

総説

酪農における DDD 値を用いた抗菌剤使用量評価

菊池允人

千葉県農業共済組合西部家畜診療所八千代出張所

〒 276-0049 千葉県八千代市緑が丘 2-5-12

TEL:047-450-6218

Email : s-yachiyo@nosai-chiba.or.jp

【要 約】

近年、医療および獣医療分野で抗菌剤の適切な使用が求められており、そのためには現状の抗菌剤使用量を評価する必要があるが、国内の畜産、特に酪農においてはそのような報告は少ない。本総説では畜産をとりまく抗菌剤使用の状況を述べるとともに、Defined daily dose (DDD) 値を用いた抗菌剤使用量の評価方法を紹介する。DDD 値は「医療品の主な適応症に対する 1 日あたりの仮想平均維持量」と定義され、医療分野で生まれた概念であるが、近年、欧州各国を中心に動物用 DDD 値を設定し、抗菌剤使用量を評価する取り組みが行われている。著者らは、千葉県内酪農家 34 戸における抗菌剤使用状況を 2017 年の 1 年間分調査し、製品ごとに定められた日本版動物用 DDD 値を用いて Treatment Days (平均治療日数: TDs) という指標を算出し抗菌剤使用量の評価を行った。

抗菌剤使用量は 9 つの系統および 4 つの投与経路 (注射、乳房内、経口、子宮内) 別に集計し、乳房内投与に関しては更に泌乳期用と乾乳期治療 (dry cow treatment: DCT) 用に分類した。有効成分重量ベースでは注射投与のペニシリン系抗菌剤の使用量が最も多かったが、DDD ベースでは乳房炎に使用される抗菌剤、特に DCT に用いられるペニシリン系の TDs が最も多かった。有効成分重量ベースでは抗菌剤の単位重量あたりの力価や用量が考慮されないが、DDD ベースの評価は抗菌剤の種類ごとの影響をより正確に反映しており、抗菌剤の使用実態の把握において有用な評価方法だと考える。

キーワード: antimicrobial, defined daily dose, dry cow therapy, mastitis

抗菌剤使用と薬剤耐性

抗菌剤の歴史は古く、Flemingが1928年に初めてペニシリンを発見し [1]、1940年にペニシリンが合成されて以降、様々な種類の抗菌剤が発見、開発されてきた [2]。1970年代以降、抗菌剤の新規開発競争が激化し、極めて広域なスペクトルを持つカルバペネム系を含むβラクタム系や、マクロライド系、テトラサイクリン系などは第2、第3世代まで開発された他、セファロスポリン系、キノロン系、などは第4

世代まで改良が進み、バンコマイシンなどの合成抗菌薬も誕生した [2-3]。一方、薬剤耐性菌はペニシリンが普及し始めた1940年代から存在していたとされるが [4]、1980年代以降、医学および獣医学分野で急速に多剤薬剤耐性菌が増加している [5]。アメリカのCenters for Disease Control and prevention (CDC) や World Health Organization (WHO) は *Clostridioides difficile* やカルバペネム耐性腸内細菌、extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) 産生腸内細菌、バンコマイシン耐性腸球菌、methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)、多剤耐性アシネトバクター、

受理: 2021年10月19日

多剤耐性緑膿菌などを重要な薬剤耐性菌として挙げている [6-7]。また、先進国以上に開発途上国では院内感染が増加しており、*Escherichia coli* (*E.coli*) や *Klebsiella* 属の多くが第3世代セファロスポリンやゲンタマイシンなどの主要な抗菌剤に耐性を示したとの報告もある [8]。グラム陰性菌などによる敗血症は生後4週間以内の新生児の死亡原因の25%以上を占め、ほとんどが開発途上国での発生である [9]。その治療において、ESBL産生菌などの多剤耐性菌の増加は深刻な問題である [10]。

このような薬剤耐性菌が増加する一方で、新規の抗菌剤の開発は1980年代以降減少し続けている [11]。英国政府の調査委員会による O'neal report では AMR に関連した死者は毎年約70万人おり、2050年には1,000万人に増加することが予測され、世界的な関心を集めている [12]。この O'neal report の最終報告では、解決のための方策として、抗菌剤使用に関する啓蒙活動、新規の抗菌剤の供給、診断技術の改良による抗菌剤のより選択的な使用、そして農業での抗菌剤使用の削減、の4つの介入が特に重要であると述べている。これを受け、最近では実際に低中所得国 (LMIC) での薬剤耐性感染症の調査や、新規抗菌剤の開発のために大規模な基金が設立されるという動きもある [13-14]。それらと同様に農業、特に畜産分野での抗菌剤使用削減に向けた世界規模での取り組みが求められている。

畜産における抗菌剤使用

畜産において抗菌剤は家畜の健康維持、人獣共通感染症の予防の他、成長促進の目的で使用されて様々な恩恵をもたらすが、同時に薬剤耐性菌の増加により公衆衛生上の問題を引き起こす可能性もある諸刃の剣である [15]。アメリカの Food and Drug Administration (FDA) の調査では、抗菌剤の販売量のうち70%以上が畜産を中心とする動物用抗菌剤であるとしている [16]。また近年、経済成長著しい BRICS (ブラジル、ロシア、インド、中国、南アフリカ) などを中心に世界的に畜産物の需要が高まり、農業の大規模集約化が進むとともに、抗菌剤の使用量も急増しており、今後も増加傾向が続く

と予想されている [17]。畜産における抗菌剤の使用量増加は選択圧を高めて薬剤耐性菌の出現につながると考えられており、*E. coli* の薬剤耐性率と抗菌剤使用量の強い相関の報告 [18] や、成長促進目的の低用量の抗菌剤使用と薬剤耐性菌の関連を示す報告 [19] もある。

畜産動物由来の薬剤耐性菌は、家畜の感染症治療を困難にするだけでなく、家畜の飼養者を始め、堆肥中や流通している鶏肉においても存在が確認されており、環境や畜産物を通じて多くの人へ伝播することが懸念されている [20-23]。

