

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は、平成 28 年 10 月 14 日に開催された第 7 回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。

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 28 年 11 月 22 日（火）開催の食品安全委員会（第 630 回会合）の翌日、平成 28 年 11 月 24 日（木）から平成 28 年 12 月 23 日（金）までの 30 日間。

2) 受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、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、必要に応じてワーキンググループを開催し、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

2016年11月

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

目 次

	頁
○審議の経緯	4
○食品安全委員会委員名簿	4
○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専門委員名簿	5
○要 約	6
I. 評価の経緯及び範囲等	8
1. はじめに	8
2. 経緯	8
(1) 評価要請のあった飼料添加物及び動物用医薬品	8
(2) 評価の範囲	8
3. ハザードである薬剤耐性菌の考え方	9
II. ハザードの特定に関する知見	10
1. 名称及び化学構造	10
(1) 一般名	10
(2) 化学名	10
(3) 化学構造	10
(4) 有効成分の系統	10
2. 硫酸コリスチンに関する使用方法、規制、使用状況	11
(1) 硫酸コリスチンの使用方法	11
(2) 動物用医薬品に関する規制等	12
(3) 飼料添加物に関する規制等	13
(4) 硫酸コリスチンの使用状況	14
3. コリスチンの海外における評価状況等	16
(1) 米国	16
(2) 欧州連合 (EU)	16
4. 対象家畜における動物用抗菌性物質の生体内薬物動態	17
(1) 豚	18
(2) 鶏	18
5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ	19
6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布	19
(1) 抗菌スペクトル	19
(2) 家畜の病原菌に対するコリスチンの薬剤感受性	20
(3) 指標細菌及び食品媒介性病原菌に対する MIC の分布	24
7. 薬剤耐性機序及び薬剤耐性決定因子について	28
(1) グラム陰性菌の二成分調節系によるコリスチン耐性	28
(2) プラスミド上の抗菌性ペプチド (コリスチン) 耐性遺伝子	29

8. 交差耐性を生じる可能性及び医療分野における重要性	30
(1) 交差耐性	30
(2) 医療分野における重要性	31
9. ハザードの特定に係る検討	32
(1) 感染症病原菌（ヒト腸管非常在性細菌）について	32
(2) 常在菌（ヒト腸管常在性細菌）について	33
10. ハザードの特定	34
 III. 発生評価に関する知見	36
1. 畜産現場におけるコリスチン耐性の状況	36
(1) 使用農場における耐性の状況	36
(2) 畜産現場における薬剤耐性菌の発生状況	36
(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	38
2. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子の出現及び選択の可能性	38
(1) 投与又は使用による薬剤耐性菌の出現に関する調査	38
(2) 突然変異による薬剤耐性の獲得	39
(3) 薬剤耐性決定因子に関する情報	40
3. 多剤耐性等に関する知見	44
4. 使用量	44
 IV. 暴露評価に関する知見	45
1. 牛、豚及び鶏由来食品の消費量	45
2. ハザードとなりうる細菌の生物学的特性	46
(1) ハザードの抵抗性、生残性及び増殖性	46
(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	46
(3) 牛、豚及び鶏由来の大腸菌がヒトに定着する可能性等（ヒトの腸内細菌叢として定着する可能性）	46
(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	47
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	47
4. ハザードとなりうる当該細菌による牛、豚及び鶏由来食品の汚染状況	50
(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	50
(2) ハザードとなりうる細菌による牛、豚及び鶏由来食品の汚染状況	50
 V. 影響評価に関する知見	52
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	52
(1) 発生原因及び発生状況	52
(2) 重篤度	53
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	53
3. ヒト臨床分野におけるコリスチン耐性菌の状況等	53
(1) ヒト臨床分野におけるコリスチン耐性菌等の検出状況	53

(2) コリスチン耐性菌がヒトの健康に与える影響	54
VI. 食品健康影響評価	55
1. 発生評価、暴露評価及び影響評価の考え方	55
2. 発生評価について	56
(1) ハザードの出現（薬剤耐性機序、遺伝学的情報等）	56
(2) ハザードとなりうる細菌の感受性分布	56
(3) 発生評価に係るその他要因（薬物動態、使用方法、使用量等）	57
(4) 発生評価の結果	57
3. 暴露評価について	58
(1) ハザードを含む当該細菌の生物学的特性	58
(2) ハザードを含む当該細菌による食品の汚染状況	58
(3) 暴露評価に係るその他の要因（食肉処理工程、流通経路等）	58
(4) 暴露評価の結果	59
4. 影響評価について	59
(1) 当該疾病治療における重要度	59
(2) 当該疾病の重篤性	59
(3) 影響評価に係るその他要因（代替薬の状況、医療分野における薬剤耐性の状況等）	59
(4) 影響評価の結果	60
5. リスクの推定について	60
(1) リスクの推定の考え方	60
(2) リスクの推定の結果	61
6. 食品健康影響評価について	61
VII. その他の考察	62
1. 薬剤耐性菌に係るモニタリングについて	62
2. リスク管理措置の徹底について	62
3. 食品健康影響評価の見直しについて	63
<別紙 検査値等略称>	64
<別紙参考資料：グラム陰性菌におけるペプチド系抗生物質に対する耐性機構>	65
1. グラム陰性菌の外膜の構造	65
2. 細菌の宿主生体への感染と宿主の抗菌性ペプチドによる自然感染防御機構	65
(1) 誘導による可逆的抗菌性ペプチド（コリスチン）耐性発現	66
(2) 二成分調節系の突然変異による恒常的抗菌性ペプチド耐性	68
<参照>	71

〈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
2016 年	6 月	18 日	関係資料の接受
2016 年	7 月	15 日	第 5 回薬剤耐性菌に関するワーキンググループ
2016 年	9 月	5 日	第 6 回薬剤耐性菌に関するワーキンググループ
2016 年	10 月	14 日	第 7 回薬剤耐性菌に関するワーキンググループ

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2011 年 1 月 6 日まで)	(2012 年 6 月 30 日まで)	(2015 年 6 月 30 日まで)
小泉 直子（委員長）	小泉 直子（委員長）	熊谷 進（委員長）
見上 彪（委員長代理*）	熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理）
長尾 拓	長尾 拓	山添 康（委員長代理）
野村 一正	野村 一正	三森 国敏（委員長代理）
畑江 敬子	畑江 敬子	石井 克枝
廣瀬 雅雄	廣瀬 雅雄	上安平冽子
村田 容常	村田 容常	村田 容常
*：2009 年 7 月 9 日から	*：2011 年 1 月 13 日から	

（2015 年 7 月 1 日から）

佐藤 洋（委員長）
 山添 康（委員長代理）
 熊谷 進
 吉田 緑
 石井 克枝
 堀口 逸子
 村田 容常

〈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専門委員名簿〉

吉川 泰弘（座長）

田村 豊（座長代理）

浅井 鉄夫

佐々木 一昭

荒川 宜親

菅井 基行

今田 千秋

砂川 富正

植田富貴子

戸塚 恭一

甲斐 明美

豊福 肇

〈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5回）専門参考人〉

池 康嘉

〈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）専門参考人〉

池 康嘉

〈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7回）専門参考人〉

池 康嘉

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硫酸コリスチンが飼料に添加され家畜に給与された場合及び硫酸コリスチンが動物用医薬品として家畜に投与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」（平成 16 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。

硫酸コリスチンは、国内の家畜（牛、豚及び鶏）に対して 1950 年代から使用されているポリペプチド系抗生物質である。一方、ヒト医療においては、腎機能障害等の発現頻度の高さや他の抗菌薬の開発等により、注射剤は発売が中止されていたが、近年多剤耐性グラム陰性桿菌感染症が臨床的な問題となったことを背景に注射用コリスチンメタンスルホン酸製剤が 2015 年に再発売された。

グラム陰性菌のコリスチンに対する耐性機構としては、従来、染色体上の遺伝子が関与する二成分調節系による耐性機構が知られていたが、2015 年に中国においてプラスミド上にコリスチン耐性に関与する遺伝子（*mcr-1*）を保有する大腸菌が報告された。国内の家畜から採取された大腸菌及びサルモネラについては、2000～2015 年のモニタリング結果から、コリスチンに対する感受性は概ね維持されていると考えられた。一方で、これらの細菌から *mcr-1* 遺伝子保有株が検出された。

硫酸コリスチンの家畜に使用することにより選択される薬剤耐性菌であり、ヒトが牛、豚及び鶏由来の畜産食品を介してその薬剤耐性菌に起因する感染症を発症した場合に、ヒト用抗菌性物質による治療効果が減弱又は喪失する可能性のある感染症の原因菌として、サルモネラ及び大腸菌がハザードの検討対象とされた。しかしながら、サルモネラについては薬剤感受性等の報告が限られており、現時点でリスク評価を行うための知見が十分にあるとは言えないことから、比較的知見がある大腸菌についてリスク評価を行った。

家畜に硫酸コリスチンが使用された場合に、薬剤耐性大腸菌が選択される可能性及びその程度（発生評価）は、国内では 2007 年に分離された病豚由来大腸菌で *mcr-1* 遺伝子保有株が報告され、2015 年に分離された健康家畜由来大腸菌の同遺伝子保有率は 2.0%であった。*mcr-1* 遺伝子は大腸菌間又は他の腸内細菌科細菌との間で伝達することが示されているが、現時点で細菌が *mcr-1* 遺伝子を保有することの適応負担（fitness cost）等について不明な点も多く、コリスチンの使用量、耐性に関与する遺伝子等の動向について継続的な情報収集により注意を払う必要があり、ハザードが選択される可能性の程度は中等度と考えた。

ヒトが畜産食品を介して薬剤耐性菌の暴露を受ける可能性及びその程度（暴露評価）は、大腸菌は食肉で生存が可能であることからヒトが食品を介して薬剤耐性大腸菌に暴露される可能性はあるものの、家畜由来食品から採取された大腸菌からコリスチン耐性株はほとんど分離されず、また、これらの食品が適切に加熱調理される限りにおいて、その程度は低度と考えた。

ヒトにおける治療効果が減弱又は喪失する可能性（影響評価）は、医療分野におけるコリスチンの現状を総合的に考慮すると、その程度は高度と考えた。

以上のことから、硫酸コリスチンが、動物用医薬品又は飼料添加物として家畜に使用さ

れた結果としてハザードが選択され、これらの家畜由来の畜産食品を介してヒトがハザードに暴露され、ヒト用抗菌性物質による治療効果が減弱又は喪失する可能性は否定できず、総合的にリスクを推定した結果、リスクの程度は中等度であると考えた。

大腸菌については、*mcr-1* 遺伝子を始めとした新たな耐性機構及びその影響については、国際的にもいまだ十分な情報が得られていないと考えるため、国内外における検討状況等を含め新たな科学的知見・情報の収集が必要である。

I. 評価の経緯及び範囲等

1. はじめに

本評価は、農林水産省から要請があった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について、「当該飼料添加物及び動物用医薬品を使用することにより選択される薬剤耐性菌を介した影響」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」（平成 16 年 9 月 30 日食品安全委員会決定。以下「評価指針」という。）（参照 1）に基づき行うものである。

2. 経緯

（1）評価要請のあった飼料添加物及び動物用医薬品

2003 年 12 月 8 日に、農林水産省から、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。）第 2 条第 3 項の規定に基づき飼料添加物として指定されている抗菌性物質について、それらが飼料添加物として飼料に添加され、家畜等に給与された場合及び医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律¹（昭和 35 年法律第 145 号。以下「医薬品医療機器等法」という。）第 14 条第 1 項の規定に基づき承認されている動物用医薬品の主成分のうち飼料添加物として指定されている抗菌性物質と同一又は同系統で薬剤耐性の交差が認められる抗菌性物質が医薬品医療機器等法及び獣医師法（昭和 24 年法律第 186 号）の規定に従い動物用医薬品として家畜等に投与された場合に、選択される薬剤耐性菌について食品健康影響評価の要請がなされた。

（2）評価の範囲

本評価書は、[I. 2.（1）]の評価対象飼料添加物及び動物用医薬品に係る食品健康影響評価のうち、「硫酸コリスチンを家畜に使用することにより選択される薬剤耐性菌が食品を介してヒトに伝播し、ヒトが当該細菌に起因する感染症を発症した場合に、ヒト用抗菌性物質による治療効果が減弱又は喪失する可能性及びその程度」について評価を行ったものである。

評価対象抗菌性物質は、牛、豚及び鶏の飼養過程において使用されることから、評価指針に基づき、評価の対象を「牛、豚及び鶏由来の畜産食品」が介在する場合のものとした。

なお、水等の環境を介した薬剤耐性菌に関する評価については、様々な要因が複雑に絡み合う難しい問題であり、現時点で詳細な情報及び知見の集積がされているとは言えないことから評価の対象としなかった。

¹ 薬事法は平成 26 年 11 月 25 日に医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律に改正された。

3. ハザード²である薬剤耐性菌の考え方

薬剤耐性菌とは、抗菌性物質等の薬剤に対して感受性を示さない（薬剤が効かない）性質を持つ菌である。対象菌が薬剤に対して発育できるかどうかを判断する最小発育阻止濃度（MIC）が、「耐性」のブレイクポイント（耐性限界値）よりも大きい場合では、その薬剤に対して耐性であると判断される。

薬剤耐性菌の判断基準となるブレイクポイントは、以下に示すようにいくつかの異なる考え方に基づき設定されたものが存在しており、各知見によって、薬剤耐性率の判断基準は異なっている場合がある。

したがって、本評価書においては、ある一定のブレイクポイントを基準とする薬剤耐性菌を定義して評価することは困難であると考えられることから、評価に用いた各知見で採用しているブレイクポイントを明確にした上で薬剤耐性率等のデータを検討し、薬剤耐性菌のリスクについて総合的に評価することとする。

なお、ブレイクポイントの設定に当たっては、薬剤感受性が低下しているだけでもヒトの治療に支障をきたす可能性があることが報告されていることから、米国の臨床検査標準協会（CLSI）等においては、抗菌性物質のブレイクポイントについて薬剤低感受性も考慮すべきであるとの議論がある。しかしながら、薬剤低感受性を考慮したブレイクポイントについて、これまでのところ十分な科学的知見が集積されていないため、薬剤低感受性については、現時点での評価は困難であり、今後、科学的知見の収集に努める必要があると考えられる。

○ CLSI のおけるブレイクポイント

国際的に多く利用されているブレイクポイントであり、細菌の実測 MIC と抗菌性物質の血中濃度から、感性（S）、中間（I）、耐性（R）のカテゴリーに分類されている。しかし、CLSI におけるブレイクポイントは、米国の用法・用量を基準として設定されたものであるため、日本における抗菌性物質使用の実態とやや異なっている場合がある。

○ 日本化学療法学会のブレイクポイント

感染症に対する抗菌性物質の臨床効果が 80%以上の有効率で期待できる MIC として感染症・感染部位別にブレイクポイントが設定されている。これまでに呼吸器感染症、敗血症及び尿路感染症のブレイクポイントが提案されている。

○ 細菌学的（疫学的）ブレイクポイント

同一の菌属又は菌種の菌株を多数収集して MIC を測定し、その分布が二峰性を示した場合にその中間値をブレイクポイントとするという設定方法である。我が国の家畜衛生分野における薬剤耐性モニタリングシステム（JVARM）では、CLSI のブレイクポイントを判断基準とするほか、CLSI で規定されていない薬剤については、この細菌学的（疫学的）ブレイクポイントを耐性か感性かの判断基準としている。

² ハザードとは、ヒトに対する危害因子（リスク要因）であり、本評価では、硫酸コリスチンを家畜に使用した結果として選択される薬剤耐性菌をいう。

II. 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：硫酸コリスチン

英名：Colistin sulfate

(参照 2)

(2) 化学名

CAS 番号：1264-72-8

(参照 2)

(3) 化学構造

硫酸コリスチン A

化学式： $C_{53}H_{100}N_{16}O_{13} \cdot 2.5H_2SO_4$

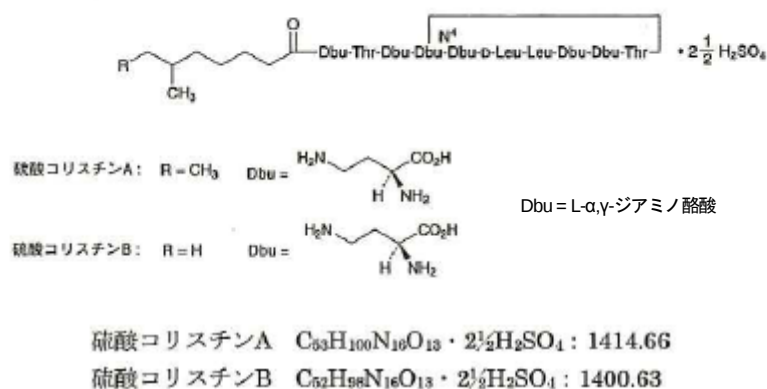
分子量：1414.66

構造式：

硫酸コリスチン B

化学式： $C_{53}H_{98}N_{16}O_{13} \cdot 2.5H_2SO_4$

分子量：1400.63



(参照 2)

(4) 有効成分の系統

コリスチン³は、*Bacillus polymyxa* var. *colistinus* の培養により得られた抗菌活性を有するポリペプチド系化合物であり、コリスチン A とコリスチン B を主成分とする混合物の硫酸塩である。コリスチンは別名としてポリミキシシン E とも記述される。

1950 年に日本でその抗菌活性について報告された。(参照 3)

国内においては、動物用医薬品及び飼料添加物として硫酸塩である硫酸コリスチンが承認・指定されている。

現在、製造販売元あるいは販売元としてコリスチン製剤を流通させているメーカーは後発メーカーであり、本製剤の国内での最初の販売開始時期を特定することができ

³ 本評価書では、動物用医薬品及び飼料添加物の成分を示す場合には「硫酸コリスチン」、抗菌性物質としてのコリスチンを示す場合には「コリスチン」を用いることとした。

ない。なお、コリスチン製剤は 1958 年から家畜に使用されたとの文献がある。(参照 4)

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菌性物質には、亜鉛バシトラシン、エンラマイシン、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、硫酸コリスチン及びチオストレプトンがある。動物用医薬品の硫酸コリスチン製剤の使用に当たっては、月齢制限（豚：4 か月齢以下、牛：6 か月齢以下）が定められている。

ヒト用のポリペプチド系抗菌性物質としては、バシトラシン、コリスチン、ポリミキシン B、ダプトマイシン及び注射用コリスチンメタンスルホン酸がある。ダプトマイシンは、抗 MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）薬として主に静脈内投与により菌血症に適応されている。バシトラシン、コリスチン及びポリミキシン B は腸管からの吸収性が乏しく、また、注射用コリスチンメタンスルホン酸は腎機能障害や神経毒性の発現頻度が高いことや代替薬があったこと等から 1970 年代以降は国内では使用されなくなり、コリスチンは主に軟膏剤、顆粒剤、散剤等の剤形で外用薬又は局所や腸管内の抗菌薬として承認されてきた。しかし、近年増加傾向が見られる多剤耐性を獲得したグラム陰性桿菌による感染症の治療薬として、2015 年 3 月 26 日、コリスチンメタンスルホン酸ナトリウムの製造販売が再承認された。注射用コリスチンメタンスルホン酸はコリスチンの誘導体であり、生体内でコリスチンに代謝されて抗菌活性を発揮する。その適応は、コリスチンに感性を示し、かつ、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 系統の抗菌薬に耐性を示す大腸菌、シトロバクター、クレブシエラ、エンテロバクター、緑膿菌及びアシネトバクターによる各種感染症である。(参照 5)(参照 6)(参照 7)(参照 8)(参照 9)

2. 硫酸コリスチンに関する使用方法、規制、使用状況

(1) 硫酸コリスチンの使用方法

評価対象となる硫酸コリスチンの使用方法等の詳細は、表 1 のとおりである。

表 1 硫酸コリスチンの使用方法等

対象家畜	牛 (6 月齢以下)	牛 (ほ乳期)
種別	動物用医薬品	飼料添加物
投与経路	飲水添加	飼料添加
有効菌種	大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター、緑膿菌	
適応症	細菌性下痢症	
用法・用量/ 添加量	2～5 mg/kg 体重/ 日	20 g/t

使用禁止期間	食用に供するため にと殺する前 3 日 間	食用に供するため にと殺する前 7 日 間		
対象家畜	豚 (4 月齢以下)	豚 (4 月齢以下)	豚 (ほ乳期)	豚 (子豚期)
種別	動物用医薬品		飼料添加物	
投与経路	飲水添加	飼料添加	飼料添加	
有効菌種	大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター、 緑膿菌			
適応症	細菌性下痢症			
用法・用量/ 添加量	4～10 mg/kg 体重/ 日	40～200 g/t	2～40 g/t	2～20 g/t
使用禁止期間	食用に供するためにと殺する前 3 日間		食用に供するためにと殺する前 7 日間	
対象家畜	鶏（ブロイラーを 除く） (幼すう)	鶏（ブロイラーを 除く） (中すう)	鶏（ブロイラー） (前期)	鶏（ブロイラー） (後期)
種別	飼料添加物			
投与経路	飼料添加			
添加量	2～20 g/t			
使用禁止期間	食用に供するためにと殺する前 7 日間			

(飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令及び硫酸コリスチン製剤添付文書より)

注 1：飼料用添加物の対象家畜について、

- ・牛用：ほ乳期用（生後おおむね 3 月以内の牛用飼料）
- ・豚用：ほ乳期用（体重がおおむね 30kg 以内の豚用飼料）、子豚期用（体重がおおむね 30kg を
超え 70kg 以内の豚（種豚育成中のものを除く。）用飼料）
- ・鶏（ブロイラーを除く。）用：幼すう用（ふ化後おおむね 4 週間以内の鶏用飼料）、中すう用（ふ
化後おおむね 4 週間を超え 10 週間以内の鶏用飼料）
- ・ブロイラー用：前期用（ふ化後おおむね 3 週間以内のブロイラー用飼料）、後期用（ふ化後おお
むね 3 週間を超え食用としてと殺する前 7 日までのブロイラー用飼料）

注 2：うずら用は鶏用に準じて使用されている。

（2）動物用医薬品に関する規制等

抗菌性物質を含有する動物用医薬品は、医薬品医療機器等法に基づき要指示医薬品に指定されており、獣医師等の処方せん又は指示を受けた者以外には販売してはならないとされている。また、獣医師法により獣医師が要指示医薬品を投与したり、指示書を発行したりする際には自ら診察を行わなければならないとされており、それらの動物用医薬品の使用には必ず専門家としての獣医師の関与が義務付けられている。

硫酸コリスチン製剤について、添付文書に記載すべき事項として共通して設定されている「使用上の注意」は以下のとおりである。

- ① 本剤は要指示医薬品であるので、獣医師等の処方せん・指示により使用すること。
- ② 本剤は効能・効果において定められた適応症の治療にのみ使用すること。

- ③ 本剤は定められた用法・用量を厳守すること。
- ④ 本剤の使用に当たっては、治療上必要な最小限の期間の投与に止めることとし、週余にわたる連続投与は行わないこと。
- ⑤ 本剤は、「使用基準」の定めるところにより使用すること。

また、生産者及び獣医師等による動物用抗菌性物質製剤の慎重使用の徹底に関して、農林水産省から 2013 年に「畜産物生産における動物用抗菌性物質製剤の慎重使用に関する基本的な考え方」が公表されている。(参照 10)

(3) 飼料添加物に関する規制等

① 対象飼料及び添加量

硫酸コリスチンは、飼料安全法第 2 条第 3 項の規定に基づき、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を用途として 1976 年に飼料添加物に指定された。製剤の成分規格及び製造の基準、使用方法等については、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）において定められている。同省令の別表第 1 の飼料に定められた量（表 1）を添加又は混和して使用し、対象以外の家畜等に対しては使用できない。また、食用を目的としてと殺する前 7 日間の牛、豚、鶏又はうずらに使用してはならない。

② 同一飼料に添加することのできる抗菌性飼料添加物及び添加量

抗菌性飼料添加物は、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令の別表第 1 の 1 (2) において、以下の表 2 に示す四つの区分に分類されている。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とされており、硫酸コリスチンは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及びビコザマイシンとの同一飼料への併用添加はできない。

表 2 飼料一般の製造の方法の基準における同一飼料に用いてはならない抗菌性飼料添加物

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、アビラマイシン、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、ビコザマイシン、硫酸コリスチン

(飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令より)

表 2 について、各抗菌性飼料添加物の対象家畜を整理すると、硫酸コリスチンと併用可能な抗菌性飼料添加物及びその添加量は、以下の表 3 のとおりである。

表 3 飼料添加物である硫酸コリスチンと併用可能な抗菌性飼料添加物及びその添加量
(飼料 1 トン当たりの有効成分量)

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		牛 用		
		幼すう用中すう用	前期用	後期用	ほ乳期用	子豚期用	ほ乳期用	幼犊期用	肥育期用
亜鉛シトラシン	万単位	168~168	168~168	168~168	42~420	168~168	42~420	168~168	—
アピラマイシン	g/力価	25~10	25~10	25~10	10~40	5~40	—	—	—
エフロトマイシン	g/力価	—	—	—	2~16	2~16	—	—	—
エンラマイシン	g/力価	1~10	1~10	1~10	25~20	25~20	—	—	—
サリノマイシンナトリウム	g/力価	50	50	50	—	—	—	15	15
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	—	—	—	—	—
ノシヘプタイド	g/力価	25~10	25~10	25~10	25~20	25~20	—	—	—
バージニアマイシン	g/力価	5~15	5~15	5~15	10~20	10~20	—	—	—
フラボフォスフォリポール	g/力価	1~5	1~5	1~5	2~10	25~5	—	—	—
モネンシンナトリウム	g/力価	80	80	80	—	—	30	30	30
ラサロシドナトリウム	g/力価	75	75	75	—	—	—	—	33
リン酸タイロシン	g/力価	—	—	—	11~44	—	—	—	—
アンプロリウム・エトパペート	g	アンプロム 40~250	40~250	40~250	—	—	—	—	—
		エトパペート 256~16	256~16	256~16	—	—	—	—	—
アンプロリウム・エトパペート・スルファキノキサリン	g	アンプロム 100	100	100	—	—	—	—	—
		エトパペート 5	5	5	—	—	—	—	—
		スルファキノ 60	60	60	—	—	—	—	—
クエン酸モランテル	g	—	—	—	30	30	—	—	—
デコキネート	g	20~40	20~40	20~40	—	—	—	—	—
ナイカルキシ	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	—	—	—	—	—

(飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令より)

(4) 硫酸コリスチンの使用状況

① 動物用医薬品販売量

硫酸コリスチンを有効成分とする動物用医薬品の推定販売量を表 4 に示す。(参照 11)

動物用医薬品においては、ほぼ全てが豚に対して使用されている。

表 4 硫酸コリスチンを有効成分とする動物用医薬品の推定販売量(原末換算) (kg (力価))

動物種	2005 年	2006 年	2007 年	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年
牛	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
豚	3,459	4,676	2,110	2,669	8,824	10,086	5,688	8,538	11,769	9,971
鶏	81	57	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	3,540	4,738	2,110	2,669	8,824	10,086	5,688	8,538	11,769	9,971

