

肥料・飼料等／微生物・ウイルス合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）における審議結果について

1. 審議結果

農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められた家畜等に使用するフラボフォスフォリポールによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価については、平成25年6月18日に開催された第72回肥料・飼料等/第42回微生物・ウイルス合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）において審議結果（案）がとりまとめられた。

また、審議結果（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. 家畜等に使用するフラボフォスフォリポールによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果(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25年8月26日（月）開催の食品安全委員会（第486回会合）の翌日、平成25年8月27日（火）から平成25年9月25日（水）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、肥料・飼料等／微生物・ウイルス合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）の座長の指示のもと、必要に応じて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)

家畜等に使用するフラボフォスフォリポールによる
薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について

2013年8月

食品安全委員会

肥料・飼料等／微生物・ウイルス合同専門調査会

(薬剤耐性菌に関するワーキンググループ)

目次

	頁
○審議の経緯.....	3
○食品安全委員会委員名簿.....	3
○食品安全委員会肥料・飼料等／微生物・ウイルス合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）専門委員名簿）.....	4
○要約.....	5
I. ハザードの特定に関する知見.....	6
1. 名称及び化学構造.....	6
(1) 一般名.....	6
(2) 化学名.....	6
(3) 化学構造.....	6
(4) 有効成分の系統.....	7
2. 使用方法.....	7
(1) 対象飼料及び添加量.....	8
(2) 同一飼料に二つ以上の飼料添加物を用いる場合の規制.....	8
(3) フラボフォスフォリポールの使用量.....	10
3. 海外における評価状況等.....	10
4. 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.....	10
(1) 鶏.....	10
(2) 豚.....	12
5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ.....	12
6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布.....	13
(1) フラボフォスフォリポールの抗菌スペクトル.....	13
(2) 対象とする家畜等の病原体に対する最小発育阻止濃度（MIC）の分布.....	13
(3) 指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対するMICの分布.....	14
7. 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質及びその重要性.....	17
(1) ヒト用抗菌性物質との交差耐性について.....	17
(2) 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質の重要性について.....	18
8. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報.....	19
(1) 耐性獲得に関する試験.....	19
(2) 交差耐性に関する試験.....	19
(3) 耐性機序及び薬剤耐性決定因子に関する情報.....	20
(4) <i>Prevotella bryantii</i> に対するフラボフォスフォリポールの適応及び多剤との共通適応.....	21
9. ハザードの特定に係る検討.....	21

II. 食品健康影響評估	22
--------------------	----

<參照>	23
------------	----

〈審議の経緯〉

- 2003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（15消安第3979号）
- 2003年 12月 11日 第23回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2004年 9月 30日 「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針」決定
- 2006年 4月 13日 「食品を介してヒトの健康に影響を及ぼす細菌に対する抗菌性物質の重要度のランク付けについて」決定
- 2013年 6月 3日 関係資料の接受
- 2013年 6月 18日 肥料・飼料等（第72回）／微生物・ウイルス（第42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）
- 2013年 8月 26日 第486回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2006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
中村 靖彦
本間 清一
見上 彪

（2006年12月20日まで）

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

（2009年6月30日まで）

見上 彪（委員長）
小泉 直子（委員長代理*）
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄**
本間 清一

*：2007年2月1日から

**：2007年4月1日から

（2011年1月6日まで）

小泉 直子（委員長）
見上 彪（委員長代理*）
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

*：2009年7月9日から

（2012年6月30日まで）

小泉 直子（委員長）
熊谷 進（委員長代理*）
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子

（2012年7月1日から）

熊谷 進（委員長）
佐藤 洋（委員長代理）
山添 康（委員長代理）
三森 国敏（委員長代理）
石井 克枝

廣瀬 雅雄

村田 容常

* : 2011 年 1 月 13 日から

上安平 冽子

村田 容常

〈食品安全委員会肥料・飼料等／微生物・ウイルス合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）専門委員名簿〉

（2011 年 10 月 1 日から）

肥料・飼料等専門調査会

唐木 英明（座長）

青木 宙

池 康嘉

舘田 一博

戸塚 恭一

細川 正清

微生物・ウイルス専門調査会

渡邊 治雄（座長代理）

多田 有希

田村 豊

〈食品安全委員会肥料・飼料等（第 72 回）／微生物・ウイルス（第 42 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）専門参考人名簿〉

荒川 宜親

要 約

飼料添加物として指定されている抗菌性物質であるフラボフォスフォリポールが飼料に添加され、家畜等に使用された場合に選択される薬剤耐性菌について、「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針」（2004年9月30日食品安全委員会決定）に基づき、まず、ハザードの特定に関する検討を行った。

フラボフォスフォリポールはヒト用医薬品として使用されておらず、また、これと化学構造が類似したヒト用抗菌性物質はない。黄色ブドウ球菌において、フラボフォスフォリポール耐性とバンコマイシン耐性の関連性が示唆されたが、これらはそれぞれ標的部位が異なるため、見掛けの交差耐性であると考えられた。

家畜由来細菌のフラボフォスフォリポールに対する感受性についての国内での知見はない。しかし、国外において、家畜由来細菌がフラボフォスフォリポール耐性を獲得したという報告は少なかった。

伝達性の耐性決定因子は認められておらず、耐性伝達試験でフラボフォスフォリポール耐性が伝達されなかったことから、フラボフォスフォリポール感受性菌が耐性決定因子の獲得によって耐性菌に変化する可能性は低いと考えられた。

以上のハザードの特定に関する検討の結果、フラボフォスフォリポールの家畜等への使用によりフラボフォスフォリポール耐性菌が選択される可能性は否定できないが、フラボフォスフォリポールがヒト用医薬品として使用されていないこと、フラボフォスフォリポールがヒトに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等から、食品を介してヒトに対して健康上の危害因子となる可能性のある薬剤耐性菌はなく、フラボフォスフォリポールを家畜等に使用することによって選択された薬剤耐性菌が、食品を介し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。

なお、薬剤耐性菌に関する詳細な情報について、現時点では十分とは言えないので、リスク管理機関である農林水産省において引き続き情報の収集に努めるべきと考える。

I. ハザードの特定に関する知見

1. 名称及び化学構造

(1) 一般名

和名：フラボフォスホリポール (参照 1)

英名：Flavophospholipol

別名：フラボマイシン (Flavomycin)、バンベルマイシン (Bambermycin)、メノマイシン (Moenomycin ; マエノマイシン)

(2) 化学名

(参考)

英名：(2S,3S,4R,5R,6R)-5-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-4-hydroxy-6-methyl-5-[(2R,3R,4S,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2-hydroxy-5-oxocyclopenten-1-yl)carbamoyl]oxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxy-4-hydroxy-6-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-4-carbamoyloxy-3-hydroxy-6-[hydroxy-[(2R)-2-hydroxy-3-oxo-3-[(3E,7E,14E)-4,9,9,15,19-pentamethyl-12-methylideneicosa-3,7,14,18-tetraenoxy]propoxy]phosphoryl]oxy-3-methyloxane-2-carboxylic acid (Bambermycin)

CAS 番号：11015-37-5 (Bambermycin)

