

## 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エンラマイシン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26年6月16日に開催された第88回肥料・飼料等/第51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. 家畜等に使用するエンラマイシン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26年7月29日（火）開催の食品安全委員会（第524回会合）の翌日、平成26年7月30日（水）から平成26年8月28日（木）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)

家畜等に使用するエンラマイシンによる薬剤耐性菌に  
関する食品健康影響評価

2014年7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.....	8
(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.....	9
(3) エンラマイシンの使用量.....	10
3. 海外における評価、規制の状況等.....	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) 豚.....	10
(2) 鶏.....	11
(3) <i>in vitro</i> における代謝試験.....	12
(4) 残留.....	12
5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ.....	13
(1) 作用機序.....	13
(2) 作用のタイプ.....	14
6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布.....	14
(1) エンラマイシンの抗菌スペクトル.....	14
(2) 対象とする家畜等の病原菌に対する最小発育阻止濃度 MIC の分布.....	15
(3) 指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対する MIC の分布.....	16
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) 関連するヒト用抗菌性物質の概要.....	17
(2) 関連するヒト用抗菌性物質との交差耐性について.....	19
(3) 関連するヒト用抗菌性物質の有効性及び重要性.....	20
8. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報.....	21
(1) 耐性獲得に関する試験.....	21
(2) 交差耐性に関する試験.....	22
(3) 耐性機序及び薬剤耐性決定因子に関する情報.....	23
9. ハザードの特定に係る検討.....	23

II. 食品健康影響評估..... 24

<參照>..... 25

### 〈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
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
2014年	3月	31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」改正
2014年	3月	26日	関係資料の接受
2014年	6月	16日	第88回肥料・飼料等／第51回微生物・ウイルス専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）
2014年	7月	29日	第524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\*）

（2012年7月1日から）

熊谷 進（委員長）  
佐藤 洋（委員長代理）

長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

山添 康 (委員長代理)  
三森 国敏 (委員長代理)  
石井 克枝  
上安平 冽子  
村田 容常

\* : 2011 年 1 月 13 日から

**〈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〉**

(2013 年 10 月 1 日から)

肥料・飼料等専門調査会

津田 修治 (座長代理)  
荒川 宜親  
池 康嘉  
今田 千秋  
戸塚 恭一  
細川 正清

微生物・ウイルス専門調査会

吉川 泰弘 (座長)  
甲斐 明美  
砂川 富正  
田村 豊  
豊福 肇

## 要 約

飼料添加物として指定されているエンラマイシンが飼料に添加され、家畜等に使用された場合に選択される薬剤耐性菌に関する評価を「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）に基づき実施した。

エンラマイシンは、日本においては鶏、うずら及び豚に使用されるポリペプチド系抗菌性飼料添加物で、細菌の細胞壁合成を阻害することによりグラム陽性菌に抗菌活性を示す。

肉用鶏から分離された *C. perfringens* に対するエンラマイシンの感受性は、1979年から1994年まで大きく変化していないことが認められた。

関連するヒト用抗菌性物質との交差耐性については、エンラマイシンはヒト用医薬品として使用されておらず、また、これと類似した構造等を有する抗菌性物質との間に交差耐性を認めた報告はなかった。作用機序が異なるため交差耐性はないと推察された。

また、耐性獲得に関する試験においては、黄色ブドウ球菌の一部で安定した耐性が認められたが、他の菌種においては安定的な耐性はみられなかった。

これらの知見に基づくハザードの特定に関する検討の結果、エンラマイシンは家畜のみに使用される抗菌性物質であり、現在国内でヒトに使用されている抗菌性物質とは作用機序が異なることから交差耐性はないと推測された。これまで、交差耐性を認めたという報告はない。また、野外で家畜由来耐性菌が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。

以上のことから、食品健康影響評価として、エンラマイシンの家畜等への使用によりエンラマイシン耐性菌が選択される可能性は否定できないが、エンラマイシンがヒト用医薬品として使用されていないこと、エンラマイシンの作用機序がヒトに使用されている抗菌性物質と異なること等から、特定すべきハザードはないと判断した。したがって、エンラマイシン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た。

なお、バンコマイシン等のヒトに使用されている抗菌性物質との交差耐性を含む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、適正使用やモニタリング等を継続して実施するとともに、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：エンラマイシン

英名：Enramycin

(参照 1、2)

#### (2) 化学名

エンラマイシン A

英名：

N-[[[(1Z,3E)-9-Methyl-1,3-decadienyl]carbonyl]-L-Asp-cyclo[L-Thr\*-2-(4-hydroxyphenyl)-D-Gly-D-Orn-D-aThr-2-(4-hydroxyphenyl)-L-Gly-2-(4-hydroxyphenyl)-D-Gly-L-aThr-N<sup>5</sup>-carbamoyl-L-Orn-3-[(R)-2-amino-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-yl]-D-Ala-2-(4-hydroxyphenyl)-L-Gly-D-Ser-2-(3,5-dichloro-4-hydroxyphenyl)-L-Gly-Gly-3-[(R)-2-amino-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-yl]-L-Ala-D-Ala-2-(4-hydroxyphenyl)-L-Gly-] (Enramycin A)

エンラマイシン B

英名：

N-[N-[(2Z,4E)-10-Methyl-1-oxo-2,4-dodecadienyl]-L-αAsp-]cyclo[L-Thr\*-4-hydroxy-D-phenyl Gly-D-Orn-D-aThr-4-hydroxy-L-phenyl Gly-4-hydroxy-D-phenyl Gly-L-aThr-N<sup>5</sup>-(aminocarbonyl)-L-Orn-3-[(4R)-2-amino-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-yl]-D-Ala-4-hydroxy-L-phenyl Gly-D-Ser-3,5-dichloro-4-hydroxy-L-phenyl Gly-Gly-3-[(4R)-2-amino-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-yl]-L-Ala-D-Ala-4-hydroxy-L-phenyl Gly-] (Enramycin B)

(参照 3)

#### (3) 化学構造

エンラマイシン A

分子式：C<sub>107</sub>H<sub>138</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>26</sub>O<sub>31</sub>

分子量：2355.34

CAS 番号：34438-27-2

エンラマイシン B

分子式：C<sub>108</sub>H<sub>140</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>26</sub>O<sub>31</sub>

