府食第７００号
平成２７年９月１日

厚生労働大臣
塩崎　恭久　殿

食品安全委員会
委員長　　佐藤　洋

食品健康影響評価の結果の通知について

平成２６年１１月２５日付け厚生労働省発食安１１２５第１号をもって貴省から当委員会に意見を求められたエンロフロキサシンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成１５年法律第４８号）第２３条第２項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

エンロフロキサシンの一日摂取許容量を 0.002 mg/kg 体重/日とする。

別添

動物用医薬品評価書

エンロフロキサシン

（第２版）

２０１５年９月

食品安全委員会

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 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（ラット） 7
（２）薬物動態試験（イヌ） 8
（３）薬物動態試験（牛） 8
（４）薬物動態試験（豚） 9
（５）薬物動態試験（鶏） 10
２．残留試験 11
（１）残留試験（牛） 11
（２）残留試験（豚） 16
（３）残留試験（鶏） 20
（４）残留試験（鶏卵） 22
３．遺伝毒性試験 23
４．急性毒性試験 24
５．亜急性毒性試験 25
（１）4 週間亜急性毒性試験（ラット）＜参考データ＞ 25
（２）13 週間亜急性毒性試験（ラット） 26
（３）13 週間亜急性毒性試験（イヌ） 28
（４）13 週間亜急性毒性試験（イヌ、若齢） 28
６．慢性毒性及び発がん性試験 30
（１）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス） 30
（２）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット） 31
（３）2 年間慢性毒性試験（ラット） 33
７．生殖発生毒性試験 33
（１）2 世代繁殖試験（ラット） 33
（２）雄性生殖能試験（ラット） 34
（３）発生毒性試験（ラット） 35

（４）発生毒性試験（ウサギ） 36
８．その他の試験 36
（１）皮膚感作性試験 36
９．ヒトにおける知見 36
（１）ヒトにおけるキノロンの毒性影響 36
１０．一般薬理試験 37
（１）一般状態及び行動 37
（２）中枢神経系への作用 37
（３）自律神経系への作用 37
（４）平滑筋に対する作用 37
（５）消化器官系に対する作用 37
（６）呼吸循環器系への作用 37
（７）血液系への作用 38
（８）その他 38
１１．微生物学的影響に関する特殊試験 38
（１）*in vitro* の MIC に関する試験 38
（２）ヒトボランティアにおけるシプロフロキサシンの微生物学的影響 40

Ⅲ．食品健康影響評価 41
１．諸外国の評価 41
（１）JECFA における評価 41
（２）EMEA における評価 42
２．毒性学的影響について 43
（１）関節影響に関する知見について 43
（２）若齢イヌにおける精巣毒性について 43
（３）生殖発生毒性について 43
（４）遺伝毒性／発がん性について 44
（５）光毒性について 44
（６）毒性学的 ADI について 45
３．微生物学的 ADI について 45
４．食品健康影響評価について 46

・　表 16　JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較 47
・　別紙：検査値等略称 49
・　参照 50

〈審議の経緯〉

第 1 版関係（残留基準の設定）

2005 年　9 月　13 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 0913001 号)、関係資料の接受（参照 1～67）
2005 年　9 月　15 日　第 111 回食品安全委員会（要請事項説明）
2005 年　11 月　9 日　第 39 回動物用医薬品専門調査会
2005 年　12 月　16 日　第 41 回動物用医薬品専門調査会
2006 年　2 月　24 日　第 46 回動物用医薬品専門調査会
2006 年　3 月　16 日　第 135 回食品安全委員会（報告）
2006 年　3 月　16 日　から 4 月 12 日まで　国民からの御意見・情報の募集
2006 年　4 月　28 日　第 52 回動物用医薬品専門調査会
2006 年　5 月　17 日　動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2006 年　5 月　18 日　第 143 回食品安全委員会（報告）
（同日付けで食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知）
2006 年　11 月　18 日　告示改正

第 2 版関係（残留基準の設定）

2014 年　11 月　25 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 1125 第 1 号)、関係資料の接受（参照 68～73）
2014 年　12 月　2 日　第 541 回食品安全委員会（要請事項説明）
2015 年　2 月　20 日　第 99 回肥料・飼料等専門調査会
2015 年　7 月　2 日　肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2015 年　7 月　7 日　第 569 回食品安全委員会（報告）
（9 月 1 日付で厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2006 年 6 月 30 日まで）	（2015 年 6 月 30 日まで）	（2015 年 7 月 1 日から）
寺田 雅昭（委員長）	熊谷 進　（委員長）	佐藤 洋　（委員長）
寺尾 允男（委員長代理）	佐藤 洋　（委員長代理）	山添 康　（委員長代理）
小泉 直子	山添 康　（委員長代理）	熊谷 進
坂本 元子	三森 国敏（委員長代理）	吉田 緑
中村 靖彦	石井 克枝	石井 克枝
本間 清一	上安平冽子	堀口 逸子
見上 彪	村田 容常	村田 容常

〈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 眞
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 眞
渋谷 淳	藤田 正一
嶋田 甚五郎	吉田 緑
鈴木 勝士	

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2013 年 10 月 1 日から）

津田 修治（座長*）
今井 俊夫（座長代理*）

荒川 宜親	戸塚 恭一
池 康嘉	中山 裕之
石原 加奈子	細川 正清
今田 千秋	宮島 敦子
桑形 麻樹子	宮本 亨
小林 健一	山田 雅巳
下位 香代子	山中 典子
髙橋 和彦	吉田 敏則

* ：2013 年 10 月 10 日から

〈第 99 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

要　約

抗菌剤である「エンロフロキサシン」（CAS No.93106-60-6）について、JECFA 及び EMEA の評価書、製剤の承認申請時又は再審査時の添付資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。なお、今回、薬物動態（豚）及び残留（豚）の試験成績が新たに提出された。

評価に用いた試験は、薬物動態（ラット、イヌ、牛、豚及び鶏）、残留（牛、豚及び鶏）、遺伝毒性、急性毒性、亜急性毒性（ラット及びイヌ）、慢性毒性及び発がん性（マウス及びラット）、生殖発生毒性（ラット及びウサギ）、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

遺伝毒性試験において、*in vitro* の染色体異常試験では非代謝活性化条件下において細胞毒性が認められる用量で陽性の結果が得られ、また遺伝子突然変異試験では遺伝子変異を疑わせる所見が散見されたが、その発生頻度には用量相関性がなく、再現性も認められなかった。一方、不定期 DNA 合成試験及び復帰突然変異試験、並びに *in vivo* の試験の結果はいずれも陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えた。また、慢性毒性/発がん性併合試験において、マウスの試験では発がん性は認められず、ラットの試験では、心内膜の腫瘍性病変の発生頻度の増加がみられたが、投与に関連する可能性は極めて低く、またヒトへの外挿性はないと考えたことから、遺伝毒性発がん物質ではなく、一日摂取許容量（ADI）を設定することが可能と考えた。

各種毒性試験で得られた無毒性量（NOAEL）又は最小毒性量（LOAEL）のうち最小値は、ラットの 2 年間慢性毒性試験における NOAEL 2.9 mg/kg 体重/日であり、毒性学的 ADI は、この NOAEL に安全係数として 100（種差 10、個体差 10）を適用し、0.029 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えた。

また、微生物学的影響に関する試験成績から、微生物学的 ADI を 0.002 mg/kg 体重/日と設定した。

微生物学的 ADI が毒性学的 ADI より小さいことから、エンロフロキサシンの ADI を 0.002 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：エンロフロキサシン

英名：Enrofloxacin

３．化学名

IUPAC

英名：1-cyclopropyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluoro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid

CAS (No. 93106-60-6)

英名：1-cyclopropyl-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid

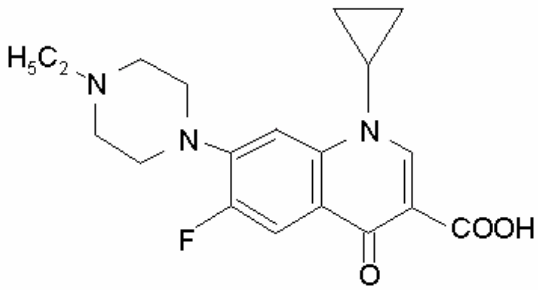
４．分子式

$C_{19}H_{22}FN_3O_3$　　（参照 1、68）

５．分子量

359.40　　（参照 1、68）

６．構造式



（参照 1、68）

７．使用目的及び使用状況

エンロフロキサシンは、フルオロキノロン [1]系抗菌性物質に属し、グラム陰性菌に加え、多くのグラム陽性菌に対しても有効である。作用は殺菌的であり、細菌の II 型トポイソメラーゼ [2]である DNA ジャイレース、あるいはトポイソメラーゼ IV に作用し DNA

[1] ノルフロキサシン以降に合成された塩基性環の 6 位にフッ素、7 位に環状塩基性基を有するキノロン薬を総称して言う。

[2] DNA 鎖に一時的な切れ目を導入し、閉環 DNA の超らせんの程度の調節や連環状二量体の形成・解除に作用する。

複製を阻害するものと考えられている。（参照 2）

エンロフロキサシンを主剤とする動物用医薬品は、国内では鶏の呼吸器性マイコプラズマ病、大腸菌症、牛の肺炎、大腸菌性下痢症、豚の胸膜肺炎、大腸菌性下痢症を対象に使用されている。欧州、米国等においても広く使用されているが、米国ではフルオロキノロン耐性カンピロバクターに対するリスクを高める恐れがあるとして鶏への適用を取りやめている。また、代謝物であるシプロフロキサシンは抗菌活性を有し、ヒト用医薬品として使用されている。

今回、エンロフロキサシンを有効成分とする豚の注射剤が製造販売承認申請されたことに伴い、厚生労働省から、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づき、食品中の残留基準を設定することについて、食品健康影響評価が要請された。

Ⅱ．安全性に係る知見の概要

本評価書は、JECFA 評価書、動物用医薬品の承認申請書又は再審査申請の添付資料等を基に、エンロ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（ラット）

① 単回強制経口又は静脈内投与試験

ラット（Wistar 系、雄 4 匹/群）に ^{14}C 標識エンロフロキサシンを単回強制経口投与又は静脈内投与（いずれも 5 mg/kg 体重）し、投与 48 時間後までの血液を経時的に採取した。T_{max}はいずれも投与直後（0.5 時間）に認められ、C_{max}は経口投与で 570 ng eq/mL、静脈内投与で 1,448 ng eq/mL、$T_{1/2}$（β 相）はそれぞれ 11.7 及び 7.9 時間、AUC はそれぞれ 2,941.8 及び 3,824.3 ng・h/mL で、バイオアベイラビリティは 75.3%であった。また、単回強制経口投与後 24 時間の胆汁中からは約 40%が回収された。（参照 3）

② 単回強制経口投与試験

ラット（Wistar 系、雄 3 匹/群）に ^{14}C 標識エンロフロキサシンを単回強制経口投与（5 mg/kg 体重）し、投与 2、4、8、24、36 及び 48 時間後の肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の放射活性が測定された。放射活性は各組織とも投与 2 時間後に最高濃度に達し、その時の濃度は肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪でそれぞれ 1.85、1.14、0.52 及び 0.02 ppm であった。その後の消失は速やかであり、投与 48 時間後では全て 0.01 ppm 以下となった。投与 6 時間後までの胆汁中の主要な代謝物は未変化体で 73.6%を占め、極性代謝物が 9.8%、シプロフロキサシンが 4.6%、その他 5 種類の未同定代謝物が検出された。尿中からは未変化体が 30.3%、シプロフロキサシンが 33.8%、極性代謝物が 24.7%検出された。（参照 3）

③ 7 日間強制経口投与試験

ラット（SD 系）に ^{14}C 標識エンロフロキサシン 165 mg/kg 体重/日を 3 日間、続いて 50 mg/kg 体重/日を 4 日間強制経口投与し、最終投与後 24 時間の尿について代謝物の同定が実施された。主要な化合物として未変化体が雌で 36.2%、雄で 30.5%、極性代謝物が雌で 31.2%、雄で 26.0%、シプロフロキサシンが雌で 19.0%、雄で 28.9%検出された。（参照 4）

