

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）における審議結果について

1. 審議結果

農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められた家畜等に使用するナラ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は、平成 24 年 12 月 4 日に開催された第 63 回肥料・飼料等/第 37 回微生物・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）において審議結果（案）がとりまとめられた。

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

2. 家畜等に使用するナラ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 25 年 5 月 13 日（月）開催の食品安全委員会（第 473 回会合）の翌日、平成 25 年 5 月 14 日（火）から平成 25 年 6 月 12 日（水）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、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）の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

家畜等に使用するナラ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5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	6
2. 使用方法	7
(1) 対象飼料及び添加量	7
(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	8
(3) 使用上の注意	9
(4) 管理分析の実施	9
(5) ナラシンの使用量	9
3. 海外における評価状況等	10
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	10
(1) 鶏における吸収・分布・排泄試験	10
(2) ラット及び鶏における標識体（ ¹⁴ C 標識ナラシン）を用いた排泄試験	11
(3) 鶏における ¹⁴ C 標識ナラシンを用いた糞中代謝物の割合	11
(4) 鶏における代謝物の単離、同定	11
(5) 鶏における ¹⁴ C 標識ナラシンの組織中残留消失試験	12
5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ	12
(1) 作用機序	12
(2) 作用のタイプ	14
(3) コクシジウムに対する作用	14
6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布	15
(1) 抗菌スペクトル	15
(2) 対象とする家畜等の病原体に対する最小発育阻止濃度（MIC）の分布	16
(3) 指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対する MIC の分布	17
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	19
8. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報	19

(1) 耐性獲得及び交差耐性に関する試験 (<i>in vitro</i>)	19
(2) 薬剤耐性決定因子に関する情報.....	20
(3) 反すう動物のルーメン内細菌に認められる適応について	20
9. ハザードの特定に係る検討.....	21
II. 食品健康影響評価について.....	21
<参照>	23

〈審議の経緯〉

2003 年 12 月 8 日 農林水産大臣から薬剤耐性菌に係る食品健康影響評価について要請（15 消安第 3979 号）
2003 年 12 月 11 日 第 23 回食品安全委員会（要請事項説明）
2004 年 9 月 30 日 「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針」決定
2006 年 4 月 13 日 「食品を介してヒトの健康に影響を及ぼす細菌に対する抗菌性物質の重要度のランク付けについて」決定
2012 年 11 月 19 日 関係資料の接受
2012 年 12 月 4 日 肥料・飼料等（第 63 回）／微生物・ウイルス（第 37 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 5 月 13 日 第 473 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〉

(2011 年 10 月 1 日から)

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

〈食品安全委員会肥料・飼料等（第 63 回）／微生物・ウイルス（第 37 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ナラ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。

ナラ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で、大腸菌、腸球菌等をナラシン存在下で40代継代しても、ナラシン及び他の抗菌性物質に対する有意な耐性獲得のないことが示された。

家畜由来細菌のナラシンに対する感受性についての国内での知見はない。しかし、国内での家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査において、腸球菌でナラシンと交差耐性を示すサリノマイシン低感受性菌が検出されているが、MIC₅₀ 及び MIC₉₀ の値の変化は小さく、低感受性菌が明確に増加する傾向は認められていない。

耐性決定因子に関連する知見はなく、耐性機序の詳細は不明であるが、ナラシンの細菌への作用は特定の標的部位に対する作用でないということ等を勘案すると、ナラシン感受性菌が耐性決定因子の獲得によって耐性菌に変化する可能性は低いと考えられた。

以上のハザードの特定に関する検討の結果、ナラシンの家畜等への使用によりナラシン耐性菌が選択される可能性は否定できないが、ナラシンがヒト用医薬品として使用されていないこと、ナラ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、ナラ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：ナラシン

英名：Narasin

(参照 1)

(2) 化学名

英名： α -Ethyl-6-[5-[2-(5-ethyltetrahydro-5-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-yl)-15-hydroxy-2,10,12-trimethyl-1,6,8-trioxadispiro[4.1.5.3]pentadec-13-en-9-yl]-2-hydroxy-1,3-dimethyl-4-oxoheptyl]tetrahydro-3,5-dimethyl-2H-pyran-2-acetic acid

CAS 番号：55134-13-9

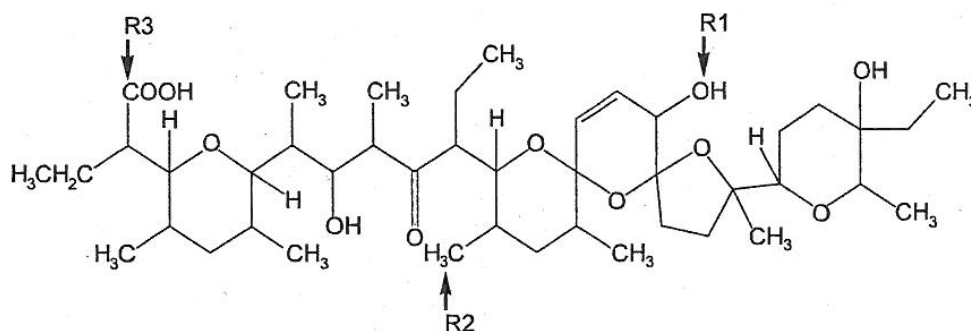
(参照 1、2)

(3) 化学構造

化学式： $C_{43}H_{72}O_{11}$

分子量：765.03

構造式：



Structural variants of narasin	R1	R2	R3
A	OH	CH ₃	COOH
B	=O	CH ₃	COOH
D	OH	C ₂ H ₅	COOH
I	OH	CH ₃	COOCH ₃

(参照 1、3)

(4) 有効成分の系統

① 有効成分の系統

ナラシンは *Streptomyces aureofaciens* の培養によって得られるナラシン A を主

成分とするポリエーテル系抗生物質である。ポリエーテル系抗生物質は分子中に多くのエーテル結合を有し、各種金属イオンとの親和性が高いことからイオノフォアと称される。(参照 3、4)

ナラシンは、ナラシン A (96%)、ナラシン B (1%)、ナラシン D (2%) 及びナラシン I (1%) で構成され、ナラシン A が主要な活性を有する (85%)。(参照 3)

日本においては、飼料添加物として指定されている。

ナラシンは、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。

② 関連する系統

国内で飼料添加物として指定されているポリエーテル系イオノフォアには、サリノマイシンナトリウム、モネンシンナトリウム、ラサロシドナトリウム及びセンデュラマイシンナトリウムがある。

2. 使用方法

ナラシンは、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。

(1) 対象飼料及び添加量

ナラシンの添加が認められている飼料の種類及び添加量は、以下の表のとおりである。

対象飼料	鶏(ブロイラーを除く。)用	ブロイラー用	
	幼すう用 中すう用	前期用	後期用
添加量 (g 力価 / トン)	80	80	80

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、アピラマイシン、アルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン、エフロトマイシン、エンラマイシン、クロルテトラサイクリン、セデカマイシン、ノシヘプタイド、バージニアマイシン、フラボフォスフォリポール、リン酸タイロシン
第4欄	アルキルトリメチルアンモニウムカルシウムオキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、ピコザマイシン、硫酸コリスチン

