

畜産領域における抗生物質の利用と課題

伊原航平¹・勝部 哲¹・松田敬一²・米山 裕^{1,*}

¹ 東北大学大学院農学研究科、〒 981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1
TEL, 022-717-8915; E-mail, hiroshi.yoneyama.a4@tohoku.ac.jp

² 宮城県農業共済組合家畜診療研修所、〒 981-3602 宮城県黒川郡大衡村字平林 39-4
TEL, 022-345-2239; E-mail, matsuda@nosaimiyagi.or.jp

Antibiotic use in the animal industry and a concern about antibiotic resistance

Kohei IHARA¹, Satoshi KATSUBE¹, Keiichi MATSUDA², Hiroshi YONEYAMA¹

¹Laboratory of Animal Microbiology, Department of Microbial Biotechnology,
Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University
1-1 Amamiya-machi, Tsutsumidori, Aoba-ku, Sendai, 981-8555, Japan

²Livestock Medicine Training Center, Miyagi Prefecture Agricultural Mutual Aid Association
39-4 Hirabayashi, Oohira, Kurokawagun, Miyagi 981-3602, Japan

2015 年 11 月 19 日受付, 2015 年 12 月 23 日受理

1. 抗生物質の登場

フレミングが、シャーレに偶然迷い込んだ青カビがブドウ球菌を殺すことを発見し、この殺菌成分をペニシリンと命名した物語は有名である (Fleming, 1929)。彼がペニシリンを発見したことを初めて報告した 1929 年当時は不安定なペニシリンを高度に精製することができず、ペニシリンを細菌感染症の治療に用いることができなかった。それから 10 年ほど後、フローリーとチェインら (Chain ら, 1940) によりペニシリンが医薬品として世に出されると、土壌微生物から抗菌活性を有する新規化合物のスクリーニングが大々的に行われ、ストレプトマイ

シン、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、エリスロマイシン、カナマイシンなど現在臨床で使われているほぼ全てのクラスの抗生物質が 1960 年代までの間 (抗生物質発見の黄金時代と呼ばれている) に見いだされた (図 1)。“抗生物質 (Antibiotics)” という語は、ストレプトマイシンを発見したワックスマンによって、“微生物が生産し、他の微生物の発育を阻害する物質” と定義された (Waksman, 1947)。この意味でペニシリンは第一号の抗生物質と言える。

ところで、細菌感染症の治療薬として抗菌薬が実用化されたのはペニシリンの発見からさらに 20 世紀初頭にまで遡ることができる。抗生物質の性質として最も重要な性質である“選択毒性” という概念をエールリッヒは打ち立て、日本人留学生の秦佐八郎の協力を得て、梅毒の治療薬であるサルバルサンを 1910 年に発見した。当時のドイツは染料工業が世界で最も進んでおり、エールリッヒは膨大な数の染料からサルバルサンを見いだしたので

* 連絡者: 米山 裕 (よねやま ひろし)
(東北大学大学院農学研究科)
〒 981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1
Tel 022-717-8915
E-mail: hiroshi.yoneyama.a4@tohoku.ac.jp

ある。しかし、サルバルサンは梅毒の特効薬となったが、一般細菌に効果が及ばなかった。その後、ドイツのIG・ファルベン社のドーマクは、化膿連鎖球菌を感染させたマウスを使ったスクリーニングで赤色素の一つであるプロントジルが治療効果を示すことを発見し1932年に特許を取得し1935年に発表した (Domagk, 1935)。プロントジルの抗菌活性の本体は、生体内で代謝されて生じるスルホンアミドであることが同時期にフランスの研究者によって見いだされ、様々な誘導体が合成されサルファ剤として汎用されるようになった。サルファ剤は一般細菌による感染症に対する最初の抗菌薬であり、エールリッヒが唱えた細菌感染症に対する化学療法剤の第一号と言える。サルファ剤は化学者が人工合成した化合物であり微生物由来ではないため、ワックスマンが定義した抗生物質とは異なる。しかし、多くの抗生物質が発見されて以降、人工的に抗生物質の化学修飾が施され多くの誘導体が合成されるようになり、また、天然の抗生物質も最初から人工的に合成されるようになった。さらにその後、新規な人工合成抗菌薬であるキノロン剤やオキサゾリジノンが登場し、抗生物質の定義が曖昧になったことから、現在ではこれらの合成化合物も抗生物質に含まれると解

釈され、一般的に抗菌薬 (抗菌剤、あるいは化学療法剤) という言葉が使われるようになった。

2. 抗生物質の作用メカニズム

抗生物質の細菌に対する作用は図2aに示すように殺菌作用と静菌作用がある。 β -ラクタム剤 (ペニシリンなど分子内に β -ラクタム環を有する一群の抗生物質) やアミノグリコシド (ストレプトマイシン、カナマイシンなど分子内にアミノ糖を有する一群の抗生物質) などの抗生物質は殺菌作用が強く、細菌はこれらの抗生物質に暴露されると死滅する。一方、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、エリスロマイシンなどの抗生物質に曝された細菌は生育が抑制されるが、培地から抗生物質を除去すると再度生育が回復する (図2b)。このような作用を静菌作用と言う。

現在臨床で使用されている多くの抗生物質の作用メカニズムは次の4つの機序に大別される (YoneyamaとKatsumata; 2006, Walsh, 2000)。(1) 細胞壁合成阻害、(2) タンパク質合成阻害、(3) 核酸 (DNA および RNA) 合成阻害、そして、(4) 代謝阻害 (葉酸合成阻害) である (図3)。