OECD 加盟国での調査によると、畜産における家畜バイオマス重量 (Population correlation unit: PCU) 当たりの抗菌剤使用量は豚が最も多く平均 172 mg/PCU、鶏が平均 148 mg/PCU、牛が平均 45 mg/PCU となっている [17]。この傾向は日本でも同様で、2005年から2013年の抗菌剤販売量調査では豚が 442 ~ 499 mg/PCU、鶏が 87 ~ 124 mg/PCU、乳牛が 45 ~ 74 mg/PCU、肉牛が 40 ~ 64 mg/PCU であった [24]。抗菌剤系統別では全家畜種でテトラサイクリンが最も多く、ペニシリン系やサルファ剤がそれに続くが、牛、特に乳牛においては豚や鶏でほとんど使用されていないセファロスポリン系の使用量も多い。また、投与経路別販売量では豚、鶏がほとんど経口投与であるのに対し、牛では経口投与は6割程度で注射薬の占める割合が大きく、乳牛では乳房内投与薬が1割程度を占めている [25]。このことは群管理が主体で飼料に混ぜて抗菌剤を使用する頻度が多い豚、鶏に比べ、牛に対しては注射投与や乳房内投与など、個体診療で使用される抗菌剤が多いことを示している。そのため、抗菌剤使用のより厳密な評価ためには他の畜種とは違ったアプローチが必要である。

DDD 値を用いた抗菌剤使用量のモニタリング

抗菌剤使用量の評価方法はいくつかあり、まず最も簡易な方法として年間有効成分販売重量 (トンまたは kg) がある。これは製造販売業者から得た抗菌剤ごとの販売数量に、製品のパッケージごとに含まれる有効成分重量を乗じることにより比較的容易に計算できる。

日本では、農林水産省が公表している「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」[26]において抗菌剤（有効成分）別、投与経路別の販売重量と畜種別の割合を知ることができる。ただ、国や年次により家畜の飼養頭数が異なることから、このデータのみでは国際的な比較や経時的な比較には使用できない。

国際的な比較、年次間の比較を可能とするために用いるのが前述のPCUあたりの有効成分重量（mg）である。この方法では、PCUのデータがあれば異なる畜種間の比較も可能である。しかしながら、有効成分重量のみでは用量・投与期間や投与経路の異なる抗菌剤を単純には比較できず、家畜の各抗菌剤への暴露の影響を正確に反映しているとは言えない。

そこで著者らは、Defined daily dose (DDD) 値を用いた評価方法に着目した。DDD 値は医療分野での抗菌剤使用量調査のために生まれた概念であり、「医療品の主な適応症（中等症）に対して成人（平均体重 70kg を想定）に 1 日あたりに用いられると考えられる用量（仮想平均維持量）」と定義され、用法や用量の異なる薬物間の比較や、国や地域間の比較を可能にする [27]。また、有効成分重量のみの評価では少ない用量で高い効果を発揮する薬剤や持続性の薬剤の影響が過小評価される可能性もあるが、DDD 値を用いることでそのような薬剤の影響もより正確に評価することができる。そのため医療分野では WHO は DDD 値を用いた薬物使用量の集計を推奨しており [28]、近年、獣医学分野においても欧州を中心に抗菌剤の種類、投与経路、対象動物ごとに異なる動物用 DDD 値 (DDDvet) を設定し、抗菌剤の影響を評価する取り組みが行われはじめて [29-31]。Fujimoto らは日本国内で承認されている抗菌剤を対象に牛用の日本版動物用 DDD 値 (DDDjp) の設定を試みている [32]。

Fujimoto らの DDDjp の具体的な計算方法としては、主適応症の用量および投与日数を用い、用量に幅がある場合に示されている最大用量と最小用量の平均を体重 1 kg、1 日当たりの量に換算して算出している。例えばオキシテトラサイクリン注射薬の用量（有効成分重量）は牛で 1 日 1 回体重 1kg 当たり 2 ~ 10 mg なので、DDD 値はその平均の 6mg/kg/day となるが、

同じオキシテトラサイクリンでも乳房内注入薬の用量は牛 1 頭 1 分房当たり 1 容器を 1 日 1 ~ 2 回 (450 mg ~ 900 mg) なので、DDD 値はその平均 675 mg を成乳牛の平均体重 635 kg (松田らの方法と同じく家畜改良事業団の設定値を使用 [24]) で除した 1.06 mg/kg/day となる。一部の注射薬や乾乳期用乳房内注入薬など持続型の製剤については、用量を持続日数で除して算出している。また、同一成分で泌乳期用、乾乳期用の製品がある乳房内注入薬に関しては、販売中の全製品の DDD 値の平均を用いた。

本調査ではこの DDDjp を集計に用い（表 1 参照）、2017 年 1 月から 2017 年 12 月までの診療所管内酪農家 34 戸における抗菌剤使用量を評価した。具体的な方法としては、まず診療記録および抗菌剤製剤販売実績から、投与経路（注射、乳房内、経口、子宮内）の異なる 23 種類、計 34 の抗菌剤について各農家の年間使用量（純末換算した有効成分重量）を求めた。これを抗菌剤ごとに定められた DDDjp、成乳牛の平均体重 635 kg および成乳牛（24 カ月齢以上）の年間平均飼養頭数で割り、全抗菌剤で合計したものを各農家におき Treatment Days（平均治療日数：TDs）と定義した。計算式は以下の通りである。

農家 A における抗菌剤 a の TDs a

$$= \frac{\text{農家 A における抗菌剤 } a \text{ の年間使用量 (mg)}}{a \text{ の DDDjp} \times \text{農家 A の年間平均成乳牛飼養頭数} \times 635 \text{ (kg)}}$$

$$\text{農家 A の TDs} = \sum_{a=1}^{34} \text{TDs}_a$$

簡単に言い換えると、「ある農家で成乳牛 1 頭当たり年間何日抗菌剤を使用したか」という指標となる。

その結果、対象酪農家の平均 TDs は 14.99 (SD = 7.65) であった。他国（オランダ、ベルギー、アメリカ、パキスタン）でも同様に DDD ベースで抗菌剤の治療日数を評価した報告があり [31, 33-35]、これらを今回用いた TDs に換算すると、それぞれ 2.2、7.6、6.3、17.4 となり、パキスタンを除く各国の報告と比較すると本調査の結果は調査期間を通じて高い水準であっ

