

内閣府食品安全委員会事務局
平成23年度食品安全確保総合調査

ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準の設定された
農薬、動物用医薬品及び飼料添加物に係る
食品健康影響評価に関する調査報告書

ネオマイシン

平成24年1月

株式会社三菱化学テクノロジー

はじめに

食品安全委員会では、ポジティブリスト制度導入に伴い、暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本報告書はこの内、ネオマイシンについて、FAO/WHO 合同添加物専門家会議(以下「JECFA」という。)と欧州医薬品庁(以下「EMA」という。)の評価書の翻訳を行うとともに、評価に必要な情報について整理し、取りまとめたものである。

平成 24 年 1 月

株式会社三菱化学テクノロジー

目 次

ネオマイシン

1. 調査の目的	5
2. 作業の概要	5
2.1. 調査対象物質	5
2.2. 評価書の翻訳	7
2.2.1. 評価書	7
2.3. 翻訳の整理	7
3. 評価書と訳	7
3.1 JECFA(1994年)	9
3.2 JECFA(1994年)	27
3.3 JECFA(1996年)	53
3.4 JECFA(1996年)	61
3.5 JECFA(1999年)	69
3.6 JECFA(2003年)	81
3.7 JECFA(2003年)	101
3.8 EMEA(1995年)	125
3.9 EMEA(2000年)	137
3.10 EMEA(2002年)	151

海外のリスク評価機関における農薬の評価結果に関する調査 報告書

ネオマイシン

1. 調査の目的

食品衛生法の一部を改正する法律(平成15年法律第55号)の施行に伴い、いわゆるポジティブリスト制度が、平成18年5月29日に導入された。本施行に伴い、農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)758物質に暫定基準が設定され、食品安全委員会では、これらの物質について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本調査は、国際的な評価機関である JMPR (FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議) 及び JECFA (FAO/WHO 合同残留添加物専門家会議) と最新の評価を行っている EFSA (欧州食品安全委員会) の評価書が、我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後評価を行うべき農薬のうち、JMPR 及び JECFA と EFSA の双方の評価を比較できるものについて、双方の評価書の翻訳を行うとともに評価に必要な情報について整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめたものである。

2. 作業の概要

本調査では JMPR 及び JECFA と EFSA における評価書の翻訳及び整理を以下のように実施した。

2.1. 調査対象物質

本調査全体では、ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準が設定された農薬等の 758 物質のうち、表1に示した 38 物質を調査対象とした。本報告書では、これらのうちネオマイシンの調査について報告した。

表 1 調査対象の農薬等

番号	物質名	主な用途
1	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン (アルベンダゾール)	動物薬・寄生虫駆除剤
2	イソメタ末ミジウム	動物薬・寄生虫駆除剤
3	エトキシキン	農薬/飼料添加物・成長調整剤・抗酸化剤
4	オイゲノール	動物薬・麻酔薬
5	オルトフェニルフェノール	農薬・殺菌剤
6	カルバドックス(キノキサリン-2-カルボン酸含む)	動物薬・合成抗菌剤
7	キントゼン(PCNB)	農薬・殺菌剤
8	クロサンテル	動物薬・寄生虫駆除剤
9	クロルプロマジン	動物薬・鎮静剤
10	酢酸トレンボロン	動物薬・ホルモン剤
11	サラフロキサシン	動物薬・合成抗菌剤
12	ジエチルスチルベストール (DES)	動物薬・ホルモン剤
13	ジクラズリル	動物薬・寄生虫駆除剤
14	シクロキシジム	農薬・除草剤
15	ジブチルヒドロキシトルエン	飼料添加物・抗酸化剤
16	ジメトリダゾール	動物薬・寄生虫駆除・抗原虫剤
17	スペクチノマイシン	動物薬・抗生物質
18	スルファジミジン	動物薬・合成抗菌剤
19	ゼラノール	動物薬・ホルモン剤

番号	物質名	主な用途
20	デキサメタゾン	動物薬・ホルモン剤
21	テクナゼン	農薬・殺菌剤・成長調整剤
22	ドジン	農薬・殺菌剤
23	トリクラベンダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤
24	トリベヌロンメチル	農薬・除草剤
25	ナイカルバジン	動物薬/飼料添加物・合成抗菌剤・寄生虫駆除剤
26	ネオマイシン	動物薬・抗生物質
27	バシトラシン	動物薬/飼料添加物・抗生物質
28	ビオレスメリン	農薬・殺虫剤
29	ピペロニルブトキシド	農薬/動物薬・共力剤
30	ブチルヒドロキシアニソール	飼料添加物・抗酸化剤
31	フルアズロン	動物薬・ダニ駆除剤
32	フルメリン	農薬/動物薬・殺虫剤
33	ブロモプロピレート	農薬・ダニ駆除剤
34	ポリミキシン B	動物薬・抗生物質
35	マレイン酸ヒドラジン	農薬・除草剤・成長調整剤
36	メロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤
37	モキシデクチン	動物薬・寄生虫駆除剤
38	ロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤

2.2. 評価書の翻訳

2.2.1. 評価書

ネオマイシンに関して、これまでに食品安全委員会にて収集を行っている JMPR と EFSA における評価書の指定部分の翻訳を行った。各評価書等を表 2 に示した。

表 2 調査対象の評価書

機関	発行年	タイトル
JECFA	1994	FNP 41/7-JECFA 43/57, 1994
JECFA	1994	FAS 34-JECFA 43/113, 1994
JECFA	1996	FAS 38-JECFA 47/79, 1996
JECFA	1996	FNP 41/9-JECFA 47/73, 1996
JECFA	1999	FNP 41/12-JECFA 52/91, 1999
JECFA	2003	FNP 41/15-JECFA 60/53, 2003
JECFA	2003	FAS 51-JECFA 60/3, 2003
EMEA	1995	Committee for Veterinary Medicinal Products, Neomycin (Including Framycetin and Soframycin), Summary Report (1), 1995
EMEA	2000	Committee for Veterinary Medicinal Products, Neomycin, Summary Report (2), 2000
EMEA	2002	Committee for Veterinary Medicinal Products, Neomycin, Summary Report (3), 2002

2.3. 翻訳の整理

評価書の翻訳について、評価書ごとに以下のように整理した。

- ・評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成した。
- ・翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載した。
- ・J 評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

3. 評価書訳

以下に評価書の指定箇所の全訳を、評価書ごとに掲載した。

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理

JECFA 1994

ウェブサイト: <ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/41-7-nomycin.pdf>

FNP 41/7-JECFA 43/57

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理 JECFA (1994) 目次

ネオマイシン(原文 p.57)	14
性質(原文 p.57)	14
性質と特性に関するその他の情報(原文 p.57)	14
食品中における残留量とその評価(原文 p.58)	15
使用状況(原文 p.58)	15
代謝(原文 p.58)	16
薬物動態(原文 p.58)	16
食物中及び実験動物における代謝(原文 p.60)	17
組織残留量の減少に関する試験(原文 p.60)	17
組織残留量の解析方法(原文 p.64)	23
評価(原文 p.65)	24
ネオマイシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1994)	26
略称	26

原文 目次

原文ページ

ネオマイシン	57
性質	57
性質と特性に関するその他の情報	57
食品中における残留量とその評価	58
使用状況	58
概要	58
容量	58
代謝	58
薬物動態	58
ラット	58
牛	59
家禽	59
食物中及び実験動物における代謝	60
組織残留量の減少に関する試験	60
牛	60
乳製品	62
羊	62
ヤギ	63
豚	63
家禽	63
七面鳥	64
組織残留量の解析方法	64
評価	65
最大残留基準値	65
引用文献	66
NEOMYCIN	57
IDENTITY	57
OTHER INFORMATION ON IDENTITY AND PROPERTIES	57
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION	58
CONDITIONS OF USE	58
General	58
Dosages	58
METABOLISM	58
Pharmacokinetics	58

Rat	58
Cattle	59
Poultry	59
Metabolism in Food and Laboratory Animals	60
TISSUE RESIDUE DEPLETION STUDIES	60
Cattle	60
Cattle-Dairy	62
Sheep	62
Goats	63
Swine	63
Poultry	63
Turkeys	64
METHODS OF ANALYSIS FOR RESIDUES IN TISSUES	64
APPRAISAL	65
Maximum Residue Limits	65
REFERENCES	66

ネオマイシン (原文 p.57)

原案

Dr.R.C.Livingston

動物薬センター、FDA、ロックビル、米国

性質(原文 p.57)

化学名: 硫酸ネオマイシン

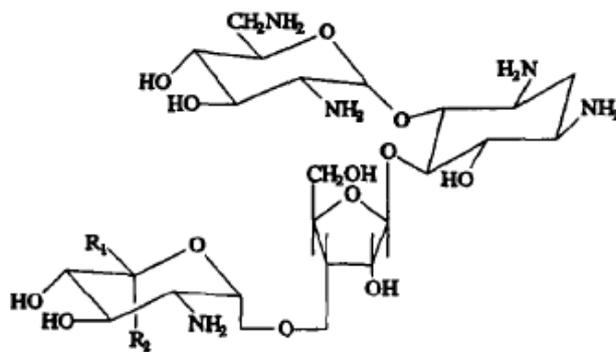
分類: アミノグリコシド系抗生物質

CAS 名:

D-streptamine,O-2,6-diamino-2,6-dideoxy-.alpha.-D-glucopyranosyl-(1→4)-O-[O-2,6-diamino-2,6-dideoxy-.beta.-L-idopyranosyl-(1→3)-.beta.-D-ribofuranosyl-(1→5)]-2-deoxy-,sulfate(1:1)(salt)

CAS 登録番号: 25389-98-4

構造式:



Neomycin B: $R_1 = H$ and $R_2 = CH_2NH_2$

Neomycin C: $R_1 = CH_2NH_2$ and $R_2 = H$

分子式: $C_{23}H_{40}N_6O_{13}H_2O_4S$

分子量: 712.73

性質と特性に関するその他の情報(原文 p.57)

有効成分: 硫酸ネオマイシン B

BP 及び EP 規格: 680 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 以上

USP 規格: 600 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 以上

農業グレード(agriculture grade) : 571 µg/mg

技術グレード(technical grade) : 571 µg/mg

不純物: BP 及び EP 規格:ネオマイシン C: 3~15%

ネアミン: 2%以下

形状: 白もしくは灰白の非晶質粉末

旋光度: BP 及び EP 規格 +53.5~+59.0°

pH: BP 及び EP 規格 5.0~7.5

溶解度(mg/mL、28 度):

水 6.3

メタノール 0.225

エタノール 0.095

イソプロパノール 0.082

イソアミルアルコール 0.247

シクロヘキサン 0.08

ベンゼン 0.05

食品中残留物とその評価(原文 p.58)

使用状況(原文 p.58)

概要(原文 p.58)

ネオマイシンは 40 年以上人の細菌性胃腸感染症の治療に使用されてきた。ネオマイシンの硫酸塩は 35 年以上にわたり牛、羊、ヤギ、豚及び家禽の細菌性胃腸感染症の合併症に対して世界中で使われてきた。また硫酸ネオマイシンは乳腺炎の治療のための乳房内注入も行われている。様々な処方にネオマイシン溶解物と乳房注入剤の予混合が含まれている。その活性の薬効範囲には多くのグラム陰性及びグラム陽性細菌が含まれる。

用量(原文 p.58)

硫酸ネオマイシン 10 mg/kg 体重 の用量はネオマイシン 7.0 mg/kg 体重に等しい。硫酸ネオマイシンでは以下の用量範囲が発表されている。

牛:10~22 mg/kg

乳牛 (乳房内注入) : 150~350 mg/注入
羊 : 10 mg/kg
豚 : 10~22 mg/kg
家禽 : 10~30 mg/kg (鶏、七面鳥、アヒル)

硫酸ネオマイシンの投与期間は、家禽で3~7日、より大きな動物で最大14日である。基本的には乳牛で5日、豚で10~14日である。

代謝(原文 p.58)

薬物動態(原文 p.58)

ネオマイシンはヒト及び動物の腸管からの吸収率は低く(3~10%)、乳房からの吸収率も低い。吸収されたネオマイシンは腎臓、次いで肝臓に集積する。消化管におけるリン酸化、アデニル化、アセチル化を除いて代謝されず、吸収されたネオマイシンは親化合物として残留する。経口投与されたネオマイシンはほとんどが糞便中に排泄される(90%以上)。吸収されたネオマイシンは腎臓の糸球体濾過を経て排泄される。乳房内投与後、搾乳するとネオマイシンは乳から”ほとぼしる“(乳汁分泌開始後乳を出さなくなった牛において)。

ラット(原文 p.58)

^{14}C で標識したネオマイシンを混餌投与したラットの研究(n=3)において、放射能の胆汁及び尿中排泄はいずれも非常に低かった(それぞれ投与 ^{14}C の 0.27 ± 0.01 及び $0.83 \pm 0.07\%$, n=3)。この排泄に関するデータと、子牛の組織における ^{14}C 残留物のデータから、尿中排泄量はネオマイシンの吸収量に近いことが示された(Aschbacher,1994)。

牛(原文 p.59)

年齢、食事及び投与方法によるネオマイシンの動態への影響を調べるため、様々な年齢の11匹の子牛に ^{14}C 標識したネオマイシンを投与した。約 30 mg/kg 体重用量を単回経口投与し、96時間後に全ての子牛をと殺した。尿中排泄から、同様に投与した場合のネオマイシンの吸収率は3日齢の子牛(11.1%)が54~64日齢の反芻しない子牛(1.5%)よりも高いことが示された。哺乳瓶を使い液体で投与した場合、ネオマイシンの吸収率は非反芻子牛(0.58%)と反芻子牛(2.13%)でほぼ同程度であった。反芻する子牛の場合、ゼラチンカプセルを用いた混餌投与(0.5%)は哺乳瓶を用いた液体投与(2.13%)よりもいづれも吸収率が低かった。ネオマイシンの吸収率から考えると、成長した子牛においては反芻の有無がより重要であることがこの実験により示された。筋肉、肝臓及び腎臓におけるネオマイシン濃度を表1に示す(Aschbacher,1994)。

表1. 子牛に ^{14}C 標識ネオマイシンを経口投与したときの投与後 96 時間の組織中 ^{14}C 濃度 (新鮮な組織におけるネオマイシン相当量を表示)

投与時の年齢(日)	ネオマイシン等量、 $\mu\text{g/g}$		
	腎臓	肝臓	筋肉
3 (n=2) ^a	55.0 \pm 14.9	1.93 \pm 0.49	0.091 \pm 0.007
12 (n=1) ^a	24.0	0.67	0.044
54~64 (n=3) ^a	4.9 \pm 2.85	0.17 \pm 0.06	0.016 \pm 0.007
53~63 (n=3) ^{ab}	7.4 \pm 3.40	0.33 \pm 0.11	0.064 \pm 0.070
59~60 (n=2) ^{bc}	0.77 \pm 0.73	0.11 \pm 0.08	0.024 \pm 0.002

