

安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業

「動物用抗菌剤の使用によるリスクを低減するための研究」

令和3年度 最終年度報告書

課題番号	17935699
課題名	動物用抗菌剤の使用によるリスクを低減するための研究

研究実施期間	平成29年度～令和3年度（5年間）
代表機関	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
研究総括者	小林創太
研究総括者 連絡先	TEL : 029-838-7753
	FAX : 029-838-7880（代表）
	E-mail : sotaco@affrc.go.jp
共同研究機関	東京大学 大学院農学生命科学研究科
	学校法人 酪農学園（酪農学園大学）
	一般財団法人 生物科学安全研究所
	国立大学法人 宮崎大学（～令和元年度）

＜別紙様式3＞最終年度報告書

1 研究目的

平成28年4月に公表された薬剤耐性対策行動計画では、畜産分野においても家畜由来の薬剤耐性菌の出現リスクを減らすために、家畜生産現場での抗菌薬使用の低減を推進していくこととされた。しかしながら、抗菌薬の使用を必要量以下に低減した場合、下痢や肺炎などの発生が増加し、生産性が大きく低下する恐れがある。したがって、家畜における抗菌薬の使用実態の解明、家畜飼養環境中の抗菌薬および薬剤耐性菌汚染の実態解明、薬剤耐性菌の性状解析、検査手法の開発等が必要である。

このため、本研究では以下に示す3つの小課題に取り組む。

1. 薬剤耐性菌の発生・伝播機序および危害要因の特定
2. 薬剤耐性菌の迅速検出技術の開発
3. 抗菌薬の使用中止による耐性率の変化の解明

その結果、以下の成果が期待される。

1. 様々な養豚農場における抗菌薬等の使用実態や衛生管理実態が明らかとなることに加え、薬剤耐性菌の発生や豚肉の生産成績に及ぼす抗菌薬投与の影響が明らかになる。
2. 家畜の生産現場で流行している薬剤耐性大腸菌、腐蝕病菌、マイコプラズマの簡易迅速な検出技術や薬剤耐性判別技術が開発される。
3. 養豚や養鶏場における抗菌薬の使用中止が常在菌の薬剤耐性率、腸内フローラの組成、生産性に及ぼす影響等が明らかになる。

2 研究内容

(1) 研究課題

1) 小課題1：薬剤耐性菌の発生・伝播機序および危害要因の特定

さまざまな養豚農場における抗菌薬等の使用実態や衛生管理実態を調査するとともに、抗菌薬や薬剤耐性菌による汚染実態を解明する。また、医薬品の使用実績や衛生管理手法が、薬剤耐性菌の発生や豚肉の生産性に及ぼす影響の分析・評価を実施する。

(ア) 養豚農場における抗菌剤使用の実態評価システムの構築および生産性への影響解明（実行課題1110）

畜産分野での抗菌剤使用量は養豚分野が高いが、現状の使用量は薬品会社の販売実績に基づく算出が基礎となっている。一方、養豚農場で実際に使用された抗菌剤の種類と量を正確に評価し、薬剤使用量が農場の生産性に与える影響を明らかにすることが急務である。そこで本課題では、養豚獣医師の協力のもと、養豚農場における抗菌剤使用実態を評価するシステム（PigINFO Bio）を構築する。また、現行の薬剤使用量と生産性の関連を横断的に評価するとともに、特定の抗菌剤を中止した場合の生産性の変動を経時的に評価する。

(イ) 養豚農場における抗菌薬等使用量の測定方法の開発および衛生管理実態との関連の解明（実行課題1120）

農場における抗菌剤使用量の測定方法については、ヨーロッパの一部の国では、農場間の比較とともに家畜への曝露の度合いを正確に測定することを目的として、さまざまな測定方法（指標）が開発されている。これに対し、日本では家畜バイオマス又は母豚1頭当たりの有効成分処方重量による測定が試みられてきたが、この方法では抗菌剤の用量などが考慮されず、曝露の度合いを正確に測定できない。そこで本課題では、日本の養豚農場におけるデータの入手可能性を考慮しつつ最適な抗菌剤使用量の測定方法の開発を試みる。

(ウ) 家畜の飼養環境における抗菌薬汚染の実態解明（実行課題1130）

近年、環境中に存在する低濃度の抗菌剤や、それらと重金属やその他の化学物質が複合的に影響して薬剤耐性菌を出現させていることが報告されているが、畜産環境における耐性菌の出現や維持へのそれらの関与は不明である。そこで本課題では、養豚の排せつ物処理過程における抗菌剤と薬剤耐性菌の動態を解明する。具体的には、実農場でのモニタリング調査やラボスケールの模擬実験により、汚水処理やたい肥製造時の抗菌剤等の移動・分解・除去動態を化学・機器分析による個別抗菌剤の定量分析結果などから解析し、現状での排出制御ポイントを明らかにすると共に、追加の排出制御の必要性の有無などを確認する。また、排せつ物処理過程に残存する抗菌剤が薬剤耐性菌の選択と維持に及ぼす影響を解析する。

(エ) 畜舎空気中の薬剤耐性菌汚染の実態解明（実行課題1140：令和元年度まで）

畜舎内のエアロゾルには、様々な微生物が付着して畜舎内外に拡散している。そのためエアロゾルに薬剤耐性菌が含まれていた場合、家畜、作業員、周辺環境への伝播が懸念される。しかし、国内では、畜舎エアロゾル中に含まれる細菌種やその薬剤耐性状況についての知見が少ない。そこで本課題では、畜舎空気中に含まれる細菌種を同定し、その薬剤耐性状況を明らかにする。

2) 小課題2：薬剤耐性菌の迅速検出技術の開発

大腸菌、マイコプラズマ、腐蝕病菌について、家畜生産現場で流行している菌株の血清型、病原遺伝子等性状解析を行うとともに、治療等に際して適切な抗菌剤の選択をするための簡易、迅速な薬剤耐性判別技術を開発する。

(ア) 家畜の下痢原性大腸菌の特性解明と迅速検出技術の開発（実行課題：1210）

大腸菌性の下痢は新生期や離乳後に多発し、死亡や発育不良を引き起こす。しかしながら、現状では国内の豚や牛における下痢原性大腸菌の分布や性状が十分に解明されていないため、本菌による農場汚染の拡散を効果的に防止できていない。そこで本課題では、国内で分離された下痢原性大腸菌の特性を解析することにより、家畜に広がる下痢原性大腸菌の全容、すなわち遺伝学的系統と各特性の関連を明らかにする。また、代表的な分離株について全ゲノム解析を行い、菌の系統と薬剤耐性の関連を整理し、マルチプレックスPCRを用いて薬剤耐性リスクの高い大腸菌を迅速かつ簡便に判別する検査法を開発する。

(イ) マイコプラズマの特性解明と簡易迅速な薬剤耐性判別技術の開発（実行課題1220）

マイコプラズマは強い伝染力を示し、重篤な症状を伴う難治性牛疾病を引き起こすことがあるが、その一因として、一部の薬剤に対する感受性低下が考えられる。薬剤感受性を確認するには2～3週間程度を要するため、有効薬剤を確認した上での治療が不可能である。そこで本課題では、本疾病の効果的に治療を可能にする簡易迅

速な薬剤耐性判別技術（簡易法）を開発する。

(ウ) 養蜂における薬剤耐性菌発生実態の解明（実行課題1230）

ミツバチの腐蝕病の予防や治療には抗生物質が使われることがあるが、海外では耐性菌の出現が問題になっている。日本でもマクロライド（ミノサイクリンとタイロシン）がアメリカ腐蝕病予防薬として使われてきたが、国内の腐蝕病菌の薬剤耐性化の実態や耐性菌の出現リスクについてはほとんど調査・研究が行われていない。そこで本課題では、我が国の腐蝕病菌の薬剤耐性化状況を把握するとともに、蜂群の腐蝕病菌および薬剤耐性遺伝子汚染の迅速検出技術を開発する。

3) 小課題3：抗菌剤の使用中止による耐性率の変化の解明

養豚や養鶏農場における抗菌剤の使用中止が薬剤耐性率の変化へ及ぼす影響について、大腸菌等を指標菌として解明する。

(ア) 抗菌剤の投与が腸内フローラと薬剤耐性遺伝子の分布に及ぼす影響の解明①（実行課題1310①）

薬剤耐性菌の出現リスクを減らすために、家畜生産現場における抗菌剤の使用量低減が強く求められている。しかし抗菌剤の使用量と薬剤耐性菌分離率との関連は十分明らかにされていない。また、農場において抗菌剤の使用を中止した後の薬剤耐性菌分布率等の変化については情報が少ない。そこで本課題では養豚農場において抗菌剤の投与や使用中止が耐性状況に及ぼす影響を明らかにする。