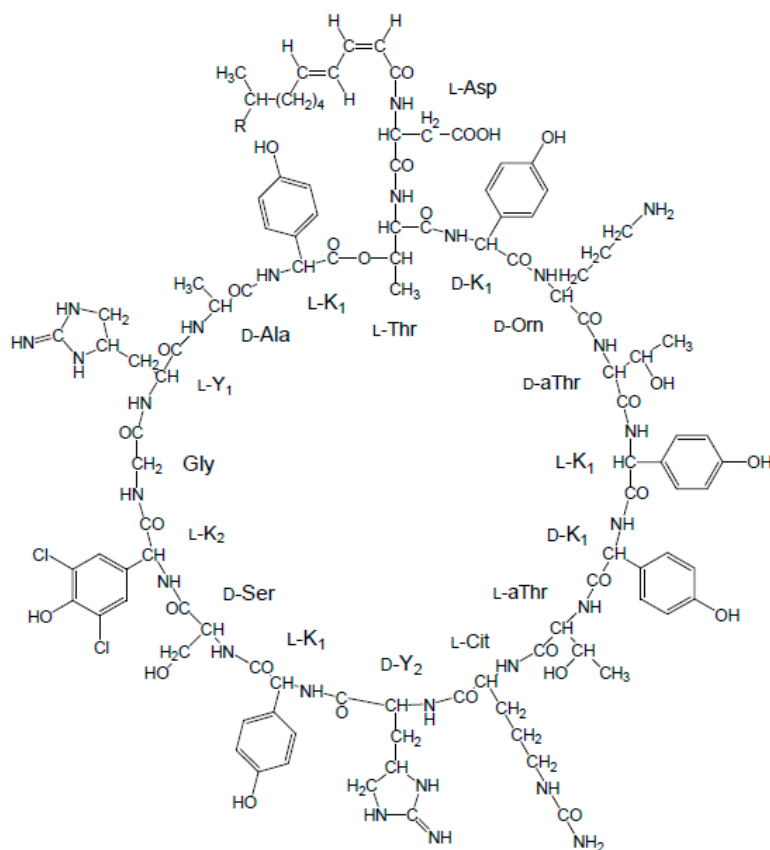
分子量：2369.36

CAS 番号：34304-21-7

構造式：エンラマイシン A : R = CH<sub>3</sub>

エンラマイシン B : R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>





K<sub>1</sub>:  $\alpha$ -amino-4-hydroxyphenyl acetic acid

K<sub>2</sub>:  $\alpha$ -amino-3,5-dichloro-4-hydroxyphenyl acetic acid

Y<sub>1</sub>:  $\alpha$ -(S)-amino- $\beta$ -4(R)-(2-iminoimidazolidinyl) propionic acid

Y<sub>2</sub>:  $\alpha$ -(R)-amino- $\beta$ -4(R)-(2-iminoimidazolidinyl) propionic acid

(参照 1、2、3)

#### (4) 有効成分の系統

##### ① 有効成分の系統

エンラマイシンは、*Streptomyces fungicidicus* が生産するグラム陽性菌に強い抗菌活性を有するポリペプチド系抗生物質である。その成分はエンラマイシン A 及びエンラマイシン B の混合物である。エンラマイシン A 及びエンラマイシン B の構造は、それぞれ C<sub>12</sub> の不飽和脂肪酸又は C<sub>13</sub> の不飽和脂肪酸と 13 種 17 個のアミノ酸との結合からなり、ペプチド分子内でラク톤を形成した環状のポリペプチドである。(参照 1、2、3、4、5)

エンラマイシンは、日本において鶏、うずら及び豚を対象とした飼料添加物として指定されており、動物用医薬品又はヒト用医薬品としては使用されていない。

海外では、鶏の成長促進等を目的とした飼料添加物又は動物用医薬品として使用されている。

## ② 関連する系統

国内で飼料添加物として指定されているポリペプチド系抗生物質には、亜鉛バシトラシン、ノシヘプタイド及び硫酸コリスチンがあり、動物用医薬品としては、硫酸コリスチン（牛、豚）及びチオストレプトン（犬、猫）がある。ヒト用のポリペプチド系抗生物質としては、バシトラシン、コリスチン及びポリミキシン B がある。バシトラシン、コリスチン及びポリミキシン B は吸収性が乏しいため、国内では外用薬又は局所や腸管内の抗菌薬として承認されている。（参照 6、7）

エンラマイシンが属するポリペプチド系抗生物質（コリスチン及びポリミキシン B を除く。）は、食品安全委員会が決定した「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」（2006 年 4 月 13 日食品安全委員会決定(2014 年 3 月 31 日改正)）においてランク III（重要）に、コリスチン及びポリミキシン B はランク I（きわめて高度に重要）に位置付けられている。（参照 8）

## 2. 使用方法

エンラマイシンは、「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、その使用方法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、飼料製造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、独立行政法人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（特定飼料等の製造を業とする者をいう。）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 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

エンラマイシン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)	1~10	1~10	1~10	2.5~20	2.5~20

注) うずら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、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、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、エンラマイシン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。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		豚用	
			幼すう用 中すう用	前期用	後期用	ほ乳期用	子豚期用
第1欄	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	—	—
	ナラシン	g 力価	80	80	80	—	—
	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	—	—
	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	—	—

			エトパペート 2.56～16	2.56～16	2.56～16		
	アンプロリウム・エトパペート・スルファキノキサリン	g	アンプロリウム 100 エトパペート 5 スルファキノキサリン 60	100	100	—	—
	デコキネート	g	20～40	20～40	20～40	—	—
	ナイカルバジン	g	—	100		—	—
	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	—	—
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	5～20	5～20	5～20
	硫酸コリスチン	g 力価	2～20	2～20	2～20	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立行政法人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、農場におけるエンラマイシン添加飼料の家畜等への使用制限（産卵中の鶏又はうずら、食用を目的としてと殺する前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) エンラマイシンの使用量

エンラマイシンは、1976年に飼料添加物として指定され、平成16年から23年までの原体の製造実量は、年間1,270～7,200 kg（力価）である。（参照9）

### 3. 海外における評価、規制の状況等

エンラマイシンは、海外ではブラジル、中国及びインドネシアなど約30か国（米国、カナダ、欧州、オーストラリア及びニュージーランドを除く。）において使用されているが、これらの国においてエンラマイシンの耐性菌に関するリスク評価は行われていない。

### 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) 豚

##### ① 吸収

豚（大ヨークシャー種、雌2頭/群、体重15～20 kg）を用いて、<sup>14</sup>C 標識エンラマイシンを単回又は7日間強制経口投与（1日1回、約0.12 mg/kg 体重）し、血中の放射活性を燃焼—液体シンチレーションカウンター法により測定した。単回投与及び7日間連続投与後6時間では血中のエンラマイシン濃度は検出限界（0.02 µg/mL）未満であった。（参照10）

豚（ランドレース種、3 か月齢、雌 3 頭/群、体重 24.1～35.8 kg）を用いて、エンラマイシンを単回強制経口投与（40 又は 400 mg/kg 体重）し、薬物動態試験が実施された。投与後 1～48 時間まで経時的に採血し、血漿中のエンラマイシン濃度をバイオオートグラフィーにより測定した。全試料の血漿中エンラマイシン濃度は検出限界（0.15 µg/mL）未満であった。（参照 11）

## ② 分布

エンラマイシンは、経口投与では腸管からの吸収がないので、経口投与した豚では血液及び臓器・組織中に分布しないことを被験した全ての試料（脂肪、筋肉、血液、皮膚、胆汁、肝臓、腎臓、心臓、肺及び脳）で確認している。（参照 10、11）

## ③ 代謝

豚（ランドレース種、3 頭(去勢雄 2 頭及び雌 1 頭)、145～155 日齢、体重 80～87 kg）を用いて、酸化クロムをインジケータースとして添加し、エンラマイシンを 3 日間混餌投与（混餌濃度 20 mg/kg）して代謝試験が実施された。胃及び腸管各 9 部位の内容物を採材して、インジケータースとエンラマイシンの含量を測定した。酸化クロムは化学的定量法を用いて、また、エンラマイシンはバイオオートグラフィーを用いて定量した。各消化管内容物中のインジケータース濃度は、飼料中濃度と比較した場合、十二指腸では 1/10 以下に希釈され、空腸上部に向かって次第に上昇し、回腸あるいは盲腸で一度低くなった後、直腸まで上昇した。エンラマイシン濃度はインジケータース濃度と並行した濃度を示し、その比率はほぼ一定で、エンラマイシンは抗菌活性を失わずに腸管内に分布することが確認された。（参照 12）

