

(案)

動物用医薬品評価書

セファロニウム

2010年12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. 評価対象動物用医薬品の概要	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. 使用目的及び使用状況等	5
II. 安全性に係る試験の概要	6
1. 薬物動態試験	6
(1) 薬物動態試験（ラット及びイヌ）	6
(2) 薬物動態試験（牛）	7
2. 残留試験	8
(1) 残留試験（牛、組織）	8
(2) 残留試験（牛、乳汁）	9
3. 急性毒性試験（マウス及びラット）	10
4. 亜急性毒性試験	11
(1) 4週間亜急性毒性試験（ラット）	11
(2) 13週間亜急性毒性試験（ラット）	11
(3) 7日間亜急性毒性試験（イヌ）	12
(4) 13週間亜急性毒性試験（イヌ）	12
5. 慢性毒性及び発がん性試験	12
6. 生殖発生毒性試験	12
(1) 発生毒性試験（ラット）	12
(2) セファロスポロリンの催奇形性について	13
7. 遺伝毒性試験	13
8. 微生物学的影響に関する試験	14
(1) <i>in vitro</i> のMICに関する知見	14
(2) 臨床分離菌に対するMIC	15
9. その他	16
(1) 眼粘膜一次刺激性試験	16
(2) 免疫毒性	16

Ⅲ. 食品健康影響評価	16
1. EMEA の評価について	16
2. 毒性学的 ADI について	17
3. 微生物学的 ADI について	17
4. ADI の設定について	18
5. 食品健康影響評価について	18
表 8 EMEA における各試験の無毒性量	19
・別紙 1 : 検査値等略称	20
・参照	21

〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
2010年 3月 19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0319第7号）
2010年 3月 25日 第325回食品安全委員会（要請事項説明）
2010年 7月 28日 第39回肥料・飼料等専門調査会
2010年 12月 16日 第360回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2009年7月1日から）

小泉 直子（委員長）
見上 彪（委員長代理*）
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
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 葎子
高木 篤也 吉田 敏則

要約

セファロsporin系の抗生物質である「セファロニウム」(CAS No.5575-21-3)について、EMEA レポート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、イヌ及び豚)、残留試験(牛)、急性毒性試験(マウス及びラット)、亜急性毒性試験(ラット及びイヌ)、生殖発生毒性試験(ラット)、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。

セファロニウムは、各種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、慢性毒性及び発がん性試験は実施されていないが、反復投与による毒性試験において前がん性変化は認められていないこと、さらに、セファロニウム分子には structural alert が無いことから、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、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、最も低い用量で認められた影響は、ラットの13週間亜急性毒性試験における血清Globの減少で、NOAELは4 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的ADIは、このNOAELに安全係数として種差10、個体差10に、慢性毒性試験及び発がん性試験が行われていないことを考慮した追加の10の1,000を適用し、0.004 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0.0016 mg/kg 体重/日と設定された。

微生物学的ADIの0.0016 mg/kg 体重/日は、毒性学的ADIの0.004 mg/kg よりも小さく、毒性学的安全性についても担保していると考えられる。

以上より、セファロニウムの食品健康影響評価については、ADIとして0.0016 mg/kg 体重/日を設定した。

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：セファロニウム

英名：Cefalonium

3. 化学名

IUPAC

英名：(6R,7R)-3-[(4-carbamoylpyridin-1-ium-1-yl)methyl]-8-oxo-7-[(2-thiophen-2-ylacetyl)amino]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate

CAS (No.5575-21-3)

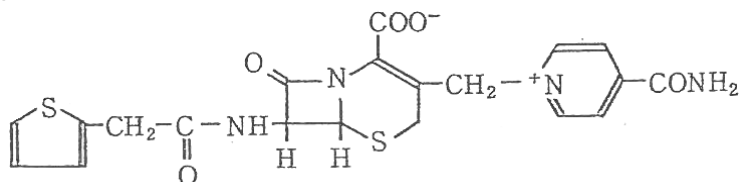
4. 分子式

$C_{20}H_{18}N_4O_5S_2$

5. 分子量

458.51

6. 構造式



7. 使用目的及び使用状況等

セファロニウムは、グラム陽性菌及びグラム陰性菌の両方に活性のある広域抗菌スペクトルを持つ第一世代の半合成セファロスポリン系抗生物質である。

セファロニウムの殺菌作用は、感受性菌の細胞壁にある一つ又は複数のペニシリン結合タンパク質と結びつくことによる細菌細胞壁合成の阻害である。その結果、高い細胞内浸透圧のために溶菌される。

細菌が持っているセファロスポリンに対する耐性の最も一般的な作用機序は β -ラクタマーゼによるセファロスポリンの不活化である。セファロスポリンに対する β -ラクタマーゼは染色体及びプラスミド両方にコードされていると思われる。

