

(案)

家畜等に使用するバージニアマイシンに係る薬剤耐性菌
に関する食品健康影響評価

2016年2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.....	5
○食品安全委員会委員名簿.....	6
○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）.....	6
○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及び専門参考人名簿）.....	7
○要 約.....	8
I. 評価の経緯及び範囲等.....	10
1. はじめに.....	10
2. 経緯.....	10
(1) 評価要請のあった飼料添加物.....	10
(2) 評価の範囲.....	10
3. ハザードである薬剤耐性菌の考え方.....	10
II. 評価対象飼料添加物の概要.....	11
1. 評価対象飼料添加物の名称、化学構造、効能・効果等.....	11
(1) 名称等.....	11
(2) 化学名及び構造式.....	11
(3) 有効成分の系統（関連する系統）.....	12
(4) 使用方法.....	13
2. バージニアマイシンの使用状況、規制等.....	15
(1) 使用状況等.....	15
(2) バージニアマイシンに関する規制等.....	16
3. バージニアマイシンの海外における評価事例、規制の状況等.....	17
(1) 米国食品医薬品庁（FDA）.....	17
(2) 欧州連合（EU）.....	17
(3) オーストラリア農薬・動物用医薬品局（APVMA）.....	17
III. ハザードの特定に関する知見.....	18
1. 対象家畜等におけるバージニアマイシンの生体内薬物動態.....	18
(1) 吸収排泄試験.....	18
(2) 代謝試験.....	18
(3) 残留試験.....	19
2. ストレプトグラミン系抗生物質における抗菌活性の作用機序.....	20
3. バージニアマイシンの抗菌スペクトル及び感受性分布.....	20
(1) 抗菌スペクトル.....	20
(2) 家畜の病原菌に対するバージニアマイシンの MIC 分布.....	21

(3) 指標細菌及び食中毒菌由来細菌に対するバージニアマイシンの MIC 分布	22
4. ストレプトグラミン系抗生物質に対する薬剤耐性菌、薬剤耐性決定因子の耐性機序及び遺伝学的情報	23
(1) 耐性の基本的機序	23
(2) 耐性遺伝子及び交差耐性	23
5. 交差耐性の可能性及び医療分野における重要性	26
6. ハザードの特定に係る検討	27
(1) 感染症病原菌について	27
(2) 常在菌による感染症の検討	27
7. ハザードの特定	28
IV. 発生評価に関する知見	29
1. 畜産現場におけるバージニアマイシン耐性の状況	29
(1) 健康家畜由来細菌の抗菌性物質感受性調査	29
(2) 抗菌性飼料添加物を使用した農場における薬剤耐性の状況	31
(3) 家畜分野におけるバージニアマイシン耐性に関するその他の知見	32
2. バージニアマイシンに対する薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子の出現並びに選択の可能性	32
(1) 抗菌性飼料添加物の投与による薬剤耐性菌出現に関する調査	32
(2) 薬剤耐性決定因子の出現並びに選択の可能性	33
(3) 薬剤耐性決定因子の伝達性の検討	34
(4) 薬剤耐性決定因子に関する情報	35
(5) バージニアマイシンの耐性選択圧	35
V. 暴露評価に関する知見	36
1. 鶏及び豚由来畜産食品の 1 人当たりの年間消費量	36
2. ハザードとなりうる当該細菌の生物学的特性	37
(1) 抵抗性、生残性及び増殖性	37
(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	37
(3) 動物由来の腸球菌がヒトに定着する可能性	37
(4) ヒトの常在菌又は病原菌に薬剤耐性決定因子が伝達される可能性	38
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	38
4. ハザードとなりうる当該細菌による鶏及び豚由来食品の汚染	41
(1) 鶏及び豚由来食品がハザードとなりうる当該細菌に汚染される可能性	41
(2) ハザードとなりうる当該細菌による市販の鶏及び豚由来食品の汚染状況	41
(3) 市販の鶏肉及び豚肉から分離した腸球菌のバージニアマイシン耐性の状況	42
(4) 食品を介してヒトに伝達された場合に腸球菌が医療環境等を汚染する可能性について	42
VI. 影響評価に関する知見	43

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	43
2. ハザードの暴露によるヒトの疾病に対するストレプトグラミン系抗生物質による治療.....	44
3. ヒト臨床分野におけるストレプトグラミン系抗生物質耐性菌の状況等	44
VII. 食品健康影響評価.....	47
1. 発生評価、暴露評価及び影響評価の考え方.....	47
2. 発生評価について	48
(1) ハザードの出現（薬剤耐性機序、遺伝学的情報等）	48
(2) ハザードの感受性分布.....	48
(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）	48
(4) 発生評価の結果.....	48
3. 暴露評価について	49
(1) ハザードを含む当該細菌の生物学的特性.....	49
(2) ハザードを含む当該細菌による食品の汚染状況.....	49
(3) 暴露評価に係るその他要因（食肉処理工程、流通経路等）	49
(4) 暴露評価の結果	49
4. 影響評価について	50
(1) 当該疾病治療におけるストレプトグラミン系抗生物質の重要度	50
(2) 当該疾病の重篤性.....	50
(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）	50
(4) 影響評価の結果.....	50
5. リスクの推定について	51
(1) リスクの推定の考え方.....	51
(2) リスクの推定.....	51
6. 食品健康影響評価について	52
VIII. その他の考察.....	53
1. リスク管理措置について.....	53
2. 薬剤耐性菌に係るモニタリングについて	53
3. 食品健康影響評価の見直しについて	54
<別紙1 検査値等略称>.....	55
<参照>.....	56

〈審議の経緯〉

2003年	12月	8日	農林水産大臣から薬剤耐性菌に係る食品健康影響評価について要請（15消安第3979号）
2003年	12月	11日	第23回食品安全委員会（要請事項説明）
2004年	9月	30日	「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針」決定
2006年	4月	13日	「食品を介してヒトの健康に影響を及ぼす細菌に対する抗菌性物質の重要度のランク付けについて」決定
2012年	8月	7日	関係資料の接受
2012年	8月	28日	肥料・飼料等（第58回）／微生物・ウイルス（第33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）
2014年	3月	31日	「食品を介してヒトの健康に影響を及ぼす細菌に対する抗菌性物質の重要度のランク付けについて」改正
2014年	6月	16日	肥料・飼料等（第88回）／微生物・ウイルス（第51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）
2015年	10月	26日	薬剤耐性菌に関するワーキンググループ（第1回）
2015年	11月	30日	薬剤耐性菌に関するワーキンググループ（第2回）
2015年	12月	24日	薬剤耐性菌に関するワーキンググループ（第3回）
2016年	2月	9日	第594回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006年6月30日まで)	(2006年12月20日まで)	(2009年6月30日まで)
寺田 雅昭 (委員長)	寺田 雅昭 (委員長)	見上 彪 (委員長)
寺尾 允男 (委員長代理)	見上 彪 (委員長代理)	小泉 直子 (委員長代理*)
小泉 直子	小泉 直子	長尾 拓
坂本 元子	長尾 拓	野村 一正
中村 靖彦	野村 一正	畑江 敬子
本間 清一	畑江 敬子	廣瀬 雅雄**
見上 彪	本間 清一	本間 清一

* : 2007年2月1日から

** : 2007年4月1日から

(2011年1月6日まで)	(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〉

(2013年9月30日まで)

肥料・飼料等専門調査会	微生物・ウイルス専門調査会
唐木 英明 (座長)	渡邊 治雄 (座長代理)
青木 宙	多田 有希
池 康嘉	田村 豊
舘田 一博	専門参考人
戸塚 恭一	荒川 宜親
細川 正清	

(2015年9月30日まで)

肥料・飼料等専門調査会	微生物・ウイルス専門調査会
津田 修治 (座長代理)	吉川 泰弘 (座長)

荒川 宜親
池 康嘉
今田 千秋
戸塚 恭一
細川 正清

甲斐 明美
砂川 富正
田村 豊
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専門委員〉

(2015年10月1日から)

浅井 鉄夫
荒川 宜親
今田 千秋
植田 富貴子
甲斐 明美
菅井 基行

砂川 富正
田村 豊
戸塚 恭一
豊福 肇
細川 正清
吉川 泰弘

〈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1回）専門参考人名簿〉

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2回）専門参考人名簿〉

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3回）専門参考人名簿〉

池 康嘉

要 約

ストレプトグラミン系抗生物質である飼料添加物バージニアマイシンが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」（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。

鶏及び豚由来の畜産食品を介して伝播する可能性のある感染症であって、かつヒトの医療分野においてバージニアマイシンと交差耐性を示すストレプトグラミン系抗生物質が治療薬とされている感染症は、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）感染症である。また、鶏や豚の腸内細菌叢には、鶏や豚の感染症の主な原因菌とはならないものの、ヒトの健康を害する可能性のある VRE を保菌していることがある。このため、鶏及び豚にバージニアマイシンを使用した場合、バージニアマイシンに対する薬剤耐性菌が選択される可能性がある。このバージニアマイシン耐性腸球菌が食品を介してヒトに伝播した場合、また、その耐性菌が何らかの経路で医療環境を汚染した場合に、感染症の原因菌となる可能性は否定できない。ヒト用ストレプトグラミン系抗生物質である、キヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤は「バンコマイシン耐性エンテロコッカス・フェシウム感染症」を適応症とし、VRE 感染症の推奨薬の 1 つとされている。VRE 以外の腸球菌については、ストレプトグラミン系抗生物質は推奨薬とされていないが、ストレプトグラミン系抗生物質に対する耐性因子を保有している株もあり、薬剤耐性遺伝子を VRE に伝達する可能性がある。したがって、リスク評価すべきハザードとして、鶏及び豚に対してバージニアマイシンを使用することにより薬剤耐性が選択された腸球菌を特定し、発生評価、暴露評価及び影響評価を行い、それらの結果からリスクを推定した。

発生評価では、バージニアマイシンが鶏及び豚に使用された場合に、ハザードが選択される可能性がある。JVARM におけるモニタリング調査において鶏及び豚由来の *Enterococcus faecium* について耐性率は減少傾向にあると考えられるが、バージニアマイシンの検定合格数量の減少が耐性率の低下に影響している可能性が考えられた。バージニアマイシンは飼料添加物であり、使用方法及び今後の薬剤耐性菌の発生動向について注意を払う必要があり、中等度と考えた。

暴露評価では、鶏及び豚由来食品の摂取が直接感染症を引き起こすわけではなく、また、*E. faecium* においては、家畜、健常者、入院患者及び院内感染分離菌の遺伝学的系統が異なることから、家畜由来 *E. faecium* が長期にヒトの腸管に定着し、それらの菌が直接ヒトの感染症の原因菌となる可能性は低いとされている。しかしながら、薬剤耐性遺伝子を保有する家畜由来 *E. faecium* が、一定期間ヒトの腸管に定着し、ヒトの *E. faecium* に薬剤耐性遺伝子を伝達することが示されており、また、市販の鶏由来食品の腸球菌の陽性率が高いことから、中等度と考えた。

影響評価では、医療分野における現状を総合的に判断すると、ハザードに起因する感染症に対するストレプトグラミン系抗生物質の治療効果が減弱又は喪失する可能性があり、中等度と考えた。

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の評価としては、評価対象飼料添加物であるバージニアマイシンが鶏及び豚に使用された結果としてハザー

ドが選択され、鶏及び豚由来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、リスクの程度は中等度であると考えた。

なお、薬剤耐性菌については、現時点では詳細な科学的知見や情報が必ずしも十分とはいえず、また、リスク評価の手法についても国際的に十分確立されていないと考えられるため、国際機関における検討状況等を含む新たな科学的知見・情報の収集が必要である。

鶏及び豚に使用するバージニアマイシンについては、現時点で、国内において使用実態がないと考えられるが、今後、バージニアマイシンが使用された場合に、薬剤耐性率が上昇する可能性は否定できない。また、VRE感染症の推奨薬の1つであるキヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤と交差耐性を示すこと等を踏まえ、飼料添加物としての必要性を確認した上で、リスク管理措置の強化が必要である。

薬剤耐性菌のモニタリングについては、家畜－食品－ヒトという一連の過程の中で薬剤耐性菌の動態をモニタリングすることが有効であり、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は、因果関係の解明にあたり有用な情報である。引き続き、関係リスク管理機関が連携の上、疫学的評価・検証に耐え得る包括的な薬剤耐性モニタリング体制を構築し、薬剤耐性獲得状況について継続的に調査・監視することが必要である。

現時点においては、評価対象飼料添加物バージニアマイシンに対する薬剤耐性菌に関する詳細なデータが十分にあるとは言えないことから、引き続き新たな科学的知見・情報等の収集を行うことが必要である。また、当該飼料添加物の使用状況、家畜における薬剤耐性菌のモニタリング調査、国際機関等における検討状況等も踏まえ、必要に応じて再度評価を実施することが必要であると考えられる。

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バージニアマイシンに係る食品健康影響評価について、「当該飼料添加物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）に基づき評価を行うものである。

2. 経緯

(1) 評価要請のあった飼料添加物

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、(1) の評価対象飼料添加物に係る食品健康影響評価のうち、「バージニアマイシンを家畜等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。

評価対象飼料添加物は、鶏及び豚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「鶏及び豚由来の畜産食品」が介在する場合のものとした。

3. ハザード¹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。感受性に関する判断は、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、本評価書案においては、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、

¹ 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、バージニアマイシンを家畜等に使用した結果として選択される薬剤耐性菌をいう。

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、わが国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。わ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。

II. 評価対象飼料添加物の概要

1. 評価対象飼料添加物の名称、化学構造、効能・効果等

(1) 名称等

一般名：バージニアマイシン

CAS 番号：11006-76-1 (参照 2、3)

(2) 化学名及び構造式

バージニアマイシンは、バージニアマイシン M₁ (ストレプトグラミン A (S_A)) 及びバージニアマイシン S₁ (ストレプトグラミン B (S_B)) の 2 種類の化学物質で構成される。

① バージニアマイシン M₁

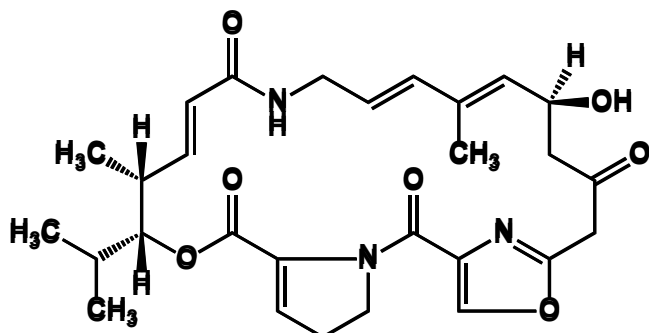
化学名：8,9,14,15,24,25-Hexahydro-14-hydroxy-3-isopropyl-4,12-dimethyl-3H-21,18-nitrilo-1H, 22H-pyrrolo(2,1-c)(1,8,4,19)dioxadiazacyclo tetracosine-1,7,16,22(4H,17H)-tetrone

CAS 番号 : 21411-53-0

化学式 : $C_{28}H_{35}N_3O_7$

分子量 : 525.6

構造式 :



② バージニアマイシン S₁

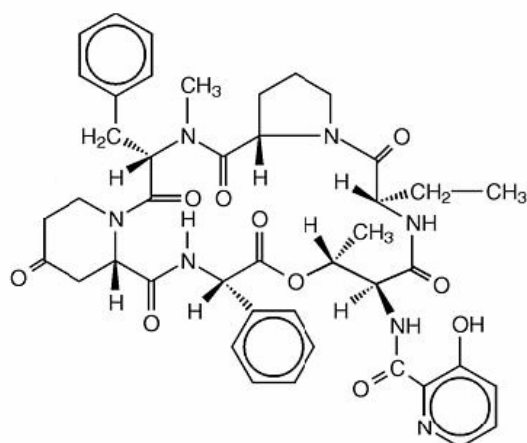
化学名 : N-((3-Hydroxy-2-pyridinyl)carbonyl)-L-threonyl-D-alpha-aminobutyryl-L-prolyl-N-methyl-L-phenylalanyl-4-oxo-L-pipecoloyl-L-2-phenylglycine rho-lactone

CAS 番号 : 23152-29-6

化学式 : $C_{43}H_{49}N_7O_{10}$

分子量 : 823.9

構造式 :



(3) 有効成分の系統 (関連する系統)

① 有効成分の系統

バージニアマイシンは、放線菌 *Streptomyces virginiae* が産生するストレプトグラミン系抗生物質である。(参照 4)

ストレプトグラミン系抗生物質は、相互に化学的に関連性のない 2 種類の化学物質

ストレプトグラミン A (S_A) と、ストレプトグラミン B (S_B) で構成される抗生物質である。S_A はポリケチド系抗生物質で不飽和マクロラクトン (polyunsaturated macrolactones)、S_B は非リボソームペプチド系抗生物質で環状デプシペプチド (cyclic depsipeptides) である。ストレプトグラミン系抗生物質産生菌により生産され最終産物はおおよそ S_A:S_B=70:30 の割合の混合物である。

それぞれは細菌の 50S リボソームに結合し単独では静菌的に作用するが、両薬剤の作用により単剤の作用より約 100 倍の相乗効果を発揮し、静菌作用が強くなり殺菌的に作用する。(参照 4)

国内では、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た鶏、うずら及び豚用の飼料添加物として指定されているが、動物用医薬品としては承認されていない。

バージニアマイシンはヒト用医薬品としては用いられていない。

② 関連する系統

国内において、鶏及び豚に使用されるストレプトグラミン系抗生物質はバージニアマイシンのみである。飼料安全法に基づき飼料添加物に指定されている抗菌性物質及び医薬品、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(昭和 35 年法律第 145 号。以下「医薬品医療機器等法」という。)に基づく動物用医薬品の中には、他にストレプトグラミン系抗生物質はない。

ヒト用医薬品としては、プリスチナマイシン (pristinamycin II(S_A), pristinamycin I(S_B)) が約 50 年前からブドウ球菌及びレンサ球菌感染症治療薬としてフランス、ベルギー及びドイツで使用されている。プリスチナマイシンは疎水性であるため内服薬のみで注射薬はない。そのため、プリスチナマイシンの半化学合成誘導体で水溶性のダルホプリスチン (dalfopristin (S_A)) とキノプリスチン (quinupristin (S_B)) の製剤(販売名:注射用シナシッド) がヒトの多剤耐性グラム陽性菌治療薬として開発された(表 6)。キノプリスチン・ダルホプリスチン製剤は 1999 年以降、米国、カナダ、日本及び EU14 各国で使用され、特にバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 感染症の他、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 感染症治療薬として用いられている。(参照 4~7)

(4) 使用方法

バージニアマイシンは飼料安全法に基づき、飼料添加物として農林水産大臣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。以下「成分規格等省令」という。)等により規定されている。

① 対象飼料及び添加量

バージニアマイシンの添加が認められている飼料の種類及び添加量は、以下のとおりとなっている。

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)	5～15	5～15	5～15	10～20	10～20

