

動物用医薬品・肥料・飼料等合同専門調査会
(薬剤耐性菌に関するWG)における審議状況について

1. 審議状況

農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められた、抗菌性物質（抗生物質及び合成抗菌剤）が飼料添加物又は動物用医薬品（動物用医薬品の主成分のうち抗菌性飼料添加物と同一又は同系統で薬剤耐性の交差が認められるものを示す。）として、家畜等に給与又は投与された場合に選択される薬剤耐性菌に係る食品健康影響評価（平成15年12月8日付け15消安第3979号）については、動物用医薬品専門調査会（座長：三森国敏）と肥料・飼料等専門調査会（座長：唐木英明）の合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するWG）における審議を経て、今般、「家畜等に給与するモネンシナトリウムによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について」（案）がとりまとめられた。

また、本案については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

2. 「家畜等に給与するモネンシナトリウムによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について」（案）についての意見・情報の募集

動物用医薬品・肥料・飼料等合同専門調査会においてとりまとめられた「家畜等に給与するモネンシナトリウムによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について」（案）を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

平成18年7月20日（木）開催の食品安全委員会（第153回会合）終了後、平成18年8月18日（金）までの30日間。

2) 受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、動物用医薬品・肥料・飼料等合同専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて合同専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

家畜等に給与するモネンシンナト
リウムによる薬剤耐性菌に関する
食品健康影響評価について

2006年7月

食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
肥料・飼料等専門調査会

目 次

目次	1
・ 審議の経緯	2
・ 食品安全委員会名簿	2
・ 食品安全委員会薬剤耐性菌に関する WG 名簿	2
家畜等に給与するモネンシンナトリウムによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について（案）	
1 ハザードの特定に関する知見	3
（1）名称及び化学構造	3
ア 名称	3
イ 化学構造	3
ウ 有効成分の系統	3
（2）使用方法	3
ア 添加等が認められている飼料の種類及び添加量	4
イ 使用上の注意	4
ウ 管理分析の実施	4
（3）対象家畜等における動物用抗菌性物質の生体内薬物動態	4
ア ラット	4
イ 牛	4
ウ 鶏	5
（4）抗菌活性の作用機序及びタイプ	5
ア 作用機序	5
イ 作用のタイプ	6
ウ コキシジウムに対する作用	6
（5）抗菌スペクトル及び感受性菌の分布	7
ア 抗菌スペクトル	7
イ 対象とする家畜等の病原体に対する最小発育阻止濃度の分布	8
ウ 指標細菌及び食中毒由来病原細菌に対する最小発育阻止濃度の分布	8
エ 耐性の獲得性の観察（ <i>in vitro</i> ）	10
（6）交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質	11
ア 交差耐性の獲得性の観察（ <i>in vitro</i> ）	11
イ 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質	11
（7）薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報	11
2 食品健康影響評価について	12
参考文献	12

〈審議の経緯〉

平成15年12月 8日 農林水産大臣から薬剤耐性菌に係る食品健康影響評価について要請
平成15年12月11日 第23回食品安全委員会（要請事項説明）
平成18年 3月16日 動物用医薬品（第48回）・肥料・飼料等（第17回）合同
専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）
平成18年 5月29日 動物用医薬品（第54回）・肥料・飼料等（第19回）合同
専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）
平成18年 7月20日 第153回食品安全委員会（報告）
平成18年 7月20日～8月18日 国民からの意見・情報の募集

〈食品安全委員会委員〉

平成18年6月30日まで

寺田雅昭（委員長）
寺尾允男（委員長代理）
小泉直子
坂本元子
本間清一
中村靖彦
見上彪

平成18年7月1日から

寺田雅昭（委員長）
見上彪（委員長代理）
小泉直子
長尾拓
野村一正
畑江敬子
本間清一

〈薬剤耐性菌に関するワーキンググループ〉

動物用医薬品専門調査会

青木 宙
井上 松久
嶋田 甚五郎（兼 肥料・飼料等専門調査会）
中村 政幸（兼 微生物専門調査会）
三森 国敏

肥料・飼料等専門調査会

唐木 英明（座長）

微生物専門調査会

荒川 宜親
岡部 信彦
寺門 誠致
渡邊 治雄

専門参考人

池 康嘉
頭金 正博

家畜等に給与するモネンシンナトリウムによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について（案）

1 ハザードの特定に関する知見

(1) 名称及び化学構造

ア 名称

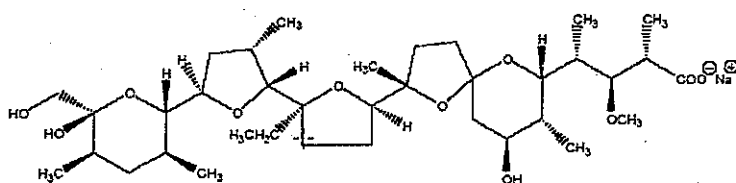
一般名：モネンシンナトリウム(Monensin sodium)

化学名：2-[5-Ethyltetrahydro-5-[tetrahydro-3-methyl-5-[tetrahydro-6-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-3,5-dimethyl-2H-pyran-2-yl]-2-furyl-9-hydroxy-beta-methoxy-alpha, gamma,2,8-tetramethyl- 1,6-dioxaspiro[4.5]decane-7-butyric, sodium salt