EU では、セファロニウム二水和物が乳房注入剤として乾乳期の牛の乳房炎の潜在性感染の治療や新たな感染予防を目的として 250 mg/分房の用量で使用される。また、眼軟膏として、セファロニウム感受性細菌による牛の角結膜炎を含む眼感染に対しても使用される。1眼当たりセファロニウム 80 mg の用量で結膜嚢に塗布し、必要な場合には初回投与 48 時間から 72 時間後に再投与される。(参照 2、3)

日本でも、動物用医薬品として、乾乳期乳房炎を適応症とした乳房注入剤が承認されている。用法用量は、乾乳期初期に 250 mg(力価)/乳房以下の量を注入することとされており、使用禁止期間は食用に供するためにと殺する前 30 日間とされている。また、使用上の注意として、分娩予定 40 日前からは使用しないこととされている。ヒト用の医薬品としては使用されていない。

なお、セファロニウムは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

本評価書では、EMEA レポート等をもとに毒性に関する主な知見を整理した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（ラット及びイヌ）

ラット（SD 系、雄）を用いて、セファロニウムの尾静脈内投与（10 mg/kg 体重）後の胆汁及び尿中への排泄を投与後 24 時間まで測定し、バイオオートグラフィーにより尿中代謝物を検索した。

投与後 24 時間の胆汁中セファロニウム排泄量は投与量の 1.5～2 % であり、その約 1/2 が投与後 2 時間以内に排泄された。

尿中には、投与量の 50～80 % が排泄され、その約 80 % が投与後 2 時間以内に排泄された。尿中にはセファロニウム以外の抗菌活性代謝物は検出されなかった。（参照 4）

ラット（SD 系、雄）を用いて、セファロニウムの尾静脈内投与（10 mg/kg 体重）後の尿中への排泄を投与後 24 時間まで測定し、HPLC により尿中代謝物を検索した。

尿中には、投与後 24 時間に投与量の 36.3～88.0 % が排泄され、その 95 % が投与後 6 時間以内に排泄された。

セファロニウム投与及び未投与のラットの尿の HPLC クロマトグラムを比較するとセファロニウムの代謝物と考えられるピークは検出されなかった。（参照 4）

ラットを用いた変異原性試験において、セファロニウムの強制経口投与（2,000 mg/kg 体重）後の血漿中セファロニウム濃度を測定した。投与 2～4 時間後及び投与 12～14 時間後における血漿中セファロニウム濃度のピークはそれぞれ 0.38～0.675 µg/mL 及び 0.094～0.995 µg/mL の範囲であった。（参照 2、3）

イヌを用いた反復投与毒性試験 2 試験において、セファロニウム二水和物の強制経口投与後の血清中セファロニウム濃度を測定した。

一方の試験では、セファロニウム二水和物の強制経口投与（セファロニウムとして 10、50、100 及び 1,000 mg/kg 体重）後の血清中セファロニウム濃度のピークは、10 mg/kg 体重投与では投与 2 時間後に <0.03～0.33 µg/mL、50 mg/kg 体重投与では投与 2 時間

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

後に 0.38~0.57 µg/mL、100 mg/kg 体重投与では投与 4 時間後に 0.30~1.76 µg/mL、1,000 mg/kg 体重投与では投与 8 時間後に 1.63~2.86 µg/mL であった。

もう一方の試験では、セファロニウム二水和物を反復強制経口投与（セファロニウムとして 10 及び 1,000 mg/kg 体重）した。血清中セファロニウム濃度は、初回投与 1 時間後ではそれぞれ 0.41~0.64 µg/mL 及び 0.34~1.26 µg/mL、第 85 回投与 2 時間後では、0.38~1.06 µg/mL 及び 1.32~1.78 µg/mL であった。（参照 2、3）

（2）薬物動態試験（牛）

乾乳牛を用いて非標識セファロニウムの乳房内投与（250 mg/分房）試験を実施した。投与 8、12 時間後及び 24~72 時間後における血清中セファロニウム濃度は、それぞれ 0.21~0.42 µg/mL、0.15~0.27 µg/mL 及び 0.1 µg/mL 未満であった。

上記試験と同様の投与量による標識セファロニウムの投与試験では、平均血漿濃度のピーク 0.268 µg eq/mL は投与 36 時間後に認められた。（参照 2、3）

牛（2 頭）を用いてセファロニウム製剤の乳房内投与（250 mg/分房）試験を実施した。尿中に高濃度のセファロニウムが検出された。投与 1 日後には 23 µg/mL までの濃度で検出され、徐々に減少し、投与 8 及び 15 日後にはいずれの牛も 0.08 µg/mL 未満となった。

別の乳房内投与（250 mg/分房）試験では、投与 12 時間後に尿中に 4.55~24.1 µg/mL が排泄され、ゆっくりと減少し、投与 19 日後で 0.26 µg/mL となり、その後 0.08 µg/mL 未満となった。（参照 2、3）

