

(案)

家畜等に使用するアビラマイシンによる薬剤耐性菌  
に関する食品健康影響評価について

2013年11月

食品安全委員会  
肥料・飼料等／微生物・ウイルス合同専門調査会  
(薬剤耐性菌に関するワーキンググループ)

## 目次

	頁
○審議の経緯.....	3
○食品安全委員会委員名簿.....	3
○食品安全委員会肥料・飼料等／微生物・ウイルス合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）専門委員名簿.....	4
○要約.....	5
I. ハザードの特定に関する知見.....	6
1. 名称及び化学構造.....	6
(1) 一般名.....	6
(2) 化学名.....	6
(3) 化学構造.....	6
(4) 有効成分の系統.....	7
2. 使用方法.....	8
(1) 対象飼料及び添加量.....	9
(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.....	10
(3) アピラマイシンの使用量.....	11
3. 海外における評価、規制の状況等.....	11
4. 対象家畜等における動物用抗菌性物質の生体内薬物動態.....	12
(1) 吸収・排泄.....	12
(2) 分布・蓄積.....	14
(3) 代謝.....	15
5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ.....	15
(1) 作用機序.....	15
(2) 作用のタイプ.....	16
6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布.....	16
(1) アピラマイシンの抗菌スペクトル.....	16
(2) 対象とする家畜等の病原菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）の分布.....	18
(3) 指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対するMICの分布.....	18
7. 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質及びその重要性.....	21
(1) ヒト用抗菌性物質との交差耐性について.....	21
(2) ヒト用抗菌性物質としての重要性について.....	22
8. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報.....	22
(1) 耐性獲得に関する試験.....	22
(2) 交差耐性に関する試験.....	23
(3) 薬剤耐性及び耐性決定因子の機序.....	24

(4) 薬剤耐性決定因子の伝達.....	24
(5) 共耐性の可能性.....	25
9. ハザードの特定に係る検討 .....	25
II. 食品健康影響評価 .....	26
<参照> .....	27

### 〈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
- 2013年 4月 9日 関係資料の接受
- 2013年 4月 23日 肥料・飼料等（第70回）／微生物・ウイルス（第41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）
- 2013年 11月 18日 第494回食品安全委員会（報告）

### 〈食品安全委員会委員名簿〉

（2006年6月30日まで）

寺田 雅昭（委員長）  
寺尾 允男（委員長代理）  
小泉 直子  
坂本 元子  
中村 靖彦  
本間 清一  
見上 彪

（2006年12月20日まで）

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

（2009年6月30日まで）

見上 彪（委員長）  
小泉 直子（委員長代理\*）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄\*\*  
本間 清一

\*：2007年2月1日から

\*\*：2007年4月1日から

（2011年1月6日まで）

小泉 直子（委員長）  
見上 彪（委員長代理\*）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

\*：2009年7月9日から

（2012年6月30日まで）

小泉 直子（委員長）  
熊谷 進（委員長代理\*）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子

（2012年7月1日から）

熊谷 進（委員長）  
佐藤 洋（委員長代理）  
山添 康（委員長代理）  
三森 国敏（委員長代理）  
石井 克枝

廣瀬 雅雄

村田 容常

\* : 2011 年 1 月 13 日から

上安平 冽子

村田 容常

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

（2013 年 9 月 30 日まで）

肥料・飼料等専門調査会

唐木 英明（座長）

青木 宙

池 康嘉

舘田 一博

戸塚 恭一

細川 正清

微生物・ウイルス専門調査会

渡邊 治雄（座長代理）

多田 有希

田村 豊

（2013 年 10 月 1 日から）

肥料・飼料等専門調査会

津田 修治（座長代理）

荒川 宜親

池 康嘉

今田 千秋

戸塚 恭一

細川 正清

微生物・ウイルス専門調査会

吉川 泰弘（座長）

甲斐 明美

砂川 富正

田村 豊

豊福 肇

〈肥料・飼料等（第 70 回）／微生物・ウイルス（第 41 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）専門参考人名簿〉

荒川 宜親

## 要 約

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

アビラマイシンはヒト用医薬品として使用されておらず、また、これと化学構造が類似したヒト用抗菌性物質はない。交差耐性に関する試験においても、アビラマイシンを投与した豚及び鶏において、大腸菌の既存抗菌性物質に対する耐性の獲得に影響を及ぼさなかった。

国内での動物由来腸球菌の抗菌剤感受性調査において耐性菌が報告されているが、MIC<sub>50</sub>及びMIC<sub>90</sub>の値の変化は小さく、耐性率が上昇する傾向にはない。

耐性決定因子については、プラスミド上に存在し、他の菌に伝達可能な耐性遺伝子が報告されている。しかし、動物から分離されたアビラマイシン耐性腸球菌においてこの耐性遺伝子を保有している株は極めて少なかった。

以上のハザードの特定に関する検討の結果、アビラマイシンの家畜等への使用によりアビラマイシン耐性菌が選択される可能性は否定できないが、アビラマイシンがヒト用医薬品として使用されていないこと、アビラマイシンがヒトに使用されている抗菌性物質と交差耐性を示したという報告がないこと等から、食品を介してヒトに対して健康上の危害因子となる可能性のある薬剤耐性菌はなく、アビラマイシンを家畜等に使用することによって選択された薬剤耐性菌が、食品を介してヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えられる。

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

## I. ハザードの特定に関する知見

### 1. 名称及び化学構造

#### (1) 一般名

和名：アビラマイシン

英名：Avilamycin

(参照 1)

#### (2) 化学名

アビラマイシン A

英名：

O-(1R)-4-C-acetyl-6-deoxy-2,3-O-methylene-D-galactopyranosylidene-(1'3-4)-2-O-(2-methyl-1-oxopropyl)- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl O-2,6-dideoxy-4-O-(3,5-dichloro-4-hydroxy-2-methoxy-6-methylbenzoyl)- $\beta$ -D-arabino-hexopyranosyl-(1'4)-O-2,6-dideoxy-D-arabino-hexopyranosylidene-(1'3-4)-O-2,6-dideoxy-3-C-methyl- $\beta$ -D-arabino-hexopyranosyl-(1'3)-O-6-deoxy-4-O-methyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1'4)-2,6-di-O-methyl- $\beta$ -D-mannopyranoside

アビラマイシン B

英名：

O-4-C-actyl-6-deoxy-2,3-O-methylenehexo-pyranosylidene-(1'3-4)-2-O-actyl-L-lyxopyranosyl O-2,6-dideoxy-4-O-(3,5-dichloro-4-hydroxy-2-methoxy-6-methylbenzoyl)- $\beta$ -D-arabino-hexopyranosyl-(1'4)-O-2,6-dideoxy-D-ribo-hexopyranosylidene-(1'3-4)-O-2,6-dideoxy-3-C-methyl-D-arabino-hexopyranosyl-(1'3)-O-6-deoxy-4-O-methyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1'4)-2,6-di-O-methyl-D-mannopyranoside

(参照 1)

#### (3) 化学構造

アビラマイシン A

分子式：C<sub>61</sub>H<sub>88</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>32</sub>

分子量：1,403

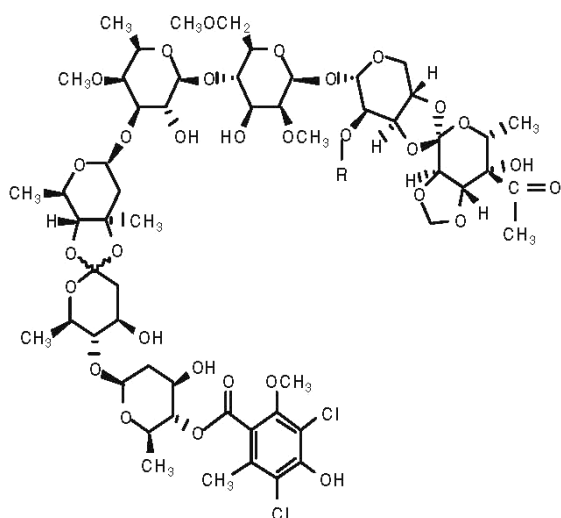
CAS 番号：69787-79-7

アビラマイシン B

分子式：C<sub>59</sub>H<sub>84</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>32</sub>

分子量：1,375

CAS 番号：73240-30-9



アビラマイシン	R
A	COCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
B	COCH <sub>3</sub>

(参照 1)

#### (4) 有効成分の系統

##### ① 有効成分の系統

アビラマイシンは *Streptomyces viridochromogenes* の発酵により産生されるオルトソマイシン系の抗生物質で、アビラマイシン A (60%以上)、アビラマイシン B (18%未満) 及び 14 の微量因子<sup>1</sup>の混合物から成る。(参照 1~5)

アビラマイシンの抗菌活性についてはアビラマイシン A、B、C 及び D について検討され、アビラマイシン A 及び B は C 及び D と比べて活性が強いことが確認されている。(参照 6)