未同定の極性代謝物についてさらに詳細な検討が実施されたところ、この代謝物はエンロフロキサシンのグルクロン酸抱合体であることが示唆された。（参照 5）

（２）薬物動態試験（イヌ）

① 単回皮下又は経口投与試験

イヌ（ビーグル種）にエンロフロキサシンを単回皮下投与（2.5 又は 5.0 mg/kg 体重、各 6 頭）、又は単回経口投与（5.0 mg/kg 体重、15 頭）し、*Escherichia coli* を検定菌としたバイオアッセイにより投与 24 時間後までの血清中濃度が測定された。

T_{max}は皮下投与で 0.8±0.3 時間、経口投与で 2.6±1.2 時間、C_{max}は皮下投与の 2.5 mg/kg 体重投与群で 1.0±0.39 μg/mL、5.0 mg/kg 体重投与群で 1.0±0.39 μg/mL、経口投与で 1.2±0.47 μg/mL、$T_{1/2}$は皮下投与で 4.3±1.6 時間、経口投与で 2.3±0.7 時間であった。投与 24 時間後の血清中濃度は皮下投与では用量順に 0.03±0.03 及び 0.03±0.02 μg/mL、経口投与では検出限界未満であった。

単回経口投与 1 時間後の血清、胆汁、尿及び各組織中濃度では、ほとんどの組織で血清中より高かった。（参照 6）

（３）薬物動態試験（牛）

① 単回静脈内、皮下又は経口投与試験

牛（ホルスタイン種、3 日～約 8 週齢、24 頭）にエンロフロキサシンを静脈内（6 頭）、皮下（10 頭）又は経口（ミルク媒体及び直接投与各 4 頭）経路で単回投与（2.5 mg/kg 体重）し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイにより投与 24 時間後までの血清中濃度が測定された。

静脈内投与における T_{max}は投与直後（0.5 時間）で C_{max}は 1.8±0.3 μg/mL、$T_{1/2}$（β相）は 5.4±0.9 時間で、投与 24 時間後の平均血清中濃度は 0.06 μg/mL であった。皮下投与の T_{max}は投与 1～2 時間（1.7±0.48 時間）後に認められ、C_{max}は 1.1±0.24 μg/mL で、投与 2 時間後以降は静脈内投与と同様に推移した。経口投与はミルク媒体と直接投与の 2 試験が実施され、T_{max}はそれぞれ 4～6 時間及び 1 時間、C_{max}は 0.9±0.23 μg/mL 及び 1.5±0.45 μg/mL であった。投与 24 時間後の血清中濃度はそれぞれ 0.3±0.19 及び 0.2±0.22 μg/mL であった。（参照 6）

② 単回皮下投与及び 2 回経口投与試験

牛（6 頭/群）にエンロフロキサシンを単回皮下投与後 24 時間間隔でさらに 2 回経口投与（両投与経路共に 2.5 又は 5 mg/kg 体重/回）し、各投与 1、2、4、6 及び 24 時間後の血液を採取した。T_{max}は投与量にかかわらず皮下投与で 2 時間、経口投与で 6 時間

であった。C_{max}は 2.5 mg/kg 体重投与群の皮下投与で 1.5±0.47 μg/mL、経口投与では 2 回ともに 1.1±0.3 μg/mL であり、5.0 mg/kg 体重投与群の皮下投与で 2.2±0.21 μg/mL、第 1 回経口投与後で 1.8±0.3 μg/mL、第 2 回経口投与後で 1.9±0.59 μg/mL で、蓄積性は認められなかった。（参照 6）

③ 単回筋肉内投与試験

牛（6 頭/群）にエンロフロキサシンを単回筋肉内投与（2.5 mg/kg 体重）し、投与 1、4 及び 12 時間後の血清、胆汁、尿及び各組織中濃度が測定された。投与 1 及び 4 時間後に血清中より高濃度の抗菌活性が検出されたのは、肺、腎臓、肝臓、脾臓、心臓、リンパ節及び腸管壁で、特に腎臓と肝臓で約 3～4 倍の濃度であった。投与 4 時間後で最高値となった尿を除き組織中濃度は経時的に減少した。（参照 6）

④ 7 日間強制経口投与試験

牛（3～4 週齢）に ^{14}C 標識エンロフロキサシンを 7 日間強制経口投与（5 mg/kg 体重/日）し、最終投与 12 又は 72 時間後における肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の代謝物の同定が実施された。主要な代謝物は未変化体とシプロフロキサシンで、肝臓でシプロフロキサシンが 51.1%、未変化体が 30.9%、腎臓でそれぞれ 45.3 及び 37.4%、筋肉でそれぞれ 44.4 及び 51.5 %、脂肪でそれぞれ 37.3 及び 49.9%が検出された。検出濃度は経時的に減少したが、肝臓で最も高濃度であった。（参照 7）

（4）薬物動態試験（豚）

① 単回筋肉内又は経口投与試験

豚（ジャーマンランドレース種）にエンロフロキサシンを筋肉内（18 頭）又は経口（17 頭）経路で単回投与（2.5 mg/kg 体重）し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイにより投与 24 時間後までの血清中濃度が測定された。

T_{max}は筋肉内投与で 1 時間（1.3±0.49 時間）、経口投与で 2 時間（2.3±1.0 時間）、C_{max}はそれぞれ 0.8±0.12 及び 0.6±0.19 μg/mL、$T_{1/2}$はそれぞれ 5.8±1.2 及び 6.8±2.9 時間であった。投与 24 時間後の血清中濃度はそれぞれ 0.05 及び 0.06 μg/mL となった。（参照 6）

② 単回筋肉内投与試験

豚にエンロフロキサシンを単回筋肉内投与（2.5 mg/kg 体重）し、投与 1、2、4、6、8 及び 12 時間後の血清、胆汁、尿及び各組織中濃度が測定された。一般に組織中濃度は血清中濃度より高濃度で、尿を除き投与 1 又は 2 時間後に最も高濃度を示した。

投与 2 時間後以降では、投与 6 時間後で最高値となった尿を除き組織中濃度は経時的に減少した。（参照 6）

③ 単回筋肉内又は皮下投与試験

豚（ジャーマンランドレース種、4 か月齢、雌雄各 7 頭/投与群）にエンロフロキサシン製剤を単回筋肉内又は皮下投与（両投与経路共にエンロフロキサシンとして 7.5

mg/kg 体重）し、投与前並びに投与 0、0.5、1、2、4、6、8、10、12、32、48 及び 72 時間後の血清中濃度を TFC-MS/MS（乱流クロマトグラフィー・タンデム質量分析法、定量限界 25 μg/L）により測定した。

薬物動態パラメータを表 1 に示した。

筋肉内投与と皮下投与とのパラメータを比較した結果、両投与経路は生物学的に同等であると考えられた。

また、[Ⅱ．1．(4) ①]と比較すると筋肉投与における C_{max}は約 1.7 倍、T_{max}は約 3.7 倍、$T_{1/2}$は約 2.3 倍となった。これはエンロフロキサシンの投与量が 3 倍であったことに起因すると考えられた。（参照 69、70）

表 1　豚におけるエンロフロキサシン製剤単回筋肉内又は皮下投与後の薬物動態パラメータ

投与経路	動物数（頭）	T_{max}（h）	C_{max}（μg/L）	$T_{1/2}$（h）	$AUC_{0\text{-}24}$（μg・h/L）
筋肉内	14	4.9±1.9	1,459±328	13.19±2.99	20,445±2,476
皮　下	14	5.8±3.7	1,296±353	10.75±2.56	19,687±2,107

平均±標準偏差　　投与量：エンロフロキサシンとして 7.5 mg/kg 体重

④ 7 日間強制経口投与試験

豚に ^{14}C 標識エンロフロキサシンを 7 日間強制経口投与（5 mg/kg 体重/日）し、最終投与 12 又は 72 時間後における肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の代謝物の同定が実施された。

主要な代謝物は未変化体とシプロフロキサシンで、あわせて 78～98%を占め、そのほとんどは未変化体であった。検出濃度は経時的に減少したが、肝臓で最も高濃度であった。（参照 8）

（5）薬物動態試験（鶏）

① 単回皮下又は経口投与試験

鶏（肉用鶏、3～6 週齢、雄 18 羽/群）にエンロフロキサシンを単回皮下投与（2.5 又は 10 mg/kg 体重）、又は単回経口投与（2.5、5.0 又は 10 mg/kg 体重）し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイにより投与 24 時間後までの血清中濃度が測定された。

経口投与では、T_{max}は 1～2 時間で、C_{max}は 2.5 mg/kg 体重投与群で 0.5 μg/mL、5.0 mg/kg 体重投与群で 0.6 μg/mL、10 mg/kg 体重投与群で 1.4 μg/mL であり、$T_{1/2}$は 2～4 時間（2.0～3.5±0.4 時間）であった。皮下投与では、T_{max}は 0.5～1 時間で、C_{max}は 2.5 mg/kg 体重投与群で 0.4 μg/mL、10 mg/kg 体重投与群で 1.9 μg/mL であり、$T_{1/2}$は 2～6 時間であった。投与 24 時間後の血清中の抗菌活性は 10 mg/kg 体重投与群でのみ僅かに検出された。

血清及び組織中濃度は、単回経口投与では、2.5 mg/kg 体重投与群で投与 1 時間後に最高値となり、経時的に減少して投与 24 時間後には検出限界未満となった。10 mg/kg

体重投与群では、投与約 2 時間後に最高値となり、その後は経時的に減少した。投与 24 時間後では肝臓が最も高く 0.1 μg/g であった。（参照 6）

② 単回静脈内又は経口投与試験

鶏（6～7 週齢）にエンロフロキサシンを単回静脈内又は経口投与（いずれも 5 mg/kg 体重）したときの $T_{1/2}$はそれぞれ 18.7 及び 14.9 時間であった。AUC の比較から求められたバイオアベイラビリティは 84.5%であった。（参照 9）

③ 14 日間飲水又は混餌投与試験

鶏にエンロフロキサシンを 14 日間飲水投与（25、50 又は 100 ppm）又は混餌投与（50 又は 200 ppm）し、投与 2、7 及び 14 日後に血液を採取[3]し、血清中濃度をバイオアッセイにより測定した。

血清中濃度は、飲水投与では 25 ppm 投与群で 0.3～0.5 μg/mL、50 ppm 投与群で 0.6～0.9 μg/mL、100 ppm 投与群で 1.1～1.3 μg/mL であり、混餌投与では 50 及び 200 ppm 投与群で飲水投与の 25 及び 100 ppm 投与群とほぼ同等であった。試験期間中を通じて血清中濃度はほぼ同等であった。（参照 6）

④ 7 又は 10 日間経口投与試験

鶏（30 日齢）に ^{14}C 標識エンロフロキサシンを 7 又は 10 日間経口投与（12 mg/kg 体重/日）し、最終投与 6 時間後の肝臓、筋肉及び皮膚における代謝物が検討された。

いずれの組織においても主要残留物はエンロフロキサシンであり、肝臓、筋肉及び皮膚でそれぞれ 65.7、78.5 及び 49.7%を占めた。また、シプロフロキサシンがそれぞれ 13.3、3.1 及び 4.1%検出された。その他の代謝物は微量であったが、皮膚については未同定の 1 代謝物が 7.6%検出された。（参照 10、11）

2．残留試験

（1）残留試験（牛）

① 5 日間経口投与試験 a

牛（ホルスタイン種、10～24 日齢、雌雄、2 頭/時点/投与群）にエンロフロキサシン製剤を 5 日間強制経口投与（エンロ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 6 時間並びに 7、14、21 及び 30 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸及び血清中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC（検出限界：0.01 μg/g）により測定した。

エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を表 2 に示した。（参照 12）

[3] 午前 8 時から午後 5 時にかけて 1 時間毎に血液を採取しプールしたもの

表２　牛におけるエンロフロキサシン製剤５日間強制経口投与後の血清及び組織中濃度（μg/g）

投与量 (mg/kg 体重)	試料	残留物質	最終投与後日数（日）				
			6 h	7	14	21	30
5	筋肉	ERFX	0.27	<0.01、0.03	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.41	<0.01、0.03	<0.01	<0.01	
	脂肪	ERFX	0.08	<0.01	<0.01、0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	0.12	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	肝臓	ERFX	0.65	<0.01、0.07	<0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	1.95	<0.01、0.24	<0.01、0.02	<0.01	<0.01
	腎臓	ERFX	0.49	<0.01、0.04	<0.01	<0.01	
		CPFX	1.19	<0.01、0.11	<0.01	<0.01	
	小腸	ERFX	0.74	<0.01、0.04	<0.01、0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	0.39	<0.01、0.03	<0.01	<0.01	<0.01
	血清	ERFX	0.18	<0.01、0.01	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.17	<0.01、0.02	<0.01	<0.01	
10	筋肉	ERFX	1.61	<0.01、0.04	<0.01	<0.01	
		CPFX	1.14	<0.01	<0.01	<0.01	
	脂肪	ERFX	0.34	0.02	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.36	<0.01	<0.01	<0.01	
	肝臓	ERFX	2.94	<0.01、0.01	<0.01、0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	4.53	0.03	<0.01、0.03	<0.01	<0.01
	腎臓	ERFX	2.74	<0.01、0.03	<0.01、0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	3.14	<0.01、	<0.01、	<0.01	<0.01

				0.03	0.02		
	小腸	ERFX	3.03	0.02	<0.01、0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	1.28	<0.01、0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	血清	ERFX	0.69	<0.01	<0.01		
		CPFX	0.34	<0.01	<0.01		

平均値（一分析値が検出限界未満になった場合は分析値を示した。）　n=2　検出限界：0.01 μg/g
ERFX：エンロフロキサシン　CPFX：シプロフロキサシン

② 5 日間経口投与試験 b

牛（ホルスタイン種、14～18 日齢、雌 2 頭/時点/投与群）にエンロフロキサシン製剤を 5 日間経口投与（エンロフロキサシンとして 0 又は 5 mg/kg 体重/日）し、残留試験が実施された。エンロフロキサシン製剤は代用乳に混じて投与し、最終投与 6 時間並びに 7、14、21 及び 30 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、血清及び胆汁中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC（検出限界：0.01 μg/g）により測定した。

エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を表 3 に示した。（参照 12）

表 3　牛におけるエンロフロキサシン製剤 5 日間経口投与後の血清、胆汁及び組織中濃度（μg/g）

投与量 (mg/kg 体重)	試料	残留物質	最終投与後日数（日）			
			6 h	7	14	21
5	筋肉	ERFX	0.96	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.73	<0.01	<0.01	
	脂肪	ERFX	0.14	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.145	<0.01	<0.01	
	肝臓	ERFX	2.82	<0.01	<0.01	
		CPFX	4.55	<0.01	<0.01	
	腎臓	ERFX	1.49	<0.01	<0.01	
		CPFX	2.5	<0.01	<0.01	
	小腸	ERFX	1.3	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.59	<0.01	<0.01	
	血清	ERFX	0.59	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.32	<0.01	<0.01	
	胆汁	ERFX	10.04	<0.01、0.02	<0.01	<0.01
		CPFX	4.77	<0.01	<0.01	<0.01

平均値（一分析値が検出限界未満になった場合は分析値を示した。）　n=2　検出限界：0.01 μg/g
ERFX：エンロフロキサシン　CPFX：シプロフロキサシン

③ 5 日間皮下投与試験 a

牛（ホルスタイン種、約 1 か月齢、雌 3 頭/時点/投与群、1 頭/対照群）にエンロフロキサシン製剤を 5 日間皮下投与（エンロ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（24 時間）、7、14、21 及び 28 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、血清及び最終投与部位筋肉中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC（検出限界：0.01 μg/g）により測定した。

経時的なエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を表 4 に示した。（参照 13）

表 4　牛におけるエンロフロキサシン製剤 5 日間皮下投与後の血清及び組織中濃度（μg/g）

投与量 (mg/kg 体重)	試料	残留物質	最終投与後日数（日）			
			1	7	14	21
5	筋肉	ERFX	0.20	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.43	<0.01	<0.01	
	脂肪	ERFX	0.02	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.05	<0.01	<0.01	
	肝臓	ERFX	0.18	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.79	<0.01	<0.01	
	腎臓	ERFX	0.16	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.58	<0.01	<0.01	
	小腸	ERFX	0.21	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.18	<0.01	<0.01	
	血清	ERFX	0.06	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.06	<0.01	<0.01	
	最終投与部位筋肉	ERFX	24	<0.01~0.05	<0.01	<0.01
		CPFX	0.51	<0.01	<0.01	<0.01
10	筋肉	ERFX	0.16	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.46	<0.01	<0.01	
	脂肪	ERFX	<0.01~0.03	<0.01	<0.01	
		CPFX	<0.01~0.09	<0.01	<0.01	
	肝臓	ERFX	0.21	<0.01	<0.01	
		CPFX	1.1	<0.01	<0.01	
	腎臓	ERFX	0.15	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.71	<0.01	<0.01	
	小腸	ERFX	0.24	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.30	<0.01	<0.01	
	血清	ERFX	0.06	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.11	<0.01	<0.01	

	最終投与部位筋肉	ERFX	67	<0.01	<0.01	
		CPFX	1.0	<0.01	<0.01	

平均値（一部分析値が検出限界未満になった場合は範囲を示した。）　n=3　検出限界：0.01 μg/g
ERFX：エンロフロキサシン　CPFX：シプロフロキサシン

④ 5 日間皮下投与試験 b

牛（品種及び性別不明、40～45 日齢、3 頭/時点/投与群、1 頭/対照群）にエンロフロキサシン製剤を 5 日間皮下投与（エンロ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（24 時間）、7、14、21 及び 28 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、血清及び最終投与部位筋肉中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC（検出限界：0.01 μg/g）により測定した。

エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を表 5 に示した。（参照 13）

表 5　牛におけるエンロフロキサシン製剤 5 日間皮下投与後の血清及び組織中濃度（μg/g）

投与量 (mg/kg 体重)	試料	残留物質	最終投与後日数（日）			
			1	7	14	21
5	筋肉	ERFX	<0.01~0.08	<0.01	<0.01	
		CPFX	<0.01~0.24	<0.01	<0.01	
	脂肪	ERFX	0.08	<0.01	<0.01	
		CPFX	<0.01~0.04	<0.01	<0.01	
	肝臓	ERFX	<0.01~0.09	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.12	<0.01	<0.01	
	腎臓	ERFX	0.04	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.14	<0.01	<0.01	
	小腸	ERFX	<0.01~0.08	<0.01	<0.01	
		CPFX	<0.01~0.09	<0.01	<0.01	
	血清	ERFX	<0.01~0.03	<0.01	<0.01	
		CPFX	<0.01~0.04	<0.01	<0.01	
	最終投与部位筋肉	ERFX	0.07	<0.01	<0.01	
		CPFX	<0.01~0.09	<0.01	<0.01	
10	筋肉	ERFX	0.04	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.05	<0.01	<0.01	
	脂肪	ERFX	0.02	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.03	<0.01	<0.01	
	肝臓	ERFX	0.06	<0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	0.20	<0.01~0.02	<0.01	<0.01
	腎臓	ERFX	0.06	<0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	0.15	<0.01~0.01	<0.01	<0.01

	小腸	ERFX	0.04	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.05	<0.01	<0.01	
	血清	ERFX	0.03	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.03	<0.01	<0.01	
	最終投与部位筋肉	ERFX	0.27	<0.01~0.02	<0.01	<0.01
		CPFX	0.05	<0.01	<0.01	<0.01

平均値（一部分析値が検出限界未満になった場合は範囲を示した。）　n=3　検出限界：0.01 μg/g
ERFX：エンロフロキサシン　CPFX：シプロフロキサシン

（2）残留試験（豚）

① 5 日間筋肉内投与試験 a

豚（交雑種(LW)、1 か月齢、去勢雄 3 頭/時点/群）にエンロフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与（エンロ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（24 時間）、7、14、20、25、30 及び 35 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、血清及び最終投与部位筋肉中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC（検出限界：0.01 μg/g）により測定した。

エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を表 6 に示した。（参照 13）

表 6　豚におけるエンロフロキサシン製剤 5 日間筋肉内投与後の血清及び組織中濃度（μg/g）

投与量 (mg/kg 体重)	試料	残留物質	最終投与後日数（日）		
			1	7	14
5	筋肉	ERFX	0.03	<0.01	<0.01
		CPFX	<0.01~0.03	<0.01	<0.01
	脂肪	ERFX	<0.01~0.02	<0.01	<0.01
		CPFX	<0.01	<0.01	<0.01
	肝臓	ERFX	0.04	<0.01	<0.01
		CPFX	<0.01~0.03	<0.01	<0.01
	腎臓	ERFX	0.05	<0.01	<0.01
		CPFX	0.04	<0.01	<0.01
	小腸	ERFX	0.02	<0.01	<0.01
		CPFX	<0.01~0.02	<0.01	<0.01
	血清	ERFX	<0.01~0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	<0.01	<0.01	<0.01
	最終投与部位筋肉	ERFX	0.07	<0.01	<0.01
		CPFX	0.02	<0.01	<0.01
10	筋肉	ERFX	0.09	<0.01	<0.01
		CPFX	0.05	<0.01	<0.01
	脂肪	ERFX	0.03	<0.01	<0.01

		CPFX	<0.01	<0.01	<0.01
	肝臓	ERFX	0.14	<0.01	<0.01
		CPFX	0.06	<0.01	<0.01
	腎臓	ERFX	0.15	<0.01	<0.01
		CPFX	0.10	<0.01	<0.01
	小腸	ERFX	0.07	<0.01	<0.01
		CPFX	0.04	<0.01	<0.01
	血清	ERFX	0.02	<0.01	<0.01
		CPFX	<0.01	<0.01	<0.01
	最終投与部位筋肉	ERFX	1.9	<0.01	<0.01
		CPFX	0.10	<0.01	<0.01

平均値（一部分析値が検出限界未満になった場合は範囲を示した。） n=3 検出限界：0.01 μg/g
ERFX：エンロフロキサシン CPFX：シプロフロキサシン

② 5 日間筋肉内投与試験 b

豚（交雑種(LW)、33～38 日齢、去勢雄 3 頭/時点/群）にエンロフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与（エンロ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（24 時間）、7、14、20、25、30 及び 35 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、血清及び最終投与部位筋肉中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC（検出限界：0.01 μg/g）により測定した。

エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を表 7 に示した。（参照 13）

表 7 豚におけるエンロフロキサシン製剤 5 日間筋肉内投与後の血清及び組織中濃度（μg/g）

投与量 (mg/kg 体重)	試料	残留物質	最終投与後日数（日）		
			1	7	14
5	筋肉	ERFX	0.21	<0.01	<0.01
		CPFX	0.06	<0.01	<0.01
	脂肪	ERFX	0.07	<0.01	<0.01
		CPFX	<0.01	<0.01	<0.01
	肝臓	ERFX	0.28	<0.01	<0.01
		CPFX	0.06	<0.01	<0.01
	腎臓	ERFX	0.37	<0.01	<0.01
		CPFX	0.09	<0.01	<0.01
	小腸	ERFX	0.24	<0.01	<0.01
		CPFX	0.03	<0.01	<0.01
	血清	ERFX	0.08	<0.01	<0.01
		CPFX	0.02	<0.01	<0.01
	最終投与	ERFX	0.19	<0.01	<0.01

