

(案)

動物用医薬品評価書

オルビフロキサシン

2013年8月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	4
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	4
○ 要約	5
I. 評価対象動物用医薬品の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況等	6
II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 薬物動態試験	7
(1) 薬物動態試験 (マウス)	7
(2) 薬物動態試験 (ラット)	7
(3) 薬物動態試験 (豚)	8
(4) 薬物動態試験 (牛)	12
2. 残留試験	13
(1) 残留試験 (豚、3日間飲水投与) ①	13
(2) 残留試験 (豚、3日間飲水投与) ②	14
(3) 残留試験 (豚、5日間筋肉内投与) ①	15
(4) 残留試験 (豚、5日間筋肉内投与) ②	16
(5) 残留試験 (牛、5日間筋肉内投与) ①	17
(6) 残留試験 (牛、5日間筋肉内投与) ②	18
(7) 残留試験 (乳汁、5日間筋肉内投与) ①	19
(8) 残留試験 (乳汁、5日間筋肉内投与) ②	20
3. 遺伝毒性試験	21
(1) 遺伝毒性に関する各種試験の結果一覧	21
(2) 光遺伝毒性	22
4. 急性毒性試験	23
5. 亜急性毒性試験	24
(1) 4週間亜急性毒性試験 (ラット)	24
(2) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)	25
(3) 10日間亜急性毒性試験 (イヌ(若齢))	26

(4) 30日間亜急性毒性試験（イヌ(若齢)）	27
6. 慢性毒性及び発がん性試験	27
(1) 2年間発がん性試験（ラット）	27
7. 生殖発生毒性試験	27
(1) 2世代生殖毒性試験（ラット）	27
(2) 発生毒性試験（ラット）	28
(3) 発生毒性試験（ウサギ）	28
8. 微生物学的影響に関する試験	29
(1) 臨床分離菌株に対する最小発育阻止濃度（MIC）（豚由来）	29
(2) 臨床分離菌株に対するMIC（ヒト由来）①	29
(3) 臨床分離菌株に対するMIC（ヒト由来）②	29
9. その他の試験	30
(1) 光毒性試験（マウス）	30
(2) 眼粘膜一次刺激性試験（ウサギ）	31
(3) 皮膚一次刺激性試験（ウサギ）	31
10. 一般薬理試験	31
III. 食品健康影響評価	32
1. 毒性学的影響について	32
(1) 遺伝毒性試験	32
(2) 亜急性毒性試験	33
(3) 慢性毒性及び発がん性試験	34
(4) 生殖発生毒性試験	34
(5) 光毒性	34
(6) 毒性学的ADIのエンドポイントの選択	34
2. 微生物学的影響について	34
3. 食品健康影響評価について	35
▪ 別紙：検査値等略称	36
▪ 参照	37

〈審議の経緯〉

- 2005年 4月 11日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 0411002 号）、関係資料の接受
- 2005年 4月 11日 第 90 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2005年 4月 26日 第 26 回動物用医薬品専門調査会
- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照 1）
- 2006年 7月 18日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 0718011 号）、関係資料の接受
- 2006年 7月 20日 第 153 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2008年 5月 23日 第 94 回動物用医薬品専門調査会
- 2013年 6月 11日 第 71 回肥料・飼料等専門調査会
- 2013年 8月 26日 第 486 回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006年6月30日まで)	(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)	(2012年7月1日から)
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

* : 2012年7月2日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

(2005年9月30日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 寺本 昭二
明石 博臣 長尾 美奈子
江馬 眞 中村 政幸
大野 泰雄 林 真
菅野 純 藤田 正一
嶋田 甚五郎
鈴木 勝士
津田 洋幸

(2007年2月11日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 津田 修治
明石 博臣 寺本 昭二
江馬 眞 長尾 美奈子
大野 泰雄 中村 政幸
小川 久美子 林 真
渋谷 淳 藤田 正一
嶋田 甚五郎 吉田 緑
鈴木 勝士

(2007年9月30日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 寺本 昭二
明石 博臣 長尾 美奈子
江馬 眞 中村 政幸
小川 久美子 林 真
渋谷 淳 平塚 明
嶋田 甚五郎 藤田 正一
鈴木 勝士 吉田 緑
津田 修治

(2008年3月31日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 寺本 昭二
今井 俊夫 頭金 正博
今田 由美子 戸塚 恭一
江馬 眞 中村 政幸
小川 久美子 林 真
下位 香代子 山崎 浩史
津田 修治 吉田 緑
寺岡 宏樹

(2009年9月30日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 寺本 昭二
今井 俊夫 頭金 正博
今田 由美子 戸塚 恭一
江馬 眞 中村 政幸
小川 久美子 能美 健彦
下位 香代子 山崎 浩史
津田 修治 吉田 緑
寺岡 宏樹

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2011年9月30日まで)

唐木 英明 (座長)
酒井 健夫 (座長代理)
青木 宙 高橋 和彦
秋葉 征夫 舘田 一博
池 康嘉 津田 修治
今井 俊夫 戸塚 恭一
江馬 眞 細川 正清
桑形 麻樹子 宮島 敦子
下位 香代子 元井 葎子
高木 篤也 吉田 敏則

(2011年10月1日から)

唐木 英明 (座長)
津田 修治 (座長代理)
青木 宙 高橋 和彦
秋葉 征夫 舘田 一博
池 康嘉 戸塚 恭一
今井 俊夫 細川 正清
江馬 眞 宮島 敦子
桑形 麻樹子 山中 典子
下位 香代子 吉田 敏則

要 約

フルオロキノロン系合成抗菌剤である「オルビフロキサシン」(CAS No.113617-63-3)について、動物用医薬品製造承認申請書及びその添付資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、薬物動態(マウス、ラット、豚及び牛)、残留(豚及び牛)、遺伝毒性、急性毒性(マウス及びラット)、亜急性毒性(ラット及びイヌ)、発がん性(ラット)、生殖発生毒性(ラット及びウサギ)、微生物学的影響等に関する試験成績である。

オルビフロキサシンは各種遺伝毒性試験において、*in vitro*試験の一部で陽性結果が得られたものの、*in vivo*試験の結果はいずれも陰性であり、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。また、*in vitro*及び*in vivo*の光遺伝毒性試験の結果はいずれも陽性であったが、オルビフロキサシンの光遺伝毒性の発現の機序はDNAに直接作用するものではなく、生体にとって特段問題となる光遺伝毒性はないものと考えられた。

ラットを用いた2年間発がん性試験で発がん性はみられなかったことから、オルビフロキサシンは遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、一日摂取許容量(ADI)の設定は可能であると判断した。

各種毒性試験から、イヌを用いた30日間亜急性毒性試験における最小毒性量(LOAEL)12.5 mg/kg 体重/日をADI設定の根拠として採用するのが適切であると判断され、毒性学的ADIは、このLOAELに安全係数として1,000(種差10、個体差10並びにLOAELを用いること、根拠とする試験の試験期間が短いこと並びに慢性毒性及び発がん性試験の知見が不足していることによる追加の10)を適用し、0.013 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

微生物学的ADIはVICHの式により0.012 mg/kg 体重/日と算出された。

微生物学的ADIは毒性学的ADIよりも小さいことから、オルビフロキサシンのADIを0.012 mg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：オルビフロキサシン

英名：Orbifloxacin

3. 化学名

IUPAC

英名：1-cyclopropyl-7-[(3*S*,5*R*)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl]-5,6,8-trifluoro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid

CAS (No. 113617-63-3)

英名：*rel*-1-Cyclopropyl-7-[(3*R*,5*S*)-3,5-dimethyl-1-piperazinyl]-5,6,8-trifluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid

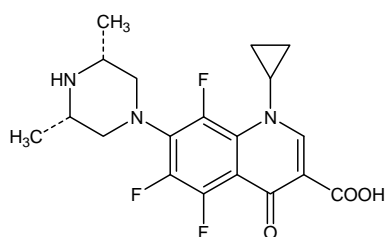
4. 分子式

C₁₉H₂₀F₃N₃O₃

5. 分子量

395.38

6. 構造式



(参照 2)

7. 使用目的及び使用状況等

オルビフロキサシンはキノリン骨格 6 位にフッ素を有するフルオロキノロン系合成抗菌剤である。1986 年に、キノリン骨格の 5 位及び 8 位にフッ素を導入することによって水溶性が高まること、キノリン骨格の 7 位にシス-3,5-ジメチルピペラジニル基を導入することにより強い抗菌力、広い抗菌スペクトルを有し、組織移行性が良好となるとともに安全性が高まることが判明し、オルビフロキサシンが見出された。(参照 3)

オルビフロキサシンは動物用医薬品として開発された抗菌剤であり、ヒト用医薬品と

しては使用されていない。

日本では、動物用医薬品として牛の細菌性肺炎及び大腸菌性下痢症並びに豚の胸膜肺炎、マイコプラズマ性肺炎及び大腸菌下痢症を適応症とする注射剤が承認されている。今回、豚の胸膜肺炎、マイコプラズマ性肺炎及び大腸菌性下痢症を適応症とする飲水添加剤の製造承認が申請された。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が設定されている。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、動物用医薬品製造承認申請資料及びその添付資料等を基に、オルビフロキサシンの毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称を別紙に示した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（マウス）

マウス（系統等詳細不記載）にオルビフロキサシンを単回経口又は単回筋肉内投与（5 mg/kg 体重）し、薬物動態試験が実施された。

両投与経路における薬物動態パラメータを表 1 に示した。

平均血漿中濃度は、単回経口又は単回筋肉内投与共に投与 0.5 時間後に C_{max} （それぞれ 0.785 及び 2.01 $\mu\text{g/mL}$ ）に達し、吸収は速やかであった。血漿中 C_{max} は筋肉内投与の方が経口投与の約 2.56 倍の値を示したが、 $T_{1/2}$ は両投与経路で近似した値（それぞれ 0.756 及び 0.613 時間）であった。 AUC_{0-24} は筋肉内投与（2.52 $\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ）が経口投与（1.16 $\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ）の約 2.2 倍の値を示した。（参照 4）