表1 本調査で使用した牛の日本版DDD値 (Fijimotoらの報告 [32] を改変)
合剤の場合は第2成分のDDD値をDDD (2) として記載している。

系統	種類	投与経路	DDD (1) (mg/kg/day)	DDD (2) (mg/kg/day)
アミノグリコシド系	カナマイシン	注射	7.5	
セファロスポリン系	セファピリン	乳房内	0.31	
	セファゾリン	乳房内	0.39	
	セファゾリン	注射	5	
	セフチオフル	注射	2.18	
	セフロキシム	乳房内	0.59	
フルオロキノロン系	ダノフロキサシン	注射	1.25	
	エンロフロキサシン	注射	4.22	
	マルボフロキサシン	注射	2	
	オルビフロキサシン	注射	3.75	
マクロライド系	エリスロマイシン	乳房内	0.47	
	チルミコシン	経口	14.06	
	チルミコシン	注射	10	
	タイロシン	注射	7	
ペニシリン系	アモキシシリン	注射	7.5	
	アンピシリン	注射	6.16	
	アンピシリン	子宮内	0.79	
	アンピシリン	経口	8	
	ジクロキサシリン	乳房内	0.55	
	メシリナム	注射	3.75	
	ペニシリン	注射	4.2	
スルホンアミド系	スルファジメトキシム	注射	35	
	スルファモノメトキシム	注射	25	
テトラサイクリン系	テトラサイクリン	乳房内	1.06	
	テトラサイクリン	経口	9.33	
	テトラサイクリン	注射	6	
	テトラサイクリン	子宮内	0.79	
チアンフェニコール系	フロルフェニコール	注射	10	
合剤	カナマイシン (1) + ペニシリン (2)	乳房内	0.47	0.85
	ペニシリン (1) + ジヒドロストレプトマイシン (2)	乳房内	0.61	1.02
	ペニシリン (1) + ジヒドロストレプトマイシン (2)	注射	4.2	8.75
	オルメプリム(1) + スルファモノメトキシム (2)	経口	3.75	11.25

た。ただし、主に用いている抗菌性物質の種類、や用量および投与期間の設定をはじめ、DDD値の計算方法、家畜の仮想平均体重の設定など様々な違いがあるため、他国のデータと比較する際は注意が必要である。例えば、本調査では泌乳期用およびDCT用の乳房内投与薬で多く使用されているペニシリンとジヒドロストレプトマイシンの合剤に関しては各成分についてTDsを計上しているが、オランダでは合剤を1つの抗菌剤としてDDD値を設定しており、その場合は合剤の各成分のTDsは今回の方法の半分になる。また、DCT用乳房内投与薬やLong-actingの注射薬などの効果持続期間に関

しても各国で見解が異なる。これらの要因はモニタリングの結果に及ぼす影響が大きいため、今後も他国の動向を見ながら検討してゆく必要がある。

図1には、抗菌剤の系統ごとおよび投与経路ごとに集計した各年の使用量を、PCUあたりの有効成分重量（重量ベース、図1a）とTDs（DDDベース、図1b）で示した。

重量ベースではアンピシリン、ペニシリンを含む注射投与のペニシリン系が最も割合が多く、次いでDCT用のアミノグリコシド系、ペニシリン系、注射用セファロスポリン系という結果であった。一方、DDDベースではDCT