乾乳牛を用いて標識セファロニウムの乳房内投与（250 mg/分房）試験を実施し、尿及び糞中へのセファロニウムの排泄を調べた。投与後 3 日に、尿中に総投与放射活性の 29 %、糞中に 2 % が排泄された。投与 7、14 及び 21 日後の放射活性は、尿中でそれぞれ投与量の 0.7、0.4 及び 0.4 %、糞中で 0.3、0.08 及び 0.03 % であった。投与 1~3、7、14 及び 21 日後の尿及び糞中の合計量は、投与量の 49.43 % であった。投与 4~6、8~13 及び 15~20 日後には測定が行われなかったが、乳房から総投与量の 50 % 以上が吸収されたと推測された。（参照 2、3）

乾乳牛（8 頭）を用いて標識セファロニウムの乳房内投与（250 mg/分房）試験を実施した。供試牛は投与日に分娩予定日の 51±3 日前であった。血漿 C_{max} は投与 48 時間後にみられ、0.015±0.038 µg eq/g であった。血漿中放射活性は、投与 96 時間後には 0.085 µg eq/g にまでゆっくりと減少した。（参照 2、3）

乾乳牛（2 頭）を用いてセファロニウムの乳房内投与（前 2 分房及び右後 1 分房の計 3 分房にそれぞれ常用量の 4 倍量である 1,000 mg/分房）試験を実施した。前 2 分房及び無投与の左後 1 分房からは、投与前並びに投与 1、3、5、7、14、28、35 及び 42 日後の 9 回乳汁を採取し、右後分房からは投与 42 日後に 1 回乳汁を採取した。また、乳汁採取日と同一日に血清及び尿を採取した。

前2分房の乳汁中セファロニウム濃度は投与1日後に平均558 µg/mLであったが、急速に減少し、投与42日後には検出限界(0.1 µg/mL)以下となった。投与後41日間無搾乳で投与42日後に搾乳した右後分房では、平均2.84 µg/mLが検出された。

血清中セファロニウムは投与1日後にのみ0.83 µg/mL検出され、無投与の乳房の乳汁中からも投与1及び3日後に微量(0.07及び0.05 µg/mL)のセファロニウムが検出されたことから、乳房→血液→乳汁への移行がわずかながら存在することが認められた。尿中には投与14日後までセファロニウムが検出され、投与28日以降は検出されなかった。(参照4)

2. 残留試験

(1) 残留試験(牛、組織)

乾乳牛を用いて標識セファロニウムの乳房内投与(250 mg/分房)による残留試験を実施した。供試牛は投与11~42日後に分娩し、分娩7日後にと殺した。

最短の休薬期間である投与18日後にと殺した牛の試料における総残留濃度は、腎臓、肝臓、筋肉及び脂肪において、それぞれ265、43、<13及び<23 µg eq/kgであった。また、最長の休薬期間である投与49日後にと殺した牛の試料における総残留濃度は、それぞれ146、28、<13及び<23 µg eq/kgであった。

乳房の総残留濃度は、<14~644 µg eq/kgまでの範囲であった。

投与18、36及び49日後にと殺した3頭における腎臓中の未変化体セファロニウムの総残留に対する比率は、5~8%と低かったが、投与29日後にと殺した1頭では27%と高かった。腎臓における総残留の大部分は未同定の代謝物からなると考えられた。他の組織の残留物の組成については調べられていない。(参照2、3)

乾乳牛を用いて非標識セファロニウムの乳房内投与(250 mg/分房)による残留試験を実施した。

腎臓、肝臓、心臓、脚部筋肉及び脂肪中の残留は、投与3週間後ですべて<80 µg/kgであった。乳房組織における残留は、<80~4,490 µg/kgの範囲であった。(参照2、3)

乾乳牛(8頭)を用いて標識セファロニウムの乳房内投与(250 mg/分房)試験を実施した。供試牛は投与日に分娩予定日の51±3日前であった。投与36及び96時間後にそれぞれ4頭の牛をと殺した。投与36時間後のセファロニウム由来の平均総残留濃度は、腎臓で673 µg eq/kg、肝臓で60 µg eq/kg、脂肪で15 µg eq/kg、筋肉で9 µg eq/kgであった。投与96時間後の各組織中の総残留濃度は多少低かったが、肝臓では減少が認められなかった。腎臓が主要な標的臓器であることが示された。

残留物の組成について、radio-HPLC及びHPLC-MS/MSにより検討を試みたが明確な知見は得られなかった。抗菌活性残留の測定についても同様であった。したがって、未変化体セファロニウムの総残留(抗菌活性)に対する比率は確認できなかった。(参照2、3)

