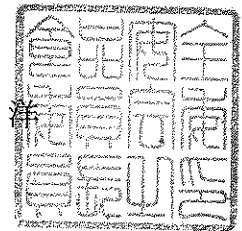




府 食 第 8 6 号
令 和 2 年 2 月 4 日

農林水産大臣
江藤 拓 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成15年12月8日付け15消安第3979号をもって農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められた薬剤耐性菌に係る食品健康影響評価のうち、家畜に使用するハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウムに係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価の結果は別添のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

別添

家畜に使用するハロフジノンポリスチレン
スルホン酸カルシウムに係る薬剤耐性菌に関する
食品健康影響評価

2020年2月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯	2
○ 食品安全委員会委員名簿	2
○ 食品安全委員会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) 評価要請のあった飼料添加物	5
(2) 評価の範囲	5
II. ハザードの特定に関する知見	5
1. 評価対象飼料添加物の名称、化学構造等	5
(1) 名称、化学構造等	5
(2) 有効成分の系統等	6
(3) 使用方法、規制等	7
(4) 使用状況	8
2. HPS の海外における評価、使用状況等	9
(1) 米国	9
(2) EU	9
3. 対象家畜（鶏）における動態	10
(1) 吸収	10
(2) 分布	10
(3) 代謝・排泄試験	11
(4) 残留試験	12
4. ハロフジノンの抗菌活性	13
(1) 作用機序	13
(2) 抗菌スペクトル	14
5. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報	18
6. 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	18
7. ハザードの特定に係る検討	19
III. 食品健康影響評価について	19
・ 別紙 検査値等略称	20
・ 参照	21

<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）
2019年	6月	18日	関係資料の接受
2019年	9月	2日	薬剤耐性菌に関するワーキンググループ（第22回）
2019年	12月	24日	第768回食品安全委員会（報告）
2019年	12月	25日	から2020年1月23日まで 国民からの意見・情報の募集
2020年	1月	29日	薬剤耐性菌に関するワーキンググループ座長から食品安全委員会委員長へ報告
2020年	2月	4日	第772回食品安全委員会 （同日付けで農林水産大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

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

* : 2007年2月1日から

** : 2007年4月1日から

(2011年1月6日まで)	(2012年6月30日まで)	(2015年6月30日まで)
小泉 直子 (委員長)	小泉 直子 (委員長)	熊谷 進 (委員長)
見上 彪 (委員長代理*)	熊谷 進 (委員長代理*)	佐藤 洋 (委員長代理)
長尾 拓	長尾 拓	山添 康 (委員長代理)
野村 一正	野村 一正	三森 国敏 (委員長代理)
畑江 敬子	畑江 敬子	石井 克枝
廣瀬 雅雄	廣瀬 雅雄	上安平冽子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

* : 2009年7月9日から

* : 2011年1月13日から

(2017年1月6日まで)	(2018年6月30日まで)	(2018年7月1日から)
佐藤 洋 (委員長)	佐藤 洋 (委員長)	佐藤 洋 (委員長)
山添 康 (委員長代理)	山添 康 (委員長代理)	山本 茂貴 (委員長代理)
熊谷 進	吉田 緑	川西 徹
吉田 緑	山本 茂貴	吉田 緑

石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

香西みどり
堀口 逸子
吉田 充

<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>

(2018年10月1日から)

田村 豊 (座長)
荒川 宜親 (座長代理)
浅井 鉄夫
今田 千秋
植田富貴子
岡村 雅史
甲斐 明美
佐々木一昭
菅井 基行
砂川 富正
豊福 肇
早川佳代子

(2019年10月1日から)

田村 豊 (座長)
荒川 宜親 (座長代理)
浅井 鉄夫
今田 千秋
岡村 雅史
甲斐 明美
佐々木一昭
菅井 基行
豊福 肇
早川佳代子
早山 陽子
山岸 拓也

<第22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)

要 約

抗菌性飼料添加物として指定されているハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム（HPS）が飼料に添加され家畜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。

HPSは、国内では鶏の飼料添加物としてのみ指定されている。HPSの構成成分であって、生体内で解離して抗菌活性を示すと考えられるハロフジノンの動物用及びヒト用医薬品としての国内における承認はない。

ハロフジノンは、ヒトに使用される他の抗菌性物質と構造が異なるため、交差耐性が起こる可能性は低い。さらに、現時点ではハロフジノンと他の抗菌性物質の共耐性に関する報告はない。

細菌におけるハロフジノン耐性及び耐性決定因子について、現在までのところ知見はない。細菌は一般に、ハロフジノンの阻害作用を受けないと考えられる原核生物型プロリル-tRNA合成酵素（ProRS）を保有するが、真核生物型ProRSを保有する細菌ではハロフジノンに対する感受性がみられたものがあり、ハロフジノンのProRS阻害作用により発育が阻害されるものと推察された。

これらのハザードの特定に関する検討の結果、HPSの鶏への使用により、ハロフジノンに対する耐性菌が選択される可能性は否定できないが、ハロフジノンがヒト用抗菌性物質として使用されないこと、ヒトに使用される他の抗菌性物質と構造が異なるため交差耐性が起こる可能性が低いこと、共耐性に関する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、HPSを鶏に使用することにより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。

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いえないことから、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. 評価の経緯及び範囲等

1. はじめに

食品安全委員会は、2003年に農林水産省から要請があった家畜に使用するハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム（HPS）に係る薬剤耐性菌に関して、「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。）（参照1）に基づき、家畜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。

2. 経緯

（1）評価要請のあった飼料添加物

2003年12月8日に、農林水産省から、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和28年法律第35号。以下「飼料安全法」という。）第2条第3項の規定に基づき飼料添加物として指定されている抗菌性物質が、飼料添加物として飼料に添加され家畜等に給与された場合に選択される薬剤耐性菌について、食品健康影響評価の要請がなされた。

（2）評価の範囲

本評価は、（1）の飼料添加物に係る食品健康影響評価のうち、HPSを家畜に使用することにより選択される薬剤耐性菌が食品を介してヒトに伝播し、ヒトが当該細菌に起因する感染症を発症した場合に、ヒト用抗菌性物質による治療効果が減弱又は喪失する可能性及びその程度について評価を行ったものである。

