

食品安全委員会
薬剤耐性菌に関するワーキンググループ（第6回）
議事録

1. 日時 平成28年9月5日（月）14:00～15:51

2. 場所 食品安全委員会 中会議室

3. 議事

- (1) 家畜等に使用する硫酸コリスチンに係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について
- (2) その他

4. 出席者

(専門委員)

吉川座長、浅井専門委員、荒川専門委員、今田専門委員、
植田専門委員、甲斐専門委員、佐々木専門委員、菅井専門委員、
田村専門委員、戸塚専門委員、豊福専門委員

(専門参考人)

池専門参考人

(食品安全委員会委員)

佐藤委員長、熊谷委員

(事務局)

川島事務局長、東條事務局次長、鋤柄評価第二課長、
大倉課長補佐、水野評価専門官、秋山技術参与

5. 配布資料

資料1 薬剤耐性菌に係る意見聴取要請及び審議状況

資料2 (案) 家畜等に使用する硫酸コリスチンに係る薬剤耐性菌に関する
食品健康影響評価

参考資料 (評価書案参照文献)

6. 議事内容

○吉川座長 定刻になりましたので始めたいと思います。ただいまより第6回「食品安全委員会薬剤耐性菌に関するワーキンググループ」を開催いたします。

本日、砂川専門委員が御欠席で、残り11名の専門委員が御出席です。

池専門参考人にも御出席いただいております。

それでは、議題に入ります前に、事務局から議事・資料の確認と「食品安全委員会における調査審議方法等について（平成15年10月2日食品安全委員会決定）」に基づき必要となる専門委員の調査審議等への参加に関する事項について、報告をお願いします。

○大倉課長補佐 それでは、議事の確認の前に、事務局の人事異動がございましたので御報告申し上げます。8月16日付で動物用医薬品、肥料・飼料等担当補佐の高橋にかわりまして、大倉が着任しております。引き続きどうぞよろしく願いいたします。

それでは、議事・資料の確認をいたします。議事はお手元に配付した議事次第のとおりでございます。

資料につきましても、本日の議事次第、委員名簿、座席表、議事次第の裏に記載した資料2種類でございます。

参考資料はタブレットにて、1名に1台ずつお配りしております。

事前に専門委員から御提供いただいた資料を机上配付資料として机上配付資料1、2-1、2-2として配付をさせていただいております。

本日の評価書(案)に使用している参考資料を本日はタブレットにも入っておりますが、CDにお入れしたものをお手元にお配りさせていただいております。

不足の資料等はございませんでしょうか。

それから、専門委員の先生方から御提出いただいた確認書を確認したところ、平成15年10月2日委員会決定の2の(1)に規定する「調査審議等に参加しないこととなる事由」に該当する専門委員はいらっしゃいません。

○吉川座長 繰り返しになりますけれども、提出していただいた確認書について相違はございませんか。

(「はい」と声あり)

○吉川座長 ありがとうございます。

それでは、議題(1)「家畜等に使用する硫酸コリスチンに係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について」、審議を始めたいと思います。事務局から資料の説明をお願いします。

○大倉課長補佐 それでは、御説明いたします。資料2の御用意をお願いいたします。家畜に使用する硫酸コリスチンに係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価でございます。

本件は前回7月にハザードとして、サルモネラ、緑膿菌、大腸菌が候補として挙げられましたが、データの不足等から今回は薬剤耐性大腸菌をハザードとして特定し、審議を進めるところまで御審議をいただきました。まずはハザードの特定までの部分で前回御指摘いただいた箇所について御確認をいただきたいと思いますと考えております。

それでは、資料2の4ページをお願いいたします。審議の経緯を記載しております。先ほど申し上げたとおり、前回7月に御審議いただいて、本日が2回目の審議でございます。

7ページ、「I. 評価の経緯及び範囲等」の2の「(2) 評価の範囲」でございます。評価に関しましては、7ページの6行目「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評価に関する評価指針」、「評価指針」と呼んでおりますが、本評価はこちらを使用しております。

評価の範囲につきましては、30行目、31行目でございますが、牛、豚及び鶏由来の畜産食品が介在する場合のものとしておりました。そうしたところ、荒川先生のほうから、汚水や排水を介して特定の腸内細菌科の耐性菌が畜舎間で広がるような環境の影響は想定しなくてよろしいのでしょうかということでコメントをいただいております。

評価指針に記載がございますが、水等の環境を介した薬剤耐性菌に関する評価に関しましては、現時点で十分な知見があるとは言えないということで、現在の評価指針では対象としておりませんということで、評価の範囲のほうに明示的に記載をしたほうがよろしいということでしたので、事務局で追記をさせていただきます。御確認をお願いいたします。

16ページ、硫酸コリスチンの使用状況でございます。表5にコリスチンの使用量として家畜のバイオマス当たりのコリスチンの使用量を記載しておりました。前回2005～2014年までの動物用医薬品及び飼料添加物それぞれにつきまして、使用されている動物のバイオマスで割った値を記載しておりましたが、このPCUという値がヨーロッパの再評価の際に使用されている単位ということで、ヨーロッパと同じ計算方法にしたほうが比較しやすいのではないかと御指摘をいただきましたので、6行目からの【事務局より】のボックスに記載をしております。

EUでは各国の使用量を、販売量の合計を国内の家畜のバイオマスとしてのPCU値で割った数値として算出しておりますので、同様に表5の国内の使用量につきましても動物用医薬品の販売量と飼料添加物の検定合格数量等を足したものを国内の家畜のバイオマスを表すPCU値を割って算出をしたということで値を変えさせていただきました。御確認をお願いいたします。こちらの数値につきましては、ヨーロッパと比較可能な方法ということ考えております。

19ページ、8行目に「6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布」を記載しております。前回の御審議の際に、セラチア等も抗菌力はないということに記載したほうがいいのではないのでしょうかという御意見をいただきまして記載したところ、浅井先生からプロテウスとかブルセラとかのMICも記載したほうがいいと思いますということで御連絡をいただきましたので、事務局で文献等を探しまして、ブルセラとセラチア、プロテウスのMICのデータを追記しております。細かいところで恐縮ですが、脚注のpolymixin Bは片仮名でポリミキシンBと修正をさせていただきたいと考えております。

続きまして、ハザードの特定のところに飛びますが、この間、修辭上の菌名の表記の修正等しております。

35ページ、「10. ハザードの特定」を記載しております。先ほども申し上げましたとお

り、前回、常在菌と病原菌の双方からハザードの候補となる細菌を絞っていきまして、サルモネラに関しては健康家畜由来の感受性はおおむね維持しているという話がありました。一方で、サルモネラに関しては余りデータがないということで、今回は大腸菌について知見があるので進めてはどうかということでございました。

36ページの23行目になりますが、ハザードとして特定することを考慮すべき細菌は大腸菌及びサルモネラであるが、大腸菌については各国で調査がなされていて、ある程度は知見がある。しかしながら、サルモネラについては薬剤感受性ですとか*mcr-1*遺伝子の保有率については現時点でリスク評価を行うための知見が十分でないということでございまして、いずれもリスク評価を行うための十分な知見があるとは言えないが、ヒトにおけるコリスチンの重要性を踏まえると、現時点で得られている知見を整理し、引き続き情報収集等を行うことが必要であると考えられる。したがって、今回の評価に当たっては比較的知見がある大腸菌についてリスク評価を行い、今後知見が集積された場合は評価を見直すこととし、サルモネラについては、その際に再度リスク評価を行うというような記載にしております。

ハザードの特定のところまでは以上でございます。

○吉川座長 ありがとうございます。

前回の議論を踏まえて、一部字句の修正あるいはデータ追加という形で、36ページのハザードの特定まで、最終的にはサルモネラと大腸菌を考えたいけれども、現時点でのデータ集積から考えて、今回は大腸菌を対象にハザードとするというのが書き直した主なところで、後は細かいところです。

もう一つは、7ページの水等の環境を介したリスク評価については、今のサルモネラに近いですが、現時点ではデータがなくて難しいので、今後ワンヘルスのサーベイランスとかが始まって、いろいろな情報が集まってくれば、またそこで考えるとして、今回はハザードとしては大腸菌という形で評価を進めたいということですが、経緯、範囲及びハザードの特定に関する知見、ハザードの特定まで、復習になりますけれども、ここに関してはいいですか。