(イ) 抗菌剤の投与が腸内フローラと薬剤耐性遺伝子の分布に及ぼす影響の解明②（実行課題1310②：令和2～3年度のみ）

家畜の搬出後の畜舎は、通常、清掃・洗浄・消毒が実施され、相当の細菌数が低減していると考えられる。しかしながら、コンベンショナルな衛生管理下では、畜舎環境に残存している、もしくは空舎期間中の衛生対策の不備により外部から侵入する薬剤耐性菌が次ロットの家畜への伝播源になると考えられる。そこで本課題では、バイオセキュリティの異なる複数の施設において、衛生管理が環境中細菌の分布に与える効果とその経過における大腸菌の薬剤耐性状況を評価する。

(ウ) 豚農場における抗生物質使用中止による豚由来大腸菌耐性率への影響評価（実行課題1320）

薬剤耐性の発生およびその定着を防ぐために、抗生物質の使用を減らすことが求められる。しかし、抗生物質の使用中止が薬剤耐性率の変化（発生と定着）へ及ぼす影響について、直接的に証明したデータは少ない。そこで本課題では、特に使用量が多い抗生物質であるテトラサイクリン系抗生物質（ドキシサイクリン）、またコリスチンおよびフラボフォスホリポールについて使用および使用中止試験を行い、これらに対する耐性率の推移を明らかにする。さらに、分離された菌株の性状解析を行い、抗生物質の使用や使用中止が薬剤耐性率や薬剤耐性遺伝子保有率に及ぼす影響について明らかにし、疫学解析により定量化を試みる。

(エ) ブロイラー農場における抗菌剤使用中止が薬剤耐性率と生産性へ及ぼす影響の解明（実行課題1330）

ブロイラー農場においては、飼料中の栄養成分の利用促進を目的とした飼料添加物として、また細菌および原虫感染症の治療のために抗菌剤が用いられている。一方、生産性を確保しつつ薬剤耐性菌の発生リスクを低減させるために、養鶏場での抗菌剤の使用停止がもたらす影響を総合的に評価する必要がある。そこで本課題で

は、ブロイラー農場における抗菌剤使用あるいはその中止の、薬剤耐性率および生産性に与える影響を評価する。

(2) 達成目標

養豚農場における薬剤使用状況を評価するベンチマーキングシステムを確立し、抗菌剤使用と農場生産性の関連を解明する。また、養豚農場における抗菌剤使用量の正確な測定方法を開発する。

養豚農場において使用される抗菌剤の動態、豚由来大腸菌および畜舎空气中細菌の薬剤耐性の実態を解明する。

豚由来病原性大腸菌の性状を解明し、薬剤耐性大腸菌を迅速・簡便に判別する技術を開発する。牛由来マイコプラズマのゲノム情報を整備し、薬剤感受性と耐性化機構を解明するとともに、その薬剤耐性を迅速・簡便に検出する手法を開発する。国内の腐蛆病菌株の薬剤耐性状況および耐性化の機構を解明するとともに、薬剤耐性腐蛆病菌株の迅速検出法を開発する。

畜産農場における抗菌剤の投与や使用中止に伴う指標細菌の薬剤耐性率や生産性等に与える影響を解明する。

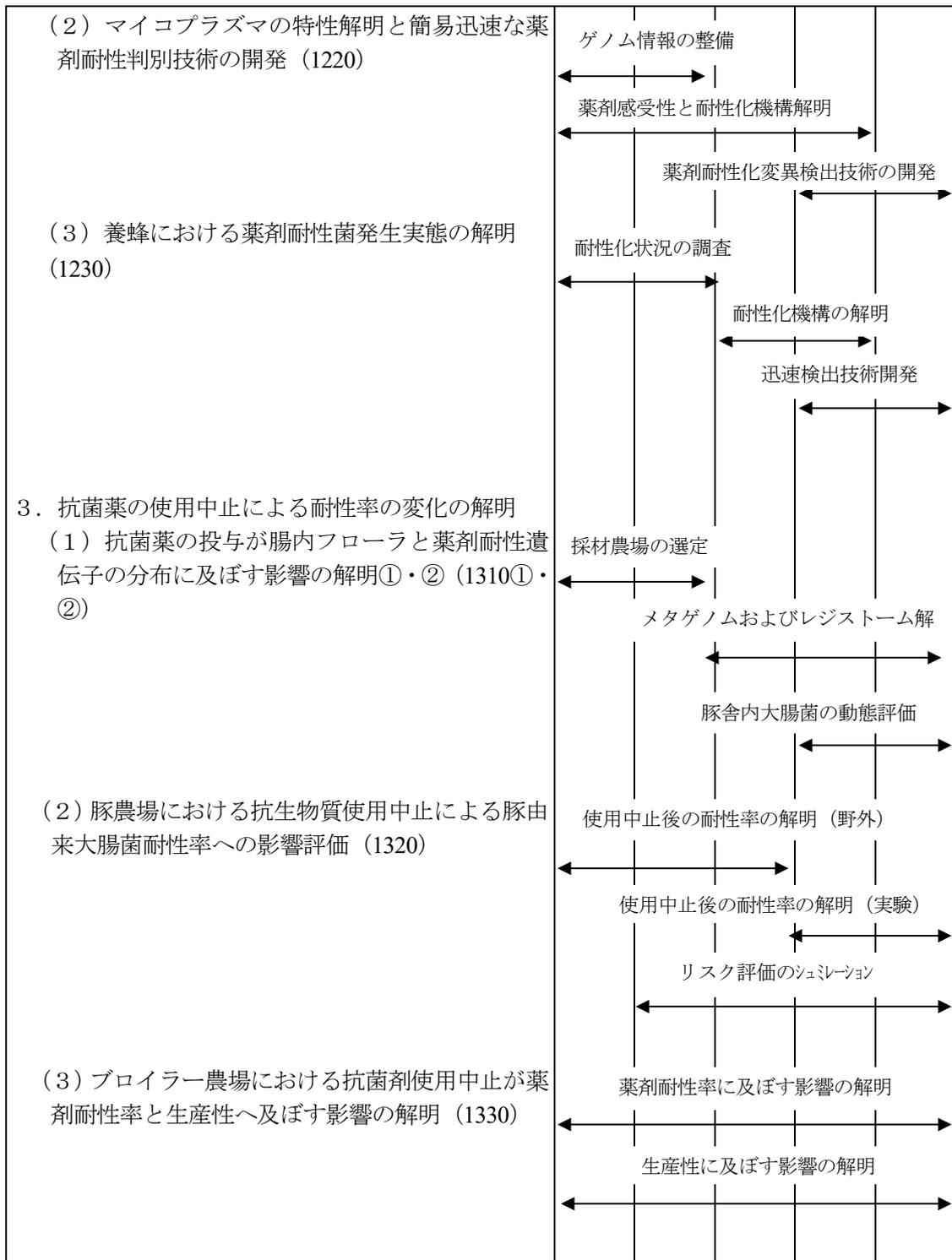
(3) 研究開発された成果の取扱い

小課題1および3に含まれる実行課題の研究成果は、指標細菌の薬剤耐性率を低下させるための政策立案のための基礎データとして利用される。学術雑誌や普及誌への投稿に加えて、運営委員会等を通して、行政機関と積極的な意見交換を行う。

