【毒性学的影響のエンドポイントについて】

オフロキサシンについて実施された種々の毒性試験において、ラットの亜急性毒性試験については、10mg/kg 体重/日の投与群においても盲腸拡張が認められたため、これを毒性影響としてとらえると NOAEL は求められなかった。しかし、この盲腸の拡張は抗菌剤を投与されたラットや、人為的に腸内細菌を除去された無菌ラットにおいても一般的に認められる所見であり、抗菌剤の毒性影響というよりは腸内細菌叢の変動に伴う変化と考えられた。また、この変化はげっ歯類に特異的な反応であることから、毒性学的影響の指標としては適当でないと判断された。

毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、イヌの 8 日間の関節影響に関する特殊試験において認められた関節軟骨表面の水疱形成であり、NOAEL は 5.0mg/kg 体重/日であった。この知見は、キノロン剤の関節影響が幼若動物のみに認められること、イヌが感受性の高い動物種であることが知られていることから、オフロキサシンの毒性学的影響を評価する指標としては適当であると判断された。しかしながら、通常、イヌを用いて関節影響を評価する際には、通常 90 日という、感受性があると考えられる時期において有る程度の期間の試験が実施されているのに対し、本知見は 8 日間という短期間の試験から得られたものであることから、最終的な毒性の評価に際してはこれを考慮に入れる必要があるとされた。

【微生物学的影響のエンドポイントについて】

微生物学的影響の評価については、ヒトの腸内細菌叢への影響を十分に反映できる単独の試験法が確立されていない現状を考慮すると、得られている知見のうち最も適切と考えられるものを用いて微生物学的 ADI を設定する手法が妥当であると考えられる。オフロキサシンについての微生物学的影響については、*in vitro* の知見として MIC_{50}、*in vivo* の知見としてヒト臨床上の使用経験における有害影響、ヒトボランティアにおける 5 日間経口投与による臨床観察がある。

オフロキサシンについてはヒト臨床上において比較的長い使用経験がある。臨床における最も主要な副作用は消化器系への影響で、次いで頭痛、睡眠障害と言った中枢神経系の影響であった。これは健常男性ボランティアにおける 10 日間の投与試験でも同様であった。また、5 名の健常ボランティアにおける 5 日間の経口投与(200mg/ヒト、1 日 2 回)について微生物学的影響が検討されているが、この試験において糞便中に耐性菌は検出されず、嫌気性菌の総数にも変化は認められなかった。しかしながら、糞便中の嫌気性菌の割合に変化が認められ、さらに当初は 2/5 でしか認められなかった *Candida* spp. が投与 4 日目には全ての被験者から検出されるようになったため、400mg/ヒト/日のオフロキサシンの経口投与は、ヒト腸内細菌叢のコロニー形成耐性をかく乱したものと考えられ、NOEL は決定できなかった。

一方、*in vitro* の知見については、ヒト腸内細菌叢から検出される優勢菌種である *Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、*Eubacterium*、*Fusobacterium*、*Peptococcus* / *Peptostreptococcus* 等の偏性嫌気性菌、R-plasmid のリザーバーとなる可能性や乳幼児で優勢菌種となる可能性のある、*Enterococcus*、*E. coli*、*Lactobacillus* 等の通性嫌気性菌が微生物学的 ADI の設定に際して MIC_{50} を用いる場合に適切な菌種として国際的に推奨されており、食品安全委員会においても基本的にこれらを用いて評価を実施している。オフロキサシンについては、これらのヒト腸内に生息する可能性がある細菌のヒト臨床分離株について、公表論文から少なくとも 37 種 2164 菌株の MIC_{50} の情報が得られている。

これらの知見からは、0.5 μg/mL の濃度において *Eubacterium*、*Peptostreptococcus*、*Propionibacterium* の複数の菌種が影響を受けていた。最も低い MIC_{50} が報告されたのは *E. coli* であったが、*E. coli* についてはヒト腸内細菌の総細菌数に占める割合はごくわずか(0.1%程度)で、腸内細菌叢かく乱に対する寄与率は軽微

であること、一般的に高度に感受性か非感受性であることが多いことから、単独で微生物学的ADIの評価に用いる MIC_{50} として採用するべきではないとされており[(53),(54)]、また、*Bacteroides ureolyticus* group で 0.125 μg/mL、*Clostridium perfringens* (ウェルシュ菌)で 0.39 μg/mL の MIC_{50} が報告されているが、これらは他の 12 種の *Bacteroides* が全て 1μg/mL 以上であるのに対して著しい違いが認められ、さらにヒトボランティアの知見で *Bacteroides* への影響はほとんどなかったこと、またウェルシュ菌は食中毒菌であることから、いずれも単独で微生物学的 ADI の評価に用いるのは適切でないと考えられた。

