

(案)

飼料添加物評価書

エフロトマイシン

2010年9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
〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉	3
要 約	4
I. 評価対象飼料添加物の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 開発の経緯及び使用状況等	6
II. 安全性に係る知見の概要	6
1. 薬物動態試験（吸収、分布、代謝、排泄）及び残留試験	6
(1) 薬物動態試験（ラット）	6
(2) 代謝（ラット）	7
(3) 薬物動態試験（豚）	7
(4) 代謝（豚）	7
(5) 残留試験（豚）	8
(6) 残留試験（豚）	8
2. 急性毒性試験（マウス及びラット）	8
3. 亜急性毒性試験	9
(1) 13 週間亜急性毒性試験（マウス）	9
(2) 14 週間亜急性毒性試験（マウス）	10
(3) 14 週間亜急性毒性試験（ラット）	10
(4) 14 週間亜急性毒性試験（イヌ）	11
4. 慢性毒性及び発がん性試験	11
(1) 105 週間慢性毒性/発がん性試験（ラット）	11
(2) 94 週間発がん性試験（マウス）	12
5. 生殖発生毒性試験	12
(1) 繁殖毒性試験（ラット）	12
(2) 2 世代繁殖毒性試験（ラット）	13
(3) 催奇形性試験（マウス）	13
(4) 催奇形性試験（ラット）	13

(5) 繁殖試験 (豚)	14
6. 遺伝毒性試験	14
7. 飼養試験 (豚)	15
8. その他の知見	16
(1) 急性眼刺激性試験 (ウサギ)	16
(2) 急性皮膚刺激性試験 (ウサギ)	16
9. 薬理的試験	16
10. 微生物学的影響に関する試験	17
(1) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)	17
Ⅲ. 食品健康影響評価.....	17
1. 毒性学的 ADI について	17
2. 微生物学的 ADI について	18
3. ADI の設定について	18
4. 食品健康影響評価	19
〈別紙 1 検査値等略称〉	22
〈参照〉	23

〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示(参照1)
2008年 9月 12日 厚生労働大臣より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0912007号)
2008年 9月 25日 第255回食品安全委員会(要請事項説明)
2010年 4月 16日 第37回肥料・飼料等専門調査会
2010年 9月 30日 第349回食品安全委員会(報告)

〈食品安全委員会委員名簿〉

- | (2009年6月30日まで) | (2009年7月1日から) |
|----------------|---------------|
| 見上 彪 (委員長) | 小泉 直子 (委員長) |
| 小泉 直子 (委員長代理) | 見上 彪 (委員長代理*) |
| 長尾 拓 | 長尾 拓 |
| 野村 一正 | 野村 一正 |
| 畑江 敬子 | 畑江 敬子 |
| 廣瀬 雅雄 | 廣瀬 雅雄 |
| 本間 清一 | 村田 容常 |

* : 2009年7月9日から

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

- (2009年10月1日から)
- | | |
|--------------|-------|
| 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 葭子 |
| 高木 篤也 | 吉田 敏則 |

要 約

N-メチルヒドロキシピリドングリコシド系抗生物質である飼料添加物エフロトマイシン (CAS No.61288-15-1) について、飼料添加物指定時の試験成績等の抄録、FDA の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、薬物動態試験 (ラット及び豚)、残留試験 (豚)、急性毒性試験 (マウス及びラット)、亜急性毒性試験 (マウス、ラット及びイヌ)、慢性毒性及び発がん性試験 (ラット及びマウス)、生殖発生毒性試験 (マウス、ラット及び豚)、遺伝毒性試験、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

エフロトマイシンは、遺伝毒性試験の結果から生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられること、また、発がん性試験において発がん性は認められていないことから、ADI を設定することが可能であると判断された。

毒性試験において、最も低い用量で投与の影響が認められたと考えられる指標は、イヌを用いた亜急性毒性試験における雄の ALP の増加で、NOAEL は、10 mg(力価)/kg 体重/日であった。

毒性学的 ADI の設定に当たっては、この NOAEL に、安全係数として、種差 10、個体差 10 の 100 を適用し、ADI は 0.1 mg/kg 体重/日と設定された。

一方、微生物学的 ADI については、現時点において国際的コンセンサスが得られている VICH 算出式に基づいて 0.0018 mg/kg 体重/日と設定された。

この微生物学的 ADI (0.0018 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.1 mg/kg 体重/日) よりも小さく、毒性学的な安全性も担保していると考えられる。

以上より、エフロトマイシンの食品健康影響評価については、ADI として 0.0018 mg/kg 体重/日を設定した。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：エフロトマイシン

英名：Efrotomycin

3. 化学名

CAS (No.61288-15-1)

英名：31-*O*[6-deoxy-4-*O*-(6-deoxy-2,4-di-*O*-methylhexopyranosyl)-3-*O*-methylhexopyranosyl]-1-methylmocimycin