乾乳牛(6頭群)を用いてセファロニウムの乳房内投与(250(常用量)及び500(2

倍量) mg/分房) 試験を実施し、残留性について検討した。血液は投与前及び投与後経時的に、尿は投与前及び投与後毎日採取した。常用量投与では、投与 1、25 及び 29 日後にそれぞれ 1、2 及び 3 頭を、2 倍量投与では、投与 26、31、35 日後にそれぞれ 2 頭ずつと殺し、組織 (肝臓、腎臓、筋肉、脂肪、心臓、肺、十二指腸、空腸、結腸及び乳房) を採取した。セファロニウムはペーパーディスク法により定量した。(参照 4)

血清及び尿中濃度の結果を表 1 及び 2 に示した。

表 1 乾乳牛における血清中濃度推移 (µg/mL) n=6

試料	投与量 (mg/分房)	投与後時間 (h)				
		8	12	14	24	54
血清	250 (常用量)	0.23	—	0.24	0.12	LOD
	500 (2 倍量)	0.45	0.54 [#]	—	0.33	0.07 [#]

LOD : 検出限界 (0.01 µg/mL) 以下 — : 実施せず # : n=4

表 2 乾乳牛における尿中濃度推移 (µg/mL) n=5

試料	投与量 (mg/分房)	投与後日数 (日)				
		1	7	14	22	29
尿	250 (常用量)	13.29	2.07	0.61	LOD	—
	500 (2 倍量)	23.92	0.97	0.50 [#]	0.16 [#]	LOD

LOD : 検出限界 (0.01 µg/mL) 以下 — : 実施せず # : n=6

組織中濃度は、乳房を除いて、常用量投与の 1 例で投与 1 日後に心臓及び脂肪において、それぞれ 0.04 及び 0.03 µg/g の微量が検出された以外はすべての時点で検出限界 (0.01 µg/mL) 以下であった。

乳房中残留濃度を表 3 に示した。

表 3 乾乳牛における乳房中濃度 (µg/mL) n=2

試料	投与量 (mg/分房)	投与後日数 (日)					
		1	25	26	29	31	35
乳房	250 (常用量)	27.50 [#]	0.50	—	1.11 ^{##}	—	—
	500 (2 倍量)	—	—	12.26	—	0.075 [§]	0.34

— : 実施せず § : 2 頭中 1 頭で検出限界以下の分房がみられたため 1 頭分のデータ。 # : n=1 ## : n=3

(2) 残留試験 (牛、乳汁)

乾乳牛 (7 頭) を用いて標識セファロニウムの乳房内投与 (250 mg/分房) 試験を実施した。供試牛は投与 11~17 日後 (3 頭) 及び投与 29~37 日後 (3 頭) に分娩した。

分娩後初回の搾乳において総放射活性残留は 666~6,544 µg eq/kg であり、セファロニウムの濃度 (HPLC-MS/MS により測定) は <10~448 µg/kg、抗菌活性 (微生物学的定量法により測定) は <15~269 µg/kg であった。(参照 2、3)

乾乳牛を用いて標識セファロニウムの乳房内投与（250 mg/分房）試験を実施した。供試牛は投与 41～71 日後に分娩した。この試験の乾乳期間は上記試験と比べて長く、市販製剤の実際の使用をより適切に反映している。切迫と殺した 1 頭を除いて、すべての牛を 14 回目の搾乳後にと殺した。

投与後最初の 7 日間で投与量の約 40 %が排泄された（尿中 33～36 %、糞中 3～5 %）。総投与量の 3 %未満が乳汁中に排泄された。乳汁中に存在する唯一の主要な残留物は未変化体セファロニウムであった。HPLC-MS/MS のデータに基づくマーカー（未変化体セファロニウム）の総放射活性残留物に対する比率は、3、5、7 及び 9 回目の搾乳において、それぞれ 0.88、1.39、1.15 及び 1.18 であった。また、radio-HPLC による測定の場合には、それらの比率は、それぞれ 0.61、0.64、0.61 及び 0.58 であった。抗菌活性の明確な測定結果は得られなかった。（参照 2、3）

乾乳牛（20 頭）を用いて非標識セファロニウムの乳房内投与（250 mg/分房）試験を実施し、乳汁中の微生物学的活性をもったセファロニウムの残留濃度を調べた。乾乳期間は 29～97 日間であった。最も短い 29 日間の乾乳期間の牛における乳汁中のセファロニウム濃度は 5 回目の搾乳における 180 µg/kg から 22 回目の搾乳における 10 µg/kg にまで減少した。

セファロニウムの濃度及び検出可能な残留事例は乾乳期間の長さにしたがって減少した。97 日間の乾乳期間の 2 頭の牛のうちの 1 頭では、2 回目の搾乳において 10 µg/kg の残留が認められたが、もう 1 頭では検出可能な残留は認められなかった。（参照 2、3）

