

No. 12 ナフシリン

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

調査報告書

平成25年1月

(株) 東レリサーチセンター

目 次

ページ

1. 調査の概要	1
2. 作業内容	1
2. 1 専門家を選定等.....	1
2. 2 翻訳	2
2. 3 評価書の情報の整理	3
3. 調査期間	3
4. 調査結果	3

1. 調査の概要

ポジティブリスト制度導入に伴い、食品安全委員会において、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が行われている。

国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（以下「JMPR」という。）及び FAO/WHO 合同添加物専門家会議（以下「JECFA」という。）と最新の評価を行っている欧州食品安全機関（以下「EFSA」という。）、欧州医薬品庁（以下「EMA」という。）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、動物用医薬品及び飼料添加物（以下「農薬等」という。）のうち、JMPR、JECFA、EFSA 及び EMA の評価結果を有しているものについて、それぞれの評価書の翻訳を行うとともに必要な情報を整理し、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。

2. 作業内容

ポジティブリスト制度導入に伴い暫定基準が設定された農薬等のうち、平成24年度に要請される予定の物質のうち表1に示す物質を調査対象とし、EMAにおける評価書の翻訳を行うとともに、必要な情報の整理を行った。

表 1 調査対象の農薬等

No.	物質名	用途
12	ナフシリン	動物薬・抗生物質

2. 1 専門家の選定等

本調査では、5分野（①動物代謝、②植物代謝及び環境中運命（土壌中、水中、土壌残留）、③毒性（一般毒性、病理、発がん性）、④生殖発生毒性、⑤遺伝毒性）の専門家に、翻訳確認のご協力を頂いた。専門家一覧を表2に示した（五十音順）。

専門家の選定は、食品安全委員会事務局担当官殿の了解のもとに実施した。

表 2 専門家一覧

分野	氏名	所属※
② 植物代謝及び環境運命	上路 雅子	日本植物防疫協会 顧問
① 動物代謝、③ 毒性	宇佐見 誠	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 第4室長
④ 生殖発生毒性	江馬 眞	(独)産業技術総合研究所 安全科学研究部門 招聘研究員
① 動物代謝	黒瀬 陽平	北里大学獣医学部 准教授
③ 毒性	三枝 順三	(独)科学技術振興機構 技術参事

⑤ 遺伝毒性	下位 香代子	静岡県立大学 環境科学研究所 教授
① 動物代謝	須藤 まどか	(独)農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 栄養素代謝研究チーム長
③ 毒性	高木 篤也	国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 室長
④ 生殖発生毒性	高橋 研	(財)残留農薬研究所 毒性部 生殖毒性研究室 主任
② 植物代謝及び 環境運命 ③ 毒性	中田 晴彦	熊本大学大学院 自然科学研究科 准教授
⑤ 遺伝毒性	松元 郷六	(財)残留農薬研究所 毒性部副部長 兼 遺伝毒性研究室長
② 植物代謝及び 環境運命	與語 靖洋	(独)農業環境技術研究所 有機化学物質研究領域 研究コーディネータ

(※平成 25 年 1 月現在)

2. 2 翻訳

評価書の必要部分を原文に忠実に翻訳を行った。調査対象の評価書を表 3 に示した。

翻訳に際しては「食品の安全性に関する用語集（食品安全委員会第 4 版）」等を用いて翻訳し、原文に記載の略称等は英語での正式名称、日本語訳をまとめた表を作成した。

2. 1 に示した専門家には、専門分野に係る試験方法、試験結果等（数値及び単位を含む。）の専門的な表現、記述等について翻訳文の確認を依頼した。

表 3 調査対象の評価書

番号	物質名	評価書タイトル	文書番号 (物質名_発行機関_通し番号)
12	ナフシリン	Nafcillin: Summary report (1) – Committee for Veterinary Medicinal Products	ナフシリン _EMA_01
		Nafcillin: Summary report (2) – Committee for Veterinary Medicinal Products	ナフシリン _EMA_02
		Nafcillin (Extension to all ruminants): Summary report (3) – Committee for Veterinary Medicinal Products	ナフシリン _EMA_03

2. 3 評価書の情報の整理

評価書の次の①～③の項目について情報の整理を行った。

- ① 評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成。
- ② 翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載。
- ③ 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。該当する試験がない場合はその旨を記載。

3. 調査期間

平成 24 年 6 月 19 日～平成 25 年 1 月 31 日

4. 調査結果

表 1 に示した物質における評価書（表 3）について「毒性試験とその結果の概要一覧」および「評価書の翻訳文」（以下、「和訳版」）を作成した。その結果を物質ごとに整理して、調査報告書にまとめた。

以上

添 付 資 料

評価書 (受領文書番号) : 3 報

- ナフシリン _EMA_01
- ナフシリン _EMA_02
- ナフシリン _EMA_03

ナフシリンの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : EMA, Nafcillin: Summary report (1) - Committee for Veterinary Medicinal Products)