注) うずら用は鶏用に準じて使用される。

なお、産卵中の鶏もしく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。

② 同一飼料に二つ以上の飼料添加物を用いる場合の規制

抗菌性飼料添加物は、以下の四つのカテゴリーに分類されている。

次の表の同一欄内の二つ以上の飼料添加物は、同一飼料に併用してはならない。

区分	飼料添加物
第1欄	アンプロリウム・エトパベート、アンプロリウム・エトパベート・スルファキノキサリン、サリノマイシンナトリウム、センデュラマイシンナトリウム、デコキネート、ナイカルバジン、ナラシン、ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム、モネンシンナトリウム、ラサロシドナトリウム
第2欄	クエン酸モランテル
第3欄	亜鉛バシトラシン、アピラマイシン、アルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン、エフロトマイシン、エンラマイシン、クロルテトラサイクリン、ノシヘプタイド、バージニアマイシン、フラボフォスフォリポール、リン酸タイロシン
第4欄	アルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、ビコザマイシン、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、バージニアマイシンと併用可能である抗菌性飼料添加物及びその添加量は、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・エトパベート	g	アンプロリウム 40～250	40～250	40～250
			エトパベート 2.56～16	2.56～16	2.56～16
	アンプロリウム・エトパベート・スルファキノキサリン	g	アンプロリウム 100	100	100
			エトパベート 5	5	5
			スルファキノキサリン 60	60	60

	サリノマイシンナトリウム	g力価	50	50	50
	センドュラマイシンナトリウム	g力価	25	25	25
	デコキネート	g	20~40	20~40	20~40
	ナイカルバジン	g	—	100	—
	ナラシン	g力価	80	80	80
	ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム	g	40	40	40
	モネンシンナトリウム	g力価	80	80	80
	ラサロシドナトリウム	g力価	75	75	75
第4欄	ビコザマイシン	g力価	5~20	5~20	5~20
	硫酸コリスチン	g力価	2~20	2~20	2~20
	アルキルトリメチルアンモニウムオキシテトラサイクリン	g力価	5~55	5~55	—
	クロルテトラサイクリン	g力価	10~55	10~55	—

・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3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
	アルキルトリメチルアンモニウムオキシテトラサイクリン	g力価	5~70	—

2. バージニアマイシンの使用状況、規制等

(1) 使用状況等

日本では、バージニアマイシンは、薬事法²に基づく動物用医薬品として1971年に承認され、1986年に承認が整理された。飼料添加物としては1976年7月に改正施行された飼料安全法に基づき抗菌性飼料添加物として指定された。1978年度から2011年度の検定合格数量を表1に示す。(参照5、8)

なお、2008年度以降、バージニアマイシンの国家検定は行われていない。また、日本では2009年4月以降バージニアマイシンの製造及び販売は行われていない。海外では、米国、ブラジル、アルゼンチン、豪州、ニュージーランド、インド、マレーシア、韓国等で販売されている。

² 薬事法は2013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。

表1 バージニアマイシンの検定合格数量（実量力価換算）

年	トン(力価)	年	トン(力価)	年	トン(力価)
1978	1.7	1989	8.6	2000	2.2
1979	7.4	1990	5.7	2001	2.2
1980	6.7	1991	8.4	2002	0
1981	3.3	1992	4.7	2003	1.7
1982	6.5	1993	6.6	2004	0.3
1983	6.9	1994	2.8	2005	1.2
1984	14.4	1995	4.6	2006	0.3
1985	13.5	1996	7.7	2007	0.5
1986	10.3	1997	11.9	2008	0
1987	12.5	1998	6.6	2009	0
1988	11.6	1999	0	2010	0
				2011	0

1978年から2009年：(財) 農林弘済会発行「飼料検査」より抜粋。

2010年及び2011年：(独) 農林水産消費安全技術センターホームページより抜粋。

(2) バージニアマイシンに関する規制等

バージニアマイシンは、飼料安全法に基づき農林水産大臣の指定を受けた抗菌性飼料添加物であり、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成分規格等省令等により規定されている。

抗菌性飼料添加物全般について設けられている主な規制は以下のとおりである。

- ① 飼料は飼料添加物に指定されていない抗菌性物質を含んではならない。
- ② 抗菌性飼料添加物の種類ごとに添加してよい対象飼料及び量が定められている。
- ③ 抗菌性飼料添加物及び抗菌性飼料添加物を含む飼料の製造業者は、製造を実地に管理させるため、事業場ごとに、飼料製造管理者を置かなければならない（飼料安全法第25条）。
- ④ 抗菌性飼料添加物のうち抗生物質については、飼料安全法第5条に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又は登録を受けた特定飼料等製造業者（特定飼料等の製造を業とする者をいう。）が製造したことを示す表示が付されたものでなければならない。
- ⑤ 抗菌性飼料添加物を含む飼料は、対象家畜等、含有する飼料添加物の名称及び量、使用上の注意等を表示しなければならない。
- ⑥ 抗菌性飼料添加物を含む飼料は、搾乳中の牛又は産卵中の鶏若しくはうずら並びに食用を目的としてと殺する前7日間の牛（生後概ね6月を超えた肥育牛を除く。）、豚、鶏又はうずらに使用してはならない。

飼料中の添加量が1の(4)の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、農場におけるバージニアマイシン添加飼料の家畜等への使用制限（産卵中の鶏又はうずら並びに食用を目的としてと殺する前7日間の豚、鶏又はうずらへの使用禁止等）については、各都道府県がその遵守状況を確認することとなっている。

3. バージニアマイシンの海外における評価事例、規制の状況等

(1) 米国食品医薬品庁 (FDA)

米国では、牛、豚及び肉用鶏等の飼料添加物として使用されている。

2004年にFDAは、食品に由来するストレプトグラミン耐性 *Enterococcus faecium* を摂取することによって、ストレプトグラミン耐性 *E. faecium* に感染した場合に、キヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤の治療が奏効しないリスクを評価し、その結果をドラフトレポートとして発表した。

その結論によると、病院におけるストレプトグラミン耐性 *E. faecium* 感染症の10%が食品由来の *E. faecium* と仮定するならば、ストレプトグラミン耐性 *E. faecium* 感染症のうち家畜へのバージニアマイシンの使用に起因する症例数の平均値は年間2~39症例と推定された。結論として、動物にバージニアマイシンを使用することによりストレプトグラミン耐性 *E. faecium* に感染し、キヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤の治療効果に影響を与えるリスクの平均は、入院患者においては1年間で1億人に対して6~120人であり、一般の米国人10億人に対しては7~140人と推定されることが報告されている。(参照3)

(2) 欧州連合 (EU)

欧州理事会の要請に基づきSSC (Scientific Steering Committee) は、1999年に、抗菌性物質全般に対する耐性の程度及び広がり並びに抗菌性物質の人と動物の健康、特に感染症の発生及び防除に及ぼす影響を科学的に評価した。バージニアマイシンに関しては、「成長促進剤としてのバージニアマイシンの使用は、デンマークの国民に対する緊急なリスクにはなっていない。」というSCAN (the Scientific Committee on Animal Nutrition ; 1998) の報告を引用している。また、マクロライド系及びストレプトグラミン系抗生物質の腸球菌における耐性に関する量的データが少ないこと及び1997年のデンマーク抗菌薬耐性調査研究プログラム (DANMAP) では「マクロライド系及びストレプトグラミン系抗生物質の肉用鶏及び豚の生産時の使用が、腸球菌におけるマクロライド系及びストレプトグラミン系抗生物質に対する耐性発現に関連することが示されている」との記載がなされている。

結論として、医学・獣医学・畜産・植物防疫の全ての分野においてバランスのとれた方法で、抗菌性物質の全体的な使用量を減少させるために、速やかな対応を取ることが必要であると勧告した。(参照9)

EUは、当時、ヒト用医薬品として承認が予定されていたストレプトグラミン系抗生物質であるキヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤の治療効果が交差耐性により減じられることを防ぐため、1999年にバージニアマイシンの使用禁止を決定した。

(3) オーストラリア農業・動物用医薬品局 (APVMA)

APVMAは、2004年に動物用医薬品であるバージニアマイシンの家畜への使用が人の医療に及ぼす影響に関する公衆衛生学的な評価、鶏及び豚の成長促進効果並びに羊と肥育牛の乳酸アシドーシス及び鶏の壊死性腸炎の予防及び治療効果に関する評価を行った。

その結果、動物由来ストレプトグラミン耐性 *E. faecium* の暴露によって、細菌感染症に対する防御能力の低下したヒトへの感染により疾病が起こる可能性は低い、影響は大きく、一方、一般人への感染により疾病が起こる可能性は低く、影響も小さいと評価された。

また、APVMA は成長促進等についての効果が十分でないとして、適用内容から鶏及び豚の成長促進を削除し、羊、牛及び鶏の疾病の予防・治療目的での使用を残した。(参照 10)

Ⅲ. ハザードの特定に関する知見

評価指針の第 2 章第 1 に基づき、バージニアマイシンに関する情報から、当該物質を鶏及び豚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を与える可能性のあるハザード（薬剤耐性菌）を特定する。なお、薬剤耐性決定因子によって薬剤耐性形質を獲得した薬剤耐性菌については、当該因子についても考慮する。

1. 対象家畜等におけるバージニアマイシンの生体内薬物動態

(1) 吸収排泄試験

ラット（SD 系、雌雄各 3 匹、体重 180～200 g）に、大豆油に懸濁させた ¹⁴C-標識バージニアマイシン（0.803 mCi/g）を単回経口投与（25 mg/kg 体重）し、投与後 4 日間毎日個体別に糞及び尿を採取して、放射活性を測定した。投与 4 日後に動物から肝臓及び腎臓を摘出して放射活性を測定した。また、肉用牛（ヘレフォード／ホルスタイン交雑種、18 か月齢、雄 2 頭及び雌 1 頭、体重 300 kg）に非標識バージニアマイシンを 14 日間連続経口投与（1 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセル投与）した後、15 日目に ¹⁴C 標識バージニアマイシン（0.193 mCi/g）を経口投与（1 mg/kg 体重/日）した。その後 7 日間毎日尿を採取して放射活性を測定し、糞を 12 時間間隔で採取して放射活性を測定した。

いずれの試験でも、投与した放射活性の 84～94%が糞中に排泄され、尿中に排泄された放射活性は投与量の 1.3～2.4%であった。残留放射活性は、ラットの肝臓で投与放射活性の 0.08～0.12%、腎臓で 0.014～0.015%であった。(参照 11)

(2) 代謝試験

七面鳥（品種不明、30 日齢、雌雄各 4 羽/群）に ¹⁴C 標識バージニアマイシン（0.283 mCi/g）を 43 日間混餌投与（50 g/t 飼料）し、安楽死処置後肝臓全体を摘出し総放射活性を測定した。ラット（系統不明、雌雄 3 匹）に大豆油に懸濁させた ¹⁴C 標識バージニアマイシン（0.803 mCi/g）を 14 日間連続経口投与（25 mg/kg 体重/日）した後、肝臓を摘出して放射活性を測定した。また、肉牛（ヘレフォード／ホルスタイン交雑種、18 か月齢、雄 2 頭及び雌 1 頭）に非標識バージニアマイシンを 14 日間連続経口投与（1 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセル投与）し、15 日目から ¹⁴C 標識バージニアマイシン（0.193 mCi/g）を 7 日間連続投与（1 mg/kg 体重/日）した。投与終了後肝臓を摘出し抽出した。

これらの試験の結果、バージニアマイシンは水溶性、脂溶性の多くの代謝物に代謝

されたが、肝臓中の総残留物の3.5%を超える代謝物は存在しないことが示された。しかし、試料の量に制限があったため、代謝物の同定はできなかった。添加試験の結果、組織中に未変化体のバージニアマイシンはほとんど存在しないことが示された。(参照 11)

(3) 残留試験

① 鶏

ア 8週齢の肉用鶏(品種不明、雄4羽;平均体重1,044g、雌4羽;平均体重1,084g)に¹⁴C標識バージニアマイシンを5日間混餌投与(20g/t)した後、休薬期間をおかずに組織中の残留放射活性濃度を測定した。平均残留放射活性濃度(バージニアマイシン換算値)は、肝臓0.06ppm、腎臓0.04ppm、筋肉0.005ppm、皮膚脂肪0.013ppm、血液0.07ppm及び血漿0.01ppmであった。(参照12)

イ 4週齢の雌肉用鶏(品種不明、各投与群70羽、対照群10羽、平均体重39.1g)にバージニアマイシンを56日間混餌投与(5、15及び50ppm)した。投与28日後の中間殺動物及び56日間投与後0、1、3、5及び7日間の休薬期間を設けた動物の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸及び血清中の濃度を測定した。バージニアマイシンの濃度は、*Micrococcus luteus* ATCC9341を用いたバイオアッセイ(検出限界0.05µg/g又はµg/mL)で測定した。いずれの組織においてもバージニアマイシンの濃度は検出限界未満であった。(参照13)

② 豚

ア 豚(品種不明、5頭、導入時体重65.3~73.0kg)に¹⁴C標識バージニアマイシンを5日間混餌投与(10g/t)³した後、組織中の放射活性濃度を測定した。平均総残留放射活性濃度(バージニアマイシン換算値)は、肝臓0.12ppm、腎臓0.06ppm、筋肉0.00ppm⁴、腎脂肪0.04ppm、腸間膜脂肪0.03ppm、皮下脂肪0.02ppm、全血0.00ppm⁴及び血漿0.01ppmであった。(参照14)

イ 子豚(品種不明、3頭、平均体重19kg)に、バージニアマイシンを単回強制経口投与(100mg/kg体重)し、投与2~30時間後の血清中のバージニアマイシン濃度を測定した。また、投与4、7及び48時間後に尿中のバージニアマイシン濃度を測定した。バージニアマイシンの濃度は、*Sarcina lutea*(現在の*M. luteus*)を用いたバイオアッセイで測定(検出限界は0.3µg/mL)した。血清においては、いずれの測定時点においてもバージニアマイシンは検出限界未満であった。尿においては、投与7時間後では投与量の平均約0.04%で、24~48時間後では検出されな

³ 平均投与量 0.51 mg/kg 体重/日

⁴ 放射活性濃度の測定の際に、測定対象試料よりもバックグラウンドが大きく測定値がマイナスになったため0と記載

った⁵。(参照 15)

ウ 子豚 (雄 4 頭、雌 2 頭、体重 10~20 kg) に、バージニアマイシンを 18 週間 (予想される最長添加期間) 混餌投与 (155 g/t)⁶した。休薬期間をおかずに筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び皮膚における残留濃度を測定した。バージニアマイシンの濃度は、*Corynebacterium xerosis* を用いたバイオアッセイで測定 (検出限界は 0.1 µg/g 又は µg/mL) した。残留濃度はいずれも 0.1 µg/mL 未満であり、バージニアマイシンは豚の腸管からほとんど吸収されないことが示された。(参照 15)

2. ストレプトグラミン系抗生物質における抗菌活性の作用機序

バージニアマイシンを含むストレプトグラミン系抗生物質の薬剤は、全てに共通の作用機序を持つ。ストレプトグラミン系抗生物質 (S_A 及び S_B) は、細菌リボソームの 50S サブユニットに結合してタンパク質合成を阻害し、細菌の増殖を抑制する。

S_A は、タンパク質伸長の前期過程でペプチジル基転移酵素領域に結合し、アミノアシル-tRNA のリボソームの A-site と P-site への結合及びペプチド結合の形成を阻害し、ポリペプチド鎖の伸長を妨害する。この結合領域と作用機序はクロラムフェニコールと類似している。

一方、S_B は、タンパク質伸長の後期過程でリボソームの 50S サブユニットを構成する 23S rRNA に結合しペプチド鎖の伸長を阻害する。その結果、タンパク伸長途中のペプチジル tRNA がリボソームから離脱する。この結合領域と作用機序はマクロライド系抗生物質と類似している。

S_A がリボソームに結合することによってリボソームの立体構造が変化し、その結果として S_B のリボソームに対する親和性がより大きくなる。このようにして両タイプは相乗効果を発揮する。S_A 及び S_B の抗菌作用は、それぞれ単独では静菌的であるが、これらを組み合わせると、静菌作用が強くなり、S_A と S_B 両薬剤の抗菌活性はそれぞれ単独より 100 倍強くなる。(参照 16~18)

3. バージニアマイシンの抗菌スペクトル及び感受性分布

(1) 抗菌スペクトル

バージニアマイシンは、*Micrococcus* 属、*Staphylococcus* 属、*Streptococcus* 属、*Enterococcus* 属 (*E. faecium*)、*Corynebacterium* 属、*Lactobacillus* 属、*Clostridium* 属などのグラム陽性菌、*Mycoplasma gallisepticum* 等の一部のマイコプラズマ及び *Brachyspira hyodysenteriae* 等に抗菌活性を示す。

なお、バージニアマイシンは *Salmonella* 属、*Escherichia coli*、*Proteus* 属及び *Campylobacter* 属等の大部分のグラム陰性菌には、抗菌活性を示さないが、*Haemophilus influenzae* 及び *Neisseria* 属の中には感受性株が存在する。各菌種に対するバージニアマイシンの最小発育阻止濃度 (MIC) を表 2 に示す。(参照 19~27)

⁵ 3 頭のうち 1 頭から検出限界未満の痕跡が認められた。

⁶ 平均投与量 7.44 mg/kg 体重/日

表2 各菌種に対するバージニアマイシンの最小発育
阻止濃度 (MIC)

グラム陽性菌	MIC($\mu\text{g/mL}$)の範囲
<i>Bacillus subtilis</i>	2
<i>Bacillus cereus</i>	1
<i>Clostridium tetani</i>	0.05~0.5
<i>Clostridium welchii</i>	0.5
<i>Clostridium septicum</i>	0.12
<i>Corynebacterium xerosis</i>	0.03~0.1
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.05
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.56~ >100.0
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0.5
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0.7
<i>Micrococcus luteus</i>	0.03
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.2~0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.25
<i>Streptococcus agalacticae</i>	7
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0.07
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0.06
<i>Streptococcus viridance</i>	15

グラム陰性菌	MIC($\mu\text{g/mL}$)の範囲
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	12.5~>100
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	1.56~12.5
<i>Brucella abortus</i>	75
<i>Campylobacter jejuni</i>	$\geq 256^*$
<i>Escherichia coli</i>	12.5~200
<i>Haemophilus influenzae</i>	6.25~12.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100
<i>Mycoplasma arthritidis</i>	3
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	0.05
<i>Neisseria meningitides</i>	0.1~0.4
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.12
<i>Proteus mirabilis</i>	>100.0
<i>Proteus vulgaris</i>	200
<i>Salmonella Gallinarum</i>	>100
<i>Salmonella Pullorum</i>	1.56~100
<i>Salmonella Typhi</i>	50~200
<i>Salmonella Typhimurium</i>	50
<i>Shigella flexneri</i>	>100.0

* : ストレプトグラミン B の MIC 分布

(2) 家畜の病原菌に対するバージニアマイシンの MIC 分布

わが国では、バージニアマイシンは飼料添加物として指定されており、対象とする家畜の病原菌は想定されていない。

米国では、*Clostridium perfringens* (鶏壊死性腸炎) あるいは *B. hyodysenteriae* (豚赤痢) 等の腸炎の予防/治療を目的にしてバージニアマイシンが使用されている。