^a 哺乳瓶による薬液投与

^b 投薬時には十分に反芻胃が発達していた牛

^c ゼラチンカプセルを用いた粉末状の薬剤投与

6匹の反芻乳牛(約30ヶ月齢)に硫酸ネオマイシンを15日及び半日経口投与(過剰摂取96 mg/kg、1日2回)した。吸収率の幅は広がった(0.01~1.27%)が平均吸収率は低かった(0.45%) (Pedersoli,1994)。

家禽(原文 p.59)

絶食したブロイラーにネオマイシン 30 mg/kg 体重容量を飲料水に混ぜ単回投与した。投薬後 30 分で血中濃度は 2.02 $\mu\text{g/mL}$ に達した。2 時間後、1 g もしくは 1 mL の組織あたりの濃度は小腸壁で 32.77 μg 、腎臓で 8.35 μg 、肺で 2.12 μg 、血漿で 1.36 μg 、肝臓で 0.56 μg 及び心臓で 0.49 μg だった (Ibayashi,1994)。

食物中及び実験動物における代謝(原文 p.60)

牛(原文 p.60)

^{14}C 標識ネオマイシンを投与した子牛の腎臓から抽出される放射線の 90%以上がネオマイシンの形を取っていると推定された。腎臓のバイオアッセイでは 30 $\mu\text{g/g}$ 、一方放射性アッセイでは 45 $\mu\text{g/g}$ に相当するネオマイシンが得られた。これはバイオアッセイの抽出方法では全てのネオマイシンを分離できないという見解と充分一致している。この実験ではネオマイシンは代謝されないということが確かめられた (Aschbacher,1994)。

組織残留消失試験(原文 p.60)

牛(原文 p.60)

約6ヶ月齢の牛 20 匹(去勢雄 10 匹、雌 10 匹)に、硫酸ネオマイシン約 10mg/ポンド体重(22 mg/kg)用量になるよう薬を溶かした水を 14 日間毎日与えた。無処置の陰性対照とした 2 匹(雄1匹、雌1匹)は処置をしたグループとは別の囲いで飼育した。投薬期間終了後、処置牛は 4 匹(雄雌各 2 匹)ずつと殺して臓器を採取し、それぞれの退薬時間 0 時間、そして 1、3、7 及び 14 日における薬物残留物を分析した (しかし処置の途中で雌の

死亡率が増大したため、退薬時間7日で回したのは3匹のみ)。無処置の対照群も投薬最終日にと殺し、組織をネオマイシンの測定に使用した。組織は円筒平板微生物学的測定法を用いてネオマイシン残留物の測定を行った。

対照群の2匹の組織からはネオマイシンは検出されなかった。投薬した牛の筋肉、肝臓及び腎臓脂肪において、いずれの退薬時間においてもネオマイシン残留物は見つからなかった。ネオマイシン残留物は処置をした牛の腎臓においてのみ認められた。腎臓のネオマイシン濃度は退薬時間0時間で平均2.791 µg/g、24時間で平均2.899 µg/gと同程度であった。退薬3日において、腎臓のネオマイシン濃度は平均1.685 µg/gだった。退薬7日で採取した3匹のうち2匹の処置済牛の腎臓で検出されたネオマイシン残留物は定量限界(LOQ)の0.5 µg/gを下回り、残る1匹は0.62 µg/gであった。退薬14日で採取した4匹の処置済牛のうちの1匹は残留量がLOQ 0.5 µg/gを下回り、残る3匹は検出できなかった。牛の腎臓におけるネオマイシン濃度を表2に示した(Ronning,1993)。

表2. 牛、羊、ヤギ及び豚の腎臓のネオマイシン残留物濃度(μg/g)

退薬時間 時間(日)	分析したネオマイシン濃度(μg/g)			
	牛	羊	ヤギ	豚
0(ヤギ 12 時間)	2.912		1.752	1.464
0	3.436		0.503	1.802
0	2.607		1.324	1.602
0	2.209		<0.5	3.824
平均	2.791		1.020	2.174
1	2.209	0.537	1.891	1.338
1	2.536	0.707	1.165	<0.5
1	4.169	1.802	3.313	2.833
1	2.680	0.881	2.041	3.008
平均	2.899	0.982	2.103	1.920
3(ヤギ 2 日)	1.723	ND	1.891	<0.5
3	1.272	ND	0.556	1.084
3	1.924	0.522	2.203	1.651
3	1.821	<0.5	2.203	0.595
平均	1.685		1.713	0.958
7(ヤギ 3 日)	0.620	ND	<0.5	ND
7	<0.5	ND	1.542	<0.5
7	**	ND	0.516	0.991
7	<0.5	ND	1.843	<0.5
平均			1.100	0.498
14(ヤギ 4 日)	ND***	ND	ND	ND
14	ND	ND	1.000	ND
14	ND	ND	1.290	ND
14	<0.5	ND	0.503	0.906
平均			0.698	0.227
21		ND		

*解析上の定量下限である 0.5 μg/g を下回った場合<0.5 とした

**動物死亡のため試料が使えなかった

***検出できなかった。すなわち阻止範囲は測定不能

体重 275~400 ポンド、約 4 ヶ月齢の牛 6 匹(雄 3 匹、雌 3 匹)に硫酸ネオマイシン 41.8 mg (ネオマイシン換算 29.3 mg)/kg 体重/日を 14 日間経口投与した。2 匹(雄 1 匹、雌 1 匹)は対照群とした。最終投与から 12 時

間後、全ての牛を安楽死させ、腎臓を採取して分析に用いた。

腎臓試料は Barbiers 及び Neff の方法を用いた微生物学的測定で分析した。ネオマイシンが組織と結合していた場合、標準曲線がプラス側にずれるため、対照の組織の抽出物を使い標準曲線を作成した。退薬時間 0 において腎臓のネオマイシンの平均濃度は 16.6 $\mu\text{g/g}$ で、濃度幅は 10.5 $\mu\text{g/g}$ ~ 21.0 $\mu\text{g/g}$ だった (Stahl, et. al., 1989)。

2~4 日齢、平均体重 43 kg の反芻しない牛 6 匹に、ネオマイシン換算で 18.6 mg/kg/日の硫酸ネオマイシンを 14 日間投与した。最終投与後 12 時間後にと殺し、ネオマイシンを分析するため腎臓を採取した。ネオマイシンの検出限界は 0.27 $\mu\text{g/g}$ であったが、対照群の牛の腎臓からは検出されず、投与した牛の平均濃度は 71.1 $\mu\text{g/g}$ であった (Fagerberg, 1988)。

上記試験において、牛の腎臓は微生物学的測定及び HPLC 測定を用いてネオマイシンについて分析した。HPLC で測定した平均総ネオマイシン(ネオマイシン B 及び C)は 303 $\mu\text{g/g}$ であった。ネオマイシンの平均濃度は、緩衝液に基づいた標準曲線を用いると 161 $\mu\text{g/g}$ 、組織に基づいた標準曲線を用いると 400 $\mu\text{g/g}$ であった。別の研究所で測定したある動物のネオマイシンは 296 $\mu\text{g/g}$ であった (Shaikh, et. al., in press)。

3 日齢、反芻を行わないホルスタイン種の雄牛 16 匹に硫酸ネオマイシン 10 mg/ポンド体重 (ネオマイシン換算で 15.4 mg/kg) を乳代替物に混ぜて投与した。投与は 1 日 1 回、14 日間行われた。最終投与後 7、14、21、28 日に牛 (4 匹/グループ) をと殺し、腎臓は微生物学的方法を用いてネオマイシンの分析を行った (Arnold, 1990)。

乳製品(原文 p.62)

5 匹のホルスタイン種の牛にネオマイシン換算 15.4 mg/kg 体重/日を 4 日間経口投与した。乳試料は投与前から採取し、以降 18 回搾乳 (12 時間ごと 9 日間) した。測定の検出限界は 0.2 $\mu\text{g/g}$ であった。最初の 6 日間のいずれの乳汁においてもネオマイシンは検出されず、この時点で解析は終了した (Van Buren, 1986)。

羊(原文 p.62)

20 匹の羊 (去勢雄 10 匹、雌 10 匹) に硫酸ネオマイシン約 10 mg/ポンド体重用量のネオマイシン水溶液を 1 日 1 回 14 日間経口投与した。実験中は対照群とした無処置の 2 匹 (雄 1 匹、雌 1 匹) は別の囲いに隔離した。

投与期間終了後、処置をした羊を 4 匹 (雄雌各 2 匹) ずつ退薬時間 1、3、7、14 及び 21 日でと殺し組織を採取した。最初の処置羊の組織を採取する直前に、対照群とした無処置の 2 匹からも組織を採取し実験例に含めた。集めた組織はネオマイシン残留量を円筒平板微生物学的測定法で測定した。

2 匹の対照群の羊のいずれの組織からもネオマイシンは検出されなかった。処置した羊の筋肉、肝臓及び脂肪

のいずれの退薬時間で採取した試料からもネオマイシンは検出されなかった。処置した羊の腎臓からのみネオマイシンは検出された。退薬時間 24 時間の 4 匹全ての腎臓にネオマイシン残留物の陽性反応が認められ、値の幅は 0.537~1.802 µg/g、平均値は 0.982 µg/g であった。退薬時間 3 日で採取した組織では、4 匹のうち 1 匹の腎臓からのみ定量可能な濃度のネオマイシンが認められた(0.522 µg/g)。残る 3 匹の腎臓の残留物は、うち 1 匹は検出可能値 (<0.5 µg/g)、2 匹は検出できなかった。退薬時間 7、14 及び 21 日の腎臓ではネオマイシンは検出できなかった。羊の腎臓におけるネオマイシン濃度を表.2 に示す(Ronning,1994)。

ヤギ(原文 p.63)

20 匹のヤギ(去勢雄 10 匹、雌 10 匹)にネオマイシン水溶液を1日1回 14 日間経口投与して、硫酸ネオマイシン約 10 mg/ポンド体重を与えた。実験中は対照群とした無処置の 2 匹(雄1匹、雌1匹)は別の囲いに隔離した。

投与期間終了後、処置をしたヤギを 4 匹(雄雌各 2 匹)ずつ退薬時間 12、24、48、72 及び 96 時間の時点でと殺して組織を採取し、薬物残留物を調べた。処置したヤギの組織を最初に採取する直前、対照群である無処置のヤギ 2 匹の組織も採取した。採取した組織はネオマイシン残留物を円筒平板微生物学的測定法で測定した。

ネオマイシンはいずれの無処置のヤギからも検出されなかった。処置したヤギの筋肉、肝臓及び脂肪組織のいずれの時間に採取した試料からもネオマイシンは検出されなかった。ネオマイシンが認められたのは処置をしたヤギの腎臓のみで、平均濃度は退薬時間 12 時間で約 1.0 µg/g、24 時間で 2.1 µg/g、48 時間で 1.7 µg/g、72 時間で 1.1 µg/g 及び 96 時間で 0.7 µg/g であった。ヤギの腎臓におけるネオマイシン濃度を表 2 に示す(Ronning,1994b)。

豚(原文 p.63)

20 匹の豚(去勢雄 10 匹、雌 10 匹)に硫酸ネオマイシン約 10 mg/ポンド体重/日用量の薬液を 14 日間連続投与した。20 匹の処置をした豚は 5 グループ(4 匹/グループ)に分け、管理された環境下で木箱に個々に入れて飼育した。同様に、2 匹の対照群の無処置の豚、雄 1 匹及び雌 1 匹も同じ建物内で個々に木箱に入れて飼育した。

投与期間終了後、処置をした豚は、退薬時間 0 時間、1、3、7 及び 14 日のそれぞれにつき 4 匹ずつ(雄雌 2 匹)安楽死させ臓器を採取し残留量を調べた。対照群である無処置の豚 2 匹とも投薬最終日(退薬時間 0 時間)にと殺し、組織をネオマイシンの測定に用いた。組織中のネオマイシン残留物を円筒平板微生物学的測定法で測定した。

投与、無投与のいずれの豚の筋肉、脂肪及び肝臓組織においてもネオマイシンは検出されなかった。対照群の無処置の豚の腎臓では、1 匹からはネオマイシン残留物は検出できず、もう 1 匹は定量限界以下(<0.5 µg/g)

のネオマイシンが測定された。測定された腎臓のネオマイシンの平均値は、退薬時間 0 時間で 2.174 $\mu\text{g/g}$ 、24 時間で 1.920 $\mu\text{g/g}$ だった。退薬時間 3 日では平均値は 0.958 $\mu\text{g/g}$ だった。退薬時間 7 日目で、1 匹の豚からはネオマイシンは検出できず、2 匹は $<0.5 \mu\text{g/g}$ 、1 匹は 0.991 $\mu\text{g/g}$ となった。退薬時間 14 日目では、3 匹の豚の腎臓でネオマイシン残留物は検出できず、1 匹は 0.906 であった。豚の腎臓におけるネオマイシン濃度を表 2 に示す (Fagerberg,1993)。

雄雌両方を含む 24 匹の豚(処置群 21 匹、対照群 3 匹)にネオマイシン換算で平均 18.5 mg/kg 体重/日を 14 日間投与した。退薬時間 0、5、8、10 又は 14 日の肝臓、筋肉、心臓及び脂肪においてネオマイシンは検出できなかったが、腎臓では退薬時間 0 日で 1.95 $\mu\text{g/g}$ (n=3)、投薬 8 日後には 0.84 $\mu\text{g/g}$ のネオマイシンが認められた。組織の解析には、Barbier らの寒天拡散微生物学的定量法が使われたが、感度限界についての言及はなかった (Barbiers,et.al.,1984)。

家禽(原文 p.63)

ネオマイシン残留物が、4 週齢のブロイラーにネオマイシン 10 mg もしくは 30 mg/kg/日を 7 日間投与して検討された(表皮ブドウ球菌をテスト生物とした微生物学的定量法を用いた検出濃度は 0.05 $\mu\text{g/mL}$ もしくは g)。10 mg/kg/日の投与では、退薬 10 日後の腎臓でネオマイシン残留物が検出された。30 mg/kg/日の投与では、退薬 13 日及び 3 日の腎臓及び肝臓で、それぞれネオマイシンが検出された。

ブロイラー 150 羽に餌 1 kg あたりネオマイシン換算で 319 mg を含む餌を与えた。これはネオマイシン換算で平均 36.7 mg/kg 鳥/日を 7 日間投与されたことになる。投与最終日から、5 日ごとに 10 羽ずつ(雄 5 羽、雌 5 羽)をと殺した。測定法の感度は筋肉に関して 0.45 $\mu\text{g/g}$ 、肝臓に関して 0.75 $\mu\text{g/g}$ だったが、肝臓及び筋肉においてはいずれの退薬時間においてもネオマイシンは検出できなかった (Stass,et.al.,1987a)。

雌鳥 150 羽にネオマイシン換算で 33.2~40.25 mg/kg 体重/日を与えた。卵の残留物試験で必要とされる投与期間は 12 日間だが、代わりに成体に 5~7 日の投与を行った。投薬期間中及び終了後 1 日間隔で 4 日間、50 羽の、雌鳥から卵を収集した。他の 100 羽の卵は処置前及び 14 日の退薬期間中に毎日収集した。ネオマイシンは、いずれの卵からも検出されなかった(検出限界 0.45 $\mu\text{g/g}$) (Strauss,et.al,1987b)。

