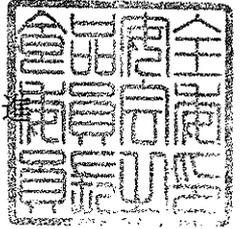




府食第843号
平成24年9月24日

農林水産大臣
郡司 彰 殿

食品安全委員会
委員長 熊谷 進



食品健康影響評価の結果の通知について

平成15年12月8日付け15消安第3979号をもって貴省から当委員会に対し意見を求められた薬剤耐性菌に係る食品健康影響評価のうち、家畜等に使用するノシヘプタイドによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について、評価結果は別添のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

家畜等に使用するノシヘプタイドによる薬剤耐性菌
に関する食品健康影響評価について

2012年9月

食品安全委員会

目次

	頁
〈審議の経緯〉	2
〈食品安全委員会委員名簿〉	2
〈食品安全委員会肥料・飼料等／微生物・ウイルス合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）専門委員及び専門参考人名簿〉	3
要約	4
1 ハザードの特定に関する知見	5
(1) 名称及び化学構造	5
① 名称	5
② 化学構造	5
③ 有効成分の系統	5
(2) 使用方法	6
(3) 海外における評価状況等	8
(4) 対象家畜等における動物用抗菌性物質の生体内薬物動態	8
① ラット	8
② 鶏	9
③ 豚	9
(5) 抗菌活性の作用機序及びタイプ	9
① 作用機序	9
② 作用のタイプ	10
(6) 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布	10
① 抗菌スペクトル	10
② 対象とする家畜等の病原菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）の分布	11
③ 指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対する MIC の分布	11
(7) 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質及びその重要性	13
① ヒト用又は動物用抗菌性物質との交差耐性について	13
② コリスチンとの交差耐性について	13
(8) 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報	14
① 耐性獲得に関する試験（ <i>in vitro</i> ）	14
② 交差耐性に関する試験（ <i>in vitro</i> ）	15
③ 交差耐性に関する試験（ <i>in vivo</i> ）	15
④ ノシヘプタイド耐性遺伝子	16
(9) ハザードの特定に係る検討	17
2 食品健康影響評価について	17
〈参照〉	18

〈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
2012年	2月	13日	関係資料の接受
2012年	5月	14日	肥料・飼料等（第56回）／微生物・ウイルス（第30回）合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）
2012年	7月	30日	第441回食品安全委員会（報告）
2012年	7月	31日	から2012年8月29日まで 国民からの御意見・情報の募集
2012年	9月	10日	肥料・飼料等専門調査会座長及び微生物・ウイルス専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2012年	9月	24日	第447回食品安全委員会（報告） (同日付けで食品安全委員会委員長から農林水産大臣に通知)

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006年6月30日まで)

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

(2006年12月20日まで)

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

(2009年6月30日まで)

見上 彪（委員長）
小泉直子（委員長代理*）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄**
本間清一

(2011年1月6日まで)

小泉直子（委員長）
見上 彪（委員長代理*）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
村田容常

*：2007年2月1日から

*：2009年7月9日から

**：2007年4月1日から

(2012年6月30日まで)

小泉直子 (委員長)
熊谷 進 (委員長代理*)
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
村田容常

* : 2011年1月13日から

(2012年7月1日から)

熊谷 進 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)
三森国敏 (委員長代理)
石井克枝
上安平冽子
村田容常

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

肥料・飼料等専門調査会

唐木英明 (座長)
青木 宙
池 康嘉
舘田一博
戸塚恭一
細川正清

微生物・ウイルス専門調査会

渡邊治雄 (座長代理)
多田有希
田村 豊
専門参考人
荒川宜親

要 約

飼料添加物として指定されているポリペプチド系抗生物質であるノシヘプタイドが飼料に添加され、家畜等に使用された場合に選択される薬剤耐性菌について、「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針」（2004年9月30日食品安全委員会決定）に基づき、まず、ハザードの特定に関する検討を行った。

ノシヘプタイドはヒト用医薬品として使用されておらず、同じチオペプチド系抗生物質である動物用医薬品のチオストレプトンとは、分子構造及び耐性遺伝子の研究から交差耐性が報告されているが、その他のヒト用医薬品又は動物用医薬品として用いられているグラム陽性菌に抗菌力を有する抗菌性物質との間に交差耐性は認められず、また耐性獲得に関する試験においても、既存抗菌性物質に耐性を示す大腸菌やサルモネラに対して、影響を及ぼさなかった。

ブロイラー由来 *Clostridium perfringens* に対する薬剤感受性についての野外調査においても、ノシヘプタイドに対する感受性はほとんど変化がなかった。また、家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査において、腸球菌で少数の低感受性菌が検出されたものの、これら低感受性菌のノシヘプタイド耐性遺伝子については検査されておらず、耐性遺伝子を保有している可能性は否定できないが、低感受性菌が増加している傾向は認められていない。さらに、畜産物から分離された腸球菌に耐性は認められなかった。

以上のことから、ハザードの特定に関する検討の結果、ノシヘプタイドの家畜等への使用によりノシヘプタイド耐性菌が選択される可能性は否定できないが、ノシヘプタイドがヒトに使用されていないこと、ノシヘプタイドがヒトに使用されている抗菌性物質と交差耐性を示したという報告がないこと等から、ノシヘプタイドを家畜等に使用した結果として出現し、食品を介してヒトに対して健康上の危害因子となる可能性のある薬剤耐性菌はないと判断した。

したがって、ノシヘプタイドを家畜等に使用することによって選択された薬剤耐性菌が、食品を介してヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えられた。