CAS 番号：22373-78-0

イ 化学構造 (1,2)

構造式



分子式：C₃₆H₆₁O₁₁Na

分子量：692.9

ウ 有効成分の系統

(ア) 有効成分の系統 (2~4)

モネンシン¹は、*Streptomyces cinnamomensis* の醗酵により生産される抗生物質で、分子中にスピロケタール構造、テトラヒドロフラン環及び環状ヘミケタール構造を有するモノカルボン酸である。また、分子中に多くのエーテル結合を持つことから、ポリエーテル系化合物と称される。飼料添加物として、ナトリウム塩のモネンシンナトリウム²が指定されている。

ポリエーテル系抗生物質は、K⁺、Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺等の各種金属イオンとの親和性が高くイオノフォアと称され、モネンシンは、K⁺及び Na⁺に強い親和性を有することから、1 価のカルボン酸イオノフォアに分類される。

(イ) 関連する系統

ポリエーテル系のイオノフォアとしては、国内では、抗生物質であるサリノマイシン、センデュラマイシン、ナラシン、ラサロシドのナトリウム塩等が飼料添加物として使用されている。

(2) 使用方法

モネンシンナトリウムは、「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」（昭和 28 年法律第

¹ モネンシンは、モネンシン A を主成分とし、その他モネンシン B、C 及び D 等を含む混合物である。

² 本書では飼料添加物を示す場合には「モネンシンナトリウム」、抗菌性物質の本質を示す場合は、「モネンシン」を用いることとした。

35号)第2条第3項の規定に基づき、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を用途として昭和51年に飼料添加物に指定された。製剤の成分規格及び製造の基準、使用方法等については、「飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令」(昭和51年農林省令第35号)において、定められている。対象飼料、使用上の注意等については次のとおり。

ア 添加等が認められている飼料の種類及び添加量

モネンシンナトリウムは、表1に掲げる鶏及び牛並びにうずら(産卵中のものは除く。)の飼料に添加又は混和して使用し、対象以外の家畜等に対しては使用できない。また、搾乳中の牛又は採卵中の鶏若しくはうずら並びに食用を目的としてと殺する前7日間の牛(生後おおむね6月を超えた肥育牛を除く。)、鶏又はうずらに使用してはならない。

表1 モネンシンナトリウムの添加等が認められている飼料の種類及び添加量

対象飼料 ³	鶏(ブロイラーを除く。)用	ブロイラー用		牛用	
	幼すう用 中すう用	前期用	後期用	幼齢期用	肥育期用
含有量 (g/力価/t)	80	80	80	30	30

イ 使用上の注意

モネンシンナトリウムを含む製剤及び飼料が、対象家畜等に過剰に投与又は給与された場合(又は誤って馬に給与された場合)には、対象家畜等に发育障害等の作用が起こる可能性がある。このことから、製剤及び飼料には対象家畜等、添加量及び給与方法等に関する「使用上の注意」の表示が義務付けられている。

ウ 管理分析の実施

モネンシンナトリウムは、対象家畜等に過剰に給与することにより发育障害が起こる可能性があることから、当該飼料添加物を含む飼料については、製造業者が全ての製造ロットを対象にしてモネンシンナトリウムの含量を分析すること(管理分析)が義務付けられている。分析結果が良好な製品のみが出荷・流通される。

(3) 対象家畜等における動物用抗菌性物質の生体内薬物動態

ア ラット

非放射性のモネンシンを含む飼料で予備飼育した後、ラットに¹⁴Cモネンシンを経口投与し代謝及び排泄性を検討した結果、3日以内にそのほとんどが糞中及び尿中に排泄され、糞及び尿中の放射活性のほとんどは代謝物に由来した。糞からは、モネンシンの脱メチル化、水酸化、脱炭酸あるいはこれらの組み合わせによる代謝物が分離された(5)。

イ 牛

非放射性のモネンシンを含む飼料で14日間予備飼育した後、牛(去勢雄)に¹⁴Cモネンシンを

³ 鶏(ブロイラーを除く。)用:幼すう用…ふ化後おおむね4週間以内の鶏用飼料。中すう用…ふ化後おおむね4週間を超え10週間以内の鶏用飼料。ブロイラー用:前期用…ふ化後おおむね3週間以内のブロイラー用飼料。後期用…ふ化後おおむね3週間を超え食用として屠殺する前7日までのブロイラー用飼料。牛用:幼令期用…生後おおむね3月を超え6月以内の牛用飼料。肥育期用…生後おおむね6月を超えた肥育牛(搾乳中のものを除く。)用飼料。

経口投与し代謝及び排泄性を検討した結果、投与後 7~11 日にほとんどが糞中に排泄された。糞中で検出された放射活性の多くは親化合物のモネンシンに由来し、一部ラットの糞中から分離された代謝物と同様の代謝物に由来した。 ^{14}C モネンシンを 12 時間ごとに 4 回経口投与した後、12 時間後の各組織中の分布を確認したところ、放射活性は肝臓及び胆汁で認められ、親化合物のモネンシン及び脱メチル化、水酸化、脱炭酸あるいはこれらの組み合わせによる代謝物が認められた (5)。一部の代謝物はわずかな微生物学的活性を示したが、他の主要な代謝物は活性を示さなかった。