評価対象飼料添加物は、鶏の飼養過程において使用されることから、評価指針に基づき、評価の対象を鶏由来の畜産食品が介在する場合のものとした。

また、HPSはハロフジノンとポリスチレンスルホン酸カルシウム（PS）で構成されるが、PSは陽イオン交換樹脂であり、ほとんど抗菌活性を持たないと推察される。そのため、抗菌性物質としての評価はハロフジノンについて行った。

II. ハザードの特定に関する知見

1. 評価対象飼料添加物の名称、化学構造等

（1）名称、化学構造等

HPSの名称等の概要を表1に示した（参照2～7）。なお、HPSの国際一般名称等の申請は行われていない。表の一部には、構成成分であるハロフジノン及びポリスチレンスルホン酸カルシウム（PS）の情報を記載した。

表1 HPS の概要

一般名 (英名)	ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム (Calcium halofuginone polystyrenesulfonate)	
CAS 番号	ハロフジノン : 55837-20-2 ポリスチレンスルホン酸カルシウム(PS) : 37286-92-3	
分子式 分子量	ハロフジノン : 分子式 : C ₁₆ H ₁₇ BrClN ₃ O ₃ 分子量 : 414.68	PS : 分子式 : なし (重合体) 分子量 : なし (重合体)
構造式	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>PS</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>ハロフジノン</p> </div> </div> <p style="text-align: right; margin-right: 50px;">m/n=7.4 ~ 8.9</p>	

(2) 有効成分の系統等

① 有効成分の系統

HPS は、スチレンとジビニルベンゼンの共重合体にスルホン酸基を結合させカルシウム型とした陽イオン交換樹脂である PS とハロフジノンが結合した高分子化合物である。国内において、抗コクシジウム活性を有するハロフジノンの安全な誘導体として 1979 年に開発された。(参照 2、3)

ハロフジノンは、ジョウザンアジサイ (*Dichroa febrifuga* Lour) の根に含まれる抗マラリア原虫作用をもつキナゾリンアルカロイドのフェブリフジン (Febrifugine) の合成誘導体である。ラセミ体の臭化水素酸ハロフジノンが抗コクシジウム剤として開発され、1974 年にフランス、1984 年に EU、1985 年に米国で飼料添加物として登録された。(参照 2、8)

HPS は、国内では 1987 年に飼料添加物として指定されている (参照 2)。ハロフジノンの動物用及びヒト用医薬品としての国内における承認はない。

海外においては、HPS を主成分とした製剤は使用されていないが、臭化水素酸ハロフジノン又は乳酸ハロフジノンを主成分とする飼料添加物又は飼料添加剤が使用されている。ヒト用医薬品としては、米国において、臭化水素酸ハロフジノンが I 型コラーゲン合成の特異的な阻害剤であるため、2000 年に米国食品医薬品庁 (FDA) により全身性強皮症治療目的の希少疾病用医薬品に指定されている (参照 9、10)。また、EU においては、臭化水素酸ハロフジノンが、欧州医薬品庁 (EMA) により、2001 年に全身性強皮症治療目的の、2012 年にデュシェンヌ型筋ジストロフィー治療目的の、それぞれ希少疾病用医薬品に指定されている (参照 11、12)。

キナゾリンアルカロイドであるフェブリフジンには嘔吐、胃腸障害等の副作用があるため、現在までヒト用医薬品としての承認はない。(参照 2)

なお、PS は、国内のヒト医療において急性及び慢性腎不全に伴う高カリウム血症

の治療薬として承認されている。(参照 2)

② 関連する系統

国内において、飼料安全法に基づき指定されている飼料添加物並びに医薬品、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（昭和 35 年法律第 145 号）に基づき承認されている動物用及びヒト用医薬品の中には、ハロフジノンに関連する系統の抗菌性物質はない。(参照 2)

(3) 使用方法、規制等

① 対象飼料及び添加量

HPS は、飼料安全法第 2 条第 3 項の規定に基づき、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を目的として、1987 年に飼料添加物に指定された。

抗菌性飼料添加物は、その成分規格、製造等の方法及び表示の基準、使用方法等が、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号。以下「成分規格等省令」という。）において規定されており、同省令の別表第 1 において、対象飼料に定められた量を添加又は混和して使用することができ、対象以外の家畜等に対しては使用してはならないとされている。また、搾乳中の牛又は産卵中の鶏若しくはうずら並びに食用を目的としてと殺する前 7 日間の牛（生後おおむね 6 月を超えた肥育牛を除く。）、豚、鶏又はうずらに使用してはならないとされている。

HPS の添加が認められている飼料の種類及び添加量は、表 2 のとおり限定されている。

飼料中の添加量が規定の範囲内であることの確認は、独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）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 HPS 添加飼料の家畜への使用制限については、各都道府県が遵守を確認することとされている。

表 2 HPS の添加が認められている飼料の種類及び添加量

対象飼料	鶏(ブロイラーを除く。)用 ¹⁾	ブロイラー用	
	幼すう用・中すう用	前期用	後期用
添加量 (g/トン)	40	40	40

1) うずら用は鶏用に準じて使用される。

② 同一飼料に 2 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、成分規格等省令の別表第 1 の 1(2)において、表 3 に示した 3 つの区分に分類されている。表の同一欄内の 2 つ以上の飼料添加物は、同一飼料に用いてはならないとされている。

表 3 飼料一般の製造の方法の基準における同一飼料に用いてはならない抗菌性飼料添加物

区分	飼料添加物
第1欄	アンプロリウム・エトパベート、アンプロリウム・エトパベート・スルファキノキサリン、サリノマイシンナトリウム、センデュラマイシンナトリウム、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、エンラマイシン、ノシヘプタイト、フラボフォスフォリポール
※	ビコザマイシン

※区分なし

表 3 について、各抗菌性飼料添加物の対象家畜を整理すると、HPS と併用可能である抗菌性飼料添加物は表 4 に示したとおりである。第 3 欄からの 1 成分及びビコザマイシンと併用が可能である。