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

1 ハザードの特定に関する知見

(1) 名称及び化学構造

① 名称

一般名：ノシヘプタイド

化学名：N-[1-(Aminocarbonyl)ethenyl]-2-[14-ethylidene-9,10,11,12,13,14,19,20,21,22,23,24,26,33,35,36-hexadecahydro-3,23-dihydroxy-11-(1-hydroxyethyl)-31-methyl-9,12,19,24,33,43-hexaoxo-30,32-imino-8,5:18,15:40,37-trinitrilo-21,36-([2,4]-endo-thiazolomethanimino)-5H,15H,37H-pyrido [3,2- ω] [2,11,21,27,31,7,14,17] benzoxatetrathiazacyclohexatrin-2-yl]-4-thiazole-carboxamide

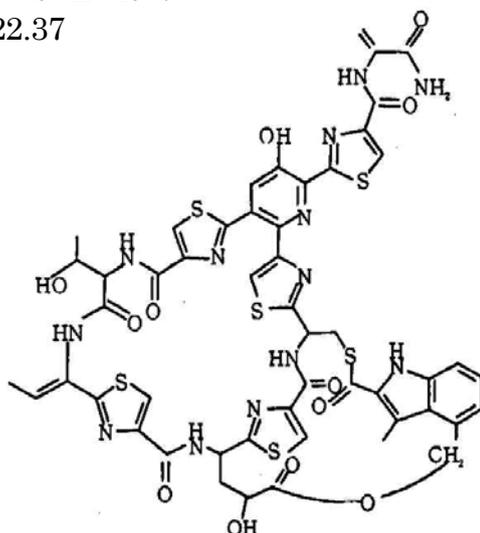
CAS 番号：56377-79-8

② 化学構造 (参照 1)

分子式：C₅₁H₄₃O₁₂N₁₃S₆

分子量：1222.37

構造式：



③ 有効成分の系統

ア 有効成分の系統

ノシヘプタイドは、アルゼンチンのコリエンテス地方の土壌より分離された放線菌 *Streptomyces actuosus* が生産するポリペプチド系抗生物質である。構造は1個のL-スレオニン、1個のヒドロキシピリジン、5個のチアゾール環及び1個のインドール環を有する含硫ペプチド系抗生物質で、チオペプチド系抗生物質とも言われる。(参照 1)

イ 関連する系統

国内で飼料添加物に指定されているポリペプチド系抗生物質には、亜鉛バントラシン、硫酸コリスチン、エンラマイシンがあり、動物用医薬品としては硫酸コリスチン、チオストレプトンがある。その中で、ノシヘプタイドと構造が似ているチオペプチド系抗生物質はチオストレプトンであり、複合抗生物質軟膏の形態で犬及び猫の皮膚炎治療薬として使用されている。ヒト用のポリペプチド系抗生

物質としてはバシトラシン、コリスチンやポリミキシン B があるが、この系統の抗生物質は難吸収性のため、国内では外用薬又は局所や腸管内の抗菌薬として承認されている。

また、2006年4月に食品安全委員会が決定した「食品を介してヒトの健康に影響を及ぼす細菌に対する抗菌性物質の重要度のランク付けについて」において、ノシヘプタイドが属するポリペプチド系抗生物質はランクⅢに位置づけられている。一方2007年11月に行われたFAO/WHO/OIEの合同専門家会議の報告書では、コリスチンとポリミキシン B は「高度に重要な抗菌性物質」とされている。
(参照 2、3)

(2) 使用方法

ノシヘプタイドは、「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」(昭和28年法律第35号。以下「飼料安全法」という。)に基づき、農林水産大臣による飼料添加物としての指定を受けた抗菌性物質(以下「抗菌性飼料添加物」という。)であり、その成分規格、製造等の方法及び表示の基準、使用方法等については同法及び同法に基づく「飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令」(昭和51年農林省令第35号)等により規定されている。1987年に飼料添加物に指定されて以来製造販売されており、ここ数年間の検定実量は、年間約2,500～4,000kg(力価)である。(参照4、5)
なお、1987年に精製級の、1993年に飼料級の基準・規格が設定され、現在は飼料級が使用されている。

抗菌性飼料添加物全般について設けられている主な規制は以下のとおりである。

- ① 飼料は飼料添加物に指定されていない抗菌性物質を含んではならない。
- ② 抗菌性飼料添加物の種類ごとに添加してよい対象飼料及び量が定められている。
- ③ 抗菌性飼料添加物及び抗菌性飼料添加物を含む飼料の製造業者は、製造を実地に管理させるため、事業場ごとに、飼料安全法第25条に基づき飼料管理者を置かなければならない。
- ④ 抗菌性飼料添加物のうち抗生物質については、飼料安全法第5条に基づく特定飼料等に該当し、(独)農林水産消費安全技術センターによる検定を受けて合格したことを示す表示が付されたものでなければならない。
- ⑤ 抗菌性飼料添加物を含む飼料は、対象家畜等、含有する飼料添加物の名称、量及び使用上の注意等を表示しなければならない。
- ⑥ 抗菌性飼料添加物を含む飼料は、搾乳中の牛、産卵中の鶏又はうずら、食用にと殺する前の7日間の牛(生後おおむね6月を超えた肥育牛を除く。)、豚、鶏又はうずらに使用してはならない。

ノシヘプタイドに関しては以下の規制がある。

ア 対象飼料及び添加量

ノシヘプタイドの添加が認められている飼料の種類及び添加量は、以下のとおりである。

対象飼料	鶏（ブロイラーを除く）用	ブロイラー用		豚用	
	幼すう用 中すう用	前期用	後期用	ほ乳期用	子豚用
添加量 (g/力価/トン)	2.5～10	2.5～10	2.5～10	2.5～20	2.5～20