以上の規制及び各抗菌性飼料添加物の対象家畜を整理すると、ナラ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。

・鶏（ブロイラーを除く。）用、ブロイラー用

各区分より1種類ずつ併用が可能である。(飼料1トンあたりの添加量)

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	
			幼すう用 中すう用	前期用	後期用
第3欄	亜鉛バシトラシン	万単位	16.8～168	16.8～168	16.8～168
	アピラマイシン	g力価	2.5～10	2.5～10	2.5～10
	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	g力価	5～55	5～55	—
	エンラマイシン	g力価	1～10	1～10	1～10
	クロルテトラサイクリン	g力価	10～55	10～55	—

	ノシヘプタイド	g力価	2.5～10	2.5～10	2.5～10
	バージニアマイシン	g力価	5～15	5～15	5～15
	フラボフォスフォリポール	g力価	1～5	1～5	1～5
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	g力価	5～55	5～55	—
	クロルテトラサイクリン	g力価	10～55	10～55	—
	ピコザマイシン	g力価	5～20	5～20	5～20
	硫酸コリスチン	g力価	2～20	2～20	2～20

上記の併用については、現在のところ第3欄のアビラマイシン、エンラマイシン又はノシヘプタイドのいずれか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、農場におけるナラ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、食用にと殺する前7日間の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）使用上の注意

ナラシンを含む製剤及び飼料が、鶏に過剰に投与又は給与された場合には、鶏に発育障害等の作用が起こる可能性がある。このことから、ナラシンを含む製剤及び飼料には、対象家畜等、添加量及び給与方法等に関する使用上の注意の表示が義務付けられている。

また、ナラシン等のポリエーテル系抗生物質は、重篤な副作用を起こすことがあるため、動物用医薬品のチアムリン又はバルネムリンとの併用を避けることとされている。

（4）管理分析の実施

ナラシンは、対象家畜等に過剰に給与することにより発育障害が起こる可能性があることから、ナラシンを含む飼料については、製造業者が全ての製造ロットに対しナラシンの含量を分析し、定められた管理限界以内のものを販売に供することが義務付けられている。

（5）ナラシンの使用量

2001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。

指定以降のナラシンの検定数量は増加する傾向にあったが、2006年に26.6トン（力価）のピークを示し、その後は20トン（力価）から25トン（力価）前後で推移している。（参照5）

3. 海外における評価状況等

薬剤耐性菌に関するリスクについて、諸外国ではナラシンに特定した評価はなされていない。しかし、各国において包括的な耐性菌リスク評価書が公表されており、カナダの評価書では、イオノフォアはヒト医療で用いられていないこと及びヒト用抗菌性物質と交差耐性を示さないことからヒトの健康に与える影響は低いとされている。また、ニュージーランドの評価書では、イオノフォアは公衆衛生との関連はないとしている。(参照 6、7)

米国ではリスク評価指針中でヒトの医療上重要な抗菌性物質をランク付けしているが、イオノフォアはその中に含まれていない。(参照 8)

欧州連合 (EU) ではヒトや動物の健康を損なうおそれがあるとの理由で、家畜の成長促進を目的に使用されている抗生物質が禁止されたが、イオノフォアの抗コクシジウム剤としての使用は継続して認められている。(参照 9、10)

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

ナラシンは鶏に対し飼料添加により経口的に投与される。本剤は消化管内を効果発現部位とし、腸管内の原虫等の微生物に作用するが、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。

ナラシンの薬物動態パラメータについては、飼料添加では血中濃度が上がらないため、非標識体の強制経口投与により評価している。また、ナラシンの鶏体内における吸収・分布・代謝・排泄については、強制経口投与後の分布をバイオアッセイで測定している他、標識体 (^{14}C) を用い、ラット及び鶏における排泄経路、経時的な排泄量、代謝割合及び代謝物の同定等を検討するための試験を実施している。

これら一連の試験の結果、ナラシンは緩やかに吸収され組織に分布し、血中濃度はほとんど上昇しないこと、多くの代謝物に代謝されるが活性を有するのは親化合物ナラシン A のみであること、投与されたナラシンのほとんど全てが糞中に速やかに排泄されること、糞中の活性成分は平均 3.2% と僅かなこと等が判明した。

(1) 鶏における吸収・分布・排泄試験

肉用鶏 (平均体重 1.69 kg、30 羽 (吸収試験 12 羽、排泄試験 9 羽及び分布試験 9 羽)) を用い、ナラシン 10 mg (力価) /kg を 1 日 2 回、2 日間連続で強制経口投与し、血中濃度の経時的推移、糞中排泄及び体内分布を TLC (薄層クロマトグラフィー) - バイオオートグラフ法で検討した。(参照 11)

① 吸収試験

血漿中濃度は投与 3 時間後にピークに達した後、迅速に減衰し、投与 12 時間後には検出限界 (0.025 µg (力価) /g) 以下となった。

② 排泄試験

糞便中濃度は、全例が投与開始 24~48 時間後に最高値を示した。投与 120 時間後までの糞便中総排泄率は投与量の平均 3.2% であった。

③ 分布試験

最終投与 3 時間後の主要臓器・組織への分布を検討した。ナラシンの濃度は脂肪が平均 1.189 μg (力価) /g と最も高く、次いで小腸、皮膚、筋胃、肝臓、脾臓、血漿、腎臓、肺、心臓、胆汁の順で、筋肉は検出限界 (0.025 μg (力価) /g) 以下であった。

(2) ラット及び鶏における標識体 (^{14}C 標識ナラシン) を用いた排泄試験

ラット及び鶏においてナラシンの排泄経路を検討した。(参照 12)

① ラットにおける排泄

ラット (系統不明) に ^{14}C 標識ナラシンを単回強制経口投与後、尿及び糞中放射活性の経時的推移、胆汁中放射活性を調査した。その結果、投与 52 時間後までの尿及び糞からの回収率は投与量の 75% で、放射活性のほとんどが糞中へ排泄され (98.9%)、尿中への排出はわずか (1.1%) であった。胆汁中からは投与量の約 15% が回収された。また、ラット (Wistar 系、2 匹) に ^{14}C 標識ナラシンを単回強制経口投与後、呼気中放射活性を測定したところ、呼気中からは全く回収されなかった。

② 鶏における排泄

約 8 週齢の鶏 (4 羽) にナラシン 80 ppm 添加飼料を前給与後、 ^{14}C 標識ナラシン入りカプセルを単回経口投与し、排泄物中の放射活性を測定した。その結果、投与された放射活性は急速に排出され、放射活性の 85% 以上は、投与 2 日後までに回収された。4 例中 3 例で総回収率は 90.2~114.3%、平均 99% であった。1 例は回収率が 66% と低かったが、明確な理由は不明であった。