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性 (筋肉内)	実験動物		LD50 : 2800mg/kg	2	2
急性毒性 (腹腔内)	実験動物		LD50 : 1200mg/kg	2	2
急性毒性 (静脈内)	実験動物		LD50 : 1100mg/kg	2	2
急性毒性 (静脈内)	イヌ		LD50 : 600mg/kg	2	2
亜急性毒性/ 慢性毒性			ナフシリンは、反復暴露による有意な副作用を含まない既知の毒性プロファイルを持つ物質群に属し、ナフシリンの反復投与毒性は他のペニシリンと異なる毒性兆候もないため、ナフシリンの反復投与に関する毒性の特別のデータは必要ではないと思われた。	2	2
生殖毒性	マウス	2000mg/kg/ 日まで	催奇形性を含む胎児毒性のエビデンスは提供されず、児動物の生後発育への有害な作用も認められなかった。	2	2
生殖毒性	ラット	4000mg/kg/ 日まで	催奇形性を含む胎児毒性のエビデンスは提供されず、児動物の生後発育への有害な作用も認められなかった。	2	2
遺伝毒性			ナフシリンは突然変異性や発がん性の可能性がないと考えられる化合物クラスに属するため、これらのエンドポイントについての特異試験は必要ないとみなされた。	2	2
発がん性			ナフシリンは突然変異性や発がん性の可能性がないと考えられる化合物クラスに属するため、これらのエンドポイントについての特異試験は必要ないとみなされた。	2	2

動物医薬品委員会

ナフシリン

サマリーレポート (1)

(原文、1 ページ目)

1. ナフシリンは、6-アミジノペニシラン酸(6-amidinopenicillanic acid)の誘導体で、すなわち半合成のペニシリナーゼ抵抗性ペニシリンで、ファミリーにはメチシリンやイソキサゾリル系ペニシリンのオキサシリン、クロキサシリンやジクロキサシリンなどがある。この化合物は乾乳期のウシの無症候性乳腺炎の治療と乳腺炎の予防(単回投与)と、泌乳牛の乳腺炎の治療(推奨用法：炎症のある部分に1日1回、3日間連続投与)の乳房内注入剤の活性成分である。現在市販の製品は、3グラムの用量あたりナフシリン(100mg)をナトリウム水和物塩として、ペニシリン(300,000IU)、ジヒドロストレプトマイシン(100mg)を含有する。
2. ナフシリンは、ブドウ球菌、連鎖球菌、肺炎球菌など様々なグラム陽性菌に活性がある。他のペニシリナーゼ抵抗性ペニシリンと同様に、グラム陰性菌への活性は殆どないか全くない。ナフシリン、オキサシリンとクロキサシリンのウシ乳腺炎の病原菌に対する抗菌スペクトルと有効性は同等である。重量ベースで(Weight-to-weight basis)でナフシリンの殺菌性はメチシリンの4~8倍になる。
3. 250~500mg/kg のナフシリンをイヌに静脈内投与したところ、エピネフリン又はノルエピネフリンに誘導される昇圧反応に影響を及ぼすことなく低血圧 (hypotension)、徐脈 (bradycardia) を引き起こした。500~1,000mg/kg の用量で数匹のイヌに不可逆的心血管虚脱 (irreversible cardiovascular collapse) を起こし、1,000mg/kg では致死率は100%に値した。ネコはイヌと比較しナフシリンの薬理学的作用に若干感受性が高かった。同等の用量のメチシリンはナフシリンより薬理学的活性が低かった。
4. イヌでは、経口投与後の吸収率は低い傾向にある。筋肉内投与後30分以内で、最高血清中濃度に到達する。同等量の経口投与による最高血清中濃度は低く、血漿レベルはメチシリンやペニシリン G で見られるより持続性が低い。メチシリンや特にペニシリン G とは対照的に、肝臓がナフシリンの主な排出経路であり、静脈内投与、筋肉内投与、経口投与後0~24時間の胆汁には、それぞれ投与量の97%、56%と30%のナフシリンが排出された。メチシリンとペニシリン G の胆汁への排出は、静脈内投与でそれぞれ22%と9%であった。ナフシリンは、メチシリンやペニシリン G と比較して、非経口投与後の器官及び組織中の濃度並びにその持続性が高い傾向にあり、明らかにナフシリンの腸肝再循環によるものである。
5. ナフシリンの生体内変化についてのデータは提供されていない。しかし、ナフシリンの動態検査の全ての測定は微生物学的方法を用いて実施され、肝臓経由の比較的高い0~24時間排出率が観察されている事実から、他のペニシリン類と同様に、この物質の生体内変化はわずかであるとする事は妥当である。
6. 投与ウシの血漿と尿の検出可能レベルのナフシリンの存在は、ナフシリンが乳房内投与の後全身に吸収されたことを示す。乾乳期にナフシリンを投与すると高い割合で乳房から吸収される一方で、泌乳牛に乳房内投与をした後ナフシリンの大部分は乳中から排出される。当然のこととして、乳房内投与における全身吸収は投与時間と製品の処方に依存する。実際に全身に吸収され用量の割合は不明で、全身に吸収されたナフシリンの運命もある程度まで不明のままである。