表 4 HPS と併用可能な抗菌性飼料添加物

区分	飼料添加物	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
	エンラマイシン	g 力価	1～10	1～10	1～10
	ノシヘプタイト	g 力価	2.5～10	2.5～10	2.5～10
	フラボフォスフォリポール	g 力価	1～5	1～5	1～5
※	ビコザマイシン	g 力価	5～20	5～20	5～20

※区分なし

(4) 使用状況

HPS の販売開始は 1988 年 4 月である。2012 年以降、ハロフジノン原体の輸入並びに HPS の製造及び販売は行われていない。2000 年以降の HPS の製造量及び販売量等を表 5 に示した。(参照 2)

表5 HPSの製造量及び販売量等

年	ハロフジノン 原体輸入量 (kg)	HPS	
		製造量(kg)	販売量(kg)
2000	2,245	18,000	19,820
2001	0	24,000	23,820
2002	375	7,660	8,900
2003	424	5,280	6,280
2004	421	5,280	3,080
2005	1,969	4,920	5,600
2006	0	4,920	1,820
2007	0	5,280	1,280
2008	0	0	1,620
2009	0	0	1,240
2010	0	0	100
2011	0	0	40

2. HPSの海外における評価、使用状況等

海外においては、HPSを主成分とした製剤は使用されていないが、臭化水素酸ハロフジノン又は乳酸ハロフジノンを主成分とする飼料添加物又は飼料添加剤が承認されている。

(1) 米国

米国においては、臭化水素酸ハロフジノンを有効成分とする肉用鶏等への飼料添加剤が承認されている（参照13）。FDAの定めた家畜に使用する抗菌性物質の食品健康影響評価についての企業向けガイダンスの中で、ヒトの医療上重要な抗菌性物質がランク付けされているが、ハロフジノンはその中に含まれていない（参照14）。同ガイダンスに基づき、臭化水素酸ハロフジノンを有効成分とする肉用鶏等への飼料添加剤の安全性や残留性に関する評価が申請企業により提出されているが、薬剤耐性菌に関する評価は行われていない（参照13）。

(2) EU

EUにおいては、臭化水素酸ハロフジノンを有効成分とする肉用鶏等への飼料添加物及び乳酸ハロフジノンを有効成分とする子牛用の飼料添加剤が承認されている（参照15、16）。EUでは、2006年から抗菌性物質を家畜の成長促進目的で使用することが禁止されているが、抗コキシジウム剤としてのハロフジノンは使用が認められている（参照17～19）。

1998年に、EMAの動物用医薬品委員会（CVMP）は、ハロフジノンの安全性及び残留性に関する評価を行っており、ヒトと子牛の腸内細菌叢への有意な影響は認められなかったとしている。（参照20）

2003年に、欧州食品安全機関（EFSA）の科学パネルは臭化水素酸ハロフジノンを

有効成分とする肉用鶏等への飼料添加物の安全性及び有効性に関する評価を行っており、臭化水素酸ハロフジノンには特定のグラム陽性菌に対して活性を有するが、腸内細菌科細菌を含む多くのグラム陰性菌は自然耐性であるとしている。しかしながら、感受性を持つ腸内細菌叢、特に病原菌に対して、臭化水素酸ハロフジノンが及ぼす影響についてはデータがなく、耐性菌選択の可能性及びヒトの臨床において重要な他の抗菌性物質と交差耐性が生じる可能性については評価されていない。(参照 15)

3. 対象家畜（鶏）における動態

(1) 吸収

肉用鶏（8～12 週齢、体重 3～4.5 kg、雄、5 羽/群）に HPS を経口投与（2.69 及び 64.1 mg/kg 体重）し、薬物動態について検討した。HPS は鶏の消化管内でハロフジノンと PS に速やかに解離し、PS は血中に移行しないと考えられていることから、ハロフジノン濃度を測定した。採血試料中のハロフジノン濃度は、血漿中に比べ血球中で 2.9～4.0 倍高い値を示したため、経時的に採血した被験試料を溶血させ、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）でハロフジノン濃度を測定した（検出限界（LOD）：0.003 ppm）。

得られた血中ハロフジノン濃度の薬物動態パラメーターを表 6 に示した。(参照21)

表 6 肉用鶏における HPS 経口投与後の血中ハロフジノン濃度の薬物動態パラメーター

HPS 投与量 (mg/kg 体重)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (時間)	AUC (ng・時間/mL)	T _{1/2} (時間)
2.69*1	19.4±4.6	4	算出せず	6.8
64.1*2	209.9±31.3	2	9038.45	27.0

*1：ハロフジノンとして 0.21 mg/kg 体重

*2：ハロフジノンとして 5.0 mg/kg 体重

(2) 分布

肉用鶏（18 日齢、体重 248～380 g、雄、3 羽/群/時点）に、¹⁴C 標識臭化水素酸ハロフジノンレジネート（ハロフジノンのベンゾピリミジン環を標識。ハロフジノン含量は 33%）を 1 日 1 回、14 日間連続経口投与（0.75 mg/kg 体重/日）し、ハロフジノンの体内分布を検討した。採材した組織中の放射活性は燃焼法及び液体シンチレーションカウンター（LSC）を、血漿及び胆汁中の放射活性は LSC を用いて測定した（LOD 及び定量限界（LOQ）は不明）。

結果を表 7 に示した。

検出された放射活性は、胆汁、肝臓、腎臓、皮膚及び皮下脂肪、筋肉の順で高かった。また、各組織における最大放射活性は、試料の最初の採材時である最終投与 6 時間後にみられた。(参照22)

表7 肉用鶏における¹⁴C標識臭化水素酸ハロフジノンレジネート14日間連続経口投与後の組織中の平均ハロフジノン濃度(μg eq/g又はmL)

組織 (n=3)	投与後時間(時間)						
	6	24	48	72	96	120	168
血漿	0.01* ¹	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01* ²
肝臓	1.55	0.68	0.18	0.12	0.10	0.04	0.09* ²
腎臓	0.75	0.24	0.13	0.07	0.04	0.02	0.02* ²
筋肉	0.06	0.03	0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01* ²
皮膚・ 皮下脂肪	0.12	0.06	0.05	0.02	0.02	0.01	< 0.01* ²
胆汁	10.0	4.1	0.5* ¹	0.9	0.4	< 0.2	< 0.2* ²