それでは、次に行ってくださいか。

○大倉課長補佐 それでは、発生評価の部分から御説明をさせていただきます。資料2の37ページでございます。発生評価におきましては、評価指針の第2章の第2の1に基づきまして、評価対象の動物用医薬品及び飼料添加物が牛、豚及び鶏に使用された場合にハザードが選択される可能性及びその程度を評価しております。その範囲はこれらが使用された時点から家畜または家畜から生産された畜産食品が農場を出るまでというところでございます。

37ページの「1. 畜産現場におけるコリスチン耐性の状況」としまして、「(1) 使用農場における耐性の状況」ということで、2003～2004年に国内の牛、豚、鶏を使用する農場におきまして、抗菌性飼料添加物の使用状況を調査するとともに、そこで使用されている

家畜糞便由来大腸菌の薬剤感受性を調査したものでございます。表19にございますが、コリスチンを使用した農場と使用していない農場でそれぞれの家畜の糞便をとってきますと、使用農場のほうがMICが8 µg/mLを示した菌の割合が多かったということが報告されておりました、18行目になりますが、この文献ではコリスチンの飼料添加による使用とコリスチンの感受性が高かったということの間に関連性があると考えられたことが報告されております。

37ページの25行目、「(2) 畜産現場における薬剤耐性菌の発生状況」ということでJVARM、国内の家畜由来薬剤耐性菌モニタリングにおいて、病畜と健康家畜由来大腸菌の抗菌性物質の感受性調査が実施されております。病畜由来の大腸菌につきましては、2013～2014年の2年について調べられておりました、表20にその結果を示しております。

表21には、健康家畜由来大腸菌のコリスチンのMICが4 µg/mL以上を示したものの割合を示しております。上の段半分が2000～2007年、下半分が2008～2014年まで、それぞれ一番上から全畜種、牛、豚、鶏といった順番で記載しております。

37ページの下から記載をしておりますが、2000～2014年において大腸菌に対するコリスチンのMICが4 µg/mL以上を示す株は2.1～4.5%ということで、コリスチンに対する感受性はおおむね維持されていると考えられるとしております。

39ページの4行目、「(3) 家畜分野におけるコリスチン耐性に関するその他の知見」ということで海外の情報を記載しております。海外に関してはデンマークのデータでございますが、2013年、2014年の健康家畜由来大腸菌に対するコリスチンのMICを表22に記載しております。

39ページの13行目から「2. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子の出現並びに選択の可能性」としまして、こちらは投与試験を記載しております。

①が、無菌豚での実験感染試験ということで、無菌的に摘出した豚に大腸菌とクレブシエラを定着させた後にコリスチンを投与し、その糞便をとってきて大腸菌の感受性を調査したところ、コリスチン存在下ではコリスチンに耐性を示す菌株は出現しなかったというデータでございます。

②が、国内の農場でコリスチン添加飼料を給与する前の豚、給与中の豚、給与した後1～2週間経過した後の豚の糞便から大腸菌をとってきて、それぞれコリスチンのMICを比較したというものでございます。表23に結果を示しておりますが、コリスチン給与中になりますと給与前よりもMICが上がっておりますが、給与を終了するとMICがまた下がるといったことが結果として報告されております。

40ページの21行目から「(2) 突然変異による薬剤耐性の獲得」としまして、*in vitro*での耐性発現試験の結果を記載しておりますが、こちらはいずれも、この2行目は教科書的な記載でございます、もとのデータがございませんでした。

【事務局より】としまして、22行目の文献につきましては、原著の単位には液体培養の濃度のところにM.H.Dの記載があったのですが、事務局で詳細がわからなかったということ

で、濃度不明としております。24行目からの試験に関しましては、教科書的な文献の記載ということで、これ以外にはデータがないという状況です。41ページに行きますが、最近の総説等、特に知見がないということで、専門の先生方に知見の記載の可否等について御検討をお願いしておりました。

池先生と荒川先生から、それぞれグラム陰性菌におけるコリスチン等のペプチド系抗生物質に対する耐性機構等の基本的な記載をしたほうがよろしいのではないのでしょうかということで御協力をお願いしていたところ、池先生から追加の修正案をいただいております。こちらを机上配付資料2-1として配付させていただいております。量も多いということと、評価書案の29ページに薬剤耐性機序及び薬剤耐性決定因子という項がございます。それと、その前の19ページにも作用機序を記載するところがございますので、この3か所で記載を分ける等の検討をさせていただきたいと考えますが、全体の記載に関して、池先生から後ほどコメントをいただければと考えております。

41ページの3行目、「(3) 薬剤耐性決定因子に関する情報」ということで、こちらは簡単に3行目から、大腸菌のコリスチンを含むポリミキシン類に対する耐性機構は従来、染色体性の変異によるものと考えられておりましたが、2015年末に中国におきまして、LPSを修飾するコード、酵素をコードするプラスミドに媒介性の*mcr-1*遺伝子が見つかりましたということに記載しております。その後、今年に入りまして、夏にかけてイタリアでMCR-1.2ですとか、ベルギーでMCR-2という報告がいろいろされているという状況でございます。

42ページの6行目「①*mcr-1*遺伝子の分離状況」といたしまして、JVARMにおいて収集された健康家畜由来大腸菌のうち、コリスチンに対するMICが2 µg/mL以上の化学物質について、*mcr-1*遺伝子の保有状況が調べられております。結果を表24に記載しております。JVARMの健康家畜由来では2007年までは*mcr-1*遺伝子の分離がなかったということで、この表には2008年以降の数値を記載しております。

10行目に記載がございますが、2014年は、全家畜由来株では2.3%、畜種別では、豚で5.2%、鶏ですと5.5%が*mcr-1*遺伝子を保有していたと記載をしております。

13行目、【事務局より】のボックスに記載をしておりますが、農水省ではMICが2 µg/mL未満の株については、*mcr-1*遺伝子が分離されなかったことから調べていないということで、今回は表24の*mcr-1*遺伝子の検出状況の分母としては調べておりませんが、全分離株中の*mcr-1*遺伝子の分離率ということで示しております。

43ページの3行目からが、今までは健康家畜由来の大腸菌でございましたが、今度は病畜由来、病気の豚の大腸菌における*mcr-1*遺伝子の検出状況について、こちらは参照38になりますが、文献ベースで報告がございましたので、こちらを記載しております。この報告におきましては、1991～2014年に収集された病豚由来の大腸菌では、*mcr-1*遺伝子は2007年に最初に検出されまして、2014年は分離率が約50%になるということで、*mcr-1*遺伝子の検出率が上昇したといったことが報告されております。

16行目のボックスに記載をしておりますが、この文献は今タブレットの中も入っております。01_038という文献ですが、**Technical appendix**に全分離株の情報がついております。この情報を池先生が分析をしてくださいます、1991～2014年の病豚由来大腸菌の伝播・拡散している傾向はないのではないかということで、その分析の結果と考察をしていただいております。こちらは机上配付資料2-2として、お配りをさせていただきます。

机上配付資料2-2をめぐっていただいたところに、国内のここで記載されている病豚由来の大腸菌の県別の分離状況を記載しております。この中で5年以上分離されている県が2県のみであること。あとは2010年から2014年の間に*mcr-1*遺伝子が分離された県が14県ございますが、そのうち8県は単年度のみでしか分離されていないといったこと。ただ、一方で2010年以降は*mcr-1*遺伝子が分離されている県は増えているといった状況から、*mcr-1*遺伝子が選択的に増加、拡散している傾向は見られないが、2010年以降は、それ以前より日本の比較的広い地域で*mcr-1*遺伝子を保有する株が分離される傾向がある。このことは病豚が保菌していた*mcr-1*遺伝子大腸菌株がコリスチンを含め、 β -ラクタム系等の動物用抗菌薬による治療により選択された可能性は推測されるといった追加の御修文をいただきましたので、入れております。記載について、ほかの先生方の御意見等をいただければと思います。

43ページの18行目、海外の状況を文献ベースで記載しております。表25にそのまとめを記載しております。中国、デンマーク、フランス、ドイツ、ベルギー、オランダ等から報告がございます。

24行目からは、ドイツでは2010～2015年で健康家畜由来の大腸菌でコリスチン耐性のもののうちの*mcr-1*遺伝子の保有率が調査されておまして、*mcr-1*遺伝子の保有率は全体では3.8%、七面鳥とブロイラーでは高く、最高で2011年は17.9%だったということが報告されております。

44ページから「②薬剤耐性決定因子（*mcr-1*遺伝子）の細菌間での伝達の可能性」として、*in vitro*での伝達試験が報告されているものを記載しております。大腸菌、サルモネラ、サルモネラと大腸菌、赤痢菌と大腸菌等で接合伝達試験が実施されておまして、伝達した事例、伝達しなかった事例がそれぞれございました。接合伝達試験では、プラスミドのIncタイプはHI2ですとかX4というものが使われております。