アビラマイシンは、日本において飼料添加物として指定されており、動物用医薬品又はヒト用医薬品としては使用されていない。

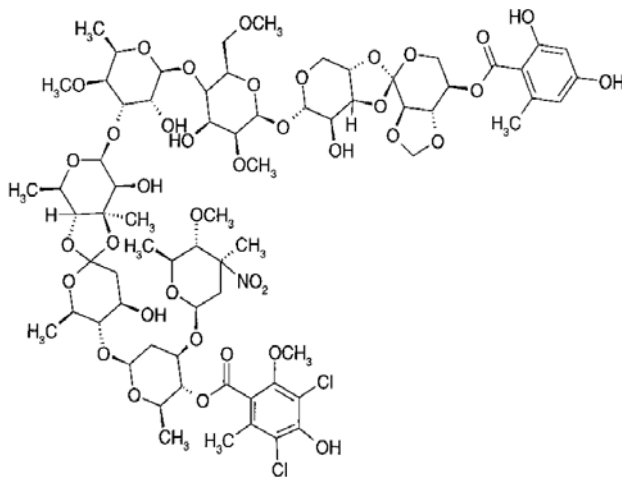
アビラマイシンは、構造的に炭水化物残基を持つ 1 又は複数のオルトソエステルが連結する物質である。(参照 7) オルトソマイシン系抗生物質は、アミノサイクリトール残基を持つ亜群及びジクロロイソエバニノ酸エステルの亜群の 2 つの亜群に分類される。(参照 7) アビラマイシンはエバニノマイシン類 (エバニミシン (evernimicin)、エバニノマイシン (everninomicin) A、B、C、D、E)、フランバマイシン (flambamycin) 及びクラマイシン (curamycin) とともにジクロロイソエバニノ酸エステルの亜群に属する。(参照 7、8) これらの抗生物質は、ジクロロイソエバニノ酸の他にオリゴ糖及びメチルエウレカネート残基を有する。(参照 7、8) アビラマイシンとエバニミシンの両剤は、エバニミシンが追加のオルセリン酸、L-ニトロ糖群及び置換デオキシ糖を保有する点で異なる (図 1)。なお、人体用には

<sup>1</sup> 14 微量因子 : アビラマイシン A、C、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、E、F、G、H、I、J、K、L、M 及び N



古くからエバニノマイシン類の開発が試みられてきたが、サルを含む実験動物での腎毒性の問題（参照 9）が認められ、効果と安全性とのバランスから開発が中断された。最近では、1990 年代にエバニミシンの開発が試みられたが、2000 年に臨床試験第三相中に開発が中止されており、現状ではアビラマイシン及び同系統のヒト用医薬品及び開発途中品は存在しない。（参照 10）また、エバニノマイシン類、フランバマイシン及びクラマイシンのいずれも飼料添加物、動物用医薬品又はヒト用医薬品として用いられていない。

構造式：



分子式： $C_{70}H_{97}NO_{38}Cl_2$

図 1 エバニミシンの構造式及び分子式

（参照 8、11）

## ② 関連する系統

オルトソマイシン系抗生物質は、その構造中に 1 つないし複数の炭化水素残基を連結するオルトエステル結合を含む抗生物質の系統である。オルトエステルが自然界に存在することは比較的まれであるが、幾つかの抗生物質は本構造を示す。本系統の物質は現在のところ、さらにアミノサイクリトール残基を持つ亜群、ジクロロイソエバニノ酸エステルの亜群の 2 つの亜群に分類されており、前者にはハイグロマイシン B 及びデストマイシン類が、後者にはフランバマイシン、エバニノマイシン及びアビラマイシンが含まれる。本評価書では専ら後者について、狭義のオルトソマイシン系抗生物質として扱うこととする。

## 2. 使用方法

アビラマイシンは、「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」（昭和 28 年法律第 35 号。以下「飼料安全法」という。）に基づき、農林水産大臣による飼料添加物としての指定を受けた抗菌性物質（以下「抗菌性飼料添加物」という。）であり、その成分規格、製造等の方法及び表示の基準、使用方法等については同法及び同法に基づく「飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令」（昭和 51 年農林省令第 35 号）等によ

り規定されている。

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が認められている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、飼料管理者を置かなければならない（飼料安全法第25条）。
- ④ 抗菌性飼料添加物のうち抗生物質については、飼料安全法第5条に規定する特定飼料等に該当し、(独)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、対象家畜等及び含有する飼料添加物の名称、量、使用上の注意等を表示しなければならない。
- ⑥ 抗菌性飼料添加物を含む飼料は、搾乳中の牛、産卵中の鶏又はうずら、食用にと殺する前の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。

アビラマイシンの原体は「飼料級」すなわち発酵培地から抽出を行わず、そのまま濃縮、乾燥させたものとして指定を受けている。

また、本品の規格には力価のほか、アビラマイシン A 含有比率が 60%以上と定められている。

#### (1) 対象飼料及び添加量

アビラマイシンの添加が認められている飼料の種類及び添加量は、以下のとおりである。

対象飼料	鶏(ブロイラーを除く。)用	ブロイラー用		豚用	
	幼すう用 中すう用	前期用	後期用	ほ乳期用	子豚期用
添加量(g 力価/トン)	2.5～10	2.5～10	2.5～10	10～40	5～40

注) うずら用は鶏用に準じて使用される。

(2) 同一飼料に二つ以上の飼料添加物を用いる場合の規制

抗菌性飼料添加物は、以下の四つのカテゴリーに分類されている。

次の表の同一欄内の二つ以上の飼料添加物は、同一飼料に併用してはならない。

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

以上の規制及び各抗菌性飼料添加物の対象家畜を整理すると、アビラマイシンと併用可能である抗菌性飼料添加物は以下のとおりである。

各区分より1種類ずつ併用が可能である。(飼料1トンあたりの添加量)

区分	飼料添加物名	単位	鶏(ブロイラーを除く。)用	ブロイラー用		豚用	
			幼すう用 中すう用	前期用	後期用	ほ乳期用	子豚期用
第1欄	サリノマイシンナトリウム	g 力価	50	50	50	—	—
	センデュラマイシンナトリウム	g 力価	25	25	25	—	—
	ナラシン	g 力価	80	80	80	—	—
	モネンシンナトリウム	g 力価	80	80	80	—	—
	ラサロシドナトリウム	g 力価	75	75	75	—	—
	アンプロリウム・エトパペート	g	アンプロリウム 40~250 エトパペート 2.56~16	40~250 2.56~16	40~250 2.56~16	—	—
	アンプロリウム・エトパペート・スルファキノキサリン	g	アンプロリウム 100 エトパペート 5 スルファキノキサリン 60	100 5 60	100 5 60	—	—
	デコキネート	g	20~40	20~40	20~40	—	—
	ナイカルバジン	g	—	100	—	—	—
	ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム	g	40	40	40	—	—

第2欄	クエン酸モランテル	g	—	—	—	30	30
第4欄	ビコザマイシン	g 力価	5~20	5~20	5~20	5~20	5~20
	硫酸コリスチン	g 力価	2~20	2~20	2~20	2~40	2~20

上記の併用については、現在のところ鶏では第1欄のナラシン、サリノマイシンナトリウム又はラサロドナトリウムのいずれか、豚では第4欄のコリスチン又は第2欄のクエン酸モランテルとの併用が一般的である。

飼料中の添加量が規定の範囲内であることの確認は（独）農林水産消費安全技術センターが飼料製造業者に対して行う立入検査の際に行われており、農場におけるアピラマイシン添加飼料の家畜等への使用制限（産卵中の鶏又はうずら、食用を目的としてと殺する前7日間の豚、鶏又はうずらへの使用禁止等）については、各都道府県がその遵守状況を確認することとなっている。

### （3）アピラマイシンの使用量

1992年に飼料添加物として指定されて以来、現在まで製造販売が行われている。検定合格数量には数年ごとに変動しており、これは飼料添加物の使用に当たってのローテーションとも関連しているとも考えられるが、2004年までピーク時は15トン程度、最低時は5トン程度の間で推移していた。2005年以降は、17~23トン程度で推移している。本剤は豚用としての使用が多かったものの、近年は鶏向けの使用が増加する傾向にある。（参照12、13）

## 3. 海外における評価、規制の状況等

アピラマイシンは、現在、オーストラリア、ニュージーランド、メキシコ、ブラジル、中国、韓国、東南アジア諸国その他で豚又は鶏向けに使用されている。いずれの国においても獣医師による処方が必要で、飼料工場における添加が可能であるが、国により疾病の予防的な効能（豚では下痢症の制御、鶏では壊死性腸炎の制御）と成長促進（生産性改善）の効能で分けられており、疾病の予防的な効能が順次増える傾向にある。

なお、欧州連合（EU）では飼料添加物に関する改正法令（EC）No 1831/2003の導入により、2006年より抗菌性飼料添加物の区分が廃止されたことを受けて成長促進目的での使用が禁止されている。また、米国においては治療・制御的な効能を目的として、現在、動物用医薬品としての承認申請中である。