注) うずら用は鶏用に準じて使用される。

なお、産卵中の鶏又はうずら並びに食用を目的としてと殺する前7日間の豚、鶏又はうずらに使用してはならない。

イ 同一飼料に2つ以上用いる場合の規制

抗菌性飼料添加物は、以下の4つのカテゴリーに分類されている。

次の表の同一欄内の2つ以上の飼料添加物は、同一飼料に併用してはならない。

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

以上の規制及び各抗菌性飼料添加物の対象家畜を整理すると、ノシヘプタイドと併用可能である抗菌性飼料添加物は以下のとおりである。

・鶏（ブロイラーを除く）用、ブロイラー用

各区分より1種類ずつ併用が可能である。（飼料1トン当たりの添加量）

区分	飼料 添加物名	単位	鶏（ブロイラーを除く）用	ブロイラー用	
			幼すう用 中すう用	前期用	後期用
第1欄	アンプロリウム・エトパペート	g	アンプロリウム 40～250	40～250	40～250
			エトパペート 2.56～16	2.56～16	2.56～16
	アンプロリウム・エトパペート・スルファキノキサリン	g	アンプロリウム 100	100	100
			エトパペート 5	5	5

			スルファキキサリン 60	60	60
	サリノマイシンナトリウム	g力価	50	50	50
	センデュラマイシンナトリウム	g力価	25	25	25
	デコキネート	g	20~40	20~40	20~40
	ナイカルレミジン	g	—	100	—
	ナラシン	g力価	80	80	80
	ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム	g	40	40	40
	モネンシンナトリウム	g力価	80	80	80
	ラサロシドナトリウム	g力価	75	75	75
第4欄	ビコザマイシン	g力価	5~20	5~20	5~20
	硫酸コリスチン	g力価	2~20	2~20	2~20

・豚用

各区分より1種類ずつ併用が可能である。(飼料1トン当たりの添加量)

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

飼料中の添加量が規定の範囲内であることの確認は(独)農林水産消費安全技術センターが飼料製造業者に対して行う立入検査の際に行われており、農場におけるノシヘプタイド添加飼料の家畜等への使用制限(産卵中の鶏、食用にと殺する前7日間の豚又は鶏への使用禁止等)については、各都道府県が遵守を確認することとなっている。

(3) 海外における評価状況等

海外では韓国、中国及び台湾でノシヘプタイドが使用されているが、これらの国においてノシヘプタイドの耐性菌に関するリスク評価は行われていない。

(4) 対象家畜等における動物用抗菌性物質の生体内薬物動態

① ラット

¹⁴C 標識ノシヘプタイドをラット(SD系、雄3匹/群、雌3匹/群)に一回経口投与(1.8 mg/kg 又は 8.4 mg/kg)して、生体内薬物動態を調べた。薬物動態試験は、投与後7日間糞、尿及び呼気中の放射活性を測定することにより行った。その結果、大部分の放射活性は糞中に検出されたが、ごく少量が尿中に検出された。その後、

ラットをと殺し、肝、腎、心、肺、脾、脳、筋肉（背、脚）及び脂肪中の放射活性を測定し、さらにと体、腸管、毛及び皮膚の放射活性も測定した。全体の放射活性の回収率は 79.31～98.11%であった。各組織のノシヘプタイド残留は、8.4 mg/kg 投与雄ラットの腎臓中に 0.1 ppm 検出された以外、どの組織にも有意な放射活性の検出はなかった。（参照 6）

② 鶏

鶏 4羽（Hubbard 種ブロイラー（初生雛）、雄 2羽、雌 2羽）に 6日間連続 ^{14}C 標識ノシヘプタイドを経口投与（154 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）して、生体内薬物動態を調べた。ただし、この投与量は通常時の推奨投与量の 2 倍に相当する。この試験において、24 時間毎の排泄物中の放射活性を測定した結果、6 日間で全体の回収率が 103.2～104.9%となった。最終投与の 6 時間後にと殺し、肝、腎、筋肉（胸、脚）及び皮膚のノシヘプタイドを測定したところ、全組織とも検出限界以下であった。この結果からノシヘプタイドは鶏の消化管から吸収されないものと考えられた。（参照 7）

③ 豚

体重約 12 kg の雄豚（ヨークシャー種）2頭にノシヘプタイド添加飼料を 9日間投与し、その後各豚に対し体重 1 kg 当たり約 0.8 mg の ^{14}C 標識ノシヘプタイドを経口投与して、薬物動態を調べた。ノシヘプタイドの体内動態を尿と糞から検討し、21 時間後に豚をと殺してと体への蓄積も検討した。その結果、主要な排泄経路は糞であることが示されたが、少なくとも投与量の 50%が投与 24 時間後にも腸管内に認められた。また、投与量の 0.6%が尿中に排泄された。と殺後の各組織の放射活性を測定した結果、低レベルの ^{14}C が豚の組織に検出されたが微量で測定不可能であった。検査した全組織中の ^{14}C 残留レベルは 0.1 ppm 以下であった。（参照 8）

さらに、ノシヘプタイドの尿及び糞中への排泄を調べるため、体重約 9 kg の雄豚にノシヘプタイド 16.13 mg 相当量をゼラチンカプセルに入れて 1 回経口投与し、糞及び尿を 5 日間採取した。糞及び尿は、昼間は 1 時間毎に、夜は 3 時間毎に採取した。尿は、その都度 1/50 ずつを採取して混合し、遠心分離後の上澄み液をバイオアッセイ法により測定した。糞は全量を合わせてよく攪拌し、その一部を採取し測定した。その結果、尿からノシヘプタイドは検出されなかった。また、糞の測定値から 4 日後までのノシヘプタイドの回収率は平均 88.9%となり、5 日目の糞からはノシヘプタイドは検出されなかった。（参照 9）

（5）抗菌活性の作用機序及びタイプ

① 作用機序

ノシヘプタイドの抗菌活性はグラム陽性菌に作用するが、大部分のグラム陰性菌には作用しない。グラム陰性菌にはグラム陽性菌にはない外膜が存在し、外膜のポーリン（小孔）を透過できる分子量の上限は約 600 である。ノシヘプタイドの分子量は 1222.37 と上限より大きく外膜を透過できない。（参照 10、11）

ノシヘプタイドは細菌のリボソームの 50S サブユニット内の 23S rRNA のタンパク L11 結合ドメインに結合し、伸長因子 EF-G 依存性の機能（ペプチジル-tRNA