44ページの21行目から「③大腸菌におけるプラスミド上の*mcr-1*遺伝子がMIC感受性に与える影響」として、幾つか追加のデータを記載しております。

45ページでございます。表26に、感受性株と耐性株で*mcr-1*の保有状況を比較すると、感受性株の中にも*mcr-1*遺伝子を保有する株が2014年ですと大体60%くらいいる。一方でMICが4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の耐性株になりますけれども、耐性株でも13株のうち12株は*mcr-1*遺伝子を持っているというようなデータを記載させていただきます。

表27には、*mcr-1*遺伝子を持っていない株と持っている株で今度は感受性を比較した場

合を記載しております。

9行目になりますが、先ほど御紹介した国内で1991～2014年に収集された病豚由来の大腸菌におきましても、*mcr-1*遺伝子保有株と非保有株でMIC₅₀とMIC₉₀が同じだったということで、国内の病豚由来大腸菌でのコリスチン耐性率が高いこととプラスミド媒介性*mcr-1*遺伝子の影響は大きくないというような考察がされております。

ここまでのまとめとしまして、以上のように、2007年以前は見られなかったコリスチン耐性に関与するプラスミド媒介性の遺伝子が近年、家畜から分離されていまして、大腸菌、サルモネラにおいて伝達するということが確認されております。また、*mcr-1*遺伝子の保有率は上昇傾向にあって、2014年では全分離株のうち、コリスチンの耐性株は13株だったのですが、このうち12株は*mcr-1*遺伝子を保有していたと。しかしながら、国内では健康家畜由来大腸菌の*mcr-1*遺伝子保有率は10%未満というのに対し、海外ではその保有率が高いものも報告されているという状況でございます。海外のコリスチン耐性株または*mcr-1*遺伝子保有株に関する報告に関しましては、コリスチンの、畜種別も含めた使用状況をあわせて報告している文献は限られておりまして、国によっては家畜に対するコリスチンの使用状況は国内とは異なっているという可能性も考えられるといったことを記載しております。

46ページ、続きまして、一方で、コリスチン感受性株でも*mcr-1*遺伝子を保有する株があるといったことで、その*mcr-1*遺伝子とか、それ以外のコリスチン耐性に関する詳細については不明な点も多いとしております。

「3. 多剤耐性等に関する知見」を7行目から記載しております。こちらはJVARMにおいて収集された健康家畜由来大腸菌のうち、耐性株ですね。コリスチンのMICが4 µg/mL以上の株の多剤耐性割合を報告しております。コリスチンの耐性株のうち、フルオロキノロンにも耐性のものが12株、第三世代セフォロスポリンにも耐性のものが6株ございましたが、コリスチン、フルオロキノロン、第三世代セフォロスポリンの全部に耐性を示すものはございませんでした。1～3剤耐性株のうち、テトラサイクリンに示すものが多かったといったことを記載しております。

46ページの下の方からは、海外で多剤耐性、家畜由来の大腸菌で多剤耐性のものが報告されております。これらはいずれも病畜由来の大腸菌でございました。これらの報告で1報だけ投与歴も記載されている報告がございまして、複数の系統の抗菌性物質の投与歴があったということで、コリスチン以外の抗菌性物質の使用によってコリスチンの耐性が選択される。またはコリスチンの使用によってコリスチン以外の抗菌性物質に対する耐性も選択される可能性が示唆されている。一方で、耐性因子としては染色体性以外にも*mcr-1*遺伝子の報告も両方ございましたということで、多剤耐性についてもなかなかデータが少ないといった状況でございました。

発生評価の最後になりますが「4. 使用量」でございます。先ほど御紹介したハザードの特定のところにも記載をしておりますが、6行目から、治療目的に使用される動物用医

薬品に関しましては、2005年の3,429 kgから2014年には9,971 kgということで、豚が100%なのですけれども、増加しているといった状況です。飼料添加物でございますが、こちらは2005年が31,644 kgに対しまして、2014年は16,214 kgということで、飼料添加物に関しては減っているといった状況でございます。バイオマス当たりの使用量に関しましては、先ほど御紹介しましたが、表5に記載をしております。

発生評価までは以上でございます。

○吉川座長 ありがとうございます。

発生評価のところの説明がありましたけれども、幾つか御意見を伺いたいところが、最初は40～41ページにわたるところですか。*mcr-1*の作用機序というか、池先生が机上配付資料2-1で、コリスチン耐性の機構という形でかなり詳しく書いていただいたのですが、このままだとわかりやすいけれども、すごい量になるので、少し要点を絞って、その作用機序をまとめて何か所かにばらばらと書かれているので、どこか遺伝子の作用機序をまとめて書くところに挿入するというところでどうだろうかということですが、池先生はどうですか。

○池専門参考人 コリスチン耐性の問題は、CRE等の多剤耐性グラム陰性菌に対する、治療薬が世界的にない状況で、家畜に使用されてきた余り理想的な薬でないコリスチンをヒトに使わざるを得ない状況が起きているということが現実だと思います。*mcr-1*が出現して騒ぎになっているのですが、ただ、*mcr-1*が全てではなくて、コリスチン耐性機構はもう数十年前からLPSの構造と機能の研究領域において詳しく解析されています。ヒト、動物の自然免疫の重要な物質である、生体の生産する抗菌性ペプチドの標的はLPSです。一方細菌はLPSを修飾することにより抗菌性ペプチド耐性を獲得しています。コリスチンは抗菌性ペプチドとしてこれらの研究に用いられています。またこれらの機構は特にサルモネラにおいて詳しく研究されています。マクロファージはサルモネラを食菌後抗菌性ペプチドで殺菌します。しかしながらサルモネラはLPSを修飾し、抗菌性ペプチド耐性を獲得し、マクロファージ内で増殖することが出来るようになっていきます。サルモネラのLPSの修飾と耐性発現は、マクロファージ内の環境により誘導されたものです。誘導機構の突然変異により耐性が恒常的に発現します。これらの突然変異株が染色体性のコリスチン耐性菌として分離されます。中国で伝達性プラスミド上の*mcr-1*遺伝子が発見されました。*mcr-1*はLPS修飾物質の一つを生産する遺伝子です。細菌の抗菌性ペプチドのコリスチン耐性機構としては染色体性の遺伝子の誘導機構による発現及び恒常的発現と、新たにプラスミド性の耐性が発現しました。プラスミド性においても耐性機構は基本的にこれまでに研究されてきたものと変わりません。しかしながらこれは接合伝達により他の菌に拡散する可能性があるため注意が必要です。評価書にはこれらの耐性機構を整理されるとスマートではないかと思えます。

もう一つ、これは田村先生の御意見もぜひお聞きしたいのですが、病気の豚由来のデータ、事務局が提示された文献の年度別分離頻度の図を見ると*mcr-1*株が増加傾向に

あります。しかしながら県ごとの分離の表を見る限りにおいて、増加しているということ
は言えないのではないかと。

2010年以降は確かにいろいろな県で出ているのは事実ですけれども、単発あるいは数例
出ている感じがします。2010年以降何でこんなことが起きているのか。田村先生や家畜の
専門家の御意見も聞きたいところです。

それぞれの県で選択的にふえているということは多分起きていないであろうということ
は言えるのではないかと思います。この机上配付資料の2枚で、その具体的な県ごとの分
布を事務局がまとめてくれています。

もう一つは、これも田村先生にお聞きしたいのですけれども、健康家畜のコリスチン耐
性菌の分離頻度をどう取り扱っていくかということです。

○吉川座長 ありがとうございます。

今、事務局から幾つか検討してほしいというのを全部出されたと思うのですけれども、
最初の耐性機序のところは事務局と相談して、確かにある意味では抗生物質そのものも確
かにバクテリア同士とか細菌同士の武器とか攻撃手段のところがあったけれども、
この辺のペプチド系は確かに細菌以外、ヒトに至るまで、ディフェンシンもそうですけ
れども、みんな菌の殺菌で使っているものであるもので、確かに菌のほうもそれに対しては
いろいろな形で逃げるといえるか、生体防御をさらに免れる方向性でも進化してきて、その
うちの一つがここにあるポリミキシン類とか、抗菌性ペプチドであって、菌もそう
いう形でターゲットになる外膜のLPSの変化から始めて、そこのチャージを変えてくるよ
うないろいろな機構を持っていて、そのうちの1つがホスファチジルエタノールアミンを
つくる系の*mcr-1*という形で、それがプラスミドに持ち出されたというあたりを少しわか
りやすい形でどこかに入れてもらうという形でいいですか。そこは池先生と相談して、あ
るいはほかの先生にも意見を聞いて、お願いしたいと思います。