表 1 マウスにおけるオルビフロキサシン投与後の薬物動態パラメータ

投与経路	薬物動態パラメータ			
	T_{max} (時間)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	$T_{1/2}$ (時間)	AUC_{0-24} ($\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$)
経口	0.5	0.785	0.756	1.16
筋肉内	0.5	2.01	0.613	2.52

(2) 薬物動態試験（ラット）

ラット（Wistar 系、雄、10 匹/時点/群）にオルビフロキサシンを単回経口投与（5 mg/kg 体重）又は単回筋肉内投与（5 mg/kg 体重）し、バイオアッセイにより経時的に血漿中濃度が測定された。採血は、経口投与では投与 0.5、1、2、4、6、8、10 及び 24 時間後、筋肉内投与では投与 0.25、0.5、1、2、4、6、8、10 及び 24 時間後に実施した。

単回経口投与及び単回筋肉内投与後の平均血漿中濃度を表 2 に示した。

両投与経路における血漿中濃度の推移は類似したパターンを示した。経口投与では、投与 0.5 時間後に C_{max} （2.22 $\mu\text{g/mL}$ ）に達し、投与 8 時間後には検出限界（0.116 $\mu\text{g/mL}$ ）未満となった。筋肉内投与でも、経口投与と同様 0.5 時間後に C_{max} （2.49 $\mu\text{g/mL}$ ）に達

¹ 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値（参照 1）

し、投与 8 時間後には検出限界未満となった。(参照 3)

表 2 ラットにおけるオルビフロキサシン単回経口投与及び筋肉内投与後の平均血漿中濃度 (µg/mL)

投与経路	投与後時間 (時間)						
	0.25	0.5	1	2	4	6	8
経口	NT	2.22	1.40	1.17	0.296	0.120	<0.116
筋肉内	2.44	2.49	1.74	0.997	0.279	0.090	<0.116

n=5 (採血は連続して行わないよう 5 匹ずつに分け行った)

投与量: 5 mg/kg 体重

NT: 測定せず

両投与経路におけるオルビフロキサシン投与後の薬物動態パラメータを表 3 に示した。 $T_{1/2}$ は経口投与で 1.31 時間、筋肉内投与で 1.15 時間とほとんど差がなく、 AUC_{0-24} も経口投与及び筋肉内投与でそれぞれ 4.85 及び 5.14 µg·h/mL で近似した値となった。

表 3 ラットにおけるオルビフロキサシン投与後の薬物動態パラメータ

投与経路	薬物動態パラメータ			
	T_{max} (時間)	C_{max} (µg/mL)	$T_{1/2}$ (時間)	AUC_{0-24} (µg·h/mL)
経口	測定不能*	2.22	1.31	4.85
筋肉内	0.5	2.49	1.15	5.14

n=5 投与量: 5 mg/kg 体重

*: T_{max} は投与 0.5 時間以内に C_{max} に達していたため測定不能とした

(3) 薬物動態試験 (豚)

①血漿中濃度確認試験 (単回飲水投与)

子豚 (交雑種(LWD)、約 2 か月齢、6 頭/時点) にオルビフロキサシン製剤を単回飲水投与 (オルビフロキサシンとして 5.0 mg/kg 体重(常用量)) し、経時的 (投与前、投与 0.5、1、2、4、6、8、10 及び 24 時間後) に血漿中濃度が測定された。

投与後の血漿中濃度を表 4 に示した。

血漿中濃度は投与 0.5 及び 1 時間後にそれぞれ 2.80 及び 2.81 µg/mL が認められ、その後漸減して投与 24 時間後には 0.14 µg/mL となった。薬物動態パラメータは 6 頭の平均で C_{max} が 3.01 µg/mL、 T_{max} が 0.75 時間、 AUC_{0-24} が 18.91 µg·h/mL、 $T_{1/2}$ が 4 時間であった。(参照 3)

表 4 豚におけるオルビフロキサシン製剤単回飲水投与後の平均血漿中濃度

平均血漿中濃度 (µg/mL)	投与後時間 (時間)							
	0.5	1	2	4	6	8	10	24
	2.80	2.81	2.32	1.56	1.00	0.74	0.54	0.14

n=6

投与量: オルビフロキサシンとして 5.0 mg/kg 体重

② 血漿中濃度確認試験（3日間飲水投与）

子豚（交雑種(LWD)、約2か月齢、3頭/時点）にオルビフロキサシン製剤を3日間飲水投与（オルビフロキサシンとして5.0 mg/kg 体重/日(常用量)）し、経時的（投与前、第1回投与0、3及び8時間後、第2回投与0及び8時間後、最終投与0、3、6、9、12、24及び36時間後）に血漿中濃度が測定された。

最終投与後の血漿中濃度を表5に示した。

投与期間中、血漿中濃度は三峰性の推移を示した（各回投与後濃度が一時的に上昇）。平均血漿中濃度は最終投与直後に最高濃度（1.14 µg/mL）を示した後漸減し、最終投与36時間後には1例が検出限界（0.02 µg/mL）未満、残り2例が0.02又は0.07 µg/mLとなった。

試験期間を通じて全身状態、食欲、糞便性状等一般状態に異常は認められず、投与に起因する異常も認められなかった。（参照3）

表5 豚におけるオルビフロキサシン3日間飲水投与後の平均血漿中濃度

平均血漿中濃度 (µg/mL)	最終投与後時間（時間）							
	投与前	0	3	6	9	12	24	36
	0.20	1.14	0.96	0.67	0.43	0.34	0.12	N.C.

n=3

投与量: オルビフロキサシンとして5.0 mg/kg 体重

N.C.: 1例が検出限界未満、2例が0.02又は0.07 µg/mLとなったため、算出されなかった。

③薬物動態試験（単回経口投与、単回及び5日間筋肉内投与）

豚（交雑種(LW)、去勢雄）にオルビフロキサシン²を単回強制経口投与（5 mg/kg 体重）、単回筋肉内投与（5 mg/kg 体重及びオルビフロキサシンとして2.5、5又は10 mg/kg 体重）及び5日間筋肉内投与（5 mg/kg 体重/日）し、バイオアッセイにより薬物動態試験が実施された。なお、尿中代謝物の検索はHPLCを用いて実施された。

採血は、経口投与では投与0.5、1、2、4、6、8、10及び24時間後に、筋肉内投与では投与0.25、0.5、1、2、4、6、8、10及び24時間後に各時点5頭を実施された。組織は単回筋肉内投与1、3及び6時間後に各時点2頭から採取された。糞及び尿は単回筋肉内投与後に代謝ケージにおいて採取された。（参照3）

a. 血漿中濃度

単回経口投与（5 mg/kg 体重）及び単回筋肉内投与（5 mg/kg 体重）後の平均血漿中濃度を表6に示した。単回経口投与及び単回筋肉内投与では、平均血漿中濃度は投与1時間後にそれぞれ1.81及び2.77 µg/mLに達し、投与10時間後にはそれぞれ0.658及び0.495 µg/mLに低下した。経口投与及び筋肉内投与の薬物動態パラメータについては、T_{max}はそれぞれ1.0及び0.8時間、C_{max}はそれぞれ1.88及び2.95 µg/mL、T_{1/2}はそれぞれ5.09及び3.53時間、並びにAUC₀₋₂₄はそれぞれ17.1及び17.4 µg・h/mLであった（表7）。

² 3用量の単回筋肉内投与試験のみオルビフロキサシン製剤を使用した。

表 6 豚におけるオルビフロキサシン単回強制経口及び単回筋肉内投与後の平均血漿中濃度 (µg/mL)

投与経路	投与後時間 (時間)								
	0.25	0.5	1	2	4	6	8	10	24
経口		1.28	1.81	1.77	1.60	1.22	0.816	0.658	NC*
筋肉内	1.86	2.70	2.77	2.45	1.81	1.11	0.726	0.495	<0.145

n=5 投与量: 5 mg/kg 体重

*: 算出せず。4例が検出限界 (0.075 µg/mL) 未満であった。

表 7 豚におけるオルビフロキサシン単回強制経口及び単回筋肉内投与後の薬物動態パラメータ

投与経路	薬物動態パラメータ			
	T _{max} (時間)	C _{max} (µg/mL)	T _{1/2} (時間)	AUC ₀₋₂₄ (µg · h/mL)
経口投与	1.0±0.3	1.88±0.02	5.09±0.31	17.1±0.59
筋肉内投与	0.8±0.1	2.95±0.16	3.53±0.09	17.4±0.54

n=5 投与量: 5 mg/kg 体重

異なる投与量 (オルビフロキサシンとして 2.5、5 又は 10 mg/kg 体重) の単回筋肉内投与試験における薬物動態パラメータを表 8 に示した。投与量と C_{max} 及び AUC との間には一次の相関が認められた。

表 8 豚におけるオルビフロキサシンの異なる投与量の筋肉内投与後の薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg 体重)	薬物動態パラメータ			
	T _{max} (時間)	C _{max} (µg/mL)	T _{1/2} (時間)	AUC ₀₋₂₄ (µg · h/mL)
2.5	1.0±0.0	1.58±0.06	3.33±0.14	9.06±0.38
5	0.8±0.1	3.43±0.37	3.37±0.30	19.4±1.40
10	1.4±0.2	5.91±0.14	4.23±0.10	42.6±1.64

n=5

5 日間筋肉内投与試験における第 1 回及び第 5 回投与後の薬物動態パラメータを表 9 に示した。第 1 回及び第 5 回投与後の薬物動態パラメータにほとんど差は認められなかった。

