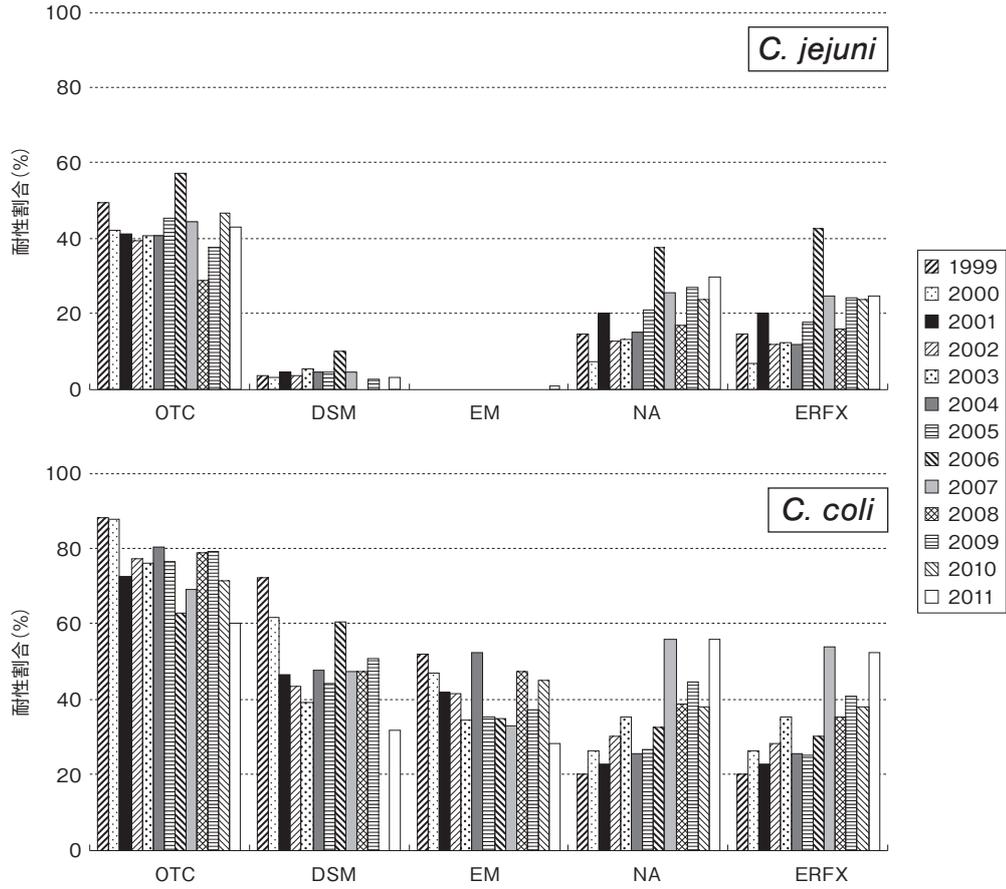


図3 健康食用動物由来カンピロバクターの薬剤耐性状況

OTC：オキシテトラサイクリン，DSM：ジヒドロストレプトマイシン，EM：エリスロマイシン，NA：ナリジクス酸，ERFX：エンロフロキサシン

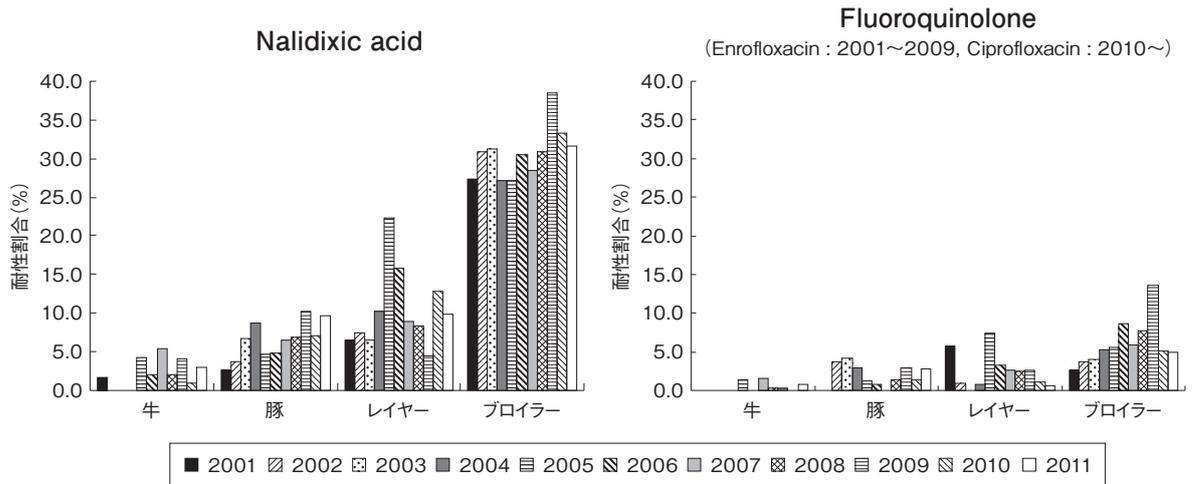


図4 由来動物種別大腸菌に対するキノロン薬の耐性率

フルオロキノロン薬としてエンロフロキサシンとシプロフロキサシンが使用されているが、両薬の同等性は確認されている。

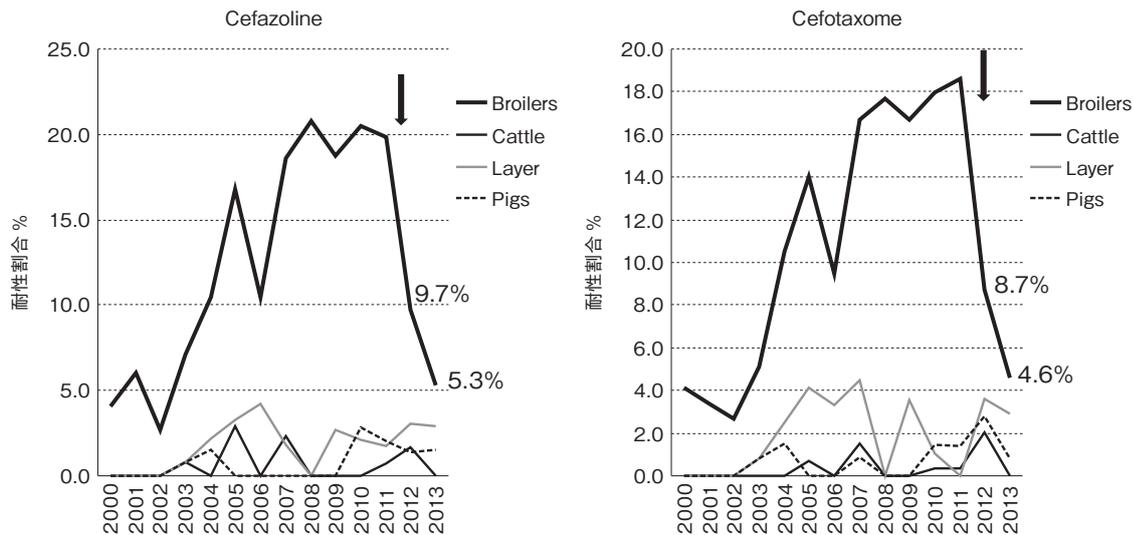


図5 食用動物由来大腸菌のセファロスポリン耐性の推移

↓: 2012年3月に農林水産省の指導により養鶏団体が自主規制

から汎用されているワクチンの卵内自動接種システムにおいて、消毒薬代わりにワクチンに動物用第三世代セファロスポリン薬のセフチオフルを混入する実態が明らかになった。自動化による卵内自動接種システムとは、発育鶏卵中の胎児はすでに免疫応答するとの報告から開発されたもので、発育鶏卵中の胎児にワクチンを接種するものである。そこで2012年3月に農林水産省の指導により養鶏団体が自主的に使用を規制した。その結果、2013年にはベースラインである約5%まで耐性率が低下している。この事例は、抗菌薬の過剰使用・誤用が如何に耐性菌の増加に影響しているかを明らかにするとともに、責任ある慎重使用の重要性を示した。なお、この傾向はカナダにおいても同様であることが報告されている。

4. 食用動物における抗菌薬使用による耐性菌の出現と伝播

抗菌薬を承認された用法用量で使用した場合、耐性菌の出現状況はどのようなものであろうか。また、耐性菌はどのように動物間を伝播するものであろうか。この問題を明らかにするため、われわれは医療上重要なフルオロキノロン薬あるいは第三世代セファロスポリン薬を対象動物に用法用量に準拠して投与する動物実験を実施したので紹介したい。

まず、SPF鶏の18日齢と23日齢時に *C.jejuni* の 10^7 および 10^8 CFU/ml を2回経口感染させ、32日齢時に ERFX を用法用量に準拠して 50ppm、3日間連