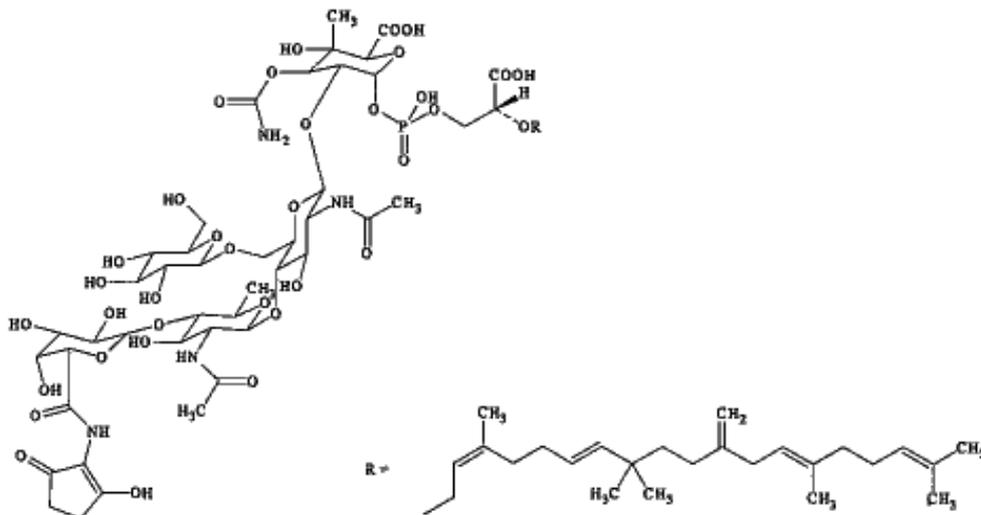
(3) 化学構造

(参考)

分子式：C₆₉H₁₀₇N₄O₃₅P (Moenomycin A)

分子量：1584 (Moenomycin A)

構造式：本品は化学的に類似した数成分の複合体であり、構造式は最終的には決定されていない。



(参考) Moenomycin A (参照 1)

(4) 有効成分の系統

① 有効成分の系統

フラボフォスフォリポールは、1950 年代にドイツの土壌から分離された *Streptomyces* 属によって産生されるホスホグリコリピッド系の抗生物質である。主に *S. bambergensis*、*S. ghanaensis*、*S. ederensis* 及び *S. geysiriensis* によって産生される。(参照 1、2)

フラボフォスフォリポールは、動物用医薬品又はヒト用医薬品としては用いられていない。

② 関連する系統

フラボフォスフォリポールは、ホスホグリコリピッド系に属する唯一の抗菌性物質であるため、関連する系統は存在しない。(参照 2)

2. 使用方法

フラボフォスフォリポールは、「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 35 号。以下「飼料安全法」という。)に基づき農林水産大臣による飼料添加物としての指定を受けた抗菌性物質 (以下「抗菌性飼料添加物」という。)であり、その成分規格、製造等の方法及び表示の基準、使用方法等については同法及び同法に基づく「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)等により規定されている。抗菌性飼料添加物全般について設けられている主な規制は以下のとおりである。

- ① 飼料は飼料添加物に指定されていない抗菌性物質を含んではならない。
- ② 抗菌性飼料添加物の種類ごとに添加してよい対象飼料及び量が定められている。
- ③ 抗菌性飼料添加物及び抗菌性飼料添加物を含む飼料の製造業者は、製造を実地に管理させるため、事業場ごとに、飼料管理者を置かなければならない。(飼料安全法第

25条)

- ④ 抗菌性飼料添加物のうち抗生物質については、飼料安全法第5条に規定する特定飼料等に該当し、(独)農林水産消費安全技術センターによる検定を受けて合格したことを示す表示又は登録特定飼料等製造業者(特定飼料等を業とするものをいう。)が製造したことを示す表示が付されたものでなければならない。
- ⑤ 抗菌性飼料添加物を含む飼料は、対象家畜等及び含有する飼料添加物の名称、量、使用上の注意等を表示しなければならない。
- ⑥ 抗菌性飼料添加物を含む飼料は、搾乳中の牛、産卵中の鶏又はうずら、食用にと殺する前の7日間の牛(生後概ね6月を超えた肥育牛を除く。)、豚、鶏又はうずらに使用してはならない。

(1) 対象飼料及び添加量

フラボフォスフォリポールの添加が認められている飼料の種類及び添加量は、以下のとおりである。

対象飼料	鶏(ブロイラーを除く。)用	ブロイラー用	豚用	
	幼すう用 中すう用	前期用 後期用	ほ乳期用	子豚期用
添加量 (g 力価/ トン)	1~5	1~5	2~10	2.5~5

注) うずら用は鶏用に準じて使用される。

(2) 同一飼料に二つ以上の飼料添加物を用いる場合の規制

抗菌性飼料添加物は以下の四つのカテゴリーに分類されている。次の表の同一欄内の二つ以上の飼料添加物は、同一飼料に併用してはならない。

区分	飼料添加物
第1欄	アンプロリウム・エトパペート、アンプロリウム・エトパペート・スルファキノキサリン、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、デコキネート、ナイカルバジン、ナラシン、ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム、モネンシンナトリウム、ラサロシドナトリウム
第2欄	クエン酸モランテル
第3欄	亜鉛バシトラシン、アピラマイシン、アルキル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、クロルテトラサイクリン、セデカマイシン、ノシヘプタイド、バージニアマイシン、フラボフォスフォリポール、リン酸タイロシン
第4欄	アルキル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、クロルテトラサイクリン、ピコザマイシン、硫酸コリスチン

以上の規制及び各抗菌性飼料添加物の対象家畜を整理すると、フラボフォスフォリ

ポールと併用可能である抗菌性飼料添加物は以下のとおりである。

- ・鶏用（ブロイラーを除く。）、ブロイラー用
- 各区分より1種類ずつ併用が可能である。（飼料1トンあたりの添加量）

区分	飼料添加物名	単位	鶏(ブロイラーを除く。)用	ブロイラー用	
			幼すう用 中すう用	前期用	後期用
第1欄	アンプロリウム・エトパベート	g	アンプロリウム 40～250	40～ 250	40～ 250
			エトパベート 2.56～16	2.56～ 16	2.56～ 16
	アンプロリウム・エトパベート ・スルファキノキサリン	g	アンプロリウム 100	100	100
			エトパベート 5	5	5
			スルファキノキサ リン 60	60	60
	サリノマイシンナトリウム	g 力価	50	50	50
	センデュラマイシンナトリ ウム	g 力価	25	25	25
	デコキネート	g	20～40	20～40	20～40
	ナイカルバジン	g	—	100	—
	ナラシン	g 力価	80	80	80
	ハロフジノンポリスチレン スルホン酸カルシウム	g	40	40	40
モネンシンナトリウム	g 力価	80	80	80	
ラサロシドナトリウム	g 力価	75	75	75	
第4欄	ビコザマイシン	g 力価	5～20	5～20	5～20
	硫酸コリスチン	g 力価	2～20	2～20	2～20

・豚用

各区分より1種類ずつ併用が可能である。(飼料1トンあたりの添加量)

区分	飼料添加物名	単位	豚用	
			ほ乳期用	子豚期用
第2欄	クエン酸モランテル	g	30	30
第4欄	ビコザマイシン	g力価	5~20	5~20
	硫酸コリスチン	g力価	2~40	2~20

飼料中の添加量が規定の範囲内であることの確認は、(独)農林水産消費安全技術センターが飼料製造業者に対して行う立入検査の際に行われており、農場におけるフラボフォスフォリポール添加飼料の家畜等への使用制限(産卵中の鶏又はうずら、食用にと殺する前7日間の豚、鶏又はうずらへの使用禁止等)については、各都道府県がその遵守状況を確認することとなっている。

(3) フラボフォスフォリポールの使用量

1976年7月に飼料添加物として指定されて以来、製造販売が行われている。1978年の検定合格数量は1.9トンであり、その後2006年まで0~0.5トンの間で推移していたが、2007年以降検定は行われていない。(参照3、4、5)

