

薬剤耐性菌に関するワーキンググループにおける審議結果について

1. 審議結果

農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められた酒石酸タイロシンを有効成分とする牛、豚及び鶏の飲水添加剤並びに蜜蜂の飼料添加剤（タイラン水溶散）に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価については、平成 29 年 5 月 11 日に開催された第 10 回薬剤耐性菌に関するワーキンググループにおいて審議結果（案）がとりまとめられた。

審議結果（案）については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

2. 酒石酸タイロシンを有効成分とする牛、豚及び鶏の飲水添加剤並びに蜜蜂の飼料添加剤（タイラン水溶散）に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

平成 29 年 6 月 27 日（火）開催の食品安全委員会（第 655 回会合）の翌日、平成 29 年 6 月 28 日（水）から平成 29 年 7 月 27 日（木）までの 30 日間。

2) 受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、薬剤耐性菌に関するワーキンググループの座長の指示のもと、必要に応じてワーキンググループを開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

酒石酸タイロシンを有効成分とする牛、豚及び鶏の
飲水添加剤並びに蜜蜂の飼料添加剤（タイラン水溶
散）に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価

２０１７年６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	3
○食品安全委員会委員名簿	3
○食品安全委員会薬剤耐性菌に関するワーキンググループ専門委員名簿	3
○要 約	4
I. 評価の経緯及び範囲等	5
1. はじめに	5
2. 経緯	5
(1) 評価対象動物用医薬品	5
(2) 評価の範囲	5
3. ハザードである薬剤耐性菌の考え方	6
II. 評価対象動物用医薬品の概要	7
1. 有効成分	7
2. 効能・効果	7
3. 用法・用量及び使用上の注意	7
4. 開発の経緯等	8
5. 有効成分の名称、構造式等	9
(1) 酒石酸タイロシン	9
(2) タイロシンの構成成分及びそれらの構造式等	10
(3) 有効成分の系統	11
6. 家畜等に使用するマクロライド系抗生物質の販売量	12
(1) 国内における蜜蜂用ミロサマイシン及び家畜等に使用するマクロライド系抗生物質の販売量	12
(2) 国内における蜜蜂の飼育動向及び蜜蜂製品の生産量	13
(3) 評価対象製剤の使用量の推定	14
7. 海外における蜜蜂用のタイロシン製剤の評価及び使用状況等	14
(1) 米国食品医薬品庁（FDA）	14
(2) 欧州医薬品庁（EMA）	14
III. ハザードの特定に関する知見	15
1. 蜜蜂におけるタイロシンの薬物動態及び残留	15
(1) 薬物動態試験	15
(2) はちみつにおける残留試験	15
2. タイロシンの抗菌活性の作用機序及びタイプ	18
3. タイロシンの抗菌スペクトル及び感受性分布	18
(1) 抗菌スペクトル	18

(2) 蜜蜂の病原菌（有効菌種等）に対するタイロシンの MIC 分布	19
(3) 蜜蜂由来細菌及びはちみつ媒介性病原菌に対する MIC の分布	21
4. マクロライド系抗生物質に対する薬剤耐性機序及び薬剤耐性決定因子について	23
(1) マクロライド系抗生物質に対する耐性の基本的機序	23
(2) 耐性遺伝子及び交差耐性	24
(3) 耐性遺伝子の伝達	25
5. 交差耐性を生じる可能性及び医療分野における重要性	25
(1) マクロライド系抗生物質及び他の系統の抗生物質との交差耐性	25
(2) マクロライド系抗生物質の医療分野における重要度	28
6. ハザードの特定に係る検討	28
(1) ヒトの感染症病原菌について	28
(2) ヒトの常在菌及びそのマクロライド系又はリンコマイシン系抗生物質耐性菌による感染症の検討	30
7. ハザードの特定	30
IV. 食品健康影響評価について	31
＜別紙 検査値等略称＞	32
＜別紙参考資料：蜜蜂に関する情報＞	33
(参考 1) 蜜蜂の生態と感染症	33
(参考 2) アメリカ腐蛆病及びその起因菌 <i>Paenibacillus larvae</i>	34
(参考 3) 蜜蜂用語	35
＜参照＞	36

＜審議の経緯＞

2017 年 4 月 13 日 農林水産大臣から動物用医薬品の承認事項の一部変更の承認に係る食品健康影響評価について要請（29 消安第 81 号）、関係資料の接受

2017 年 4 月 18 日 第 646 回食品安全委員会（要請事項説明）

2017 年 5 月 11 日 第 10 回薬剤耐性菌に関するワーキンググループ

2017 年 6 月 27 日 第 655 回食品安全委員会（報告）

＜食品安全委員会委員名簿＞

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

＜食品安全委員会薬剤耐性菌に関するワーキンググループ専門委員名簿＞

吉川 泰弘（座長）	
田村 豊（座長代理）	
浅井 鉄夫	佐々木一昭
荒川 宜親	菅井 基行
今田 千秋	砂川 富正
植田富貴子	戸塚 恭一
甲斐 明美	豊福 肇

＜第 10 回食品安全委員会薬剤耐性菌に関するワーキンググループ専門参考人名簿＞

池 康嘉（一般社団法人薬剤耐性菌教育研究会代表理事 兼 群馬大学名誉教授）
木村 澄（国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門家畜育種繁殖研究領域有用遺伝子ユニット主席研究員）

要 約

マクロライド系抗生物質である酒石酸タイロシンを有効成分とする牛、豚及び鶏の飲水添加剤並びに蜜蜂の飼料添加剤（タイラン水溶散）の承認事項の一部変更の承認に係る食品健康影響評価のうち、蜜蜂に使用された場合に選択される薬剤耐性菌に関する評価を、「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）に基づき実施した。

タイロシンは、16 員環のマクロライド系抗生物質であり、動物用医薬品及び飼料添加物として家畜のみに使用される。タイロシンは、ヒトに使用される 14、15 及び 16 員環のマクロライド系抗生物質並びにリンコマイシン系抗生物質と交差耐性を示す。

蜜蜂において、働き蜂の腸内やはちみつ等から、非芽胞形成細菌である腸球菌等並びに芽胞形成細菌である *Bacillus*、*Paenibacillus* 及び *Clostridium* 属菌等が分離される。これらを含むグラム陽性細菌に対して、マクロライド系及びリンコマイシン系抗生物質は抗菌活性を示し、有効菌種 *Paenibacillus larvae* の蜜蜂由来野外分離株では、タイロシン及びリンコマイシン耐性が報告されている。

はちみつ中では非芽胞形成細菌は生存できず、一方で芽胞形成細菌の芽胞は長期間生存することが可能である。

これまでに得られている知見から、はちみつとの関連が確認されている芽胞形成細菌による感染症は *Clostridium botulinum* 等による乳児ボツリヌス症のみであるが、その治療に抗生物質は使用されない。

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評価として、評価対象動物用医薬品が蜜蜂に使用されることにより、タイロシン並びにこれと交差耐性が認められるマクロライド系及びリンコマイシン系抗生物質に対する薬剤耐性菌が選択される可能性は否定できない。しかしながら、はちみつを介してヒトに伝播する可能性のある芽胞形成細菌による感染症は乳児ボツリヌス症であり、その治療に抗生物質は使用されないことから、特定すべきハザードはないと判断した。したがって、酒石酸タイロシン製剤を蜜蜂に使用することによって選択された薬剤耐性菌が、蜜蜂由来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も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め新たな科学的知見・情報の収集が必要である。

I. 評価の経緯及び範囲等

1. はじめに

本評価は、農林水産省から要請があった動物用医薬品（酒石酸タイロシンを有効成分とする牛、豚及び鶏の飲水添加剤並びに蜜蜂の飼料添加剤（タイラン水溶散））の医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律¹（昭和 35 年法律第 145 号。以下「医薬品医療機器等法」という。）に基づく承認事項の一部変更（対象動物に蜜蜂を追加）の承認に係る食品健康影響評価のうち、「家畜等に動物用抗菌性物質を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あるいは喪失する可能性及びその程度」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。以下「評価指針」という。）に基づき、評価を行ったものである。（参照 1）

マクロライド系抗生物質を有効成分とする動物用医薬品の薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価については、これまでガミスロマイシン及びツラスロマイシンの注射剤を牛又は豚に使用する場合の評価を実施した。（参照 2-5）

2. 経緯

（1）評価対象動物用医薬品

農林水産省から医薬品医療機器等法に基づく承認事項の一部変更（対象動物に蜜蜂を追加）の承認に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価の要請がなされているのは、酒石酸タイロシンを有効成分とする牛、豚及び鶏の飲水添加剤並びに蜜蜂の飼料添加剤（タイラン水溶散）である。

牛、豚及び鶏を対象動物とした酒石酸タイロシン製剤については、2003 年 12 月 8 日に、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が、飼料添加物として飼料に添加され、家畜等に給与された場合及び医薬品医療機器等法第 14 条第 1 項の規定に基づき承認されている動物用医薬品の主成分のうち飼料添加物として指定されている抗菌性物質と同一又は同系統で薬剤耐性の交差が認められる抗菌性物質が、医薬品医療機器等法及び獣医師法（昭和 24 年法律第 186 号）の規定に従い動物用医薬品として家畜等に投与された場合に選択される薬剤耐性菌に係る食品健康影響評価について、農林水産省から要請がなされ、現在審議中である。今般の評価要請は、評価対象動物用医薬品の対象動物に蜜蜂を追加する承認事項の一部変更の承認に係る評価要請であり、本評価書では当該製剤が蜜蜂に投与された場合に限定した評価を行うこととした。

（2）評価の範囲

本評価書は、（1）の評価対象動物用医薬品に係る食品健康影響評価について、評価

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

指針に従い、蜜蜂に当該動物用医薬品を使用することにより選択される薬剤耐性菌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。

評価対象動物用医薬品は、蜜蜂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、評価の対象を蜜蜂由来の食品が介在する場合とした。蜜蜂の生産物としては、はちみつ、ローヤルゼリー、プロポリス、蜜ろう等があるが、その主な食用生産物であるはちみつを評価の対象として記載した。

3. ハザード²である薬剤耐性菌の考え方

薬剤耐性菌とは、抗菌性物質等の薬剤に対して感受性を示さない（薬剤が効かない）性質を持つ菌である。対象菌が薬剤に対して発育できるか否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、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、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来す可能性があることが報告されていることから、米国の臨床検査標準協会（CLSI）等においては、抗菌性物質のブレイクポイントについて薬剤低感受性も考慮すべきであるとの議論がある。しかしながら、薬剤低感受性を考慮したブレイクポイントについて、これまでのところ十分な科学的知見が集積されておらず、現時点での薬剤低感受性に関する評価は困難であるため、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 におけるブレイクポイント

国際的に多く利用されているブレイクポイントであり、細菌の実測 MIC と抗菌性物質の血中濃度から、感性（S）、中間（I）、耐性（R）のカテゴリーに分類されている。しかし、CLSI におけるブレイクポイントは、米国における用法・用量を基準として設定されたものであるため、日本国内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。

○ 日本化学療法学会におけるブレイクポイント

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

² ハザードとは、ヒトに対する危害因子（リスク要因）であり、本評価では、酒石酸タイロシンを蜜蜂に使用した結果として選択される薬剤耐性菌をいう。

症、敗血症及び尿路感染症における各薬剤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ピークの間値をブレイクポイントとするという設定方法である。国内の動物由来薬剤耐性菌モニタリング（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. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 有効成分

有効成分はタイロシン酒石酸塩である。（参照 6）

2. 効能・効果

有効菌種：アメリカ腐蛆病菌（*Paenibacillus larvae*）

適応症：蜜蜂のアメリカ腐蛆病の予防（参照 6）

3. 用法・用量及び使用上の注意

蜜蜂の育児箱 1 箱（成虫として概ね 4 万匹程度の飼養規模）当たり、本剤をタイロシン³として 200mg（力価）、粉砂糖 20g に均一に加え、週 1 回、3 週間投与する。本剤添加粉砂糖を育児箱の上部から散布する。（参照 6）

添付文書に記載すべき事項として設定されている「使用上の注意」は以下のとおりである。（参照 6）

【みつばちに用いる場合の制限事項】

本剤は集蜜前の早春又は集蜜終了後の秋に使用し、集蜜期には使用しない。

【みつばちに用いる場合の一般的注意】

- ・ 本剤は、要指示医薬品であるので獣医師等の処方箋・指示により使用すること。
- ・ 本剤は効能・効果において定められた適応症の予防にのみ使用すること。
- ・ 本剤は定められた用法・用量を厳守すること。なお、用法・用量に定められた期間以内の投与であっても、それを反復する投与は避けること。
- ・ 本剤の使用に当たっては、耐性菌等の発現等を防ぐため、適応症の予防上必要な最小限の期間の投与に止めること。
- ・ 本剤の投与量（タイロシンとして 200mg（力価）の週 1 回、3 週間投与）は、成虫として概ね 4 万匹飼養規模への使用を想定している。
- ・ 本剤を投与した育児箱内のはちみつ、ローヤルゼリー等は、食用に供する目的で出荷しないこと。
- ・ 本剤の投与期間中又は休薬期間中は、採蜜用の継箱を置かないこと。なお、やむを得

³ 本評価書では、動物用医薬品の成分を示す場合には「酒石酸タイロシン」、抗菌性物質としてのタイロシンを示す場合には「タイロシン」を用いる。「タイロシン」は、広義の意味で使用し、タイロシン A、B、C、D 等の混合物を指すこととする。