続投与したところ、投薬終了直後から *gryA* 遺伝子の Asp-90-Asn の点変異を伴った ERFX 耐性 *C.jejuni* が急速かつ高頻度に出現した⁷⁾。このことは ERFX の承認された用法用量であっても、鶏における *C.jejuni* 耐性株の出現は避けられないことを示している。次に18日齢の豚に ERFX 5.0mg/kg を筋肉内、あるいはノルフロキサシン 5.0mg/kg の経口投与を5日間行ったところ、投与3～4日後にフルオロキノロン耐性カンピロバクターが分離され、少なくとも投与26日後まで続いた⁸⁾ (図6B)。一方、フルオロキノロン感受性株はフルオロキノロン薬の投与により一過性に減少したが、投与終了後には投与前の菌数に復帰した (図6A)。その後、群飼育がフルオロキノロン耐性カンピロバクターの伝播に及ぼす影響を明らかにするため、無処置対照豚5頭にフルオロキノロン耐性カンピロバクター保有豚1頭を同居させたところ、同居3日後にすべての豚からフルオロキノロン耐性菌が分離された⁸⁾ (図7)。加えて豚舎環境からもフルオロキノロン耐性カンピロバクターが分離された。このことは、豚にフルオロキノロン薬を用法用量に準じて投与しても、フルオロキノロン耐性カンピロバクターを選択し、群飼育により豚舎環境を介して群内に急速に拡散することが明らかになった。

一方、牛にセフチオフルを投与し、セファロスポリン耐性菌の発生状況を調べた。セフチオフル投与歴のない難治性肺炎や産褥熱の牛20頭にセフチオ

フル1～2mg/kgを3日間投与したところ、2頭から *bla*_{CTX-M2} または *bla*_{CTX-M14} を保有するセフトロフル耐性大腸菌が検出された⁹⁾。このことはセフトロフルの用法用量に準拠した使用はセファロスポリン耐性株を選択する可能性を示した。

おわりに

これまで国際機関では、食用動物由来耐性菌のヒトの健康に対する影響は明らかでないとされており、リスク評価の重要性が指摘されてきた。しかし、今回ご紹介したように限定された成績であるものの耐性菌に係る FAO/OIE/WHO が共催する国際会議で、すでに食用動物由来耐性菌にヒトの健康に対するリスクがあるとされたことは重要な意味を持つ。つまり、国際機関では、この問題に対するリスク評価からリスク管理の時代に移行しつつあることを示している。当然、わが国においても今後のリスク評価結果次第では、リスク管理対策として動物用抗菌薬の使用制限や禁止措置が取られる可能性のあることを示している。実際、今回お示した JVARM の成績のように、わが国で飼育される食用動物から医療上重要視されるフルオロキノロン薬や第三世代セファロスポリン薬に対する耐性菌が出現し、増加傾向にあることが懸念されている。

これまで農林水産省は、WHO による耐性菌対策による勧告に対して真摯に対応し、耐性菌を制御するためのあらゆる方策を講じてきた。今回紹介したように、先進国から遅れたものの、JVARM を設立し畜産現場における耐性菌の出現動向を監視するシステムを確立している。また、食品安全委員会では、抗菌性飼料添加物や抗菌性医薬品の食品媒介性リス