薬剤耐性リスク評価については、EUにおける抗菌性成長促進剤全般における評価（参照14、15）や、その他の国における全般的な耐性菌リスク評価（参照16、17）の中での評価がなされた経緯はあるものの、アピラマイシン単独での評価は行われていない。評価の結果、EUでは成長促進目的での抗菌性物質の使用を中止している。一方、オーストラリア及びニュージーランドでの評価では特段の指摘はなく、継続して使用されている。

#### 4. 対象家畜等における動物用抗菌性物質の生体内薬物動態

アビラマイシンは豚及び鶏に対し飼料添加により経口的に投与される。その後、腸管を第一の標的部位として消化管内の細菌叢に対して作用するが、血液中への吸収はほとんど起こらず、組織への分布についても限られたものである。そのため、通常非経口投与や経口投与で求められる薬物動態パラメータについては検討されておらず、僅かに吸収される部分については分布、代謝及び排泄について検討されている。

これら一連の試験の結果、ラットでは糞中に排泄された総放射活性中の未変化のアビラマイシン割合が高かった。これはラットの腸管が短く、アビラマイシンが加水分解を受ける時間が短いためであると推定された。アビラマイシンは試験で用いたラット、豚又は鶏のいずれの動物種についても全身への吸収はほとんどないこと、代謝様式はこれらの動物種において本質的な差はないこと、各種の臓器、組織から検出されるものは代謝物のみで、未変化体は検出されないこと、消化管で多数の代謝物に代謝され、糞便中への活性成分の排泄はごく僅かであること等が判明した。

##### (1) 吸収・排泄

###### ① ラット

ラット (SD 系、雌雄各 3 匹、体重：雄 248～265 g、雌 214～222 g) に  $^{14}\text{C}$  標識アビラマイシンの 100 mg/kg 体重相当量を 3 日間連続経口投与した。その結果、最終投与後 24 時間以内に放射活性の 90%以上が糞中に排泄され、尿中への排泄は 0.2%未満であった。(参照 18)

###### ② 豚

- a. 子豚 (交雑種 (LWD)、雄雌各 22 頭、約 30 日齢) を用い、アビラマイシン製剤をアビラマイシンとして 40、200 又は 400 ppm の濃度で飼料に添加して投与し、投与期間中 (投与開始 6 週後) 及び投与終了時 (投与開始 12 週後) に採血及び組織の採材を行った。アビラマイシンを投与したいずれの豚の血漿においてもアビラマイシンは検出されなかった (検出限界 0.025 ppm)。(参照 19)
- b. 子豚 17 頭 (交雑種 (LW)、去勢雄、平均体重 7.4 kg、8 頭/薬剤投与群) を用い、アビラマイシン製剤をアビラマイシンとして 40 又は 400 ppm の濃度で飼料に添加して投与し、投与期間中 (投与開始 6 週後) 及び投与終了時 (投与開始 12 週後) に採血及び組織の採材を行った。アビラマイシンを投与したいずれの豚の血清からもアビラマイシンは検出されなかった (検出限界 0.025 ppm)。(参照 20)
- c. 豚 (交雑種、未経産雌 2 頭、約 40 kg) に、アビラマイシンを 60 ppm の濃度で 7 日間、飼料に添加して投与した。投与最終日に  $^{14}\text{C}$  標識アビラマイシン 120 mg を単回混餌投与した後、翌日からは無添加飼料を給与して糞尿中の放射活性を調べた。2 頭はそれぞれ総放射活性の 96～98%を最初の 4 日間に排泄し、9 日間では 97～99%を排泄した。(参照 21)

- d. 豚（交雑種、去勢雄 5 頭、未経産雌 4 頭、体重約 44 kg）に  $^{14}\text{C}$  標識アビラマイシンを 80 ppm の濃度で 10 日間飼料に添加して投与した。排泄物中の放射活性中、主要なものは代謝物 B（フランビック酸）であり、排泄された放射活性の 40~50% を占めていた。（参照 1、4）各種機器分析によって代謝物 A は図 2 のように構造決定された。代謝物 B は本来酸性で、時間経過とともに代謝物 A に変化することが観察された。このような特性と代謝物 A の構造から、代謝物 B は図 2 の構造であると推定された。なお、代謝物 A 及び B の肝臓における放射活性物の残留量と肝臓の残留物のバイオオートグラフィーとの比較から、これらの代謝物はともに抗菌力を持たないと考えられている。（参照 1、4）排泄物中のアビラマイシンは、排泄された総放射活性の 5% 以下であった。（参照 22）



図 2 代謝物 A 及び B の構造式

### ③ 鶏

- a. 肉用鶏初生ヒナ（アーバーエーカー、雄雌各 104 羽）を用い、アビラマイシン製剤をアビラマイシンとして 20、100 又は 200 ppm の濃度で 8 週間、飼料に添加して投与し、投与期間中（4 週齢終了時）及び投与終了時（8 週齢終了時）に採血及び組織の採材を行った。アビラマイシンを投与したいずれの鶏の血漿中からもアビラマイシンは検出されなかった（検出限界 0.025 ppm）。（参照 23）
- b. 肉用鶏初生ヒナ（アーバーエーカー）135 羽を用い、アビラマイシン製剤をアビラマイシンとして 10 又は 200 ppm の濃度で 8 週間、飼料に添加して投与し、投与期間中（4 週齢終了時）及び投与終了時（8 週齢終了時）に採血及び組織の採材を行った。アビラマイシンを投与したいずれの鶏の血清中からもアビラマイシンは検出されなかった（検出限界 0.025 ppm）。（参照 24）
- c. 肉用鶏（ハバード）にアビラマイシン製剤をアビラマイシンとして 20 ppm の濃度で 8 週間飼料に添加して投与した。投与 4 週目及び投与終了時に採取した鶏の小腸内容物中のアビラマイシン濃度は 0.57~1.43 ppm であった。しかし、それ以外の肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚の各組織からはアビラマイシンは検出されず（検出限界 0.025 ppm）、アビラマイシンは消化管から吸収されにくい物質であると考えられた。（参照 25）
- d. 肉用鶏（6~8 週齢、雌雄各 2 羽）にアビラマイシンを 20 ppm の濃度で 7 日間

飼料に添加して投与し、投与最終日に1羽当たり<sup>14</sup>C標識アビラマイシン4mgを強制経口投与した。その翌日から無添加飼料を給与し、糞中の放射活性を調べた。各鶏とも<sup>14</sup>C標識アビラマイシンの投与24時間以内に投与した総放射活性の50~78%以上を排泄し、投与4日後までに78~96%を排泄した。排泄について雌雄に差はみられなかった。(参照26)

## (2) 分布・蓄積

### ① 豚

a. 豚(交雑種、去勢雄5頭及び未経産雌4頭、体重約44kg)に<sup>14</sup>C標識アビラマイシンを80ppmの濃度で、4日間、7日間又は10日間、飼料に添加して投与した。最終投与の6時間後に豚を安楽死処置し、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び胆汁を採取して放射活性の分布を調べた。10日間投与した後の放射活性の分布は、肝臓、腎臓及び脂肪において、それぞれアビラマイシン換算として0.22、0.10及び0.12ppmであった。筋肉では検出限界(0.025ppm)未満であった。筋肉、肝臓及び腎臓においては、投与4日と投与7日及び10日とで放射活性に差はなく、蓄積性はなかった。また、腎臓及び脂肪ともに、親化合物アビラマイシンは検出されず、肝臓において0.05ppm未満であった。抽出可能な放射活性抽出物は肝臓で70~85%であった。(参照27)

b. aにおいて、脂肪中の放射活性が10日間の投与後も定常状態に達しなかったため、脂肪中の放射活性物質を抽出、精製し、放射活性を有する画分の特性を調べた。この放射活性の画分にはアビラマイシン及びその代謝物と考えられるものは存在しなかった。このことから脂肪中の放射活性が定常状態に達せず増加するのは、アビラマイシンが分解された後、標識された脂肪酸部位がトリグリセリドの生合成に利用されたためと考えられた。(参照28)

c. 豚(交雑種、去勢雄3頭及び未経産雌2頭、体重約46kg)に<sup>14</sup>C標識アビラマイシン80ppmを7日間飼料に添加して投与し、休薬0日、3日及び5日に筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪を採取して放射活性の消失状況を調べた。休薬3日目では肝臓及び筋肉で検出限界(肝臓:0.033ppm、筋肉:0.024ppm)以下となり、腎臓及び脂肪でそれぞれ0.024及び0.053ppmとなった。休薬5日目には腎臓で検出限界(0.017ppm)未満及び0.025ppmとなり、脂肪では0.048ppmであった。(参照29)

### ② 鶏

肉用鶏(7週齢、雌雄各2羽/群)に、<sup>14</sup>C標識アビラマイシンを15ppmの濃度で4日間、7日間又は10日間飼料添加投与した。最終投与の6時間後に筋肉、肝臓、腹部脂肪、腎臓及び皮下脂肪のついた皮膚を採取して放射活性の分布を調べた。10日間投与した鶏での放射活性の分布は、皮膚、肝臓及び脂肪において、それぞれアビラマイシン換算として0.018、0.022及び0.024ppmであった。筋肉と腎臓で