(参照 28)

日本における鶏及び豚由来野外株のバージニアマイシンに対する薬剤感受性に関して以下の報告がある。

① *C. perfringens*

日本で 1989 年から 1998 年の 10 年間にわたり、農場で飼育されている肉用鶏の腸管由来 *C. perfringens* の検出状況等の調査が行われた。バージニアマイシンの *C. perfringens* に対する MIC の分布は一峰性を示し、10 年間で大きな変化はみられず、その範囲は 0.1~1.56 µg/mL であった。さらに 1999 年から 2004 年の調査結果における MIC の範囲は 0.05~0.39 µg/mL と一峰性のまま範囲が狭まる傾向がみられ、耐性菌は認められていない。(参照 29、30)

② *B. hyodysenteriae* (豚赤痢菌)

1976 年から 1983 年に日本の豚赤痢罹患豚から分離された *B. hyodysenteriae* の薬剤感受性が調べられ、バージニアマイシンの MIC は 0.39~3.13 µg/mL であった。(参照 31)

(3) 指標細菌及び食中毒菌由来細菌に対するバージニアマイシンの MIC 分布

バージニアマイシンを使用できる家畜は鶏及び豚であるが、これらの家畜に由来する食中毒菌としては、*Campylobacter* 属、*Salmonella* 属、*Yersinia* 属及び *C. perfringens* が知られている。また薬剤感受性の指標細菌として *E. coli* 及び *Enterococcus* 属がある。しかし、バージニアマイシンはグラム陰性菌の *Campylobacter* 属、*Salmonella* 属、*Yersinia* 属及び *E. coli* に対して抗菌作用がほとんどなく、また、*C. perfringens* については前項で記載したので、ここでは、*Enterococcus* 属についての報告を記載する。(参照 32~34)

1996 年に日本全国の農場で採取された糞便から分離された *Enterococcus* 属に対するバージニアマイシンの MIC は、表 3 のとおりである。(参照 35)

表 3 *Enterococcus* 属に対するバージニアマイシンの MIC

由来	菌種	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	ブレイクポイント(µg/mL)	耐性率(%)
肉用鶏	<i>E. faecium</i>	1.56	25	6.25	27.4
肉用鶏	<i>E. faecalis</i>	6.25	12.5	50	0
卵用鶏	<i>E. faecium</i>	0.78	1.56	6.25	0
卵用鶏	<i>E. faecalis</i>	6.25	6.25	50	0

肉用鶏由来の *E. faecium* に対しては MIC のピークが 1.56 及び 12.5 の二峰性の分布を示し、ブレイクポイントは 6.25 µg/mL とされ、耐性率は 27.4% であった。一方、卵用鶏由来の *E. faecium* に対しては一峰性の分布を示し、耐性率は 0% であった。

4. ストレプトグラミン系抗生物質に対する薬剤耐性菌、薬剤耐性決定因子の耐性機序及び遺伝学的情報

(1) 耐性の基本的機序

バージニアマイシンが属するストレプトグラミン系抗生物質に対するグラム陽性菌の耐性の基本的な機序は以下のとおりである。(参照 4、36、37) なお、[Ⅲ. 3. (1)] で記載したとおり、バージニアマイシンは大部分のグラム陰性菌には抗菌活性を示さないことから、グラム陽性菌について記載する。

- ① 最初の基本的機序として、薬剤の標的部位の修飾がある。これは *erm* 遺伝子によりコードされるメチル基転移酵素 (rRNA メチラーゼ) による、S_B の結合部位である 23S rRNA の adenin 基 (A2058) のメチル化である。
- ② 2 番目の基本的機序は、薬剤不活性化作用である。これは、*vat* (又は *sat*) 遺伝子によりコードされるアセチル化酵素による S_A のアセチル化及び *vgb* 遺伝子によりコードされる加水分解酵素 (ラクトナーゼ) による S_B の加水分解である。
- ③ 3 番目の基本的機序は、薬剤の排出である。これは、*msr*、*lsa* 及び *vga* 遺伝子によりコードされる薬剤排出ポンプによる S_A 又は S_B の菌体外への排出である。

グラム陽性菌のストレプトグラミン系抗生物質耐性は、主に腸球菌とブドウ球菌において分離解析されている。上記の薬剤耐性機序には、染色体上の遺伝子に支配される内因性耐性とプラスミド等の外因性の遺伝子に支配される獲得耐性がある。グラム陽性菌の薬剤耐性遺伝子は一般にプラスミド上に存在する (表 4)。(参照 38、39)

(2) 耐性遺伝子及び交差耐性

① ストレプトグラミン A (S_A) 耐性

グラム陽性菌の S_A 耐性遺伝子として、アセチル化酵素をコードする *vat* (*vatA*~*E*、*G* 等) 並びに薬剤排出ポンプである ATP 統合タンパク (ABC トランスポーター) をコードする *lsa* (*A*~*C*、*E* 等) 及び *vga* (*vgaA*~*D* 等) 遺伝子が分離されている (表 4)。(参照 36、37、40~43)

vatA、*B*、*C*、*D*、*E* 及び *G* 遺伝子はそれぞれの DNA 及びタンパクのアミノ酸レベルで高い相同性を持つ。*vatA*、*B* 及び *C* 遺伝子はブドウ球菌で最初に分離され、*vatD*、*E* 及び *G* 遺伝子は腸球菌で最初に分離された。*vatD*、*vatE* 遺伝子は当初腸球菌から分離された際にそれぞれ *satA*、*satG* 遺伝子と名付けられたが、ブドウ球菌で分離された *vat* 遺伝子と相関性が高く同一機能酵素であることから *vat* 遺伝子とも呼ばれる。*vat* 遺伝子 (*Enterococcus* では *vatD*、*vatE*、*vatG*) はプラスミドに存在する。(参照 36、37、42、44、48~52)

lsaA 遺伝子は *Enterococcus faecalis* の染色体性の薬剤排出ポンプをコードする遺伝子で、*E. faecalis* の内因性耐性因子とされている。(参照 7、38、53) 近年、ブドウ球菌、*E. faecalis*、*E. faecium* 等のプラスミド上の *lsa* 遺伝子が報告されている。(参照 54~57)

vgaA、*B*、*C* 及び *D* 遺伝子はそれぞれ遺伝子の塩基配列及びタンパク質のアミノ酸配列レベルで高い相同性を持つ。(参照 36、43、46、50、51、58~61)

② ストレプトグラミン B (S_B) 耐性

グラム陽性菌の S_B 耐性遺伝子として、rRNA メチラーゼをコードする *erm* (*A*, *B*, *C* 等)、薬剤の環構造を不活化するラクナーゼをコードする *vgb* (*vgbA*, *B* 等) 及び薬剤排出ポンプをコードする *msr* (*msrA*, *B*, *C* 等) 遺伝子が分離されている (表 4)。

erm 遺伝子がコードする rRNA メチラーゼの発現による 23S rRNA のメチル化及び引き続き起こるリボソームの立体構造変化は、S_B 耐性の最も一般的な耐性機序である。*ermB* 遺伝子は腸球菌において詳しく解析され、プラスミドやトランスポゾン上にコードされることが報告されている。(参照 38、52、53、62~65)

vgb 遺伝子は、主にブドウ球菌属から分離されるが、*E. faecium* のヒト臨床分離株から *vgb* 遺伝子が検出されたことが報告されている。(参照 36、37、47、66)

msrA 及び *B* 遺伝子は主にブドウ球菌属、*msrC* 遺伝子は *E. faecium* から分離される。*E. faecium* における *msrC* 遺伝子は染色体性であると報告されている。(参照 37、67、68) *msrA* 及び *C* 遺伝子は遺伝子 (62%) 及びアミノ酸 (72%) レベルで高い相関性を持つ一方で、*msrA* 及び *B* 遺伝子がコードする排出ポンプが 14 及び 15 員環マクロライド系抗生物質並びに S_B 耐性を付与するのに対し、*msrC* 遺伝子がコードする排出ポンプはこれらに加え 16 員環マクロライド系抗生物質耐性も付与することが報告されている。(参照 37、50、67、69)

③ 耐性遺伝子の連関性

同一プラスミド上に S_A、S_B の耐性遺伝子が同時に存在する例が多く報告されている。

例えば腸球菌では、*vatD ermB*, *vatE ermB*, *vatB vgaB*, *ermB vatD vgbA*, *vata vatE vgbA*, *vatD vgbA*, *vgaD vatG* 遺伝子等の報告がある。(参照 37、46、47、52、65) ブドウ球菌においても、*ermA ermB*, *vga vgb vat ermA*, *vgbB vatC* 遺伝子等の報告がある。(参照 36、50、58~60、70)

これらの各遺伝子はそれぞれ遺伝子に独立した発現機構 (プロモーター) を保持しており、これらの複数の遺伝子が同一プラスミド上に存在する意義は解っていない。S_A 及び S_B の両薬剤に対して同時に耐性獲得した株に対しては、両薬剤及びそれぞれの薬剤の MIC がより上昇する (表 5)。(参照 37、49)

表 4 ストレプトグラミン系抗生物質耐性遺伝子及び耐性機序

薬剤	菌種、属	薬剤耐性遺伝子	所在 ^{*1}	耐性機序
ストレプトグラミン A ^{*2}	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>satA</i> (<i>vatD</i>)、 <i>satG</i> (<i>vatE</i>)、 <i>vatG</i> <i>vgaD</i>	プラスミド	アセチル化酵素 薬剤不活化
		<i>IsaE</i>	プラスミド	ABC トランスポター 薬剤排出
			プラスミド	ABC トランスポター 薬剤排出
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>satG</i> (<i>vatE</i>) <i>IsaA</i> <i>IsaE</i>	プラスミド 染色体	アセチル化酵素 薬剤不活化 ABC トランスポター 薬剤排出

			プラスミド	ーター
	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>vatA, vatB, vatC</i>	プラスミド	アセチル化酵素 薬剤不活化
		<i>vgaA, vgaB, vgaC</i>	プラスミド	ABC トランスポ 薬剤排出 ーター
		<i>lsaB, E</i>	プラスミド	ABC トランスポ 薬剤排出 ーター
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>lsaC</i>	プラスミド	ABC トランスポ 薬剤排出 ーター
ストレプトグラミン B*3	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>ermB</i>	プラスミド	rRNA メチラーゼ 標的部位修飾
		<i>msrC</i>	染色体	ABC トランスポ 薬剤排出 ーター
		<i>vgbA, vgbB</i>	プラスミド	ラクトナーゼ*4 薬剤不活化
	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>msrA, msrB</i>	プラスミド	ABC トランスポ 薬剤排出 ーター
		<i>vgbA, vgbB</i>	プラスミド	ラクトナーゼ*4 薬剤不活化
	<i>ermA, ermB, ermC</i>	プラスミド	rRNA メチラーゼ 標的部位修飾	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>ermB</i>	プラスミド	rRNA メチラーゼ 標的部位修飾	
	<i>rrl, rplD, rplV</i>	染色体	23s RNA 及びリ 標的部位変異 ボソームタンパク の変異	

*1 プラスミド性の遺伝子は染色体上にも存在し得る

*2 ストレプトグラミン A : バージニアマイシン M₁、プリスチナマイシン II、ダルホプリスチン等

*3 ストレプトグラミン B : バージニアマイシン S₁、プリスチナマイシン I、キヌプリスチン等

*4 ラクトナーゼ : ラクトン環加水分解酵素

表 5 ストレプトグラミン A、B 耐性遺伝子 (*satA*, *ermB*, *vgb*) を組み合わせて挿入したプラスミド pJIM2246 により形質転換した *E. faecium* HM1070 に対するキヌプリスチン及びダルホプリスチンの MIC

菌種及びプラスミド*1	MIC (µg/mL)			
	キヌプリスチン (S _B)		ダルホプリスチン (S _A)	キヌプリスチン・ダルホプリスチン*3
	誘導(-)	誘導(+)*2		
<i>E. faecium</i> HM1070				
pJIM2246	1	1	1	0.25
pJIM2246 Ω <i>ermB</i>	2	4	1	0.25 (1)
pJIM2246 Ω <i>satA</i>	1	1	8	0.5 (2)
pJIM2246 Ω <i>vgb</i>	8	8	1	1 (4)
pJIM2246 Ω (<i>ermB satA</i>)	2	4	32	2 (8)
pJIM2246 Ω (<i>ermB vgb</i>)	8	8	1	1 (4)
pJIM2246 Ω (<i>satA vgb</i>)	8	8	32	4 (16)
pJIM2246 Ω (<i>ermB satA vgb</i>)	16	16	32	4 (16)

参照 49 を一部改変

*1 : 野生株の *ermB*, *satA*, *vgb* 遺伝子による耐性を元に各耐性遺伝子を組み合わせたものを pJIM2246 にクローニングし宿主 (*E. faecium* HM1070) を形質転換した

*2：耐性誘導実験はキヌプリスチン 1 µg/mL を含む液体培地中で菌を一晩培養した

*3：()内の数値は MIC の倍数値である。ベクター (pJIM2246) を保有する宿主である *E. faecium* HM1070 (pJIM2246) に対するそれぞれの薬剤の MIC を倍数値として表した

5. 交差耐性の可能性及び医療分野における重要性

バージニアマイシンは、鶏及び豚に使用される飼料添加用の抗菌性物質であり、ヒトに使用されることはない。しかしながら、ヒト用医薬品には同系統（ストレプトグラミン系）の抗生物質がある。

キヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤（販売名：注射用シナシッド）は、ストレプトグラミン系注射用抗生物質で、有効成分であるキヌプリスチン及びダルホプリスチンを 30:70 の割合で含有する（表 6）。これらの有効成分は、それぞれ構造的にタイプ B (S_B) 及び A (S_A) に分類される。1999 年に米国及び英国で承認されたのを初めとして、ドイツ及びカナダ等で発売されている。日本においては、2002 年に「バンコマイシン耐性エンテロコッカス・フェシウムのうち本剤感受性菌による感染症（菌血症を含む）」を効能・効果として承認が得られている。（参照 6、71）また、ストレプトグラミン系抗生物質は、「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」（2006 年 4 月 13 日食品安全委員会決定(2013 年 3 月改正)）において、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、有効な代替薬があるが、その数がⅢにランク付けされる抗菌性物質よりもきわめて少ないという理由から、「Ⅱ：高度に重要」とランク付けされている。（参照 72）

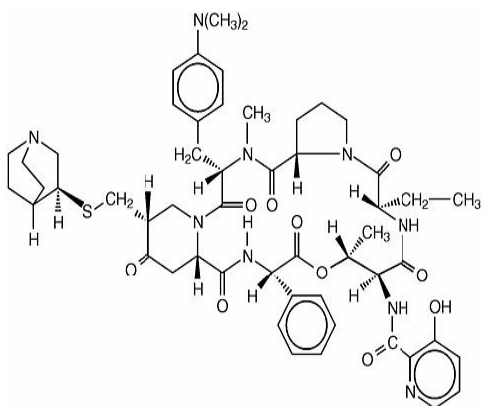
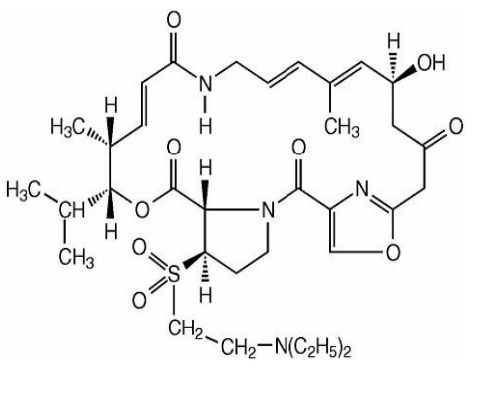
また、本剤は用法が静脈注射に限られること、代替医薬品の利用が可能であることから、実際の使用頻度は低いと推定される。（参照 73）

カナダでは 2008 年 5 月 28 日付けで承認が失効し、また米国では 2010 年 11 月 12 日付けでバンコマイシン耐性 *E. faecium* 感染症が当該製剤の適用内容から削除されている。（参照 74、75）

【Ⅲ. 4. (2)】で述べたとおり、ストレプトグラミン系抗生物質は S_A 及び S_B の成分で構成され、それぞれが抗菌活性を示す。S_A 又は S_B に対する耐性機序はそれぞれの成分に対する耐性を付与する。したがって、ストレプトグラミン系抗生物質であるバージニアマイシンとキヌプリスチン・ダルホプリスチンとの間には交差耐性が生じる。（参照 16、44～48、62、67）

なお、マクロライド系、リンコマイシン系及び S_B の各抗生物質は、メチル化が生じる領域の結合部位が部分的に一致しており、その結果としてマクロライド系、リンコマイシン系及び S_B の各抗生物質には交差耐性が生じる。（参照 40）

表6 ヒト用ストレプトグラミン系抗生物質の概要

一般名	キヌプリスチン(ストレプトグラミンB)	ダルホプリスチン(ストレプトグラミンA)
構造式		
分子式	C ₅₃ H ₆₇ N ₉ SO ₁₀ S	C ₃₄ H ₅₀ N ₄ O ₉ S
適応菌種	キヌプリスチン・ダルホプリスチンに感性的のバンコマイシン耐性 <i>E. faecium</i>	
適応症	各種感染症	
用法・用量	成人にはキヌプリスチン・ダルホプリスチンとして、1回 7.5 mg/kg、1日3回、60分かけて点滴静注する。	

6. ハザードの特定に係る検討

(1) 感染症病原菌について

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。）に基づく一類から五類までの感染症及び国立感染症研究所により主要な腸管感染症（食中毒を含む。）とされている感染症のうち、病原体が細菌であり、バージニアマイシンと交差耐性を示すストレプトグラミン系抗生物質、マクロライド系抗生物質又はリンコマイシン系抗生物質が第一選択薬又は推奨治療薬とされている感染症は、VRE感染症及びカンピロバクター感染症である。（参照6、71、76、77）

しかし、カンピロバクターはストレプトグラミン系抗生物質に自然耐性を示すと考えられるため、検討対象から除外すべきと考えられた。（参照25、26）

なお、[Ⅲ. 3. (3)]で述べたとおり、サルモネラ、エルシニアはストレプトグラミン系抗生物質に自然耐性を示す。

(2) 常在菌による感染症の検討

動物の腸管に常在している腸球菌等についても、家畜等にバージニアマイシンを使用した結果として耐性菌が選択される可能性はあるが、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。これらの菌の薬剤耐性菌が問題となるのは、食品を介してヒトの腸管等の細菌叢に定着し、間接的に医療環境を汚染した場合であると考えられる。疾病治療のため医療機関に入院し、手術など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、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。

これまでに、家畜及びヒトから、同一の薬剤耐性を獲得し、遺伝的性状の類似した腸内細菌が分離される等の報告が多数あることから、腸球菌等の常在菌についても、必要に応じてハザードとして特定する必要性について検討する必要がある。(参照 78～80)