	部位筋肉	CPFX	0.05	<0.01	<0.01
10	筋肉	ERFX	0.30	<0.01	<0.01
		CPFX	0.08	<0.01	<0.01
	脂肪	ERFX	0.09	<0.01	<0.01
		CPFX	<0.01~0.03	<0.01	<0.01
	肝臓	ERFX	0.39	<0.01	<0.01
		CPFX	0.11	<0.01	<0.01
	腎臓	ERFX	0.55	<0.01	<0.01
		CPFX	0.18	<0.01	<0.01
	小腸	ERFX	0.31	<0.01	<0.01
		CPFX	0.06	<0.01	<0.01
	血清	ERFX	0.12	<0.01	<0.01
		CPFX	0.03	<0.01	<0.01
	最終投与部位筋肉	ERFX	3.52	<0.01	<0.01
		CPFX	0.11	<0.01	<0.01

平均値（一部分析値が検出限界未満になった場合は範囲を示した。） n=3 検出限界：0.01 μg/g
ERFX：エンロフロキサシン CPFX：シプロフロキサシン

③ 2 回筋肉内投与試験 a

豚（交雑種(LWD)、4～5 か月齢、去勢雄及び雌各 2 頭/時点/投与群、去勢雄 1 頭/対照群）にエンロフロキサシン製剤を 48 時間間隔で 2 回[4]筋肉内投与（エンロフロキサシンとして 7.5 mg/kg 体重/回、対照群は無処置）し、残留試験が実施された。最終投与 1、2、3、5 及び 7 日後に、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸、投与部位筋肉[5]及び投与部位周囲筋肉[6]中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC 又は LC-MS/MS（定量限界：いずれも 0.01 μg/g）により測定した[7]。

結果を表 8 に示した。エンロフロキサシンは、脂肪では最終投与 5 日後、筋肉及び小腸では最終投与 7 日後に定量限界未満となり、肝臓及び腎臓では最終投与 7 日後にそれぞれ 4 例中 1 例が定量限界値であったものの、他の 3 例は全て定量限界未満となった。投与部位筋肉及び投与部位周囲筋肉では個体間での差が大きく、最終投与 5 日後に定量限界未満となる動物もみられたが、最終投与 7 日後でも投与部位筋肉で 4 例中 2 例から、投与部位周囲筋肉で 4 例中 1 例から検出された。

シプロフロキサシンは、脂肪で最終投与 2 日後に、他の組織では、投与部位筋肉で最終投与 7 日後に検出された 1 例を除き、最終投与 5 日後に全例が定量限界未満となった。（参照 71）

[4] 臨床投与予定最高回数
[5] 注射針刺入位置を中心に 100～104 g を採取し、均一化したものを試料とした。
[6] 投与部位筋肉採取後の周辺部筋肉を 400～404 g 採取し、均一化したものを試料とした。
[7] 腎臓のみ LC-MS/MS で測定

表 8　豚におけるエンロフロキサシン製剤 2 回筋肉内投与後の組織中濃度（μg/g）

残留物	試料	最終投与後日数（日）				
		1	2	3	5	7
エンロフロキサシン	筋肉	1.20	0.34	0.12	<0.01~0.03	<0.01
	肝臓	2.06	0.51	0.18	<0.01~0.02	<0.01~0.01
	腎臓	1.90	0.59	0.21	<0.01~0.04	<0.01~0.01
	脂肪	0.15	0.05	<0.01~0.04	<0.01	<0.01
	小腸	1.18	0.51	0.14	<0.01~0.02	<0.01
	投与部位筋肉	1746.24	22.23	62.32	<0.01~0.02	<0.01~2.80
	投与部位周囲筋肉	22.85	1.08	1.18	<0.01~0.12	<0.01~0.03
シプロフロキサシン	筋肉	0.13	0.04	<0.01~0.02	<0.01	<0.01
	肝臓	0.29	0.07	0.03	<0.01	<0.01
	腎臓	0.30	0.06	0.03	<0.01	<0.01
	脂肪	<0.01~0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	小腸	0.09	0.03	<0.01~0.01	<0.01	<0.01
	投与部位筋肉	1.38	0.07	0.09	<0.01	<0.01~0.02
	投与部位周囲筋肉	0.15	0.03	<0.01~0.02	<0.01	<0.01

n=4　　定量限界：0.01 μg/g

④ 2 回筋肉内投与試験 b

豚（交雑種(LWD)、約 5 か月齢、去勢雄及び雌各 2 頭/時点/投与群、去勢雄 1 頭/対照群）にエンロフロキサシン製剤を 48 時間間隔で 2 回[8]筋肉内投与（エンロフロキサシンとして 7.5 mg/kg 体重/回、対照群は無処置）し、残留試験が実施された。最終投与 1、2、3、5 及び 7 日後に、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸、投与部位筋肉[9]及び投与部位周囲筋肉[10]中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC 又は LC-MS/MS（定量限界：いずれも 0.01 μg/g）により測定した[11]。

結果を表 9 に示した。エンロフロキサシンは、脂肪、小腸、投与部位筋肉及び投与部位周囲筋肉で最終投与 7 日後に定量限界未満となり、筋肉、肝臓及び腎臓では、最終投与 7 日後にそれぞれ 4 例中 1 例から検出されたもののいずれも検出限界値又はそれに近い値であり、他の 3 例は定量限界未満となった。

シプロフロキサシンは、脂肪で最終投与 2 日後に、筋肉、小腸、投与部位筋肉及び投与部位周囲筋肉で最終投与 5 日後に、肝臓及び腎臓で最終投与 7 日後に全例が定量限界

8 臨床投与予定最高回数
9 注射針刺入位置を中心に 100～104 g を採取し、均一化したものを試料とした。
10 投与部位筋肉採取後の周辺部筋肉を 400～404 g 採取し、均一化したものを試料とした。
11 腎臓のみ LC-MS/MS で測定

未満となった。（参照 72）

表 9　豚におけるエンロフロキサシン製剤 2 回筋肉内投与後の組織中濃度（μg/g）

残留物	試料	最終投与後日数（日）				
		1	2	3	5	7
エンロフロキサシン	筋肉	3.24	1.08	0.46	0.07	<0.01~0.01
	肝臓	4.10	2.12	0.43	0.11	<0.01~0.01
	腎臓	3.33	1.36	0.60	0.14	<0.01~0.02
	脂肪	0.34	0.15	0.06	<0.01~0.02	<0.01
	小腸	2.21	0.79	0.29	0.05	<0.01
	投与部位筋肉	343.31	44.17	6.13	0.06	<0.01
	投与部位周囲筋肉	37.74	7.62	0.73	0.07	<0.01
シプロフロキサシン	筋肉	0.18	0.08	0.03	<0.01	<0.01
	肝臓	0.34	0.16	0.06	<0.01~0.02	<0.01
	腎臓	0.29	0.16	0.05	<0.01~0.02	<0.01
	脂肪	<0.01~0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	小腸	0.09	0.04	<0.01~0.03	<0.01	<0.01
	投与部位筋肉	0.81	0.15	0.04	<0.01	<0.01
	投与部位周囲筋肉	0.23	0.08	0.02	<0.01	<0.01

n=4　　定量限界：0.01 μg/g

（3）残留試験（鶏）

① 5 日間飲水投与試験 a

鶏（肉用鶏、28 日齢、雌 3 羽/時点/群）にエンロフロキサシン製剤を 5 日間飲水投与（エンロフロキサシンとして 0、50(常用量)又は 100(2 倍量) ppm）し、残留試験が実施された。最終投与 6 時間並びに 5、10、14、21 及び 28 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、皮膚及び血清中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC（検出限界： 0.01 μg/g）により測定した。

結果を表 10 に示した。（参照 12）

表 10　鶏におけるエンロフロキサシン製剤 5 日間飲水投与後の血清及び組織中濃度（μg/g）

飲水濃度 (ppm)	試料	残留物質	最終投与後日数（日）			
			6h	5	10	14
50	筋肉	ERFX	0.65	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.03	<0.01	<0.01	
	脂肪	ERFX	0.06	<0.01	<0.01	
		CPFX	<0.01	<0.01	<0.01	
	肝臓	ERFX	1.28	<0.01～0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	0.63	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	ERFX	0.98	<0.01～0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	0.16	<0.01	<0.01	<0.01
	小腸	ERFX	0.67	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.11	<0.01	<0.01	
	皮膚	ERFX	0.21	0.03	<0.01	<0.01
		CPFX	<0.01～0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	血清	ERFX	0.26	<0.01	<0.01	
		CPFX	<0.01～0.01	<0.01	<0.01	
100	筋肉	ERFX	1.09	<0.01～0.01	<0.01	<0.01
		CPFX	0.07	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	ERFX	0.11	<0.01	<0.01	
		CPFX	<0.01	<0.01	<0.01	
	肝臓	ERFX	2.93	0.02	<0.01	<0.01
		CPFX	1.30	<0.01～0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	ERFX	2.15	<0.01～0.02	<0.01	<0.01
		CPFX	0.26	<0.01	<0.01	<0.01
	小腸	ERFX	1.73	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.21	<0.01	<0.01	
	皮膚	ERFX	0.53	0.02	<0.01～0.01	<0.01
		CPFX	0.03	<0.01	<0.01	<0.01
	血清	ERFX	0.39	<0.01	<0.01	
		CPFX	0.02	<0.01	<0.01	

3 羽、n=2 の平均値（一部分析値が検出限界未満になった場合は範囲を示した。）
検出限界：0.01 μg/g　　ERFX：エンロフロキサシン　CPFX：シプロフロキサシン

② 5 日間飲水投与試験 b

鶏（肉用鶏、4 週齢、雌雄各 2 羽/時点/群）にエンロフロキサシン製剤を 5 日間飲水投与（エンロフロキサシンとして 0 又は 50 ppm）し、残留試験が実施された。最終投与直後、6、9、12、15、18 及び 21 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、皮膚、筋胃

及び血清中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC（検出限界： 0.01 μg/g）により測定した。

結果を表 11 に示した。（参照 12）

表 11　鶏におけるエンロフロキサシン製剤 5 日間飲水投与後の血清及び組織中濃度（μg/g）

試料	残留物質	最終投与後日数（日）			
		直後	6	9	12
筋肉	ERFX	1.28	<0.01	<0.01	
	CPFX	0.06	<0.01	<0.01	
脂肪	ERFX	0.14	<0.01	<0.01	
	CPFX	<0.01～0.01	<0.01	<0.01	
肝臓	ERFX	2.9	<0.01～0.01	<0.01	<0.01
	CPFX	1.81	<0.01	<0.01	<0.01
腎臓	ERFX	1.65	<0.01	<0.01	
	CPFX	0.28	<0.01	<0.01	
小腸	ERFX	1.18	<0.01	<0.01	
	CPFX	0.205	<0.01	<0.01	
皮膚	ERFX	0.38	<0.01～0.02	<0.01	<0.01
	CPFX	0.015	<0.01	<0.01	<0.01
筋胃	ERFX	1.02	<0.01	<0.01	
	CPFX	0.04	<0.01	<0.01	
血清	ERFX	0.46	<0.01	<0.01	
	CPFX	0.02	<0.01	<0.01	

雌雄各 2 羽 1 試料、n=2 の平均値（一部分析値が検出限界未満になった場合は範囲を示した。）
検出限界：0.01 μg/g　　ERFX：エンロフロキサシン　CPFX：シプロフロキサシン

（4）残留試験（鶏卵）

産卵鶏（卵用鶏、350 日齢、10 羽）にエンロフロキサシン製剤を 5 日間飲水投与（エンロフロキサシンとして 0 又は 100 ppm）し、鶏卵の残留試験が実施された。鶏卵（3 個/時点）を最終投与 21 日後まで毎日採取し、卵黄及び卵白中のエンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンを HPLC（検出限界： 0.01 μg/g）により測定した。

結果を表 12 に示した。最終投与 9 日後には、卵黄及び卵白中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンは共に検出限界未満となった。（参照 12）