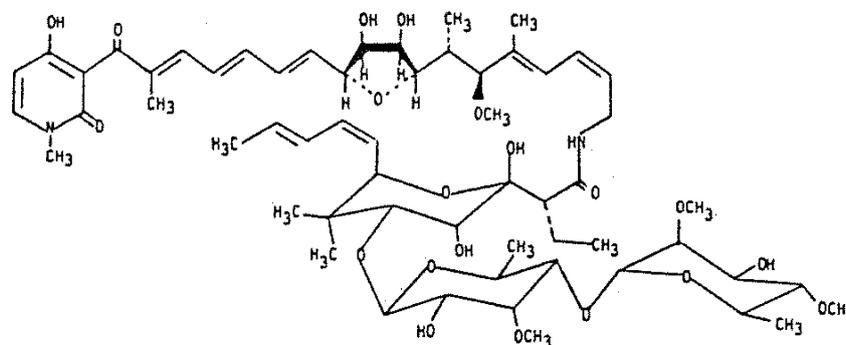
4. 分子式

$C_{59}H_{88}N_2O_{20}$

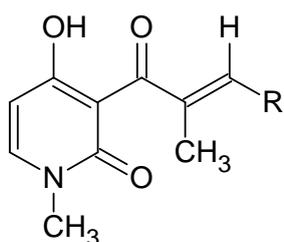
5. 分子量

1145.33

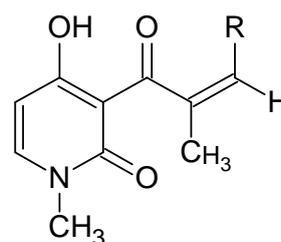
6. 構造式



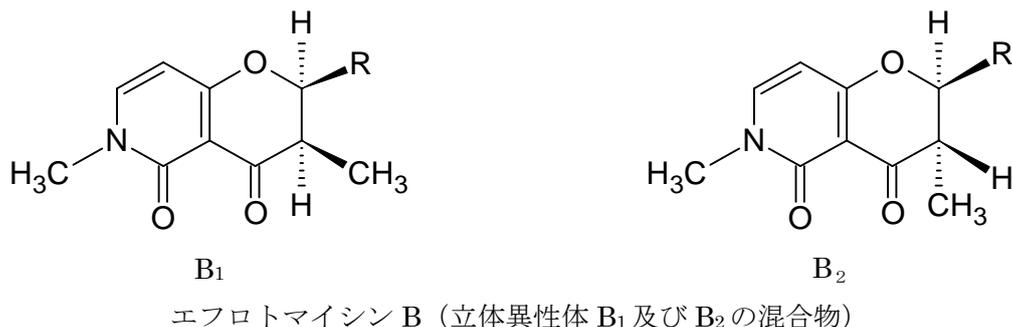
エフロトマイシン A₁



エフロトマイシン A₁ (E isomer)



エフロトマイシン A_z (Z isomer)



7. 開発の経緯及び使用状況等 (参照 2、3)

エフロトマイシンは、1976 年に *Nocardia lactamdurans* の培養液から発見された *N*-メチルヒドロキシピリドングリコシド系抗生物質である。

本品は、主としてグラム陽性菌に有効な狭範囲スペクトルの抗生物質で、*Salmonella*、*Escherichia*、*Bordetella* 等には活性を示さないが、家畜において重要な *Brachyspira hyodysenteriae*、*Clostridium perfringens* 等に有効であり、飼料添加物分野で開発されることとなった。

エフロトマイシンは、エフロトマイシン A₁ 及びその異性体であるエフロトマイシン Az 並びにエフロトマイシン B の混合物である。

エフロトマイシンの力価は、エフロトマイシン A₁ としての量を重量 (力価) で示す。

日本では、昭和 62 年に飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律 (昭和 28 年法律第 35 号) に基づき、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を用途とする飼料添加物として指定されている。海外においては、使用されていない。

また、動物用医薬品及びヒト用医薬品としては使用されていない。

なお、ポジティブリスト制度の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

本評価書は、飼料添加物エフロトマイシンの指定時の試験成績等の抄録、FDA の資料等をもとに毒性に関する主な知見を整理したものである。(参照 2、3)

1. 薬物動態試験 (吸収、分布、代謝、排泄) 及び残留試験

(1) 薬物動態試験 (ラット) (参照 2)

ラットを用いた ¹⁴C 標識エフロトマイシンの単回経口投与 (0.8 mg/kg 体重) 試験を実施した。

投与後 48 時間の糞及び尿を経時的に測定した結果、糞中へは投与量の 104.4 % が、尿中には、投与量の 4.7 % が排泄された。

¹ 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって新たに定められた残留基準値

ラットを用いて ^{14}C 標識エフロトマイシンをコールドキャリアーと共に単回経口投与 (500 mg/kg 体重) し、吸収、代謝及び排泄について調べた。

投与 6 時間後、4 %が尿中に排泄され、84 %が消化管内に存在していた。また、投与 6 時間後における臓器への移行率は、肝臓 1.2 %、血液 0.8 %、腎臓 0.3 %、筋肉 0.1 %及び脂肪では 0.0 %であった。全体の回収率は、91 %であった。