*1: 試料数は2

*2: 投与期間中に死亡したため試料数は2

(3) 代謝・排泄試験

① 代謝試験

[II. 3. (2)]の試験において高い放射活性を示した肝臓と腎臓由来の試料について、未変化体ハロフジノン濃度をHPLCを用いて測定(LOD及びLOQは不明)し、総ハロフジノン濃度と比較して、ハロフジノンとその代謝物の存在比を検討した。

結果を表8に示した。

肝臓及び腎臓における未変化体ハロフジノン濃度の変動は、総放射活性の変動と類似していた。(参照22)

表8 肉用鶏における¹⁴C標識臭化水素酸ハロフジノンレジネート14日間連続経口投与後の肝臓及び腎臓中の総放射活性及び未変化体ハロフジノン濃度

組織 (n=3)	被験物質及び その割合	投与後時間(時間)						
		6	24	48	72	96	120	168
肝臓	総ハロフジノン (μg eq/g)	1.55	0.68	0.18	0.12	0.10	0.04	0.09*
	未変化体ハロフ ジノン(μg/g)	0.83	0.36	0.07	0.05	0.04	< 0.03	0.04*
	未変化体含有率 (%)	54	53	39	42	40	—	—
腎臓	総ハロフジノン (μg eq/g)	0.60	0.25	0.12	0.05	0.05	0.01	0.02*
	未変化体ハロフ ジノン(μg/g)	0.67	0.09	0.04	0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03*
	未変化体含有率 (%)	112	36	33	60	—	—	—

*: 投与期間中に死亡したため試料数は2

② 代謝・排泄試験

卵用鶏（体重2～3.5 kg、雌雄各3羽）に、¹⁴C 標識臭化水素酸ハロフジノン（ベンゾピリミジン環を標識）3.4 mg を経口投与し、投与後5日まで24時間ごとに尿及び糞を採取し、排泄について検討した。また、投与5日後に組織及び残りのと体を分析した。被験試料中の放射活性はLSCを用いて測定した。

結果を表9に示した。

投与した総放射活性の56.3%が、投与後5日までに尿及び糞中に排泄され（尿中19.2%、糞中37.1%）、残り36.9%は組織及びと体に残存していた。

また、尿及び糞中の放射活性物質を集め、薄層クロマトグラフィー（TLC）によって未変化体ハロフジノンとその代謝物の分離を試みた。未変化体ハロフジノンは5日分で約20%が糞中に、5%が尿中に排泄されていた。複数検出された他の放射活性成分はいずれも投与量の5%を超えなかった。なお、TLCから回収された総放射活性は97%を超えていた。（参照23）

表9 卵用鶏における¹⁴C 標識臭化水素酸ハロフジノン経口投与後の尿及び糞中の平均放射活性並びに組織及びと体残留量の割合（%）

尿中排泄量	糞中排泄量	組織及びと体残留量	合計
19.2±3.6	37.1±9.2	36.9±9.4	93.2±4.1

(4) 残留試験

① 残留試験

肉用鶏（10羽/時点）にHPSを初生ひなから10週齢まで連続混餌投与（0、40、80、120 ppm）し、残留試験を実施した。投与群は投与開始35日後並びに休薬0、1、2、3、5及び7日に、対照群は休薬3日に、HPLCを用いて組織中のハロフジノン濃度を測定した（LOD：0.01 ppm）。

結果を表10に示した。

投与開始35日後及び休薬0日において、組織中のハロフジノン濃度は、肝臓、腎臓、皮膚の順で高く、脂肪及び血液ではそれらの組織よりも低い値を示した。（参照24）

表10 肉用鶏におけるHPS10週間連続混餌投与後の組織中ハロフジノン濃度（ppm）

HPS 添加量 (ppm)	組織	採材時期						
		投与開始 35 日後	休薬日数(日)					
			0	1	2	3	5	7
40	血液	LOD	LOD	LOD	LOD	—	—	—
	肝臓	0.79	0.68	0.14	0.11	0.04	LOD	LOD
	腎臓	0.34	0.36	0.04	0.02	0.01	LOD	LOD
	筋肉	0.03	0.02	LOD	LOD	LOD	—	—
	脂肪	0.02	LOD	LOD	LOD	—	—	—
	皮膚	0.04	0.04	LOD	LOD	LOD	—	—

80	血液	0.03	0.01	LOD	LOD	LOD	—	—
	肝臓	1.34	1.43	0.31	0.16	0.09	0.02	LOD
	腎臓	0.53	0.66	0.12	0.04	0.03	LOD	LOD
	筋肉	0.06	0.04	LOD	LOD	LOD	—	—
	脂肪	0.02	LOD	LOD	LOD	—	—	—
	皮膚	0.10	0.06	0.02	LOD	LOD	LOD	LOD
120	血液	0.04	0.02	LOD	LOD	LOD	—	—
	肝臓	2.88	1.74	0.43	0.23	0.19	0.03	0.03
	腎臓	0.95	0.90	0.18	0.08	0.05	0.02	LOD
	筋肉	0.07	0.05	0.01	LOD	LOD	LOD	—
	脂肪	0.04	0.02	LOD	LOD	LOD	—	—
	皮膚	0.14	0.08	0.03	0.02	LOD	LOD	LOD

LOD：検出限界（0.01 ppm）未満

—：測定せず

② 残留試験

卵用鶏（体重 2～3.5 kg、雌 6 羽）に ^{14}C 標識臭化水素酸ハロフジノン（ベンゾピリミジン環を標識）3.4 mg を経口投与し、投与後 24 時間ごとに産出卵を収集し、卵黄及び卵白中のハロフジノン濃度を検討した。被験試料中の放射活性は LSC を用いて測定した。

その結果、投与 3 日後の産出卵に平均放射活性の最高値（0.43 ppm 相当）がみられ、投与 15 日後には LOD（0.002 ppm）以下になった。投与 15 日間の総ハロフジノン量は 123.5 $\mu\text{g eq}$ であり、投与量の 3.6%であった。（参照 23）