の転座と GTP の加水分解) を阻害し、タンパク合成を阻害する。(参照 12、13)
 また、ノシヘプタイドは選択毒性の高い抗生物質であり、原核細胞と真核細胞ではリボソームの構造やタンパク質合成系の作用が異なるため、細菌細胞(原核細胞)のリボソームに作用しても、動物細胞(真核細胞)のリボソームには作用しない。

② 作用のタイプ

ノシヘプタイドの抗菌活性はタンパク合成阻害によるもので、静菌性作用を示す。(参照 12、13)

(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

ノシヘプタイドの代表的なグラム陽性菌及びグラム陰性菌に対する抗菌スペクトルは表 1 及び 2 のとおりである。ノシヘプタイドは主にブドウ球菌、レンサ球菌、クロストリジウム等の大部分のグラム陽性菌に抗菌力を示した。また、一部のグラム陰性菌(パストツレラ及びナイセリア)に対しても活性を示した。(参照 14)

表 1 抗菌スペクトル(グラム陽性菌)

供試菌	最小静菌濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	0.001
<i>Staphylococcus aureus</i> 133 株	0.002
<i>Micrococcus citreus</i> ATCC 8411	0.004
<i>Micrococcus lysodeikticus</i> ATCC 4598	0.003
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	0.001
<i>Sarcina alba</i>	0.002
<i>Clostridium sporogenes</i>	0.003
<i>Clostridium welchii</i>	0.003
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 9790	0.0007
<i>Streptococcus viridans</i>	0.006
<i>Streptococcus pyogenes</i> Dig.7 株	0.0003
<i>Diplococcus pneumoniae</i> T1株	0.0001
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 7461	0.0007
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.003
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 6630	0.007
<i>Bacillus mycooides</i>	0.0004
<i>Mycobacterium</i> species ATCC 607	>125

表2 抗菌スペクトル (グラム陰性菌)

供試菌	最小静菌濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 9637	> 125
<i>Shigella dysenteriae</i> Shiga L型	> 125
<i>Salmonella</i> Typhimurium	> 125
<i>Salmonella</i> Paratyphi A	> 125
<i>Salmonella schottmuelleri</i> (Paratyphi B)	> 125
<i>Aerobacter aerogenes</i> ATCC 8308	> 125
<i>Neisseria catarrhalis</i>	0.002
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	> 125
<i>Proteus vulgaris</i>	> 125
<i>Serratia marcescens</i> A476	> 125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Bass 株	> 125
<i>Brucella bronchiseptica</i> CN387 株	> 125
<i>Pasteurella multocida</i> A125	0.0024
<i>Bacteroides fragilis</i> (<i>B. fundibuliformis</i>)	40
<i>Fusobacterium fusiforme</i>	150

(最小静菌濃度は最小発育阻止濃度と同じである。)

② 対象とする家畜等の病原菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) の分布

日本における家畜由来野外株のノシヘプタイトに対する薬剤感受性試験について以下のような報告がある。

ア *Staphylococcus* 属

牛乳房炎由来 (30 株)、鶏ブドウ球菌症由来 (20 株) 及び標準株 (3 株) の *Staphylococcus aureus* のノシヘプタイトに対する感受性を調べたところ、MIC 値は 0.0008 $\mu\text{g/mL}$ から 0.0125 $\mu\text{g/mL}$ までの範囲にあり、耐性は認められなかった。(参照 15)

イ *Streptococcus* 属

牛乳房炎由来 (26 株) 及び牛膿瘍由来 (3 株) 並びに豚の産褥熱由来 (1 株) の *Streptococcus* 属菌と、人の膿瘍由来 (10 株) 及び標準株 (3 株) の *S. pyogenes* のノシヘプタイトに対する感受性を調べたところ、MIC 値は 0.0008 $\mu\text{g/mL}$ から 0.05 $\mu\text{g/mL}$ までの範囲にあり、耐性は認められなかった。(参照 16)

③ 指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対する MIC の分布

ノシヘプタイトを使用できる家畜は豚と鶏であるが、その豚と鶏に由来する食中毒菌としては、カンピロバクター、サルモネラ及び *Clostridium perfringens* がある。また、薬剤感受性の指標細菌として重要なのは大腸菌及び腸球菌である。しかし、ノシヘプタイトはグラム陰性菌のサルモネラ、大腸菌及びカンピロバクターに対して抗菌

作用がない。

一方、家畜に由来する腸球菌及び *C. perfringens* の野外株について、ノシヘプタイトに対する MIC の分布は次のとおりである。

ア 腸球菌

2000年から2010年までに農林水産省動物医薬品検査所及び(独)農林水産消費安全技術センターが各都道府県の協力の下家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査を行った(表3)。一般腸球菌 (*Enterococcus* spp.) に対する MIC の範囲は 0.0004 µg/mL 以下から 32 µg/mL 超であった。2003年以降 MIC が 16 µg/mL 以上の値を示す低感受性菌が検出されている。しかし、2003年以降の MIC₅₀ 及び MIC₉₀ の値はほとんど変化しておらず、低感受性菌の株数の増加傾向も認められていない。(参照 17) なお、これら低感受性菌の耐性遺伝子については検査されておらず、感受性低下のメカニズムは不明である。

表3 2000～2010年 一般腸球菌のノシヘプタイト感受性

調査年	株数	うち MIC 16µg/mL 以上の低感受性株の株数	MIC 範囲 (µg/mL)	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	ブレイクポイント (µg/mL)	耐性株数 (%)
2000	567	0	≤0.0004 ～≥0.025	0.0016	0.0063	-	-
2001	302	0	≤0.001875 ～≥0.015	0.001875	0.001875	-	-
2002	246	0	≤0.001875 ～0.015	0.001875	0.001875	-	-
2003	286	4	0.00099～32	0.0078	0.0156	0.125	6 (2.1)
2004	513	2	≤0.00099 ～16	0.0078	0.031	-	-
2005	562	0	≤0.00099 ～0.0625	0.0078	0.0156	-	-
2006	421	6	≤0.00099 ～≥32	0.0156	0.0195	-	-
2007	424	2	≤0.00099 ～≥32	0.0078	0.0156	-	-
2008	642	10	≤0.00099 ～>32	0.0156	0.0313	-	-
2009	566	2	0.00195 ～>32	0.00781	0.01562	-	-
2010	778	4	≤0.00099 ～>32	0.01562	0.03125	-	-