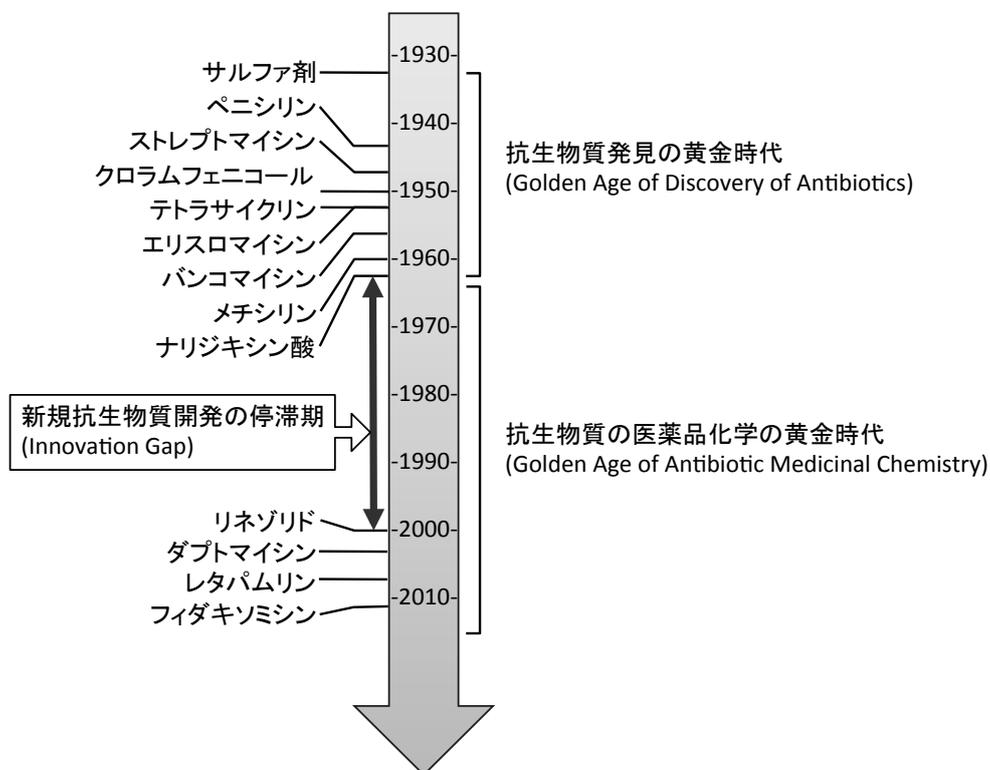


図1. 抗生物質の開発の経緯

ナリジキシム酸の開発 (1962年) からリネゾリドの開発 (2000年) までの間は新規骨格をもつ抗生物質の開発はなかった。この期間は新規抗生物質開発の停滞期 (Innovation Gap) であり、既存の抗生物質を化学修飾することによって新しい抗菌薬が開発されてきた。(文献 (Walsh, C.T. and Wencewicz, T.A., 2014) の許諾を得て作成)

最初の抗生物質であるペニシリンを含む β -ラクタム剤は細菌細胞壁の合成を阻害する。それらの標的は細胞壁成分であるペプチドグリカン合成の最後のステップを触媒するペプチド転位酵素 (transpeptidase または penicillin binding protein, PBP) である。動物はペプチドグリカンをもっていないので、 β -ラクタム剤は選択毒性が非常に高く最も安全性の高い抗生物質の一つである。

タンパク質合成の場である細菌のリボソームは 50S (31 個のタンパク質サブユニットと 2 個の RNA すなわち 5S rRNA と 23S rRNA からなっている大サブユニット) と

30S (21 個のタンパク質サブユニットと 1 個の RNA である 16S rRNA からなっている小サブユニット) と呼ばれる二つの構造体からなっている。アミノグリコシド、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、エリスロマイシンなどのタンパク質合成阻害剤の標的は、大サブユニット (クロラムフェニコール、エリスロマイシン) か小サブユニット (アミノグリコシド、テトラサイクリン) の rRNA 成分であり、翻訳過程の開始、伸長あるいは終結反応を阻害する。

1962 年に開発されたナリジキシン酸に始まる合成抗菌薬 (キノロン剤とも呼ばれる) は、複製の際重要な役割

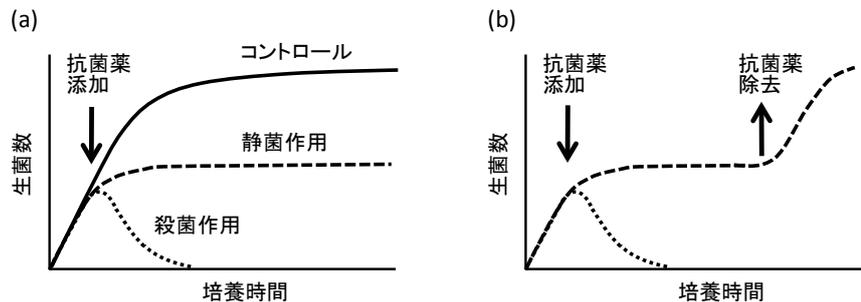


図 2. 抗生物質 (抗菌薬) の殺菌作用と静菌作用

(a) 抗生物質を添加した後の生菌数の推移 (b) 抗生物質添加後培養を継続し、その後培地から抗生物質を除去したときの静菌数の推移

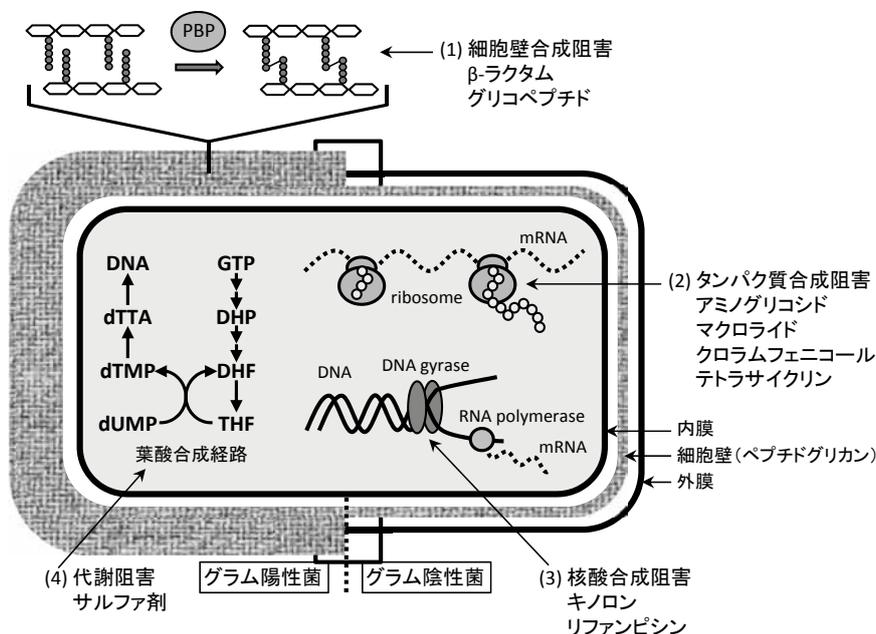


図 3. 抗生物質の作用メカニズム：抗生物質の作用メカニズムは次の 4 つに大別される。

- (1) 細胞壁合成阻害：ペニシリンに代表される β -ラクタム系抗生物質は PBP に結合して、ペプチドグリカンの合成を阻害する。バンコマイシンに代表されるグリコペプチド系抗生物質は D-Ala-D-Ala のジペプチドに結合し架橋構造の形成を阻害する。
- (2) タンパク質合成阻害：クロラムフェニコールやエリスロマイシンはリボソームの大サブユニットに、アミノグリコシドやテトラサイクリンは小サブユニットに結合することでタンパク質合成を阻害する。
- (3) 核酸合成阻害：キノロン系抗生物質は DNA ジャイレースに、リファンピシンは RNA ポリメラーゼに結合することで核酸の合成を阻害する。
- (4) 代謝阻害：サルファ剤はジヒドロプテロイン酸合成酵素を阻害し、葉酸合成経路を阻害する。

PBP: penicilline binding protein, DHP: dihydropteroate, DHF: dihydrofolate, THF: tetrahydrofolate

を果たす DNA ジャイレース (DNA の切断・再結合を触媒し DNA のトポロジーを変化させるトポイソメラーゼの一つ) が標的である。また、抗結核薬として知られるリファンピシンは転写酵素である RNA ポリメラーゼを阻害する。

細菌と動物の代謝経路の差異、すなわち抗生物質の重要な性質である選択毒性を発揮しうる標的酵素は多数あるが、不思議なことに抗菌薬 (抗生物質) として使用されている化合物の代謝阻害剤は葉酸合成酵素を標的とするサルファ剤だけである。この薬剤は動物がもっていないジヒドロピテロイン酸合成酵素を標的としているため選択毒性は高いが、耐性菌が容易に出現するという問題がある。そのためこの反応ステップの後に続くジヒドロ葉酸還元酵素を阻害するトリメトプリムとの合剤 (ST 合剤と呼ばれる) として使用されることが多い。