ラットを用いて ^{14}C 標識エフロトマイシン A_1 を経口投与 (0.8 mg/kg 体重) し、投与後 24 時間の胆汁を集めて分析を行った。

投与量の約 13 %が胆汁中に排泄され、その大部分は極性代謝物であり異性体のエフロトマイシン B は認められなかった。

(2) 代謝 (ラット) (参照 2)

ラットを用いて ^{14}C 標識エフロトマイシン A_1 をコールドキャリアーと共に単回経口投与 (500 mg/kg 体重) し、代謝物について調べた。

肝臓中では、約 70 %がエフロトマイシン A_1 のまま回収され、他は代謝物であった。

糞中では、エフロトマイシン A_1 が約 60 %、エフロトマイシン B が 24 %であり、尿中では、エフロトマイシン A_1 は約 14 %、極性代謝物が 67~86 %であった。

(3) 薬物動態試験 (豚) (参照 2)

豚を用いた ^{14}C 標識エフロトマイシンの 7 日間混餌投与 (16 ppm) 試験を実施した。

尿及び糞中のエフロトマイシンの濃度は投与開始 3 日後からほぼ一定 (糞中では約 10 ppm、尿中では 0.4 ppm) となり、投与を中止すると 2 日後から急減する傾向を示した。

排泄物からの回収率は、糞から 58~76 %、尿からは約 2 %であり、合計 60~78 %であった。

(4) 代謝 (豚) (参照 2)

豚を用いて ^{14}C 標識エフロトマイシン A_1 を 7 日間混餌投与 (16 ppm) し、代謝物について逆同位体希釈分析 (RIDA) により調べた。

豚に投与されたエフロトマイシン A_1 は、豚の消化管内で、約 20 %がエフロトマイシン B へ代謝される一方、吸収されたエフロトマイシン A_1 は肝臓や腎臓では、約 60~70 %がエフロトマイシン A_1 のまま存在し、残りはより極性の高い代謝物となることが判明した。エフロトマイシン B は臓器や尿中に認められないことから、この異性体は消化管から吸収されないものと推定された。

(5) 残留試験 (豚) (参照 2)

豚を用いたエフロトマイシンの 14 週間混餌投与 (16、80 及び 160 ppm) による残留試験を実施した。

投与 42 日目、休薬 0、1、3、5、7 日目の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸及び血清中のエフロトマイシン A₁ 濃度について HPLC により分析した。

16 ppm 投与群では、投与 42 日目及び休薬 0 日目ではほとんど検出されず、休薬 1 日目には全試料で検出限界 (0.03 ppm) 以下となった。

また、高濃度群 (80 及び 160 ppm 投与群) では、主として小腸、肝臓、血清等に約 1 ppm 以下が認められたが、休薬により急激に減少し、休薬 3 日目には全試料で検出限界以下であった。

これらの成績からエフトロマイシンを長期 (14 週間) にわたって連続投与しても、主要臓器・組織中には蓄積又は残留しないと考えられた。

(6) 残留試験 (豚) (参照 2)

豚を用いたエフロトマイシンの 7 日間混餌投与 (16 ppm) による残留試験を実施した。

休薬 6 時間、1、2、3 日目の筋肉、肝臓、腎臓及び血漿中のエフロトマイシン A₁ 濃度について HPLC により分析した。

休薬 6 時間後には、肝臓及び血漿を中心に 0.014~0.066 ppm の残留が認められたが、以後急激に減少し、休薬 1 日目には全臓器で検出限界 (0.01 ppm) 以下となった。

2. 急性毒性試験 (マウス及びラット) (参照 2)

マウス及びラットを用いたエフロトマイシンの急性毒性試験の結果を表 1 に示した。

表 1 急性毒性試験

動物	投与方法	投与量 mg/kg 体重	LD ₅₀ 値 mg/kg 体重	一般症状
マウス	経口	5,000 ~20,000	雄 約 15,600 雌 >20,000	20,000 mg/kg 体重投与群において、投与翌日に雄雌で振戦を、また、雄で投与 1 週間後に元気消失を認めた。
	腹腔内	840 ~2,400	雄 958 (649~1,413)	840 mg/kg 体重以上投与群で、投与 2 日後に活動低下、徐呼吸及び元気消失を認めた。 投与 1 週間後に生存マウスは、衰

			雌 927 (688~1,249)	弱を示し、その 23~80 %に体重減少がみられたが、1 例を除き次の 1 週間では全て体重増加を示した。 1,090 mg/kg 体重以上投与群では、投与 2 日後に眼瞼下垂、運動失調及び振戦を認めた。
ラット	経口	3,330 ~7,500	雌及び雄 >7,500	著変認めず。
	腹腔内	592 ~1,690	雄 1,582 (1,181~2,120) 雌 1,481 (1,122~1,955)	投与 2 時間以内に 1,690 mg/kg 体重投与群の雄で活動低下及び徐呼吸、雌で徐呼吸を認めた。投与 2 日後には、770 mg/kg 体重以上投与群で、活動低下及び徐呼吸、1,000 mg/kg 体重以上投与群で被毛粗剛様の所見、1,300 及び 1,690 mg/kg 体重投与群では、振戦及び運動失調を認めた。 投与 2 及び 3 日後に 1,000 mg/kg 体重以上投与群で衰弱がみられ、投与 8 日後には 1,000 及び 1,300 mg/kg 体重投与群の雄数例で腹部膨満がみられた。