腸球菌については、VRE 感染症が五類感染症とされている。ヒト用ストレプトグラミン系抗生物質であるキヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤の適応菌種は「キヌプリスチン・ダルホプリスチンに感性のバンコマイシン耐性エンテロコッカス・フェシウム」である。(参照 71) それ以外のヒトの腸球菌による日和見感染症においてストレプトグラミン系抗生物質は推奨薬とされていないが、これらの株においてストレプトグラミン系抗生物質に対する耐性因子を保有している株が存在する(表 4)。(参照 80) 腸球菌においては、[Ⅲ. 3. (2)]で述べたとおり、プラスミド性耐性遺伝子を保有し、腸球菌の耐性の多くはプラスミドによる獲得性である。*E. faecalis* は内因性の耐性因子を保有し *E. faecalis* に起因する感染症に対してヒト用ストレプトグラミン系抗生物質は使用されない。(参照 38) 一方で、腸球菌の中で臨床分離菌として分離されることの多い *E. faecalis* 及び *E. faecium* はグラム陽性菌において薬剤耐性の貯蔵庫として薬剤耐性を拡散させる役割をしていると考えられている。(参照 81)

大腸菌はストレプトグラミン系抗生物質に自然耐性を示すと考えられるため、検討対象から除外すべきと考えられた。

Clostridium difficile は、近年、院内感染の起因菌として、特にヒトで重篤な感染症を引き起こす株の広がりとなっている。(参照 82) 本菌は、ヒトや動物が保菌しており、鶏や豚の腸管等からも分離される。(参照 83～85) 国内の鶏における *C. difficile* に関する知見は得られなかったが、海外では幼雛で陽性率が高く(60%)、出荷時には低く(2～5%) なることが報告されている。(参照 85～87) 豚については、国内において子豚では多く分離される(77/120 (50.5%)) が出荷直前の豚ではほとんど分離されない(2/250 (0.8%)) と報告されている。(参照 88、89) 更に、同じ調査の中で子豚由来株とヒト由来株ではリポタイプが異なっていたと報告されている。(参照 88) また、ヒトにおける *C. difficile* 感染症においては、バンコマイシンが第一選択薬とされており、ストレプトグラミン系抗生物質は治療薬として推奨されていない。(参照 90)

7. ハザードの特定

ハザードとして特定される感染症の原因菌は、鶏及び豚に対する評価対象飼料添加物の使用により薬剤耐性菌が選択され、ヒトが食品を介してその薬剤耐性菌に感染し、それ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。

鶏や豚の腸内細菌叢には、鶏や豚の感染症の主な原因菌とならないものの、ヒトの健康を害する可能性のある VRE を保菌していることがある。また、*Clostridium* 属菌も鶏や豚の糞便から分離されることがある。このため、鶏及び豚にバージニアマイシンを使用した場合、生体内薬物動態等を考慮すると、それらの細菌にバージニアマイシ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。

鶏や豚で選択されたバージニアマイシン耐性腸球菌が食品を通じてヒトに伝播した場合、また、その耐性菌が何らかの経路で医療環境を汚染した場合に、感染症の原因菌となる可能性は否定できない。ヒト用ストレプトグラミン系抗生物質であるキヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤は「バンコマイシン耐性エンテロコッカス・フェシウム感染症」を適応症とし、VRE 感染症の推奨薬の 1 つとされている。VRE 以外の腸球菌については、ストレプトグラミン系抗生物質は推奨薬とされていないが、ストレプトグラミン系抗生物質に対する耐性因子を保有している株もあり、耐性因子を VRE に伝達する可能性がある。

C. difficile は院内感染の起因菌として、特にヒトで重篤な感染症を引き起こす株の広がりや問題となっているが、国内では出荷直前の豚ではほとんど分離されず、また、ストレプトグラミン系抗生物質は治療薬として推奨されていない。

したがって、リスク評価すべきハザードとして、鶏及び豚に対してバージニアマイシンを使用することにより薬剤耐性が選択され、鶏及び豚由来の畜産食品を介してヒトに伝播し、感染症の原因となる可能性のある薬剤耐性腸球菌を特定した。

IV. 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、評価対象飼料添加物が鶏及び豚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、評価対象飼料添加物を鶏及び豚に使用した時点から、鶏及び豚又は鶏及び豚から生産された畜産食品が農場を出る時点までとする。

なお、ストレプトグラミン系のヒト用医薬品は *E. faecium* のみを適応対象としていること及び *E. faecalis* はキヌプリスチン・ダルホプリスチンに通常耐性を示すことから (参照 53)、以下は、主に *E. faecium* についての報告を記載する。

1. 畜産現場におけるバージニアマイシン耐性の状況

(1) 健康家畜由来細菌の抗菌性物質感受性調査

1999～2011 年度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もとに行った家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査の結果のうち鶏及び豚由来 *E. faecium* の検査菌株数及び MIC は表 7 のとおりであった。(参照 91) MIC の分布は明確な二峰性を示さなかったためブレイクポイントは設定されず、従って耐性率は算出されていない。なお、国内における鶏由来株の調査ではブレイクポイントを 6.25 µg/mL としていることから、MIC が 6.25 µg/mL 以上の値を示す菌を低感受性菌とした場合、これらが 0～21% 検出されている。しかし、MIC₅₀ 及び MIC₉₀ の値はほとんど変化しておらず、低感受性菌が増加する傾向にはない。(参照 35) 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いない。

表7 鶏及び豚由来 *E. faecium* のバージニアマイシンに対する感受性試験結果
(1999～2014年)

年度	肉用鶏					卵用鶏				
	検査菌株数	うち MIC6.25 µg/mL 以上を示した菌株数(%)	MIC の範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	検査菌株数	うち MIC6.25 µg/mL 以上を示した菌株数(%)	MIC の範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀
1999	111	23 (21)	0.39 -50	1.56	12.5	-	-	-	-	-
2000	58	5 (9)	0.39 -6.25	0.78	3.13	57	1 (2)	0.2 -6.25	0.78	3.13
2001	26	0 (0)	0.25 -4	1	2	32	0 (0)	0.125 -32	1	2
2002	38	1 (3)	0.25 -16	1	4	35	0 (0)	0.125 -4	1	4
2003	59	8 (14)	0.25 -32	1	8	39	4 (10)	0.25 -8	1	4
2004	20	1 (5)	0.25 -16	2	4	19	4 (21)	0.5-8	2	8
2005	34	1 (3)	0.25 -32	1	4	32	2 (6)	0.25-8	2	4
2006	26	3 (12)	0.25 -16	1	8	19	1 (5)	0.25 -32	1	2
2007	19	2 (7)	0.125 -16	0.5	8	31	0 (0)	0.125 -4	1	2
2008	63	3 (5)	0.13 -32	1	4	33	0 (0)	0.25-4	1	2
2009	31	4 (13)	0.5 -16	1	16	23	0 (0)	0.25-4	1	2
2010	40	0 (0)	0.13 -4	1	1	30	0 (0)	0.25-4	1	2
2011	49	3 (6)	0.25 -32	1	2	42	0 (0)	0.5-2	2	2
2012	84	2 (2)	0.25 -8	1	2	64	0 (0)	0.5-4	1	2
2013	46	1 (2)	0.5-8	1	2	22	0 (0)	0.25 -2	1	1
2014	107	3 (3)	0.25 -32	1	2	69	0 (0)	0.25 -2	1	2
合計	811	69 (9)	0.125 -50			547	12 (2)	0.125 -32		

年度	豚				
	検査菌株数	うち MIC6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を示した菌株数(%)	MIC の範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀
1999	110	13 (12)	0.39 - 50	1.56	6.25
2000	62	1 (2)	0.2 - 6.25	0.78	3.13
2001	31	2 (6)	0.25-8	1	2
2002	21	0 (0)	0.25-1	0.5	1
2003	17	1 (6)	0.5-8	1	4
2004	21	5 (24)	0.5-8	2	8
2005	41	0 (0)	0.5-4	2	4
2006	21	3 (14)	0.25 - 64	1	8
2007	19	0 (0)	0.125 - 4	1	4
2008	35	2 (6)	0.25 - 32	1	2
2009	21	1 (5)	0.25 - 16	1	2
2010	33	3 (9)	0.5-16	1	2
2011	30	2 (7)	0.5-8	2	4
2012	33	0 (0)	0.25-4	2	2
2013	18	0 (0)	0.5-4	2	2
2014	47	0 (0)	0.5-4	2	2
合計	560	33 (6)	0.125 - 64		

(参考) 牛については、1999～2011年に312株を分離、うちMIC 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を示した菌株数(%)は9株(2%)、MICの範囲は0.125～64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。なお、2006年に分離された2株でMICが64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

(2) 抗菌性飼料添加物を使用した農場における薬剤耐性の状況

2003年から2004年にかけて、抗菌性飼料添加物を使用している9農場において、肉用鶏、豚及び管理者の糞便から *E. faecalis* 及び *E. faecium* を分離し、抗菌性物質感受性及び遺伝子型の異同に関する調査が行われた。(参照 92) ただし、これらの農場ではバージニアマイシンは使われていなかった。

この報告書においては、*E. faecalis* 及び *E. faecium* をまとめたMICの分布が明確な二峰性を示していないためバージニアマイシンのブレイクポイントが設定できないとしているが、肉用鶏由来 *E. faecium* (87株) のみで解析すると、MICの分布は二峰性を示していた(MICの範囲は0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～64 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。ブレイクポイントを16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした場合、耐性率は20.7%となった。

(3) 家畜分野におけるバージニアマイシン耐性に関するその他の知見

家畜由来のストレプトグラミン耐性 *E. faecium* に関する欧米の報告書の成績を表8に要約する。ストレプトグラミン耐性 *E. faecium* の検出率は鶏で最高 98%、豚で最高 85%であった。フィンランド、ノルウェー、スウェーデン及びデンマークでは、1990年代にバージニアマイシンの使用が禁止又は制限されている。

表8 海外における耐性菌の出現状況

動物	国名 (報告年)	抗生物質	分離 菌株 数	耐性菌 比率(%)	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	ブレイク ポイント ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	参照文献
鶏	デンマーク (1997)	Vir	211	69.5	0.5->128	4	参照 93
	フィンランド (1996)		52	16.7	<0.25-64	4	
	ノルウェー (1995-1997)		55	0	<0.25-2	4	
	デンマーク(1998)	QD	122	79	0.5-32	4	参照 94
		Vir		75	1-128	4	
	デンマーク(2002)	QD	102	28	0.5-32	4	参照 95
	スウェーデン(2000)	Vir	151	8	0.5-32	16	参照 96
	スウェーデン(2001)	Vir	204	11			参照 97
	スウェーデン(2002)	Vir	189	11			参照 98
	米国(2001)	QD	41	51	—	4	参照 99
米国(2003)	QD	57	98	—	4	参照 41、100	
豚	スペイン (1998-1999)	QD	124	71	—	4	参照 101
	スウェーデン(2000)		18	6	—	4	参照 101
	デンマーク(1998)	QD	88	60	0.25-16	4	参照 94
		Vir		85	1-128	4	参照 94
	スウェーデン(2000)	Vir	48	2	0.5-16	16	参照 96
	スウェーデン(2001)	Vir	106	3		16	参照 97
	デンマーク(2002)	QD	194	13	0.5- 8	4	参照 95
	ベルギー (1998-1999)	Vir	33	*1	0.5-32	—*1	参照 102
米国(2003)	QD	269	22	—	4	参照 41、100	

QD : キヌプリスチン・ダルホプリスチンの混剤

Vir : バージニアマイシン

— : 記載なし

*1 : ブレイクポイントが設定されていないため耐性率は算出されていない。

2. バージニアマイシンに対する薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子の出現並びに選択の可能性

(1) 抗菌性飼料添加物の投与による薬剤耐性菌出現に関する調査

① 抗菌性飼料添加物の長期連用による薬剤耐性菌出現に関する調査

子豚にバージニアマイシンを10週間混餌投与(0、10及び20g(力価)/t)し、添加区及び無添加区とも試験開始前、試験開始後1、3(無添加区のみ)、5及び10週後に新鮮糞便を採取し、バージニアマイシン耐性 *E. faecalis* 及び *E. faecium* の有無を調査した。

その結果、無添加区及び添加区とも、バージニアマイシン耐性 *E. faecium* は検出さ

れなかった。(参照 92)

② 肉用鶏における薬剤耐性菌の発現及び消失

ヒナにバージニアマイシンを 42 日間混餌投与 (5 及び 15 mg/kg 力価) し、混餌投与前、投与中 3、6、9、14、21、28、42 日及び投与終了後 3、6、9、14 日に糞便を採取し、*E. faecium* 数及び分離菌に対する MIC を測定した。バージニアマイシン投与群では、投与中、腸管内の *E. faecium* は排除されたが、15 mg 投与群で投与終了後 3 日目より *E. faecium* が再び検出されはじめ、休薬後 14 日目には非投与群と有意差のないレベルまで菌数が回復した。この時点での *E. faecium* のバージニアマイシンに対する MIC は 4 µg/mL 以下であった。試験期間中、バージニアマイシン耐性 *E. faecium* は投与群及び非投与群いずれにおいても検出されなかった。

また、供試ヒナのお腹内に、バージニアマイシン耐性 *E. faecium* APB-7 株 (MIC 64 µg/mL) を 8.5×10^8 個/mL 含む菌液を、胃ゾンデを用いて単回強制経口投与 (1.0 mL/羽) したのち、バージニアマイシンを 2 週間混餌投与 (5 mg 力価) し、投与後 0、3、6、9、14 日及び投与終了後 3、6、9、14 日後に糞便を採取し、*E. faecium* 及び *E. faecalis* の菌数を計測した。バージニアマイシン耐性 *E. faecium* の菌数は耐性菌投与後 0、3、6、9、14 日で 0、 $10^{6.6}$ 、 $10^{6.5}$ 、 $10^{4.7}$ 、 $10^{4.7}$ CFU/g、休薬後 3 日目では 10^3 CFU/g だった。投与終了後 14 日目に分離された *E. faecium* 中、耐性菌数の割合は 12% だった。(参照 103)

米国において肉用鶏のヒナに対して実施された混餌投与試験では、バージニアマイシンを混餌投与した群の排泄物がある飼養環境ではバージニアマイシンの混餌投与により速やかに耐性が発現すること及び肉用鶏の腸管におけるストレプトグラミン耐性の維持には継続的なバージニアマイシンの暴露が必要であることが報告されている。なお、同試験で分離されたストレプトグラミン耐性株の薬剤耐性遺伝子の分析では、ストレプトグラミン高度耐性 (MIC : ≥ 16 µg/mL) は *vat* 遺伝子と関連していたことが報告されている。(参照 68)

(2) 薬剤耐性決定因子の出現並びに選択の可能性

[Ⅲ. 4.] で述べたとおり、腸球菌のストレプトグラミン系抗生物質に対する耐性は、①薬剤の標的部位の修飾、②薬剤不活化作用及び③薬剤の排出である。国内の鶏及び豚由来腸球菌のストレプトグラミン低感受性菌の耐性遺伝子については検査されていない。*E. faecalis* は薬剤排出ポンプをコードする *IsaA* 遺伝子を染色体に保有することにより内因性の耐性を示すとされている。(参照 7、53) *E. faecalis* においては、染色体又はプラスミド上に *vat*、*vga*、*Isa*、*erm*、*msr*、*vgb* 遺伝子等の S_A 及び S_B それぞれに対する薬剤耐性遺伝子が報告されている。

また、[Ⅲ. 4. (2) ②] で述べたとおり、各遺伝子の連関性は解っていないが、S_A 及び S_B の両薬剤に対して同時に耐性獲得したときは、両薬剤及びそれぞれの薬剤に対する MIC が上昇する (表 5)。(参照 37、49)

(3) 薬剤耐性決定因子の伝達性の検討

グラム陽性菌の接合伝達性プラスミドは、腸球菌において詳しく解析されている。腸球菌のプラスミドは大きく二つのグループに分類される。1つは液体培地中での接合伝達性プラスミド、他の1つは固形培地上の接合伝達性プラスミドである。

最初のグループは、液体培地中で供与菌と受容菌が接合し、高精度にプラスミドが受容菌に伝達するものである。このグループには二種類のプラスミドが発見されている。1つは *E. faecalis* で発見されたフェロモン反応性プラスミド⁷で、これは受容菌の生産するフェロモン⁸にプラスミドを含む供与菌が反応し、供与菌の表面に擬集物質が産生され、供与菌と受容菌が擬集塊を形成しプラスミドが高頻度 ($\sim 10^{-2}$ /供与菌) に接合伝達する。(参照 38、39、104、105) このプラスミドは宿主域が *E. faecalis* に限定されている。他の1つは、*E. faecium* で発見された pMG1 (65kb, Gm⁹) 型プラスミドで、この型のプラスミドはフェロモンと関係なく液体培地中で供与菌と受容菌が接合擬集塊を形成しプラスミドが高頻度 ($\sim 10^{-4}$ /供与菌) で伝達する。(参照 38、39、106) この型のプラスミドは *E. faecium* 又は *E. faecalis* 間のみならず *E. faecium* から *E. faecalis* 等各種の腸球菌間で伝達可能で宿主域が広い。(参照 39、106)

他のグループのプラスミドは液体培地中では接合伝達をしないが、実験的には固形培地上でのフィルターメイティングによる供与菌と受容菌の接合によりプラスミドが接合伝達する。伝達頻度は一般的に低い¹⁰ ($< 10^{-5}$ /供与菌)。このグループのプラスミドは各種腸球菌間又は腸球菌からブドウ球菌にも接合伝達可能で宿主域は広い。(参照 39)

いずれのグループのプラスミドも薬剤耐性を拡散させる役割をしていると考えられる。特に後者のグループのプラスミドはプラスミド上の薬剤耐性遺伝子を各種腸球菌間のみならず腸球菌からブドウ球菌等へ薬剤耐性を伝達可能である。例えば *vanA* 型 VRE から MRSA への *vanA* 遺伝子伝達によるバンコマイシン耐性 MRSA (VRSA) の出現はこの型のプラスミド上の *vanA* 遺伝子が腸球菌からブドウ球菌に伝達したものである。腸球菌の中で臨床分離菌として特異的な *E. faecalis* 及び *E. faecium* はグラム陽性菌において薬剤耐性の貯蔵庫として考えられている。(参照 38、39)

家畜及び家禽、その飼育管理者並びに農場付近の河川から分離された薬剤耐性 *E. faecalis* 及び *E. faecium* の薬剤耐性遺伝子が、同属同種の菌株に伝達されるかどうかを検討した。

バージニアマイシン耐性因子を保有すると思われる *E. faecalis* を供与菌、*E. faecalis* RFP-R1 を受容菌とした伝達試験では、バージニアマイシン耐性 33 株のうち 17 株 (52%) で伝達が認められたが、いずれの菌株においてもその伝達頻度は 10^{-7} から 10^{-8} であった。また、バージニアマイシン耐性因子を保有すると思われる *E. faecium* から *E. faecium* RFP-R1 への伝達は、11 株中 1 株 (9%) で認められたが、