3. 抗生物質の耐性機構

ペニシリンを発見したフレミングはノーベル賞受賞講演で「ペニシリンが誰にでも容易に手に入るようになったとき、知識のない人が必要量に満たないペニシリンを使用し低濃度の薬に細菌を暴露することによって耐性菌を生み出してしまふ危険性があるだろう。」と述べている。彼の予言は当たっており、その後開発された各種抗生物質が臨床で使用されるようになってから数ヶ月から数年以内に全ての抗生物質に対する耐性菌が出現した。中でもペニシリン耐性菌に有効なメチシリンに対する耐性を

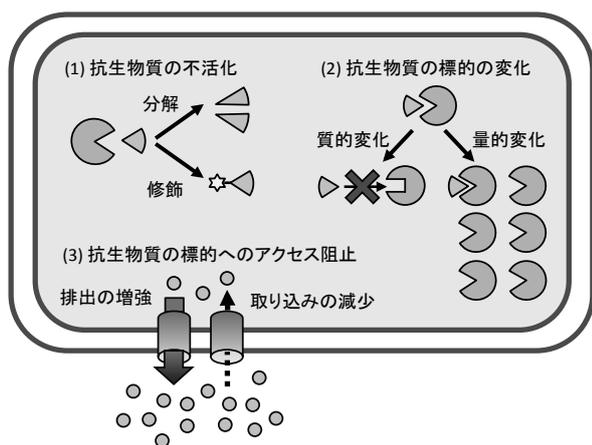


図 4. 薬剤耐性の主要なメカニズム

- (1) 抗生物質の不活化: 抗生物質を化学的に分解、あるいは修飾する酵素を生産して耐性能を獲得する。
- (2) 抗生物質の標的の変化: 抗生物質の標的となる分子の構造を変化させる質的变化と、細胞内の標的分子数を増やす量的変化によって抗生物質の耐性能を獲得する。
- (3) 抗生物質の標的へのアクセス阻止: 多剤排出ポンプなどによって細胞内の抗生物質の排出を強化、あるいは抗生物質の細胞内への取り込みを抑制することで耐性能を獲得する。

示すメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、ほぼ全てのクラスの抗生物質に対して耐性を示す多剤耐性能を有しており公衆衛生上大きな問題となっている。

薬剤耐性の主要なメカニズムは、(1) 抗生物質の不活化 (分解あるいは修飾)、(2) 抗生物質の標的的变化 (質的または量的変化)、(3) 抗生物質の標的へのアクセス阻止 (取り込みの減少あるいは排出の増強) である (図 4) (Yoneyama と Katsumata, 2006; Walsh, 2000)。これらの抗生物質耐性には自然耐性と獲得耐性の 2 つがある。自然耐性は細菌が元来有する耐性であり、獲得耐性は耐性遺伝子をもつプラスミドやトランスポゾンが細菌から他の細菌に伝播して獲得される耐性および染色体上の突然変異によって獲得する耐性である。

突然変異による耐性は、抗生物質が選択圧として作用し細菌集団内にごくわずかに存在していた耐性菌が選択され生き残り、やがて集団内に広がることによって生じると理解されている。それではどのようにしてこれらの耐性菌が出現するのであろうか。興味あることに、ペニシリンが臨床的に使用されるようになる数年前の 1940 年にすでにペニシリン分解酵素が見いだされ、この酵素によってペニシリンによる化学療法が効力を失う可能性のあることが危惧されていた (Abraham と Chain, 1940)。

また、合成抗菌剤など人類が完全合成した抗菌薬に対する耐性遺伝子を細菌が短期間で新たに作り出すとは考えられず、これら耐性遺伝子の起源は抗生物質を産生する微生物が自らの細胞を守るために長い進化の中で獲得したシステムであると考えられている (Walsh, 2000; Davies, 1994)。事実、抗生物質生産菌は自身が作る抗生物質から細胞を守る必要があり、その主要な防御システムとして、(1) 抗生物質の不活性化、(2) 標的的变化、そして、(3) 抗生物質の排出が明らかとされており、これらの耐性遺伝子が水平伝播することによって耐性菌が出現してきたと考えられている (Davies, 1994; Levy と Marshall, 2004)。

前述の MRSA に効果を示し“最後の切り札”とも言われるバンコマイシンに対して耐性能を獲得した MRSA が出現すると、もはや手の施しようがなくなると医療従事者の間では危惧されており、実際、バンコマイシン耐性の MRSA が臨床検体から 2002 年に分離されている (Taubes, 2008)。これらの耐性菌問題は抗生物質の過剰投与、誤った処方が必要な理由であるが、この問題を放置しておくと、将来ペニシリン発見以前の時代すなわち指先のちょっとした切り傷が命取りになる可能性すらある。そのため、2015 年の先進 7 カ国首脳会議の議題で初めて抗生物質に対する耐性菌問題が取り上げられ、国を挙げて対策をとる必要があると認識されるようになった (G7

science academies' statement 2015: Infectious diseases and antimicrobial resistance: Threats and necessary actions. <http://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-23-gs2015-1.pdf>。

現在生産されている抗生物質の半分以上はヒトへの治療ではなく、家畜生産の場で使用されている。この畜産現場での大量の抗生物質の使用は耐性菌出現の温床となることが問題となっている。以下において、畜産領域での抗生物質の使用とその関わりについて議論を進めることにする。

4. 畜産領域における抗生物質使用の歴史

畜産領域で抗生物質が最初に使用されたのは、第二次世界大戦中に導入され著しい治療効果を示したペニシリンの凍結乾燥品を、戦争末期に牛乳房炎に投与したのが最初である (Gustafson と Bowen, 1997; Foley ら, 1946)。その効果は、それまで用いられていた乳房炎の治療法を遙かに凌ぐものであった。これは抗生物質本来の目的である感染症の治療のためのものであったが、その後 1946 年 Moore らによりストレプトマイシンが、1949 年 Stokstad らによりオーレオマイシン (後にクロルテトラサイクリンと呼ばれた) が家禽に投与され (Moore ら, 1946; Stokstad ら, 1949)、成長促進効果があることが見いだされた。このオーレオマイシンの成長促進効果は、家禽飼料へのビタミン B₁₂ に代わる安価な添加代替物として、クロルテトラサイクリンを生産する際の副産物である *Streptomyces aureofaciens* 発酵残渣を添加することによって偶然見いだされたものであり、その効果は、家禽の成長促進効果に加えマーケットに出荷するまでに必要な飼料の減量効果が認められた (Jukes, 1977)。

このオーレオマイシンの家禽に対する成長促進効果の発見に続いて、それ以外の経済動物であるブタとウシでもこの抗生物質の成長促進効果が相次いで見いだされた (Jukes ら, 1950; Bartley ら, 1950; Cunha, 1950; Loosli と Wallace, 1950; Rushoff, 1950)。その後、抗生物質発見の黄金時代に見いだされた各種抗生物質も同様に、家畜に対する成長促進効果をもつことが見いだされ、抗生物質を家畜飼料に添加する手法は、単位面積あたり高密度で経済動物を飼養する近代の家畜生産システムの発展を支える技術となった。