3. 亜急性毒性試験

(1) 13 週間亜急性毒性試験 (マウス) (参照 2)

マウス (ICR 系、雌雄各 10 匹/群) を用いたエフロトマイシンの 13 週間混餌投与 (0、1,000、3,000、10,000 及び 30,000 ppm) による亜急性毒性試験を実施した。

一般症状、体重、摂餌量、食餌効率、被験物質摂取量、尿検査、血液学的、生化学的検査及び病理学的検査の各項目について検査した。

1,000 ppm 及び 3,000 ppm 投与群では、投与の影響はみられなかった。

10,000 ppm 以上投与群では、腎臓において尿細管上皮の変性が雌雄に、軽度の尿細管の拡張及び腎盂の拡張が雄にみられた。肝臓の絶対及び比重量の増加が雄にみられた。また、血小板数の増加が雌雄に、総コレステロール値の増加が雌にみられた。

30,000 ppm 投与群では、雌雄とも投与開始後一過性に摂餌量の減少に伴う軽度の体重減少及び食餌効率の低下がみられた。また、RBC、Hb、Ht の減少、脾臓の髓外造血亢進傾向、尿の酸性化傾向、肝臓の小葉中心性肝細胞腫大、尿タンパク及びウロビリノーゲンの減少及び心臓の比重量の減少傾向が雄に、血漿グロブリン及

び無機リンの増加、卵巣の絶対及び比重量の減少が雌にみられた。

なお、10,000 ppm 以上投与群の雄及び全投与群の雌にみられた組織病変を伴わない盲腸の拡張については、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判断した。

以上より、本試験における NOAEL は、3,000 ppm (雄 340 mg(力価)/kg 体重/日、雌 431 mg(力価)/kg/日) と考えられた。

(2) 14 週間亜急性毒性試験 (マウス) (参照 3)

マウス (ICR 系、雌雄各 15 匹/群) を用いたエフロトマイシンの 14 週間混餌投与 (0、0.5、1.0、2.0 及び 5.0 %) による用量設定試験を実施した。体重、摂餌量、臨床症状、剖検所見及び病理学的検査 (腎臓) の各項目について検査した。

2.0 及び 5.0 %投与群の雌雄で、糸球体腎炎及び尿細管上皮再生の発生数の増加が認められた。

以上より、本試験における NOAEL は、1.0 % (雄 1,720 mg(力価)/kg 体重/日、雌 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) と考えられた。

(3) 14 週間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 2)

ラット (SD 系、雌雄各 15 匹/群) を用いたエフロトマイシンの 14 週間混餌投与 (0、0.5、1.0、2.0 及び 5.0 %) による用量設定試験を実施した。体重、摂餌量、臨床症状、血液学的検査、尿検査及び病理学的検査の各項目について検査した。

2.0 %投与群の雄及び 5.0 %投与群の雌雄では、投与 1~4 週に体重増加抑制、摂餌量の低下及び糸球体腎炎が認められた。

5.0 %投与群では、RBC、Hb 及び Ht の軽度の減少、腎臓の比重量の増加、尿細管上皮の再生を含む腎臓病変が雌雄で認められた。

以上より、本試験における NOAEL は、1.0 % (雄 706 mg(力価)/kg 体重/日、雌 810 mg(力価)/kg 体重/日) と考えられた。

ラット (CRCD 系、雌雄各 15 匹/群) を用いたエフロトマイシンの 14 週間強制経口投与 (0、20、200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) による亜急性毒性試験を実施した。本試験では、5 の (1) の繁殖毒性試験 (p12) により得られた子宮内暴露を受けた児動物を無作為に抽出して用いた。臨床症状、体重、眼科検査、血液学的検査、生化学的検査及び病理学的検査の各項目について検査した。

200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群で投与に起因する流涎がみられ、2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群では苦悶反応も認められた。

剖検では、すべての投与群で病理組織学的所見を伴わない盲腸拡張がみられた。この盲腸拡張は、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判断された。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群で肝臓及び腎臓の絶対及び比重量の増加並びに精巢の絶対及び脳比重量の減少が認められた。

病理学的検査では、投与に起因する変化はみられなかった。

以上より、本試験における NOAEL は、20 mg(力価)/kg 体重/日であると考えられた。

(4) 14 週間亜急性毒性試験 (イヌ) (参照 2)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 3 匹/群) を用いたエフロトマイシンの 14 週間強制経口投与 (0、20、200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) 試験を実施した。臨床症状、体重、眼科検査、心電図検査、血液学的検査、生化学的検査、尿検査及び微生物学的検査の各項目について検査した。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群で嘔吐、軟便及び流涎が投与後 1~2 週に頻繁に認められた。