妊娠中の牛（乳用種、74 頭）を用いてセファロニウム製剤の乳房内投与（250 mg/分房）試験を実施した。供試牛は、乾乳前の最終搾乳後に投与を行い、分娩後の乳汁中セファロニウム濃度を測定し残留性を検討した。

なお、本試験では、セファロニウムの微生物学的定量において、乳汁中に本来含まれる物質由来の抗菌活性による影響を考慮して、セファロスポリナーゼ処理を行った乳汁の値と比較してセファロニウムの濃度を決定した。

乳汁中セファロニウム残留は、乾乳日数が 32 日以下であった 3 頭の乳汁からは分娩 6 及び 7 日後にも検出されたが、乾乳日数が 37 日以上であった牛では分娩 5 日後以降には 2 分房の乳汁中に 1 時点でのみ例外的に検出限界値に近い低濃度が検出されたのみであった。（参照 4）

3. 急性毒性試験（マウス及びラット）

マウス及びラットにおける急性毒性を表 4 に示した。

腹腔内投与後の主要な影響は、両動物種でみられた自発運動の抑制及び鎮静並びにラットにみられた腹部下垂及び全身蒼白であった。剖検において、経口及び皮下投与の死亡例では腸管内容物がほとんどみられなかった。一方、腹腔内投与例では局所の組織損傷がみられた。（参照 2～4）

表 4 セファロニウムのマウス及びラットにおける LD₅₀

動物種	系統	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
			雄	雌
マウス	ICR	経口	>12,000	>12,000
	A2G	経口	—	>15,000
	CRH	経口	>20,000	>20,000
	ICR	皮下	>2,000	>2,000
	A2G	皮下	—	約 9,000
	CRH	皮下	—	>15,000
	ICR	腹腔内	>4,000	3,400
ラット	SD	経口	>12,000	>12,000
	CD	経口	>5,000	>5,000
	SD	皮下	>2,000	>2,000
	SD	腹腔内	3,580	2,680

— : 実施せず

4. 亜急性毒性試験

(1) 4週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Crj:SD 系、雄雌) を用いたセファロニウムの 4 週間混餌投与 (0、400、2,000、10,000 及び 50,000 ppm (雄 : 0、43、234、1,195 及び 6,014 mg/kg 体重/日、雌 : 0、47、247、1,208 及び 5,834 mg/kg 体重/日)) による亜急性毒性試験を実施した。

2,000 ppm 以上投与群の雌雄で盲腸の拡張が認められた。この盲腸の拡張については、病理組織学的所見が認められず、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。10,000 ppm 以上の投与群の雌で尿中ケトン体の増加が認められた。

また、2,000 ppm 以上投与群の雄及び 10,000 ppm 以上投与群の雌で ALT の増加、10,000 ppm 以上投与群の雌で T.Chol の減少、50,000 ppm 投与群の雌で T.Bil の増加、50,000 ppm 投与群の雄で Glob の減少がみられたが、詳細データが不明なため、毒性影響かどうかの判断はできなかった。

飲水量の増加が 400 ppm 以上投与群の雌雄に、摂餌量の増加が 400 ppm 以上投与群の雌及び 2,000 ppm 以上投与群の雄にみられた。400 ppm 投与群においてこれら以外には毒性影響は認められておらず、これらの増加は、ヒトの安全性上の意義はないものと考えられた。(参照 2~4)

(2) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Crj:SD 系、雄雌) を用いたセファロニウムの 13 週間混餌投与 (0、50、500、5,000 及び 50,000 ppm (雄 : 0、4、39、440 及び 4,434 mg/kg 体重/日、雌 : 0、4、44、462 及び 4,674 mg/kg 体重/日)) による亜急性毒性試験を実施した。

5,000 ppm 以上投与群の雌雄で盲腸の拡張が認められた。この盲腸の拡張については、

病理組織学的所見が認められず、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。

50,000 ppm 投与群の雌雄で尿中ケトン体の増加が認められた。5,000 ppm 以上投与群の雄（群間では差はなし。）及び 500 ppm 以上投与群の雌（用量相関性有り。）で、血清 Glob の減少が認められた。全投与群において、飲水量及び摂餌量の増加がみられたが、50 ppm 投与群ではこれら以外には毒性影響は認められておらず、この群における増加は、ヒトの安全性上の意義はないものと考えられた。

上記（1）及び（2）のラットを用いた試験は GLP 導入以前の試験であり、詳細なデータは入手不可能であったが、50 ppm（4 mg/kg 体重/日）の投与では毒性学的な影響は認められないことが示された。したがって、4 mg/kg 体重/日の用量は毒性学的な NOAEL として受け入れ可能と考えられた。（参照 2～4）

（3）7日間亜急性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、雌雄各 2 匹）を用いてセファロニウム二水和物の 7 日間強制経口投与（セファロニウムとして 10、50、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日）試験を実施した。