② 飼料添加物使用量

硫酸コリスチンの特定添加物検定合格数量及び登録特定飼料等製造業者による特定添加物の製造数量について、畜種別の推計を表 5 に示す。農林水産省からの報告によると、硫酸コリスチンは、推計として豚に 7 割、鶏に 2 割、牛に 1 割程度使用されている。

表 5 硫酸コリスチンの特定添加物検定合格数量及び登録特定飼料等製造業者による特定添加物の製造数量 (kg (力価))

動物種	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
牛	3,134	2,454	2,009	1,973	2,111	2,238	2,218	2,432	2,223	1,606	2,778
豚	22,519	17,631	14,434	14,172	15,169	16,080	15,935	17,469	15,971	11,539	19,447
鶏	5,991	4,690	3,840	3,770	4,035	4,278	4,239	4,647	4,249	3,069	5,556
合計	31,644	24,774	20,283	19,914	21,316	22,596	22,392	24,548	22,442	16,214	27,782

注：畜種別数量は、各年の合計数量に 2015～2016 年の畜種別推定割合を当てはめて算出。

③ 対象家畜への使用量

海外と比較するために、農林水産省において、①及び②の使用量並びに欧州で使用されている畜種別に設定された生体重又はと畜時体重等を用いて算出した個体数調整単位 (PCU : population correction unit) ⁴ (表 6) から推計した、硫酸コリスチンの使用量を表 7 に示す。

⁴個体数調整単位 (population correction unit) : ある動物集団の大きさを表すため、各畜種の飼養頭数と 1 頭当たり重量の積を合計したもの。各加盟国の動物集団の大きさを飼養頭数等 (量) で補正することにより、加盟国間で動物用医薬品の使用量を比較するために EMA が開発した指標。(参照 189)

表 6 畜種別 PCU 値 (1,000 t)

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
肉用牛	520	515	511	523	519	515	497	507	502	490
乳用牛	703	695	677	652	638	631	623	616	605	593
豚	1,271	1,271	1,277	1,271	1,328	1,282	1,282	1,306	1,317	1,266
肉用鶏	607	622	623	630	635	634	617	650	654	661
合計	3,101	3,103	3,088	3,076	3,120	3,062	3,019	3,079	3,078	3,010

注 1：豚は繁殖用雌豚を含む。注 2：2005 及び 2010 年は母豚のデータがないことから、2005 年は 2006 年、2010 年は 2011 年のデータを代入。

表 7 硫酸コリスチンの使用量 (mg/PCU (t))

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
硫酸コリスチン	11.3	9.5	7.3	7.3	9.7	10.7	9.3	10.7	11.1	8.7

3. コリスチンの海外における評価状況等

(1) 米国

欧州医薬品庁 (EMA) の報告書において、米国では、家畜に対しコリスチン製剤は使用されていないと報告されている。(参照 12)

なお、米国食品医薬品庁 (FDA) は、ポリミキシン B を含むヒトの医療において重要な抗菌性物質について、生産目的 (家畜の成長促進又は飼料利用効率の改善) での使用を不適切とする見解を示している。移行期間の混乱を避けるため、動物用医薬品業界に対して、2016 年末までに既存承認抗菌性物質について生産目的での使用を自主的に取り下げよう推奨し、その経過についての報告を要請しており、それ以後は業界の対応状況を評価した上で法に基づく更なる措置を検討することとしている。(参照 13)

(2) 欧州連合 (EU)

EU では、飼料添加物に関する改正法令 (EC) No 1831/2003 の導入により、2006 年から抗菌性飼料添加物の区分が廃止されたことを受けて、家畜の成長促進目的での使用が禁止されている。(参照 14)(参照 15)

EU において硫酸コリスチンは、牛、豚、鶏等の群の消化器疾患の治療と予防のための経口投与剤及び消化器疾患の治療のための飲水投与剤が承認販売されている。(参照 16)

EMA では、2013 年に動物に抗菌性物質を使用することの公衆衛生及び動物衛生への影響について欧州委員会からの評価要請を受け、コリスチンについての評価を行った。(参照 17)(参照 18) その後、2015 年にプラスミド媒介性の *mcr-1* 遺伝子を保有するコリスチン耐性菌が中国において報告されたことから、2016 年に再評価を行った。その概要は以下のとおり。(参照 12)

EU の獣医領域において、コリスチンは 1950 年代から使用されており、近年の報

告によると、豚又は子牛の飼養に使用される抗菌性物質の 30 又は 15%をコリスチンが占めている。2013 年の EU における動物用医薬品の販売量報告によると、コリスチンの販売量は 495 トンで、テトラサイクリン、ペニシリン、スルホンアミド及びマクロライドに次いでいる。販売されるコリスチンの 99.7%は経口投与剤である。また、販売量はコリスチンの全販売量の 10%未満であるが、いくつかの加盟国においてはコリスチンとの配合剤も承認されている。

EU においては、2014 年から動物（鶏及び七面鳥）におけるサルモネラと指標細菌としての大腸菌の義務的なモニタリングが行われており、このデータが今後のベースラインとなる。サルモネラ及び大腸菌における「微生物学的」耐性の判定を、MIC > 2 mg/L とすると、肉用鶏及び七面鳥由来大腸菌の耐性率は 0.9 及び 7.4%、同由来サルモネラの耐性率は 8.3 及び 2%であった。

コリスチンの使用量は加盟国により大きく異なっており、1 mg/PCU 未満の国（デンマーク、英国等）がある一方で、20～25 mg/PCU の国（イタリア及びスペイン）がある。ヒト医療分野における重篤な患者の治療手段としてのコリスチンの重要性が急速に増していることを考慮し、全ての加盟国が可能な限りコリスチンを含むポリミキシン類の使用を減らす方向に進むべきである。動物用コリスチンの販売を最小限に抑え、動物における使用を最後の手段としての治療のみにまで低減し、より厳格な国家目標、理想的には 5 mg/PCU より低い、例えば望ましいレベルとして 1 mg/PCU 以下にすべきである。コリスチンの使用の低減を、他のタイプの抗菌性物質の使用増加によって補うべきではない。代わりに、営農条件、生産サイクル間におけるバイオセキュリティ及びワクチン接種の改善等の他の措置によってコリスチン使用を低減すべきである。

更に、コリスチンを再分類し、抗菌性物質アドバイス専門家グループ（AMEG）分類システムのカテゴリー2 に加えるべきである。当該カテゴリーには、有効な代替薬が存在しない動物の感染症を治療するために確保される医薬品等が含まれ、世界保健機関（WHO）がヒトの健康にとって非常に重要と記載している特定のクラスの抗菌性物質が含まれる。

4. 対象家畜における動物用抗菌性物質の生体内薬物動態

コリスチンについては、2008 年に食品安全委員会において ADI の設定に係る食品健康影響評価が行われているほか、EMA、JECFA において主に硫酸コリスチンの試験データから評価が行われている。それらの報告によると、硫酸コリスチン製剤を使用対象動物である牛、豚及び鶏に定められた投与経路である経口投与を行ったとき、消化管からの吸収は極めて低く、生体内に蓄積されることなく、短時間で速やかに体内から消失すると判断される。（参照 19）

このため本評価書では、過去の評価等の中から経口投与における消化管内へのコリスチンの分布等に関する試験を抜粋して記載した。

(1) 豚

- ① 子豚 (Landrace×Large Yorkshire 1 代雑種、4 週齢、体重 4.8～7.6 kg、8 頭) に、蒸留水で溶解した硫酸コリスチン 25 又は 50 mg (力価) /kg 体重を食道内に注入投与し、2、4、8 及び 16 時間後に採取した消化器内容物をオートバイオグラフィーを用いて分析した。

胃、十二指腸及び空腸の内容物では投与 2 時間後に最高濃度を示し、時間の経過とともに減少し、16 時間後には検出限界未満となった。盲腸、結腸及び直腸の下部に移行するにしたがって、内容物中の濃度は時間の経過とともに増加し、16 時間後に両投与群とも最高値 (25 mg 投与群 (盲腸) : 26 µg (力価) /g、50 mg 投与群 (直腸) : 45 µg (力価) /g) を示した。(参照 20)

- ② 子豚 (Landrace×Large Yorkshire 1 代雑種、8 週齢、体重 11～22.5 kg、6 頭/投与群) を硫酸コリスチン添加 (0.7、2 又は 6 µg (力価) /g) 飼料で飼育し、添加飼料による飼育開始 1、2、4、6、10 及び 16 週間後に採取した消化器内容物をオートバイオグラフィーを用いて分析した。

0.7、2 又は 6 µg (力価) /g の各投与群の胃内容物から、それぞれ痕跡～1.4 µg (力価) /g、1.9～3.5 µg (力価) /g、6.7～9.3 µg (力価) /g の硫酸コリスチンが検出されたが、その他の消化管内容物からの検出量は 1.2 µg (力価) /g 以下であった。(参照 20)

- ③ ノトバイオト子豚 (平均体重 2.5 kg、7 頭) に硫酸コリスチン添加 (40 mg (力価) ⁵) ミルクを 1 回給与後、経時的に消化管内容物を採取した。

腸内容物中での最高濃度は、胃及び十二指腸で投与 2 時間後 (925 µg/g、312.5 µg/g)、盲腸、結腸及び直腸で 16 時間後 (193.8 µg/g、162.5 µg/g、181.3 µg/g) であった。検出持続時間は上部消化管では 2～6 時間まで、下部消化管では 6～48 時間以上観察された。(参照 21)

(2) 鶏

卵用鶏 (Single-combs White Leghorn 雌、6 か月齢、平均体重約 1 kg、5 羽/投与群) に、蒸留水で溶解した硫酸コリスチン 25 又は 50 mg (力価) /kg 体重を食道内に注入投与し、投与 1、2、4、6 及び 8 時間後に採取した消化管内容物をオートバイオグラフィーを用いて分析した。

消化管内容物における硫酸コリスチン相当量の推移は両投与群とも同様で、そ嚢及び筋胃において 1 時間後、小腸、盲腸及び直腸において 6～86 時間後に最高濃度を示した。(参照 20)

⁵ 40 g/t (力価) のことと思われる。

5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ

2015 年に日本化学療法学会コリスチンの適正使用に関する指針改訂委員会によって公表された、「コリスチンの適正使用に関する指針－改訂版－」において、コリスチンの作用機序が整理されている。その概要は以下のとおり。

コリスチンは陽性荷電と疎水性を示す抗菌薬であり、細菌の外膜に強く結合し、膜に存在するカルシウム・マグネシウムを置換することにより抗菌活性を発揮する。コリスチンは、濃度依存的かつ強力な短時間殺菌作用が特徴であり、一部のグラム陰性菌に対して強い抗菌活性を有する。また、ポリミキシン B はコリスチンとアミノ酸が 1 分子異なるだけであり、基本的にその作用機序は同じと考えられている。(参照 9)

6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布

(1) 抗菌スペクトル

表 8 に示すように、コリスチンは、大腸菌、サルモネラ、ボルデテラ及び緑膿菌等のグラム陰性菌に強い抗菌力を示す。

なお、同じグラム陰性菌であるプロテウス、ブルセラ及びセラチアに対する抗菌力はない。(参照 9)

グラム陽性菌、スピロヘータ、マイコプラズマ及び真菌に対してはほとんど効果を示さない。

表 8 標準株及び代表株に対するコリスチンの薬剤感受性試験

菌 種	株 名	MIC (mg/L)	添付文献
グラム陰性菌			
<i>Escherichia coli</i>	ATTC23564	0.2	(参照 22)
	ATTC25922	0.5～2	(参照 23)
	NIHJJC-2	1.56	(参照 24)
<i>Salmonella</i> spp.	因子血清作製用標準株 95 株	0.1～1.6	(参照 25)
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	ATTC 4617	0.5	(参照 26)
<i>Pasteurella multocida</i>	Kobe 5	1.6	(参照 27)
<i>Brucella suis</i>	ATCC 23444T	17.5*	(参照 28)
<i>Serratia marcescens</i>	臨床分離 102 株	1～>128	(参照 29)
<i>Proteus mirabilis</i>	臨床分離 78 株	16～>128	(参照 29)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	0.5～2	(参照 23)
グラム陽性菌			
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC29213	64～128	(参照 23)
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC29212	≥256	(参照 23)

*: ポリミキシン B の MIC

(2) 家畜の病原菌に対するコリスチンの薬剤感受性

硫酸コリスチン製剤の適応症は牛又は豚の細菌性下痢症であり、有効菌種はサルモネラ、カンピロバクター、大腸菌及び緑膿菌である。(参照 30)

病原性を有する大腸菌による疾病として、牛では乳房炎や子牛の下痢、豚では大腸菌性下痢症（新生期下痢症、離乳後下痢）、大腸菌性腸管毒血症（浮腫病、脳脊髄血管症）、大腸菌性敗血症などがある。

飼料添加物については、対象とする病原菌が想定されていない。

JVARM では、野外流行株の薬剤耐性調査（病畜由来細菌のモニタリング）において、動物用医薬品の事故防止・被害対応業務において収集した病性鑑定由来細菌の薬剤感受性を調査している。

① 牛由来病原菌に対するコリスチンの MIC

国内における病牛由来の病原菌（有効菌種）に対するコリスチンの MIC は表 9 のとおりである。

2008～2014 年に病性鑑定由来材料から分離されたサルモネラに対するコリスチンの MIC 範囲、MIC₅₀及び MIC₉₀に大きな変動は認められていない。

表 9 国内における病牛から分離された有効菌種に対するコリスチンの MIC

菌種	分離年	菌株数	由来	MIC 範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	参考文献
<i>E. coli</i>	2001～2004	57	大腸菌症	>16 (12.1%)	1	8	(参照 31)
	2006	106	乳房炎	0.5～4	1	2	(参照 32)
	2013	57	病性鑑定	$\leq 0.125 \sim >16$	0.5	4	(参照 33)
	2014	45	病性鑑定	$\leq 0.125 \sim >16$	0.5	4	(参照 33)
<i>E. coli</i> O157:H7(H-)	— ¹⁾	102	— ^{1),2)}	0.39～1.56	0.39	— ¹⁾	(参照 34)
<i>E. coli</i> (VTEC ³⁾)	1994～1997	35 ⁴⁾	罹患子牛・健康子牛	$\leq 0.2 \sim 0.39$	0.39	0.39	(参照 35)
<i>E. coli</i> O157:H7 (VTEC ³⁾)	2001～2003	100	乳牛 ²⁾	0.25～16	0.5	0.5	(参照 36)
<i>S. Typhimurium</i>	— ¹⁾	120	— ^{1),5)}	0.39～12.5	0.78	— ¹⁾	(参照 34)
<i>S. Enteritidis</i>	— ¹⁾	100	— ^{1),5)}	0.20～12.5	0.78	— ¹⁾	(参照 34)
<i>Salmonella</i> spp.	2001～2002	82	病畜・健康家畜	0.5～64	1	2	(参照 37)
	2008	73	病性鑑定	1～8	1	2	(参照 33)
	2009	84	病性鑑定	1～8	2	2	
	2010	94	病性鑑定	0.25～4	0.5	1	
	2011	50	病性鑑定	0.25～4	0.5	1	

	2012	82	病性鑑定	0.25～1	0.5	1	
	2013	56	病性鑑定	0.25～4	0.5	1	
	2014	63	病性鑑定	0.25～2	0.25	1	

- 1) 記載なし。
- 2) 病牛由来かどうか不明。
- 3) Vero 毒素産生性大腸菌。
- 4) 健康な子牛由来の 2 株を含む。
- 5) 畜種不明。

国内における病牛由来の有効菌種以外の病原菌に対するコリスチンの MIC は表 10 のとおりである。乳房炎由来のクレブシエラ 34 株の検査では MIC が 32 $\mu\text{g/mL}$ を示す株が 1 株、肺炎の原因菌である *Mannheimia haemolytica* の検査では MIC が 16 $\mu\text{g/mL}$ より大きい株が 1 株あるが、コリスチンに対する感受性は概ね維持されていると考えられる。

表 10 国内における病牛から分離された有効菌種以外の病原菌に対するコリスチンの MIC

菌種	分離年	菌株数	由来	MIC 範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	参考文献
<i>Klebsiella</i> spp.	2006	34	乳房炎	0.5～32	2	4	(参照 32)
<i>M. haemolytica</i>	2001～ 2002	27	肺炎	0.25～1	0.25	0.5	(参照 38)
	2010	53	病性鑑定	$\leq 0.125 \sim$ >16	0.25	1	(参照 33)
	2011	65	病性鑑定	$\leq 0.125 \sim 8$	0.25	0.5	

② 豚由来病原菌に対するコリスチンの MIC

国内における病豚由来の病原菌（有効菌種）に対するコリスチンの MIC は表 11 のとおりである。

2008～2014 年に病性鑑定由来材料から分離されたサルモネラに対するコリスチンの MIC 範囲、MIC₅₀及び MIC₉₀に大きな変動は認められていない。(参照 33)

近年、浮腫病に罹患した豚から原因菌として分離された志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) の一部において、MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上を示す株が見られたとの報告がある。(参照 22)(参照 31)(参照 39)(参照 40) また、1991～2014 年に収集された浮腫病等に罹患した豚から採取された大腸菌では、MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上を示す株の割合は年により異なることが報告されている。(参照 41)

表 11 国内における病豚から分離された有効菌種に対するコリスチンの MIC

菌種	分離年	菌株数	由来	MIC 範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	参考文献
<i>E. coli</i>	1974～ 1980	29	大腸菌性 下痢	1.56～6.25	3.13	3.13	(参照 24)
	1989～ 1998	79	下痢症・ 子豚	$\leq 0.2 \sim 6.25$	0.39	0.78	(参照 39)
	2001～ 2004	118	大腸菌症	> 16	1	8	(参照 31)
	2013	158	病性鑑定	$\leq 0.125 \sim$ > 16	2	8	(参照 33)
	2014	115	病性鑑定	$\leq 0.125 \sim 8$	2	8	
<i>E. coli</i> (STEC ¹⁾)	1997～ 2001	57	浮腫病	$\leq 0.05 \sim 50$	0.39	25	(参照 22)
<i>E. coli</i> (VTEC ²⁾)	1996～ 1998	200	— ³⁾	0.2～25	0.39	0.39	(参照 40)
<i>Salmonella</i> spp.	2008	92	病性鑑定	0.5～8	1	2	(参照 33)
	2009	22	病性鑑定	1～2	1	2	
	2010	59	病性鑑定	0.25～4	0.5	0.5	
	2011	63	病性鑑定	0.25～4	0.5	1	
	2012	83	病性鑑定	0.25～4	0.5	1	
	2013	60	病性鑑定	0.25～32	0.5	1	
	2014	58	病性鑑定	0.125～2	0.25	1	

1) 志賀毒素産生性大腸菌。

2) Vero 毒素産生性大腸菌。

3) 記載なし。病豚かどうか不明。

国内における病豚由来の有効菌種以外の病原菌に対するコリスチンの MIC は表 12 のとおりである。MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上を示す株が認められているが、2000 年以降の報告はなかった。

表 12 国内における病豚から分離された有効菌種以外の病原菌に対するコリスチンの MIC

菌種	分離年	菌株数	由来	MIC 範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	参考文献
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	1979	24	豚の肺 ¹⁾	$< 0.2 \sim$ > 100	— ²⁾	— ²⁾	(参照 42)
	1981～ 1982	130	胸膜肺炎 病巣	$\leq 0.2 \sim 1.6$	≤ 0.2	0.4	(参照 43)

	1986～ 1987	190	胸膜肺炎 病巣	0.78～12.5	3.13	3.13	(参照 44)
	1987	104	肺炎	0.78～3.12	3.12	3.12	(参照 44)
	1988～ 1989	276	胸膜肺炎	0.09～3.12	0.78	1.56	(参照 45)
	1989～ 1991	595	胸膜肺炎	$\leq 0.09 \sim$ 3.12	0.78	1.56	(参照 46)
	1999～ 2000	125	病性 鑑定	0.39～100	0.78	1.56	(参照 47)
<i>B. bronchiseptica</i>	1970	39	伝染性萎 縮性鼻炎	12.5 ³⁾	12.5 ³⁾	12.5 ³⁾	(参照 26)
	1988	20	伝染性萎 縮性鼻炎	12.5 ³⁾	12.5 ³⁾	12.5 ³⁾	(参照 48)
<i>Haemophilus parasuis</i>	1987～ 1989	174	グレーサ 一病発症、 健康、輸入 豚	0.2～ ≥ 200	3.13	6.25	(参照 49)
<i>P. multocida</i>	1979	45	肺 ¹⁾	0.4～12.5	1.56	6.25	(参照 42)
	1982～ 1985	163	肺炎豚の 肺	1.6～25	6.25	25	(参照 27)
	1987～ 1989	117	肺及び 鼻腔	0.4～12.5	1.6	6.3	(参照 50)

1) 病豚かどうか不明。

2) 記載なし。

3) Unit/mL

③ 鶏由来病原菌に対するコリスチンの MIC

鶏については、飼料添加物としての使用のみであり、対象とする病原菌が想定されていない。

国内における病鶏由来の大腸菌及びサルモネラに対するコリスチンの MIC は表 13 のとおりである。

2008～2014 年に病性鑑定由来材料から分離されたサルモネラに対するコリスチンの MIC 範囲、MIC₅₀及び MIC₉₀に大きな変動は認められていない。

表 13 国内における病鶏から分離された病原菌に対するコリスチンの MIC

菌種	分離年	菌株数	由来	MIC 範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	参考文献
<i>E. coli</i>	2012	82	大腸菌症	$\leq 0.125 \sim >16$	0.25	1	(参照 33)
	2013	96	大腸菌症	$\leq 0.125 \sim >16$	0.25	0.5	
<i>Salmonella</i> spp.	2008	57	病性鑑定	1～8	1	2	
	2009	36	病性鑑定	1～16	2	4	
	2010	33	病性鑑定	0.25～4	0.5	4	
	2011	25	病性鑑定	0.25～4	0.5	2	
	2012	32	病性鑑定	0.25～32	0.5	1	
	2013	50	病性鑑定	0.25～32	0.5	1	
	2014	51	病性鑑定	0.25～4	1	1	

(3) 指標細菌及び食品媒介性病原菌に対する MIC の分布

硫酸コリスチンを使用できる家畜は、牛、豚及び鶏であり、それらに由来する主な食品媒介性病原菌としては、グラム陰性菌である腸管出血性大腸菌、サルモネラ等がある。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。

① 国内における健康家畜由来の指標細菌及び食品媒介性病原菌の薬剤感受性

JVARM による農場における健康家畜の糞便由来の大腸菌についての調査結果を表 14 に、サルモネラについての調査結果を表 16 に整理した。(参照 51)(参照 52)(参照 53)(参照 54) サルモネラについては、2008 年以降は病性鑑定材料由来分離株について調査されており、その結果は表 9、表 11 及び表 13 に記載した。また、2012 年から農林水産省において、と畜場及び食鳥処理場におけるモニタリングが開始されており、家畜由来の大腸菌及びサルモネラについての調査結果を表 15 及び表 17 にまとめた。(参照 55) JVARM 以外の公表文献から、食鳥処理場における肉用鶏由来サルモネラに対するコリスチンの MIC を表 18 に整理した。

[Ⅱ. 3. (2)]に記載した EMA の評価書において、大腸菌に対するコリスチンの MIC が $4 \mu\text{g/mL}$ 以上のものを耐性としていることを参考にすると、2000～2015 年の JVARM における健康家畜由来株において、大腸菌に対するコリスチンの MIC が $4 \mu\text{g/mL}$ 以上を示す株は 1.0～4.7% (牛 68/3,350、豚 101/2,159、鶏 43/4,351) であった (表 23)。また、MIC 範囲、MIC₅₀及び MIC₉₀に大きな変動はなく、コリスチンに対する感受性は概ね維持されていると考えられる (表 14)。

JVARM では、牛、豚及び鶏から分離された、多様な血清型のサルモネラについて調査されている。2000～2007 年の健康家畜由来株において MIC が $4 \mu\text{g/mL}$ 以上を示す株数は 0～16.0%であった (牛 4/25、豚 0/69、鶏 28/268)。また、MIC 範囲、MIC₅₀

及び MIC₉₀に大きな変動はなく、コリスチンに対する感受性は概ね維持されていると考えられる（表 16）。

表 14 農場における健康家畜由来の大腸菌に対するコリスチンの MIC

	分離年	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
牛	菌株数	166	172	179	133	124	138	149	130
	MIC 範囲	0.39～12.5	0.5～4	0.25～4	0.5～4	0.25～8	0.5～4	0.5～8	0.5～4
	MIC ₅₀	0.78	1	1	1	1	1	1	1
	MIC ₉₀	0.78	1	1	1	2	2	2	2
豚	菌株数	147	152	136	121	136	152	126	106
	MIC 範囲	0.39～12.5	0.5～8	0.5～8	0.25～8	0.5～8	0.25～8	0.25～8	0.25～8
	MIC ₅₀	0.78	1	1	1	1	1	1	1
	MIC ₉₀	0.78	1	2	1	2	2	2	2
鶏	菌株数	307	256	216	220	251	228	225	214
	MIC 範囲	0.39～6.25	0.5～4	0.5～4	0.25～2	0.5～4	0.25～4	0.5～4	0.25～4
	MIC ₅₀	0.39	1	1	1	1	1	1	1
	MIC ₉₀	0.78	1	1	2	2	2	2	2
	分離年	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
牛	菌株数	289	265	293	273	299	240	284	216
	MIC 範囲	0.5～16	0.5～16	0.125～4	0.125～4	0.125～4	0.125～2	0.125～4	0.125～4
	MIC ₅₀	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
	MIC ₉₀	2	2	0.5	1	0.5	0.5	0.5	0.5
豚	菌株数	144	138	140	145	143	132	134	107
	MIC 範囲	0.25～32	0.25～8	0.125～4	0.125～2	0.125～4	0.125～8	0.125～4	0.125～4
	MIC ₅₀	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
	MIC ₉₀	1	4	2	0.5	0.5	1	0.5	2
鶏	菌株数	250	209	383	332	401	267	361	231
	MIC 範囲	0.5～8	0.25～4	0.125～4	0.125～4	0.125～4	0.125～4	0.125～4	0.125～4
	MIC ₅₀	1	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
	MIC ₉₀	1	2	0.5	1	0.5	0.5	0.5	0.5

注 1 : MIC の単位は $\mu\text{g/mL}$ 。

注 2 : 鶏は肉用鶏及び卵用鶏。

表 15 と畜場及び食鳥処理場における家畜由来大腸菌に対するコリスチンの MIC

	分離年	2012	2013
牛	菌株数	248	341
	MIC 範囲	$\leq 0.12 \sim 2$	$\leq 0.12 \sim 4$
	MIC ₅₀	0.25	0.25
	MIC ₉₀	0.5	1

豚	菌株数	195	127
	MIC 範囲	≤0.12～4	≤0.12～2
	MIC ₅₀	0.25	0.25
	MIC ₉₀	0.5	0.5
鶏	菌株数	133	166
	MIC 範囲	≤0.12～>16	≤0.12～>16
	MIC ₅₀	0.25	00.5
	MIC ₉₀	0.5	1