表 9 オルビフロキサシン 5 日間筋肉内投与した豚における第 1 回及び第 5 回投与後の薬物動態パラメータ

投与回数	薬物動態パラメータ			
	T _{max} (時間)	C _{max} (µg/mL)	T _{1/2} (時間)	AUC ₀₋₂₄ (µg · h/mL)
第 1 回	0.6±0.1	2.50±0.15	3.35±0.09	13.5±0.57
第 5 回	0.6±0.1	2.76±0.16	2.82±0.12	11.7±0.52

n=5

b. 組織中濃度

単回筋肉内投与（オルビフロキサシンとして 5 mg/kg 体重）の豚（2 頭/時点）において、血漿を含む各組織中濃度のピークは投与 1～3 時間後に認められ、腎臓（1 時間後：12.4 µg/g）、小腸内容物（3 時間後：8.95 µg/g）、肝臓（3 時間後：5.08 µg/g）の順に高く、心臓、肺、気管、脾臓、筋肉、皮膚、関節軟骨、鼻軟骨、鼻粘膜、扁桃腺、リンパ節及び小腸では、血漿中濃度（ピーク濃度：1 時間後-2.17 µg/g）とほぼ同等に認められた。なお、脳及び脂肪中濃度はそれぞれ血漿中濃度の 1/4～1/5 と低かった。また、胆汁では 4～11 µg/mL、膀胱内の尿中濃度は約 90～100 µg/mL で他の部位より高い濃度で認められた。

c. 尿及び糞中排泄

単回筋肉内投与（5 mg/kg 体重）の豚（3 頭）において、オルビフロキサシンは投与後 72 時間の尿及び糞中からそれぞれ 71.1 及び 9.12% が回収され、総排泄量は投与量の 80.2% であった。

d. 尿中代謝物

単回筋肉内投与（オルビフロキサシンとして 5 mg/kg 体重）の豚（2 頭）において、投与後 0～6 時間の尿中には 2.5% のグルクロン酸抱合体と 97.1% の未変化体が認められた。

④薬物動態試験（単回筋肉内投与）

子豚（交雑種(LWD)、雄：14 日齢、雌：2 日齢、計 3 頭）に ¹⁴C 標識オルビフロキサシンを単回筋肉内投与（5 mg/kg 体重、後肢大腿筋に投与）し、薬物動態試験が実施された。経時的（投与 0.25、0.5、1、2、4、8、10 及び 24 時間後）に血漿中放射活性濃度を液体シンチレーションカウンターにより測定した。また、糞及び尿を経時的（尿：投与後 0～6、6～24、24～48 及び 48～72 時間、糞：投与後 0～24、24～48 及び 48～72 時間）に採取し、尿中代謝物について TLC により分析した。（参照 3）

a. 血漿中濃度

平均血漿中放射活性濃度を表 10 に示した。¹⁴C 標識オルビフロキサシン投与後、血漿

中放射活性濃度は速やかに上昇した。投与 1 時間後に C_{max} (平均値 : 3.34 $\mu\text{g eq/mL}$) に達し、その後減少して投与 24 時間後には平均 0.12 $\mu\text{g eq/mL}$ となった。 $T_{1/2}$ は平均 5.01 時間、 AUC_{0-24} は平均 24.5 $\mu\text{g eq} \cdot \text{h/mL}$ であった。

表 10 豚における ^{14}C 標識オルビフロキサシン単回筋肉内投与後の平均血漿中放射活性濃度

平均血漿中濃度 ($\mu\text{g eq/mL}$)	投与後時間 (時間)								
	0.25	0.5	1	2	4	6	8	10	24
	2.75	3.12	3.34	2.84	2.04	1.43	1.04	0.75	0.12

n=3

投与量 : オルビフロキサシンとして 5 mg/kg 体重

b. 組織中分布

全身オートラジオグラフィーにより、投与 1 時間後に放射活性が大部分の組織に移行したことが確認された。投与 1 時間後の組織中放射活性濃度は輸尿管尿中に最も高く、次いで胃及び小腸内容物、ブドウ膜、関節及び気管軟骨、下顎、縦膜並びにリンパ節に高く認められた。膀胱、腎臓、肝臓、筋肉、消化管粘膜、鼻粘膜、肺、気管、脾臓、心臓等に血中濃度より高く認められたが、脳及び脊髄にはほとんど認められなかった。放射活性濃度は投与 6 時間後に多くの組織中で血中濃度に対応して低下し、投与 24 時間後には主要組織中からはほとんど消失したが、膀胱尿、大腸内容物及び各リンパ節中には認められた。

c. 尿及び糞中排泄

投与後 24 時間に投与放射活性の約 66%が尿中に、約 5%が糞中に排泄された。投与後 72 時間の放射活性の尿及び糞中平均排泄率はそれぞれ 82.5%及び 8.3%で合計 90.8%であった。

d. 尿中代謝物

投与後 0~6 及び 6~24 時間の尿のラジオクロマトグラムはほぼ同じで、平均 7.1%のグルクロン酸抱合体と平均 92.9%の未変化体が認められた。

⑤ 小腸及び小腸内容物の濃度確認試験

子豚 (交雑種(LWD)、約 2 か月齢、3 頭) にオルビフロキサシン製剤を 3 日間飲水投与 (オルビフロキサシンとして 5 mg/kg 体重/日) し、HPLC により小腸及び小腸内容物のオルビフロキサシン濃度を測定した。最終投与 6 日後における小腸及び小腸内容物中のオルビフロキサシン濃度はいずれも検出限界 (0.02 $\mu\text{g/g}$) 未満であった。(参照 3)

(4) 薬物動態試験 (牛)

①血漿中濃度 (単回筋肉内投与、単回皮下投与)

牛 (和牛 (品種不明) 及びホルスタイン種) にオルビフロキサシンを単回筋肉内又は

皮下投与 (5 mg/kg 体重/日) し、血漿中濃度を測定した。

牛におけるオルビフロキサシンの薬物動態パラメータを表 11 に示した。

和牛及びホルスタイン種の血漿中濃度は、筋肉内投与ではいずれも投与約 1 時間後に C_{max} (それぞれ 2.10 及び 1.96 $\mu\text{g/mL}$) に達し、 $T_{1/2}$ はそれぞれ 2.18 及び 2.38 時間、 AUC_{0-24} はいずれも 10.1 $\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ であった。皮下投与ではいずれの値も筋肉内投与とほぼ同じ値であった。(参照 4)

表 11 牛におけるオルビフロキサシン単回筋肉内及び皮下投与後の薬物動態パラメータ

動物種	投与経路	動物数	T_{max} (時間)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	$T_{1/2}$ (時間)	AUC_{0-24} ($\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$)
和牛	筋肉内	6	1.0±0.1	2.10±0.09	2.18±0.10	10.1±0.51
	皮下	3	1.2±0.4	1.90±0.03	2.08±0.10	8.77±0.72
ホルスタイン種	筋肉内	5	1.0±0.0	1.96±0.13	2.38±0.07	10.1±0.59
	皮下	5	1.2±0.2	2.18±0.09	2.13±0.11	10.7±0.43
平均	筋肉内	11	1.0±0.1	2.04±0.08	2.27±0.07	10.1±0.37
	皮下	8	1.2±0.2	2.08±0.08	2.11±0.07	9.95±0.49

②血漿中濃度 (5 日間筋肉内投与)

牛 (ホルスタイン種、6 頭) にオルビフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与 (5 mg/kg 体重/日) し、血漿中濃度を HPLC により測定した。

その結果、血漿中濃度は速やかに減衰し、各回の投与時とも投与 24 時間後には検出限界未満又は検出限界近くまで減少した。第 1 回及び第 5 回投与による $T_{1/2}$ はそれぞれ 4.7 及び 5.0 時間であった。(参照 4)

2. 残留試験

(1) 残留試験 (豚、3 日間飲水投与) ①

子豚 (交雑種(LW)、約 2 か月齢、去勢雄、3 頭/時点/投与群、1 頭/対照群) にオルビフロキサシン製剤を 3 日間飲水投与 (オルビフロキサシンとして 5 (常用量)又は 10 (2 倍量) mg/kg 体重/日、対照群には水道水を投与) し、残留試験が実施された。最終投与 1、5、6、7 及び 8 日後に組織中濃度を HPLC により測定した (検出限界: 0.02 $\mu\text{g/g}$)。

組織中の平均オルビフロキサシン濃度を表 12 に示した。5 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 1 日後に脂肪以外の各組織からオルビフロキサシンが検出されたが、最終投与 5 日後以降は全ての組織において検出限界未満となった。10 mg/kg 体重/日投与群では最終投与 1 日後には全ての組織でオルビフロキサシンが検出されたものの、5 mg/kg 体重/日投与群と同様最終投与 5 日後以降は全ての組織において検出限界未満となった。(参照 3)

表 12 豚におけるオルビフロキサシン 3 日間飲水投与後の平均組織中濃度① (µg/g)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後日数 (日)				
		1	5	6	7	8
5 (常用量)	筋肉	0.06	<0.02	<0.02	—	—
	肝臓	0.11	<0.02	<0.02	—	—
	腎臓	0.38	<0.02	<0.02	—	—
	脂肪	<0.02	<0.02	—	—	—
	小腸	0.06	<0.02	<0.02	—	—
	血漿	0.04	<0.02	<0.02	—	—
10 (2 倍量)	筋肉	0.18	<0.02	<0.02	—	—
	肝臓	0.33	<0.02	<0.02	—	—
	腎臓	1.00	<0.02	<0.02	—	—
	脂肪	0.04	<0.02	<0.02	—	—
	小腸	0.17	<0.02	<0.02	—	—
	血漿	0.12	<0.02	<0.02	—	—

n=3 —: 分析せず 検出限界: 0.02 µg/g

(2) 残留試験 (豚、3 日間飲水投与) ②

子豚 (交雑種、約 2 か月齢、雌雄、3 頭/時点/投与群、1 頭/対照群) にオルビフロキサシン製剤を 3 日間飲水投与 (オルビフロキサシンとして 0、5 又は 10 mg/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。最終投与 1、6、7、8 及び 9 日後 (投与 8 日後の採材は 10 mg/kg 体重/日投与群のみ) に組織中濃度を HPLC により測定した (検出限界: 0.02 µg/g)。

結果を表 13 に示した。最終投与 1 日後には、両投与群の全ての組織からオルビフロキサシンが検出されたが、最終投与 6 日後にはいずれの組織においても検出限界未満となった。(参照 3)