七面鳥(原文 p.64)

今回の試験において、8 羽の七面鳥(雄雌各 4 羽)にネオマイシン換算で 18.6 mg/kg/日に相当する硫酸ネオマイシン水溶液を強制経口投与した。雄雌 1 羽ずつ、計 2 羽の対照群に試験期間中滅菌水を強制経口投与した。退薬時間 0 及び最終投与後 6 時間に七面鳥をと殺し、対照群及び雄雌 3 羽ずつから測定のため肝臓を採取した。対照群の肝臓からはネオマイシンは検出されず、雌鳥においては定量限界(0.045 μg)以下であった。雄鳥の肝臓中のネオマイシン濃度は 0.16、2.3 及び 5.0 $\mu\text{g/g}$ だった (George,1988)。

組織残留物の分析方法(原文 p.64)

ネオマイシンは6つのカチオンサイトを持つ。自然状態におけるネオマイシンと高分子の結合は主にイオン結合である。この結合は、低 pH もしくは他の高濃度の陽イオンによって分離できる。可食部組織におけるネオマイシンの分析では、高分子との結合を分離する抽出手順が必要となる。

全ての組織におけるネオマイシン濃度は、0.15~1.25 µg/g の検出限界が報告されている表皮ブドウ球菌を用いた円筒平板微生物学的測定法で測定した。この微生物学的測定のネオマイシンに対する特異性は、高温抽出と抽出時間に依って高くなる。多くの抗生物質、特に β-ラクタム は強制的に抽出すると破壊される。しかしその他のアミノグリコシドはネオマイシンの分析を妨げうる (Barbiers, et.al., 1967)。(Food and Drug Administration, USA, 1968)(Official Methods of Analysis, 1984)。

最近の微生物学的方法では、0.06M CaCl₂を加えた 0.1N HCl で抽出を行い、ネオマイシンを高分子から遊離させている。採取した 4 種の動物の組織からの添加回収率は 85~103%と報告されている (Fagerberg, 1993; Ronning, 1993a, 1993b, 1994)。

乳汁中ネオマイシンは高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析できる。乳汁は直接 Amberlite CG-50 イオン交換樹脂カラムを通し、カラム上で保持されるネオマイシンは *o*-フタルアルデヒドで誘導体化される。誘導体化されたネオマイシンはホウ酸カリウム緩衝液/メタノールでカラムから溶離し、HPLC で分析した。蛍光検出器を装着した HISEP HPLC カラムが使用された。検出限界は 50 ng/g である (Agarwal, 1990)。

イオンペア移動相、逆相 ODS カラム、*o*-フタルアルデヒド試薬を用いた後カラム誘導体化及び蛍光検出器を用いた HPLC 法はネオマイシン B 及び C の両方の残留物が測定できる。この方法はネオマイシンに特異的で、検出限界は血漿中で 0.10 µg/g である。検出器の感度は、シグナル/ノイズ比 5 で、ネオマイシン 3.5 ng であった (Shaikh, et.al., 1985)。

牛、羊及び豚の筋肉や、食用の子牛の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪を HPLC で分析するためのスクリーニング法は、イオン結合を壊すためトリクロロ酢酸/エチレンジアミンテトラ酢酸による抽出法を用いている。ネオマイシンの定量限界は筋肉において 50 ng/g であった (Heitzman, R.J., 1994)。

ネオマイシンを分析する際は、上記の液体クロマトグラフィーの移動相を交換することで、保持時間の変化やカラムの頻繁な再生を回避した。検出限界は腎臓で 0.5 µg/g と報告されている。この方法は、食用動物に一般的に使用される他のアミノグリコシドや抗生物質と区別するための特有の方法である。対照群の肝臓、筋肉、乳汁、血漿及び尿におけるネオマイシンを測定するのにこの方法を用いた (Shaikh, 1993)。

牛の腎臓におけるネオマイシン残留物は HPLC/MS/MS により測定及び確認された。この方法は組織抽出に関してマトリックス分散固相法を用いている。ネオマイシンの回収率は 46%、検出限界は 0.25 µg/g であった (McLaughlin, L.G., 1994)。

評価(原文 p.65)

ネオマイシンはヒト及び動物の腸管から吸収されにくく(3%~10%)、乳房からの吸収率は低い。吸収されたネオマイシンは、主に腎臓及び(腎臓よりはいくらか劣るが)肝臓に蓄積する。消化管におけるリン酸化、アデニル化、アセチル化を除いて代謝されない。吸収されたネオマイシンは親化合物として残留する。子牛における¹⁴C標識試験は、生後間もない個体(3~5日齢)を除いて、これらの結論を裏付けるものであった。経口投与したネオマイシンは主として糞便中に排泄された(>90%)。吸収されたネオマイシンは腎臓の糸球体濾過を通して排出された。泌乳牛の乳房内へ投与したネオマイシンは、14日までの腎臓において検出されたネオマイシンによって証明されたように、わずかしこ吸収されない。

ネオマイシンを様々な用量、投与回数で、主に経口投与した飼育動物の報告が数多くされてきた。これらの試験は水溶性のネオマイシンを用いており、可食部組織において残留物の最高濃度を生ずるのではないかと考えられた。

ネオマイシンを用いた組織残留物試験では、親ネオマイシンを残留物のマーカーとして、また最もネオマイシンが蓄積する腎臓のマーカーとして設定した。腎臓はネオマイシン残留物の残留時間も最も長い。これは試験をした全ての動物種において当てはまる。全てのほ乳類において腎臓は標的組織であると考えられている。家禽の腎臓は食用に適さないと言われている。そのため、腎臓以外で唯一ネオマイシン残留物が検出された肝臓が家禽の標的組織である。

牛、豚、鶏及び七面鳥の腎臓における残留物の濃度は、退薬時間0の時点でそれぞれ2.8、2.2、8.4及び5.0 mg/kgであった。退薬時間0の時点の乳汁(経口投与後)及び卵のネオマイシン濃度は、いずれも<0.2 mg/kgであった。羊(退薬1日)及びヤギ(退薬12時間)の腎臓におけるネオマイシン濃度はいずれも1.0 mg/kgであった。退薬14日のアヒルの腎臓におけるネオマイシン濃度は0.89 mg/kgであった。ネオマイシンを乳房内注入投与した乳汁のネオマイシン濃度は退薬48時間で0.22 mg/L、退薬72時間では0.07 mg/Lであった。乳房内注入投与後、退薬14日の腎臓における残留物は5 mg/kg以下であった。

組織において0.5 mg/kg、乳汁において0.2mg/Lの定量限界を持つ適切な微生物学的手法が有効である。定量限界0.1 mg/kgのHPLC及びマススペクトルも有効である。

最大残留基準値(原文 p.65)

残留物試験及び暫定ADI、0~30 µg/kgを基に、暫定MRLが、牛、羊、ヤギ、豚、鶏、七面鳥及びアヒルに関して設定された。

筋肉 500 µg/kg

肝臓 500 µg/kg

腎臓 500 µg/kg

脂肪 500 µg/kg

卵(鶏) 500 µg/kg

乳(牛) 500 µg/L

0~30 µg/kg 体重の ADI は、体重 60 kg の人間が1日に 1800 µg のネオマイシンを摂取できるということである。上記の暫定 MRL 値を用いると、理論上の最大 1 日摂取量は、筋肉(300 g)150 µg、肝臓(100 g)50 µg、腎臓(50 g)250 µg、脂肪(50 g)25 µg、卵(100 g) 50 µg 及び乳汁(1.5 L)750 µg、合計は 1275 µg/日である。

ネオマイシンの毒性試験と結果の概要（評価書:JECFA 1994）

毒性試験に該当する記載なし。

MRL(牛、羊、ヤギ、豚、鶏、七面鳥及びアヒル)

筋肉	肝臓	腎臓	脂肪	卵(鶏)	乳(牛)
500 µg/kg	500 µg/L				

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医療品庁
BP	British Pharmacopoeia	英国薬局方
EP	European Pharmacopoeia	ヨーロッパ薬局方
USP	United States Pharmacopoeia	米国薬局方
ADI	Acceptable Daily Intake	1日摂取許容量
MRL	Maximum Residue Limit	最大残留基準値

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理

JECFA 1994

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v34je07.htm>

FAS 34-JECFA 43/113, 1994

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理 JECFA (1994) 目次

ネオマイシン(原文 p.57)	14
性質(原文 p.57)	14
性質と特性に関するその他の情報(原文 p.57)	14
食品中残留物とその評価(原文 p.58)	15
使用状況(原文 p.58)	15
概要(原文 p.58)	15
用量(原文 p.58)	15
代謝(原文 p.58)	16
薬物動態(原文 p.58)	16
ラット(原文 p.58)	16
牛(原文 p.59)	16
家禽(原文 p.59)	17
食物中及び実験動物における代謝(原文 p.60)	17
牛(原文 p.60)	17
組織残留消失試験(原文 p.60)	17
牛(原文 p.60)	17
乳製品(原文 p.62)	20
羊(原文 p.62)	20
ヤギ(原文 p.63)	21
豚(原文 p.63)	21
家禽(原文 p.63)	22
七面鳥(原文 p.64)	22
組織残留物の分析方法(原文 p.64)	23
評価(原文 p.65)	24
最大残留基準値(原文 p.65)	24
ネオマイシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1994)	26
略称	26

原文 目次

原文ページ

ネオマイシン	57
性質	57
性質と特性に関するその他の情報	57
食品中残留物とその評価	58
使用状況	58
概要	58
用量	58
代謝	58
薬物動態	58
食物中及び実験動物における代謝	60
組織残留消失試験	60
組織残留物の分析方法	64
評価	65
最大残留基準値	65

ネオマイシン

第1稿J.E.M van Koten-Vermeulen and Dr. F.X.R. van Leeuwenにより作成

毒性学研究室

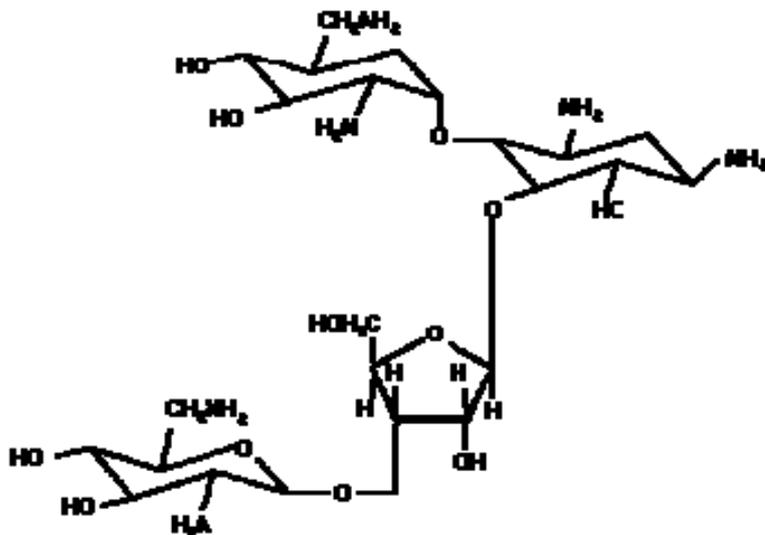
National Institute of Public Health and Environmental Protection

Bilthoven, Netherlands

1. 説明 (原文 p.1)

FAO/WHO合同食品添加物専門家会議の第12回会合にて一日摂取許容量(ADI)が設定されなかった際、アミノグリコシド系としての評価が行われた。十分な毒性及び残留物のデータがなかったため、アミノグリコシドを用いる際にはヒトの食物から検出可能な残留濃度が生じるべきではないとされた。(付属書I, 参照 17). その後、ネオマイシンに特化したデータが発表された。ネオマイシンの構造は図1に示される。

図1 ネオマイシンの構造



2. 生物学的データ (原文 p.1)

2.1 生化学的特徴(原文 p.1)

2.1.1 吸収,分布及び排泄(原文 p.1)

2.1.1.1 モルモット(原文 p.1)

一群4匹の雄モルモット、5、10又は100 mg/kg体重の硫酸ネオマイシンBの単回経口投与を行った。投与の1、2、3及び4時間後、血清が採取された。100 mg/kg体重の投与後、1 時間後と2 時間後に測定した際、ネオマイシン濃度はそれぞれ1.5 及び0.45 µg/mLであった。低用量群及び中用量群では全ての計測時、また高用量群では投与後3 時間と4 時間においてネオマイシンの血清濃度は検出可能レベル(<

0.10 µg/mL)未満であった(Hall *et al.*, 1983)。

2.1.1.2 鶏(原文 p.1)

Lohman種鶏(計14羽、各約2kg)に、20 mg/kg体重のネオマイシンを単回経口投与した。微生物学的測定(検出限界の記載なし)を用いたところ、投与8時間後までに採血された血液検体においてネオマイシンは検出されなかった(Atef *et al.*, 1986)。

5羽のLohman種鶏に20 mg/kg体重のネオマイシンを単回静脈内投与したところ、血中濃度曲線は両側指数的な減少を示し、消失相のTが約6時間、AUCが約196 µg/mL/時であった。14羽の鶏に20 mg/kg体重を単回筋肉内投与したところ、最高血中濃度(C_{max})は約17 µg/mLで最高濃度の平均は投与後40分後に到達した。AUCは、約132 µg/mL/時であった。筋肉内投与における生物学的利用率は約70%であった(Atef *et al.*, 1986)。

22羽のLohman種鶏に20 mg/kg体重のネオマイシンを5日間、1日2回筋肉内投与したところ、1-4日間ネオマイシン濃度は約6 µg/mLにプラトーに維持された。脾臓において投与後3日間、肝臓及び肺において投与後6日間、及び腎臓では投与後10日間ネオマイシンが検出された。(Atef *et al.*, 1986)

2.1.1.3 羊(原文 p.2)

泌乳期Awassi種羊(一群4匹)に単回静脈内投与(20 mg/kg体重)又は単回筋肉内投与(10 mg/kg体重)を行い、血清及び乳汁中のネオマイシン濃度が測定された。ネオマイシンは円筒カップ方法(感受性限界1 µg/mL)を用いて微生物学的測定が行われた。静脈内投与後のT_{1/2}は約3時間であり、分配平衡は20分以内に到達した。筋肉内投与後、1時間で最高濃度に到達した。投与の12時間後には血清中からネオマイシンは検出されなかった。投与から12時間の間に正常、又は炎症を起こした乳腺(投与24時間前に乳房の左側にある乳腺に高張食塩水150 mLを注入)から泌乳された乳汁にはほんのわずかの(投与量の0.01%-0.02%)濃度しか検出されなかった。静脈内投与及び筋肉内投与における乳汁中のネオマイシンのピークは、2 µg/mL未満であった(Ziv & Sulman, 1974)。

2.1.1.4 豚(原文 p.2)