注：MIC の単位は $\mu\text{g/mL}$ 。

表 16 農場における健康家畜由来のサルモネラに対するコリスチンの MIC

	分離年	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
牛	菌株数	19	4	2	0	0	0	0	0
	MIC 範囲	0.5～8	0.5	0.5					
	MIC ₅₀	1	0.5	0.5					
	MIC ₉₀	8	0.5	0.5					
豚	菌株数	29	4	2	4	8	6	9	7
	MIC 範囲	0.5～2	1～2	0.5～1	0.5～1	1	0.5～2	0.5～1	0.25～0.5
	MIC ₅₀	1	1	0.5	0.5	1	0.5	0.5	0.5
	MIC ₉₀	1	2	1	1	1	2	1	0.5
鶏	菌株数	43	14	46	16	27	35	55	32
	MIC 範囲	0.5～64	1	0.5～1	0.5～1	0.5～4	0.5～4	0.5～8	0.25～4
	MIC ₅₀	1	1	1	1	1	1	1	0.5
	MIC ₉₀	1	1	1	1	1	4	4	4

注 1：MIC の単位は $\mu\text{g/mL}$ 。

注 2：鶏は肉用鶏及び卵用鶏。

表 17 食鳥処理場における肉用鶏由来サルモネラに対するコリスチンの MIC

分離年	2012	2013
菌株数	94	118
MIC 範囲	≤0.12～2	0.25～4
MIC ₅₀	0.5	1
MIC ₉₀	2	2

注：MIC の単位は $\mu\text{g/mL}$ 。

表 18 国内における健康家畜由来のサルモネラに対するコリスチンの MIC

由来	菌株数	分離年	MIC 範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	参照番号
豚の糞便	77	1998～2000	0.39～1.56	0.78	0.78	(参照 56)
豚の糞便	67	1998～1999	0.5～2	1	1	(参照 57)(参照 58)
豚の糞便	126	2004～2005	1	1	1	(参照 57)(参照 58)

② 海外における動物由来の指標細菌及び食品媒介性病原菌の薬剤感受性

海外において報告された大腸菌及びサルモネラに対するコリスチンの MIC を表 19 に整理した。

また、[Ⅱ. 3. (2)]に記載した EMA の評価書では、コリスチンの MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上の株を耐性とした場合の、2014 年以降の肉用鶏及び七面鳥由来大腸菌の耐性率は 0.9 及び 7.4%、また、同由来サルモネラの耐性率は 8.3 及び 2%であったことが報告されている。(参照 12)

表 19 海外における家畜由来の大腸菌及びサルモネラに対するコリスチンの MIC

菌種	分離年	分離国	由来	菌株数	MIC 範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	参照番号
<i>E. coli</i>	2013	スウェーデン	牛小腸	197	0.5～2	1	2	(参照 59)
<i>E. coli</i>	2013	デンマーク	牛	103	1	1	1	(参照 60)
	2014	デンマーク		136	1～2	1	1	(参照 61)
<i>E. coli</i>	2011	スウェーデン	豚	167	>2 (0%)	— ¹⁾	— ¹⁾	(参照 59)
<i>E. coli</i>	2013	デンマーク	豚	146	1～2	1	1	(参照 60)
	2014	デンマーク		209	1～2	1	1	(参照 61)
<i>E. coli</i>	2012	スウェーデン	肉用 鶏・卵用 鶏	265	>2 (0%)	— ¹⁾	— ¹⁾	(参照 59)
<i>E. coli</i>	2013	デンマーク	鶏	125	1～8	1	1	(参照 60)
	2014	デンマーク		191	1～2	1	1	(参照 60)
<i>E. coli</i>	2013	スウェーデン	七面鳥 小腸	55	0.5～2	1	1	(参照 59)
<i>Salmonella</i> spp.	2013	スウェーデン	家畜・愛 玩動物・野生 動物 ²⁾	86	0.5～4	1	2	(参照 59)
	2013	デンマーク	豚	512	1～2	1	1	(参照 60)
	2014	デンマーク		173	1～8	1	2	(参照 61)

1) 記載なし。

2) 牛由来 23 株、豚由来 8 株、鶏由来 2 株、馬由来 2 株、イヌ由来 5 株、ネコ由来 10 株、野鳥 21 株及び野生動物由来 15 株。

7. 薬剤耐性機序及び薬剤耐性決定因子について

(1) グラム陰性菌の二成分調節系によるコリスチン耐性

生体が生産する各種抗菌性ペプチド⁶のグラム陰性菌に対する標的は、外膜のリポ多糖 (lipopolysacchhalide : LPS) であり、LPS は陰性に荷電している。細菌の通常の生育状態では、LPS の陰性荷電部位に 2 価の陽イオン (Mg^{2+}) が電氣的に結合し、電氣的に中和するとともに LPS の構造を安定化している。(参照 62)(参照 63)(参照 64) 一方で、抗菌性ペプチドは陽性荷電物質である。このため、LPS の Mg^{2+} を置換することにより LPS に結合し、その抗菌作用を発現する。LPS の陰性荷電部位への抗菌性ペプチドの親和性は、 Mg^{2+} のその 1,000 倍とされている。(参照 65)

これに対し、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、細菌遺伝学的に二成分調節系 (two-component regulatory system)⁷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) を獲得してきている。これらの機構は、コリスチンを含む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ある。(参照 63)(参照 65)(参照 66)(参照 67)(参照 68)

二成分調節系による、センサーキナーゼタンパク及び調節タンパク並びにそれらの調節遺伝子の発現による抗菌性ペプチドに対する耐性発現は、物理的・化学的な外的環境により誘導される可逆的な機構である。しかしながら、センサーキナーゼタンパク又は調節タンパクのいずれかで突然変異が起こると、恒常的に調節タンパクが活性化され、それに対応する制御遺伝子の恒常的な発現 (転写亢進) と LPS の修飾によりコリスチンを含む抗菌性ペプチドに対する恒常的な耐性が発現する。(参照 66)(参照 69)

これらの耐性機構の詳細については、【別紙参考資料】に記載した。

⁶ defensin NP-1、magainin-2、cecropin P1、melitin、mastoparan、neutrophil granule 等

⁷ 細菌における情報伝達機構 (signal transduction) の一つである。二つ (A、B) のタンパク間で可逆的なリン酸化機構を用いて制御遺伝子 C に情報伝達を行うものである。B タンパクは自己リン酸化機構 (autokinase)、リン酸基伝達機構 (phosphotransfer) 及びリン酸化機構 (phosphatase、一般的には sensor/kinase 機構) を持ち、A タンパクは B タンパクにより活性化される調節 (regulator) タンパクである。A-B により制御される制御遺伝子 C に対して制御機構を持つ。センサーキナーゼ (sensor/kinase) の B タンパクは一般的に膜タンパクとして細菌細胞膜に組み込まれており、特異的な外的環境の物理的・化学的情報を感知、反応し B タンパク自らがリン酸化される (自己リン酸化機構)。次に B タンパクのリン酸化機構 (リン酸基伝達機構、リン酸化機構) により対応する A タンパクをリン酸化する。A タンパクはリン酸化により DNA への親和性が調整され良くなる (活性化される)。リン酸化により活性化された A タンパクは A タンパクが制御する当該遺伝子 C のプロモーター領域の特異的な部位に作用 (結合) し、当該遺伝子 C の RNA ポリメラーゼによる転写を亢進させる。そして最終的に当該遺伝子 C の最終産物 (タンパク) が生産され形質が発現する。細菌にはそれぞれの菌種で多くの二成分調節系 (two-component regulatory system) が存在し、それぞれは特異的な情報に対応し特異的な当該の制御遺伝子 C (又は遺伝子群 (operon)) の発現を調節している。

図 グラム陰性菌 (*S. Typhimurium*, *E. coli*)のコリスチンを含む抗菌性ペプチド耐性に
関与する LPS 修飾物質生産遺伝子の活性化機構

(参照 66)を引用

(2) プラスミド上の抗菌性ペプチド（コリスチン）耐性遺伝子

また、ベルギーの病牛及び病豚由来大腸菌からプラスミド媒介性の *mcr-2* 遺伝子が

分離されたことが 2016 年 7 月に報告された。*mcr-1* 遺伝子にコードされる酵素 MCR-1 と *mcr-2* 遺伝子にコードされる酵素 MCR-2 のアミノ酸相同性は 80.65%と報告されている。(参照 73)

8. 交差耐性を生じる可能性及び医療分野における重要性

(1) 交差耐性

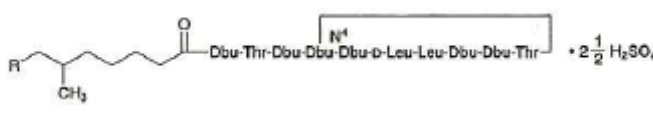
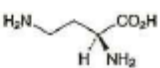
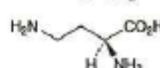
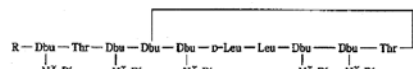
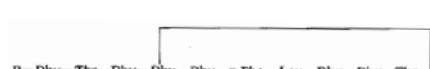
コリスチンと化学構造が類似し交差耐性を生じる可能性のある抗菌性物質について、名称及び化学構造式を表 20 にまとめた。(参照 2)(参照 5)(参照 6)(参照 74)

コリスチンは、同じ鎖環状ペプチド抗菌性物質で物理化学的及び生物学的性状が類似しているポリミキシシン B と交差耐性を示す。ポリミキシシン 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。現時点ではそれ以外の抗菌剤との交差耐性の報告はされていない。(参照 75)(参照 76)(参照 77)

国内においては、医薬品としてポリミキシシン 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外傷等の二次感染等を適応症とした軟膏剤が承認されている。

海外のヒト用医薬品として硫酸コリスチン及びコリスチンメタンスルホン酸ナトリウムの散剤、点眼剤、注射剤及び吸入剤が使用されており、これらの製剤の抗菌活性の有効成分はコリスチンである。米国では、2007 年 6 月にコリスチンメタンスルホン酸ナトリウムの注射剤と吸入剤について嚢胞性線維症 (cystic fibrosis) の患者への適応が承認されている。また、コリスチン及びコリスチン塩がヒト用医薬品としてドイツ、フランス等の欧州諸国、エジプト等のアラブ諸国、韓国、カナダ等で発売されている。(参照 9)(参照 78)(参照 79)(参照 80)

表 20 コリスチンと化学構造が類似し交差耐性を生じる可能性のある抗菌性物質の名称及び化学構造式

コリスチン  硫酸コリスチンA: $R = CH_3$ $Dbu =$  $Dbu = L-\alpha,\gamma\text{-ジアミノ酪酸}$ 硫酸コリスチンB: $R = H$ $Dbu =$  硫酸コリスチンA $C_{93}H_{100}N_{16}O_{13} \cdot 2\frac{1}{2}H_2SO_4$: 1414.66 硫酸コリスチンB $C_{92}H_{98}N_{16}O_{13} \cdot 2\frac{1}{2}H_2SO_4$: 1400.63		
主成分名	コリスチンメタンスルホン酸	ポリミキシシン B
構造式	 コリスチン A メタンスルホン酸ナトリウム: $R = 6\text{-メチルオクタン酸}$ $Dbu = L-\alpha,\gamma\text{-ジアミノ酪酸}$ $R' = SO_3Na$ コリスチン B メタンスルホン酸ナトリウム: $R = 6\text{-メチルヘプタン酸}$ $Dbu = L-\alpha,\gamma\text{-ジアミノ酪酸}$ $R' = SO_3Na$	 ポリミキシシンB₁: $R = 6\text{-メチルオクタン酸}$ $Dbu = L-\alpha,\gamma\text{-ジアミノ酪酸}$ ポリミキシシンB₂: $R = 6\text{-メチルヘプタン酸}$ $Dbu = L-\alpha,\gamma\text{-ジアミノ酪酸}$

一般名	コリスチンメタンスルホン酸ナトリウム	ポリミキシン B 硫酸塩
適応菌種	(経口投与) コリスチンに感性の大腸菌、赤痢菌 (注射薬) コリスチンに感性かつ他の抗菌薬に耐性を示す大腸菌、シトロバクター属、クレブシエラ属、エンテロバクター属、緑膿菌、アシネトバクター属	ポリミキシン B に感性の大腸菌、肺炎桿菌、エンテロバクター属、緑膿菌
適応症	(経口投与) 感染性腸炎 (局所投与) 外傷等の二次感染、眼瞼炎、結膜炎等 (注射薬) 上記の菌株による各種感染症	(局所投与) 外傷等の二次感染、骨髄炎、関節炎等 (経口投与) 白血病治療時の腸管内殺菌

(2) 医療分野における重要性

日本において、注射用コリスチンメタンスルホン酸ナトリウムは、1960 年代から 1970 年代にかけてグラム陰性桿菌感染症の治療薬として臨床使用されていたが、腎機能障害や神経毒性の発現頻度が高いことから、β-ラクタム系やアミノ配糖体系等の各種の優れた抗菌薬の開発とともに使用頻度が減少し発売が中止されていた。しかしながら、種々の多剤耐性グラム陰性菌による感染症が近年臨床的な問題となり、効果的な治療薬がないことが大きな懸案事項となったことを背景に、2015 年 3 月にコリスチン注射薬が承認され、再発売されることとなった。(参照 8)(参照 9)

コリスチン注射薬については、適正な使用方法についての情報不足、耐性化あるいは安全性の保証等の問題が危惧されたことから、日本化学療法学会において「コリスチンの適正使用に関する指針」が作成、公表されている。同指針において、コリスチンの適応症は、「各種感染症」(血流、呼吸器、尿路、皮膚・軟部組織、腹腔内、中枢神経系)、適応菌種は、「コリスチンに感性の大腸菌、シトロバクター属、クレブシエラ属、エンテロバクター属、緑膿菌、アシネトバクター属 ただし、他の抗菌薬に耐性を示した菌株に限る」とされている。当該製剤の添付文書には、耐性菌の発現を防ぐため使用上の注意を熟読し、適正使用に努める旨の警告が記載され、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 系統の抗菌薬に耐性を示す感染症の場合にのみ本剤を使用すること、コリスチン及びこれらの抗菌薬に対する感受性を確認した上で使用すること等が記載されている。(参照 8)(参照 9)(参照 81) また、日本感染症学会及び日本化学療法学会が作成した「JAID/JSC 感染症治療ガイド 2014」において、多剤耐性緑膿菌 (MDRP) 感染症、多剤耐性アシネトバクター (MDRA) 感染症及びカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症の治療薬として、コリスチンが推奨されている。(参照 81)

食品安全委員会は、「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」(以下「ヒト用抗菌性物質の重要度ランク付け」という。)を 2006 年に作成した。その後、上述のヒト臨床分野における耐性菌の出現や WHO における重要な抗菌性物質のリストの改訂等国内外の状況の変化を踏まえ、2014 年に見直しを行った。見直しに当たり、ポリペプチド系に属するもののうちコリスチン及びポリミキシン B については、重要度ランクⅢの定義である「当該抗菌性物

質に対する薬剤耐性菌が選択された場合にも、同系統又は異なった系統に有効な代替薬が十分にあるもの」から外れるとして、「Ⅲ：重要」から「Ⅰ：きわめて高度に重要⁸⁾」とされた。(参照 83)

9. ハザードの特定に係る検討

(1) 感染症病原菌（ヒト腸管非常在性細菌）について

ハザードの特定に当たって考慮すべき感染症として、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（平成 10 年法律第 114 号。以下「感染症法」という。）において定義される一類感染症から五類感染症及び国立感染症研究所ウェブサイトにおいて主要な腸管感染症（食中毒を含む。）として掲載される感染症のうち、病原体が細菌であり、コリスチンが第一選択薬又は推奨治療薬とされている感染症は、MDRA、MDRP 及び CRE 感染症である。

MDRA 及び MDRP は、「広域 β-ラクタム剤、アミノ配糖体、フルオロキノロンの 3 系統の薬剤に対して耐性を示す菌」と定義されている。(参照 84)(参照 85)

また、CRE は、「メロペネムなどのカルバペネム系薬剤及び広域 β-ラクタム剤に対して耐性を示す腸内細菌科細菌」と定義され、「*Klebsiella pneumoniae* 及び *E. coli* が主流であり、他に *K. oxytoca*、*Serratia* 属菌、*Enterobacter* 属菌及び *Citrobacter* 属菌」とされている。(参照 82)(参照 86)

MDRA、MDRP 及び CRE 感染症は、常在菌的な性格の強い細菌を発生母体とする多剤耐性菌による感染症であることから、(2) において検討する。

カルバペネム系薬剤に対して耐性を示す腸内細菌科細菌について、ヒト腸管非常在性の病原菌として、赤痢菌、サルモネラ、エルシニア等による感染症が想定される。海外においては、カルバペネマーゼを産生するサルモネラの出現が、ヒトのみならず家畜やペットからも報告されている。(参照 87)(参照 88)(参照 89)(参照 90)(参照 91) *S. enterica* については、カルバペネム耐性は獲得していないものの、プラスミド媒介性の *mcr-1* 遺伝子を保有する株が既に欧州や中国から報告されている。(参照 92)(参照 93)(参照 94)(参照 95)(参照 96) 赤痢菌については、2008 年のヒト由来 *Shigella sonnei* 1 株が *mcr-1* 遺伝子を保有していたことが、最近ベトナムから報告された。(参照 97)

そこで、これらの薬剤耐性菌が食品を介して CRE 感染症の患者に伝達することにより、*mcr-1* 遺伝子陽性の CRE の出現を促し、治療に影響を与える可能性について考慮する必要が生じつつある。一方で、これらの菌種では、フルオロキノロン耐性株は現時点で比較的稀であり、コリスチンが最終選択薬になる可能性は現状では低いと考えられる。また、牛、豚及び鶏由来食品を介して発症する可能性がある感染症として、腸管出血性大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター、エルシニア等による腸管感染症が考慮されるが、日本感染症学会及び日本化学療法学会が作成した「JAID/JSC 感染症治療ガイド 2015—腸管感染症—」においては、コリスチンの使用は推奨されていない。(参照 98)

⁸⁾ 「ある特定のヒトの疾病に対する唯一の治療薬である抗菌性物質又は代替薬がほとんど無いもの」

(2) 常在菌（ヒト腸管常在性細菌）について

家畜の腸管に常在している大腸菌や腸球菌等についても、家畜に対してコリスチンを使用した結果として耐性菌が選択される可能性があるが、一般的にそれらの菌の病原性は非常に弱く、健康なヒトにおいては食品を介して感染症を直接引き起こす可能性は低いと考えられる。しかし、疾病治療のため医療機関に入院し、手術等を受けることで感染症に対する抵抗力が低下した患者では、大腸菌や腸球菌等による感染症は予後の悪化を招くため、医療現場では警戒されている。特にヒトの医療分野においては、近年多剤耐性菌感染症が臨床的な問題となり、その治療薬としてコリスチンが使用されることから、コリスチンに対する耐性菌の出現が問題となっている。また、2015年に初めて見いだされたプラスミド媒介性の *mcr-1* 遺伝子は、家畜、食肉及びヒトから検出され、食品を通じた拡散が懸念されている。(参照 9)(参照 70)

大腸菌、クレブシエラ、エンテロバクター、緑膿菌等のヒトの腸管にも常在し、ヒトにおいて日和見感染症の原因となる種々の細菌が、家畜の腸管からも分離される。このうち、これまでに家畜及びヒトにおいて同一の又は同系統の抗菌性物質に対する薬剤耐性が獲得され、遺伝的性状が類似している菌株が分離される等の報告がある常在菌については、ハザードの特定において検討する必要がある。

また、コリスチンによる治療が必要となりうる感染症であって、常在菌的な性格の強い細菌を発生母体とする多剤耐性菌による感染症として、上述の MDRA、MDRP 及び CRE 感染症がある。これらの感染症の起因菌である薬剤耐性菌は、感染防御機能の低下した患者や抗菌薬を長期使用中の患者に日和見感染し、院内感染の原因となる病原菌であることから、これまでは、牛、豚及び鶏由来食品を介してこれらの薬剤耐性菌に起因する感染症を発症する可能性を考慮すべき病原菌ではないと考えられてきた。(参照 86)(参照 99) しかし、MDRP の元となる緑膿菌は牛の乳房炎の起因菌の一つであり、また、CRE の元となる大腸菌は牛、豚及び鶏に対する病原性を示すものもある。更に、これらの菌種は家畜の腸管にも常在する細菌である。したがって、家畜にコリスチンを使用することにより、これらの菌種においてコリスチン耐性遺伝子を保有する株が選択され、食品を介してヒトに伝播し、ヒトの感染症の起因菌である CRE にコリスチン耐性遺伝子を伝達してコリスチン耐性 CRE を出現させる可能性も考慮すべき時期に来ている。なお、由来は不明であるが、*mcr-1* 遺伝子を保有する CRE が中国のヒト臨床由来株から分離されたことが報告された。(参照 100)

家畜由来大腸菌におけるコリスチン耐性については、[Ⅱ. 6. (2)]及び[Ⅱ. 6. (3)]に記載したとおり、疾病に罹患した家畜及び健康家畜由来大腸菌における薬剤感受性が報告されている。このうち、健康家畜由来大腸菌におけるコリスチンに対する薬剤感受性は、概ね維持されていると考えられる。一方で、病性鑑定由来材料においてコリスチンに対する感受性が低下した株が認められている。また、2015年の中国における *mcr-1* 遺伝子の報告を受け、国内でも調査が行われた結果、乳房炎に罹患した牛から分離された大腸菌及び JVARM において収集された健康豚由来大腸菌から同遺伝子が検出されたことが報告された。(参照 70) 更に、[Ⅱ. 6. (2)]に記載したとおり、1991～2014年に収集された浮腫病等に罹患した豚から採取された大腸菌にお

いて、*mcr-1* 遺伝子が最初に検出された 2007 年以降、*mcr-1* 遺伝子の検出率が上昇していることが報告されており(参照 41)、引き続き家畜等からの CRE の分離動向を監視しつつ、状況に応じて検討対象への追加を考慮する必要がある。このほか、欧州等の世界各地で家畜、食品又はヒト由来の大腸菌から同遺伝子が検出されたことが報告されている。(参照 72)(参照 101)(参照 102)(参照 103)(参照 104)

なお、家畜由来大腸菌におけるカルバペネム耐性については、国内の家畜では、JVARM において健康肉用鶏から採取された大腸菌からカルバペネムに耐性を示す株が分離された報告はなく、また国内において家畜用カルバペネム系薬剤は承認又は指定されていない。なお、ドイツでは家畜からの大腸菌を含む CRE の分離が報告されている。(参照 87)(参照 105)(参照 106)

クレブシエラ、エンテロバクター及び緑膿菌については、国内で乳房炎に罹患した牛から分離されたクレブシエラ⁹において、コリスチンに対する感受性が低下した株が 1 株あったことが報告されているが、これ以外に報告はなかった。(参照 32) また、*mcr-1* 遺伝子について国内の家畜由来細菌から検出されたとの報告はなかった。更に、海外においても、家畜由来のこれらの細菌から *mcr-1* 遺伝子が検出されたとの報告はなかったが、中国ではヒト由来の肺炎桿菌において *mcr-1* 遺伝子が検出されたことが報告されている。(参照 70)(参照 72)

腸球菌等のグラム陽性菌に対しては、[Ⅱ. 6. (1)]に記載したとおり、コリスチンは抗菌活性を示さない。

10. ハザードの特定

ハザードとして特定される細菌は、硫酸コリスチンを牛、豚及び鶏に使用することにより選択される薬剤耐性菌であり、ヒトが牛、豚及び鶏由来の畜産食品を介してその薬剤耐性菌に起因する感染症を発症した場合に、ヒト用抗菌性物質による治療効果が減弱又は喪失する可能性がある感染症の原因菌である。

牛、豚及び鶏の腸内細菌叢からは、大腸菌等のヒトの腸内細菌叢と共通する腸内細菌科細菌が分離される。評価対象の硫酸コリスチンは、大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター及び緑膿菌による細菌性下痢症の治療を目的として子牛及び子豚の飼料又は飲水添加剤として使用されるほか、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を目的として主にほ乳期の牛、豚及び鶏の飼料添加物として使用されることから、これらの家畜の腸内細菌叢の細菌や病原菌においてコリスチンに対する薬剤耐性菌が選択される可能性があると考えられる。

感染症病原菌としては、サルモネラについて、健康家畜及び病畜由来サルモネラのコリスチン感受性は概ね維持されている。家畜由来サルモネラからの *mcr-1* 遺伝子の分離が国内外で報告されているが、現時点での報告数は限られている。家畜由来カルバペナーゼ産生サルモネラの報告は限られている。赤痢菌及びエルシニアについては、家畜由来細菌からの *mcr-1* 遺伝子の分離報告はない。また、これらの腸内細菌科細菌による

⁹ *K. pneumoniae* 32 株、*K. oxytoca* 2 株

感染症においてコリスチンが最終選択薬になる可能性は現状では低いこと等が考えられた。

常在菌については、MDRA、MDRP 及び CRE の発生母体となるアシネトバクター、緑膿菌及び大腸菌が検討対象とされた。これらの菌は、一般的に病原性が非常に弱く、健康なヒトにおいては食品を介して感染症を直接引き起こす可能性は低いと考えられるが、ヒトの腸管内に定着し、医療環境を汚染又は尿路感染症に関与する可能性が考えられる。近年多剤耐性菌感染症が臨床的な問題となり、その治療薬としてコリスチンが使用されることから、コリスチンに対する耐性菌の出現が問題となっている。特に、2015 年に初めて見いだされたプラスミド媒介性の *mcr-1* 遺伝子は、家畜、食肉及びヒトから検出され、食品を通じた拡散が懸念されている。

CRE は、カルバペネム系以外の抗菌薬にも広範な耐性を獲得していることが多いため、カルバペネム系以外の抗菌薬の家畜等への投与が CRE の選択圧になる可能性も考慮する必要がある。海外では、最近、ドイツで豚や鶏からの CRE の分離が報告され始めている。(参照 105)(参照 106) また、豪州では、野生のギンガモメから、高頻度に CRE が分離されたとの報告もある。(参照 107) そのため、引き続き家畜等からの CRE の分離動向を監視しつつ、状況に応じて検討対象への追加を考慮する必要がある。国内の家畜においては、硫酸コリスチンが 1950 年代から使用されているが、JVARM において 2000 年から健康家畜由来大腸菌の薬剤感受性が調査されており、コリスチンに対する薬剤感受性は概ね維持されていると考えられる。一方で、牛、豚及び鶏由来大腸菌から *mcr-1* 遺伝子が検出されたという報告がある。コリスチンは多剤耐性菌を起因菌とする感染症、すなわち、広域 β-ラクタム剤やフルオロキノロン等に対する耐性菌を起因菌とする感染症の治療に有効な数少ない抗菌剤であることから、コリスチン耐性大腸菌の増加は治療効果を減弱させる可能性があると考えられた。

アシネトバクター及び緑膿菌については、家畜におけるコリスチン耐性及び *mcr-1* 遺伝子の保有状況は調べられていない。また、海外の家畜由来のこれらの細菌におけるコリスチン耐性及び *mcr-1* 遺伝子の保有についての報告はない。更に、国内外において、ヒト由来アシネトバクター及び緑膿菌のコリスチン耐性獲得についての報告はあるが、現時点でヒト由来のこれらの菌から *mcr-1* 遺伝子が分離されたとの報告はない。

以上のことから、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。このうち大腸菌については、家畜由来株の薬剤感受性及び *mcr-1* 遺伝子の保有率についての知見はあるが、*mcr-1* 遺伝子の細菌間での伝達等についての知見は現在世界各国で調査がなされている状況である。また、サルモネラについては、薬剤感受性及び *mcr-1* 遺伝子の保有率についての報告が限られており、現時点でリスク評価を行うための知見が十分にあるとは言えない。しがしながら、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必要に応じて評価を見直すこととし、サルモネラについては、その見直しの際に、再度リスク評価を行うことについて検討することとする。