は検出限界（0.008 及び 0.024 ppm）以下であった。いずれの臓器、組織においても、投与 4 日又は 7 日で放射活性は検出限界値付近の値を示すか検出限界以下となり、蓄積性はなかった。また、いずれの臓器・組織内とも総残留放射活性は低く、鶏に本剤を経口投与してもほとんど吸収されないことが示された。（参照 30）

### （3）代謝

#### ① ラット

ラットに<sup>14</sup>C 標識アビラマイシンを 100 mg/kg 体重/日等量で 3 日間連続経口投与した。糞中の放射活性のほとんど全ては中性及び酸性で酢酸エチルに抽出された。中性画分には総放射活性の 85～87%が、酸性画分には 12～14%が含まれていた。薄層クロマトグラフィーにより、中性画分の 40～60%が未変化のアビラマイシン A 又は B でその他未同定の極性代謝物が 10～30%であった。酸性画分では、主要な活性物質は代謝物 A であり、酸性画分の 30～60%に相当した。さらに未同定の代謝物（代謝物 B と考えられる）が 10～30%検出された（図 2）。（参照 18）

#### ② 豚

豚（交雑種、去勢雄 5 頭及び未経産雌 4 頭、体重約 44 kg）に<sup>14</sup>C 標識アビラマイシンを 80 ppm の濃度で 7 日間又は 10 日間飼料添加投与し、排泄物及び肝臓中から放射活性物質を抽出、精製し、代謝物を調べた。排泄物及び肝臓からの放射活性物質の抽出は良好で、それぞれ 90 及び 80%であった。排泄物中から、放射活性の 40～50%を占める代謝物 B が分離された。肝臓中には代謝物 B が存在し、肝臓中の放射活性の 15～20%を占めていたが、未変化体のアビラマイシンは検出されなかった。（参照 1、4）

#### ③ 代謝のまとめ

ラットでは、豚に比べ糞中に排泄された総放射活性に含まれる未変化体のアビラマイシンの割合が高かったが、これはラットの腸管が短く、アビラマイシンが腸管内で加水分解を受ける時間が短いためであると推定された。アビラマイシンの代謝様式は豚とラットにおいて違いはなく、主要な代謝物は C 環と D 環とのオルトエステルが加水分解した代謝物 A 及び B と考えられた。

## 5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ

### （1）作用機序

アビラマイシン及び同系統のエバニノマイシン類は他の抗菌性物質の系統とは異なる機序で細菌のタンパク合成を阻害する。アビラマイシンは当初、細菌のリボソーム 30S サブユニットと結合すると考えられていた。（参照 31）しかし、近年、アビラマイシンと交差耐性を示すエバニミシンについて抗菌活性の作用機序が調査された。エバニミシンはリボソーム 50S サブユニット中の 23S rRNA のドメイン V のヘリックス 89 及び 91 並びに近接する L16 リボソームタンパクと特異的に結合することが、耐性変異株に関する生化学的及び分子遺伝学的手法を用いた解析によって認められた。



(参照 11、32~41) また、アビラマイシンについても同様の作用機序であることが確認されている。(参照 35、38)

アビラマイシンやエバニミシンと結合する 23S rRNA のその詳細な部位は両薬剤のフットプリンティング (footprinting) 法により確認された。(参照 11、35) 両薬剤の 23S rRNA への結合部位は近接しており、23S rRNA のヘリックス 89 及び 91 内にある。しかし、この領域内においてエバニミシンの方がアデニン残基部分をよりブロックし、より強く結合すると推定される。(参照 11、35)

また、L16 リボソームタンパクは 23S rRNA のヘリックス 89 と会合し、その会合部位はアビラマイシン及びエバニミシンの結合部位と一致していることが核磁気共鳴 (NMR) を用いた構造解析によって確認されている。(参照 41)

以上のように、アビラマイシン及びエバニミシンは、これらの部位と結合して翻訳開始因子 2 (IF2) と 23S rRNA との会合を阻害し、引き続く翻訳開始過程の 70S 開始複合体の形成を阻害して、タンパク合成の翻訳開始を阻害する。

アビラマイシンやエバニミシンのリボソームの結合部位及び細菌のタンパク合成過程における作用点は、マクロライド (50S サブユニットに含まれる 23S rRNA のドメイン V の 2058 位及び 2059 位に可逆的に結合し、ペプチジル tRNA の転移反応 (14 員環マクロライド) 及びペプチジル転移反応 (16 員環マクロライド) を阻害する。)

(参照 42) や、クロラムフェニコール (23S rRNA のドメイン V の 2058 位、2611 位及び 2612 位並びにドメイン II の 747 位に結合し、ペプチジルトランスフェラーゼを阻害する。)(参照 43) とは異なる。オキサゾリジノン系のリネゾリドの主な結合部位は、ドメイン V の 2503 位から 2505 位までであることが明らかとなっているが、その他の結合部位として、また、リネゾリド耐性株の 23S rRNA の点突然変異の一部位として 2534 位が、耐性を付与するメチル化酵素の標的部位として 2535 位が報告されている。(参照 44~46) 一方、アビラマイシン耐性株の点突然変異の部位としてこれらの部位と同一又は近接した 2535 位及び 2536 位が報告されており、リネゾリドとアビラマイシンが交差耐性を示す可能性は否定できない。ただし、現時点ではオルトソマイシン耐性変異株について、他系統の抗菌性物質との交差耐性は認められず、また、他系統のタンパク合成阻害剤に対する耐性株もオルトソマイシン系抗生物質に交差耐性を示していない。(参照 32、33、38、47)

## (2) 作用のタイプ

*Clostridium perfringens* での検討の結果、アビラマイシンは高濃度では殺菌的に作用するものの、MIC レベルでは静菌的に作用することが認められている。(参照 48)

## 6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布

### (1) アビラマイシンの抗菌スペクトル

表 1 及び 2 に示すように、アビラマイシンは、*Staphylococcus aureus*、*Streptococcus* spp. 等のグラム陽性通性嫌気性菌、*Bacillus* spp.、*Clostridium* spp. 等のグラム陽性好気性及び嫌気性の芽胞形成菌等に対し活性を有する。一方、ほとんどのグラム陰性菌はアビラマイシンに自然耐性を示す。(参照 6、49) それは本系統の物質がグラム陰

性菌の外膜を透過することがほとんどできないため、標的部位に薬剤が到達できないことによる。(参照 36)

表 1 アビラマイシンの抗菌スペクトル

菌種	株数	MIC 範囲( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
グラム陽性菌		
<i>Bacillus</i> spp.	3	0.025-0.4
<i>Clostridium</i> spp.	3	<0.0125-0.1
<i>Corynebacterium bovis</i>	1	1.6
<i>Streptococcus faecalis</i> ( <i>Enterococcus faecalis</i> )	3	0.4-0.8
<i>Lactobacillus</i> spp.	5	0.025-1.6
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0.2
<i>Micrococcus luteus</i>	3	0.025-0.1
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	0.4-1.6
<i>Streptococcus</i> spp.	11	0.025-1.6
グラム陰性菌		
<i>Enterobacter</i> spp.	4	>100
<i>Escherichia coli</i>	7	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	>100
<i>Proteus</i> spp.	4	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	>100
<i>Salmonella</i> spp.	6	>100
<i>Shigella flexneri</i>	1	>100
<i>Treponema hyodysenteriae</i>	8	15-40

表 2 アビラマイシンの標準株等に対する抗菌スペクトル

菌種	株数	MIC 範囲( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
グラム陽性菌		
<i>Staphylococcus</i> spp.	3	0.78- 3.12
<i>Streptococcus</i> spp.	3	1.56-12.5
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	1	3.12
<i>Bacillus</i> spp.	2	3.12
<i>Corynebacterium pyogenes</i> ATCC 19411	1	0.78
<i>Sarcia lutea</i> ( <i>Micrococcus luteus</i> ) ATCC 9341	1	3.12
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> FUJISAWA	1	0.39
グラム陰性菌		
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	1	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 100311	1	>100
<i>Salmonella</i> spp.	4	>100
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 19906	1	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	1	>100

<i>Bordetella bronchiseptica</i> S-1	1	100
<i>Haemophilus (Avibacterium) paragallinarum</i> 221	1	6.25

アビラマイシン A 及び B は、*Clostridium perfringens*、*Lactobacillus casei*、*S. aureus* 及び *Enterococcus faecalis* に対して、アビラマイシン C 及び D よりも強い抗菌活性を示した。また、アビラマイシン A は、*Clostridium* 及び *Streptococcus* に対し B よりも強い抗菌活性を示し、一方、アビラマイシン B は *Staphylococcus* に対して強い抗菌活性を示した。(参照 6)

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

日本ではアビラマイシンは飼料添加物として指定されており、対象とする家畜等の病原菌はない。

## (3) 指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対する MIC の分布

アビラマイシンを使用することが可能である家畜等、すなわち豚及び鶏に由来する食品媒介性病原細菌としては、カンピロバクター、サルモネラ及び *C. perfringens* がある。また、薬剤感受性の指標細菌として重要なものは大腸菌及び腸球菌である。しかし、サルモネラ及び大腸菌はアビラマイシンに対し自然耐性を示す。また、本剤がカンピロバクターに対して抗菌活性を示す報告は、現時点では知られていない。