ヨークシャー交雑種(一群6頭)の2群の離乳子豚(10週齢、体重10~15 kg)に22 mg/kg体重/日の硫酸ネオマイシンを5日間連続経口投与した。第1群は、雄3頭と雌3頭、第2群は雄5頭と雌1頭から構成されていた。第2群の豚にはネオマイシンの経口投与に加えて、硫酸ナトリウムを10 g/kg飼料量の割合で飼料に補給した。血清ネオマイシン濃度は投与から96時間後まで測定された。正常の飼料を投与された豚では、ネオマイシンの平均最高血中濃度(約0.2 µg/mL)には投与後4時間で到達した。硫酸ナトリウムを混餌投与された豚については、平均最高血中濃度(約0.1 µg/mL)には投与後8時間及び24時間で到達した(Heath, 1985)。

同著者による別の研究では、6 頭(一群雌雄各3 頭)の10ヵ月齢豚に22 mg/kg体重の硫酸ネオマイシンの単回静脈内投与が行われた。投与1時間後に約30 µg/mLの平均血清中濃度のピークに到達し、その濃度は72 時間後には0.01 µg/mLにまで低下した(Heath, 1985)。

20~50 kgの雌豚12頭に硫酸ネオマイシン(22 mg/kg体重)が単回筋肉内投与された。投与後1時間で約40 µg/mLの平均血清濃度ピークに到達し、72時間後には0.02 µg/mLにまで低下した(Heath, 1985)。

2.1.1.5 牛(原文 p.2)

10頭の子牛(去勢済みホルスタイン種子牛(2~6ヶ月歳、体重80~180 kg)に22 mg/kg体重/日の硫酸ネオマイシンを5 日間経口投与した。投与の96時間後まで血清濃度が測定された。1~96 時間投与期間では、平均血清濃度は0-0.06 µg/mLであった(Heath, 1985)。

10 頭の子牛(去勢済みホルスタイン種子牛(2~6ヶ月歳、体重70~170 kg)に硫酸ネオマイシンを単回静脈内投与(22 mg/kg体重)した。平均血清中濃度のピークは約19 µg/mLで投与後1時間に検出され、投与後72 時間には0.03 µg/mLにまで低下した(Heath, 1985)。

4 頭の子牛(雄ホルスタイン種子牛(3~60日齢)は、30 mg/kg体重の¹⁴C-ネオマイシンを単回経口投与され、96 時間後にと殺された。質量分光光度分析によって排泄物中及び組織中の¹⁴C分布を調べた。ほとんどの放射能は糞(85-97%)から回収された。尿中にみられる放射能は加齢に伴って投与量の11~0.5%に減少した。3 日齢の子牛の腎臓、肝臓、及び筋肉における放射能は、それぞれ55、1.93、及び0.09 ppmネオマイシン当量であった。3日齢子牛の腎臓における¹⁴Cの少なくとも90%はネオマイシンとして存在していた。また全ての子牛の糞に存在する¹⁴Cの70~88%はネオマイシンと同定された(Aschbacher & Feil, 1991, 1994)。

4 頭の子牛(泌乳期Israeli-Friesian種乳牛にネオマイシンを単回筋肉内投与(10 mg/kg体重)し、血清中及び乳汁中のネオマイシンを測定した。ネオマイシンは円筒カップ方法(感受性限界1 µg/mL)を用いて微生物学的に分析された。最高血清中濃度は、1 時間後に到達した。ネオマイシンは投与後12時間には血清中に検出されなかった。投与後12 時間の間に正常、又は炎症を起こした乳腺(投与の24 時間前に乳房の左側にある乳腺に高張食塩水150 mLを注入)から泌乳された乳汁には、ほんのわずかの(投与量の0.016%-0.022%)濃度しか検出されなかった。ネオマイシンの乳汁中の最高濃度は2 µg/mL未満であった(Ziv & Sulman, 1974)。

2.1.1.6 ヒト(原文 p.3)

2 歳齢の女性結核患者に1.5 g/日のネオマイシンが15日間連続で経口投与された。9ヶ月齢の男性

結核患者に200 mg/日のネオマイシンが80日間連続で経口投与された。両患者は粟粒結核及び髄膜結核と診断された。両患者においてネオマイシンの最高血清濃度は約5.0 µg/mLであった。脳脊髄液中濃度は女性患者及び男性患者においてそれぞれ1.25 及び2.5 µg/mLと測定された(Waisbren & Spink, 1950)。

ネオマイシンの経口投与(6 g/日)を3 日間行った患者の血清濃度は検出不可能から ≤ 80 µg/mLであったとPoth *et al.* (1951)は報告している。投与量の大半は変化することなく糞便中に排泄された。投与量の3%しか尿中から回収されなかった。

10 人の健常者(腎臓病又は肝臓病の既往歴のない健康な医師)、肝臓病、消化性潰瘍、限局性腸炎又は活動性潰瘍性大腸炎患者において経口、もしくは直腸投与にて2 gの硫酸ネオマイシンを投与した場合の吸収と排泄が研究された。投与後48 時間におけるネオマイシンの尿中排泄(0.58%)及び血清中濃度は全群及び両投与経路において類似していた。糞中に排泄されたネオマイシン量は経口及び直腸投与で同程度であった(約99%)(Breen *et al.*, 1972)。

2.1.2 生体内変化(原文 p.3)

アミノグリコシド類は動物内で代謝されず(Bevan & Thompson, 1983)、ほとんど未変化のまま排泄される(Aschbacher & Feil, 1994 ; Keen, 1975)。

2.1.3 高分子結合に関する特殊試験

泌乳期のIsraeli-Freisian種牛(2 頭)及びAwassi雌羊(4 頭)は、20 mg/kg体重のネオマイシンを単回静脈内投与又は筋肉内投与された。血清濃度は5-10 µg/mLの範囲にあった。平衡透析及び限外濾過方法で測定した血清蛋白との結合は、牛及び羊においてそれぞれ約45-50%及び50-55%であった(Ziv & Sulman, 1972)。

2.2 毒性試験(原文 p.3)

2.2.1 急性毒性試験 (原文 p.3)

ネオマイシンの経口、静脈内、皮下、又は腹腔内投与後の急性毒性試験の結果は表1にまとめられている。

2.2.2 短期毒性試験 (原文 p.3)

2.2.2.1 ネコ (原文 p.3)

ネコ(一群雌雄各8匹)に、0、6、12又は25 mg/kg体重/日の工業用硫酸ネオマイシンを1年間経口(ゼラチンカプセル)投与した。化学分析により、実際の投与量は意図した用量の72%とされた。臨床症状、聴覚及び前庭機能検査、体重、血液学、血清化学、尿検査、臓器重量、肉眼検査及び組織病理検査が行われた。

試験中に発生した7匹のネコの死亡原因は投与に起因するものではないと考えられた。赤血球数は、最高用量群の雄ネコの26及び52週において有意に減少した。血中尿素窒素濃度は、高用量群の雄の13、26及び52週において有意的に上昇が認められたが、組織病理学的な腎臓損傷所見はなかった。と殺された高用量群の雄ネコにおいてカリウム、塩化物、及びアルカリホスファターゼの減少が見られ、コレステロールは増加していた。全投与群の雄ネコにおいて脾臓及び膵臓の相対的重量は有意に減少していたが、投与量との関連性は認められなかった。高用量群では組織学的な骨髄低形成が見られた(3/6雄及び4/8雌)(Kakuk, 1981)。

表1 ネオマイシンの急性毒性

種	性別	投与経路	物質	純度	LD50 (mg/kg体重)	参考文献
マウス	?	経口	硫酸ネオマイシン	?	約 2250-2500	Swoap, 1952c, d
マウス	雌雄	経口	硫酸ネオマイシンbulk	900 µg/mg	2250-2298	Swoap, 1952f, g, h
マウス	雌雄	経口	硫酸ネオマイシン(樹脂処理からの粉末バルク)	900-1000 µg/mg	>2500	Swoap, 1952b
マウス	?	静脈内	硫酸ネオマイシン	?	40-158	Vander Brook, 1949; Swoap, 1949a,b; 1950a,b,c,d,e,i,j,k; 1951a,b; Cale, 1950; Gray, 1964
マウス	雄	静脈内	硫酸ネオマイシン	?	64.6-107	Brockie, 1951. Cale, 1950. Swoap, 1950f, g, h

マウス	雌雄	静脈内	硫酸ネオマ イシン	?	>50	Swoap, 1953a
マウス	?	静脈内	塩酸ネオマ イシンA	?	97.6	Swoap, 1949a
マウス	雌雄	静脈内	HCH 中 ネ オマイシン	?	74-115	Swoap, 1952a
マウス	?	静脈内	硫酸ネオマ イシンbulk	900 µg/mg	110	Swoap, 1952e
マウス	雌雄	静脈内	硫酸ネオマ イシン(樹脂 処理からの 粉 末バル ク)	910 µg/mg	100	Swoap, 1952b
マウス	?	皮下	硫酸ネオマ イシン	?	550	Vander Brook, 1949; Swoap, 1950c,d,e
マウス	?	皮下	硫酸ネオマ イシン	?	400	Brockie, 1951
マウス	?	皮下	塩酸ネオマ イシンA	?	470	Vander Brook, 1949 (51)
マウス	?	腹腔内	硫酸ネオマ イシン	?	274	Gray, 1964
マウス	雌雄	腹腔内	硫酸ネオマ イシン	690 µg/mg	310-457	Feenstra, 1958a; Swoap, 1957a
マウス	雌雄	腹腔内	硫酸ネオマ イシン B	?	277-389	Swoap, 1954a,b; Shealy, 1956
マウス	雌雄	腹腔内	硫酸ネオマ イシン B	1000 µg/mg	533	Swoap, 1953c; Shealy, 1956
マウス	雌雄	腹腔内	硫酸ネオマ イシンPoを 混 ぜ た USP	690 µg/mg	356	Swoap, 1958
マウス	雌雄	腹腔内	硫酸ネオマ イシンbulk	658 µg/mg	248	Feenstra, 1959

2.2.3 長期毒性/発がん性試験(原文 p.4)

2.2.3.1 ラット(原文 p.4)

8 群のSprague-Dawley (SD)BR F_{1a}離乳ラット(雌雄各4群、一群54-56匹)にと殺まで0、6.25、12.5又は25 mg/kg体重/日の硫酸ネオマイシンを混餌投与した。この試験動物は同レベルのネオマイシンを11週間混餌投与されたF₀世代を交配させた子世代である(2.2.4参照)。52週間後、一群雄雌各10匹のラットがと殺され、検査された。全雄群は対照群の生存率が20%となった104週にと殺された。雌における生存率が20%になった時に生存していた雌はと殺された(27~30ヶ月)。対照群及び高用量群の雄及び雌ラットは、臨床症状、体重、摂餌量、血液学、臨床化学、尿検査、眼科検査、聴覚及び前庭機能検査、臓器重量及び組織病理学的検査が行われた。

前庭及び聴覚機能の影響を評価するため、追加群(雌雄各6匹、繁殖試験の対照群の離乳子)に100 mg/kg体重/日の硫酸ネオマイシンを皮下投与した。聴覚試験及び前庭機能試験は、試験終了まで毎週行われた。全ラットで難聴が確認された時(14週)にと殺された。内耳の組織は保管されているが組織病理学的検査は実施されなかった。

84週までの雄雌の生存率はそれぞれ約84%及び92%であった。試験の終盤では全群において高死亡率(0、6.5、12.5又は25 mg/kg体重/日投与量においてそれぞれ雄において33/44、27/45、29/46及び30/45、雌においては33/46、34/45、34/44及び35/45)が認められた。試験の最初の3週間においては雌において用量依存的な体重増加が見られた。統計学的な有意差はなかったものの、25 mg/kg体重/日投与群のラットの3/15で試験の最後に難聴が認められた。検査された他の項目については投与に起因する影響はみられなかった。発がん性の証拠は見当たらなかった。無作用量(NOEL)は、12.5 mg/kg体重/日であった(Kakuk, 1982)。

2.2.4 繁殖毒性試験(原文 p.5)

2.2.4.1 ラット(原文 p.5)

Sprague-Dawley系(SD)の3世代繁殖毒性試験では、ラット(一群雌雄各40-20匹)に0、6.25、12.5又は25 mg/kg体重/日の硫酸ネオマイシンを混餌投与した。11週間後、F₀世代ラットを交配させ、F_{1a}れ生成した。2.2.3で説明されているように、このF_{1a}世代も硫酸ネオマイシン投与が生進行われた。F₀世代ラットは再び交配され、繁殖試験に使用(F_{3b}まで)されるF_{1b}世代が生成された。全ての世代において検査された項目について、投与に関連した影響は見られなかった。無作用量(NOEL)は、25 mg/kg体重/日であった(Kakuk, 1980)。

2.2.5 胚・胎児毒性及び催奇形性試験(原文 p.5)

2.2.5.1 ラット (原文 p.5)

妊娠したSprague-Dawley系(SD)BRラット(生殖毒性試験からのF2b雌) 20匹に、0、6.25、12.5又は25 mg/kg体重/日(第2.2.4節参照)の投与が行われた。妊娠6-15日では用量は0、62.5、125又は250 mg/kg体重/日に増量された。妊娠16-20日には元の0、6.25、12.5又は25 mg/kg体重/日に戻された。母動物は妊娠20日目にと殺された。母動物毒性、胎児毒性、又は催奇形性は認められなかった(Kakuk, 1980)。

2.2.6 遺伝毒性試験 (原文 p.5)

ネオマイシンに関する遺伝毒性試験の結果は表2に要約する。

2.2.7 腎毒性試験 (原文 p.5)

2.2.7.1 マウス (原文 p.5)

一群10匹のマウスに14日間に亘って0、30、100、300、600又は1000 mg/kg体重/日のネオマイシンA(ネアミン)、ネオマイシンB又はネオマイシンCを投与した。2つの最高用量を投与されたマウスは14日間生存することはできなかった。1000 mg/kg体重/日ネアミン投与群の中の2匹は死亡した。腎臓の組織病理学的検査を実施した。病変部の指標から腎毒性の重篤度を決定した。ネオマイシンBとネオマイシンCの腎毒性は同程度であった。他のネオマイシン投与群に対してネアミン投与群において認められた腎毒性は約50%であった(Feenstra, 1954)。

2.2.7.2 モルモット (原文 p.5)

モルモット(一群雌雄各3匹)は、10、20又は60 mg/kg体重/日の硫酸ネオマイシンを3ヶ月間投与された(投与経路不明)。雌1匹が対照として飼育された。組織病理学検査によると変性及び壊死が関連した亜急性から慢性の巣状性間質性腎炎が全ての用量で観察され、その重症度は投与量依存的であった。

表2 ネオマイシンの遺伝毒性試験結果

試験	試験対象	濃度	結果	参考文献
<i>in vitro</i>				
染色体異常試験	ヒトリンパ球	20, 40 及び 80µg/mL	陽性a, b	Jaju <i>et al.</i>
SCE試験	ヒトリンパ球	20, 40 及び 80µg/mL	陰性b	Jaju <i>et al.</i>
<i>in vivo</i>				
細胞遺伝学的試験	マウス骨髄	50 mg/kg体重	陽性b, c	Manna&Bardhan, 1973