4. ハロフジノンの抗菌活性

(1) 作用機序

飼料添加された HPS は動物の消化管内でハロフジノンと PS に速やかに解離する。（参照 2）

ハロフジノンは、哺乳動物ではアミノアシル-tRNA 合成酵素（aaRS）の一種であるグルタミル-プロリン-tRNA 合成酵素（EPRS）のプロリン-tRNA 合成活性部位に特異的に結合することにより、タンパク合成を阻害すると考えられている。（参照 25）

ハロフジノン及びフェブリフジンは、マラリア原虫（*Plasmodium falciparum* 及び他の *Plasmodium spp.*）に対し、プロリン-tRNA 合成酵素（ProRS）に作用して抗マラリア活性を示すと報告されている（参照 2、26）。また、5 種の病原原虫（*P. falciparum*、*Toxoplasma gondii*、*Leishmania major*、*Eimeria tenella* 及び *Cryptosporidium parvum*）では ProRS のアミノ酸配列保存性が高く、ハロフジノン - ProRS 間の相互作用は基本的に同様であることが報告されている（参照 27、28）。

一方、ハロフジノンの細菌に対する作用機序に関する報告は見当たらない（参照 2）。ProRS は推定アミノ酸配列の違いに基づいて原核生物型及び真核生物型の 2 種類に分類され、細菌は一般に原核生物型 ProRS を保有するが、幾つかの細菌¹では真核生物

¹ *Mycoplasma*、*Deinococcus*、*Chlorobium*、*Porphyromonas*、*Borrelia*、*Thermus thermophilus* 等（参照 29、31）

型 ProRS を保有している (参照29~31)。真核生物型 ProRS を保有する細菌は、ハロフジノンの ProRS 阻害作用により発育が阻害されるものと推察された ([II. 4. (2)]で後述)。

なお、aaRS の機能阻害については抗菌性物質の新たな標的として着目され、イソロイシル-tRNA 合成酵素 (IleRS) 阻害活性を有するムピロシリンが黄色ブドウ球菌に対する外用薬として臨床応用されている。(参照32)

(2) 抗菌スペクトル

HPS の薬剤感受性試験の報告はない。前述のとおり、HPS は鶏の消化管内で抗菌力を持つハロフジノンと PS に解離する。PS は陽イオン交換樹脂であり、抗菌活性をほとんど有しないと推察されるため、HPS の抗菌活性は臭化水素酸ハロフジノンと同等かそれ以下と推察される。(参照 2)

臭化水素酸ハロフジノンは特定のグラム陽性菌に対して活性を有するが、腸内細菌科細菌を含む多くのグラム陰性菌に対しては 128 μ g/mL 以上の MIC を示した。(参照 33、34)

以下に詳細な結果を記載する。

① 精度管理用菌株に対する MIC

精度管理用 6 菌種 6 菌株に対する臭化水素酸ハロフジノンの MIC 測定結果を表 11 に示した。(参照 33、34)

被験菌種のうち最も高い感受性を示したのは *Bacteroides fragilis* であった。(参照 2)

表 11 MIC 測定試験精度管理用菌株に対する臭化水素酸ハロフジノンの MIC 測定結果

菌種	菌株名	MIC (μ g/mL) *
グラム陽性菌		
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	>128
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	32~>128
	ATCC 29213	128~>128
グラム陰性菌		
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285	8~32
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	>128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	>128

* : 4 回の測定値

② 家きんの腸管由来細菌に対する MIC

鶏及び七面鶏の糞便由来の好気性菌 112 株及び嫌気性菌 20 株に対する臭化水素酸ハロフジノンの MIC 測定結果を表 12 に示した。(参照 33)

家きんの腸管由来のグラム陰性菌に対する MIC はいずれも 128 μ g/mL 以上であった。一方、グラム陽性菌のうち、*Clostridium perfringens* 及び *Enterococcus faecium* については、それぞれ MIC が 8~16 μ g/mL 及び 4 μ g/mL のサブポピュレーションと、

MIC が 128 µg/mL 以上のサブポピュレーションがみられた。報告書では、MIC の分布が二峰性を示した理由として、耐性獲得よりも菌種を構成する菌株の多様性の可能性が考えられるとし、臭化水素酸ハロフジノンの抗菌活性は無視できる程度と考察している。(参照 33)

なお、*C. perfringens* 及び *E. faecium* は原核生物型 ProRS を保有しており(参照35)、ハロフジノンに感受性を示す機序は不明である。

表 12 家きんの腸管由来細菌に対する臭化水素酸ハロフジノンの MIC 測定結果

菌種名	由来 家きん	菌株数	MIC (µg/mL)	
			測定 1 回目	測定 2 回目
グラム陽性菌				
<i>Clostridium perfringens</i>	鶏	10	8~32	8~16
	七面鳥	10	8~>128* ¹	8~>128* ¹
<i>Enterococcus faecalis</i>	鶏	10	64~>128* ²	64~≥128
	七面鳥	10	>128	>128
<i>E. faecium</i>	鶏	11	4~>128 * ³	4~>128 * ³
	七面鳥	11	4~>128 * ⁴	4~>128 * ⁴
Coagulase negative staphylococci	鶏	10	32~>128* ⁵	16~>128* ⁵
<i>Staphylococcus aureus</i>	鶏	10	32~128* ⁶	32~128* ⁶
グラム陰性菌				
<i>Campylobacter</i> spp.	七面鳥	10	>128	>128
<i>Escherichia coli</i>	鶏	10	>128	>128
	七面鳥	10	>128	>128
<i>Salmonella</i> spp.	鶏	10	>128	>128
	七面鳥	10	>128	>128

*1 : 2 株の MIC が >128 µg/mL *2 : 9 株の MIC が >128 µg/mL

*3 : 10 株の MIC が >128 µg/mL *4 : 10 株の MIC が 4 µg/mL

*5 : 1 株の MIC が >128 µg/mL *6 : 9 株の MIC が 32 µg/mL

③ ヒトの腸管由来細菌に対する MIC

ヒトの腸管由来細菌に対する臭化水素酸ハロフジノンの MIC 測定結果を表 13 に示した。(参照 34)