ず投与期間中又は休薬期間中に継箱を置いた場合は、休薬期間終了後に継箱内のはちみつ、ローヤルゼリー等は取り除き、そのはちみつ、ローヤルゼリー等は食用に供する目的で出荷しないこと。

- ・ 本剤投与後、下記の期間は食用に供する目的での採蜜等の生産を行わないこと。
みつばち：食用に供するはちみつ及びその他の生産物の生産前 28 日間
- ・ 本剤の使用に当たっては、事前に最寄りの家畜保健衛生所に相談の上、指導を受けること。

4. 開発の経緯等

タイロシンは、土壌中の放線菌の一種である *Streptomyces fradiae* の発酵により産生される 16 員環のマクロライド系抗生物質で、グラム陽性菌、マイコプラズマ及びある種のグラム陰性菌に対し有効である。(参照 7・11)

タイロシンは、タイロシン A を主成分 (>80%) とし、そのほかにデスミコシン (タイロシン B)、マクロシン (タイロシン C) 及びレロマイシン (タイロシン D) を合わせて 95%以上含有する混合物である。抗菌活性の大部分はタイロシン A に存在し、タイロシン B、C 及び D 並びにジヒドロデスミコシン (代謝物) の抗菌活性はタイロシン A のそれぞれ約 83、75、35 及び 31%であった。(参照 7, 8, 10, 11)

牛、豚、鶏等において、タイロシン塩基並びにそのリン酸塩及び酒石酸塩がタイロシン感受性微生物による感染症の治療に使用される。(参照 8, 10, 11) タイロシンは、ヒト用医薬品としては使用されていない。

国内では、動物用医薬品として、タイロシン塩基の牛及び豚用注射剤、リン酸塩の豚及び鶏用飼料添加剤並びに酒石酸塩の牛、豚及び鶏用飲水添加剤が承認されている。また、リン酸タイロシンが豚を対象動物とした飼料添加物として指定されている。(参照 8)

海外では、2016 年 5 月現在、EU 諸国、米国、アジア諸国等で牛、豚、羊、鶏、七面鳥等を対象とした動物用医薬品が承認されている。また、米国、カナダ等では、*P. larvae* による蜜蜂のアメリカ腐蛆病に対する使用が承認されている。(参照 7, 8, 12)

評価対象動物用医薬品の蜜蜂のアメリカ腐蛆病対策薬としての開発の経緯は、まず米国において、アメリカ腐蛆病対策薬として唯一の承認薬剤であったオキシテトラサイクリンに対し、起因菌である *P. larvae* の耐性化の懸念が高まったことから、*Bacillus* (*Paenibacillus*) 属菌に高い抗菌活性を示す別系統の抗菌性物質製剤の開発が開始され、評価対象動物用医薬品が 2005 年 10 月にアメリカ腐蛆病の対策薬として承認を得た。その後、カナダにおいても同様の懸念により評価対象動物用医薬品の効能追加の承認申請が行われ、2014 年に承認を得た。カナダにおける申請は米国の承認申請資料を用いて行われた。(参照 7)

今般、日本イーライリリー株式会社から、はちみつを生産する蜜蜂のアメリカ腐蛆病の予防を適応症とした酒石酸タイロシン製剤の承認事項変更承認申請がなされたことに伴い、農林水産大臣から同製剤の承認事項の一部変更を承認することについて食品健康影響評価が要請された。

5. 有効成分の名称、構造式等

(1) 酒石酸タイロシン

① 一般名

和名：酒石酸タイロシン

英名：Tylosin tartrate

② 化学名

タイロシン A 酒石酸塩

IUPAC 英名：(2R,3R)-2,3-dihydroxybutanedioic acid;2-((4R,5S,7R,9R,11E,13E,16R)-6-((2R,3R,4R,5S,6R)-5-((2S,4R,5S,6S)-4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl)oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-16-ethyl-4-hydroxy-15-(((2R,3R,4R,5R,6R)-5-hydroxy-3,4-dimethoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-5,9,13-trimethyl-2,10-dioxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl)acetaldehyde

CAS 番号：1405-54-5 (参照 13)

③ 分子式

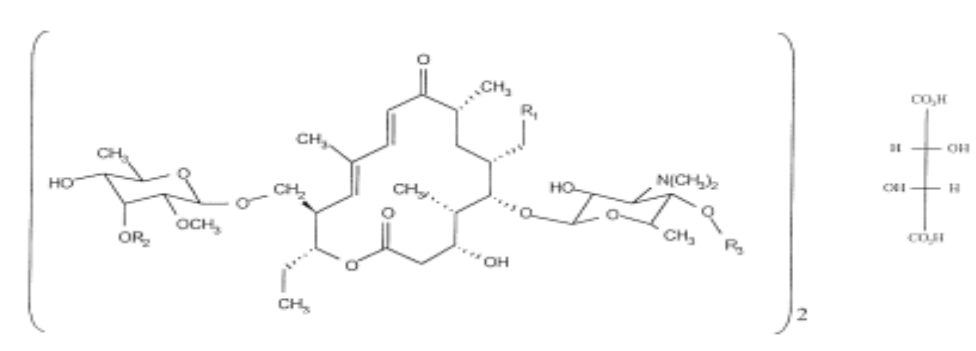
$C_{46}H_{77}NO_{17} \cdot 1/2C_4H_6O_6$ (参照 7)

④ 分子量

991.19 (参照 7)

⑤ 構造式

タイロシン A 酒石酸塩の構造式 (参照 7)

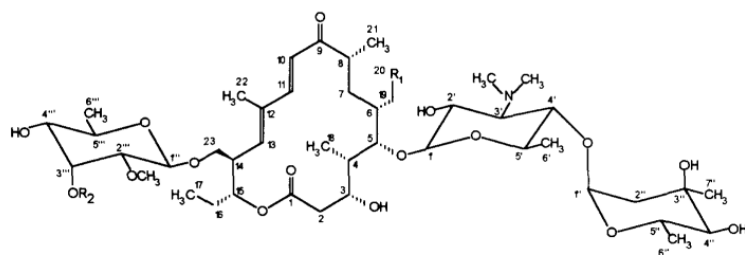


(2) タイロシンの構成成分及びそれらの構造式等

表1 タイロシンの構成成分

化学名	IUPAC 名	CAS No.	分子式	分子量
タイロシン A	(10E,12E)-(3R,4S,5S,6R,8R,14S,15R)-14-((6-deoxy-2,3-di-O-methyl-β-D-allopyranosyl)oxymethyl)-5-((3,6-dideoxy-4-O-(2,6-dideoxy-3-C-methyl-L-ribo-hexopyranosyl)-3-dimethylamino-β-D-glucopyranosyl)oxy)-6-formylmethyl-3-hydroxy-4,8,12-trimethyl-9-oxoheptadeca-10,12-dien-15-olide	1401-69-0	C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇	916.10
タイロシン B (デスミコシン)	2-((4R,5S,6S,7R,9R,11E,13E,15R,16R)-6-((2R,3R,4S,5S,6R)-4-(dimethylamino)-3,5-dihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-16-ethyl-4-hydroxy-15-(((2R,3R,4R,5R,6R)-5-hydroxy-3,4-dimethoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-5,9,13-trimethyl-2,10-dioxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl)acetaldehyde	11032-98-7	C ₃₉ H ₆₅ NO ₁₄	772.93
タイロシン C (マクロシン)	2-((4R,5S,7R,9R,11E,13E,16R)-6-((2R,3R,4R,5S,6R)-5-((2S,4R,5S,6S)-4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl)oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-15-(((2R,3R,4R,5S,6R)-4,5-dihydroxy-3-methoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-16-ethyl-4-hydroxy-5,9,13-trimethyl-2,10-dioxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl)acetaldehyde	11049-15-3	C ₄₅ H ₇₅ NO ₁₇	902.07
タイロシン D (レロマイシン)	(11E,13E)-6-(5-(4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl)oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-16-ethyl-4-hydroxy-15-((5-hydroxy-3,4-dimethoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-7-(2-hydroxyethyl)-5,9,13-trimethyl-1-oxacyclohexadeca-11,13-diene-2,10-dione	1404-48-4	C ₄₆ H ₇₉ NO ₁₇	918.11

(参照 7)



	Mycinose		Mycaminose		Mycarose
	R1		R2		Mycarose
					Mycinose
Tylosin A	CHO		CH ₃	+	+
Tylosin B	CHO		CH ₃	-	+
Tylosin C	CHO		H	+	+
Tylosin D	CH ₂ OH		CH ₃	+	+
Lactenocin	CHO		H	-	+
OMT	CHO			-	-
DMT	CHO			+	-

+ = sugar present

- = sugar not present

(参照 7, 14)

(3) 有効成分の系統

タイロシンは、16 員環マクロライド系抗生物質であり、他のマクロライド系抗生物質と同様に細菌リボソームの構成ユニットの一つである 50S サブユニット中の 23S rRNA に結合することで、アミノアシル tRNA 及びペプチジル tRNA のリボソームへの結合を阻害し、細菌のタンパク質合成を阻害して菌の増殖を抑制する。(参照 10, 15-18)

国内でヒト用医薬品として承認されているマクロライド系抗生物質は、アジスロマイシン (15 員環)、クラリスロマイシン (14 員環)、エリスロマイシン (14 員環)、ロキシスロマイシン (14 員環)、ジョサマイシン (16 員環)、ロキタマイシン (16 員環) 等がある。

国内では、蜜蜂用以外の動物用医薬品のマクロライド系抗生物質として、エリスロマイシン、ツラスロマイシン (15 員環)、ガミスロマイシン (15 員環)、ジョサマイシン、スピラマイシン (16 員環)、タイロシン⁴ (16 員環)、酢酸イソ吉草酸タイロシン (16 員環)、チルミコシン (16 員環) 及びミロサマイシン (16 員環) が承認されている。(参照 19)

マクロライド系抗生物質の飼料添加物としては、飼料安全法に基づき、飼料が含有

⁴リン酸タイロシン及び酒石酸タイロシン

している栄養成分の有効な利用の促進を用途として、豚に使用するリン酸タイロシンが指定されている。

6. 家畜等に使用するマクロライド系抗生物質の販売量

(1) 国内における蜜蜂用ミロサマイシン及び家畜等に使用するマクロライド系抗生物質の販売量

蜜蜂に使用する酒石酸タイロシンは国内において未承認のため、使用実績に関するデータはないが、動物用医薬品として牛、豚及び鶏用に承認されている。また、国内では同じマクロライド系抗生物質のミロサマイシンが、1999年から蜜蜂のアメリカ腐蛆病の予防薬として承認されている。

蜜蜂を含む「その他」の動物種用ミロサマイシン及び家畜等用マクロライド系抗生物質の販売量を表2に示した。(参照19)

2005～2015年の「その他」の動物種用ミロサマイシンの年間販売量は約4～9kgと大きな変動はなく、ミロサマイシン販売量に対する割合は1.4～7.0%であり、家畜等に使用するマクロライド系抗生物質販売量に対する割合も0.01%前後と小さい。

表2 国内における蜜蜂に使用するミロサマイシンを含む家畜等に使用するマクロライド系抗生物質の年間推定販売量（原末換算、kg）とその割合

抗生物質	年										
	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
ミロサマイシン	444	349	373	321	279	258	233	199	208	173	84
うち「その他」 ¹⁾ 用ミロサマイシン 販売量及びその 割合(%) ²⁾	7.5 (1.7)	8.7 (2.5)	7.5 (2.0)	7.4 (2.3)	3.9 (1.4)	3.7 (1.4)	4.9 (2.1)	7.3 (3.7)	5.9 (2.8)	5.8 (3.3)	5.9 (7.0)
タイロシン ³⁾	32,266	26,180	25,250	28,659	32,825	29,837	34,113	38,513	38,525	34,202	41,073
うち酒石酸タイロシン	4,734	2,299	1,941	2,435	3,367	2,452	2,680	2,795	2,464	2,407	2,472
マクロライド系 抗生物質 ⁴⁾	73,348	73,051	84,399	79,394	74,877	66,794	76,360	76,481	77,649	70,427	98,408

1) 対象動物種「その他」は蜜蜂を含む。

2) 「その他」用ミロサマイシン販売量のミロサマイシン全販売量に対する割合(%)

3) タイロシン(牛及び豚)、リン酸タイロシン(豚及び鶏)及び酒石酸タイロシン(豚及び鶏)

4) 総販売量からイヌ・ネコ用の推定販売量を除いた家畜等用の販売量。主に、エリスロマイシン(牛、豚及び水産)、ジョサマイシン(豚)、タイロシン(牛及び豚)、リン酸タイロシン(豚及び鶏)、酒石酸タイロシン(豚及び鶏)、酒石酸酢酸イソ吉草酸タイロシン(豚及び鶏)、チルミコシン(牛)、リン酸チルミコシン(牛及び豚)、ミロサマイシン(豚、鶏及びその他)及びツラスロマイシン(豚)

(2) 国内における蜜蜂の飼育動向及び蜜蜂製品の生産量

蜜蜂用酒石酸タイロシンの使用量の参考として、国内における蜜蜂飼育戸数、蜂群数及び腐蛆病発生群数を表3に示した。また、主な蜜蜂の生産物であるはちみつの年間生産量を表4に示した。(参照 20, 21)

2000 年代まで蜜蜂飼育戸数及び蜂群数が減少したが、その後増加傾向に転じた。2013 年以降は、改正後の養蜂振興法（昭和 38 年法律第 108 号）に基づき、蜜蜂飼養の届出義務が趣味養蜂に拡大された。2014 年以降は横ばいで推移しており、約 9,500 戸及び 20 万群程度である。(参照 20)