2番目の大きな議論は、田村先生はどうですか。今は机上配付資料2-1を見ていて、
机上配付資料2-2の経時的な変化からどう読みとるかということで、これは病豚のデー
タですよ。

○大倉課長補佐 タブレットに文献を入れさせていただいておりますが、タブレットを開
いたところの01_040_KusumotoMという名前がついている文献でございます。別のこの前
の文献の写真ですけれども、左上に大きな菌の写真が出ている文献で、次のページをめく
っていただいて、左下に1316というページのあるところで、ページの右上にFigureという
のがありまして、これが池先生が増えているように見えるとおっしゃったところござい
ます。

さらにページをめくっていただきますと、technical appendixが出てきまして、technical
appendix Tableということで、全分離株の菌株名、*mcr-1*遺伝子を持っているか持ってい
ないか、コリスチンに対する感受性とO抗原と分離年、分離県、報告された疾病が書いて
おりまして、これを池先生が解析してくださって、今の机上配付資料2-2の2枚目の表

ということで御紹介をしております。

○田村専門委員 この文献は見ましたけれども、この後ろまで見ていなくて、確かに健康な動物からとったのはほとんど変動がなくて、それなのに全体で見ていると2010年くらいから急激に伸びていた。それがどうしてかなというのを考えていたのですけれども、こういうようなことで見て、池先生に解析していただいたこういう形で見ると、確かにふえているのではなくて、それぞれの県がふえたために全体としてふえたように見えたということがよく理解できたのですけれども、こういう解析をしていただいて本当に感謝を申し上げます。

○池専門参考人 各県でいろいろな抗菌薬による治療過程で*mcr-1*株が分離されるようなことが起きている感じがします。

○田村専門委員 多分その多くは浮腫病というものに使われていたのがコリスチンなのですから、それ以外のものでも選択圧になったということで十分理解できました。

○吉川座長 どうぞ。

○荒川専門委員 私もこの論文を読んだときにちょっと気になったのは、この中にO116とかO139とかO149というのがありますけれども、こういうのは全部が全部ではないですが、毒素とかSTECみたいなものとかETECみたいなものが結構いるのですが、そういう毒素を持った株でこういう*mcr-1*とか、耐性を持ったものがあると問題かなと思うのですけれども、この文献にはその毒素のことは触れられていないので、そこら辺は調べてみて、食品健康影響評価をする上で重要な情報になるのではないかという気がします。

○吉川座長 この血清型はどうか。

○田村専門委員 私たちも同じような実験をやっていますけれども、毒素を持っています。*mcr-1*はポジティブのほうが有意に毒素の遺伝子を持っているというデータはあります。ただ、基本的に病豚が食肉に回ることはあり得ないので、そここのところも加味して考える必要があるかと思います。

○吉川座長 どうぞ。

○浅井専門委員 私もよくわからない部分はあるのですけれども、恐らくこの edema disease と表記されている部分についてはSTECのstx2eという豚浮腫病様のいわゆるVTを出すというタイプで edema disease と診断されていると思います。ですから、それはヒトに対する病原性は今のところはないと言われているものなので、確かに志賀毒素様のもではありませんけれども、ヒトに対する影響はないものも含まれている。この edema disease は多分そういうタイプのものだと思います。ただ、ほかの毒素を持っている株も中に含まれているとは思いますが、そういう検証はしたほうが良いと私は思います。

○吉川座長 菅井先生。

○菅井専門委員 やはり *mcr-1* の場合には、特にほかのコリスチン耐性とは違って伝播をするというのが一番ポイントになると思うので、まだこのデータの中ではプラスミドのキャラクター化というものが行われていないように思うのですけれども、先ほど荒川

先生が言われた血清型と毒素のタイプということもありますが、あとプラスミドのIncタイプを初めとして、そういう情報がさらに加われば、もう少し、まだn数が非常に少ないので、今の時点でなかなか難しいと思うのですけれども、コンジュゲーションしやすいタイプかどうかということも含めて、そういう情報はプラスミドを解析すれば多分わかるので、そういうのがあるといいなと思いました。

○吉川座長 どうぞ。

○荒川専門委員 海外の報告では、この*mcr-1*を媒介するプラスミドで多いのはInc HI2とかInc I2とか、あるいはInc X4というものが多くと言われています。あとInc PとかInc F2も少しある。このInc X4というのは、私らはヒトの世界では余り遭遇しないタイプなのですけれども、Inc I2みたいなものは時々遭遇して、Inc Pは緑膿菌などにも広がるタイプのもので、Inc Fは大腸菌で結構多いのですけれども、特にInc HI2とかInc I2のタイプは*mcr-1*遺伝子のすぐ隣にISAp11という挿入配列を皆持っている、それがISAp11は何かというと、私も余り知らなかったのですけれども、アクチノバシラス・プルロニューモニエという豚の病気を起こす菌が持っているISで、それが*mcr-1*と一緒にInc HI2とかInc I2とか、その仲間のプラスミドに広がっているようですが、Inc X4は余りISAp11とリンクしていないというような報告があります。

ですから、その辺がヒトの腸に至り、ヒトに病気を起こす大腸菌に、この先どれくらい広がるかどうかというところの一つの参考になるかなと思います。国内は今のところ、ヒトの臨床材料からは*mcr-1*はまだ出ていないと聞いていますけれども、出ているという話があれば、ちょっと問題だと思います。とにかくそういうちょっと変わったプラスミドに乗っているというようなことが一般的らしいです。

○吉川座長 この辺は調べる、あるいは農水のほうに聞いたら答えは返ってきますか。どうだろう。

○田村専門委員 ヒト由来のものは私たちが調べているのですけれども、臨床検査材料から分離された大腸菌を500~600株くらいやりましたが、*mcr-1*も*mcr-2*もないです。

○浅井専門委員 違う話をしてもいいですか。先ほど地域的な拡散の話が出ていたのですけれども、例えば、表24は2年に1回ずつ全国調査をしているはずのサンプリングが全国的にやられているはずですので、これで1県4農場か6農場というサンプリングをしているはずですから、これは農水に聞けば、地域的な拡散についてはある程度の答えが出るのではないかと私は思います。

以上です。

○吉川座長 あと、2013年、2014年にばっと広がって見えているけれども、これは考えてみると、2015年のはまだデータがないということか、あるいはこの実験はここで終わっているのだろうけれども、本当に次の年に消えているのか。ここまで一旦広がったものがそれぞれの県では、あるいはそれぞれの農場で残っているのかは、考えてみると、このデータからは読み切れないですね。最後の2年に来て一気に県を広げてしまって、どういうサ

ーベイランスをしたのかも正直に言うとうわからないので、本当に単年度で消えるタイプなのか。

ただ、豚の生産を考えると、年に何回も子豚は回転していってしまうので、ある時点である農家からとったとして、最初にとれた健康豚は多分次の年には絶対に生きていない。と畜場に行ってしまうので、どういう母集団から菌を分離するかというのも結構データに影響してくる気がします。最初のサンプリングをどういうサーベイランスの方式でとっているのか。それによってはかなり全体の動きというか、背景にある動きと違うものを選んでしまう危険性もあるような気もするし、この発症したものが全部と畜場に行かないで殺されているのか、治って抑え込んで、と畜場に行くときにまだ持っているのかとかいうのも正直に言うと、すごく気になるのですけれども、このデータだけではとても読み切れません。

○甲斐専門委員 15ページの表2のところにコリスチンの使用量、販売量の経時的なものがありまして、2009年くらいからずっと増えていっているということで、この理由について前回のときに田村先生のほうから、多分 edema disease で使われたのではないかというお話があったかと思います。それを頭に入れた上で、きょうの机上配付資料2-2の表を見たときにO血清群が結構偏っていて、O116が一番多くて、O139が次に多い。私はO116についてはちょっと覚えていないのですが、O139は豚の edema disease から分離される血清群だと思うのです。その辺のところは気になるところです。O116に関しては調べてみると、今は覚えていません。

○吉川座長 いろいろ推測できるけれども、それを通して、限られたデータかもしれませんが、これを見て、増えているのか、現状維持なのか、拡散しているのか、どう解釈するかという問題です。