3. 海外における評価状況等

海外では、アメリカ、カナダ、ブラジル、ロシア、タイ、インドネシア、インド、台湾及び中国でフラボフォスフォリポールが使用されているが、これらの国においてフラボフォスフォリポールの耐性菌に関するリスク評価は行われていない。

カナダにおける医療上の抗菌性物質の重要度ランクで、フラボフォスフォリポールは、医療で使用されていないことから、もっとも低いランクである「Low Importance」とされている。(参照6)

4. 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

(1) 鶏

肉用鶏(ローマン、9週齢、8羽)にフラボフォスフォリポール52 mg/kgを添加した飼料を絶食後3時間与え、バイオオートグラフィを用いてフラボフォスフォリポールを検出した。24時間以内にフラボフォスフォリポール摂取量の102%が排泄物中に検出された。(参照7)

肉用鶏(バブコック、1年齢、4羽)に、1羽あたり2 mgのフラボフォスフォリポールを含むカプセルを単回経口投与し、バイオオートグラフィを用いてフラボフォスフォリポールを検出した(検出限界0.0125 µg/mL)。本品摂取量の94~99.5%が投与後24時間以内に糞便中に回収された。(参照8)

肉用鶏(ローマン、雄、6週齢、6羽/群)にフラボフォスフォリポール550 mg/kg

を含有する飼料を 28 日間連続給与したところ、フラボフォスフォリポール摂取量の 100.4%が生物学的に変化のないまま排泄された。(参照 9)

肉用鶏（ローマン、雄、30 日齢、体重 1.1~1.2 kg、3 羽/群）6 羽に、飼料 1 kg 中に非ラベル物質 9 mg を添加した飼料を 10 日間給与した後、およそ 1.1~1.3 mg/kg の ^{14}C 標識フラボフォスフォリポール（フラボフォスフォリポールとしておよそ 2 mg/kg 体重）を単回経口投与した。投与終了後、4 時間後（試験群 1）及び 48 時間後（試験群 2）にそれぞれ 3 羽が安楽死処置され、指定した臓器及び組織における放射活性を液体シンチレーションカウンター法によって測定した。試験群 2 では、放射活性の回収を明示するために血液サンプル及び排泄物を定量的に採取した。検出された血中濃度は低く、最高濃度で 0.008~0.014 μg 当量/g であった。投与 48 時間後に検出された血中濃度は 0.002~0.008 μg 当量/g（平均 0.005 μg 当量/g）であった。投与された放射活性物質の大部分は、投与後 48 時間以内に排出された（平均 81.21%）。指定した臓器及び組織においては、全ての条件において、最大でも 0.2%程度のわずかな放射活性しか検出されなかった。

以上より、投与された放射活性物質のほとんどは、雄鶏（肉用鶏）に ^{14}C 標識フラボフォスフォリポールを経口投与した後、体循環を巡ることなく排泄されるということが結論付けられた。血中、指定臓器及び組織中で標識化合物が低濃度に見られたことから、本試験物質の体内への吸収力は乏しいことが示された。(参照 10)

採卵鶏（ローマンブラウン、21 週齢、体重 1.6~1.8 kg、3 羽/群）6 羽に、飼料 1 kg 中に非ラベル物質 9 mg を添加した飼料を 10 日間給与した後、およそ 1.1~1.3 mg/kg の ^{14}C 標識フラボフォスフォリポール（フラボフォスフォリポールとしておよそ 2 mg/kg 体重）を単回経口投与した。投与終了後、4 時間後（試験群 1）及び 48 時間後（試験群 2）にそれぞれ 3 羽が安楽死処置され、指定した臓器及び組織における放射活性を液体シンチレーションカウンター法によって測定した。試験群 2 では、放射活性の回収を明示するために血液サンプル及び排泄物を定量的に採取した。検出された血中濃度は低く、最高濃度で 0.016~0.024 μg 当量/g であった。投与 48 時間後に検出された血中濃度は 0.005~0.024 μg 当量/g であった。

投与された放射活性物質の大部分は、投与後 48 時間以内に排出された（平均 84.14%）。

指定した臓器及び組織においては、肉用鶏での試験と同様に、投与 4 時間後及び 48 時間後においても、最大でも 0.35%程度のわずかな放射活性しか検出されなかった。また、卵中の投与 48 時間後における放射活性は最大でも 0.017%を示し、肝臓や腎臓等の主要臓器と比較して小さかった。

以上より、投与された放射活性物質のほとんどは、採卵鶏に対する ^{14}C 標識フラボフォスフォリポールの経口投与後、体循環を巡ることなく排泄されるということが結論付けられた。血中、卵中、指定臓器及び組織中で標識化合物が低濃度に見られたことから、本試験物質の体内への吸収力は乏しいことが示された。(参照 11)

(2) 豚

豚（ドイツ肉用豚（German meat type swine）、5～6週齢、雄3頭、雌3頭）にフラボフォスフォリポールを50 ppm 添加した飼料を6か月間給与して、肝臓、腎臓、胃、小腸、大腸、脾臓、胆汁、肺、心臓、筋肉、脂肪組織、皮膚、骨及び血液中の本品を測定したところ、胃以外の全ての試料は検出限界未満であった。検出限界は臓器、試験ごとに異なり、肺を除いて0.33 µg/g 未満であった。6頭中1頭の胃から本品1.11 µg/g を検出したがこの胃は炎症を起こしており、他の5頭の胃からは本品を検出しなかったことから、この検出例は炎症による例外であると判定した。（参照 12）

豚（ドイツ肉用豚（German meat type swine）、体重39.5～44 kg、4頭（2頭/群））に本品0.5及び2.0 mg/kg を静脈内注射して、35日間のフラボフォスフォリポールの動きについて、バイオオートグラフィを用いて検出した。薬剤投与量の5.3～7.9%が尿中に排泄され、35日後にも投与量の85%が体内に存在していた。（参照 13）

雄豚（14～15週齢、体重38～44 kg、6頭（3頭/群））に、飼料1 kg中に非ラベル物質24 mgを添加した飼料を10日間給与した後、およそ1.2～1.7 mg/kg 体重の¹⁴C 標識フラボフォスフォリポールを単回経口投与した。投与終了後、4時間後（試験群1）及び48時間後（試験群2）にそれぞれ3頭が安楽死処置され、指定した臓器及び組織における放射活性を液体シンチレーションカウンター法によって測定した。試験群2では、放射活性の回収を明示するために血液サンプル及び糞尿を定量的に採取した。初めて全ての動物で血中に放射活性が検出されたのは投与1時間後で、試験期間中は低いレベルでの増加しか見られず、最高濃度でも0.019 µg 当量/g で、投与48時間後に到達した。投与された放射活性物質は糞中に排泄され、その量は投与48時間後で平均55.47%（ケージ洗浄液を含む。）であった。この時点で、相当量の放射活性物質が大腸下部に存在していると推察された。投与4時間後に臓器及び組織中で観察された放射活性は、投与量のわずか0.09%（平均）で、投与48時間後においても1.14%であった。

以上より、豚に投与された放射活性物質は¹⁴C 標識フラボフォスフォリポールの経口投与後、そのほとんどが糞中に排泄されるということが結論付けられた。血中、指定臓器及び組織中で放射活性が少なかったこと及び尿中で見られた放射活性の割合も少ないことから、本試験物質の体内への吸収力は乏しいことが示された。（参照 14）

5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ

フラボフォスフォリポールはグラム陽性菌に作用するが、大部分のグラム陰性菌には作用が弱いか、又は作用しない。（参照 15、16、17、18）フラボフォスフォリポールは、細胞壁合成を触媒する酵素であるクラス A ペニシリン結合タンパクのグリコシルトランスフェラーゼドメインに結合し、その活性を阻害することにより細胞壁合成を阻害して抗菌活性を示す。（参照 19、20）