これらのことから、現時点においてはオフロキサシンの微生物学的 ADI の算出に当たっては、*Eubacterium*、*Peptostreptococcus*、*Propionibacterium* における MIC_{50} の 0.5μg/mL を採用することが適当であると判断された。

なお、ニューキノロンはナリジクス酸等のオールドキノロンと比較して耐性を付与しにくいとされているが、耐性菌が出現する可能性は否定できない。この問題についての定性あるいは定量的評価には、別途のリスク評価が必要であると考えられるが、ニューキノロン剤のヒト医療上における重要性は明らかである。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

オフロキサシンについては、遺伝毒性発がん性を示さないと考えられ、ADI を設定することが可能である。

毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、幼若イヌを用いた 8 日間関節毒性試験における NOAEL 5mg/kg 体重/日であった。この知見から ADI を設定するにあたっては、種差 10、個体差 10 の安全係数 100 に加え、関節毒性試験の試験期間が短いこと、及び、発がん性/慢性毒性試験の知見がないこと等を総合的に考慮して 10 を適用し、ADI は 0.005mg/kg 体重/日と設定される。

一方、微生物学的影響について現時点で利用可能なものは *in vitro* の MIC_{50} のみであった。

結腸内容物に 220g、細菌が暴露される分画に 30%(尿中回収率より推測)、安全係数に 1、ヒト体重に 60kg を適用すると、

$$\mathrm{ADI\ (mg/kg\ 体重/日)} = \frac{0.0005\ (\mathrm{mg/mL}) \times 220\ (\mathrm{g})}{0.3 \times 1 \times 60\ (\mathrm{kg})} = 0.006\ \mathrm{mg/kg\ 体重/日}$$

となる。

毒性学的影響から導かれる ADI と微生物学的影響から導かれる ADI を比較すると、現時点においては毒性学的データから導かれた値がより小さくなり、感受性が高いと考えられることから、オフロキサシンの残留基準を設定するに際しての ADI としては、0.005 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

【食品健康影響評価について】

以上より、オフロキサシンの残留基準設定に係る食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。なお、本剤の再審査に係る評価については、薬剤耐性菌を介した影響について考慮する必要があり、これについては検討中である。

オフロキサシン 0.005 mg/kg 体重/日

本評価書中で使用した略号については次にならった

ADI	一日許容摂取量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中薬物濃度－時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック AMP
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C_{max}	最高血(漿)中濃度
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(→AST)
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(→ALT)
Hb	ヘモグロビン(血色素)
Ht	ヘマトクリット
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MCV	平均赤血球容積
MBC	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
$T_{1/2}$	消失半減期
TBIL	総ビリルビン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐容一日摂取量
TG	トリグリセリド
T_{max}	最高血(漿)中濃度到達時間