Ⅲ. 発生評価に関する知見

発生評価では、評価指針の第2章第2の1に基づき、評価対象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する。また、発生評価の範囲は、評価対象動物用医薬品及び飼料添加物を牛、豚及び鶏に使用した時点から、当該家畜又は当該家畜から生産された畜産食品が農場から出荷される時点までとする。

1. 畜産現場におけるコリスチン耐性の状況

(1) 使用農場における耐性の状況

2003～2004年に国内の牛、豚及び鶏を飼養する27農場（9農場/畜種）において、各農場における抗菌性飼料添加物の使用状況を調査するとともに、家畜糞便由来大腸菌の薬剤感受性試験を実施し、コリスチンの飼料添加使用と家畜糞便由来大腸菌に対するコリスチンのMICを比較検討した。コリスチン添加量は、牛、豚及び鶏に対してそれぞれ20g（力価）/t、20又は40g（力価）/t及び5g（力価）/tであった。表21に示すように、コリスチンを飼料添加使用した農場から分離された大腸菌のうちコリスチンのMICが8 µg/mL以上を示したものの割合は52.4%であり、コリスチン不使用の農場由来のもの（5.1%）に比べ大きかったことから、コリスチンの飼料添加使用とコリスチンのMICが8 µg/mL以上を示す家畜由来大腸菌の割合との間に関連性があると考えられたと報告されている。（参照108）

表21 国内のコリスチン飼料添加使用又は不使用農場で採取した家畜由来大腸菌に対するコリスチンのMIC

農場	菌株数	MIC 範囲 (µg/mL)	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	MIC 8 µg/mL 以上を示した菌株 数【割合】 (牛、豚、鶏由来菌株数の内訳)
コリスチン 使用	416	1～32	8	8	218 [52.4%] (121, 96, 1)
コリスチン 不使用	323	1～8	2	2	17 [5.1%] (0, 17, 0)

(2) 畜産現場における薬剤耐性菌の発生状況

Ⅱ. 6. (2)]及びⅡ. 6. (3)]に記載したとおり、JVARMにおいて病畜及び健康家畜由来大腸菌の抗菌性物質感受性調査が実施されている。病畜由来大腸菌については、MICが4 µg/mL以上を示す株が認められている（表9、表11及び表13）。2013及び2014年（鶏では2012及び2013年）は、畜種別では、豚（約40%）が多く、次いで牛（約20%）、鶏（約2%）であった（表22）。（参照53）（参照54）

Ⅱ. 3. (2)]に記載したEMAの評価書において、大腸菌に対するコリスチンのMICが4 µg/mL以上のものを耐性としていることを参考にすると、健康家畜については、2000～2015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1.0～4.7%（牛68/3,350、豚101/2,159、鶏43/4,351）であった。MIC範

囲、MIC₅₀及びMIC₉₀に大きな変動はなく、コリスチンに対する感受性は概ね維持されていると考えられた（表 14 及び表 23）。(参照 51)(参照 52)(参照 53)(参照 54)

表 22 JVARM においてコリスチンの MIC が 4 µg/mL 以上を示した病畜由来大腸菌の菌株数及びその割合（畜種別）

畜種	分離年	分離菌株総数	コリスチンの MIC が 4 µg/mL 以上を示した菌株	
			菌株数	割合 (%)
牛（病性鑑定）	2013	57	18	22.3
	2014	45	8	17.8
豚（病性鑑定）	2013	158	67	42.4
	2014	115	51	44.3
鶏（大腸菌症）	2012	82	2	2.4
	2013	96	2	2.1

表 23 コリスチンの MIC が 4 µg/mL 以上を示した健康家畜由来大腸菌の菌株数及びその割合

分離年		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	
全	分離菌株数	620	580	531	474	511	518	500	450	
	MIC 4 µg/mL以上の株数	14	13	12	6	16	24	16	16	
	(%)	2.3	2.2	2.3	1.3	3.1	4.6	3.2	3.6	
牛	分離菌株数	166	172	179	133	124	138	149	130	
	MIC 4 µg/mL以上の株数	9	2	3	2	8	6	8	5	
	(%)	5.4	1.2	1.7	1.5	6.5	4.3	5.4	3.8	
豚	分離菌株数	147	152	136	121	136	152	126	106	
	MIC 4 µg/mL以上の株数	4	7	7	4	6	14	2	9	
	(%)	2.7	4.6	5.1	3.3	4.4	9.2	1.6	8.5	
鶏	分離菌株数	307	256	216	220	251	228	225	214	
	MIC 4 µg/mL以上の株数	1	4	2	0	2	4	6	2	
	(%)	0.3	1.6	0.9	0	0.8	1.8	2.7	0.9	
分離年		2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	計
全	分離菌株数	683	612	816	750	843	639	779	554	9,860
	MIC 4 µg/mL以上の株数	14	26	6	5	11	6	13	14	212
	(%)	2.0	4.2	0.7	0.7	1.3	0.9	1.7	2.5	2.2
牛	分離菌株数	289	265	293	273	299	240	284	216	3,350
	MIC 4 µg/mL以上の株数	3	10	1	3	4	0	2	2	68
	(%)	1.0	3.8	0.3	1.1	1.3	0	0.7	0.9	2.0
豚	分離菌株数	144	138	140	145	143	132	134	107	2,159
	MIC 4 µg/mL以上の株数	9	15	4	0	3	4	4	9	101
	(%)	6.3	10.9	2.9	0	2.1	3.0	3.0	8.4	4.7

鶏 分離菌株数	250	209	383	332	401	267	361	231	4,351
MIC 4 µg/mL以上の株数	2	1	1	2	4	2	7	3	43
(%)	0.8	0.5	0.3	0.6	1.0	0.7	1.9	1.3	1.0

注：鶏は肉用鶏及び卵用鶏。

(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

デンマークにおける 2013 及び 2014 年の牛、豚及び鶏由来の大腸菌に対するコリスチンの MIC は表 24 のとおりである。(参照 60)(参照 61) なお、2013 年のデンマークにおける馬を含む家畜用コリスチン及びポリミキシシン B を合わせた原体使用量は、家畜用抗菌性物質の全使用量 108.7 t に対して 0.6 t であった。(参照 109)

表 24 デンマークにおける牛、豚及び鶏由来大腸菌に対するコリスチンの MIC

由来	分離年	菌株数	MIC 範囲 (µg/mL)	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	参照番号
牛	2013	103	1	1	1	(参照 60)
	2014	136	1～2	1	1	(参照 61)
豚	2013	146	1～4	1	1	(参照 60)
	2014	209	1～2	1	1	(参照 61)
肉用鶏	2013	125	1～8	1	1	(参照 60)
	2014	191	1～2	1	1	(参照 61)

2. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子の出現及び選択の可能性

(1) 投与又は使用による薬剤耐性菌の出現に関する調査

無菌豚を用いた実験感染試験及びコリスチン飼料添加による薬剤耐性大腸菌出現調査において、コリスチンの投与又は使用による薬剤耐性菌の出現の有無に関して報告されている。いずれも、コリスチンに耐性を示す株は出現しなかったと報告されている。これらの試験において薬剤耐性決定因子についての調査は行われていなかった。

① 無菌豚での実験感染試験

無菌的に摘出し育成した同腹豚 (Yorkshire 母豚、2 頭/群) に、あらかじめ大腸菌 8 菌種 (豚由来 5 種、ヒト由来 3 種) 及びクレブシエラ 1 菌種 (ヒト由来) を定着させた後、コリスチンメタンサルホン酸ナトリウムを 4 mg/kg/日¹⁰で 14 日間連日経口投与し、毎日採材した糞便中のコリスチン耐性株をコリスチンメタンサルホン酸ナトリウム (3.2 µg/mL) 含有寒天平板で選択した。その結果、コリスチンを含まない平板では定着した菌が全試料から検出されたが、コリスチン存在下ではコリスチンに耐性を示す菌株は 14 日間を通して出現しなかった。(参照 110)

¹⁰ 4 mg/kg 体重/日と推測される。

② 野外におけるコリスチン硫酸塩添加人工乳と薬剤耐性大腸菌出現についての調査

2002年に国内の23農場において、硫酸コリスチン添加人工乳給与前の豚(330頭)、硫酸コリスチン40 ppmを人工乳給与中の豚(435頭)及び給与終了後1～2週間経過した豚(229頭)の糞便から大腸菌650、357及び598株をそれぞれ分離し、コリスチンのMICを比較検討した。表25に示すように、給与中では給与前よりも感受性が若干低下したが、給与後には給与前と同様のMIC分布となった。

また、被験した3群の大腸菌に対してカナマイシン、ストレプトマイシン、テトラサイクリン及びクロラムフェニコールのMICを測定し、コリスチンの耐性の変動と各抗菌性物質との共耐性¹¹⁾の可能性を検討した。その結果、MICの分布の最高値に変動はないことから、他の抗菌性物質との共耐性の可能性は認められなかった。(参照111)

表25 硫酸コリスチン40 ppm添加人工乳給与前後における豚糞便由来の大腸菌に対するコリスチンのMIC

実験条件	菌株数	MICの分布 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)
硫酸コリスチン 給与前	650	$\leq 0.05 \sim 6.25$	0.78	0.78
硫酸コリスチン 給与中	357	0.20～12	0.78	6.25
硫酸コリスチン 給与終了後	598	0.20～12	0.78	0.78

(2) 突然変異による薬剤耐性の獲得

*in vitro*において、コリスチンを含む液体培養(濃度不明)で大腸菌を12代継代培養したが、耐性を得るには至らなかった。(参照3)

また、各種感受性細菌に対するコリスチン耐性の上昇は認められず、もし耐性を獲得したかに見えた場合でも、コリスチンへの暴露を中止すれば、感受性を回復する一過性のものであるとされている。(参照112)

[Ⅱ. 7]に記載した、グラム陰性菌のコリスチン耐性機構を踏まえると、大腸菌において二成分調節系の突然変異により恒常的な耐性が発現した株が出てくる可能性があると考えられる。しかしながら、[Ⅲ. 2. (1)]に記載した薬剤耐性大腸菌出現調査及び上記の報告においては、耐性因子については言及されておらず、その耐性機構は不明であった。

¹¹⁾ 複数の異なる耐性機構を保有するため、異なる系統の薬剤の選択圧によって耐性菌が出現・維持できること。(参照190)

(3) 薬剤耐性決定因子に関する情報

[Ⅱ. 7]に記載したとおり、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、染色体上の遺伝子が関与する二成分調節系等の変化による LPS の構造変化が知られていた。

一方、2015 年に中国において、LPS を修飾する酵素をコードするプラスミド媒介性の *mcr-1* 遺伝子有家畜、食肉及びヒト由来の大腸菌からの分離が初めて報告され、その後、国内や世界各地においても大腸菌及びサルモネラ等から同遺伝子の分離が報告されている。(参照 70)(参照 71)(参照 72) また、イタリアで臨床分離された肺炎桿菌からプラスミド媒介性の *mcr-1.2* 遺伝子が分離されたことも報告された。*mcr-1.2* 遺伝子にコードされる MCR-1.2 は MCR-1 の 1 アミノ酸が置換されたタンパクであった。(参照 113) 更に、ベルギーの病牛及び病豚からプラスミド媒介性の *mcr-2* 遺伝子が分離されたことが 2016 年 7 月に報告された。*mcr-1* 遺伝子にコードされる MCR-1 と *mcr-2* 遺伝子にコードされる MCR-2 のアミノ酸相同性は 80.65%と報告されている。(参照 73)

なお、*mcr-1.2* 及び *mcr-2* 遺伝子を保有するプラスミドは、いずれも *in vitro* において大腸菌に接合伝達されたと報告されている。(参照 73)(参照 113)

① *mcr-1* 遺伝子の分離状況

JVARM において収集された健康家畜由来大腸菌のうち、コリスチンの MIC が 2 µg/mL 以上である株について、*mcr-1* 遺伝子の保有状況が調べられた。2007 年までは *mcr-1* 遺伝子を保有する株はなかった。しかしながら、2008 年に分離された豚由来大腸菌が *mcr-1* 遺伝子を保有し、その後変動はあるが、2015 年は、全家畜由来株では 2.0% (11/554)、畜種別では、豚由来株の 7.5% (8/107)、肉用鶏由来株の 2.7% (3/110) が *mcr-1* 遺伝子を保有していた (表 26)。(参照 52)(参照 53)(参照 54)

表 26 国内の健康家畜由来大腸菌における *mcr-1* 遺伝子検出状況

分離年		2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
全畜種	分離株数	683	612	816	750	843	639	779	554
	MIC 2 µg/mL 以上の株数	69	175	23	39	25	30	23	21
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有株の数 ¹⁾	1	0	4	1	9	6	18	11
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有率 (%) ²⁾	0.1	0	0.5	0.1	1.1	0.9	2.3	2.0
牛	分離株数	289	265	293	273	299	240	284	216
	MIC 2 µg/mL 以上の株数	33	64	6	17	6	10	5	6
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有株数 ¹⁾	0	0	0	1	2	1	1	0
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有率 (%) ²⁾	0	0	0	0.4	0.7	0.4	0.4	0
豚	分離株数	144	138	140	145	143	132	134	107
	MIC 2 µg/mL 以上の株数	14	47	15	6	7	10	7	11
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有株数 ¹⁾	1	0	4	0	5	3	7	8
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有率 (%) ²⁾	0.7	0	2.9	0	3.5	2.3	5.2	7.5
肉用鶏	分離株数	130	96	195	160	206	131	182	110
	MIC 2 µg/mL 以上の株数	12	25	2	8	11	8	11	3
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有株数 ¹⁾	0	0	0	0	2	2	10	3
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有率 (%) ²⁾	0	0	0	0	1	1.5	5.5	2.7

卵用鶏	分離株数	120	113	188	172	195	136	179	121
	MIC 2 µg/mL 以上の株数	10	39	0	8	1	2	0	1
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有株数 ¹⁾	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>mcr-1</i> 遺伝子保有率 (%) ²⁾	0	0	0	0	0	0	0	0

1) *mcr-1* 遺伝子保有株数は、コリスチンの MIC が 2 µg/mL 以上の株の内数。

2) *mcr-1* 遺伝子保有率は、全畜種及び畜種別のそれぞれの大腸菌分離株数に対する割合。

注：2007 年以前は *mcr-1* 遺伝子が分離されていない。

また、国内の病畜由来大腸菌における *mcr-1* 遺伝子の検出状況については、1991～2014 年に収集された浮腫病等に罹患した豚由来大腸菌において、*mcr-1* 遺伝子が最初に検出された 2007 年以降、分離株における *mcr-1* 遺伝子の検出率が上昇し、2014 年は分離株の 51% (23/45) が *mcr-1* 遺伝子を保有していたと報告されている。(参照 41)

病豚から採取された大腸菌については、2010 年以降、同年前より多くの県 (2007～2009 年：2 県→2010～2014 年：16 県) で *mcr-1* 遺伝子陽性株が分離される傾向があるが、これらの県において、*mcr-1* 遺伝子陽性株が選択的に増加又は拡散している傾向は見られなかった。(参照 41) また、JVARM において健康豚から採取された大腸菌については、一部の県で継続的に分離される傾向があるように見られたが、健康豚由来株の *mcr-1* 遺伝子陽性率 (2015 年：7.5%) は病豚由来株 (2014 年：51%) と比べて少なく、また、広い地域で分離されるといった傾向も見られなかった。

このほか、欧州等の世界各地で家畜、食品又はヒト由来の大腸菌から同遺伝子が検出されたことが報告されている。報告ごとに畜種や検出対象に違いがあることから比較することは難しいが、欧州等で実施されているサーベイランス等を対象とした *mcr-1* 遺伝子の検出状況を表 27 に整理した。(参照 72)(参照 101)(参照 102)(参照 103)(参照 104)

2010～2015 年にドイツで分離された健康家畜由来コリスチン耐性 (MIC 4 µg/mL 以上の株) 大腸菌のコリスチン耐性率及び *mcr-1* 遺伝子保有率が調査されている。*mcr-1* 遺伝子保有率は全体 (2010～2015 年、全畜種) で 3.8% (402/10,609) であり、七面鳥と肉用鶏の *mcr-1* 遺伝子保有率が高かった (最高で 2011 年の 17.9% (33/184)) と報告されている。(参照 114)

表 27 各国における家畜、食品又はヒト由来大腸菌における *mcr-1* 遺伝子検出状況

	調査対象菌株の 分離年	家畜*	食品	ヒト	備考
中国	2011～2014	20.6 (166/804) (豚)	14.9 (78/523) (豚鶏肉)	1.4 (13/902) (入院患者)	<i>mcr-1</i> 陽性株/調査株 (参照 70)
日本	2000～2014	2.2 (4/184)	na	0 (0/431)	<i>mcr-1</i> 陽性株/調査株 (参照 71)
デンマーク	2012～2014	na	1.3 (5/380) (鶏肉)	0.2 (1/534) (血流感染症)	<i>mcr-1</i> 陽性株/ESBL 産 生株 (参照 101)

フランス	2005～2014	20.5 (106/517)	na	na	<i>mcr-1</i> 陽性株/ESBL 産生株 (参照 115)
フランス	2013～2014	2.6 (22/855) (豚鶏七面鳥)	na	na	<i>mcr-1</i> 陽性株/コリスチン耐性株/調査株 (参照 102)
ドイツ	2009～	2.3 (3/129)	na	0.4 (1/223)	<i>mcr-1</i> 陽性株/調査株 (参照 103)
ドイツ	2010～2015	3.8 (402/10,609)	na	na	<i>mcr-1</i> 陽性株/コリスチン耐性株 (参照 114)
ベルギー	2011～2012	12.4 (13/105)	na	na	<i>mcr-1</i> 陽性株/コリスチン耐性株 (参照 104)
オランダ	2009～2014	na	1.6 (3/187)	0 (0/1,543) (鶏肉)	<i>mcr-1</i> 陽性株/ESBL 産生株 (参照 116)

*：上段に割合（％）、中段に株数、下段に調査対象を記載。

na：調査されていないことを示す。

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

プラスミド媒介性 *mcr-1* 遺伝子の検出の報告が 2015 年と新しいことから、細菌間の *mcr-1* 遺伝子の伝達に関する報告は現時点では限られている。

in vitro において、*mcr-1* 遺伝子を保有するプラスミドについて、大腸菌間、サルモネラ間、サルモネラと大腸菌の間又は赤痢菌と大腸菌の間の接合伝達試験が実施され、それぞれの組合せで水平伝達した事例及びしなかった事例が報告されている。水平伝達した事例における伝達効率は 10^{-1} ～ 10^{-9} /cell であった。また、接合伝達試験に供した *mcr-1* 遺伝子を保有するプラスミドは、IncHI2 型や IncX4 型に属していた。一方、現時点で細菌が *mcr-1* 遺伝子を保有することによる適応負担（fitness cost）¹²についての知見はなかった。(参照 70)(参照 73)(参照 92)(参照 94)(参照 95)(参照 96)(参照 97)(参照 100)(参照 117) なお、一例のみの報告であるが、2015 年に臨床分離されたコリスチン耐性を含む多剤耐性大腸菌において、*mcr-1* 遺伝子を組み込んだ可動性遺伝因子が染色体に挿入されたと推測する報告がある。(参照 100)

③ 大腸菌におけるプラスミド上の *mcr-1* 遺伝子が MIC に与える影響

JVARM において 2000～2015 年に収集された健康家畜由来大腸菌では、株数が少なく年により変動はあるものの、コリスチンの MIC が 2 µg/mL を示し感受性とされる株においても、*mcr-1* 遺伝子を保有する株があった（表 28）。また、同健康家畜由来大腸菌における、*mcr-1* 遺伝子保有株と非保有株の MIC 分布を表 29 に整理した。

¹² 適応負担（fitness cost）：生物が、新しい環境に適応するため、特定の形質（薬剤耐性など）やそれを付与する新しい機構（遺伝子やタンパク等）を獲得した結果、それが負荷（負担）となり、その生物集団中での生存性に影響が出る現象の程度。

表 28 コリスチンの MIC が 2 µg/mL 及び 4 µg/mL 以上を示す健康家畜由来大腸菌株における *mcr-1* 遺伝子の保有状況（全畜種）

分離年	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
MIC が 2 µg/mL を示す株数	55	149	17	34	14	23	10	7
うち、 <i>mcr-1</i> 遺伝子保有株数	0	0	3	0	2	1	6	1
(%)	0	0	17.6	0	14.3	4.3	60	14.3
MIC が 4 µg/mL 以上を示す株数	14	26	6	5	11	7	13	14
うち、 <i>mcr-1</i> 遺伝子保有株数	1	0	1	1	7	5	12	10
(%)	7.1	0	33.3	20.0	63.6	71.4	92.3	71.4

注：2007 年以前は *mcr-1* 遺伝子が分離されていない。

表 29 健康家畜由来大腸菌の *mcr-1* 遺伝子非保有及び保有株のコリスチンに対する薬剤感受性（2000～2014 年）

	菌株数	MIC 範囲 (µg/mL)	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)
<i>mcr-1</i> 遺伝子非保有株	9,267	0.13～32	0.5	1
<i>mcr-1</i> 遺伝子保有株	39	2～8	4	4

【Ⅱ． 6．（２）】に記載した、国内で 1991～2014 年に収集された浮腫病等に罹患した豚由来大腸菌について、*mcr-1* 遺伝子の保有と MIC の関連が比較検討された。分離された大腸菌のうち選択された 4 血清型 684 株のうち、MIC が 4 µg/mL を示していた 309 株（45%）について、*mcr-1* 遺伝子保有株と非保有株の MIC₅₀（16 µg/mL）及び MIC₉₀（32 µg/mL）が同じであったことから、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 *mcr-1* 遺伝子に依存性の MIC の分布と、*mcr-1* 遺伝子によらない MIC の分布が同様であったと考察している。（参照 41）

以上のように、国内では、2007 年より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薬剤耐性遺伝子が、近年、牛、豚及び鶏から分離され、大腸菌及びサルモネラの腸内細菌科の同種間又は異種間において伝達することが確認されている。大腸菌の *mcr-1* 遺伝子保有率については、病豚由来株（2014 年：51%）と比べて少ないものの、健康豚由来株では上昇傾向にあった（2007 年以前：0%→2015 年：7.5%）。また、2015 年に健康家畜から採取された大腸菌においてコリスチンの MIC が 4 µg/mL 以上を示した株の割合は 2.5%（14/554）であり、これらの株における *mcr-1* 遺伝子保有率は 71.4%（10/14）であった。

一方、国内では健康家畜由来大腸菌の *mcr-1* 遺伝子保有率は 10%未満であるのに対し、海外では健康家畜由来株の *mcr-1* 遺伝子保有率が 10%以上である動物種が報告されている。（参照 70）（参照 114） 海外のコリスチン耐性株又は *mcr-1* 遺伝子分離に関する報告では、コリスチンの畜種別も含めた使用状況を併せて報告している文献は限られており、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る場合もあると考えられる。（参照 70）

更に、コリスチン感受性株でも *mcr-1* 遺伝子を保有する株があり、*mcr-1* 遺伝子の

みがコリスチンに対する耐性を付与するものではないと考えられる等、コリスチン耐性への *mcr-1* 遺伝子の寄与や、同遺伝子が関与する耐性機構と染色体上の遺伝子が関与する耐性機構との連関等については不明な点も多い。

3. 多剤耐性等に関する知見

JVARM において 2000～2014 年に収集された健康家畜由来大腸菌のうち、コリスチンの MIC が 4 µg/mL 以上の健康家畜由来大腸菌における多剤耐性割合が報告されている (表 30)。コリスチンの MIC が 4 µg/mL 以上の株のうち、フルオロキノロン (12/198) 又は第三世代セファロスポリン (6/198) に耐性を示す株が認められたが、両剤に耐性を示す株はなかった。フルオロキノロン又は第三世代セファロスポリンに耐性を示す株は、4 剤以上に耐性を示す株だった。また、1～3 剤耐性株のうち、テトラサイクリン系に耐性を示す株が 90% (112/124)、ペニシリン系に耐性を示す株が 51% (63/124)、アミノ配糖体系に耐性を示す株が 22% (27/124) であった。

表 30 コリスチンの MIC が 4 µg/mL 以上の健康家畜由来大腸菌における多剤耐性割合 (2000～2014 年)

全分離株	コリスチンの MIC が 4 µg/mL 以上の株	0 剤	1 剤	2 剤	3 剤	4 剤	5 剤	6 剤	7 剤
9,306	198	39	42	54	28	17	9	8	1
100%	(2.1%)	19.7%	21.2%	27.3%	14.1%	8.6%	4.5%	4.0%	0.5%

注：供試薬剤（ブレイクポイント (µg/mL)）は、ABPC (32)、CEZ (32)、CTF (8 (2000-2009)) 若しくは CTX (4 (2010-2014))、GM (16)、KM (64)、OTC (16 (2000-2009)) 若しくは TC (16 (2000-2009))、NA (32)、ERFX (2 (2000-2009)) 若しくは CPFx (4 (2000-2009))、及び CP (32) の 9 剤 (()) は代替薬剤の使用年度)。

欧州（英国、フランス及びドイツ）において、下痢症等に罹患した牛又は豚由来大腸菌でコリスチン及びこれ以外の抗菌性物質（セファロスポリン、テトラサイクリン、スルホンアミド等）に耐性を示す多剤耐性株が数株報告されている。(参照 93)(参照 94)(参照 118) このうち、英国の報告では、複数の系統の抗菌性物質の投与歴が報告されていることから、コリスチン以外の抗菌性物質の使用によりコリスチン耐性が選択される、又はコリスチンの使用によりコリスチン以外の抗菌性物質に対する耐性が選択される可能性が示唆される。一方で、これらの多剤耐性株の薬剤耐性遺伝子の分析では、コリスチンの耐性因子として染色体性及び *mcr-1* 遺伝子の双方が報告されている。

多剤耐性についても、現時点で *mcr-1* 遺伝子以外のコリスチン耐性因子も含めて調査した報告は少ない。

4. 使用量

牛及び豚の細菌性下痢症の治療等を目的に使用される、硫酸コリスチンを有効成分とする動物用医薬品の 2014 年の使用量（推定原体販売量）は、9,971 kg（力価）で、豚用が 100%を占めていた（表 2）。各年で変動はあるものの、2005 年の 3,459 kg（力価）

から増加していた。2005 年以降、養豚生産現場における浮腫病¹³の増加が報告されており、使用量の増加は同時期の浮腫病の増加との関連がある可能性も指摘されている。(参照 119)(参照 120)

飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を目的に使用される抗菌性飼料添加物硫酸コリスチンの使用量（特定添加物検定合格数量及び特定飼料等製造業者による特定添加物の製造数量）は、2015 年において 27,782 kg（力価）で、畜種別の推定割合は豚用が 70%、鶏用が 20%、牛用が 10%と報告された（表 3）。飼料添加物の使用量は 2005 年の 31,644 kg（力価）から減少していた。なお、[Ⅱ. 2. (3)]に記載したとおり、第 1～第 4 欄に分類される飼料添加物について、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とされている。硫酸コリスチンが分類される第 4 欄にはほかに、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及びビコザマイシンが含まれているが、ビコザマイシンは現在流通していない。また、テトラサイクリン系抗生物質は、2016 年 4 月に策定された「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」の動物分野において数値目標を掲げた耐性菌の分布に関わる成分の一つである。