- a 細胞周期の進行を顕著に抑制する用量を投与した場合。
- b 陽性対照群は用いられなかった。
- c この試験は現在の基準を満たしていない。12の固定時間における結果が6群に統合されており、また、実験動物の性別や数が記載されていない。有糸分裂の頻度が減少したため、ネオマイシンが骨髄に達したと結論付けられた。

2.2.7.3 イヌ (原文 p.6)

6頭のイヌ(一群3頭)に20又は60 mg/kg体重/日の硫酸ネオマイシンを88日間投与した(投与経路記載なし)。高用量群の3頭は全て14、16、及び21日目に死亡した。低用量群の1頭のみ生存し、2頭は21及び45日目に死亡した。投与開始前後から全てのイヌの尿を採取し、アルブミン、血尿、及び尿円柱の存在を調べた。腎臓の組織病理検査では6頭全てにおいて変性、壊死及び巣状間質性腎炎が見られた(Feenstra, 1950)。

12頭のイヌに24、48又は96 mg/kg体重/日のネオマイシンを筋肉内投与した。最高用量群においては全てのイヌが1-3週間の間に死亡した。血中尿素窒素は増加し、フェノールスルホンフタレイン排泄の減少から腎機能障害が示唆された。腎臓の組織病理検査においては、近位尿細管の顕著な上皮壊死から尿細管障害が明らかになった。骨髄の中程度変化や肝臓の顕著な鬱血も認められた。注射部位の炎症も観察された。中用量投与の重症度は中程度であった。24 mg/kg体重/日投与群のイヌは1ヶ月後にと殺され、検査された。腎臓には粒状度の増加や脱落上皮が最も見られ、この群における腎障害の重症度は軽度と判断された(Nelson et al., 1951)。

ネオマイシン100 mg/kg体重/日を6週間経口投与されたイヌ(一群の頭数及び性別記載なし)では、尿検査と肉眼及び組織病理検査では腎障害が認められなかった。また、その他の異常も観察されなかった(Poth et al., 1951)。

2.2.8 耳毒性に関する特殊試験 (原文 p.6)

2.2.8.1 モルモット (原文 p.6)

一群3匹のモルモットにネオマイシン25、50、100又は150 mg/kg体重/日を30~60週間筋肉内投与した。前庭機能、聴覚機能(プライヤー反射)、及び内耳迷路と中枢神経の評価を行った。

高用量群の1匹は22日目に死亡した。全投与群において前庭機能は正常、もしくは軽度の機能低下

しかみられず、また投与との関連性も報告されなかった。100及び150 mg/kg体重/日投与群の全てのモルモットにおいてプライヤー反射の消失が確認された。プライヤー反射の消失が認められた固体について組織病理学的検査を行ったところ、内耳の有毛細胞の顕著な破壊が見られ、またコルチ器の完全な破壊がみられたものもあった。正常な聴覚を維持した個体においては蝸牛、稜部(cristae)、及び聴斑は正常であった。聴覚が消失した固体では可逆及び不可逆の神経節細胞変性が確認されたが、聴覚が正常な固体では組織学的変化は確認できなかった(Riskaer et al., 1956)。

モルモット18匹の中耳に3 mg/kg体重のネオマイシンを投与したところ、聴覚に影響はなかった(聴力検査によって判断)。18匹中6匹は投与のために片方又は両方の鼓膜を穿孔させた(Riskaer et al., 1956)。

モルモット(一群雌雄各50匹)に硫酸ネオマイシンB 0、1、5又は10 mg/kg体重/日を90日間投与した。2つの陽性対照群(一群雌雄各20匹)は10又は100 mg/kg体重/日をそれぞれ90日又は34日間投与された。臨床症状、体重、聴覚機能試験(プライヤー耳介反射)、剖検及び組織病理学検査(コルチ器の有毛細胞の損失を調べるための蝸牛を含む)が行われた。

100 mg/kg体重/日を筋肉内投与した場合、プライヤー耳介反射の閾値や蝸牛有毛細胞数に耳毒性変化が確認された。このような変化は、筋肉内投与の低用量群あるいは経口投与のいずれの投与群でも見られなかった。経口投与された際の無作用量(NOEL)は、10 mg/kg体重/日であった(Brummett et al., 1985)。

2.2.8.2 ネコ (原文 p.7)

ネオマイシン治療薬(大部分が硫酸ネオマイシンB)、塩酸ネオマイシンA、及び硫酸ネオマイシンBをネコ(一群の性別、頭数記載なし)に80 mg/kg体重/日で5-15日間筋肉内投与した。加えて、治療薬は、20、40又は100 mg/kg体重/日をそれぞれ90、60、及び30日間筋肉内投与された。粗製ネオマイシン(純度およそ70%)は、500 mg/kg体重(1 g/固体/日)の用量で30日間、1日2回経口投与された。前庭機能は固体を電動のターンテーブルで回転させて眼振を誘発させ、それを電氣的に記録した。聴覚も検査され、蝸牛機能は電気物理的に調べられた。全てのネコの腎臓の組織病理学的検査が行われた。

前庭機能への影響は、治療薬の最高用量(100 mg/kg体重/日)を30日間投与されたネコでのみ確認された。この群の1匹は眼振が徐々に低下し、最終投与から5日経過した35日目には完全に消失した。全群のネコにおいて蝸牛機能の低下が確認され、その中でも治療薬を筋肉内投与されたネコが最も重度であった。また、コルチ器の外有毛細胞及び内有毛細胞の変性も認められた。尿細管上皮における用量比例性の損傷が治療薬を筋肉内投与されたネコと粗ネオマイシンを経口投与されたネコで認められた(Hawkins, 1952; Hawkins et al., 1953)。

ネオマイシン0、6.25、12.5又は25 mg/kg体重/日をそれぞれ5、8、3及び4匹のネコに1年間経口投

与し、耳毒性を調べた。聴覚及び前庭の機能障害は立証されなかった。コルチ器の表面を調べた(cytocochleogram)ところ、蝸牛の基底回転(basal turn)最下部にある外有毛細胞の消失として耳毒性が確認された。高用量群のネコの3/4で重度の耳毒性が認められた。それに比べると軽度ではあるが、低用量群及び中用量群ではそれぞれ7/8及び1/3のネコで有毛細胞の減少が確認された(Kakuk, 1981)。組織学検査手順の不手際や明確な用量依存的変化がみられなかったことから、委員会ではこの試験はネオマイシンの安全性評価を行うには不十分であるとした。

2.2.9 刺激性及び感作試験 (原文 p.7)

モルモット(一群3-4匹)に1 mLの硫酸ネオマイシン(0-100 mg/mL)を単回胸腔内投与したところ、24時間では顕著な刺激性は確認されなかった(Swoap, 1951c)。

ネオマイシン感受性モルモット9匹にパッチテストを行い、カナマイシン、ストレプトマイシン、ジヒドロストレプトマイシン及びバシトリン(bacitrim)に対する交差感受性を検査した。カナマイシン(1/9例)及びストレプトマイシン(8/9例)で陽性結果が認められた(Epstein & Wenzel, 1962)。

2.2.10 微生物学的影響の特殊試験 (原文 p.7)

ネオマイシンは、ほとんどのグラム陽性及びグラム陰性桿菌、多数のグラム陽性球菌及び *Mycobacterium tuberculosis* のような抗酸性病原菌などに効果的である。

ネオマイシンは静電気引力によって原核細胞の30Sリボソームサブユニットと反応してリボソーム結合タンパク質の構造を変化させる。これによってmRNAの読み取りに間違いが発生したり、タンパク質合成が阻害されたりする。

2.2.10.1 試験管内 (原文 p.7)

動物又はヒトから分離された菌株の最小発育阻止濃度(MIC)は、それぞれ表3及び4に記載されている。

主としてヒトから分離された様々な属の菌株の硫酸ネオマイシンに対する感受性が検査された。MIC値は、Wilkins Chalgren/グルコース培地(WCG)及び血液添加培地(SB)の2種類の培地に2つの接種濃度の菌を培養して予測された。推定は嫌気的条件及び好気的条件(*E. coli*)下の寒天希釈法により行われた。表5に結果を示した(Thurn et al., 1994)。

イヌの糞便へのネオマイシンの吸着は、希釈したイヌの糞の懸濁液に加えたネオマイシン量と、混合液をインキュベートして遠心分離した後の上清から測定した量(微生物学的検査)の差から計算された。約75%のネオマイシンの吸着が認められた。酸抽出を行った後でも、添加したネオマイシンの約47%は依然と

して糞便に吸着していた(Wagman et al., 1974)。

ヒトの糞便へのネオマイシンの吸着は、複数のネオマイシン濃度から評価された。糞便検体は、8人の健常ボランティアから得た。ネオマイシンの糞便への結合は希釈した混濁液に添加したネオマイシンの量と、混合液を1時間インキュベートした後に遠心分離した際の上清に含まれる量(微生物学的検査)の差から計算した。約83-98%の糞便への吸着が確認された(Hazenberg et al., 1983b, 1984)。

ネオマイシン溶液約 0.1-30 mg/mLと8人の健常ボランティアの糞便懸濁液を混合した。上清に残っているネオマイシンの抗菌活性(*Enterobacter cloacae*で検査)がを測定し、添加したネオマイシンに対する「不活化%」を計算した。添加したネオマイシンのうち不活化されたものの割合はネオマイシンの濃度増加に伴って減少した。≤5 mgネオマイシンに対して1g湿重量の糞便が混合液に含まれた場合、約100%のネオマイシンが吸着により不活化した(Veringa&Van der Waaij, 1984)。

2.2.10.2 生体内 (原文 p.8)

健常雑種犬37頭(400 mg/日を2、4又は10日間)及び健常者24人(6 g/日を1又は3日間)に経口投与したところ、両種において糞便中の大腸菌群の顕著な減少、又は完全消失が24-48時間で発生した。ネオマイシン400 mg/日を10日間投与したイヌの4/10例で、投与5-6日目に耐性*E. coli*が発生した。この研究においてネオマイシンを投与されたヒトからは耐性*E. coli*は分離されなかった(Schweinburg et al., 1952)。

ヒト細菌叢結合(Human flora associated)(HFA)マウス(無菌マウスにヒトの糞便懸濁液からの細菌を定着させたもの)にネオマイシン1、2、3又は4g/Lのを飲水投与した。糞便検体は投与から0、1、3、5、7、14、21、28及び35日目において培養された。対照群のHFAマウスにはネオマイシンは投与されなかった。ネオマイシン1 g/Lを飲水投与したマウスでは偏性嫌気性菌、グラム陰性偏性嫌気性菌、*E. coli*、及び*Enterococci*の数は35日間変化しなかった。2又は3 g/Lのネオマイシン投与群では*E. coli*及び*Enterococci*は消失し、グラム陰性偏性嫌気性菌の割合は増加した。この試験における無毒性量(NOEL)は、1g/Lであり、これは125 mg/kg体重/日と同等であった(Hazenberg et al., 1983a)。

表3 動物から分離された細菌のMIC値

種	株数	MIC($\mu\text{g/mL}$)の平均又は範囲	MIC50	参考文献
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.5		Moellering, 1983
<i>Escherichia coli</i>		8.0		
<i>Klebsiella pneumonia</i>		2.0		
<i>Proteus mirabilis</i>		8.0		
<i>Proteus morgani</i>		8.0		
<i>Proteus rettgeri</i>		8.0		
<i>Proteus vulgaris</i>		4.0		
<i>Escherichia coli</i> (子牛)			16	Hewett, 1990
<i>Escherichia coli</i> (豚)			16	
<i>Escherichia coli</i> (鶏)			1	
<i>Salmonella sp.</i> (子牛)			1	
<i>Salmonella sp.</i> (豚)			0.5	
<i>Bacteroides nodosus</i>	68	16 - >256	≥ 256	Duran et al., 1991
<i>Bacteroides putredinis</i>	36	16 - >256	128	
<i>Bacteroides buccae</i>	16	2 - ≥ 256	128	
<i>Bacteroides sp.</i>	21	8 - ≥ 256	≥ 256	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	10	16 - >256	128	
<i>Fusobacterium sp.</i>	19	2 - ≥ 256	128	
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	35	<0.06 - >256	64	Piriz et al., 1992

表4. ヒトから分離された最近のMIC値

種	株数	MIC($\mu\text{g}/\text{mL}$)の平均又は範囲	参考文献
<i>Escherichia coli</i>	10	0.25-12.5	Schweinberg et al., 1952
<i>Enterococci</i>	5	3.2-15	
<i>Sphaerophorus necrophorus</i>	7	200-1600	Finegold et al., 1967
<i>Bacteroides fragilis</i>	55	1600- \geq 25600	
<i>Bacteroides melaninogenicus</i>	20	<100-400	
<i>Bacteroides oralis</i>	16	<100-400	
<i>Fusobacterium sp.</i>	22	100-3200	
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	11	12.5-400	Miller & Finegold, 1967
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	5	400-1600	
<i>Bifidobacterium Longum</i>	11	200-1600	
<i>Bifidobacterium sp.</i>	6	200-1600	
<i>Clostridium novyi Type A</i>	16	32-512	Dornbusch et al., 1975
<i>Clostridium novyi Type B</i>	7	64-512	
<i>Clostridium bifermentans</i>	9	64	
<i>Clostridium sordellii</i>	6	64	
<i>Clostridium sporogenes</i>	18	32-512	
<i>Propionicum agnes</i>	38	6.25-25	Hoeffler&Pulverer, 1976
<i>Escherichia coli</i>	2	16	Hazenberget al., 1983b
<i>Escherichia coli</i>	3	1-32	Hazenberget al., 1984

表5 異なる培地及び接種密度におけるMIC値

細菌種、属	菌株	MIC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)a			
		低密度 b		高密度c	
		SB d	WCG d	SB d	WCG d
<i>Bacteroides</i>	15e,f	>128	>128	>128	>128
<i>Bifidobacterium</i>	12e		16		128
<i>Clostridium</i>	11e, 5f	>128	128		>128
<i>Enterococcus</i>	10e, 2f	>128	128	>128	>128
<i>Escherichia</i>	13e		16		64
<i>Escherichia</i> -好気性	13e		>128		>128
<i>Eubacterium</i> -嫌気性	9e		8		>128
<i>Fusobacterium</i>	5e, 3f	16	32	>128	128
<i>Lactobacillus</i>	15e, 2f	>128	32	>128	64
<i>Peptostreptococcus/Peptococcus</i>	16e, 14f	>128	32	>128	128

a MIC₅₀値は、この試験に含まれる複数株のものである。

- b 低密度接種の細胞濃度は約 1×10^8 cells/mLであった。
- c 高密度接種の細胞濃度は約 1×10^{10} cells/mLであった。
- d SB =血液添加培地. WCG = Wilkins-Chalgren/グルコース培地
- e WCGのMIC値の最終的な値を計算するのに使われた株の数
- f SBのMIC値の最終的な値を計算するのに使われた株の数