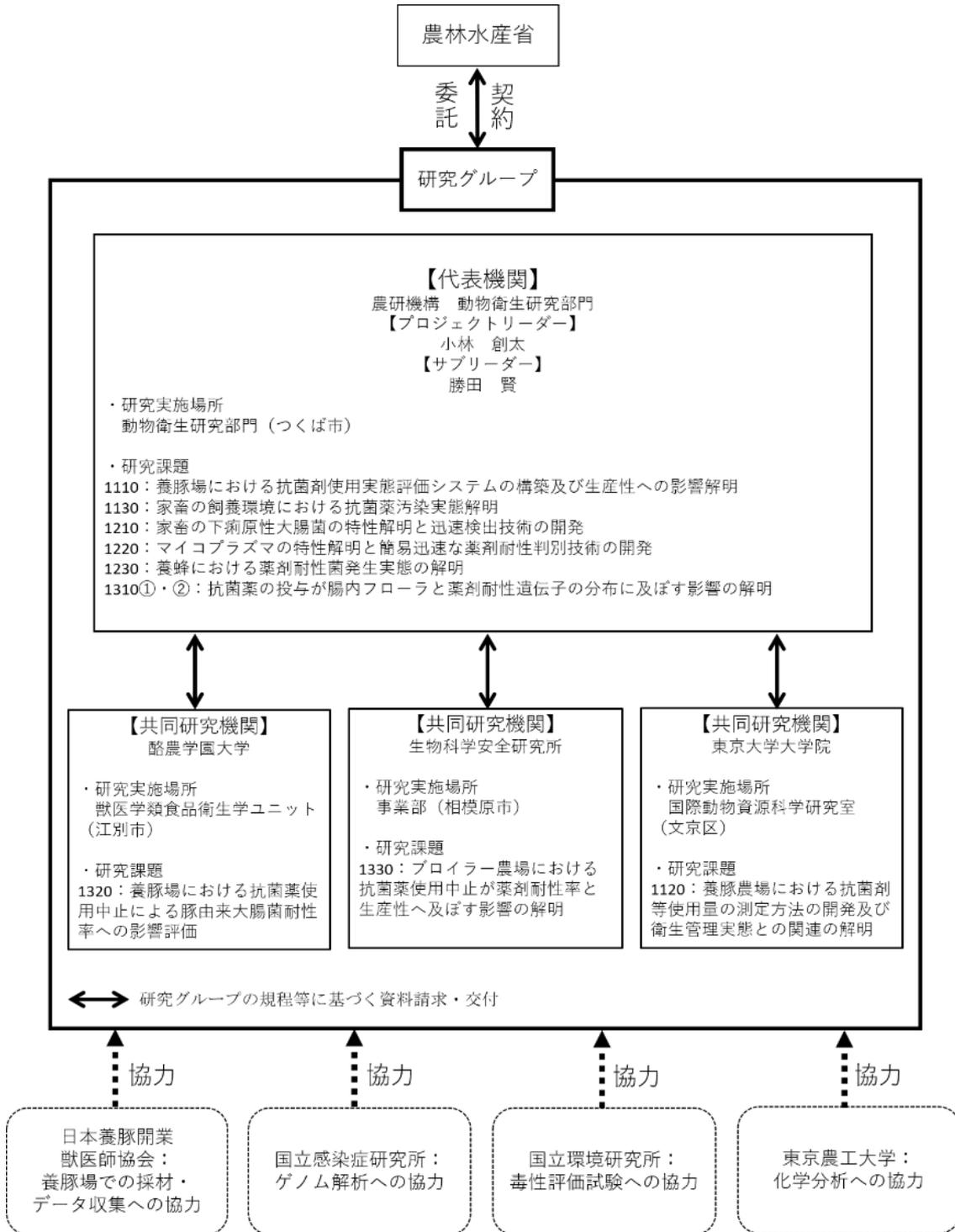
小課題2に含まれる実行課題の成果は、PCR法を基礎とした技術である。主なユーザーは全国の家畜保健衛生所の病性鑑定施設であり、これらの技術を普及するために、必要に応じて特許を取得の上、学術雑誌や普及誌で公表するとともに、農研機構動物衛生研究部門における各種研修を通じて家畜保健衛生所への普及を図る。高いニーズが見込める場合は試薬メーカー等の協力を得ながら簡易キットの開発を検討する。

(4) 年次計画

研究課題	研究年度				
	29	30	元	2	3
<p>1. 動物用抗菌剤の使用によるリスクを低減するための研究</p> <p>(1) 養豚農場における抗菌剤使用の実態評価システムの構築および生産性への影響解明 (1110)</p> <p>(2) 養豚農場における抗菌薬等使用量の測定方法の開発および衛生管理実態との関連の解明 (1120)</p> <p>(3) 家畜の飼養環境における抗菌薬汚染の実態解明 (1130)</p> <p>(4) 畜舎空気中の薬剤耐性菌汚染の実態解明 (1140) (令和元年度で終了)</p>					
	ベンチマーキングシステムの開発				
	生産性への影響解明				
	耐性菌発生リスクの調査				
	抗菌剤使用量の測定方法の開発				
	衛生管理実態の測定方法の開発				
	相関分析				
	畜産現場の抗菌剤の動態解明				
	環境サンプルの毒性評価				
	環境中大腸菌の薬剤耐性の解明				
	採材農場の選定 畜舎空気から菌分離				
	細菌叢解析				
	衛生管理の影響解析				
<p>2. 薬剤耐性菌の迅速検出技術の開発</p> <p>(1) 家畜の下痢原性大腸菌の特性解明と迅速検出技術の開発 (1210)</p>	豚由来大腸菌の性状解析				
	性状特異的な遺伝子の解析				
	マルチプレックスPCR系の開発				



(5) 研究体制



(6) 実施体制

研究項目	担当研究機関・研究室		研究担当者	エフォート (%)	
	機関	研究室			
研究開発責任者 1. 薬剤耐性菌の発生・伝播機序および危害要因の特定 (1) 養豚農場における抗菌剤使用の実態評価システムの構築および生産性への影響解明 (1110) (2) 養豚農場における抗菌剤等使用量の測定方法の開発および衛生管理実態との関連の解明 (1120) (3) 家畜の飼養環境における抗菌薬汚染の実態解明 (1130) (4) 畜舎空気中の薬剤耐性菌汚染の実態解明 (1140) (令和元年度で終了)	農研機構	動衛研 研究推進部	◎ 秋庭正人 (~2019.3)	40	
			動衛研 腸管病原菌グループ	◎ 小林創太 (2019.4~)	30
		農研機構	動衛研 腸管病原菌グループ	△ 山根逸郎	40
		東京大学大学院	国際動物資源科学研究室 (~2021.3) 持続可能な自然再生科学研究室 (2021.4~)	△ 杉浦勝明	20
		農研機構	動衛研 衛生管理グループ	△ 上垣隆一 (~2020.3)	20
				グルゲ キルティ・シ (~2020.3)	20
				△ グルゲ キルティ・シ (2020.4~)	前出
				上垣隆一 (2020.4~)	前出
				渡部真文	80
		農研機構	動衛研 病原機能解析ユニット (終了時)	△ 勝田賢 (~2019.3)	30
			勝田賢 (2019.4~)	前出	
			星野尾歌織	5	
			上野勇一	5	

2. 薬剤耐性菌の迅速検出技術の開発 (1) 家畜の下痢原性大腸菌の特性解明と迅速検出技術の開発 (1210) (2) マイコプラズマの特性解明と簡易迅速な薬剤耐性判別技術の開発 (1220) (3) 養蜂における薬剤耐性菌発生実態の解明 (1230)	宮崎大学	動衛研 寄生虫ユニット (終了時)	△ 小林創太 (2019.4～)	前出	
		産業動物衛生研究室	上村涼子	10	
	農研機構	動衛研 腸管病原菌グループ	△ 楠本正博	30	
	農研機構	動衛研 疾病対策部	△ 秦英司	40	
	農研機構	動衛研 細菌グループ	△ 高松大輔 岡本真理子 上野勇一	20 20 15	
		動衛研 疫学・昆虫媒介感染症グループ	大倉正稔	5	
	3. 抗菌薬の使用中止による耐性率の変化の解明 (1) 抗菌薬の投与が腸内フローラと薬剤耐性遺伝子の分布に及ぼす影響の解明①・② (1310①・②) (2) 豚農場における抗生物質使用中止による豚由来大腸菌耐性率への影響評価 (1320)	農研機構	動衛研 腸管病原菌グループ	△ 玉村雪乃 渡部綾子 岩田剛敏 小林創太 (2020.4～)	10 10 10 前出
			動衛研 研究推進部	秋庭正人	前出
			動衛研 衛生管理研究領域	勝田賢 (2020.4～)	前出
		酪農学園大学	食品衛生学ユニット	△ 田村豊 (~2020.3) △ 臼井優 (2002.4～) 臼井優 (~2020.3)	5 5 前出

(3) ブロイラー農場における抗菌剤使用中止が薬剤耐性率と生産性へ及ぼす影響の解明 (1330)	生物科学安全研究所	事業部	蒔田浩平	10
			△ 馬場光太郎	15

(注1) 研究総括者には◎、小課題責任者には○、実行課題責任者には△を付すこと。

(7) 各年度の研究費

平成 29 年度	71,000,000 円
平成 30 年度	59,000,000 円
平成 31 (令和元) 年度	50,691,000 円
令和 2 年度	45,621,000 円
令和 3 年度	38,614,000 円

3 研究成果の概要

(1) 主な成果

1) 成果の内容

養豚における抗菌剤使用量モニタリングに関する諸外国の先行事例等を参考に、国際水準に見合う我が国の抗菌剤使用量の測定指標を開発し、これまで国内で用いられてきた指標や欧州基準と比較し、その有用性を示した。またこの指標を用いた養豚農場における抗菌剤使用量評価システム (PigINFO Bio) を構築し、本事業期間中にのべ 900 戸超の養豚場に対してベンチマーキング結果を返却した。また、農場レベルの生産性指標と抗菌剤使用量との関連を分析し、ペニシリン系など、抗菌剤の種類によっては、その使用量が一定量を超えると生産性向上には寄与しない可能性があることを示した。また、複数の生産農場でテトラサイクリン系抗菌剤の使用を中止し、このことが生産性指標に影響を及ぼさないことを示した。

大腸菌、マイコプラズマおよび腐蝕病菌について、家畜生産現場で流行している菌株の血清型、病原遺伝子等の各種性状解析を行い、耐性菌の早期摘発や早期治療のために適切な抗菌剤の選択をするための簡易、迅速な薬剤耐性判別技術を確立した。