(3) 鶏における ^{14}C 標識ナラシンを用いた糞中代謝物の割合

肉用鶏に ^{14}C 標識ナラシン 80 ppm を 7 日間飼料添加投与し、投与 4~7 日後の糞中親化合物ナラシン量、 ^{14}C 標識ナラシンに対する相対比並びに主要標識代謝物割合を検討した。その結果、糞中の総放射活性は ^{14}C 標識ナラシン当量で 237 ppm、親化合物ナラシン (バイオアッセイと HPLC (高速液体クロマトグラフィー) 法の測定による両者の平均) は 11.8 ppm であり、糞中総放射活性の 5.0% に相当した。ナラシンの代謝物として、NM-1 から NM-7 の 7 種類が存在した。その含有割合は、NM-2 が最も高く、11.3% であった。その他多くの少量代謝物が認められたが、含有割合はいずれも小さかった。(参照 13)

^{14}C 標識ナラシンの約 95% は代謝され、微生物学的分析の結果から、これら代謝物には抗菌活性がほとんどないことが示された。

(4) 鶏における代謝物の単離、同定

^{14}C 標識ナラシン 100 ppm 添加飼料を給与した鶏の糞から、NM-1 から NM-7 の 7 種の標識ナラシン代謝物を単離した。糞から代謝物を溶媒抽出し、各種クロマトグラフィーで精製後、質量分析によって必要量の得られなかった NM-5 を除く 6 種の代謝物を同定した。(参照 14)

その結果、代謝物は分子環の種々の位置が水酸基と置換したもので、鶏における主な代謝機序は親化合物の水酸化であることが確認された。この 6 種の代謝物についてナラシンとの相対的抗菌活性を調査したが、活性はナラシンの 1/20 であり、かつ収量も少ないので実質的に不活性と判断した。

(5) 鶏における ^{14}C 標識ナラシンの組織中残留消失試験

肉用鶏（5、6 及び 8 週齢）を用いた 4 試験において、合計 25 羽の鶏に ^{14}C 標識ナラシンを投与し、休薬後の組織中放射活性の減衰パターンを検討した。（参照 15）

いずれの試験においても、残留放射活性濃度は肝臓、脂肪、皮膚、腎臓、筋肉の順であった。残留放射活性は組織中から迅速に消失し、残留濃度に明らかな性差は認められなかった。胆汁が ^{14}C 標識体の排出経路と考えられた。

80 ppm 相当量の ^{14}C 標識ナラシンカプセルの投与では、放射活性は休薬 4 時間後で肝臓が最も高く 0.50 ppm 以下であった。休薬 2 日後までに残留濃度は速やかに減衰し、全ての残留は 0.036 ppm（雌肝臓）かそれ以下となった。筋肉はいずれの時点でも検出されなかった。また、100 ppm 相当量の ^{14}C 標識ナラシンカプセルを 2.5 日間又は 5 日間投与した結果、投与期間の延長によって、残留量の平均値は上昇傾向にあったものの、有意差はみられなかった。

さらに、 ^{14}C 標識ナラシン 100 ppm 添加飼料を 5 日間投与し、放射活性濃度と指標化合物ナラシン A の残留量を比較した。最終投与直後において、平均放射活性濃度は、腎臓 0.159 ppm、脂肪 0.488 ppm、肝臓 0.743 ppm で、筋肉からは検出されなかった。一方、同時点における平均ナラシン濃度（力価）は、肝臓 0.037 ppm、脂肪 0.235 ppm で、総放射活性に対し肝臓で約 5%、脂肪で約 50%であった。

5. 抗菌活性の作用機序及びタイプ

(1) 作用機序

現在の知見において、イオノフォアの作用機序については、そのほとんどがモネンシンについて検討されている。

ナラシンはモネンシンと同系統のイオノフォアであり、*in vitro* におけるイオンの親和性データや、コクシジウムにおける交差耐性の存在等から、ナラシンの作用はモネンシンと同様であると考えられる。

また、イオノフォアの中でもモネンシンの作用機序と最も異なる作用機序を持つと考えられるラサロシドやテトロナシンについても同様のカチオン輸送が確認されていることから、イオノフォアとして共通の作用機序を有する可能性は高いとの考察がされている。（参照 16）

一般に、多くの抗菌性物質は細菌細胞内の酵素、リボソーム並びに細胞膜及び細胞壁を標的部位とする。それらの細菌の標的部位には各抗菌性物質が特異的に結合する領域があり、抗菌性物質は細菌の標的部位と特異的に結合することによって細菌の様々な代謝を阻害する。このため、細菌は生存に必須な生理活動の過程が阻害されることとなり、増殖できないかあるいは死滅する。一方、細菌はこの抗菌性物質結合領域の変化を獲得することによって各抗菌性物質による特異的な結合を回避することが

できる。これが各抗菌性物質に対する薬剤耐性菌の主要な耐性機序の一つとなっている。

しかしながら、イオノフォアの抗菌活性の作用機序は他の系統の抗菌性物質とは異なっており、細菌ではイオノフォアは細胞膜に結合するものの、前述したように特異的に結合する分子や結合領域の存在は知られていない。(参照 16~18)

飼料添加物に指定されているイオノフォアは、モノバレント (monovalent) (主として、一価の金属イオンのイオノフォアの性質をもつもの；モネンシン、サリノマイシン、ナラシン)、ジバレント (divalent) (主として、二価の金属イオンのイオノフォアの性質をもつもの；ラサロシド) 及びモノバレントの配糖体 (モノバレントで糖を分子中にもつもの；センデュラマイシン) に分類される。

ポリエーテル系イオノフォアは、その化学構造の一端にあるカルボキシル基 (-COOH) ともう一端の水酸基 (-OH) との間の水素結合によって、その構造中の水溶性部分を内側に、脂溶性部分を外側にした球状の立体構造を示す。(参照 16、17、19~21)

イオノフォアはこの立体構造により、内側に水溶性の金属イオンを抱き込み、一方、脂溶性の高い外部構造により、脂溶性の高い細菌の細胞壁と細胞膜を容易に通過する。こうしてイオノフォアはナトリウムイオン (Na^+) やカリウムイオン (K^+) といった金属イオンと結合して、これらを細胞内外に輸送するための担体として作用し、細胞内外の金属イオンの輸送を促進する。(参照 17、18、20、21)

一般に、グラム陽性菌はグラム陰性菌に比べ、イオノフォアに対する感受性が高い。(参照 4) これは、グラム陰性菌の多くが細胞壁の外側にリポ多糖 (LPS) からなる外膜を有し、この外膜の存在によりイオノフォアをはじめとする脂溶性物質の細胞内への移動が大幅に制限されることによる。そのため、外膜を有する大腸菌及びサルモネラ、カンピロバクター等を含むグラム陰性菌は、一般にイオノフォアに対し自然耐性を示す。(参照 16~18、21、22)

通常、細菌は外部環境に対して細胞内の K^+ 濃度を高く、かつ Na^+ 濃度を低く保つことで恒常性を維持している。しかし、ナラシンは、細菌細胞内外の陽イオンの濃度勾配にしたがって K^+ の細胞外への移行を促進すると共に Na^+ の細胞内への移行を促進し、これらのイオンの濃度勾配を小さくする作用を持つ。細胞はこの異常な細胞内のイオン濃度勾配を是正するためにアデノシン三リン酸 (ATP) を利用するナトリウム・カリウムポンプを作動し、 Na^+ を細胞外に、 K^+ を細胞内に輸送するが、この状態が長時間持続すると、細胞内の ATP が枯渇し、恒常性が破綻して細胞活動が停止すると考えられている。(参照 16~18)