2.2.10.3 工業食品加工に用いられる微生物への影響

エメンタルチーズ及びその関連チーズを製造する際に用いられる*Propionobacterium sp.*の30株では、30 µg/ディスクのネオマイシンには耐性が認められなかったが、5 µg/ディスクでは中等度の感受性が認められた(8/30株は耐性菌であった) (Reddy et al., 1973)。

中温性乳酸産生*Streptococci*, *Enterococci*, *Lactobacilli*, *Leuconostoc*, *Staphylococci*, 及びその他の乳製品及び食品関連細菌の42株では、ネオマイシン5 及び30 µg /ディスクに対する感受性試験が行われた。Elliker乳酸寒天が培地として使用され、各菌の培養条件に適した温度及び時間のインキュベーションを行った。

連鎖球菌(*S. lactis*, *S. cremoris*, *S. diacetylactis*及び*S. thermophilus*)の一次培養のほとんど及び*Lactobacillus bulgaricus*はネオマイシン感受性であった。*S. Faecalis*の菌株は、5及び30 µg/ディスクのネオマイシンに耐性であった(Reinbold & Reddy, 1974)。

別の試験では*Lactobacillus bulgaricus*の24/29株及び検査された*S. thermophilus*の15株全てにおいて、ネオマイシン5µg/ディスクに対する耐性が確認された。耐性試験は市販されている感受性ディスクを使用して行われた(Sozzi & Smiley, 1980)。

発酵乳製品生産に使用される細菌の一次培養に対する乳汁残留ネオマイシンの効果について試験した。乳汁検体に4 又は40 µg/mLのネオマイシンを混合し、それを抗生物質が入っていない乳汁で0.063-4 µg/mLに希釈した。微生物学的円筒平板試験で計測された実際の濃度は< 0.20-3.12 µg/mL (検出限界: 0.20 µg/mL)であった。一次培養は*Lactobacillus lactis spp.*と*spp. cremoris*を含んだバターミルク/サワークリーム培養又は乳酸産生菌と酢酸発酵菌の混合、2種の*Streptococcus thermophilus*を含んだイタリアチーズ培養、*Lactobacillus helveticus*を含んだ別のイタリアチーズ、また*Streptococcus thermophilus*と*Lactobacillus debruckii spp. Bulgaricus*を含んだヨーグルト培養がある。「時間対凝固」の比率が2より大きい場合、ネオマイシンにより阻害されていると示唆された。ネオマイシン濃度4 µg/mL (3.12 µg/mLと同量)のヨーグルト種培養のみが影響を受けた(Hallberg et al., 1994)。

2.3 ヒトの観察所見 (原文 p.11)

2.3.1 腎臓毒性 (原文 p.11)

63 人の患者(9ヶ月齢~63 歳まで(22 名が>60歳)の男性34 名、女性29 名)におけるネオマイシン治療の臨床研究が行われた。腎毒性及び耳毒性の副作用が発生した患者が報告された。連続的に尿検査が行われた32 人中24 人でネオマイシン治療中又は直後に顆粒円柱が観察された(Waisbren & Spink, 1959)。

ネオマイシンが筋肉内投与された患者の数例の剖検の際、重度の尿細管障害が認められたとPowellとHooker(1956)は報告している。

ネオマイシンの減量経口投与(9.4-1.5 g/日、11日間で計46 g)を行うと、急性腎不全を引き起こす(Greenberg & Momary, 1965)。

2.3.2 耳毒性 (原文 p.11)

ネオマイシン1.5-2 g/日を最長9日間投与した患者にオーディオグラムや前庭機能検査を行うことにより、耳毒性を観察した。難聴は5 例で報告され、前庭機能低下は2例で報告された(Waisbren & Spink, 1950)。

高用量(計18~633 g)のネオマイシンを経口投与した患者(期間記載なし)では内耳の組織病理変化を伴った難聴が確認された(Lindsay et al., 1960; Halpern & Heller, 1961; Greenberg & Momary, 1965)。

1歳齢の女児腸炎患者に10 日間ネオマイシン含薬を投与したところ、重度難聴に陥った。ネオマイシンの総投与量は2 g未満であった(King, 1962)。

75歳の女性患者に2ヶ月間ネオマイシン溶液で結腸洗浄及び直腸洗浄を行った際に重度の難聴が発生した。当初は5%溶液を用いたが、その後治療の大半は1%溶液に減量された。投与されたネオマイシンの総量は>900 gと推定された。この患者は投与前から聴覚欠損はあったものの、補聴器は必要としていなかった(Fields, 1964)。

2.3.3 過敏症 (原文 p.11)

皮膚感染の治療にネオマイシンを投与した675例の調査から、ネオマイシンの感作指数は非常に低いとされた(Kile et al., 1952)。しかし、ネオマイシンとの接触性皮膚炎(例:点耳薬や点眼薬)は表皮感受性としてではなく、真皮遅延型(dermal delayed)(ツベルクリン型)として報告された(Epstein, 1956; Calnan&Sarkany, 1958)。ネオマイシン感受性患者の55-75%で、アトピー(抗原刺激に対する過剰な免疫応答を引き起こす遺伝子的疾病素因)が報告された(Epstein, 1956)。

ネオマイシン感受性の患者で21種の抗生物質のパッチテストを行ったところ、バシトラシン(80%)、フラマイセチン(91%)、パロモマイシン(99%まで)及びカナマイシン(61%)との交差感受性が報告された(Pirila & Rouhunkoski, 1962)。ストレプトマイシン感作された患者に対するネオマイシン交差感作も記載されていたが、それとは正反対の結果がストレプトマイシン感受性患者におけるネオマイシン感受性で出ている(Sidi et al., 1958; Calnan & Sarkany, 1958)。

以前ネオマイシン点耳薬に良性反応を示した患者にネオマイシン含有点耳薬(蒸留水中5 mg/mL)を使用したところ、外耳炎の急性悪化症状を発症した(Bear & Ludwig, 1952)。

2.3.4 吸収不良症候群に関する特殊試験 (原文 p.12)

ネオマイシン(4-12g/日)を最低4日間投与された患者の11/12人の生検標本では、特発性脂肪便症に類似しているが軽度の空腸粘膜の形態学的変化が観察された。最終投与から18日後には形態は正常に戻った(Jacobson et al., 1960)。

ネオマイシン4-6 g/日を6-8日間経口投与したところ、カロチンを補給(10 000 units/日)していたにも関わらず6/8人の患者で血漿カロチン濃度の減少が見られた。さらに、尿中のd-キシロース排泄も3/4人の患者で抑制された。投与期間中、1人の患者で糞便中の脂肪排泄が2倍になった(Jacobson & Faloon, 1961)。

硫酸ネオマイシンは経口(12 g/日、4日間)、及び11症例では空腸と結腸にチューブを直接設置する強制投与が行われた。尿及び糞便は脂肪、カルシウム、ナトリウム、カリウム及び窒素含量について評価された。経口投与では脂肪便症が発生したが、抹消に投与されると糞便中の脂肪は減少した。尿中カルシウム、ナトリウム及びカリウム濃度は経口投与の場合が最も低値であった。経口投与では糞便中のナトリウム、カリウム及び窒素濃度はほとんど影響を受けなかったが、一方、糞便中のカルシウムは空腸投与において最も高値を示した。脂肪便症は胆汁酸塩、重炭酸ナトリウム又は胰酵素の投与では解消されなかった(Gordon et al., 1968)。

3人の健常成人男性に硫酸ネオマイシン8 g/日を7日間投与した。投与3日目には乳糖吸収不良が誘発された。投与7日目の小腸生検標本では軽度な粘膜絨毛の鈍化や二糖類分解酵素活性の減少が見られた。基底膜は形質細胞及び好酸球に浸潤されていた。投与中止から10日-14日目には酵素活性及び小腸の粘膜と基底膜の組織像も正常に戻った。投与と関連する糞便中の乳酸の変化は見られなかった(Cain et al., 1968)。

2.3.5 微生物作用に関する特殊試験 (原文 p.12)

様々な腸管病変を持つ入院患者37人の研究から、経口ネオマイシン投与の腸管細菌への影響が調べられた。手術前のネオマイシン投与体制(投与期間記載なし)は次のようである: 1日4回1.5 g; 1日3回

2 g;又は初日の4回までは1時間おき1 g、その後は1日4回1.5 g。ネオマイシン投与後の臨床所見は吐き気及び嘔吐のみであった。1日4回1.5 g(30 mg/kg体重/日)投与された患者の糞便検体では好気性菌のほとんど(*E. coli*, *A. aerogenes*, *S. faecalis*, *Proteus*及び*Pseudomonas*)は1-4日目には消失したが、嫌気性菌(*Bacteroides*と*Clostridium*)は残存した。*Mycrococcus pyopogenes*の耐性菌は発見されなかった。1日3回2 gを投与された患者でも類似した結果がみられた。初日の4回までは1時間おきに1 g、その後は1日4回1.5 gを投与された患者では、2-3日の間に好気性菌は腸管から消失したが、嫌気性菌(*Bacteroides*と*Clostridium*)は残存していた(Deering & Needham, 1953)。

胃腸病以外の理由で入院していた14人の患者でネオマイシン投与前後の腸内細菌叢が調べられた。4人はネオマイシン4 gを7日間経口投与され、10人は6日間2 gを投与された。投与前、投与中、及び投与後の糞便中の細菌を計算した。全ての細菌株について抑制がみられた。影響は*Enterococci*で最も顕著で、次いで*E. coli*、非乳酸発酵菌、*Lactobacilli*、*Clostridium*、*Proteus sp.*に影響がみられた。酵母及び*Klebsiellae*では増加がみられた(Daikos et al., 1968)。

7人の健常成人ボランティアに1 gのネオマイシンを1日3回、5日間経口投与した(50 mg/kg体重/日と当量)。新鮮な糞便を投与前、投与中、投与後に採取し、細菌数を記録した。ネオマイシン投与は*Bacteroides*及び*Clostridium*には影響を及ぼさなかった。2/7人のボランティアで顕著な*E. coli*抑制が見られた。

3. コメント (原文 p.12)

委員会では薬物動態、急性毒性、短期及び長期毒性、生殖及び発生毒性、遺伝毒性及び発がん性、ヒトに対する影響及び抗生物質活性のデータを検討した。獣医用医薬品で要求される評価報告書も提示している(Annex 1、参照104)。

ネオマイシンは経口投与では吸収性が悪いが、非経口的に投与されると容易に体内に吸収され利用され得る。子牛での経口吸収は年齢によって1-11%であるとされた。ヒトでは経口投与量の最高3%が尿中に排泄されており、吸収性の低さを示唆している。牛と雌羊において血中ネオマイシンの45-55%が血漿蛋白に結合し、それ以外が非解離型として存在しており、組織バリアを超えることができる。経口投与後は大部分が変化することなく糞便中に排泄される。非経口投与の場合、ネオマイシンは尿中に排泄される。

マウスにネオマイシンを単回経口投与した場合は、軽度の毒性(半数致死量(LD50)= 2250 mg/kg体重)であったが、マウスに単回静脈内投与した場合は重度の毒性(LD50< 100mg/kg体重)が観察された。

マウスにネオマイシン30-300 mg/kg体重/日を反復皮下投与した場合、モルモットに硫酸ネオマイシン10-60 mg/kg体重/日を反復皮下投与した場合、及びイヌにネオマイシン24-96 mg/kg体重/日を反復筋肉内投与した場合に、腎毒性が観察された。100 mg/kg体重/日を6週間経口投与されたイヌでは、腎臓損傷は見られなかった。耳毒性は非経口にモルモットにネオマイシン25-150 mg/kg体重/日を投与した場合、

及びネコに20-80 mg/kg体重/日を投与した場合で観察された。最高10 mg/kg体重/日の硫酸ネオマイシンを90日間経口投与されたモルモットでは、耳毒性は認められなかった。ネオマイシン6.25、12.5又は25 mg/kg体重/日を1年間経口投与されたネコでは聴覚に変化は認められなかったが、全投与量でコルチ器の組織病理学的変化がみられた。

1年間の研究で低用量(6.25 mg/kg体重/日)群のネコにおいて耳毒性が確認されたもののが、組織標本手順の不手際や明確な用量依存効果がみられなかったことから、この研究はネオマイシンの安全性評価には不十分であると委員会は結論した。しかし、モルモットの耳毒性研究から硫酸ネオマイシンのNOELは10 mg/kg体重/日(ネオマイシン6 mg/kg体重/日と同量)と確定された。

変異原性試験は数が少なく、また不十分なものしかない。存在する*in vitro*変異原性試験では、ネオマイシンは染色体異常を引き起こすことが明らかになった。

ネオマイシンの最高25mg/kg体重/日を経口投与されたラットの2年間毒性/発がん性試験では腫瘍発生頻度の増加はみられなかった。高用量群の雄では軽度の(しかし統計学的有意差のない)聴覚障害しか観察されなかった。委員会は、この聴覚障害を投与に起因すると考え、NOELは12.5 mg/kg体重/日と設定した。

ラットの多世代繁殖毒性試験において、最高投与量25 mg/kg体重/日のネオマイシンを経口投与したところ、いずれの繁殖試験項目においても影響は認められなかった。繁殖毒性試験のF2b雌ラットを用いて慣例的ではない方法で催奇形性試験が行われた。妊娠0-6日目及び16-20日目の期間において、0、6.25、12.5又は25 mg/kg体重/日のネオマイシンが混餌投与された。妊娠6-15日目には投与量が62.5、125又は250 mg/kg体重/日に増加された。奇形、胎児毒性、及び母体毒性は認められなかった。

ヒトでは、治療目的で使用されたネオマイシンの過敏症による皮膚反応が観察されている。治療的な経口投与後の腎毒性及び耳毒性がヒトで確認されている。

複数の細菌(大部分はヒトから分離された)の*in vitro*微生物学的試験から、高接種濃度下におけるほとんどの感受性細菌(*E. coli*及び*Lactobacillus spp.*)のMIC₅₀は64 µg/mLと設定された。ヒト細菌腸叢結合(Human-flora-associated) (HFA) マウスにおいて、抗菌活性のNOELは125 mg/kg体重/日とされた。ヒトの患者の腸内細菌叢に対するネオマイシンの効果から、>30 mg/kg体重/日の投与量で効果があることが明らかになった。

第38回委員会で設定された計算式(Annex 1, 参照 97)から、抗菌活性に基づいた一日摂取許容量(ADI)は以下のように計算できる:

$$\text{ADIの上限} = \frac{\text{ヒト腸内細菌叢に対するADIの影響を除外した濃度}(\mu\text{g/mL})\text{a} \times \text{1日分の糞便塊}}{\text{利用可能な経口投与量の割合b} \times \text{安全係数c} \times \text{ヒトの体重(60kg)}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{64 \times 150}{1 \times 1 \times 60} \\ &= 160 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