食品安全委員会により行われた2007年度食品安全確保総合調査の「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、国産牛及び豚の消費直前の畜産物から腸球菌 (*E. faecalis* 及び *E. faecium*) が分離され、薬剤感受性試験が行われている。その結果によると、分離された腸球菌 (200株) 全てについてノシヘプタイトの MIC が 0.049 µg/mL 未満となり、またバンコマイシン 3 µg/mL で選択された腸球菌 (16株) についても全て MIC が 0.049 µg/mL 未満であった。(参照 18)

イ *C. perfringens*

日本で1989年から1998年までの10年間にわたり、野外ブロイラーの腸管における *C. perfringens* の検出状況等の調査を実施した。分離された *C. perfringens* の汎用抗菌性飼料添加物に対する薬剤感受性は10年間で大きな変化はみられず、ノシヘプタイドに対するMICは0.0063 µg/mL以下から0.1 µg/mLまでの範囲にあり、耐性は認められなかった。さらに、1999年から2004年の調査結果でもMICは0.0063 µg/mL以下から0.0125 µg/mLまでの範囲にあり、薬剤感受性に大きな変化はみられなかった。(参照 19、20)

(7) 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質及びその重要性

ヒト用のポリペプチド系抗生物質としてはバシトラシン、コリスチン及びポリミキシンBがある。これらポリペプチド系抗生物質は分子量が大きいことに加え、動植物に由来するペプチダーゼによって加水分解されにくく、体内に吸収されないので主に外用薬として、又は腸管内での抗菌作用を目的として用いられる。(参照 21)

また、外用軟膏の動物用医薬品として用いられているチオストレプトンとは構造が似ており、同様な耐性機序を持つことから、交差耐性が認められる。(参照 13、22)

① ヒト用又は動物用抗菌性物質との交差耐性について

ノシヘプタイドとヒト用又は動物用として用いられているグラム陽性菌に活性を示す抗菌性物質(ペニシリンG、ジクロキサシリン、セファロリジン、テトラサイクリン、スピラマイシン、エリスロマイシン、リンコマイシン、リファンピシン)との間に交差耐性が存在するか検討を行った。上記抗菌性物質に耐性を示すブドウ球菌に対するノシヘプタイドの活性は、感受性菌に対する活性と同程度であった。また、実験的に作ったノシヘプタイド耐性ブドウ球菌に対し、上記抗菌性物質の活性は、親菌株に対する活性と同程度であった。以上のように、ノシヘプタイドとこれらの抗菌性物質との間に交差耐性は認められなかった。(参照 23)

ヒト用のポリペプチド系抗生物質であるバシトラシンは、細胞壁のペプチドグリカン合成系を阻害することにより細胞壁の合成を阻害するが、作用機序が異なることからノシヘプタイドと交差耐性は示さないと考えられる。(参照 24)

また、ノシヘプタイドと同様にリボソームの50Sサブユニットに結合してタンパク合成阻害を示すリネゾリド、キヌプリスチン/ダルフォプリスチン及びバージニアマイシンについては、ノシヘプタイドとは標的部位が異なるため、現時点では交差耐性は確認されていない。(参照 25)

② コリスチンとの交差耐性について

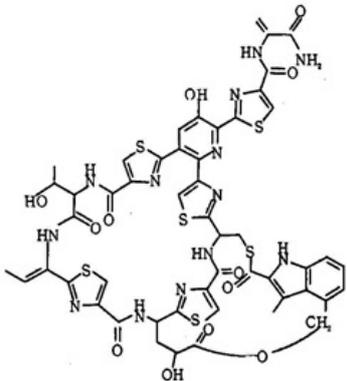
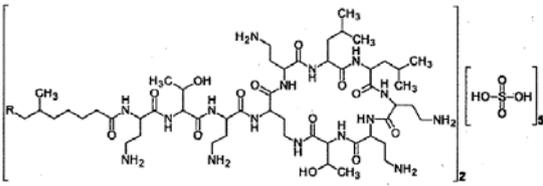
ノシヘプタイドと同じポリペプチド系抗生物質に属しているコリスチンは、多剤耐性緑膿菌や最近問題となっているNDM-1産生株などの多剤耐性グラム陰性菌に対して抗菌力を持つということで注目されている。

コリスチンはグラム陰性菌に抗菌活性をもつ抗生物質で、その作用は細胞膜の障害によるものである。すなわち、コリスチンはグラム陰性菌の外膜表面と結合した後外膜を通過し、さらにその下の細胞膜に穴をあけることで細胞内のイオンやタン

パク等を細胞外に放出させて殺菌する。その作用機序がコリスチン特異的であることから、他剤との交差耐性がなく、また比較的耐性も生じにくいとされている。(参照 26~30) なお、コリスチンと化学構造的に深い関連のあるポリミキシン B の抗菌スペクトル及び作用機序は、コリスチンとほぼ同様である。(参照 30)

ノシヘプタイド及びコリスチンの各種性状を表 4 にまとめた。ノシヘプタイドとコリスチン及びポリミキシン B の交差耐性を調べた報告はないが、抗菌スペクトルも作用機序も異なるこれらの抗生物質間に交差耐性はないと推察される。