表 13 豚におけるオルビフロキサシン 3 日間飲水投与後の平均組織中濃度② (µg/g)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後日数 (日)				
		1	6	7	8	9
5 (常用量)	血漿	0.27	<0.02	<0.02	/	—
	肝臓	0.55	<0.02	<0.02		—
	腎臓	1.70	<0.02	<0.02		—
	脂肪	<0.02、<0.02、0.17*	<0.02	<0.02		—
	筋肉	0.27	<0.02	<0.02		—
	小腸	0.3	<0.02	<0.02		—
10 (2 倍量)	血漿	0.19	<0.02	<0.02	—	—
	肝臓	0.37	<0.02	<0.02	—	—
	腎臓	1.24	<0.02	<0.02	—	—
	脂肪	<0.02、0.03、0.09*	<0.02	<0.02	—	—
	筋肉	0.18	<0.02	<0.02	—	—
	小腸	0.18	<0.02	<0.02	—	—

n=3 —: 分析せず 検出限界: 0.02 µg/g

*: 検出限界未満の試料があったため、平均値ではなく試料ごとの濃度を記載

(3) 残留試験 (豚、5 日間筋肉内投与) ①

子豚 (交雑種(LW)、2~2.5 か月齢、雌雄、3 頭/時点/群) にオルビフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与 (オルビフロキサシンとして 5 (常用量) 又は 10 (2 倍量) mg/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。最終投与 1、3、7、10 及び 14 日後に組織中濃度を HPLC により測定した (検出限界: 0.02 µg/g 又は mL)。

結果を表 14 に示した。5 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 3 日後に全例が検出限界未満となった。10 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 7 日後に腎臓の 1 例から検出されたが、最終投与 10 日後にはいずれの組織からも検出されなかった。(参照 4)

表 14 豚におけるオルビフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の平均組織中濃度①

($\mu\text{g/g}$ 又は mL)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後日数 (日)				
		1	3	7	10	14
5 (常用量)	血漿	<0.02(2)、0.03*	<0.02	<0.02	/	/
	皮膚	0.03	<0.02	<0.02		
	脂肪	<0.02	<0.02	<0.02		
	筋肉	0.03	<0.02	<0.02		
	肝臓	0.06	<0.02	<0.02		
	腎臓	0.16	<0.02	<0.02		
	小腸	0.04	<0.02	<0.02		
	投与部位筋肉	0.06	<0.02	<0.02		
10 (2 倍量)	血漿	<0.02(2)、0.05*	<0.02	<0.02	—	—
	皮膚	<0.02、0.05(2)*	<0.02(2)、0.08*	<0.02	<0.02	—
	脂肪	<0.02(2)、0.02*	<0.02	<0.02	—	—
	筋肉	<0.02、0.02、0.08*	<0.02	<0.02	—	—
	肝臓	0.09	<0.02	<0.02	—	—
	腎臓	0.30	0.04	<0.02(2)、0.02*	<0.02	<0.02
	小腸	0.05	<0.02	<0.02	—	—
	投与部位筋肉	0.19	<0.02	<0.02	—	—

n=3 — : 分析せず 検出限界 : $0.02 \mu\text{g/g}$ 又は mL () : 例数

* : 検出限界未満の試料があったため、平均値ではなく試料ごとの濃度を記載

(4) 残留試験 (豚、5 日間筋肉内投与) ②

子豚 (交雑種(LWD)、1.5~2 か月齢、雌雄、3 頭/時点/群) にオルビフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与 (オルビフロキサシンとして 5 (常用量) 又は 10 (2 倍量) mg/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。最終投与 1、3、7 及び 10 日後に組織中濃度を HPLC により測定した (検出限界 : $0.02 \mu\text{g/g}$ 又は mL)。

結果を表 15 に示した。5 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 3 日後に筋肉、脂肪及び腎臓のそれぞれ 1 例から検出されたが、最終投与 7 日後には全例が検出限界未満となった。10 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 3 日後まで腎臓から検出されたが、最終投与 7 日後には全例が検出限界未満となった。(参照 4)

表 15 豚におけるオルビフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の平均組織中濃度②

($\mu\text{g/g}$ 又は mL)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後日数 (日)			
		1	3	7	10
5 (常用量)	血漿	0.13	<0.02	<0.02	—
	皮膚	0.11	<0.02	<0.02	—
	脂肪	0.05	<0.02(2)、0.02*	<0.02	<0.02
	筋肉	0.19	<0.02(2)、0.03*	<0.02	<0.02
	肝臓	0.35	<0.02	<0.02	—
	腎臓	1.1	<0.02(2)、0.02*	<0.02	<0.02
	小腸	0.21	<0.02	<0.02	—
	投与部位筋肉	0.20	<0.02	<0.02	—
10 (2 倍量)	血漿	0.16	<0.02	<0.02	—
	皮膚	0.13	<0.02	<0.02	—
	脂肪	0.07	<0.02	<0.02	—
	筋肉	0.22	<0.02	<0.02	—
	肝臓	0.52	<0.02	<0.02	—
	腎臓	1.3	0.02	<0.02	<0.02
	小腸	0.24	<0.02	<0.02	—
	投与部位筋肉	0.32	<0.02	<0.02	—

n=3 — : 分析せず 検出限界 : $0.02 \mu\text{g/g}$ 又は mL () : 例数

* : 検出限界未満の試料があったため、平均値ではなく試料ごとの濃度を記載

(5) 残留試験 (牛、5 日間筋肉内投与) ①

子牛 (ホルスタイン種、3~4 か月齢、雌 3 頭/時点/群) にオルビフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与 (オルビフロキサシンとして 5 (常用量) 又は 10 (2 倍量) mg/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。最終投与 1、3、7、10、14、21 及び 28 日後に組織中濃度を HPLC により測定した (検出限界 : $0.02 \mu\text{g/g}$ 又は mL)。

結果を表 16 に示した。5 mg/kg 体重/日投与群では、腎臓から最終投与 10 日後まで、投与部位筋肉からは最終投与 7 日後まで検出されたが、最終投与 14 日後には全例が検出限界未満となった。10 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 10 日後まで腎臓及び投与部位筋肉から検出されたが、最終投与 14 日後には全例が検出限界未満となった。(参照 4)

表 16 牛におけるオルビフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の平均組織中濃度①

($\mu\text{g/g}$ 又は mL)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後日数 (日)					
		1	3	7	10	14	21
5 (常用量)	血漿	<0.02	<0.02	—	—	—	—
	脂肪	<0.02	<0.02	—	—	—	—
	筋肉	<0.02(2)、 0.02*	<0.02	<0.02	—	—	—
	肝臓	0.04	<0.02	<0.02	—	—	—
	腎臓	0.16	<0.02、0.02、 0.03*	<0.02(2)、 0.02*	0.02	<0.02	<0.02
	小腸	0.02	<0.02	<0.02	—	—	—
	投与部位 筋肉	8.9	0.04	<0.02、0.04、 0.05*	<0.02	<0.02	—
10 (2 倍量)	血漿	0.02	<0.02	<0.02	—	—	—
	脂肪	<0.02	<0.02	—	—	—	—
	筋肉	0.04	<0.02	<0.02	—	—	—
	肝臓	0.08	<0.02	<0.02	—	—	—
	腎臓	0.37	0.05	<0.02(2)、 0.04*	<0.02、 0.03(2)*	<0.02	<0.02
	小腸	0.07	<0.02	<0.02	—	—	—
	投与部位 筋肉	7.2	1.7	0.17	<0.02(2)、 0.09*	<0.02	<0.02

n=3 — : 分析せず 検出限界 : $0.02 \mu\text{g/g}$ 又は mL () : 例数

* : 検出限界未満の試料があったため、平均値ではなく試料ごとの濃度を記載

(6) 残留試験 (牛、5 日間筋肉内投与) ②

子牛 (ホルスタイン種、104~116 日齢、雄 3 頭/時点/群) にオルビフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与 (オルビフロキサシンとして 5 (常用量) 又は 10 (2 倍量) mg/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。最終投与 1、3、7、10 及び 14 日後に組織中濃度を HPLC により測定した (検出限界 : $0.02 \mu\text{g/g}$ 又は mL)。

結果を表 17 に示した。5 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 7 日後に投与部位筋肉の 1 例から検出されたが、最終投与 10 日後にはいずれの組織からも検出されなかった。10 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 3 日後に、血漿及び筋肉を除く組織から検出されたが、最終投与 7 日後には全例が検出限界未満となった。(参照 4)

表 17 牛におけるオルビフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の平均組織中濃度②
($\mu\text{g/g}$ 又は mL)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後日数 (日)				
		1	3	7	10	14
5 (常用量)	血漿	<0.02	<0.02	—	—	—
	脂肪	<0.02(2)、0.06*	<0.02(2)、0.07*	<0.02	<0.02	—
	筋肉	<0.02、0.02(2)*	<0.02	<0.02	—	—
	肝臓	0.04	<0.02	<0.02	—	—
	腎臓	0.17	<0.02、0.02、 0.04*	<0.02	<0.02	—
	小腸	0.03	<0.02	<0.02	—	—
	投与部位 筋肉	0.65	<0.02、0.04、 0.06*	<0.02(2)、0.12*	<0.02	<0.02
10 (2 倍量)	血漿	0.06	<0.02	<0.02	—	—
	脂肪	<0.02、0.03、 0.05*	<0.02(2)、0.02*	<0.02	<0.02	—
	筋肉	0.10	<0.02	<0.02	—	—
	肝臓	0.14	<0.02、0.02、 0.03*	<0.02	<0.02	—
	腎臓	0.51	0.07	<0.02	<0.02	—
	小腸	0.11	<0.02、0.02、 0.03*	<0.02	<0.02	—
	投与部位 筋肉	11	<0.02、0.11、 2.0*	<0.02	<0.02	—

n=3 — : 分析せず 検出限界 : $0.02 \mu\text{g/g}$ 又は mL () : 例数

* : 検出限界未満の試料があったため、平均値ではなく試料ごとの濃度を記載

(7) 残留試験 (乳汁、5 日間筋肉内投与) ①

牛 (3 頭/時点/群) にオルビフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与 (オルビフロキサシンとして 5 (常用量) 又は 10 (2 倍量) mg/kg 体重/日) し、乳汁中の残留試験が実施された。投与前、最終投与 6 時間後以降 7 日後まで、1 日 2 回搾乳し、乳汁中濃度を HPLC により測定した (検出限界 : $0.02 \mu\text{g/g}$)。

結果を表 18 に示した。5 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 22 時間後まで全例から検出されたが、以後急激に減少し、最終投与 57 時間後には全例が検出限界未満となった。10 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 57 時間まで全例から検出されたが、最終投与 142 時間後には全例が検出限界未満となった。(参照 4)