ナラシンは、モネンシンと同様の作用機序で細菌細胞に作用すると考えられるが、唯一の違いは、モネンシンと比べ Na^+ の輸送よりも K^+ の輸送を効率的に行うという点である。(参照 23)

イオノフォアの作用機序は、前述のように細胞膜を介したイオンの輸送に関するものであるため、他の系統の抗菌性物質のように細菌に対してのみ特異的に作用するものではなく、原虫やほ乳動物等の細胞膜にも作用する。このため、ほ乳動物である家畜やヒトに対しても毒性が高く、安全域 (効果を示す濃度と毒性作用を示さない最大

量との比)が比較的小さいため、これがヒト用医薬品としての応用を大きく妨げる要因ともなっている。(参照 22、24)

(2) 作用のタイプ

イオノフォアは、ペプチドグリカンを標的にする抗菌性物質(例:ペニシリン)、リボソーム活性を標的にする抗菌性物質(例:クロラムフェニコール)、DNA転写を標的にする抗菌性物質(例:キノロン)、mRNA転写を標的にする抗菌性物質(例:リファンピシン)及び葉酸合成を標的にする抗菌性物質(例:スルホンアミド)と異なり、細菌や原虫のイオン輸送に関与し、そのエネルギーを消耗させ、静菌的に作用する。(参照 22、24)

(3) コクシジウムに対する作用

ナラシンをはじめ、イオノフォアは陽イオンと錯体を形成して、*Eimeria* 属のスポロゾイトやメロゾイトの細胞膜を自由に透過してイオンを運び、細胞内イオン平衡を崩す。無性生殖期のスポロゾイトやメロゾイトは細胞内のイオン平衡を維持するためにナトリウム・カリウムポンプを作動させ、アミロペクチン粒に含まれるエネルギーを消費する。そのエネルギーが枯渇したとき、イオン輸送ポンプは機能しなくなり、原虫の生理的活動が停止する。その結果、ナラシンはイオノフォア感受性を示すスポロゾイトやメロゾイトが盲腸細胞内に侵入するのを阻害し、コクシジウム生活環の初期に抗コクシジウム効果を発現する。その後、薬剤の投与時期や濃度によっては、陽イオンの浸透圧差によって水が原虫の細胞内に流入して、スポロゾイトやメロゾイトの細胞膜を破裂させて細胞を破壊し、結果的にナラシンが殺原虫的に作用することもある。(参照 18、25~29)

Eimeria 属コクシジウムの細胞内スポロゾイトを用いた *in vitro* の試験においてナラシン添加培地で 40℃、24 時間培養した場合に明らかな損傷が認められている。一方、宿主細胞への影響はみられず、本剤がスポロゾイトに選択的に作用することが示された。スポロゾイトの損傷は 30℃の培養では認められないことから、抗コクシジウム作用は温度の影響を受けることが示唆された。(参照 25) また、鶏腎培養細胞に *E. tenella* のスポロゾイトを感染させると同時にナラシンを感作させた試験では、最も明瞭な効果が 12~24 時間後に認められ、その際細胞内スポロゾイトの形態変化と死滅が確認された。(参照 30)

一方、同系統のモネンシンについて *E. tenella* を感染させた鶏に対して投薬日を変えて効果を確認することによって薬剤の作用時点を検討した試験が行われた。この結果、モネンシンは鶏コクシジウムの無性生殖期の比較的早期のトロフォゾイト及び第一シズント期に最も強く作用することが明らかとなった。(参照 31、32) 構造上、ナラシンの作用機序はモネンシンと同様と考えられているため、ナラシンもモネンシンと同様にコクシジウムの無性生殖期の比較的早期のトロフォゾイト及び第一シズント期あるいはその前段階に最も強く作用すると予想されている。

鶏の主要なコクシジウム種である *E. tenella*、*E. acervulina*、*E. maxima* 及びその他のコクシジウム種に対するナラシンの効果についてはバタリー試験や平飼試験で検

討されており、いずれの場合も斃死の抑制、増体重、飼料要求率の低下の阻止などに優れた効果が認められている。(参照 33)

6. 抗菌スペクトル及び感受性菌の分布

(1) 抗菌スペクトル

代表的なグラム陽性菌及び陰性菌に対するナラシンの MIC について表 1 及び表 2 に示した。(参照 4、34)

ナラシンは、好気性グラム陽性菌、*Clostridium* のようなグラム陽性の芽胞形成菌の他、マイコプラズマや真菌に対して抗菌活性を有する。一方、グラム陰性の腸内細菌科の大腸菌やサルモネラ、*Pseudomonas* 等には活性を示さない。

S. aureus 及び *Enterococcus faecalis* について、MIC が 100 µg/mL となり抗菌活性がほとんど認められていないが、これらの株について何らかの耐性機構を保有しているかは不明であった。なお、基準株を用いた他の調査では、*S. aureus* 及び *E. faecalis* に対するナラシンの MIC はそれぞれ 0.25 µg/mL であり、抗菌活性が認められている。(参照 35)

グラム陰性菌には細胞膜の外側にグラム陽性菌にはない外膜が存在する。外膜は脂質二重層の外側が LPS で構成されており、疎水性を示すイオノフォアの透過を主に阻害する。そのため、グラム陰性菌は、グラム陽性菌に比べイオノフォアに対して耐性を示す。また、イオノフォアの外膜透過の副経路としてはポーリンと呼ばれる外膜タンパク質が形成する親水性の透過孔も存在するが、ナラシンは分子量が大きいため、透過孔を通過することができないと考えられている。(参照 17、36、37)

表 1 代表的な菌種に対するナラシンの MIC

菌 種	MIC (µg/mL)
好気性菌 (通性嫌気性菌を含む)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	100
<i>Enterococcus faecalis</i>	100
<i>Candida tropicalis</i>	100
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	12.5
<i>Ceratocystis ulmi</i>	50
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	12.5
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	12.5
<i>Mycoplasma synoviae</i>	6.25
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	6.25
<i>Mycoplasma hyosynoviae</i>	6.25
嫌気性菌	
<i>Actinomyces bovis</i>	<0.5
<i>Clostridium innocuum</i>	<0.5
<i>Clostridium perfringens</i>	<0.5

<i>Eubacterium aerofaciens</i>	1.0
<i>Peptococcus anaerobius</i>	<0.5
<i>Propionibacterium acenes</i>	2.0
<i>Fusobacterium symbiosum</i>	<0.5
<i>Bacteroides fragilis</i>	8

表 2 ナラシンに対して感受性を示さなかった菌種

菌 種	MIC (μg/mL)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	>512
<i>Enterobacter cloacae</i>	>512
<i>Escherichia coli</i>	>512
<i>Klebsiella edwardsii</i>	>512
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>512
<i>Proteus mirabilis</i>	>512
<i>Proteus vulgaris</i>	>512
<i>Providencia</i>	>512
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>512
<i>Salmonella Gallinarum</i>	>512
<i>Salmonella Typhimurium</i>	>512
<i>Shigella sonnei</i>	>512