表 4 ノシヘプタイドとコリスチンの比較

一般名	ノシヘプタイド	硫酸コリスチン
構造式		硫酸コリスチン A : R = CH ₃ 硫酸コリスチン B : R = H 
分子式	C ₅₁ H ₄₃ O ₁₂ N ₁₃ S ₆	硫酸コリスチン A : C ₅₃ H ₁₀₀ N ₁₆ O ₁₃ · 2.5H ₂ SO ₄ 硫酸コリスチン B : C ₅₂ H ₉₈ N ₁₆ O ₁₃ · 2.5H ₂ SO ₄
抗菌スペクトル	グラム陽性菌と一部のグラム陰性菌	グラム陰性菌
作用のタイプ	静菌的	殺菌的
作用機序	リボソームの 50S サブユニット内の 23S rRNA に結合し、タンパク合成を阻害する。	菌細胞膜を破壊する。

(8) 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報

① 耐性獲得に関する試験 (in vitro)

S. aureus と *S. pyogenes* の標準株を用い、増量継代法と恒量継代法により耐性獲得パターンを検討した。増量継代法において、*S. aureus* では 3 代継代後 10 代目までに MIC が 0.00078 µg/mL から 0.2 µg/mL に上昇した。また、*S. pyogenes* では 4 代継代後 12 代目までに MIC が 0.00039 µg/mL から 0.78 µg/mL に上昇した。以上のことから、両菌種において、増量条件では比較的短期間に耐性化が起るものと考えられた。恒量継代法において、*S. aureus* では MIC が 10 代目で原株の 2 倍の 0.00313 µg/mL を示し、*S. pyogenes* では 5 代目で原株の 2 倍の 0.00156 µg/mL を示し、どちらも 20 代目まで同程度で推移した。以上のことから、恒量条件では両菌種とも耐性化しにくいものと考えられた。(参照 31)

② 交差耐性に関する試験 (*in vitro*)

ア 飼料添加物抗生物質との交差耐性について

ノシヘプタイド添加培地を用いた増量継代試験でノシヘプタイドに対する MIC が上昇した *S. aureus* 及び *S. pyogenes* 標準株のエンラマイシン及びチオペプチン (2004 年飼料添加物としての指定取り消し) に対する MIC を測定したが、上昇は認められなかった。同様に、エンラマイシン及びチオペプチン添加培地を用いた増量継代試験でエンラマイシン及びチオペプチンに対する MIC が上昇した *S. aureus* 標準株のノシヘプタイドに対する MIC を測定したが、上昇は認められなかった。以上の結果から、ノシヘプタイドとエンラマイシン及びチオペプチンの間には、交差耐性はないと考えられた。(参照 31)

③ 交差耐性に関する試験 (*in vivo*)

交差耐性の観点から、飼料添加により家畜に投与されたノシヘプタイドが、家畜の腸管内において腸内細菌の他の抗菌性物質に対する薬剤感受性に影響を及ぼすか否かについて調べた。

ア 鶏腸内の大腸菌に対する影響

ノシヘプタイド 0、2.5、5、10 及び 20 ppm 添加飼料を 1 週齢の鶏に投与し、8 週間後の腸内容物より大腸菌を分離し、薬剤感受性を調べた (アンピシリン、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、フラジオマイシン、セファロチン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、スルファジアジン、ナリジクス酸及びフロキサシ)。その結果、無投与群と比較して、ノシヘプタイド投与群において、これらの抗菌性物質に耐性を示す大腸菌の増加、耐性の度合の増加等の影響は確認されなかった。(参照 32)

同様に、4 週齢鶏にノシヘプタイド 0、1.25 及び 10 ppm 添加飼料を 9 週間投与し、1 週間ごとに採糞して糞便中の総大腸菌数及び抗菌性物質 (アンピシリン、ジヒドロストレプトマイシン、カナマイシン、オキシテトラサイクリン、クロラムフェニコール) に対する耐性大腸菌数を測定し、耐性率を調べた。抗菌性物質投与開始後 3 から 5 週間目までに、ノシヘプタイド 10 ppm 添加群でアンピシリン、ジヒドロストレプトマイシン、カナマイシン及びオキシテトラサイクリンに対して耐性を示す大腸菌の比率上昇が認められたが、その後比率は減少し、7 週間目以降は他の群とほぼ同様に推移した。この比率上昇については、試験時期が冬季であったため鶏舎の保温を行っていたが、試験開始後 3 週間目に保温を中止したところ、その後各群に総大腸菌数の減少並びに増体重及び使用摂取量の低下が認められたことから、その影響によるものと考えられた。

以上の結果から、ノシヘプタイドを長期間鶏に投与しても、他の抗菌性物質に対する耐性菌出現頻度に影響を与えないと考えられた。(参照 33)

イ 豚糞中の大腸菌の薬剤感受性に対する影響

子豚にノシヘプタイド 0 及び 20 ppm 添加飼料を 4 週間投与し、1 週間ごとに直腸内容物を採取して大腸菌を分離し、その薬剤感受性を調べた (クロラムフェ

ニコール、フラゾリドン、フラジオマイシン、オキシテトラサイクリン、アンピシリン、ストレプトマイシン、スルファメトキサゾール・トリメトプリム、ペニシリン)。その結果、ノシヘプタイドを飼料に添加しても、大腸菌の薬剤感受性に有意な変化は認められなかった。(参照 34)

同様に、子豚にノシヘプタイド 0、2.5 及び 10 ppm 添加飼料を 75 日間投与し、投与前、投与直後並びに投与 30、60、63、70 及び 75 日目に直腸内容物を採取して大腸菌を分離し、その薬剤感受性（クロラムフェニコール、フラゾリドン、フラジオマイシン、オキシテトラサイクリン、アンピシリン、ストレプトマイシン、スルファメトキサゾール・トリメトプリム、トリプルスルホンアミド）を調べた試験でも、ノシヘプタイド添加による耐性の増加傾向は認められなかった。また、この試験で分離したオキシテトラサイクリン、ストレプトマイシン及びトリプルスルホンアミドに耐性を示す株を用い、各群の耐性伝達能力を比較したところ差は認められなかった。(参照 35)