7. その他のペニシリンと同様に、実験動物への単回投与によるナフシリン毒性は低い。実験用げっ歯類では、経口投与の最低致死量は 5,000mg/kg 以上であった；筋肉内投与後の LD₅₀は 2,800mg/kg、腹腔内投与の LD₅₀は 1,200mg/kg であった。静脈内投与の LD₅₀は 1,100mg/kg で、ペニシリン G で報告されている値(2,200mg/kg)より低値だが、オキサシリンで報告されている値(1,500mg/kg)とは同等であった。イヌでは静脈内投与の LD₅₀は 600mg/kg であった。すべての経路で毒性の兆候は、LD₅₀ 付近で起こり、時折の軽度のけいれんに続き、うつ状態 (depression)、筋緊張の消失 (loss of muscle tone) と呼吸困難 (dyspnea) などであった。
8. アレルギー誘発性の可能性とは別に、ナフシリンは、反復暴露による有意な副作用を含まない既知の毒性プロフィールを持つ物質群に属し、ナフシリンの反復投与毒性は他のペニシリンと異なる毒性兆候もないため、ナフシリンの反復投与に関する毒性の特別のデータは必要ではないと思われた。
9. 現在市販のナフシリン含有の乳房内注入剤の泌乳牛の乳房への耐性は許容範囲内であった。
10. マウス及びラットを用いてそれぞれ 2,000、4,000mg/kg/日以下の用量で行った生殖毒性試験で、催奇形性を含む胎児毒性のエビデンスは提供されず、児動物の生後発育への有害な作用も認められなかった。ナフシリンが属する化合物の種類と、行われた試験でナフシリンの催奇形性又は他の生殖毒性作用が認められなかった事実を考慮し、追加の生殖毒性試験は必要ないと考えられた。
11. ナフシリンは突然変異性や発がん性の可能性がないと考えられる化合物クラスに属するため、これらのエンドポイントについての特異試験は必要ないとみなされた。
12. 免疫毒性に関するデータは提供されていない。ナフシリンは特に β ラクタム環の開環を防ぐ構造になっているためナフシリンのアレルギーの潜在性はペニシリンよりも低いという主張は文書化されていない。ナフシリンとオキサシリンはアレルギーの潜在性が同等であるという主張にも同様の理由が適用されている。
13. ヒトの腸管内菌叢へのナフシリンの作用についての試験は行われていない。一般的に、ナフシリンと類似するペニシリン嫌気性グラム陰性菌への活性は、グラム陽性菌 (*Streptococcus* 属や *Staphylococcus* 属など) と比較して低い。ナフシリンとオキサシリンのヒトの腸管内菌叢への抗菌作用は同等であるという主張は文書化されていない。
14. 市販され広範に使用されている 3 種類のヨーグルト培養の酸性化活性は、ナフシリン濃度 0.075µg/ml 以上の濃度でのみ有意に影響を受けた。しかし、細胞形態学的に有意な影響はそれより低い濃度で認められた。0.02µg/ml 以上の濃度で *Lactobacillus bulgaricus* は長く薄い繊維状に増殖した。0.05µg/ml 以上の濃度で *Lactobacillus thermophilus* は膨張しおり不規則であった。0.15µg/ml 以上の濃度で *Lactobacillus bulgaricus* のみの増殖が認められた。オキサシリンとナフシリンのヨーグルト培養における影響は定性的にも定量的にも類似していた。
15. ナフシリンは本来ヒトへの使用で開発された。1960 年代後半からナフシリンはペニシリンナーゼ産生のブドウ球菌によって発症する重篤な感染症、例えば心内膜炎、敗血症、骨髄炎や肺炎などの治療に使われてきた。1 日あたりの推奨用量は筋肉内投与の場合 1g で、重症感染症の場合は分割投与で 6~18g/日まで投与できる。ナフシリンは血清タンパク質と強固に結合する(約 90%)。経口投与の製剤も手に入るが、経口投与は吸が不規則なため推奨されていない。ヒトでの臨床使用に関する副作用のデータは提出されていない。ナフシリンの臨床使用による間質性腎炎 (interstitial nephritis) の発生の報告書が発行されている。この症例は、主に、腎機能の悪化に伴うアレルギー反応のその他の兆候を有している患者で発症している。
16. 乾乳シーズンにおける投与との関連で実施された消失試験では、乾乳期間が 19 日以上であった場合、全可食組織中の残留量は分娩後 24~72 時間で 300µg/kg 以下であった。また、乾乳期間が 30 日以上の場合、分娩後 2 回目の搾乳での乳中の残留物は 30µg/L 以下であった。同様に泌乳牛への投与との

関連で実施された消失試験では、全可食組織中の残留物は休薬後 72 時間で 300 μ g/kg 以下で、乳中の残留物は休薬後 4 回目の搾乳以降は休薬後 30 μ g/L 以下であった。

17. 申請者が提出した解析方法は微生物学に基づくものであり、特異性の点で、EC の医薬品に関する規則 VI 卷(VI of the Rules Governing Medical Products in the European Community)の要求事項を満たしていない。ナフシリンの測定には現在 HPLC 法が開発されている。

結論と勧告:(原文、3 ページ目)

下記を考慮した結果:

- ナフシリンは乳房内投与のみを意図している。
- オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリンについて設定された MRL は、ヒトの腸管内菌叢への抗菌作用と乳業界で使用されている種菌(スターターカルチャー)への影響に基づくものである。