5. 成長促進目的の抗生物質使用による耐性菌出現に及ぼす影響

抗生物質はヒトに限らず動物や植物等農業分野における細菌感染症の治療薬として貴重な化学療法剤である。しかし、近代の集約的家畜生産システムの発達に伴う畜産領域での抗生物質の使用量の増加、およびヒトの感染症に対する過剰量の抗生物質投与に伴う耐性菌の出現および (多剤) 耐性菌によるヒト感染症の蔓延が、公衆衛生上最大の脅威となり得るとアメリカ公衆衛生局の疾病管理予防センター (CDC, Centers for Disease Control and Prevention) が 2013 年に警鐘を鳴らした (Center for Disease Control and Prevention, Antibiotic resistance threats in the United States, 2013)。

全世界で生産される抗生物質のかなりの量は治療目的以外で使用され、農業分野への使用は 50% 以上と言われている (Cully, 2014)。中でも使用量が最も多い国の一つであるアメリカでは、年間の全抗生物質使用量の 80% 以上が畜産領域で使用されており、その多くは治療目的ではなく成長促進のために使用されている (Chattopadhyay, 2014)。この農業分野、特に経済動物を対象とした抗生物質の使用で懸念されることは、成長促進目的で使用した低濃度の抗生物質が強力な選択圧として作用し動物体内で抗生物質耐性菌を選択してしまうことである。さらに、この抗生物質は畜舎、農場の土壤、排水を介して河川、湖沼を汚染し、これらの環境の中で耐性菌が出現し、各種抗生物質に対する耐性遺伝子のプールが形成され、最終的にこれらの耐性遺伝子がヒトに感染する病原細菌に水平伝播することによって、それまで効果のあった抗生物質の効力が失われることが懸念される (You と Silbergeld, 2014)。

これらの畜産領域での抗生物質の使用が、実際に臨床的に問題となる薬剤耐性菌の出現にどのように影響を及ぼしているのかについて理解するためには、家畜生産現場での抗生物質の使用状況に関する情報が必須である。しかし、家畜の生産現場で使われる抗生物質の使用量に関する具体的な情報を得ることは困難であり、実際、飼料に添加される抗生物質の量に関して正確な情報を得ることはアメリカをはじめ多くの国で不可能である (Silbergeld ら, 2008)。その理由の一つは、獣医師による処方が必要ではない成長促進目的の抗生物質を、家畜生産者が自由に購入することができるからであり、また、これらの抗生物質を供給する製薬メーカーも情報を公開していないからである。さらに問題を深刻化させている事実は、100 カ国以上の国では抗生物質の使用に関して

何ら法的規制がないことである (Gilbert, 2012)。

5-1) 畜産領域での抗生物質の使用と耐性菌出現の関係

このように畜産領域での抗生物質の使用に関するさまざまな制約がある中での地道な研究活動から、経済動物に由来する耐性菌が環境、食物連鎖、農場従事者を介してヒトに感染する可能性があることを示す事例が近年報告されている (Mole, 2013)。人獣共通感染症起因菌である黄色ブドウ球菌は、生存に重要な7つの遺伝子の塩基配列の差異によって3,000を超えるグループ (Sequence Type, ST) に分類され、系統的に近縁の ST グループがさらに大きな分類群であるクローナルコンプレックス (Clonal complex, CC) に分類される (Feil ら, 2003)。これらのクローナルコンプレックスには個性があり、動物種によって感染しやすいグループと感染しにくいグループがある (Fitzgerald, 2012)。ヒトと動物両方に感染することが知られているクローナルコンプレックス 398 (CC398) に属する黄色ブドウ球菌の起源はヒト由来のメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) であり、この MSSA が動物に感染伝播する過程でテトラサイクリン耐性能とメチシリン耐性能を獲得したことが広範なゲノム解析によって明らかとなっている (Price ら, 2012)。そして、このメチシリン耐性の CC398 に属する菌株による感染が、オランダのある地域では MRSA による感染症の 25% にものぼることが報告されている (Price ら, 2012)。このメチシリン耐性の CC398 は動物に与えた抗生物質によって選択されたと考えられることから、経済動物への抗生物質の使用とそれに続いて出現する耐性菌の公衆衛生に及ぼす脅威が、現実のものとなりつつあることを示す証拠の一つと言える。

畜産領域での抗生物質の使用が厳しく制限されている EU では耐性菌の出現、および動物向け抗生物質の使用に関するサーベイシステムが整備されており、EU に所属する7つの国のデータを調査した結果から、抗生物質使用量と耐性菌出現に強い正の相関があることが見いだされている (Chantziaras ら, 2014)。また、我が国においても家畜から分離された大腸菌の各種抗生物質に対する感受性試験から、獣医分野での抗生物質の使用量と耐性菌出現頻度に相関があることが明らかとなっている (Asai ら, 2005)。

この耐性菌の出現で重要な点は、成長促進添加物として使用した一つの抗生物質に対して耐性になるのみならず、使用した抗生物質とは関係のない抗生物質にも同時に耐性となることである。これは、複数の薬剤耐性因子 (遺伝子) が一つの伝達性プラスミドのような遺伝子上に存在するためであり、この耐性因子が、病原細菌と常

在細菌間で、あるいはグラム陽性菌とグラム陰性菌間で、さらには動物とヒトの間で伝達されることが観察されている (Wallinga と Burch, 2013)。

5-2) 畜産領域における今後の抗生物質使用量の推計

畜産領域における抗生物質の使用と、近年特に臨床的に問題となっている耐性菌 (多剤耐性菌) による細菌感染症の脅威との間の因果関係を示す直接的あるいは具体的証拠を示すことは非常に困難である。しかし、ここで一つの重要な科学的事実を思い起こすことは意味がある。それは、抗生物質は耐性菌出現の強力な選択圧になるという事実である。つまり、抗生物質を使えば使うほど抗生物質耐性菌の出現頻度は高くなるということである。

抗生物質に対する多剤耐性菌の蔓延は公衆衛生上の脅威となることから、予防原則 (precautionary principle) の立場に立って EU 諸国は家畜産業分野での抗生物質の不必要な使用を禁止してきた。一方で、畜産領域での抗生物質の使用を制限するためには強力な政治的リーダーシップが必要であるが、畜産領域での抗生物質使用が及ぼす公衆衛生上の危険性に関する具体的な数値 (証拠) が存在しない現状では、予防原則に基づきその使用制限を制度化することはヨーロッパ諸国以外では困難である。この危険性を推定するために必要なことは、動物向けの抗生物質の使用量を把握することであり、そのための抗生物質使用量をモニターするシステムの整備が必須である。しかし、抗生物質製造メーカー、畜産農家、規模の大きい畜産農場などは抗生物質の使用量を公表することに後ろ向きであることから、実際の畜産領域での抗生物質の使用量に関して信頼のおける数値を得ることはできないのが現状である。

ごく最近、この問題にベイズ統計学モデルに基づく推定手法を用いて今後の世界の畜産領域での抗生物質の使用量の推計値が報告された (Van Boeckel ら, 2015)。この研究の特徴は、世界 32 ヶ国の抗生物質使用に関する情報、家畜の密度、食肉需要の経済予測を基礎とし、全世界の家畜用抗生物質使用量の予測とその数値を世界 228 ヶ国に割り振ったことである。その結果、全世界では 2010 年～2030 年の間に家畜生産のための抗生物質使用量が 67% 増え、63,151 ± 1,560 トンから 105,596 ± 3,605 トンに達すると予測されている。特に、BRICS 諸国 (ブラジル、ロシア、インド、中国、南アフリカ) では抗生物質に依存した生産効率の高い集約的家畜生産システムへの転換が進行しており、今後抗生物質の使用量の大幅な増加が予測されている。この結果と関連して公衆衛生上特に危惧されることは、成長促進目的の抗生物