なお、海外と比較するために、農林水産省において、国内の動物用医薬品及び飼料添加物の使用量並びに欧州で使用されている畜種別に設定された生体重又はと畜時体重等を用いて算出した PCU（表 6）から推計した、硫酸コリスチンの使用量を表 7 に整理した。

Ⅳ. 暴露評価に関する知見

暴露評価では、評価指針の第 2 章第 2 の 2 に基づき、ヒトがハザードに暴露されう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又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。暴露評価の範囲は、牛、豚及び鶏又は当該家畜から生産された畜産食品が農場から出荷された時点から、ヒトがこれらの畜産食品を入手し、摂取する時点までとする。

1. 牛、豚及び鶏由来食品の消費量

牛、豚及び鶏由来畜産食品の需給の推移は表 31 のとおりである。(参照 121)

表 31 牛、豚及び鶏由来食品の年間 1 人当たり消費量（純食料ベース）

品目	年	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
牛肉	消費量(kg)	5.6	5.5	5.7	5.7	5.8	5.9	6.0	5.9	6.0	5.9
	自給率(%)	43	43	43	44	43	42	40	42	41	42
牛乳 乳製品	消費量(kg)	91.8	92.1	93.1	86.0	84.5	86.4	88.6	89.5	89.0	-
	自給率(%)	68	67	66	70	71	67	65	65	64	63
豚肉	消費量(kg)	12.1	11.5	11.5	11.7	11.5	11.7	11.9	11.8	11.8	11.9
	自給率(%)	50	52	52	52	55	53	52	53	54	51

¹³ 4～12 週齢の幼豚で散発する疾病。O139 や O141 など に属する STEC が小腸内に定着し、産生された志賀毒素が吸収されて発病する。(参照 191)

鶏肉	消費量 (kg)	10.5	10.7	10.7	10.8	11.0	11.3	11.4	12.0	12.0	12.2
	自給率 (%)	67	69	69	70	70	68	66	66	66	67
鶏卵	消費量 (kg)	16.6	16.7	17.1	16.7	16.5	16.5	16.7	16.7	16.8	16.7
	自給率 (%)	94	95	96	96	96	96	95	95	95	95

2. ハザードとなりうる細菌の生物学的特性

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及び当該感受性菌と生物学的特性が異なること等を示す知見を中心に整理した。

(1) ハザードの抵抗性、生残性及び増殖性

大腸菌の熱に対する抵抗性については、リン酸緩衝液中における D 値は 62.8℃で 24 秒、牛ひき肉中（脂肪 20%）における D 値は、50℃で 92.67 分、55℃で 19.26 分であった。(参照 122)(参照 123) なお、多剤耐性を示す O157:H7 の牛ひき肉中における D 値は、55℃で 1.71 分であったとの報告がある。(参照 124)

酸に対する抵抗性については、本菌は各種の食品中で pH4.0 までは発育可能であるが、pH2 の条件で 24 時間保存すると本菌は陰性となる。(参照 125)

凍結における生残性については、本菌を接種した食品を冷凍保存（-20℃で 9 か月間）した試験において、食肉中の菌数は大きく増減しなかったものの、牛乳中の菌数は徐々に減少したと報告されている。また、本菌を添加した食肉（ミノ、大腸及びレバー）を冷凍保存（-30℃）した試験では、食肉の種類に関係なく、3 か月後には 1/10 ～1/100 の菌数となった。(参照 126)(参照 127)

乾燥に対する抵抗性については、水分活性 0.34～0.68、塩分濃度 0.5～3.0%の条件下で、5℃に保存した牛肉粉中の本菌は 8 週間後まで生存が確認されている。(参照 128)

増殖性については、発育温度領域は 8～46℃、発育塩分濃度領域は 0～6.5%、発育 pH 領域は 4.4～9.0、発育水分活性域は 0.95 以上とされており、特に、培養温度 25 ～43.5℃、塩分濃度 0.5～6.0%、pH5.5～7.0 で活発に増殖すると報告されている。(参照 129)(参照 130)

(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

本菌は通常 of 自然環境下において長く生存し、低温、低栄養、紫外線等の過酷な自然環境下においても、「生存しているが培養不可能」（VBNC : Viable but Non-Culturable）な状態で長く存在できる。(参照 129)

本菌については、牛、豚、めん羊等のほ乳動物や鳥類の腸管内に存在している。

(3) 牛、豚及び鶏由来の大腸菌がヒトに定着する可能性等（ヒトの腸内細菌叢として定着する可能性）

鶏肉由来薬剤耐性大腸菌が、ボランティア 5 人のうち 1 人の腸内細菌叢に 10 日間定着したという報告がある。(参照 131) また、株の由来は不明であるが、滅菌した食事を摂取したボランティア 6 名全員で、通常の食事をした場合と比較して糞中の薬剤耐性大腸菌が減少することが報告されている。(参照 132)

一方、鶏糞便由来株と鶏肉由来株の血清型は類似しているが、健康ヒト糞便由来株と鶏糞便由来株の血清型は異なっていたという英国の報告もある。(参照 133) 更に、一般的に遺伝子の変異によって耐性を獲得した株は、選択圧のない状態では感受性株より生存性が低下するため、耐性株は感受性株より腸内に定着しにくい可能性が示唆されている。(参照 134)(参照 135)

食品を介してヒトに伝達された大腸菌が、ヒトの腸内細菌叢として定着し、医療環境を汚染したという直接的な知見は現在までのところ得られていない。しかし、由来は不明であるが、ブラジルにおいて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が一致したという報告がある。(参照 136) 大腸菌によって医療環境が汚染された場合、それらの菌は患者の腸管内に定着し、感染症の原因になる可能性がある。入院患者の腸管内に定着した大腸菌は、腸管外への排泄を余儀なくされることから、水平感染の大きなリスクファクターとなり、医療環境への菌の定着に結びつくことが多い。(参照 137)

(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

[Ⅲ. 2. (3) ②]に記載したとおり、*mcr-1* 遺伝子については、*in vitro* において大腸菌間、サルモネラ間、サルモネラと大腸菌の間又は赤痢菌と大腸菌の間の接合伝達試験が実施され、それぞれの組合せで水平伝達した事例及びしなかった事例が報告されている。

しかしながら、現時点でその他のコリスチン耐性決定因子の伝達についての知見は報告がない。

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

牛、豚及び鶏由来食品が農場から出荷され、消費者に摂取されるまでの経路の一例は表 32、と殺・加工から調理等までの詳細な過程の一例は表 33 のとおりである。

農場では、家畜伝染病予防法（昭和 26 年法律第 166 号）に基づく飼養衛生管理基準により、家畜の伝染性疾患の予防が図られるとともに、家畜生産段階における HACCP の考え方が取り入れられ、「家畜の生産段階における衛生管理ガイドライン」（2002 年）や「畜産農場における飼養衛生管理向上の取組認証基準（農場 HACCP 認証基準）」（2009 年）により、汚染防止対策が講じられている。(参照 138)

と畜場ではと畜場法施行規則（昭和 28 年厚生省令第 44 号）、食鳥処理場では食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律施行規則（平成 2 年厚生省令第 40 号。以下「食鳥検査法施行規則」という。）において、HACCP の考え方が導入されたと畜場又は食鳥処理場の衛生管理基準及び構造設備基準が定められており、食肉又は食鳥処理段階における微生物汚染防止が図られている。

また、2014 年 4 月に改正されたと畜場法施行規則及び食鳥検査法施行規則において、と畜業者等及び食鳥処理業者の講ずべき衛生措置の基準が改正され、従来の基準に加え、新たに HACCP を用いて衛生管理を行う基準が規定された。(参照 139)

生食用牛肉については、2011 年 10 月に、食品衛生法に基づく食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）が改正され、生食用食肉（生食用として販売さ

れる牛の食肉（内臓を除く。）の規格基準が策定された。肉塊の表面から深さ 1 cm 以上の部分までを 60℃で 2 分間以上加熱する方法又はこれと同等以上の殺菌効果を有する方法で加熱殺菌を行うことや腸内細菌科菌群が陰性でなければならないこと等が規定された。更に、同規格基準の改正により、2012 年 7 月には、牛肝臓の生食用としての販売・提供は禁止された。(参照 140)(参照 141) 豚の食肉については、2015 年 6 月に同規格基準の改正により、飲食店等において生食用としての提供が禁止された。(参照 142)

表 32 牛、豚及び鶏由来食品が農場から出荷され摂取されるまでの経路（一例）

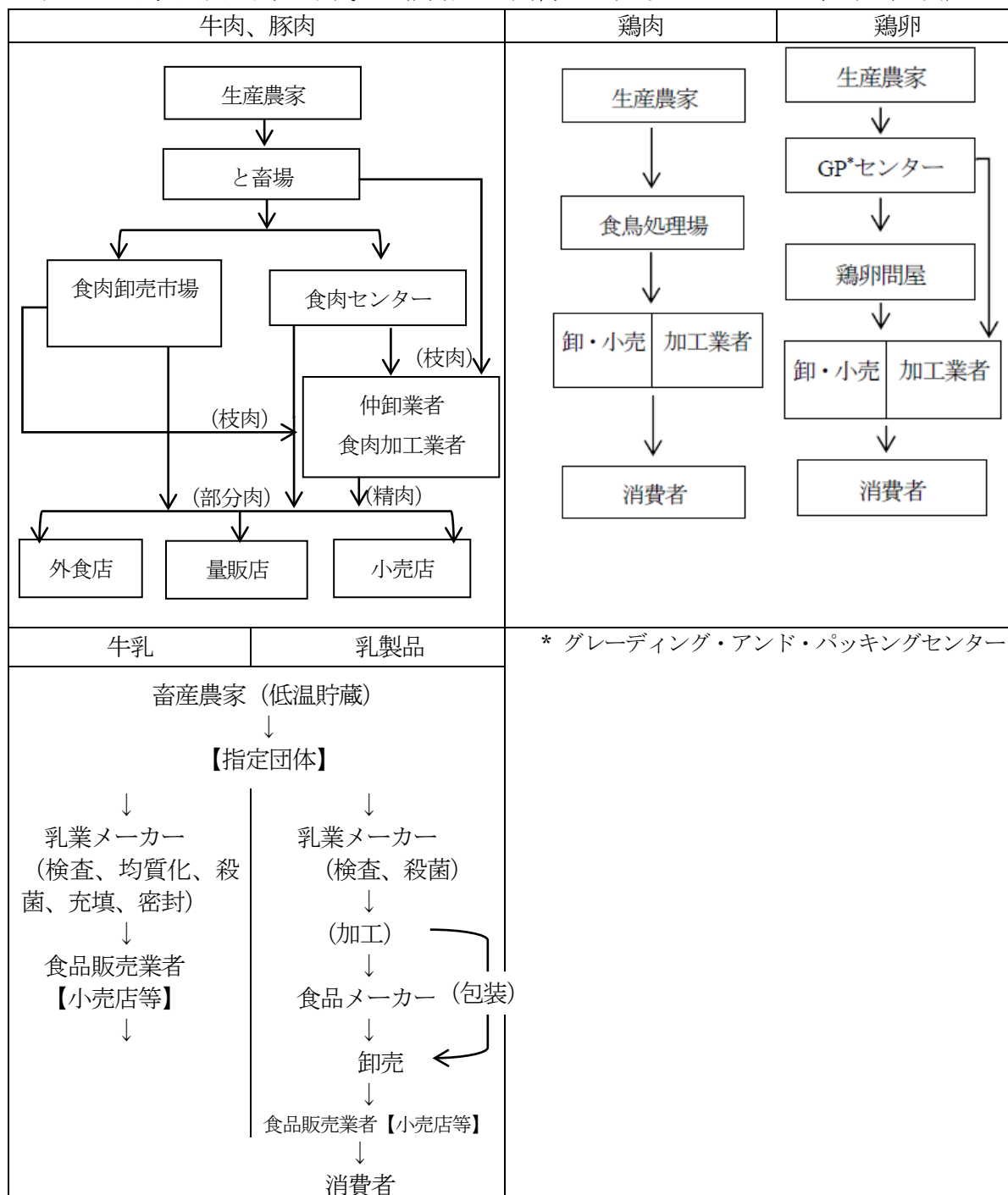


表 33 牛、豚及び鶏における主な処理過程（一例）

処理過程	牛	豚	鶏
と殺・加工	受付・係留【と畜場】 ↓ 生体検査 ↓ と殺（スタンニング、放血） ↓ 解体（内臓摘出） ↓ 内臓検査 ↓ 剥皮作業 ↓ 背割り作業等 ↓ 枝肉検査 ↓ 枝肉洗浄等 ↓	受付・搬入【と畜場】 ↓ 生体検査 ↓ と殺（電殺、放血、前処理） ↓ 解体（内臓摘出） ↓ 内臓検査 ↓ 剥皮作業 ↓ 背割り作業等 ↓ 枝肉検査 ↓ トリミング、枝肉洗浄 ↓	搬入【食鳥処理場】 ↓ と殺（放血） ↓ 脱羽 ↓ 中抜き（内臓摘出） ↓ 洗浄 ↓ 冷却 ↓ 解体・分割 ↓ 包装
保管	冷蔵保管	冷蔵保管	冷蔵保管

牛乳	鶏卵
受入・検査【乳処理場】 ↓ 清浄化 ↓ 冷却 ↓ 貯乳 ↓ 予備加熱、均質化、殺菌、冷却 ↓ 充填、検査 ↓ 出荷 ↓	搬入 ↓ 洗卵・消毒、検品 ↓ 選別 ↓ 包装 ↓ 出荷 ↓
冷蔵保管	

4. ハザードとなりう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

大腸菌による食肉の汚染の可能性としては、食肉処理段階におけるハザードに汚染された腸管内容物由来の暴露が考えられる。食肉を汚染したハザードは、輸送又は保存中の冷蔵及び冷凍保存下でも増殖はしないが生残するため、飲食店の調理施設や家庭等に持ち込まれる可能性が生じる。しかし、大腸菌は一般的に熱に弱く速やかに死滅するため、調理の際に十分加熱することによりハザードは排除されるものと考えられる。

また、生乳の汚染の可能性としては、ハザードに汚染された腸管内容物である糞便による汚染が考えられるが、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令（昭和 26 年厚生省令第 52 号）に基づく牛乳の殺菌条件（63℃で 30 分間加熱殺菌するか、又はこれと同等以上の殺菌効果を有する方法で加熱殺菌（国内では 120～135℃で 1～3 秒での加熱処理が主流））により排除されるものと考えられる。

更に、乳製品についても牛乳と同等の加熱殺菌をされたものを製造・加工に用いており、ハザードは排除されるものと考えられる。

(2) ハザードとなりうる細菌による牛、豚及び鶏由来食品の汚染状況

厚生労働省が実施している市販流通食品を対象にした食中毒菌の汚染実態調査において調査された、牛、豚及び鶏ひき肉における大腸菌の検出状況は表 34 のとおりである。（参照 143）

2014 及び 2015 年の牛ひき肉の陽性率が 0%と報告されているが、これは検体数がそれぞれ 4 及び 2 と少ないためと考えられる。

表 34 国内各地の食肉販売店の牛、豚及び鶏ひき肉における大腸菌の検出状況

調査年	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
牛 ひ き 肉	検体数	127	146	137	114	115	102	99	10	4
	陽性検体数	74	94	88	70	70	67	58	7	0
	陽性率 (%)	58.3	64.4	64.2	61.4	60.9	65.7	58.6	70.0	0
豚 ひ き 肉	検体数	167	190	177	165	174	144	136	15	4
	陽性検体数	123	120	139	116	124	99	94	10	1
	陽性率 (%)	73.7	63.2	78.5	70.3	71.3	68.8	69.1	66.7	25.0
鶏 ひ き 肉	検体数	96	129	196	216	198	159	217	19	3
	陽性検体数	78	48	166	191	170	127	177	9	2
	陽性率 (%)	81.3	37.2	84.7	88.4	85.9	79.9	81.6	47.4	66.7

- : 調査されていないことを示す。

2006～2008、2014 及び 2015 年に実施された、食品安全確保総合調査「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、国産の加熱調理等がされていないパック詰めされた牛、豚及び鶏肉から大腸菌等を分離し薬剤感受性試験を行った結果は表 35 のとおりである。（参照 23）（参照 144）（参照 145）（参照 146）（参照 147）（参照 148）

牛、豚及び鶏肉から分離された大腸菌におけるコリスチン耐性菌の割合は少なく、2006 及び 2008 年に MIC が 16 µg/mL 以上を示す株が 1 又は 2 株認められたのみであった。

また、2015 年に東京都内で流通した食肉から分離された大腸菌において、コリスチンの MIC が 4 µg/mL 以上を示す株があったこと（牛肉 1/46 株、豚肉 1/55 株、鶏肉 11/159 株）、また、このうち鶏肉由来の 8 株及び豚肉由来の 1 株から *mcr-1* 遺伝子が検出され、そのうちの 1 株は ESBL 産生株であったことが報告されている。(参照 149)

表 35 国内で小売されている国産の牛、豚及び鶏肉から分離された大腸菌のコリスチンに対する薬剤感受性

	検体	試験 菌株数	MIC 範囲 (µg/mL)	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	耐性 菌株数	耐性率 (%)
2006	牛肉	6	0.25~<512	0.5	<512	2	33.3
	豚肉	13	0.5	0.5	0.5	0	0
	鶏肉	100	<0.125~512	0.5	0.5	2	2
2007	牛肉	59	0.5~1	0.5	0.5	0	0
	豚肉	19	0.5	0.5	0.5	0	0
2008	牛肉	36	0.5~1	0.5	0.5	0	0
	豚肉	71	0.25~16	0.5	0.5	1	1.4
2014	牛ひき肉	52	≤ 0.12~2	0.5	1	0	0
	豚ひき肉	73	≤ 0.12~1	0.5	1	0	0
2015	市販鶏肉	106	≤ 0.12~4	0.5	1	0	0
	食鳥処理場鶏肉	60	0.25~2	0.5	1	0	0

注：ブレイクポイントは 16 µg/mL

このほか、デンマークにおいて分離された食肉由来大腸菌のコリスチンに対する薬剤感受性を表 36 に整理した。(参照 60)(参照 61) また、表 27 に、欧州等の世界各地で食品由来の大腸菌から検出された *mcr-1* 遺伝子の報告を記載した。中国では、豚及び鶏肉由来大腸菌における *mcr-1* 遺伝子の検出率は 14.9% (78/253) であり、欧州（オランダ及びデンマーク）では、鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌における *mcr-1* 遺伝子の検出率は 2%未満だったと報告されている。(参照 70)(参照 101)(参照 116)

表 36 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の MIC

分離年	由来	菌株数	MIC 範囲 (µg/mL)	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)
2013	国産牛肉	24	1~2	1	1
	輸入牛肉	35	1	1	1
	国産豚肉	93	1	1	1
	輸入豚肉	50	1~4	1	1

	国産鶏肉	116	1	1	1
	輸入鶏肉	136	1～4	1	1
2014	国産牛肉	46	1～2	1	1
	輸入牛肉	32	1～2	1	2
	国産豚肉	73	1～2	1	1
	輸入豚肉	44	1	1	1
	国産鶏肉	135	1～2	1	1
	輸入鶏肉	160	1～4	1	1

V. 影響評価に関する知見

影響評価では、評価指針の第2章第2の3に基づき、本評価書で検討しているハザードに暴露されることにより起こりうるヒトの健康上の影響及びコリスチンのヒト医療における重要性を考慮して、ヒトにおける治療効果が減弱又は喪失する可能性及びその程度を評価する。

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

ハザードとなりうる細菌である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は、日和見感染症及び院内感染症である。

(1) 発生原因及び発生状況

食品を介してヒトに伝播した大腸菌がヒトの腸内細菌叢として定着し、医療環境等を汚染して感染症の原因となったという直接的な知見は、現在までのところ得られていない。

厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) の検査材料別分離菌数割合では、大腸菌は、血液検体から分離されることが多い菌として報告されている (表 37)。(参照 150)

表 37 JANIS 検査部門における血液検体分離菌の割合

年	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
血液検体 分離菌	98,788	137,814	140,134	154,890	173,355	195,963	224,411
血液検体 上位 3 菌 種	<i>S. aureus</i> 15.5%	<i>S. aureus</i> 12.9%	<i>S. aureus</i> 13.3%	<i>S. aureus</i> 15.3%	<i>S. aureus</i> 14.7%	<i>E. coli</i> 14.4%	<i>E. coli</i> 15.0%
	<i>S. epidermidis</i> 10.9%	<i>S. epidermidis</i> 9.7%	<i>E. coli</i> 10.3%	<i>E. coli</i> 12.3%	<i>E. coli</i> 13.2%	<i>S. aureus</i> 14.1%	<i>S. aureus</i> 13.7%
	<i>E. coli</i> 10.5%	<i>E. coli</i> 9.0%	<i>S. epidermidis</i> 10.0%	<i>S. epidermidis</i> 12.1%	<i>S. epidermidis</i> 11.3%	<i>S. epidermidis</i> 11.3%	<i>S. epidermidis</i> 11.3%

大腸菌による感染症は、尿路感染症、創傷・手術創感染、肺炎、敗血症等多岐にわ

たる。尿路感染症は主として細菌の上行性感染による。原因菌の大半は腸管由来の細菌であり、全体として外尿道口の汚染を受けやすい女性の頻度が高い。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。(参照 151)(参照 152) なお、ヒトの尿路感染症や新生児髄膜炎の原因となる腸管外病原性大腸菌 (ExPEC) は、トリ病原性大腸菌 (APEC) と類似した血清型や ST 型 (遺伝型) に属することが多いことが知られている。(参照 153)(参照 154)(参照 155)

欧州の報告では、高齢者の人工呼吸関連肺炎では、大腸菌や肺炎桿菌が多く分離されたと報告されている。(参照 156)

(2) 重篤度

大腸菌による日和見感染症や院内感染症の重篤度についての報告は少ない。

多剤耐性菌による血流感染症患者は、重度の免疫不全状態にあることが多い。抗菌薬の効果が不十分であると直ちに重篤な転帰に至るため、コリスチンが最も必要とされる疾患の一つとされている。感染症法に基づく感染症発生動向調査では、CRE 感染症の届出基準を満たし、症状等が特定できた 956 例のうち、届出時点での死亡例が 28 例 (2.9%) であったことが報告されている。これらの死亡例においては、エンテロバクター、肺炎桿菌及び大腸菌が上位菌種であったと報告されている。(参照 157)

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

コリスチン注射薬は、既存の抗菌薬では効果が期待できない場合の最終選択薬の位置付けとされている。日本化学療法学会は、その安全で効果的な使用に資するためとして、コリスチン注射薬の発売に合わせて、2015 年に「コリスチンの適正使用に関する指針」の改訂版を作成した。現在、多剤耐性のグラム陰性桿菌に対して国内で使用される抗菌性物質はチゲサイクリンのみであり、多剤耐性菌感染症に対する治療薬の選択肢は極めて限られていると報告されている。(参照 158)

コリスチン治療薬は、販売開始後の全症例を対象とした使用成績調査の実施といった承認条件が課されている。また、「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 系統の抗菌薬に耐性を示す感染症の場合にのみ本剤を使用する」といった使用上の注意が付されるなど適正使用のための措置が図られている。

3. ヒト臨床分野におけるコリスチン耐性菌の状況等

(1) ヒト臨床分野におけるコリスチン耐性菌等の検出状況

医療分野におけるコリスチン耐性菌の出現が問題になり、国内外でコリスチン耐性菌を分離したとの報告がなされている。これらの報告の多くは、緑膿菌、アシネトバクター及び肺炎桿菌で、大腸菌におけるコリスチン耐性菌の報告は限られている。(参照 9)(参照 158) 2008、2009 及び 2015 年に北海道で分離されたヒト臨床由来大腸菌 514 株において、コリスチンに耐性 (MIC>2 µg/mL) を示す株が 4 株あったことが報告された。これらの株は *mcr-1* 又は *mcr-2* 遺伝子を保有しておらず、また、この 4 株のうち 3 株の血清型はヒトで多く分離される O25b:H4-ST131 であった。(参照 159)

(2) コリスチン耐性菌がヒトの健康に与える影響

現時点でヒト臨床において、コリスチン耐性菌に感染した場合に、当該感染が治療期間の遅延や死亡事例の原因となったとの報告は極めて稀である。しかしながら、ヒト医療分野では、コリスチンは既存の抗菌薬では効果が期待できない場合の最終選択薬として位置付けられていることから、コリスチン耐性菌のヒトにおける治療効果への影響が懸念されている。

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 感染症がある。現時点で、コリスチンの適応症の起因菌である、CRE を始めとした多剤耐性菌の検出機会は少なく、国内ではMDRP は緑膿菌の 2.4%、MDRA は アシネトバクターの 0.55%、CRE は稀にしか検出されないとされている。(参照 82) 一方で、ESBL 産生腸内細菌科細菌は市中感染により感染が拡大し、また、JANIS ではセフトキシム耐性大腸菌の発生頻度が近年非常に高くなってきたと報告されている。(参照 160)

CRE 感染症については、2014 年 9 月 19 日から感染症法に基づく感染症発生動向調査における五類全数把握疾患となっており、2014 年第 38 週から 2015 年第 35 週までの約 1 年間の届出状況について報告されている。上記期間に計 1,321 例の届出があり、男性が 822 例 (62%) であった。適切な菌種が報告された 1,226 例のうち、4 例で 2 種類の菌種の記載があった。そのうち、大腸菌は 141 例 (11.5%) であったことが報告されている。(参照 150)

コリスチンはヒト医療において多剤耐性グラム陰性桿菌感染症の治療薬である。多剤耐性グラム陰性桿菌は、多種類の抗菌薬に耐性を示すためヒト医療分野での影響は大きい。近年、国内でも多剤耐性グラム陰性桿菌の増加やアウトブレイクが報告されるようになったことを背景に、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」がまとめられるなど、国内でも多剤耐性グラム陰性桿菌は警戒されている。(参照 161)