20 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群の雄及び 200 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雌で、投与 4 週後に ALP が増加し、試験終了時には、平均で 50~100 %の増加を示した。200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群では肝臓の絶対及び比重量の増加が雌雄にみられた。しかし、いずれの投与群においても肝臓の病理学的変化は観察されなかった。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群では、BUN 及びクレアチニンの増加が雌に、腎臓の尿細管拡張、皮質癒痕及び亜急性腎乳頭炎が雌雄にみられた。

以上より、本試験における NOAEL は、雌では 20 mg(力価)/kg 体重/日であると考えられたが、雄では特定できなかった。

上記試験において NOAEL が設定できなかったため、イヌ (ビーグル種、雌雄各 3 匹/群) を用いたエフロトマイシンの 14 週間強制経口投与 (0、2、5、10 及び 20 mg(力価)/kg 体重/日投与群) 試験を実施した。

20 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雄で腎臓の比重量の増加がみられたが、前回の試験では 2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群においても腎臓重量に影響が認められなかったため、投与に起因する影響ではないと考えられた。前回の試験でみられた ALP の増加は、最高用量の 20 mg(力価)/kg 体重/日投与群においても認められなかった。

上記二つの試験結果より、NOAEL は雄では 10 mg(力価)/kg 体重/日、雌では 20 mg(力価)/kg 体重/日であると考えられた。

4. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 105 週間慢性毒性/発がん性試験 (ラット) (参照 2、3)

ラット (CRCD 系、雌雄各 65 匹/群) を用いたエフロトマイシンの 105 週間混餌投与 (0、0.1、0.33 及び 1.0 %) 試験を実施した。このうち、雌雄各 15 匹/群を投

与 53 週後に屠殺して中間検査が行われた。臨床症状、体重、摂餌量、眼科検査、血液学的検査、血清生化学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査の各項目について検査した。

1.0 %投与群の雌で投与 52 週後において対照群と比べ約 10 %、投与 105 週後において約 20 %の有意な体重増加抑制がみられた。

0.33 %及び 1.0 %投与群の雌で投与 105 週後において慢性腎炎の発生増加がみられた。

その他の検査項目には、投与に起因する影響は認められなかった。

以上より、本試験における NOAEL は、雄では本試験の最高用量である 1.0 % (450 mg(力価)/kg 体重/日)、雌では 0.1 % (55 mg(力価)/kg 体重/日) と考えられた。

また、投与に起因する腫瘍の発生増加はみられず、発がん性は認められなかった。

(2) 94 週間発がん性試験 (マウス) (参照 3)

マウス (ICR 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたエフロトマイシンの 94 週間混餌投与 (0、0.1、0.33 及び 1.0 %) 試験を実施した。

臨床症状、体重、飼料摂取量、剖検及び病理組織学的検査の各項目について検査した。

1.0 %投与群の雄で投与開始約 50 週後から試験期間を通じて、死亡率のわずかな増加がみられた。

1.0 %投与群の雌雄で慢性腎炎の発生増加がみられた。

投与に起因する腫瘍の発生増加はみられず、発がん性は認められなかった。

5. 生殖発生毒性試験

(1) 繁殖毒性試験 (ラット) (参照 2)

ラット (CRCD 系、雌 12 匹/群) を用いたエフロトマイシンの強制経口投与 (0、20、200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) による繁殖毒性試験を実施した。被験物質の投与は、交配 14 日前より妊娠・授乳期間を通じて分娩 21 日後まで実施した。

母動物の一般症状、体重、交配率、生殖状況、妊娠期間、胎児の着床後生存率、発育、体重、外表、内臓及び骨格異常について検査した。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群で、妊娠 15 日から試験終了日まで流産が発生した。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群で、妊娠期間の有意な延長がみられ、これに起因したと考えられる児動物平均体重の有意な増加が認められた。

児動物の外表検査では 2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群 1 例で短躯がみられた。内臓検査では、同一児に多発性奇形 (馬蹄形腎、短縮尿管、精巣位置異常及び右副腎欠損) がみられた。また、死亡した児では、対照群 2 例に腰椎及び仙椎の欠損、対照群 1 例に脊椎骨間過剰化骨部位、2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群 1 例に頸椎の融合及び不整列がみられた。これらの変化は偶発的なものと考えられた。

(2) 2世代繁殖毒性試験 (ラット) (参照 2)

ラット (CRCD 系、雌雄各 30 匹/群) を用いたエフロトマイシンの混餌投与 (0、0.1、0.33 及び 1.0 %) による 2 世代繁殖毒性試験を実施した。1 世代につき 2 回分娩させた。

F₀ 及び F₁ 親動物については、臨床症状、体重、飼料摂取量、雌の繁殖状況等について検査し、F_{1a}、F_{1b}、F_{2a} 及び F_{2b} 児動物については、臨床症状、体重、摂餌量のほか、生存率、性比、性成熟等を調べた。

2 世代の繁殖を通じ、いずれの投与群においても繁殖、受胎、妊娠期間、新生児生存率、児動物の性比及び成長に何ら影響は認められなかった。また、剖検においても、生殖器、腎臓、膀胱に投与に起因する肉眼的及び病理組織学的変化は認められなかった。

(3) 催奇形性試験 (マウス) (参照 2)