ナフシリンの毒性プロファイルは、オキサシリン、クロキサシリンとジクロキサシリンの毒性プロファイルと幾分異なるようにみえるにもかかわらず、腎機能へのナフシリンの影響という観点から、欧州委員会はナフシリンの MRL は原則としてこれら 3 種類の物質と同じ作用に基づくべきとみなし、欧州委員会は下記の表に従いナフシリンを委員会規則(EEC)No2377/90 の付録 III に含めることを勧告する。

薬理的活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的細胞	その他条件
ナフシリン	ナフシリン	ウシ	300 μ g/kg	筋肉、脂肪、 肝臓、腎臓	乳房内の使用のみ 暫定 MRLs の期限 1999 年 1 月 1 日
			30 μ g/kg	乳	

質問リストに含まれる点が明確化した後にのみ、ナフシリンの最終的な決定を検討することができる。

質問リスト(原文、4 ページ)

1. 物質は、例えば EC の医薬品に関する規則 VI 卷(VI of the Rules Governing Medical Products in the European Community)の要求事項に従い、適切に同定されなければならない。
2. ナフシリンの感作性の可能性は、望ましくは他のペニシリナーゼ抵抗性ペニシリンとの比較で評価されなければならない。
3. 正常なヒトの腸管内菌叢に対するナフシリンとその他のペニシリナーゼ抵抗性ペニシリンの抗菌活性の類似性が文書化されなければならない。
4. ナフシリンのヒトへの臨床使用における副作用データ、特に腎機能に対する同物質の作用について、提出されなければならない。
5. 確証的な解析方法が提出されなければならない。その解析方法は、EC の医薬品に関する規則 VI 卷(VI of the Rules Governing Medical Products in the European Community)の要求事項に従い全ての該当するウシ組織で検証されなくてはならない。解析方法の説明は国際的に認識されたフォーマットで提供されなければならない(例：ISO78/2)。
6. 付録 II.a.5 の落丁(13 ページ～16 ページ)が提供されなくてはならない。

原文目次

SUMMARY REPORT(1) 1
Conclusions and recommendation..... 3
LIST OF QUESTIONS 4

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
IU	International Unit	国際単位
LD50	Lethal Dose50%	半数致死量
MRL	Maximum residue level	残留基準

ナフシリンの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : EMA, Nafcillin: Summary report (2) - Committee for Veterinary Medicinal Products)

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性 (筋肉内)	実験動物		LD50 : 2800mg/kg 体重	2	2
急性毒性 (腹腔内)	実験動物		LD50 : 1200mg/kg 体重	2	2
急性毒性 (静脈内)	実験動物		LD50 : 1100mg/kg 体重	2	2
急性毒性 (静脈内)	イヌ		LD50 : 600mg/kg 体重	2	2
亜急性毒性 /慢性 毒性			ナフシリンは、反復暴露による有意な副作用を含まない既知の毒性プロファイルを持つ物質群に属し、ナフシリンの反復投与毒性は他のペニシリンと異なる毒性兆候もないため、ナフシリンの反復投与に関する毒性の特別のデータは必要ではないと思われた。	2	2
生殖毒性	マウス	2000mg/kg 体重/日まで	催奇形性を含む胎児毒性のエビデンスは提供されず、兎動物の生後発育への有害な作用も認められなかった。	2	2
生殖毒性	ラット	4000mg/kg 体重/日まで	催奇形性を含む胎児毒性のエビデンスは提供されず、兎動物の生後発育への有害な作用も認められなかった。	2	2
遺伝毒性			ナフシリンは突然変異性や発がん性の可能性がないと考えられる化合物クラスに属するため、これらのエンドポイントについての特異試験は必要ないとみなされた。	2	2
発がん性			ナフシリンは突然変異性や発がん性の可能性がないと考えられる化合物クラスに属するため、これらのエンドポイントについての特異試験は必要ないとみなされた。	2	2

動物医薬品委員会

ナフシリン

サマリーレポート (2)

(原文、1 ページ)

1. ナフシリンは、6-アミジノペニシラン酸 (6-amidinopenicillanic acid) の誘導体で、すなわち半合成のペニシリナーゼ抵抗性ペニシリンで、ファミリーにはメチシリンやイソキサゾリル系ペニシリンのオキサシリン、クロキサシリンやジクロキサシリンなどがある。この化合物は乾乳期のウシの無症候性乳腺炎の治療と乳腺炎の予防(単回投与)と、泌乳牛の乳腺炎の治療(推奨用法：炎症のある部分に1日1回、3日間連続投与)の乳房内注入剤の活性成分である。現在市販の製品は、3グラムの用量あたりナフシリン(100 mg)をナトリウム一水和物塩として、ペニシリン(300,000 IU)、ジヒドロストレプトマイシン(100 mg)を含有する。

現在ナフシリンは委員会規則(EEC)No 2377/90 の付録 III に以下のように記載されている。

薬理学活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的組織	その他規程
ナフシリン	ナフシリン	ウシ	300 µg/kg	筋肉	乳房内の使用のみ 暫定 MRLs の期限 2001年1月1日
			300 µg/kg	脂肪	
300 µg/kg	肝臓				
300 µg/kg	腎臓				
			30 µg/kg	乳中	