フラボフォスフォリポール（moenomycin A）は大腸菌に対して用量依存的に抗菌活性を示し、低濃度（1 µg/mL）では静菌的に、高濃度（10 µg/mL以上）では細胞壁合成が盛んな分裂期の細菌に対して溶菌を引き起こし殺菌的に作用する。Mg²⁺ を添加し

で溶菌しない条件においても大腸菌に殺菌的に作用する。一方、球菌に対しては菌種によって作用が異なるものの、概ね静菌的に作用する。フラボフォスフォリポールはブドウ球菌や腸球菌に対しては全ペプチドグリカン合成系の一部のみを阻害できるだけであるが、これらの菌種に殺菌的に作用する。(参照 21、22)

β -ラクタム系抗生物質は、ペニシリン結合タンパクのトランスペプチダーゼドメインに結合し、その活性を阻害する。また、バンコマイシン及びテイコプラニン[®]はムレインモノマーのペプチド末端ジペプチドのD-アラニル-D-アラニンに結合することでトランスペプチダーゼ活性を阻害するため、フラボフォスフォリポールとは作用点異なる。(参照 19、20、23、24)

6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布

(1) フラボフォスフォリポールの抗菌スペクトル

表1に示すように、グラム陽性菌の黄色ブドウ球菌、レンサ球菌の一部、肺炎レンサ球菌、豚丹毒菌、枯草菌等に対して強い抗菌作用を示した。グラム陰性菌に対しては一部の菌で弱い抗菌作用が認められたが大半の菌において抗菌作用は認められなかった。(参照 15、16、17、18、25)

表1 主要菌種に対するフラボフォスフォリポールの抗菌スペクトル

菌種	菌株数	MIC ($\mu\text{g/mL}$)
グラム陽性菌		
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	0.03-0.5(0.06)*
Streptococci, group A	6	0.001-0.01(0.001)*
Streptococci, group B	3	0.001-39.1
Streptococci, group C	2	0.03-625.0
Streptococci, group D	7	1.6-10,000
<i>Diplococcus(Streptococcus) pneumoniae</i>	2	0.3-1.25
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	1	0.001
<i>Bacillus</i> spp.	4	0.001-0.6(0.07)*
<i>Clostridium</i> spp.	4	313.0-625.0
グラム陰性菌		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	62.5-125.0(62.5)*
<i>Escherichia coli</i>	12	62.5-250(125.0)*
<i>Proteus mirabilis</i>	7	31.5-156.0(31.5)*
<i>Salmonella</i> spp.	14	7.8-250.0

*かっこ内の値は多くの株が示したMIC

(2) 対象とする家畜等の病原体に対する最小発育阻止濃度 (MIC) の分布

日本ではフラボフォスフォリポールは飼料添加物として指定されており、対象とする家畜等の病原菌はない。しかし、家畜由来野外株に対するフラボフォスフォリポールの薬剤感受性試験について、以下のような報告がある。

豚の腸内から分離された腸内レンサ球菌のフラボフォスホリポールに対する *in vitro* における感受性を調査した。表 2 に示すように、*Streptococcus bovis* 及び *Streptococcus suis* では耐性を示す株が認められた。(参照 25)

表 2 レンサ球菌に対するフラボフォスホリポールの MIC

菌種(菌株数)	MIC($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	0.12	0.25	0.5	1	2	>32
<i>S. bovis</i> (2)		1				1
<i>S. alactolyticus</i> (4)	2		2			
<i>S. hyointestinalis</i> (2)			2			
<i>S. suis</i> (11)			7		1	3

デンマークにおいて、豚及び牛で分離された種々の細菌に対してフラボフォスホリポールの感受性が調査された。*Staphylococcus aureus* (牛由来 211 株)、*Staphylococcus hyicus* (豚由来 71 株) 及びコアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) (牛由来 371 株) (1995 年 10 月～1996 年 9 月に分離) を本試験に使用した。すべてのブドウ球菌はフラボフォスホリポールに感受性を示した。(参照 27)

ドイツにおいて、子豚、豚、子牛、育成牛、ウサギ、七面鳥、採卵鶏及び肉用鶏の消化管から分離した異なる細菌種に対するフラボフォスホリポールの MIC を調査した。コアグララーゼ陰性ブドウ球菌に対するフラボフォスホリポールの MIC は、60 株中 29 株が 16～32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4 株が 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、残り 27 株が 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上であった。黄色ブドウ球菌 59 株は、3 株を除き感受性を示した (MIC8～32 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。(参照 28)

(3) 指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対する MIC の分布

フラボフォスホリポールを使用できる豚及び鶏に由来する食品媒介性病原細菌としては、カンピロバクター、サルモネラ及び *Clostridium perfringens* がある。また、薬剤感受性の指標細菌として重要なのは、大腸菌及び腸球菌である。しかし、カンピロバクター、サルモネラ、大腸菌及び *C. perfringens* は、一般的にフラボフォスホリポールに耐性を示す。また、多くの報告で *Enterococcus faecium* はフラボフォスホリポールに自然耐性を示すとされているが、感受性を示す株もあり、感受性が不均一であるメカニズムは不明である。

ドイツにおいて、対象動物の消化管から分離した異なる細菌種に対するフラボフォスホリポールの MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) を調査した。フラボフォスホリポールの MIC は子豚、豚、子牛、育成牛、ウサギ、七面鳥、採卵鶏及び肉用鶏の分離株に対し測定した。全てのグラム陰性菌 (大腸菌 (n=160)、*Salmonella* spp. (n=140) 及び *Campylobacter* spp. (n=20)) に対する MIC は 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ より大きかった。これに

対し、グラム陽性菌の *E. faecium* (n=156) に対する MIC は 41 株が 64 µg/mL、24 株が 128 µg/mL で、残りの 93 株は 128 µg/mL 以上であった。嫌気性菌 (*C. perfringens* 105 株) に対する MIC は全ての菌株で 128 µg/mL より大きかった。(参照 28)

ベルギーにおいて、19 農場で飼育されている 52 羽の鶏の盲腸から分離した胆汁酸耐性レンサ球菌の 66 株 (*Streptococcus (Enterococcus) faecalis* 8 株、*Streptococcus (Enterococcus) faecalis* spp. *liquefaciens* 23 株、*Streptococcus (Enterococcus) faecium* 15 株及び carboxyphilic streptococci 20 株) に対する 9 種類の成長促進剤の MIC を寒天平板希釈法で測定した。*S (E) . faecalis* 及び *S (E) . faecalis* spp. *liquefaciens* はフラボフォスフォリポールに対し感受性を示した。*S (E) . faecium* に分類される菌株はフラボフォスフォリポールに感受性が認められなかった。carboxyphilic streptococci は 20 株のうち 1 株が耐性であった。(参照 29)

ベルギーにおいて、豚の腸内から分離された腸球菌及び腸内レンサ球菌に対するフラボフォスフォリポールの *in vitro* における感受性を調査した。全ての *E. faecalis* はフラボフォスフォリポールに対して感受性を示したのに対して *E. faecium*、*E. hirae*、*E. durans* は感受性を示さず、*E. cecorum* では耐性を示す株が認められた。(参照 26)

デンマークにおいて、豚、牛及び鶏で分離された種々の細菌に対してフラボフォスフォリポールの感受性が調査された。*E. faecalis* 及び *E. faecium* (1995 年 10 月～1996 年 9 月に分離) を本試験に使用した。豚由来の *E. faecium* (58 株) の 93%、鶏由来の *E. faecium* (54 株) の 72% 及び牛由来の *E. faecium* (13 株) の 85% でフラボフォスフォリポールに耐性を示したが (ブレイクポイントは 16 µg/mL) 、*E. faecalis* はフラボフォスフォリポールに感受性を示した。(参照 27)