○荒川専門委員 15ページの表2を見ると、確かに2009年くらいから使用量は増えているのですけれども、42ページの表24を見ると、この間のMICが2 µg/mL以上の株の数はそんなに増えていなくて、逆に減っているような印象があって、その中にぽつぽつと *mcr-1* 陽性株が見つかるようになってきているという、そんな感じかなと思います。コリスチンの使用量は2009年くらいから増えているのだけれども、MICが2 µg/mL以上の株は余り増えていない、どちらかと言うと、2009年と比べると2013年、2014年くらいは数がかなり減っているなという印象なのですが、これはそういう現象として理解していいのでしょうか。

○吉川座長 今、言われたように、ここで使った対象が edema disease の病豚だと推測するならば、健康豚のほうでの使用量はそんなに増えていないとすれば、健康豚からの *mcr-1* の検出はそんなに動かないけれども、さっきの追加になった机上配付資料2-2のほうはあくまで、多分この病豚というのが浮腫病であるとすると、かなりそういうポピュレーションでの動きを追っている形になるので、ひょっとしたら使用量と相関するということはあり得るのかなというのを先ほど甲斐先生が指摘になったかと思うます。

もう一つの問題とすると、では、浮腫病になったものは全部と畜場に行かないので殺さ

れているのか、それとも治療して治ってと畜場に行くときに残っているのかというのは、また話が違う気もするので、どうなのですかね。

○池専門参考人 そういうことはあるのですか。

○吉川座長 私もよくわからないのだけれども、農場で実際には、もうそこで殺処分。でも、浮腫病は殺処分をしろというほどの家畜伝染病にはなっていないですよ。浮腫病はまだ法定伝染病ではないですよ。

○田村専門委員 違います。

○吉川座長 生産性として無理だと、とてもと畜場に行くレベルでないというなら、それはそれであり得ることだと思います。

○豊福専門委員 ただ、どこの段階で抗生物質なり治療をして治れば、と畜場に出荷されることは十分にあり得ますね。

○池専門参考人 そうですね。そのために治療をする。

○吉川座長 何か難しいことを言ってしまったでしょうか。

○荒川専門委員 普通は豚で、大きな囲いの中に何十匹も一緒に飼いますよね。こういうO116とかO139とかで浮腫病を起こすような菌を持っている豚の個体があって、そこから菌をもらって、菌が腸に入ると必ずそういう浮腫病みたいなものを起こすのですか。

○浅井専門委員 健康な動物からもということですか。

○荒川専門委員 要するに不顕性で。

○池専門参考人 院内感染を起こすかどうか。

○荒川専門委員 そうすると、健康の豚でそういうタイプの菌株を持っていて、と畜場に行くというものもあるという理解でいいのですね。

○浅井専門委員 浮腫病は発病のときに年齢依存性が高い病気ですので、豚の腸内に出て発現するレセプターとの関係ですごく依存性が高い病気です。ですから、いるかもしれないし、いないかもしれないのですけれども、その浮腫病の病原体をターゲットに分離をして調査をしたという成績は多分ないと思います。

○池専門参考人 質問をいいですか。事務局、45ページの14行目の「*mcr-1*遺伝子の影響は大きくない」というのはどういうことですか。

○大倉課長補佐 原文は先ほど開いていただいたEmerging Infectious Diseasesの文献の1316というページの左側の下、一番下のパラグラフにin 2000 forというパラグラフがあると思うのですが、そのちょっと上くらいにThese result indicate that a high proportion of swine-pathogenic *E.coli* in Japan are resistany to colistin,that *mcr-1* has already been widely des-seminated among these strains,and that the level of colistin resistance mediated by *mcr-1* is similar to that mediated by *mcr-1*-independent mechanisms.とあるので、ここをわかりやすく訳したというところがございます。この最後のin 2000 forという文の3行上のthatのところからです。その次にページをめくっていただいたtechnical appendixです。

○池専門参考人 わかりました。ここの耐性機構の基本のところを説明してよろしいでしょうか。

○大倉課長補佐 お願いいたします。

○池専門参考人 ヒト、動物の生体が生産する各種抗菌性ペプチドのグラム陰性菌に対する標的は外膜のlipopolysacchhalide (LPS) です。抗菌性ペプチドは陽性荷電物質で、LPSは陰性荷電をしています。細菌の通常の生育状態ではLPSの陰性荷電部位には2価の陽イオンMg⁺⁺が電氣的に結合し電氣的中和とLPSの構造の安定化をしています。

資料の3ページはLPSの構造です。LPSは外膜側(内側)から外側に向かってLipidA-KDO₂-core polysacchhalide (core多糖)-O抗原多糖で構成されています。LPSのcore多糖とLipidAにはリン酸基等が結合し全体として陰性荷電をしています。これらの部位にはMg⁺⁺の2価の陽イオン原子が電氣的に結合し、外膜構造を保つ役割をしています。細菌においてMg⁺⁺は細胞膜, ribosomeのstabilizerとして機能しています。また、ATPが必要とされる反応に必須の原子です。細菌のMg⁺⁺の1/3はLPSに存在しLPSは細菌のMg⁺⁺の貯蔵庫と考えられています。抗菌性ペプチドはLPSのMg⁺⁺を置換し、LPSに結合しその抗菌作用を発現します。LPSの陰性荷電部位への抗菌性ペプチドの親和性はMg⁺⁺のその1000倍とされている。一方細菌は陽性荷電の抗菌性ペプチドがLPSに結合できないようにするため細菌遺伝学的にtwo component regulatory systemにより外的な物理的、化学的環境に反応しLPSの陰性荷電部位を共有結合により修飾するための物質を生産する機構を進化させ抗菌性ペプチドに対する抵抗性(耐性)を獲得しています。これらの機構はコリスチンを含め抗菌性ペプチドに対するグラム陰性菌の耐性機構の基本です。

資料の1ページは耐性発現の調節機構です。*Salmonella typhimurium*及び大腸菌においては抗菌性ペプチドに対する耐性機構の発現調節機構にはPhoP-PhoQ及びPmrA-PmrBの2種類のtwo component regulatory systemが報告されています。PhoQ、PmrBはsensor / kinase蛋白でPhoP、PmrAはregulator (調節蛋白)です。PhoQ、PmrBはそれぞれのsensorに特異的な外的環境の化学的、物理的情報を感知し、自らがリン酸化され次にPhoP、PmrAをそれぞれリン酸化することにより活性化します。活性化されたPhoP、PmrAは、それぞれの蛋白に対応する制御遺伝子の特異的なプロモーター領域に結合しmRNAの合成を促進させます。PhoQ蛋白は低Mg⁺⁺、酸性(～PH4.7)情報に反応し、PhoQ自らがリン酸化され次に、PhoQのリン酸基をPhoPに伝達し活性化します。PmrBは高濃度Fe⁺⁺⁺、軽度酸性(～PH5.8)に反応し、自らがリン酸化され次にPmrBのリン酸基はPmrAに伝達され、PmrAが活性化されます。活性化されたPmrAは対応する制御遺伝子のプロモーター領域に結合し転写を促進します。PhoQの制御遺伝子は1ページの図に示しています。*pmrD*、*pagL*及び*mgrR*遺伝子等です。PmrD遺伝子は活性化されたPhoPにより転写が促進され生産されたPmrD蛋白によりPmrA蛋白が活性化されます。この機構はPhoP/PhoQの調節機構による情報伝達が、PmrD蛋白を介してPmrA / PmrBに連結する機構です。2ページの図のようにこの機構は*S. typhimurium*に存在しますが*E. coli*では存在しなく、退化したと考えら

れている。

PmrA蛋白による制御遺伝子は6種類報告されています。この中で、LPSを修飾する物質を生産する最も一般的な遺伝子は7個の遺伝子で構成される *amrBCADTEF* オペロンと3つの遺伝子で構成される *pmrCAB* オペロンです。最終産物として前者は4-amino-4-deoxy-L-arabinose (L-Ara4N又はArnT)、後者はphosphoethanolamine (PEtN又はEpt)を生産します。4ページの図のようにL-Ara4NはlipidAのglucosamineの4“位のCのリン酸基に結合しPEtNは1位Cのリン酸基に結合します。

two component regulatory systemによるsensor / kinase蛋白とregulator (調節蛋白)の発現による抗菌性ペプチドに対する耐性発現は化学的、物理的的環境により誘導される可逆的な耐性機構です。しかしながらsensor / kinase蛋白、又はregulator蛋白いずれかの突然変異により恒常的にregulator蛋白が活性化されそれに対応する制御遺伝子の恒常的な発現(転写亢進)と修飾物質の生産によりLPSが修飾されコリスチン耐性を含む抗菌性ペプチド耐性が生じます。表はMICが上昇したコリスチン耐性各種臨床分離菌の解析によるtwo component regulatory systemのsensor / kinase又はregulator蛋白の変異部位をまとめたものです。