## ④ 排泄

豚（大ヨークシャー種、雌 2 頭/群、体重 15～20 kg）に <sup>14</sup>C 標識エンラマイシンを単回又は 7 日間連続で強制経口投与（1 日 1 回、約 0.12 mg/kg 体重）し、それぞれ 6 時間後の糞尿中の放射活性を燃焼—液体シンチレーションカウンター法によって測定した。単回又は 7 日間連続で投与した豚では、投与後 6 時間までの尿中の放射活性は検出限界（0.02 µg/mL）未満であった。7 日間連続投与では、糞中の放射活性は第 1 回目の投与 24 時間までに投与量の 18.6 及び 22.4%が、第 7 回目の投与後 6 時間までに 48.8 及び 61.4%が排泄された。尿中の放射活性は第 1 回目の投与後 24 時間までに投与量の 0.06 及び 0.09 %が、第 7 回目の投与後 6 時間までに 0.26 及び 0.30 %が排泄された。（参照 10）

## (2) 鶏

### ① 吸収

肉用鶏（品種不明、4～5 週齢、雌 2 羽/群、体重約 460～500 g）を用いて、<sup>14</sup>C 標識エンラマイシンを単回又は 7 日間強制経口投与（1 日 1 回、1.14 mg/kg 体重）し、薬物動態試験が実施された。単回投与及び 7 日間連続投与では、最終投与後 6 時間の血中の放射活性を燃焼—液体シンチレーションカウンター法により測定し

た。血中のエンラマイシン濃度は検出限界 (0.02 µg/mL) 未満であった。(参照 10)

鶏 (白色レグホン種、140 日齢、雌 4 羽/群、体重約 1,680 g) にエンラマイシンを単回強制経口投与 (100 又は 1,000 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。投与後 48 時間まで経時的に採血し、血漿中のエンラマイシン濃度をバイオオートグラフィーにより測定した。全試料の血漿中のエンラマイシン濃度は検出限界 (0.15 µg/mL) 未満であった。(参照 13)

## ② 分布

エンラマイシンは、経口投与では腸管から吸収されないため、経口投与した鶏では血液及び臓器・組織中に分布しないことを被験した全ての試料 (脂肪付皮膚、脚の筋肉、血液、肺、脳、肝臓及び腎臓) で確認している。(参照 10、13) ただし、単回投与した鶏の肺において、2 例の少量の放射活性 (0.04 及び 0.07 µg/mL) が認められた。しかし、7 日間連続投与における肺や他の全ての血液及び臓器・組織の試料において放射活性が認められないことから、この肺の結果は消化管からの汚染によると考えられた。(参照 10)

## ③ 排泄

肉用鶏 (品種不明、4~5 週齢、雌 2 羽/群、体重約 460~500 g) に <sup>14</sup>C 標識エンラマイシンを単回又は 7 日間強制経口投与 (1 日 1 回、1.14 mg/kg 体重) し、それぞれ 6 時間後の排泄物中の放射活性を燃焼-液体シンチレーションカウンター法によって測定した。排泄物中の放射活性は第 1 回目の投与後 6 時間までに投与量の 82.7 及び 91.2 %が、24 時間までに 98.8 及び 104.6 %が排泄された。また、第 7 回目の投与後 6 時間までに 102.5 及び 105.3 %が排泄された。(参照 10)

## (3) *in vitro*における代謝試験

エンラマイシンの各種酵素に対する安定性について検討した。消化酵素を含む 9 種類のタンパク質分解酵素 (パパイン、トリプシン、L-キモトリプシン、ナガーゼ、ペプシン、ヒイロタケ酸性プロテアーゼ、C-1 アルカリ性プロテアーゼ、ポリミキシンアシラーゼ及び L-アシラーゼ) を用いて 37°C で 20~38 時間、各酵素と反応させ、反応終了後ペーパークロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー及びろ紙電気泳動によってエンラマイシンの安定性を分析した。検出には、ペプチドを検出する呈色試薬を用いた。全ての被験酵素の反応液においてエンラマイシンが未変化のまま検出され、酵素による分解産物は検出されなかった。(参照 14)

## (4) 残留

### ① 豚

子豚 (ランドレース種、5 頭(去勢雄 3 頭及び雌 2 頭)/投与群、体重約 20 kg) を用いて、エンラマイシンを 3 か月間混餌投与 (混餌濃度 20 又は 100 mg/kg) し、残留試験が実施された。試験終了直後に血漿、筋肉、肝臓、腎臓及び皮下脂肪を採

材し、各試料におけるエンラマイシン濃度をバイオオートグラフィーにより測定した。全試料において、エンラマイシン濃度は検出限界 (0.16 µg/mL) 未満であった。(参照 15)

子豚 (ランドレース種、1頭/時点、平均体重 49 kg) を用いて、エンラマイシンを 7 日間混餌投与 (20 又は 100 mg/kg) し、残留試験が実施された。休薬期間 (21 日) 後、血漿、筋肉、肝臓、腎臓及び皮下脂肪を採材し、各試料におけるエンラマイシン濃度をバイオオートグラフィーにより測定した。20 又は 100 mg/kg のエンラマイシンを給与しても、休薬直後から被験した全試料においてエンラマイシン濃度は定量限界 (0.025 µg/mL) 未満であった。(参照 16)

## ② 鶏

肉用鶏 (品種不明、初生齢、5羽/時点) を用いて、エンラマイシンを 9 週間混餌投与 (混餌濃度 20 又は 100 mg/kg) し、残留試験が実施された。最終投与 0、1、3、5 及び 7 日後に、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び血漿を採材し、各試料におけるエンラマイシン濃度をバイオオートグラフィーにより測定した。被験した全試料において、エンラマイシン濃度は検出限界 (0.15 µg/mL) 未満であった。(参照 13)

肉用鶏 (品種不明、3日齢、雄 8羽/時点) を用いて、エンラマイシンを 8 週間混餌投与 (混餌濃度 10、20、50、100 又は 200 mg/kg) し、残留試験が実施された。投与 0、24、48、72、96、120 及び 144 時間後に、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び血漿を採材し、各試料におけるエンラマイシン濃度をバイオオートグラフィーにより測定した。200 mg/kg 添加飼料給与群の休薬 0 時間の場合、肝臓 (114 及び 138 ng(力価)/g) 及び腎臓 (73 及び 88 ng(力価)/g) にエンラマイシンが認められるが、腎臓は休薬 96 時間以降、肝臓は休薬 120 時間以降に定量限界 (25 ng(力価)/g) 未満となった。筋肉、脂肪及び血漿は全ての試料で検出限界未満であった。また、鶏の推奨飼料添加量上限となる 10 mg/kg 添加飼料給与群では、休薬直後から全ての試料が検出限界未満であった。(参照 17)

## 5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ

### (1) 作用機序

エンラマイシンは、グラム陽性菌に抗菌活性を示すが、グラム陰性菌には抗菌活性をほとんど示さない。(参照 18~22)

エンラマイシンと構造が類似している抗生物質としてラモプラニン (ramoplanin) が知られており、抗菌活性の作用機序も同一と考えられている。(参照 23~26) エンラマイシン及びラモプラニンは、主に細菌の細胞壁を構成するペプチドグリカン合成過程の脂質中間体 Lipid II と、高い親和性により結合することが認められている。(参照 24、27) Lipid II はペプチドグリカン合成に必須なトランスグリコシラーゼ (TG) の基質であるため、細菌の細胞膜表層にある Lipid II にエンラマイシン及びラモプラニンが結合して、基質の Lipid II が TG に供給されなくなるため、TG によるペプチ