生産農場 10 戸を対象に、豚由来大腸菌における各種抗菌剤への耐性状況や、農場で使用される抗菌剤の排せつ物処理過程における動態を評価した。各農場におけるテトラサイクリン系抗菌剤の使用量と大腸菌のテトラサイクリン耐性率の間に正の相関が認められた。また、テトラサイクリン系抗菌剤の使用を中止した農場では、即時的な耐性率の低下は認められず、その理由として ST 合剤との共耐性が疑われた。そこで ST 合剤の使用も中止したところ、耐性率の低下が認められた。同様の評価は、豚舎内エアロゾル由来のブドウ球菌属についても実施した。さらに、より実験的な評価として、コリスチンやドキシサイクリン等の使用および使用中止試験を行い、豚由来大腸菌の耐性率の推移から、これらの投与が薬剤耐性大腸菌の選択圧となっていることを示した。また、フラボフォスホリポールの投与は、テトラサイクリン耐性遺伝子保有プラスミド

の生育や伝播に対して抑制的に作用し、テトラサイクリン耐性大腸菌数を減少させる可能性を示した。

排せつ物処理における抗菌剤の動態については、養豚場の排水処理において、原尿（未処理汚水）に残存する抗菌剤の概ね80%以上が除去・分解されるが、抗菌剤の種類によっては分解率が悪く見積られるものがあることを明らかにした。その際、残留抗菌剤の分解は主に活性汚泥中の微生物によるものであり、それに関連する曝気条件を実験的に示した。同様に、たい肥化過程における抗菌剤の分解に関与する条件も示した。

2) 成果の活用

本事業で開発した抗菌剤測定指標は国際水準に見合うものとなっている。本事業では協力ベースでの養豚場の抗菌剤使用量の実態把握を行ったが、今後は国レベルのモニタリングにも活用することができる。抗菌剤使用量の評価システムである PigINFO Bioについては、引き続き農場側の先進的な取り組みとして、抗菌剤使用量の把握や生産性指標も含めたデータに基づく削減目標の設定等への活用が期待される。

本事業で開発した薬剤耐性菌あるいは遺伝子の簡易迅速な検出法は、随時普及を図ることとしており、家畜衛生あるいは家畜臨床の現場において活用されることとなる。

農場あるいは実験的な評価から得られた豚由来大腸菌の耐性状況や、排せつ物処理における抗菌剤の動態の評価結果については、今後根拠に基づく対策を推進する観点から、その機序を解明すること、あるいは具体的な対策についての技術的な検証を行っていく際の基礎知見として活用することができる。

(2) 各研究課題の成果

1) 小課題1：薬剤耐性菌の発生・伝播機序および危害要因の特定

(ア) 研究目標

実行課題1110においては、養豚農場における医薬品使用状況のベンチマーキングシステム「PigINFO Bio」を構築するとともに、農場における抗菌剤使用量と生産指標との関係を解明する。また実行課題1120においては、我が国の養豚農場におけるデータの入手可能性を考慮しつつ最適な抗菌剤使用量の測定指標を開発し、PigINFO Bioに導入するとともにその有用性を評価する。さらに、この測定指標を用いて農場の飼養管理要因との関連を評価する。

実行課題1130では、養豚環境、特に排せつ物処理過程における抗菌剤の動態を解明し、農場外への排出制御に関する重要管理点を明らかにする。実行課題1140では、養豚農場の豚舎内空気中に分布する細菌の実態を明らかにし、薬剤耐性状況の評価する。

(イ) 研究内容

実行課題1110では、獣医師から農場における医薬品の使用データを定期的に収集してデータベース化するとともに、ベンチマーキングを実施した。また、実行課題1120と連携して確立したDefined Daily Dose (DDD) で標準化した抗菌剤使用量の指標（年間平均治療日数、以下、新指標）を開発し、生産農場10戸における抗菌剤使用量を、豚の生産ステージ別、投与経路別、また抗菌剤の系統別に測定するとともに、テトラサイクリン系抗菌剤の使用を中止した3戸において、中止前後の農場生産性指標の推移を評価した。実行課題1120では、DDDの日欧比較を行うとともに、従来の抗菌剤測定量である有効成分重量ベースの指標と新指標を比

較し、新指標の有用性を評価した。

実行課題1130と1140は、上記の国内養豚農場10戸における調査等を行った。実行課題1130では排せつ物処理（排水およびたい肥化）の各過程における抗菌剤の動態評価とラボスケールの模擬試験を行った。実行課題1140では、豚舎内空気を捕集し、優位細菌属の同定と薬剤感受性試験を実施した。また、テトラサイクリン系の使用を中止した2農場において、薬剤耐性状況のモニタリングを行った。

（ウ）研究結果

実行課題1110ではPigINFO Bioを構築し、2017-2021年の各年の抗菌剤使用に関するベンチマーキングの結果を、18名の獣医師およびのべ913戸の農場へ返却した。重点対象農場10戸の新指標は、最も少ない農場と最も多い農場との間で約20倍の差があり、使用される生産ステージの割合も大きく異なっていた。また、新指標が高いほど農場の離乳後事故率が低かったが、新指標が一定量（図1の「中グループ」）を超えるとそれ以上は下がらなかった。この傾向は、抗菌剤の系統別にみると、ペニシリン系、マクロライド系およびアミノグリコシド系で顕著であったが、テトラサイクリン系では認められなかった。なお、テトラサイクリン系の使用を中止した3農場においては、中止前後で離乳後事故率の有意な変動は認められなかった。

実行課題1120では諸外国の先行事例等を参考に、抗菌剤の選択圧をより正確に把握するべく、国内で豚への使用が承認されている271製品について、有効成分別、投与経路別および単剤／合剤別に60種の日本版のDDD（DDD.jp）を設定した¹⁾。このうちの42種について、欧州版DDD（DDDvet）と比較したところDDD.jpがDDDvetより低いものが34種あった。また、27種は用量比（QDDD）が<0.5あるいは>2、すなわち50%を超える乖離を示した（図2）。また、各系統の有効成分重量ベースの国内販売実績や実際の生産農場の抗菌剤購入データについて、それらをDDD.jpあるいはDDDvetで標準化したDDD.jp数およびDDDvet数を算出したところ、これらの年次推移は必ずしも一致しなかったことから、我が国独自のDDD.jpを設定した意義が示された^{2) 3)}。

実行課題1130では、養豚場の排水処理において、原尿（未処理污水）に残存する抗菌剤の概ね80%以上が除去・分解されることを示した。その際、残留抗菌剤の分解は主に活性汚泥中の微生物によるものであり、曝気条件、特に活性汚泥率や水温、曝気速度などが大きく影響していた。排水中の細菌数・大腸菌群数は汚泥・活性汚泥除去時に減少した。特に、膜分離法では放流水中の残存細菌数が極めて少なかった。また、たい肥化過程における抗菌剤の分解に関与する条件は、糞便鮮度や含水率、発酵温度などであることを示した。大腸菌は特殊な事例（発酵不足、こぼれたたい肥など）を除き、発酵熱により大幅に減少するため、たい肥からほとんど分離されないことが確認された。なお、排せつ物処理全体で見た場合、フルオロキノロン系、特にエンロフロキサシンやマルボフロキサシンなどは分解率が悪く見積もられており、これらは使用量の割に環境排出量が高くなるリスクを示唆しているため、排せつ物処理の観点からも慎重使用が求められる。

実行課題1140における調査より、豚舎内空気に含まれる有意菌はブドウ球菌属であることを示し、テトラサイクリン系抗菌剤の新指標に基づく使用量は、ブドウ球菌属の当該抗菌剤に対する耐性率と有意な正の相関があることを示した。

テトラサイクリン系の抗菌剤使用を中止した農場のうち、テトラサイクリン系の使用量が多く、それに対する耐性率も高かった1戸では、テトラサイクリン系使用中止後に有意なテトラサイクリン耐性率の低下を認めたが、使用量が相対的に少なく、耐性率も低かった別の1戸については、2年を経過しても耐性率は低減しなかった。

(エ) 研究成果の活用における留意点

本小課題で対象とした農場の多くは日本養豚開業獣医師協会の獣医師と契約している農場である。したがって、得られた結果は必ずしも日本の養豚農場全体を代表していないことに注意が必要である。抗菌剤動態の排せつ物処理過程における評価は、生産農場のモニタリング調査とラボスケールの模擬実験に基づいている。実際のリスク管理を検討するには、施設構造や運転条件の最適化、規制項目の基準達成などの観点から、ベンチスケール以上での実証が必要となる。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