本用量設定試験において、高用量群で小腸に病理学的変化がみられ、おそらく多量の比較的不溶性の懸濁液の投与の結果によるものと考えられた。本試験の NOAEL は 100 mg/kg 体重と考えられた。（参照 2、3）

（4）13週間亜急性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、雌雄各 2 匹）を用いてセファロニウム二水和物の 13 週間強制経口投与（セファロニウムとして 0、10 及び 1,000 mg/kg 体重/日）試験を実施した。

本試験では、投与に関連すると考えられる影響は最高用量まで認められなかった。

しかしながら、用量の設定及び被験動物の数が少なすぎるため、いかなる結論付けもできなかった。（参照 2、3）

5. 慢性毒性及び発がん性試験

慢性毒性及び発がん性試験は実施されていない。セファロニウムには遺伝毒性を示す証拠はないと考えられており、反復投与試験において前がん性変化も認められていない。さらに、セファロニウム分子には structural alert がない。（参照 2、3）

6. 生殖発生毒性試験

（1）発生毒性試験（ラット）

ラット（SD 系）を用いてセファロニウムの強制経口投与（0、20、200 及び 2,000 mg/kg 体重/日、妊娠 7～17 日の 11 日間投与）による発生毒性試験を実施した。

200 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物に統計学的に有意な摂餌量の減少及び飲水量の増加がみられた。

また、全投与群の母動物に盲腸の拡張及び盲腸重量の増加がみられた。

しかし、本試験では、母動物に対する結果の詳細が不足していた（完全なデータを欠いている。）ため、母動物に対する信頼性のある NOAEL を設定することはできなかった。

胎児観察の結果、全投与群において催奇形性は認められず、胎児毒性及び催奇形性の NOAEL は本試験の最高用量である 2,000 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 2～4）

（2）セファロスポロリンの催奇形性について

15 種類のセファロスポロリンの発生毒性試験の結果からなるレビューは、一般的にこのグループの物質に催奇形性はほとんどないことを示している。加えて、セフロキシム及びセフトジジムの母動物の生殖毒性に関する試験が報告されているが、これらの試験では、催奇形性は認められず、生殖毒性はみられていない。

主な影響は母動物の摂餌量及び飲水量の変化並びに母動物及び児動物の盲腸重量の増加であった。（参照 2、3）

7. 遺伝毒性試験

遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 5 及び 6 に示した。（参照 2～4）

表 5 *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験 (Microsomal assay)	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA1535、TA1537、TA1538)	用量不明 (S9±)	陰性
復帰突然変異試験 (Fluctuation test)	<i>Escherichia coli</i> (WP2、 WP2 <i>uvrA</i> 、343/113 <i>lys</i> 60、 WP2 pKM101、PW2 <i>uvrA</i> pKM101)	～10、20 µg/mL (S9±)	陰性
	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537)	～10、20 µg/mL (S9±)	陰性
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i>)	～5,000 µg/mL (S9+) ～100 µg/mL (S9-)	陰性
遺伝子変換試験	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (JD1)	～500 µg/mL (S9±)	陰性
遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ細胞 (TK 遺伝子座)	263～1,138 µg/mL (S9-)、 250～1,081 µg/mL (S9+)	陰性
染色体異常試験	培養ヒト末梢血リンパ球	585～900 µg/mL (S9-)	陽性 ¹⁾

染色体異常試験 (直接法)	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞 (CHL)	0.03～0.12 mg/mL (S9-)	陰性
染色体異常試験 (代謝活性化法)	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞 (CHL)	2.5～10 mg/mL (S9±)	陽性 ²⁾
DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (H17、M45)	0.005～0.1µg/ディスク (16 時間培養)	疑陽性 ³⁾

1) 染色体構造異常 (染色分体の欠失及びギャップ) の用量依存的な増加がみられた。

2) S9-においてのみ倍数体の有意な増加がみられた。

3) 0.01 µg/ディスク以上で疑陽性。M45 株はβ-ラクタム系抗生物質の透過性が変化しているといわれているため本試験結果は参考とみなした。

表 6 *in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
小核試験	ラット	5,000 mg/kg 体重 単回経口投与	陰性
	ラット	～2,000 mg/kg 体重/日 2 日間経口投与	陰性
	マウス	1,000、2,000、4,000 mg/kg 体重 単回腹腔内投与	陰性
	マウス	770 mg/kg 体重/日 5 日間腹腔内投与	陰性
不定期 DNA 合成試験	ラット培養肝細胞	～2,000 mg/kg 体重	陰性

セファロニウムは、*in vitro* の染色体異常試験では一部に陽性の結果が得られているが、*in vitro* の復帰突然変異試験、遺伝子変換試験、遺伝子突然変異試験及び *in vivo* の小核試験及び不定期 DNA 合成試験では、いずれも陰性であり、セファロニウムは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た。