腐蛆病発生群数は、1970～1980 年にかけて 2,000 件前後で推移後、1980 年代後半に 1,000 件程度に減少し、1990 年代後半以降は 500 件以下程度で推移している。2010～2016 年の蜂群数に対する腐蛆病発生群数の割合は 0.04～0.11%であり、1985 及び 1995 年の 0.53 及び 0.31%に比べて低い。発生率減少の要因については明らかではないが、飼養管理の改善や 1999 年以降のミロサマイシン製剤の使用なども一因として考えられる。(参照 7, 21)

はちみつの年間生産量は、近年は横ばい傾向で推移している。また、はちみつの自給率は 6～7%前後で推移している。

表 3 国内における蜜蜂飼育戸数、蜂群数及び腐蛆病発生蜂群数

種類	年									
	1985	1995	2005	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
飼育戸数 ¹⁾ (戸)	9,499	7,235	4,790	5,353	5,790	5,934	8,312	9,306	9,567	9,452
蜂群数 ^{1), 2)} (千群)	285	214	178	175	184	184	204	210	213	212
腐蛆病 ³⁾ 発生 数(群)(発 生率(%))	1,523 (0.53)	661 (0.31)	320 (0.18)	96 (0.05)	175 (0.10)	127 (0.07)	230 (0.11)	168 (0.08)	130 (0.06)	90 ⁴⁾ (0.04)

1) 2013 年以降の飼育戸数及び蜂群数は改正後の養蜂振興法に基づく届出数

2) 蜂群数は 1 月 1 日時点の調査で、夏季には 2 倍以上になる。

3) 腐蛆病にはアメリカ腐蛆病及びヨーロッパ腐蛆病を含む。

4) 速報値

表 4 国内におけるはちみつ¹⁾の生産量(トン)

種類	年								
	1985	1995	2005	2010	2011	2012	2013	2014	2015
はちみつ (自給率 (%))	7,225 (20.5)	3,362 (7.9)	2,892 (6.3)	2,639 (6.2)	2,684 (6.2)	2,778 (7.0)	2,872 (6.8)	2,839 (7.0)	2,865 (7.3)

1) 食品以外の用途に供されるもの(化粧品原料等)を含む。

(3) 評価対象製剤の使用量の推定

国内において、評価対象動物用医薬品を含むタイロシン製剤として、飲水添加剤（酒石酸塩）のほかに飼料添加剤（リン酸塩）及び注射剤（塩基）が承認されており、その総販売量は2015年で約41トンである。一方、蜜蜂に対する使用量は最大限見積もって年間127kg程度と試算される（表5）。この数量は2015年のタイロシンの全体販売量の約0.3%である。（参照7）

表5 国内において評価対象製剤を蜜蜂のアメリカ腐蝕病予防に使用した場合の推定最大年間使用量

蜂群数（千） ¹⁾	212
投与量（mg（力価））	200
投与回数	3
1群当りの総投与量（g（力価））	0.6
国内全蜂群に投与した場合の総使用量（kg（力価））	127

1) 参照20より、2016年の蜂群数

7. 海外における蜜蜂用のタイロシン製剤の評価及び使用状況等

(1) 米国食品医薬品庁（FDA）

抗菌性物質の承認申請に関してFDAが定めた企業向けガイダンスに基づき、2005年に、蜜蜂に使用する酒石酸タイロシンを有効成分とする飼料添加剤（水溶散）の薬剤耐性菌に関する評価が申請企業により実施されている。その概要は以下のとおりである。（参照12, 22）

食品の微生物学的な安全性に関し、酒石酸タイロシンの蜜蜂における申請された使用方法（アメリカ腐蝕病の治療として、蜂群ごとに酒石酸タイロシン200mgを7日間間隔⁵で3回投与）による影響がFDAにより検討された。FDAは、定められた使用方法の下では、ヒトの健康上の懸念となる薬剤耐性菌の選択及び出現が、蜜蜂における酒石酸タイロシンの使用によって著しい影響を受けることはなく、したがって公衆衛生に著しい影響を及ぼすことはないだろうという見解を示した。

(2) 欧州医薬品庁（EMA）

2017年にEMA及び欧州食品安全機関（EFSA）が共同で、欧州連合（EU）における畜産への抗菌性物質使用の必要性を低減する措置及びその食品安全における影響について科学的意見書を公表した。養蜂における抗菌性物質使用に関する概要は以下のとおりである。（参照23）

EUにおいて、蜜蜂用の抗菌性動物用医薬品の承認はない。EU域内の養蜂におけ

⁵ 参照12では、「7日間間隔（seven days between treatments）」と記載されているが、1週間に1回投与の意と推測される。

る抗菌性物質及び化学療法薬の使用は、欧州委員会指令に基づく獣医師による適応外使用の下で認められている。しかしながら、適切な休薬期間の設定は実務上困難と考えられており、欧州獣医師連合（FVE）によれば、獣医学的な蜂分野の専門家（veterinary bee experts）は抗菌性物質を蜜蜂の治療に使用するべきではないと考えている。養蜂場の良好な飼養管理が大部分の感染症に対してより有用となり得る。一方で、*P. larvae*によって引き起こされるアメリカ腐蛆病は抗菌性物質によって治療されることがある。

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、タイロシンに関する情報から、評価対象動物用医薬品を蜜蜂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をハザードとして特定する。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、当該決定因子についても考慮する。

1. 蜜蜂におけるタイロシンの薬物動態及び残留

（1）薬物動態試験

蜜蜂におけるタイロシンの薬物動態試験に関する情報はみられなかった。

蜂群への薬物投与では、薬物を餌か蔗糖液に混ぜて成虫に摂取させ、ゼリーとして幼虫に与えさせる。腐蛆病の治療に用いる薬物は、蜂群に投与された後、*P. larvae*が感染・増殖可能な幼虫の腸内に有効濃度で分布することが必要である。*P. larvae*に対して感染感受性を持つ蜂児は孵化してから2日齢までの幼虫である。この期間は育児蜂が分泌するゼリーのみを摂取し、菌の増殖が盛んになる4日齢以後の幼虫も花粉入りゼリーを給与される。幼虫の場合、1日に4倍になる速度で成長し、糞尿の排泄がない。したがって、薬物摂取が止まれば代謝されなくても体内薬物濃度は1日に1/4になる速度で減衰すると考えられる。（参照 24, 25）

（2）はちみつにおける残留試験

蜜蜂（西洋蜜蜂、4蜂群⁶/試験区）に、酒石酸タイロシンを巣箱の上から3回散布投与（タイロシンとして200又は1,000 mg/20 g混合物（粉砂糖との混合）、1回/週（タイロシンとして総計600又は3,000 mg））した。余剰蜜（surplus honey）⁷及び巣蜜（brood honey）⁸を最終投与後1、2及び3週後に、また、余剰蜜は投与2及び3回目の間にも採取し、バイオアッセイによってタイロシン濃度を測定した（定量限界不明）。なお、投与は春（2月下旬から3月上旬まで）に実施した。

結果を表6に示した。

余剰蜜及び巣蜜ともに、経時的に残留濃度は減少した。（参照 8, 26）

⁶ 蜂群当たり働き蜂約40,000匹を含む。

⁷ 女王蜂等がいる巣箱の上に重ねた箱に貯蔵されたはちみつ。

⁸ 女王蜂及び幼虫が収容される箱のはちみつ。

表 6 蜜蜂における酒石酸タイロシン 3 回散布投与後のはちみつ中残留濃度 (μg/g)

試料	投与群 (mg/20 g 混合物)	試料採取時期			
		投与期間 中 ¹⁾	最終投与後日数(日)		
			7	14	21
余剰蜜	0	0.05	0.00	0.00	0.05
	200	1.31	0.39	0.33	0.16
	1,000	8.73	3.57	2.46	1.61
巣蜜	0	—	0.12	0.00	0.00
	200	—	1.45	0.47	0.40
	1,000	—	5.55	4.52	1.98

—：採取せず

1) 投与 2 及び 3 回目の間

蜜蜂（種不明、5 蜂群⁹⁾/試験区）に、タイロシン製剤¹⁰⁾を混餌投与（タイロシンとして 200 又は 400 mg/kg 混合物（砂糖との混合）¹¹⁾）した。投与物を完全に摂取¹²⁾して 1 か月後に、はちみつを採取し、LC-MS によってタイロシン A、B、C 及び D 濃度を測定した（検出限界：タイロシン A、C 及び D 2 ng/g、タイロシン B 3 ng/g）。なお、試験は採蜜期の春に実施した。

結果を表 7 に示した。

はちみつ中タイロシンの総濃度のうち、タイロシン A が 80%以上を占めていた。タイロシン B、C 及び D の合計は、約 15%であった。（参照 8, 27）

表 7 蜜蜂におけるタイロシン製剤混餌投与後のはちみつ中残留濃度 (ng/g)

投 与 群 (mg/kg 混合物)	蜂群	各タイロシン濃度				
		A	B	C	D	総計
200	1	1,230	90	<LOD	110	1,430
	2	1,030	100	<LOD	110	1,240
	3	600	70	<LOD	20	690
	4	870	160 ¹⁾	<LOD	30	1,060
	5	4,280	410	70	180	4,940
400	1	1,550	230	10	80	1,870
	2	3,740	310	20	140	4,210
	3	500	70	<LOD	10	580
	4	2,110	330	20	90	2,550
	5	5,730	700	80	210	6,720
0	1～5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

LOD：検出限界（タイロシン A、C 及び D 2 ng/g、タイロシン B 3 ng/g）

1) 参照 27 では「16」と記載されているが、総計の濃度から「160」と判断した。

⁹⁾ 参照 27 では、「beehive」と記載されている。蜂群当たりの蜜蜂数は不明。

¹⁰⁾ 参照 27 では、「tylosin technical product」と記載されており、タイロシン A、B、C 及び D を含んでいる（割合不明）。

¹¹⁾ タイロシンとしての用量と推測される。

¹²⁾ 蜜蜂の摂取量は不明である。

蜜蜂（種不明、4 蜂群¹³/試験区）に、酒石酸タイロシンを次の 2 通りの方法で投与した。一つ目の方法では、粉砂糖 20 g に酒石酸タイロシン（0 又は 300 mg）を混ぜて混餌投与し、二つ目の方法では、花粉パテ 100 g に酒石酸タイロシン（300、900 又は 1,500 mg）を混ぜて混餌投与した。

投与は、秋の採蜜期の終了後（9 月）に 7 日間間隔で 3 回実施した。翌年の夏の採蜜開始の約 1 週間後（7 月（最終投与 294 日後））にはちみつを採取し、LC-MS/MS によってはちみつ中のタイロシン A 及び B 濃度を測定した（実用的な定量限界（practical quantitation limit）：5 ng/g）。

結果を表 8 に示した。

なお、花粉パテ投与による酒石酸タイロシン 300 mg 投与群については、余剰蜜及び巣蜜ともに、タイロシン A 及び B は検出されなかったため、表 8 には記載しなかった。（参照 8, 28）

表 8 蜜蜂における酒石酸タイロシン 3 回混餌投与後のはちみつ中残留濃度（ng/g）

投与物	投与群 (mg)	はちみつの 種類	蜂群	タイロシン濃度	
				A	B
粉砂糖	300	余剰蜜	1	179	150
			2	46	31
			3	32	32
			4	<LOD	<LOD
		巣蜜	1	114	97
			2	62	44
			3	11	10
			4	<LOD	<LOD
花粉パテ	900	余剰蜜	1	29	33
			2	64	48
			3	<LOD	<LOD
			4	<LOD	<LOD
		巣蜜	1	19	22
			2	80	60
			3	16	13
			4	28	24
	1,500	余剰蜜	1	<LOD	<LOD
			2	<LOD	<LOD
			3	23	19
			4	6	7
		巣蜜	1	77	60
			2	23	14
			3	16	13
			4	16	17

LOD：実用的な定量限界（5 ng/g）

¹³ 蜜蜂成虫が約 30,000 匹の蜂群を用いた。

2. タイロシンの抗菌活性の作用機序及びタイプ

タイロシンの作用機序は、他のマクロライド系抗生物質であるエリスロマイシン、アジスロマイシン、ツラスロマイシン、チルミコシン及びミロサマイシン等と同様に、細菌リボソームの構成ユニットの一つである 50S サブユニット中の 23S rRNA にあるドメイン V の 2058 及び 2059 位のアデニン塩基付近に可逆的に 1:1 の割合で結合することによる。この結果、アミノアシル tRNA 及びペプチジル tRNA のリボソームへの結合を阻害し、細菌のタンパク質合成を阻害することにより、発育・増殖を阻止する静菌作用を示す。(参照 10, 15-18, 29)

3. タイロ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

タイロシン及びその他のマクロライドに共通する事項として、抗菌スペクトラムが比較的狭いとされている。

タイロシンは、グラム陽性菌、マイコプラズマ及びある種のグラム陰性菌に対し有効である。グラム陰性菌である *Escherichia coli* 及び *Salmonella* 等の腸内細菌科細菌、*Pseudomonas aeruginosa* 等は、その外膜構造により、マクロライドが細胞質内に至ることができないため自然耐性である。(参照 30-32)

各種標準菌株及び施設保存株に対するタイロシンの抗菌スペクトルを表 9 に示した。(参照 33)

