

氏名	田中 美咲
所属	獣医衛生学教室
学年	D4
出張先	モンゴル生命科学大学、ウランバートル獣医局
出張期間	2019 年 8 月 17 日～8 月 26 日（演習期間 8 月 18 日～8 月 25 日）
目的	モンゴル国内における 1) 反芻類家畜での薬剤耐性カンピロバクター属菌分布状況の調査 2) 養鶏場における抗生物質の使用状況の調査 3) 反芻類家畜から分離された腸管出血性大腸菌の薬剤耐性試験

活動内容

これまで本研究室では、モンゴル生命科学大学 (MULS) 及びウランバートル獣医局 (UVO) と共同してモンゴル国内の家畜衛生に関する調査を実施してきた。その成果として、これまでにウランバートル近郊の養鶏場で飼育される採卵鶏から高率にテトラサイクリン耐性、フルオロキノロン耐性のカンピロバクター属菌が分離されることを明らかにした。しかしながら、他種家畜における薬剤耐性菌の分布については調査されていないことに加え、モンゴル国内ではこれまでに薬剤耐性菌の分布や農場における抗生物質の使用状況といった家畜飼養衛生に関する疫学的知見の蓄積がないため、薬剤耐性菌発生の背景は不明である。そこで今回の共同研究では、モンゴルにおける薬剤耐性菌の分布状況ならびに現地での家禽・家畜飼養の実態を把握し、薬剤耐性菌の制御対策に必要な知見を収集することを目的として、1) 他種家畜での薬剤耐性カンピロバクター属菌の分布状況の調査、2) モンゴルの養鶏場における抗生物質の使用状況の調査、3) モンゴルの反芻動物から分離された腸管出血性大腸菌 (EHEC) の薬剤耐性試験、を実施した。

1) 他種家畜での薬剤耐性カンピロバクター属菌の分布状況の調査

ウランバートル市近郊の畜産農家 2 か所を訪問し、飼養環境の聞き取り調査と糞便サンプルの採取を行った。訪問先はいずれも飼養頭数が約 40 頭（うち半数が乳牛）で、手で搾乳が行われている小規模農場であった。飼養者への聞き取り調査（図 1）によると、配合飼料は給餌されていないものの、飼養者の手によって獣医師の処方によらず日常的に抗生物質が投与されている様子が伺われた。投与を確認できた抗生物質は、ST 合剤（サルファ剤、トリメトプリム）およびペニシリン系（アモキシシリン）であった。この 2 農場で飼養される計 20 頭から糞便サンプルを採取しカンピロバクター属菌の分離を試みたところ、6 頭から計 7 株が分離同定された。*cdtC* 遺伝子

を標的とした PCR (図 2) [1]及び 16srDNA の塩基配列解析により、*C. jejuni* (3 株)、*C. fetus* (2 株)、*C. hyointestinalis* (2 株) が同定された。1 頭の糞便からは *C. jejuni* と *C. hyointestinalis* が同時に分離された。これらの分離株について E-test により薬剤感受性試験を実施したところ、ナリジクス酸に自然耐性を有する *C. hyointestinalis* を除き、すべての分離株はテトラサイクリン (TC)、エリスロマイシン (EM)、ナリジクス酸 (NA)、ノルフロキサシン (NX) 及びシプロフロキサシン (CI) により発育が抑制された。また TC, EM, CI に関しては EUCAST が公開するデータベース [2] に *C. jejuni* 及び *C. coli* における最小発育阻止濃度 (MIC) のブレイクポイント (感受性菌と抵抗性菌の境界値) が収録されており、本試験で得られた MIC を照合するとすべてブレイクポイント未満であったため感受性菌であると判定できた。



図 1. 農場での聞き取り調査の様子

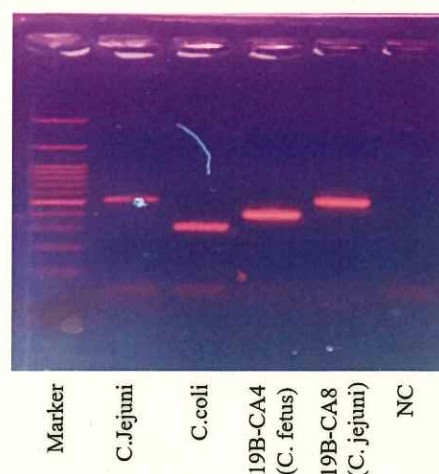


図 2. PCR による種同定

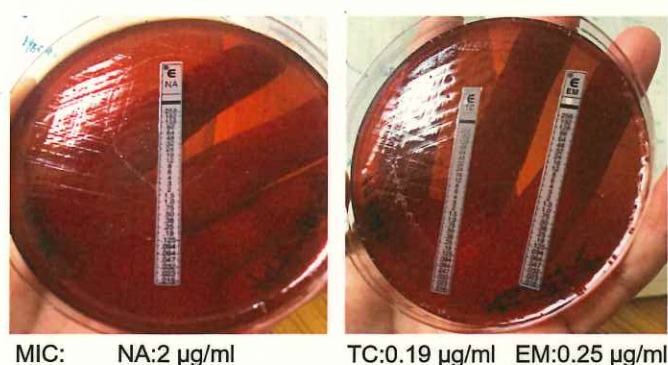


図 3. E-test による薬剤感受性試験

[1] Asakura M., et al., FEMS Immunol Med Microbiol. 2008 Mar;52(2):260-6

[2] Clinical breakpoints and dosing of antibiotics, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