理事会規則(EEC)No 2377/90 の付録 I にナフシリンのウシへの使用の項目を加えるための裏付けとなる更なる情報を受け取った。

2. ナフシリンは、ブドウ球菌、連鎖球菌、肺炎球菌など様々なグラム陽性菌に活性がある。他のペニシリナーゼ抵抗性ペニシリンと同様に、グラム陰性菌への活性は殆ど又は全くない。ナフシリン、オキサシリンとクロキサシリンのウシ乳腺炎の病原菌に対する抗菌スペクトルと有効性は同等である。重量ベースで(Weight-to-weight basis)でナフシリンの殺菌性はメチシリンの4~8倍になる。
3. 250~500 mg/kg 体重のナフシリンをイヌに静脈内投与したところ、エピネフリン又はノルエピネフリンに誘導される昇圧反応に影響を及ぼすことなく低血圧 (hypotension)、徐脈 (bradycardia) を引き起こした。500~1,000 mg/kg 体重の用量で数匹のイヌに不可逆的心血管虚脱 (irreversible cardiovascular collapse) を起こし、1,000 mg/kg 体重では致死率は100%に値した。ネコはイヌと比較しナフシリンの薬理学的作用に若干感受性が高かった。同等の用量のメチシリンはナフシリンより薬理学的活性が低かった。
4. イヌでは、経口投与後の吸収率は低い傾向にある。筋肉内投与後30分以内で、最高血清中濃度に到達する。同等量の経口投与による最高血清中濃度は低く、血漿レベルはメチシリンやベンジルペニシリンで見られるより持続性が低い。メチシリンや特にベンジルペニシリンとは対照的に、肝臓がナフシリンの主な排出経路であり、静脈内投与、筋肉内投与、経口投与後0~24時間の胆汁には、それぞれ投与量の97%、56%と30%のナフシリンが排出された。メチシリンとベンジルペニシリンの胆汁への排出は、静脈内投与でそれぞれ22%と9%であった。ナフシリンは、メチシリンやベンジルペニシリンと比較して、非経口投与後の器官及び組織中の濃度並びにその持続性が高い傾向にあり、明らかにナフシリンの腸肝再循環によるものである。

5. ナフシリンの生体内変化についてのデータは提供されていない。しかし、ナフシリンの動態検査の全ての測定は微生物学的方法を用いて実施され、肝臓経由の比較的高い 0~24 時間排出率が観察されている事実から、他のペニシリン類と同様に、この物質の生体内変化はわずかであるとする事は妥当である。
6. 投与ウシの血漿と尿の検出可能レベルのナフシリンの存在は、ナフシリンが乳房内投与の後全身に吸収されたことを示す。乾乳期にナフシリンを投与すると高い割合で乳房から吸収される一方で、泌乳牛に乳房内投与をした後ナフシリンの大部分は乳中から排出される。当然のこととして、乳房内投与における全身吸収は投与時間と製品の処方に依存する。実際に全身に吸収され用量の割合は不明で、全身に吸収されたナフシリンの運命もある程度まで不明のままである。
7. その他のペニシリンと同様に、実験動物への単回投与によるナフシリン毒性は低い。実験用げっ歯類では、経口投与の最低致死量は 5,000 mg/kg 体重以上であった；筋肉内投与後の LD₅₀ は 2,800 mg/kg 体重、腹腔内投与の LD₅₀ は 1,200 mg/kg 体重であった。静脈内投与の LD₅₀ は 1,100 mg/kg 体重で、ベンジルペニシリンで報告されている値(2,200 mg/kg 体重)より低値だが、オキサシリンで報告されている値(1,500 mg/kg 体重)とは同等であった。イヌでは静脈内投与の LD₅₀ は 600 mg/kg 体重であった。すべての経路で毒性の兆候は、LD₅₀ 付近で起こり、時折の軽度のけいれんに続き、うつ状態 (depression)、筋緊張の消失 (loss of muscle tone) と呼吸困難 (dyspnea) などであった。
8. アレルギー誘発性の可能性とは別に、ナフシリンは、反復暴露による有意な副作用を含まない既知の毒性プロファイルを持つ物質群に属し、ナフシリンの反復投与毒性は他のペニシリンと異なる毒性兆候もないため、ナフシリンの反復投与に関する毒性の特別のデータは必要ではないと思われた。
9. 現在市販のナフシリン含有の乳房内注入剤の泌乳牛の乳房への耐性は許容範囲内であった。
10. マウス及びラットを用いてそれぞれ 2,000、4,000 mg/kg 体重/日以下の用量で行った生殖毒性試験で、催奇形性を含む胎児毒性のエビデンスは提供されず、児動物の生後発育への有害な作用も認められなかった。ナフシリンが属する化合物の種類と、行われた試験でナフシリンの催奇形性又は他の生殖毒性作用が認められなかった事実を考慮し、追加の生殖毒性試験は必要ないと考えられた。
10. ナフシリンは突然変異性や発がん性の可能性がないと考えられる化合物クラスに属するため、これらのエンドポイントについての特異試験は必要ないとみなされた。¹
11. アレルギー反応を誘発する主要な決定基は β ラクタム環の開環によりペニシロ酸が形成されることにある。ナフシリンの構造はこの開環を予防するようになっているため、ナフシリンのアレルギーの潜在性はベンジルペニシリンと比較して低い可能性が最も高い。あるポーランドの研究では、製薬業界で雇用される労働者(n=442)は、ナフシリン(0.8%)の暴露後よりもベンジルペニシリン(6.2%)の暴露の後の方が皮膚反応の有病率が高いことが明らかになった。
12. ヒトの新鮮な便から採取した 74 の嫌気性菌と 30 の好気性菌の増殖に与えるナフシリンの影響について、*in vitro* 培養後に評価された。腸球菌、大腸菌、プロテウス属亜種、バクテロイデス属亜種、ラクトバチルス属、ビフィドバクテリウム属、プレボテラ属、ユウバクテリウム属、クロストリジウム属、フソバクテリウム属、嫌気性グラム陽性球菌(*Enterococci*, coliform bacteria, *Proteus spp*, *Bacteroides spp*, *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*, *Prevotella spp*, *Eubacterium spp*, *Clostridium spp*, *Fusobacterium spp*, anaerobic gram-positive cocci)、それぞれ 10 分離株までの MIC が測定された。試験微生物の MIC₅₀ の最低値は 1.26(嫌気性グラム陽性球菌)から 128 µg/ml の範囲であった。最も感受性の高い 5 菌種の幾何平均は 3.14 µg/ml であった。