⁷ 代表的なプラスミドとして pAD1 (59.3kb Hly/Vac)がある。

⁸ 各々のプラスミドに特異的な染色体性遺伝子によるアミノ酸 7~8 個のフェロモン

⁹ ゲンタマイシン耐性

¹⁰ 固形培地上で接合伝達するプラスミドは生体中では腸管等の粘膜上皮細胞表面において接合可能と考えられる。

その伝達頻度は 4×10^{-8} だった。(参照 92)

in vitro において *E. faecium* から分離された *satA* (*vatD*)、*ermB* 遺伝子が *E. faecium* 間で、また *ermB* 遺伝子が *E. faecalis* 間で伝達したことが報告されている(伝達率不明)。(参照 52、107、108) また、*in vivo* (鶏、ラット) において、*vatD* や *ermB* 遺伝子等が水平伝達したことが報告されている。(参照 109、110)

(4) 薬剤耐性決定因子に関する情報

国内の家畜等における薬剤耐性遺伝子の保有状況については検査されていない。

E. faecium のストレプトグラミン耐性遺伝子保有率に関する報告書の概要を表 9 にまとめた。*vatD* 及び *vatE* 遺伝子の分布は地域によって異なっている。なお、*ermB* 遺伝子の保有は、マクロライド及びリンコマイシン耐性と関連する可能性がある。

表 9 ストレプトグラミン耐性 *E. faecium* 分離株における薬剤耐性遺伝子の保有率

検体	国名	分離耐性菌数	耐性菌の耐性遺伝子保有率(%)					参照
			<i>vatD</i>	<i>vatE</i>	<i>ermB</i>	<i>vatA</i>	<i>vgaA</i>	
鶏	米国	56	0	25	—	—	0	100
	オランダ	22	18/14	86	—	0	0	47、111
	デンマーク	140	10	89	84	—	0	112
	デンマーク	146	11	72	—	—	—	93
	フィンランド	9	0	100	—	—	—	93
	デンマーク	48	35	—	—	0	0	107
豚	デンマーク	41	12	—	—	0	0	107
	デンマーク	28	7	7	86	—	0	112
	オランダ	5	20/60	40	—	0	0	47、111
	デンマーク	27	7	7	—	—	—	93
	フィンランド	1	0	0	—	—	—	93
	デンマーク	46	2	4	—	—	—	101
	スペイン	88	6	6	—	—	—	101
鶏肉	米国	59	0	0	—	—	—	100
	米国	27	0	44	—	—	—	113
豚肉	ドイツ	20	35	65	—	—	—	45
	ドイツ	1	0	100	—	—	—	45
ヒト	米国	27	0	3.7	—	—	0	113
	スペイン	12	25	0	—	—	—	114
	オランダ	5	80	20	—	0	0	47、111
	オランダ	19	52/47	53	—	5	5	47、111
	英国/EU	4	0	100	≥75	0	0	48
	ドイツ	36	64	25	—	—	—	45

(5) バージニアマイシンの耐性選択圧

バージニアマイシンは、*E. faecium* に対して抗菌活性を有し、家畜等にバージニアマイシンを使用した場合に耐性遺伝子を持った *E. faecium* を選択する可能性がある。また、バージニアマイシンはバンコマイシン耐性 *E. faecium* 感染症で推奨薬とされているストレプトグラミン系抗生物質と交差耐性を示すことから、バージニアマイシン

の耐性選択圧の影響を受けるヒトの健康に影響を与える可能性のある菌は *E. faecium* である。

E. faecium について、JVARM の調査結果では、エリスロマイシンのブレイクポイントを 128 µg/mL、リンコマイシンのブレイクポイントを 128 µg/mL とした場合、1999 年から 2011 年の間に調査されたバージニアマイシン低感受性 *E. faecium* (バージニアマイシンの MIC が 6.25 あるいは 8 µg/mL 以上の菌株) においては、そのうち 51.2% がエリスロマイシン耐性であり、59.0% がリンコマイシン耐性であった。(参照 91)

日本の鶏及び豚由来株では、バージニアマイシン低感受性 *E. faecium* の割合は、1999 年以降 0~24% で推移しているが、2007 年以降低いレベルとなっている。バージニアマイシンの検定合格数量は 1999 年以降減少しているが、この減少が耐性率に影響している可能性が考えられる。

1999 年から 2011 年の間に調査された 1,886 株の *E. faecium* 分離株の内 3 株が最大の MIC (64 µg/mL) を示した。このうち 2 株はバージニアマイシンが飼料添加物として使用されていない牛由来の菌株であり、ほかの 1 株は豚由来であった (いずれも 2006 年度調査にて分離)。(参照 91)

EU においては、1999 年にバージニアマイシンが使用禁止とされている。DANMAP によるデンマークの調査では、肉用鶏由来 *E. faecium* のストレプトグラミン系抗生物質に対する耐性率は、1998 年は 60% であったが、1999 年には 39% に減少した。その後も徐々に減少し、2006 年以降 10% 以下で推移している。豚由来 *E. faecium* のストレプトグラミン系抗生物質に対する耐性率についても、1998 年は 56% であったが、1999 年には 8% に減少した。2000 年には 23% に増加したが、その後徐々に減少し、2006 年以降 5% 以下で推移している。(参照 95) DANMAP2012 においてバージニアマイシンの使用禁止から 10 年以上経過しても豚由来 *E. faecium* からバージニアマイシン耐性株が検出され、また 2012 年の耐性率が 2011 年から増加したことが報告されている。(参照 115)

V. 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、鶏及び豚又は鶏及び豚から生産された畜産食品が農場から出荷され、輸送、と殺及び加工等され、ヒトがこれらの畜産食品を入手し、摂取するまでとする。

1. 鶏及び豚由来畜産食品の 1 人当たりの年間消費量

鶏及び豚由来食品の需給の推移は表 10 及び表 11 のとおりであり、ほぼ横ばいで推移している。(参照 116)

表 10 鶏由来食品の年間 1 人当たり消費量 (純食料ベース)

	2006 年	2007 年	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	2012 年

鶏肉消費量 (kg)	10.7	10.7	10.8	11.0	11.3	11.4	12.0
鶏肉自給率 (%)	69	69	70	70	68	66	66
鶏卵消費量 (kg)	16.7	17.1	16.7	16.5	16.5	16.7	16.7
鶏卵自給率 (%)	95	96	96	96	96	95	95

表 11 豚由来食品の年間 1 人当たり消費量 (純食料ベース)

	2006 年	2007 年	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	2012 年
豚肉消費量 (kg)	11.5	11.5	11.7	11.5	11.7	11.9	11.8
豚肉自給率 (%)	53	52	53	55	52	52	52

2. ハザードとなりうる当該細菌の生物学的特性

(1) 抵抗性、生残性及び増殖性

腸球菌は一般に、10℃から 45℃の温度条件下で増殖し、6.5%食塩存在下でも増殖することが知られている。比較的乾燥状態に強い。塩化ベンザルコニウムあるいは塩酸アルキルジアミノエチルグリシンなどの低水準消毒薬、アルコール、次亜塩素酸ナトリウム、熱水などによる消毒が有効である。(参照 117、118)

(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

一般に、腸球菌は、土壌、食品、水、植物、鳥類、昆虫類から分離される。ヒト及び動物の腸管内に常在している。(参照 119~121)

(3) 動物由来の腸球菌がヒトに定着する可能性

鶏及び豚由来腸球菌とヒト由来腸球菌との関連について、ヒト、鶏及び豚由来 *E. faecium* において同一のストレプトグラミン耐性遺伝子 (*vatD* 遺伝子) が検出されたとの報告がある。(参照 47) 一方で、1998~1999 年の米国における調査では、同時期に同一地域において検出されたストレプトグラミン耐性 *E. faecium* の出現率¹¹は鶏肉由来株 (選択培地: 55%、非選択培地 93 %) と病院由来株 (選択培地: 0%、非選択培地 5%) とで大きく異なっていたとの報告がある。(参照 122)

また、院内感染の発生の原因となった *E. faecium* の主な遺伝系統は、家畜から分離された腸球菌の系統とは異なっていたとの報告がある。(参照 123~126)

E. faecium においては、抗菌剤が使用される医療環境に高度に適応・進化し、アンピシリン及びフルオロキノロン高度耐性並びに関連遺伝子を保持した遺伝系統 *E. faecium* (clonal complex (CC) 17) が、病院内アウトブレイクの原因菌とされている。CC17 は健常者、家畜及びアウトブレイクではない入院患者感染症から分離される菌の系統とも異なるものである。(参照 123、125、127、128)

一方、*E. faecalis* においては、臨床分離株が主として属する遺伝系統 (MLST 型)

¹¹ 鶏肉又は病院由来サンプルにおける分離株数 (キヌプリスチン・ダルホプリスチン耐性数/*E. faecium* 陽性数/腸球菌陽性数/検体数): 鶏肉由来株 (選択培地: 11/20/351/407、非選択培地: 237/254/335/407、病院由来株 (選択培地: 0/46/76/334、非選択培地: 3/58/237/334)

が複数存在する。それらの遺伝系統の株は健常者、家畜等からも分離されることがある。また、*E. faecium* の CC17 におけるアンピシリン及びフルオロキノロン高度耐性のような、特定の遺伝系統に特有の薬剤耐性は見られないようである。(参照 127、129～134)

(4) ヒトの常在菌又は病原菌に薬剤耐性決定因子が伝達される可能性

家畜及びヒト由来の VRE の Tn1546*vanA* の構造の同一性や薬剤耐性プラスミド構造の同一性から、家畜の薬剤耐性 *E. faecium* が一定期間ヒトの腸管に定着し薬剤耐性菌(薬剤耐性決定因子)がヒトの *E. faecium* に伝達されることが推測されている。以下の報告は、このような推測を直接証明したものである。

① 6 人のボランティアに 10^7 CFU の豚由来ストレプトグラミン耐性 *E. faecium* (*vatD* 遺伝子を保有) を経口的に投与した。この細菌は投与後約 2 週間ヒトの大便から検出されたが、35 日目には検出されなかった。(参照 135)

② ヒト由来の *E. faecium* を含む健康食品をヒトに経口的に投与した実験では、投与した細菌は投与後 10 日目に大便中から検出されたが、31 日目には検出されなかった。(参照 136)

また、バンコマイシンやストレプトグラミン系抗生物質に対する耐性が、*in vitro* 又は *in vivo* において由来の異なる *E. faecium* 間で伝達可能であることが示されている。

③ *in vitro* の系で *vatD* 遺伝子が *E. faecium* で伝達されることが示された。(参照 107)

④ *vatD* 遺伝子がノトバイオート・ラットの腸管内で *E. faecium* 間で水平的に伝達されることが示された。(参照 109)

⑤ ノトバイオート・マウスの腸管内で、豚由来の *E. faecium* からヒトの *E. faecium* に、*vanA* 及び *ermB* 遺伝子が伝達されることが示された。(参照 137)

⑥ 健常人腸管で、鶏由来の *E. faecium* (*vanA*、*ermB*、*vatE* 遺伝子を保有) からヒトの *E. faecium* に薬剤耐性遺伝子が伝達されることが示された。(参照 138)

更に、重症腸球菌感染症に先行し *E. faecium* CC17 が高度(高濃度)に定着(colonization)することが示唆されている。このことは、マウスを用いた伝達試験においても認められている。更に、腸球菌に対して抗菌活性の低い抗菌薬の投与により、CC17 の高度の定着が促進されることが示されている。(参照 139)

これらの報告は、ヒトの腸管において家畜由来又は外来性の薬剤耐性腸球菌が一過性に定着し、その間に宿主に定着している腸球菌に薬剤耐性遺伝子を伝達することを示し、更に医療における腸球菌に対して抗菌活性の低い薬剤の投与は、薬剤耐性菌の増殖・定着を促進することを示している。(参照 139)

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

バージニアマイシンは、鶏及び豚に飼料添加物として使用される。家畜等が農場から出荷され、ヒトに摂取されるまでの経路の一例を表 12 に、とさつ・加工から調理等までの詳細な過程の一例を表 13 に示した。また、鶏卵の主な処理過程の一例を表 14 に示

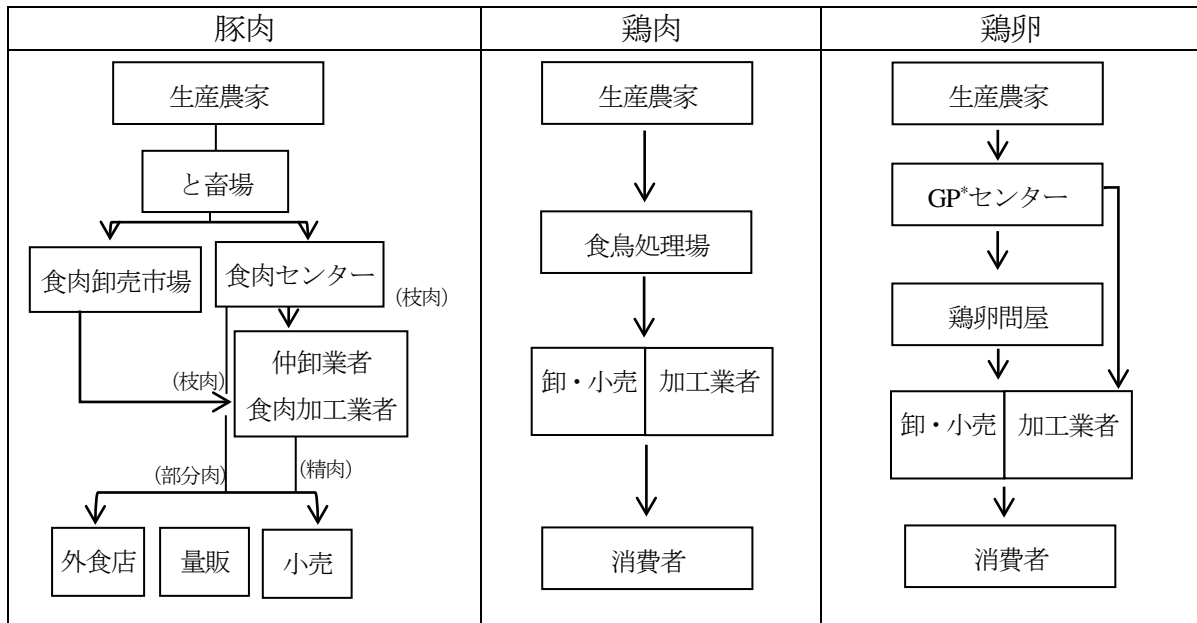
した。

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、家畜の伝染病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）（http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/katiku_yobo/k_haccp/）により、汚染防止対策が講じられている。

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。）、と畜場ではと畜場法施行規則（昭和 28 年厚生省令第 44 号）において、HACCP の考え方が導入された食鳥処理場又はと畜場の衛生管理基準及び構造設備基準が定められており、食鳥又は食肉処理段階における微生物汚染防止が図られている。

また、平成 26 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 140）

表 12 鶏、豚及び鶏卵が農場から出荷され摂取されるまでの経路（一例）



*：グレーディング・アンド・パッキングセンター

表 13 鶏及び豚の可食部位の主な処理過程（一例）

種類	豚	鶏
と畜段階	受付・搬入（と畜場） ↓ 生体検査 ↓ とさつ（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 ↓ 冷蔵保管	搬入（食鳥処理場） ↓ とさつ（放血） ↓ 脱羽 ↓ 中抜き（内臓摘出） ↓ 洗浄 ↓ 冷却 ↓ 解体 ↓ 分割 ↓ 包装 冷蔵保管
部分肉加工段階	↓ 出荷（枝肉） ↓ 仕入（部分肉センター） ↓ カット・整形・袋詰・包装 ↓ 販売業者	↓ 出荷（食鳥処理場） ↓ 販売業者
販売・調理等	↓ 販売業者（冷蔵保存等） ↓ 消費者（冷蔵保存等） ↓ 調理	↓ 販売業者（冷蔵保存等） ↓ 消費者（冷蔵保存等） ↓ 調理等

表 14 鶏卵の主な処理過程（一例）

処理過程	内容
加工・保存	搬入（GPセンター） ↓ 洗卵・消毒、検品 ↓ 選別 ↓ 包装 ↓ 出荷へ
輸送・販売	出荷（GPセンター） ↓ 鶏卵問屋・量販店等

調理等	販売業者（常温） ↓ 消費者（冷蔵保存）
-----	----------------------------

4. ハザードとなりうる当該細菌による鶏及び豚由来食品の汚染

(1) 鶏及び豚由来食品がハザードとなりうる当該細菌に汚染される可能性

1999年から2011年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で行った家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査において、一般腸球菌（*E. faecalis*、*E. faecium*等）の検出を行っているが、検出率は44.5～92.6%である。（参照91）

腸球菌は動物の腸管の常在細菌である。食肉等の可食部位が食鳥処理及び食肉処理の過程で腸内容物に汚染されることにより本菌に汚染される可能性がある。ハザードとなりうる当該細菌は、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、食肉及び内臓が十分に洗浄されずに出荷されることにより、飲食店の調理施設や家庭等に汚染された食肉が持ち込まれる可能性が生じる。

腸球菌は大腸菌より加熱や冷凍に対する耐性が強いが、調理の際に十分に加熱することにより死滅する。

(2) ハザードとなりうる当該細菌による市販の鶏及び豚由来食品の汚染状況

2006、2007及び2014年に、全国規模で市販の鶏肉及び豚肉の細菌による汚染状況が調査されている（表15）。腸球菌の検出率は鶏肉で60.2%、豚肉で8.4～15.0%であった。また、バンコマイシン3 µg/mLを添加した培地での腸球菌の選択では、鶏肉で8.2%、豚肉で1.3～1.5%の検体から腸球菌が分離された。ブレイクポイントを32 µg/mLとした場合のバンコマイシン耐性腸球菌は、2006年は鶏肉由来2株（3.3%）が分離されたが、2007年は分離されなかった。（参照141～143）

表15 鶏肉及び豚肉からの腸球菌の検出状況

年度	対象食品	対象菌	検体数	腸球菌検出数 (%)
2006	鶏肉	腸球菌	304	183 (60.2)
		バンコマイシン 3 µg/mL で選択された腸球菌	304	25 (8.2)
	豚肉	腸球菌	203	17 (8.4)
		バンコマイシン 3 µg/mL で選択された腸球菌	203	3 (1.5)
2007	豚肉	腸球菌	300	45 (15.0)
		バンコマイシン 3 µg/mL で選択された腸球菌	300	4 (1.3)
2014	豚ひき肉	腸球菌	1,149	880 (76.6)

また、東京都内で2005年から2006年に国産及び輸入食肉について行われた検査で得られた腸球菌の検出状況を表16に示す。

E. faecalis は、国産及び輸入の豚肉及び鶏肉から高率に検出されている。*E. faecium* は豚肉、鶏肉において国産輸入肉ともに検出はされているが、*E. faecalis* に比較して検出率は低かった。(参照 144)

表 16 国産及び輸入食肉からの腸球菌の検出状況

対象食品		検体数	<i>E. faecalis</i> 検出数(%)	<i>E. faecium</i> 検出数(%)
国産	豚肉	84	73 (86.9)	10 (11.9)
	鶏肉	63	35 (55.6)	3 (4.8)
輸入	豚肉	11	8 (72.7)	2 (18.1)
	鶏肉	16	14 (87.5)	1 (6.3)