グラム陰性菌では、大腸菌及び *Proteus* 属に対しては全て 128 µg/mL 以上の MIC を示したが、*Bacteroides* 属のうち *B. fragilis* に対しては 16~>128 µg/mL の MIC を示すなど、菌種、菌株間で差がみられた。グラム陽性菌では、*Bifidobacterium* 属、*E. faecium* 等多くの菌種に対して 128 µg/mL 以上の MIC を示したが、*Clostridium celatum*、*Collinsella aerofaciens*、*Enterococcus casseliflavus*、*Eubacterium callanderi*、*Lactobacillus acetotolerans* 及び *Peptoniphilus ivorii* の 6 菌種に対しては 4µg/mL 以下の MIC を示した。(参照 34)

表 13 ヒトの腸管由来細菌に対する臭化水素酸ハロフジノンの MIC 測定結果

菌種名	菌株数	MIC (µg/mL)	
		測定 1 回目	測定 2 回目
グラム陽性菌			
<i>Absiella (Eubacterium) dolichum</i>	1	>128	128
<i>Anaerococcus (Peptostreptococcus) hydrogenalis</i>	1	>128	>128
<i>A. (Peptostreptococcus) lactolyticus</i>	1	>128	>128
<i>A. (Peptostreptococcus) prevotii</i>	3	128~>128	>128
<i>A. (Peptostreptococcus) tetradius</i>	1	>128	>128
<i>Asaccharospora (Clostridium) irregularis</i>	1	>128	>128
<i>Bifidobacterium</i> spp.	6	>128	>128
<i>Clostridioides (Clostridium) difficile</i>	1	>128	>128
<i>Clostridium baratii (paraperfringens)</i>	1	16	32
<i>C. beijerinckii</i>	2	16~>128	16~>128
<i>C. cadaveris</i>	1	64	64
<i>C. celatum</i>	1	4	4
<i>C. perfringens</i>	1	16	32
<i>C. perfringens</i> Type A	1	16	32
[<i>C.</i>] <i>sphenoides</i>	1	64	>128
[<i>C.</i>] <i>spiroforme</i>	1	>128	>128
<i>Collinsella (Eubacterium) aerofaciens</i>	1	1	2
<i>Dorea (Eubacterium) formicigenerans</i>	1	>128	>128
<i>Eggerthella lentum (Eubacterium lenta)</i>	2	32~64	64~128
<i>Enterococcus casseliflavus (flavescens)</i>	3	4	4
<i>E. faecalis</i>	7	>128	>128
<i>E. faecium</i>	2	>128	>128
<i>Eubacterium callanderi</i>	1	0.5	1
[<i>E.</i>] <i>hallii</i>	1	>128	>128
[<i>E.</i>] <i>nodatum</i>	1	>128	>128
[<i>E.</i>] <i>tenuis</i>	1	>128	>128
<i>Faecalicatena (Eubacterium) fissicatena</i>	1	>128	>128
<i>Finegoldia magna (Peptostreptococcus magnus)</i>	1	>128	>128
<i>Hathewayia histolytica (Clostridium histolyticum)</i>	2	32~64	32
<i>Lactobacillus acetotolerans</i>	1	1	1
<i>L. gasserii</i>	3	128~>128	>128
<i>L. jensenii</i>	1	128	>128
<i>L. johnsonii</i>	1	>128	>128
<i>L. oris</i>	1	>128	>128
<i>L. parabuchneri</i>	1	>128	>128
<i>L. reuteri</i>	2	>128	>128
<i>Lachnoanaerobaculum (Eubacterium) saburreum</i>	1	16	8
<i>Parvimonas micra (Peptostreptococcus micros)</i>	1	>128	>128
<i>Peptococcus niger</i>	2	32~>128	32~>128

<i>Peptoniphilus (Peptococcus) asaccharolyticus</i>	1	>128	>128
<i>P. (Peptostreptococcus) harei</i>	1	128	128
<i>P. (Peptostreptococcus) ivorii</i>	1	1	2
<i>P. (Peptostreptococcus) lacrimalis</i>	1	128	128
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	2	16~32	32
<i>Scardovia inopinata (Bifidobacterium inopinatum)</i>	1	>128	128
<i>Slackia (Peptococcus) heliotrinreducans</i>	1	>128	>128
<i>Staphylococcus (Peptococcus) saccharolyticus</i>	1	>128	>128
<i>Tissierella praeacuta (Clostridium hastiforme)</i>	1	64	128
グラム陰性菌			
<i>Bacteroides coagulans</i>	1	64	64
<i>B. distasonis</i>	1	64	64
<i>B. eggerthii</i>	1	32	32
<i>B. fragilis</i>	4	16~>128	32~>128
<i>B. ovarus</i>	1	16	32
<i>B. splanchnicus</i>	1	16	16
<i>B. thetaiotaomicron</i>	2	16~32	32
<i>B. ureolyticus</i>	1	128	>128
<i>B. vulgarus</i>	2	32~>128	32~>128
<i>Escherichia coli</i>	10	≥128	>128
<i>Proteus</i> spp. (<i>Consenszae myxofaciens</i> 及び <i>Providencia rettgeri</i> を含む)	8	>128	>128

○ 過去の承認菌種名

□ 分類再検討中

[II. 4. (2) ①~③]で臭化水素酸ハロフジノンの MIC 測定結果を示したグラム陰性菌及び陽性菌のうち、GenBank に登録されている 18 菌種及び *P. falciparum* の ProRS 推定アミノ酸配列について解析を行った。*E. casseliflavus*、*E. callanderi* 及び *B. fragilis* は *P. falciparum* と共通の配列を持つ真核生物型 ProRS を保有しているため (参照 35)、ハロフジノンの ProRS 阻害作用により発育が阻害されるものと推察された。また、*Clostridioides difficile* は原核生物型及び真核生物型両方の ProRS をコードする遺伝子を染色体上に隣接して保有している (参照36、37)。一方で、原核生物型 ProRS を保有する大腸菌、*Proteus* 属等の細菌の多くに対して 128 µg/mL 以上の MIC を示したことから、原核生物型 ProRS はハロフジノンの阻害作用を受けないと推察された。なお、原核生物型 ProRS を保有する *C. aerofaciens* に対して 1~2 µg/mL の MIC を示しているが、作用機序は不明である。