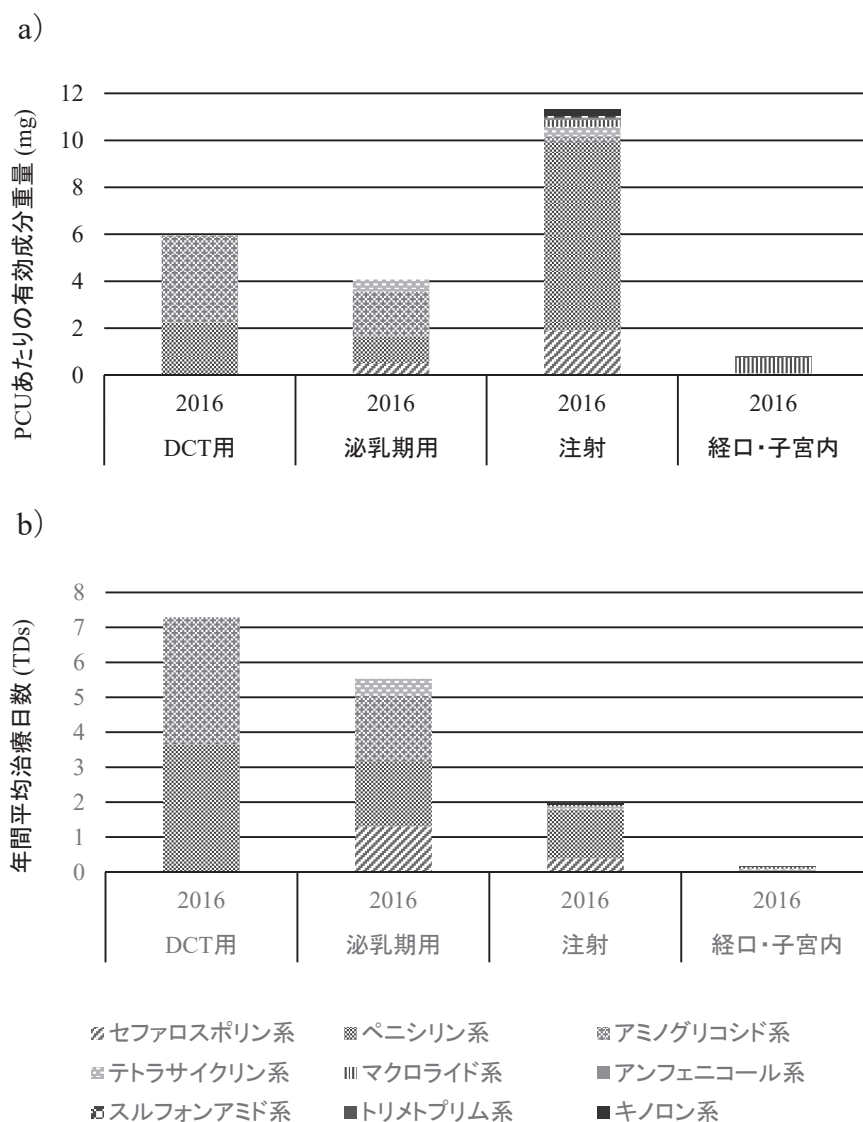


図1 抗菌剤の系統ごとおよび投与経路ごとの集計結果。使用量を
a) PCUあたりの有効成分重量 (重量ベース) と、b) TDs (DDDベース) で示した。

用のペニシリン系、アミノグリコシド系、次いで泌乳期用のペニシリン系、アミノグリコシド系、セファロスポリン系が多く、重量ベースでの評価よりも乳房内投与薬の影響が大きく評価される傾向がみられた。乳房炎の治療は重症化したものを除けば乳房内投与薬の薬治により農家自身が治療を行うケースが多いため、臨床獣医師や農家にとってはDDDベースの結果の方がより感覚的に理解しやすいデータであると思われる。

本調査の結果から、臨床型乳房炎の対策および乾乳期の乳房炎治療を見直すことで抗菌剤の使用量を大幅に削減できる可能性が示された。

乳房炎に対する抗菌剤使用低減にむけて

乳牛においては、抗菌剤は成長促進の目的 [36-37] の他、臨床型および潜在性乳房炎、子宮炎、胎盤停滞、呼吸器病、運動器病などを含む感染症治療に主に使用され [38]、なかでも最も多く使用されているのは乳房炎に対してである [33, 39-41]。その傾向は著者らの調査およびDDDベースで集計した過去の報告とも一致する。一般的に、乳房炎の治療にはβラクタム系、セファロスポリン系、アミノグリコシド系、テトラサイクリン系、フルオロキノロン系などの抗菌剤が、乳房内投与および全身投与で用いられる [41]。このような抗菌剤の過剰

な乳房内投与は薬剤耐性菌の増加との関連が示唆されている [42-43]。医療上重要な第 3 世代セファロsporin 系の抗菌剤は、日本では乳房炎に対して認可された薬剤はないが、海外では使用されている国もある [44-45]。セフトオフルは ESBL 産生菌の増加の原因となりうると考えられており、実際に近年、乳牛から分離された *E. coli* などの腸内細菌において ESBL 産生菌の割合の増加が報告されている [46-47]。また、フルオロキノロン系への耐性をもつ乳牛由来の *E. coli* の存在も報告されている [48-49]。これらの系統の抗菌剤は重症化しやすい大腸菌群による急性乳房炎 (ACM) によく使用されるが、その薬剤耐性拡大は世界的な懸念事項であり、酪農における使用は検討されなければならない課題である。

また、*Streptococcus uberis* (*S. uberis*) に代表される *Streptococcus* spp.、*S. aureus*、大腸菌群などを起因菌とする乳牛の乳房炎は、これらの菌のバイオフィーム形成能により慢性化しやす

いと考えられている [50-51]。バイオフィームとは特定の細菌がコロニーを形成する際につくられる構造体であり (図 2) [52]、分子フィルターとして抗菌剤の浸透を防ぐこと、バイオフィーム内の pH、 pO_2 、 pCO_2 などの微小環境の変化が抗菌剤の活性を阻害する他、バイオフィーム内に残存した細菌 (persister cells) の増殖速度が非常に遅く増殖期に効果的な抗菌剤が作用しにくいことなどにより、抗菌剤の過剰使用や薬剤耐性化の一因となると考えられている [53-54]。また近年では、細菌同士が密度を感知して伝達物質によりコミュニケーションを行う quorum sensing (QS) とバイオフィーム形成および薬剤耐性獲得との関連が注目されており、牛の乳汁由来の *S. aureus* や *E. coli* でも QS 関連遺伝子と病原性や薬剤耐性との関連が報告されている [55-57]。抗菌剤を過剰に使用しないためにも、乳房炎におけるバイオフィームや QS に関する更なる研究が期待される。