(3) 市販の鶏肉及び豚肉から分離した腸球菌のバージニアマイシン耐性の状況

市販されている国産の豚肉及び鶏肉から検出した細菌の薬剤感受性に関する報告の中から腸球菌及びバージニアマイシンの部分を抜粋して表 17 に示す。(参照 141～143)

表 17 食品由来の *E. faecium* のバージニアマイシンに対する感受性

年度	対象食品	試験菌株数	MIC の範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)	ブレイクポイント ($\mu\text{g/mL}$)	耐性菌株数 (耐性率(%))
2006	豚肉	9	0.78-6.25	0.78	6.25	3.13	3 (33.3)
	鶏肉	48	0.39-25	6.25	6.25	3.13	37 (77.1)
2007	豚肉	3	1.56	1.56	1.56	*	*
2014	豚ひき肉	33	0.25～16	8	8	*	*

* : ブレイクポイントが設定されていないため耐性率は算出されていない。

MIC に二峰性の分布が見られたため 2 つのピークの間値 ($3.13 \mu\text{g/mL}$) を微生物学的ブレイクポイントとすると、鶏由来株で 77.1% という高い耐性率が認められた。しかし、本調査で得られたバージニアマイシン耐性菌の薬剤耐性遺伝子については検査されていない。

(4) 食品を介してヒトに伝達された場合に腸球菌が医療環境等を汚染する可能性について

食品を介してヒトに伝達された腸球菌がヒト腸内に定着し、直接医療環境を汚染したという知見は現在のところない。しかし、その可能性は否定できず、もし腸球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。VRE の感染源は患者の便や尿路感染症の患者の尿であることが多く、便や尿から VRE が繰り返し排泄される状態が生じると、それにより医療環

境が広範囲に汚染される可能性が高まる。(参照 145、146)

VI. 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得るヒトの健康上の影響及びストレプトグラミン系抗生物質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腸球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、院内感染症である。

(1) 発生原因及び発生状況

腸球菌は菌血症とともに心内膜炎、尿路感染症、腹腔内感染症、蜂窩織炎及び創傷感染症を引き起こす。

本来、腸球菌はヒト及び動物の腸内に常在する細菌であり病原性は低い。事実、国内の多くの分離株が無症状者の便や尿などから分離されたものである。また VRE 保菌者が入院患者として存在した場合、無症状の保菌者となり、長期間にわたって VRE を排出し続け、周囲の患者に VRE を感染させていた事例も海外でしばしば報告されている。(参照 76) このため、高齢者、消耗性疾患の患者、あるいは感染防御能が低下している患者において血流感染症、尿路感染症等により様々な感染症が起きることが懸念されている。(参照 76)

感染症法に基づく報告では、1999年4月から2010年までに報告されたバンコマイシン耐性腸球菌感染症患者総数(保菌者も含む)は、1999年(4月)から2001年までは年間40件以下の報告数であったが、2006年から2008年には年間80件以上となり、また最近は、2009年には116件、2010年には119件の発生がわが国で報告されている。(参照 147~149) わが国においてストレプトグラミン系抗生物質に耐性を示す腸球菌による感染症についての報告はない。

(2) 重篤度

ストレプトグラミン耐性 *E. faecium* がバンコマイシンなどほかの抗生物質に対しても耐性を示す場合には、その感染症の治療に影響を与えられられる。腸球菌による感染症は多岐にわたるが、その中で臨床上影響が大きいのは VRE による感染症である。VRE は、院内感染起因菌として様々な臨床材料や病院内の環境から分離される。

VRE が健常者や感染防御機構の正常な患者の腸管内に感染又は定着しても、下痢や腹痛などの症状を呈することはなく、無症状である。しかし、VRE が血液などから分離されるような感染防御能が全般的に低下した状態の患者では、MRSA、緑膿菌、大腸菌など病原性の強いほかの細菌が同時に混合感染を起こしていることも多く、それらの菌による症状が前面に出る場合が多い。

VRE により術創感染症や膿瘍、腹膜炎、敗血症などを生じた症例では、患部の発赤

などの炎症所見、発熱などの全身所見など一般的な細菌感染症の症状が見られ、重篤な例では、発熱やショックなどの症状で死亡することもある。(参照 76)

2. ハザードの暴露によるヒトの疾病に対するストレプトグラミン系抗生物質による治療

(1) 治療方針及び第一選択薬

VRE による術創感染症や腹膜炎などの治療は、抗菌薬の投与とともに感染巣の洗浄やドレナージなどを適宜組み合わせで行う。

抗菌薬の選択に関しては、薬剤感受性試験の結果を参考に、国内で入手が可能で有効性が期待できる抗菌薬の中から患者の症状や基礎疾患などを考慮し、最も適切な薬剤を選択する。また、VRE 感染症について、同時に MRSA、緑膿菌、大腸菌、肺炎桿菌などが分離される場合で、それらが症状の主因と考えられるときには、それらの菌に対する治療を優先することもある。

予防手段としては、感染者（保菌者）、排菌者からの菌の伝播を防止することを第一とする。VRE を排菌している患者の介護や処置などの際に、汚染されている便や尿、ガーゼ、喀痰、膿などの処理に特に留意し、医療職員や介護者の手指や医療器具などが汚染されないよう接触予防策を徹底する。(参照 76)

原因菌がバンコマイシンを含むすべての一般的な抗菌性物質に感受性を示さない場合、現時点では、既承認のオキサゾリジノン系抗生物質であるリネゾリド製剤又はストレプトグラミン系抗生物質であるキヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤が第一選択薬になる可能性が高い。

(2) 当該疾病の治療におけるハザードの影響

ハザードによって本症が発症し、その治療薬としてストレプトグラミン系抗生物質が投与された場合、治療期間が長引いたり、重症化する等の悪影響を及ぼす可能性は否定できない。

しかし、ストレプトグラミン系抗生物質と交差耐性を示さないオキサゾリジノン系抗生物質を使用することができる。また、フルオロキノロン系抗菌性物質であるシタフロキサシンやリポペプチド系のダプトマイシンも、VRE に対して良好な抗菌力を示す。(参照 150、151)

3. ヒト臨床分野におけるストレプトグラミン系抗生物質耐性菌の状況等

(1) ヒト臨床分野におけるストレプトグラミン系抗生物質耐性菌等の検出状況

ストレプトグラミン系抗生物質が鶏及び豚に使用された場合に選択される薬剤耐性菌（ハザード）が、ヒト臨床分野における耐性菌の発現に対して、どの程度影響を及ぼしているのかは不明であるが、ヒト臨床分野におけるストレプトグラミン系抗生物質耐性菌の検出状況が調査されている。

キヌプリスチン・ダルホプリスチンに対する感受性に関しては、2000 年に日本国内の 16 医療施設で分離された *E. faecium* 79 株について調べられ、MIC は 0.39 µg/mL から 3.13 µg/mL の範囲（MIC₅₀は 0.78 µg/mL、MIC₉₀は 3.13 µg/mL）であり、良好な抗菌力を示した。(参照 152)

2006年にも日本国内の16医療施設で分離された *E. faecium* 86株についてキヌプリスチン・ダルホプリスチンに対する感受性が調べられた。MICは0.25 µg/mLから4 µg/mLの範囲 (MIC₅₀は0.5 µg/mL、MIC₉₀は2 µg/mL)であったが、低感受性及び耐性株は21株 (24%)と報告されている。(参照 80)

諸外国のヒト由来株におけるストレプトグラミン系抗生物質に対する薬剤耐性の状況を表18に示した。

表18 ヒト臨床由来株におけるキヌプリスチン・ダルホプリスチンに対する薬剤耐性の状況 (外国)

由来及び年	菌種	分離菌株数	耐性菌分離率 (%)	ブレイクポイント	備考 (MIC : µg/mL)	参照
世界中 1989-1996	EF	1667	NR	*1	分離菌株の5% : ≥2 MIC ₉₀ = 1	153
米国・カナダ 1996-1997	EF	1,011	0.2	4	MIC ₅₀ = 0.5	154
米国1998-1999	EF	334	0.9	4		122
ヨーロッパ1997	EF	552	8	4	0.25~32、MIC ₉₀ =2	155
ヨーロッパ 1997-1998	EF	90	NR	*1	0.12~4、MIC ₉₀ = 4 全菌株 : ≤4	156
スウェーデン 1996-1998	EF	74	1.4	4	0.5~4	157
デンマーク1998	EF	65	11	4	0.25~4	94
デンマーク2002	EF	40	2.5	4		95
スペイン2000	EF	29	41.3	4	(健常ボランティア) range: ≤0.5~8 耐性菌の92% : 4	158
		45	26.6	4	(食品取り扱い者) ≤0.5~64	158
西太平洋地域 1999-2000	EF	149	0	4		159
南アフリカ 1996-1997	EF	47	NR	*1	0.25~8、MIC ₉₀ = 4	160
世界中 1989-1996	VREF	422	NR	*1	0.5~8、MIC ₉₀ = 1	153
世界中 2001	VREF	107	17.8	*2	MIC ₉₀ = 8	161
	VSEF	157	23.6	*2	MIC ₉₀ = 8	161
米国・イタリア 1991-1996	VREF	82	NR	*1	0.06~2	162
米国 1994-1996	VREF	875	4.9	4	0.25~32、MIC ₉₀ = 2 耐性菌の81% : 4	163
		352	1.1	4	0.25~8、MIC ₉₀ = 1	163
米国・カナダ 1999-2000	VREF	598	3.8	*2	MIC ₉₀ = 1	164
	VSEF	310	13.2	*2	MIC ₉₀ = 4	164
米国 2000-2001	VREF	219	2.7	2	0.25~2、MIC ₉₀ =1	165
	VSEF	147	14.3	2	≤0.12~8、MIC ₉₀ =2	165
米国 2001	VREF	130	5.7	*2		166
	VSEF	39	12.9	*2		166
南米 2001	VREF	21	88	*2		167
	VSEF	94	2	*2	MIC ₉₀ = 2	167
ヨーロッパ1997	VREF	22	9	4	0.25~8、MIC ₉₀ = 2	155
英国 1992-1996	VREF	31	0	*2	0.5~1	168
	VSEF	23	0	*2	0.5~1	168
米国・英国・ ドイツ 1999	VREF	291	1.4	4		169
EU 2000-2001	VREF	114	5.3	*2	0.25~32、MIC ₉₀ = 2	114

	VSEF	333	3	*2	≤0.12~16、MIC ₉₀ = 2	114
台湾 1996-1999	VREF	100	66	2	0.5~128	170

EF : *E. faecium*

VREF : バンコマイシン耐性 *E. faecium*

VSEF : バンコマイシン感受性 *E. faecium*

NR : 記載なし

*1 : ブレイクポイントが設定されていない。

*2 : ブレイクポイントは不明。

VII. 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する。

各評価に当たっては、原則として、表 19 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。

表 19 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 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 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 ①～③について懸念の程度を以下のとおり判断 <input type="radio"/> 懸念が大きい「大」 <input type="radio"/> 懸念が中程度「中」 <input type="radio"/> 懸念が小さい「小」	「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。
		「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。
		「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。
		「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 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 ③ その他要因（食肉処理工程、流通経路等）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 <input type="radio"/> 懸念が大きい「大」 <input type="radio"/> 懸念が中程度「中」 <input type="radio"/> 懸念が小さい「小」	「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。
		「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。
		「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。
		「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 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	「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。
		「大」1項目又は「中」2項目以上	「中等度」：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。

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」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)

腸球菌におけるバージニアマイシン耐性の機序として最も一般的なものは、rRNAメチラーゼによる23S rRNAのメチル化及び引き続き起こるリボソームの立体構造変化である。この酵素を規定する *ermB* 遺伝子は染色体あるいはプラスミドに存在する。rRNAメチラーゼ以外の腸球菌の薬剤耐性決定因子の多くはプラスミド等による獲得耐性によるものであり、*vat*、*ermB* 遺伝子等のストレプトグラミン耐性遺伝子が *in vitro* 及び *in vivo* で伝達されることが報告されている(懸念は中程度)。なお、国内の家畜等における *ermB* 遺伝子を含む薬剤耐性遺伝子の保有状況については検査されていないことから、バージニアマイシン耐性 *E. faecium* の遺伝学的情報は不明である。

(2) ハザードの感受性分布

JVARMの調査結果において、鶏及び豚由来 *E. faecium* でバージニアマイシン低感受性菌が0～21%検出されている。耐性率やMIC分布域に変動があるが、2007年以降低いレベルとなっている。バージニアマイシンの検定合格数量は1999年以降減少し、2008年度以降は検定実績が無いが、このことが耐性率の低下に影響している可能性が考えられる(懸念は小さい)。

(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)

バージニアマイシンは飼料添加物として使用される抗菌性物質であり、飼料安全法に基づき農林水産大臣の指定を受けた、「飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進」を用途とした抗菌性飼料添加物である。その使用方法等については、同法及び同法に基づく成分規格等省令等により規定されている。また、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いる。農場における家畜等への使用制限については、各都道府県がその遵守状況を確認することとなっている。なお、JVARMでの全国規模の家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査が実施されている。また、国内での検定合格数量が報告されているが動物種別の報告はなされていない(懸念は中程度)。

(4) 発生評価の結果

発生評価の結果を表20に示した。

バージニアマイシンが鶏及び豚に使用された場合に、ハザードが選択される可能性がある。JVARMによるモニタリング調査において鶏及び豚由来の *E. faecium* について耐性率は減少傾向にあると考えられるが、バージニアマイシンの検定合格数量の減少が耐性率に影響している可能性が考えられる。バージニアマイシンは飼料添加物であり、使用方法及び今後の薬剤耐性菌の発生動向について注意を払う必要があると考えられる（中等度）。

表 20 発生評価の内容

区分	評価項目		評価結果
発生評価			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	小さい
		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

鶏及び豚の腸内に存在する腸球菌は、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。*E. faecium* においては、家畜、健常者、入院患者及び院内感染分離菌の遺伝学的系統が異なることから、家畜由来 *E. faecium* が長期にヒトの腸管に定着し、それらの菌が直接ヒトの感染症の原因菌となる可能性は低いとされている。しかしながら、薬剤耐性遺伝子を保有する家畜由来 *E. faecium* が、一定期間ヒトの腸管に定着し、ヒトの *E. faecium* に薬剤耐性遺伝子を伝達することが示されている（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

鶏肉における腸球菌の陽性率は60%程度と高いが、豚肉では8.4～15%である。*E. faecium* は鶏肉及び豚肉において検出されているが、*E. faecalis* と比較して検出率は低い。一方で、市販の鶏肉から分離された *E. faecium* におけるバージニアマイシン耐性率が77%と高かった（懸念は中程度）。

(3) 暴露評価に係るその他要因（食肉処理工程、流通経路等）

鶏由来食品における腸球菌の陽性率は高いものの、鶏及び豚由来食品の摂取が直接的に感染症を引き起こすのではなく、耐性菌がヒト腸内細菌叢に定着し、直接的、あるいは医療環境等を汚染するなどして他の感染防御能の低下した患者に伝達し感染症の原因となる可能性はあるが、その程度は低いと考えられる（懸念は小さい）。

(4) 暴露評価の結果

暴露評価の結果を表 21 に示した。

鶏及び豚由来食品の摂取が直接感染症を引き起こすわけではなく、*E. faecium* においては、家畜、健常者、入院患者及び院内感染分離菌の遺伝学的系統が異なることか

ら、家畜由来 *E. faecium* が長期にヒトの腸管に定着し、それらの菌が直接ヒトの感染症の原因菌となる可能性は低いとされている。しかしながら、薬剤耐性遺伝子を保有する家畜由来 *E. faecium* が、一定期間ヒトの腸管に定着し、ヒトの *E. faecium* に薬剤耐性遺伝子を伝達することが示されており、また、市販の鶏由来食品の陽性率は高い（中等度）。

表 21 暴露評価の内容

区分	評価項目	評価結果	
暴露評価		中等度	
	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	中程度
		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ストレプトグラミン系抗生物質の重要度

バージニアマイシンはストレプトグラミン系抗生物質であり、ヒト用抗菌性物質の重要度ランク付けにおいて、「ランクⅡ（高度に重要）」とランク付けされている。ストレプトグラミン系抗生物質はバンコマイシン耐性 *E. faecium* 感染症の推奨薬の1つとされているが、代替薬であるオキサゾリジノン系抗生物質の利用が可能である（ランクⅠではないが推奨薬の1つ、一方のみ該当）。

(2) 当該疾病の重篤性

食品を介した感染症の明確な発生件数は不明である。キヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤に対する感受性に関する国内の調査で、低感受性及び耐性株は24%と報告されている。国内では、ストレプトグラミン耐性腸球菌による感染症の報告はないが、VRE 感染症は臨床上的影響が大きい（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）

VRE 感染症については、キヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤は選択薬の1つであるが、実際の使用頻度は低いと推定されること及び系統の異なる代替薬が存在することから、大きな懸念を生じさせる要因は現時点ではないと考えた（懸念は小さい）。

(4) 影響評価の結果

影響評価の結果を表 22 に示した。

医療分野における現状を総合的に判断すると、ハザードに起因する感染症に対するストレプトグラミン系抗生物質の治療効果が減弱又は喪失する可能性がある（中等度）。

表 22 影響評価の内容

区分	評価項目		評価結果
影響評価			中等度
	各項目の評価	①重要度ランク I かつ推奨薬	一方のみ該当
		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	小さい	

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する。

リスクの推定に当たっては、原則として、表 23 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。

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 23 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考ええる。

表 23 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

[VII. 2. ～4.]の各評価項目の結果を踏まえ、総合的にリスクを推定した結果、薬剤耐性腸球菌によるリスクは中等度と判断した(表 24)。ただし、2008 年以降検定実績が無いことが発生評価の結果に影響している可能性があることに十分留意することが必要である。

表 24 リスクの推定の内容

区分	評価項目		評価結果
リスクの推定			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)	中等度(2)
		③影響評価 (スコア)	中等度(2)
(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バージニアマイシンの鶏及び豚への使用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) 評価対象抗菌性飼料添加物が、鶏及び豚に使用された結果としてハザードが選択され、鶏及び豚由来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、リスクの程度は中等度であると考えた。
- (2) なお、薬剤耐性菌については、現時点では詳細な科学的知見や情報が必ずしも十分とはいえ、また、リスク評価の手法についても国際的に十分確立されていないと考えられるため、国際機関における検討状況等を含む新たな科学的知見・情報の収集が必要である。

Ⅷ. その他の考察

1. リスク管理措置について

鶏及び豚に使用する飼料添加物バージニアマイシンは、飼料安全法に基づき飼料中の栄養成分の有効利用の促進を目的に使用される抗菌性飼料添加物である。その製造に当たっては、特定飼料等製造業者が成分規格等省令で定められた添加量を飼料に添加することとされ、その確認は（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等により行われている。また、その飼料の使用に当たっては、使用時期が設定され都道府県における遵守状況の確認が行われている。更に、ハザードとなりうる細菌である腸球菌は、本来常在菌であり病原性は低く、その薬剤耐性が問題となるのは院内感染等の場合である。国内の家畜分離の腸球菌におけるストレプトグラミン耐性率はそれほど高くなく、また、家畜由来株とヒト由来株とで遺伝的な系統が異なることが多い。また、現時点で国内におけるストレプトグラミン耐性腸球菌による感染症の報告はない。