表 12　エンロフロキサシンを 5 日間飲水投与後の鶏卵中残留濃度（μg/g）

試料	残留物質	最終投与後日数（日）				
		0[a]	3	6[a]	9	12
卵黄	ERFX	3.36	1.01	0.04	<0.01	<0.01
	CPFX	0.25	0.19	<0.01	<0.01	<0.01
卵白	ERFX	1.80	0.06	<0.01	<0.01	
	CPFX	0.13	<0.01	<0.01	<0.01	

3 個、n=2 の平均値　検出限界：0.01 μg/g　ERFX：エンロフロキサシン　CPFX：シプロフロキサシン
a：3 個中 1 個は翌日産卵したもの

3．遺伝毒性試験

エンロフロキサシンの遺伝毒性に関する *in vitro* 及び *in vivo* の試験結果を表 13 に示した。（参照 14～20）

表 13　*in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験	*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*	0.5～150 ng/plate（±S9）[2)]	陰性
		0.05～15 ng/plate（±S9）[3)]	陰性
	S. typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537	0.004～40 ng/plate（±S9）[4)]	陰性
染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣由来（CHO）細胞（WBI）	50～250 μg/mL[5)]（－S9；23h）	陽性
		25～500 μg/mL[6)]（－S9；22h）	陽性
		250～1,000 μg/mL[7)]（＋S9；2h＋24.25h）	陰性
		100～2,000 μg/mL[8)]（＋S9；2h＋22.8h）	陰性
遺伝子突然変異試験	CHO 細胞（K1-BH/HPRT）	0.25～1.25 mg/mL[9)]（－S9；4h）	疑陽性[10)]
		0.375～1.25 mg/mL[9)]（＋S9；4hr）	疑陽性[11)]
不定期 DNA 合成（UDS）試験	ラット初代培養肝細胞	1～500 μg/mL[1)]	陰性

1)　500 μg/mL では細胞致死作用により解析不可能
2)　1.5（TA1535-S9）、5（TA100±S9, TA1535+ S9）、15（WP2±S9, TA98- S9, TA1537+ S9）、50（TA98+S9, TA1537- S9）ng/plate で菌の生育阻害が認められた。
3)　5（TA100±S9, TA1535±S9 ,TA1537±S9）、15（WP2±S9, TA98±S9）ng/plate で菌の生育阻害

が認められた。
4) 予備試験において 40 ng/plate 以上で菌の生育阻害が認められた
5) 50 μg/mL については 7.2h 処理も実施。250 μg/mL では細胞毒性が認められた。
6) 50 μg/mL 以下については 7.5h 処理も実施。250 μg/mL で細胞毒性が認められ、500 μg/mL では有糸分裂中の細胞が得られなかった。
7) 500 μg/mL 以下については 8.25h 処理も実施。500 μg/mL 以上で細胞毒性が認められた。
8) 500 μg/mL以下については8.2h処理も実施。2000 μg/mL では有糸分裂中の細胞が得られなかった。
9) 1 mg/mL 以上では細胞毒性が認められた。
10) 陽性結果が散見されたが、再現性、用量相関性がなく、変動は背景対照の範囲内であった。
11) 陽性結果が散見されたが、再現性、用量相関性がない

上記のように、*in vitro* の試験においてはほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験では－S9 条件下のみ、細胞毒性が認められる用量で陽性の結果が得られたが、UDS 試験及び復帰突然変異試験では陰性であった。

また、ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験では陽性結果が散見されるものの、再現性に乏しく、用量相関性のない、不明瞭な結果であった。

表 14　*in vivo* 試験

検査項目	試験対象	用量	結果
小核試験	マウス骨髄細胞	2,000 mg/kg 体重/日、単回腹腔内投与 1)	陰性
		1,000，1,500，2,000 mg/kg 体重/日、単回腹腔内投与 2)	陰性
染色体異常試験	ラット骨髄細胞	40、200、1,000 mg/kg 体重/日、単回経口投与 3)	陰性

1) 9/30 例の動物が死亡し、72 時間後の観察では多染性赤血球に対する成熟赤血球比率に毒性影響が認められた。
2) 1,500 mg 以上投与群で 3/10 例の動物が死亡した。
3) 予備試験で 1,500 mg 以上の投与では副作用のため試験が困難とされた。1,000 mg 投与群では一部に重度の副作用が認められた。

上記のように、げっ歯類を用いた *in vivo* の小核試験及び染色体異常試験ではいずれも陰性であった。

エンロフロキサシンの遺伝毒性については、*in vitro* の CHO 培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験で陽性を疑わせる結果が、染色体異常試験で－S9 条件下の細胞毒性が認められる用量において陽性の結果が報告されている。しかし、微生物を用いた復帰突然変異試験の結果は陰性であり、骨髄に毒性影響が認められる用量まで試験された、マウスを用いた小核試験及び最大耐量まで試験されたラットを用いた染色体異常試験のいずれも陰性であった。

これらのことから、エンロフロキサシンに生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えた。

４．急性毒性試験

経口投与による LD_{50}はマウス（Bor:CFW1）の雄で 5,000 mg/kg 体重超、雌で 4,336

mg/kg 体重、ラット（Wistar 系）の雌雄で 5,000 mg/kg 体重超、ウサギ（大型チンチラ種）の雌雄で 500～800 mg/kg 体重であった。イヌ（ビーグル種）では被験物質を嘔吐したため LD_{50}の算出は不可能であった。静脈内投与による LD_{50}はマウス（CFW1）の雄で 225 mg/kg 体重、雌で 220 mg/kg 体重であった。

また別の試験においては、経口投与による LD_{50}はマウス（ICR 系）の雌雄、ラット（Wistar 系）の雌雄ともに 5,000 mg/kg 体重超、筋肉内投与ではマウス（CD-1）の雌雄、ラット（Wistar 系）の雌雄ともに 1,000 mg/kg 体重超、静脈内投与ではマウス（CD-1）の雄で 136.0 mg/kg 体重、雌で 143.9 mg/kg 体重、ラット（Wistar 系）の雄で 233.2 mg/kg 体重、雌で 210.0 mg/kg 体重であった。

皮下投与では、マウス（CD-1）の雌雄、ラット（Wistar 系）の雌雄ともに 3,000 mg/kg 体重超であった。（参照 21～24）

５．亜急性毒性試験

（１）4 週間亜急性毒性試験（ラット）＜参考データ [12]＞

ラット（Wistar 系、6 週齢）を用いたエンロフロキサシンの 4 週間皮下投与（0、5、40 又は 300 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。各群の動物数は 0 及び 300 mg/kg 体重/日投与群では雌雄各 16 匹、5 及び 40 mg/kg 体重/日投与群では雌雄各 10 匹で、このうち 0 及び 300 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各 6 匹は、投与終了後 4 週（28 日）間休薬する回復試験群にあてた。

試験期間中に 300 mg/kg 体重/日投与群の雄 3 例が死亡した。

一般状態では、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 300 mg/kg 体重/日投与群の雌で投与部位に皮膚の膨隆を伴う硬結が認められた。300 mg/kg 体重/日投与群では投与の反復につれてその数、硬度が増し、投与期間後半では背部全体が膨隆する重度の変化が認められ、皮膚の一部が潰瘍化する例もあった。また、300 mg/kg 体重/日投与群の雄では、投与 20 日頃から全身筋肉の緊張度低下を伴って行動が緩慢になり、眼は退色傾向を示した。回復試験開始後は、投与部位の変化は時間の経過と共に軽減消退し、行動及び眼の変化もみられなくなった。

体重では、300 mg/kg 体重/日投与群において雄で低値、雌で高値が認められた。回復試験開始後は雌雄とも対照群と比較して有意差は認められなくなった。

摂餌量では、各投与群において有意差は認められなかった。

眼科的検査（検眼鏡）においては、投与終了時、回復試験終了時ともに異常は認められなかった。

尿検査では、300 mg/kg 体重/日投与群において雌雄に比重の増加、雄にケトン体及びリン酸マグネシウムアンモニウム結晶の増加が認められた。回復試験終了時では雌雄ともこのような変化はみられなかった。回復試験終了時の 300 mg/kg 体重/日投与群において尿中精子数が対照群に比べて多い傾向が認められた。

血液学的検査では、5 mg/kg 体重/日投与群の雌に血小板数の増加が認められたが、用量相関性がなく、皮下投与による出血に伴う影響と考えられた。40 mg/kg 体重/日以上

[12] 非経口投与の試験であることから、参考データとした。

投与群の雌雄で主に好中球及びリンパ球の増加に伴う WBC 並びに血小板数の増加、雄で Hb 及び Ht の減少が認められ、さらに 300 mg/kg 体重/日投与群では雌雄で網状赤血球の増加を伴う RBC の減少、雄で MCV 及び MCH の減少が認められた。これらの変化はいずれも回復試験終了時には雌雄とも回復した。なお、回復試験終了時における 300 mg/kg 体重/日投与群のリンパ球及び WBC は対照群を下回った。

血液生化学的検査では、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で Alb の減少が認められ、これに伴って 40 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 300 mg/kg 体重/日投与群の雌で TP 及び A/G 比が低下していた。雄で Cl、雌で Na の低値が認められた。また 300 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で AST、Ca、Na 及び Cl の減少並びに ALP 及び TG の増加、雄で T.Cho 及び BUN の減少並びに無機 P の増加、雌で K の増加が認められた。回復試験終了時では 300 mg/kg 体重/日投与群の雄で AST 及び Ca の減少が認められた以外は回復した。

臓器重量では、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 300 mg/kg 体重/日投与群の雌で脾臓の絶対及び相対重量の増加が認められた。300 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肺重量の増加、雄で唾液腺及び胸腺重量の減少、雌で肝重量の増加及び子宮重量の減少が認められた。

剖検では、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄において投与部皮下に出血点、遺残被験物質及び浸出液を含む肉芽嚢が高頻度で認められた。40 mg/kg 体重/日投与群の雄において脾臓の腫大が 10 例中 1 例で、300 mg/kg 体重/日投与群では全例で認められた。その程度は 300 mg/kg 体重/日投与群でより強く、肉芽嚢は全例で認められ、皮膚潰瘍を伴う例もあった。300 mg/kg 体重/日投与群の雌でも脾臓の腫大が 10 例中 9 例で認められた。また、300 mg/kg 体重/日投与群では盲腸の拡張が全例で認められた。300 mg/kg 体重/日投与群の回復試験終了時では雌で盲腸の拡張、投与部皮下の出血点が認められた。

病理組織学的検査では、対照群及び 5 mg/kg 体重/日投与群では投与部位に炎症が認められたものの軽度であった。40 mg/kg 体重/日以上投与群では投与部位の炎症性変化は増強し、中心部に被験物質を入れる肉芽嚢の形成がみられ、300 mg/kg 体重/日投与群では重度であった。また投与部位における炎症の反応性変化として、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄に骨髄で顆粒球系細胞の過形成、脾臓で造血亢進が認められ、300 mg/kg 体重/日投与群では雌雄で肝臓における顆粒球系細胞の造血が認められた。その他では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。（参照 25）

（2）13 週間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（SD 系、42 日齢、雌雄各 15 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの 13 週間混餌投与（0、500、2,000 又は 7,500 ppm：雄 36.5、150.0 又は 577.5 mg/kg 体重/日、雌；45.0、182.0 又は 690.0 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に 500 ppm 投与群の雄 1 例が死亡した。

一般状態では、投与に起因した異常は認められなかった。また眼検査（直接検眼鏡）にも異常は認められなかった。

体重では、7,500 ppm 投与群の雌雄で増加抑制及び低値が認められた。

摂餌量では、7,500 ppm 投与群の雌雄で飼料効率がやや低下していたが、その他に差

は認められなかった。

血液学的検査では、7,500 ppm 投与群の雌雄で Hb の低値、雌で Ht の低値が認められた。Ht の低値は 7,500 ppm 投与群の雄でも認められたが統計学的な有意差はなかった。投与 6 週後の 7,500 ppm 投与群の雌雄で血小板数の増加が認められた。投与 13 週（最終投与）後の 7,500 ppm 投与群の雌雄においても血小板数の増加が認められたが、統計学的に有意ではなかった。投与 13 週後の雄で MCV の低値が認められた。