マウス (CF₁S 系) の妊娠 6 から 15 日に、エフロトマイシンを強制経口投与 (0、20、200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) し、母動物の生存率、一般症状、体重、生殖状況、胎児の外表、内臓及び骨格異常について検査した。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群で、母動物の体重増加抑制傾向及び平均胎児体重の有意な減少がみられ、左眼の網膜皺 (胎児 2 例) が認められた。対照群を含む各群に外表、骨格又は内臓の異常が散見されたが、発現頻度に用量反応関係は認められず、対照群と投与群の間に有意差もみられなかった。

上記試験でみられた胎児の体重減少及び網膜皺が、被験物質投与により再現されるかを検討するために、マウス (CF₁S 系) の妊娠 6 から 15 日に、エフロトマイシンを強制経口投与 (0、20、200、1,000 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) し、母動物の生存率、一般症状、体重、生殖状況、胎児の外表、内臓及び骨格異常について検査した。

母動物については、1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例に死亡、対照群の 1 例に流産がみられた。母動物の体重増加抑制作用にも用量反応関係は認められず、その他の毒性症状も認められなかった。胎児についても投与の影響はみられなかった。

全投与群において、投与に起因する発生毒性/催奇形性は認められなかった。上記の試験結果は再現されなかった。

以上より、エフロトマイシンの最高 2,000 mg(力価)/kg 体重/日までの妊娠マウスへの投与において、催奇形性は認められなかった。

(4) 催奇形性試験 (ラット) (参照 2)

ラット (CRCD 系、雌 20 匹/群) の妊娠 6 から 15 日に、エフロトマイシンを強

制経口投与（0、20、200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日）し、母動物の生存率、一般症状、体重、生殖状況、胎児の外表、内臓及び骨格異常について検査した。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例で妊娠 16 日に強制経口投与による事故死が発生した。また、同群の平均胎児体重に有意な減少がみられた。全投与群で投与に起因する催奇形性は認められなかった。

(5) 繁殖試験（豚）（参照 2）

豚（ヨークシャー交雑種、11 週齢未経産雌、16 頭/群）を用いたエフロトマイシンの 112 日間（子豚期～仕上期）混餌投与（0 及び 16 ppm）試験を実施した。投与 2 ヶ月後に雄豚と交配させて、分娩 21 日後に試験を終了した。

雌親豚の臨床症状、体重、妊娠率、分娩率及び出生児の生存数、体重、一般症状等について検査を実施した。投与に起因する臨床症状、不妊及び流産はみられず、妊娠率、分娩率にも有意差は認められなかった。

また、子豚の生存数、体重にも何ら副作用はみられなかった。

以上のことから、未経産雌豚に対する子豚期から仕上期におけるエフロトマイシンの 16 ppm の濃度での混餌投与は、生殖能及び出生児に影響を与えないと考えられた。

6. 遺伝毒性試験（参照 2）

エフロトマイシンの遺伝毒性試験の結果を表 2 及び 3 に示した。*in vitro* 及び *in vivo* のいずれの試験についても陰性であった。

したがって、エフロトマイシンは生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないものと考えられた。

表 2 遺伝毒性試験 *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA92、TA98、TA100、TA1535、 TA1536、TA1537、TA1538	エフロトマイシン (0.25～100 µg/プレート) ±S9	陰性
不定期 DNA 合成試験	ラット肝培養細胞	エフトロマイシン (25、50、100、150 µg/mL)	陰性
遺伝子突然変異試験	V-79 チャイニーズハムスター 肺細胞	エフロトマイシン (0.003～3.0 mM) ±S9	陰性

表3 遺伝毒性試験 *in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
小核試験	マウス (CF ₁ S系)	エフロトマイシン (0、60、180、540 mg/kg 体重/回、 2回経口投与)	陰性

7. 飼養試験 (豚) (参照2)

子豚 (LW ハイブリッド種、1ヶ月齢、6頭/群) を用いたエフロトマイシンの14週間混餌経口投与 (0、16、80、160 ppm) 試験を実施した。

160 ppm 投与群の2例で、軟便又は下痢、脱肛部外傷による出血、16 ppm 投与群の1例で、軽度の体重増加抑制を伴う発咳、発熱等が散見されたが、いずれもエフロトマイシン投与に起因する所見ではないと考えられた。

80 ppm 投与群では、対照群と比べて、体重の減少傾向がみられ、摂餌量の低下傾向によるものと思われた。

尿検査、血液学的及び血液生化学的検査では、投与に起因する影響はみられなかった。

剖検では、対照群を含むすべての群の1例ずつに腎臓の嚢胞形成に伴う陥凹がみられ、また対照群1例で腎臓の軽度萎縮がみられた。

臓器重量では投与に起因すると思われる影響は認められなかった。

エフロトマイシンの16、80及び160 ppmの濃度での混餌投与は、子豚に対する安全性に問題はみられなかった。

子豚 (ジャーマン・ランドレース種、8週齢、雄雌各3頭/群) を用いたエフロトマイシンの28日間混餌投与 (0、60、80、160及び320 ppm) 試験を実施した。