ドグリカン合成を阻害すると考えられている。(参照 23～28)

## **(2) 作用のタイプ**

エンラマイシンの抗菌活性は、細菌の細胞壁の合成を阻害し、殺菌的に作用する。

## **6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布**

### **(1) エンラマイシンの抗菌スペクトル**

表 1 に示すように、エンラマイシンは黄色ブドウ球菌、化膿レンサ球菌、肺炎双球菌等のグラム陽性菌に抗菌力を示し、グラム陰性菌（赤痢菌、サルモネラ、大腸菌等）には抗菌作用を示さなかった。(参照 19、29)



表1 エンラマイシンの抗菌スペクトル

グラム陽性菌	菌株名	最小発育阻止濃度 (MIC ; µg/mL)
<i>Bacillus subtilis</i>	PCI-219	1.56
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		0.78
<i>Diplococcus pneumoniae</i> type I ~ III ( <i>Streptococcus pneumoniae</i> type I ~ III)		0.78
<i>Staphylococcus aureus</i>	209 P	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.78
<i>Staphylococcus aureus</i>	1840	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i>	E-14	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Dick	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i>	S-9	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i>	NY-5	0.39
<i>Streptococcus viridans</i> sp.		0.78
グラム陰性菌	菌株名	最小発育阻止濃度 (MIC ; µg/mL)
<i>Escherichia coli</i>	Umezawa	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		>100
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		6.25
<i>Proteus vulgaris</i>		>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		>100
<i>Salmonella typhosa</i> ( <i>Salmonella</i> Typhi)	Boxhill-58	>100
<i>Shigella flexneri</i>	EW-10	>100
<i>Shigella sonnei</i>	EW-33	>100
<i>Vibrio cholerae</i>		>100
偏性嫌気性菌	菌株名	50%最小発育阻止濃度 (MIC <sub>50</sub> ; µg/mL)
<i>Bacteroides</i> sp.		64
<i>Bifidobacterium</i> sp.		0.5
<i>Clostridium</i> sp.		1
<i>Fusobacterium</i> sp.		>128
<i>Lactobacillus</i> sp.		0.5
<i>Peptococcus</i> sp. / <i>Peptostreptococcus</i> sp.		<=0.06
<i>Prevotella</i> sp.		4

( )内は現在の分類名

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

本品は飼料添加物であるため、対象とする家畜等の病原菌はない。

1978年に国内において、豚（37株）及び鶏（53株）の消化管内容物由来の *Streptococcus* 属菌に対するエンラマイシンの MIC を調査した結果、MIC の分布はそれぞれ  $\leq 0.05 \sim 3.13$  及び  $0.2 \sim 6.25 \mu\text{g/mL}$  であり、全ての被験菌がエンラマイシンに感受性を示していた。（参照 30）

同様の調査を2年後の1980年に行ったところ、豚由来145株及び鶏由来91株の *Streptococcus* 属菌に対するエンラマイシンの MIC の分布はそれぞれ  $\leq 0.05 \sim 12.5$  及び  $0.1 \sim 6.25 \mu\text{g/mL}$  であり、2年後もエンラマイシンに対する感受性に変化はみられなかった。（参照 31）

### （3）指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対する MIC の分布

エンラマイシンを使用できる家畜は豚と鶏であり、それらに由来する食品媒介性病原細菌としては、グラム陰性菌であるカンピロバクター、サルモネラ及びグラム陽性菌である *Clostridium perfringens* がある。また、薬剤感受性の指標細菌として重要な菌種はグラム陰性菌である大腸菌及びグラム陽性菌である腸球菌である。

以上の菌種の中で、エンラマイシンはサルモネラ及び大腸菌に対して抗菌作用を示さなかった。カンピロバクターに対する抗菌活性に関する報告は知られていない。

一方、腸球菌に対するエンラマイシンの 50%最小発育阻止濃度 (MIC<sub>50</sub>) は、 $4 \mu\text{g/mL}$  と報告されている。（参照 29）

また、国内における家畜由来の *C. perfringens* のエンラマイシンに対する薬剤感受性試験について次のような報告がある（表2）。

1979年に国内において採材した豚及び鶏の消化管内容物由来の *C. perfringens* (68株及び57株) のエンラマイシンに対する感受性を調べた。豚及び鶏由来株に対する MIC の分布はそれぞれ  $\leq 0.05 \sim 0.39 \mu\text{g/mL}$  及び  $0.1 \sim 0.78 \mu\text{g/mL}$  であり、全ての被験菌株が感受性を示した。（参照 30）

1990～1994年までの5年間に、国内各地において出荷時（休薬7～10日）の肉用鶏の消化管内容物又は排泄物を採取して、採取年毎に *C. perfringens* の分離を行った。それらの分離株数は1990年から順に64、97、192、247及び184株であり、合わせて784株であった。5年間の全分離株に対するエンラマイシンの MIC の分布は  $0.012 \sim 0.78 \mu\text{g/mL}$  であった。年毎の MIC の最頻値は、1990～1992年が  $0.195 \mu\text{g/mL}$ 、1993年が  $0.39 \mu\text{g/mL}$ 、そして1994年が  $0.0975 \mu\text{g/mL}$  であった。また、1979～1980年及び1984～1986年に肉用鶏から分離された *C. perfringens* 60株及び80株に対するエンラマイシンの MIC の分布はそれぞれ  $0.2 \sim 0.78 \mu\text{g/mL}$  及び  $0.05 \sim 1.56 \mu\text{g/mL}$  であり、それらの MIC<sub>50</sub> は  $0.39$  及び  $0.2 \mu\text{g/mL}$  であった。以上より、肉用鶏から分離された *C. perfringens* に対するエンラマイシンの感受性は、1979年から1994年まで大きく変化していないことが認められた。（参照 32）

表2 国内の肉用鶏由来 *C. perfringens* に対するエンラマイシンの MIC の推移

分離年	検体	分離株数	MIC (µg/mL)		
			分 布	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
1979	消化管内容物	57	0.1~0.78	0.2	0.39
1979 ~ 1980	不明	60	0.2~0.78	0.39	0.78
1984 ~ 1986		80	0.05~1.56	0.2	0.39
1990	消化管内容物又 は排泄物	64	0.05~0.78	—	—
1991		97	0.05~0.78	—	—
1992		192	0.1~0.78	—	—
1993		247	0.1~0.78	—	—
1994		184	0.012~0.2	—	—

— : データなし

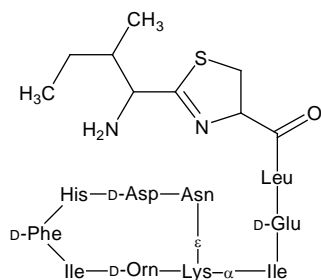
## 7. 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質及びその重要性

### (1) 関連するヒト用抗菌性物質の概要

エンラマイシンは家畜用の飼料添加物としてのみ使用が認められており、動物用医薬品及びヒト用医薬品としては使用されていない。関連するヒト用抗菌性物質で、エンラマイシンと類似した構造の抗菌性物質及び作用機序を有する抗菌性物質が、通常、エンラマイシンと交差耐性を生じる可能性がある。そのような代表的な薬剤として、図1に示すようにバシトラシン、コリスチン、ポリミキシンB、バンコマイシン、ダプトマイシン及びラモプラニンがある。(参照2、33、34)