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

日本ではナラ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。

諸外国では本物質を含むイオノフォアは抗コキシジウム剤として広範に使用されており、この場合、対象とする家畜等の病原菌は鶏や牛等に寄生するコキシジウムである。(参照 16)

鶏から分離された *Eimeria* 属 については、1990 年代以降イオノフォアに対する低感受性株が報告されている。(参照 39~41) ナラシンについても同様に感受性低下に関する報告があるが、これはサリノマイシンやモネンシン等、他のイオノフォアの耐性と交差したものであると報告されている。(参照 42)

E. tenella 保存株 (イオノフォア感受性株) 及び野外株 (イオノフォア使用農場由来) をナラシン 80 ppm 添加飼料給与肉用鶏ヒナ (10 日齢) で 30 代継代し耐性獲得性を検討した。親株と継代株についてナラシンによる病変軽減作用は同等で変動がなく、かつ耐性獲得性は認められなかった。これらの結果は他の同系物質のモネンシン及びラサロシドにおける試験結果と同様で、鶏コキシジウムはイオノフォアに対し耐性を獲得しにくいことが裏付けられた。(参照 38)

別の試験では肉用鶏ヒナを用い、アンプロリウム、クロピドール、デコキネート、ナイカルバジン及びロベニジンのそれぞれに耐性の *E. tenella* 野外株 5 株に対するナ

ラシンの感受性を評価した。ナラシンは各抗コクシジウム剤が無効の耐性株に有効であり、また、他剤との交差耐性は認められなかった。(参照 38)

(3) 指標細菌及び食品媒介性病原細菌に対する MIC の分布

ナラシンを使用できる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 *Clostridium perfringens* がある。また、薬剤感受性の指標細菌として重要な菌種は大腸菌及び腸球菌である。しかし、カンピロバクター、サルモネラ及び大腸菌等のグラム陰性菌は細胞膜の外側に外膜を持っていることによりイオノフォアには耐性を示す。(参照 17、18、22)

腸球菌及び *C. perfringens* の野外分離株について、直接ナラシンを用いて感受性を測定したデータは少ない。イオノフォアは作用機序がほぼ共通であり、耐性が交差することも十分考えられる。実際、腸球菌を用いた試験では、ナラシンとサリノマイシンとの間で交差耐性が認められている。(参照 43) そのため、以後の野外株の感受性動向については、作用機序の類似するモノバレントのイオノフォアであるモネンシン及びサリノマイシンについてのデータも参照した。

① 腸球菌

腸球菌は標準株及び野外分離株の感受性試験結果からナラシンに対し元来感受性と判断される。ナラシンは 1980 年代初頭から世界各国で鶏等に対し抗コクシジウム剤として広範に使用されてきた。表 3 に示すように、腸球菌の鶏又は鶏肉由来分離菌に対するナラシンの感受性試験結果より、鶏由来腸球菌 について、ナラシンに対する高度獲得耐性をうかがわせる所見は認められていない。

ベルギーにおける試験において、鶏由来 *Enterococcus faecium* 及び *Enterococcus faecalis* 分離株に対するナラシンの MIC の分布が二峰性を示したことから、ナラシンに対する耐性が認められると報告されている(二峰性分布の境界値は 0.5 µg/mL)。(参照 43) この試験ではナラシンとサリノマイシンに交差耐性が認められており、サリノマイシンの MIC の分布も二峰性を示し、その境界値は 1 µg/mL であった。しかし、これらの菌株に対する MIC は全てデンマークにおける薬剤耐性モニタリングである DANMAP (Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme) において採用されているサリノマイシンの耐性のブレイクポイントである 8 µg/mL 以下であった。(参照 44)

日本国内については、従前より鶏用に広範に使用されてきたサリノマイシンナトリウムのデータが存在するが、国内での腸球菌の薬剤感受性試験においては、肉用鶏から分離された *E. faecium* について MIC が 3.13 µg/mL より大きい値を示した菌株をサリノマイシン耐性とした場合、耐性率が 12.4%であった。また、*E. faecalis* については耐性率が 41.0%であった。(参照 45)

その後の全国的な調査においては MIC の分布が二峰性を示さなかったため、ブレイクポイントは設定されず、従って耐性率は算出されていないが、腸球菌に対するサリノマイシンの MIC について、耐性増加の傾向は認められていない。(参照 46)

表3 ナラシン及びその他のイオノフォアの腸球菌野外株に対する抗菌活性

国名	イオノフォア	株数 ^a	由来	分離年	MIC 範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ₅₀ [*]	MIC ₉₀ ^{**}	%R ^b	引用文献
<i>E. faecium</i>									
ベルギー	ナラシン	24	肉用鶏	1997-1998	0.25-4	—	—	—	参照 47
ベルギー	ナラシン	24	肉用鶏(糞便)	1998	≤ 0.12 -4	—	—	—	参照 43
ベルギー	ナラシン	31	肉用鶏(糞便)	1998-1999	0.12-4	2	4	—	参照 48
デンマーク	モネンシン	54	"	1995-1996	4-8	4	4	0	参照 49
デンマーク	モネンシン	151	"	1998	0.25-4	2	2	0	参照 44
デンマーク	サリノマイシン	51	"	2008	2-32	8 ^c	8 ^c	64.7	参照 44
デンマーク	サリノマイシン	43	"	2009	2-16	8 ^c	8 ^c	62.8	参照 44
デンマーク	サリノマイシン	119	"	2010	2-8	8 ^c	8 ^c	52.9	参照 44
日本	サリノマイシン	153	"	1996	0.78-12.5	1.56	6.25	12.4 ^d	参照 45
<i>E. faecalis</i>									
ベルギー	ナラシン	21	肉用鶏(糞便)	1998	≤ 0.12 -4	0.25	—	—	参照 43
ベルギー	ナラシン	35	肉用鶏(糞便)	1998-1999	0.06-4	0.25	2	—	参照 48
デンマーク	モネンシン	167	"	1998	0.25-4	2	2	0	参照 44
デンマーク	サリノマイシン	49	"	2008	2-8	2 ^c	4 ^c	2	参照 44
デンマーク	サリノマイシン	19	"	2009	2-8	4 ^c	4 ^c	10.5	参照 44
デンマーク	サリノマイシン	112	"	2010	2-4	2 ^c	4 ^c	0	参照 44
日本	サリノマイシン	78	"	1996	0.39-12.5	1.56	12.5	41.0 ^d	参照 45
<i>Enterococcus</i> spp.									
ノルウェー	ナラシン	20	肉用鶏、 七面鳥(糞便)	不明	2-4	—	—	—	参照 50
日本	サリノマイシン	302	肉用鶏、牛、 豚、採卵鶏(糞便)	2001	0.12-4	0.5	1	—	参照 46
日本	サリノマイシン	246	"	2002	≤ 0.06 -4	0.5	1	—	参照 46
日本	サリノマイシン	286	"	2003	0.25-16	1	2	—	参照 46
日本	サリノマイシン	513	"	2004	0.25-16	1	4	—	参照 46
日本	サリノマイシン	562	"	2005	0.25-16	1	4	—	参照 46
日本	サリノマイシン	421	"	2006	≤ 0.125 -32	1	2	—	参照 46
日本	サリノマイシン	424	"	2007	0.25-16	1	2	—	参照 46
日本	サリノマイシン	642	"	2008	0.25-8	1	2	—	参照 46
日本	サリノマイシン	566	"	2009	0.5-8	2	2	—	参照 46
日本	サリノマイシン	778	"	2010	0.5-8	2	2	—	参照 46
日本	サリノマイシン	654	"	2011	0.5-16	2	4	—	参照 46