ウ 鶏

- (ア) 鶏にモネンシン 120ppm を含む飼料を 2 週間自由摂取させ、飼料中の濃度 117~123ppm に相当する ^{14}C モネンシンを単回経口投与したところ、3 日以内に多くが排泄された (6)。
- (イ) 鶏にモネンシン 120ppm を含む飼料を 2 週間自由摂取させた後、飼料中の濃度 120ppm に相当する ^{14}C モネンシンを 2.5 日投与し、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、皮膚、心臓、筋胃中の放射活性の減衰を検討した結果、投与中止直後における放射活性は全ての組織で認められ、肝臓中に数 ppm 検出された。投与後 1 日以降では肝臓中に検出されたが、筋肉と脂肪では検出限界以下であった。その後、肝臓中の放射活性は約 2 日の半減期で徐々に減少した。肝臓及び腎臓からは親化合物のモネンシン及び脱メチル化、水酸化、脱炭酸あるいはこれらの組み合わせによる代謝物が認められた (6)。
- (ウ) 6 週令の鶏のヒナにモネンシン 134ppm を含む飼料を 3 週間自由摂取させた後、 ^3H モネンシン 360ppm を含む飼料を 2 日間経口投与し、脂肪、心臓、胸筋、肝臓、腎臓、脾臓、肺、血清、すい臓、胆のうにおける分布及び排泄性を検討した。その結果、放射活性は各組織に認められ、脂肪を除く他の組織では組織水分中に広く分布した。脂肪、心臓、胸筋、肝臓、腎臓、脾臓、肺、血清、すい臓の放射活性は投与中止後、急速に減衰し、96 時間後には極少の放射活性が認められるのみであった。また、回収された放射活性の殆どは糞中に認められた (7)。
- (エ) 5 週令の鶏のヒナにモネンシン 110ppm を含む飼料を 3 週間自由摂取させた後、 ^3H モネンシン 110ppm を含む飼料を 7 日間経口投与し排泄性を検討した結果、放射活性は最終投与後 4 日目までに主に糞中に認められた (7)。

(4) 抗菌活性の作用機序及びタイプ

ア 作用機序 (3,4,8~14)

モネンシンはその化学構造の一端にあるカルボキシル基 ($-\text{COOH}$) ともう一端の水酸基 ($-\text{OH}$) との間の水素結合によって、極性が高く親水性を有する構造が内側に、極性が低く疎水性を有する構造が外側に配置するような球状の立体構造を呈する。本構造の内側では、金属イオン特にナトリウムイオン (Na^+) 又はカリウムイオン (K^+) とキレートを形成し、これらのイオンを細胞膜内外に運搬するための担体として作用する。モネンシン等のイオノフォアは、細胞膜やミトコンドリア膜に存在する K^+ などのイオン運搬に関与する担体と構造が類似していると考えられている。

モネンシンは、 Na^+ 又は K^+ とプロトン (H^+) を交換するアンチポーターであり、細胞膜内に侵入して細胞内の K^+ と細胞外の H^+ を交換し、また、細胞内の H^+ と細胞外の Na^+ を交換する (図)。一般に、細菌は細胞内の K^+ 濃度を高く、 Na^+ 濃度と H^+ 濃度を低く維持し、細胞の外部環境では Na^+ 濃度が高く K^+ 濃度は低い。モネンシンが作用すると、細胞内外の K^+ 濃度勾配が Na^+ 濃度勾配に比

べて大きいことから、細胞内に H^+ が蓄積するため、細胞内が酸性に傾く。細菌は、ATPアーゼを作用させ、細胞内の H^+ を汲み出して細胞質の酸性化を阻止しようとし、更にイオン平衡を維持するためにATPを用いてNa-Kポンプを稼働する。このように細胞は正常なイオン濃度勾配を維持するためにATPを消耗してしまい、その結果、細胞活動を停止してしまう。