*mcr-1*はプラスミド上で恒常的に発現するphosphoethanolamine (PEtN) 産生遺伝子であることが推測されています。

以上でございます。

○吉川座長 わかりました。

○菅井専門委員 さっきの話に戻るのですけれども、45ページの先ほど池先生が指摘された「国内の罹患豚由来大腸菌でコリスチンのMICが高いことに関して、プラスミド媒介性の*mcr-1*遺伝子の影響は大きくないと考察している」ということで、先ほどEIDの論文で指摘された箇所のことです。後にあるtechnical appendixの図を見ていただきたいのですが、ブルーが*mcr-1* negativeのisolatesで、赤が*mcr-1* positiveのisolatesで、耐性遺伝子を獲得したり、耐性になった場合にMICの出方が、例えば、ある耐性遺伝子を獲得した場合は非常に耐性度は高くなって、256 µg/mLをピークとするような、そういう形になる場合もあるし、そうではないものもあるので、この場合は*mcr-1*遺伝子による耐性の耐性パターンが、そうでない耐性パターンと同じであったという見方が、多分、遺伝子の影響は大きくないということではなくて、少なくとも同じパターンをとるものが*mcr-1*の場合でも16 µg/mLを中心としたものがある一定の割合であるわけですから、そういう意味ではなくて、耐性のパターンが*mcr-1*に依存性の耐性MICの出方と、そうでない*mcr-1*に非依存性の耐性MIC出方とか同じであったという意味だと思います。ちょっと言い方が、おわかりいただけでしょうか。

○大倉課長補佐 修文して、こんな日本語でいかがでしょうかということで御相談をさせていただきますと思います。どうもありがとうございます。

○吉川座長 耐性菌は結構複雑なのだと思うのですよね。

○大倉課長補佐 それと、確認ですけれども、先ほどから御議論いただいているこの文献に関しては文献ベースということで、なかなか調べようがないということではあるのですが、表24のJVARMに関しては農水省のほうと相談して、例えば、県別のデータが出せるのかとか、そういったことは御相談をさせていただきたいと思います。

その上で、になるのですけれども、この部分の記載の分離状況の①、伝達のところの②、プラスミド上のMICの与える影響という③は、ここがかなりの分量ではあるのですが、この3つをまとめたところが45ページの17行目からの記載になっていまして、なかなかわからないことが多いというのが結論にはなってしまうのですが、現在わかっているところまでの知見として、2007年以前は見られなかった*mcr*というのが見つかったこととかを記載しているのですけれども、ここで今までの議論と関係してくるのが19行目の後半の「*mcr-1*遺伝子の保有率が上昇傾向にあり」というところですが、ここは上昇傾向にあるとまでは書かないほうがよろしいということであれば、ここは修正をさせていただきたいと思います。

ただ、一方では、その続きの文章に関しましては、ここまでデータでお示ししているとおりの状況なので、上昇傾向にあるというところの記載については御相談をさせていただきたいと考えております。

1点追加でございます。「3. 多剤耐性菌等に関する知見」のところ記載が漏れておりましたが、浅井先生の中から、テトラサイクリン系の飼料添加物の畜種別の使用状況を調べたほうがいいのかということで御意見をいただいております。農水省のほうに連絡をしましたところ、全部のデータは出ておりませんが、オキシテトラサイクリンの飼料添加物の製剤に関しましては、ほぼ全てが鶏に使用されているというところまで報告をいただいておりますので、この場で御報告をさせていただきます。

以上でございます。

○吉川座長 どうぞ。

○浅井専門委員 そのテトラサイクリンのことを聞いた理由というのが、前回のときに話させていただいた第4欄に書かれている飼料添加物がテトラサイクリンとビコザマイシンとコリスチンです。ビコザマイシン自体は現在ほとんど使われていないそうなので、そうすると第4欄を使うとすると、コリスチンかテトラサイクリンしかないという選択肢になります。そうするとテトラサイクリンが鶏で全部使われているとすると、恐らく豚は全部コリスチンが使われている可能性が高いという、裏から見るとそういう読み取りになると思います。それで事務局に調べていただきました。

○池専門参考人 飼料添加物としてコリスチンにかわるものは何かないのですか。

○大倉課長補佐 評価書の13ページに飼料添加物の使用の規制状況ということで、13ページの表にあるもので第1欄、第2欄、第3欄、第4欄とございまして、同じ欄の中にあるものは併用することができないということなので、コリスチンが入っている第4欄には他に、浅井先生がおっしゃった、ビコザマイシンとかテトラサイクリンがあるということで

ございます。

○浅井専門委員 つまり、この表が直らない限り、代替の成分というのはないということになります。

○吉川座長 ほかに、と言ってもかなり混乱をしている感じがするのですけれども。

○豊福専門委員 さっきから議論になっているEIDは、もともとは全国23の家保で分離された豚の大腸菌を動衛研に持って行って、動衛研で研究したということですか。

○大倉課長補佐 こちらにある情報はこの文献のみなので、ここに書いてあることから読み取るしかないかと思います。

○豊福専門委員 それは毎年のように、豚がそれこそ浮腫病とかで死んだりした場合には、全国の家保から動衛研に行くものだとすれば、この論文にある以外のこの2年以外に2013、2014、2015ももしかしたら農林水産省に聞いたら、わかるのかなと思ったのです。わかるのだったら、この傾向が上がっているのか、あるいはこの2年だけの話で、その後は止まっているのかというのがもうちょっと議論できるのかなと思ったのです。

○浅井専門委員 想像でしかないのですけれども、この調査をやるに当たって、秋庭先生たちのグループが積極的に分業依頼を出したケースもあるかもしれないですし、通常ですと家畜保健衛生所から動衛研に行く場合の株というのは、家畜保健衛生所が病性鑑定とかの過程で何か変だなと思ったときに、精密検査という表現が適正なのかはわかりませんが、より高度な検査を依頼するような形で菌株が動いたりすることが多いように思います。ですから、定期的かどうかというものについては確認しないとわからないと思います。

○吉川座長 さっきの話に戻ると、食用に回る健康豚でどうなのか。正直に言うと、この病豚はみんなコリスチンを使われたかどうかもわかりませんよね。これはそういう意味では、特定のポピュレーションである意味、偏ったところのデータで見ると、こういう対応をとっているけれども、さっき言ったように、これが治って食用に行くかどうかのポピュレーションは、どの程度のものなのかというのも余り膨らませて考えることはないと思います。全ポピュレーションの中の浮腫病はそんなに爆発的に多いわけではないので、最後の暴露評価を考えたときに、この論文はどの程度の重みづけで考えるかということベースに考える必要もあるし、今、言われたように、このサーベイランスそのものがどのくらいの精度とあれを持って組まれたものなのか。たまたま興味を持った人が自分の手持ちのものを集めて分析したという意味なのか。その辺の問題もあると思うので、この事実は事実なので、これを無視することはしないけれども、これを評価にどういう形で組み込んでくるかは少し、もう一回、専門家、特に獣医の先生、現場をわかっている人の意見も聞いて、書きぶりを考えようと思います。いいですか。

○大倉課長補佐 はい。いわゆると畜場に入るものとしては、表24の健康畜のほうがあるかと思いますが、そちらに関しては、また農水省に相談をさせていただきたいと思います。

○吉川座長 大分議論をいただきましたけれども、今は発生評価のところ、先ほどの機

序のところはもう一回、事務局と池先生と話し合っ、て、さっきの図も非常にわかりやすいので、場合によつたら参考資料のところにあの図を入れて、どこがどう修飾されていると、いうのを解説につけても悪くはない気がします。

○池専門参考人 それから、この前も少し事務局が指摘されましたが、39ページの2の(1)の①の実験の件です。これは整理されたほうがいいかもしれません。疫学的なデータにより二成分調節系の突然変異により恒常的な耐性変異株が出てくる可能性がある。

○大倉課長補佐 それは今いただいた御修文とともに、また御相談をさせていただきたいと思、います。

○吉川座長 発生評価のところ、で、ほかにございますか。先に行っ、て、また関連してくる、ところもあるかもしれないので、とりあえず発生評価の次の暴露評価のところをお願い、します。