表 9 タイロシンの抗菌スペクトル

試験菌 ¹⁾	菌株名	株数	MIC (µg/mL)
グラム陽性菌			
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	1	0.39
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	PW8M, 195M, 4631	3	0.1~0.2
<i>Kocuria rhizophila (Sarcina lutea)</i>	ATCC 9341	1	0.2
<i>Staphylococcus albus</i>	X21	1	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i>	209P, 209P, H9, H11, H12, H21, H26, H61, H67A, H87A, H135A, H282, H294, H389	14	0.39~3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> (penicillin resistant)	209P	1	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> (erythromycin resistant)	209P	1	100
<i>Streptococcus (Diplococcus) pneumoniae</i>	Park I, ParkerII, 5W, 7E	4	0.2~0.4
<i>Streptococcus pyogenes</i>	C203, ATCC 10389, ATCC 10526, Clement, Keim	5	0.1~0.2

グラム陰性菌			
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	NRRL B-140	1	100
<i>Brucella abortus</i>	A-4640-51	1	>100
<i>Brucella melitensis</i>	M-5141-51	1	6.25
<i>Brucella suis</i>	S-4712-50	1	12.5
<i>Enterobacter (Aerobacter) aerogenes</i>	ATCC 8308	1	>100
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 4157	1	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	FDA KL4	1	50
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 6253	1	0.78
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 9484	1	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	1	>100
<i>Salmonella enteritidis</i>	ATCC 9221	1	>100
<i>Shigella paradysenteriae</i>	758	1	100
その他			
<i>Mycobacterium avium</i>	ATCC 7992	1	3.13
<i>Mycobacterium phlei</i>	ATCC 355	1	0.39
<i>Mycobacterium</i> sp.	ATCC 607	1	0.2
<i>Mycoplasma</i> spp. (pleuropneumonia-like organisms (PPL0))	295, 299, 455	3	<0.09
<i>Candida albicans</i>	A17	1	>100
<i>Saccharomyces pastorianus</i>	X52	1	>100
<i>Trichophyton interdigitale</i>	A19	1	>100
<i>Trichophyton rubrum</i>	A20	1	>100

1) () 内は参照 33 に記載されている旧分類名

(2) 蜜蜂の病原菌（有効菌種等）に対するタイロシンの MIC 分布

国内において、アメリカ腐蝕病発生蜂群から分離された *P. larvae* に対するタイロシンを含むマクロライド系抗生物質及びリンコマイシンの MIC 分布を表 10 に示した。（参照 24）

マクロライド系のタイロシン、エリスロマイシン及びミロサマイシンは *P. larvae* に同程度の抗菌力を示し、その MIC の分布は 0.025～0.1 µg/mL であった。リンコマイシンもマクロライド系抗生物質と同様の抗菌力を示した。

表 10 国内におけるアメリカ腐蛆病発生蜂群由来 *P. larvae*¹⁾に対する
マクロライド系抗生物質及びリンコマイシンの MIC 分布

薬剤	MIC 分布 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)
タイロシン	0.025～0.1	0.05	0.1
ミロサマイシン	$\leq 0.013 \sim 0.05$	0.05	0.05
エリスロマイシン	0.025～0.1	0.05	0.05
リンコマイシン	$\leq 0.013 \sim 0.1$	0.05	0.05

1) 1997 年公表文献より。分離年不明。参照 24 では、試験に供した *P. larvae* は「46 株」と記載されている。

世界各国において、1992～2001 年にアメリカ腐蛆病罹患幼虫及び流通はちみつ等から分離された *P. larvae* に対するタイロシンの MIC 分布を表 11 に示した。(参照 34)
タイロシンの MIC は 0.0078～0.5 $\mu\text{g/mL}$ であり、全株が感受性であった。

表 11 アメリカ腐蛆病罹患幼虫、はちみつ等由来 *P. larvae*¹⁾に対する
タイロシンの MIC 分布

薬剤	MIC 分布 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)
酒石酸タイロシン	0.0078～0.5	0.0625	0.25

1) 分離年：1992～2001 年。n=67

なお、アメリカ腐蛆病の対策薬として、国内では 1999 年にミロサマイシン製剤が、米国では 2005 年に酒石酸タイロシン製剤が承認されているため、以下に参考として、これらの製剤承認後に行われた感受性に関する調査の情報を記載した。

- ① 国内において、2001 年にアメリカ腐蛆病発生蜂群から分離された *P. larvae* に対するミロサマイシンを含むマクロライド系抗生物質及びリンコマイシンの MIC 分布を表 12 に示した。マクロライド系のエリスロマイシン及びミロサマイシン並びにリンコマイシンの *P. larvae* に対する MIC の分布は $\leq 0.013 \sim 0.1 \mu\text{g/mL}$ であり、ミロサマイシン製剤承認後 2 年間では、MIC 分布はほぼ同程度で、耐性を示す株もみられず、*P. larvae* の薬剤感受性に変化はみられなかった。(参照 35)
- ② 米国において、1999～2013 年にアメリカ腐蛆病発生蜂群から分離された *P. larvae* 33 株のタイロシン及びリンコマイシンに対する感受性を調査した結果、3 株 (9.1%、2007～2013 年分離株) がタイロシン耐性を示し、そのうち 1 株はリンコマイシン耐性を示したことが報告された¹⁴⁾。(参照 36)

¹⁴⁾ 参照 36 では、標準株 5 株を含む 38 株についてディスク拡散法で感受性調査を行い、タイロシン及びリンコマイシンの耐性はともに 3 株 (7.8%) (リンコマイシン耐性株は標準株 1 株を含む。)であったと記載されている。

表 12 国内におけるアメリカ腐蛆病発生蜂群由来 *P. larvae*¹⁾に対する
マクロライド系抗生物質及びリンコマイシンの MIC 分布

薬剤	MIC 分布 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$)
ミロサマイシン	$\leq 0.013 \sim 0.05$	0.025	0.05
エリスロマイシン	0.025 ~ 0.05	0.05	0.05
リンコマイシン	$\leq 0.025 \sim 0.1$	0.05	0.1

1) 2001 年 4 月以降のアメリカ腐蛆病発生蜂群から分離された菌株。調査期間は 2001 年。n=8

注：ブレイクポイントに該当する値なし。

(3) 蜜蜂由来細菌及びはちみつ媒介性病原菌に対する MIC の分布

蜜蜂及びはちみつから分離が報告されている主な細菌を表 13 に示した。(参照 34, 37-52)

蜜蜂の常在菌は近年研究が進められ、新たな細菌が同定・分類されており、未分類の細菌もある。

蜜蜂の腸から分離された細菌全体の 29%がグラム陽性菌であり、70%がグラム陰性菌及びグラム染色が不定性を示す細菌であると報告されている。(参照 37)

分離される菌種や系統群は、地域、季節、蜂群及び成長段階等によって異なるという報告があるが、働き蜂の腸管から分離される細菌の 95%は主要な 8 菌型 (phylotype) で構成されており、その他多様な菌が分離されると報告されている。その他の菌としては、*Bacillus* 属菌や、酢酸菌 (*Gluconobacter*)、乳酸菌 (*Lactobacillus*) 等の分離が多い。(参照 38, 40, 43, 48, 49, 53-56)

はちみつの一次的な微生物学的汚染源としては、花粉、蜜蜂の消化管、粉塵、空気、土壌、花蜜等が考えられている。また、蜜蜂用飼料として使用される甘味料がはちみつにおけるボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) 芽胞の汚染源となっている可能性も挙げられている。二次汚染源としては、空気、食品取扱者、交差汚染、器具等がある。はちみつから一般的に検出される微生物は、酵母及び芽胞形成細菌である。(参照 37, 57, 58)

はちみつ自体の特性 (80%以上の高糖度、低水分活性、低 pH、抗菌活性) により、多くの微生物の増殖が抑制又は殺菌されるため、はちみつからヒトの病原菌の栄養型は検出されない。*Gluconobacter* 及び *Lactobacillus* 等の非芽胞形成細菌は、はちみつが花蜜から熟成する過程で水分含有量の低下とともに減少し、熟成したはちみつでは生存しない。しかしながら、*Bacillus*、*Paenibacillus*、*Clostridium* 等のグラム陽性芽胞形成細菌の芽胞ははちみつ中で長期間生存することが可能である。通常 *Bacillus* 属菌芽胞が検出され、*C. botulinum* 芽胞の検出率は高くない。(参照 37, 58-61)

Clostridium 及び *Bacillus* 属菌芽胞の殺滅には、120℃4 分間以上の加熱が必要であり、はちみつの品質・特性を損なわずに芽胞を殺滅又は除去する処理 (加熱、遠心分

離等) は、適用不可能である。(参照 58, 62)

表 13 蜜蜂及びはちみつから分離¹⁾が報告されている主な細菌属又は種

蜜蜂	はちみつ
グラム陽性菌	
<i>Actinomyces</i>	<i>Actinobacteria</i>
<i>Bacillus</i> ²⁾	<i>Bacillus</i> ^{2), 3)}
<i>Bifidobacterium asteroides</i>	<i>Brevibacillus</i> ²⁾
<i>Brevibacillus laterosporus</i> ^{2), 4)}	<i>Brevibacterium</i>
<i>Clostridium</i> ²⁾	<i>Clostridium perfringens</i> ²⁾ , <i>C. botulinum</i> ²⁾ , etc.
<i>Corynebacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Enterococcus faecalis</i> ⁴⁾	<i>Micrococcus</i>
<i>Fructobacillus</i>	<i>Paenibacillus larvae</i> ^{2), 4)} , <i>P. alvei</i> ^{2), 4)}
<i>Lactobacillus apis</i> , <i>L. melis</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>Melissococcus plutonius</i> ⁴⁾	
<i>Micrococcus</i>	
<i>Paenibacillus larvae</i> ^{2), 4)} , <i>P. alvei</i> ^{2), 4)}	
<i>Staphylococcus</i>	
<i>Streptococcus</i>	
<i>Streptomyces</i>	
<i>Weissella</i>	
グラム陰性菌	
<i>Achromobacter eurydice</i> ⁴⁾	<i>Alcaligenes</i>
<i>Bartonella apis</i> sp. nov.	<i>Enterobacter</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Flavobacterium</i>
<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. aerogenes</i>	<i>Klebsiella</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Neisseria</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Frischella perrara</i>	<i>Xanthomonas</i>
<i>Gilliamella apicola</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Parasaccharibacter apium</i>	
<i>Proteus</i>	
<i>Pseudomonas aerginosa</i> ⁴⁾	
<i>Serratia marcescens</i> ⁴⁾	
<i>Snodgrassella alvi</i>	
その他	
<i>Spiroplasma apis</i> ⁴⁾ , <i>S. melliferum</i> ⁴⁾	

1) 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析によって検出され、生菌が分離されていないものを含む。はちみつからの検出においては、二次汚染による混入と考察されているものを含む。

2) 芽胞形成細菌

3) *B. cereus* の分離が多く、このほか *B. coagulans*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* 等

4) 疾病罹患蜂群から分離される菌。二次感染細菌と考えられているものを含む。

注：下線は主要な 8 菌型に含まれると考えられている細菌

① 蜜蜂由来細菌に対する MIC の分布

蜜蜂の腸から分離された細菌のうち、マクロライド系抗生物質の MIC が報告されているものを表 14 に示した。

表 14 蜜蜂由来グラム陰性菌に対するタイロシン及びエリスロマイシンの MIC

菌種	菌番号	抗生物質の MIC (μg/mL)			参照
		タイロシン	エリスロマイシン	OTC	
<i>Bartonella apis</i>	PEB0122 ^T (NCIMB 14961 ^T , DSM 29779 ^T)	—	感受性	耐性	(参照 51)
	PEB0149	—	感受性	弱い耐性	(参照 51)
<i>Gilliamella apicola</i>	wkB1 ^T (NCIMB 14804 ^T , ATCC BAA-2448 ^T)	12	—	30	(参照 45)
<i>Snodgrassella alvi</i>	wkB2 ^T (NCIMB 14803 ^T , ATCC BAA-2449 ^T , NRRL B-59751 ^T)	>50	—	>50	(参照 45)

—：記載なし

② はちみつ媒介性病原菌に対する MIC の分布

評価対象動物用医薬品の対象動物は蜜蜂であり、蜜蜂に由来する主な食品（はちみつ）媒介性病原菌としては、グラム陽性菌である *C. botulinum* がある（後述 [Ⅲ. 6. (1)]）。

しかしながら、はちみつから分離された *C. botulinum* に対するタイロシン製剤の薬剤感受性試験の報告はみられなかった。

参考として、米国においてボツリヌス食中毒及びボツリヌス症患者並びに食品等から分離された *C. botulinum* は、エリスロマイシン及びクリンダマイシンに感受性を示したことが報告されている。（参照 63, 64）

4. マクロライド系抗生物質に対する薬剤耐性機序及び薬剤耐性決定因子について

(1) マクロライド系抗生物質に対する耐性の基本的機序

細菌におけるマクロライド系抗生物質に対する耐性の基本的な機序は以下のとおりである。（参照 31, 65-67）

耐性の獲得機構は、外来遺伝子を獲得する場合と薬剤標的物質の遺伝子に変異する場合があり、遺伝子に変異して出現する薬剤耐性菌は、一般的に薬剤への暴露により選択される。（参照 29, 68-70）

① 標的部位の変化及び修飾

内因性の耐性機序：マクロライドの結合部位である 23S rRNA のドメイン V の塩基置換並びに 50S リボソームの構成要素である L4 及び L22 リボソームタンパクのアミノ酸置換等突然変異による標的部位の構造変化によって生じる。