欧州 6 カ国において、1998 年から 1999 年に健康な豚のと体 (結腸内容物) 及び肉用鶏のと体 (盲腸内容物) から分離した合計 2,229 株の *E. faecium* に対するフラボフォスフォリポールの MIC を測定した。表 3 に示すように、被験菌株のうち、90.9% (2,027 株) の菌株の MIC が 128 µg/mL を超えており、耐性を示していた。(参照 30)

表3 欧州6カ国における *E. faecium* に対するフラボフォスフォールの MIC

畜種	国	MIC (µg/mL)											計 (2,229)
		0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128	
鶏	フランス			7	1	2	2	2	2	4	9	283	312
	オランダ				2	5	7	11	5	9	14	274	327
	スウェーデン			1	1	4	11	6	3	6	14	295	341
	イギリス		2	2	5	2	7	2	3	3	11	321	358
豚	デンマーク		1	1					1		4	299	306
	オランダ							2	3		4	290	299
	スペイン						1			1		83	85
	スウェーデン	1	1	2			1		1	1	12	182	201

ベルギーにおいて、豚、牛及び鶏の盲腸から分離されたクロストリジウム及び腸内レンサ球菌に対するフラボフォスフォールの感受性試験を行った。表4に示すように、一部のクロストリジウムがフラボフォスフォールに感受性を示したが、多くのクロストリジウムは自然耐性 (MIC > 32 µg/mL) を示した。またクロストリジウムにおける耐性率は豚・牛・鶏においてそれぞれ 0% (いくつかの菌種で自然耐性が見られたが、それらを除く。) であった。鶏における *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* の耐性率 25%、*Streptococcus (Enterococcus) faecalis* subsp. *liquefaciens* の耐性率は 0%、*Streptococcus (Enterococcus) faecium* は全ての菌株で自然耐性が認められた。(参照 31)

表4 自然耐性が確認された菌種及び感受性が確認された菌種とそれらに対する MIC

自然耐性が 確認された菌種	感受性が確認された菌種とその範囲(µg/mL)	
	クロストリジウム	腸内レンサ球菌
<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Clostridium beijerinckii</i> 2~8	Others * 0.25~4
<i>Clostridium cadarteris</i>	<i>Clostridium botulinum</i> ≤0.25	
<i>Clostridium paraputrificum</i>	<i>Clostridium sordelli</i> ≤0.5	
<i>Clostridium perfringens</i>		
<i>Clostridium sphenoides</i>		
<i>Clostridium sporogenes</i>		
<i>Clostridium subterminale</i>		
<i>Clostridium symbiosum</i>		
<i>Streptococcus (Enterococcus) faecium</i>		

* *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* spp. *Liquefaciens* 及び *Streptococcus (Enterococcus) faecium*

1991~1992年に鶏、豚及び牛から分離された *C. perfringens* 95株について、7

種類の成長促進剤の MIC を調査した。フラボフォスフォリポールの MIC は、全ての菌株で 64 µg/mL 以上であった。(参照 32)

7. 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質及びその重要性

(1) ヒト用抗菌性物質との交差耐性について

本品と、他の主要な抗菌性物質（ペニシリン、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、エリスロマイシン及びオレアンドマイシン）との交差耐性は報告されていない。(参照 33)

フラボフォスフォリポールを投与した肉用鶏の糞便から分離した *E. faecium* 及び大腸菌について、ヒト用あるいは動物用として一般的に使用されている 12 薬剤（ペニシリン G、オキサシリン、バンコマイシン、アモキシシリン、セフキノム、セフペラゾン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、タイロシン、ゲンタマイシン、エンロフロキサシン及びオキシテトラサイクリン）の MIC を測定した報告では、対照群と比較して薬剤感受性パターンに変化はなく、フラボフォスフォリポールはこれらの薬剤の耐性に影響を与えないと結論づけられた。(参照 34)

バンコマイシン存在下において 3 回継代培養して得られたバンコマイシンに低感受性 (MIC 16 µg/mL、感受性を示す親株は 2 µg/mL) を示すメチシリン耐性 (MIC 1,024 µg/mL) 黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、その後 7 回抗菌剤のない条件で培養しても獲得した耐性を失わず、フラボフォスフォリポールの感受性も 16 分の 1 に低下していた。また、この耐性株ではホスホマイシン及びバシトラシンの薬剤感受性に影響は認められなかったが、テイコプラニン及びマカルボマイシンの感受性も同様に低下していた。本耐性株は変異前の親株に比べ、細胞壁が肥厚しており、わずかながら細胞壁のペプチドの架橋も減少し、ペプチドグリカンの糖鎖が伸長していた。(参照 35)

更に、バンコマイシン耐性とフラボフォスフォリポール耐性の関連性を検討するために、MRSA 5 株とメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) 2 株からフラボフォスフォリポール耐性変異株（フラボフォスフォリポールの耐性は親株の 4~32 倍）を継代培養の後に分離して前述の調査と同様の検討を行った。フラボフォスフォリポール耐性株においても、黄色ブドウ球菌 7 株のうち 6 株において、メチシリン耐性保有と関係なく、バンコマイシン及びテイコプラニンの感受性が 2 分の 1 から 4 分の 1 に低下していた。バシトラシンではフラボフォスフォリポールの影響は見られず、MRSA に対するメチシリン及び MSSA に対するホスホマイシンではむしろ感受性が上昇していた。

フラボフォスフォリポール耐性 MRSA 2 株とフラボフォスフォリポール耐性 MSSA 1 株では、フラボフォスフォリポール耐性変異株が変異前の親株に比べ、細胞壁の肥厚がみられ、また、そのうちの MRSA 1 株のペプチドグリカンは糖鎖の伸長が認められた。しかし、ムロペプチドのプロファイル、ペニシリン結合タンパクの発現量及び細胞壁合成に関与する遺伝子の配列に違いは認められなかった。以上の結果から、本報告で示された黄色ブドウ球菌のフラボフォスフォリポール耐性はバンコマイシン低

感受性化と密接に関連していることが示唆された。(参照 36)

本報告で示唆されたフラボフォスフォリポールとバンコマイシンとの間でみられた両薬剤の耐性は、それぞれの薬剤の標的部位の変異に基づく直接的な耐性化ではなく、細菌のグリコシルトランスフェラーゼ活性の亢進によって細菌の細胞壁合成能が補完された結果もたらされた、見掛けの交差耐性であると考えられる。直接的な耐性化の多くが高度耐性を示すのに対し、報告された耐性度は MIC 値が 0.125 から 4 µg/mL と、軽度から中程度の共耐性を示していた。フラボフォスフォリポール及びバンコマイシンはどちらも細胞壁のペプチドグリカン合成系を阻害することにより細胞壁の合成を阻害する薬剤であるが、フラボフォスフォリポールはグリコシルトランスフェラーゼの活性部位に作用して殺菌活性を示すのに対し、バンコマイシンはトランスペプチダーゼの基質に結合することにより殺菌活性を示すことが知られている。したがって、両薬剤は薬剤の標的酵素自体が異なることから、交差耐性を示す可能性は低いと考えられる。以上より、家畜へのフラボフォスフォリポールの使用により、バンコマイシンに対して、高度な交差耐性が生じる可能性は低いと考えられる。

(2) 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質の重要性について

フラボフォスフォリポールは、動物用飼料添加物として開発された製品であり、ヒト用医薬品としては使用されていない。しかし、黄色ブドウ球菌においてフラボフォスフォリポール耐性とバンコマイシン低感受性化との関連が示唆されている。(参照 36)