しかしながら、バージニアマイシンの使用により鶏及び豚の腸管内の腸球菌において、プラスミド等による耐性の選択及び維持が懸念される。腸球菌の病原性は低いものの、易感染状態のヒトに対して臨床的に重要な疾患となり得ることから VRE 感染症はヒトの临床上重要であり、その推奨薬の1つであるキヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤は、バージニアマイシンと同系統の抗菌性物質である。また、薬剤耐性遺伝子を保有する家畜由来 *E. faecium* が一定期間ヒトの腸管に定着し、ヒトの *E. faecium* に薬剤耐性遺伝子を伝達することが示されている。

なお、EU は、キヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤の治療効果が交差耐性により減じられることを防ぐため、1999年にバージニアマイシンの使用禁止を決定している。デンマークにおいては、1998年にバージニアマイシンの使用を中止し、同年の肉用鶏又は豚由来 *E. faecium* のバージニアマイシン耐性率はそれぞれ 60 又は 56%だったが、その後は徐々に減少し、2006年以降はそれぞれ 10%又は 5%以下で推移している。国内においては、バージニアマイシン低感受性菌の割合が 2007年以降 10%未満となっているが、これは、バージニアマイシンの検定合格数量が 1999年以降大きく減少し、2008年以降は 0 となっていることが影響している可能性があると考えられる。

現時点で、国内においてバージニアマイシンの使用実態がないと考えられるが、今後、バージニアマイシンが使用された場合に、薬剤耐性率が上昇する可能性は否定できない。また、VRE 感染症の推奨薬の1つであるキヌプリスチン・ダルホプリスチン製剤と交差耐性を示すこと等を踏まえ、飼料添加物としての必要性を確認した上で、リスク管理措置の強化が必要である。

2. 薬剤耐性菌に係るモニタリングについて

薬剤耐性菌のモニタリングについては、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り、家畜－食品－ヒトという一連の過程の中で薬剤耐性菌の動態をモニタリングすることが有効であり、また、試料の採取方法や薬剤感受性試験の方法等の調査手法が標準化されたデータにより検討することが望ましい。

JVARMにおける健康家畜由来細菌のモニタリングでは、2008年から大腸菌及びカンピロバクターについては、全国を2ブロックに分けて、同じ細菌については、1年に1ブロックずつ調査を行い、2年で全国を調査する体制となっている。また、農林水産省において、2012年からと畜場等におけるモニタリングを開始したところである。

鶏及び豚由来 *E. faecium* のバージニアマイシンに対する低感受性菌の割合が2007年以降低いレベルとなっていることについて、使用量の減少がこの減少に影響している可能性が考えられた。また、肉用鶏のバージニアマイシンへの暴露により、肉用鶏の腸管内でストレプトグラミンに対する耐性が維持されるとの報告もある。現時点でバージニアマイシンは使用実態がないと考えられるが、今後、バージニアマイシンが使用された場合に、薬剤耐性率が上昇する可能性は否定できない。したがって、引き続き農場等におけるモニタリングを実施した上で、使用された場合に、使用農場におけるモニタリング等によりバージニアマイシンの使用と薬剤耐性率の上昇に係る因果関係等を解明することができる体制が必要である。

更に、家畜－食品－ヒトにおける全国的モニタリング体制の構築により、家畜等における耐性菌の出現とヒトから分離される耐性菌の比較解析を行い因果関係の解明を行うことも重要である。今回、発生評価において、国内の家畜等における薬剤耐性決定因子の保有状況については検査されていなかった。一連のモニタリング調査において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は、因果関係の解明にあたり有用な情報である。

以上より、引き続き、関係リスク管理機関が連携の上、疫学的評価・検証に耐え得る包括的な薬剤耐性モニタリング体制を構築し、薬剤耐性獲得状況について継続的に調査・監視することが必要である。

さらに、薬剤耐性菌の発生状況を的確にモニタリングし、得られたモニタリング結果は適時に科学的に検証されるべきものであることから、常に最新の科学的知見・情報を踏まえた上で、モニタリングの対象とする菌種、サンプリング方法、抗菌性物質、薬剤耐性遺伝子等の調査の範囲・内容等について、適切に設定することが必要である。

3. 食品健康影響評価の見直しについて

現時点においては、評価対象飼料添加物バージニアマイシンに対する薬剤耐性菌に関する詳細なデータが十分にあるとは言えないことから、引き続き新たな科学的知見・情報等の収集を行うことが必要である。また、当該飼料添加物の使用状況、家畜における薬剤耐性菌のモニタリング調査、国際機関等における検討状況等も踏まえ、必要に応じて再度評価を実施することが必要であると考えられる。

<別紙1 検査値等略称>

略称	名称
AFLP	増幅制限酵素断片長多型 (Amplified Fragment Length Polymorphism)
APVMA	オーストラリア農薬・動物用医薬品局
CC	Clonal complex
CFU	コロニー形成単位
CLSI	臨床検査標準協会
EU	欧州連合
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)
FDA	米国食品医薬品庁
HACCP	危害分析重要管理点
JVARM	わ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)
MIC	最小発育阻止濃度
MLST	Multilocus sequence typing
MRSA	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌
PFGE	パルスフィールドゲル電気泳動
S _A	ストレプトグラミンA
S _B	ストレプトグラミンB
SCAN	欧州動物栄養に関する科学委員会 (the Scientific Committee on Animal Nutrition)
VRE	バンコマイシン耐性腸球菌
VRSA	バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌

<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.
2. Bioaustralis fine chemicals Product Data Sheet. Virginiamycin complex.
3. FDA Center for Veterinary Medicine. Risk assessment of streptogramin resistance in *Enterococcus faecium* attributable to the use of streptogramins in animals. 2004.
4. Mast Y, Wohlleben W. Streptogramins-Two are better than one! *International Journal of Medical Microbiology*. 2014;304:44-50.
5. 日本全薬工業株式会社. 起源又は発見の経緯. (未公表)
6. アステラス製薬株式会社. 添付文書「注射用シナシッド」. 2010.
7. Briskier A. 20 Streptogramins. In Bryskier A (ed.). *Antimicrobial agents: Antibacterials and antifungals*. ASM Press, American Society for Microbiology, Washington, DC. 2005; p. 570-591.
8. 財団法人 農林弘済会. バーヂニアマイシン検定合格数量 昭和 53 年度～平成 22 年度. 独立行政法人 農林水産省費安全技術センター. 平成 23 年度特定添加物検定結果等について.
9. European Commission. *Opinion of the Scientific Steering Committee on Antimicrobial Resistance*. 1999.
10. Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority. *Findings of the reconsideration of the registration of products containing virginiamycin, and their labels*. 2004.
11. Gottschall DW, Gombatz C, Wang R. Analysis of tissue residues and comparative metabolism of virginiamycin in rats, turkeys, and cattle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1987; 35(6): 900-904.
12. Applebrook Research Center, SmithKline Animal Health Products Division of SmithKline Corporation. *Tissue Residue Study in Broilers Medicated with ¹⁴C-Virginiamycin*. 1978. (未公表)
13. 財団法人 畜産生物科学安全研究所. *バーヂニアマイシンのブロイラーによる残留試験報告書*. 1989. (未公表)
14. Applebrook Research Center, SmithKline Animal Health Products Division of SmithKline Corporation. *Tissue residue study in swine medicated with ¹⁴C-Virginiamycin (10g/ton)*. 1978.(未公表)
15. SmithKline Animal Health Products Division of SmithKline Corporation. *The absorption and tissue depletion on virginiamycin in swine*. (未公表)
16. Cocito C, Giambattista MD, Nyssen E, Vannuffel P. Inhibition of protein synthesis by streptogramins and related antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1997; 39(Suppl. A): 7-13.
17. Ennis HL. Inhibition of protein synthesis by polypeptide antibiotics, I. Inhibition in intact bacteria. *Journal of Bacteriology*. 1965; 90: 1102-1108.

18. Aumercier M, Bouhallab S, Capmau M-L Goffic FL. RP 59500: a proposed mechanism for its bactericidal activity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1992; 30(Suppl.A):9-14.
19. 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;362-365.
20. 勝野正則. 家畜由来細菌に対する各種抗生物質の効果. 1981. (未公表)
21. 新井俊彦. バージニアマイシンの *in vitro* 抗菌力試験. 1982. (未公表)
22. 江田靖子. Virginiamycin の *in vitro* 抗菌力試験. 1968. (未公表)
23. Van Dijck PJ. Further bacteriological evaluation of virginiamycin. *Chemotherapy*. 1969; 14: 322-332.
24. Somer PD, Van Dijck P. A preliminary report on antibiotic number 899, a streptogramin-like substance. *Antibiotics and Chemotherapy*. 1955; 5: 632-639.
25. Saenz Y, Zarazaga M, Lantero M, Gastanares MJ, Baquero F, Torres C. Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from Animals, Foods, and Humans in Spain in 1997-1998. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000; 44(2): 267-271.
26. Taylor DE, Courvalin P. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1988; 32: 1107-1112.
27. Belanger AE, Shryock TR. Macrolide-resistant *Campylobacter*: the meat of the matter. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007; 60: 715-723.
28. Phibro Animal Health. Stafac 20 . <http://www.phibroah.com/>
28. 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 回鶏病研究会講演要旨. 1999.
30. 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)
31. Kitai K, Kashiwazaki M, Adachi Y, Kunugita K, Arakawa A. *In vitro* antimicrobial activity against reference strains and field isolates of *Treponema yodysenteriae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1987; 31(12): 1935-1938.
32. Seoane A, García Lobo JM. Identification of a streptogramin A acetyltransferase gene in the chromosome of *Yersinia enterocolitica*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000; 44: 905-909.
33. Stock I, Wiedemann B. Natural antimicrobial susceptibilities and biochemical profiles of *Yersinia enterocolitica*-like strains: *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii* and *Y. rohdei*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2003; 38:139-52.
34. An *in-vitro* study of the antimicrobial susceptibilities of *Yersinia enterocolitica* and the definition of a database. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1999; 43: 37-45
35. Yoshimura H, Ishimaru M, Endoh YS, Kojima A. Antimicrobial susceptibilities of enterococci isolated from faeces of broiler and layer chickens. *Letters in Applied Microbiology*. 2000; 31: 427-432.
36. Allignet J, Liassine N, el Solh N. Characterization of a staphylococcal plasmid related to pUB110 and carrying two novel genes, *vatC* and *vgbB*, encoding

- resistance to streptogramins A and B and similar antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998;42:1794-1798.
37. Werner G, Klare I, Witte W. Molecular analysis of streptogramin resistance in enterococci. *International Journal of Medical Microbiology*. 2002;292:81-94.
 38. Kristich CJ, Rice LB, Arias CA. Enterococcal Infection-Treatment and antibiotic resistance. In Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shanker N (ed.). *Enterococci-From commensals to leading causes of drug resistant infection*. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. 2014..
 39. Clewell DB, Weaver KE, Dunny GM, Coque TM, Francia MV, Hayes F. Extrachromosomal and mobile elements in Enterococci: Transmission, maintenance, and epidemiology. In Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shanker N (ed.). *Enterococci-From commensals to leading causes of drug resistant infection*. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. 2014.
 40. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H. Nomenclature for Macrolide and Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B resistance determinants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1999; 43(12): 2823-2830.
 41. Donabedian SM, Perri MB, Vager D, Hershberger E, Malani P, Simjee S, et al. Quinupristin-dalfopristin resistance in *Enterococcus faecium* isolates from humans, farm animals, and grocery store meat in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006;44:3361-3365.
 42. Allignet J, el Solh N. Diversity among the gram-positive acetyltransferases inactivating streptogramin A and structurally related compounds and characterization of a new staphylococcal determinant, *vatB*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995;39:2027-2036.
 43. Kadlec K, Schwarz S. Novel ABC transporter gene, *vga(C)*, located on a multiresistance plasmid from a porcine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2009;53:3589-3591.
 44. Rende-Fournier R, Leclercq R, Galimand M, Duval J, Courvalin P. Identification of the *satA* gene encoding a streptogramin A acetyltransferase in *Enterococcus faecium* BM4145. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1993; 37(10): 2119-2125.
 45. Werner G, Witte W. Characterization of a new enterococcal gene, *satG*, encoding a putative acetyltransferase conferring resistance to streptogramin A compounds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1999; 43: 1813-1814.
 46. Jung Y-H, Shin S, Kim O, Yoo JS, Lee KM, Yoo JI, et al. Characterization of two newly identified genes, *vgaD* and *vatG*, conferring resistance to streptogramin A in *Enterococcus faecium*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010; 54(11): 4744-4749.

47. Jensen LB, Hammerum AM, Aarestrup FM, Van den Bogaard AE, Stobberingh EE. Occurrence of *satA* and *vgb* genes in streptogramin-resistant *Enterococcus faecium* isolates of animal and human origins in the Netherlands. [letter]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998; 42(12): 3330-3331.
48. Soltani M, Beighton D, Philpott-Howard J, Woodford N. Mechanisms of resistance to quinupristin-dalfopristin among isolates of *Enterococcus faecium* from animals, raw meat, and hospital patients in Western Europe. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000; 44(2): 433-436.
49. Bozdogan B, Leclercq R. Effect of genes encoding resistance to streptogramins A and B on the activity of quinupristin-dalfopristin against *Enterococcus faecium*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1999; 43(11): 2720-2725.
50. Lina G, Quaglia A, Reverdy M-E, Leclercq R, Vandenesch F, Etienne J. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1999;43:1062-1066.
51. Allignet J, Aubert S, Morvan A, el Solh N. Distribution of genes encoding resistance to streptogramin A and related compounds among staphylococci resistant to these antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1996;40:2523-2528.
52. Hammerum AM, Flannagan SE, Clewell DB, Jensen LB. Indication of transposition of a mobile DNA element containing the *vat(D)* and *erm(B)* genes in *Enterococcus faecium*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001;45:3223-3225.
53. Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. An *Enterococcus faecalis* ABC Homologue (*Lsa*) is required for the resistance of this species to clindamycin and quinupristin-dalfopristin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002; 46(6) :1845-1850.
54. Isnard C, Malbruny B, Leclercq R, Cattoir V. Genetic basis for *in vitro* and *in vivo* resistance to lincosamides, streptogramins A, and pleuromutilins (LSAP phenotype) in *Enterococcus faecium*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013;57:4463-4469.
55. Wendlandt S, Lozano C, Kadlec K, Gomez-Sanz E, Zarazaga M, Torres C, et al. The enterococcal ABC transporter gene *lsa(E)* confers combined resistance to lincosamides, pleuromutilins and streptogramin A antibiotics in methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2013;68:473-475.
56. Li B, Wendlandt S, Yao J, Liu Y, Zhang Q, Shi Z, et al. Detection and new genetic environment of the pleuromutilin-lincosamide-streptogramin A resistance gene *lsa(E)* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of swine origin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2013;68:1251-1255.

57. Li XS, Dong WC, Wang XM, Hu GZ, Wang YB, Cai BY, et al. Presence and genetic environment of pleuromutilin-lincosamide-streptogramin A resistance gene *lsa(E)* in enterococci of human and swine origin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014;69:1424-1439.
58. Haroche J, Allignet J, el Solh N. Tn5406, a new staphylococcal transposon conferring resistance to streptogramin A and related compounds including dalbapristin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002;46:2337-2343.
59. Haroche J, Allignet J, Buchrieser C, el Solh N. Characterization of a variant of *vga(A)* conferring resistance to streptogramin A and related compounds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000;44:2271-2275.
60. Allignet J, el Solh N. Characterization of a new staphylococcal gene, *vgaB*, encoding a putative ABC transporter conferring resistance to streptogramin A and related compounds. *Gene*. 1997;202:133-138.
61. Allignet J, Loncle V, el Solh N. Sequence of a staphylococcal plasmid gene, *vga*, encoding a putative ATP-binding protein involved in resistance to virginiamycin A-like antibiotics. *Gene*. 1992;117:45-51.
62. Jensen LB, Frimodt-Moller N, Aarestrup FM. Presence of *erm* gene classes in gram-positive bacteria of animal and human origin in Denmark. *FEMS Microbiology Letters*. 1999; 170: 151-158.
63. Milton ID, Hewitt CL, Harwood CR. Cloning and sequencing of a plasmid-mediated erythromycin resistance determinant from *Staphylococcus xylosus*. *FEMS Microbiology Letters*. 1992;76:141-147.
64. Tomich PK, An FY, Clewell DB. Properties of erythromycin-inducible transposon Tn917 in *Streptococcus faecalis*. *Journal of Bacteriology*. 1980;141:1366-1374.
65. Jensen LB, Hammerum AM, Aarestrup FM. Linkage of *vat(E)* and *erm(B)* in streptogramin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from Europe. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000;44:2231-2232.
66. Allignet J, Loncle V, Mazodier P, el Solh N. Nucleotide sequence of a staphylococcal plasmid gene, *vgb*, encoding a hydrolase inactivating the B components of virginiamycin-like antibiotics. *Plasmid*. 1988;20:271-275.
67. Portillo A, Ruiz-Larrea F, Zarazaga M, Alonso A, Martinez JL, Torres C. Macrolide resistance genes in *Enterococcus* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000; 44(4): 967-971.
68. McDermott PF, Cullen P, Hubert SK, McDermott SD, Bartholomew M, Simjee S, et al. Changes in antimicrobial susceptibility of native *Enterococcus faecium* in chickens fed virginiamycin. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005;71:4986-4991.
69. Ross JI, Eady EA, Cove JH, Cunliffe WJ, Baumberg S, Wootton JC. Inducible erythromycin resistance in staphylococci is encoded by a member of the

- ATP-binding transport super-gene family. *Molecular Microbiology*. 1990;4:1207-1214.
70. Allignet J, el Solh N. Comparative analysis of staphylococcal plasmids carrying three streptogramin-resistance genes: *vat vgb vga*. *Plasmid*. 1999;42:134-138.
 71. 医薬品医療機器等総合機構. 再審査報告書. 平成 25 年 12 月 20 日.
 72. 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 (平成 26 年 3 月改正). 2006.
 73. 前崎繁文. 救急で問題となる薬剤耐性菌—MRSA から MDRP まで—. *日本救急医学雑誌*. 2001;21:51-62.
 74. Health Canada. Drug and Health Products. Product Information. 2010.
 75. FDA, Department of Health and Human Services. Supplemental Approval. Reference ID: 2862551.2010.
 76. 国立感染症研究所 感染症情報センター. 感染症の話.
 77. VIII.耐性菌,ブレイクポイント, PK-PD. JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会編, JAID/JSC 感染症治療ガイド 2014. ライフサイエンス出版株式会社. 2015;289-290.
 78. Hammerum AM, Lester CH, Heuer OE. Antimicrobial-resistant enterococci in animals and meat: a human health hazard? *Foodborne Pathogens and Disease*. 2010; 7:1137-1146.
 79. Biavasco F, Foglia G, Paoletti C, et al. VanA-type enterococci from humans, animals, and food: species distribution, population structure, Tn 1546 typing and location, and virulence determinants. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007; 73:3307-3319.
 80. 山口高広, 吉田勇, 伊藤喜久, 橋峰司, 高橋長一郎, 賀来満夫他. 各種抗菌薬に対する 2006 年臨床分離好気性グラム陽性球菌および嫌気性菌の感受性サーベイランス. *The Japanese Journal of Antibiotics*. 2010;63(6):431-456.
 81. Gilmore MS. Preface. In Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shanker N (ed.). *Enterococci-From commensals to leading causes of drug resistant infection*. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. 2014.
 82. Loo VG, Bourgault A-M, Poirier L, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. *The New England Journal of Medicine*. 2011; 365:1693-1703.
 83. Weese JS, Reid-Smith RJ, Avery BP, Rousseau J. Detection and characterization of *Clostridium difficile* in retail chicken. *Letters in Applied Microbiology*. 2010; 50:362-365.
 84. Songer JG. *Clostridium difficile* in Retail Meat Products, USA, 2007. *Emerging Infectious Diseases*. 2009; 15:819-821.
 85. Harvey RB, Norman KN, Andrews K, et al. *Clostridium difficile* in poultry and poultry meat. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2011; 144:433-439.