外因性の耐性機序：伝達性プラスミド等を介した 23S rRNA の特定の塩基をメチル化するメチルトランスフェラーゼ (ErmB や ErmC 等) をコードした *erm* 遺伝子の獲得によって生じる。

② 薬物不活性化作用

アミノ糖の 2'-ヒドロキシ基のリン酸化反応、マクロライド (エリスロマイシン) のラクトン環内のエステル結合の加水分解等によって生じる。なお、薬物不活性化作用を引き起こす遺伝子は外部からの獲得によるものであり、突然変異によるものではない。

③ 薬物の排出

既存の排出ポンプやそれを調節する遺伝子における突然変異、他の微生物からの排出ポンプをコードする遺伝子の獲得・発現又はファシリテータートランスポーターの獲得・発現によって生じる。

(2) 耐性遺伝子及び交差耐性

erm 遺伝子を有する細菌は遺伝子発現により、マクロライド・リンコマイシン・ストレプトグラミン B (MLS_B) 群全体と交差耐性を示す。(参照 17, 65, 67, 71)

これらのマクロライド獲得耐性遺伝子を発現する菌種の中で、マクロライド系抗生物質耐性が問題となるヒトの主要な感染症原因菌はグラム陽性菌の黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、*Streptococcus pyogenes*、*Streptococcus pneumoniae* 及び腸球菌 (*Enterococcus*) である。これらの菌のマクロライド獲得耐性遺伝子の主なものは、*erm* 及び *mef* 遺伝子である。黄色ブドウ球菌では *ermB*、*ermA* 及び *ermC* 遺伝子、*S. pyogenes* では *ermB*、*ermA*、*mefA* 及び *mefE* 遺伝子、*S. pneumoniae* では *ermB*、*mefE* 及び *mefA* 遺伝子、腸球菌では *ermB* 遺伝子が一般的であり、よく解析されている。(参照 17, 65, 72-74)

これらのマクロライド耐性決定因子は、細菌の可動性遺伝因子上に存在することがある。それらは、最も一般的なトランスポゾンである Tn3 (~5kb) トランスポゾン又は Tn917 (5,614kb、*ermB* 遺伝子) (*E. faecalis*) 若しくは接合トランスポゾンである Tn916 (~18kb、*tetM* 遺伝子) (*E. faecalis*) を原型とする複合トランスポゾン (20~26 kb) 上に存在することが多い。(参照 73, 75-78)

S. pneumoniae のこのような複合トランスポゾン上には *ermB*、*mefA*、*mefE* 遺伝子等が存在する。*S. pyogenes* 及び *S. pneumoniae* の *mefA* 遺伝子は recombinase/integrase が関与する転移遺伝子上に存在することもある。このような転移遺伝子は腸球菌ではプラスミド上に、*S. pyogenes* 及び *S. pneumoniae* では染色体上に存在することが一般的である。(参照 73, 79-81)

芽胞形成細菌である *Bacillus* 属菌及び *Clostridium* 属菌 (*C. perfringens*) のマクロライド系及びリンコマイシン系抗生物質耐性株は *erm* 遺伝子等の薬剤耐性決定因子

を保有しているとの報告がある。(参照 65)

(3) 耐性遺伝子の伝達

染色体上のマクロライド耐性遺伝子及び転移遺伝子上のマクロライド耐性遺伝子は、細菌に特異的な遺伝子伝達機構により他の菌に伝達することがある。また、接合転移遺伝子は菌と菌との接合により直接同種及び他菌種の他の菌に伝達することが可能である。

細菌の遺伝子伝達又は交換機構は腸球菌の接合伝達性プラスミド、*S. pneumoniae*の形質転換、黄色ブドウ球菌及び*S. pyogenes*のファージによる形質導入等が一般的である。(参照 78, 80) これらの機構により他の属又は種の菌にも遺伝子が伝達する可能性はあるが、同一菌種間又は同一属間での伝達が効率的で、一般的であると考えられる。(参照 69)

しかしながら、蜜蜂から分離された細菌におけるマクロライド耐性遺伝子の保有や他の菌への伝達に関する報告はみられなかった。

西洋蜜蜂の常在菌である *Gilliamella apicola* 及び *Snodgrassella alvi* は腸管内に共生しており、両菌種のゲノム配列の比較によって 87 遺伝子が高い相同性を示し、宿主と両菌種間の共進化の過程で遺伝子の水平伝達が行われてきたと考察する報告がある。(参照 82)

なお、海外において約 50 年間にわたりアメリカ腐蛆病の対策に使用されてきたテトラサイクリン系抗生物質に対しては、*P. larvae* が耐性を獲得することが報告されており、プラスミド上にテトラサイクリン耐性遺伝子 (*tet(K)*、*tet(L)*、*tet(M)*、*tet(C)* 等) を保有するとの報告がある。(参照 83-86)

5. 交差耐性を生じる可能性及び医療分野における重要性

(1) マクロライド系抗生物質及び他の系統の抗生物質との交差耐性

以下に、作用機序にリボソームの 50S サブユニットが関与する代表的な抗生物質を挙げ、マクロライド系抗生物質との交差耐性の有無について記載する。

また、ヒト用医薬品として使用されている、主要なマクロライド系抗生物質であるエリスロマイシン、アジスロマイシン、クラリスロマイシン及びロキタマイシンの構造式等を表 15、マクロライド系抗生物質と交差耐性を示すリンコマイシン系抗生物質であるリンコマイシン及びクリンダマイシンの構造式等を表 16 並びにクロラムフェニコールの構造式等を表 17 に示した。(参照 16, 29, 68)

① マクロライド系

タイロシンは、動物用医薬品及び飼料添加物として使用されている 16 員環のマクロライド系抗生物質であり、ヒトには使用されていない。タイロシンは、ヒト医療で使用されるエリスロマイシン (14 員環)、クラリスロマイシン (14 員環)、アジスロマイシン (15 員環) 等と化学構造が類似している。(参照 29, 68, 69)

14 員環、15 員環及び 16 員環マクロライド系抗生物質間では交差耐性が認められることから、16 員環マクロライド系抗生物質であるタイロシンについても、他のマクロライド系抗生物質と交差耐性を示すと考えられる。

② ケトライド系

ケトライド系抗生物質は、タンパク質合成阻害剤であり、50S サブユニットの 23S rRNA に結合する点はマクロライド系抗生物質と同じであるが、23S rRNA のドメイン V (2058 及び 2059 位アデニン) 及びドメイン II (752 位アデニン) の 2 か所に結合する点異なる。ケトライド系抗生物質は、ペニシリン、マクロライド及びキノロン耐性 *S. pneumoniae* に対しても強い抗菌活性を有し、他の抗菌性物質との間に交差耐性を示さないという特徴を有する。(参照 17, 68, 71)

③ リンコマイシン系

リンコマイシン系抗生物質は、表 16 に示すように、構造上は異なるが、マクロライド系抗生物質と同様に、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、静菌的に作用する。[Ⅲ. 4. (2)] に記載したマクロライド耐性機序のうち、特に薬剤の標的部位が変化した場合は、14 員環、15 員環及び 16 員環マクロライド並びにリンコマイシン全てに交差耐性を獲得する。(参照 29, 68-70)

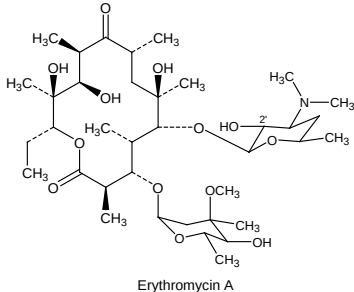
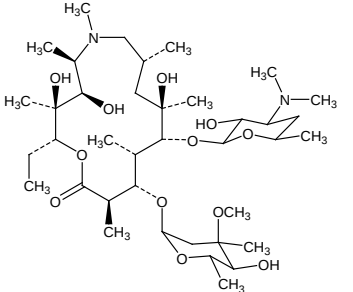
④ オキサゾリジノン系

リネゾリドも、リボソーム 50S サブユニットの 23S rRNA に結合することによって、タンパク質合成を開始する 70S リボソーム複合体の形成を阻害する。ユニークな結合部位を持つこと及びタンパク質合成の初期段階に作用することから、*cf*r 遺伝子保有株を除き他の系統の薬剤との交差耐性はみられない。(参照 87, 88)

⑤ その他

表 17 に示すクロラムフェニコールとその同系統の抗生物質は、マクロライド系抗生物質と同様にリボソームの 50S のサブユニットに結合し、細菌のタンパク質合成を阻害するが、結合部位がマクロライド系と異なることから、*cf*r 遺伝子保有株を除き通常では交差耐性は示さない。*cf*r 遺伝子保有株は、16 員環マクロライド系抗生物質に対し低感受性を獲得する。(参照 88, 89)

表 15 ヒト用医薬品として使用される主要なマクロライド系抗生物質の概要

一般名	エリスロマイシン (動物用医薬品としても使用)	アジスロマイシン
構造式		
分子式	C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂
適応症	皮膚感染症、リンパ管・リンパ節炎、 骨髄炎等	皮膚感染症、リンパ管・リンパ節炎等

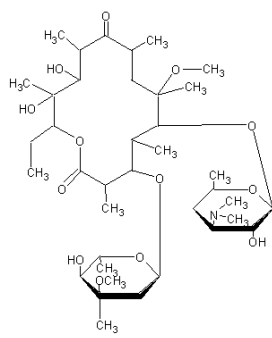
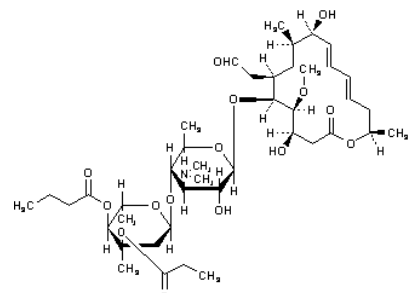
一般名	クラリスロマイシン	ロキタマイシン
構造式		
分子式	$C_{38}H_{69}NO_{13}$	$C_{42}H_{69}NO_{15}$
適応症	表在性皮膚感染症、リンパ管・リンパ節炎、感染性腸炎等	表在性皮膚感染症、リンパ管・リンパ節炎、感染性腸炎等

表 16 ヒト用医薬品として使用される主要なリンコマイシン系抗生物質の概要

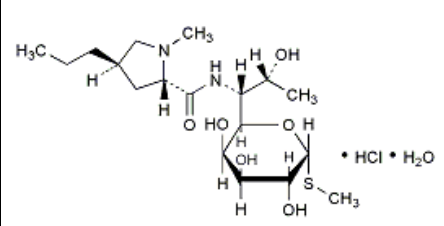
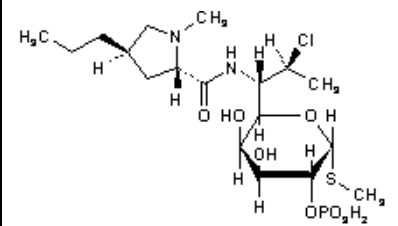
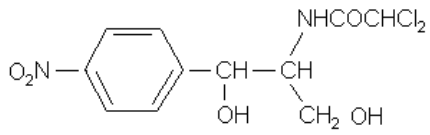
一般名	リンコマイシン (動物用医薬品としても使用)	クリンダマイシン (動物用医薬品 (イヌ用のみ) としても使用)
構造式		
分子式	$C_{18}H_{34}N_2O_6S$	$C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$
適応症	敗血症、感染性心内膜炎、表在性皮膚感染症、深在性皮膚感染症、リンパ管・リンパ節炎、乳腺炎、骨髓炎、関節炎、咽頭・喉頭炎等	敗血症、咽頭・喉頭炎、扁桃炎、急性気管支炎、肺炎、慢性呼吸器病変の二次感染、中耳炎、副鼻腔炎等

表 17 ヒト用医薬品として使用されるクロラムフェニコールの概要

一般名	クロラムフェニコール (動物用医薬品 (イヌ、ネコ用のみ) としても使用)
構造式	
分子式	C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₅
適応症	眼瞼炎、涙嚢炎、麦粒腫、結膜炎、角膜炎 (角膜潰瘍を含む。)、細菌性膣炎、深在性皮膚感染症、慢性膿皮症、外耳炎、中耳炎等

(2) マクロライド系抗生物質の医療分野における重要度

「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 18 年 4 月 13 日食品安全委員会決定)において、タイロシンを含む 16 員環マクロライド系抗生物質は、「同系統又は異なった系統に有効な代替薬が十分にあるもの」として、「Ⅲ：重要」とランク付けされている。また、エリスロマイシンを除く 14 員環及び 15 員環マクロライド系抗生物質は、「ある特定のヒトの疾病に対する唯一の治療薬である抗菌性物質又は代替薬がほとんど無いもの」という理由から、「Ⅰ：きわめて高度に重要」とランク付けされている。(参照 90)

ヒトの臨床現場において、マクロライド系抗生物質は、カンピロバクター感染症、レジオネラ症、百日咳、マイコプラズマ症、非結核性抗酸菌症及び *Chlamydia trachomatis* による性感染症等の治療に用いられている。大腸菌及び腸球菌に起因する感染症の治療には用いられていない。(参照 91-94)

6. ハザードの特定に係る検討

(1) ヒトの感染症病原菌について

芽胞形成細菌による食品を介した経口感染症として、腸炭疽並びに乳児及び成人腸管定着ボツリヌス症が知られており、いずれも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。)に基づく四類感染症に指定されている。