バンコマイシンはグリコペプチド系抗生物質に属し、作用機序は細胞壁合成のペプチドグリカン前駆体の pentapeptide 末端の D-アラニル-D-アラニンに強く結合して合成を阻害する(参照 37)。

バンコマイシンはグラム陽性菌感染症に有効な治療薬であり、特に、MRSA 感染症には特効薬的な薬剤である。主として注射剤として用いられるが、骨髄移植時の消化管内殺菌、*Clostridium difficile* による偽膜性腸炎及び MRSA 腸炎に対して内服製剤が用いられている(参照 38、39)。注射用バンコマイシンの適応症は、MRSA による敗血症、感染性心内膜炎、外傷・熱傷及び手術創等の二次感染、骨髄炎、関節炎、肺炎、肺膿瘍、膿胸、腹膜炎、化膿性髄膜炎、及びペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) による敗血症、肺炎、化膿性髄膜炎である(参照 40)。

国立感染症研究所によると、1999 年から 2011 年までにおける MRSA 感染症の報告数は、観察定点当たり 24.92~53.15 件、PRSP 感染症の報告数は、定点当たり 4.78~14.30 件となっている(参照 41)。また、抗菌剤関連下痢症のうち、20~30%が *C. difficile* によるものと考えられており、1997 年~2005 年にカナダで行われた調査では、その発症率は患者 10,000 人日当たり 3.8~9.5 例と報告されている(参照 42)。

これらの感染症に対するバンコマイシン以外の治療薬としては、MRSA 感染症には、テイコプラニン、アルベカシン、リネゾリド、ダプトマイシンなどが(参照 43)、PRSP 感染症には、トスフロキサシン(参照 44、45)、テビペネム(参照 46)、ガレノキサシン(参照 47)などが、*C. difficile* 感染症には、メトロニダゾール(参照 42、48)などが用いられている。

8. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報

(1) 耐性獲得に関する試験

① *in vitro* 試験

フラボフォスフォリポール存在下における5菌株の継代試験によってフラボフォスフォリポールの耐性発現を調査した。黄色ブドウ球菌は2~3代後に、*Bacillus mycoides*は7代後にMICが増加したが、レンサ球菌は10代後においても耐性発現が認められなかった。得られた耐性株は、顕微鏡による観察では原株との間に差異を認めなかったが、薬剤のない通常の培養をしても増殖が悪くかつ不均一で、培養は困難であった。獲得された耐性は、フラボフォスフォリポールを含まない培地で約10代継代すると、多くの株で消失又は減少した。(参照 49)

② *in vivo* 試験

肉用鶏(48羽/群)に異なる濃度のフラボフォスフォリポール(9 ppm又は24 ppm)、を添加した飼料を42日間投与した後、さらに、フラボフォスフォリポール無添加の飼料で7日間飼育した。投与開始42日後及び49日後に分離された*Enterococcus spp.*のMICの最小値は32 µg/mL、最大値は512 µg/mLで、感受性のパターンはフラボフォスフォリポール無添加の群とほぼ同じであった。(参照 50)

(2) 交差耐性に関する試験

各種抗菌剤に耐性を示し、耐性機序が明らかな*S. aureus*(5株)、*E. faecium*(2株)、*E. faecalis*(1株)及び大腸菌(7株)を用いて、各種抗菌性物質の耐性パターンに対するフラボフォスフォリポールの影響を調査した。対照菌種は各種抗菌剤に感受性を示す菌株を用い、調査に供した全菌株をフラボフォスフォリポール非添加及びフラボフォスフォリポール添加栄養培地中で、1回およそ24時間培養を10回繰り返し(継代培養)、継代前、継代5回目及び継代10回目にサリノマイシン、フラボフォスフォリポール、ペニシリンG、オキサシリン、バンコマイシン、アモキシシリン、セフキノム、セフォペラゾン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、タイロシン、HMR3004(マクロライド系)、ゲンタマイシン、エンロフロキサシン及びオキシテトラサイクリンのMICを測定した。継代培養の際のフラボフォスフォリポールは菌株ごとにMICの2分の1及び16分の1の濃度で添加した。その結果、全ての菌株においてフラボフォスフォリポール以外の各種抗菌剤が継代培養の前後でMICの変化を示さなかった。フラボフォスフォリポールについては、*E. faecium*及び大腸菌は自然耐性を示しており、それらのMICは変化を示さず、自然耐性のままであった。一方、*S. aureus*及び*E. faecalis*に対しては被験した全ての菌株においてフラボフォスフォリポールを高濃度添加した(MICの2分の1)ときにフラボフォスフォリポールのMICの上昇がそれぞれ認められ、それらの上昇度は少なくとも2倍以上であった。以上の結果から、フラボフォスフォリポールは試験した4菌種に対して各種抗菌剤の感受性に影響を与えないこと、高濃度のフラボフォスフォリポールの添加はフラボフォスフォリポールに対する抵抗性を増加させるが、他の治療用抗菌剤との交差耐

性は誘導しないことが示唆された。(参照 51)

肉用鶏 (48 羽/群) にフラボフォスフォリポール (9 ppm) を添加した飼料を 6 週間給与した (試験期 I)。対照群には抗菌性物質無添加の飼料を給与した。その後 1 週間両群に抗生物質を含まない飼料を与えた (試験期 II)。試験期 I の最終日 (42 日) 及び試験期 II の 7 日目 (49 日) に、排泄物から *E. faecium* 及び大腸菌を分離した。これらの菌株について、ヒト用あるいは動物用医薬品として一般的に使用されている 12 薬剤 (ペニシリン G、オキサシリン、バンコマイシン、アモキシシリン、セフキノム、セフペラゾン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、タイロシン、ゲンタマイシン、エンロフロキサシン及びオキシテトラサイクリン) の MIC を測定した。大腸菌 及び *E. faecium* に対する 12 薬剤の MIC は両群間で類似しており、これら薬剤の耐性に対してフラボフォスフォリポールが交差耐性又は耐性の共選択を示さないということが確認されている。(参照 34)

(3) 耐性機序及び薬剤耐性決定因子に関する情報

30 年以上に渡り、抗菌性飼料添加物として世界中で使用されているにもかかわらず、今までのところ、フラボフォスフォリポールに対するプラスミド性の耐性は認められていない。(参照 33)

豚、鶏、ヒト及び下水から分離した *E. faecium* 19 株について、フラボフォスフォリポールの MIC を調査した。フラボフォスフォリポールの MIC は、1 µg/mL を示す株が 3 株、8 µg/mL が 1 株、16 µg/mL が 1 株、>128 µg/mL が 14 株であった。MIC が 8 µg/mL の 1 株、16 µg/mL の 1 株及び >128 µg/mL の 3 株を合わせた 5 株をドナー、MIC が 1 µg/mL の 3 株をレシピエントとしてフィルターメイティング法によりフラボフォスフォリポール耐性の伝達の有無を観察したところ、フラボフォスフォリポールの耐性は伝達されなかった。(参照 52)

フラボフォスフォリポールを含む 11 種の抗菌性物質が、黄色ブドウ球菌に対し遺伝子群 CWSS (Cell wall stress stimulon) を誘導することについて検討した。CWSS は、細菌が細胞壁合成阻害剤にさらされたり、細胞壁の加水分解や細胞壁の合成阻害を受けた際に誘導される遺伝子群であり、その発現は *VraS* と *VraR* の 2 成分からなる *VraSR* 制御系により制御されている。CWSS には細胞壁合成に関与する遺伝子が複数含まれることから、その活性化は細菌の細胞壁合成能を亢進すると考えられている。黄色ブドウ球菌を MIC の 0.2~5 倍濃度のフラボフォスフォリポール存在下で生育させたところ、CWSS を誘導した。他の 7 種の細胞壁合成阻害剤 (ツニカマイシン、オキサシリン、ホスホマイシン、バシトラシン、D-サイクロセリン、テイコプラニン及びバンコマイシン) も同様に CWSS を誘導したが、その誘導の程度は細胞壁合成阻害剤によって異なっており、フラボフォスフォリポールの誘導はその中では大きいものであった。細胞壁加水分解剤であるリゾスタフィンや細胞膜脱分極剤であるダプトマイシンによる誘導は弱く、DNA ジャイレース阻害剤であるシプロフロキサシン