- a 高接種濃度下におけるほとんどの感受性細菌のMIC₅₀は64 $\mu\text{g/mL}$ と設定された。修正は必要ないとされた。
- b 従来の推定であるヒトの腸内細菌叢での100%利用率を選定した。腸内容物への結合の結果起こるネオマイシンの不活性化を補正するために必要な実験データは、不十分であった。
- c ヒトの腸内細菌叢から分離された嫌気性菌を含む多様な生物を対象とした大量のデータが存在した。腸内細菌叢に対するネオマイシンの利用率に対する潜在的な要因を考慮するため、安全係数を1とした。

委員会は、毒性及び抗菌物質に関するデータを評価し、毒性学的データはネオマイシンの評価に対する最も適切なエンドポイントを提供していると結論した。

真核細胞における遺伝子変異試験は欠如しており、利用可能な遺伝毒性試験は限られていた。その中で利用可能な情報によると、ネオマイシンは染色体異常を誘発することが示唆されている。しかし、委員会はラットの長期試験では発がん性の証拠はなかったとしている。

委員会は、モルモットの耳毒性のNOELが6 mg/kg体重/日だったことから、暫定的な一日摂取許容量(ADI)を0-30 $\mu\text{g/kg}$ 体重とし、また安全係数を200に設定した。遺伝毒性データが不十分だったことから暫定的なADIが設定された。

ネオマイシンの毒性試験と結果の概要（評価書：JECFA 1995）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性（経口）	ラット	1,000、3,100、5,000mg/kg 体重	LD ₅₀ ：雄 3,100 mg/kg 体重、雌 > 5,000 mg/kg 体重
90 日間亜急性経口毒性	ラット	10、100、1,000mg/kg 体重/日	NOAEL=10 mg/kg 体重/日 LOAEL=100 mg/kg 体重/日 腎臓病変(lesions)に基づく
90 日間亜急性経口毒性	マウス	150、1,000、6,000ppm	NOAEL=雄:150 ppm(9.7 mg/kg 体重/日)、雌:6,000 ppm(407 mg/kg 体重/日) LOAEL=雄:1,000 ppm(63.9 mg/kg 体重/日)、雌:≥ 6,000 ppm(≥ 407 mg/kg 体重/日) 雄における膀胱過形成、水腎、血清ビリルビン増加に基づく
発がん性試験	マウス	1,000、5,000、10,000ppm	NOAEL=雌雄:1,000 ppm(雄:111 mg/kg 体重/日、雌:102 mg/kg 体重/日) LOAEL=雌雄:5,000 ppm(雄:583 mg/kg 体重/日、雌:520 mg/kg 体重/日) 雌雄における体重減少/体重増加抑制、雄における膀胱の病変(慢性炎症、潰瘍、結石、粘膜下組織の浮腫)に基づく 発がん性なし
2 年間慢性毒性/発がん性	ラット	100、1,000、2,000、4,000ppm	NOAEL=雄:100 ppm(4.3 mg/kg 体重/日)、雌:1,000 ppm(36.4 mg/kg 体重/日) LOAEL=雄:1,000 ppm(41.2 mg/kg 体重/日)、雌:2,000 ppm(81.5 mg/kg 体重/日) 雄では胸腺のリンパ組織過形成、雌では甲状腺ろ胞細胞上皮過形成の発生頻度の増加に基づく
2 世代繁殖	ラット	3.2、31.7、50mg/kg 体重/日	親動物/全身 NOAEL=3.2 mg/kg 体重/日 親動物/全身 LOAEL=31.7 mg/kg 体重/日(体重増加抑制、摂餌量減少、肝臓及び腎臓重量増加、肝臓及び尿管の組織病理学的変化に基づく) 児動物 NOAEL=3.2 mg/kg 体重/日 児動物 LOAEL=31.7 mg/kg 体重/日(生存率減少、腎盂拡張に基づく) 生殖 NOAEL=64.2 mg/kg 体重/日
催奇形性	ウサギ	25、125、250mg/kg 体重/日	NOAEL=母動物:25 mg/kg 体重/日、児動物:125 mg/kg 体重/日 催奇形性なし
変異原性: 復帰突然変異	サルモネラ菌	50~5,000 μg/プレート	<i>in vitro</i> 、50~5,000 μg/プレート(+/-S9)。 陰性
変異原性: 小核試験	ラット骨髓細胞	140、280、560 mg/kg 体重	<i>in vivo</i> 、140、280、560 mg/kg 体重(単回強制経口投与)。 陰性
その他			
			ADIについて記載

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LD ₅₀	50% Lethal Dose	半数致死量

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理

JECFA 1996

ウェブサイト: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v38je04.htm>

FAS 38-JECFA 47/79, 1996

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理 JECFA (1996) 目次

1. 説明 (原文 p.1)	57
2. 生物学的データ (原文 p.1)	57
3. 解説 (原文 p.2)	58
4. 評価 (原文 p.2)	58
ネオマイシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1996)	59
略称.....	60

原文 目次

原文ページ

1. 説明	1
2. 生物学的データ	1
3. 解説	2
4. 評価	2

1. Explanation	1
2. Biological data	1
3. Comments	2
4. Evaluation	2

抗菌剤**ネオマイシン**

第 1 稿は、Dr K.N Woodward により作成された。

農漁食糧省獣医学研究局

アドルストーン、サリー、英国

1. 説明
2. 生物学的データ
 - 2.1 毒性試験
 - 2.1.1 遺伝毒性に関する特別試験
3. 解説
4. 評価
5. 参考文献

1. 説明 (原文 p.1)

ネオマイシンは、以前、委員会の第 43 回会議において評価されたアミノ配糖体抗生物質である(付属書 1, 参照 113)。

その際、委員会では、モルモットでの 90 日試験の耳毒性(ototoxicity)に対する 1 日当たり 6mg/kg 体重の無作用量(NOEL)及び安全係数 200 に基づき、0-30 µg/kg 体重の暫定一日摂取許容量(ADI)を設定した。一日摂取許容量(ADI)は遺伝毒性データの不備を考慮し暫定的なものとした。

第 43 回会議時に得られた *in vitro* の遺伝毒性データでは、ネオマイシンは染色体異常を引き起こすことを示していたが、試験数がわずかであり、これらの試験の遂行は不完全なものであった。

このモノグラフの付録は、以前の評価後に得られたデータを要約している。

2. 生物学的データ (原文 p.1)

- 2.1 毒性試験
 - 2.1.1 遺伝毒性に関する特別試験

その後のネオマイシンの遺伝毒性試験結果を、表 1 に要約する。

ネオマイシンは、エームス試験である、ネズミチフス菌の復帰突然変異試験において陰性であったが、細胞毒性により、使用した最高濃度は 75 µg/プレートに限られていた。

同様に、大腸菌 WP2 *uvrA* での復帰突然変異試験でも陰性の結果が得られたが、この場合も細胞毒性により最高濃度は 75 µg/プレートに制限されていた。

しかし、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (HGPRT 遺伝子座) を使用した突然変異 (点変異) 試験で、5,000 µg/mL までの濃度で陰性結果を得ている。

マウスを使用した、1 日当たり 200 mg/kg 体重までの反復腹腔内の用量を投与する細胞遺伝学試験で、陰性結果が得られた。

ネオマイシンが骨髄に分布することを示した試験はなかったが、吸収後、アミノグリコシドは広く体内に分布しており、骨髄の血管灌流を考慮すると、薬剤が標的細胞に達した可能性が高い。

データは、ネオマイシンに遺伝毒性はないことを示す。

表 1. ネオマイシンに関する遺伝毒性試験の結果

試験システム	試験対象物	濃度	結果	参考文献
復帰突然変異 ¹	ネズミチフス菌	0.93-75 µg/プレート	—	Mayo et al., 1995
	TA97A、TA98、 TA100、TA1535	—		
	大腸菌	0.93-75 µg/プレート	—	Mayo et al., 1995
	WP2 <i>uvrA</i>	—		
正突然変異 ¹	チャイニーズハム スター卵巣細胞、HGPRT 遺 伝子座	0-5,000 µg/mL	—	Mayo & Aaron, 1995a
In vivo 細胞遺 伝学試験	マウス骨髄	1 日 当 たり 0-200/250 mg/kg 体重	—	Mayo & Aaron, 1995b

¹ ラット肝臓代謝活性化有り及び無し(S9)

3. 解説 (原文 p.2)

委員会により検討された遺伝毒性に関する新しいデータは、ネズミチフス菌及び大腸菌を使用した復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣細胞での正突然変異試験、及びマウスにおける *in vivo* の骨髄細胞遺伝学試験の結果である。結果はすべて陰性であった。

これらの結果より、委員会はネオマイシンに遺伝毒性はないとの結論を出した。

4. 評価 (原文 p.2)

モルモットでの耳毒性に対する 1 日当たり 6 mg/kg 体重の無作用量 (NOEL) 及び安全係数 100 に基づき、委員会は一日摂取許容量 (ADI) を 0-60 µg/kg 体重と設定した。

ネオマイシンの毒性試験と結果の概要（評価書：JECFA 1996）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性（経口又は腹腔内）			該当する試験なし
90日間亜急性経口毒性			該当する試験なし
発がん性試験			該当する試験なし
2年間慢性毒性/発がん性			該当する試験なし
繁殖毒性/胎児毒性			該当する試験なし
催奇形性			該当する試験なし
変異原性： エームス試験 復帰突然変異 （ラット肝臓代謝活性化S9有り及び無し）	ネズミチフス菌 TA97A、 TA98、 TA100、 TA1535	0.93-75 µg/プレート	陰性
変異原性： エームス試験 復帰突然変異 （ラット肝臓代謝活性化S9有り及び無し）	大腸菌 WP2 uvrA	0.93-75 µg/プレート	陰性
変異原性：正突然変異	チャイニーズハムスター卵巣細胞、 HGPRT 遺伝子座	0-5,000 µg/mL	陰性
In vivo 細胞遺伝学試験	マウス骨髄	1日当たり 0-200/250 mg/kg 体重	陰性
その他			ADI= 0~60 µg/kg (モルモットの耳毒性に対する1日あたり6 mg/kg 体重の NOEL 及び安全係数 100 に基づく)

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
NOEL	No Observed Effect Level	無作用量
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理

JECFA 1996

ウェブサイト: <ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/41-9-neomycin.pdf>

FNP 41/9-JECFA 47/73

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理 JECFA (1996) 目次

ネオマイシン(原文 p.73).....	65
最大残留基準値(原文 p.73)	65
ネオマイシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1996)	67
略称.....	67

原文 目次

原文ページ

ネオマイシン	73
最大残留基準値	73
NEOMYCIN	73
Maximum Residue Limits	73

ネオマイシン(原文 p.73)

原案

Dr.Dieter Arnold

消費者健康保護及び獣医学連邦研究所

ベルリン、ドイツ

添付文書

第43回委員会会議によるネオマイシン残留量に関する研究論文

FAO Food and Nutrition Paper 41/7,Rome 1995 発行

申請者からの残留量の減少に関する新たな試験報告はなかった。従って、新たな残留量に関する試験論文も作成されなかった。しかし最終 MRL が設定される前に、現在の会議において委員会によって設定された最終 ADI を背景とした正確な残留データが再審査された。選定された試験は、いくつかの食用動物におけるネオマイシン硫酸の経口使用を支持している。

近年行われた一連の牛、豚、羊及びヤギの各々の残留消失試験では、ネオマイシン 15.4 mg/kg 体重に相当するネオマイシン硫酸が1日1回、14 日以上投与された。薬の最終投与から数日後に採取した肝臓、筋肉及び脂肪の試料中にネオマイシン残留物は測定できなかった。これらの試験における定量限界は 0.5 mg/kg だった。腎臓はこれらの種における標的組織と考えられ、親ネオマイシンが残量物のマーカーとして設定された。退薬時間1日の牛、豚、羊及びヤギにおいて観察されたネオマイシンの濃度は、検出限界以下から最高約 4.2 mg/kg までであった。

しかし、若い子牛(試験開始時点で生後 3 日)で同様の消失試験が別に行われたが、腎臓から検出される残留物の減少は遅かった。最終投与から 28 日後にと殺して回収した4種の動物の腎臓には依然 3.9~6.8 mg/kg 組織のネオマイシンが認められた。

平均体重 170 kg の 15 匹の雌牛に、ネオマイシン 7.7 mg/kg 体重に相当するネオマイシン硫酸を1日1回連続 5日間反復経口投与した 1967 年の試験では、いくつかの動物の肝臓で測定可能な濃度のネオマイシン残留物が認められた(例 退薬 3 日で 2.75 mg/kg、退薬7日で 1.01 mg/kg、退薬 17 日で 0.62 mg/kg 及び退薬 24 日で 1.7 mg/kg)。しかしこの結果は現在の試験では確認されていない。委員会は食用組織における MRL は、十分に計画し実施された現在の試験から得られる結果をもとに設定すべきだと結論した。

最大残留基準値(原文 p.73)

委員会は第43回会議で ADI が暫定であったため暫定 MRL を勧告した。これらの MRL は、牛、羊、ヤギ、豚、

七面鳥、アヒル及び鶏の親薬物としての発現が、腎臓で 5 mg/kg、筋肉、肝臓及び脂肪で 0.5 mg/kg であった。鶏卵と牛乳に勧告された暫定 MRL は、親化合物としての発現がそれぞれ 0.5 mg/kg 及び 0.5 mg/L であった。

委員会は腎臓の MRL 以外を変更する必要はないと結論した。腎臓の場合、委員会は全ての対象動物種の実際の退薬時間を設定できるように MRL を 5 mg/kg から 10 mg/kg の 2 倍にする必要があった。

牛、羊、ヤギ、豚、七面鳥、アヒル及び鶏に対して、以下の最終 MRL が勧告された。親薬物の発現が腎臓で 10 mg/kg、筋肉、肝臓及び脂肪で 0.5 mg/kg。鶏卵と牛乳の勧告された MRL は親薬物の発現がそれぞれ 0.5 mg/kg 及び 0.5 mg/L であった。

上記の MRL 値から計算された理論上の食事によるネオマイシン残留物の最大摂取量は 1,525 mg、これは1日に摂取する筋肉 300 g、肝臓 100 g、腎臓もしくは脂肪いずれか 50 g、卵 100 g 及び牛乳 1.5 L を基にしている (JECFA の第 34 回議会の報告書参照)。これは体重 60 kg の人のネオマイシン最大 ADI 3,600 µg を大幅に下回る。

ネオマイシンの毒性試験と結果の概要（評価書：JECFA 1996）

毒性試験に該当する記載なし。

MRL

動物種	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪	卵	牛乳
牛 羊 ヤギ 豚 七面鳥 アヒル 鶏	0.5 mg/kg	0.5 mg/kg	10 mg/kg	0.5 mg/kg	0.5 mg/kg	0.5 mg/L

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
MRL	Maximum Residue Limit	最大残留基準値

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理

JECFA 1999

ウェブサイト:<ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/41-12-neomycin.pdf>

FNP 41/12-JECFA 52/91

ネオマイシン 評価書和訳と情報整理 JECFA (1999) 目次

ネオマイシン(原文 p.91)	73
食品中残留物とその評価(原文 p.91)	73
組織残留消失試験 (原文 p.91).....	73
分析方法 (原文 p.94)	77
評価 (原文 p.94)	77
ネオマイシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1999)	79
略称.....	79