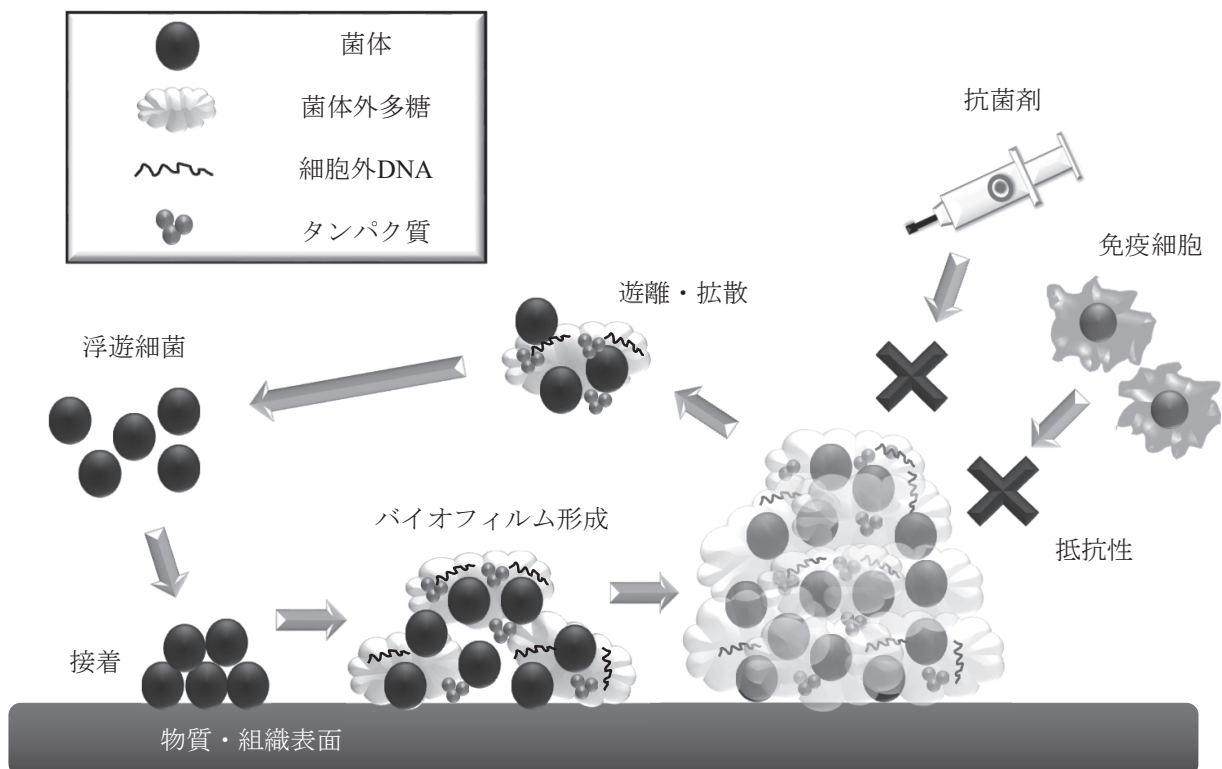


図 2 バイオフィーム形成と抵抗性 (模式図)

バイオフィーム形成能をもつ浮遊細菌が物質や組織の表面に接着し増殖すると菌体外多糖、細胞外 DNA、タンパク質などの成分を分泌してバイオフィームを形成し、抗菌剤や免疫細胞の作用に抵抗性を示す。一部の細菌は遊離して再び浮遊細菌となり、別の場所へ拡散される。

([52] をもとに作成、[74] から転載)

これまで述べたように、慢性化した乳房炎は抗菌剤のみで対処することは難しく、薬剤耐性の原因となりうるため見直されなければならない課題である。そのため乳房炎の防除が重要であり、搾乳衛生や飼養環境など様々な要因を併せて考える必要があるが、本稿ではワクチネーションと DCT に焦点を絞って言及する。

ワクチネーションは乳房炎の重症化および慢性化を防ぐうえで有効な手段である。毒素原性 *E. coli* ワクチンである Imocolibov[®] (科学飼料研究所) は *E. coli* の付着因子 K99、FY、31A 保有株および O78 の不活化菌体を含み、本来は分娩前の母牛に接種されて移行抗体により子牛の大腸菌性下痢症を予防する目的のワクチンであるが、分娩後の ACM の症状を軽減する効果も認められているため、認可された乳房炎ワクチンが無かった日本では広く使用されてきた [58]。千葉県でも広く使用されているが、近年では 2016 年に日本での販売が開始された乳房炎ワクチン、スタートバック[®] (Hipra 社) も使用され始めている。スタートバック[®] は *S. aureus* SP140 株と *E. coli* J5 株を用いた不活化ワクチンであり、*S. aureus*、CNS、大腸菌群に有効である。*S. aureus* SP140 株は前述したバイオフィルムの成分である slime associated antigenic complex (SAAC) [59] を特に多く産生する株であり、これに対する抗体産生を誘導することでバイオフィルム抑制効果があると考えられている。野外試験での有効性の報告も国内外であり [60-63]、乳房炎防除において特に有効な手段の 1 つと言える。また国外では、*S. uberis* に対するワクチンも販売開始されており [64]、今後その効果の検証が期待される。

泌乳期の終わりに抗菌剤を乳房内投与する DCT は乾乳期および分娩後の臨床型乳房炎の予防において有効であることが知られており、多くの国で大部分の牛に対して行われているが、この DCT が抗菌剤使用量を大きく引き上げる原因となっている [33, 65-68]。このことは著者らの調査とも一致する。日本では諸外国と同様 [69-72]、乾乳時に全頭、全乳房に乾乳軟膏を予防的に投与する blanket dry cow treatment (BDCT) が主流であるが、この方法は抗菌剤の使用量を増加させる主な原因とな

る。

抗菌剤使用量低減を推進しているオランダでも DCT に用いる抗菌剤が酪農における抗菌剤使用の多く (約 49%) を占めるとの報告があり、BDCT を規制する動きもある [31]。その代わりに乾乳時に乳房炎を罹患している乳房のみ薬剤を注入する selective treatment (SDCT) が近年注目されており [72-73]、今後日本でも検討されるべき方法であるが、乾乳前の乳房炎検査や乾乳期の衛生管理などが伴わなければ周産期の臨床型乳房炎を増加させる可能性もあるため、慎重な実施が求められる。

結論として、酪農における抗菌剤使用量低減のためには、抗菌剤使用量モニタリングを継続するとともに、ワクチネーションや SDCT の導入などを活用して乳房炎防除および乳房炎に対する抗菌剤の過剰使用抑制に努める取り組みが重要であると考えられる。

謝辞

本総説に用いたデータの分析にあたりご指導賜りました東京大学大学院農学生命科学研究科 杉浦勝明教授に深謝いたします。

引用文献

- [1] Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *Br J Exp Pathol*. 1929; 10(3): 226-236.
- [2] Fischbach MA, Walsh CT. Antibiotics for emerging pathogens. *Science*. 2009; 325(5944): 1089-1093.
- [3] Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ, Noreddin AM, Karlowsky JA. Comparative review of the carbapenems. *Drugs*. 2007; 67(7): 1027-1052.
- [4] Knapp CW, Dolfing J, Ehlert PA, Graham DW. Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940. *Environ Sci Technol*. 2010; 44(2): 580-587.
- [5] Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, Vlieghe E, Hara GL, Gould IM, Goossens H, Greko C, So AD, Bigdeli M, Tomson G, Woodhouse W, Ombaka E, Peralta AQ, Qamar FN, Mir F, Kariuki S, Bhutta ZA, Coates A, Bergstrom R, Wright GD, Brown ED, Cars O. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13(12): 1057-1098.
- [6] CDC (Centers for Disease Control and Prevention):

- Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013, <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>
- [7] WHO (World Health Organization): Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics, 2017, https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1
- [8] Waters D, Jawad I, Ahmad A, Lukšić I, Nair H, Zgaga L, Theodoratou E, Rudan I, Zaidi AK, Campbell H. Aetiology of community-acquired neonatal sepsis in low and middle income countries. *J Glob Health*. 2011; 1(2): 154-170.
- [9] Lawn JE, Cousens S, Zupan J; Lancet Neonatal Survival Steering Team. 4 million neonatal deaths: when? Where? Why? *Lancet*. 2005; 365(9462): 891-900.
- [10] Viswanathan R, Singh AK, Ghosh C, Dasgupta S, Mukherjee S, Basu S. Profile of neonatal septicaemia at a district-level sick newborn care unit. *J Health Popul Nutr*. 2012; 30(1): 41-48.
- [11] Cooper MA, Shlaes D. Fix the antibiotics pipeline. *Nature*. 2011 ; 472 (7341): 32.
- [12] O'Neill J: Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations, 2016, https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
- [13] Seale AC, Gordon NC, Islam J, Peacock SJ, Scott JAG. AMR Surveillance in low and middle-income settings - A roadmap for participation in the Global Antimicrobial Surveillance System (GLASS). *Wellcome Open Res*. 2017; 2: 92.
- [14] Mullard A. Pharmaceutical firms commit US\$1 billion to antibiotic development. *Nat Rev Drug Discov*. 2020; 19(9): 575-576.
- [15] Hao H, Cheng G, Iqbal Z, Ai X, Hussain HI, Huang L, Dai M, Wang Y, Liu Z, Yuan Z. Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals. *Front Microbiol*. 2014; 5: 288.
- [16] FDA (Food and Drug Administration), Summary report on antimicrobials sold or distributed for use in food producing animals., 2015, <https://www.fda.gov/files/about%20fda/published/2015-Summary-Report-on-Antimicrobials-Sold-or-Distributed-for-Use-in-Food-Producing-Animals.pdf>
- [17] Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015; 112(18): 5649-5654.
- [18] Chantziaras I, Boyen F, Callens B, Dewulf J. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. *J. Antimicrob. Chemother*. 2014; 69(3): 827-834.
- [19] You Y, Silbergeld EK. Learning from agriculture: understanding low-dose antimicrobials as drivers of resistome expansion. *Front Microbiol*. 2014; 5: 284.
- [20] 田村 豊. 食用動物に由来する薬剤耐性菌の現状と対策. *環境感染誌* 2017; 32 (6): 322-329.
- [21] Smith TC, Gebreyes WA, Abley MJ, Harper AL, Forshey BM, Male MJ, Martin HW, Molla BZ, Sreevatsan S, Thakur S, Thiruvengadam M, Davies PR. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and farm workers on conventional and antibiotic-free swine farms in the USA. *PLoS One*. 2013; 8(5): e63704.
- [22] Graham JP, Evans SL, Price LB, Silbergeld EK. Fate of antimicrobial-resistant enterococci and staphylococci and resistance determinants in stored poultry litter. *Environ Res*. 2009; 109(6): 682-689.
- [23] Price LB, Johnson E, Vailes R, Silbergeld E. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* isolates from conventional and antibiotic-free chicken products. *Environ Health Perspect*. 2005; 113(5): 557-560.
- [24] 松田真理, Kwan NCL, 川西路子, 小池良治, 杉浦勝明. 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の評価: 細井らの方法と EU の方法による評価結果の比較. *家畜衛生学雑誌* 2017; 42(4): 191-197.
- [25] 杉浦勝明. 2015; 動物用抗菌剤の使用量調査に関する情報整備.
- [26] 農林水産省 " 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 (2018) " https://www.maff.go.jp/nval/iyakutou/hanbaidaka/pdf/h30_hanbaidaka.pdf (参照 2020-12-10)
- [27] 津谷喜一郎, 五十嵐中, 森川馨. ATC/DDD とは何か 医薬品の合理的使用を目指すものさし. *薬剤疫学* 2004; 9(2): 53-58.
- [28] Dellit TH, Owens RC, McGowan JE Jr, Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, Huskins WC, Paterson DL, Fishman NO, Carpenter CF, Brennan PJ, Billeter M, Hooton TM; Infectious Diseases Society of America; Society for Healthcare Epidemiology of America. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis*. 2007; 44(2): 159-177.
- [29] EMA (European Medicine Agency), 2015, Principles on assignment of defined daily dose for animals (DDDvet) and defined course dose for animals