は全く誘導しなかったことから、細胞壁合成阻害剤が CWSS を誘導することが確認された。しかし、個々の抗菌剤による CWSS 誘導能の違いから、その抗菌剤に固有な黄色ブドウ球菌の耐性化の特徴を明らかにすることはできなかった。また、CWSS の誘導は *VraR* 欠損株において減少したことから、*VraS* と *VraR* の 2 成分からなる *VraSR* 制御系と深く関わっていることが示唆された。(参照 23)

なお、この *vraSR* オペロンの変異に伴い、黄色ブドウ球菌において細胞壁の肥厚とグリコペプチド又は β -ラクタム剤に対する耐性度の上昇が認められた例が報告されている。(参照 53、54)

以上のように、*VraSR* 制御系の変異により CWSS が誘導され、黄色ブドウ球菌がフラボフォスフォリポールに対する耐性を獲得する可能性は否定できない。本メカニズムの報告は、現時点では黄色ブドウ球菌のみであるが、今後の他菌種での動向に注意すべきである。

(4) *Prevotella bryantii* に対するフラボフォスフォリポールの適応及び多剤との共適応

一方、ルーメン共生細菌のいくつかの種ではフラボフォスフォリポールに対する感受性の低下が報告されていることから、感受性の低下が最も大きいことが知られているグラム陰性菌の *P. bryantii* を用いて、当該菌種に対するフラボフォスフォリポールの感受性低下のメカニズムについて解明を試みた。*P. bryantii* の増殖において、フラボフォスフォリポールを培養時に添加すると該当菌株は濃度依存的に増殖誘導期を延長させたが、予め 2 又は 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のフラボフォスフォリポールに暴露させた場合には前述した当該菌株の誘導期の短縮又は消失が認められた。

フラボフォスフォリポールを濃度勾配に従って添加した固形培地において当該菌株の増殖パターンを検討したところ、当該菌株はフラボフォスフォリポール濃度の違いに対してばらつきなく増殖し、菌全体がフラボフォスフォリポールに適応していることが示唆された。

フラボフォスフォリポール適応菌株をプロテオーム解析すると、菌種特異的と推定される 2 種類の機能未知のタンパク量及び同属で報告された 1 種類のタンパク量が増加していた。また、フラボフォスフォリポールの適応菌株はバシトラシン及びバンコマイシンに対しても共適応を示した。この共適応は、ムレインモノマーの担体として働き、ペプチドグリカンの生合成に関与する undecaprenyl pyrophosphate の利用能の増加に関連している可能性が考えられている。以上より、フラボフォスフォリポールの使用は、ルーメン細菌の抗菌剤に対する適応応答を促進する可能性が示唆された。

(参照 55)

フラボフォスフォリポール適応菌種のバシトラシン及びバンコマイシンとの共適応は伝達性の耐性獲得ではないと考えられることから、その影響はある程度限定的であると思われる。

9. ハザードの特定に係る検討

フラボフォスフォリポールは 1976 年に飼料添加物に指定されて以来、家畜の飼料添加物としてのみ使用されている抗生物質であり、動物用医薬品及びヒト用医薬品として

は用いられておらず、当該物質と化学構造が類似したヒト用抗菌性物質はない。黄色ブドウ球菌において、フラボフォスホリポール耐性とバンコマイシン耐性の関連性が示唆されているが、これらはそれぞれ標的部位が異なるため、細菌の細胞壁合成能が補完された結果もたらされた見掛けの交差耐性であると考えられた。交差耐性に関する試験では、フラボフォスホリポールを投与した鶏において、大腸菌及び *E. faecium* の既存抗菌性物質に対する耐性の獲得に影響を及ぼさなかった。また、家畜由来野外分離株が耐性を獲得したという報告は少なかった。伝達性の耐性決定因子は認められておらず、耐性伝達試験でフラボフォスホリポール耐性が伝達されなかったことから、フラボフォスホリポール感受性菌が耐性決定因子の獲得によって耐性菌に変化する可能性は低いと考えられた。

このように、フラボフォスホリポールは家畜のみに使用される抗生物質であり、ヒトに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、野外で家畜由来耐性菌がほとんど認められていないことから、食品を介してヒトに対して健康上の危害因子となる可能性のある薬剤耐性菌はないと判断した。

II. 食品健康影響評価

フラボフォスホリポールの家畜等への使用によりフラボフォスホリポール耐性菌が選択される可能性は否定できないが、フラボフォスホリポールがヒト用医薬品として使用されていないこと、フラボフォスホリポールがヒトに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等から、特定すべきハザードがないと判断した。したがって、フラボフォスホリポールを家畜等に使用することによって選択された薬剤耐性菌が、食品を介し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。

なお、薬剤耐性菌に関する詳細な情報について、現時点では十分とは言えないので、リスク管理機関である農林水産省において引き続き情報の収集に努めるべきと考える。

<参照>

- 1 The Merck Index, 14th Edition, 2006.
- 2 Flavomycin[®] safe, effective and unique for consumers and livestock producers. Huvepharma. 2006.
- 3 財団法人畜産生物科学安全研究所. 内閣府食品安全委員会 平成16年度食品安全確保総合調査. 薬用耐性菌の出現に関する文献の収集・整理及びその解析調査報告書. 平成17年1月:72.
- 4 財団法人農林弘済会. 飼料検査
- 5 独立行政法人農林水産消費安全技術センター. 平成23年度の特定添加物検定結果等について:7. http://www.famic.go.jp/ffis/feed/sub4_kentei.html
- 6 Health Canada. Categorization of antimicrobial drugs based on importance in human medicine. 2009.
- 7 ヘキスト社. Chicken balance study. To verify that essentially 100% of the orally ingested moenomycin given to broilers will be excreted within 24 hours in the excrement. Test K 136. 1968. (未公表)
- 8 ヘキスト社. Chicken balance study. Determination the fate of orally ingested moenomycin in a balance experiment. Determination the amount of moenomycin excreted in the urine and in the faces. Test K 119. 1968. (未公表)
- 9 ヘキスト社. Balance study, long term administration of moenomycin in chickens. (未公表)
- 10 ヘキスト社. ¹⁴C-Flavophospholipol. Radiokinetic study in male chicken after a single oral dose of approx. 2 mg/kg body weight (following a 10 day feeding period with food including 9 mg of the nonlabelled compound/kg feed). TEP 237/4. (N-0223-0234) (未公表)
- 11 ヘキスト社. ¹⁴C-Flavophospholipol. Radiokinetic study in layers after a single oral dose of approx. 2 mg/kg body weight (following a 10 days feeding period with food including 9 mg of the nonlabelled compound/kg feed). TEP 237/5. (N-0223-0231) (未公表)
- 12 ヘキスト社. To determine if feeding moenomycin in a 6 month swine test will result in moenomycin tissue residues. (未公表)
- 13 ヘキスト社. Swine blood residue study. (S-3-66) (未公表)
- 14 ヘキスト社. ¹⁴C-Flavophospholipol. Radiokinetic study in male pigs after a single oral dose of approx. 1.2-1.7 mg/kg body weight (following a 10 day feeding period with food including 24 mg of the nonlabelled compound/kg feed). TEP 237/7. (N-0223-0235) (未公表)
- 15 Waisielewski EV, Muschaweck R, Schütze E. Moenomycin, a new antibiotic. III. Biological properties. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1966:12-17.
- 16 ヘキスト社. Untersuchungen mit moenomycin im rahmen der bakteriologie. A. Antibakterielles wirkungsspektrum. Test, 1963-1964. P.5. (未公表)
- 17 Bauer F, Sost G. Moenomycin in animal nutrition. Antimicrobial Agents and