採材等において近年の社会情勢の影響を受けたものの、本小課題の研究目標はほぼ達成できた。

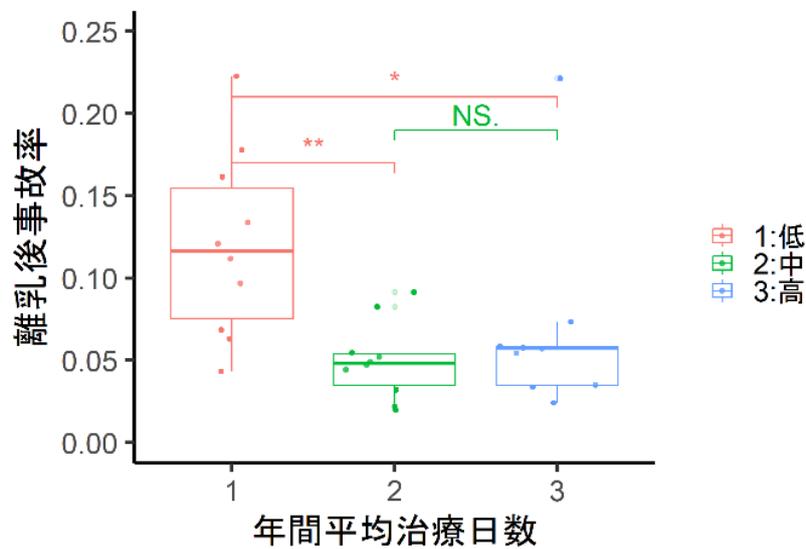


図1 離乳期以降の豚の抗菌剤使用量（年間平均治療日数、新指標）と離乳後事故率の関係

PCRプライマーを設計し、市販の遺伝子抽出キットを活用して乳汁サンプルから直接DNAを検出可能なPCR法（簡易法⁴⁾）を確立した。さらに、*M. bovis*による乳房炎罹患牛について、分離株の遺伝子型別、乳中*M. bovis*菌数、乳中体細胞数および白血球数を約一年間にわたりモニタリングし、感染実態を明らかにするとともに、自然治癒群と持続感染群の差異を評価した。

実行課題1230について、国内の腐蝕病菌株の薬剤耐性化状況を明らかにするため、日本各地で分離されたアメリカ腐蝕病菌（100株）とヨーロッパ腐蝕病菌（約80株）の薬剤感受性試験を行った。また、日本各地で採取された50ロット以上のハチミツにおけるマクロライド耐性遺伝子の保有状況を調査するとともに、腐蝕病菌および薬剤耐性遺伝子汚染の迅速検出技術を開発した。

（ウ）研究結果

実行課題1210では、豚に広がる下痢原性大腸菌全体の系統関係と、病原遺伝子や既知薬剤耐性遺伝子（79種類、のべ3,130個）の分布を明らかにした。また、多剤耐性の株が有意に保有する遺伝子として、薬剤感受性試験を行った21種類の抗菌剤のうち9剤以上耐性株の75%（12剤以上耐性株の95%）が一方または両方を保有する2つの遺伝子（ともに機能未知遺伝子）を同定した。リスクの高い特性に関連する遺伝子群として、①多剤耐性株が有意に保有する2つの遺伝子、②農場で注視すべき血清型または遺伝子型に関連する遺伝子、③主要な病原遺伝子、④すべての大腸菌が保有する遺伝子（陽性コントロール）をそれぞれ選抜し、マルチプレックスPCRのプライマー設計および条件検討を行い、リスクの高い下痢原性大腸菌の迅速検査法を確立した。

実行課題1220では、2000年以降に優勢遺伝子型となったST5群の*M. bovis*が、テトラサイクリン系抗菌剤、16員環マクロライド系抗菌剤に対し低感受性を示すことを明らかにし、種々の関連情報からこれらは北米や豪州由来であると推定された。これらの抗菌剤への低感受性化は、複数の遺伝子の点突然変異によることを明らかにした。それらを踏まえて本事業で開発した簡易法は、上記の低感受性化突然変異の存在を4～6時間程度で明確に判別可能で、乳汁中に*M. bovis*が 10^2 cfu/mL程度存在すれば検出可能であることを示した。この簡易法の結果に基づいて8頭の*M. bovis*乳房炎罹患牛を乾乳期治療したところ、*M. bovis*は再分離されなかった。さらに、55頭の罹患牛の感染状況をモニタリングしたところ、約半数の個体が無処置であっても*M. bovis*の感染が認められなくなった。これらの自然治癒群では、感染持続・淘汰あるいは死亡に至る群に比べて乳中*M. bovis*の菌数が顕著に低く、 10^3 cfu/mL以下で推移した。

実行課題1230では、少なくともこれまで国内各地から経年的に収集された腐蝕病菌株には、現在国内唯一の承認予防薬であるマクロライド系抗菌剤タイロシンに耐性を示すものはないことを明らかにした。一方、腐蝕病菌をタイロシン耐性にさせるマクロライド耐性遺伝子がハチミツ中に存在することが明らかになり、将来的に本予防薬耐性の腐蝕病菌が出現するリスクが示唆された。そこで、ハチミツを検査材料に用いて養蜂場の腐蝕病菌汚染を検出できるマルチプレックスPCR（図3）とマクロライド耐性遺伝子汚染を検出できるリアルタイムPCRを開発した。

（エ）研究成果の活用における留意点

実行課題1210については、多剤耐性株が有意に保有する遺伝子を用いた多剤耐性

菌の検出方法について、特許出願準備中である。

実行課題1220については、今回開発した簡易法の普及のため、実施マニュアルを作成し技術講習会を開催するとともに、陰性対照DNAを配布する。また、引き続き治療対象牛を簡易に判別可能な指標を探索し、当該指標と簡易法の組合せにより、より効率的な治療法の確立を目指す。

実行課題1230の成果は、今回開発したPCR法を予防薬の使用前に用いることによって、予防薬使用の必要性和耐性菌選択リスクを判断することが可能となり、抗菌剤の慎重利用につながる。腐蛆病菌検出用マルチプレックスPCRは、権利化の後に家畜保健衛生所へ普及を図っていく。また、ハチミツからのマクロライド耐性遺伝子検出法については、腐蛆病菌に伝達するリスクの高い遺伝子だけを検出する系に改良していく。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

本小課題の研究目標は、問題なくすべて達成できた。

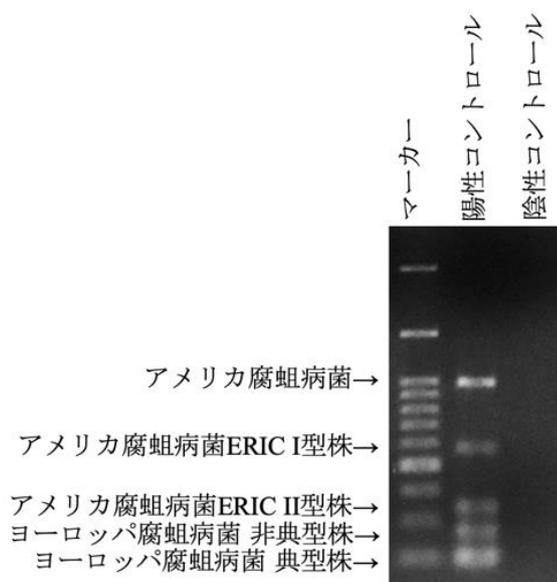


図3 養蜂場の腐蛆病菌汚染を検出できるマルチプレックスPCR結果の例

3) 小課題3：抗菌薬の使用中止による耐性率の変化の解明

(ア) 研究目標

実行課題1310①においては、複数の養豚農場で薬剤耐性菌の分布状況を調査するとともに、一部の農場で抗菌剤の使用を中止し、その影響を評価することにより、抗菌剤の投与や使用中止が薬剤耐性菌分布状況に及ぼす影響を明らかにする。

実行課題1310②においては、バイオセキュリティの異なる複数の施設において、衛生管理が環境中細菌の分布に与える効果とその経過における大腸菌の薬剤耐性状況を評価する。

実行課題1320においては、実験豚舎における抗菌剤の使用中止前後のモニタリングを行い、そのデータをもとに抗生物質の使用中止が薬剤耐性率におよぼす影響を定量化する。

実行課題1330においては、抗菌剤の使用中止がブロイラー農場での薬剤耐性率と生産性へ及ぼす影響を明らかにする。

(イ) 研究内容

実行課題1310①および②は、小課題1、特に実行課題1130および1140と連携し、実行課題1310①では前記10戸の養豚場において生産ステージの異なる豚の糞便由来の大腸菌の薬剤感受性を調べ、農場ごとの抗菌剤使用量と薬剤耐性率との関連について解析した。また、テトラサイクリン系の使用を中止した農場において、薬剤耐性状況のモニタリングを行った。実行課題1310②では、実験豚舎、開放豚舎農場および閉鎖豚舎農場のそれぞれ一豚房の計3施設において、継時的に豚房内の環境材料を採材し、細菌数の分布を把握し、分離された大腸菌の薬剤感受性試験を実施した。

実行課題1320について、ドキシサイクリン、コリスチンおよびフラボフォスホリポールの使用および使用中止試験を行い、豚由来大腸菌の耐性率の推移を評価した。また、国内で飼料添加物としてのコリスチンの使用が禁止された後の適応症発生状況およびコリスチンによる治療状況を考慮したシミュレーションモデルによって得られた、出荷豚由来のプラスミド性コリスチン耐性大腸菌優勢割合と、JVARMによるモニタリング結果との整合性について検証した。