5. 薬剤耐性菌及び薬剤耐性決定因子に関する情報

細菌におけるハロフジノン耐性及び耐性決定因子について、現在までのところ知見はない。

原虫では、*P. falciparum* のハロフジノン耐性クローンでは細胞質内 ProRS をコードする遺伝子にアミノ酸置換 (L482F 又は L482H) を伴う点突然変異が確認されている。(参照 26)

また、aaRS 阻害作用を有する抗菌性物質であるムピロシンでは、細菌において IleRS をコードする遺伝子の点突然変異及びムピロシン非感受性の IleRS をコードするプラスミド上の *mup* 遺伝子の伝達により耐性が付与されることが報告されている。(参照 38、39)

[II. 4. (1) 及び (2)] に記載したとおり、細菌は一般にハロフジノンの阻害作用を受けないと考えられる原核生物型 ProRS を保有するが、一部の細菌では真核生物型 ProRS を保有し、ハロフジノンへの感受性がみられる。[II. 4. (2) ③] では真核生物型 ProRS を保有する *B. fragilis* に、128 µg/mL 以上の MIC を示す株が検出されていること等から、真核生物型 ProRS をコードする遺伝子の点突然変異、原核生物型等のハロフジノンの阻害作用を受けない ProPS をコードする遺伝子の伝達等により感性菌がハロフジノン耐性を獲得する可能性があると考えられる。

しかしながら、[II. 4. (2) ②] では原核生物型 ProRS を保有する *C. perfringens* 及び *E. faecium* の家きん腸管由来株に対するハロフジノンの MIC が二峰性の分布を示し、[II. 4. (2) ③] ではヒト腸管由来の *B. fragilis* (真核生物型 ProRS)、*B. vulgaris* (配列情報なし)、*Clostridium beijerinckii* (原核生物型 ProRS) 及び *Peptococcus niger* (配列情報なし) の極めて少数の菌株間でハロフジノン感受性に違いがみられるなど、細菌における耐性機序及び耐性状況については不明な点が多い。

6. 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

「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、ハロフジノンは I～III のいずれにもランク付けされていない(参照 40)。

ハロフジノンは、国内ではヒト用医薬品として承認されていない。また、他のキナゾリンアルカロイドについても、ヒト医療において抗菌性物質としての承認はない。海外では、臭化水素酸ハロフジノンは、ヒト医療において、2000 年以降全身性強皮症及びデュシェンヌ型筋ジストロフィー治療目的の希少疾病用医薬品として指定されているが、抗菌性物質としての使用を目的としていない(参照 10～12)。

また、ヒトに使用されている他の抗菌性物質と構造が異なるため、交差耐性が起こる可能性は低い。なお、ハロフジノンと同様に aaRS の機能阻害をもたらすヒト用抗菌性物質であるムピロシンが、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の除菌を目的とした鼻腔内塗布薬として国内で承認されているが、ハロフジノンは ProRS の、ムピロシンは IleRS の、それぞれ特異的な阻害剤であり、両者の間に構造の類似性はみられない(参照 32)。

さらに、現時点ではハロフジノンとヒトに使用されている他の抗菌性物質の共耐性に関する報告はない。

以上のことから、現時点において、HPS を鶏に使用することによりヒト用抗菌性物質

との間に交差耐性又は共耐性が生じる可能性は低いと考えられる。

7. ハザードの特定に係る検討

ハロフジノン¹は、国内において1987年にHPSが飼料添加物に指定されて以来、鶏の飼料添加物としてのみ使用されており、動物用及びヒト用医薬品としての承認はない。また、他のキナゾリンアルカロイドについても、ヒト医療において抗菌性物質としての承認はない。

ハロフジノンは、ヒトに使用されている他の抗菌性物質と構造が異なるため、交差耐性が起こる可能性は低い。さらに、現時点でハロフジノンとヒトに使用されている他の抗菌性物質の共耐性に関する報告はない。

細菌におけるハロフジノン耐性及び耐性決定因子について、現在までのところ知見はない。細菌は一般に、ハロフジノンの阻害作用を受けないと考えられる原核生物型ProRSを保有するが、真核生物型ProRSを保有する細菌ではハロフジノンに対する感受性がみられたものがあり、ハロフジノンのProRS阻害作用により発育が阻害されるものと推察された。

以上のように、ハロフジノンに対して感受性を示す細菌では耐性菌が選択される可能性は否定できないが、①ハロフジノンがヒト用抗菌性物質として使用されないこと、②ヒトに使用される他の抗菌性物質と構造が異なるため交差耐性が起こる可能性が低いこと、③共耐性に関する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。

Ⅲ. 食品健康影響評価について

HPSの鶏への使用により、その構成成分であって生体内で解離して抗菌活性を示すと考えられるハロフジノンに対する耐性菌が選択される可能性は否定できないが、ハロフジノンがヒト用抗菌性物質として使用されないこと、ヒトに使用される他の抗菌性物質と構造が異なるため交差耐性が起こる可能性が低いこと等から、特定すべきハザードがないと判断した。したがって、HPSを鶏に使用することにより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。

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いえないことから、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。

＜別紙 検査値等略称＞

略称	名称
aaRS	アミノアシル-tRNA合成酵素
AUC	薬物血（漿）中濃度曲線下面積
C _{max}	最高血（漿）中濃度
CVMP	欧州医薬品庁動物用医薬品委員会
EFSA	欧州食品安全機関
EMA	欧州医薬品庁
EPRS	グルタミル-プロリル-tRNA合成酵素
EU	欧州連合
FAMIC	独立行政法人農林水産消費安全技術センター
FDA	米国食品医薬品庁
HPS	ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
IleRS	イソロイシル-tRNA合成酵素
LOD	検出限界
LOQ	定量限界
LSC	液体シンチレーションカウンター
MIC	最小発育阻止濃度
ProRS	プロリル-tRNA合成酵素
PS	ポリスチレンスルホン酸カルシウム
T _{1/2}	消失半減期
T _{max}	最高濃度到達時間
TLC	薄層クロマトグラフィー
tRNA	トランスファーRNA