表 18 牛におけるオルビフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の平均乳汁中濃度① (µg/g)

投与量 (mg/kg 体重/ 日)	投与前	最終投与後時間 (時間)					
		6	22	33	46	57	70
		0 日	1 日		2 日		3 日
5	<0.02	0.71	0.07	<0.02、 0.04、0.05*	<0.02(2) 0.02*	<0.02	<0.02
10	<0.02	0.97	0.24	0.16	0.09	0.07	<0.02、 0.06、0.08*
最終投与後時間 (時間)							
81	94	105	118	129	142	153	166
3 日	4 日		5 日		6 日		7 日
—	—	—	—	—	—	—	—
<0.02、 0.04、0.05*	<0.02、 0.04、0.05*	<0.02、 0.03、0.04*	<0.02、 0.03(2)*	<0.02(2)、 0.03*	<0.02	<0.02	—

n=3 — : 分析せず 検出限界 : 0.02 µg/g () : 例数

* : 検出限界未満の試料があったため、平均値ではなく試料ごとの濃度を記載

(8) 残留試験 (乳汁、5 日間筋肉内投与) ②

牛 (3 頭/時点/群) にオルビフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与 (オルビフロキサシンとして 5 (常用量) 又は 10 (2 倍量) mg/kg 体重/日) し、乳汁中の残留試験が実施された。投与前、最終投与 6 時間後以降 7 日後まで、1 日 2 回搾乳し、乳汁中濃度を HPLC により測定した (検出限界 : 0.02 µg/g)。

結果を表 19 に示した。5 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 54 時間後には全例が検出限界未満となった。10 mg/kg 体重/日投与群では、最終投与 54 時間後には 1 例からのみ検出され、最終投与 66 時間後には全例が検出限界未満となった。(参照 4)

表 19 牛におけるオルビフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の平均乳汁中濃度② (µg/g)

投与量 (mg/kg 体重/日)	投与前	最終投与後時間 (時間)			
		6	18	30	42
		0 日	1 日		2 日
5	<0.02	0.75	0.09	0.03	<0.02(2)、0.03*
10	<0.02	1.5	0.22	0.06	0.03
投与量 (mg/kg 体重/日)	最終投与後時間 (時間)				
	54	66	78	90	102
	2 日	3 日		4 日	
5	<0.02	<0.02	—	—	—
10	<0.02(2)、0.03*	<0.02	<0.02	—	—

n=3 — : 分析せず 検出限界 : 0.02 µg/g () : 例数

* : 検出限界未満の試料があったため、平均値ではなく試料ごとの濃度を記載

3. 遺伝毒性試験

(1) 遺伝毒性に関する各種試験の結果一覧

遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 20 及び 21 にまとめた。
(参照 3、5)

表 20 *in vitro* 試験

試験	試験対象	投与量	結果
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535、TA1537、TA98、 TA100	0.008、0.016、0.032、0.063、 0.125、0.25、0.5 µg/plate (±S9)、 プレート法	陰性
	<i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.016、0.032、0.063、0.125、 0.25、0.5、1.0 µg/plate (±S9)、 プレート法	陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	0.0063、0.0125、0.025、0.05、 0.1 µg/plate (±S9)、IMF 法	陰性
	<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.032、0.063、0.125、0.25、0.5 µg/plate (±S9)、IMF 法	陰性
染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来 (CHL/IU) 細胞	160、320、640、1,280 µg/mL ^a (-S9)、直接法	陽性 (640 µg/mL)
		585、1,170、2,340、4,680 µg/mL (±S9)、代謝活性法	陰性

a: 640 µg/mL で 48 時間処理した場合に染色体の構造異常を有する細胞が軽度増加した (陽性)。また、倍数性細胞の出現頻度を軽度に増加させた (疑陽性)。1,280 µg/mL では強い細胞毒性が認められ評価できなかった。

表 21 *in vivo* 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
小核試験	マウス骨髄細胞	100、200、400 mg/kg 単回腹腔内投与 ^b	陰性
		100 mg/kg/日 4日間腹腔内投与 ^b	陰性
不定期 DNA合成 試験	SD雄ラット肝細胞	500、2,000 mg/kg 単回経口投与 処理時間：投与2～3時間 ^c	陰性
		500、2,000 mg/kg 単回経口投与 処理時間：投与13～15時間 ^d	陰性

b：陽性対照としてマイトマイシンCを使用

c：陽性対照としてジメチルニトロソアミンを使用

d：陽性対照として2-アセチルアミノフルオレンスを使用

500 mg/kg 体重/日投与群において、陰性対照群と比較して5%水準で有意なネットグレイン数の増加が認められたが、背景データの範囲内の変動範囲であること、用量依存性が認められないことからDNA損傷性による結果とは断定されなかった。

上記のように実施された *in vitro* 試験で一部遺伝毒性が認められたが、*in vivo* 試験の結果はいずれも陰性であり、オルビフロキサシンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

(2) 光遺伝毒性

光遺伝毒性に関する *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 22 に示した。(参照 6、7)

表 22 オルビフロキサシンの光遺伝毒性試験

試験	試験対象	投与量	結果
染色体異常 試験 (<i>in vitro</i>)	チャイニーズハムスター肺由来 (CHL/IU) 細胞	非照射群 1.0、2.0、4.0 mg/mL 光照射群 0.00094、0.0019、 0.0038、0.0075、0.015、0.030 mg/mL	陽性 ^a
小核試験 (<i>in vivo</i>)	ヘアレスマウス (HR-1 系) 皮膚細胞	0、1、3、10、30 mg/kg ^b 単回経口投与	陽性 ^c

a：非照射群の 4.0 mg/mL 投与群及び光照射群では 0.0075 mg/mL 以上投与群で構造異常を有する細胞の有意な増加が見られた。光照射によって染色体異常を 50%誘発する濃度 (ED₅₀) は 12 µg/mL と推定された。オルビフロキサシンの CHL/IU 細胞に対する染色体異常の誘発は、光照射により増強されることが示された。

b：陽性対照試験 (塩酸ロメフロキサシン(25 mg/kg)投与)、陰性対照試験 (非照射群(10、30 mg/kg 投与)) を同時に実施。

c：30 mg/kg 投与群において小核出現頻度が有意に増加した。本試験の最大無作用量は 10 mg/kg と考えられた。

オルビフロキサシンを用いた *in vitro* 及び *in vivo* の光遺伝毒性試験の結果はいずれも

陽性であったが、染色体異常試験では 0.0075 mg/mL 以上投与群で、また小核試験では 30mg/kg 投与群でのみ異常が認められた。

フルオロキノロンの光遺伝毒性の主要な原因は、キノリン環 C8 位原子の活性化及び活性酸素・フリーラジカルであるとされている。

フルオロキノロンの光遺伝毒性の特性としては、キノリン環 C8 位にハロゲン基を有することにより光遺伝毒性が増強するとされ、C8 位にクロル基よりもフルオロ基を有する方が光照射による染色体異常誘発増強作用が強いことが報告されている。また、キノリン環 N1 位のシクロプロピル基が光遺伝毒性の増強に関与する可能性が推察される一方、C8 位にメトキシ基を導入することにより光毒性が減弱し、光照射による染色体異常誘発作用も減弱するという報告がある。

また、少ないながらフルオロキノロンの光発がん性に関する報告もあるが、ヒトで臨床的に使用した場合、血中濃度及び皮内濃度等から見積もっても、光発がん性の可能性は極めて小さいと結論付けられている。

オルビフロキサシンと同様キノリン環 C8 位にフルオロ基を有し、光遺伝毒性が強いと分類されるヒト用フルオロキノロンにはスパルフロキサシン及びロメフロキサシン等があり、*in vitro* 染色体異常試験及び *in vitro* 小核試験等で光遺伝毒性が確認されている。オルビフロキサシンはキノリン環 C8 位にフルオロ基を有することから光遺伝毒性を示す可能性は否定できないが、スパルフロキサシン及びロメフロキサシンにおいては、ヒトの皮膚における腫瘍やがんの発生に関する報告例はない。

また、スパルフロキサシンを用いた *in vitro* の小核試験において、スパルフロキサシンを含むフルオロキノロンによる光染色体異常はラジカルスカベンジャーにより抑制されないが、DNA トポイソメラーゼ II を不活化するアジ化ナトリウムにより抑制される。これらのフルオロキノロンの光遺伝毒性の発現の機序は活性酸素による作用ではなく、DNA 鎖切断に関与するトポイソメラーゼ II に対する作用に起因すると考えられている。オルビフロキサシンについても DNA に直接作用するものではなく、同様の機序であると推察される。現在は、遺伝毒性物質であっても DNA に直接作用しないものであれば閾値の設定は可能であると考えられている。

(参照 5、8、9)

上記の理由から、閾値の設定は可能であると考えられた。

4. 急性毒性試験

マウス (ICR 系、6 週齢、雌雄各 5 匹/群) 及びラット (SD 系、6 週齢、雌雄各 5 匹/群) を用いて、経口、筋肉内及び静脈内の 3 投与経路による急性毒性試験が実施された。結果を表 23 に示した。

マウス、ラットともに筋肉内投与による一般状態の変化はみられなかった。経口及び静脈内投与では、自発運動の減少や腹臥姿勢、振戦、間代性痙攣又は強直性痙攣など、中枢神経系への影響を示す徴候がみられたが、生存動物では投与翌日までに正常状態に回復した。死亡動物においても、ほぼ同様の变化及び死戦期呼吸、チアノーゼなどが認められた。(参照 3)

表 23 マウス及びラットにおけるオルビフロキサシンのLD₅₀

動物種 (系統、週齢)	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
		雄	雌
マウス (ICR 系、6 週齢)	経口	>2,000	>2,000
	筋肉内	>500	>500
	静脈内	250 (205~315)	283 (241~321)
ラット (SD 系、6 週齢)	経口	1,669 (1,324~3,696)	>2,000
		>2,000	>2,000
	筋肉内	>200	>200
		>200	>200
	静脈内	262 (223~299)	294 (263~325)
		233 (210~256)	270 (213~301)