はちみつのリスクに関して EU の科学委員会が実施した文献及び疫学情報調査においては、ボツリヌス毒素産生性の *Clostridium* 属菌以外にはちみつにおける微生物学的ハザードはないとされた。*Bacillus* 属菌はしばしばはちみつから検出されるものの、病気を発症させたという記録はなく、ヒトの健康にリスクがあるとは知られていない。(参照 58)

また、国内において、食中毒統計資料によれば 2000～2016 年の間、はちみつを原因食品とした食中毒の発生は報告されていない。(参照 95)

なお、*P. larvae* のヒトへの感染は、注射薬物使用者が芽胞汚染されたはちみつを含

む麻薬を複数回注射接種したことによる致命的な敗血症例の報告が1例あるのみであり、低リスクであると考えられている。(参照 96, 97)

① 腸炭疽

B. anthracis の芽胞の経口摂取によって起きる腸炭疽は、感染獣の肉を摂食することによって発症し、炭疽の中でもまれである。(参照 98) はちみつによる感染の報告はない。

なお、炭疽は、感染症法による届出が開始された 1999 年以降、国内では発生の報告がない。(参照 99)

炭疽の発症者への治療にはペニシリン G、シプロフロキサシン、ドキシサイクリン等の投与が推奨される。(参照 98, 100)

② 乳児ボツリヌス症及び成人腸管定着ボツリヌス症

C. botulinum 等のボツリヌス毒素産生 *Clostridium* 属菌¹⁵の芽胞を含む食品を介して感染するボツリヌス症として、乳児ボツリヌス症及び成人腸管定着ボツリヌス症がある。

乳児ボツリヌス症は生後 1 年未満の乳児が *C. botulinum* 等の芽胞を経口的に摂取した場合、菌が腸管内で増殖後、産生した毒素により発症する。1 歳以上の健康なヒトでは、経口摂取された芽胞は宿主腸内細菌叢の作用で定着が阻害され、通常病気を引き起こさない。(参照 101, 102)

成人腸管定着ボツリヌス症は、成人や 1 歳以上の小児が乳児ボツリヌス症と同じ機序によって発症するボツリヌス症で、明確な原因食品や創傷ボツリヌス症の証拠がなく、消化管に器質的あるいは機能的障害があるか、抗菌剤を使用している場合に発症するといわれている。その発生は極めてまれであり、国内では 2016 年に 1 例のみ報告されている。(参照 102-104)

国内における乳児ボツリヌス症の発生は、1986 年に最初の症例が報告され、その後 1980 年代に発生した 12 症例ははちみつの摂取が原因だったと考えられている。1987 年には、厚生省（当時）から都道府県等に対し、1 歳未満の乳児にハチミツを与えないよう指導する旨の通知が出された。その後ははちみつが原因とされた症例の発生は 1989 年に 1 例報告され、1990～2016 年の間発生はなかった。(参照 105, 106) 2017 年 3 月、国内初の乳児ボツリヌス症による 1 歳未満の乳児の死亡事案が発生し、調査ではちみつの摂取が原因とされ、厚生労働省及び農林水産省等が関係事業者及び消費者等に対する注意喚起を行った。(参照 107, 108)

国内における 1986 年のはちみつの *C. botulinum* 芽胞汚染状況調査では、巣箱から直接採取したもの、市販品、国産品、輸入原料及び輸入製品の計 512 検体のうち 27 検体 (5.3%) から *C. botulinum* が検出されている。米国では市販はちみつの 10～15% から *C. botulinum* が検出されている。(参照 105)

¹⁵ *C. botulinum* のほか、*C. butyricum*、*C. baratii* 等がある。国内においては、1986～2011 年の間に報告された乳児ボツリヌス症 31 例のうち、1 症例からボツリヌス産生性 *C. butyricum* が分離された。ただし、はちみつが原因だった可能性は低いとされた。(参照 106)

乳児ボツリヌス症は深刻な病気ではあるが、適切に管理されれば死亡率は非常に低い。ヒトの医療分野において、ボツリヌス症の治療は対症療法が基本であり、細胞融解によって毒素放出が増加する懸念から抗生物質による治療は推奨されず、マクロライド系及びリンコマイシン系抗生物質を治療薬として使用しない。(参照 58, 93, 102)

なお、米国では、乳児ボツリヌス症に有効な抗ボツリヌス毒素ヒト免疫グロブリン製剤が認可承認を受けている。(参照 106)

(2) ヒトの常在菌及びそのマクロライド系又はリンコマイシン系抗生物質耐性菌による感染症の検討

[Ⅲ. 3. (3)] に記載した蜜蜂の蜂群から検出が報告されている腸球菌等についても、蜜蜂に対して酒石酸タイロシンを使用した結果、マクロライド系又はリンコマイシン系抗生物質耐性株が選択される可能性が考えられるが、[Ⅲ. 3. (3)] に記載したはちみつの性状から、腸球菌等の非芽胞形成細菌ははちみつ中で生存できず、はちみつを介したヒトへの感染は想定されないと考えられる。

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、蜜蜂に対する評価対象動物用医薬品の使用により薬剤耐性菌が選択され、ヒトがその薬剤耐性菌に起因する感染症を発症した場合に、ヒト用抗菌性物質による治療効果が減弱又は喪失する可能性がある感染症の原因菌である。

働き蜂の腸内やはちみつ等からは、非芽胞形成細菌である腸球菌等並びに芽胞形成細菌である *Bacillus*、*Paenibacillus* 及び *Clostridium* 属菌等が分離される。したがって、蜜蜂のアメリカ腐蛆病の予防のために酒石酸タイロシンを投与した場合、これらの細菌においてマクロライド系及びリンコマイシン系抗生物質耐性株が選択される可能性があると考えられる。

芽胞形成細菌である *Bacillus*、*Paenibacillus* 及び *Clostridium* 属菌に対して、マクロライド系及びリンコマイシン系抗生物質は抗菌活性を示し、*Bacillus* 属菌及び *Clostridium* 属菌のマクロライド系及びリンコマイシン系抗生物質耐性株は *erm* 遺伝子等の薬剤耐性決定因子を保有しているとの報告がある。アメリカ腐蛆病発生蜂群由来の *P. larvae* では、タイロシン及びリンコマイシンへの耐性が報告されている。

はちみつ中では、その特性（高糖度、低水分活性、低 pH、抗菌活性）から非芽胞形成細菌は生存できない。一方、芽胞形成細菌の芽胞は長期間生存することが可能である。

しかしながら、これまでに得られている知見から、一般的にはちみつの摂食を介して芽胞による細菌感染症を起こす可能性があるのはボツリヌス毒素産生性 *Clostridium* 属菌のみと考えられている。

ヒトの医療分野において、*C. botulinum* 等による乳児ボツリヌス症の治療には抗生物質を使用しない。

このように、家畜のみに使用される抗菌性物質であるタイロシンは、ヒトに使用される他のマクロライド系及びリンコマイシン系抗生物質と交差耐性を示し、蜜蜂に酒石酸タイロシンを使用した結果として薬剤耐性菌が選択される可能性は否定できないが、①

はちみつ中で非芽胞形成細菌が生存できないこと、②はちみつを介してヒトに伝播する可能性のある芽胞形成細菌による感染症は乳児ボツリヌス症であり、③その治療に抗生物質が使用されないことから、蜜蜂由来食品を介してヒトの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。

IV. 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酒石酸タイロシンを有効成分とする牛、豚及び鶏の飲水添加剤並びに蜜蜂の飼料添加剤の承認事項の一部変更（対象動物に蜜蜂を追加）の承認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) 評価対象動物用医薬品である酒石酸タイロシン製剤が、蜜蜂に使用されることにより、タイロシン並びにこれと交差耐性が認められるマクロライド系及びリンコマイシン系抗生物質に対する薬剤耐性菌が選択される可能性は否定できない。しかしながら、その特性からはちみつ中で非芽胞形成細菌は生存できず、はちみつを介してヒトに伝播する可能性のある芽胞形成細菌による感染症は乳児ボツリヌス症であり、その治療に抗生物質が使用されないことから、特定すべきハザードはないと判断した。したがって、酒石酸タイロシン製剤を蜜蜂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ず、また、リスク評価の手法についても国際的にも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め新たな科学的知見・情報の収集が必要である。

＜別紙 検査値等略称＞

略称	名称
CLSI	臨床検査標準協会 (Clinical and Laboratory Standards Institute)
EFSA	欧州食品安全機関 (European Food Safety Authority)
EMA	欧州医薬品庁 (European Medicines Agency)
EU	欧州連合 (European Union)
FDA	米国食品医薬品庁 (Food and Drug Administration)
JVARM	動物由来薬剤耐性菌モニタリング (Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System)
LC-MS	液体クロマトグラフィー質量分析 (liquid chromatography-mass spectrometry)
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry)
MIC	最小発育阻止濃度 (Minimum inhibitory concentration)
MIC ₅₀	50%最小発育阻止濃度
MIC ₉₀	90%最小発育阻止濃度

<別紙参考資料：蜜蜂に関する情報>

(参考 1) 蜜蜂の生態と感染症

蜜蜂は女王蜂、働き蜂（外勤蜂、内勤蜂）、雄蜂による社会構造を持つ蜂群（コロニー）を形成する。生存期間は女王蜂が 2～5 年、働き蜂及び雄蜂は数か月程度であり、常に個体が蜂群の中で新陳代謝をしている。この中で、働き蜂の代表的な行動は蜜源植物へ訪花して花蜜や花粉を採集することである。働き蜂は花から花蜜を吸引し、蜜嚢に貯めて巣へ運び、吐き出すときに唾液を加える。（参照 24, 25, 109）

働き蜂になる卵は、産卵された後、3 日の卵中発生過程を経て孵化する。孵化後の幼虫は約 3 日間ゼリーだけを与えられ、4 日目ころからゼリーと花粉・はちみつを混ぜた餌を与えられて成長する。6 日目の後半になると内勤蜂によって巣房に蓋がかけられ、幼虫は繭を吐きながら、胃と通じた肛門から脱糞し、蛹に変態する。蛹の時期には外部から餌を摂取することなく発生過程を続け、産卵から数えて約 21 日目に羽化し、蓋を咬み破って姿を現す。（参照 24, 25）

働き蜂の幼虫に与えられる乳はワーカーゼリーと呼ばれる。ワーカーゼリーは、育児蜂が摂取した花粉が胃（中腸）で消化・吸収された栄養素を用いて、頭部・顎部にある乳腺細胞により生産され、分泌される半液状の乳である。（参照 24, 25）

卵、前蛹、蛹、羽化したばかりの働き蜂は通常腸内細菌叢を持たない。幼虫が汚染された餌の摂取を通じて成虫、花粉、巣などから獲得した腸内細菌は、蛹化前の脱糞から変態の過程で、ほぼ死滅すると考えられている。羽化した成虫は、蜂群内の他の蜂との餌の交換や花粉の摂取を通じて腸内細菌を獲得する。（参照 38, 110）

蜜蜂は一つ一つの巣房の中で蜂児を育て、蜜を貯め、あるいは花粉を蓄える。その配置は右図のように巣脾のほぼ中ほどから下が蜂児を育てる蜂児圏、その周りを取り囲むように花粉を蓄える花粉圏、さらにその上と外側がはちみつを貯める貯蜜圏になっている。蜂が活動期に入って花蜜が採れるようになると、蜂が巣の上の方へはちみつを貯める習性を利用して、育児のための巣箱の上に継ぎ箱と呼ばれる箱を継ぎ足して、この中にはちみつを蓄えさせて採取する。1 枚の巣脾枠に貯蜜圏及び育児圏の両方がある場合は、採蜜が容易にできるよう隔王板を用いて巣箱内で両圏を区分する。はちみつは主として花の多い春先から初夏期及び早秋期に採取される。（参照 24, 25, 109）

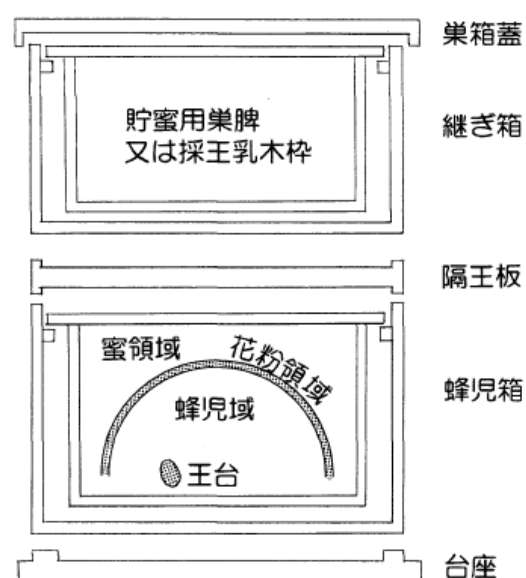


図 養蜂で用いられる巣箱とその内部（参照 25）

はちみつからは、蜜蜂由来の細菌及び採蜜やビン詰め加工などのはちみつ生産工程においてヒトによって混入した細菌が検出される。養蜂生産物は、生きた蜜蜂の巣箱から取り出され、瓶詰以外の加工の入らない状態で消費者の口に入るものが多い。このため、その衛生状態は、生産から加工段階での衛生管理に大きく依存する。(参照 111)

蜜蜂の社会構造は気象、捕食者等の様々な外部環境要因からコロニーを守る構造となっているが、寄生虫、病原菌、ウイルス等の内部に直接侵入するような要因に対してはこの防御機構がうまく働かず、致命的な影響を受けることが多い。(参照 111)