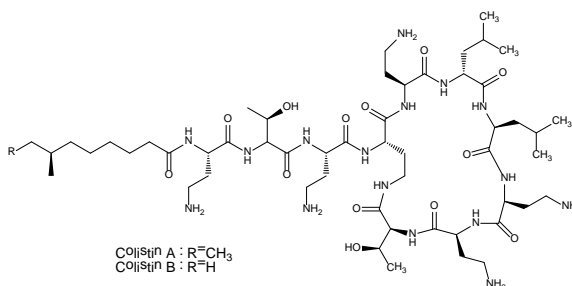
図1 バシトラシン、コリスチン、ポリミキシン B、バンコマイシン、ダプトマイシン及び  
 びラモプラニンの構造式 (参照 35)

バシトラシン



分子式 :  $C_{66}H_{103}N_{17}O_{16}S$

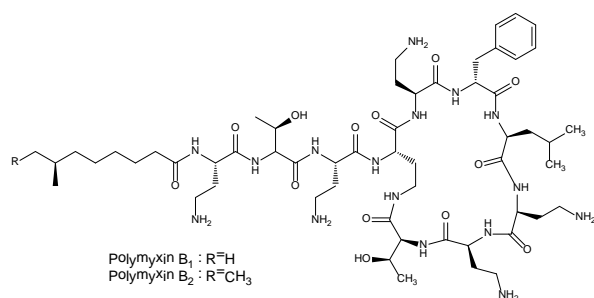
コリスチン A 及び B



分子式 Colistin A :  $C_{53}H_{100}N_{16}O_{13}$

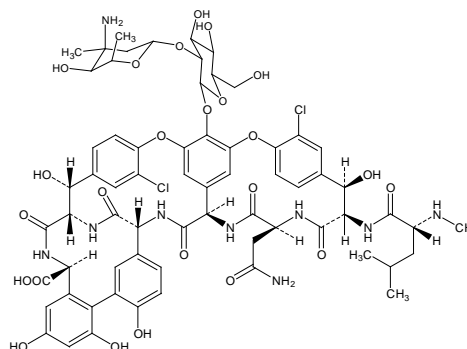
Colistin B :  $C_{52}H_{98}N_{16}O_{13}$

ポリミキシン B



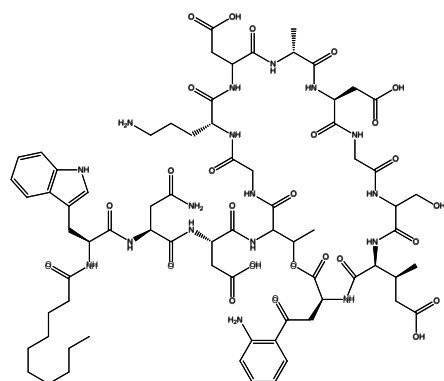
分子式 :  $C_{56}H_{100}N_{16}O_{17}S$

バンコマイシン



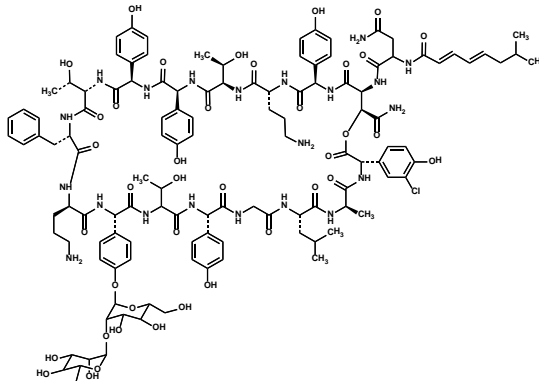
分子式 :  $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$

ダプトマイシン



分子式 :  $C_{72}H_{101}N_{17}O_{26}$

ラモプラニン A<sub>2</sub>



分子式 :  $C_{119}H_{154}ClN_{21}O_{40}$

## (2) 関連するヒト用抗菌性物質との交差耐性について

エンラマイシンとコリスチン、ポリミキシン B 又はダプトマイシンとの間の交差耐性を調べた報告はないが、エンラマイシンとこれらの抗生物質では抗菌スペクトルも作用機序も異なる。コリスチンやポリミキシン B は、細菌外膜のリポ多糖や内膜のリン脂質と結合し、膜構造を破壊して膜透過性を変える作用を有し、ダプトマイシンは、グラム陽性菌の細胞膜と結合し、速やかに膜電位を脱分極させる作用を有する等、これらの抗生物質は主に細胞膜に作用し、細胞壁のペプチドグリカン合成系を阻害するエンラマイシンと作用点が異なることから、これらの抗生物質との間に交差耐性はないと推測される。(参照 33、36~38)

バシトラシン及びバンコマイシンは、エンラマイシンと同様に細胞壁ペプチドグリカン合成系のリポドサイクル (Lipid cycle) に作用して細胞壁合成を阻害することによりグラム陽性菌に対して作用する。(参照 39) しかし、[I.4.(1)]に述べたように、エンラマイシンが主にリポドサイクルのリポド中間体 Lipid II に結合してペプチドグリカンの合成を阻害するのに対して、バシトラシンは lipid pyrophosphate の脱リン酸化反応 ( $PP\text{-lipid} \rightarrow P\text{-lipid} + P_1$ ) を阻害する。(参照 39) このことから、エンラマイシンとバシトラシンは作用点が異なるため、これらの抗生物質間に交差耐性はないと推測される。また、バンコマイシンはエンラマイシン同様にペプチドグリカン前駆体 Lipid II に結合するが、バンコマイシンは Lipid II のペプチド末端の D-アラニル-D-アラニンに結合してペプチドの架橋反応を阻害する。(参照 39~41)

なお、細胞壁のペプチドグリカンの合成阻害を作用機序とするホスホマイシンは動物、水産用及びヒト用医薬品として使用されている。(参照 42、43) ホスホマイシンとエンラマイシンとの間の交差耐性に関する報告はないが、ホスホマイシンは UDP-N-アセチルグルコサミンホスホエノールピルビン酸転移酵素に結合し、細胞壁合成の初期段階でペプチドグリカンの合成を阻害し、エンラマイシンとは作用機序が異なるため、ホスホマイシンについても交差耐性はないと推察される。(参照 44)

さらに、エンラマイシンと構造が類似し、抗菌作用の機序も同様なラモプラニンは、ヒト由来のバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) やバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (VRSA) にも抗菌活性を示すことから、バンコマイシンとラモプラニンの作用点は異なっていると考えられている。(参照 23~28、45~47) このことから、エンラマイシンについてもバンコマイシンとの間に交差耐性はないと考えられる。

一方で、ラモプラニンがバンコマイシンと交差耐性を示したが、その耐性機序は不明であると報告が一例ある。*in vitro* において、増量継代法により、ラモプラニン存在下で 16 代継代した黄色ブドウ球菌において、ラモプラニンの MIC が 0.75  $\mu\text{g}/\text{mL}$  から 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  まで上昇し、ラモプラニンの耐性を獲得し、バンコマイシン (MIC : 9  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 及びナイシン (MIC : >32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) にも交差耐性を示す一方、バシトラシン、ホスホマイシン、シプロフロキサシン及びエリスロマイシン等の MIC は変化しなかった。この耐性株の細胞壁は、電子顕微鏡下において、原株よりも約 2 倍の厚さとなっており、細胞の直径も 3/4 倍程度と小さくなっていた。また、この耐性株を抗菌性物質無添加で 18 日継代培養すると、耐性化したラモプラニン及びバンコマイシンの MIC は約 1/2 に低下していた。しかし、ラモプラニン耐性化及びバンコマイシンとの交差