^a 供試分離株数 ^b 耐性割合(%) ^c MIC の分布より算出 ^d MIC>3.13 $\mu\text{g/mL}$ を耐性と区分

* : 50%の菌株の増殖を阻止する MIC ** : 90%の菌株の増殖を阻止する MIC

ー：参考文献に記載なし

② *Clostridium* 属

Clostridium 属 の標準株及び野外分離株の感受性試験結果をみると、ナラシンに対する感受性は良好であり、本菌はナラシンに対し元来感受性と判断される（表 2、表 4）。また、長年にわたる広範な使用にもかかわらず、ナラシンに対する耐性は認められていない（表 4）。

表 4 ナラシン及びその他のイオノフォアの *Clostridium* 属菌分離株に対する抗菌活性

細菌種/報告国	由来	株数 ^a	分離年	物質名	MIC 範囲 (μg/mL)	MIC ₅₀	MIC ₉₀	引用文献
<i>Clostridium</i> spp.								
ベルギー	豚、牛、 鶏	68	1979- 1982	モネンシン	≤0.25-4	—	—	参照 51
<i>C. perfringens</i>								
ベルギー	豚、牛、 鶏	121	1979	モネンシン	0.5-4	—	—	参照 52
米国	鶏	26	1997 ^b	ナラシン	0.13-0.5	0.25	0.5	参照 53
米国	七面鳥	22	1997 ^b	ナラシン	0.13-0.5	0.25	0.25	参照 53
米国	鶏	26	1997 ^b	モネンシン	0.25-1	1	1	参照 53
米国	七面鳥	22	1997 ^b	モネンシン	0.5-2	1	1	参照 53
ベルギー	鶏	44	2002	ナラシン	0.03-0.12	—	—	参照 54
ベルギー	鶏	44	2002	モネンシン	0.12-0.25	—	—	参照 54

^a 供試分離株数 ^b 報告年

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

ナラシン等のポリエーテル系抗生物質は、これまでヒト医療では使用されておらず、また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物質はない。

ポリエーテル系抗生物質の作用は細胞内外のイオン輸送に対するものであるため、一般の抗菌性物質のように細菌に対して特異的に作用するものではなく、ほ乳動物等の細胞膜にも作用する。このため、家畜等やヒトに対しても毒性が高いことから、ヒト用医薬品として用いられる可能性は低いと考えられる。

また、ポリエーテル系抗生物質間でイオン選択性が若干異なるものの、ほぼ同様の作用機序や生物活性を示すので、細菌において交差耐性が認められる場合がある。しかし、耐性遺伝子が転移するとは考えられていない。（参照 16、43）

8. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報

（1）耐性獲得及び交差耐性に関する試験（*in vitro*）

ナラシンに対する食品由来細菌等の耐性獲得の可能性については *in vitro* の実験（増量継代法）によって確認されている。ナラシン存在下で *S. aureus*、*E. faecalis*、*E. coli*、*C. perfringens*、*Bifidobacterium bifidum*、*B. fragilis* を 40 代継代し、継代株と親株のナラシン並びに 13 種類の抗菌性物質（アンピシリン、クロラムフェニコ

ール、クロルテトラサイクリン、エリスロマイシン、フラゾリドン、リンコマイシン、ネオマイシン、ペニシリン、スペクチノマイシン、スピラマイシン、ストレプトマイシン、スルファメタジン及びタイロシン) に対する感受性を比較した。その結果、ナラシン存在下での 40 代継代後であってもナラシン及び他の抗菌剤の MIC に変化はないか、あっても概ね 4~8 倍の範囲であった。これらの成績からナラシン存在下での 40 代継代であっても、ナラシン及び他の抗菌性物質に対する有意な耐性獲得のないことが示された。(参照 55)

(2) 薬剤耐性決定因子に関する情報

ナラシンに関する耐性決定因子の存在について、現在までのところ関連する知見はない。ナラシンをはじめとするイオノフォアに共通する細菌への作用は、菌の生命維持の根幹をなす細胞内外を隔てた細胞膜が形成するイオンバランスの破壊であるという点及び特定の標的部位に対する作用でないという点から、これらの作用機構に関してナラシン感受性菌が耐性決定因子を外部から獲得することによって耐性菌に変化する可能性は低いと考えられる。

一方、同系統のモネンシンでは、モネンシン産生菌である *Streptomyces cinnamonensis* が、推定上のモネンシントランスポータータンパクをコードした *monT* 遺伝子を有し、この耐性に関与すると考えられている。(参照 56) このトランスポータータンパクは新たに自己産生されたモネンシンを細胞膜から離れた細胞外環境に効率的に輸送するという作用を持つ。類似の自然耐性機序は *Streptomyces longisporoflavus* が産生するイオノフォアであるテトロナシンにおいても明らかにされている。これらトランスポーターは各イオノフォアに対して特異的に耐性を付与するのみであり、テトロナシンに耐性を付与する遺伝子はモネンシンに対する耐性は付与しないことが報告されている。(参照 57) ナラシン産生菌についても同様の耐性遺伝子の保有とトランスポータータンパク発現の可能性はありうるが、現時点では確認されていない。

しかし、これらのイオノフォア排出タンパクは、それぞれのイオノフォアに特異的であり、たとえこれらの耐性遺伝子が食品由来細菌に伝達されたとしても、その遺伝子発現によりヒト用抗菌性物質に対する耐性が付与される可能性は極めて低いと考えられる。

ヒトや動物に使われる多くの抗菌性物質の原料中に、抗菌性物質生産菌の染色体 DNA が混入することが報告されている。家畜の飼料級アボパルシンにおいても、その中に生産菌由来の DNA の一部が混入し、その中にバンコマイシン耐性遺伝子のヌクレオチドが存在していた報告があり、アボパルシンの長期使用が家畜腸内細菌の耐性遺伝子取り込みを助長し、それがヒトへと伝播していく可能性が示唆されている。

(参照 58~60) ナラシンについても製品中への耐性遺伝子を含む生産菌由来 DNA 混入の可能性は否定できない。しかし、現時点ではナラシン耐性遺伝子は特定されていない。

(3) 反すう動物のルーメン内細菌に認められる適応について

ナラシンの属するポリエーテル系抗生物質に対する耐性機序の詳細は不明であるが、モネンシン及びブラサロシドに対するルーメン内細菌に関する試験で検討されている。

反すう動物より採取されたモネンシン及びブラサロシドに耐性化したルーメン内細菌は、感受性菌に比べイオノフォアの作用である細菌内 K^+ の流出が減少していた。(参照 61) モネンシンに耐性化した *Prevotella bryantii* は外膜の成分が増加していた。