アビラマイシンに感受性を示す腸球菌及び *C. perfringens* について、家畜に由来する腸球菌及び *C. perfringens* の野外株に対するアビラマイシンの MIC の分布は次のとおりである。

### ① 腸球菌

豚及び鶏由来腸球菌に対するアビラマイシンの MIC 分布を、それぞれ表 3 及び 4 に示した。また、国内において、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実施した抗菌剤感受性調査における動物由来腸球菌のアビラマイシンに対する感受性状況を表 5 に示した。日本国内の腸球菌の感受性動向では、MIC<sub>50</sub> (50%の菌株の増殖を阻止する MIC) 及び MIC<sub>90</sub> (90%の菌株の増殖を阻止する MIC) の値の変化は小さく、耐性率が上昇する傾向にはない。(参照 50)

表3 豚から分離された腸球菌のアビラマイシン耐性状況

分離国	株数	分離年	試験法	MIC 範囲(μg/mL)	耐性率 (%)	ブレークポイント (μg/mL)	引用文献
<i>E. faecium</i>							
デンマーク	55	1997	寒天平板法	1-32	1.8	16	参照 51
"	88	1998	寒天平板法	0.5-2	0	16	参照 52
"	182	2000	液体希釈法	1-4	0	16	参照 53
"	175	2001	液体希釈法	1-4	0	16	参照 53
"	194	2002	液体希釈法	1-4	0	16	参照 53
"	175	2003	液体希釈法	1-4	0	16	参照 53
"	148	2004	液体希釈法	2-8	0	16	参照 53
"	105	2005	液体希釈法	2-4	0	16	参照 53
"	145	2006	液体希釈法	2	0	16	参照 53
"	153	2007	液体希釈法	2-4	0	32	参照 53
"	145	2008	液体希釈法	4-16	0	32	参照 53
"	151	2009	液体希釈法	4-8	0	32	参照 53
"	133	2010	液体希釈法	4-8	0	32	参照 53
フィンランド	43	1996	寒天平板法	0.5-1	0	16	参照 51
ノルウェー	4	1995-1996	寒天平板法	0.5-1	0	16	参照 51
英国	80	—	寒天平板法	1-2	0	—	参照 54
<i>E. faecalis</i>							
デンマーク	102	1998	寒天平板法	0.5-128	1	16	参照 52
"	196	2000	液体希釈法	1->32	1	16	参照 53
"	184	2001	液体希釈法	1-64	0	16	参照 53
"	238	2002	液体希釈法	1-4	0	16	参照 53
"	207	2003	液体希釈法	1-16	0.5	16	参照 53
"	153	2004	液体希釈法	2-32	1.4	16	参照 53
"	119	2005	液体希釈法	2-4	0	16	参照 53
"	154	2006	液体希釈法	2-4	0	16	参照 53
"	148	2007	液体希釈法	2	0	16	参照 53
"	149	2008	液体希釈法	4-16	0.7	16	参照 53
"	133	2009	液体希釈法	4	0	16	参照 53
"	157	2010	液体希釈法	4	0	16	参照 53

表4 鶏から分離された腸球菌のアビラマイシン耐性状況

分離国	株数	分離年	試験法	MIC 範囲(μg/mL)	耐性率 (%)	ブレイクポイント (μg/mL)	引用文献
<i>E. faecium</i>							
デンマーク	211	1997	寒天平板法	0.5->128	65.4	16	参照 51
〃	122	1998	寒天平板法	0.5-256	35	16	参照 52
〃	189	2000	液体希釈法	1->32	5	16	参照 53
〃	131	2001	液体希釈法	1-64	4.6	16	参照 53
〃	102	2002	液体希釈法	1-64	9.8	16	参照 53
〃	123	2003	液体希釈法	1-64	6.5	16	参照 53
〃	135	2004	液体希釈法	2-64	6.7	16	参照 53
〃	131	2005	液体希釈法	2-32	2.3	16	参照 53
〃	72	2006	液体希釈法	2-32	12.5	16	参照 53
〃	64	2007	液体希釈法	2-32	3.1	32	参照 53
〃	51	2008	液体希釈法	2-32	2	32	参照 53
〃	43	2009	液体希釈法	4-64	7	32	参照 53
〃	119	2010	液体希釈法	4-16	0	32	参照 53
フィンランド	52	1996	寒天平板法	≤0.5-1	0	16	参照 51
日本	153	1996	寒天平板法	0.78->100	12.4	25	参照 55
ノルウェー	55	1995-1997	寒天平板法	0.5-2	0	6	参照 51
<i>E. faecalis</i>							
デンマーク	126	1998	寒天平板法	0.125-4	0	16	参照 52
〃	93	2000	液体希釈法	1-4	0	8	参照 53
〃	82	2001	液体希釈法	1-2	0	16	参照 53
〃	69	2002	液体希釈法	1-4	0	16	参照 53
〃	66	2003	液体希釈法	1-8	0	16	参照 53
〃	82	2004	液体希釈法	2-4	0	16	参照 53
〃	54	2005	液体希釈法	2	0	16	参照 53
〃	45	2006	液体希釈法	2-4	0	16	参照 53
〃	57	2007	液体希釈法	2-4	0	16	参照 53
〃	49	2008	液体希釈法	2-4	0	16	参照 53
〃	19	2009	液体希釈法	4	0	16	参照 53
〃	112	2010	液体希釈法	4	0	16	参照 53
日本	78	1996	寒天平板法	1.56-6.25	0	25	参照 55
<i>Enterococcus</i> spp.							
ニュージーランド*	382	2002-2003	液体希釈法	—	14.9	8	参照 56

\*分離された *Enterococcus* 属菌の MIC をまとめて評価。対象菌株には *E.faecalis*、*E.faecium*、その他の *Enterococcus* が含まれる。

表5 日本国内で動物から分離された腸球菌に対するアビラマイシンの耐性動向

年度	範囲( $\mu\text{g/mL}$ )	MIC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	MIC <sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	ブレイク ポイント ( $\mu\text{g/mL}$ )	供試株数	耐性株数	耐性率 (%)
2000*	$\leq 0.05 \cdot \geq 100$	1.56	12.5	12.5	567	64	10.7
2001	$0.25 \cdot \geq 128$	1	2	8	302	6	2.0
2002	$\leq 0.06 \cdot 128 \leq$	2	4	8	246	20	8.1
2003	$0.5 \cdot 256$	2	8	4	286	53	18.5
2004	$1 \cdot 128$	2	8	16	513	39	7.6
2005	$0.25 \cdot \geq 128$	2	4	16	562	45	8.0
2006	$0.5 \cdot \geq 128$	2	8	16	421	37	8.7
2007	$\leq 0.125 \cdot \geq 128$	2	8	16	424	37	8.7
2008	$\leq 0.125 > 128$	2	16	16	642	68	10.6
2009	$0.25 > 128$	2	8	16	566	36	6.4

\* 2000年のMICの分布は二峰性を示さず、ブレイクポイントは設定されなかったため、MIC12.5 $\mu\text{g/mL}$ 以上を示した株数及びその割合を参考値として示す。また、MIC<sub>50</sub>及びMIC<sub>90</sub>はMICの分布から算出した。

## ② *C. perfringens*

アビラマイシンは、*Clostridium* 属を含むグラム陽性菌に抗菌活性を示す。(参照57) 特に、表6に示すように、鶏及び七面鳥から分離された *C. perfringens* に対するMICは $\leq 0.06 \sim 8 \mu\text{g/mL}$ を示しており、耐性化の傾向は認められなかった。(参照58、59)

表6 *C. perfringens* に対するアビラマイシンのMIC

国	由来	株数	分離年	MIC 範囲 ( $\mu\text{g/mL}$ )	引用文献
米国	鶏	26	記載なし	$\leq 0.06 \sim 0.5$	参照 58
	七面鳥	22	記載なし	$\leq 0.06 \sim 0.5$	参照 58
スウェーデン	鶏及び七面鳥	58	2000~2001	1~8	参照 59
ノルウェー	鶏及び七面鳥	24	主に 1996~ 2001	1~2	参照 59
デンマーク	鶏及び七面鳥	20	1997~2002	1~4	参照 59

## 7. 交差耐性を生じる可能性のあるヒト用抗菌性物質及びその重要性

### (1) ヒト用抗菌性物質との交差耐性について

アビラマイシン及びエバニノマイシンが属するオルトソマイシン系抗生物質は、ヒトの医療では使用されておらず、ヒト用に使用される他の系統の抗生物質とは構造的にも作用機序的にも類似性はない。