耐性に関する遺伝的及び生化学的な機序等は不明であるとの考察が報告されている。  
(参照 48)

### (3) 関連するヒト用抗菌性物質の有効性及び重要性

#### ① バシトラシン

バシトラシンは、バシトラシン A を主成分として少なくとも 9 種のバシトラシンの混合物であり、細菌のペプチドグリカン生合成系に作用して、lipid pyrophosphate の脱リン酸化反応 ( $PP\text{-lipid} \rightarrow P\text{-lipid} + P_i$ ) を阻害する。前述のように、エンラマイシンは Lipid II に結合して抗菌作用を示すことから、バシトラシンと作用点が異なっている。(参照 39) バシトラシンは、黄色ブドウ球菌やレンサ球菌などのグラム陽性菌に対して抗菌作用を示し、主として感染性皮膚炎や感染性皮膚潰瘍のような皮膚感染症の治療に局所適用される。(参照 49) 国内では、家畜用飼料添加物としても使用されている。

#### ② コリスチン

コリスチンは、コリスチン A (ポリミキシン E1) 及びコリスチン B (ポリミキシン E2) からなる混合物である。コリスチンは、細菌外膜のリポ多糖や内膜のリン脂質と結合し、膜構造を破壊して膜透過性を変える作用を持ち、その作用は殺菌的で、緑膿菌、大腸菌、赤痢菌等のグラム陰性菌に特異的に抗菌作用を示す。(参照 37、38) 現在、ヒト用のコリスチン製剤としては、硫酸コリスチンは硫酸フラジオマイシンやバシトラシンとの合剤が外用剤として皮膚感染症に使用されている。(参照 50、51) また、コリスチンメタンスルホン酸ナトリウムは、眼軟膏又は点眼液の眼科用剤がエリスロマイシン又はクロラムフェニコールとの複合剤として上市されており、その適応症は眼瞼炎、涙嚢炎、麦粒腫、結膜炎、角膜炎である。(参照 52、53) また、内服用は、大腸菌、赤痢菌による感染性腸炎を適応症として使用されている。(参照 54) なお、コリスチンは国内では飼料添加物及び動物用医薬品としても使用されている。

#### ③ ポリミキシン B

ポリミキシン B は、コリスチンと構造的に類似し、抗菌スペクトル及び作用機序もほぼ同様である。(参照 36) 医薬品としてポリミキシン B 硫酸塩が承認されており、白血病治療時の腸管内殺菌を適応症とした経口薬及び皮膚感染症、外傷・熱傷及び手術創等の二次感染を適応症とした軟膏剤が承認されている。(参照 6、7、55、56) 主として細菌細胞質膜の透過性に変化を来すことにより、殺菌的に作用する。ポリミキシン B 硫酸塩は緑膿菌、大腸菌、肺炎桿菌、エンテロバクター等のグラム陰性桿菌に対し抗菌作用を示す。(参照 7) 国内では飼料添加物及び動物用医薬品としては使用されていない。

#### ④ バンコマイシン

バンコマイシンはグリコペプチド系の抗生物質であり、主にペプチドグリカン合

成系の前駆体 Lipid II のペプチド末端の D-アラニル-D-アラニンに結合して細胞壁合成阻害し、グラム陽性菌の増殖を阻止する。*in vitro* において、ブドウ球菌属、レンサ球菌属、肺炎球菌、腸球菌属、クロストリジウム属 (*Clostridium difficile* を含む)、アクチノマイセス及びラクトバチルスに抗菌力を示し、MRSA にも有効である。グラム陰性菌には抗菌活性を示さない。(参照 40、41) バンコマイシンはヒト用医薬品として内服又は点滴静注で使用されている。国内では飼料添加物及び動物用医薬品には使用されていない。(参照 41)

#### ⑤ ダプトマイシン

ダプトマイシンは環状リポペプチド系の抗生物質であり、グラム陽性菌の細胞膜と結合し、速やかに膜電位を脱分極させ、グラム陽性菌に対して殺菌的に作用する。国内では、静脈注射用の製剤として、ダプトマイシンに感性の MRSA による敗血症、感染性心内膜炎、深在性皮膚感染症、外傷・熱傷及び手術創等の二次感染、びらん・潰瘍の二次感染を対象に、その使用が認められている。(参照 33) 国内では飼料添加物及び動物用医薬品には使用されていない。

#### ⑥ ラモプラニン

ラモプラニンはラモプラニン A<sub>2</sub> を主成分とし、エンラマイシンと構造が類似し、抗菌作用の機序も同様である。ラモプラニンはグラム陽性菌に抗菌活性を示し、特に、ヒト由来の MRSA、VRE や VRSA にも有効である。(参照 23、25、27、28、47) 現在、米国において *C. difficile* 感染症の治療薬として Phase III 臨床試験が計画されており、国内外においてヒト用医薬品として使用されていない。(参照 57)

### 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

ヒトの病巣由来 *Staphylococcus aureus* 4 株と *S. aureus* の 1 標準菌株を用い、エンラマイシンの増量継代法により耐性獲得パターンを検討した。10 代継代する間に被験した全ての菌株の MIC が 0.05 µg/mL から 0.4 µg/mL に上昇した。しかし、これらの菌株が獲得した耐性は不安定なものであり、エンラマイシン無添加培地で生育させるとそれらの MIC は獲得前に戻ったことから、エンラマイシンの耐性変異株とは考えにくかった。(参照 18、21)

*S. aureus*、*Streptococcus pyogenes* 及び *Streptococcus pneumoniae* を用い、エンラマイシンの増量継代法により耐性獲得パターンを検討した。*S. aureus* では、24 代継代以降に 64 倍の MIC の上昇が認められた。一方、*S. pyogenes* 及び *S. pneumoniae* では耐性獲得が認められなかった。(参照 58)

家畜由来 (牛 1 株、豚 1 株及び鶏 3 株) の *S. aureus* と *S. aureus* の 1 標準菌株を用いて、エンラマイシンの増量継代法により耐性獲得パターンを検討した。継代 10 代目までに被験した全ての菌株の MIC が 4 倍まで上昇した。また、この家畜由来の 6 菌株の継代耐性株をエンラマイシン無添加培地で 10 代継代培養して、その

耐性が変動するか検討したところ、そのうち 5 株ではその耐性が保持されており、安定した耐性であることが認められた。(参照 59)

## ② *in vivo* 試験

### a. 実験室における *in vivo* 試験

子豚（ランドレース種、2 頭(雄雌各 1 頭)/群、5 週齢）に、エンラマイシン 0 又は 20 µg/g を 7 週間混餌給与し、1 週間毎の糞便を集め、糞便から分離した *Streptococcus*、*Lactobacillus* 及び *C. perfringens* の各菌種をエンラマイシン 0、1 及び 5 µg/mL を添加した各選択培地で培養して、それぞれの菌種の経時的な菌数の変動を調べた。*Lactobacillus* は、エンラマイシン 1 及び 5 µg/mL 添加培地において発育する株はなかった。一方、*Streptococcus* ではエンラマイシン 1 µg/mL の添加培地に発育する株が増加したが、5 µg/mL 添加培地で発育する株はなかった。*C. perfringens* については、エンラマイシン無添加の場合であっても菌株の出現が認められなかった。また、エンラマイシンを添加した培地から分離された *Lactobacillus* 及び *Streptococcus* の各菌株の MIC を測定したところ、その分布にほとんど変化はみられなかった。(参照 60)