VI. 食品健康影響評価

1. 発生評価、暴露評価及び影響評価の考え方

評価指針に基づき、発生評価、暴露評価及び影響評価に係る現時点での知見から、特定したハザードの定性的な評価を実施した。

各評価に当たっては、原則として、表 38 に示した考え方に基づき、主に三つの判断項目について懸念の程度を判断した結果を踏まえ、総合的に評価することとした。

表 38 発生評価、暴露評価及び影響評価における評価区分の判断の考え方

	判断項目	評価区分	
発生評価	① ハザードの出現に係る情報（薬剤耐性機序、遺伝学的情報等）が懸念されるか	「大」2 項目以上	「高度」：ハザードが選択される可能性があり、その程度も大きい。
	② ハザードを含む当該細菌の感受性分布が懸念されるか	「大」1 項目又は「中」2 項目以上	「中等度」：ハザードが選択される可能性があり、その程度は中程度である。
	③ その他要因（薬物動態、使用方法、使用量等）が懸念されるか	「大」0 項目かつ「中」1 項目	「低度」：ハザードが選択される可能性があるが、その程度は小さい。
	①～③について懸念の程度を以下のとおり判断 ○懸念が大きい「大」 ○懸念が中程度「中」 ○懸念が小さい「小」	「小」3 項目	「無視できる程度」：ハザードが選択される可能性及びその程度は無視できる程度である。
暴露評価	① ハザードを含む当該細菌の生物学的特性（生残性、増殖性等）が懸念されるか	「大」2 項目以上	「高度」：ハザードの暴露を受ける可能性があり、その程度も大きい。
	② ハザードを含む当該細菌による食品の汚染状況が懸念されるか	「大」1 項目又は「中」2 項目以上	「中等度」：ハザードの暴露を受ける可能性があり、その程度は中程度である。
	③ その他要因（食肉処理工程、流通経路等）が懸念されるか	「大」0 項目かつ「中」1 項目	「低度」：ハザードの暴露を受ける可能性があるが、その程度は小さい。
	①～③について懸念の程度を以下のとおり判断 ○懸念が大きい「大」 ○懸念が中程度「中」 ○懸念が小さい「小」	「小」3 項目	「無視できる程度」：ハザードの暴露を受ける可能性及びその程度は無視できる程度である。
影響評価	① 対象薬剤が、「ヒト用抗菌性物質の重要度ランク付けが I（きわめて高度に重要）」かつ「当該疾病の推奨薬」であるか	「大」2 項目以上	「高度」：ハザードに起因する感染症に対する治療効果が減弱又は喪失する可能性があり、その程度も大きい。

② ハザードに起因する感染症の重篤性等（発生状況、発生原因、症状等）が懸念されるか ③ その他要因（代替薬の状況、医療分野の薬剤耐性の状況等）が懸念されるか ①～③について懸念の程度を以下のとおり判断 ○懸念が大きい（①は該当する）「大」 ○懸念が中程度（①はどちらか一方のみ該当する）「中」 ○懸念が小さい（①はどちらも該当しない）「小」	「大」1項目 又は「中」2項目以上	「中程度」：ハザードに起因する感染症に対する治療効果が減弱又は喪失する可能性があり、その程度は中程度である。
	「大」0項目 かつ「中」1項目	「低度」：ハザードに起因する感染症に対する治療効果が減弱又は喪失する可能性があるが、その程度は小さい。
	「小」3項目	「無視できる程度」：ハザードに起因する感染症に対する治療効果が減弱又は喪失する可能性及びその程度は無視できる程度である。

2. 発生評価について

（1）ハザードの出現（薬剤耐性機序、遺伝学的情報等）

大腸菌等のグラム陰性桿菌におけるコリスチンを含むポリミキシン類への耐性獲得機構としては、従来、染色体上の遺伝子が関与する二成分調整系等の変化による LPS の構造変化が知られていたが、2015 年に中国においてプラスミド等の可動性遺伝因子上に存在するコリスチン耐性に関与する *mcr-1* 遺伝子が新たに報告された。中国での報告を受け国内でも調査したところ、2007 年に病豚から採取された大腸菌及び 2008 年に健康豚から採取された大腸菌から *mcr-1* 遺伝子が分離された。2015 年に採取された健康家畜由来大腸菌の同遺伝子保有率は 2.0%であった。*mcr-1* 遺伝子は大腸菌間又は他菌種間で伝達することが示されている。ただし、細菌が *mcr-1* 遺伝子を保有することによる適応負担については不明であることから、今後、同遺伝子の保有率がコリスチンの使用量の増減に伴い変動する可能性があると考えられた（懸念は中程度）。

家畜への投与試験等の報告では薬剤耐性決定因子の調査はされておらず、また、国際的に推奨されている薬剤感受性試験でコリスチンに対して感性和判定された株が *mcr-1* 遺伝子を保有する等、家畜に対するコリスチンの使用と耐性選択の関係や、同遺伝子のコリスチンに対する感受性に及ぼす影響等について不明な点もある。

（2）ハザードとなりうる細菌の感受性分布

コリスチンは、国内の家畜に対して 50 年以上使用されている。JVARM 等においてコリスチンの販売量、家畜由来細菌のコリスチンに対する感受性等が 1999 年以降調査されており、2000～2015 年の健康家畜由来大腸菌のコリスチンに対する感受性に大きな変動はなく、MIC が 4 µg/mL 以上を示す耐性株の割合は 1.0～4.7%程度と概ね維持されている。また、同由来大腸菌において、コリスチンに加え、ヒト医療で重要なフルオロキノロン及び第三世代セファロスポリン系抗生物質全てに耐性を示す株は、現時点で確認されていない。一方で、病畜由来大腸菌に対しては、コリスチン

の MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上となる株の割合が高い（豚：約 40%、牛：約 20%、鶏：約 2%）傾向にある。また、コリスチンの MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上となる株の中に *mcr-1* 遺伝子を保有する株が多いという現象は見られるものの、*mcr-1* 遺伝子を保有しなくても、コリスチンの MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上となる株も少なからず存在する点にも留意する必要がある（懸念は中程度）。

（３）発生評価に係るその他要因（薬物動態、使用方法、使用量等）

硫酸コリスチン製剤を使用対象動物である牛、豚及び鶏に定められた投与ルート経路である経口投与を行ったとき、消化管からの吸収は極めて低く、生体内に蓄積されることなく、短時間に速やかに体内から消失する。

硫酸コリスチンは家畜に対して 50 年以上使用されている。動物用医薬品としては、要指示医薬品として獣医師の処方せん又は指示により使用される。有効菌種は、大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター及び緑膿菌で、子牛及び子豚の細菌性下痢症の治療に使用されている。畜種別ではほぼ全てが豚に対するもので、2014 年の使用量は 2005 年から増加（3,459 kg→9,971 kg）していたが、この増加については、同時期に浮腫病の増加が報告されており、これと関連している可能性も考えられている。

飼料添加物としての硫酸コリスチンは、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を目的として牛、豚及び鶏に対して使用されている。2015 年の使用量は 2005 年から減少していた（31,644 kg→27,782 kg）。畜種別では 2015 年の推計として、豚（約 70%）に次いで鶏（約 20%）の使用量が多かった。2008～2015 年の JVARM の調査においては、豚及び肉用鶏に由来する大腸菌は、*mcr-1* 遺伝子保有株の割合が牛に比べて高い傾向にあった（2015 年では、牛：0%、豚：7.5%、肉用鶏：2.7%）。農場におけるコリスチン耐性菌及びコリスチン耐性に関与する遺伝子等の発生動向について、継続的な情報収集により注意を払う必要があると考えられる（懸念は中程度）。

（４）発生評価の結果

発生評価の結果を表 39 に示した。

硫酸コリスチンは家畜に対して 50 年以上使用されているが、健康家畜由来大腸菌のコリスチンに対する感受性は概ね維持されている。大腸菌等を含むグラム陰性桿菌におけるコリスチンを含むポリミキシン類への耐性獲得機構としては、従来染色体上の遺伝子の関与が知られていたが、2015 年に中国において *mcr-1* 遺伝子の発見が報告された。これを受けて、国内外で *mcr-1* 遺伝子の保有状況が調べられた。海外のコリスチン耐性株又は *mcr-1* 遺伝子分離に関する報告では、コリスチンの畜種別も含めた使用状況を併せて報告している文献は限られており、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る場合もあると考えられる。また、欧州では家畜にコリスチンを使用することの公衆衛生及び動物衛生への影響について 2016 年に再評価が行われ、その結果、ヒト医療分野への重要性を考慮し、可能な限りコリスチンの使用を減らすべき等の勧告がなされた。

国内では 2007 年以降に分離された病豚由来大腸菌で *mcr-1* 遺伝子保有株が報告され、2015 年に分離された健康家畜由来大腸菌の同遺伝子保有率は 2.0%であった。

mcr-1 遺伝子は大腸菌間又は他の腸内細菌科細菌との間で伝達することが示されている。ただし、現時点で細菌が *mcr-1* 遺伝子を保有することによる適応負担については不明であることから、今後、同遺伝子の保有率がコリスチンの使用量の増減に伴い変動する可能性がある。したがって、農場における抗菌性物質の使用量、コリスチン耐性菌及びコリスチン耐性に関与する遺伝子等の動向等について、継続的な情報収集により注意を払う必要があると考えられる。

表 39 発生評価の内容

区分	評価項目		大腸菌
発生評価	評価結果		中等度
	各項目の評価	①ハザードの出現に係る懸念	中程度
		②ハザードの感受性に係る懸念	中程度
		③その他要因に係る懸念	中程度

3. 暴露評価について

(1) ハザードを含む当該細菌の生物学的特性

大腸菌は牛、豚及び鶏の腸内に存在し、かつ食肉中で生存が可能であることから、ハザードが食品を介してヒトへ暴露する可能性がある。コリスチン耐性大腸菌株がヒトの腸内細菌叢として定着する可能性の高低についての知見は現時点ではない。コリスチン耐性が細菌間で伝達される可能性については、プラスミド上の *mcr-1* 遺伝子が、大腸菌間やサルモネラと大腸菌の間等の組合せで水平伝達した事例が報告されている（懸念は中程度）。

(2) ハザードを含む当該細菌による食品の汚染状況

牛、豚及び鶏由来食品（ひき肉）の大腸菌の陽性率は多くの年で 60～70% と高いが、コリスチン耐性株はほとんど検出されていない（懸念は小さい）。

(3) 暴露評価に係るその他の要因（食肉処理工程、流通経路等）

牛、豚及び鶏由来食品の大腸菌の陽性率が高いものの、これらの畜産食品の摂取が直接的に感染症を引き起こすのではなく、感染症の原因となる可能性としては、コリスチン耐性菌がヒト腸内細菌叢として定着し、医療環境等を汚染することが挙げられる。一方、これらの食品が加熱調理等により適切に消費される限りにおいて、その程度は低いと考えられる（懸念は小さい）。

なお、食肉由来大腸菌のコリスチン感受性に関する報告は限られており、今後の情報収集が重要であると考えられる。

(4) 暴露評価の結果

暴露評価の結果を表 40 に示した。

表 40 暴露評価の内容

区分	評価項目		大腸菌
暴露評価	評価結果		低度
	各項目の評価	①生物学的特性に係る懸念	中程度
		②食品の汚染状況に係る懸念	小さい
		③その他要因に係る懸念	小さい

4. 影響評価について

(1) 当該疾病治療における重要度

「ヒト用抗菌性物質の重要度ランク付け」において、コリスチンは「ある特定のヒトの疾病に対する唯一の治療薬である抗菌性物質又は代替薬がほとんどないもの」として、「ランク I：きわめて高度に重要」とされている。注射用コリスチンメタンスルホン酸は、ヒト医療において 1960～1970 年代に使用されていたが、腎機能障害等の発現頻度が高く、他の抗菌薬の開発とともに使用頻度が減少し発売が中止されていた。しかしながら、近年多剤耐性グラム陰性桿菌感染症が臨床的な問題となったことを背景に、国内では 2015 年にヒト用コリスチン注射薬が承認・再発売された。承認に当たっては、グラム陰性菌に対し有効性が期待される他の 3 系統の抗菌薬に耐性を示す場合にのみ使用することといった使用上の注意が付されている。また、コリスチン注射薬は MDRP、MDRA 及び CRE 感染症の推奨薬とされている（ランク I かつ推奨薬(CRE 感染症)、どちらも該当）。

(2) 当該疾病の重篤性

コリスチンの使用が推奨される CRE 感染症の起因菌である CRE は、大腸菌等の常在菌的な性格の強い細菌を発生母体としている。常在菌としての大腸菌による、食品を介した感染症の明確な発生件数は不明である。また、現時点では国内においてコリスチン耐性の大腸菌による死亡事例の報告は極めてまれである。しかしながら、CRE 感染症等の多剤耐性菌感染症は、臨床上の影響が大きく、これらの細菌が *mcr-1* 遺伝子等によりコリスチン耐性を獲得し院内感染の起因菌となった場合には、治療の難渋化が予想される（懸念は中程度）。

(3) 影響評価に係るその他要因（代替薬の状況、医療分野における薬剤耐性の状況等）

多剤耐性ではない大腸菌による感染症については、フルオロキノロン系抗菌性物質やセファロスポリン系抗生物質等の、コリスチンとは系統の異なる抗菌性物質が推奨薬とされている。

現時点で、国内のヒト臨床分野における CRE 等の報告は限られており、コリスチンの使用頻度は低いと考えられる。また、国内のヒト臨床分離株から *mcr-1* 遺伝子が

分離されたとの報告は現時点までない。

しかしながら、CRE 等の多剤耐性菌が *mcr-1* 遺伝子等によりコリスチン耐性を獲得した場合には代替薬がほとんどなくなる可能性があると考えられる（懸念は大きい）。

（４）影響評価の結果

影響評価の結果を表 41 に示した。

医療分野における現状を総合的に考慮すると、ハザードに起因する感染症に対するコリスチンの治療効果が減弱又は喪失する可能性があり、その程度は高度であると考えた。

表 41 影響評価の内容

区分	評価項目		大腸菌
影響評価	評価結果		高度
	各項目の評価	①重要度ランク I かつ推奨薬	どちらも該当
		②当該疾病の重篤性に係る懸念	中程度
		③その他要因に係る懸念	大きい

5. リスクの推定について

（１）リスクの推定の考え方

評価指針に基づき、発生評価、暴露評価及び影響評価に係る現時点での評価結果から、ハザードのリスクを推定した。

リスクの推定に当たっては、原則として、表 42 に示した考え方に基づき、発生評価、暴露評価及び影響評価の結果を踏まえ、総合的に判断することとした。

なお、影響評価において極めて重篤性が高いと考えられる悪影響が懸念される場合等にあつては、表 42 の考え方にかかわらず、影響評価の結果の重み付けを高くすること等、リスクを総合的に推定することが必要であるとする。

表 42 リスクの推定の判断の考え方

評価項目			リスクの推定の区分
①発生評価	②暴露評価	③影響評価	
◎スコア 高度(3) 中等度(2) 低度(1) 無視できる程度(0)	◎スコア 高度(3) 中等度(2) 低度(1) 無視できる程度(0)	◎スコア 高度(3) 中等度(2) 低度(1) 無視できる程度(0)	
・スコア合計 8～9			
			高度：ハザードによるリスクは大きい。

・スコア合計 5～7	中等度：ハザードによるリスクは中程度である。
・スコア合計 2～4	低度：ハザードによるリスクは小さい。
・スコア合計 0～1	無視できる程度：ハザードによるリスクは無視できる程度である。

(2) リスクの推定の結果

[VI. 2～4]の各評価項目の結果を踏まえ、総合的にリスクを評価した結果、ハザードによるリスクは中等度と判断した。

表 43 リスクの推定の内容

区分	評価項目		大腸菌
リスクの推定	評価結果		中等度
	各項目の評価	①発生評価（スコア）	中等度(2)
		②暴露評価（スコア）	低度(1)
		③影響評価（スコア）	高度(3)
		（スコア合計）	(6)

6. 食品健康影響評価について

以上のことから、これまでに得られている科学的知見に基づく現時点での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は、以下のとおりと考えた。

- (1) 硫酸コリスチンが、動物用医薬品又は飼料添加物として家畜に使用された結果としてハザードが選択され、これらの家畜由来の畜産食品を介してヒトがハザードに暴露され、ヒト用抗菌性物質による治療効果が減弱又は喪失する可能性は否定できず、総合的にリスクを推定した結果、リスクの程度は中等度であると考えた。
- (2) なお、今回、ハザードの特定において、サルモネラについて現時点でリスク評価に必要な知見が十分にあるとは言えないことから、大腸菌のみをハザードとしてリスク評価を行った。大腸菌については、*mcr-1* 遺伝子を始めとした新たな耐性機構及びその影響については、国際的にもいまだ十分な情報が得られていないと考えるため、国内外における検討状況等を含め新たな科学的知見・情報の収集が必要である。

VII. その他の考察

1. 薬剤耐性菌に係るモニタリングについて

家畜における全国的な薬剤耐性菌のモニタリングとして、1999 年から JVARM が実施されている。2008 年からは大腸菌及びカンピロバクターについては、国内の都道府県を 2 ブロックに分けて、2 年で全国を調査する体制、サルモネラについては、ブロック分けをせず、国内の病性鑑定材料から分離した菌の調査が行われている。また、病畜由来細菌のモニタリングにおいて、病性鑑定材料由来細菌の薬剤感受性を調査している。なお、2016 年からは健康家畜については、と畜場又は食鳥処理場において採取した細菌の薬剤感受性調査に移行した。

JVARM におけるデータから、2000～2015 年の健康家畜由来大腸菌のコリスチンに対する感受性に大きな変動はなく、MIC が 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上を示す耐性株の割合は 1.0～4.7%と概ね維持されている。2015 年に中国において新たにプラスミド媒介性の *mcr-1* 遺伝子が報告された。国内では、2007 年に病豚から採取された大腸菌及び JVARM において 2008 年に健康豚から採取された大腸菌から *mcr-1* 遺伝子が分離され、2015 年に採取された健康家畜由来大腸菌の同遺伝子保有率は 2.0%であった。*mcr-1* 遺伝子は大腸菌間又は他の腸内細菌科細菌との間で伝達することが示されていることから、今後、同遺伝子の保有率がコリスチンの使用量の増減に伴い変動する可能性があると考えられた。しかしながら、国際的に推奨されている薬剤感受性試験でコリスチン感性与判定される株が *mcr-1* 遺伝子を保有する等、コリスチン耐性への *mcr-1* 遺伝子の寄与や、同遺伝子が関与する耐性機構と染色体上の遺伝子が関与する耐性機構との連関については不明な点も多い。

薬剤耐性菌のモニタリングについては、2016 年 4 月に策定された「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン」において、ヒト、動物等の垣根を越えた統合的なワンヘルス動向調査体制を確立・強化することとされている。特に、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評価の実施に当たっては、家畜－食品－ヒトという一連の過程の中で薬剤耐性菌の動向を把握することが重要である。このため、家畜分野においては、引き続き、コリスチン耐性及び *mcr-1* 遺伝子を含む薬剤耐性菌の発生状況を的確にモニタリングすること、また、最新の科学的知見・情報を踏まえた上で、分離された薬剤耐性菌の遺伝子解析等による薬剤耐性決定因子の保有状況等の詳細な情報を収集することが必要である。食品分野においては、薬剤耐性菌の動向調査・監視体制の確立に向けた調査研究を実施することが重要である。

抗菌性物質の使用量のモニタリングも、リスク分析の全ての段階で有用である。動物用医薬品及び飼料添加物について動物種ごとの販売量等を引き続き集計すること、また、諸外国の方法等を参考として、動物種ごとの抗菌性物質使用量の推計方法を検討し把握することが必要である。

2. リスク管理措置の徹底について

家畜に使用する硫酸コリスチンは、牛及び豚の細菌性下痢症の治療を目的に使用される硫酸コリスチンを有効成分とする動物用医薬品並びに飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を目的に使用される抗菌性飼料添加物として、国内の家畜に対して

50 年以上使用されている。

動物用医薬品としては、有効菌種は、大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター及び緑膿菌で、子牛及び子豚の細菌性下痢症の治療薬として承認されている。畜種別ではほぼ全てが豚に対するもので、2014 年の使用量は 2005 年から増加 (3,459 kg (力価) → 9,971 kg (力価)) していたが、この増加については同時期の浮腫病の増加との関連も指摘された。一方、飼料添加物としての硫酸コリスチンは、牛、豚及び鶏に対して使用されている。2015 年の使用量は 2005 年から減少していた (31,644 kg (力価) → 27,782 kg (力価))。畜種別の使用量は 2015 年の推計として、豚 (約 70%) に次いで鶏 (約 20%) の使用量が多かった。

現時点で、健康家畜由来大腸菌のコリスチン感受性は維持されていると考えられたが、*mcr-1* 遺伝子は大腸菌間又は他菌種間で伝達することが示されている。ただし、細菌が *mcr-1* 遺伝子を保有することによる適応負担については不明であることから、今後、同遺伝子の保有率がコリスチンの使用量の増減に伴い変動する可能性があると考えられた。*mcr-1* 遺伝子等のコリスチン耐性の詳細について不明な点はあるが、コリスチンがヒト医療における多剤耐性グラム陰性桿菌に対する最終選択薬であることを考慮すれば、家畜に対する硫酸コリスチンの使用方法是注意深く検討されるべきである。特に飼料添加物としての使用については、ヒト医療における重要性を踏まえたリスク管理措置の強化について検討する必要がある。また、動物用医薬品としての使用についても、適応症や有効菌種を適切に設定するとともにより一層の慎重使用を徹底する等のリスク管理措置の強化が必要である。なお、リスク管理措置の強化に当たっては、フルオロキノロン系抗菌性物質やセファロスポリン系抗生物質等の既に二次選択薬として家畜に使用されている、ヒト医療において重要な抗菌性物質がコリスチンの代替として使用されないよう十分留意する必要がある。また、テトラサイクリン系抗生物質は、「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン」の動物分野において数値目標を掲げた耐性菌の分布に関わる成分の一つである。飼料添加物としてのコリスチンの使用量は、現在減少傾向であるが、コリスチンのリスク管理措置の強化に当たって、テトラサイクリン系飼料添加物の増加につながらないよう十分留意する必要がある。

3. 食品健康影響評価の見直しについて

今回の評価に当たっては、ハザードの特定において、サルモネラについて現時点でリスク評価に必要な知見が十分にあるとは言えないことから、大腸菌のみをハザードとしてリスク評価を行った。大腸菌については、詳細な科学的な知見や情報が国内外で収集されつつあることから、引き続き新たな科学的知見・情報等の収集を行い、必要に応じて再度評価を実施することが重要であると考えられる。サルモネラについては、その見直しの際に、再度リスク評価を行うことについて検討することとする。

＜別紙 検査値等略称＞

略称	名称
CLSI	臨床検査標準協会 (Clinical and Laboratory Standards Institute)
CRE	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem-resistant enterobacteriaceae)
DANMAP	デンマーク抗菌薬耐性調査研究プログラム (Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme)
EMA	欧州医薬品庁 (European Medicines Agency)
ESBL	基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (extended-spectrum β -lactamase)
EU	欧州連合 (European Union)
FDA	米国食品医薬品庁 (Food and Drug Administration)
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
JVARM	我が国の家畜衛生分野における薬剤耐性モニタリングシステム (Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System)
LPS	リポ多糖 (Lipopolysaccharide)
L-Ara4N	4 アミノアラビノース (4-amino-4-deoxy-L-arabinose (又は 4-amino arabinose))
MDRA	多剤耐性アシネトバクター菌 (multi-drug resistant <i>Acinetobacter</i> spp.)
MDRP	多剤耐性緑膿菌 (multi-drug resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)
MIC	最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concetnration)
MIC ₅₀	50%最小発育阻止濃度
MIC ₉₀	90%最小発育阻止濃度
MRSA	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin - resistant <i>Staphylococcus aureus</i>)
PCU	個体数調整単位 (population correction unit)
PEtN	ホスホエタノールアミン (phosphoethanolamine)
STEC	志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i>)
VTEC	Vero 毒素産生性大腸菌 (Vero toxin-producing <i>Escherichia coli</i>)

【別紙参考資料：グラム陰性菌におけるペプチド系抗生物質に対する耐性機構】

1. グラム陰性菌の外膜の構造

グラム陰性菌の細胞膜は内膜－細胞壁－外膜から構成される。外膜は、外側の LPS と内側のリン脂質の 2 重層で構成されている。(参照 63)(参照 64)(参照 66) LPS は外膜側（内側）から外側に向かってリピド A (lipid A)－KDO₂ (ketodeoxyoctanoic acid)－コア多糖 (core polysacchallide)－O 抗原多糖で構成されている。

- ・ O 抗原多糖領域は菌属、菌種において多様性がある。
- ・ コア多糖領域は細菌の菌属、菌種において大きな違いはない。内部コア (inner core) と外部コア (outer core) に分けられる。内部コアはリン酸塩 (phosphate) 及び 2-keto-3-deoxy-octulosonic acid (KDO) 等を含んでいる。
- ・ リピド A は 2 分子のグルコサミンに脂質が結合し外膜に埋め込まれている。2 分子のグルコサミンの 1 位と 4' 位の C にリン酸基がエステル結合をしている。KDO₂－リピド A は細菌の膜構造を維持し細菌の生育に必須の物質である。
- ・ コア多糖とリピド A にはリン酸基等が結合し、全体として陰性に荷電している。これらの部位には Mg²⁺等の 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る。細菌において Mg²⁺は細胞膜やリボソームを安定化させる役割を担っている。また、ATP が要求 (必要) される反応に必須の原子である。細菌の Mg²⁺の 1/3 は LPS に存在し、LPS は細菌の Mg²⁺の貯蔵庫と考えられている。(参照 62)

2. 細菌の宿主生体への感染と宿主の抗菌性ペプチドによる自然感染防御機構

(参照 63)(参照 65)(参照 66)(参照 67)(参照 68)

細菌が宿主生体に感染症を発症させるためには宿主組織に定着、増殖しなければならない。しかしながら、感染後宿主組織に侵入した細菌は、宿主の自然感染防御機構に遭遇する。それらは各々の組織に存在する各種抗菌性ペプチドによる抗菌作用や、好中球やマクロファージ等の免疫細胞による食菌作用等がある。

マクロファージは、食菌後、細胞内の抗菌性ペプチドにより殺菌する。抗菌性ペプチドは生体の自然免疫において重要な物質で、各種の食細胞や臓器組織において各種の抗菌性ペプチドが生産される。これらの抗菌性ペプチドは、陽性荷電、両親媒性 (amphipathic) で広域殺菌作用を有し、細菌の細胞膜に対する小孔 (pore forming) 活性により細菌細胞膜を破壊する。抗菌性ペプチドは、細菌の LPS のコア多糖及びリピド A のリン酸基等の陰性荷電物質に電氣的に結合し、細菌細胞膜を破壊し殺菌する。一方、細菌はこれらの抗菌性ペプチドに対して抵抗する機構を進化の過程で獲得している。

これらの機構はグラム陰性菌においてほぼ同様の機構が存在するが、歴史的に *S. Typhimurium* において詳しく研究されている。

(1) 誘導による可逆的抗菌性ペプチド（コリスチン）耐性発現

(参照 62)(参照 63)(参照 65)(参照 66)(参照 162)(参照 163)(参照 164)(参照 165)(参照 166)(参照 167)(参照 168)(参照 169)(参照 170)(参照 171)

S. Typhimurium 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として PhoP/PhoQ 及び PmrA/PmrB の 2 種類の二成分調節系が報告されている。

PhoQ 及び PmrB はセンサーキナーゼ (sensor / kinase) タンパク、PhoP 及び PmrA は調節 (regulator) タンパクである。PhoQ 及び PmrB は、それぞれのセンサーに特異的な外的環境の物理的・化学的情報を感知し¹⁴、自らがリン酸化され¹⁵、次に PhoP、PmrA をそれぞれリン酸化¹⁶することにより活性化する。活性化された PhoP 又は PmrA は、それぞれのタンパクに対応する制御遺伝子 C の特異的なプロモーター領域に結合し、それらの遺伝子の mRNA の合成を促進させる¹⁷。