＜出　典＞

1. 動物用医薬品製造承認申請書(オフロキサシン)(未公表)
2. オフロキサシンの物理的化学的性質(未公表)
3. William 2001 ; 抗微生物薬　グッドマン・ギルマン　薬理書(下)　薬物治療の基礎と臨床　第 10 版; 廣川書店
4. 南新三郎　他 ; T-3761 の各種動物における吸収・分布・代謝及び排泄 (1995)
   Jap J Antibiotics : 1995(48), 626-641
5. J. Fung-Tomc, et al. (1989) ; In vitro and in vivo antibacterial activities of BMY 40062, a new fluoronaphtyridone
   Antimicrob Agents Chemother. : 1989 (33), No.6, 906-914
6. Yabe K, et al. (2001) ; A non-arthropathic dose and its disposition following repeated oral administration of ofloxacin, a new quinolone antimicrobial agent, to juvenile dogs
   J Vet Med Sci : 2001 (63), No.8, 867-72
7. DP-1764(Ofloxacin)の鶏吸排分布ならびに代謝物に関する試験(未公表)
8. R. Warlich, et al. (1990) ; Multiple-dose pharmacokinetics of ofloxacin in serum, saliva, and skin blister fluid of healthy volunteers
   Antimicrob Agents Chemother. : 1990 (34), No.1, 78-81
9. D. Israel, et al. (1993) ; Pharmacokinetics and serum bactericidal titers of ciprofloxacin and ofloxacin following multiple oral doses in healthy volunteers
   Antimicrob Agents Chemother. : 1993 (37), No.10, 2193-2199
10. Lockley MR, et al. (1984) ; The pharmacokinetics and tissue penetration of ofloxacin
    J Antimicrob Chemother. : 1984 (14), No.6, 647-52
11. H. Lode, et al. (1987) ; Pharmacokinetics of ofloxacin after parenteral and oral administration
    Antimicrob Agents Chemother. : 1987 (31), No.9, 1338-1342
12. DP-1764(液)の鶏残留性試験(その 1)(未公表)
13. DP-1764(液)の鶏残留性試験(その 2)(未公表)
14. 大野広志　他 ; 合成抗菌剤 DL-8280 のマウス、ラット、イヌおよびサルにおける急性毒性(1984)
    Chemotherapy : 1984(32), S-1, 1084-1090
15. DL-8280 の分解物、代謝物の急性毒性試験(未公表)
16. M. Kato, et. al. (1992) ; Acute oral toxicity of the new quinolone antibacterial agent　levofloxacin in mice, rats and monkeys
    Arzneim-Forsch : 1992 (42), 3a, 365-366
17. 小野寺威　他 ; 合成抗菌剤 DL-8280 のラットにおける 4 週間亜急性毒性(1984)
    Chemotherapy : 1984(32), S-1, 1091-1104
18. 加藤道幸　他 ; 合成抗菌剤 DL-8280 のラットにおける 26 週経口慢性毒性(1984)
    Chemotherapy : 1984(32), S-1, 1122-1141
19. M. Kato, et. al. (1992) ; Twenty-six-week oral toxicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in rats and cynomolgus monkeys
    Arzneim-Forsch : 1992 (42), 3a, 367-373
20. T. Kajimura, et. al. (1992) ; Effect of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin on multiple organ carcinogenesis initiated with wide-spectrum carcinogens in rats
    Arzneim-Forsch : 1992 (42), 3a, 390-395
21. DL-8280 の生殖試験－ラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験－(未公表)
22. DL-8280 の生殖試験－ラットにおける胎仔器官形成期投与試験－(未公表)
23. S. Takayama, et. al. (1986) ; Reproductive toxicity of Ofloxacin

Arzneim-Forsch：1986 (36(II)), Nr. 8, 1244-1248
24. 島田弘康　他；新合成抗菌剤 DL-8280 の変異原性に関する検討(1984)
Chemotherapy：1984(32), S-1, 1162-1170
25. DL-8280 の変異原性に関する検討　優性致死試験(未公表)
26. H. Shimada, et. al. (1992)；Mutagenicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin
Arzneim-Forsch：1992 (42), 3a, 378-385
27. DL-8280 ラット経口 7 日間関節毒性試験(未公表)
28. DL-8280 のラット関節軟骨に及ぼす影響　第 3 報：水疱形成の週齢差(未公表)
29. H. Sakai, et. al. (1994)；Nontoxic intravitreal dose of ofloxacin for rabbit retina
Ophthalmic res：1994 (26), 344-351
30. 小島浩　他；DL-8280 の一般薬理作用(1984)
Chemotherapy：1984(32), S-1, 1148-1161
31. MG Martens, et al (1991)；Susceptibility of female pelvic pathogens to oral antibiotic agents in patients who develop postpartum endometritis
Am J Obset Gynecol：1991 (164), 1383-1386
32. EJ C Goldstein and DM Citron (1991)；Comparative activity of ciprofloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, Temafloxacin, CI-960, CI-990, and WIN 57273 against anaerobic bacteria
Antimicrob Agents Chemother.：1992 (36), No.5, 1158-1162
33. EJ C Goldstein and DM Citron (1991)；Susceptibility of anaerobic bacteria isolated from intra-abdominal infections to ofloxacin and interaction of ofloxacin with metronidazole
Antimicrob Agents Chemother.：1991 (35), No.11, 2447-2449
34. K. Sato, et al. (1982)；In vitro and in vivo activity of DL-8280, a new oxazine derivative
Antimicrob Agents Chemother.：1982 (22), No.4, 548-553
35. Dirk L VC and Stefan RP (1984)；In vitro activity of ciprofloxacin compared with those of other new fluorinated piperazinyl-substituted quinolone derivatives
Antimicrob Agents Chemother.：1984 (25), No.4, 518-521
36. Prabhavathi BF, et al. (1986)；In-vitro and in-vivo potency of five new fluoroquinolones against anaerobic bacteria
J Antimicrobial Chemother.：1986 (18), 693-701
37. Lisa H and Harold CN (1987)；In vitro activity of two new aryl-fluoroquinolone antimicrobial agents, difloxacin (A-56619) and A-56620 compared to that of other antimicrobial agents
Chemotherapy：1987 (33), 28-39
38. Asbjφrn D and William LD (1988)；In vitro activity of A-56619 (difloxacin) and A-56620, two aryl fluoroquinolones
Chemotherapy：1988 (34), 298-307
39. RN Gruneberg, et al. (1988)；The comparative in-vitro activity of ofloxacin
J Antimicrobial Chemotherapy：1988 (22), Suppl. C, 9-19
40. AM Espinoza, et al (1988)；Comparative in vitro activity of a new fluorinated 4-quinolone, T-3262 (A-60969)
Antimicrob Agents Chemother.：1988 (32), No.5, 663-670
41. T Une, et al (1988)；In vitro activity of DR-3355, an optically active ofloxacin
Antimicrob Agents Chemother.：1988 (32), No.9, 1336-1340
42. L. Dubreuil, et al (1996)；Activé in vitro D'une nouvelle fluoroquinolone, la marbofloxacine (RO 09-1168) sur les anaérobies strcts et quelques bactéries de la flore fécale humaine