### b. 野外における *in vivo* 試験

1978 年に国内において、エンラマイシン若しくはチオペプチン添加飼料又は無添加飼料を 1 年以上給与している農場 18 か所（各薬剤給与：4 か所/動物種、無投薬(対照群)：1 か所/動物種）から鶏及び豚の糞便材料を採取し、*Streptococcus*、*Lactobacillus*、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、*Bacteroides*、*Fusobacterium*、*Enterobacterium* 等を分離し、エンラマイシンの MIC の分布を調べた。エンラマイシン添加及び無添加のどちらの場合においても同一菌種が分離されたのは、鶏由来では *Streptococcus* 及び *Lactobacillus*、豚由来では *Lactobacillus*、*Bifidobacterium* 及び *Bacteroides* であった。飼料中のエンラマイシン添加及び無添加の場合における MIC の分布を比較したところ、エンラマイシンの有無に関係なく、ほぼ同様のパターンを示した。(参照 30)

上記の調査から 3 年後、エンラマイシン又はチオペプチン添加飼料又は無添加飼料を給与している農場 10 か所（各薬剤給与：2 か所/動物種、無投薬(対照群)：1 か所/動物種）から、鶏及び豚の糞便材料を採取し、糞中の *Lactobacillus*、*Clostridium* 及び *Streptococcus* を分離し、エンラマイシンの MIC 分布を調べた。その結果、飼料中のエンラマイシン添加及び無添加の場合について MIC の分布を比較したところ、全ての被験菌種について飼料中のエンラマイシン添加の有無に関係なく、ほぼ同様の MIC の分布のパターンを示した。(参照 31)

## (2) 交差耐性に関する試験

### ① *in vitro* 試験

ヒト由来のテトラサイクリン、ストレプトマイシン、ペニシリン、カナマイシン、クロラムフェニコール、マクロライド系抗生物質及び β-ラクタム系抗生物質に耐性



を示す黄色ブドウ球菌 100 株はエンラマイシンに感受性を示し、それらの抗菌性物質と交差耐性を示さなかったと報告されている。(参照 18、21)

また、ヒトから分離された黄色ブドウ球菌 78 株は、エリスロマイシン、ペニシリン G、クロルテトラサイクリン及びジヒドロストレプトマイシンの MIC の分布が二峰性を示し、それぞれの薬剤に対して耐性 (>100 µg/mL) を示す菌株が 25 株以上認められた。しかし、この 78 菌株に対するエンラマイシンの MIC の分布は 0.5~5.0 µg/mL であった。(参照 19)

### (3) 耐性機序及び薬剤耐性決定因子に関する情報

エンラマイシンの耐性遺伝子に関する報告はなかった。

ヒトや動物に使われる多くの抗菌性物質の原料中に、抗菌性物質生産菌の染色体 DNA が混入することが報告されている。家畜の飼料級アボパルシンにおいても、その中に生産菌由来の DNA の一部が混入し、バンコマイシン耐性遺伝子のヌクレオチドが存在していた報告があり、アボパルシンの長期使用が家畜腸内細菌の耐性遺伝子取り込みを助長し、それがヒトへと伝播していく可能性が示唆されている。

エンラマイシンの製造用原体は飼料級抗生物質に該当することから、エンラマイシンの生産菌に自己防衛のためのエンラマイシン耐性遺伝子が含まれている場合には、エンラマイシンについても原体中に生産菌由来 DNA 混入の可能性はあるが、現時点では原体又は飼料へのエンラマイシン耐性遺伝子の混入についての調査は行われておらず、また野外分離耐性株における耐性遺伝子の存在も調べられていない。

(参照 61~53)

## 9. ハザードの特定に係る検討

エンラマイシンは 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菌性物質であり、動物用医薬品及びヒト用医薬品としては使用されていない。

エンラマイシンは腸球菌や黄色ブドウ球菌等のグラム陽性菌に耐性を生じさせる可能性があるが、腸球菌についてはエンラマイシン耐性菌に関する報告は得られなかった。エンラマイシンと構造が類似しているラモプラニンについて、増量継代法により人工的に耐性を獲得した黄色ブドウ球菌がバンコマイシンの中程度の耐性を獲得したとの一報告があったが、その機序は不明であった。交差耐性に関する試験では、ヒト用抗菌性物質との間に交差耐性を示したという報告は得られなかった。更に、ラモプラニンはヒト由来の VRE や VRSA も抗菌活性を示すことから、エンラマイシンとバンコマイシンとの間に交差耐性はないと考えられたが、エンラマイシンとバンコマイシンとの間の交差耐性に関する知見は得られなかった。

鶏由来 *C. perfringens* に対する薬剤感受性試験において、エンラマイシンの MIC は低い値のままであり、大きな変化はなかった。

このように、エンラマイシンは家畜のみに使用される抗菌性物質であり、現在国内でヒトに使用されている抗菌性物質とは作用機序が異なることから交差耐性はないと推測されたが、これに関する報告は得られなかった。しかし、野外で家畜由来耐性菌が認

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

エンラマイシンの家畜等への使用によりエンラマイシン耐性菌が選択される可能性は否定できないが、エンラマイシンがヒト用医薬品として使用されていないこと、エンラマイシンの作用機序がヒトに使用されている抗菌性物質と異なること等から、特定すべきハザードがないと判断した。したがって、エンラマイシン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た。

なお、バンコマイシン等のヒトに使用されている抗菌性物質との交差耐性を含む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、適正使用やモニタリング等を継続して実施するとともに、引き続き情報の収集に努めるべきと考える。

<参照>

- 1 インターベット社. エンラマイシンについての試験成績の抄録. 飼料添加物エンラマイシン見直し資料. 1982. (未公表)
- 2 The Merck Index, 15th Edition, 2013:660.
- 3 日化辞 Web : JST の有機化合物辞書 DB 「日本化学物質辞書」 検索サービス.
- 4 Higashide E, Hatano K, Shibata M, Nakazawa K. Enduracidin, a new antibiotic. I *Streptomyces fungicidincus* No.B.5477, an enduracidin producing organism. The Journal of Antibiotics. 1968;21:126-137.
- 5 Asai M, Muroi M, Sugita N, Kawashima H, Mizuno K, Miyake A. Enduracidin, a new antibiotic. II. Isolation and characterization. The Journal of Antibiotics. 1968; 21:138-146.
- 6 添付文書. 硫酸ポリミキシン B 散 50 万単位「ファイザー」/ 同 300 万単位「ファイザー」.
- 7 医薬品インタビューフォーム. 硫酸ポリミキシン B 錠 25 万単位「ファイザー」. 2013 年 9 月改定.
- 8 食品安全委員会. 食品を介してヒトの健康に影響を及ぼす最近に対する抗菌性物質の重要度のランク付けについて (第 2 版). 2006 (2014 年 3 月改正).
- 9 独立行政法人農林水産消費安全技術センター. 特定添加物検定結果について. 2006～2011 年.
- 10 インターベット社. <sup>14</sup>C エンラマイシン経口投与時の鶏・豚における残留. (未公表)
- 11 インターベット社. B-5477 のブタにおける血中濃度試験. (未公表)
- 12 インターベット社. エンラマイシンの豚における消化管内分布. 1982. (未公表)
- 13 インターベット社. エンラマイシンの鶏における残留性試験. (未公表)
- 14 インターベット社. エンラマイシンの各種酵素に対する安定性. 1982. (未公表)
- 15 インターベット社. エンラマイシンの豚における残留性試験. (未公表)
- 16 インターベット社. エンラマイシンの豚における残留試験 (第 2 報). (未公表)
- 17 インターベット社. エンラマイシンの鶏における残留試験 (第 2 報). (未公表)
- 18 インターベット社. Enramycin に関する基礎的検討. (未公表)
- 19 インターベット社. 新抗生物質 Enduracidin の研究IV - 病原細菌に対する抗菌作用 -. 1982. (未公表)
- 20 インターベット社. Enduracidin の作用機序に関する研究 1. 殺菌及び溶菌作用について. 1982. (未公表)
- 21 Kawakami M, Nagai Y, Fujii T, Mituhashi S. Anti-microbial activities of enduracidin (enramycin) *in vitro* and *in vivo*. The Journal of Antibiotics. 1971;24:583-586.
- 22 Tsuchiya K, Takeuchi Y. Enduracidin, an inhibitor of cell wall synthesis. The Journal of Antibiotics. 1968; 21(6):426-428.
- 23 Cudic P, Behenna DC, Kranz JK, Kruger RG, Wand AJ, Veklich YI, et al. Functional analysis of the lipoglycopeptide antibiotic ramoplanin. Chemistry