血液生化学的検査では、2,000 ppm 投与群の投与 13 週後の雌及び 7,500 ppm 投与群の投与 6 及び 13 週後の雌雄で血清 TP の低値が認められた。これは Glob の低下に起因しており、7,500 ppm 投与群の雌雄で Glob の低値が認められ、雄では A/G 比も高値を示した。7,500 ppm 投与群の投与 6 及び 13 週後の雄で AST の低値が認められ、投与 6 週後の雄の全投与群、投与 13 週後では雄の 7,500 ppm 投与群で ALT の低値が認められた。また、2,000 ppm 以上投与群の投与 6 週後の雄、7,500 ppm 投与群の投与 13 週後の雌雄で無機 P の高値、2,000 ppm 以上投与群で T.Bil の低値が認められたが、投与 13 週後では認められなかった。

尿検査では投与 6 週後の 2,000 ppm 以上投与群の雄、投与 13 週後の 2,000 ppm 以上投与群の雌で Na の減少が認められた。

臓器重量では、2,000 ppm 以上投与群の雄で前立腺の絶対及び相対重量、雌で心臓の絶対重量の低値が認められた。2,000 ppm 投与群では雌の心臓の相対重量は低値であった。7,500 ppm 投与群の雄の心臓の絶対重量は高値を示した。7,500 ppm 投与群の雌雄で肝臓の絶対重量の低値が認められ、雌では統計学的に有意であった。また、雄で精巣の相対重量の高値、雌で脾臓の絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、報告書においては、前立腺で認められた重量の低値について、対照群で前立腺炎が認められ、重量が増加したために有意差が認められたと考察されている。

剖検及び病理組織学的検査では、盲腸の拡張が 2,000 ppm 以上投与群の雄及び 7,500 ppm 投与群の雌で認められた。7,500 ppm 投与群の雄の精巣上体及び精巣に病変が認められ、精巣上体管内及び精巣精細管内に変性又は壊死過程の精子細胞が認められた。また、7,500 ppm 投与群の 30 例中 3 例に膝関節の軟骨変性、骨膜液増生及び慢性滑液包炎が認められた。対照群を含めて耳介の腫脹が認められ、病理組織学的には耳介軟骨の異常（発生頻度は用量順に 1、1、6 及び 10 例）及び肉芽腫が認められた。（参照 26）

上記試験で精巣への影響が示唆されたため、さらに詳細な検討が実施された。

ラット（SD 系、37 日齢、雄 15 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの 13 週間混餌投与（0、125、500 又は 7,500 ppm：9.9、38.0 又は 615.0 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。対照群、125 ppm 投与群及び 500 ppm 投与群は各 2 群、7,500 ppm 投与群は 3 群を設定し、投与 14 日後に 7,500 ppm 投与群の 1 群、投与 91 日（最終投与）後に各用量 1 群を剖検し、残りの各 1 群は試験開始 181 日後（最終投与 90 日後）まで無投薬で飼育する回復試験群とした。

試験期間中に 125 ppm 投与群の 1 例が死亡した。

一般状態に投与に起因した異常は認められなかった。

体重では、7,500 ppm 投与群で増加抑制及び低値が認められた。これは回復試験の後

期には回復した。

摂餌量では、7,500 ppm 投与群で飼料効率がやや低下した。

臓器重量では、500 ppm 投与群で精巣上体の絶対重量の低値、7,500 ppm 投与群で精巣上体の絶対及び相対重量の低値並びに精巣の相対重量の高値が認められた。

剖検及び病理組織学的検査では、7,500 ppm 投与群の投与 14 日後の検査で 15 例中 10 例に精巣内の異常精子が認められ、全例で精巣上体管中に異常精子の増加、壊死細胞、成熟精子の減少が認められた。投与 91 日後の検査で 7,500 ppm 投与群の全例で精細管と精巣上体管に、500 ppm 投与群の 3 例で精巣上体管に異常精子が認められた。試験開始 181 日後の検査ではいずれのラットの精巣にも異常精子は認められなかった。精巣の小型化が投与 91 日後の剖検で、7,500 ppm 投与群の 1 例（片側）に、試験開始 181 日後の剖検では、500 ppm 投与群の 1 例（片側）及び 7,500 ppm 投与群の 2 例（両側）に認められ、病理組織学的にいずれも萎縮性の変化が認められた。（参照 27）

本試験における NOAEL は 125 ppm（9.9 mg/kg 体重/日）と考えた。

（３）13 週間亜急性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、12～13 か月齢、雌雄各 4 匹 /群）を用いたエンロフロキサシンの 13 週間混餌投与（0、320、800 又は 2,000 ppm ; 雄 0、9.3、22 又は 53 mg/kg 体重/日、雌 0、8.9、23 又は 51 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、嘔吐が全群で観察されたが、2,000 ppm 投与群で顕著であった。

体重では、800 ppm 以上投与群の雄及び 2,000 ppm 投与群の雌で投与初期に減少が認められた。同時期においては摂餌量も減少していた。これらは試験期間中に回復した。

血液学的検査、尿検査、眼検査（直接検眼鏡）では、投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、試験初期に 800 ppm 以上投与群の雄で Glob の低値、A/G 比の高値及び TP の減少傾向が認められた。これらは、試験の進行に伴って回復もしくは回復傾向を示した。

臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では、投与に起因した異常は認められなかった。（参照 28）

（４）13 週間亜急性毒性試験（イヌ、若齢）

イヌ（ビーグル種、3 か月齢、雌雄各 4 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの 13 週間混餌投与（0、100、320 又は 2,500 ppm ; 0、3.0、9.6 又は 75 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、投与初期に散発的な嘔吐及び下痢が 100 及び 2,500 ppm 投与群で認められた。2,500 ppm 投与群の雌雄に活動低下（雌雄各 4 例中 1 及び 2 例）、前脚の手根関節の過伸展（雌雄共に 4 例中 2 例）が認められた。手根関節の異常は投与 2 週に 2,500 ppm 投与群の全例で認められるようになった。前脚のエックス線検査が 2,500 ppm 投与群の 3 例、100 及び 320 ppm 投与群の各 2 例、対照群の 1 例について実施されたが、2,500 ppm 投与群では橈骨手根部再形成が認められた。

体重及び摂餌量に投与に起因した変化は認められなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、投与に起因した異常は認められなかった。

尿検査では、2,500 ppm 投与群の尿中に結晶が認められた。尿沈渣からはエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンが検出された。

眼検査（直接検眼鏡）で異常は認められなかった。

臓器重量では、対照群との比較で全投与群の精巣の絶対及び相対重量の増加が認められたが、投与群間での用量相関性、有意差はともに認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、320 ppm 投与群の 8 例中 2 例及び 2,500 ppm 投与群の 8 例中 7 例で股関節に、2,500 ppm 投与群の全例で後膝関節及び雌 1 例で肩関節に異常が認められた。320 ppm 投与群の 8 例中 1 例で大腿骨頭にびらんが、2,500 ppm 投与群の全例に股関節の大腿骨頭部及び/又は膝関節の大腿骨顆に表面上の混濁を伴う表面のびらんが認められた。精巣については、成熟段階に個体差が認められ、対照群の 1 例及び 320 ppm 投与群の 3 例は成熟、対照群 3 例並びに 320 及び 2,500 ppm 投与群の各 1 例は未成熟であることが明らかであった。認められた所見は精細管の内腔の拡張と精細管に満たされている精原細胞の空胞状変化であった。内腔の拡張は対照群を含め全投与群で認められた（投与量順に 1、1、2 及び 1 例）。精原細胞の空胞状変化は対照群の 1 例、100 ppm 投与群の 2 例及び 2,500 ppm 投与群の 3 例で認められ、100 及び 2,500 ppm 投与群の所見は正常範囲外とされていたが、320 ppm 投与群では認められず、用量相関性は認められなかった。（参照 29）

上記試験で認められた精巣の変化を明らかにするため、若齢イヌを用いた追加試験が実施された。

イヌ（ビーグル種、3 か月齢、雄 4 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの 13 週間混餌投与（0、10、20、40 又は 3,200 ppm ; 0、0.3、0.6、1.2 又は 92.1 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に死亡例はなかった。

一般状態では、対照群を含め散発的に軟便又は下痢及び嘔吐が認められた。3,200 ppm 投与群で活動低下、手根関節の過伸展及び後肢の硬直が投与初期から認められ、幾分軽減したものの試験終了時まで継続して認められた。

体重では、3,200 ppm 投与群で投与 3 週頃まで増加抑制が認められた。

摂餌量では、3,200 ppm 投与群で投与 5 週まで低値が認められた。

眼検査（直接検眼鏡）では、異常は認められなかった。

臓器重量では、精巣重量の変動幅が大きかったが、用量に相関した変動は認められず、成熟段階の差によるものと考えられた。

剖検では、精巣及び精巣上体に異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、先の試験と同様、精巣の成熟段階の違いによるばらつきが認められた。精細管中の精原細胞の空胞状変化は対照群を含めた全群で認められたが、投与量による差はなく生理的変動の範囲内と考えられた。3,200 ppm 投与群の 1 例に両側性の精巣の異常が認められ、精細管に多核巨細胞及び、時に有糸分裂像を認める大きな核を有する大型の細胞が認められた。（参照 30）

幼若時の暴露の成長後に及ぼす影響について追加の試験が行われた。

イヌ（ビーグル種、3 か月齢、雄 4 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの 13 週間混餌投与（0、10 又は 40 ppm；0、0.3 又は 1.2 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。全被験動物は 13 週間の投与期間終了後、さらに 13 週間休薬し、その後精巣及び精巣上体の病理組織学的検査を実施した。

一般状態、体重、摂餌量、剖検及び病理組織学的検査では、いずれも投与に起因した異常は認められなかった。精巣及び精巣上体はいずれも成熟し、正常な精子を含有していた。（参照 31）

これらの試験の結果から総合的に判断して、最も感受性の高い毒性影響は 320 ppm 投与群でみられた関節への影響であり、イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験における NOAEL は 3 mg/kg 体重/日と考えた。

６．慢性毒性及び発がん性試験

（１）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）

マウス（B6C3F$_1$、雌雄各 60 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの 2 年間混餌投与（0、1,000、3,300 又は 10,000 ppm；雄 0、323、1,097 又は 3,526 mg/kg 体重/日、雌 0、373、1,206 又は 3,696 mg/kg 体重/日）による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。各群 10 匹は投与開始 12 か月の時点で中間検査に供した。また中間検査用に、各投与群に加え雌雄各 10 匹に 20,000 ppm（雄 8,031 mg/kg 体重/日、雌 8,007 mg/kg 体重/日）を 12 か月間混餌投与した。

試験期間中の死亡率に差は認められなかった。

一般状態では、中間検査の 20,000 ppm 投与群を含め投与に起因した異常は認められなかった。

体重は、10,000 ppm 以下の投与群では雌雄でしばしば顕著な高値が認められた。20,000 ppm 投与群では対照群と差は認められなかった。

摂餌量及び飲水量は、10,000 ppm 以下の投与群では差は認められなかった。20,000 ppm 投与群の雌雄で摂餌量、飲水量ともにやや多かった（但し、20,000 ppm 投与群は 12 か月間、対照群及び 10,000 ppm 以下の投与群では 24 か月間投与の平均値の比較）。

血液学的検査では、投与 12 か月後に全投与群の雄及び 3,300 ppm 以上投与群の雌で MCV の低値が認められたが、最終投与後には 3,300 ppm 以上投与群の雄及び 10,000 ppm 投与群の雌のみとなった。投与 12 及び 24 か月（最終投与）後のいずれの時点でも 3,300 ppm 以上投与群の雄及び 10,000 ppm 以上投与群の雌で MCH の低値が認められた。投与 12 か月後の 10,000 ppm 以上投与群の雄並びに、最終投与後の 3,300 ppm 以上投与群の雄及び 10,000 ppm 投与群の雌で WBC の減少が認められた。また、投与 12 か月後には Hb 及び Ht の低下が 20,000 ppm 投与群の雄及び 10,000 ppm 以上投与群の雌で認められた。10,000 ppm 以上投与群の雌雄で Hb 及び Ht の低下が投与 12 か月後及び/又は最終投与後で認められた。その他いくつかの項目で散発的に有意差を示す項目が認められたが、毒性学的意義はないと考えられた。