蜜蜂は、巣箱の中で密集して生活し、働き蜂同士は常に高頻度で接触しているため、細菌・ウイルス等の病原体がコロニー全体に蔓延するのに適した状態である。また、巣内は高温多湿で、細菌の繁殖には非常に適した環境である。一度疾病が発生すれば、感染は急速に巣内に蔓延する。(参照 111)

コロニーでは働き蜂が幼虫の世話をするため、幼虫の一部が疾病に罹った場合、その幼虫を世話した働き蜂が別の幼虫を世話することで疾病の蔓延を招くとともに、感染を絶つことも難しい。また、盗蜂や外勤蜂の他のコロニーへの迷い込みが疾病の感染拡大の原因になっている。弱いコロニーは疾病に罹っていることが多く、盗蜂によって蜜だけでなく病原体も運ぶことになる。さらに、蜜蜂の近親交配による衰勢化や家畜化による耐病性の低下も考えられる。(参照 111)

(参考 2) アメリカ腐蛆病及びその起因菌 *Paenibacillus larvae*

腐蛆病は蜜蜂の幼虫を侵す疾病で、グラム陽性の有芽胞桿菌であるアメリカ腐蛆病菌 (*P. larvae*) によるアメリカ腐蛆病、グラム陽性槍先状レンサ球菌のヨーロッパ腐蛆病菌 (*Melissococcus plutonius*) によるヨーロッパ腐蛆病がある。国内では、両病が 1955 年から腐蛆病として家畜伝染病予防法 (昭和 26 年法律第 166 号) に基づく家畜伝染病に指定され、届出の対象となっており、発生した蜂群は焼却処分となる。(参照 109, 112)

通常、この *P. larvae* は芽胞の形で存在し、芽胞に汚染された餌を通して若齢幼虫に摂取されたときに感染が起こる。自然界でこの菌種が増殖型になるのは芽胞が幼虫の消化管内に取り込まれたときだけであるといわれている。*P. larvae* の芽胞はコロニー内の成虫やはちみつ中に数年間存在した後に、アメリカ腐蛆病を起こすことがある。(参照 24, 113)

アメリカ腐蛆病は、*P. larvae* の芽胞が餌を介して蜜蜂の幼虫に経口感染することにより、敗血症死を引き起こす。アメリカ腐蛆病は幼虫が存在する期間はいつでも発生し、有蓋蜂児が主に死亡し、粘稠性で茶褐色の腐蛆、巣房蓋の陥凹や小孔がみられ、時に膠臭がある。感染死亡した幼虫は、働き蜂によって除外されるが、同時に、接触した蜂が芽胞を巣内に拡散することになる。芽胞は熱や酸などに耐性があり、長期的に巣箱環境に生存するため、一度巣内が汚染されると根絶は難しい。(参照 111, 112, 114)

P. larvae の芽胞は、はちみつ及び蜜ろう等の蜜蜂由来生産物並びに環境中で 3~10 年、乾燥した蜂児の扁平状の死骸内では 35 年以上生存する。(参照 96)

P. larvae には複数の遺伝子型があり、遺伝子型の一部がプラスミドを保有することが報告されている。(参照 115)

P. larvae のヒトへの感染は低リスクである。注射薬物使用者が芽胞汚染されたはちみ

つを含むオピオイド系麻薬を複数回注射接種したことによる致命的な敗血症例の報告が1例ある。(参照 96, 97)

なお、アメリカ腐蛆病菌は、従前は *Bacillus larvae* と称されていたが、分類学上の整理の結果、現在では *Paenibacillus larvae* に名称が変更されている。(参照 116)

(参考3) 蜜蜂用語

用語	解説
コロニー、蜂群 (colony)	蜜蜂の社会的集合単位。通常1コロニー＝1巣箱 (hive) で1匹の女王と関連する働き蜂 (外勤蜂及び内勤蜂 (育児蜂))、雄蜂からなる
育児箱 (brood chamber)	女王蜂が産卵し、蜂児や蛹を収容する蜜蜂コロニーの居住する箱
採蜜	蜜蜂が集めたはちみつの収穫
集蜜	蜜蜂による蜜の採取
巣房 (cell)	ハチの巣の内部につくられる、幼虫の成育や蜜の貯蔵などのための六角形の小部屋
巣蜜 (brood honey)	育児箱の貯蜜枠に貯えられるはちみつ
巣枠 (frame)	育児箱又は継箱内にいれる巣房を作る枠
貯蜜	蜂児等の育成用に空の巣房に貯えられる余剰の蜜
継ぎ箱 (honey supers)	育児箱の上に乗せて蜜蜂に貯蜜を行わせ、採蜜するための箱
盗蜂 (robbing)	他の群の群に侵入して貯蜜してある蜜を盗む蜂
蜂児 (brood)	蜜蜂の子虫。卵 (egg)、幼虫 (larvae)、蛹 (pupa) を合わせた用語
蜜嚢、蜜胃 (crop)	花粉や水を一時的に貯蔵する食道膨大部
有蓋巣房 (sealed brood)	蓋がされた巣房。育児枠では蜂児が蛹になる前に有蓋となる。一方、余剰蜜については、はちみつが熟成されてくると蓋がされる。一方、腐蛆病では有害巣房中で死亡した蜂児により、蓋がへこんだり、小孔が開くため、当該疾病の特徴的所見として認められる
余剰蜜 (surplus honey)	継箱の巣枠にためられたはちみつ。通常商用のはちみつとして採蜜される
流蜜 (honey flow)	花が咲き、蜜蜂が蜜を採取できる状況

(参照 7, 24, 109)

<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. 食品安全委員会. ガミスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤（ザクトラン）の承認に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価. 2014.
3. 食品安全委員会. ツラスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤（ドラクシンC）の承認に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価. 2015.
4. 食品安全委員会. ツラスロマイシンを有効成分とする豚の注射剤（ドラクシン）の承認に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価. 2012.
5. 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. ガミスロマイシンを有効成分とする豚の注射剤（ザクトラン メリアル）の承認に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価（案）. 2017.
6. 日本イーライリリー株式会社. 動物用医薬品製造販売承認事項変更承認申請 タイラン水溶散（非公表）.
7. 日本イーライリリー株式会社. 動物用医薬品製造販売事項変更承認申請 タイラン水溶散の概要（非公表）.
8. 食品安全委員会. 動物用医薬品・飼料添加物評価書. タイロシン（第2版）. 2016.
9. 二宮幾代治. 7.1 タイロシン（tylosin）. in 動物の抗生物質. 養賢堂. 1987.
10. JECFA. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Technical Report Series 954, 3.9 Tylosin, p94-107. 2009.
11. JECFA. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO Food Additives Series No.61, Tylosin, p.183-216. 2009.
12. FDA-CVM. Freedom of information summary. Supplemental new animal drug application. NADA 013-076. TYLAN (tylosin tartrate) Soluble. 2005.
13. NCBI. PubChem. Tylosin tartarate (PubChem CID: 6433274). <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (accessed 2017-3-23).
14. Paesen J, Cypers W, Pauwels K, Roets E, Hoogmartens J. Study of the stability of tylosin A in aqueous solutions. J Pharm Biomed Anal. 1995;13(9):1153-9.
15. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39: 577-85.
16. Yao J, Moellering Jr R, Chapter 116. Antibacterial agents, in Manual of Clinical Microbiology 7th ed., M PR, B EJ, P MA, T FC, Y RH, Eds. 1999, ASM Press: Washington DC. p. 1474-504.
17. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. Clin Infect Dis. 2002;34: 482-92.
18. Tenson T, Lovmar M, Ehrenberg M. The mechanism of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome. J Mol Biol. 2003;330: 1005-14.
19. 農林水産省. 動物医薬品検査所. 各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量（2005～2015）. <http://www.maff.go.jp/nval/iyakutou/hanbaidaka/> (accessed 2017-3-18).
20. 農林水産省. 生産局. 養蜂をめぐる情勢（平成28年10月）. 2016. <http://www.maff.go.jp/j/chikusan/kikaku/lin/sonota/attach/pdf/bee-3.pdf> (accessed 2017-4-5).

21. 農林水産省. 消費・安全局. 家畜伝染病発生累年比較 (1934～2016) .
http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html (accessed 2017-4-27).
22. FDA-CVM. Guidance for Industry #152. Evaluating the Safety of Antimicrobial New Animal Drugs with Regard to Their Microbiological Effects on Bacteria of Human Health Concern. 2003.
23. Murphy D, Ricci A, Auce Z, Beechinor JG, Bergendahl H, Breathnach R, *et al.* EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). *EFSA Journal*. 2017;15: 4666.
24. 吐山豊秋, 岡山敦子, 中島千絵, 迫川朋子, 片岡重明, 中村晃. アメリカ腐蛆病の防除に有効な薬剤の検索. *日本獣医師会雑誌*. 1997;50: 429-37.
25. 吐山豊秋. 蜜蜂における薬理学的研究. *日薬理誌*. 1997;110:183-93.
26. 日本イーライリリー株式会社. 動物用医薬品製造販売事項変更承認申請 タイラン水溶液の概要 添付資料15 (非公表) .
27. Nozal Nalda MJ, Bernal Yagüe JL, Martín Gómez MT, Jiménez Sevilla JJ, Bernal del Nozal J, Higes Pascual M. Trace analysis of antibacterial tylosin A, B, C and D in honey by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. *J Sep Sci*. 2006;29: 405-13.
28. Thompson TS, Pernal SF, Noot DK, Melathopoulos AP, van den Heever JP. Degradation of incurred tylosin to desmycosin—Implications for residue analysis of honey. *Analytica Chimica Acta*. 2007;586: 304-11.
29. 明石 敏. マクロライド系抗菌薬を中心に. *日本薬理学雑誌*. 2007;130: 294-8.
30. Nakajima Y. Mechanisms of bacterial resistance to macrolide antibiotics. *J Infect Chemother*. 1999; 5:61-74.
31. 小原康治. 今日のマクロライド系抗菌薬の耐性化の傾向. *日本化学療法学会雑誌*. 2000;48: 169-90.
32. Prescott JF and Baggot JD. 11 Lincosamide, Macrolides, and Pleuromutilins. In *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 2000. p229-262.
33. McGuire JM, Boniece WS, Higgins CE, Hoehn MM, Stark WM, Westhead J, *et al.* Tylosin, a New Antibiotic : I. Microbiological Studies. *Antibiot Chemother*. 1961;11(5): 320-7.
34. Alippi AM. Is Terramycin losing its effectiveness against AFB? The Argentinian experience. *Bee Biz*. 2000;11:27-9.
35. 農林水産省提出資料. ミロサマイシンに対するみつばちアメリカ腐蛆病菌の感受性測定試験 (非公表) .
36. Krongdang S, Evans JD, Pettis JS, Chantawannakul P. Multilocus sequence typing, biochemical and antibiotic resistance characterizations reveal diversity of North American strains of the honey bee pathogen *Paenibacillus larvae*. *PLoS One*. 2017;12(5): e0176831.
37. Snowden JA, Cliver DO. Microorganisms in honey. *Int J Food Microbiol*. 1996;31: 1-26.
38. Gilliam M. Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. *FEMS Microbiol Lett*. 1997;115:1-10.
39. Forsgren E. European foulbrood in honey bees. *J Invertebr Pathol*. 2010;103:S5-S9.
40. Martinson VG, Danforth BN, Minckley RL, Rueppell OV, Tingek S, Moran NA. A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees. *Mol Ecol*. 2011;20:619-28.
41. Evans JD, Schwarz RS. Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. *Trends*

- Microbiol. 2011;19(12):614-20.
42. Bottacini F, Milani C, Turrone F, Sánchez B, Foroni E, Duranti S, et al. *Bifidobacterium asteroides* PRL2011 genome analysis reveals clues for colonization of the insect gut. PLoS One. 2012;7: e44229.
 43. Moran NA, Hansen AK, Powell JE, Sabree ZL. Distinctive gut microbiota of honey bees assessed using deep sampling from individual worker bees. PLoS One. 2012;7: e36393.
 44. Anderson KE, Sheehan TH, Mott BM, Maes P, Snyder L, Schwan MR, et al. Microbial ecology of the hive and pollination landscape: bacterial associates from floral nectar, the alimentary tract and stored food of honey bees (*Apis mellifera*). PLoS One. 2013;8: e83125.
 45. Kwong WK, Moran NA. Cultivation and characterization of the gut symbionts of honey bees and bumble bees: description of *Snodgrassella alvi* gen. nov., sp. nov., a member of the family *Neisseriaceae* of the *Betaproteobacteria*, and *Gilliamella apicola* gen. nov., sp. nov., a member of *Orbaceae* fam. nov., *Orbales* ord. nov., a sister taxon to the order 'Enterobacteriales' of the *Gammaproteobacteria*. Int J Syst Evol Microbiol. 2013;63: 2008-18.
 46. Corby-Harris V, Snyder LA, Schwan MR, Maes P, McFrederick QS, Kirk E, et al. Origin and effect of Alpha 2.2 *Acetobacteraceae* in honey bee larvae and description of *Parasaccharibacter apium* gen. nov., sp. nov. Appl Environ Microbiol. 2014;80(24):7460-72.
 47. Schwarz RS, Teixeira EW, Tauber JP, Birke JM, Martins MF, Fonseca I, et al. Honey bee colonies act as reservoirs for two *Spiroplasma* facultative symbionts and incur complex, multiyear infection dynamics. Microbiologyopen. 2014;3(3):341-55.
 48. Hroncova Z, Havlik J, Killer J, Dostkocil I, Tyl J, Kamler M, et al. Variation in honey bee gut microbial diversity affected by ontogenetic stage, age and geographic location. PLoS One. 2015;10: e0118707.
 49. Rokop ZP, Horton MA, Newton ILG. Interactions between cooccurring lactic acid bacteria in honey bee hives. Appl Environ Microbiol. 2015;81: 7261-70.
 50. Vidal-Naquet N. Honeybee Veterinary Medicine: *Apis mellifera* L. Sheffield, 5m Publishing. 2015.
 51. Kešnerová L, Moritz R, Engel P. *Bartonella apis* sp. nov., a honey bee gut symbiont of the class *Alphaproteobacteria*. Int J Syst Evol Microbiol. 2016;66: 414-21.
 52. Burritt NL, Foss NJ, Neeno-Eckwall EC, Church JO, Hilger AM, Hildebrand JA, et al. Sepsis and hemocyte loss in honey bees (*Apis mellifera*) infected with *Serratia marcescens* Strain Sicaria. PLoS One. 2016;11(12):e0167752.
 53. Engel P, Martinson VG, Moran NA. Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. Proc Natl Acad Sci USA. 2012;109:11002-7.
 54. Vojvodic S, Rehan AM, Anderson KE. Microbial gut diversity of Africanized and European honey bee larval instars. PLoS One. 2013;8(8): e72106.
 55. Corby-Harris V, Maes P, Anderson KE. The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers. PLoS One. 2014;9(4): e95056.
 56. Powell JE, Martinson VG, Urban-Mead K, Moran NA. Routes of acquisition of the gut microbiota of the honey bee *Apis mellifera*. Appl Environ Microbiol. 2014;80:7378-87.
 57. Nakano H, Yoshikuni Y, Hashimoto H, Sakaguchi G. Detection of *Clostridium botulinum* in