- & *Biololy*. 2002; 9(8):897-906.
- 24 Fang X, Tiyanont K, Zhang Y, Wanner J, Boger D, Walker S. The mechanism of action of ramoplanin and enduracidin. *Molecular BioSystems*. 2006;2:69-76.
  - 25 McCafferty DG, Cudic, P, Frankel BA, Barkallah S, Kruger RG, Li W. Chemistry and biology of the ramoplanin family of peptide antibiotics. *Biopolymers*. 2002; 66 (4):261-284.
  - 26 Castiglione F, Marazzi A, Meli M, Colombo G. Structure elucidation and 3D solution conformation of the antibiotic enduracidin determined by NMR spectroscopy and molecular dynamics. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 2005;43:603-610.
  - 27 Hamburger JB, Hoertz AJ, Lee A, Senturia RJ, McCafferty D.G, Loll PJ. A crystal structure of a dimer of the antibiotic ramoplanin illustrates membrane positioning and a potential lipid II docking interface. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* 2009;106:13759-64.
  - 28 Hu Y, Helm JS, Chen L, Ye X-Y, Walker S. Ramoplanin inhibits bacterial transglycosylases by binding as a dimer to lipid II. *Journal of the American Chemical Society*. 2003; 125 (29): 8736-8737.
  - 29 食品安全委員会. 平成 18 年度食品安全確保総合調査. 動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査.
  - 30 野外でエンラマイシンまたはチオペプチンを飼料添加したニワトリおよびブタの腸内細菌の抗生物質感受性試験 (社内資料) (未公表)
  - 31 野外でエンラマイシンまたはチオペプチンを飼料添加したニワトリおよびブタの腸内細菌の抗生物質感受性調査 (3 年後の再調査) (社内資料) (未公表)
  - 32 末永 格. ブロイラー由来 *Clostridium perfringens* の薬剤感受性の動向. *獣医界*. 1995;139:24-31.
  - 33 医薬品インタビューフォーム. キュビシン静注用 350mg. 2013 年 8 月改訂.
  - 34 The Merck Index, 15th Edition, 2013. 1503-1504.
  - 35 Wallace SJ, Li J, Nation RL, Prankerd RJ, Velkov T, Boyd BJ. Self-assembly behavior of colistin and its prodrug colistin methanesulfonate: implications for solution stability and solubilization. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2010; 114: 4836-4840.
  - 36 二宮幾代治. ペプチド系抗生物質. 動物の抗生物質. 養賢堂, 東京. 1987;343-348.
  - 37 Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin : the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2005;40:1333-41.
  - 38 Conly JM, Johnston BL. Colistin : The phoenix arises. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology*. 2006;17:267-269.
  - 39 田中信夫, 中村昭四朗. 細胞壁合成阻害. 抗生物質大要—化学と生物活性 (第 4 版). 東京大学出版会. 東京. 1992;275-291.
  - 40 谷本 弘一, 池 康嘉. 基礎・臨床の両面からみた耐性菌の現状と対策 4. バンコマイシン

- ン耐性腸球菌 (VRE) . モダンメディア. 2007;53:140-147.
- 41 医薬品インタビューフォーム. 塩酸バンコマイシン散 0.5 「MEEK」 . 2011 年 2 月改訂.
  - 42 農林水産省動物医薬品検査所. 動物用医薬品等データベース. (2014 年 6 月 23 日現在)
  - 43 日本感染症学会/日本化学療法学会 編. V-2. (抗菌薬一覧) . 抗菌薬使用のガイドライン. 2005;257.
  - 44 Karageorgopoulos DE, Wang R, Yu XH, Falagas ME. Fosfomycin: evaluation of the published evidence on the emergence of antimicrobial resistance in Gram-negative pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2012;67:255-268.
  - 45 Nieto M., Perkins HR. Modifications of the acyl-D-alanyl-D- alanine terminus affecting complex-formation with vancomycin. *Biochemical Journal*. 1971;123:789-803.
  - 46 Nieto M and Perkins HR. The specificity of combination between ristocetins and peptides related to bacterial cell wall mucopeptide precursors. *Biochemical Journal*. 1971;124:845-852.
  - 47 Bozdogan B, Esel D, Whitener C, Browne FA, Appelbaum PC. Antibacterial susceptibility of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated at the Hershey Medical Center. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003;52:864-868.
  - 48 Schmidt JW, Greenough A, Burns M, Luteran AE, McCafferty DG. Generation of ramoplanin-resistant *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*. 2010;310:104-111.
  - 49 医薬品インタビューフォーム. バラマイシン軟膏. 2012 年 4 月改定.
  - 50 医薬品インタビューフォーム. コリマイフォーム. 2007 年 4 月作成.
  - 51 添付文書. ドルマイシン軟膏.
  - 52 添付文書. エリコリ眼軟膏 T.
  - 53 添付文書. 点眼用エリコリ T.
  - 54 医薬品インタビューフォーム. コリマイシン散 200 万単位/g. 2008 年 12 月作成.
  - 55 医薬品インタビューフォーム. メタミキシン末 50 万 / 同 300 万. 2007 年 12 月改定.
  - 56 添付文書. テラマイシン軟膏 (ポリミキシン B 含有) .
  - 57 Butler MS, Cooper MA. Antibiotics in the clinical pipeline in 2011. *The Journal of Antibiotics*. 2011;64:413-425.
  - 58 Tsuchiya K, Kondo M, Oishi T, Yamazaki T. Enduracidin, a new antibiotic. III In vitro and in vivo antimicrobial activity. *The Journal of Antibiotics*. 1968;21:147-153.
  - 59 4 種類のペプチド系飼料添加剤に対する家畜由来のブドウ球菌の耐性について 1. 試験管内耐性獲得試験 2. 試験管内耐性獲得株の交差耐性試験 (社内資料) (未公表)
  - 60 ペプチド系抗生物質給与豚の腸内細菌耐性化試験 II. エンラマイシンまたはチオペプチン給与豚における感受性の変化 (社内資料) (未公表)

- 61 Webb V, Davies J. Antibiotic preparations contain DNA: a source of drug resistance genes? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1993;37:2379–2384.
- 62 Marshall CG, Lessard IAD, Park .I-S, Wright GD. Glycopeptide antibiotic resistance genes in glycopeptide-producing organisms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998;42:2215-20.
- 63 Lu K, Asano R, Davies J. Antimicrobial Resistance Gene Delivery in Animal Feeds. *Emerging Infectious Diseases*. 2004;10:679-683.