アビラマイシンは、エバニノマイシンを含む他のオルトソマイシン系抗生物質との

間では交差耐性を示す。(参照 60) しかし、既に述べたようにアビラマイシンとエバニミシンの作用機序は特徴的であり、ヒトの医療上用いられる他のいかなる系統の抗生物質とも交差耐性を示さない。(参照 32、33、47) また、共耐性についても現在までのところ知られておらず、その作用機序や周知の耐性機序や遺伝子学的検討からも、アビラマイシンを家畜に使用することによって起こり得る、ヒト用抗菌性物質との交差耐性や共耐性の可能性は低いと考えられる。

## (2) ヒト用抗菌性物質としての重要性について

エバニミシンを含むエバニノマイシンは 40 年来ヒト用治療薬としての開発が検討されてきた薬剤であり、臨床的に重要ないくつかのグラム陽性菌に対する優れた抗菌活性が注目されていた。特に、数年前にエバニノマイシンの一つであるエバニミシンのヒトへの応用が考慮されたときには、アビラマイシンの動物への使用について、薬剤耐性菌の観点から懸念が生じた。これは、ヨーロッパやアジアにおいて食用動物に成長促進目的で使用されてきたアボパルシンによって、家畜の腸内でバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) が選択され、それがヒトに伝達されて VRE 感染症の原因となっている可能性と同様に、アビラマイシンの動物への使用により生じた耐性菌がヒトに移行し、エバニミシン耐性を示すことによりヒトでの治療効果の低下、とりわけヒト医療上重要な腸球菌等のグラム陽性菌における耐性菌の出現により、ヒトの感染症治療の治療薬として期待されるエバニミシンの抗菌効果の低下が起こるのではないかとの懸念によるものである。(参照 60)

初期の検討では、エバニノマイシン A、B、C、D 及び E について試験が行われたが、実験動物で不可逆性の腎毒性のあることが明らかになっている。(参照 9、47、61、62) その後、直近の開発品目であったエバニミシンに関しては、*in vitro* 抗菌活性、動物試験及びヒトの初期臨床試験が実施され、その効果と忍容性のバランスから期待がもたれた。(参照 63) しかし、第三相臨床試験においてその効果と安全性のバランスからエバニミシンの開発は中止され、本系統の抗菌性物質についての開発は断念されている。(参照 10) 現在のところ、エバニミシンの開発再開についての新しい情報はなく、また、同系統の新規物質の開発についての情報もない。そのため、現時点において入手できる情報では、オルトソマイシン系抗生物質のヒトへの応用については検討されていないと考えられる。

## 8. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報

### (1) 耐性獲得に関する試験

#### ① *in vitro* 試験

アビラマイシンの耐性獲得性について *S. aureus* FDA209 株及び *Streptococcus pyogenes* S8DHI 株を用い、液体培地を用いた継代培養によって試験が行われた。その結果、*S. aureus* FDA209 株は 10 代培養で、また *S. pyogenes* S8 DHI 株は 4 代培養で耐性を獲得した。また、耐性獲得後、アビラマイシンを含まない培地で 40 代まで継代培養したが、両株とも耐性を消失することはなかった。(参照 49)

## ② *in vivo* 試験

豚を用い、哺育期の前半にアビラマイシン (20 ppm) を、後半にタイロシンを飼料に添加して投与し、分離される *E. faecium* の感受性について調査した。分離された腸球菌 600 株から *E. faecium* と同定された菌株を投与群、対照群それぞれ 40 株ずつ選出し、MIC を測定した。その結果、投与群と対照群とで *E. faecium* に対するアビラマイシンの MIC に差はみられず、これらの抗菌剤添加の影響が最小限であることが示された。(参照 54)

## (2) 交差耐性に関する試験

### ① *in vitro* 試験

アビラマイシンの耐性獲得性について、動物由来の *C. perfringens*、*S. aureus*、糞便由来レンサ球菌及び *Bacteroides* spp. を用い、寒天平板による継代培養によって試験が行われた。その結果、*Bacteroides* spp. 及び数種の *S. aureus* は 2 回の二次培養後に耐性を獲得した。残りの *S. aureus*、レンサ球菌は 3~5 回の二次培養後に徐々に耐性を獲得し、*C. perfringens* は耐性を獲得しなかった。アビラマイシンに対して耐性を獲得したこれらの株について他系統の抗菌性物質 (テトラサイクリン、ベンジルペニシリン、エリスロマイシン及びクロラムフェニコール) に対する感受性を調べたが、いずれの薬剤に対しても交差耐性は認められなかった。(参照 64)

### ② *in vivo* 試験

豚にアビラマイシン製剤をアビラマイシンとして 10~40 ppm の濃度で 84 日間、また、肉用鶏には 2.5~10 ppm の濃度で 56 日間、それぞれ飼料に添加して投与した。次いで、アビラマイシン無添加飼料をそれぞれ 7 日間給与した。1 週間おきに直腸便から大腸菌を分離して各系統の抗菌性物質 (アミノベンジルペニシリン、ジヒドロストレプトマイシン、カナマイシン、オキシテトラサイクリン及びクロラムフェニコール) に対する耐性大腸菌数と総大腸菌数との割合を調べた。その結果、耐性割合は採取時期によってばらつくものの、一定の傾向はみられなかった。アビラマイシンの投与によっても大腸菌のこれら薬剤に対する耐性獲得に影響はなかった。(参照 49)

アビラマイシン製剤をアビラマイシンとして 20 ppm 又は 100 ppm の濃度で豚に 12 週間飼料に添加して投与した。腸内の大腸菌、腸球菌、乳酸菌、*Clostridium* 及び *Bacteroides* についての耐性状況を対照群と比較した。調査した菌種の中で腸球菌はアビラマイシンに対する耐性を獲得したが、他系統の抗菌性物質 (ペニシリン、アンピシリン、オキシテトラサイクリン及びクロラムフェニコール) に対する感受性には影響が認められなかった。その他の菌種については耐性率の上昇はみられなかった。豚の育成期へのアビラマイシンの飼料添加投与は、検討した 5 種のグラム陽性、陰性の腸内細菌に対し交差耐性の選択を引き起こさないと結論された。(参照 65)



### (3) 薬剤耐性及び耐性決定因子の機序

アビラマイシンやエバニミシン等のオルトソマイシン系抗生物質のグラム陽性菌に対する耐性獲得は薬剤標的部位の変化によるものであり、リボソーム 50S サブユニットの薬剤結合部位が変化し、薬剤の結合親和性が低下することが知られている。アビラマイシン及びエバニミシンは、細菌細胞内の 50S リボソーム中にある 23S rRNA 及び L16 リボソームタンパクと結合することによって生命活動に必須な細菌のタンパク合成におけるペプチド伸張過程を阻害すると考えられている。(参照 11、35) 耐性獲得菌では薬剤の結合部位が変化して薬剤の結合が阻害されることによって、タンパク合成能が維持される。

この薬剤結合部位と耐性化の詳細な機序についてはまずエバニミシンについて検討され、50S サブユニット中の 23S rRNA サブユニットのヘリックス 89、91 及び L16 リボソームタンパクが関与することが示された。(参照 11) 次いで、アビラマイシンも同様の結合部位でリボソーム 50S に結合することが確認されている。(参照 35)

以下にその詳細をまとめた。

- *Streptococcus pneumoniae*、*S. aureus* 又は *Halobacterium halobium* の薬剤耐性変異株を用いた試験の結果、耐性変異株は L16 タンパクをエンコードした遺伝子 *rplP* の変異及び／又は 23S rRNA 遺伝子の変異を保有し、そのためリボソームのオルトソマイシン系抗生物質に対する標的部位の薬剤結合親和性が低下する。(参照 11、32、33、35、37) 動物由来の腸球菌を用いた検討でも、*rplP* 又は 23S rRNA 遺伝子変異によるアビラマイシン及びエバニミシンへの耐性付与が示唆されている。(参照 39、66)
- もうひとつの機序として、メチルトランスフェラーゼによる 23S rRNA のヘリックス 89 のメチル化が示されている。(参照 67) これにより、アビラマイシンとエバニミシンのリボソームへの結合親和性の低下と薬剤耐性化が起こる。メチルトランスフェラーゼをコードする *emtA* 遺伝子はトランスポゾン上に存在し、プラスミドからプラスミドへ伝達可能である。(参照 67、68) また、メチル化はアビラマイシン産生菌である *Streptomyces viridochromogenes* における *aviRa*、*aviRb* 遺伝子によっても発現する。(参照 38、69)
- 動物から分離されたほとんどのアビラマイシン耐性腸球菌株は L16 遺伝子の染色体変異を保有している。(参照 39) 一方、2002 年のデンマークにおける鶏又は豚由来アビラマイシン耐性 *E. faecium* を用いた検討では、23S rRNA のメチル化に関与する *emtA* 遺伝子をプラスミド上に保有し、エバニミシン高度耐性を示す株は 304 株中 4 株 (1.3%) であったことから、本機序による耐性獲得頻度は低いと考えられた。(参照 68)

### (4) 薬剤耐性決定因子の伝達

アビラマイシン使用又は未使用の世界各地から集められたヒト由来腸球菌の数千株についてエバニミシンの感受性が検討されている。(参照 68、70～73) エバニミシンとアビラマイシンは同一の系統に属するため、エバニミシン感受性株割合からアビラマイシン感受性株の割合も類推可能である。404 株中 2 株を除く全てのヒト分離腸