<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 農林水産省. 食品影響評価に関する資料 ハロフジノンポロエチレンスルホン酸カルシウム. (非公表)
- 3 飼料分析基準協会 編著. 飼料分析法・解説 -2004-. (社) 日本科学飼料協会.
- 4 一般社団法人 日本科学飼料協会. 飼料添加物の成分規格及び評価基準等収載書. 2013.
- 5 ポリスチレンスルホン酸カルシウム, カリメート®散, カリメート®ドライシロップ 92.59%, カリメート®経口液 20%. 医薬品インタビューフォーム.
- 6 安全衛生情報センター. 化学物質 : GHS モデル. MSDS 情報. ハロフジノン.
<http://www.jaish.gr.jp/anzen/gmsds/55837-20-2html>
- 7 The Merck Index, 15th Edition, 2013: p.850.
- 8 Pines M, Spector I. Halofuginone-the multifaceted molecule. *Molecules*. 2015; 20: 573-594.
- 9 強皮症研究会議. 強皮症とは. <http://derma.w3.kanazawa-u.ac.jp/SSc/ssc/index.html#001>.
- 10 PR Newswire. Collgard Biopharmaceuticals' Halofuginone Receives Orphan Drug Designation for Scleroderma from FDA. <http://www.prnewswire.com>.
- 11 EMA. EU/3/01/074: Public summary of positive opinion for orphan designation of halofuginone hydrobromide for the treatment of systemic sclerosis. 2009.
- 12 EMA. EU/3/12/988: Public summary of opinion on orphan designation: Halofuginone hydrobromide for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. 2015.
- 13 FDA. NADA 130-951 Stenorol®-supplemental approval. 1991. NADA 140-824 Stenorol®-supplemental approval.1992.
- 14 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.
- 15 EFSA. Opinion of the scientific panel on additives and products or substances used in animal feed on a request from the commission on the re-evaluation of coccidiostat Stenorol in accordance with article 9G of council directive70/524/EEC. *EFSA Journal* 2003; 8: 1-45.
- 16 EMA. European Public Assessment Report (EPAR). HALOCUR. EPAR summary for the public. 2007.
- 17 EU. Press release. Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect. 2005.
- 18 EC. REGULATION (EC) No 1831/2003 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. 2003.
- 19 EC. Register of Feed Additives pursuant to Regulation (EC) No 1831/2003. Annex I: List of additives. 2019.
- 20 EMA CVMP. CVMP summary report Halofuginone.1998.
- 21 農林水産省. 提出資料 2. (非公表)
- 22 農林水産省. 提出資料 3. (非公表)
- 23 農林水産省. 提出資料 5. (非公表)
- 24 農林水産省. 提出資料 16. (非公表)
- 25 Keller TL, Zocco D, Sundrud MS, Hendrick M, Edenius M, Yum J, *et al*. Halofuginone and other febrifugine derivatives inhibit prolyl-tRNA synthetase. *Nat Chem Biol*. 2012; 8: 311-317.
- 26 Herman J D, Pepper L R, Cortese J F, Estiu G, Galinsky K, Zuzarte-Luis V, *et al*. The cytoplasmic prolyl-tRNA synthetase of the malaria parasite is a dual-stage target of febrifugine and its analogs. *Sci Transl Med*. 2015; 7: 288ra77.
- 27 Jain V, Yogavel M, Oshima Y, Kikuchi H, Touquet B, Hakimi M-A, *et al*. Structure of prolyl-tRNA synthetase-halofuginone complex provides basis for development of drugs against malaria and toxoplasmosis. *Structure*. 2015; 23: 819-29.
- 28 Jain V, Yogavel M, Kikuchi H, Oshima Y, Hariguchi N, Matsumoto M, *et al*. Targeting prolyl-tRNA synthetase to accelerate drug discovery against malaria, leishmaniasis, toxoplasmosis, cryptosporidiosis, and coccidiosis. *Structure*. 2017; 25: 1495-505.e6.
- 29 Yaremchuk A, Cusack S, Tukalo M. Crystal structure of a eukaryote/archaeon-like prolyl-tRNA synthetase and its complex with tRNAPro(CGG). *Embo J*. 2000; 19: 4745-58.

- 30 Crepin T, Yaremchuk A, Tukalo M, Cusack S. Structures of two bacterial prolyl-tRNA synthetases with and without a cis-editing domain. *Structure*. 2006; 14: 1511-25.
- 31 Woese C R, Olsen G J, Ibba M, Soll D. Aminoacyl-tRNA synthetases, the genetic code, and the evolutionary process. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2000; 64: 202-36.
- 32 Hurdle J G, O'Neill A J, Chopra I: Prospects for aminoacyl-tRNA synthetase inhibitors as new antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4821-33.
- 33 農林水産省. 提出資料 13. (非公表)
- 34 農林水産省. 提出資料 14. (非公表)
- 35 DDBJ CLUSTA 2.1 Multiple Sequence Alignments. <https://clustalw.ddbj.nig.ac.jp/>.
- 36 Riedel T, Bunk B, Wittmann J, Thurmer A, Sproer C, Gronow S, *et al*. Complete genome sequence of the *Clostridium difficile* type strain DSM 1296T. *Genome Announc*. 2015; 3
- 37 GenBank. *Clostridioides difficile* ATCC 9689 = DSM 1296 chromosome, complete genome. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/CP011968.1?report=graph>.
- 38 Patel JB, Gorwitz RJ, and Jernigan JA. Mupirocin resistance. *Clin Infect Dis*. 2009; 49: 935-41.
- 39 Seah C, Alexander D C, Louie L, Simor A, Low DE, Longtin J, *et al*. MupB, a new high-level mupirocin resistance mechanism in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 1916-20.
- 40 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 (第2版) . 2006 (2014年3月改正) .