質使用の制限がほとんどない発展途上国の多くとこれらの BRICS 諸国で、多剤耐性菌が家畜から分離されているという事実である。

6. 畜産領域での抗生物質使用禁止の足取り

家畜の生産効率向上のため多くの動物を高密度に肥育する新しい生産システムの導入と相まって、家畜の成長促進目的の抗生物質の使用が 1950 年代に認可された。飼料に添加する抗生物質の量はヒトおよび動物の治療目的の投与量より低い用量であるが、当時抗生物質耐性菌が臨床から分離され問題となっていたことから、成長促進目的の抗生物質の飼料添加がヒトを対象とする感染症治療薬に対する耐性菌の出現を促進するのではないかと危惧された。実際、ストレプトマイシンを七面鳥の飼料に添加する実験においてストレプトマイシン耐性菌が出現することが 1951 年に報告されている (Starr と Reynolds, 1951)。一方、臨床での使用が 1943 年に認可されたペニシリンに対する耐性菌は、数年後すでに臨床分離株の 20% を占めるまでになり、その他の新規に開発された抗生物質も臨床での使用から数年のうちには耐性菌が認められるようになったことから、これらの耐性菌の出現が公衆衛生上の大きな問題となった (Levy と Marchall, 2004; Taubes, 2008)。

このような背景にあって、1960 年代に成長促進のための抗生物質の使用に関する最初の議論がなされ、1969 年にイギリス議会にスワンレポートが提出された (Swann, 1969)。この委員会は、当時イギリスにおいて家畜に由来する伝達性のオキシテトラサイクリン耐性 *Salmonella enterica* Serovar Typhymurium の流行が発生し、それに対応するために組織された委員会であり、ヒトの健康に影響を及ぼしうる耐性菌出現の危険性を減らすために、飼料への成長促進目的の抗生物質添加の制限を勧告した (Swann, 1969)。特にペニシリン、タイロシン、テトラサイクリン、サルファ剤の成長促進添加物としての使用制限を要請するものであった (Swann, 1969; Butaye ら, 2003)。

この勧告に基づき、多くのヨーロッパ諸国は成長促進目的のための使用が認可されていた抗生物質のリストからペニシリン、ストレプトマイシン、テトラサイクリンを 1972 年～1974 年の間に外した (Cogliani ら, 2011)。スウェーデンはその後農業分野での抗生物質の使用に関する調査を 1980 年から始め、消費者の食肉への信頼性の低下に危機感をもった農業連合団体からの要請もあって 1986 年に抗生物質の成長促進目的の使用を禁止した (Cogliani ら, 2011)。

1990 年代初期ヨーロッパにおいて、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に著効を唯一示していた“最後の砦”とも言われたバンコマイシンに耐性を示す腸球菌 (vancomycin-resistant *Enterococcus*, VRE) が患者から見いだされ、さらに、アボパルシンを成長促進目的に使用していた農場由来の食肉からもこの VRE が分離されたことから (アボパルシンはバンコマイシンと同じグリコペプチド系の抗生物質でありアボパルシン耐性菌はバンコマイシンに対しても交叉耐性を示す)、1995 年にデンマークが、1996 年にドイツが相次いでアボパルシンの使用を禁止した (表 1)。1997 年にはヒトの感染症治療薬としても使われているスピラマイシンをフィンランドが禁止し、同年オランダはオラキンドックスとカルバドックスをヒトに対する毒性の懸念から禁止した (ともにキノキサリン quinoxaline 系抗生物質) (Cogliani ら, 2011; Maron ら, 2013)。1998 年にはデンマークがバージアマイシンの使用を禁止した (バージニアマイシンはヒト感染症治療薬として重要なストレプトグラミン系抗生物質であるキヌプリスチンとダルホプリスチンの類縁体である)。これら各国の対応に呼応して EU は、1997 年にアボパルシンの EU 域内での使用をすべて禁止し、1999 年にはヒトの感染症治療薬と同じ系統のタイロシン、スピラマイシン、バシトラシン、バージニアマイシンに加え、毒性への危惧からオラキンドックスとカルバドックスの使用を禁止した。その後、2006 年には成長促進目的の抗生物質の使用を EU は全面的に禁止した (表 1)。

表 1 家畜への成長促進目的の抗生物質使用の制限に関する EU 及び世界の対応

年代	抗生物質使用制限に関する事項
1969	スワンレポートが英国議会に提出され、家畜への成長促進目的の抗生物質の使用制限を勧告
1972 -1974	ヨーロッパ諸国によるテトラサイクリン、ペニシリン、ストレプトマイシンの成長促進目的の飼料添加の制限
1986	スウェーデンは家畜への成長促進目的の抗生物質添加を禁止
1988	スウェーデンはすべての予防的抗生物質の使用を禁止
1994	デンマークは治療用抗生物質の獣医からの直接販売を制限し抗生物質処方からの獣医の利潤を禁止
1995	デンマークではアボパルシンのすべての使用を禁止
1996	ドイツでアボパルシンの使用を禁止
1997	EU 域内でのアボパルシン使用の禁止 オランダでのオラキンドックスとカルバドックスの使用禁止
1998	デンマークでのバージニアマイシンの使用禁止 フィンランドでのスピラマイシンの使用禁止
1999	EU でのオラキンドックスとカルバドックスの使用禁止 スウェーデンはすべての成長促進目的の抗生物質の禁止
2005	アメリカ FDA はエンロフロキサシンの家禽への使用を禁止
2006	EU はすべての成長促進目的の抗生物質使用の禁止

抗生物質の使用量が最も多い国の一つであるアメリカはこのような畜産領域での抗生物質の使用制限に関する対策をほとんど取っていなかったが、アメリカ食品医薬品局（FDA）は2005年に至り家禽へのフルオロキノロン系抗生物質であるエンロフロキサシン（ヒト感染症治療薬として重要なシプロフロキサシンと構造が類似している）の使用を禁止した（HollisとAhmed, 2013）。

7. 成長促進目的の抗生物質使用禁止の効果 ：耐性菌出現に及ぼす影響

上記のような畜産領域での過剰な抗生物質使用と耐性菌出現による公衆衛生上の危機が認識されているにも関わらず、依然として成長促進目的の抗生物質の飼料添加の制限に対して反対する意見がある（Chattopadhyay, 2014; Mole, 2013; WallingaとBurch, 2013）。その反対意見の主張するところは、(1) 飼料添加抗生物質の使用停止により通常の細菌感染症が増加し、それに伴う治療用抗生物質の使用量が増え、結果的に経済的損失の方が多くなる可能性があること、(2) MRSAに感染した豚から農場従事者への感染事例は実際に起こっているが、一般住民への豚由来MRSAの伝播の可能性は非常に低いことが知られていること、そして、(3) 何よりも飼料への低用量の抗生物質添加によって出現する耐性菌が、公衆衛生上の脅威となり得ることを示す直接的な科学的根拠に乏しいことである。