¹ 訳注：項目番号は原文どおり。

13. 市販され広範に使用されている 3 種類のヨーグルト培養の酸性化活性は、ナフシリン濃度 0.075 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度でのみ有意に影響を受けた。しかし、細胞形態学的に有意な影響はそれより低い濃度で認められた。0.02 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で *Lactobacillus bulgaricus* は長く薄い繊維状に増殖した。0.05 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で *Lactobacillus thermophilus* は膨張しており不規則であった。0.15 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で *Lactobacillus bulgaricus* のみの増殖が認められた。オキサシリンとナフシリンのヨーグルト培養における影響は定性的にも定量的にも類似していた。
14. ナフシリンは本来ヒトへの使用で開発された。1960 年代後半からナフシリンはペニシリンナーゼ産生のブドウ球菌によって発症する重篤な感染症、例えば心内膜炎、敗血症、骨髄炎や肺炎などの治療に使われてきた。1 日あたりの推奨用量は筋肉内投与の場合 1 g で、重症感染症の場合は分割投与で 6 ~ 18 g/日まで投与できる。ナフシリンは血清タンパク質と強固に結合する(約 90%)。経口投与の製剤も手に入るが、経口投与は吸が不規則なため推奨されていない。ヒトでの臨床使用に関する副作用のデータは提出されていない。ナフシリンの臨床使用による間質性腎炎 (interstitial nephritis) の発生の報告書が発行されている。この症例は、主に、腎機能の悪化に伴うアレルギー反応のその他の兆候を有している患者で発症している。
15. CVMP で採用されている化学式と MIC₅₀ の最低値に基づき、微生物学的 ADI は下記の通り算出された。

$$\text{ADI} = \frac{\text{幾何平均 MIC}_{50} \times \text{CF2} (\mu\text{g/ml}) \times \text{1 日の糞便量 (150 ml)}}{\text{CF1} \times \text{微生物が利用できる経口投与量の割合} \times \text{ヒトの体重 (60 kg)}}$$

上記の化学式に基づいて、微生物学的 ADI は下記の通り算出できる。

$$\text{ADI} = \frac{1.26 \times 1}{0.7 \times 60} \times 150 = 4.4 \mu\text{g/kg 体重 i.e.} = 264 \mu\text{g/ヒト}$$

以下の仮説が立てられた：

- ・ CF1 = 1 最も感受性の高い菌種の MIC₅₀ 値が使われたため。
 - ・ CF2 = 1 *in vitro* から *in vivo* 環境へ外挿のための是正データが入手可能でなかったため。
 - ・ 150 ml は 1 日の糞便量であった。
 - ・ 0.7 = 消化管末端部で微生物が利用できる経口投与量の割合
17. 乾乳シーズンにおける投与との関連で実施された消失試験では、乾乳期間が 19 日以上であった場合、全可食組織中の残留量は分娩後 24~72 時間で 300 $\mu\text{g/kg}$ 以下であった。また、乾乳期間が 30 日以上の場合、分娩後 2 回目の搾乳での乳中の残留物は 30 $\mu\text{g/L}$ 以下であった。同様に泌乳牛への投与との関連で実施された消失試験では、全可食組織中の残留物は休薬後 72 時間で 300 $\mu\text{g/kg}$ 以下で、乳中の残留物は休薬後 4 回目の搾乳以降は休薬後 30 $\mu\text{g/L}$ 以下であった。(訳注：項目番号は原文どおり)
18. ウシ組織及び乳中のナフシリンの測定について検証された分析方法は、ISO 78/2 形式で示されており、HPLC の後、寒天内拡散法による微生物学的分析をベースとした方法でナフシリンの定量を行うものである。検出限界は、乳については 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 、可食組織については 0.6~1.1 $\mu\text{g/kg}$ であった。定量限界は、乳については 5 $\mu\text{g/kg}$ 、可食組織については 10 $\mu\text{g/kg}$ であった。