2) モンゴルの養鶏場における抗生物質の使用状況の調査

先行調査でテトラサイクリン・フルオロキノロン耐性カンピロバクター属菌が分離された養鶏場、及びその近隣の養鶏場計 3 か所を訪問し、飼養環境の聞き取り調査を行った。その結果、採卵鶏については小規模養鶏場においても配合飼料が給餌されていることが明らかとなった。一方で、飼養者は配合飼料にしばしば抗生物質が添加されている事実を把握していない様子が浮かび上がった。また養鶏場においても、牛と同様に獣医師の処方によらず医薬品が投与されており、抗生物質としてはペニシリン系（アモキシシリン）とテトラサイクリンの使用を確認した。

3) モンゴルの反芻動物から分離された腸管出血性大腸菌（EHEC）の薬剤耐性試験

2017 年の調査でウランバートル近郊の農場で飼養されている牛から腸管出血性大腸菌（EHEC）が分離されている。この分離株について、E-test によりアンピシリン（AM）、セフトラジジン（TZ）及びセフトキシム（CT）に対する感受性試験を実施したところ、すべての株で発育が抑制された。また最小発育阻止濃度（MIC）はブレイクポイント未満であった。

今回の共同研究により、モンゴル国内の家畜における薬剤耐性菌の分布状況の一端が明らかとなった。薬剤耐性カンピロバクター属菌が高率に分離された採卵鶏と異なり、今回牛から分離されたカンピロバクター属菌はすべて薬剤感受性を示した。本調査では 2 農場 20 頭と対象が小規模であるため、薬剤耐性菌の発生を否定はできないものの現状では限局的であることが推察される。今回初めて実施した飼養環境調査により、採卵鶏においてはおそらく抗生物質を含む配合飼料が給餌されている事実が明らかになった。加えて、処方箋制度の整備されていないモンゴルでは飼養者が獣医師の指示なく抗生物質を含む獣医療医薬品を入手することが可能であり、実際に牛・鶏両方において農場規模の大小に関わらず飼養者が独自に複数の抗生物質を家畜に投与している状況が明らかとなった。このような耐性菌の分布や抗生物質の使用状況に関するデータは今までのところモンゴル国内に蓄積されておらず、OIE などの国際機関においても情報の空白地帯として注目されているところである。今回の訪問で確立した検査・調査方法をもとに、現在、現地研究員が地域・規模ともに調査範囲を拡大し取り組んでいる。近い将来、彼ら主導のもとモンゴル国内の家畜飼養衛生の現状を明らかにするとともに本研究が国際的な動向把握にも貢献できることを期待している。

最後に、今回の活動を遂行するにあたり、また今後継続して活動していくにあたり、課題として挙げられるのが物資供給の安定化とスタッフ教育である。サーマルサイクラー、インキュベーターなどの機器については、これまでの JICA を通した支援など

によって必要最低限の数が導入済みであったが、消耗品の類についてはモンゴル国内での調達が困難な物品もあるとのことで、結果として機器の稼働率を低下させ調査研究の効率化、規模拡大を妨げる一因となっている。また将来的にモンゴルのカウンターパートが自立して研究を遂行していくためには、現在実務に携わる研究員の科学的知識、実験技術及び機器に対する理解をより深めていくと同時に、彼らの知識を周囲に広め巻き込み、人員を充実させていく必要があると感じた。それでも今回の訪問で、4年前に初めて日本で研修を受けた現地研究員が着実に研究環境を整え、持ち帰った知識技術を日常業務に活かせるよう奮闘している様子を目の当たりにし、共同研究として、また科学的な国際協力として良い方向に進んでいる事例を知り微力ながら加われたことで、自身の研究活動とは趣の異なる有意義な経験を積むことができたと思う。

(海外共同研究演習) 指導教員評

指導教員所属・職・氏名	獣医衛生学教室教授	堀内 基広	
JICA の技術協力プロジェクト (モンゴル国の獣医・畜産分野人材育成能力強化プロジェクト) のモンゴル側のカウンターパートとして仕事をしてきたモンゴル人の若手獣医師との共同研究である。キャパシティビルディングとしての要素が濃い活動であるが、本演習を通じて、国際協力および国際共同研究を進める上で、互恵の精神、カウンターパートの職場環境の理解、積極的なコミュニケーション、綿密な準備とフォローアップ、および継続した活動の重要性を認識できたと思われる。			

※1 本報告書はリーディングプログラム運営委員会で内容を確認します。その後、教務委員会で単位認定を受けることになります。

提出先：VETLOG で UPLOAD

内線：9545 e-mail: leading@vetmed.hokudai.ac.jp