(参照 62) *Clostridium aminophilum* F は細胞壁の多糖類が増加し、増殖において誘導期 (Lag phase) がなく急激に増殖する特徴を持っていた。(参照 63、64) しかし、この耐性は不安定であり、薬剤のない条件で数代培養すると耐性は失われたという報告がある。(参照 63) これに対し、28 代以上継代してもモネンシン及びブラサロシドに対する耐性が維持され、両剤間に交差耐性の可能性が考えられたが、他の系統のほとんどの抗菌剤には耐性を示さなかったとの報告もある。(参照 64)

これらの現象は「適応」と呼ぶことが提唱されており、一般的な薬剤耐性菌にみられる菌種の遺伝的変異による耐性の獲得とは異なると考えられているが、詳細な耐性機序は未だ判明していない。(参照 22)

9. ハザードの特定に係る検討

ナラシンは 2001 年に飼料添加物に指定されて以来、家畜等の飼料添加物としてのみ使用されている抗生物質であり、動物用医薬品又は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で、大腸菌、腸球菌等をナラシン存在下で 40 代継代しても、ナラシン及び他の抗菌性物質に対する有意な耐性獲得のないことが示された。国内での家畜由来細菌のナラシンに対する感受性についての知見はない。しかし、2001 年から 2011 年までに農林水産省動物医薬品検査所及び (独) 農林水産消費安全技術センターが各都道府県の協力の下で行った家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査において、腸球菌でナラシンと交差耐性を示すサリノマイシン低感受性菌が検出されているが、 MIC_{50} 及び MIC_{90} の値の変化は小さく、低感受性菌が明確に増加する傾向は認められない。ナラシンに関する耐性決定因子の存在について、現在までのところ関連する知見はなく、耐性機序の詳細は不明である。しかし、ナラシンの細菌への作用は、特定の標的部位に対する作用でないという点等からナラシン感受性菌が耐性決定因子によって耐性を獲得する可能性は低いと考えられる。

このように、ナラシンは家畜のみに使用される抗生物質であり、ヒトに使用されている抗菌性物質と交差耐性を示したという報告がないこと、野外で家畜由来耐性菌がほとんど認められていないことから、ナラ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. 食品健康影響評価について

ナラシンの家畜等への使用によりナラシン耐性菌が選択される可能性は否定できないが、ナラシンがヒト用医薬品として使用されていないこと、ナラ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、ナラ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。

<参照>

- 1 The Merck Index. 14th Edition, 2006.
- 2 リリー社. Eli Lilly and Company. ナラシン. (未公表)
- 3 JECFA; Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series 61, Narasin: 2009, p133~182.
- 4 Berg DH, and Hamill RL. The isolation and characterization of narasin, a new polyether antibiotic. Journal of Antibiotics. 1978;31:1-6.
- 5 (財) 農林弘済会. 特定飼料添加物検定合格数量. 飼料検査.
- 6 Health Canada. Uses of antimicrobials in food animals in Canada : Impact on resistance and human health. Report of the advisory committee on animal uses of antimicrobials and impact on resistance and human health. June 2002.
- 7 New Zealand Food Safety Authority. A review of the impact of the use of antimicrobials in animals and plants on the development of antimicrobial resistance in human bacterial pathogens. Report of the Expert Panel on Antibiotic Resistance. July 2005.
- 8 FDA. # 152 Guidance for Industry. Evaluating the Safety of Antimicrobial New Animal Drugs with Regard to Their Microbiological Effects on Bacteria of Human Health Concern. 2003.
- 9 Council Regulation (EC) No 2821/98 of 17 December 1998, amending, as regards withdrawal of the authorization of certain antibiotics, Directive 70/524/EEC concerning additives in feedingstuffs. Official Journal of the European Communities, 1998; 29.12.98, L351/4-8.
- 10 Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003, on additives for use in animal nutrition. Official Journal of the European Union. 2003; 18.10.2003, L268/29-43.
- 11 リリー社. 丸山賀子 他. 報告書 ナラシンの吸収, 排泄及び分布試験. 2000. (未公表)
- 12 リリー社. Manthey JA. Excretion of ¹⁴C Narasin by Chickens and Rats. 1977. (未公表)
- 13 リリー社. Manthey JA, Herberg RJ, D.D.Giera. Chemical and Radiochemical Characterization of ¹⁴C Residue in Excreta from Chickens Dosed with Ration Containing 80 ppm ¹⁴C Narasin. 1984.
- 14 リリー社. Manthey JA, Goebel GV. Isolation and Characterization of Narasin Metabolites Derived from Excreta of Orally Dosed Chickens. 1982. (未公表)
- 15 リリー社. Manthey JA, Goebel GV. Tissue Residue and Residue Depletion Studies with ¹⁴C Narasin in Chickens. 1977. (未公表)
- 16 Avcare. 10.Polyether Ionophores. The role of enteric antibiotics in livestock production. a review of published literature. 2003;10-1~10-8. <http://www.avcare.org.au/files/animalhealth/information/The%20Role%20of%20enteric%20antibiotics%20in%20livestock%20production.pdf>
- 17 Russell JB, Strobel HJ. Effect of ionophores on ruminal fermentation. Applied and

- Environmental Microbiology. 1989;55:1-6.
- 18 Callaway TR, Edrington, TS, Rychlik JL, Genovese KJ, Poole TL, Jung YS, et al. Ionophores: their use as ruminant growth promotants and impact on food safety. *Current Issues Intestinal Microbiology*. 2003;4:43-51.
 - 19 田中信男, 中村昭四郎. 第 13 章 polyether 系抗生物質. 抗生物質大要 (第 4 版): 化学と生物活性. 東京大学出版会, 東京, 1995;224-229, 295-296.
 - 20 Ben-Tal N, Sitkoff D, Bransburg-Zabary S, Nachliel E, Gutman M. Theoretical calculations of the permeability of Monensin-cation complexes in model bio-membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2000;1466:221- 233.
 - 21 Edrington TS, Callaway TR, Varel PD, Jung YS, Bischoff KM, Elder RO, et al. Effects of the antibiotic ionophores monensin, lasalocid, laidlomycin propionate and bambamycin on *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 *in vitro*. *Journal of Applied Microbiology*. 2003;94:207-213.
 - 22 Russell JB, Houlihan AJ. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS Microbiology Review*. 2003;27:65-74.
 - 23 Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on Gram-positive bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*. 2003;16:175-188.
 - 24 SOU 1997;132. www.sva.se/pdf/antibiotika/SOU132abc.pdf
 - 25 Smith II CK, Strout RG. *Eimeria tenella*: effect of narasin, a polyether antibiotic on the ultrastructure of intracellular Sporozoites. *Experimental Parasitology*. 1980;50:426-436.
 - 26 Augustine PC, Smith II CK, Danforth HD, and Ruff MD. Effect of ionophorous anticoccidials on invasion and development of *Eimeria*: comparison of sensitive and resistant isolates and correlation with drug uptake. *Poultry Science*. 1987;66:960-965.
 - 27 McQuiston TE, McDougald LR. The effect of combining subtherapeutic concentrations of different ionophorous antibiotics on anticoccidial action in chickens. *Journal of Comparative Pathology*. 1981;91:503-509.
 - 28 Guyonnet V, Johnson JK, and Long PL. Studies on the stage of action of Lasalocid against *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina* in the chicken. *Veterinary Parasitology*. 1990;37:93-100.
 - 29 McDougald LR. Chapter 15. Control of coccidiosis: chemotherapy. Editor, Long PL. *Coccidiosis of man and domestic animals*. CRC Press. 1990;307-320.
 - 30 リリー社. Galloway RB, Lee D, Jeffers TK. *In vitro* anticoccidial activity of narasin. (報告年不明) (未公表)
 - 31 Stark WM. Monensin, a new biologically active compound produced by a fermentation process In Perlman, D, ed. *Fermentation Advances*. Academic press, New York. 1969: 517-540.
 - 32 Reid M. *Eimeria tenella* に対する抗コキシジウム剤の最大作用時期. *Proc. The*