PmrA による制御遺伝子は 6 種類報告されている。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 *arnBCADTEF* 遺伝子群、3 個の遺伝子で構成される *pmrCAB* 遺伝子群及び *cptA* 遺伝子である。最終産物として前者は L-Ara4N (4-amino-4-deoxy-L-arabinose)、後者の 2 種類の遺伝子 (群) は PEtN (phosphoethanolamine) を生産する。これらはいずれも陽性荷電物質で L-Ara4N はリピド A のグルコサミンの 4' 位の C のリン酸基に結合 (置換) する。そしてリピド A の陰性荷電が 0 となる。PEtN は 1 位 C のリン酸基に結合 (置換) する。これによりリピド A の陰性荷電が -1.5 から -1 となり、陽性荷電抗菌性ペプチドのリピド A への結合が阻害される。(参照 62)(参照 63)(参照 64)(参照 66)(参照 162)(参照 172)(参照 173)(参照 174)(参照 175)

¹⁴ 低 Mg²⁺、低 pH 環境における PhoP/PhoQ 機構発現の意義：

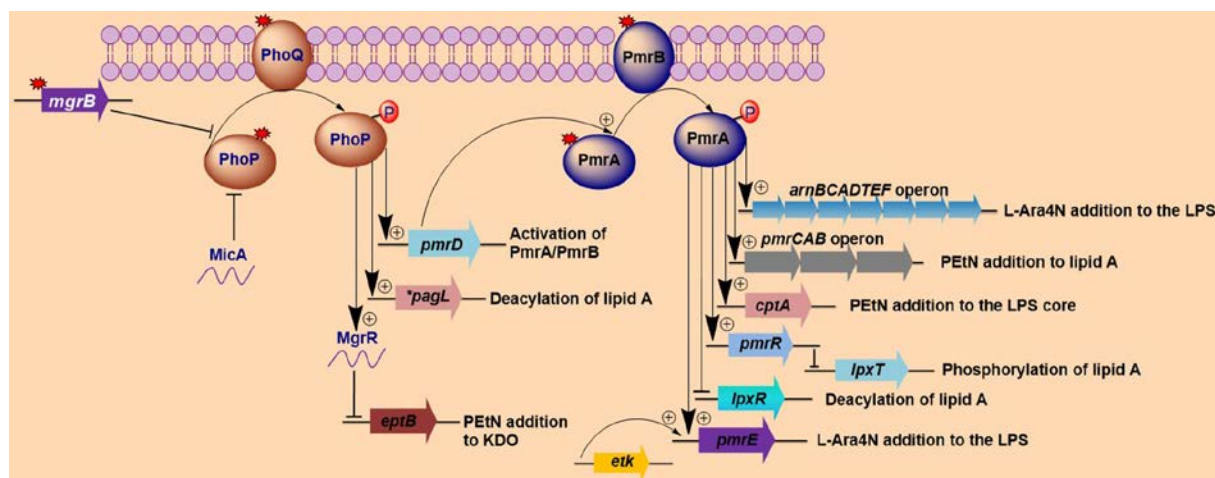
生体のマクロファージ細胞内は低 Mg²⁺濃度、低 pH 値の環境にある。マクロファージに食菌された *S. Typhimurium* は低 Mg²⁺環境に適応するため、Mg²⁺取込み機構により細菌細胞内への Mg²⁺取込みが促進される。低 Mg²⁺環境における細菌の Mg²⁺の供給源は細菌自らの LPS に結合している Mg²⁺と考えられている。LPS の Mg²⁺の細菌細胞内への移行により、LPS は Mg²⁺が減少し陰性荷電状態となる。これを中和するため低 Mg²⁺環境に反応し PhoQ/PhoP 機構が働き最終的に LPS を L-Ara4N 又は PEtN による共有結合で修飾し中和すると考えられている。(参照 62)

¹⁵ 自己リン酸化機構

¹⁶ PhoQ 及び PmrB のリン酸伝達機構及びリン酸化機構

¹⁷ PhoQ は低 Mg²⁺及び低酸性 (～pH4.9) 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 に伝達し活性化する。PmrB は高濃度 Fe³⁺及び弱酸性 (～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 が活性化される。活性化された PmrA は対応する各種制御遺伝子 C のプロモーター領域に結合し転写を促進する。PhoQ の制御遺伝子には *pmrD*、*pagL* 及び *mgrR* 遺伝子等が報告されている。*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 により PmrA が活性化される。この機構は、PhoP/PhoQ の調節機構による情報伝達が PmrD を介して PmrA/PmrB に連結する機構である。この PmrA/PmrB 機構は、*S. Typhimurium* に存在するが大腸菌では存在せず、退化したと考えられている。

図 グラム陰性菌 (*S. Typhimurium*, *E. coli*) のコリスチンを含む抗菌性ペプチド耐性に関与する LPS 修飾物質生産遺伝子の活性化機構



(参照 66)を引用

PhoQ/PhoP, PmrB/PmrA はそれぞれ二成分調節系のタンパク。PhoQ 及び PmrB はセンサーキナーゼタンパク、PhoP、PmrA は調節タンパク。PhoQ は低酸性 (pH4.8)、低 Mg^{2+} 、PmrB は弱酸性 (pH5.8)、高 Fe^{3+} に反応し自らリン酸化され、続いてそれぞれ PhoP、PmrA をリン酸化 (活性化) する。活性化された PhoP、PmrA はそれぞれのタンパクが制御している制御遺伝子 (群) の最初の遺伝子のプロモーター領域に結合し転写を促進させる。それぞれの制御遺伝子は最終的に修飾物質を生産し、LPS に共有結合させる。*S. Typhimurium* においては PhoQ/PhoP により感知された情報は、PmrD により PmrA に伝達される。最も一般的な LPS 修飾物質は L-Ara4N (4-amino-4-deoxy-L-arabinose (又は 4-amino arabinose))、次いで PETN (phosphoethanolamine) である。

- ・赤星印の遺伝子の突然変異によりこれらのタンパクの恒常的活性化状態となり抗菌性ペプチド耐性が恒常的に発現する。
- ・*arnBCADTEF* 遺伝子群; L-Ara4N 生産による LPS 修飾遺伝子。*arnA* 遺伝子による基質の UDP-グルクロン酸の酸化的脱カルボキシル化から始まり、それぞれの遺伝子により生産される酵素の働きにより最終的に L-Ara4N が生産される。L-Ara4N は *arnBCADTEF* 遺伝子群の ArnT (4-amino arabinose transferase) により LPS のリポド A の 4' のリン酸基を L-Ara4N により修飾する (共有結合)。リポド A のグルコサミンに結合する脂質は野性株では 6 個の脂肪酸が結合している。またコリスチン耐性菌では 7 個の脂肪酸が結合している。これらの構造は L-Ara4N の付加修飾に必須であるとされている。これは PhoP/PhoQ により *pagP* (acyl transferase; 脂肪酸伝達酵素) が活性化されグルコサミンの 1 位の C の脂肪酸の-OH 基に 1 分子の脂肪酸が付加結合することによる。(参照 176)
- ・*pmrCAB* 遺伝子群; PETN による LPS 修飾遺伝子。PmrC はリン脂質に最も多く存在するホスファチジルエタノールアミンから PETN を分離し、PETN を LPS のリポド A の 1 位のリン酸基に共有結合させる酵素 (ホスフォエタノールアミントランスフェラーゼ)。
- ・*cptA* 遺伝子; CptA はホスファチジルエタノールアミンから分離した PETN により LPS のコア部位のリン酸基を修飾する酵素。
- ・*eptB* 遺伝子; 大腸菌に存在する遺伝子。PhoQ/PhoP により抑制的に制御されている遺伝子である。EptB は PETN により LPS の KDO₂ を修飾するタンパクでホスフォエタノールアミントランスフェラーゼ活性をもつ。
- ・*mgrB* 遺伝子; 肺炎桿菌に存在する遺伝子。PhoP に負の調節 (抑制的) 機能をもつ。
- ・*pmrE* 遺伝子; PmrE (Ugd) は UDP-glucose dehydrogenase である。UDP-glucose を酸化し UDP-glucuronic acid を生産する。UDP-glucuronic acid は L-Ara4N 合成のための最初の化合物で、以後は *arnBCADTEF* 遺伝子群の各酵素により L-Ara4N が合成される。PmrE は PmrA/PmrB により正に制御されているが、大腸菌においては Etk (tyrosin kinase) により正に制御されている。リン酸化された Etk 蛋白により PmrE はリン酸化 (活性化) され、UDP-glucose dehydrogenase 活性が亢進する。*etk* 遺伝子の欠損変異により大腸菌はポリミキシン B への耐性が減弱する。また *etk* 遺伝子の発現は PmrA/PmrB により正に調節されている可能性が推測されている。
- ・*pagL* 遺伝子; リポド A には通常 6 個の脂肪酸が結合している。そしてこれは L-Ara4N によるリポド A の修飾に必須の構造とされている。*pagL* (lipase) 遺伝子は L-Ara4N 又は PETN によりリポド A が修飾される通常の状態では発現されない。L-Ara4N や PETN が欠損した状態では PagL が生産されリポド A の C3 の脂肪酸を除去 (deacylation) する。この状態で細菌はポリミキシン耐性を発現することができる。

① L-Ara4N と PEtN による LPS の修飾によるコリスチン（ポリミキシン）感受性

前述のとおり、抗菌性ペプチド耐性を賦与する細菌の主な LPS 修飾機構には L-Ara4N によるリピド A の 2 分子糖の C4' リン酸基の修飾及び PEtN によるリピド A の 2 分子糖の C1 位のリン酸基修飾がある。このうち、以下の報告から、抗菌性ペプチド耐性と生体の感染防御機構に対する抵抗性においては、L-Ara4N による修飾が最も重要で、PEtN による修飾は L-Ara4N による修飾と比べて小さいとされている。(参照 171)(参照 175)

S. Typhimurium の二成分調節系の恒常的発現変異株である *S. Typhimurium* (*pmrA*^{C18}/*pmrB*) 株を親株とした、*pmrCAB* 遺伝子群の *pmrC* 遺伝子又は *cptA* 遺伝子の欠損変異株 (*S. Typhimurium* (*pmrA*^C, *pmrC*^{d19})又は (*pmrA*^C, *cptA*^d))²⁰ のコリスチン感受性は、親株 *S. Typhimurium* (*pmrA*^C/*pmrB*) より 2 倍低下 (8 µg/mL → 4 µg/mL) した。*S. Typhimurium* (*arnBCADTEF*^d変異株)²¹ のコリスチン（ポリミキシン）感受性は親株 *S. Typhimurium* (*pmrA*^C/*pmrB*) から約 300 倍 (8 µg/mL → 0.03 µg/mL) 低下した。また、同変異株で *pmrC* 又は *cptA* 遺伝子のいずれか一方の変異を同時に持つ株も同程度にポリミキシン耐性が低下した。(参照 171)(参照 175)

(2) 二成分調節系の突然変異による恒常的抗菌性ペプチド耐性

二成分調節系による、センサーキナーゼタンパク及び調節タンパク並びにそれらの調節遺伝子の発現による抗菌性ペプチドに対する耐性発現は、物理的・化学的な外的環境により誘導される可逆的な機構である。しかしながらセンサーキナーゼタンパク又は調節タンパクいずれかの突然変異により、恒常的に調節タンパクが活性化され、それに対応する制御遺伝子の恒常的な発現（転写亢進）と LPS の修飾によりコリスチンを含む抗菌性ペプチドに対する耐性が生ずる。(参照 66)(参照 69)

コリスチン耐性 (MIC が上昇) を示した臨床分離菌における二成分調節系の主なセンサーキナーゼ又は調節タンパクの変異部位を表に整理した。

¹⁸ C : constitutive

¹⁹ d : defective (欠損変異)

²⁰ PEtN 非産生株

²¹ L-Ara4N 非産生株

表 二成分系調節系の主なセンサーキナーゼ又は調節タンパクの変異部位

細菌	遺伝子	アミノ酸変異部位	細菌	遺伝子	アミノ酸変異部位
<i>Salmonella enterica</i>	<i>pmrA</i>	R81H, R81C	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>pmrA</i>	L157Q
		G15R		<i>pmrB</i>	M292T
		G53E, G53R			L243Q
	<i>pmrB</i>	L14S, L14F (等全 24 種)			A248V (等全 27 種)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>pmrA</i>	G53C	<i>K. pneumoniae</i>	<i>phoP</i>	G385S
	<i>pmrB</i>	L82R			L26Q
		T157P		<i>phoQ</i>	L96P
		S85R			L348Q
		T140P (等全 9 種)			S174N
<i>Enterobacter aerogenes</i>		G53C	<i>P. aeruginosa</i>	<i>phoQ</i>	V260G
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>pmrA</i>	M12I			H223R
		S119T			V152 trunc.
		E8D			A143V
	<i>pmrB</i>	P102H			K123Q (等全 20 種)
		T13N	<i>E. coli</i>	<i>pmrB</i>	V161G
		A227V (等全 45 種)		<i>pmrA</i>	39SI
					81RS

(参照 66)を一部改変

① その他のグラム陰性菌におけるポリミキシン耐性機構

a. 腸内細菌科細菌

肺炎桿菌には、大腸菌やサルモネラと同様の機構が存在する。コリスチン耐性菌のリピド A は感受性菌のリピド A の 5 倍の L-Ara4N を含んでおり、これが LPS の陰性荷電を減少させる役割をしている。肺炎桿菌の PhoP/PhoQ 機構は *mgrB* 遺伝子の MgrB タンパクにより負の制御を受けている²²。

大腸菌における *mgrR* 遺伝子は 98 塩基の RNA で調節機能を持つ small RNA (sRNA) である。活性化 PhoP は *mgrR* 遺伝子のプロモーター領域に結合し MgrR (RNA) の合成 (転写) を促進する。MgrR (RNA) は対応する制御遺伝子 *eptB* 遺伝子の mRNA の 5' 領域に相補的に結合し *eptB* 遺伝子のタンパクの合成を抑制的に制御する。*eptB* 遺伝子は LPS の KDO のリン酸基を PETn により付加、修飾する酵素である。MgrR (RNA) は *eptB* 遺伝子の発現を抑制する働きをしているが、大腸菌において *mgrR* 遺伝子欠損突然変異株はコリスチン耐性が上昇する。(参照 177)(参照 178)(参照 179)(参照 180)(参照 181)

b. ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌

A. baumannii は L-Ara4N を合成する遺伝学的な機構を保持していない。しかしながら、大腸菌やサルモネラ等の腸内細菌科細菌と同様に、リピド A を修飾する PETn を生産する *pmrCAB* 遺伝子群に相当する遺伝子が存在する。PmrCAB は、腸内細菌科細菌と同様に、PmrA/PmrB の二成分調節系により制御されており、

²² *mgrB* 遺伝子は、141 塩基で MgrB は 47-amino acid の膜タンパクである。PhoP に作用し、PhoP の機能を抑制する。*mgrB* 遺伝子の欠損変異株では PhoP による制御遺伝子発現が亢進する。(参照 66)

pmrA 又は *pmrB* 遺伝子の変異により *pmrCAB* 遺伝子群が恒常的に発現される。*pmrCAB* 遺伝子群の誘導又は恒常的発現により生産された PEtN によりリピド A の C1 及び C4' のリン酸基が修飾される²³。(参照 182)(参照 183) コリスチン耐性を示した *A. baumannii* のリピド A の C4' のリン酸基の PEtN による修飾とリピド A の C1 のリン酸基のガラクトサミンによる修飾が報告²⁴されているが、この遺伝的機構はわかっていない。(参照 184)

緑膿菌における耐性機構はサルモネラや大腸菌とほぼ同じで、PmrA/PmrB 及び PhoP/PhoQ の二成分調節系をもつ。(参照 185)(参照 186) 緑膿菌ではコリスチン耐性発現に PmrA/PmrB 及び PhoP/PhoQ 以外の二成分調節系である ColR/ColS 及び CprR/CprS 制御機構が存在することが特徴である。*phoQ* 遺伝子の変異株（恒常的発現株）においてこれら ColR/ColS 及び CprR/CprS 機構の変異株はコリスチン高度耐性になる。これらの機構は、PhoQ/PhoP を通して制御している可能性と、これらの制御機構により制御されている未解明の修飾物質生産遺伝子が存在する可能性が推測されている。(参照 187) また、CprR/CprS 及び他の制御機構である ParR/ParS は抗菌性ペプチド（コリスチン）の緑膿菌に対する subinhibitory concentration²⁵により誘導活性化され *arnBCADTEF* 遺伝子群の発現を亢進させるとの報告もあった。(参照 188)

²³ 薄層クロマトグラフィー及び質量分析によるリピド A の解析で PmrA/PmrB における *pmrB* 変異によるポリミキシン耐性株 (MIC 8 µg/ml) はリピド A のグルコサミンの C1、C4' のリン酸基がそれぞれ PEtN で修飾される。*pmrCAB* の *pmrC* 欠損変異株 (PEtN 非生産株) ではコリスチンの MIC が低下 (8 µg/mL → 0.25 µg/mL) に低下し、リピド A の PEtN による修飾も欠失する。

²⁴ *A. baumannii* の野生株から分離されたコリスチン耐性変異株のリピド A の質量分析による解析で、リピド A のグルコサミンの C1 リン酸基がガラクトサミンで、C4' のリン酸基が PEtN でそれぞれ修飾されていた。ガラクトサミンによる修飾は腸内細菌科細菌のコリスチン耐性菌におけるリピド A の L-Ara4N の修飾に相当するとされている。臨床分離コリスチン耐性株において、リピド A が PEtN とガラクトサミンの両物質で修飾されている株が存在し、この株に対するコリスチンの MIC が上昇 (1.5 µg/mL → 48 µg/mL) していた。

²⁵ MIC より低い濃度

＜参照＞

1. 食品安全委員会. 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.
2. 日本薬局方16. コリスチンメタンスルホン酸ナトリウム. :645-7.
3. 小山康夫, 黒沢秋雄, 土屋厚, 高久田金助. 土壌有芽胞細菌の生産する1新抗菌性物質Colistinに就いて. J Antibiotics. 1950;3(7):457-8.
4. 小野浩臣. 特別寄稿 産業動物用抗菌薬特に抗生物質の発展の歴史と規制問題. 動物用抗菌剤研究会報. 2004;(25):7-21.
5. ファイザー株式会社. 医薬品インタビューフォーム 硫酸ポリミキシンB散. 2013.
6. ファイザー株式会社. 医薬品インタビューフォーム 硫酸ポリミキシンB錠. 2013.
7. MSD株式会社. 医薬品インタビューフォーム キュビシン静注用350mg. 2015.
8. グラクソ・スミスクライン株式会社. 医薬品インタビューフォーム オルドレブ点滴静注用150mg. 2015.
9. 公益社団法人日本化学療法学会. コリスチンの適正使用に関する指針改定委員会. コリスチンの適正使用に関する指針—改訂版—. 2015.
10. 農林水産省. 畜産物生産における動物用抗菌性物質製剤の慎重使用に関する基本的な考え方について. 2013.
http://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/yakuzi/pdf/prudent_use.pdf
11. 農林水産省動物医薬品検査所. 動物用医薬品、医薬部外品及び医療機器製造販売高年報(別冊). 各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量. 2005～2014.
12. EMA. Updated advice on the use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. 2016;EMA/CVMP/C.
13. FDA/CVM. Guidance for Industry #213. New Animal Drugs and New Animal Drug Combination Products Administered in or on Medicated Feed or Drinking Water of Food-Producing Animals: Recommendations for Drug Sponsors for Voluntarily Aligning Product Use Conditions with GFI #209. 2013.
14. European Commission. Scientific Steering Committee. Opinion of the Scientific Steering Committee on Antimicrobial Resistance 28 May 1999. 1999.
15. European Commission. Scientific Steering Committee. 2nd Opinion on Anti-microbial Resistance. Adopted on 10-11 MAY 2001. 2001.
16. EMA. Colistin oral [Internet]. Available from:
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/veterinary/referals/Colistin_oral/vet_referral_000104.jsp&mid=WC0b01ac05805c5170
17. European Commission. Request for advice on the impact on public health and animal health of the use of antibiotics in animals. 2012;SANCO/MN/sl/ddg1.d.6(2012)8317.
18. EMA. Use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health.

- 2013;EMA/755938.
19. 食品安全委員会. 動物用医薬品・飼料添加物評価書 コリスチン. 2008.
 20. 佐藤弘幸, 大内勝, 小海淳一. 硫酸コリスチンの体内分布に関する研究経口投与による鶏および豚体内分布と消長について. *The Japanese Journal of Antibiotics*. 1972;25(4):239–45.
 21. 寺門嗣昭, 畦地速見, 大前憲一, 小山敬之, 二宮幾代治, 柏崎守. 3 経口投与による硫酸コリスチンの豚体内分布と腸管内大腸菌数の経時的推移について (第73回日本獣医学会微生物学分科会). 日本獣医学会記事. 1972;34:2.
 22. Uemura R, Sueyoshi M, Nagayoshi M, Nagatomo H. Antimicrobial susceptibilities of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from pigs with edema disease in Japan. *Microbiol Immunol*. 2003;47(1):57–61.
 23. 食品安全委員会. 畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査報告書 (平成19年度食品安全確保総合調査). 2008.
 24. 木下尚洋, 平井順, 片江宏巳. 子豚の大腸菌性下痢のピロミド酸による治療ならびに大腸菌の薬剤感受性試験. *日本獣医師会雑誌*. 1983;36(5):256–62.
 25. 高橋勇. わが国における家畜および鶏由来サルモネラの薬剤耐性について. *モダンメディア*. 1976;22(6):248–59.
 26. 畦地速見, 小山敬之, 寺門誠致. 豚由来 *Bordetella bronchiseptica* の化学療法剤に対する感受性. *日本獣医師会雑誌*. 1973;26(2):75–9.
 27. Yamamoto J, Sakano T, Shimizu M. Drug resistance and R plasmids in *Pasteurella multocida* isolates from swine. *Microbiol Immunol*. 1990;34(9):715–21.
 28. Martin FA, Posadas DM, Carrica MC, Cravero SL, O'Callaghan D, Zorreguieta A. Interplay between Two RND Systems Mediating Antimicrobial Resistance in *Brucella suis*. *J Bacteriol*. 2009;191(8):2530–40.
 29. Jean S-S, Lee W-S, Yu K-W, Liao C-H, Hsu C-W, Chang F-Y, et al. Rates of susceptibility of carbapenems, ceftobiprole, and colistin against clinically important bacteria collected from intensive care units in 2007: Results from the Surveillance of Multicenter Antimicrobial Resistance in Taiwan (SMART). *J Microbiol Immunol Infect*. 2015, in press, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2014.12.008>, (accessed 2006-08-30).
 30. 動物用抗菌剤研究会編. 一般名: 硫酸コリスチン. In: 動物用抗菌剤マニュアル. インターズー. 東京. 2004;123.
 31. 原田和記. 獣医療分野における抗菌剤の使用と食用動物由来大腸菌の薬剤耐性との関連性に関する研究. *動薬検年報*. 2008;45:1–11.
 32. 酒見蓉子, 御囲雅昭, 篠田浩二郎, 村松康和, 上野弘志, 田村豊. 北海道石狩地域における牛乳房炎由来 *Escherichia coli* および *Klebsiella* 属菌の薬剤感受性. *日本獣医師会雑誌*. 2010;63(3):215–8.
 33. 農林水産省動物医薬品検査所. 野外流行株の薬剤耐性調査 (病畜由来細菌のモニタリング) の結果 (平成20～26年).

34. 動物衛生研究所. 家畜由来腸管出血性大腸菌O157及びサルモネラの各種抗菌薬剤に対する感受性 [Internet]. 1998. Available from: <https://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/niah/1998/niah98-16.html>
35. 又吉正直, 大城守, 安富祖誠, 国場保. 子牛由来Vero毒素産生性大腸菌の細菌学的性状, 薬剤感受性とプラスミドプロファイル. 日本獣医師会雑誌. 2000;53(5):279–84.
36. 福山正文, 大仲賢二, 古畑勝則, 原元宣, 中澤宗生. ヒト下痢症および健康牛から分離したVero毒素産生性大腸菌O157: H7 (VTECO157: H7) における薬剤感受性. 感染症学雑誌. 2005;79(7):451–6.
37. Esaki H, Morioka A, Ishihara K, Kojima A, Shiroki S, Tamura Y, et al. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated from cattle, swine and poultry (2001-2002): report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. J Antimicrob Chemother. 2004;53(2):266–70.
38. Esaki H, Asai T, Kojima A, Ishihara K, Morioka A, Tamura Y, et al. Antimicrobial Susceptibility of *Mannheimia haemolytica* Isolates from Cattle in Japan from 2001 to 2002. J Vet Med Sci. 2005;67(1):75–7.
39. 又吉正直, 中澤宗生. 子豚由来腸管毒素原性大腸菌の薬剤耐性, β -lactamase産生性, 耐性遺伝子, Rプラスミドおよびプラスミドプロファイル. 日本獣医師会雑誌. 2001;54(12):913–9.
40. 大谷利之. 5. 豚由来毒素産生性大腸菌の薬剤耐性. 動物抗菌会報. 2000;49–53.
41. Kusumoto M, Ogura Y, Gotoh Y, Iwata T, Hayashi T, Akiba M. Colistin-Resistant *mcr-1*-Positive Pathogenic *Escherichia coli* in Swine, Japan, 2007–2014. Emerg Infect Dis. 2016;22(7):1315–17.
42. Shimizu M, Kuninori K, Sakano T, Terashima T. Antibiotic Susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida* Isolates from Swine. The Japanese Journal of Veterinary Science. 1982;44(2):359–63.
43. 阪野哲也. 豚由来*Haemophilus pleuropneumoniae*の薬剤感受性と肺炎に対するオキシテトラサイクリンの効果. 家畜抗菌会報. 1989;21–6.
44. Suzuki S, Ohmae K, Ohishi K, Muramatsu M, Takahashi T. Antimicrobial Susceptibility of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* Isolated from Pigs with Pleuropneumonia. The Japanese Journal of Veterinary Science. 1989;51(2):450–2.
45. 福安嗣昭, SAKPUARAM T, 斎藤慶子, 芦田淨美. 豚肺炎由来*Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*の血清型と薬剤感受性. 日本獣医師会雑誌. 1991;44(1):11–6.
46. 福安嗣昭. 1. 1989年～91年に分離された*Actinobacillus pleuropneumoniae*の血清型と薬剤感受性. 動物抗菌会報. 1993;7–12.
47. 守岡綾子, 浅井鉄夫, 高橋敏雄. 1999～2000年に国内で分離された*Actinobacillus pleuropneumoniae*の薬剤感受性. 日本獣医師会雑誌. 2006;59(12):815–9.
48. 樋口良平, 河合透, 種子野章, 寺門誠致. 1988年度に豚から分離された*Bordetella*