- (DCDvet)., http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/06/WC500188890.pdf
- [30] Postma M, Sjölund M, Collineau L, Lösken S, Stärk KD, Dewulf J; MINAPIG Consortium. Assigning defined daily doses animal: a European multi-country experience for antimicrobial products authorized for usage in pigs. *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70(1): 294-302.
- [31] SDA (The Netherlands Veterinary Medicines Institute), 2019, Usage of Antibiotics in Agricultural Livestock in the Netherlands in 2018., <https://cdn.i-pulse.nl/autoriteitdiergeenmiddelen/userfiles/Publications/2018-def-rapport1.pdf>
- [32] Fujimoto K, Kawasaki M, Abe R, Yokoyama T, Haga T, Sugiura K. Establishing defined daily doses (DDDs) for antimicrobial agents used in pigs, cattle and poultry in Japan and comparing them with European DDD values. *PLoS One* 2021, 16:e0245105.
- [33] Stevens M, Piepers S, Supré K, Dewulf J, De Vliegher S. Quantification of antimicrobial consumption in adult cattle on dairy herds in Flanders, Belgium, and associations with udder health, milk quality, and production performance. *J Dairy Sci.* 2016, 99: 2118-2130.
- [34] de Campos JL, Kates A, Steinberger A, Sethi A, Suen G, Shutske J, Safdar N, Goldberg T, Ruegg PL. Quantification of antimicrobial usage in adult cows and preweaned calves on 40 large Wisconsin dairy farms using dose-based and mass-based metrics. *J Dairy Sci.* 2021, 104(4):4727-4745. doi: 10.3168/jds.2020-19315. Epub 2021 Feb 5. PMID: 33551167
- [35] Umair M, Abdullah RM, Aslam B, Nawaz MH, Ali Q, Fatima F, Ali J, Zahoor MA, Mohsin M. First Case Report on Quantification of Antimicrobial Use in Corporate Dairy Farms in Pakistan. *Front Vet Sci.* 2020, 7:575848. doi: 10.3389/fvets.2020.575848. PMID: 33324699; PMCID: PMC7725763. S. B., and B. Marshall. 2004. Antibacterial resistance worldwide: Causes, challenges and responses. *Nat. Med.* 10:S122–S129.
- [36] Hughes P, Heritage J. Antibiotic growth-promoters in food animals. In: *FAO Animal Production and Health Paper.* 2004; 129-152.
- [37] Herago T, Agonafir A. Growth promoters in cattle. *Advances in Biological Research.* 2017, 11(1): 24-34.
- [38] Lhermie G, Tauer LW, Gröhn YT. The farm cost of decreasing antimicrobial use in dairy production. *PLoS One.* 2018; 13(3): e0194832.
- [39] Pol M, Ruegg PL. Treatment practices and quantification of antimicrobial drug usage in conventional and organic dairy farms in Wisconsin. *J Dairy Sci.* 2007; 90(1): 249-261.
- [40] Oliver SP, Murinda SE, Jayarao BM. Impact of antibiotic use in adult dairy cows on antimicrobial resistance of veterinary and human pathogens: a comprehensive review. *Foodborne Pathog Dis.* 2011; 8(3): 337-355.
- [41] Loo E, Lai KS, Mansor R, Antimicrobial usage and resistance in dairy cattle production, 2020, DOI: 10.5772/intechopen.81365
- [42] Saini V, McClure JT, Scholl DT, DeVries TJ, Barkema HW. Herd-level association between antimicrobial use and antimicrobial resistance in bovine mastitis *Staphylococcus aureus* isolates on Canadian dairy farms. *J Dairy Sci.* 2012; 95(4): 1921-1929.
- [43] Saini V, McClure JT, Scholl DT, DeVries TJ, Barkema HW. Herd-level relationship between antimicrobial use and presence or absence of antimicrobial resistance in gram-negative bovine mastitis pathogens on Canadian dairy farms. *J Dairy Sci.* 2013; 96(8): 4965-4976.
- [44] Wagner S, Erskine R, 2013, Antimicrobial drug use in mastitis. In *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, <https://doi.org/10.1002/9781118675014.ch30>.
- [45] Hockenhull J, Turner AE, Reyher KK, Barrett DC, Jones L, Hinchliffe S, Buller HJ. Antimicrobial use in food-producing animals: a rapid evidence assessment of stakeholder practices and beliefs. *Vet Rec.* 2017; 181(19): 510.
- [46] Heider LC, Funk JA, Hoet AE, Meiring RW, Gebreyes WA, Wittum TE. Identification of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* organisms with reduced susceptibility to ceftriaxone from fecal samples of cows in dairy herds. *Am J Vet Res.* 2009; 70(3): 389-393.
- [47] Boireau C, Cazeau G, Jarrige N, Calavas D, Madec JY, Leblond A, Haenni M, Gay É. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from mastitis in dairy cattle in France, 2006-2016. *J Dairy Sci.* 2018; 101(10): 9451-9462.
- [48] Duse A, Persson Waller K, Emanuelson U, Ericsson Unnerstad H, Persson Y, Bengtsson B. Occurrence and spread of quinolone-resistant *Escherichia coli* on dairy farms. *Appl Environ Microbiol.* 2016; 82(13): 3765-3773.
- [49] Yu ZN, Wang J, Ho H, Wang YT, Huang SN, Han RW. Prevalence and antimicrobial-resistance phenotypes and genotypes of *Escherichia coli* isolated from raw milk samples from mastitis cases