結論と勧告: (原文、4 ページ)

下記を考慮した結果:

- ナフシリンの微生物学的 ADI は 4.4 µg/kg 体重(すなわち 264 µg/ヒト)と設定した。
- 親化合物は乳と全ての可食組織について適切な標識残留物とみなされる。
- 検証されたルーチン分析法が入手可能であった。
- ナフシリンは乳房内投与のみ用いられる。

委員会は下記の表に従いナフシリンを理事会規則(EEC)No 2377/90 の付録 I に含めることを勧告する。

薬理学活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的組織	その他規定
ナフシリン	ナフシリン	ウシ	300 µg/kg	筋肉	乳房内の使用のみ
			300 µg/kg	脂肪	
			300 µg/kg	肝臓	
			300 µg/kg	腎臓	
			30 µg/kg	乳	

これらの MRL 値に基づき、総残留物の最大一日摂取量は 195 µg/日であり、微生物学的 ADI 264 µg/ヒトの 74%相当と推定された。

原文目次

SUMMARY REPORT(2) 1
Conclusions and recommendation..... 4

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
IU	International Unit	国際単位
MIC	minimal inhibitory concentration	最小発育阻止濃度
MRL	Maximum residue level	残留基準

ナフシリンの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : EMA, Nafcillin (Extension to all ruminants): Summary report (3) - Committee for Veterinary Medicinal Products))

一覧表に記入すべき毒性情報はなかった。

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)

動物医薬品委員会

ナフシリン
(全ての反芻動物に拡大)

サマリーレポート (3)

(原文、1 ページ)

1. ナフシリンは、6-アミジノペニシラン酸 (6-amidinopenicillanic acid) の誘導体で、すなわち半合成のペニシリナーゼ抵抗性ペニシリンで、ファミリーにはメチシリンやイソキサゾリル系ペニシリンのオキサシリン、クロキサシリンやジクロキサシリンなどがある。この化合物は乾乳期のウシの無症候性乳腺炎の治療と乳腺炎の予防(単回投与)と、泌乳牛の乳腺炎の治療(推奨用法：炎症のある部分に1日1回、3日間連続投与)の乳房内注入剤の活性成分である。現在市販の製品は、3グラムの用量あたりナフシリン(100 mg)をナトリウム水和物として、ペニシリン(300,000 IU)、ジヒドロストレプトマイシン(100 mg)を含有する。

現在ナフシリンは次のとおり委員会規則(EEC)No 2377/90の附属書Iに含まれる。

薬理学活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的組織	その他規程
ナフシリン	ナフシリン	ウシ	300 µg/kg 300 µg/kg 300 µg/kg 300 µg/kg 30 µg/kg	筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 乳	乳房内の用法のみ

遅効性製品の乳房内投与後の MRL をヒツジに拡張する申請書が提出されている。ナフシリン含有の動物医薬品(ナトリウム水和物としてのナフシリン 100 mg とジヒドロストレプトマイシン 100 mg)は、乾乳期のヒツジの無症状性乳腺炎の治療と乳腺炎予防を対象としている。

2. 臨床的に正常な乳房を有する妊娠雌羊 94 頭に、乾乳期前の最後の搾乳の直後に、上記の乳房内投与剤(ナフシリン 100 mg をナトリウム水和物として)を、1 乳頭に 1 チューブ(3 g)投与した。ナフシリンの微生物学的定量法による測定のため(ペニシリナーゼとベータラクタマーゼによって確認される)各雌ヒツジの各乳房の乳サンプルが、分娩後 2、3、4、5、6 日目と離乳時に回収された。検出限界は 20 µg/l であった。乾乳期の平均期間は 112 日であった(85 日から 223 日の範囲)。乾乳期の長さや分娩と検体採取の間隔に係らず、全ての雌ヒツジの乳中のナフシリンの濃度は 20 µg/l 以下であった。
3. 泌乳ヒツジ 10 頭に対し、乾乳期前の最後の搾乳の直後に、上記の乳房内投与剤(ナフシリン 100 mg をナトリウム水和物として)を、2 つの乳房それぞれに 1 チューブ(3 g)投与した。投与 2、4、6、8、24、30、48、56、72、96、120、144、168 時間後に、血漿ナフシリン濃度を測定した。ナフシリンの残留物は検証された微生物学的方法を使って測定された(定量限界 0.150 µg/ml)。ナフシリンは投与後 30 時間後に 1 検体からのみ検出された(0.153 µg/ml)。その他全ての血漿の検体の測定値は定量限界以下であった。よって、ナフシリンは、乾乳期での乳房内投与用調剤の投与後、乳房から血流には非常に限られた程度で吸収される。
4. 非妊娠雌ヒツジ 20 頭に対し、乾乳期前の最後の搾乳の直後に、上記の乳房内投与剤を 2 つの乳房それぞれに 1 チューブ(3 g)投与した。2 頭のヒツジは未投与であった(陰性対照)。21、35、49、70、84 日目の各時点で 4 頭のヒツジを屠殺した。血漿、腎臓、肝臓、筋肉と脂肪の検体が回収され微生物