5. 亜急性毒性試験

(1) 4 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、6 週齢、雌雄各 12 匹/群) を用いたオルビフロキサシンの 4 週間強制経口投与 (0、50、250 又は 750 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

750 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例が投与開始 21 日後に死亡し、被験物質によるものと考えられたが、断定はできなかった。

体重では、750 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与開始 3 日後以降、摂餌量の低下を伴う増加抑制が認められた。

眼科的検査では異常は認められなかった。

尿検査では、250 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で尿タンパク質及びケトン体の増加傾向が認められ、750 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で pH の低下傾向もみられた。また、尿沈渣では各投与群の雌雄で被験物質由来と考えられる多角形板状結晶又は針状結晶が観察された。

血液学的検査では、250 mg/kg 体重/日以上投与群の雌でリンパ球比率の高値と分節核球比率の低値が認められた。750 mg/kg 体重/日投与群の雄では APTT の短縮が認められ、雌では Hb 及び MCH の低値と WBC の増加が認められた。

血液生化学検査では、250 mg/kg 体重/日投与群の雄と 750 mg/kg 体重/日投与群の雌で Cl の減少が認められた。750 mg/kg 体重/日投与群の雄では、K の減少、Ca 及び P の増加、ALT 活性並びに A/G 比、Alb 比率及び α₂-Glob 比率の上昇と α₁-Glob 比率の低下が、雌では、Ca、Glu の増加及び BUN の減少がみられた。

剖検では、750 mg/kg 体重/日投与群の全例で盲腸の拡張が、雌雄の 1 ないし 2 例には腎臓の表面の不整、白色斑散在、肥大及び退色が認められた。250 mg/kg 体重/日投与群の雄 2 例でも盲腸の軽度な拡張が観察された。

臓器重量では、250 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 750 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で、肝臓、脾臓、腎臓及び盲腸 (内容物除去の前後) の絶対若しくは相対重量の増加又は増

加傾向が認められ、250 mg/kg 体重/日投与群の雌でも盲腸（内容物除去前）の絶対及び相対重量の増加がみられた。また、750 mg/kg 体重/日投与群の雄で胸腺の絶対及び相対重量の減少が認められた。

病理組織学的検査では、生存動物の肝臓、胸腺、脾臓及び腎臓において、投与に起因すると思われる影響が認められた。肝臓では小葉中心帯の肝細胞肥大や小葉周辺帯における肝細胞の空胞減少が 250 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄数例で認められた。胸腺では 750 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で萎縮がみられた。脾臓では 250 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で濾胞過形成がみられた。腎臓では 750 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で乳頭部における集合管上皮細胞の軽微な壊死、炎症性細胞浸潤及び尿管拡張を伴う集合管内結晶物が認められた。750 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例には、集合管上皮細胞や乳頭部の被覆上皮細胞内に軽微な硝子滴が観察された。（参照 3）

投与群に認められた盲腸所見は、抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類等の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

本試験の NOAEL は、50 mg/kg 体重/日と考えられた。

（2）13 週間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（SD 系、6 週齢、雌雄各 12 匹/群）を用いたオルビフロキサシンの 13 週間強制経口投与（0、50、150 又は 500 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。対照群及び 500 mg/kg 体重/日投与群には雌雄各 8 匹の 4 週間休薬による回復群が設定された。

投与期間及び回復期間を通じて、全ての投与群に死亡例及び一般状態の異常は認められなかった。

体重については、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与 3 日後に摂餌量低下を伴う低値を示したが、その後は対照群とほぼ同様に推移した。回復期間中は対照群を上回る体重増加量を示し、摂餌量は対照群に比較して増加した。

眼科的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

尿検査では、投与群の雌雄で沈渣中に多角形板状結晶又は針状結晶が観察された。150 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で尿タンパク質及びケトン体の増加傾向、150 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 500 mg/kg 体重/日投与群の雌で尿比重の高値がみられた。休薬後は 500 mg/kg 体重/日投与群で尿量の増加傾向がみられたが、多角形板状結晶及び針状結晶は観察されなかった。

血液学的検査では、150 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で Hb 及び Ht の減少が認められた。500 mg/kg 体重/日投与群の雄で RBC の減少、APTT の短縮、雌で Hb 及び Ht の減少、雌雄で白血球百分率のリンパ球比率の上昇及び分節核球比率の低下がみられた。休薬後、これらの変化はほぼ回復した。

血液生化学的検査では、投与群の雌雄で γ -Glob 比率の低下が認められ、500 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で ALP 活性の上昇又は上昇傾向、雄で Cre、Ca 及び P の増加が認められた。休薬後も ALP 活性の上昇と P の増加、 γ -Glob 比率の低下がみられた。

剖検では、500 mg/kg 体重/日投与群の雌雄ほぼ全例で盲腸の拡張が認められた。また、

雄の 5 例では腎臓に白色斑又は軽度な肥大がみられた。

臓器重量では、投与群の雌雄で内容物除去前又は除去後の盲腸の絶対及び相対重量の増加がみられた。さらに、500 mg/kg 体重/日投与群の雄では肝臓、腎臓及び精巣の絶対及び相対重量の増加、雌では肝臓及び腎臓の相対重量の増加が認められた。肝臓の相対重量の増加は 150 mg/kg 体重/日投与群の雄にもみられた。そのほか、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で胸腺の絶対重量の減少、心臓及び肺の相対重量の増加がみられた。休薬後においても盲腸重量の増加がみられた。

病理組織学的検査では、投与に起因する影響が、胃、肝臓、脾臓及び腎臓に認められた。胃では 150 mg/kg 体重/日以上投与群の雄又は雌で腺胃の腺腔拡張が認められた。肝臓では 150 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で小葉中心帯肝細胞の肥大又は空胞化がみられ、500 mg/kg 体重/日投与群の雄では小葉辺縁帯肝細胞の空胞が減少した。脾臓では、150 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で濾胞の過形成が増加した。また、軽微な髄外造血の亢進が 150 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で少数例にみられた。腎臓では 500 mg/kg 体重/日投与群の雌雄に軽度の間質性細胞浸潤が、雄にはさらに尿細管の拡張が認められた。また、尿細管の好塩基性変化が 150 mg/kg 体重/日以上投与群の雄に、軽度の尿細管上皮細胞の肥大が 500 mg/kg 体重/日投与群雌 1 例に認められた。回復群においてこれらの組織学的変化はいずれも回復又は回復傾向を示した。

本試験でみられた盲腸重量の増加や血液生化学的検査における γ -Glob 比率の低下については、被験物質の抗菌作用に関連した変化と考えられた。(参照 3)

投与群に認められた盲腸所見は、抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類等の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。本試験の NOAEL は 50 mg/kg 体重/日と考えられた。

(3) 10 日間亜急性毒性試験 (イヌ(若齢))

イヌ (ビーグル種、3 か月齢、雄 3 匹/群) を用いたオルビフロキサシン製剤 10 日間強制経口投与 (オルビフロキサシンとして 0、5、10 又は 25 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

一般状態では、10 mg/kg 体重/日以上投与群の各 1 例で一過性の嘔吐が認められたが、重篤な影響とは考えられなかった。

体重、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量では、投与に起因する影響は認められなかった。

剖検では、25 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で上腕骨近位端及び大腿骨近・遠位端、1 例で大腿骨遠位端関節軟骨の一部に水胞性病変が認められたが、関節液の増量は認められなかった。

病理組織学的検査では、25 mg/kg 体重/日投与群で肉眼的に変化が認められた 2 例に関節軟骨の水胞形成が認められた。

以前に実施した 4 か月齢の動物に 25 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間連続皮下投与した試験では関節障害はみられなかったが、本試験では、関節障害に対する感受性がより高いと考えられる 3 か月齢の動物に 25 mg/kg 体重/日の用量で連続経口投与することにより、運動障害は伴わないものの関節に病変が発現することが示された。(参照 5)

本試験の NOAEL は、10 mg/kg 体重/日と考えられた。

(4) 30 日間亜急性毒性試験 (イヌ(若齢))

イヌ (ビーグル種、8~10 週齢、雌雄各 4 匹/投与群、雌雄各 2 匹/対照群) を用いたオルビフロキサシンの 30 日間経口投与 (0、12.5 又は 25 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

一般状態では、投与群に関節障害が認められた。関節への影響 (手根部の内転、腫脹等) は投与開始 2 週後以降にほとんどの動物でみられた。

剖検では、12.5 mg/kg 体重/日投与群では異常は認められなかったが、25 mg/kg 体重/日投与群では複数の関節に異常を示す例が認められた。

病理組織学的検査では、関節における軟骨細胞の変性、壊死又は軟骨基質の顆粒状変性を始めとした、他のフルオロキノロン系の薬剤で誘発される変化と同様の関節障害に関連した病理組織病変が 25 mg/kg 体重/日投与群の全例と 12.5 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で認められた。(参照 5)

本試験の NOAEL は求められず、LOAEL は 12.5mg/kg 体重/日と考えられた。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

慢性毒性試験は実施されていない。

(1) 2 年間発がん性試験 (ラット)

ラット (SD 系、4 週齢、雌雄各 70 匹/群) を用いたオルビフロキサシンの 2 年間混餌投与 (0、20、80 又は 200 mg/kg 体重/日) による発がん性試験が実施された。また、投与期間中の血漿中オルビフロキサシン濃度を調べるために雌雄各 20 匹の群が各投与群に設定された。

投与に起因する明らかな臨床症状、体重変化、血液学的及び血液生化学的所見は認められなかった。

血漿中オルビフロキサシン濃度は、用量依存的に増加した。20 及び 80 mg/kg 体重/日投与群では試験期間を通じて濃度に性差は認められなかったが、200 mg/kg 体重/日投与群の雄では投与開始 50 週以降から、より高い濃度が認められ、蓄積性があると考えられた。

病理組織学的検査では、200 mg/kg 体重/日投与群において、雌で軽度の肝臓門脈周囲の線維化及び胆管過形成、雄では耳介軟骨病変 (auricular chondropathy) が認められた。

腫瘍性病変発生に投与による影響はみられなかった。(参照 5)

本試験の NOAEL は 80 mg/kg 体重/日と考えられた。発がん性はみられなかった。

7. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代生殖毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 30 匹/群) を用いたオルビフロキサシンの混餌投与 (0、20、50 又は 150 mg/kg 体重/日) による 2 世代生殖毒性試験が実施された。被験物質の投与