○大倉課長補佐 それでは、47ページから「IV. 暴露評価に関する知見」で整理をさせて、いただいております。暴露評価は指針に基づきまして、ヒトがハザードに暴露され得る経、路を明らかにするとともに、各経路でのハザードの増加または減弱の程度を推定し、畜産、食品を介してハザードの暴露を受ける可能性及びその程度を評価するものでござい、まして、その範囲は牛、豚、鶏が農場を出てから、ヒトがこれを摂取するまでというところ、でござ、います。

まず初めに「1. 牛、豚及び鶏由来食品の消費量」ということで、農水省の食糧需給表、から出しました、2005～2014年までの牛肉、牛乳・乳製品、豚肉、鶏肉、鶏卵の消費量を、記載してあります。こちらはほかの評価書で大腸菌がハザードとなっているものとほぼ同、じ記載でござ、います。

48ページの2行目が「2. ハザードとなりうる細菌の生物学的特性」ということで、ハ、ザードとして特定した薬剤耐性大腸菌について、一般的な生物学的特性とかを記載して、おりますが、コリスチン耐性大腸菌に特異的な生物学的特性というより、一般的な大腸菌の、生物学的特性について、これまでも大腸菌がハザードになりました事例がござ、いますので、特に新しい知見もないということであれば、そこの記載をそのまま使わせていただ、くとい、うことで、「(1) ハザード抵抗性、生残性及び増殖性」、「(2) 生体外(人工培地等)にお、けるハザードの生存能力と分布の状況」を記載してあります。

49ページから「(3) 牛、豚及び鶏由来の大腸菌がヒトに定着する可能性等」という、ことで、こちらはヒトの腸内細菌叢に薬剤耐性大腸菌がどの程度定着するかというこ、とを整理したところとござ、います。コリスチンに関してはなかなかデータがなかったとい、うこ、とで、過去の評価書で鶏肉由来の大腸菌がヒトに定着する可能性として、こちらに記、載したよ、うな知見を記載してあります。

まず、ボランティアに薬剤耐性大腸菌を投与したところ定着したといった文献。あとは、滅菌した食事を摂取したボランティアでは、便中の薬剤耐性大腸菌が減る。こちらはテ、トラサイクリンの耐性菌ということとござ、いました。そういった文献です。

あとは14行目以下になりますが、ブラジルの病院で経腸栄養剤を扱うヒトから分離された大腸菌と経腸栄養剤から分離された大腸菌の生物型、これはPFGEのパターンとか、そういったことなのですけれども、それが一致したということから、食品由来の大腸菌がヒトに定着するといったような知見等がございましたと記載をしております。ここに書いてありますが、過去の評価書で記載した知見でございます。このほかにももしありましたら、御意見をいただければと思います。

49ページの「(4) ヒトの常在菌又は病原菌に薬剤耐性決定因子が伝達する可能性」ということで、先ほど発生評価の中で*in vitro*での伝達について簡単に大腸菌、サルモネラ、サルモネラと大腸菌、または赤痢菌と大腸菌の間に伝達試験が実施されまして、水平伝達をした事例、しなかった事例の報告がございましたということを記載しております。今回はここで記載するような、そのほかの知見はございませんでしたという状況です。そのほかにも何か追加する知見等がございましたら、御意見をいただければと思います。

50ページが「3. 家畜及び畜産食品が農場から出荷されヒトに摂取されるまでの経路」としまして、通常記載をさせていただいておりますが、農場からと畜場等での衛生管理ガイドラインですとか、と畜場法施行規則ですとか、食鳥処理場施行規則において定められている衛生管理の基準ですとか、あとは生食用牛肉については生食用での販売提供が禁止されていること等、ヒトに摂取されるまでの経路でとられているリスク管理措置について記載しております。表30、表31は、これらの畜産食品が出荷されてからヒトに摂取されるまでの経路を図で記載しております。

52ページが「4. ハザードとなり得る当該細菌による牛、豚及び鶏由来食品の汚染状況」。

「(1) 牛、豚及び鶏由来食品がハザードとなりうる細菌に汚染される可能性」としまして、こういう経路を経てヒトにきたものですが、一般的には調理の際に十分加熱することによりハザードが排除されるものと考えられるといったようなこと。牛乳に関しても国内の牛乳の殺菌条件で処理されると排除されるといったようなことを記載しております。これもこれまでの評価書に記載をさせていただいております。

53ページからが「(2) ハザードとなりうる細菌の牛、豚及び鶏由来食品の汚染状況」でございます。こちらは表32でございますが、厚生労働省で実施している市販流通食品を対象とした食中毒菌汚染実態調査の結果の中から、牛肉、豚肉、ひき肉における大腸菌の検出状況をお示ししております。2006～2015年までデータがございます。2014年、2015年、陽性率は牛ひき肉でゼロとなっておりますが、これはそもそも検体数が2014年、2015年は4とか2とかいう状況なので、陽性率が0ということについて検体数が少なかったためと考えられるとしております。

13行目からは、では、牛肉、豚肉、ひき肉から検出される大腸菌の薬剤感受性、コリスチンに対する感受性はどうかということで表33、こちらは食品安全委員会で実施しております畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査において調査されたものでございます。こちらは2006～2008年、2014年、2015年と調査をしておりますが、コリスチンの

MICの範囲はここに記載したとおりでございます。

54ページに海外の知見としまして、デンマークで分離された食肉由来大腸菌に対するコリスチンの感受性を示しております。このほか、先ほど発生評価のところの表にも出てきました海外の報告ですと、中国では、豚肉、鶏肉由来大腸菌の *mcr-1* 遺伝子の検出率は14.9%。オランダでは、鶏肉由来のESBL産生大腸菌で検出率は2%未満といったことが報告されております。

暴露評価は以上でございます。

○吉川座長 暴露評価のところは、大半は特に今回のコリスチン耐性という形ではなくて、これまでの大腸菌で評価してきたものを引用しているというか、使っているという形で、事務局自身で大きく直したというところはないので、専門の先生方がこれに関してデータをお持ちであれば、欲しいということですが、暴露評価について何か御意見はございますか。どうぞ。

○豊福専門委員 マイナーなのですけれども、54ページの表34のタイトルが途中で切れていて、恐らくデンマークの食肉から分離された大腸菌に対するコリスチン薬剤感受性とか、そんなタイトルだと思います。

○吉川座長 わかりました。

○荒川専門委員 質問をいいですか。暴露評価は大腸菌に関するこれまでの評価の文面を踏襲されたということで、大腸菌は結構タフな菌で、鶏の腸の中や豚の腸の中にいる株も便として排泄されて堆肥みたいなものになって、それで食肉の汚染というよりも、O157などで言われているように、野菜みたいなものを汚染して、その経路を経て人間の腸の中に入ってくるというような暴露ルートは余り評価しなくていいというか、評価が難しいのか、できないというのか、O157などではかなりそこら辺が評価されていたかなと思うのですけれども、今回の *mcr-1* 産生大腸菌については、そういう経路は余り考えられないので除外してもいいということなのか。

○大倉課長補佐 経路としては考えられないというつもりはないのですが、冒頭御紹介をさせていただいたのですが、現時点では余りデータも、野菜に関しては大腸菌の分離とかもよくわからないとか、その中の薬剤感受性とかもまだデータが全くない。堆肥に関しても薬剤耐性菌とか菌そのものとかはなかなかデータがないという状況で、現在ここで使用している指針は、基本的には畜産食品を介した畜産食品ということでさせていただいておりますので、今回は評価の対象とはしなかったということを書かせていただいたところでございます。

○田村専門委員 このデータがないので、今、実際に私たちのところで堆肥の実験をやっているのですけれども、人工的に堆肥がつかれるので、そこにテトラサイクリンの耐性遺伝子を持った大腸菌の摂取するわけです。そうすると大体55℃にはなりますので、菌は死滅します。ただ、遺伝子は当然残りまして、それが環境に放出される可能性はあるということで、菌はきちんと堆肥をつくっている限りにおいては環境に行くことはないという結

論です。

○荒川専門委員 確かに中のほうは高温になります。表面とか、堆肥はどういうふうにつくるのかはよくわかりませんが、よく攪拌して、しょっちゅう混ぜ合わせて、しっかりつくれば、全体にむらなく熱がかかるので、そういう腸内細菌科の菌などはほとんど死滅して、バチルスとか、そういうのだけ残ってくるのかもしれませんが、大体うまく全体にむらなく熱がかかるようなつくり方を堆肥というのは一般的にされているという理解でいいのでしょうか。