- Symposium on Coccidia and Related Organisms. Ontario, 1974;119-134.
- 33 Braunius WW. Ionophorous anticoccidial drugs in coccidiosis control. WOSA Journal. 1985;41:198-209.
 - 34 リリー社. Lilly Research Centre Limited. Minimum inhibitory concentration of Narasin against a range of twelve gram negative organisms. (未公表)
 - 35 Huczynski A. Salinomycin – A new cancer drug candidate. Chemical Biology & Drug Design. 2012;79:235-238.
 - 36 横田健, 平松啓一, 桑原京子, 伊藤輝代, 舘田映子, 堀賢. 細菌の構造. 新・微生物学と抗生物質の基礎知識. (株)じほう. 1999;7-8.
 - 37 中江太治. 3.1 ポーリン孔による透過. 橋本一, 井上松久 編. 病原菌の薬剤耐性. 学会出版センター. 1993;69-72.
 - 38 Jeffers TK. Resistance and cross-resistance studies with narasin, a new polyether antibiotic anticoccidial drug. Avian Diseases. 1981;25:395-403.
 - 39 Haberkorn, A. Chemotherapy of human and animal coccidiosis: state and perspectives. Parasitology Research. 1996;82:193-199.
 - 40 リリー社. Stephen B, Rommel M, Dauschies A, Haberkorn A. Studies of resistance to anticoccidials in *Eimeria* field isolates and pure *Eimeria* strains. 1997. (未公表)
 - 41 Li GQ, Kanu S, Xiang FY, Xiao SM, Zhang L, Chen HW, et al. 2004. Isolation and selection of ionophore-tolerant *Eimeria* precocious lines: *E. tenella*, *E. maxima* and *E. acervulina*. Veterinary Parasitology. 2004;119:261-276.
 - 42 Stallbaumer M, Daisy KJ. The efficacy of monensin, narasin, salinomycin and nicarbazin, on field strains of chicken coccidian. Avian Pathology. 1988;17:793-801.
 - 43 Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F. Incomplete cross resistance against ionophores in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains from pigs and poultry. Microbial Drug Resistance. 2000;6:59-61.
 - 44 DANMAP 2008-2010. DANMAP-use of antimicrobial agents and occurrence of antibiotic resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. <http://www.dfvf.dk>
 - 45 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.
 - 46 農林水産省. 家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査 (JVARM). 2000~2011.
 - 47 Butaye P, Van Damme K, Devriese LA, Van Damme L, Baele M, Lauwers S, et al. In vitro susceptibility of *Enterococcus faecium* isolated from food to growth-promoting and therapeutic antibiotics. International Journal of Food Microbiology. 2000;54:181-187.
 - 48 Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F. Differences in antibiotic resistance patterns of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from

- farm and pet animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001;45:1374-1378.
- 49 Aarestrup FM, Bager F, Jensen NE, Madsen M, Meyling A, Wegener HC. Surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from food animals to antimicrobial growth promoters and related therapeutic agents in Denmark. *APMIS*. 1998;106:606-622.
 - 50 Sørnum M, Holstad G, Lillehaug A, Kruse H. Prevalence of vancomycin resistant enterococci on poultry farms established after the ban of avoparcin. *Avian Diseases*. 2004;48:823-828.
 - 51 Dutta GN, Devriese LA, Van Assche PF. Susceptibility of clostridia from farm animals to 21 antimicrobial agents including some used for growth promotion. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1983;12:347-356.
 - 52 Dutta GN, Devriese LA. Susceptibility of *Clostridium perfringens* of animal origin to fifteen antimicrobial agents. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1980;3:227-236.
 - 53 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;54:195-200.
 - 54 Martel A, Devriese LA, Cauwerts K, De Gussem K, Decostere A, Haesebrouck F. Susceptibility of *Clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials. *Avian Pathology*. 2004;33:3-7.
 - 55 リリー社. Bennett TH, Elliott RA. The effect of passage of seven microorganisms in subinhibitory Levels of narasin on their resistance to 14 antibiotics. (未公表)
 - 56 Oliynyk M, Stark CBW, Bhatt A, Jones MA, Hughes-Thomas ZA, Wilkinson C, et al. Analysis of the biosynthetic gene cluster for the polyether antibiotic monensin in *Streptomyces cinnamonensis* and evidence for the role of *monB* and *monC* genes in oxidative cyclization. *Molecular Microbiology*. 2003;49:1179-1190.
 - 57 Linton KJ, Cooper HN, Hunter IS, Leadlay PF. An ABC-transporter from *Streptomyces longisporoflavus* confers resistance to the polyether-ionophore antibiotic tetronasin. *Molecular Microbiology*. 1994;11:777-785.
 - 58 Webb V, Davies J. Antibiotic preparations contain DNA: a source of drug resistance genes? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1993;37:2379-2384.
 - 59 Marshall CG, Lessard IAD, Park I-S, Wright GD. Glycopeptide antibiotic resistance genes in glycopeptide-producing organism. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998;42:2215-2220.
 - 60 Lu K, Asano R, Davies J. Antimicrobial resistance gene delivery in animal feeds. *Emerging Infectious Diseases*. 2004;10:679-683.
 - 61 Lana RP, Russell JB. Use of potassium depletion to assess adaptation of ruminal bacteria to ionophores. *Applied and Environmental Microbiology*. 1996;62:4499-4503.

- 62 Callaway TR, Russell JB. Selection a highly monensin-resistant *Prevotella bryantii* subpopulation with altered outer membrane characteristics. Applied and Environmental Microbiology. 1999;65:4753-4759.
- 63 Rychlik JL, Russell JB. The adaptation and resistance of *Clostridium aminophilum* F to the butyrivibriocin-like substance of *Butyrivibrio fibrisolvens* JL5 and monensin. FEMS Microbiology Letters. 2002;209 :93-98.
- 64 Houlihan AJ, Russell JB. The susceptibility of ionophore-resistant *Clostridium aminophilum* F to other antibiotics. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003;52:623-628.