- Chemotherapy. 1965:6-8.
- 18 三共株式会社. ヒナに対する Moenomycin の生物学的作用. (未公表)
 - 19 Lovering AL, de Castro LH, Lim D, Strynadka CJ. Structural insight into the transglycosylation step of bacterial cell-wall biosynthesis. *Science*. 2007;315(5817):1402-1405.
 - 20 Cheng TJ, Sung MT, Liao HY, Chang YF, Chen CW, Huang CY, et al. Domain requirement of moenomycin binding to bifunctional transglycosylases and development of high-throughput discovery of antibiotics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(2):431-436.
 - 21 Ostash B, Walker S. Moenomycin family antibiotics: chemical synthesis, biosynthesis, biological activity. *Natural Product Reports*. 2010;27(11):1594-1617.
 - 22 Baizman ER, Branstrom AA, Longley CB, Allanson N, Sofia MJ, Gange D et al. Antibacterial activity of synthetic analogues based on the disaccharide structure of moenomycin, an inhibitor of bacterial transglycosylase. *Microbiology*. 2000;146:3129-3140.
 - 23 Dengler V, Meier PS, Heusser R, Berger-Bächi B, McCallum N. Induction kinetics of the *Staphylococcus aureus* cell wall stress stimulon in response to different cell wall active antibiotics. *BMC Microbiology*. 2011; 11:16.
 - 24 Sung MT, Lai YT, Huang CY, Chou LY, Shih HW, Cheng WC et al. Crystal structure of the membrane-bound bifunctional transglycosylase PBP1b from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(22):8824–8829.
 - 25 二宮幾代治. 動物の抗生物質. 養賢堂, 東京, 1987:385-389.
 - 26 Devriese LA, Haesebrouck F. Susceptibility of enterococci and intestinal streptococci from pigs to the growth-enhancing antibiotics flavomycin and avoparcin. *Proceedings of the 14th IPVS Congress, Bologna, 1996*.
 - 27 Aarestrup FM, Baker F, Jensen NE, Madsen M, Meyling A, Wegener HC. Surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from food animals to antimicrobial growth promoters and related therapeutic agents in Denmark. *APMIS*;1998:606-622.
 - 28 ヘキスト社. Report on in vitro efficacy of salinomycin sodium and flavophospholipol against bacterial isolates from the gastrointestinal tract of different target species. 1998. (未公表)
 - 29 Dutta GN, Devriese LA. Susceptibility of fecal streptococci of poultry origin to nine growth-promoting agents. *Applied and Environmental Microbiology*. 1982;44:832-837.
 - 30 Inveresk Research. Initial antibacterial sensitivity surveillance of bacterial isolates from farm animals in six European countries. 1998. (未公表)
 - 31 Dutta GN, Devriese LA. Observations on the *in vitro* sensitivity and resistance of

- gram positive intestinal bacteria of farm animals to growth promoting antimicrobial agents. *Journal of Applied Bacteriology*. 1984;56:117-123.
- 32 Devriese LA, Daube G, Homme J, Haesebrouck F. *In vitro* susceptibility of *Clostridium perfringens* isolated from farm animals to growth-enhancing antibiotics. *Journal of Applied Bacteriology*. 1993;75:55-57.
- 33 Pfaller MA. Flavophospholipol use in animals: positive implications for antimicrobial resistance based on its microbiologic properties. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2006;56(2):115-121.
- 34 ヘキスト社. Report on influence of Salocin® 120 microGranulate (A.S. salinomycin-NA (SAL)) and Flavomycin® (A.S.flavophospholipol (FPL)) on the development of the resistance pattern of bacterial isolated from the gastrointestinal tract of fattening chicken. 1999. (未公表)
- 35 Komatsuzawa H, Ohta K, Yamada S, Ehlert K, Labischinski H, Kajimura J, et al. Increased glycan chain length distribution and decreased susceptibility to moenomycin in a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* mutant. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002;46(1):75-81.
- 36 Nishi H, Komatsuzawa H, Yamada S, Fujiwara T, Ohara M, Ohta K. et al. Moenomycin-resistance is associated with vancomycin-intermediate susceptibility in *Staphylococcus aureus*. *Microbiology and Immunology*. 2003; 47(12): 927-935.
- 37 田中千賀子. 第XIII章 化学療法, 1 抗感染症薬. NEW 薬理学 (改訂第5版). 南江堂. 東京, 2007;528.
- 38 日本細菌学会. 内服用バンコマイシン錠の適正使用のための提言.
- 39 塩野義製薬株式会社. 「塩酸バンコマイシン散 0.5 g」添付文書.
- 40 塩野義製薬株式会社. 「塩酸バンコマイシン点滴静注用 0.5 g」添付文書.
- 41 国立感染症研究所ホームページ. 感染症発生動向調査年別報告数一覧. <http://www.nih.go.jp/niid/ja/all-surveillance/2085-idwr/ydata/3228-report-jb2011.html>
- 42 Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC. et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 2010; 31: 431-455.
- 43 日本化学療法学会、日本感染症学会. MRSA 感染症の治療ガイドライン.
- 44 アボットジャパン株式会社. 「トスキサシン錠 75mg/150mg」添付文書.
- 45 富山化学工業株式会社. 「オゼックス細粒小児用 15%」添付文書.
- 46 Meiji Seika ファルマ株式会社. 「オラペネム小児用細粒 10%」添付文書.
- 47 富山化学工業株式会社. 「ジェニナック錠 200mg」添付文書.
- 48 塩野義製薬株式会社. 「フラジール内服錠 250mg」添付文書.
- 49 ヘキスト社. フラボフォスフォリポールに対する耐性発見と交叉耐性. (未公表)

- 50 ヘキスト社. Hörmansdorfer S, Bauer J. Effect Salocin® 120 microGranulate (A.S. salinomycin-NA (SAL)) and Flavomycin® (A.S.flavophospholipol (FPL)) on the development of the sensitivity pattern of the endogenous gut flora of broiler chicks. (N-0224-0833) (未公表)
- 51 ヘキスト社. Report on determination of the in-vitro susceptibility of selected bacterial strains carrying resistance plasmids to the feed additives salinomycin-sodium (SAL) and flavophospholipol (FPL) and to various active substances used for therapeutic purposes. (N-0224-0829) (未公表)
- 52 Riedl S, Ohlsen K, Hacker J. Investigations concerning the transferability of flavophospholipol (FPL) resistance between FPL resistant and FPL sensitive *Enterococcus faecium* strains. (未公表)
- 53 Kato Y, Suzuki T, Ida T, Maebashi K. Genetic changes associated with glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*: predominance of amino acid substitutions in YvqF/VraSR. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010; 65:37-45.
- 54 Cui L, Neoh H, Shoji M, Hiramatsu K. Contribution of *vraSR* and *graSR* point mutations to vancomycin resistance in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2009; 53:1231-1234.
- 55 Edwards JE, McEwan NR, Wallace RJ . Adaptation to flavomycin in the ruminal bacterium, *Prevotella bryantii*. *Journal of Applied Microbiology*. 2008;104:1617-1623.