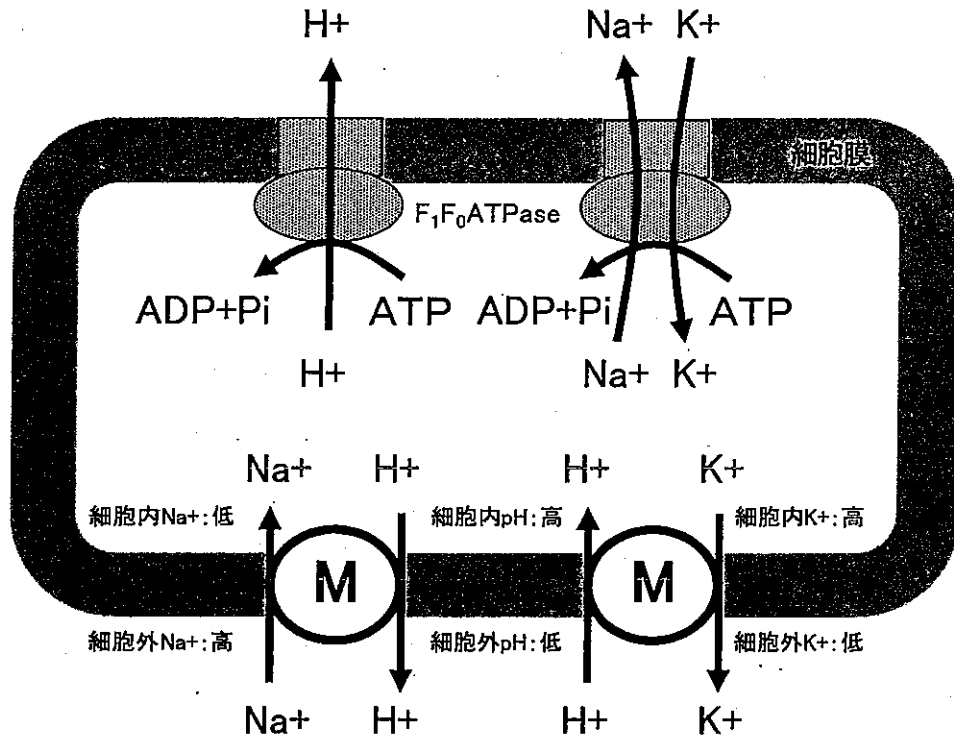


図 モネンシンの作用機序の概要(Mはモネンシンを表す。)

一般に、グラム陽性菌はグラム陰性菌に比べてモネンシンに対する感受性が高く、これは、グラム陰性菌の多くは細胞壁の外側にリボポリサッカライドによって構成される外膜を有し、この外膜によりモネンシンの細胞内への侵入が制限されるためである。したがって、*E.coli*、*Salmonella* 属、*Campylobacter* 属等のグラム陰性菌はモネンシンに対して自然耐性を有する。

以上のように、モネンシンの作用は細胞内外のイオン輸送に対するものであるため、一般の抗菌性物質のように細菌に対して特異的に作用するものではなく、哺乳類等の細胞膜にも作用する。このため、家畜等やヒトに対しても毒性が高いことから、ヒト用に用いられる可能性は低いと考えられる。

イ 作用のタイプ

モネンシン及びその他のイオノフォア系物質は、細菌のエネルギーを消耗させ、細菌には静菌的に作用する。

ウ コクシジウムに対する作用

モネンシンは、抗コクシジウム活性を有する物質として鶏及び牛の抗コクシジウム剤として開発され、世界的に使用されている(15)。

コクシジウムに対するモネンシンの作用機序も、細菌に対する機序と同様に Na^+ 及び K^+ とキレートを形成することによると考えられている。特に、コクシジウム原虫の *Eimeria tenella* の無性生殖期の早期ステージであるトロフォゾイト及び第一シゾン時期に最も強く作用することが確認されている(16)。

鶏の主要なコクシジウム原虫である *E.tenella*、*E.necatrix*、*E.acervulina*、*E.maxima*、*E.burunetti* 及びその他のコクシジウム原虫に対する効果について、バタリー試験や平飼試験で検討されているが、いずれの場合も鶏の死亡率の低下、排泄オーシストの低減、増体重、飼料要求率の改善等に有効であると報告されている(2,17)。

(5) 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布

ア 抗菌スペクトル

モネンシンが対象とする家畜等の病原体は、鶏のコクシジウム症を発病する原虫 *E.tenella*、*E.necatrix*、*E.acervulina*、*E.maxima* 及び *E.burunetti* 並びに牛のコクシジウム症を発病する原虫 *E.bovis*、*E.zuernii* 等である(2,11,16)。

モネンシンの細菌に対する抗菌スペクトル、代表的なグラム陽性菌及び陰性菌に対する最小発育阻止濃度は表 2～4 のとおりであり、モネンシンは、*Staphylococcus* 属、*Streptococcus* 属、*Enterococcus* 属、*Clostridium* 属等のグラム陽性菌に抗菌活性を有するが、グラム陰性菌である *Escherichia* 属等の腸内細菌科の細菌、*Pseudomonas* 属、真菌等には活性を示さない(18,19,20)。

表2 モネンシンの抗菌スペクトル(1)

菌種	MIC (μg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	5.0
<i>Staphylococcus aureus</i> 308A-1	5.0
<i>Staphylococcus aureus</i> 1840	5.0
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219	50
<i>Shigella flexneri</i> EW-10	>50
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	>50
<i>Salmonella typhosa</i> Boxhill-58	>50
<i>Escherichia coli</i> Umezawa	>50
<i>Vibrio cholera</i> Inaba	>50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>50
<i>Proteus vulgaris</i> Eb-58	>50
<i>Candida albicans</i>	>50
<i>Streptococcus pyogenes</i> E-14	5.0
<i>Streptococcus pyogenes</i> Dick	5.0
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-8	10
<i>Streptococcus pyogenes</i> NY-5	50
<i>Streptococcus viridans</i> sp.	2.5
<i>Diprococcus pneumoniae</i> type I	5.0
<i>Diprococcus pneumoniae</i> type II	2.5
<i>Diprococcus pneumoniae</i> type III	2.5
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	5.0
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	>50

【参考資料】土屋皓司 他. モネンシンの一般細菌に対する抗菌力試験 イーライリリー社社内資料 (19)

表3 モネンシンの抗菌スペクトル(2)

菌種	MIC (μg/ml)	
	24 時間	48 時間
<i>Staphylococcus aureus</i> 3055	<0.78	<0.78
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	1.56	1.56
<i>Enterococcus faecalis</i>	3.13	12.5
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 7469	0.78	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> spp.	50	>100
<i>Vibrio metschnikovii</i>	50	50

【参考資料】 Michael E. Haney JR and Marvin M. Hoehn, 1968, Monensin, a New Biologically Active Compound, Antimicrobial Agents and Chemotherapy-1967, 349-352 (8)