球菌はエバニミシンに十分感受性があり（MIC 1 µg/mL 以下）、同様にアビラマイシンにも感受性があると推定された。この例外となる 2 株はデンマークにおいて 2 例の下痢症状を示した患者から分離された株であり、その 2 患者は入院しておらず、抗生物質治療は受けていなかった。（参照 68）分離された腸球菌株はいずれもアビラマイシンとエバニミシンの両薬剤に対する感受性が調べられており、両薬剤に対し耐性を示すことが確認されている。両耐性株のパルスフィールドゲル電気泳動による解析の結果、両患者間で異なる菌株を保有していたこと、また、ヒトからの分離株は鶏由来のアビラマイシン耐性腸球菌とは関連性がなかったことが明らかとなっている。（参照 68）

鶏由来 4 株及び上述のヒト由来 2 株のアビラマイシン及びエバニミシン耐性腸球菌が *emtA* 遺伝子を保有していることが確認された。しかし、これらは鶏由来株とヒト由来株でサイズの異なるプラスミドに局在することが明らかにされている。本試験で検討された *emtA* 遺伝子保有エバニミシン耐性株からレシピエント株への耐性伝達性を検討した結果、6 株中 5 株で耐性が伝達されたが、これらの株はアビラマイシンの耐性は付与されたものの、バンコマイシンやいくつかの他系統の抗生物質の耐性は付与されなかった（参照 68）。しかし、*emtA* 遺伝子はトランスポゾン上にあり、ヒト及び動物由来菌は同じ耐性遺伝子を共有するため、両者間である程度の頻度で遺伝子交換が起こる可能性はある。（参照 67、68）

## （5）共耐性の可能性

これまでの知見では、アビラマイシン耐性遺伝子と他の抗生物質に耐性を付与する遺伝子との関連性は認められていない。既に述べたとおり、食用動物由来のほとんどのアビラマイシン耐性腸球菌はプラスミド介在の *emtA* 遺伝子によるものではない。

（参照 68、74）さらに、検討を行ったヒト由来の 1 株及び鶏由来株のプラスミド介在性 *emtA* 遺伝子は、他の系統の抗菌性物質耐性遺伝子と関連していない。（参照 68）豚における試験では、アビラマイシンの投与を受けた豚のうち僅かな割合の豚由来株で *emtA* 遺伝子の選択が認められており、本遺伝子の選択によりアビラマイシン耐性腸球菌の定着が想定された。しかし、食用動物に用いられる他系統の抗菌性物質に対する耐性化は認められなかった。（参照 75）疫学調査の結果、鶏由来のバンコマイシン耐性及び感受性の腸球菌におけるアビラマイシンの耐性率は両者間で同等であり、このことからバンコマイシンとの共耐性がないことが示唆される。（参照 50、56）

## 9. ハザードの特定に係る検討

アビラマイシンは 1992 年に飼料添加物として指定されて以来、国内では動物用医薬品及びヒト用医薬品としては用いられておらず、当該物質と化学構造が類似したヒト用抗菌性物質及び交差耐性を示すヒト用抗菌性物質はない。交差耐性に関する試験においても、アビラマイシンを投与した豚及び鶏において、大腸菌の既存抗菌性物質に対する耐性の獲得に影響を及ぼさなかった。2000 年から 2009 年までに農林水産省動物医薬品検査所及び（独）農林水産消費安全技術センターが実施した動物由来腸球菌の抗菌剤感受性調査において耐性菌が報告されているが、MIC<sub>50</sub> 及び MIC<sub>90</sub> の値の変化は小さく、

耐性率が上昇する傾向にはない。アビラマイシンに関する耐性決定因子について、プラスミド上に存在し、他の菌に伝達可能な耐性遺伝子が報告されている。しかし、動物から分離されたアビラマイシン耐性腸球菌においてこの耐性遺伝子を保有している株は少なかった。

このように、アビラマイシンは家畜のみに使用される抗菌性物質であり、ヒトに使用されている抗菌性物質と交差耐性を示したという報告がないこと、野外で家畜由来耐性菌が認められた報告はあるが、耐性率が上昇する傾向にはないことから、アビラマイシンを家畜等に使用した結果として出現し、食品を介してヒトに対して健康上の危害因子となる可能性のある薬剤耐性菌はないと判断した。

## II. 食品健康影響評価

アビラマイシンの家畜等への使用によりアビラマイシン耐性菌が選択される可能性は否定できないが、アビラマイシンがヒト用医薬品として使用されていないこと、アビラマイシンがヒトに使用されている抗菌性物質と交差耐性を示したという報告がないこと等から、特定すべきハザードがないと判断した。したがって、アビラマイシンを家畜等に使用することによって選択された薬剤耐性菌が、食品を介してヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えられた。

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

<参照>

1. JECFA. Residues of some veterinary drugs in foods and animals. Avilamycin. 2008. <ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/6-2009-avilamycin.pdf>
2. Mertz JL, Pelosos JS, Barker BJ, Babbitt GE, Occolowitz JL, Simson VL, et al. Isolation and structural identification of nine avilamycins. *Journal of Antibiotics*. 1986;29:877-887.
3. 食品安全委員会. 動物用医薬品・飼料添加物評価書 アビラマイシン. 2011.
4. JECFA. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Technical report series 954. 2009:15-26.
5. JECFA. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO food additives series No.16. 2009:3-36.
6. リリー社. Microbiological activity. (未公表)
7. Wright DE. The orthosomycins, a new family of antibiotics. *Tetrahedron*. 1979;35:1207-1237.
8. Ganguly AK. Ziracin, a novel oligosaccharide antibiotic. *Journal of Antibiotics*. 2000;53:1038-1044.
9. Davis II JW, Goodsaid FM, Bral CM, Obert LA, Mandakas G, Garner II CE, et al. Quantitative gene expression analysis in a nonhuman primate model of antibiotic-induced nephrotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2004;200:16-26.
10. Dáil Éireann (The Lower House of Representatives of Ireland). Parliamentary Debates. Official Report. 2001;Vol. 537(1):191.
11. Belova L, Tenson T, Xiong L, McNicholas PM, Mankin AS. A novel site of antibiotic action in the ribosome: interaction of evernimicin with the large ribosomal subunit. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*. 2001;98:3726-3731.
12. 財団法人農林弘済会. 特定飼料添加物検定合格数量. 飼料検査.
13. 独立行政法人農林水産消費安全技術センター. 平成 21, 22, 23 年度の特定添加物検定結果等について.
14. European commission directorate-general, consumer policy and consumer health protection. Opinion of the scientific steering committee on antimicrobial resistance. 28 May 1999.
15. European commission directorate-genera, consumer policy and consumer health protection. Scientific steering committee 2nd opinion on anti-microbial resistance. 10-11 May 2001.
16. Joint expert advisory committee on antibiotic resistance (JETACAR). The use of antibiotics in food-producing animals : antibiotic-resistant bacteria in animals and humans. 1999.
17. MAF Antibiotic Resistance Steering Group, New Zealand. Antibiotic resistance steering group report to the animal remedies board expert panel review - Antibiotic resistance and in-feed use of antibiotics in New Zealand. 1999.

18. リリー社. Magnussen JD. <sup>14</sup>C Avilamycin rat metabolism study. 1985. (未公表)
19. リリー社. 子豚に対する EL-750 の安全性および残留性調査試験. 1986. (未公表)
20. リリー社. EL-750 (Aviramycin) の豚による残留試験. 1987. (未公表)
21. リリー社. Dalidowicz JE, Thomson TD, Herberg RJ. <sup>14</sup>C Avilamycin balance-excretion study in swine. 1983. (未公表)
22. リリー社. Magnussen JD. Characterization of <sup>14</sup>C avilamycin residues in swine liver and excreta. 1985. (未公表)
23. リリー社. ブロイラーに対する EL-750 の安全性および残留性調査試験. 1986. (未公表)
24. リリー社. EL-750 (Avilamycin) の鶏による残留試験. 1987. (未公表)
25. リリー社. アビラマイシンの残留予備試験 (豚およびブロイラー). 1984. (未公表)
26. リリー社. Dalidowicz JE, Thomson TD, Herberg RJ. <sup>14</sup>C Avilamycin balance-excretion study in chickens. 1983. (未公表)
27. リリー社. Magnussen JD, Herberg RJ, Thomson, TD. <sup>14</sup>C Avilamycin steady-state tissue residue study in swine. 1984. (未公表)
28. リリー社. Dalidowicz JE. Characterization of <sup>14</sup>C residues in fat from swine fed <sup>14</sup>C avilamycin. 1985. (未公表)
29. リリー社. Magnussen JD, Herberg RJ. <sup>14</sup>C Avilamycin tissue withdrawal study in swine. 1985. (未公表)
30. リリー社. Magnussen JD, Herberg RJ, Thomson TD. <sup>14</sup>C Avilamycin steady state tissue residue study in broilers. 1986. (未公表)
31. Wolf H. Avilamycin, an inhibitor of the 30 S ribosomal subunits function. FEBS Letters. 1973;36:181-186.
32. Adrian PV, Zhao W, Black TA, Shaw KJ, Hare RS, and Klugman KP. Mutations in ribosomal protein L16 conferring reduced susceptibility to evernimicin (SCH27899): implications for mechanism of action. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2000;44:732-738.
33. Adrian PV, Mendrick C, Loebenberg D, McNicholas P, Shaw KJ, Klugman KP, et al. Evernimicin (SCH27899) inhibits a novel ribosome target site: analysis of 23S ribosomal DNA mutants. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2000;44:3101-3106.
34. Champney WS, Tober CL. Evernimicin (SCH27899) inhibits both translation and 50S ribosomal subunit formation in *Staphylococcus aureus* cells. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2000;44:1413-1417.
35. Kofoed CB, Vester B. Interaction of avilamycin with ribosomes and resistance caused by mutations in 23S rRNA. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2002;46:3339-3342.
36. McNicholas PM, Najarian DJ, Mann PA, Hesk D, Hare RS, Shaw KJ, et al. Evernimicin binds exclusively to the 50S ribosomal subunit and inhibits translation in cell-free systems derived from both gram-positive and gram-negative

- bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000;44:1121-1126.
37. McNicholas PM, Mann PA, Najarian DJ, Miesel L, Hare RS, Black TA. Effects of mutations in ribosomal protein L16 on susceptibility and accumulation of evernimicin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001;45:79-83.
  38. Treede I, Jakobsen L, Kirpekar F, Vester B, Weitnauer G, Bechthold A, et al. The avilamycin resistance determinants AviRa and AviRb methylate 23S rRNA at the guanosine 2535 base and the uridine 2479 ribose. *Molecular Microbiology*. 2003;49:309-318.
  39. Aarestrup FM, Jensen LB. Presence of variations in ribosomal protein L16 corresponding to susceptibility of enterococci to oligosaccharides (avilamycin and evernimicin). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000;44:3425-3427.
  40. Yusupov MM, Yusupova GZh, Baucom A, Lieberman K, Earnest TN, J. H. D. Cate JHD, et al. Crystal structure of the ribosome at 5.5 Å resolution. *Science*. 2001; 292: 883-896.
  41. Nishimura M, Yoshida T, Shirouzu M, Terada T, Kuramitsu S, Yokoyama S, et al. Solution structure of ribosomal protein L16 from *Thermus thermophilus* HB8. *Journal of Molecular Biology*, 2004; 344: 1369–1383.
  42. 明石敏. マクロライド系抗菌剤を中心に. *日薬理誌*. 2007;130:294-298.
  43. Long KS, Porse BT. A conserved chloramphenicol binding site at the entrance to the ribosomal peptide exit tunnel. *Nucleic Acids Research*. 2003;31:7208-7215.
  44. 入野田一彦, 野村俊治, 橋本宗弘. 新規クラス抗菌薬リネゾリド (ザイボックス) の抗菌作用および臨床効果. *日本薬理学会誌*. 2002 ; 120 : 245-252.
  45. Liakopoulos A, Spiliopoulou I, Damani A. Dissemination of two international linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* clones in Greek hospitals *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010; 65: 1070–1077.
  46. Long KS, Vester B. Resistance to linezolid caused by modifications at its binding site on the ribosome. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2012; 56:603–12.
  47. Sanders Jr WE, Sanders CC. Microbiological characterization of evernimicins B and D. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1974;6:232-238.
  48. Simjee S, Heffron AL, Agnoletti F, Pridmore A, Pradella G. Pharmacodynamics of avilamycin towards strains of *Clostridium perfringens* isolated from epizootic rabbit enteropathy. 9th World Rabbit Congress. 2008;1085-1090.
  49. リリー社. 扇元敬司. アビラマイシンの耐性菌出現に関する試験. (未公表)
  50. 農林水産省動物医薬品検査所, 独立行政法人農林水産消費安全技術センター. 2000～2009年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査.
  51. Aarestrup FM, Kruse H, Tast E, Hammerum AM, and 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;6:63-70.
  52. 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.
53. DANMAP. DANMAP – use of antimicrobial agents and occurrence of antibiotic resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. 2000-2010. <http://www.dfvf.dk>
  54. Davies R, and Roberts TA. Antimicrobial susceptibility of enterococci recovered from commercial swine carcasses: effect of feed additives. *Letters in Applied Microbiology*. 1999;29:327-333.
  55. 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.
  56. Manson JM, Smith JMB, Cook GM. Persistence of vancomycin-resistant enterococci in New Zealand broilers after discontinuation of avoparcin use. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004;70:5764-5768.
  57. Avcare. The role of enteric antibiotics in livestock production: a review of published literature. 2003.  
<http://www.avcare.org.au/files/animalhealth/information/The%20Role%20of%20enteric%20antibiotics%20in%20livestock%20production.pdf>
  58. Watkins KL, Shryock TR, Dearth RN, Saif YM. In-vitro antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* from commercial turkey and broiler chicken origin. *Veterinary Microbiology*. 1997; 54(2): 195-200.
  59. Johansson A, Greko C, Engström BE, Karlsson M. Antimicrobial susceptibility of Swedish, Norwegian and Danish isolates of *Clostridium perfringens* from poultry, and distribution of tetracycline resistance genes. *Veterinary Microbiology*. 2004;99:251-7.
  60. Aarestrup FM. 1998. Association between decreased susceptibility to a new antibiotic for treatment of human diseases, everninomicin (SCH27899), and resistance to an antibiotic used for growth promotion in animals, avilamycin. *Microbial Drug Resistance*. 1998;4:137-141.
  61. Black J, Calesnick B, Falco FG, and Weinstein MJ. Pharmacological properties of everninomicin D. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1964;4:38-46.
  62. Weinstein MJ, Luedemann GM, Oden EM, Wagman GH. Everninomicin, a new antibiotic complex from *Micromonospora carbonacea*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1964;4:24-32.
  63. Foster, DR, Rybak, MJ. Pharmacologic and bacteriologic properties of SCH-27899 (Ziracin), an investigational antibiotic from the everninomicin family. *Pharmacotherapy*. 1999 ; 19 : 1111-1117.
  64. リリー社. Bamford LH, Ryden R. In vitro studies with Avilamycin on resistance development and cross resistance. (未公表)

65. リリー社. Walton JR. The antibiotic resistance and cross resistance status of enteric bacteria from pigs receiving avilamycin in the diet. 1982. (未公表)
66. Zarazaga M, Tenorio C, Del Campo R, Ruiz-Larrea F, Torres C. Mutations in ribosomal protein L16 and in 23S rRNA in *Enterococcus* strains for which evernimicin MICs differ. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002;46:3657-3659.
67. Mann PA, Xiong L, Mankin AS, Chau AS, Mendrick CA, Najarian DJ, et al. EmtA, a rRNA methyltransferase conferring high-level evernimicin resistance. *Molecular Microbiology*. 2001;41:1349-1356.
68. Aarestrup FM, McNicholas PM. Incidence of high-level evernimicin resistance in *Enterococcus faecium* among food animals and humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002;46:3088-3090.
69. Weitnauer G, Gaisser S, Trefzer A, Stockert S, Westrich L, Quiros LM, et al. An ATP-binding cassette transporter and two rRNA methyltransferases are involved in resistance to avilamycin in the producer organism *Streptomyces viridochromogenes* Tü57. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001;45:690-695.
70. Jones RN, Hare, RS, Sabatelli FJ, and the Zircin Susceptibility Testing Group. In vitro Gram-positive antimicrobial activity of evernimicin (SCH27899), a novel oligosaccharide, compared with other antimicrobials: a multicentre international trial. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001;47:15-25.
71. Kropec A, Frank U, Jonas D, Thriene W, Schmidt-Eisenlohr E, Daschner FD. In vitro susceptibility to evernimicin of Gram-positive nosocomial pathogens isolated from intensive care units in Germany. *Chemotherapy*. 2001;47:15-18.
72. Rennie RP, Jones RN, Mutnick AH, and the SENTRY Program Study Group (North America). Occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of pathogens isolated from skin and soft tissue infections: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (United States and Canada, 2000). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2003;45:287-293.
73. Schouten MA, Voss A, Hoogkamp-Korstanje JAA, and The European VRE Study Group. Antimicrobial susceptibility patterns of Enterococci causing infections in Europe. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1999;43:2542-2546.
74. Petsaris O, Miszczak F, Gicquel-Bruneau M, Perrin-Guyomard A, Humbert F, Sanders P, et al. Combined antimicrobial resistance in *Enterococcus faecium* isolated from chickens. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005;71:2796-2799.
75. Delsol AA, Randall L, Cooles S, Woodward MJ, Sutherland J, Roe JM. Effect of the growth promoter avilamycin on the emergence and persistence of antimicrobial resistance in enteric bacteria in the pig. *Journal of Applied Microbiology*. 2005; 98: 564-571.