ウ 鶏腸内のサルモネラに対する影響

40 日齢の鶏にノシヘプタイド 0 及び 20 ppm 添加飼料を投与し、*Salmonella* Typhimurium (ナリジクス酸耐性株) を接種した。鶏の糞中へ排泄された菌の耐性獲得状況を調査した。無投与群と比較して、20 ppm 投与群は排泄サルモネラ菌量、サルモネラを排泄した羽数、サルモネラ菌排泄期間を増大させることはなかった。また、ノシヘプタイドは各種抗菌性物質に対し耐性を示すサルモネラ菌の比率及び耐性の度合を増加させることはなかった。(参照 36)

④ ノシヘプタイド耐性遺伝子

ノシヘプタイドの生産菌である *Streptomyces actuosus* は、自己防衛のためにノシヘプタイドに耐性を示すことが知られている。その耐性機序は 23S rRNA のメチル化によるもので、そのメチル化酵素をコードしているノシヘプタイド耐性遺伝子 (*nshR*) が *S. actuosus* からクローン化されている。すなわち、ノシヘプタイド耐性遺伝子を持つ菌株は、メチル化酵素を生産して 23S rRNA のアデノシン残基をメチル化することにより、ノシヘプタイドと rRNA の結合を阻止し、ノシヘプタイド耐性となる。(参照 13、22、37)

ノシヘプタイド耐性遺伝子とチオストレプトン耐性遺伝子の間には、ヌクレオチド配列において相同性が見られ、交差耐性を起こす。(参照 37)

ヒトや動物に使われる多くの抗菌性物質の原料中に、抗菌性物質生産菌の染色体 DNA が混入することが報告されている。家畜の飼料級アボパルシンにおいても、その中に生産菌由来の DNA の一部が混入し、その中にバンコマイシン耐性遺伝子のヌクレオチドが存在していた報告があり、アボパルシンの長期使用が家畜腸内細菌の耐性遺伝子取り込みを助長し、それがヒトへと伝播していく可能性が示唆されている。ノシヘプタイドについても飼料級原体中に生産菌由来 DNA 混入の可能性はあるが、現時点では原体又は飼料へのノシヘプタイド耐性遺伝子の混入についての調査は行われておらず、また野外分離細菌株における耐性遺伝子の存在も調べられていない。(参照 38~40)

(9) ハザードの特定に係る検討

ノシヘプタイドは1987年に飼料添加物に指定されて以来、家畜の飼料添加物としてのみ使用されている抗生物質であり、動物用医薬品及びヒト用医薬品としては用いられていない。

ノシヘプタイドは同じチオペプチド系抗生物質であるチオストレプトンとは、分子構造及び耐性遺伝子の研究から交差耐性が報告されているが、その他のヒト用医薬品又は動物用医薬品として用いられているグラム陽性菌に抗菌力を有する抗菌性物質との間に交差耐性は認められないと考えられた。耐性獲得に関する試験においても、既存抗菌性物質に耐性を示す大腸菌やサルモネラに対して、影響を及ぼさなかった。また、1989年から2004年まで毎年実施している *C. perfringens* の検出状況及び分離された *C. perfringens* に対する薬剤感受性についての野外調査においても、ノシヘプタイドに対する感受性はほとんど変化がなかった。さらに、2000年から2010年までに農林水産省動物医薬品検査所及び（独）農林水産消費安全技術センターが各都道府県協力の下に行った家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査において、2003年以降の腸球菌で少数の低感受性菌が検出されたものの、MIC₅₀及びMIC₉₀の値はほとんど変化がなく、低感受性菌が増加している傾向は認められない。ただし、これら低感受性菌の耐性遺伝子については検査されておらず、耐性遺伝子を保有している可能性は否定できない。また、食品安全委員会により行われた2007年度食品安全確保総合調査の「畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査」においても、畜産物から分離された腸球菌に耐性は認められなかった。

このように、ノシヘプタイドは家畜のみに使用される抗生物質であり、ヒトに使用されている抗菌性物質と交差耐性を示したという報告がないこと、野外で家畜由来耐性菌がほとんど認められていないことから、ノシヘプタイドを家畜等に使用した結果として出現し、食品を介してヒトに対して健康上の危害因子となる可能性のある薬剤耐性菌はないと判断された。

2 食品健康影響評価について

ノシヘプタイドの家畜等への使用によりノシヘプタイド耐性菌が選択される可能性は否定できないが、ノシヘプタイドがヒトに使用されていないこと、ノシヘプタイドがヒトに使用されている抗菌性物質と交差耐性を示したという報告がないこと等から、特定すべきハザードがないと判断された。したがって、ノシヘプタイドを家畜等に使用することによって選択された薬剤耐性菌が、食品を介してヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えられる。