表4 代表的な菌種に対する最小発育阻止濃度

菌種	MIC (μg/ml)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>128
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	2
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1~2
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	1

【参考資料】 McConville M, 2002, Assessment of the potential for antimicrobial resistance to monensin to arise in vitro, イーライリリー社社内資料 (18)

イ 対象とする家畜等の病原体に対する最小発育阻止濃度の分布

鶏から分離された *Eimeria* spp. では、イオノフォア耐性株が報告されている。

(ア) ドイツ

北ドイツで分離された *Eimeria* 野外分離株 10 株を対象として、抗コクシジウム剤に対する感受性をバタリー試験法で検討した。モネンシンには 6 株の野外分離株が部分的又は完全耐性を示した。マデュラマイシン、モネンシン、サリノマイシン間の交差耐性は 5 分離株に認められた (21)。

(イ) 中国

広東省南海 (南部) で分離された *Eimeria* 原虫について、モネンシン (100mg/飼料 kg) に対する薬剤耐性をワイヤーケージの鶏を用いて検討した。その結果、南海地域で分離された *E.tenella*、*E.maxima*、*E.acervulina* のオーシストは、モネンシンに耐性であった (22)。

ウ 指標細菌及び食中毒由来病原細菌に対する最小発育阻止濃度の分布

飼料添加物モネンシンナトリウムを使用することが可能である家畜等、すなわち、牛及び鶏に由来する食中毒菌としては、*Campylobacter* 属、*Salmonella* 属及び *Clostridium perfringens* 並びに指標細菌としては、*E.coli* 及び *Enterococcus* 属が重要であるが、*Campylobacter* 属、*Salmonella* 属及び *E.coli* については、外膜を有し当該物質に対して耐性である (9,10,13,14)。

一方、家畜に由来する *Enterococcus* 属及び *Clostridium* 属の野外株について、モネンシンに対する最小発育阻止濃度 (MIC) の分布は次のとおりである。

(ア) *Enterococcus* 属

牛、豚及び鶏の糞便から分離された *E.faecium* 及び *E.faecalis* に対するモネンシンの MIC 分布は表 5 のとおり報告されている。

牛では、*E.faecium* の MIC の範囲は 0.12~8($\mu\text{g/ml}$)の間であり、*E.faecalis* の MIC の範囲は 2~8($\mu\text{g/ml}$)であり、全ての報告で MIC 分布は一峰性を示し、耐性率は 0 であった(23~25)。

豚では、*E.faecium* の MIC の範囲は 0.125~128 ($\mu\text{g/ml}$)の間であり、*E.faecalis* の MIC の範囲は 0.125~16($\mu\text{g/ml}$)であった。デンマークにおいて、モネンシンが使用されていない豚由来 *E.faecium* 及び *E.faecalis* に関して、モネンシン耐性株が 2 又は 3%検出されたという報告 (23) がある反面、耐性株が 1 株も検出されなかったという報告(24,26)もある。

鶏では、*E.faecium* の MIC の範囲は 0.25~8($\mu\text{g/ml}$)の間であり、*E.faecalis* の MIC の範囲は 0.25~8 ($\mu\text{g/ml}$)であり、全ての報告で MIC 分布は一峰性を示し、耐性率は 0 であった(23,24,26)。

(イ) *Clostridium* 属

牛、豚、鶏及び七面鳥の糞便から分離された *C.perfringens* 並びに牛、豚及び鶏の糞便から分離された *Clostridium* spp.に対するモネンシンの MIC 分布は表 6 のとおり報告されている。

C.perfringens については、牛では MIC の範囲が 2~4 ($\mu\text{g/ml}$)であり、MIC 分布は一峰性を示し耐性率は 0 であった。豚では MIC の範囲が 0.5~4 ($\mu\text{g/ml}$)であり、MIC 分布は一峰性を示し耐性率は 0 であった(27)。鶏では、MIC の範囲は 0.12~4($\mu\text{g/ml}$)の間であり、全ての報告で MIC 分布は一峰性を示した(27~29)。七面鳥では、MIC の範囲は 0.5~2 ($\mu\text{g/ml}$)であり、MIC 分布は一峰性を示した(28)。

Clostridium spp. については由来する畜種は不明であるが、MIC の範囲は $\leq$ 0.25~4($\mu\text{g/ml}$)であり、MIC 分布は一峰性を示し耐性率は 0 であった(30)。