いずれの豚にも副作用、異常な反応は認められなかった。

16 ppmの20倍の濃度のエフロトマイシンを混餌投与しても安全性に問題はみられなかった。

子豚 (ヨークシャー種、9~10週齢、雌雄各3頭/群) を用いたエフロトマイシンの21日間混餌投与 (0、16及び400 ppm) 試験を実施した。

400 ppm 投与群では、17日間にわたり、半固形便、下痢、血便様の下痢及び肛門周囲紅斑がみられた。16 ppm 投与群では、臨床上的影響はみられなかった。

体温、摂餌量、体重増加及び剖検では、投与に起因する変化は認められなかった。

子豚に対して、21日間、予定最高用量の16 ppmの25倍量 (400 ppm) のエフロトマイシンを混餌投与しても安全性に問題はみられなかった。

子豚 (ヨークシャー雑種、11週齢、雌雄各3頭/群) を用いた、エフロトマイシンの90日間混餌投与 (0、16、48及び80 ppm) 試験を実施した。

48 ppm 投与群の 1 例及び 80 ppm 投与群の 3 例に 9 日間軟便及び肛門周囲紅斑がみられた。

AST (雄) 及び総ビリルビン (雌) において投与及び日数の間に有意な相関がみられ、RBC、Ht、単球、好酸球、好塩基球、ALP 及び総タンパクにおいて投与との有意な相関がみられたが、これらは、いずれも投与に起因するものではないと考えられた。

子豚に対して 80 ppm の濃度でエフロトマイシンを 90 日間混餌投与しても安全性に問題はみられなかった。

8. その他の知見

(1) 急性眼刺激性試験 (ウサギ) (参照 2)

ウサギ (ニュージーランドホワイ種) を用いて、眼結膜のうにエフロトマイシン・アルギン酸マグネシウム (20 % 製剤) を 100 mg 入れ、60 秒間暴露した後、無洗浄とする場合及び 20 秒間暴露した後、温水道水で洗浄する場合の眼反応を検査した。

無洗浄の場合では、15 分後に軽度の強膜充血及び液状分泌物がみられたが、2 時間後に軽快又は消失し、24 時間後には正常となった。洗浄した場合は、15 分後に軽度の強膜充血を示し、2 時間後には 1 例を除き正常となり、24 時間後には全眼正常となった。

以上より、20 % 製剤の眼刺激性はわずかであると結論された。

(2) 急性皮膚刺激性試験 (ウサギ) (参照 2)

ウサギ (ニュージーランドホワイ種) を用いて、エフロトマイシン・アルギン酸マグネシウム (20 % 製剤) を 500 mg 皮膚擦過部位及び健常被験部位に暴露し、皮膚刺激性を調べた。

その結果、皮膚刺激症状及び全身の毒性症状は全く認められなかった。

9. 薬理学的試験 (参照 2)

マウスの一般症状の観察では、エフロトマイシン 500 及び 1,000 mg/kg 体重の腹腔内投与で活動低下、元気消失などの症状が観察された。100 及び 200 mg/kg 体重の腹腔内投与ではほとんど投与の影響は認められなかった。

エフロトマイシン 20 mg/kg 体重を静脈内投与したウサギは、投与直後に死亡した。ウサギの体温及び瞳孔では、エフロトマイシン 10 mg/kg 体重の静脈内投与では大きな変動はみられなかったが、250 mg/kg 体重の腹腔内投与では体温の低下が認められた。ウサギの呼吸数及び心拍数は、10 mg/kg 体重の静脈内投与及び 250 mg/kg 体重の腹腔内投与で大きな変動はみられなかった。

10. 微生物学的影響に関する試験

(1) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) (参照 4)

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、ヒト臨床分離株等に対するエフロトマイシンの約 5×10^6 CFU/spot における MIC が調べられている（表 4）。

表 4 エフロトマイシンの MIC₅₀

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (μg/mL)	
		Efrotomycin	
		MIC ₅₀	範囲
通性嫌気性菌			
<i>Escherichia coli</i>	30	>128	128～>128
<i>Enterococcus</i> sp.	30	>128	8～>128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> sp.	30	32	2～>128
<i>Fusobacterium</i> sp.	20	32	32～64
<i>Bifidobacterium</i> sp.	30	16	8～32
<i>Eubacterium</i> sp.	20	≤0.06	≤0.06～0.25
<i>Clostridium</i> sp.	30	8	4～8
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	30	≤0.06	≤0.06
<i>Prevotella</i> sp.	20	1	≤0.06～4
<i>Lactobacillus</i> sp.	30	>128	>128
<i>Propionibacterium</i> sp.	30	2	1～4

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 *Eubacterium* sp. 及び *Peptococcus* sp./*Peptostreptococcus* sp. の ≤0.06 μg/mL であり、MIC_{calc}² は 0.000482 mg/mL であった。

III. 食品健康影響評価

1. 毒性学的 ADI について

エフロトマイシンは、遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られており、生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられること、また、発がん性試験において発がん性は認められていないことから、ADI を設定することが可能であると判断された。