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

<参照>

- 1 三菱化成株式会社. ノシヘプタイトの規格に関する事項. (未公表)
- 2 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. 2006.
- 3 World Health Organization. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine. 2nd Revision – 2009.
- 4 財団法人 農林弘済会. ノシヘプタイト検定合格数量 昭和 62 年度～平成 21 年度. 飼料検査. 297号(1988), 309号(1989), 321号(1990), 333号(1991), 345号(1992), 357号(1993), 369号(1994), 381号(1995), 393号(1996), 405号(1997), 417号(1998), 429号(1999), 441号(2000), 453号(2001), 465号(2002), 477号(2003), 489号(2004), 501号(2005), 513号(2006), 525号(2007), 537号(2008), 549号(2009), 560号(2010).
- 5 独立行政法人 農林水産消費安全技術センター. 平成 22 年度の特定添加物検定結果等について. http://www.famic.go.jp/ffis/feed/obj/sub2_kentei22.pdf
- 6 米国メイ&ベーカー社. ノシヘプタイト(9671 RP) ラットを用いた代謝試験.(未公表)
- 7 米国ヘス&クラーク社. ノシヘプタイト(9671 RP) ニワトリを用いた代謝試験. (未公表)
- 8 米国ヘス&クラーク社. ノシヘプタイト(9671 RP) 豚を用いた代謝試験. (未公表)
- 9 新しい抗生物質 Nosiheptide の回収試験. (未公表)
- 10 横田 健、平松啓一 他：細菌の構造. 新・微生物学と抗生物質の基礎知識. (株)じほう, 東京, 1999;7-8.
- 11 澤井哲夫, 平松啓一, 小此木研二, 中江太治: β -ラクタム耐性. 橋本 一、井上松久編. 病原菌の薬剤耐性. 学会出版センター, 東京, 1993;69-72.
- 12 Lentzen G, Klinck R, Matassova N, Aboul-ela F, Murchie AIH. Structural basis for contrasting activities of ribosome binding thiazole antibiotics. *Chemistry & Biology*. 2003;10(8):769-778.
- 13 Cundliffe E, Thompson J. The mode of action of nosiheptide (multhiomycin) and the mechanism of resistance in the producing organism. *Journal of General Microbiology*. 1981;126(1):185-192.
- 14 ローヌ・プーラン・サンテ社. ノシヘプタイト(9671 R.P) 抗菌、抗寄生虫活性. (未公表)
- 15 高橋勇. 家畜の症例由来の *S. aureus* および *Streptococcus* の代表的抗菌性物質と新抗生物質ノシヘプタイトに対する感受性の比較試験 第1報 *S. aureus* の感受性試験成績. 日本獣医畜産大学研究報告. 1986;35:43-49.
- 16 高橋勇. 家畜の症例由来の *S. aureus* および *Streptococcus* の代表的抗菌性物質と新抗生物質ノシヘプタイトに対する感受性の比較試験 第2報 *Streptococcus* の感受性試験成績. 1986;35:50-56.
- 17 農林水産省. 家畜衛生週報. No.2683, 2735, 2778, 2819, 2866, 2914, 2970, 2998, 3049, 3098, 3169.
- 18 財団法人 日本食品分析センター. 内閣府食品安全委員会 平成 19 年度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報告書. 2008.

- 19 斉藤恵子. 野外ブロイラーの腸管におけるクロストリジウム (*Clostridium perfringens*) の検出状況. 第208回鶏病事例検討会講演要旨. 1999.
- 20 コーキン化学株式会社. ブロイラー野外試験成績 (1999年~2004年分). (未公表)
- 21 田中信男, 中村昭四郎. ペプチド抗生物質. 抗生物質大要—化学と生物活性 (第4版). 東京大学出版会, 東京, 1992:62.
- 22 Li Y, Dosch DC, Woodman RH, Floss HG, Strohl WR. Transcriptional organization and regulation of the nosiheptide resistance gene in *Streptomyces actuosus*. *Journal of Industrial Microbiology*. 1991;8(1):1-12.
- 23 ローヌ・プーラン・サンテ社. ノシヘプタイド(9671 RP) 既存抗生物質との交差耐性. (未公表)
- 24 田中信男, 中村昭四郎. 細胞壁合成阻害. 抗生物質大要—化学と生物活性 (第4版). 東京大学出版会, 東京, 1992:275-291.
- 25 Sohmen D, Harms JM, Schlünzen F, Wilson DN. SnapShot: Antibiotic inhibition of protein synthesis I. *Cell*. 2009;138(6):1248.e1.
- 26 Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria Jay, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet infectious diseases*. 2010;10(9):597-602.
- 27 遠藤理香, 石黒信久, 菊田英明. 多剤耐性緑膿菌による慢性気管支炎の増悪に静注用コリスチン製剤が有効であった嚢胞性線維症の1例. *感染症学雑誌*:2005;79(12):945-950.
- 28 松本哲哉. 多剤耐性緑膿菌 (MDRP). *モダンメディア*. 2007;3:14-19.
- 29 Markou N, Apostolakos H, Koumoudiou C, Athanasiou M, Koutsoukou A, Alamanos I, et al. Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant Gram-negative bacilli in critically ill patients. *Critical Care*. 2003;7(5):R78-R83.
- 30 二宮幾代治. ペプチド系抗生物質. 動物の抗生物質. 養賢堂, 東京, 1987:343-348.
- 31 小岩井農牧株式会社. ノシヘプタイド 耐性獲得に関する試験. (未公表)
- 32 ローヌ・プーラン・サンテ社. ノシヘプタイド(9671 RP) ニワトリ腸内細菌叢に及ぼす影響及び既存抗生物質耐性大腸菌に対する作用. (未公表)
- 33 小岩井農牧株式会社. ノシヘプタイド 耐性菌出現に関する試験 (ニワトリを用いた試験). (未公表)
- 34 英国 May & Baker 社. ノシヘプタイド(9671 RP) 豚糞中の *Escherichia coli* (大腸菌) の各種抗菌剤に対する感受性に及ぼす影響 (*in vivo & in vitro*). (未公表)
- 35 May & Baker 社. ノシヘプタイド(9671 RP) 豚糞中の *Escherichia coli* と大腸菌群の抗菌感受性に及ぼす影響 (ノシヘプタイド添加飼料を豚に給与した試験). (未公表)
- 36 ローヌ・プーラン・サンテ社. ノシヘプタイド投与により *Salmonella typhimurium* を人工感染させたニワトリのサルモネラ排泄量、排泄持続期間および既存抗菌剤に対する感受性に及ぼす影響 (その1). (未公表)

- 37 Dosch DC, Strohl WR, Floss HG. Molecular cloning of the nosiheptide resistance gene from *Streptomyces actuosus* ATCC 25421. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1988;156(1):517-523.
- 38 Webb V, Davies J. Antibiotic preparations contain DNA: a source of drug resistance genes? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1993;37(11):2379-2384.
- 39 Marshall CG, Lessard IAD, Park IS, Wright GD. Glycopeptide Antibiotic Resistance Genes in Glycopeptide-Producing Organisms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998;42(9):2215-2220.
- 40 Lu K, Asano R, Davies J. Antimicrobial resistance gene delivery in animal feeds. *Emerging Infectious Diseases*. 2004;10(4):679-683.