表 5 家畜から分離された *E.faecium* 及び *E.faecalis* に対するモネンシンの最小発育阻止濃度の分布

菌種	報告国 ^a	由来	供試 分離 株数	MIC 範囲 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC50 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC90 ($\mu\text{g/ml}$)	ブレイク ポイント ($\mu\text{g/ml}$)	耐性 %	引用文献 筆者又はサーベ ランスの名称	発表年
<i>E.faecium</i>	デンマーク	牛	13	4~8	8	8	16	0	Aarestrup	1998
	デンマーク	牛	251	2~4	4	4		0	DANMAP	1998 ^b
	ベルギー	牛	10	0.12~4	2	8		0	Butaye	2001
	デンマーク	豚	58	1~128	2	4	16	2 ^a	Aarestrup	1998
	デンマーク	豚	914	0.125~4	2	2		0 ^a	DANMAP	1998 ^b
	ベルギー	豚	8	4				0	Butaye	2000
	デンマーク	鶏	54	4~8	4	4	16	0	Aarestrup	1998
	デンマーク	鶏	1096	0.25~4	2	2		0	DANMAP	1998 ^b
	ベルギー	鶏	24	1~8				0	Butaye	2000
<i>E.faecalis</i>	ベルギー	牛	25	2~8	8	8		0	Butaye	2001
	デンマーク	豚	225	0.5~16	2	4	16	3 ^a	Aarestrup	1998
	デンマーク	豚	914	0.125~2	2	2		0 ^a	DANMAP	1998 ^b
	ベルギー	豚	12	4				0	Butaye	2000
	デンマーク	鶏	1096	0.25~4	2	2		0	DANMAP	1998 ^b
	ベルギー	鶏	21	2~8				0	Butaye	2000

a 豚に対してモネンシンを使用していないと報告している。

b デンマークのサーベイランス DANMAP では、1998 年のみモネンシンを対象として調査している。

c モネンシンは 1970 年代から世界各国で鶏及びその他家畜に対し抗コクシジウム剤として、また、1980 年代からは肥育牛、その他の牛に対し成長目的、ルーメン醗酵の正常化とルーメン疾病の予防、さらには抗コクシジウム剤として世界各国で広範に使用されてきた。

表 6 家畜から分離された *Clostridium* 属に対するモネンシンの最小発育阻止濃度の分布

菌種	報告国 ^a	由来	供試 分離 株数	MIC 範囲 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC50 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC90 ($\mu\text{g/ml}$)	ブレイク ポイント ($\mu\text{g/ml}$)	耐性 %	引用文献 筆者又はサ ーベイル ランスの名称	発表 年
<i>C.perfringens</i>	ベルギー	牛	36	2~4				0	Dutta	1980
	ベルギー	豚	58	0.5~4				0	Dutta	1980
	米国	鶏	26	0.25~1					Watkins	1997
	ベルギー	鶏	27	2~4				0	Dutta	1980
	ベルギー	鶏	44	0.12~0.25				0	Martel	2004
	米国	七面鳥	22	0.5~2					Watkins	1997
<i>Clostridium</i> spp.	ベルギー	牛、豚、 鶏	68	$\leq 0.25 \sim 4$				0	Dutta	1983

a モネンシンは 1970 年代から世界各国で鶏及びその他家畜に対し抗コクシジウム剤として、また、1980 年代からは肥育牛、その他の牛に対し成長目的、ルーメン醗酵の正常化とルーメン疾病の予防、さらには抗コクシジウム剤として世界各国で広範に使用されてきた。

エ 耐性の獲得性の観察 (in vitro)

(ア) *Staphylococcus aureus*、*E.coli*、*C.perfringens* 及び *E.faecalis* の標準株を対象に増量継代法を用いて、モネンシン添加培地で 20 代継代した結果、原株に比べて MIC の上昇を認めなかった(18)。

(イ) *Streptococcus* 属の標準株及び *Staphylococcus* 属の野外株を対象に耐性獲得試験を実施し、モネ

ンシン添加培地で12代継代した結果、原株に比べてMICは変化しなかった(31)。

(ウ) *S.aureus*、*E.faecalis*、*Lactobacillus bifidus*、*C.perfringens*、*Bacteroides fragilis* 及び *E.coli* を対象に耐性獲得試験を実施し、モネンシン添加培地で40代継代した。その結果、*S.aureus*、*E.faecalis*、*L.bifidus* 及び *E.coli* については、原株に比べてMICは変化せず、*C.perfringens* 及び *B.fragilis* では上昇した(32)。

(6) 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質

ア 交差耐性の獲得性の観察 (in vitro)

(ア) *S.aureus*、*E.coli*、*C.perfringens* 及び *E.faecalis* の標準株を対象に増量継代法を用いて、モネンシン添加培地で20代継代し、原株、1代継代後、10代継代後及び20代継代後の株について、8種類の抗菌性物質(ナリジクス酸、ストレプトマイシン、テトラサイクリン、アンピシリン、クロラルフェニコール、クリンダマイシン、エリスロマイシン及びゲンタマイシン)に対する感受性試験を実施した。

その結果、ストレプトマイシンについては、*C.perfringens* では原株が64(μg/ml)、1代継代後が32(μg/ml)、10代継代後が64(μg/ml) 及び20代継代後が64~128(μg/ml)であった。クリンダマイシンについては、*S.aureus* では、原株が0.125(μg/ml)、1代継代後が0.25(μg/ml)、10代継代後が0.125~0.25(μg/ml) 及び20代継代後が0.125~0.5(μg/ml)であった。他の抗菌性物質及び細菌の組み合わせでは、MICの上昇を認めなかった(18)。

(イ) *S.aureus*、*E.faecalis*、*L.bifidus*、*C.perfringens*、*B.fragilis* 及び *E.coli* を対象に耐性獲得試験を実施し、モネンシン添加培地で40代継代し、原株及び40代継代後の株について、13種類の抗菌性物質(タイロシン、ペニシリン、クロルテトラサイクリン、エリスロマイシン、ストレプトマイシン、スピラマイシン、スルファメサジン、フラゾリド、リンコマイシン、スペクチノマイシン、アンピシリン、ネオマイシン及びクロラムフェニコール)に対する感受性試験を実施した。