Path Biol : 1996 (44), 333-336

43. Y Fukuoka, et al (1993) ; In vitro and in vivo antibacterial activities of T-3761, an new quinolone derivative
Antimicrob Agents Chemother. : 1993 (37), No.3, 384-392
44. S Pecquet, et al (1987) ; Effect of oral ofloxacin on fecal bacteria in human volunteers
Antimicrob Agents Chemother. : 1987 (31), No.1, 124-125
45. Stein GE, et al (1991) ; Safety of multiple doses of ofloxacin in healthy volunteers
Drugs Exptl Clin Res : 1991 (XVII), 10/11, 525-529
46. RBlomer,et al (1986) ; Safety of ofloxacin – adverse drug reactions reported during phase-II studies in Europe and in Japan
Infection : 1986 (14), Suppl. 4, S332-S334
47. M Tanaka, et al. (2004) ; Absorption, distribution and excretion of ^{14}C-levofloxacin after single oral administration in albino and pigmented rats: binding characteristics of levofloxacin-related radioactivity to melanin in vivo.
J Pharm Pharmacol. : 2004 Apr; 56(4), 463-9.
48. K Marutani, et al. (1993) ; Reduced phototoxicity of a fluoroquinolone antibacterial agent with a methoxy group at the 8 position in mice irradiated with long-wavelength UV light
Antimicrob Agents Chemother. : 1993 (37), No.10, 2217-2223
49. Zhang T, et al. (2004) ; Compare two methods of measuring DNA damage induced by photogenotoxicity of fluoroquinolones.
Acta Pharmacol Sin. : 2004 Feb, 25(2), 171-5.
50. Ronald et, al. (1999) ; Photogenotoxicity of fluoroquinolones in Chinese hamster V79 cells: dependency on active topoisomerase II.
Photochem Photobiol. : 1999 Mar; 69(3), 288-93.
51. Scheife RT et, al. ; Photosensitizing potential of ofloxacin
Int J Dermatol. : 1993 Jun, 32(6) : 413-6
52. Yagawa K. ; Latest industry information on the safety profile of levofloxacin in Japan.
Chemotherapy. : 2001 (47) Suppl 3, 38-43, discussion 44-8.
53. WHO TRS 893 (2000)
54. EMEA (2002) ; REVISED GUIDELINE ON SAFETY EVALUATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES REGARDING THE EFFECTS ON HUMAN GUT FLORA

参考

動物用医薬品（オフロキサシンを有効成分とする鶏の飲水添加剤（オキサルジン液））の再審査に係る食品健康影響評価関する御意見・情報の募集結果について

１．実施期間　平成１７年９月２２日～平成１７年１０月１９日
２．提出方法　インターネット、ファックス、郵送
３．提出状況　１通（１通に複数意見の記載の場合あり）
４．主な御意見の概要及びそれに対する動物用専門調査会の回答