- bronchiseptica*の薬剤感受性. 日本獣医師会雑誌. 1991;44(2):112–4.
49. 森腰俊亨. 3. *Haemophilus parasuis*の薬剤感受性とプラスミドについて. 動物抗菌会報. 1993;18–22.
 50. Ishii H, Mokudai K, Seki T, Matsumoto T, Kameda M, Kurihara O, et al. Drug-susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from swine from 1987 to 1989. The Japanese Journal of Veterinary Science. 1990;52(2):399–402.
 51. 農林水産省動物医薬品検査所. Report of the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System -2000 to 2007.
 52. 農林水産省動物医薬品検査所. Report of the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System -2008 to 2011.
 53. 農林水産省動物医薬品検査所. Report of the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System -2012 to 2013.
 54. 農林水産省動物医薬品検査所. 農場における家畜由来細菌の薬剤耐性モニタリング結果, 平成26年.
 55. 農林水産省動物医薬品検査所. と畜場及び食鳥処理場における家畜由来細菌の薬剤耐性モニタリング結果 (平成24, 25年) .
 56. 大藪一雄, 山本美佳, 二川慶子, 福安嗣昭. 健康な繁殖母豚のふん便由来サルモネラの薬剤感受性試験. 家畜衛生研究会報. 2001;27(1):7–14.
 57. 福安嗣昭, 二川慶子. 健康な豚からのサルモネラ分離と薬剤感受性. 豚病会報. 2007;51:9–15.
 58. Futagawa-Saito K, Hiratsuka S, Kamibepu M, Hirose T, Oyabu K, Fukuyasu T. *Salmonella* in healthy pigs: prevalence, serotype diversity and antimicrobial resistance observed during 1998-1999 and 2004-2005 in Japan. Epidemiol Infect. 2008;136(8):1118–23.
 59. Swedish Antibiotic Utilisation and Resistance in Human Medicine (SWEDRES) and Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SVARM). SWEDRES-SVARM 2013. Use of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance in Sweden.
 60. Statens Serum Institute, National Veterinary Institute, National Food Institute. DANMAP 2013. Web Annex. 2013.
 61. Statens Serum Institute, National Veterinary Institute, National Food Institute. DANMAP 2014. Web Annex 2014.
 62. Groisman EA, Kayser J, Soncini FC. Regulation of polymyxin resistance and adaptation to low-Mg²⁺ environments. J Bacteriol. 1997;179(22):7040–5.
 63. Raetz CRH, Reynolds CM, Trent MS, Bishop RE. Lipid A modification systems in gram-negative bacteria. Annu Rev Biochem. 2007;76:295–329.
 64. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol Mol Biol Re. 2003;67(4):593–656.
 65. Hancock RE. Peptide antibiotics. Lancet. 1997;349(9049):418–22.
 66. Olaitan AO, Morand S, Rolain J-M. Mechanisms of polymyxin resistance:

- acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol.* 2014;5:643.
67. Fields PI, Groisman EA, Heffron F. A *Salmonella* Locus That Controls Resistance to Microbicidal Proteins from Phagocytic Cells. *Science.* 1985;7247(4894 Pt 1):1059–62.
 68. Alpuche Aranda CM, Swanson JA, Loomis WP, Miller SI. *Salmonella typhimurium* activates virulence gene transcription within acidified macrophage phagosomes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992;89(21):10079–83.
 69. Quesada A, Concepción Porrero M, Téllez S, Palomo G, García M, Domínguez L. Polymorphism of genes encoding PmrAB in colistin-resistant strains of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from poultry and swine. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(1):71–4.
 70. Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2015;16(2):161–8.
 71. Suzuki S, Ohnishi M, Kawanishi M, Akiba M, Kuroda M. Investigation of a plasmid genome database for colistin-resistance gene *mcr-1*. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(3):284–5.
 72. Skov RL, Monnet DL. Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. *Euro Surveill.* 2016;21(9):30155.
 73. Xavier BB, Lammens C, Ruhel R, Kumar-Singh S, Butaye P, Goossens H, et al. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Euro Surveill.* 2016;21(27):30280.
 74. 日本薬局方16. ポリミキシンB硫酸塩. :1287–8.
 75. 高折修二, 橋本敬太郎, 赤池昭紀, 石井邦雄監訳. 第46章 タンパク質合成阻害薬及びその他の抗菌薬. ポリミキシン系抗菌薬. In: グッドマン・ギルマン薬理書 [下]. 第11版. 廣川書店, 東京. 2013;1991–2.
 75. Catchpole CR, Andrews JM, Brenwald N, Wise R. A reassessment of the in-vitro activity of colistin sulphomethate sodium. *J Antimicrob Chemother.* 1997;39(2):255–60.
 77. 二宮幾代治. A. コリスチン. In: 動物の抗生物質. 養賢堂, 東京, 1987;343–8.
 78. Michalopoulos A, Falagas ME. Colistin and polymyxin B in critical care. *Crit Care Clin.* 2008;24(2):377–91.
 79. Falagas ME, Kasiakou SK, Tsiodras S, Michalopoulos A. The use of intravenous and aerosolized polymyxins for the treatment of infections in critically ill patients: a review of the recent literature. *Clin Med Res.* 2006;4(2):138–46.
 80. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(9):589–601.
 81. グラクソ・スミソクライン株式会社. オルドレブ点滴静注用150mg添付文書. 2015.

82. 日本感染症学会/日本化学療法学会 編. XVII. 耐性菌, ブレイクポイント, PK-DK, A: 耐性菌. In: JAID/JSC感染症治療ガイド2014. ライフサイエンス出版, 東京, 2015;289–93.
83. 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 (第2版) . 2006 (2014年3月改訂) .
84. 厚生労働省. 22 薬剤耐性アシネトバクター感染症 [Internet]. 感染症に基づく医師及び獣医師の届出について. Available from:
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-140912-4.html>
85. 厚生労働省. 48 薬剤耐性緑膿菌感染症 [Internet]. 感染症法に基づく医師及び獣医師の届出について. Available from:
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-42-01.html>
86. 厚生労働省. 3 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 [Internet]. 感染症法に基づく医師及び獣医師の届出について. Available from:
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-140912-1.html>
87. Guerra B, Fischer J, Helmuth R. An emerging public health problem: Acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. *Vet Microbiol.* 2014;171(3-4):290–7.
88. Savard P, Gopinath R, Zhu W, Kitchel B, Rasheed JK, Tekle T, et al. First NDM-positive *Salmonella* sp. strain identified in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:5957–8.
89. Cabanes F, Lemant J, Picot S, Simac C, Cousty J, Jalin L, et al. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella* metallo-beta-lactamase (NDM-1) producers on reunion island. *J Clin Microbiol.* 2012;50:3812.
90. Fischer J, Schmoger S, Jahn S, Helmuth R, Guerra B. NDM-1 carbapenemase-producing *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Corvallis isolated from a wild bird in Germany. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:2954–6.
91. Sarkar A, Pazhani GP, Chowdhury G, Ghosh A, Ramamurthy T. Attributes of carbapenemase encoding conjugative plasmid pNDM-SAL from an extensively drug-resistant *Salmonella enterica* Serovar Senftenberg. *Front Microbiol.* 2015;6:969.
92. Quesada A, Ugarte-Ruiz M, Iglesias MR, Porrero MC, Martinez R, Florez-Cuadrado D, et al. Detection of plasmid mediated colistin resistance (MCR-1) in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from poultry and swine in Spain. *Res Vet Sci.* 2016;105:134–5.
93. Doumith M, Godbole G, Ashton P, Larkin L, Dallman T, Day M, et al. Detection of the plasmid-mediated *mcr-1* gene conferring colistin resistance in human and food isolates of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in England and Wales. *J*

- Antimicrob Chemother. 2016;71(8):2300-5.
94. Anjum MF, Duggett NA, AbuOun M, Randall L, Nunez-Garcia J, Ellis RJ, et al. Colistin resistance in *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates from a pig farm in Great Britain. J Antimicrob Chemother. 2016;71(8):2306-13.
 95. Figueiredo R, Card RM, Nunez J, Pomba C, Mendonca N, Anjum MF, et al. Detection of an *mcr-1*-encoding plasmid mediating colistin resistance in *Salmonella enterica* from retail meat in Portugal. J Antimicrob Chemother. 2016;71(8):2338-40.
 96. Yang YQ, Zhang AY, Ma SZ, Kong LH, Li YX, Liu JX, et al. Co-occurrence of *mcr-1* and ESBL on a single plasmid in *Salmonella enterica*. J Antimicrob Chemother. 2016;71(8):2336-8.
 97. Pham Thanh D, Thanh Tuyen H, Nguyen Thi Nguyen T, Chung The H, Wick RR, Thwaites GE, et al. Inducible colistin resistance via a disrupted plasmid-borne *mcr-1* gene in a 2008 Vietnamese *Shigella sonnei* isolate. J Antimicrob Chemother. 2016;71(8):2314-7.
 98. 日本感染症学会/日本化学療法学会 編. JAID/JSC感染症治療ガイドライン2015—腸管感染症—. 日本化学療法学会雑誌. 2016;64(1):31–65.
 99. 吉田眞一, 柳雄介, editors. その他の腸内細菌科の細菌. In: 戸田新細菌学第32版. 南山堂, 東京, 2002;569–74, 500–6.
 100. Yu H, Qu F, Shan B, Huang B, Jia W, Chen C, et al. Detection of *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from different hospitals in China. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60(8):5033-5.
 101. Hasman H, Hammerum AM, Hansen F, Hendriksen RS, Olesen B, Agerso Y, et al. Detection of *mcr-1* encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. Euro Surveill. 2015;20(49):2-6.
 102. Haenni M, Poirel L, Kieffer N, Chatre P, Saras E, Metayer V, et al. Co-occurrence of extended spectrum β lactamase and MCR-1 encoding genes on plasmids. Lancet Infect Dis. 2016;16(3):281–2.
 103. Falgenhauer L, Waezsada S-E, Yao Y, Imirzalioglu C, Kasbohrer A, Roesler U, et al. Colistin resistance gene *mcr-1* in extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Germany. Lancet Infect Dis. 2016;16(3):282–3.
 104. Malhotra-Kumar S, Xavier BB, Das AJ, Lammens C, Hoang HTT, Pham NT, et al. Colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring *mcr-1* isolated from food animals in Hanoi, Vietnam. Lancet Infect Dis. 2016;16(3):286–7.
 105. Fischer J, San Jose M, Roschanski N, Schmoger S, Baumann B, Irrgang A, et al. Spread and persistence of VIM-1 Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in three German swine farms in 2011 and 2012. Vet Microbiol. 2016, in press, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.04.026>, (accessed 2006-07-06).

106. Roschanski N, Frieze A, von Salviati-Claudius C, Hering J, Kaesbohrer A, Kreienbrock L, et al. Prevalence of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* isolated from German pig-fattening farms during the years 2011-2013. Vet Microbiol. (2015), in press, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.11.030>, (accessed 2006-07-06)
107. Dolejska M, Masarikova M, Dobiasova H, Jamborova I, Karpiskova R, Havlicek M, et al. High prevalence of *Salmonella* and IMP-4-producing *Enterobacteriaceae* in the silver gull on Five Islands, Australia. J Antimicrob Chemother. 2016;71(1):63–70.
108. Katsunuma Y, Hanazumi M, Fujisaki H, Minato H, Hashimoto Y, Yonemochi C. Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* and enterococci in the feces of livestock and livestock farmers in Japan. J Gen Appl Microbiol. 2007;53(5):273–9.
109. EMA. European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. 2015 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 26 EU/EEA countries in 2013'. (EMA/387934/2015).
110. 鈴木要. 無菌豚による耐性菌およびR因子の発生機序(第 1 報)に関する研究. 北関東医学. 1971;21(6):387–97.
111. 福安嗣昭. 硫酸コリスチン添加人工乳給与豚由来大腸菌の薬剤感受性. 2002. (未公表) .
112. 二宮幾代治. コリスチン. In: 家畜の抗生物質と化学療法. 養賢堂, 東京, 1976:130–4.
113. Di Pilato V, Arena F, Tascini C, Cannatelli A, Henrici De Angelis L, Fortunato S, et al. *mcr-1.2* a New *mcr* variant carried on a transferable plasmid from a colistin-resistant KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* of sequence type 512. Antimicrob Agents Chemother. 0Accepted manuscript posted online 11 July 2016, doi:10.1128/AAC.01075-16.
114. Irrgang A, Roschanski N, Tenhagen B-A, Grobbel M, Skladnikiewicz-Ziemer T, Thomas K, et al. Prevalence of *mcr-1* in *E. coli* from Livestock and Food in Germany, 2010-2015. PloS ONE. 2016;11(7):e0159863.
115. Perrin-Guyomard A, Bruneau M, Houée P, Deleurme K, Legrandois P, Poirier C, Soumet C, Sanders P. Prevalence of *mcr-1* in commensal *Escherichia coli* from French livestock, 2007 to 2014. Euro Surveill. 2016;21(6):pii=30135.
116. Kluytmans-van den Bergh MF, Huizinga P, Bonten MJ, Bos M, De Bruyne K, Friedrich AW, et al. Presence of *mcr-1*-positive *Enterobacteriaceae* in retail chicken meat but not in humans in the Netherlands since 2009. Euro Surveill. 2016;21(9):pii=30149.
117. Campos J, Cristino L, Peixe L, Antunes P. MCR-1 in multidrug-resistant and copper-tolerant clinically relevant *Salmonella* 1,4,[5],12:i:- and *S. Rissen* clones

- in Portugal, 2011 to 2015. *Euro Surveill.* 2016;21(26):pii=30270.
118. Brennan E, Martins M, McCusker MP, Wang J, Alves BM, Hurley D, et al. Multidrug-Resistant *Escherichia coli* in Bovine Animals, Europe. *Emerg Infect Dis.* 2016;22(9):1650–2.
 119. 川本恵子, 刈屋晴子, 澤田和敏, 瀧田英司, 松井健史, 加藤晃, et al. 粘膜ワクチンによる豚浮腫病予防法の開発に向けて. *日本豚病研究会報.* 2009;(55):21–3.
 120. 志賀明. 下痢対策と浮腫病克服への道のり. *ピッグジャーナル.* 2006;41:44.
 121. 農林水産省. 食糧需給表 (2005～2014) .
 122. Ahmed NM, Conner D, Dale HL. Heat-Resistance of *Escherichia Coli* O157:H7 in Meat and Poultry as Affected by Product Composition. *Journal of Food Science.* 1995;60(3):606–10.
 123. Doyle MP, Schoeni JL. Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Appl Environ Microbiol.* 1984;48(4):855–6.
 124. Duffy G, Walsh C, Blair IS, McDowell DA. Survival of antibiotic resistant and antibiotic sensitive strains of *E. coli* O157 and *E. coli* O26 in food matrices. *Int J Food Microbiol.* 2006;109(3):179-86.
 125. Heuvelink AE, Zwartkruis-Nahuis JTM, Beumer RR, de Boer E. Occurrence and Survival of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* O157 in Meats Obtained from Retail Outlets in The Netherlands. *Journal of Food Protection.* 1999;62(10):1115-1122.
 126. 金井美恵子, 大城稚子, 宮澤文雅, 竹田多恵. 種々の食品を-20℃に冷凍保存した際の腸管出血性大腸菌O157:H7の挙動. *日本食品保蔵科学会誌.* 2000;26(3):131–7.
 127. 和田洋之, 田辺英子, 平山裕子, 中嶋洋, 畑ますみ, 前野幸子, et al. 焼肉用生肉等の汚染実態調査結果について. *食品衛生研究.* 2002;52(7):73–80.
 128. 伊藤武, 中川弘. 腸管出血性大腸菌O157感染症の疫学. *日本食品微生物学会雑誌.* 2000;17(2):87–96.
 129. 小川博美. 腸管出血性大腸菌の生態とその制御--動物における分布と食品・各種環境下での消長-. 広島県保健環境センター研究報告. 2003;(11):1–20.
 130. 増田高志, 川村朝子, 三輪憲永, 秋山真人, 宮本秀樹, 寺井克哉. 腸管出血性大腸菌O157に関する疫学調査. 静岡県環境衛生科学研究所報告. 1999;42:41–8.
 131. Linton AH, Howe K, Bennett PM, Richmond MH, Whiteside EJ. The colonization of the human gut by antibiotic resistant *Escherichia coli* from chickens. *J Appl Bacteriol.* 1977;43(3):465–9.
 132. Corpet DE. Antibiotic resistance from food. *N Eng J Med.* 1988;318(18):1206–7.
 133. Bettelheim KA, Bushrod FM, Chandler ME, Cooke EM, O'Farrell S, Shooter RA. *Escherichia coli* serotype distribution in man and animals. *J Hyg.* 1974;73(3):467–71.
 134. Schrag SJ, Perrot V, Levin BR. Adaptation to the fitness costs of antibiotic resistance in *Escherichia coli*. *Proc Biol Sci.* 1997;264(1386):1287–91.
 135. Cooke EM. *Escherichia coli*-an overview. *J Hyg.* 1985;95(3):523–30.

136. Borges LJ, Campos MRH, Cardoso JL, Andre MCDPB, Serafini AB. Molecular epidemiology of microorganisms isolated from food workers and enteral feeding of public hospitals. *Journal of Food Science*. 2010;75(7):M449–54.
137. 金森政人, 遠藤英子. 院内感染起因腸内細菌に拡散・伝播するCTX-M型ESBL遺伝子. *杏林医学会雑誌*. 2004;35(3):205–14.
138. 農林水産省. 家畜の生産段階における飼養衛生管理の向上について（農場HACCP等） [Internet]. Available from: http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/katiku_yobo/k_haccp/index.html
139. 厚生労働省. と畜場法施行規則及び食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律施行規則の一部を改正する省令の公布等について（食安発0512第3号平成26年5月12日厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知）.
140. 厚生労働省. 生食用食肉（牛肉）の規格基準設定に関するQ&Aについて. 2011.
141. 厚生労働省. 牛の肝臓の基準に関するQ&Aについて. 2012.
142. 厚生労働省. 豚の食肉の基準に関するQ&Aについて. 2015.
143. 厚生労働省. 食品中の食中毒菌汚染実態調査の結果（2006-2015）.
144. 食品安全委員会. 畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査報告書（平成18年度食品安全確保総合調査）. 2007.
145. 食品安全委員会. 畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査報告書（平成20年度食品安全確保総合調査）. 2009.
146. 食品安全委員会. 畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査報告書（平成25年度食品安全確保総合調査）. 2014.
147. 食品安全委員会. 畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査報告書（平成26年度食品安全確保総合調査）. 2015.
148. 食品安全委員会. 畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査報告書（平成27年度食品安全確保総合調査）. 2016.
149. 西野由香里, 下島優香子, 井田美樹, 福井理恵, 黒田寿美代, 上原さとみ, et al. 東京都で流通する食肉からのコリスチン耐性大腸菌の検出. 第37回日本食品微生物学会学術総会抄録. 2016;
150. 厚生労働省. 院内感染対策サーベイランス（JANIS）公開情報 検査部門. Available from: <http://www.nih-janis.jp/report/kensa.html>
151. 日本化学療法学会. JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015—尿路感染症・男性性器感染症—. *日本化学療法学会雑誌*. 2016;64(1):1–30.
152. Ishikawa K, Matsumoto T, Yasuda M, Uehara S, Muratani T, Yagisawa M, et al. The nationwide study of bacterial pathogens associated with urinary tract infections conducted by the Japanese Society of Chemotherapy. *J Infect Chemother*. 2011;17(1):126–38.
153. Ewers C, Li G, Wilking H, Kießling S, Alt K, Antão EM, Laternus C, Diehl I, Glodde S, Homeier T, Böhnke U, Steinrück H, Philipp HC, Wieler LH. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: How closely related are they? *Int J Med Microbiol*. 2007;297(3):163–76.

154. Mora A, Viso S, López C, Alonso MP, García-Garrote F, Dabhi G, Mamani R, Herrera A, Marzoa J, Blanco M, Blanco JE, Moulin-Schouleur M, Schouler C, Blanco J. Poultry as reservoir for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* O45:K1:H7-B2-ST95 in humans. *Vet Microbiol*. 2013;167(3-4):506–12.
155. Johnson TJ, Wannemuehler Y, Kariyawasam S, Johnson JR, Logue CM, Nolana LK. Prevalence of Avian-Pathogenic *Escherichia coli* Strain O1 Genomic Islands among Extraintestinal and Commensal *E. coli* Isolates. *J Bacteriol*. 2012;194(11):2846–53.
156. Koulenti D, Tsigou E, Rello J. Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from the EU-VAP/CAP study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016 Jun 10; doi:10.1007/s10096-016-2703-z
157. 国立感染症研究所感染症情報センター. 病原微生物検出情報 (2016年1月) . 2016;37(1):15–6. Available from: <http://www0.nih.go.jp/niid/idsc/iasr/37/431j160303.pdf>.
158. 厚生労働省医薬食品局審査管理課. 審議結果報告書 (販売名: オルドレブ点滴静注用150mg) . 2015.
159. Sato T, Fukuda A, Suzuki Y, Shiraishi T, Honda H, Sinagawa M, et al. Pathogenic lineage of *mcr*-negative colistin-resistant *Escherichia coli*, Japan, 2008–2015. *Emerg Infect Dis*. 2016, in press, <http://dx.doi.org/10.3201/eid2212.161117>, (accessed 2006-11-16)..
160. 山本剛. 日常の微生物検査データを利用した施設内耐性菌監視. *臨床と微生物*. 2015;42(増刊号):115 (595).
161. 日本環境感染学会. 多剤耐性アシネトバクター・バウマニ (*multiple drug-resistant Acinetobacter baumannii*) 等を中心とした多剤耐性グラム陰性菌感染制御のためのポジションペーパー 第1版. *日本環境感染学会誌*. 2011;26(Suppl.).
162. Winfield MD, Groisman E a. Phenotypic differences between *Salmonella* and *Escherichia coli* resulting from the disparate regulation of homologous genes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(49):17162–7.
163. Guo L, Lim KB, Gunn JS, Bainbridge B, Darveau RP, Hackett M, et al. Regulation of lipid A modifications by *Salmonella typhimurium* virulence genes *phoP-phoQ*. *Science*. 1997;276(5310):250–3.
164. Soncini FC, Vescovi EG, Solomon F, Groisman EA. Molecular basis of the magnesium deprivation response in *Salmonella typhimurium*: Identification of PhoP-regulated genes. *J Bacteriol*. 1996;178(17):5092–9.
165. García Vescovi E, Soncini FC, Groisman EA. Mg²⁺ as an extracellular signal: Environmental regulation of *Salmonella* virulence. *Cell*. 1996;84(1):165–74.
166. Bearson BL, Wilson L, Foster JW. A low pH-inducible, PhoPQ-dependent acid tolerance response protects *Salmonella typhimurium* against inorganic acid stress. *J Bacteriol*. 1998;180(9):2409–17.
167. Kox LF, Wösten MM, Groisman EA. A small protein that mediates the

- activation of a two-component system by another two-component system. *EMBO J*. 2000;19(8):1861–72.
168. Groisman EA. The pleiotropic two-component regulatory system PhoP-PhoQ. *J Bacteriol*. 2001;183(0):1835–42.
 169. Miller SI, Kukral AM, Mekalanos JJ. A two-component regulatory system (*phoP phoQ*) controls *Salmonella typhimurium* virulence. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86(13):5054–8.
 170. Wösten MM, Kox LF, Chamnongpol S, Soncini FC, Groisman EA. A signal transduction system that responds to extracellular iron. *Cell*. 2000;103(1):113–25.
 171. Tamayo R, Choudhury B, Septer A, Merighi M, Carlson R, Gunn JS. Identification of *cptA*, a PmrA-regulated locus required for phosphoethanolamine modification of the *Salmonella enterica* serovar typhimurium lipopolysaccharide core. *J Bacteriol*. 2005;187(10):3391–9.
 172. Trent MS, Ribeiro AA, Lin S, Cotter RJ, Raetz CRH. An inner membrane enzyme in *Salmonella* and *Escherichia coli* that transfers 4-amino-4-deoxy-L-arabinose to lipid A: Induction in polymyxin-resistant mutants and role of a novel lipid-linked donor. *J Biol Chem*. 2001;276(46):43122–31.
 173. Wösten MMSM, Groisman EA. Molecular characterization of the PmrA regulon. *J Biol Chem*. 1999;274(38):27185–90.
 174. Gunn JS, Miller SI. PhoP-PhoQ activates transcription of *pmrAB*, encoding a two-component regulatory system involved in *Salmonella typhimurium* antimicrobial peptide resistance. *J Bacteriol*. 1996;178(23):6857–64.
 175. Lee H, Hsu FF, Turk J, Groisman EA. The PmrA-regulated *pmrC* gene mediates phosphoethanolamine modification of lipid A and polymyxin resistance in *Salmonella enterica*. *J Bacteriol*. 2004;186(13):4124–33.
 176. Tran, AX, Lester ME, Stead CM, Raetz CRH, Maskell DJ, McGrath SC, Cotter RG, Trent, MS. Resistance to the Antimicrobial Peptide Polymyxin Requires Myristoylation of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* Lipid A. *J Biol Chem*. 2001;276(12):9083–92.
 177. Moon K, Gottesman S. A PhoQ/P-regulated small RNA regulates sensitivity of *Escherichia coli* to antimicrobial peptides. *Mol Microbiol*. 2009;74(6):1314–30.
 178. Gottesman S. The Small RNA Regulators of *Escherichia coli*: Roles and Mechanisms. *Annu Rev Microbiol*. 2004;58(1):303–28.
 179. Gottesman S, McCullen CA, Guillier M, Vanderpool CK, Majdalani N, Benhammou J, et al. Small RNA regulators and the bacterial response to stress. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2006;71:1–11.
 180. Valentin-Hansen P, Eriksen M, Udesen C. The bacterial Sm-like protein Hfq: A key player in RNA transactions. *Mol Microbiol*. 2004;51(6):1525–33.

181. Vogel J, Sharma CM. How to find small non-coding RNAs in bacteria. *Biol Chem.* 2005;386(12):1219–38.
182. Beceiro A, Llobet E, Aranda J, Bengoechea JA, Doumith M, Hornsey M, et al. Phosphoethanolamine Modification of Lipid A in Colistin-Resistant Variants of *Acinetobacter baumannii* Mediated by the pmrAB Two-Component Regulatory System. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(7):3370–9.
183. Arroyo LA, Herrera CM, Fernandez L, Hankins J V., Trent MS, Hancock REW. The *pmrCAB* operon mediates polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and clinical isolates through phosphoethanolamine modification of lipid A. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(8):3743–51.
184. Pelletier MR, Casella LG, Jones JW, Adams MD, Zurawski DV, Hazlett KRO, et al. Unique Structural Modifications Are Present in the Lipopolysaccharide from Colistin-Resistant Strains of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(10):4831–40.
185. McPhee JB, Lewenza S, Hancock REW. Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol.* 2003;50(1):205–17.
186. Macfarlane ELA, Kwasnicka A, Ochs MM, Hancock REW. PhoP-PhoQ homologues in *Pseudomonas aeruginosa* regulate expression of the outer-membrane protein OprH and polymyxin B resistance. *Mol Microbiol.* 1999;34(2):305–16.
187. Fernández L, Álvarez-Ortega C, Wiegand I, Olivares J, Kocíncová D, Lam JS, et al. Characterization of the polymyxin B resistome of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(1):110–9.
188. Gutu AD, Sgambati N, Strasbourger P, Brannon MK, Jacobs MA, Haugen E, Kaul RK, Johansen HK, Hoiby N, Moskowitz SM. Polymyxin resistance of *Pseudomonas aeruginosa phoQ* mutants is dependent on additional two-component regulatory systems. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57(5):2204–15.
189. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. *EFSA Journal.* 2016;14(2):4380.
190. 動物用抗菌剤研究会編. 8. 薬剤耐性. In: 動物用抗菌剤マニュアル第2版. インターズー, 東京, 2013;56–67.
191. 見上彪. 豚の大腸菌症. In: 獣医感染症カラーアトラス第2版. 文英堂, 東京, 2006;7-8.