8. 微生物学的影響に関する試験

(1) *in vitro* の MIC に関する知見

ヒト腸内細菌叢を代表すると考えられる 10 属: *Peptostreptococcus* sp.、*Clostridium* sp.、*Bifidobacterium* sp.、*Bacteroides* sp.、*Fusobacterium* sp.、*Eubacterium* sp.、*Lactobacillus* sp.、*Enterococcus* sp.、*Proteus* sp. 及び *Escherichia coli* における *in vitro* の MIC₅₀ を測定した。約 10⁸ CFU/mL の接種レベルにおける MIC₅₀ の幾何平均値及び最小値はそれぞれ 4.6 及び 0.125 µg/mL であった。接種材料を 100 倍希釈すると MIC₅₀ は約 2 分の 1 に低下した。培地の pH は、MIC にはほとんど影響しないか、無影響であった。

in vitro 消化管モデルにおいて、シミュレートした腸管の状態での *Clostridium* sp.、

Bacteroides sp.、*Peptostreptococcus* sp.、*Escherichia coli* 及び *Lactobacillus* sp. の分離株 2 株のセファロニウム存在下における生残性に対する影響を調べた。本試験の試験設計上の理由により、セファロニウムの活性に対する腸管の状態の影響について結論付けることはできなかった。

ヒト腸内細菌叢を代表する 10 属に分類される 90 の分離株の固有の β -ラクタマーゼ及びセファロニウムにより誘導される β -ラクタマーゼ産生を半定量的に分析した。8 菌株において有意な β -ラクタマーゼ活性が認められた。

セファロニウム感受性及び非感受性株の共培養では、10 例中 3 例で最小殺菌濃度の上昇がみられ、セファロニウム感受性株の防御が認められた。(参照 2、3)

(2) 臨床分離菌に対する MIC

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セファロニウムの約 5×10^6 CFU/spot における MIC が調べられている(表 7)。(参照 5)

表 7 セファロニウムの MIC₅₀

菌名	株数	最小発育阻止濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	
		Cefalonium	
		MIC ₅₀	範囲
通性嫌気性菌			
<i>Escherichia coli</i>	30	8	2~>128
<i>Enterococcus</i> sp.	30	4	1~64
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> sp.	30	>128	64~>128
<i>Fusobacterium</i> sp.	20	8	1~16
<i>Bifidobacterium</i> sp.	30	0.5	0.12~4
<i>Eubacterium</i> sp.	20	0.25	0.12~32
<i>Clostridium</i> sp.	30	2	1~4
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	30	0.12	$\leq 0.06 \sim 1$
<i>Prevotella</i> sp.	20	0.12	$\leq 0.06 \sim 128$
<i>Lactobacillus</i> sp.	30	1	0.12~>128
<i>Propionibacterium</i> sp.	30	0.25	0.12~0.5

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 *Peptococcus* sp./*Peptostreptococcus* sp. 及び *Prevotella* sp. の 0.12 $\mu\text{g/mL}$ であり、MICcalc²は 0.427 $\mu\text{g/mL}$ であった。

² 薬剤がその菌に対して活性を有する関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90 %信頼限界の下限值から算出

9. その他

(1) 眼粘膜一次刺激性試験

ウサギ(ニュージーランドホワイト種、6匹/群)を用いてセファロニウム製剤を0.1 mL 左眼結膜嚢内に投与(対照群には基剤を投与。)し、眼粘膜一次刺激性を調べた。

投与1、24、48及び72時間後にハンドスリットランプを用いて角膜、虹彩及び結膜の状態を観察し、投与24時間後にはフルオレセイン試験紙による角膜の損傷状態の確認も行った。

その結果、投与1時間後に結膜眼瞼分泌がみられた以外に異常は認められず、ウサギの眼粘膜に対する刺激作用はないものと考えられた。(参照4)

(2) 免疫毒性

免疫毒性試験は行われていないが、反復投与毒性試験において免疫学的影響はみられていない。(参照2、3)

III. 食品健康影響評価

1. EMEA の評価について

EMEA では、毒性学的 ADI の設定において、ラットの13週間亜急性毒性試験のNOAEL 4 mg/kg 体重/日をもとに、毒性データセットの質が不十分であることを考慮して安全係数200を用いて、毒性学的 ADI を0.02 mg/kg 体重/日(1.2 mg/ヒト/日)と設定している。(参照2、3)

微生物学的 ADI については、*in vitro* の幾何平均 MIC₅₀ の0.0046 mg/mL に基づき設定している。これに糞便塊 150 mL、腸内細菌叢が暴露される分画として1、ヒト体重に60 kg を適用し、CVMP の算出式により、微生物学的 ADI は、下記のとおり算出された。(参照2、3)

$$\text{ADI} = \frac{\frac{0.0046 \times 4^{*2}}{3^{*1}} \times 150^{*3}}{1^{*4} \times 60}$$
$$= 0.0153 \text{ mg/kg 体重/日}$$