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
1	○2005年７月、米国FDAはオフロキサシンと同じフルオロキノロン剤であるエンロフロキサシンの家禽への承認の取り消しを命じた。これはカンピロバクター感染症の多くが家禽由来であること、そしてフルオロキノロン耐性のカンピロバクターが、エンロフロキサシン承認後増加していることによるものである。オフロキサシンは、エンロフロキサシンを含む他のフルオロキノロン剤と交差耐性を示す。フルオロキノロン剤はカンピロバクター症をはじめ重篤感染症の治療薬として必須であり、諸外国でヒト臨床上最も重要な薬剤に分類されている。 　食品安全委員会は耐性菌問題については別途ワーキンググループで検討を進めている。しかし、フルオロキノロン剤の家禽への承認を取り消したFDAの決定は重大であり、本剤については耐性菌問題をリスク評価の重要な観点のひとつとして評価書に盛り込むとともに、国内でのフルオロキノロン剤の家禽への使用の是非について、議論すべきである。さらに、キノロン剤耐性菌は国内でも増加の報告があり、食品安全委員会としてサーベイランスの実施の勧告を考慮すべきであると考える。	○オフロキサシンの耐性菌問題については、食品中に残留した薬剤の影響とは違った視点から実施されるものであり、必要とされる情報、評価方法とも異なることから、現時点で入手している情報から評価をすることはできません。しかしながら、当専門調査会においても検討課題であると十分に認識しており、評価に必要な資料の提出を求めているところです。また、これが明確になるよう別途のリスク評価が必要である旨を明記しました。ご指摘のＦＤＡ情報についても入手しておりますが、わが国ではキノロン剤の使用状況、耐性菌の発生状況等が米国とは異なるため、国内外からさらに情報を入手し、検討を実施することとしています。
2	○鶏の残留試験データについて 　オフロキサシンの鶏における残留データとして7日間経口投与試験の結果が引用されている。試験は2種行われており、結果は休薬期間内にそれぞれ0.02ppm、0.05ppmの定量限界未満となった。だが、現在整備が進められている農薬・動物用医薬品等のポジティブリスト制度(最終案)では、オフロキサシンは鶏について0.05ppmの暫定基準が設定されていることから、定量限界が0.05ppmの分析法では残留試験の情報として不十分であると考える。また、上記試験結果については未公表文献からの引用であり、評価書からだけでは詳細が読み取れない。薬剤濃度の経時変化や挙動、残留濃度またその個体間のばらつきなどが把握できるよう、詳細を記載していただきたい。	○専門調査会では残留基準(MRL)設定のためのADI設定について審議を行っており、それに基づく残留基準の設定についてはリスク管理機関の所管となります。管理の観点からの残留試験の定量限界やその分析法については残留基準設定時にリスク管理機関において詳細に検討されるものと考えております。
3	○暴露評価の必要性について 　リスク評価は、ADIを算出することにとどまらず、残留データなどから暴露評価を行い、それらを総合してリスクを判定することが求められる。JECFAは、ADI設定とともにMRLの勧告を行い、それらに基づき薬剤のADI比を評価している。その際用いる食品消費(摂取)量の設定には、人の健康保護の観点に沿った慎重な姿勢を示している。食品安全委員会はJECFAの見解をもとに食品摂取量設定の指針	

	を示すとともに、リスク管理機関が MRL を設定する際にその妥当性を判断するための薬剤の ADI 比を示すべきである。フルオロキノロン剤のように ADI が比較的小さい薬剤については MRL 設定に向けての情報や分析法の妥当性を評価することの重要度も増す。そのためには、残留データ、分析法に関する情報についての検討結果も評価に盛り込むことが必要であると考える。 参考資料:Procedures For Recommending Maximum Residue Limits- Residues Of Veterinary Drugs In Food (1987-1999), JECFA, Rome 2000	
4	○リスク管理機関への勧告について オフロキサシンは上述したとおり耐性菌の発生が懸念され、家禽への使用は望ましくない。特に飲水添加での使用方法では耐性菌の産生を防ぐことが難しいと思われる。現在、本薬剤の使用に当たっては、感受性の確認を行うこと、第一選択薬が無効の症例のみに使用することという制限がされており、慎重な管理が要求される。しかし、この間、動物用医薬品の無許可販売の実態が報道され、適正な管理が行き届いていない状況が明るみになった。改めて、リスク管理機関である農林水産省にオフロキサシンを含む動物用医薬品の適正かつ慎重な使用を行うよう注意喚起していただきたい。	○管理の徹底の必要性につきましては、そのような御指摘がありましたことを管理機関にお伝えします。