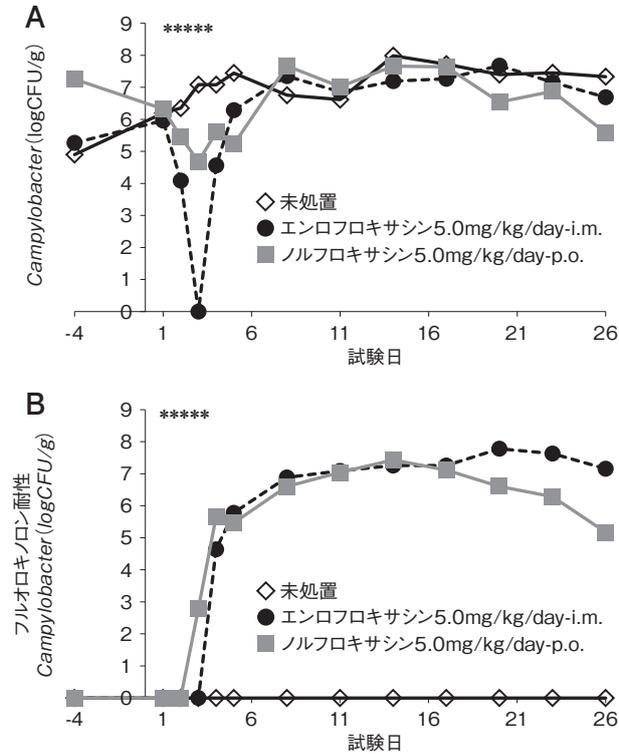


図6 フルオロキノロン投与豚における耐性カンピロバクターの推移
 一群5頭の豚を使用。*:フルオロキノロン薬の投与

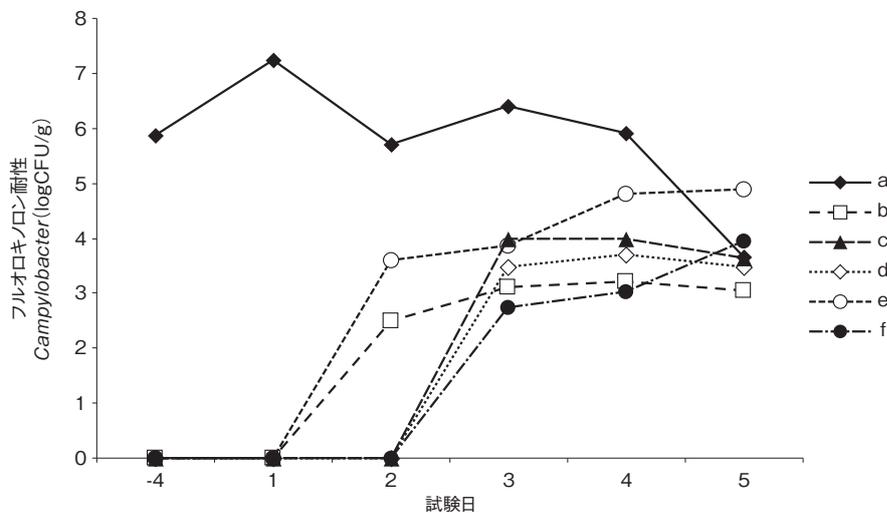


図7 フルオロキノロン耐性カンピロバクター保有豚による耐性菌の伝播
 フルオロキノロン耐性菌保有豚(a)と無処置対照豚(b,c,d,e,f)を同居

ク評価を順次進めている。特に最近、フルオロキノロン薬のリスク評価を終了し、リスクの程度は「中程度」とされたことは特筆に値することである。このリスク評価結果を基に農林水産省で実施されるリスク管理方策についても紹介した。幸いに使用制限がかかることなく今後も使用できることは、獣医療にとって抗菌化学療法の“最後の砦”を残せた意義は大きい。現在、牛と豚に最も使用される第三世代セファロスポリン薬であるセフトオフルのリスク評価が進行中であり、この評価結果の成り行きも注目される。

一方、今回、フルオロキノロン薬やセフトオフルを用法用量に準拠して投与した食用動物における耐性菌の出現状況を調べたわれわれの成績を紹介した。いずれの抗菌薬も適正使用したにもかかわらず耐性菌を選択しており、また耐性菌保有豚が速やかに同居豚へ耐性菌を伝播する実態も明らかにした。したがって、臨床獣医師はどのような抗菌薬であっても、使用すれば必ず耐性菌を選択することを念頭に、抗菌薬の効果を最大限にし、耐性菌の出現を最小化する投与を考えるべきである。その意味で、農林水産省が抗菌薬の責任ある慎重使用の考え方を提示したことは適時を得た対応であり、新規の抗菌薬が開発されにくい現在において、既存抗菌薬を末長く使用するためにも、すべての臨床獣医師が抗菌薬の使用に当たってこの考え方を順守することをお願いしたい。

文 献

- 1) 田村 豊：抗菌性飼料添加物に対する世界の規制動向、動物用抗菌剤研究会報. 2003 ; 25 : 15-22.
- 2) FAO/OIE/WHO : Joint FAO/OIE/WHO expert workshop on non-human antimicrobial usage and antimicrobial resistance : scientific assessment, Geneva, December 1-5, 2003.
- 3) Suwan report : 英国における家畜用抗生物質の使用とその問題点, 動物用抗菌剤研究会報. 2013 ; 35 : 39-92.
- 4) OIE : OIE international standards on antimicrobial resistance, 2003.
- 5) WHO : WHO Global principals for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food, Geneva, June 5-9, 2000.
- 6) WHO : Use of quinolones in food animals and potential impact on human health, Report and proceedings of a WHO meeting, Geneva, June 2-5, 1998.
- 7) Takahashi K, Ishihara K, Kojima A, Asai T, Harada K, Tamura Y : Emergence of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* in chickens exposed to enrofloxacin treatment at the inherent dosage licensed in Japan, *J. Vet Med B.* 2005 ; 52 : 460-464.
- 8) Usui M, Sakemi Y, Uchida I, Tamura Y : Effects of fluoroquinolone treatment and group housing of pigs on the selection and spread of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter*. *Veterinary Microbiology.* 2014 ; 170 : 448-441.
- 9) Sato T, Okubo T, Usui M, Yokota S, Tamura Y : Association of veterinary third-generation cephalosporin use with the risk of emergence of extended-spectrum-cephalosporin resistance in *Escherichia coli* from dairy cattle in Japan, *PLoS ONE* 9 : e96101, 2014.