*1 : セファロスポリンに対する耐性因子の染色体性及びプラスミドによる伝播の可能性から3とする。

*2 : 細菌叢の濃度の影響を考慮した2及びβ-ラクタマーゼ産生菌が存在することの影響を考慮した2の4とする。

*3 : 1日糞便量として150 mLとする。

*4 : 腸内細菌叢が暴露される分画として、保守的に1とする

微生物学的 ADI (0.0153 mg/kg 体重/日) が毒性学的 ADI (0.02 mg/kg 体重/日) より若干低い値であることから、セファロニウムの ADI として、微生物学的 ADI を採用することが適当であるとしている。(参照 2、3)

2. 毒性学的 ADI について

セファロニウムは、各種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、慢性毒性及び発がん性試験は実施されていないが、反復投与による毒性試験において前がん性変化は認められていないこと、さらに、セファロニウム分子には structural alert がないことから、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、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、最も低い用量で認められた影響は、ラットの 13 週間亜急性毒性試験における血清 Glob の減少で、NOAEL は 4 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的 ADI の設定に当たっては、安全係数として種差 10、個体差 10 に、慢性毒性試験及び発がん性試験が行われていないことを考慮した追加の 10 の 1,000 を適用することが適当と考えられた。

したがって、セファロニウムの毒性学的 ADI は 0.004 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

3. 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。

セファロニウムの MIC_{calc} に 0.000427 mg/mL、結腸内容物に 220 g/日、細菌が暴露される分画に 1、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 を算出すると、以下のとおりとなる。

$$\text{ADI} = \frac{0.000427^{*1} \times 220^{*2}}{1^{*3} \times 60} = 0.00157 \\ = 0.0016 \text{ (mg/kg 体重/日)}$$

*1：薬剤がその菌に対して活性を有する関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90%信頼限界の下限値から算出

*2：結腸内容物の量

*3：セファロニウムの経口投与における吸収率等に関する知見が得られていないため、腸内細菌叢が暴露される分画としての係数を 1 とする。

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

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 算出式により求められた 0.0016 mg/kg 体重/日を採用するのが適当と考えられる。

4. ADI の設定について

微生物学的 ADI (0.0016 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.004 mg/kg 体重/日) よりも小さく、毒性学的安全性についても担保していると考えられることから、セファロニウムの ADI としては、0.0016 mg /kg 体重/日と設定することが適当であると判断された。

5. 食品健康影響評価について

以上より、セファロニウム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。

セファロニウム 0.0016 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 8 EMEA における各試験の無毒性量

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量等 (mg/kg 体重/日)
ラット	4 週間亜急性毒性試験	雄 : 0, 43, 234, 1,194, 6,014 雌 : 0, 47, 247, 1,208, 5,834 (混餌投与)	4 血清 Glob の減少、飲水量及び摂餌量の増加
	13 週間亜急性毒性試験	雄 : 0, 4, 39, 440, 4,434 雌 : 0, 4, 44, 462, 4,674 (混餌投与)	
	発生毒性試験	0, 20, 200, 2,000 (経口投与)	2,000 (胎児毒性及び催奇形性を認めず。) 詳細が不足していたため母動物の NOEL は設定できず。
イヌ	7 日間亜急性毒性試験	10, 50, 100, 1,000 (強制経口投与)	100 小腸の病理学的変化
	13 週間亜急性毒性試験	0, 10, 1000 (強制経口投与)	— 投与に関連した影響は認められず。用量の設定及び被験動物が少ないため、結論付けできず。
毒性学的 ADI		0.02 mg/kg 体重/日 SF:200 (毒性データセットの質が不十分)	
毒性学的 ADI 設定根拠		ラット 13 週間亜急性毒性試験 4 mg/kg 体重/日	
微生物学的 ADI		0.0153 mg/kg 体重/日	
微生物学的 ADI 設定根拠		ヒト腸内細菌由来菌 10 属の幾何平均 MIC ₅₀ 4.6 µg/mL (CVMP の算出式)	
ADI		0.0153 mg/kg 体重/日	

〈別紙 1 : 検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
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))
C _{max}	最高濃度
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
EMA	欧州医薬品庁
Glob	グロブリン
GLP	優良試験所規範
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
HPLC-MS/MS	高速液体クロマトグラフィー・タンデム型質量分析計
LD ₅₀	半数致死量
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
radio-HPLC	ラジオ・高速液体クロマトグラフィー
T.Chol	総コレステロール
T.Bil	総ビリルビン
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. EMEA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, CEFALONIUM SUMMARY REPORT (1), 1999
3. EMEA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, CEFALONIUM SUMMARY REPORT (2), 2002
4. 平成 20 年度残留基準見直しに関する資料 セファロニウム（未公表）
5. 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