実行課題1330について、経年的にブロイラー農場の床便由来大腸菌におけるコリスチンと他薬剤に対する薬剤耐性率を比較し、飼料添加物としてのコリスチンの使用禁止措置の影響を評価した。また、動物用医薬品であるアンピシリンおよびオキシテトラサイクリンの投与による薬剤耐性への影響を実験的に検討するとともに、生産性への影響も評価した。

(ウ) 研究結果

実行課題1310①では、10農場の豚由来大腸菌約1500株の薬剤感受性試験を通して、薬剤耐性菌分布状況が農場により大きく異なることを明らかにした。また、農場におけるテトラサイクリン系抗菌剤使用量とテトラサイクリン耐性率に有意な正の相関が認められ、テトラサイクリン系抗菌剤の使用が薬剤耐性率に影響する可能性が示唆された。テトラサイクリン系抗菌剤であるオキシテトラサイクリン（OTC）の使用を中止した農場では、中止前にはほぼ100%であったテトラサイクリン耐性率が、一年後には80%まで低下した。また、テトラサイクリン耐性菌は有意にST合剤にも耐性であったことから、ST合剤の使用も中止した結果、さらに一年後にテトラサイクリン耐性率は69%まで低下した（図4）。このことから、ST合剤の使用によりテトラサイクリンおよびST合剤両薬剤に耐性を示す株が選択されていたことが示唆された。

実行課題1310②では、各施設の環境中の大腸菌群のcfuの中央値は、豚の搬出した後の洗浄・消毒によって、いずれも検出限界未満となったが、検体（採材場所）によっては $10^3 \sim 10^4$ cfu/100cm²を示すものもあった。各施設で分離された大腸菌の薬剤耐性状況は、豚の搬出前と比べて搬出・消毒後に複数の薬剤について異なっており、空房期間中の外部からの持ち込み、あるいは消毒薬耐性の存在が示唆された。

実行課題1320では、コリスチンの投与⁵⁾（図5）およびドキシサイクリンについて、豚への投与期間においてそれぞれに対する耐性大腸菌が選択され、その数が増加し、投与終了とともに減少することを実験的に示した。また、フラボフォスホリポールの投与は、テトラサイクリン耐性遺伝子保有プラスミドの生育や伝

播に対して抑制的に作用し、テトラサイクリン耐性大腸菌数を減少させる可能性を示した。飼料添加物としてのコリスチンの使用中止により、農場内のプラスミド性コリスチン耐性菌優勢豚の割合は減少するが、そのシミュレーション結果とJVARMによるモニタリング結果を比較すると、シミュレーションから推定されたリスクよりも、実際のリスクは減少していない可能性が示唆された。

実行課題1330では、ブロイラー農場で分離された大腸菌について、飼料添加物としてのコリスチン給与の中止後に、コリスチンに対する耐性率が有意に減少している可能性を示した。アンピシリンとオキシテトラサイクリンの非投与群、いずれかを投与した2群および両剤を投与した群の計4群について、雛から50日齢まで分離された大腸菌の薬剤耐性率を継時的に観察した。導入時（いずれの群も抗菌剤投与前の時点）は、いずれの群も各剤への耐性率はほぼ100%であったが、非投与群は50日齢までに耐性率が有意に低下した。一方、非投与群以外の各群の各抗菌剤の耐性率はほぼ低下しなかった。50日齢時点の平均体重および導入から50日齢までの平均増体重に群間の有意差は認められなかった。

(エ) 研究成果の活用における留意点

実行課題1310①については、任意の抗菌剤耐性の選択には他系統の抗菌剤使用も関与しており、それらの使用中止が有効だった農場の事例を示すことができたが、その詳細な機序については検討の余地がある。

実行課題1320より、コリスチンおよびドキシサイクリンは、投与期間において薬剤耐性大腸菌の選択圧となっていたことを示した。今後、投与後に維持される薬剤耐性大腸菌数の程度の詳細な評価が必要である。

実行課題1330のブロイラーに関する評価では、評価可能な例数が限定的であったため、生産農場レベルおよび実験レベル双方について、データを蓄積・評価していく必要がある。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

一部の課題については十分なデータ収集が完了していないため、取り組みを続ける必要があるが、その他の課題については当初の目標を達成している。したがって、本小課題の研究目標はほぼ達成できた。

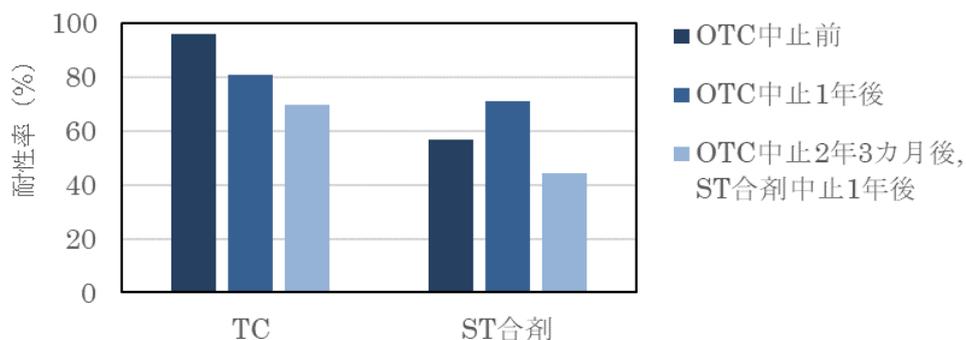


図4 豚由来大腸菌におけるテトラサイクリンおよびST合剤耐性率の変化

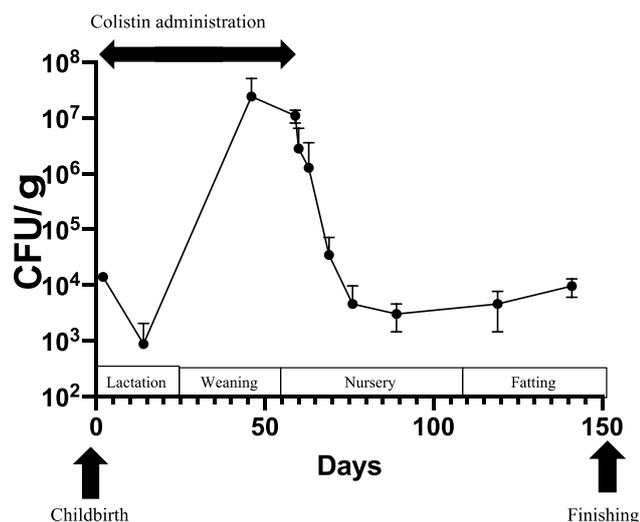


図5 コリスチン投与前後の豚糞便中コリスチン大腸菌数の推移

<引用文献>

- 1) 高木弘子、雷志皓、山根逸郎、山崎尚則、呉克昌、杉浦勝明 (2020) : 養豚農場における抗菌剤使用量の測定のための豚用抗菌剤DDD値設定の試み. 日獣会誌、73、352-355.
- 2) Abe R, Takagi H, Fujimoto K, Sugiura K (2020): Evaluation of the antimicrobial use in pigs in Japan using dosage-based indicators. PLoS ONE 15(10): e0241644.
- 3) Kyoko Fujimoto, Mai Kawasaki, Yuko Endo, Takashi Yokoyama, Itsuro Yamane, Hisanori Yamazaki, Katsumasa Kure, Takeshi Haga and Katsuaki Sugiura (2021): Antimicrobial use on 74 Japanese pig farms in 2019: a comparison of Japanese and European defined daily doses in the field. PLoS One. 2021 Aug 6;16(8):e0255632.
- 4) Hata E, Harada T, Itoh M. (2019): Relationship between antimicrobial susceptibility and multilocus sequence type of *Mycoplasma bovis* isolates and development of a method for rapid detection of point mutations involved in decreased susceptibility to macrolides, lincosamides, tetracyclines, and spectinomycin. Appl Environ Microbiol. 85, e00575-19.
- 5) Usui M, et al. (2021): Decreased colistin resistance and *mcr-1* prevalence in pig-derived *Escherichia coli* in Japan after banning colistin as a feed additive. J. Glob. Antimicrob. Resist. 24. 283-386.