原文 目次

原文ページ

ネオマイシン	91
食品中への残留量とその評価	91
組織残留量の減少	91
牛	91
解析方法	94
評価	94
最大残留基準値	95
引用文献	95
NEOMYCIN	91
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION	91
TISSUE RESIDUE DEPLETION STUDIES	91
Cattle	91
METHODS OF ANALYSIS	94
APPRAISAL	94
Maximum Residue Limits	95
REFERENCES	95

ネオマイシン(原文 p.91)

原案

Dr.R.C.Livingston

動物薬センター、FDA、ロックビル、米国

添付文書

第 43 回及び第 47 回委員会会議によるネオマイシン残留量に関する研究論文 FAO Food and Nutrition Paper 41/7,Rome 1995 及び Rome 1997 発行

委員会の第 43 回の会議において、ネオマイシンの体重 1 kg あたりにおける暫定 ADI が勧告された。委員会では、毒物学と細菌学の両方のデータを調べ、毒物学的データが最も妥当な毒性影響評価指標を提供すると判断した。遺伝毒性に関するデータの欠如は、安全係数 200 で除して補った。牛、羊、ヤギ、豚、七面鳥、鶏において、親薬物として表す暫定 MRL は、腎臓で 5,000 µg/kg、筋肉、肝臓、脂肪で 500 µg/kg と勧告された。鶏卵と牛乳における親薬物として表す暫定 MRL は、それぞれ 500 µg/kg 及び 500 µg/L と勧告された。

新しい遺伝毒性データの評価後、委員会の第 47 回の会議では、安全係数 100 で除して ADI は 0~60 µg/kg 体重と勧告した。新たな残留消失試験は提出されなかったが、全ての対象動物種の実質退薬時間の設定を可能にするために、委員会は腎臓の MRL は 2 倍 (10,000 µg/kg) と結論した。委員会は、生後間もない子牛は、成長した子牛に比べネオマイシンの吸収率が高いことを示す情報を保有していた。このようなより若い子牛の腎臓ではネオマイシンの残留値が 10,000 µg/kg 以下にまで減少するのに約 30 日を要する。

食品中残留物とその評価(原文 p.91)

本委員会では 2 つの新しい残留消失試験を評価した。以前の試験では経口投与後の組織残留物の減少を評価していた。2 つの新しい試験のうちの 1 つでは、10 mg/kg を 1 日 2 回 5 日間経口投与及び 12 mg/kg を 1 日 1 回 5 日間筋肉内投与後の組織残留物を比較した。この試験では、投与群あたり 4 匹を用い、と殺は同時に行った。その結果から、注射投与と経口投与に起因する可食組織のネオマイシンの残留量について時間的比較を行った。もう 1 つの試験では、毎日 12 mg/kg を 5 日間筋肉内投与後の組織残留消失を評価した。この試験ではと殺時点毎に 4 匹の動物を使用し、残留消失試験のための現在の基準値を導いた。この 2 つの試験では、多くの初期の試験で使用されていた微生物学的手法に比べて 5 倍の検出下限を持つ、蛍光検出による新しい HPLC 法が用いられた。

組織残留消失試験 (原文 p.91)

牛

3 週齢で反芻行動をしない子牛を 2 つのグループ(雄 2 匹、雌 2 匹)にわけ、ネオマイシン硫酸を投与した。グループ1の子牛にはネオマイシン 12 mg/kg を連続 5 日間筋肉内投与した (Birckel,1999a)。グループ2はネオマイシン 10 mg/kg を1日 2 回、5 日間経口投与した。血液は 3 日目(投与前)及び 5 日目(投与後)に採取した。動物は最初の投与から 8 日目、すなわち最後投与後 4 日にと殺した。各組織(筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪) 試料はと殺時に採取した。

血漿及び組織中ネオマイシン濃度は蛍光検出を用いた HPLC を使って測定した。血漿に関しては、試験法は特異性、抽出回収性、線形性といった点から検証した。定量限界は 100 µg/L であった。各組織においては、試験法は特異性、抽出回収性、線形性、正確性及び精度といった点から検証した。筋肉、肝臓、腎臓、脂肪において定量限界は 100 µg/kg に達した。

ネオマイシンは 3 日目の投与前に採取した血漿では検出されなかった。5 日目(最終投与の 1 日後)の血漿では、全ての動物において検出された(検出範囲 49~530 µg/L)。ネオマイシンはグループ1の子牛の腎臓、肝臓、脂肪、筋肉から、そしてグループ 2 の子牛の腎臓、肝臓から検出された。ネオマイシンの残留量が一番高いのは腎臓で、次いで肝臓、脂肪、筋肉の順であった。今回の試験で判明した全ての組織のネオマイシンの濃度は表1に示す。グループ 2 の子牛の食用組織における残留濃度が示すように、経口投与したネオマイシンの吸収は比較的低い。注射処方は、ネオマイシン (12 g/100 mL)、プロカインベンジルペニシリン (21 g/100 mL)、メチルプレドニゾロン (0.4 g/100 mL) 及び塩酸プロカイン (3 g/100 mL) の 4 種を組み合わせた。

表1. ネオマイシン 12 mg/kg 体重を注射投与したグループ 1 と 10 mg/kg 体重を経口投与したグループ 2 の個々の牛の各組織におけるネオマイシン濃度 (µg/kg)

グループ	最終投与後の経過日数	脂肪	筋肉	肝臓	腎臓
1	4	546	207	13,100	145,000
		830	214	9,880	106,000
		956	277	11,800	109,000
		987	200	9,020	132,000
2	4	<LOQ	<LOQ	380	25,100
		<LOQ	<LOQ	141	7,730
		<LOQ	<LOQ	363	18,700
		<LOQ	<LOQ	361	17,000

<LOQ=定量限界以下 (100 µg/kg)

ネオマイシンの組織残留消失は、12 匹(雄 12 匹、雌 12 匹)の約 6 ヶ月齢、反芻を行う食用牛を用い、ネオマイシン 12 mg/kg 体重 を連続 5 日間筋肉内注射して評価した (Birckel,1999b)。注射処方は前述の試験と同様である。牛は雄 2 匹、雌 2 匹の 4 匹/グループとして 6 グループにランダムに振り分けた (グループ 2~7)。追加の 2 匹 (雄 1 匹、雌 1 匹)は投与をしない対照群とした (グループ 1)。

血液は投与前と、5 日目の投与後に直ちに採取した。牛は最終注射後 7、14、21、30、45 及び 60 日にと殺(と殺時点につき 4 匹)した。組織 (筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び最終注射した注射部位)は各と殺時に採取した。

血漿及び各組織のネオマイシンの濃度は前述の試験と同様に HPLC/蛍光検出を用いて測定した。今回の試験では、また血漿及び各組織中のベンジルペニシリン及びメチルプレドニゾロン濃度を HPLC/UV 検出を用いて測定した。ベンジルペニシリンの組織及び血漿における定量限界 (LOQ) は 25 µg/L で、メチルプレドニゾロンの LOQ は 10 µg/L であった。

ベンジルペニシリンは、5 回目の投与から 7 日後にと殺したグループ 2 の動物のみで検出された。残留量は注射部位で最も高く、次いで肝臓、腎臓、脂肪の順であった。ベンジルペニシリンは筋肉では検出されなかった。メチルプレドニゾロンは 5 回目の投与から 7 日後にと殺したグループ 2 と、14 日後にと殺したグループ 3 の動物の注射部位からのみ検出された。ネオマイシンは全ての組織 (腎臓、肝臓、脂肪、筋肉及び注射部位) で検出された。ネオマイシンの残留量は腎臓で最も高く、次いで肝臓、注射部位、脂肪、筋肉の順であった。各組織及び注射部位におけるネオマイシン濃度は表 2 に示した。平均残留濃度を表 3 に示した。

表 2. ネオマイシン 12 mg/kg を連続 5 日間筋肉内注射した個々の牛の各組織中ネオマイシン濃度 (µg/kg)

最終投与後の経過日数	グループ	脂肪	筋肉	注射部位	肝臓	腎臓
		<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
7	1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
		<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
		323	109	791	4,900	39,300
	2	468	126	1,920	8,770	45,200
		615	169	2,060	5,540	71,400
		663	144	871	7,290	40,800
		348	<LOQ	432	11,700	25,300
14	3	500	<LOQ	188	25,400	29,000
		208	<LOQ	358	9,710	22,000
		270	<LOQ	146	13,400	19,500
		189	<LOQ	584	6,650	21,900
21	4	302	<LOQ	669	11,700	16,300
		128	<LOQ	822	7,880	26,200
		147	<LOQ	365	6,990	18,200
		<LOQ	<LOQ	479	8,180	17,000
30	5	154	<LOQ	225	11,000	10,600
		<LOQ	<LOQ	285	6,360	13,800
		<LOQ	<LOQ	414	2,330	14,800
		<LOQ	<LOQ	370	5,050	7,900
45	6	161	-	180	5,390	9,220
		<LOQ	-	388	5,740	13,700
		<LOQ	-	401	9,360	8,790
		<LOQ	-	264	3,190	5,510
60	7	<LOQ	-	<LOQ	1,760	3,770
		<LOQ	-	<LOQ	5,840	4,810
		<LOQ	-	360	1,140	3,860

>LOQ=定量限界以下(100 µg/kg)

表3. 連続 5 日間筋肉内注射したときのネオマイシン残留物の平均濃度 (µg/kg)

最終投与後の 経過日数	脂肪	筋肉	注射部位	肝臓	腎臓
対照群	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
7	517	137	1,410	6,620	49,200
14	332	BLQ	381	1,510	24,000
21	192	BLQ	610	8,320	20,700
30	114	BLQ	351	6,960	14,100
45	115	BLQ	335	6,380	9,920
60	BLQ	BLQ	206	2,980	4,500

BLQ:定量限界以下 (100 µg/kg)。対照群グループを除き、個体の値が BLQ となった場合は、平均値の計算に 100 µg/kg を用いた。

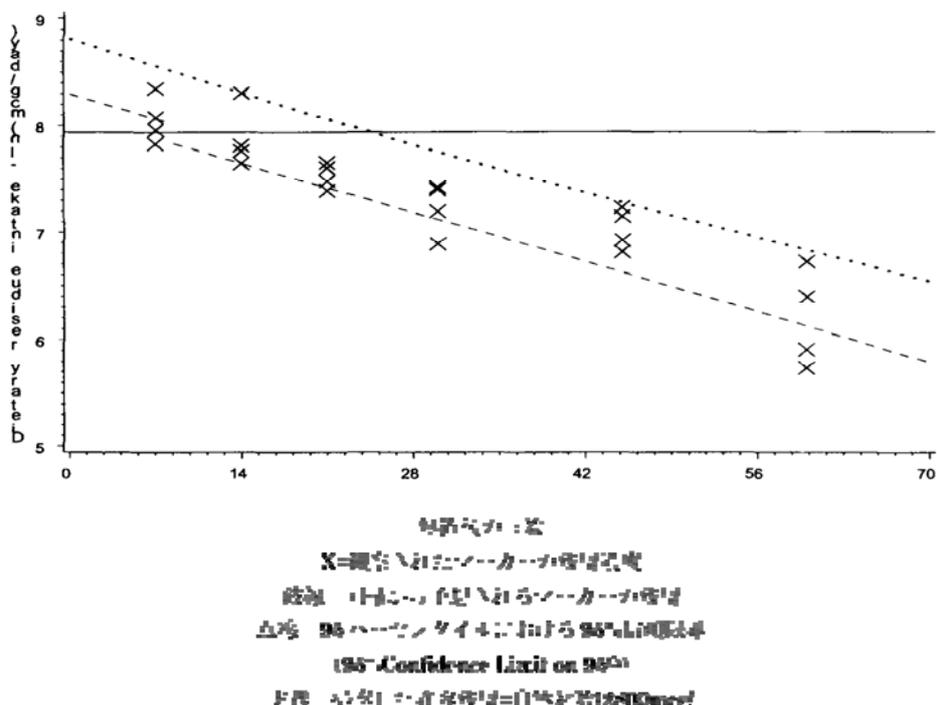
分析方法 (原文 p.94)

組織中ネオマイシン濃度の測定に用いた HPLC/蛍光検出法は以下の 4 つのステージから構成されている。すなわちホモジナイズ、5%トリクロロ酢酸による除タンパク質、CM-Sephadex を用いたイオン交換カラムでの精製、ポストカラム誘導体化である (Decolin and Nicolas,1998)。筋肉、肝臓、腎臓、脂肪の絶対回収率はそれぞれ 66%、57%、59%及び 72%だった。表 1 及び表 2 に示した濃度は、あらかじめ各組織のマトリクスで用意した標準曲線を用いて回収率を補正したものだ。

評価 (原文 p.94)

ADI 0~60 µg/kg は 3,600 µg/日に相当する。1 日摂取許容量は、既に MRL 500 µg kg 及び 500 µg/L が推奨されている卵及び牛乳で 800 µg まで、残る最大 2800 µg は 4 つの食用組織中における分布とする。マーケットバスケット方式に従い個々の組織を合計することで、表 2 に示した残留消失データから、24 匹各々の食事による摂取残留量 (DRI) が計算できる。図1からは、DRI と投与後の日数の自然対数の間に相関があることが証明される。95 パーセンタイル(95/95 残留量限界)における 95%信頼限界と 2800 µg の自然対数の交点では 30 日である。95/99 残留量限界の同様なプロットは 38 日で 2,800 µg の自然対数をさえぎる。30~38 日の退薬期間において、腎臓及び肝臓の残留物濃度のみが 1 日の摂取残留量に著しく影響している。それ故 30~38 日の肝臓及び腎臓における残留物濃度の退薬はネオマイシン注射処方の使用を認可するのに必要な MRL の設定に用いることができる。また肝臓及び腎臓の MRL は、30 日もしくは 45 日のと殺時の 3 回の標準偏差の濃度の平均を用いて、それぞれ 15,000 及び 20,000 µg/ kg に設定することができる。

Fig.1. ネオマイシン 12 mg/kg を筋肉内注射した牛から食事により摂取した残留物 (DRI) の消失



最大残留基準値 (原文 p.95)

委員会は羊、ヤギ、豚、七面鳥、アヒル及び鶏の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び卵においては、0.5 mg/kg の MRLを推奨している。牛においては99% 以上の信頼限界をもとに、親薬物相当量として*、筋肉、脂肪及び牛乳について0.5 mg/kg、肝臓について15 mg/kg、腎臓について20 mg/kgのMRLを委員会は推奨している。

*原文は **espressed** であるが、**expressed** の誤記と解釈して訳した。

牛の MRL 値と卵の MRL 0.5 mg/kg から計算される理論上のネオマイシンの一日最大摂取量は 3,475 µg となり、これは 300 g の筋肉、100 g の肝臓、50 g の腎臓もしくは脂肪、100 g の卵及び 1.5 kg の牛乳を一日摂取量とした場合の値である (Annex 1, reference yy)。