- in four regions of China. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020; 22: 94-101.
- [50] Otto M. Staphylococcal biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2008; 322: 207-228.
- [51] Bohl LP, Isaac P, Bresler ML, Orellano MS, Correa SG, de Talamoni NGT, Porporatto C. Interaction between bovine mammary epithelial cells and planktonic or biofilm *Staphylococcus aureus*: The bacterial lifestyle determines its internalization ability and the pathogen recognition. *Microbial Pathogenesis.* 2020: 104604.
- [52] Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999; 284(5418): 1318-1322.
- [53] Dunne WM Jr. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev.* 2002; 15(2): 155-166.
- [54] Lewis K. Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2008; 322: 107-131.
- [55] Singh R, Ray P. Quorum sensing-mediated regulation of staphylococcal virulence and antibiotic resistance. *Future Microbiol.* 2014; 9(5): 669-681.
- [56] Mahmmod YS, Klaas IC, Svennesen L, Pedersen K, Ingmer H. Communications of *Staphylococcus aureus* and non-*aureus* *Staphylococcus* species from bovine intramammary infections and teat apex colonization. *J Dairy Sci.* 2018; 101(8): 7322-7333.
- [57] Yu L, Li W, Zhang M, Cui Y, Chen X, Ni J, Yu L, Shang F, Xue T. Imidazole decreases the ampicillin resistance of an *Escherichia coli* strain isolated from a cow with mastitis by inhibiting the function of autoinducer 2. *J Dairy Sci.* 2018; 101(4): 3356-3362.
- [58] Morimoto K, Shimizu M, Kurose T, Nakatani K, Akita S, Shinozuka Y, Isobe N. Efficacy of enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine for bovine clinical mastitis. *J Dairy Res.* 2011; 78(2): 149-153.
- [59] Prenafeta A, March R, Foix A, Casals I, Costa L. Study of the humoral immunological response after vaccination with a *Staphylococcus aureus* biofilm-embedded bacterin in dairy cows: possible role of the exopolysaccharide specific antibody production in the protection from *Staphylococcus aureus* induced mastitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2010; 134(3-4): 208-217.
- [60] Schukken YH, Bronzo V, Locatelli C, Pollera C, Rota N, Casula A, Testa F, Scaccabarozzi L, March R, Zalduendo D, Guix R, Moroni P. Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *J Dairy Sci.* 2014; 97(8): 5250-5264.
- [61] Bradley AJ, Breen JE, Payne B, White V, Green MJ. An investigation of the efficacy of a polyvalent mastitis vaccine using different vaccination regimens under field conditions in the United Kingdom. *J Dairy Sci.* 2015; 98(3): 1706-1720.
- [62] Guccione J, Pesce A, Pascale M, Salzano C, Tedeschi G, D'Andrea L, De Rosa A, Ciaramella P. Efficacy of a polyvalent mastitis vaccine against *Staphylococcus aureus* on a dairy Mediterranean buffalo farm: results of two clinical field trials. *BMC Vet Res.* 2017; 13(1): 29.
- [63] 萩原慎一郎. 乳房炎ワクチン一斉接種における効果の検討. *家畜診療* 2020; 67(12): 691-695.
- [64] Collado R, Montbrau C, Sitjà M, Prenafeta A. Study of the efficacy of a *Streptococcus uberis* mastitis vaccine against an experimental intramammary infection with a heterologous strain in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2018; 101(11): 10290-10302.
- [65] Brunton LA, Duncan D, Coldham NG, Snow LC, Jones JR. A survey of antimicrobial usage on dairy farms and waste milk feeding practices in England and Wales. *Vet Rec.* 2012; 171(12): 296.
- [66] Higgins HM, Dryden IL, Green MJ. A Bayesian elicitation of veterinary beliefs regarding systemic dry cow therapy: variation and importance for clinical trial design. *Prev Vet Med.* 2012; 106(2): 87-96.
- [67] Swinkels JM, Hilkens A, Zoche-Golob V, Krömker V, Buddiger M, Jansen J, Lam TJ. Social influences on the duration of antibiotic treatment of clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2015; 98(4): 2369-2380.
- [68] Niemi RE, Vilar MJ, Dohoo IR, Hovinen M, Simojoki H, Rajala-Schultz PJ. Antibiotic dry cow therapy, somatic cell count, and milk production: Retrospective analysis of the associations in dairy herd recording data using multilevel growth models. *Prev Vet Med.* 2020; 180: 105028.
- [69] USDA (United States Department of Agriculture), 2008, Dairy 2007. Part III: Reference of Dairy Cattle Health and Management Practices in the United States, <https://naldc.nal.usda.gov/download/46188/PDF>
- [70] Dufour S, Dohoo IR, Barkema HW, Descôteaux L, Devries TJ, Reyher KK, Roy JP, Scholl DT. Manageable risk factors associated with the lactational incidence, elimination, and prevalence of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2012; 95(3): 1283-1300.
- [71] Lam TJ, van den Borne BH, Jansen J, Huijps K, van Veersen JC, van Schaik G, Hogeveen H. Improving

- bovine udder health: a national mastitis control program in the Netherlands. *J Dairy Sci.* 2013; 96(2): 1301-1311.
- [72] Berry EA, Hillerton JE. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. *J Dairy Sci.* 2002; 85(1): 112-121.
- [73] Scherpenzeel CGM, den Uijl IEM, van Schaik G, Riekerink RGMO, Hogeveen H, Lam TJGM. Effect of different scenarios for selective dry-cow therapy on udder health, antimicrobial usage, and economics. *J Dairy Sci.* 2016; 99(5): 3753-3764.
- [74] 菊池允人 . 酪農における抗菌性物質使用量調査と使用量低減に関する研究、東京大学大学院農学生命科学研究科、博士論文、2021

Assessment of antimicrobial use for dairy cows based on defined daily dose (DDD)

Masato Kikuchi

Yachiyo Branch Office, Western Veterinary Clinical Center, Chiba Prefectural Federated Agricultural Mutual Aid Association,
2-5-12 Midorigaoka, Yachiyo-shi, Chiba 276-0049, Japan.

[Abstract]

Antimicrobial stewardship is a coordinated program that is being used in both human and veterinary medicine. Although these programs require assessment of current antimicrobial use (AMU), there are few reports on AMU for domestic livestock animals, specifically dairy cows in Japan.

This review describes the status of AMU for livestock animals and presents the AMU assessment method using the defined daily dose (DDD).

DDD is a concept originally created in human medicine for the assessment of drug use and defined as “the assumed average maintenance dose per day for a drug used for its main indication in adults. Recently, DDD has been used in many European and other countries to assess AMU for livestock animals and has been termed DDDvet. This study assesses the AMU at 34 dairy farms in Chiba Prefecture from January 1, 2017 to December 31, 2017 using Treatment days (the theoretical number of days a cow is treated with antimicrobials in 1 year: TDs) that are calculated based on the Japanese DDDvet. AMU data were aggregated for nine classes of antimicrobials via four administration routes (injection, intramammary, oral, and intrauterine). Additionally, AMU for the intramammary route was divided into the usage for lactating cow therapy and the usage for dry cow therapy (DCT). This study found that while injectable penicillins was most frequently used when calculated based on the weight of the active ingredient, intramammary penicillins was more frequently used, especially for DCT, when calculated based on DDD. Thus, because the DDD-based assessment of AMU considers the titer or dosage per unit weight, it is therefore able to explain the effect of antimicrobials based on class or administration route more precisely than weight-based assessments and considered to be an effective assessment method for AMU.

Keywords: antimicrobial, defined daily dose, dry cow therapy, mastitis