4 研究成果の発表

別添のとおり。

5 研究期間中に生じた問題、今後の課題等

一部の課題は近年の養豚あるいは公衆衛生を取りまく社会情勢の影響を受けたものの、事業としての研究目標はほぼ達成した。その中で、本事業で確立した抗菌剤使用量の測定指標は国際基準に見合うものであり、我が国における使用量使用量をより正確に把握し、国際的な比較に活用することが可能になった。一方、使用量に関するデータの収集体制に

については、様式の統一化およびデータの電子化含む収集作業の自動化などの効率化を図っていく必要がある。また、抗菌剤の慎重使用を推進していく観点からは、生産成績に悪影響を及ぼさない抗菌剤使用の削減事例を引き続き蓄積していくことが重要である。

既に技術として確立することができた小課題2における各種検査法については、普及に努めていくとともに、各疾病の疫学的情勢の変化に合わせて改善していく必要がある。

各種細菌における薬剤耐性および畜産で使用される抗菌剤の一般環境への排出リスクの低減は、抗菌剤の慎重使用を前提として、臨床獣医師とも密に連携し、個々の農場における個別対策に基づいて立案・推進していくことが望ましい。それと並行して、薬剤耐性成立あるいは耐性率の低減に関する機序の解明や、農場からの抗菌剤の排出量制御技術の検証も、科学的根拠に基づく対策推進の観点から引き続き実施していく必要がある。

研究成果一覧

(別添)

(1)学術論文

区分:①原著論文、②その他論文

整理番号	区分	タイトル	著者	掲載誌	発行年	発行月	巻(号)	掲載ページ
1	①	Complete Genome Sequence of Mycoplasma bovirhinis Strain HAZ141_2 from Bovine Nasal Discharge in Japan	Eiji Hata, Kazuya Nagai, Kenji Murakami	Genome announcement	2017	9	5	e01000-17
2	①	Population structure and antimicrobial susceptibility of Paenibacillus larvae isolates from American foulbrood cases in Apis mellifera in Japan	Yuichi Ueno, Emi Yoshida, Wakako Misumi, Eri Watando, Kenta Suzuki, Yuko Hirai, Masatoshi Okura, Makoto Osaki, Ken Katsuda, Daisuke Takamatsu	Environmental Microbiology Reports	2018	4	10(2)	210-216
3	①	A frameshift mutation in the rRNA large subunit methyltransferase gene rlmAII determines the susceptibility of a honey bee pathogen Melissococcus plutonius to miosamicin	Daisuke Takamatsu, Emi Yoshida, Eri Watando, Yuichi Ueno, Masahiro Kusumoto, Masatoshi Okura, Makoto Osaki, Ken Katsuda	Environmental Microbiology	2018	12	20(12)	4431-4443
4	①	Mutations associated with change of susceptibility to lincosamides and/or macrolides in field and laboratory-derived Mycoplasma californicum strains in Japan, and development of rapid detectable method for these mutations.	Eiji Hata, Kazuya Nagai, Kenji Murakami	Veterinary Microbiology	2019	2	227	81-89
5	①	日本における家畜バイオマス重量あたりの抗菌剤使用量(続報)	高木弘子、雷志皓、杉浦勝明	日本家畜衛生学雑誌	2020	3	45(4)	155-161
6	①	Relationship between Antimicrobial Susceptibility and Multilocus Sequence Type of Mycoplasma bovis Isolates and Development of a Method for Rapid Detection of Point Mutations Involved in Decreased Susceptibility to Macrolides, Lincosamides, Tetracyclines, and Spectinomycin.	Eiji Hata, Takehiro Harada, Megumi Itoh	Applied Environmental Microbiology	2019	6	85(13)	e00575-19.
7	①	Antimicrobial usage on 72 farrow-to-finish pig farms in Japan from 2015 to 2017	Zhihao Lei, Itsuo Yamane, Hisanori Yamazaki, Megumi Naito, Katsumasa Kure and Katsuaki Sugiura	Preventive Veterinary Medicine	2019	12	173	104802
8	①	Association between Mycoplasma pneumonia outbreaks in calves and Mycoplasma mastitis in milking cows on dairy farms	Megumi Itoh, Takahiro Aoki, Miyuki Furuoka, Yukihiro Baba, Tetsu Saitoh, Eiji Hata, Yuuki Hirano, Kazuhiro Senna, Norio Yamagishi, Kazutaka Yamada	Japanese Journal of Veterinary Research	2019	3	67(3)	215-220.
9	①	Quantitative release assessment of mcr-mediated colistin-resistant Escherichia coli from Japanese pigs.	Kohei Makita, Yuri Fujimoto, Nami Sugahara, Takeshi Miyama, Masaru Usui, Tetsuo Asai, Michiko Kawanishi, Manao Ozawa, Yutaka Tamura	Food Safety	2020	6	8(2)	13-33

10	①	養豚場における抗菌剤使用量の測定のための豚用抗菌剤DDD値設定の試み	高木弘子, 雷志皓, 山根逸郎, 呉克昌, 杉浦勝明.	日本獣医師会雑誌	2020	7	73(7)	352-345
11	①	Evaluation of the antimicrobial use in pigs in Japan using dosage-based indicators	阿部玲子、高木弘子、藤本恭子、杉浦勝明	Plos One	2020	10	15(10)	e.0241644
12	①	Relationship between genital carriage and udder infection with Mycoplasma bovis in dairy farms	Megumi Itoh, Miyuki Furuoka, Yukihiro Baba, Tetsu Saitoh, Eiji Hata, Yuki Hirano, Kazuhiro Senna, Kazutaka Yanada	Japanese Journal of Veterinary Research	2021	1	69(1)	71-75.
13	①	Association between antimicrobial treatment and resistance of pathogenic Escherichia coli isolated from diseased swine in Kagoshima Prefecture, Japan	Wakako MISUMI, Taruho FUNAMORI, Kyohei HAMADA, Jiro IWAMOTO, Shoichiro FUJISONO, Kenichi CHITOSE, Masahiro KUSUMOTO	The Journal of Veterinary Medical Science	2021	1	83(3)	358-369
14	①	Decreased colistin resistance and mcr-1 prevalence in pig-derived Escherichia coli in Japan after banning colistin as a feed additive	Masaru Usui, Yohei Nozawa, Akira Fukuda, Tomomi Sato, Michi Yamada, Kohei Makita, Yutaka Tamura	J. Glob. Antimicrob. Resist.	2021	3	24	383-386
15	①	Establishing defined daily doses (DDDs) for antimicrobial agents used in pigs, cattle and poultry in Japan and comparing them with European DDD values	Kyoko Fujimoto, Mai Kawasaki, Reiko Abe, Takashi Yokoyama, Takeshi Haga, Katsuaki Sugiura	PLoS One	2021	4	16(4)	e0245105.
16	①	Antimicrobial use on 74 Japanese pig farms in 2019: A comparison of Japanese and European defined daily doses in the field	Kyoko Fujimoto, Mai Kawasaki, Yuko Endo, Takashi Yokoyama, Itsuro Yamane, Hisanori Yamazaki, Katsumasa Kure, Takeshi Haga, Katsuaki Sugiura	PLoS One	2021	8	16(8)	e0255632.
17	②	牛用及び鶏用抗菌剤IDリスト作成およびDDD値設定の試み. 日本獣医師会雑誌2021年4月号	藤本恭子、清水秀茂、菊池允人、松井崇、伊藤貢、橋本信一郎、川原史也、矢原芳博、杉浦勝明	日本獣医師会雑誌	2021	4	74(4)	212-216
18	①	Antimicrobial resistance genes in bacteria isolated from Japanese honey, and their potential for conferring macrolide and lincosamide resistance in the American foulbrood pathogen Paenibacillus larvae	Mariko Okamoto, Masahiko Kumagai, Hiroyuki Kanamori, Daisuke Takamatsu	Frontiers in Microbiology	2021	4	12	667096
19	①	A novel multiplex PCR assay to detect and distinguish between different types of Paenibacillus larvae and Melissococcus plutonius, and a survey of foulbrood pathogen contamination in Japanese honey	Mariko Okamoto, Hirotaka Furuya, Ikuko Sugimoto, Masahiro Kusumoto, Daisuke Takamatsu	The Journal of Veterinary Medical Science	2022	3	84(3)	390-399

(2) 学会等発表(口頭またはポスター)