しかし、成長促進目的の抗生物質が公衆衛生上の脅威となり得ることから、EUは予防原則に則って前述のように畜産領域での抗生物質の使用を禁止するに至った。その後、このEUの施策を支持する事例が相次いで報告されるようになった。ヨーロッパにおける農業分野の抗生物質使用量と耐性菌出現頻度を調査することによって、両者に正の相関があることが明らかとなってきたのである。

最も強力に抗生物質の飼料添加の抑制策を進めたデンマークでは、1995年にグリコペプチド系抗生物質のアボパルシンの使用が禁止されると、同族のバンコマイシンに対するプロイラーからのバンコマイシン耐性 *Enterococcus faecium* の分離頻度が1995年には72.7%であったものが、2000年には5.8%にまで低下し、また、豚由来の耐性菌は20.0%から6.0%に低下した（Aarestrupら, 2011）。そして、この時期に耐性菌の出現頻度を評価したヨーロッパ諸国（ドイツ、オランダ、ベルギー）でもバンコマイシン耐性腸球菌のヒトからの分離頻度も低下したことが明らかとなっている（Klareら, 1999; van den Bogaardら, 2000; Wegener, 2003）。さらに、臨床

的に重要な抗生物質である第3世代セファロスポリンの使用を、2010年にデンマークの養豚業者が自主的に禁止することによって、広域セファロスポリン分解性の耐性大腸菌の食肉からの分離頻度が低下することが明らかとなった（AgerseとAarestrup, 2013）。その後のサーベイランスでも成長促進目的の抗生物質の飼料添加を禁止することによって、畜産動物からの耐性菌の分離頻度を低下させることが可能であることを示す結果がヨーロッパ諸国で相次いでいる。

8. 成長促進目的の抗生物質使用禁止の効果 ：家畜生産への影響

成長促進目的の低用量の抗生物質使用によって出現する耐性菌による公衆衛生に及ぼしうる危険性に対して、ヨーロッパ各国の監視当局は、成長促進目的の抗生物質の使用制限と、動物への抗生物質の投与時に獣医の処方箋を義務付ける対応を取るようになってきた。予防原則の観点から成長促進目的の抗生物質の使用を禁止してきたEU諸国の中でも早くから対応してきたデンマークでは、1995年から家畜への抗生物質の使用を監視する体制を整え（Coglianiら, 2011; DibnerとRichards, 2005）、アボパルシンの使用を禁止した前年（1994年）の段階での畜産領域での全抗生物質使用量は205,686 kgであったが、2001年の使用量は94,200 kgと54%の減少を達成した（DibnerとRichards, 2005）。しかし、この期間に治療目的の抗生物質の使用量はわずかではあるが反対に増加した（1994年89,900 kgから2002年94,300 kg）（DibnerとRichards, 2005）。この増加は主に治療のための抗生物質の使用であり、成長促進目的の抗生物質の使用を制限する政策に対する主要な反対意見の根拠となっている。すなわち、成長促進目的の抗生物質の使用を禁止することによって、動物の健康管理および食肉生産の経済効果に悪影響が出るという主張である（Maronら, 2013）。

抗生物質使用禁止の食肉生産への影響は抗生物質の使用量に関する正確なモニターが困難であることから厳密な評価をすることはできないが、入手可能なデンマークとスウェーデンの事例に基づいて考えると、成長促進目的の抗生物質の制限による食肉生産への大きな影響はないと考えられる（Maronら, 2013）。また、食肉生産の経営上の視点から興味ある結果がアメリカの大手家禽生産企業であるPerdue社から報告されている（Grahamら, 2007）。7百万羽のプロイラーを使用した成長促進目的の抗生物質投与の経済的効果を評価した結果、抗生物質投与により生産効率がある程度向上したが、それを抗生物質の費用が相殺してしまい、むしろ1羽あたり\$0.0093

含む23種類の抗生物質が現在（2014年2月6日時点）でも認められている（表2）。しかし、抗生物質耐性菌の出現という公衆衛生上の問題、食肉に対する安心・安全への関心、そして諸外国の情勢から今後は日本でも抗生物質の成長促進目的の使用制限への圧力が増してくることが予想される。日本でもアボバルシンの飼料添加物としての指定が1997年に取り消されたが、動物用の抗生物質は農林水産省が、ヒトにおける感染症治療薬である抗生物質は厚生労働省が監督官庁というように、同じ抗生物質でも規制省庁が異なるという問題があり耐性菌問題に迅速に対応することが困難である。

日本における抗生物質の使用に関しては、上述した飼料添加用抗生物質の使用についての制限だけでなく、感染症の治療に関する抗生物質の使用についても表3に示すような獣医師の責務があり適正な抗生物質の使用が図られている。

このように畜産領域での抗生物質の使用に対する制限が強まる状況下において、抗生物質に代わる飼料添加物の探索への要望が増している。しかし、抗生物質の代替法を開発するためには低用量の抗生物質投与の成長促進メカニズムの解明が必須である。これまで、無菌動物に低用量の抗生物質を投与しても成長促進効果が認められないこと、成長促進効果のある抗生物質の中で腸管吸収性のないものがあることなどから、抗生物質の成長促進効果は腸内細菌叢との直接的な相互作用がその基盤であると考えられてきた（DibnerとRichards, 2005）。しかしながら、この抗菌活性による腸内細菌叢への直接的な作用に加え、宿主に及ぼす抗生物質の直接的あるいは間接的な作用も指摘されており、抗生物質の成長促進メカニズムは依然不明なままである（DibnerとRichards, 2005; Klareら, 1999）。

近年の次世代シーケンサーやメタボローム解析技術の

進展に伴い、飼料添加抗生物質の腸内細菌叢に及ぼす影響が解析できるようになり、成長促進効果のメカニズムに関する興味ある知見が最近報告されている（Choら, 2012）。作用機序の異なるさまざまな抗生物質の低用量投与が何種類もの家畜に成長促進効果が認められることから、Choらは飼料添加抗生物質は腸内細菌叢の構成とその代謝能力に影響するとの仮説を立て、幼弱期マウスに低用量の抗生物質を投与した後、腸内細菌叢の解析、代謝産物の解析、さらにマウス肝細胞のトランスクリプトーム解析を行った（Choら, 2012）。その結果、抗生物質投与によって短鎖脂肪酸合成が可能な細菌群の割合が増すような腸内細菌叢の変化が観察され、実際に糞便中の短鎖脂肪酸の増加が認められた。さらに、マウス肝細胞の脂肪とコレステロール代謝関連遺伝子の発現亢進が認められたことから、マウスの幼若期における低用量の抗生物質投与は脂肪蓄積を促すことによって増体効果が発揮されることが示された（Choら, 2012）。この結果は飼料添加抗生物質の成長促進効果のメカニズムに関する科学的データを初めて示した報告と言えるが、抗生物質の成長促進効果は動物の免疫担当細胞も含めさまざまな細胞群が影響を受けることが考えられることから、今後さらなる研究が進展することによって詳細なメカニズムの解明が期待される。

現在、抗生物質に代わる飼料添加代替法としてプレバイオティクス prebiotics（宿主動物に有益な効果を発揮する腸内細菌が選択的に栄養源とすることができる難分解性物質）、プロバイオティクス probiotics（十分な量を摂取した時に宿主に有益な作用をもたらす生きた微生物またはそれを含む飼料添加物）、有機酸を添加する方法が検討され、実際に応用されているが、抗生物質に匹敵する安定した実験結果は得られていない（Allenら, 2013）。その要因はプレバイオティクスおよびプロバイオティク