血液生化学的検査では、投与 12 か月後で 3,300 ppm 以上投与群、最終投与後で 10,000

ppm 投与群の雌で ALP の低値が認められた。ALT 及び AST には異常は認められなかった。投与 12 か月後の 20,000 ppm 投与群の雄、3,300 ppm 以上投与群の雌、試験終了時の 10,000 ppm 投与群の雄、3,300 ppm 以上投与群の雌で TP の減少が認められ、Alb の知見から Glob の低値によるものと考えられた。また、投与 12 か月後には 10,000 ppm 以上投与群の雌で Cre の増加を認めた。その他散発的に有意差のある項目が散見されたが毒性学的意味はないと考えられた。

最終投与後の眼検査では、10,000 ppm 投与群の雌雄で限局的な混濁が認められたが、病理組織学的検査では異常は認められなかった。

臓器重量では、投与 12 か月後の 20,000 ppm 投与群の雌及び最終投与後の 10,000 ppm 投与群の雌に腎臓の絶対及び相対重量の増加が認められた。他にも有意差のある項目が散見されたが、多くは体重差に起因するものであり、その他用量相関性や程度から毒性学的な意義のある変化とは認められなかった。

最終投与後の剖検では、1,000 ppm 以上投与群の雄及び 3,300 ppm 以上投与群の雌で盲腸の拡張が認められたが、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。その他には中間検査も含め、投与に起因した異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、3,300 ppm 以上投与群の雄及び 10,000 ppm 投与群の雌で胆管過形成及び胆嚢の限局性の粘膜乳頭状過形成が認められた。腫瘍の発生率については、群間で投与に起因した有意差は認められなかった。

本試験における NOAEL は 1,000 ppm（323 mg/kg 体重/日）と考えた。発がん性は認められなかった。（参照 32）

（２）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

ラット（Wistar 系、雌雄各 50 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの 2 年間混餌投与（0、770、2,000 又は 6,000 ppm；雄 0、41.0、103.4 又は 337.6 mg/kg 体重/日、雌 0、57.7、146.0 又は 465.6 mg/kg 体重/日）による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。中間検査用に各用量について各群雌雄各 10 匹が、さらに雌雄各 10 匹の 10,000 ppm 投与群（雄 855.5 mg/kg 体重/日、雌 1,001.4 mg/kg 体重/日）が設定され 12 か月間混餌投与した。

群間の比較では有意な生存率の変化は認められなかった。

体重では、6,000 ppm 投与群の雄及び 10,000 ppm 投与群の雌雄で増加抑制が認められたが、770 及び 2,000 ppm 投与群の雄では増加した。増加抑制は 10,000 ppm 投与群の雄で顕著であった。

摂餌量は、10,000 ppm 投与群の雌雄で、飲水量は 6,000 ppm 以上投与群の雌雄で増加が認められた。

血液学的検査は投与 6、12、18 及び 24 か月（最終投与）後に実施された。投与 6 か月後において、RBC、Hb、Ht 及び MCV の低値が認められ、6,000 ppm 以上投与群の雄の Ht、10,000 ppm 投与群の雄の RBC、雌雄の Hb 及び Ht は背景対照を上回っていた。また、WBC の減少も認められたがこれは抗生物質の場合、細菌が死滅することにより二次的によく認められる現象である。これらはいずれも最終投与後では差は認めら

れなかった。

全投与群の雄で、最終投与後の 2,000 ppm 投与群を除き投与 6 か月後以降のいずれの時点においても TP の有意な減少が認められた。雌では投与 6 か月後及び最終投与後では 2,000 ppm 以上投与群で、投与 12 か月後では 2,000 ppm 及び 10,000 ppm 投与群で減少が認められた。TP の減少はタンパク質の電気泳動による解析結果から Glob の低下によるものと考えられた。

尿検査ではタンパク質排泄量が減少したが、これは血液中のタンパク質の減少に伴うものと考えられた。

眼検査では、投与の影響は認められなかった。

臓器重量では、2,000 ppm 以上投与群の雄で肝臓の絶対及び相対重量の減少が認められた。雌では中間検査で 770 及び 10,000 ppm 投与群で同様の変化が認められたが用量相関性はなく、最終投与後では 2,000 ppm 投与群のみで認められ一貫性がない結果であった。その他散発的な変化が認められたが多くは体重差に起因するものであり、毒性学的な意義は不明であった。

最終投与後の剖検では、2,000 ppm 以上投与群の雌雄で肝嚢胞の増加及び 6,000 ppm 投与群で盲腸の拡張が認められた。

病理組織学的検査では、中間検査時に線維化を伴う胆管過形成が対照群を含めた全群の雄及び 6,000 ppm 以上投与群の雌で認められ、6,000 ppm 以上投与群の雄では有意であった。また、精巣萎縮が 6,000 ppm 以上投与群で認められ、10,000 ppm 投与群では有意であった。最終投与後では線維化を伴う胆管過形成及び嚢胞性胆管過形成、精巣の萎縮及び石灰沈着、心筋症並びに骨格筋筋線維の核数の増加が対照群を含めた雌雄で認められ、線維化を伴う胆管過形成は全投与群の雄及び 2,000 ppm 以上投与群の雌で、嚢胞性胆管過形成は 2,000 ppm 以上投与群の雄及び 6,000 ppm 投与群の雌で、雄の精巣萎縮及び石灰沈着は 6,000 ppm 投与群で、心筋症は全投与群の雌及び 6,000 ppm 投与群の雄で、骨格筋変化は 6,000 ppm 投与群の雌雄で有意であった。

腫瘍は、中間検査ではほとんど認められなかった。最終投与後では、6,000 ppm 投与群の雄で甲状腺の C-細胞腺腫の発生頻度の増加が認められ、腺癌との合計では統計学的に有意となったが、背景対照の範囲内であった。6,000 ppm 投与群の雌では、統計学的な有意差はないが、心内膜下間葉性細胞腫瘍（神経鞘腫）の増加が認められた。これを心内膜下間葉性細胞過形成と合算した場合、統計学的に有意に増加した。この所見は別途評価された結果、本試験では対照群の雌雄で心内膜下間葉性細胞腫と過形成の発生がなく、対照群における同病変の頻度は背景データより低い値であること、雄では用量相関性が観察されなかったこと等から、雌雄ともこれらの病変の増加は投与との関連性はないと結論されており、EMEA 及び JECFA においてもその結論は支持されている。また、本試験の雌雄で増加した心筋症との関連性も認められていない。さらに、心内膜下神経鞘腫はラットにのみ発生する種特異的な腫瘍であると考えられている。これらの結果より、心内膜の腫瘍性病変の発生頻度の増加が投与に関連する可能性は極めて低く、またヒトへの外挿性はないと考えられる。その他の腫瘍及び悪性腫瘍の頻度に差は認められなかった。

本試験において、全投与群で胆管過形成及び心筋症が認められたため、NOAEL は求

められなかった。発がん性は認められなかった。（参照 33～37）

上記試験で認められたいくつかの病変についての NOAEL を確認するため、同系統のラットを用いた追加試験が実施された。

ラット（Wistar 系、雌雄各 50 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの 2 年間混餌投与（0、100 又は 500 ppm；雄 0、5.3 又は 26 mg/kg 体重/日、雌 0、7.2 又は 36 mg/kg 体重/日）による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。各群雌雄各 10 匹を投与 12 か月後に中間検査に供した。

生存率、一般状態、眼検査、摂餌量、飲水量、体重、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量には投与に起因した異常は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、雄で肝臓の肥大が認められたが、重量及び病理組織学的に後述の変化を除き異常は認められなかった。肝臓の線維化を伴う胆管過形成が中間検査時では 100 ppm 以上投与群の雄で、最終投与後では 500 ppm 投与群の雌雄で認められた。

腫瘍については、肝臓及び心臓のみ病理組織学的検査が実施されたが腫瘍の発生率の上昇は認められなかった。（参照 33～37）

（3）2 年間慢性毒性試験（ラット）

上記 2 試験で最低投与量においても線維化を伴う胆管過形成が認められたことから、この病変に対する NOAEL を決定するため、再度試験が実施された。

ラット（Wistar 系、雌雄各 50 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの 2 年間混餌投与（0、10 又は 50 ppm；雄 0、0.6 又は 2.9 mg/kg 体重/日、雌 0、0.7 又は 3.5 mg/kg 体重/日）による慢性毒性試験が実施された。各群雌雄各 10 匹を投与 12 か月後に中間検査に供した。

生存率、一般状態、眼検査、摂餌量、飲水量、体重、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量並びに剖検及び病理組織学的検査において、投与に起因した異常は認められなかった。（参照 33～37）

本試験における NOAEL は 2.9 mg/kg 体重/日と考えた。

7．生殖発生毒性試験

（1）2 世代繁殖試験（ラット）

ラット（SD 系、雌雄各 30 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの混餌投与（0、500、2,000 又は 7,500 ppm）による 2 世代繁殖試験が実施された。

投与は F_0雄では交配前 70 日間、雌では交配前 14 日間、F_1では離乳後、雌雄とも交配 70 日前から剖検時まで行った。F_0交配の出生児（F_1）は一部を除き、離乳（生後 21 日）まで哺育され、離乳後各群雌雄各 25 匹を選抜し、これらを交配し F_2を得た。選抜されなかった F_1は剖検に供した。F_2は一部を除き離乳まで哺育された。

一般状態では、7,500 ppm 投与群の F_1雌数例で鼻孔周辺に茶褐色の付着物が認められた。

体重では、F_0及び F_1ともに 7,500 ppm 投与群の雌雄で増加抑制及び低値が認められ

た。

摂餌量は、7,500 ppm 投与群の F_1雄で試験期間中減少した。

性周期に投与の影響は認められなかったが、7,500 ppm 投与群で F_0及び F_1ともに妊娠率の低下、妊娠期間の軽度な延長、並びに総産児数、出生率及び着床数の低下が認められた。

死産児数は、F_0及び F_1ともに投与群と対照群の間に差はみられなかった。

F_1及び F_2児の生後 1～4 日の生存率及び生後 5～21 日の生存率（離乳率）は 7,500 ppm 投与群で低下し、ほ育期間中に体重の増加抑制と低値が認められた。

児の外表及び骨格ともに投与に起因した異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、7,500 ppm 投与群の F_1雄の数例で片側性の精巣萎縮、散在性の精細管萎縮及び精巣上体中の細胞残屑が認められた。また、F_0及び F_1の雄の多くで変性した精子細胞が精細管や精巣上体中に認められた。雌の生殖器官には病理組織学的異常はみられなかった。（参照 38～40）

前記の試験で繁殖能力の低下がみられ、他のフルオロキノロン系抗菌性物質で報告されているものと類似の精子形成に対する影響と考えられたことから、より低用量での繁殖成績を精査するため追加試験を行った。

ラット（SD 系、雌雄各 30 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの混餌投与（0、125、300 又は 2,000 ppm；0、10、25 又は 165 mg/kg 体重/日）による 2 世代繁殖試験が実施された。

投与は F_0雄では交配前 70 日間、雌では交配前 14 日間、F_1では離乳後、雌雄とも交配の 77 日前から剖検時まで行った。F_0交配の出生児（F_1）は一部を除き、離乳（生後 21 日）まで哺育され、離乳後各群雌雄各 25 匹を選抜し、これらを交配して F_2世代を得た。選抜されなかった F_1は剖検に供した。F_2は一部を除き離乳まで哺育された。