整理番号	タイトル	発表者名	学会等名	発行年	発行月
1	「薬剤耐性に関する 今後の研究開発について」	勝田賢	平成28年度地域畜産技術研究会	2017	11

2	アメリカ腐蝕病菌の国内分離株を用いた分子疫学解析と薬剤感受性試験	上野勇一、吉田恵美、渡戸英里、三角和華子、岩田祐子、大倉正稔、大崎慎人、勝田賢、高松大輔	第160回日本獣医学会学術集会	2017	9
3	A monitoring system for veterinary antimicrobial consumption in pig farms in Japan	Yamane et al.	第15回獣医疫学経済学学会(タイ国)	2018	11
4	豚舎空气中微生物の耐性状況	勝田 賢	第20回宮崎県豚病研究会	2018	8
5	Insertion-deletion mutations of a single nucleotide in the rRNA large subunit methyltransferase gene rlmAII sways the susceptibility of the honey bee pathogen <i>Melissococcus plutonius</i> to a 16-membered ring macrolide mirosamicin	Daisuke Takamatsu, Emi Yoshida, Eri Watando, Yuichi Ueno, Masahiro Kusumoto, Masatoshi Okura, Makoto Osaki, Ken Katsuda	The 43rd FEBS congress	2018	7
6	ミツバチの病原体ヨーロッパ腐蝕病菌のミロサマイシン耐性機構とアメリカ腐蝕病予防薬の影響	高松大輔、吉田恵美、渡戸英里、上野勇一、楠本正博、大倉正稔、大崎慎人、勝田賢	第50回レンサ球菌研究会	2018	6
7	「排水における動物用医薬品等の包括的分析法の検討」	渡部 真文, 上垣 隆一, 秋庭 正人, グルゲ キールティ シリ	第27回環境化学討論会	2018	5
8	Mirosamicin-resistant mechanism of a honey bee pathogen, <i>Melissococcus plutonius</i>	高松大輔、吉田恵美、渡戸英里、上野勇一、楠本正博、大倉正稔、大崎慎人、勝田賢	第92回日本細菌学会総会	2019	4
9	牛乳房感染に関与するマイコプラズマの実態	秦英司	第46回日本マイコプラズマ学会学術集会	2019	5
10	The status and kinetics of antimicrobials in the environment of livestock farms	上垣隆一、渡部真文、玉村雪乃、グルゲ キールティ シリ、秋庭正人	UJNR有毒微生物専門部会 第53回日米合同部会	2019	6
11	Analysis of metal elements affecting ARGs/ARBs in livestock wastewater	宮下絵夢フェリチタス、渡邊泉、渡部真文、上垣隆一、秋庭正人、グルゲ キールティ シリ	第28回環境化学討論会	2019	6
12	養豚場72戸における2015~2017年の抗菌剤使用量調査	雷志皓	日本家畜衛生学会第90回大会	2019	7
13	<i>Mycoplasma bovis</i> 不顕性乳房感染牛の乾乳期治療の検討	伊藤めぐみ、秦英司、井口弘之、高橋英二	令和元年度日本獣医師会北海道地区学会(北海道獣医師会誌)	2019	8
14	根室管内で分離された <i>Mycoplasma bovis</i> のキノロン耐性に関する遺伝子解析とニューキノロン低感受性株に対する有効薬剤の検討	相川文、山田真喜子、久保翠、秦英司	令和元年度日本獣医師会北海道地区学会(北海道獣医師会誌)	2019	8

15	養豚農場における抗菌剤使用と豚舎内空気中細菌の薬剤耐性への影響評価	小林創太、勝田賢、川島健司	第21回宮崎県豚病研究会	2019	8
16	国産蜂蜜から分離した細菌の薬剤耐性および抗菌物質産生能の解析	岡本真理子、高松大輔	第162回日本獣医学会学術集会	2019	9
17	コリスチンの使用中止が豚由来大腸菌の耐性率およびmcr保有率へ与える影響の解明	野澤洋平、臼井優、福田昭、佐藤友美、山田未知、田村豊	第161回日本獣医学会	2019	9
18	獣医療における薬剤耐性菌問題の実態とその対策	臼井優	第9回家畜感染症学会	2019	12
19	ミツバチの病原体ヨーロッパ腐蝕病菌の蜂群内での生存戦略	高松大輔	第93回日本細菌学会総会	2020	2
20	国産蜂蜜に混入している菌の薬剤耐性および抗菌物質産生性	岡本真理子、高松大輔	第93回日本細菌学会総会	2020	2
21	Overview of The Research Project on Livestock AMR in Japan	Sota Kobayashi	Online Asia Pacific Workshop on AMR in 2021	2021	3
22	抗菌剤の使用及び使用中止が豚由来大腸菌の耐性率へ与える影響の解明	玉村雪乃、小林創太、山根逸郎、小倉舜、グルゲ・キールティ・シリ、呉克昌、岩田剛敏、渡部綾子、新井暢夫、楠本正博	第164回日本獣医学会学術集会	2021	9
23	健康豚、競走馬及び野生シカにおける薬剤耐性菌分布状況の調査	玉村雪乃	家畜衛生研修会(病性鑑定:細菌部門)	2021	10
24	養豚場の排水処理における重金属濃度の動態	鳥居真吾、渡邊泉、渡部真文、上垣隆一、小林創太、Keerthi S. Guruge	第29回環境化学討論会	2021	6
25	日本の養豚分野における抗菌剤販売量のDDDベースの評価	阿部玲子他	第57回獣医疫学会学術集会	2021	3
26	日本における豚用、牛用、鶏用抗菌剤のDDD値設定の試みおよび欧州のDDD値との比較	藤本恭子、川崎麻衣、阿部玲子、横山隆、芳賀猛、杉浦勝明	第164回日本獣医学会学術集会	2021	9
27	養豚場における薬剤耐性の実態解明と対策のあり方に関する検討に向けて	小林創太、山根逸郎、玉村雪乃、勝田賢、グルゲ・キールティ・シリ、渡部真文	JASV豚病講習会	2021	8
28	Overview of The Research Project on Livestock AMR in Japan	Sota Kobayashi	Tokyo AMR One Health Conference	2021	2
29	養豚場における抗菌剤の慎重使用推進に資する研究	小林創太	第14回日本医師会・日本獣医師会による連携シンポジウム	2021	11
30	蜂蜜に混入するマクロライド耐性菌が保持するpJ18TS1macIはアメリカ腐蝕病菌にマクロライドおよびリンコサミド耐性を付与する	岡本真理子、金森裕之、熊谷真彦、高松大輔	第164回日本獣医学会学術集会	2021	9
31	蜜蜂の腐蝕病菌の多様性、生存戦略及び診断・予防法に関する研究	高松大輔	第164回日本獣医学会学術集会	2021	9

(3) 出版図書

区分:①出版著書、②雑誌(学術論文に記載したものを除く、重複記載をしない。)、③年報、④広報誌、⑤その他

整理番号	区分	著書名(タイトル)	著者名	出版社	発行年	発行月
1	⑤	事業報告書 生産段階における防疫体制支援強化事業 自衛防疫対策事業【牛マイコプラズマ乳房炎】～牛マイコプラズマ乳房炎の発生状況等に関する疫学解析～	秦英司、村井清和、樋口豪紀、尾川寅太	公益社団法人 中央畜産会	2018	3
2	⑤	牛マイコプラズマ乳房炎の防除技術	秦英司、村井清和、樋口豪紀、尾川寅太	公益社団法人 中央畜産会	2018	3
3	①	動物の感染症(第四版)38-1. 乳房炎 mastitis, 38-2. 大腸菌性乳房炎 coliform mastitis	秦英司	近代出版	2019	2
4	②	養豚場における抗菌剤使用量評価システム(PigINFO Bio)	山根逸郎、内藤めぐみ	養豚界	2018	12
5	②	養豚農場における抗菌剤使用量評価システム(PigINFO Bio)の紹介～2017年のデータを中心に～	山根逸郎、山崎尚則、内藤めぐみ	JASV会報	2019	5
6	②	日本の動物用医薬品業界の将来を語る座談会 前半および後半	山根逸郎	動薬協会機関誌	2019	6
7	②	日本の動物用医薬品業界の将来を語る座談会 前半および後半	山根逸郎	動薬協会機関誌	2019	7
8	②	養豚農場の抗菌剤使用量評価システム(PigINFO Bio)の紹介	山根逸郎、山崎尚則	家畜診療	2020	1
9	②	養豚分野におけるベンチマーキングシステム(PigINFO シリーズ)について	山根逸郎	PigJournal	2020	1
10	②	養豚農場における抗菌剤使用量評価システム(PigINFO Bio)の紹介～2018年のデータを中心に～	山根逸郎、山崎尚則	JASV会報	2020	6

11	②	豚用要指示薬のデータベースの構築～製品IDリストと製品名の再整備を通して～	山根逸郎、山崎尚則、大枝菜月、重野美佳、呉克昌、高木弘子、杉浦勝明	臨床獣医	2020	7
12	②	解説 豚用要指示薬のデータベースの構築～製品IDリストと製品名の再整備を通して～	山根逸郎、山崎尚則、小倉舜、大枝菜月、重野美佳、呉克昌、高木弘子、杉浦勝明	臨床獣医(緑書房)	2020	7
13	②	養豚農場の抗菌剤使用量評価システム(PigINFO Bio)の紹介と今後の展望	山根逸郎	養豚界	2020	8
14	②	総説 世界各国のAMR対策	杉浦勝明	養豚界(緑書房)	2020	臨時増刊

(4)国内特許権等

区分:①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	出願番号	出願年月日	取得年月日
1	②	養豚場における抗菌剤使用量のデータ解析プログラム	山根逸郎	農研機構動衛研	機構-J07		
2	②	腐蛆病菌の同時検出方法及びプライマークット	高松大輔、岡本真理子	農研機構動衛研	特願2021-187884	2021/11/18	出願のみ

(5)国際特許権等

区分:①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	出願番号	出願年月日	取得年月日	出願国
		該当なし						