表2 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律で認められている飼料添加物

種別	飼料添加物
合成抗菌剤	アンプロリウム・エトパベート、アンプロリウム・エトパベート・スルファキノキサリン、クエン酸ムランテル、デコキネート、ナイカルバジン、ハロフロジンポリスチレンスルホン酸カルシウム
抗生物質	亜鉛バシトラシン、アピラマイシン、アルキトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン、エフロトマイシン、エンラマイシン、クオルテトラサイクリン、サリノマイシンナトリウム、センデュラマイシンナトリウム、ナラシン、ノシヘブタイド、バージニアマイシン、ピコザマイシン、フラボフォスフォリポール、モネンシンナトリウム、ラサロシドナトリウム、硫酸コリスチン、リン酸タイロシン

表3 要指示医薬品とその適正使用推進に当たっての獣医師の責務

	新キノロン系合成抗菌剤及びセフェム系抗生物質を有効成分とするもの（以下「新キノロン系等製剤」という。）は、人の医療分野においても貴重な医薬品であるため、次に掲げる事項に留意し、新キノロン系等製剤に対する薬剤耐性菌の出現防止に努めなければならない。
ア	原則として感受性を確認し、適応症の治療上必要な最小限の期間の投与にとどめること
イ	第一次選択薬が無効の症例に限り使用すること
ウ	定められた用法・用量を厳守すること
エ	用法に定められた期間以内の投与であっても、それを反復することは避けること
オ	人用新キノロン系等製剤の動物への使用、対象動物とされていない動物への使用等の適用外使用を避けること

スの作用メカニズムが不明なことに加え、これらの添加剤と宿主動物さらには腸内細菌叢との相互作用がまったく分かっていないことに起因する (Allen ら, 2013)。感染症治療に関しては、ファージセラピーおよびワクチン利用の事例もあるが、抗生物質ほど広範囲に効果を発揮する“魔法の弾丸”のような代替法ではない (Allen ら, 2013)。

新しい技術の開発には乗り越えなければならない高い壁があるが、生化学、微生物学、免疫学、栄養学、獣医学、動物管理学などの幅広い専門分野からの学際的研究の協力体制と最新技術を駆使した共同研究によって次世代の抗生物質代替法の実現が期待される。

引用文献

- Aarestrup, F.M., Sayfarth, A.M., Emborg, H.D., Pedersen, K., Hendriksen, R.S. and Bager, F. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal Enterococci from food animals in Denmark. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 2054-2059. 2001.
- Aarestrup, F. Get pigs off antibiotics. *Nature.* 486: 465-466. 2012.
- Abraham, E.P. and Chain, E. An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin. *Nature.* 146: 837. 1940.
- Agerso, Y. and Aarestrup, F.M. Voluntary ban on cephalosporin use in Danish pig production has effectively reduced extended-spectrum cephalosporinase-producing *Escherichia coli* in slaughter pigs. *J. Antimicrob.Chemother.* 68: 569-

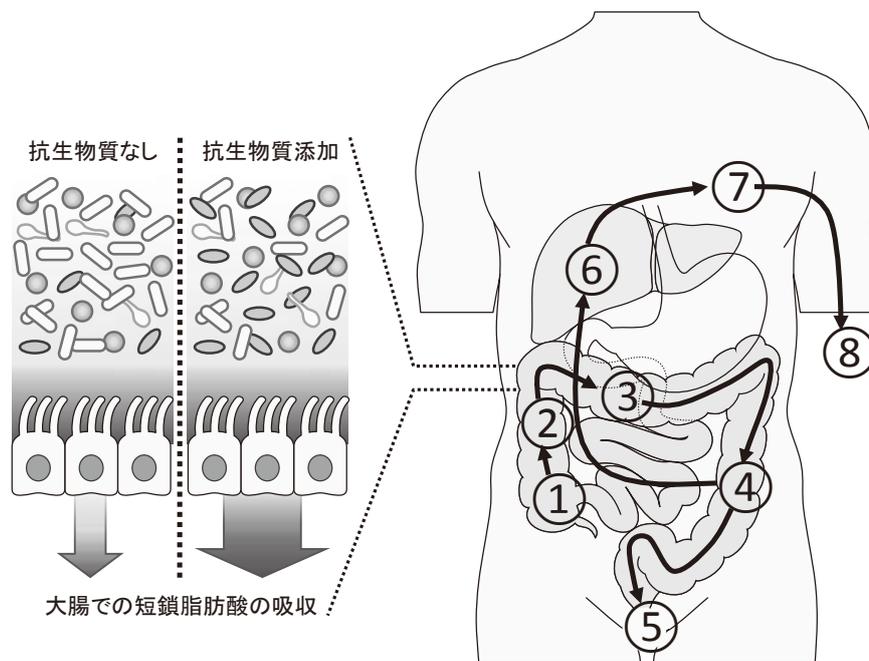


図6. 低濃度抗生物質投与による成長初期の増体（肥満）メカニズムのモデル

抗生物質添加飼料を給与したマウスの実験から、低濃度抗生物質の選択圧により、大腸の細菌叢が通常利用することができない難分解性の炭水化物を分解できる菌叢へと質的变化が起こる（左）。その結果、大腸内での短鎖脂肪酸の合成が亢進し、肝臓での脂肪合成、続いて増体（肥満）が起こると考えられる（右）。右図の①～⑧は低濃度抗生物質投与から増体（肥満）までの各段階を示す（①と⑦以外は文献(54)の実験結果に基づく）。

- ①抗生物質により結腸細菌叢への選択圧がかかる。
- ②結腸細菌叢に変化が生じる。
- ③細菌叢の短鎖脂肪酸合成酵素遺伝子に変化が生じる。
- ④腸内での短鎖脂肪酸の合成量が上昇する。
- ⑤抗生物質投与によって難分解性成分が消化され排泄物中残存成分が減少する。
- ⑥肝臓の脂肪酸合成系に関連する遺伝子の発現上昇が起こる。
- ⑦脂肪組織への合成された脂肪の蓄積が起こる。
- ⑧肥満に繋がる。

(文献(Cho, I. et. al., 2012) と (Flint, H.J., 2012) の許諾を得て作成)