○田村専門委員 そういうふうに理解しています。

もう一ついいですか。これは暴露評価と関係があるかもしれませんが、実は私たちの共同研究者で札幌医大の佐藤というのがEIDに最近アクセプトされた論文があります。それは先ほど言った、我々が*mcr-1*を検出したヒト由来株は514株ですけれども、それをコリスチンの薬剤感受性を調べたら4株が2 µg/mL以上だったと。それを調べてみると4株中3株がO25b:H4-ST131だったということで、このST131というのは家畜からはほとんどないので、今のところはそういう意味の伝達はないのではないかと、このデータでは考えているのですけれども、ちなみに変異は先ほど池先生が説明したPmrABのところにも点変異があったという成績です。

○荒川専門委員 そのST131はヒトでは結構出るので、ヒトの環境の汚染がそういう動物のほうに反映しているという理解でいいのですか。

○田村専門委員 そこまではわかりません。

○吉川座長 今、分析されたのは、ヒトから分離した株ですね。

○田村専門委員 ヒトの分離株です。

○荒川専門委員 牛ではなくて、ヒトですか。わかりました。

○吉川座長 この食肉以外の経路については、いつかはここで取り上げなければいけないと思いますけれども、場合によったら、そういうことをどこかに少し、データがワンヘルズなり何なりで集まってきたら、確かにO157のかいわれ大根の時代から、そういうシナリオもゼロではないということは考慮しておかなければならないので、今回の評価には多分入れても難しいと思うので、将来の問題としてという形で書いておくということでもいいですか。荒川先生。

○荒川専門委員 調べようがない、評価のしようがないというのであれば、それでいくしかないですけれども、ぜひそういう調査を研究としてやっていただけるといいかなと思います。

○吉川座長 わかりました。

このところで、ほかにございますか。特になければ、最後の影響評価のところの説明をお願いします。

○大倉課長補佐 それでは、最後の「V. 影響評価に関する知見」でございます。

影響評価では、指針に基づきまして、本評価書で検討しているハザード、薬剤耐性コリ

スチンでございますが、これに暴露されることにより起こり得るヒトの健康上の影響、コリスチンのヒト医療における重要性を考慮して、ヒトにおけるコリスチンの治療効果が減弱または喪失する可能性及びその程度を評価するということでございます。

影響評価に関しまして、55ページからです。「1. ハザードとなりうる細菌の暴露に起因して生じる可能性のあるヒトの疾病」ということで、大腸菌による暴露の結果、生じる可能性のあるヒトの疾病としては、日和見感染症、院内感染症でございます。

「(1) 発生原因及び発生状況」としましては、主に院内感染が原因ということで、JANIS、厚生労働省院内感染対策サーベイランスのデータをここに記載しております。表35でございます。血液検体分離菌では、上位3菌種に大腸菌が入ってくるということで報告がございます。大腸菌による感染症としては尿路感染症とか多岐にわたるものでございますが、尿路感染症の起因菌のうち最も頻度が高いのが大腸菌であるという報告がございます。

19行目にボックスを記載しておりますが、菅井先生から、大腸菌の場合、高齢者で誤嚥性肺炎による大腸菌がふえているので肺炎のデータを入れたらいかがでしょうかということコメントをいただいております、事務局でいろいろとデータを検討させていただいたのですが、感染症学会等のホームページも見させていただいたのですが、なかなかないという状況で、荒川先生からヨーロッパの集中治療室と呼吸器病の関連のサーベイランスの文献をいただきましたので参照138を追加させていただいております。こちらの文献ですと、ヨーロッパにおいて高齢者の人工呼吸関連肺炎起因菌として大腸菌ですとか肺炎桿菌が多く分離されているという報告がございましたので、追記をさせていただいております。

「(2) 重篤度」に関してですが、日和見感染症、院内感染症の重篤度についての報告は余りないという状況でございます。ただ、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症に関しては、感染症法に基づく感染症発生動向調査がなされておまして、こちらは参照133で、このカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の1年間の届出症例のうち死亡例が28例ということが報告されておまして、本日御欠席の砂川先生から、CRE感染症の死亡例の特徴ということで、今年の4月に感染症学会で報告された資料を提供いただきましたので、机上配付資料1として配付しております。

2枚めくっていただいた右下に小さく10と書いてあるスライドでございます。その中で死亡例の割合ということで、上位3菌種がエンテロバクター、クレブシエラ、肺炎桿菌、大腸菌ということですが、喀痰と血液の死亡例ですと大腸菌が多いという状況でございます。評価書案の9行目に「これらの死亡例においては、エンテロバクター、肺炎桿菌、大腸菌が上位菌種であったことが報告されている」ということを追記しております。

16ページの中ほどから「2. ハザードの暴露によるヒトの疾病に対するコリスチンによる治療」ということで、コリスチンの注射薬は、既存の抗菌薬では効果が期待できない場合の最終救済薬として位置づけられているということで、2015年に出された「コリスチンの適正使用に関する指針」でも、多剤耐性菌に対する治療薬として選択肢は極めて限られ

ているとされておりまして、その承認に当たりましても添付文書の中でβ-ラクタム系、フルオロキノロン系及びアミノ配糖体系の3系統の抗菌剤に耐性を示す感染症のみに使用するとといったような使用上の注意が付されるといったような適正使用のための措置が図られているといった状況でございます。

最後に「3. ヒト臨床分野におけるコリスチン耐性菌の状況等」ということで、医療分野でなかなかコリスチン耐性の出現が問題になっているという状況ではございますが、これらの多くが緑膿菌ですとかアシネトバクター、肺炎桿菌という状況で、大腸菌におけるコリスチン耐性菌の報告はなかなか限られているといった状況でございます。

56ページの32行目、現時点でヒト臨床において、*mcr-1*遺伝子により耐性を付与されたコリスチン耐性菌または*mcr-1*遺伝子以外の耐性因子によるコリスチン耐性菌に感染した場合に、治療期間の遅延や死亡事例があったとの報告はなかったとしておりますが、事務局で調べた範囲でございます。実はあるとか、そういった知見がございましたら、御意見をいただければと思います。しかしながら、医療分野ではコリスチンは最終治療薬として位置づけられているということで、コリスチン耐性菌はヒトの治療効果への影響が懸念されるといったことでございます。

大腸菌を発生母体とした多剤耐性菌による感染症として、CRE感染症がありまして、このほかに多剤耐性の緑膿菌、多剤耐性のアシネトバクターもございまして、これらの検出状況は低いという状況ではございますが、ESBL産生大腸菌に関しましては、現在、JANISでは発生頻度が高くなっているという報告もございます。

CRE感染症については1年間で1,226例の報告がございました。このうち大腸菌は141例といった報告がございます。

コリスチンはヒト医療においても、多剤耐性グラム陰性桿菌感染症の治療薬ということで、ヒトの医療分野でも非常に危機感が高いということで、こういった危機感を背景に2012年に日本環境感染症学会において「多剤耐性グラム陰性桿菌感染制御のためのポジションペーパー」がまとめられているといった状況でございます。

影響評価まで以上でございます。

○吉川座長 ありがとうございます。

影響評価は、なぜ家畜で使われていた抗生物質を再度評価しなければならないかということがはっきりわかってくるのですけれども、最後の影響評価に関する知見のことに関して幾つか、もしわかっていることがあったら教えてほしいというのが事務局の御意見です。あとは前回少し問題になった敗血症と尿路感染以外に誤嚥性を含めて呼吸器系を加えたらということで、もらったデータを含めて少し書き加えたということですが、この部分に関して御意見はございますか。いいですか。

それでは、きょうの予定はここまでで、次回に改めて、きょうの議論のところもかなり書き直し、書き足し、あるいは場合によって農水省からデータをもらうことも予定されているので、最後の総まとめのところは次回に譲りたいと思います。

その他、事務局から何かございますか。

○大倉課長補佐 特にはございません。専門委員の先生方におかれましては、暑い中、御足労をいただき、どうもありがとうございました。

次回のワーキンググループの会合は10月14日午後を予定しております。御審議いただく剤も含めまして、改めて御連絡を差し上げますので、どうぞよろしくお願いたします。

○吉川座長 本日の議事は終了ということですがけれども、先ほどの議論は十分に尽くしたと思えないところもあるし、今までと違ってコリスチンは難しいなど。データの不足も含めて、あるいはそのデータの解釈も含めてあるので、次回までにもう一回、少し頭を整理して、データをどの程度リスク評価の中に生かしていくかということも含めて、次回に検討したいと思います。

本日はどうもありがとうございました。

(了)