毒性試験において、最も低い用量で投与の影響が認められたと考えられる指標は、

² 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

イヌを用いた 14 週間亜急性毒性試験において 20 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雄にみられた ALP の増加で、NOAEL は、10 mg(力価)/kg 体重/日であった。

イヌの 14 週間亜急性毒性試験では、高用量投与群において腎臓への影響が認められており、ラットを用いた 14 週間亜急性毒性試験及び 105 週間慢性毒性/発がん性試験においても腎臓への影響がみられているが、このラットの 105 週間慢性毒性/発がん性試験では、NOAEL 55 mg(力価)/kg 体重/日が得られている。したがって、イヌの 14 週間亜急性毒性試験の NOAEL 10 mg(力価)/kg 体重/日は、長期投与による腎臓への影響についても十分担保しているものと考えられるため、ADI の設定に当たっては、追加の安全係数を適用する必要はないと判断された。

以上のことから、毒性学的 ADI は、イヌの 14 週間亜急性毒性試験の NOAEL 10 mg(力価)/kg 体重/日に、安全係数 100 (種差 10、個体差 10) を適用し、0.1 mg/kg 体重/日と設定された。

2. 微生物学的 ADI について

VICH ガイドラインに基づく新たな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調査)で得られており、この結果から国際的コンセンサス³が得られている手法により微生物学的 ADI を算出することができる。

エフロトマイシンの MIC_{calc} に 0.000482 mg/mL、結腸内容物 220 g/日、細菌が暴露される分画に 1.0、ヒト体重に 60 kg を適用し、VICH の算出式に基づいて微生物学的 ADI を算出した場合、下記のとおりとなる。

$$\text{ADI} = \frac{0.000482^{*1} \times 220^{*2}}{1.0^{*3} \times 60} = 0.00177$$
$$= 0.0018 \text{ (mg/kg 体重/日)}$$

*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: 結腸内容物の量

*3: 動物に対する投与試験の結果から、エフロトマイシンの大部分が糞中より排泄されることから、腸内細菌叢が暴露される分画としての係数を 1.0 とする

3. ADI の設定について

微生物学的 ADI (0.0018 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.1 mg/kg 体重/日) よりも低く、毒性学的な安全性を担保していると考えられることから、エフロトマイシンの ADI は、0.0018 mg/kg 体重/日と設定することが適当と判断された。

³ 国内の動物用医薬品の承認申請についても、2006年3月より VICH ガイドラインが採用されている。

4. 食品健康影響評価

以上より、エフロトマイシンの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。

エフロトマイシン 0.0018 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。

表5 FDAにおける無毒性量等

動物種	試験	投与量 (mg(力価)/kg 体重/日)	無毒性量 (mg(力価)/kg 体重/日)
マウス	14 週間亜急性 毒性試験	雄: 860、1,720、3,400、 9,370 雌: 1,040、2,000、 4,320、10,640 (混餌経口投与)	雄: 1,720 雌: 2,000 (糸球体腎炎、尿細管細胞上皮再生の発 生増加)
	発がん性試験	150、500、1,500 (混餌経口投与)	500 (有意な死亡増加、慢性腎炎の発生増 加)
	催奇形性試験	20、200、2,000 (強制経口投与)	母体毒性: 2,000 (影響なし) 胎児毒性: 200 (胎児重量減少、左目網 膜皺)
	催奇形性試験	20、200、1,000、2,000 (強制経口投与)	— (影響なし)
ラット	14 週間亜急性 毒性試験	雄: 360、710、1,440、 3,790 雌: 400、810、1,645、 4,300 (混餌経口投与)	雄: 710 雌: 810 (糸球体腎炎、尿細管細胞上皮再生の発 生増加)
	慢性毒性試験	雄: 43、146、450 雌: 55、178、570 (混餌経口投与)	雄: 43 雌: 55 (体重増加抑制)
	発がん性試験	雄: 43、146、450 雌: 55、178、570 (混餌経口投与)	— (腫瘍の発生増加なし)
	催奇形性試験	20、200、2,000 (強制経口投与)	母体毒性: 2,000 (影響なし) 胎児毒性: 200 (体重減少)
イヌ	14 週間亜急性 毒性試験	20、200、2,000 (強制経口投与)	設定できず。 ALP の増加
	14 週間亜急性 毒性試験 (追加試験)	2、5、10、20 (1、2.5、 5、10mg(力価)/kg 体重 ×2 回/日/強制経口投 与)	20 (10 mg(力価)/kg 体重×2 回 / 日) 影響は認められなかった。

ADI	0.01 mg/kg 体重/日 SF : 1,000
ADI 設定根拠資料	NOAEL : 10 イヌ 14 週間亜急性毒性試験(追加試験含む)

〈別紙 1 検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
ALP	アルカリホスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT))
FDA	米国食品医薬品庁
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
MCH	平均赤血球血色素量
NOAEL	無毒性量
RBC	赤血球数
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

〈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 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
2. 旭化成ファーマ株式会社，エフロトマイシン（MK-621）についての試験成績等の抄録（未公表）
3. FDA、Freedom of Information Summary NADA140-818、1992
4. 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