86. Zidaric V, Zemljic M, Janezic S, Kocuvan A, Rupnik M. High diversity of *Clostridium difficile* genotypes isolated from a single poultry farm producing replacement laying hens. *Anaerobe*. 2008;14(6):325-327.
87. Rodriguez-Palacios A, Borgmann S, Kline TR, LeJeune JT. *Clostridium difficile* in foods and animals: history and measures to reduce exposure. *Animal Health Research Reviews*. 2013;14:11-29.
88. Usui M, Nanbu Y, Oka K, Takahashi M, Inamatsu T, Asai T, et al. Genetic relatedness between Japanese and European isolates of *Clostridium difficile* originating from piglets and their risk associated with human health. *Frontiers in Microbiology*. 2014;5:513.
89. Asai T, Usui M, Hiki M, Kawanishi M, Nagai H, Sasaki Y. *Clostridium difficile* isolated from the fecal contents of swine in Japan. 2013. *The Japanese Society of Veterinary Science*. 75(4):539-541.
90. 相楽裕子. 腸管感染症. 日本感染症学会, 日本化学療法学会編. 抗菌薬使用のガイドライン. 協和企画, 東京, 2005: 129-133.
91. 農林水産省. 家畜由来 *Enterococcus faecium* の抗菌性物質感受性実態調査結果 (平成 11 年度から 23 年度までの調査結果抜粋) (未公表)
92. 社団法人 日本科学飼料協会. 平成 15 年度飼料生産安定向上対策推進事業 (飼料安全性向上緊急対策事業) 報告書. 2004.
93. Aarestrup FM, Kruse H, Tast E, Hammerum AM, Jensen LB. Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* from broilers and pigs in Denmark, Finland, and Norway. *Microbial Drug Resistance*. 2000;6(1): 63-70.
94. Aarestrup FM, Agerso Y, Gerner-Smidt P, Madsen M, Jensen LB. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2000; 37: 127-137.
95. DANMAP. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. 1998-2010.
96. "The National Veterinary Institute. SVARM 2000. Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. Uppsala, Sweden. 2001.
<http://www.sva.se/upload/pdf/Tj%C3%A4nster%20och%20produkter/Trycksaker/svarm2000.pdf>"
97. "The National Veterinary Institute. SVARM 2001. Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. Uppsala, Sweden. 2002.
<http://www.sva.se/upload/pdf/Tj%C3%A4nster%20och%20produkter/Trycksaker/svarm2001.pdf>".
98. "The National Veterinary Institute. SVARM 2002. Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. Uppsala, Sweden. 2003.

<http://www.sva.se/upload/pdf/Tj%C3%A4nster%20och%20produkter/Trycksaker/svarm2002.pdf>

99. Hayes JR, McIntosh AC, Qaiyumi S, Johnson JA, English L, Carr LE, et al. High-frequency recovery of quinupristin-dalfopristin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from the poultry production environment. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001; 39(6): 2298-2299.
100. Zervos MJ. Survey of antimicrobial resistant enterococci in animals. Final Report. FDA Grant FD-U-001577-01 (September 30, 1998-September 29, 2001). 2003.
101. Aarestrup FM, Hasman H., Jensen LB, Moreno M, Herreo IA, Dominguez L, et al. Antimicrobial resistance among enterococci from pigs in three European countries. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002; 68(8):4127-4129.
102. Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F. Differences in antibiotic resistance patterns of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from farm and pet animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001; 45(5): 1374-1378.
103. 社団法人 日本科学飼料協会. ブロイラーにおける薬剤耐性菌の発現および消失パターンに及ぼす影響調査 平成 16 年度農林水産省委託事業、平成 16 年度飼料の有害物質等残留基準設定等委託事業報告書. 2005.
104. Dunny GM, Brown BL, Clewell DB. Induced cell aggregation and mating in *Streptococcus faecalis*: evidence for a bacterial sex pheromone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 1978;75:3479-3483.
105. Clewell DB, Yagi Y, Ike Y, Craig RA, Brown BL, An F. Sex pheromones in *Streptococcus faecalis*: multiple phenomene systems in strain DS5, similarities of pAD1 and pAMy1, and mutants of pAD1 altered in conjugative properties. In Schlessinger D (ed.), *Microbiology-1982*. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1982;p. 97-100.
106. Ike Y, Tanimoto K, Tomita H, Takeuchi K, Fujimoto S. Efficient transfer of the pheromone-independent *Enterococcus faecium* plasmid pMG1 (Gm^r) (65.1 kilobases) to *Enterococcus* strains during broth mating. 1998;180:4886-4892.
107. Hammerum AM, Jensen LB, Aarestrup FM. Detection of the *satA* gene and transferability of virginiamycin resistance in *Enterococcus faecium* from food-animals. *FEMS Microbiology Letters*. 1998; 168:145-151.
108. Tremblay CL, Letellier A, Quessy S, Boulianne M, Daignault D, Archambault M. Multiple-Antibiotic Resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from caecal contents in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Canada and plasmid colocalization of *tetO* and *ermB* genes. *Journal of Food Protection*. 2011; 74(10):1639-1648.
109. Jacobsen BL, Skou M, Hammerum AM, Jensen LB. Horizontal transfer of the *satA* gene encoding streptogramin A resistance between isogenic *Enterococcus*

- faecium* strains in the gastrointestinal tract of gnotobiotic rats. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 1999; 11:241-247.
110. Marosevic D, Cervinkoba D, Vlkova H, Videnska P, Babak V, Jaglic Z. *In vivo* spread of microlide-lincosamide-streptogramin B (MLS_B) resistance - A model study in chickens. *Veterinary Microbiology*. 2014;171:388-396.
111. Haroche J, Allignet J, Aubert S, Van den Bogaard AE, Solh NE. *SatG*, conferring resistance to streptogramin A, is widely distributed in *Enterococcus faecium* strains but not in staphylococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000;44(1): 190-191.
112. Jensen LB, Hammerum AM, Bager F, Aarestrup FM. Streptogramin resistance among *Enterococcus faecium* isolated from production animals in Denmark in 1997. *Microbbial Drug Resistance*. 2002;8(4): 369-374.
113. Simjee S, McDermott PF, Wagner DD, White DG. Variation within the *vat(E)* allele of *Enterococcus faecium* isolates from retail poultry samples. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001;45(10): 2931-2932.
114. Critchley IA, Draghi DC, Sahm DF, Thornsberry C, Jones ME, Karlowsky JA. Activity of daptomycin against susceptible and multidrug-resistant Gram -positive pathogens collected in the SECURE study (Europe) during 2000-2001. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*. 2003;51:639-647.
115. Danish Veterinary Laboratory. DANMAP 2012—Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark.
116. 農林水産省. 平成 24 年度食料需給表 (確報) .
<http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/zyukyu/index.html>.
117. Schleifer KH, Kilpper-Balz R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1984;34(1): 31-34.
118. 吉田製薬株式会社. バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)について. 病院感染に関する情報通信, *Y's Letter*. 2002;6(1).
119. Mundt JO. Occurrence of enterococci: bud, blossom and soil studies. *Applied Microbiology*. 1961;9: 541-544.
120. Mundt JO. Occurrence of enterococci in animals in a wild environment. *Applied Microbiology*. 1963;11: 136-140.
121. Martin JD, Mundt JO. Enterococci in insects. *Applied Microbiology*. 1972; 24:578-580.
122. McDonald LC, Rossiter S, Mackinson C, Wang YY, Johnson S, Sullivan M, et al. Quinupristin-dalfopristin- resistant *Enterococcus faecium* on chicken and in human stool specimens. *The New England Journal of Medicine*. 2001; 345:1155-1160.

123. Willems RJL, Top J, van den Braak N, van Belkum A, Endtz H, Movius D, et al. Host specificity of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *The Journal of Infectious Diseases*. 2000; 182: 816-823.
124. Lebreton F, Willems RJL, Gilmore MS. Enterococcus diversity, origins in nature and gut colonization. In Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shanker N (ed.). *Enterococci-From commensals to leading causes of drug resistant infection*. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. 2014.
125. Willems RJL, Top J, van Santen M, Robinson DA, Coque TM, Baquero F, et al. Global spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from distinct nosocomial genetic complex. *Emerging Infectious Diseases*. 2005; 11: 821-828.
126. Hammerum AM. Enterococci of animal origin and their significance for public health. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012; 18: 619-625.
127. Freitas AR, Coque TM, Novais C, Hammerum AM, Lester CH, Zervos MJ, et al. Human and swine hosts share vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* CC17 and CC5 and *Enterococcus faecalis* CC2 clonal clusters harboring Tn1546 on indistinguishable plasmids. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49: 925-931.
128. Top J, Willems R, van der Velden S, Asbroek M, Bonten M. Emergence of clonal complex 17 *Enterococcus faecium* in the Netherlands. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46: 214-219.
129. Kuch A, Willems RJL, Werner G, Coque TM, Hammerum AM, Sundsfjord A, et al. Insight into antimicrobial susceptibility and population structure of contemporary human *Enterococcus faecalis* isolates from Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2012; 67: 551-558.
130. Larsen J, Schønheyder HC, Lester CH, Olsen SS, Porsbo LJ, Garcia-Migura L, et al. Porcine-origin gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis* in humans, Denmark. *Emerging Infectious Diseases*. 2010; 16: 682-684.
131. McBride SM, Fischetti VA, LeBlanc DJ, Moellering Jr. RC, Gilmore MS. Genetic diversity among *Enterococcus faecalis*. *PLoS ONE*. 2007; 2: e582.
132. Ruiz-Garbajosa P, Bonten MJM, Robinson DA, Top J, Nallapareddy SR, Torres C, et al. Multilocus sequence typing scheme for *Enterococcus faecalis* reveals hospital-adapted genetic complexes in a background of high rates of recombination. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44: 2220-2228
133. Ozawa Y, Tanimoto K, Nomura T, Yoshinaga M, Arakawa Y, Ike Y. Vancomycin-resistant enterococci in humans and imported chickens in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002; 68: 6457-6461.
134. Lim SK, Tanimoto K, Tomita H, Ike Y. Pheromone-responsive conjugative vancomycin resistance plasmids in *Enterococcus faecalis* isolates from humans and chicken feces. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006; 72: 6544-6553.

135. Sorensen TL, Blom M, Monnet DL, Frimodt-Moller N, Poulsen RL, Espersen F. Transient intestinal carriage after ingestion of antibiotic-resistant *Enterococcus faecium* from chicken and pork. The New England Journal of Medicine. 2001;345(16): 1161-1166.
136. Lund B, Adamsson I, Edlund C. Gastrointestinal transit survival of an *Enterococcus faecium* probiotic strain administered with or without vancomycin. International Journal Food Microbiology. 2002; 77:109-115.
137. Moubareck C, Bourgeois N, Courvalin P, Doucet-Populaire F. Multiple antibiotic resistance gene transfer from animal to human enterococci in the digestive tract of gnotobiotic mice. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2003; 47(9): 2993-2996.
138. Lester CH, Frimodt-Møller N, Sørensen TL, MonnetDL, Hammerum A. In vivo transfer of the vanA resistance gene from an *Enterococcus faecium* isolate of animal origin to an E. faecium isolate of human origin in the intestines of human volunteers. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2006; 50: 596-599.
139. Lester CH, Hammerum A. Transfer of vanA from an *Enterococcus faecium* isolate of chicken origin to a CC17 *E. faecium* isolate in the intestine of cephalosporin-treated mice. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2010; 65: 1534-1548.
140. 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.
141. 食品安全委員会. 平成 18 年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. 財団法人 日本食品分析センター. 2007.
142. 食品安全委員会. 平成 19 年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. 財団法人 日本食品分析センター. 2008.
143. 食品安全委員会. 平成 26 年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. 財団法人 東京顕微鏡院. 2014.
144. 石崎直人, 柴田幹良, 金子誠二, 甲斐明美, 山田澄夫. 国産および輸入食肉における *Enterococcus faecalis* と *Enterococcus faecium* の汚染状況および分離株の病原遺伝子保有状況. 日本食品微生物学会雑誌. 2007; 24(2):94-99.
145. 谷本弘一, 池康嘉. バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) . モダンメディア 2007; 53:6-13.
146. 光武 耕太郎. バンコマイシン耐性腸球菌. 最新医学. 2009; 64(3): 80-85.
147. 国立感染症研究所 感染症情報センター. 年別報告数一覧(全数把握) ,1999-2009. 2010. <http://idsc.nih.gov/idwr/ydata/report-Ja.html>.
148. 国立感染症研究所 感染症情報センター. IDWR 感染症発生動向調査, 年別報告数一覧 (全数把握) . 2010.
149. 国立感染症研究所 感染症情報センター. IDWR 感染症発生動向調査, 年別報告数一覧 (全数把握) . 2011.

150. 神田裕子, 黒坂勇一, 藤川香津子, 千葉めぐみ, 山近伸一郎, 奥村亮 他. Sitafloracin の細菌学的評価. 日本化学療法学会誌. 2008;56(S-1):1-17.
151. 医薬品インタビューフォーム. キュビシン静注用 350mg 注射用ダプトマイシン. 2013 年 8 月改訂 (改訂第 5 版) .
152. 吉田勇, 木村美司, 東山伊佐夫, 杉森義一, 山野佳則. 各種抗菌薬に対する臨床分離株の感受性サーベイランス—2000 年分離グラム陽性球菌および嫌気性菌に対する抗菌力—. 日本化学療法学会誌. 2003;51(4):179-208.
153. Dowzicky M, Nadler HL, Feger C, Talbot G, Bompert F, Pease M. Evaluation of *in vitro* activity of quinupristin/dalfopristin and comparator antimicrobial agents against worldwide clinical trial and other laboratory isolates. The American Journal of Medicine. 1998;104(5A): 34S-42S.
154. Jones RN, Ballow CH, Biedenbach DJ, Deinhart JA, Schentag JJ. Antimicrobial activity of quinupristin-dalfopristin (RP 59500, Synercid) tested against over 28,000 recent clinical isolates from 200 medical centers in the United States and Canada. Diagnostic. Microbiology and Infectious Disease. 1998;30: 437-451.
155. Schouten MA, Voss A, Hoogkamp-Korstanje JAA, The European VRE Study Group. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 1999; 43(10):2542-2546.
156. Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit, AC and The sentry participants Group. Prevalence of resistance to MLS antibiotics in 20 European university hospitals participating in the European SENTRY surveillance programme. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1999;43: 783-792.
157. Hallgren A, Abednazari H, Ekdahl C, Hanberger H, Nilsson M, Samuelsson A, et al. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci in intensive care units in Sweden evaluated by different MIC breakpoint systems. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001;48: 53-62.
158. Campo RD, Ruiz-Garbajosa P, Sanchez- Moreno MP, Baquero F, Torres C, Canton R, et al. Antimicrobial resistance in recent fecal enterococci from healthy volunteers and food handlers in Spain: genes and phenotypes. Microbial Drug Resistance. 2003 ;9(1) : 47-60.
159. Bell JM, Turnidge JD, Ballow CH, Jones RN and the ZAPS Regional Participants. Multicentre evaluation of the *in vitro* activity of linezolid in the Western Pacific. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003; 51: 339-345.
160. Struwig MC, Botha PL, Chalkley L J. *In vitro* activities of 15 antimicrobial agents against clinical isolates of South African enterococci. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1998;42(10):2752-2755.
161. Jones RN, Hare RS, Sabatelli FJ and the Ziracin Susceptibility Testing Group. *In vitro* Gram-positive antimicrobial activity of evernimicin (SCH 27899), a novel oligosaccharide, compared with other antimicrobials: a multicentre international trial. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001; 47: 15-25.

162. Bonilla HF, Perri MB, Kauffman CA, Zervos MJ. Comparative *in vitro* activity of quinupristin/dalfopristin against multidrug resistant *Enterococcus faecium*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 1996;25: 127-131.
163. Eliopoulos GM, Wennersten CB, Gold HS, Schulin T, Souli M, Farris MG, et al. Characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from the United States and their susceptibility *in vitro* to dalfopristin-quinupristin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998; 42(5):1088-1092.
164. Ballou CH, Jones RN, Biedenbach DJ, the North American ZAPS Research Group. A multicenter evaluation of linezolid antimicrobial activity in North America. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2002;43:75-83.
165. Critchley IA, Blosser-Middleton RS, Jones ME, Thornsberry C, Sahn DF, Karlowsky JA. Baseline Study to determine *in vitro* activities of daptomycin against gram-positive pathogens isolated in the United States in 2000-2001. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003;47(5): 1689-1693.
166. Jones RN, Ballou CH, Biedenbach DJ, the ZAPS Study Group Medical Centers. Multi-laboratory assessment of the linezolid spectrum of activity using the Kirby-Bauer disk diffusion method: Report of the Zyvox[®] Antimicrobial Potency Study (ZAPS) in the United States. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2001;40:59-66.
167. Sader HS, Jones RN, Ballou CH, Biedenbach DJ, Cereda RE, GSMART Latin America Study Group. Antimicrobial susceptibility of quinupristin/dalfopristin tested against gram-positive cocci from Latin America: Results from the global SMART (GSMART) surveillance study. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2001 ;5(1) :21-31.
168. Chen HY, Hill RL, Kirk M, Casewell MW, Beighton D. Differential antimicrobial susceptibility between human and chicken isolates of vancomycin-resistant and sensitive *Enterococcus faecium*. *International Journal Antimicrobial Agents*. 2002;19:39-46.
169. Moellering RC, Linden PK, Reinhardt J, Blumberg EA, Bompert F, Talbot GH, for the Synercid Emergency-Use Study Group. The efficacy and safety of quinupristin/dalfopristin for the treatment of infections caused by vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1999;44: 251-261.
170. Luh KT, Hsueh PR, Teng LJ., Pan HJ, Chen YC, Lu JJ, et al. Quinupristin-dalfopristin resistance among gram-positive bacteria in Taiwan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000;44:3374-3380.