その結果、*S.aureus* についてはアンピシリンに対する、*B.fragilis* についてはエリスロマイシンに対するMICが原株に比べて上昇したが、MICは3.125(μg/ml)であった。他の抗菌性物質及び細菌の組み合わせでは、MICが上昇した場合には、原株の2倍量濃度以下の上昇であった(32)。

イ 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質

モネンシンは、これまで医療では使用されておらず、当該物質と化学構造が類似したヒト用抗菌性物質及び交差耐性を示す物質はないことが確認されている。また、*S.aureus*、*E.faecalis*、*L.bifidus*、*C.perfringens*、*B.fragilis* 及び *E.coli* については、モネンシンの存在下における長期間の継代によって、タイロシン、ペニシリン等の抗菌性物質に対するMICの変化は小さい。

(7) 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報

モネンシン産生菌である *Streptomyces cinnamonensis* は、産生したモネンシンを細胞膜から離れた細胞外環境に効率的に輸送することで、モネンシンに対して耐性である。これは、モネンシンを細胞外に排出するたん白をコードしている *monT* 遺伝子が関与していると考えられている(33)。最近、薬剤耐性遺伝子を含むDNA断片が腸内細菌に薬剤耐性を付与することが考えられるとの報告がある(34)。一方で、薬剤耐性遺伝子を含むDNA断片がマウスの腸内細菌に薬剤耐性を付与しなかったとの報告もある(35)。モネンシンナトリウムについても、*S.cinnamonensis* を培養後、精製の過程

を経ているが、製品への *monT* 遺伝子を含む DNA 断片の混入が否定できない。

Streptomyces longisporoflavus が産生するイオノフォア系抗生物質 Tetronasin についても、同様に *S. longisporoflavus* が Tetronasin を細胞外に排出する能力を有しており耐性である。*S. longisporoflavus* における薬剤耐性決定因子 *tnrA* 及び *tnrB* 遺伝子を同定する実験において、*tnrA* 及び *tnrB* 遺伝子のクローニング用ホストに用いた *Streptomyces lividans* 及び *S. albus* にテトロナシン耐性は現れたが、モネンシン耐性は現れなかった(36)。

また、これまでにモネンシン耐性を選択する可能性がある遺伝子は、*monT* 遺伝子のほかには確認されていない。

2 食品健康影響評価について

現時点において、モネンシンの家畜等への給与によるモネンシン耐性菌が選択される可能性は否定できないが、モネンシン及び類似の抗菌性物質がヒトで使用されていないこと、モネンシンがヒトで使用されている抗菌性物質と交差耐性を示したという報告がないことから、モネンシン耐性菌が食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えられる。

参考文献

- 1 Agtarap, A., Chamberlin, J.W., Pinkerton, M., Steinrauf, L. 1967. 新しい生物学的活性物質, モネンシンの化学構造について. J.Am.Chem.Soc., 89,5737.
- 2 Stark, W.M. 1969. 醗酵により生産される新生物活性物質 - Monensin -. Fermentation Advances. 517-540.
- 3 八杉龍一ら 1996. イオノフォア 岩波 生物学辞典 第4版: 53.
- 4 田中信男, 中村昭四郎. 1982 イオノフォア (ionophore) 抗生物質 抗生物質大要-化学と生物活性 (第3版): 239-241.
- 5 A.L.Donoho, R.J.Herberg 他. 1975. モネンシンの牛およびラットにおける排泄と代謝について. イーライリリー社社内資料 (非公表)
- 6 A.L.Donoho, R.J.Herberg 他. 鶏における ^{14}C モネンシンの収支・排泄試験および組織残留試験. イーライリリー社社内資料 (非公表)
- 7 R.J.Herberg, R.L.Van Duyn ^3H でラベルしたモネンシン (Na 塩) の雛における排泄と組織内分布の研究 モネラン文献集Ⅲ 1976. 武田薬品工業株式会社 (非公表)
- 8 Haney, Jr.M.E., Hoehn, M.M. 1967. 新しい生物学的活性物質, モネンシンについて I. 発見と分離 Antimicrob. Agents Chemother. 349-352.
- 9 Russell, J.B., and Strobel, H.J. 1989. Effect of Ionophores on Ruminant Fermentation. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1-6.
- 10 Callaway, T.R., Edrington, T.S., Rychlik, J.L., Genovese, K.J., Poole, T.L., Yung, Y.S., Bischoff, K.M., Anderson, R.C., and Nisbet, D.J. 2003. Ionophores: Their Use as Ruminant Growth Promotants and Impact on Food Safety. Curr. Issues Intest. Microbiol. 4: 43-51.
- 11 Avcare. 2003. The role of enteric antibiotics in livestock production: a review of published literature.