- natural sweetening. *Int J Food Microbiol.* 1992;16(2):117-21.
58. European Commission. Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on honey and microbiological hazards. Adopted on 19-20 June 2002.
 59. Ruiz-Argueso T, Rodriguez-Navarro A. Microbiology of ripening honey. *Appl Microbiol.* 1975;30(6):893-6.
 60. Molan PC. The Antibacterial activity of honey 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World.* 1992;73(1):5-28.
 61. Bogdanov S. Contaminants of bee products. *Apidologie.* 2006;37(1):1-18.
 62. 消費者庁と厚生労働省. 容器包装詰低酸性食品に関するボツリヌス食中毒対策について(平成24年8月2日付け消食表第343号・食安基発0802第3号・食安基発0802第4号) . 2012.
http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/gyousei/dl/120802_1.pdf (accessed 2017-4-27).
 63. Dezfulian M, Dowell VR Jr. Cultural and physiological characteristics and antimicrobial susceptibility of *Clostridium botulinum* isolates from foodborne and infant botulism cases. *J Clin Microbiol.* 1980;11(6):604-9.
 64. Swenson JM, Thornsberry C, McCroskey LM, Hatheway CL, Dowell VR Jr. Susceptibility of *Clostridium botulinum* to thirteen antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1980;18(1):13-9.
 65. Roberts M, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen L, Rood J, Seppala H. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43: 2823-30.
 66. Luangtongkum T, Jeon B, Han J, Plummer P, Logue C, Zhang Q. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiol.* 2009;4: 189-200.
 67. Roberts MC. Environmental macrolide-lincosamide-streptogramin and tetracycline resistant bacteria. *Front Microbiol.* 2011;2:1-8.
 68. 井上松久, 兼子謙一, 中野竜一, 佐藤義則, 新井進. マクロライド及びケトライド耐性肺炎球菌の分子解析による評価. *Jpn J Antibiot.* 2004;57: 425-37.
 69. Norcia L, Silvia A, Santoro S, Retsema J, Letavic M, Bronk B, *et al.* *In vitro* microbiological characterization of a novel azalide, two triamilides and an azalide ketal against bovine and porcine respiratory pathogens. *J Antibiot (Tokyo).* 2004;57: 280-8.
 70. Harada K, Asai T, Kojima A, Sameshima T, Takahashi T. Characterization of macrolide-resistant *Campylobacter coli* isolates from food-producing animals on farms across Japan during 2004. *J Vet Med Sci.* 2006;68: 1109-11.
 71. Vester B, Douthwaite S. Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45: 1-12.
 72. Robinson D, Sutcliffe J, Tewodros W, Manoharan A, Bessen D. Evolution and global dissemination of macrolide-resistant group A streptococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50: 2903-11.
 73. Varaldo P, Montanari M, Giovanetti E. Genetic elements responsible for erythromycin resistance in streptococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53: 343-53.
 74. Del Grosso M, Camilli R, Barbabella G, Northwood J, Farrell D, Pantosti A. Genetic resistance

- elements carrying *mef* subclasses other than *mef(A)* in *Streptococcus pyogenes*. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55: 3226-30.
75. Tomich P, An F, Clewell D. Properties of erythromycin-inducible transposon Tn917 in *Streptococcus faecalis*. J Bacteriol. 1980;141: 1366-74.
 76. Franke A, Clewell D. Evidence for a chromosome-borne resistance transposon (Tn916) in *Streptococcus faecalis* that is capable of "conjugal" transfer in the absence of a conjugative plasmid. J Bacteriol. 1981;145: 494-502.
 77. Ike Y, Clewell D. Genetic analysis of the pAD1 pheromone response in *Streptococcus faecalis*, using transposon Tn917 as an insertional mutagen. J Bacteriol. 1984;158: 777-83.
 78. Clewell D, Flannagan S, Ike Y, Jones J, Gawron-Burke C. Sequence analysis of termini of conjugative transposon Tn916. J Bacteriol. 1988;170: 3046-52.
 79. Banks D, Porcella S, Barbian K, Martin J, Musser J. Structure and distribution of an unusual chimeric genetic element encoding macrolide resistance in phylogenetically diverse clones of group A *Streptococcus*. J Infect Dis. 2003;188: 1898-908.
 80. Giovanetti E, Brenciani A, Vecchi M, Manzin A, Varaldo P. Prophage association of *mef(A)* elements encoding efflux-mediated erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes*. J Antimicrob Chemother. 2005;55: 445-51.
 81. Palmieri C, Mingoia M, Massidda O, Giovanetti E, Varaldo P. *Streptococcus pneumoniae* transposon Tn1545/Tn6003 changes to Tn6002 due to spontaneous excision in circular form of the *erm(B)*- and *aphA3*-containing macrolide-aminoglycoside-streptothricin (MAS) element. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56: 5994-7.
 82. Kwong WK, Engel P, Koch H, Moran NA. Genomics and host specialization of honey bee and bumble bee gut symbionts. Proc Natl Acad Sci USA. 2014;111: 11509-14.
 83. Evans JD. Diverse origins of tetracycline resistance in the honey bee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*. J Invertebr Pathol. 2003; 83:46-50.
 84. Alippi AM, López AC, Reynaldi FJ, Grasso DH, Aguilar OM. Evidence for plasmid-mediated tetracycline resistance in *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American Foulbrood (AFB) disease in honeybees. Vet Microbiol. 2007;125:290-303.
 85. Murray KD, Aronstein KA, de León JH. Analysis of pMA67, a predicted rolling-circle replicating, mobilizable, tetracycline-resistance plasmid from the honey bee pathogen, *Paenibacillus larvae*. Plasmid. 2007;58:89-100.
 86. Tian B, Fadhil NH, Powell JE, Kwong WK, Moran NA. Long-term exposure to antibiotics has caused accumulation of resistance determinants in the gut microbiota of honeybees. mBio. 2012;3(6):e00377-12.
 87. 高折修二, 福田英臣, 赤池昭紀, 第47章 抗微生物薬. リネゾリド, in グッドマン・ギルマン薬理書 [下], 高折修二、福田英臣、赤池昭紀監訳, Editor. 2003, 廣川書店: 東京. p. 1601-1603.
 88. Shen J, Wang Y, Schwarz S. Presence and dissemination of the multiresistance gene *cfr* in Gram-positive and Gram-negative bacteria. J Antimicrob Chemother. 2013;68(8):1697-706.
 89. 高折修二, 福田英臣, 赤池昭紀, 第47章 抗微生物薬. クロラムフェニコール, in グッドマン・ギルマン薬理書 [下], 高折修二、福田英臣、赤池昭紀, Editor. 2003, 廣川書店: 東京. p. 1582-1588.

90. 食品安全委員会. 食品を介してヒトの健康に影響を及ぼす細菌に対する抗菌性物質の重要度のランク付けについて. 2006.
91. Australian Strategic and Technical Advisory Group on AMR (ASTAG). Importance Ratings and Summary of Antibacterial Uses in Humans in Australia. 2015.
92. Heymann D. Control of Communicable Diseases Manual. 19th ed. 2008, Washington, DC: American Public Health Association. p.94-7.
93. 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. 2005, 協和企画: 東京. p.129-33.
94. 日本感染症学会/日本化学療法学会, 編. 感染症治療ガイドライン2015. 一腸管感染症一. 日本化学療法学会雑誌. 2016;64: 31-65.
95. 厚生労働省. 食中毒統計資料. 食中毒発生事例 (2010～2016年).
http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/shokuhin/syokuchu/04.html
(accessed 2017-4-25).
96. World Organisation for Animal Health (OIE). OIE Terrestrial Manual 2016. Chapter 2.2.2. American foulbrood of honey bees (Infection of honey bees with *Paenibacillus larvae*). 2016.
97. Rieg S, Bauer TM, Peyerl-Hoffmann G, Held J, Ritter W, Wagner D, *et al.* *Paenibacillus larvae* bacteremia in injection drug users. Emerg Infect Dis. 2010;16(3):487-9.
98. 国立感染症研究所. 感染症情報センター. 感染症の話 (炭疽). 感染症発生動向調査週報 (IDWR). 2005;7(12):9-12. <http://idsc.nih.gov/jp/idwr/pdf-back13.html> (accessed 2017-4-25)
99. 国立感染症研究所. 感染症発生動向調査年別報告数一覧 (全数把握) 四類感染症 (全数).
<http://www.niid.go.jp/niid/ja/survei/2085-idwr/ydata/6561-report-ja2015-20.html> (accessed 2017-4-27).
100. 国立感染症研究所. 炭疽検査マニュアル (第2版). 病原体検出マニュアル. 2012.
<http://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html#class4> (accessed 2017-4-13).
101. 国立感染症研究所. 感染症情報センター. 感染症の話 (乳児ボツリヌス症). 感染症発生動向調査週報 (IDWR). 1999;1(47):18-20. <http://idsc.nih.gov/jp/idwr/pdf-back13.html> (accessed 2017-4-25).
102. FDA. Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Second Edition. *Clostridium botulinum*, pp.108-12. 2012.
103. 国立感染症研究所. 急性白血病治療中に発症した5歳の成人腸管定着ボツリヌス症例. 病原微生物検出情報 (IASR). 2017;38(1):20-1.
<http://www.niid.go.jp/niid/ja/id/1041-disease-based/ha/botukinus/idsc/iasr-in/7024-443d01.html>
(accessed 2017-4-25).
104. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Botulism Prevention.
<https://www.cdc.gov/botulism/prevention.html> (accessed 2017-6-21).
105. 厚生省. 乳児ボツリヌス症の予防対策について (昭和62年10月20日付け健医感第71号・衛食第170号・衛乳第53号・児母衛第29号). 1987. <http://idsc.nih.gov/jp/iasr/CD-ROM/records/08/09302.htm>
(accessed 2017-4-25).
106. 国立感染症研究所レファレンス委員会と地方衛生研究所全国協議会. ボツリヌス症. 病原体検出マニュアル. 2012. <http://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html#class4> (accessed 2017-4-13).
107. 厚生労働省. 蜂蜜を原因とする乳児ボツリヌス症による死亡事案について (平成29年4月7日付け事務連絡). 2017.

108. 農林水産省. 蜂蜜を原因とする乳児ボツリヌス症予防に係る注意喚起について (平成 29 年 4 月 10 日 付け 29 生畜第 50 号) . 2017.
109. 田先威和夫監修. VIII. 養蜂 in 新編畜産大辞典. 1996, 養賢堂: 東京. p.1189-96.
110. Engel P and Moran NA. The gut microbiota of insects –diversity in structure and function. *EMS Microbiol Rev.* 2013;37:699-735.
111. 木村澄, 芳山三喜雄, 中村純. 養蜂における衛生管理. 養蜂技術指導手引書Ⅱ. 一般社団法人 日本養蜂協会. 2015.
112. 動物衛生研究所. 家畜の監視伝染病. 家畜伝染病－28腐蛆病 (foul brood).
http://www.naro.affrc.go.jp/org/niah/disease_fact/k28.html (accessed 2017-1-17).
113. Lindström A, Korpela S, Fries I. The distribution of *Paenibacillus larvae* spores in adult bees and honey and larval mortality, following the addition of American foulbrood diseased brood or spore-contaminated honey in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *J Invertebr Pathol.* 2008;99(1):82-6.
114. みつばち協議会養蜂家向けマニュアル作成検討委員会. 養蜂家向け！養蜂マニュアル. みつばち協議会. 2011.
115. Neuendorf S, Hedtke K, Tangen G, Genersch E. Biochemical characterization of different genotypes of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a honey bee bacterial pathogen. *Microbiol.* 2004;150: 2381-90.
116. Genersch E, Forsgren E, Pentikäinen J, Ashiralieva A, Rauch S, Kilwinski J, *et al.* Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvificiens* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2006;56:501-11.