は、F₀及びF₁世代ともに交配前70日間及び交配開始後はそれぞれF₁及びF₂児離乳(生後21日)までの期間を通して行った。

20及び50 mg/kg体重/日では親及び児動物に関するいずれの指標にも投与の影響はみられなかった。150 mg/kg体重/日投与群の親動物において、F₁雌雄に有意な体重増加抑制が認められた。繁殖成績については、F₀及びF₁世代ともに被験物質投与の影響は認められなかった。

児動物では、150 mg/kg体重/日投与群において、死亡児数の増加(F₁)、生後4日の生存率低下(F₁及びF₂)及び生後4~21日の体重増加抑制(F₁及びF₂)がみられた。(参照5)

以上より、本試験におけるNOAELは親動物及び児動物ともに50 mg/kg体重/日と考えられた。

(2) 発生毒性試験(ラット)

ラット(SD系、24匹/群)にオルビフロキサシンを妊娠7~17日に強制経口投与(0、20、100又は500 mg/kg体重/日)し、妊娠21日に帝王切開して胎児を検査した。

母動物では、500 mg/kg体重/日投与群で摂餌量の減少を伴う体重増加抑制がみられた。剖検では胸腺の萎縮及び盲腸の拡張がみられ、下垂体、脾臓、盲腸及び卵巣重量に有意な増加、甲状腺及び胸腺重量に有意な減少が認められた。

胎児では、500 mg/kg体重/日投与群で、死亡吸収胎児数が有意に増加し、生存胎児に体重の減少と浮腫の発現率の増加が認められた。内臓観察では、500 mg/kg体重/日投与群で胸腺頸部残留の発現率が上昇した。骨格観察では、骨格変異と考えられる所見が各群にみられ、100 mg/kg体重/日以上投与群で13肋骨短小の発現率が上昇し、500 mg/kg体重/日投与群で波状肋骨及び胸椎体分離の発現率に上昇が認められたほか、第5胸骨分節、中足骨及び仙尾椎に骨化遅延が認められた。(参照3)

投与群に認められた盲腸所見は、抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類等の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。本試験におけるNOAELは、母動物で100 mg/kg体重/日、胎児では20 mg/kg体重/日であると考えられた。催奇形性はみられなかった。

(3) 発生毒性試験(ウサギ)

ウサギ(NZW種、16匹/群)にオルビフロキサシンを妊娠6~18日に強制経口投与(0、10、30又は100 mg/kg体重/日)し、妊娠28日に帝王切開して胎児を検査した。

母動物では、100 mg/kg体重/日投与群で投与期間初期に排糞量及び摂餌量の減少が観察され、投与期間中の体重増加に抑制傾向がみられた。10及び30 mg/kg体重/日投与群でも妊娠8日の摂餌量に有意な減少が認められたが、これらの投与群では一般状態や体重に変化がみられず、毒性影響とは考えられなかった。

胎児では、いずれの投与群においても生存及び発育に投与による影響は認められなかった。また、外表、内臓及び骨格の観察所見並びに奇形及び変異の発現にも投与による影響は認められなかった。(参照3)

本試験におけるNOAELは、母動物で30 mg/kg体重/日、胎児で100 mg/kg体重/日

と考えられた。催奇形性は認められなかった。

8. 微生物学的影響に関する試験

(1) 臨床分離菌株に対する最小発育阻止濃度 (MIC) (豚由来)

豚由来菌株 408 株に対するオルビフロキサシンの MIC を寒天平板希釈法 (*Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli*) 及び液体希釈法 (*Mycoplasma hyopneumoniae*) により測定した。結果を表 24 に示した。(参照 3)

表 24 豚由来菌に対するオルビフロキサシンの MIC₅₀

菌名	株数	MIC (µg/mL)	
		MIC ₅₀	範囲
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	77	≤0.0125	≤0.0125~0.78
<i>Pasteurella multocida</i>	52	0.025	≤0.0125~0.2
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	49	0.1	0.025~0.39
<i>Escherichia coli</i>	230	0.1	0.025~3.13

(2) 臨床分離菌株に対する MIC (ヒト由来) ①

ヒト由来菌株 64 株に対するオルビフロキサシンの MIC を微量液体希釈法により測定した。結果を表 25 に示した。(参照 5)

表 25 ヒト由来菌に対するオルビフロキサシンの MIC₅₀

菌名	株数	MIC (µg/mL)	
		MIC ₅₀	範囲
<i>Enterococcus</i> sp.	10	8	4~>128
<i>Escherichia coli</i>	10	0.13	≤0.06~>128
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	9	32	0.25~>128
<i>Bifidobacterium</i> sp.	10	32	16~>128
<i>Clostridium</i> sp.	10	8	0.5~16
<i>Bacteroides</i> sp.	11	16	4~64
<i>Fusobacterium</i> sp.	4	16	16~32

(3) 臨床分離菌株に対する MIC (ヒト由来) ②

平成 18 年度食品安全確保総合調査「動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査」(平成 18 年 9 月~平成 19 年 3 月実施)において、ヒト臨床分離菌株に対するオルビフロキサシンの約 5×10^6 CFU/spot における MIC が調べられている(表 26)。

表 26 ヒト臨床分離菌株に対するオルビフロキサシンの MIC₅₀

菌名	株数	MIC (µg/mL)	
		MIC ₅₀	範囲
通性嫌気性菌			
<i>Escherichia coli</i>	30	0.12	≤0.06->1
<i>Enterococcus</i> sp.	30	16	4->128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> sp.	30	32	4->32
<i>Fusobacterium</i> sp.	20	8	4-16
<i>Bifidobacterium</i> sp.	30	8	2-16
<i>Eubacterium</i> sp.	20	8	1-32
<i>Clostridium</i> sp.	30	16	16-32
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	30	4	2-8
<i>Prevotella</i> sp.	20	8	4-32
<i>Lactobacillus</i> sp.	30	128	16->128
<i>Propionibacterium</i> sp.	30	8	4-32

調査された菌種のうち、最も低い MIC₅₀ が報告されているのは *E. coli* の 0.12 µg/mL であり、MIC_{calc}³ は 3.373 µg/mL (0.003373 mg/mL) と算出された。(参照 10)

9. その他の試験

(1) 光毒性試験 (マウス)

マウス (BALB/cAnNCrlCrlj、雌、5 匹/群) にオルビフロキサシン製剤を単回強制経口投与 (0、10、30 又は 100 mg/kg 体重) し、光毒性試験が実施された。被験動物は被験物質の投与前に背部被毛を除毛され、投与後には UVA 波 (約 20 J/cm²) が照射され、経時的 (照射 4、24、48、72 又は 96 時間後) に耳介及び背部の皮膚反応、耳介厚及び一般状態を観察した。非投与対照群として各群 5 匹の触媒 (0.5 w/v%カルメロースナトリウム水溶液) 及び陽性対照物質 (塩酸ロメフロキサシン 100 mg/kg 体重) 投与群⁴ を設けた。また、100 mg/kg 体重投与群には非照射対照群を設けた。

皮膚反応では、100 mg/kg 体重投与群において、照射 4 時間後に全例の耳介及び背部皮膚で紅斑が、照射 24 時間後には全例の背部皮膚で浮腫が認められ、陽性率が 100% となった。その他の被験物質投与群では皮膚反応は観察されず、非照射対照群も変化は認められなかった。

耳介厚及び一般状態の観察では、非照射対照群、非投与対照群ともに変化は認められなかった。また、いずれの群でも体重増加の異常及び一般状態の変化は観察されなかった。

³ 試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90%信頼限界の下限值

⁴ 陽性対照群の全ての個体で、皮膚反応における光毒性の陽性率が 100% となることが試験成立の条件とされた。

なお、陽性対照物質投与群では照射 4 時間後に全例に紅斑が認められ陽性率は 100% となった。

以上より、本試験の条件下において 100 mg/kg 体重投与群で光毒性が認められた。(参照 5)

本試験の NOAEL は 30 mg/kg 体重/日と考えられた。

(2) 眼粘膜一次刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (日本白色種、4 か月齢、雄、6 匹) の左眼結膜囊内にオルビフロキサシン 5% 製剤 0.1 mL を単回投与し、角膜の損傷状態を検査した。また、その半数は投与 30 秒後に洗眼し、その効果も確認した。

その結果、結膜に投与 1 及び 24 時間後に発赤がみられ、腫脹を伴う例もみられたが、いずれも投与 48 時間以内に消失した。また、投与後洗眼した例では結膜に発赤はみられたが浮腫はみられず、洗眼により刺激性反応は軽減された。(参照 3)

(3) 皮膚一次刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (日本白色種、雄、6 匹) の除毛した背部皮膚にオルビフロキサシン 5% 製剤をリント布に 0.5 mL 塗り 4 時間適用した。

その結果、被験物質投与に起因する影響は全例で認められなかった。(参照 3)

10. 一般薬理試験

オルビフロキサシンの一般薬理作用を表 27 に示した。(参照 3)

表 27 オルビフロキサシンの一般薬理作用

試験項目	動物種 (匹数)	投与経路	投与量 (mg/kg 体重)	結果
一般状態	マウス (5)	筋肉内	100	作用なし
	イヌ (5)	筋肉内	15、30	15 mg/kg 体重：作用なし 30 mg/kg 体重：全例に投与直後から 投与 3 時間後までに軽度の振戦及び 投与 5 時間後まで嘔吐が発現
体温	ラット (5)	筋肉内	30、100	作用なし
	イヌ (3)	筋肉内	15、30	作用なし
血圧	イヌ (3)	筋肉内	筋肉内	作用なし
心拍数				
心電図				
アセチルコリン	モルモット (4)	添加	$3 \times 10^{-5} \sim 3 \times 10^{-4}$ (g/mL)	作用なし
ヒスタミン				作用なし
小腸炭末輸送能	マウス (5)	筋肉内	30、100	作用なし
胃液分泌	ラット (5)	筋肉内	30、100	作用なし
血小板凝集	モルモット (3)	添加	$3 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4}$ (g/mL)	3×10^{-5} g/mL：コラーゲン、ADP 凝集 に対して作用なし 1×10^{-4} g/mL：ADP 凝集を軽度抑制
血液凝固	ラット (3)	添加	$3 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4}$ (g/mL)	3×10^{-5} 、 1×10^{-4} g/mL：PT、APTT に 作用なし
尿量及び尿中 電解質排泄	生食負荷 ラット (5)	添加	3~100	3、10 mg/kg 体重：作用なし 30 mg/kg 体重：尿量、 Na^+ 、 Cl^- 排泄 量が減少傾向 100 mg/kg 体重： Na^+ 、 Cl^- 排泄量及 び Na^+/K^+ 値が減少、 K^+ 排泄量は増加