<http://www.avcare.org.au/files/animalhealth/information/The%20Role%20of%20enteric%20antibiotics%20in%20livestock%20production.pdf>

- 12 Nir Ben-Tal, Doree Sitkoff, Sharron Bransburg-Zabary, Esther Nachliel, Menachem Gutman, 2000. Theoretical calculations of the permeability of monensin-cation complexes in model bio-membranes. *Biochimica et Biophysica Acta* 1466: 221–223.
- 13 Edrington, T.S., Callaway, T.R., Varey, P.D., Jung, Y.S., Bischoff, K.M., Elder, R.O., Anderson, R.C., Kutter, E., Brabban, A.D., and Nisbet, D.J. 2003. Effects of the antibiotic ionophores monensin, lasalocid, laidlomycin propionate and bambarmycin on *Salmonella* and *E.coli* O157:H7 *in vitro*. *J.Appl. Microbiol.* 94 : 207–213.
- 14 Russell, J.B., and Houlihan, A.J. 2003. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS Microbiol. Rev.* 27 : 65–74.
- 15 SOU 1997. www.sva.se/pdf/antibiotika/SOU132abc.pdf
- 16 Reid, W.M.. 1974. *Eimeria tenella* に対する抗コキシジウム剤の最大作用時期 Proc. The Symposium on Coccidia and Related Organisms. Ontario, 119–134
- 17 Shumard, R.F., Callender, M.E. 1968. 新しい生物学的活性物質モネンシンについてVI. 抗コキシジウム効果 *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 369–377
- 18 McConville, M. 2002. Assessment of the Potential for Antimicrobial Resistance to Monensin to Arise *in vitro*.
- 19 土屋 皖司 他 モネンシンの一般細菌に対する抗菌力試験. モネラン文献集 I 1976 武田薬品工業株式会社.
- 20 Callender, M.E. モネンシンの抗菌活性スペクトラム. モネラン文献集 I 1976 武田薬品工業株式会社.
- 21 Stephen, B., Rommel, M., Dauschies, A., and Haberkorn, A. 1997. Studies of resistance to anticoccidials in *Eimeria* field isolates and pure *Eimeria* strains. *Vet. Parasitol.* 69 : 19-29.
- 22 Li, G.Q., Kanu, S., Xiang, F.Y., Xiao, S.M., Zhang, L., Chen, H.W., and Ye, H.J. 2004. Isolation and selection of ionophore-tolerant *Eimeria* precocious lines : *E.tenella*, *E.maxima* and *E.acervulina*. *Vet. Parasitol.* 119 : 261–276
- 23 Aarestrup, F.M., Bager, F., Jensen, N.E., Madsen, M., Meyling, A., Wegener, H.C. 1998. Surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from food animals to antimicrobial growth promoters and related therapeutic agents in Denmark. *APMIS* 106: 606–622.
- 24 DANMAP 1998. Consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. <http://www.dfvf.dk>
- 25 Butaye, P., Devriese, L.A., and Haesebrouck, F. 2001. Differences in Antibiotic Resistance Patterns of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Strains Isolated from Farm and Pet Animals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45 : 1374–1378.
- 26 Butaye, P., Devriese, L.A., and haesebrouck, F. 2000. Incomplete Cross Resistance Against Ionophores in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Strains from Pigs and Poultry. *Microb. Drug Res.* 6 : 59–61.
- 27 Dutta, G.N., and Devriese, L.A. 1980. Susceptibility of *Clostridium perfringens* of animal origin to fifteen antimicrobial agents. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 3 : 227–236.

- 28 Watkins, K.L., Shryock, T.R., Dearth, R.N., and Saif, Y.M. 1997. In-vitro antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* from commercial turkey and broiler chicken origin. Vet. Microbiol. 54 : 195–200.
- 29 Martel, A., Devriese, L.A., Cauwerts, K., De Gussem, K., Decostere, A., and Haesebrouck, F. 2004. Susceptibility of *Clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials. Avian Pathol. 33 : 3–7.
- 30 Dutta, G.N., Devriese, L.A., and Van Assche, P.F. 1983. Susceptibility of clostridia from farm animals to 21 antimicrobial agents including some used for growth promotion. J. Antimicrob. Chemother. 12 : 347–356.
- 31 E.E.Ose, M.Moore. モネンシンの細菌耐性に関する研究. モネラン文献集 I 1976. 武田薬品工業株式会社
- 32 R.E.Bowen, T.H.Bennett. Studies Designed to Determine the Effect of Passing Bacteria Forty Times in Media Containing Monensin on Their Resistance to Monensin and Thirteen Other Antimicrobials. イーライリリー社社内資料. (非公表)
- 33 Oliynyk, M., Stark, C.B.W., Bhatt, A., Jones, M.A., Hughes-Thomas, Z.A., Wilkinson, C., Oliynyk, Z., Demydchuk, Y., Staunton, J., and Leadlay, P.F. 2003. Analysis of the biosynthetic gene cluster for the polyether antibiotic monensin in *Streptomyces cinnamonensis* and evidence for the role of *monB* and *monC* genes in oxidative cyclization. Mol. Microbiol. 49 : 1179–1190.
- 34 Lu, K., Asano, R., and Davies, J, 2004. Antimicrobial Resistance Gene Delivery in Animal Feeds. Emerg Infect Dis. 2004 Apr;10(4):679–683.
- 35 Woegerbauer, M., Lagler, H., Graninger, W., and Burgmann, H, 2005. DNA in Antibiotic Preparations: Absence of Intact Resistance Genes. Antimicrob Agents Chemother. 49 : 2490–2494.
- 36 Linton, K.J., Cooper, H.N., Hunter, I.S., and Leadlay, P.F. 1994. An ABC-transporter from *Streptomyces longisporoflavus* confers resistance to the polyether-ionophore antibiotic tetronasin. Mol. Microbiol. 11 : 777–785.