学的定量法でナフシリンを定量的に測定した。様々な器官の検出限界は 15～20 µg/kg の幅があった。ナフシリンはいずれの血漿、腎臓、肝臓、筋肉と脂肪の検体から、いずれの時点でも検出されなかった。しかしこの消失試験の最初のサンプリング時点は投与 21 日後だった。

5. 泌乳ヒツジ 10 頭に対し、乾乳期前の最後の搾乳の直後に、上記の乳房内投与剤を 2 分房それぞれに 1 チューブ(3 g)ずつ投与した。投与後、3 及び 7 日目に 5 頭のヒツジを屠殺した。筋肉、脂肪、肝臓、腎臓検体のナフシリン濃度を検証された微生物学的方法で測定した(定量限界は脂肪で 19.9 µg/kg、筋肉・肝臓・腎臓で 39.9 µg/kg であった)。ナフシリンの濃度は投与後 3 又は 7 日で屠殺されたヒツジの全ての肝臓、筋肉、脂肪検体で検出限界以下であったが、投与後 3 日で屠殺されたヒツジ 5 頭のうち 4 頭の腎臓検体(45.7 µg/kg～46.7 µg/kg の範囲)と、投与後 7 日で屠殺されたヒツジ 5 頭のうち 3 頭の腎臓検体(48.9 µg/kg～347 µg/kg の範囲)で検出された。
6. 臨床的に正常な乳房を有する 217 頭のヤギを試験に供した。乾乳期前の最後の搾乳直後に、上記の乳房内投与剤を 2 つの乳頭それぞれに 1 チューブずつ注入した。分娩後 1 日から 19 日の期間に各個体から 2 分房の合乳を採取した。乳検体中のナフシリンを微生物学的方法で測定した。検出限界は 15 µg/kg であった。乾乳期間は 61.0±14.3 日間(23 日～156 日の範囲)であった。ナフシリンは分娩 3 日後(60 日の乾乳期)のヤギ 1 頭(濃度：20 µg/kg)の乳検体からのみ検出された。
7. 筋肉、肝臓、腎臓、脂肪組織の抽出可能なナフシリン残留物の測定のために、申請者は HPLC を併用した微生物学的分析法(coupled HPLC/microbiological assay)をベースとしたルーチン分析法を開発した。この方法は完全に検証され、国際的に認知されたフォーマット(ISO 78/2 など)で十分に説明されている。ナフシリンの定量限界値は、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪で 150 µg/kg である。ナフシリンの検出限界値は、筋肉で 19 µg/kg、肝臓で 22 µg/kg、腎臓で 14 µg/kg、脂肪で 17 µg/kg である。

羊乳の分析法も提供された。同分析法は牛乳中のナフシリンを測定する分析法と同一で、HPLC とその後の寒天拡散法による微生物学的方法をベースとした方法でナフシリンの定量をするものである。同分析法は ISO78/2 形式で提出され、欧州共同体における医薬品に関する規則の 8 巻(Volume 8 of the Rules Governing Medical Products in the European Union)、および、マイナー動物種の最大残留基準値設定に対するガイダンスに関する注記(Note for Guidance on the establishment of maximum residue limits for minor animal species)(EMA/CVPM/153a/97-FINAL)の要求事項に従い検証された。同分析法の検出限界は 0.5 µg/kg、定量限界は 5 µg/kg だった。

他の動物種へのこれらの分析法の適用可能性の問題はないため、よってその観点から言うと他の反芻動物の組織と乳への外挿は可能である。

8. 「動物由来食品における動物用医薬品残留物に対するリスク分析方法」(Risk Analysis Approach for Residue of Veterinary Medicinal Products in Food of Animal Origin)(EMA/CVMP/187/00-Final) ガイドラインの適用において、ウシやヒツジの MRLs を他の反芻動物へ外挿することは可能であると考えられた。

結論と勧告:(原文、3 ページ)

下記を考慮した結果:

- ナフシリンの微生物学的 ADI は 4.4 µg/kg 体重(すなわち 264 µg/ヒト)と既に設定されている。
- 親化合物は乳及び全ての可食組織についての適切な標識残留物とみなされる。
- 乳を含むウシ及びヒツジの残留物をモニタリングするための検証されたルーチン分析法は入手可能で、同分析法は他の反芻動物へ適用可能であると考えられる。
- ナフシリンは乳房内投与のみが意図されている。

動物医薬品委員会はナフシリンの委員会規則(EEC)No 2377/90 の附属書 I に現在記載されているナフシリンを下記の表に従い変更することを勧告する。

薬理学活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的組織	その他規定
ナフシリン	ナフシリン	ウシ	300 µg/kg 300 µg/kg 300 µg/kg 300 µg/kg 30 µg/kg	筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 乳中	乳房内の使用のみ

これらの MRL 値に基づき、総残留物の最大一日摂取量は 195 µg/日、微生物学的 ADI の 74%相当と推定された。

原文目次

SUMMARY REPORT(3) 1
Conclusions and recommendation..... 3

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
IU	International Unit	国際単位
MRL	Maximum residue level	残留基準