Ⅲ. 食品健康影響評価

1. 毒性学的影響について

(1) 遺伝毒性試験

① 遺伝毒性

遺伝毒性試験については、*in vitro* 試験として細菌を用いた復帰突然変異試験及び CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験が、*in vivo* 試験としてマウス骨髄細胞を用いた小

核試験及びラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験が実施された。*in vitro* 試験の一部で陽性結果が得られたものの、*in vivo* 試験の結果はいずれも陰性であり、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

②光遺伝毒性

光遺伝毒性については、*in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果はいずれも陽性であったが、染色体異常試験では 0.0075 mg/mL 以上投与群で、また小核試験では 30mg/kg 投与群でのみ異常が認められた。

オルビフロキサシンと同様にキノリン環 C8 位にフルオロ基を有し、光遺伝毒性が強いと分類されるヒト用フルオロキノロン系抗菌剤であるスパルフロキサシン及びロメフロキサシンでは、*in vitro* 染色体異常試験及び *in vitro* 小核試験等で光遺伝毒性が確認されている。オルビフロキサシンは、キノリン環 C8 位にフルオロ基を有することから光遺伝毒性を示す可能性は否定できないが、スパルフロキサシン及びロメフロキサシンにおいて、ヒトの皮膚における腫瘍やがんの発生に関する報告例がないこと、また、オルビフロキサシンの光遺伝毒性の発現の機序は DNA に直接作用するものではなく、DNA 鎖切断に関与するトポイソメラーゼ II に対する作用に起因すると考えられており、遺伝毒性物質であっても DNA に直接作用しないものであれば閾値の設定は可能と考えられることから、オルビフロキサシンは生体にとって特段問題となる光遺伝毒性はないものと考えられ、ADI の設定は可能であると判断した。

(2) 亜急性毒性試験

亜急性毒性試験については、ラットの 4 週間及び 13 週間経口投与試験並びにイヌの 10 日間及び 30 日間経口投与試験が実施された。これらの試験の中で、最も低い用量において認められた毒性は、3 か月齢のイヌを用いた 10 日間の経口投与試験でみられた関節病変であり、NOAEL は 10 mg/kg 体重/日投与群であったが、8~10 週齢のイヌを用いた 30 日間経口投与試験においても、最小用量投与群で関節病変がみられ、LOAEL は 12.5 mg/kg 体重/日であった。

オルビフロキサシンの毒性学的 ADI を設定するにあたっては、30 日間の経口投与試験が、10 日間の試験に比べてより若齢のイヌを用いた試験であり、試験期間も長期間であることから、この試験の LOAEL 12.5 mg/kg 体重/日を根拠として採用することが適切であると考えられた。

しかしながら、30 日間の試験期間も、亜急性毒性試験における試験期間としては比較的短いものであり、イヌに対するキノロン剤の関節影響に関しては、サラフロキサシンにおいて、14 日間の投与試験よりも 13 週間の投与試験で 5 倍程度強い毒性を示した報告⁵のあることを考慮する必要があると考えられた。

⁵ イヌ（3か月齢）を用いた 14 日間の経口投与試験における NOAEL が 50mg/kg 体重/日（参照 11）であるのに対し、イヌ（幼若(immature)）を用いた 13 週間の経口投与試験における NOAEL が 10mg/kg 体重/日（参照 12）という報告がある。

(3) 慢性毒性及び発がん性試験

慢性毒性及び発がん性試験については、ラットの 2 年間発がん性試験が実施された。雌で軽度の肝臓門脈周囲の線維化及び胆管の過形成が、雄で耳介軟骨病変がみられ、NOAEL 80 mg/kg 体重/日が得られた。発がん性はみられなかった。

(4) 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験については、ラットの 2 世代生殖毒性試験、ラットの発生毒性試験及びウサギの発生毒性試験が実施された。2 世代生殖毒性試験では、親動物で体重増加抑制が、児動物で死亡児数の増加、生後 1 及び 4 日の生存率の低下、体重増加抑制がみられ、NOAEL は親動物、児動物共に 50 mg/kg 体重/日であった。生殖毒性はみられなかった。ラットの発生毒性試験では、母動物で体重増加抑制及び臓器重量の変化が、胎児では骨格変異の発現率の上昇がみられ、NOAEL は母動物で 100 mg/kg 体重/日、胎児で 20 mg/kg 体重/日であった。ウサギの発生毒性試験では、母動物で体重増加抑制傾向がみられたが、胎児には投与の影響はみられず NOAEL はそれぞれ 30 及び 100 mg/kg 体重/日であった。いずれの試験でも催奇形性はみられなかった。

(5) 光毒性

光毒性試験として、マウスにオルビフロキサシンを単回経口投与後に UV を照射する試験が実施され、オルビフロキサシンの光毒性が確認された。最高用量投与群でのみ皮膚反応（紅斑及び浮腫）がみられ、NOAEL 30 mg/kg 体重/日が得られた。

(6) 毒性学的 ADI のエンドポイントの選択

オルビフロキサシンは、各種遺伝毒性試験において *in vitro* 試験の一部を除き陰性であること、また、光遺伝毒性試験では陽性であったが、DNA を直接損傷する作用は有しないと考えられることから、生体にとって特段問題となるような遺伝毒性は有しないと考えられ、発がん性も認められなかった。以上より、オルビフロキサシンは、遺伝毒性発がん物質ではなく、ADI の設定は可能であると考えられた。

各種毒性試験のうち最も低い毒性影響は、3 か月齢のイヌを用いた 10 日間の経口投与試験でみられた関節病変であり、NOAEL は 10 mg/kg 体重/日投与群であったが、より若齢であり、毒性影響が大きいと考えられる 8~10 週齢のイヌを用いた 30 日間亜急性毒性試験における関節への影響による、LOAEL 12.5 mg/kg 体重/日を ADI 設定の根拠として採用するのが適切であると判断された。毒性学的 ADI は、この LOAEL に安全係数として 1,000（種差 10、個体差 10 並びに LOAEL を用いること、根拠とする試験の試験期間が短いこと並びに慢性毒性及び発がん性試験の知見が不足していることによる追加の 10）を適用し、0.013 mg/kg 体重/日と設定することが適切であると考えられる。

2. 微生物学的影響について

VICH ガイドラインに基づく新たに試算を行うに足る詳細な知見が、平成 18 年度食品安全確保総合調査「動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査」から得られ

ており、この結果から微生物学的 ADI を算出することができる。

MIC_{calc} に 0.003373 mg/mL、細菌が暴露される分画として 1、結腸内容物 220 g、ヒト体重 60 kg を適用し、VICH の算出式により、

$$\text{ADI} = \frac{0.003373 \text{ (mg/mL)}^{*1} \times 220^{*2}}{1^{*3} \times 60^{*4}} = 0.012 \text{ mg/kg 体重/日}$$

*1：試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90 %信頼限界の下限值

*2：結腸内容物(g)

*3：経口用量として生物学的に利用可能な比率

オルビフロキサシンの経口投与における糞中回収率等に関する知見が得られないため、係数 1 を採用した。

*4：ヒト体重 (kg)

と算出された。

3. 食品健康影響評価について

オルビフロキサシンについては、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられることから、ADI の設定は可能であると考えられた。

微生物学的 ADI (0.012 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.013 mg/kg 体重/日) よりも小さいことから、オルビフロキサシンの ADI として次の値を採用することが適切と考えられる。

オルビフロキサシン 0.012 mg/kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

〈別紙：検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
ADP	アデノシン 2 リン酸
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
Alb	アルブミン
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT))
APTT	活性化トロンボプラスチン時間
AUC	血漿薬物濃度曲線下面積
BUN	血中尿素窒素
C _{max}	最高濃度
Cre	クレアチニン
Glob	グロブリン
Glu	グルコース (血糖)
Hb	ヘモグロビン (血色素) 量
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Ht	ヘマトクリット値
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
MCH	平均赤血球血色素量
MIC	最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50%最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
PT	プロトロンビン時間
RBC	赤血球数
T _{1/2}	消失半減期
TLC	薄層クロマトグラフィー
T _{max}	最高濃度到達時間
UV	紫外線
VICH	動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議
WBC	白血球数

〈参照〉

1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日 厚生労働省告示第 499 号）
2. The Merck Index, 14 th ed. 2006
3. 大日本製薬株式会社、ビクタス水溶散 25% 動物用医薬品製造承認申請書及び添付資料（未公表）
4. 大日本製薬株式会社、ビクタス、ビクタス注射液 5% 製造承認申請書添付資料概要（未公表）
5. 大日本製薬株式会社、「オルビフロキサシンを有効成分とする豚の飲水添加剤」の食品健康影響評価に係る補足資料（未公表）
6. （財）食品安全センター秦野研究所、オルビフロキサシンのチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる光染色体異常試験、2009
7. （財）食品安全センター秦野研究所、オルビフロキサシンのマウスを用いる光皮膚小核試験、2009
8. R Snyder and C Cooper : Photogenotoxicity of Fluoroquinolones in Chinese Hamster V79 Cells: Dependency on Active Topoisomerase II .Photochemistry and Photobiology, 1999; 69(3): 288-293
9. M Kirsch-Volders, M Aardema and A Elhajouji: Concepts of threshold in mutagenesis and carcinogenesis. Mutation Research, 2000; 464: 3-11
10. 食品安全委員会、平成 18 年度食品安全確保総合調査：動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査、2007 年
11. JECFA: Summary of Evaluation Performed , SARAFLOXACIN,1998
12. EMA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, SARAFLOXACIN, SUMMARY REPORT,2009