572. 2013.
- Allen, H.K., Levine, U.Y., Looft, T., Bandrick, M. and Casey, T.A. Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trend. Microbiol.* 21: 114-119. 2013.
- Asai, T., Kojima, A., Harada, K., Ishihara, K., Takahashi, T. and Tamura, Y. Correlation between the usage volume of veterinary therapeutic antimicrobial and resistance in *Escherichia coli* isolated from the feces of food-producing animals in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 58: 369-372. 2005.
- Bartley, E.E., Fountaine, F.C. and Atkeson, F.W. The effects of an APF concentrate containing aureomycin on the growth and well-being of young dairy calves. *J. Anim. Sci.* 9: 646-647. 1950.
- Bridget, M. and Kuehn, M.S.J. FDA moves to curb antibiotic use in livestock. *JAMA* 311: 347-348. 2014.
- Butaye, P., Devriese, L.A. and Haesebrouck, F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: Effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 16: 175-188. 2003.
- Chain, E., Florey, H.W., Gardner, A.D., Heatley, N.G., Jennings, M.A., Orr-Ewing, J. and Sanders, A.G. Penicillin as a chemotherapeutic agent. *Lancet.* 236: 226-228. 1940.
- Chantziaras, I., Boyen, F., Callens, B. and Dewulf, J. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: A report on seven countries. *J Antimicrob Chemother* 69: 827-834. 2014.
- Chattopadhyay, M.K. Use of antibiotics as feed additives: a burning question. *Front. Microbiol.* 5: 334. 2014.
- Cho, I., Yamanishi, S., Cox, L., Methe, B.A., Zavadil, J., Li, K., Gao, Z., Mahana, D., Raju, K., Teitler, I., Li, H., Alekseyenko, A.V. and Blaser, M.J. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature.* 488: 621-626. 2012.
- Cogliani, C., Goossens, H. and Greko, C. Restricting antimicrobial use in food animals: Lessons from Europe. *Microbe* 6: 274-279. 2011.
- Cully, M. The politics of antibiotics. *Nature* 509: S16-S17. 2014.
- Cunha, T.J. Effect of aureomycin and other antibiotics on the pig. *J. Anim. Sci.* 9:653-654. 1950.
- Davies, J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science.* 264: 375-382. 1994.
- Dibner, J.J. and Richards, J.D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult. Sci.* 84: 634-643. 2005.
- Domagk, G. Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Injektionen. *Deutsche medizinische Wochenschrift.* 61: 250-253. 1935.
- Feil, E.J., Cooper, J.E., Grundmann, H., Robinson, D.A., Enright, M.C., Berendt, T., Peacock, S.J., Smith, J.M., Murphy, M., Spratt, B.G., Moore, C.E. and Day, N.P.J. How clonal is *Staphylococcus aureus*? *J. Bacteriol.* 185: 3307-3316. 2003.
- Fitzgerald, J.R. Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: origin, evolution and public health threat. *Trends Microbiol.* 20: 192-198. 2012.
- Fleming, A. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. Influenzae*. *Bri. J. Exp. Pathol.* 10: 226-236. 1929.
- Flint, H.J. Antibiotics and adiposity. *Nature.* 488: 601-602. 2012.
- Foley, E.G., Lee, S.W. and Epstein, G.A. The effect of penicillin on staphylococci and streptococci commonly associated with bovine mastitis. *J. Milk Technol.* 8: 129-133. 1946.
- Gilbert, N. Rules tighten on use of antibiotics on farms. *Nature.* 481: 125. 2012.
- Graham, J.P., Boland, J.J. and Silbergeld, E. Growth promoting antibiotics in food animal production: an economic analysis. *Pub. Health Rep.* 122: 79-87. 2007.
- Gustafson, R.H. and Bowen, R.E. Antibiotic use in animal agriculture. *J. Appl. Microbiol.* 83: 531-541. 1997.
- Hollis, A. and Ahmed, Z. Preserving antibiotics, rationally. *N. Eng. J. Med.* 369: 2474-2476. 2013.
- Jukes, T.H., Stokstad, E.L.R., Yaylor, R.R., Combs, T.J., Edwards, H.M. and Meadows, G.B. Growth promoting effect of aureomycin on pigs. *Arch. Biochem.* 324-330. 1950.
- Jukes, T.M. The history of the 'antibiotic growth effect'. *Federation Proceedings,* 37: 2514-2518. 1977.
- Klare, I., Badstubner, D., Konstabel, C., Bohme, G., Claus, H. and Witte, W. Decreased Incidence of VanA-type Vancomycin-Resistant Enterococci Isolated from Poultry Meat and from Fecal Samples of Humans in the Community after Discontinuation of Avoparcin Usage in Animal Husbandry. *Microb. Drug. Resist.* 5: 45-52. 1999.
- Levy, S.B. and Marshall, B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat. Med.* 10: S122-S129. 2004.

- Loosli, J.K. and Wallace, H.D. Influence of APF and aureomycin on growth of dairy calves. Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine 75:531-533. 1950.
- Maron, D.F., Smith, T.J.S. and Nachman, K.E. Restrictions on antimicrobial use in food animal production: an international regulatory and economic survey. Global. Health. 9: 48. 2013.
- Mole, B. Farming up trouble. Nature. 499: 398-400. 2013.
- Moore, P.R., Evenson, A., Luckey, T.D., mccoey, E., Elvehjem, E.A. and Hart, E.B. Use of sulphasuccidine, streptothricin and streptomycin in nutrition studies with the chick. J. Biol. Chem. 165: 437-441. 1946.
- Price, L.B., Stegger, M., Hasman, H., Aziz, M., Larsen, J., Andersen, P.S., Pearson, T., Waters, A.E., Foster, J.T., Schupp, J., Gillece, J., Driebe, E., Liu, C.M., Springer, B., Zdovc, I., Battisti, A., Franco, A., Zmudzki, J., Schwarz, S., Butaye, P., Jouy, E., Pomba, C., Porrero, M.C., Ruimy, R., Smith, T.C., Robinson, D.A., Weese, J.S., Arriola, C.S., Yu, F., Laurent, F., Keim, P., Skov, R. and Aarestrup, F.M. *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. mBio. 3: e00305-11. 2012.
- Rushoff, L.L. APF supplements for calves. J. Anim. Sci. 9: 666. 1950.
- Silbergeld, E.K., Graham, J. and Price, L.B. Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. Annu. Rev. Public Health 29: 151-169. 2008.
- Starr, M.P. and Reynolds, D.M. Streptomycin resistance of coliform bacterial from turkeys fed stractomycin. Am. J. Pub. Health 41: 1375-1380. 1951.
- Stokstad, E.L.R., Jukes, T.H., Pierce, J., Page, A.C.Jr. and Franklin, A.L. The multiple nature of the animal protein factor. J. Biol. Chem. 180: 647-654. 1949.
- Swann, M.M. Report of Joint Committee on the use of antibiotics in animal husbandary and veterinary medicine. Her Majesty's Stationery Office, London, UK. 1969.
- Taubes, G. The bacteria fight back. Science. 321: 356-361. 2008.
- Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T.P., Teillant, A. and Laxminarayan, R. Global trends in antimicrobial use in food animals. Proc Natl Acad Sci USA 112: 5649-5654. 2015.
- Van den Bogaard, A.E., Bruinsma, N. and Stobberingh, E.E. The effect of banning avoparcin on VRE carriage in The Netherlands. J Antimicrob Chemother. 46: 145-146. 2000.
- Waksman, S.A. What is an antibiotic or an antibiotic substance? Mycologia. 39: 565-569. 1947.
- Wallinga, D. and Burch, D.G.S. Does adding routine antibiotics to animal feed pose a serious risk to human health? BMJ 347: f4214. 2013.
- Walsh, C. Antibiotics: action, origins, resistnace. ASM Press, Washington, DC. 2000.
- Walsh, C.T. and Wencewicz, T.A. Prospects for new antibiotics: a molecular-centered perspective. J. Antibiot. 67:7-22. 2014.
- Wegener, H.C. Antibiotics in animal fed and their role in resistance development. Curr. Opin. Microbiol. 6: 439-445. 2003.
- Yoneyama, H. and Katsumata, R. Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. Biosci. Biotechnol. Biochem. 70: 1060-1075. 2006.
- You, Y. and Silbergeld, E.K. Learning from agriculture: understanding low-dose antimicrobials as drivers of resistome expansion. Front Microbiol. 5: 284. 2014.