一般状態、体重及び摂餌量に投与の影響は認められなかった。

性周期、妊娠率、着床数、同腹児数、死産児数及び児の生存率には、F_0及び F_1ともに投与群と対照群の間に差はみられなかった。2,000 ppm 投与群の F_2では離乳前の体重増加が軽度に低下した。

児の外表及び骨格ともに投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、2,000 ppm 投与群の F_0及び F_1雄の精巣上体重量に統計学的有意差はないが減少傾向が認められた。剖検及び病理組織学的検査では、300 ppm 以上投与群の F_0及び F_1雄で変性した精子細胞が精巣の精細管や精巣上体中に認められた。125 ppm 投与群ではこれらの変化は認められなかった。

本試験における NOAEL は 125 ppm（10 mg/kg 体重/日）と考えた。（参照 38～40）

（２）雄性生殖能試験（ラット）[13]

上記 2 試験で雄の精子に形態異常が認められたため、これらの異常が発現する時期について検討するために追加試験を行った。

[13] [II. 7. (1)]の追加試験であり、1 用量で実施されていることから、NOAEL を設定しなかった。

雄ラット（SD 系、60 匹/群）にエンロフロキサシンを 90 日間混餌投与（0 又は 7,500 ppm）した。投与 3、6 及び 9 週後にそれぞれ各群 10 匹、投与 13 週後に 15 匹を剖検し、残りの雄 15 匹には基礎飼料を投与し回復試験群としてさらに 13 週間飼育した。投与開始 11 週後及び最終投与 3、7 及び 11 週後に各群の雄 15 匹を薬剤未投与の雌と最長 2 週間交配させ、妊娠 20 日に剖検し、繁殖成績を調べた。

投与群の雄では投与期間を通じて体重の増加抑制及び低値が認められ、摂餌量も減少した。これらは最終投与後に回復した。

いずれの時期の交配においても交尾率に影響は認められなかったが、投与群の雄の 3 例で繁殖成績の低下が認められ、これらの動物では両側精巣の完全又は中程度の萎縮が観察された。精巣重量では中間剖検で絶対及び相対重量の増加が認められ、最終投与後には絶対重量の低値がみられた。精巣上体重量は回復期を含め試験期間中を通じて絶対及び相対重量の低値を示した。精巣又は精巣上体中の精子の変性は投与 3 週後の剖検時には認められ、経時的に増加した。また、精巣上体中の細胞残屑の増加が認められた。投与群の雄における異常精子は 1 例を除いて回復試験期間中に回復したが、精細管の萎縮は投与群の雄の 15 例中 6 例でなお認められた。

投与 11 週後に交配した雌で妊娠率、同腹児数及び着床数の低下並びに未着床胚数[14]の増加が認められた。着床後吸収胚数の増加は認められなかった。妊娠率、同腹児数及び着床数の低下並びに未着床胚数増加は回復試験期間中に回復した。

投与に起因する胎児の外表異常は認められなかった。（参照 38～40）

（3）発生毒性試験（ラット）

ラット（SD 系、28 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの強制経口投与（0、50、210 又は 875 mg/kg 体重/日）による発生毒性試験が実施された。投与は、妊娠 6 日から 15 日に行った。

母動物では、死亡は認められなかった。一般状態に投与に起因した異常は認められなかった。体重増加抑制が 875 mg/kg 体重/日投与群の妊娠期間中で認められた。また、妊娠 20 日の体重は低値を示した。摂餌量の低下が 210 mg/kg 体重/日以上投与群の妊娠 8 日及び 875 mg/kg 体重/日投与群の妊娠 12 日で認められたが、妊娠後半には回復し、妊娠 20 日には 875 mg/kg 体重/日投与群で有意に増加した。

875 mg/kg 体重/日投与群で同腹児数の減少、着床後胚／胎児死亡数の増加が認められた。210 mg/kg 体重/日以上投与群において胎児体重の低値が認められた。黄体数及び胎児の性比に投与の影響は認められなかった。

胎児では、210 mg/kg 体重/日投与群で椎骨及び胸骨に、875 mg/kg 体重/日投与群で頭蓋骨、椎骨、骨盤骨、胸骨及び肢骨に骨化遅延が認められた。外表、内臓及び骨格の奇形及び変異の発現率に投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物及び胎児に対する NOAEL は 50 mg/kg 体重/日と考えた。（参照 41）

---

[14] 黄体数と着床数から計算

（４）発生毒性試験（ウサギ）

ウサギ（チンチラ種、16 匹/群）を用いたエンロフロキサシンの強制経口投与（0、1、5 又は 25mg/kg 体重/日）による発生毒性試験が実施された。投与は、妊娠 6 日から 18 日に行った。なお、25 mg/kg 体重/日までの投与で母体毒性が認められなかったため、対照群及び 75 mg/kg 体重/日投与群を用いた試験が追加で設定され、同様の方法で実施された。

追加試験対照群の母動物の 1 例を除き死亡例は認められなかった。一般状態では、75 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で妊娠 19 及び 20 日に流産の兆候が観察された他は、投与に起因した異常は認められなかった。75 mg/kg 体重/日投与群では、体重増加抑制が妊娠 15 日後まで認められ、妊娠 6～8 日後に軽度な体重減少が認められ、妊娠 11 日後以降は有意な低値を示した。投与期間を通じて 75 mg/kg 体重/日投与群の摂餌量は低値を示した。

75 mg/kg 体重/日投与群で着床後胚／胎児死亡数の増加が認められた。この他には特に投与の影響は認められなかった。

胎児の外表、内臓及び骨格の奇形及び変異の発現率並びに骨化状態に投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物及び児動物に対する NOAEL は 25 mg/kg 体重/日と考えた。（参照 42）

８．その他の試験

（１）皮膚感作性試験

モルモット（白色種、雄 15 匹）に 25%エンロフロキサシン懸濁液を、粘着性パッチを用いて試験 0、7 及び 14 日にそれぞれ 6 時間皮膚に貼付し感作を行った。試験 27 日に感作と同様の処置を行い、2 回目の貼付 24 及び 48 時間後の発赤の程度を確認したところ、2 回目の貼付 48 時間後に 1 例で非常に弱い発赤が認められたのみであり、感作性はないものと考えられた。（参照 43）

９．ヒトにおける知見

（１）ヒトにおけるキノロンの毒性影響

エンロフロキサシンのヒト臨床における使用歴はないが、同系統に属するキノロン類あるいはフルオロキノロン類の抗菌性物質、代謝物であるシプロフロキサシンは広くヒト臨床において利用されている。

臨床で認められた副作用で最も一般的なものは消化器系への影響で、悪心、嘔吐等であるが下痢や抗菌性物質に起因する大腸炎はまれであるとされている。その他、中枢神経系に関連するものとして頭痛、めまい、消炎薬との併用で痙攣、アレルギー反応に関連するものとして発疹があるとされる。この系統の薬剤による副作用に特徴的なのものとして、特に未成熟な動物における関節痛や関節膨張等の関節障害、一部では光毒性に由来する光過敏症がある。

１０．一般薬理試験

（１）一般状態及び行動

Irwin の多次元観察法（マウス）において、腹腔内投与では、25 mg/kg 体重以上で運動性の抑制、83 mg/kg 体重以上で認知力の抑制、250 mg/kg 体重で振戦、攣縮、痙攣等の中枢興奮症状、姿勢制御抑制、眼裂縮小、排尿、流涎、立毛、体温降下等の自律神経症状が認められた。これらの症状は投与 30～60 分後で最大となり、約 2～3 時間で消失した。8.3 mg/kg 体重では一般状態及び行動に著変は認められなかった。（参照 44）

（２）中枢神経系への作用

体温測定（ウサギ；直腸温）においては 83 mg/kg 体重の静脈投与で 3 例中 1 例に軽度の上昇が認められた（8.3 及び 25 mg/kg 体重では影響なし）。（参照 44）

ヘキソバルビタール麻酔（マウス；睡眠時間）、中枢性協調能（マウス；平行棒法）、鎮痛作用（マウス；熱板法）、抗痙攣作用（マウス；電気刺激、ペントテトラゾール痙攣）、懸垂能（マウス；水平棒）、カタレプシー（マウス及びラット）、探索行動（マウス；Hoffmeister らの方法）及び反射（ラット；舌下顎反射、神経伝達阻害）において、100 mg/kg 体重までの経口投与で影響は認められなかった。自発運動（マウス）は 100 mg/kg 体重の経口投与で軽度の亢進作用を示した。（参照 45）

（３）自律神経系への作用

ウサギでは投与直後に一過性の縮瞳が認められた他に変化は認められなかった。（参照 44）

（４）平滑筋に対する作用

生体位子宮運動（ウサギ）では、83 mg/kg 体重の静脈投与で自発性収縮の軽度な減少が認められた。（参照 44）

摘出回腸（モルモット；自発収縮）では、10^{-7}～10^{-4} g/mL の濃度でコリン作動薬による収縮及びヒスタミン収縮に対して濃度依存的に抑制作用を示した。単独では収縮及び弛緩作用を示さなかった。（参照 44）

摘出気管（モルモット；自発収縮）においては、10 μg/mL までの濃度で摘出気管の固有緊張（トーン）並びにヒスタミン及びロイコトリエン D_4による収縮に影響を及ぼさなかった。（参照 46）

（５）消化器官系に対する作用

腸管輸送能（ラット；炭末移動）及び胃忍容性（ラット；損傷測定）においては、100 mg/kg 体重までの用量の経口投与で影響を及ぼさなかった。胃酸基礎分泌（ラット；胃管流液の測定）においては、100 mg/kg 体重までの用量の十二指腸内投与で影響を及ぼさなかった。（参照 47）

（６）呼吸循環器系への作用

呼吸、血圧及び心拍数（いずれもウサギ；8.3、25 又は 83 mg/kg 体重の静脈投与）が

観察された。呼吸数はいずれの用量でも投与直後から用量依存的に減少したが、投与 15 分後から回復傾向を示し、投与 60 分後には回復した。血圧は投与直後から投与 60～90 分後まで軽度に降下したが、その後は回復傾向を示した。心拍数は 83 mg/kg 体重投与群で投与直後から減少し、投与 5 分後には約 23%の減少が認められた。その後は増加に転じ、投与 30 分後には約 10%増加し、以後投与 180 分後まで持続した。25 mg/kg 体重以下の用量では変化は認められなかった。（参照 44）

血圧、心拍数、血流量及び心電図（麻酔イヌ）では 5 及び 15 mg/kg 体重の静脈内投与で一過性の軽度血圧低下を伴った末梢血管拡張及び左心室内圧上昇速度の増加が認められた。これらの変化は投与量に関わりなく同様であり、内因性ヒスタミンの遊離の可能性が示唆された。（参照 48）

（７）血液系への作用

血液系への作用は、血液凝固能（ラット；血液凝固時間、血小板凝集、線維素溶解作用）について実施されたが、100 mg/kg 体重までの経口投与では影響は認められなかった。（参照 49）

（８）その他

尿排泄への作用（ラット；尿量、Na^+、K^+測定）においては 100 mg/kg 体重の経口投与で K^+の排泄が増加した。30 mg/kg 体重までの濃度では影響は認められなかった。（参照 50）

血糖値及び血清 TG 値は、摂食ラットでは 100 mg/kg 体重までの経口投与では影響は認められなかったが、絶食ラットでは 30 mg/kg 体重以上の経口投与で血糖値及び血清 TG 値の上昇が認められた。耐糖能（絶食ラット；グルコース経口負荷試験）においては、100 mg/kg 体重までの経口投与では影響は認められなかったが、100 mg/kg 体重の投与 120 分後の血糖値には上昇が認められた。（参照 51）

１１．微生物学的影響に関する特殊試験

（１）*in vitro* の MIC に関する試験

① ヒト腸内細菌叢分離菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）

ヒト腸内細菌叢分離菌等に対するエンロフロキサシンの 10^7 cfu/mL における MIC が報告された。結果を表 15 に示した。（参照 52、53）

表 15　エンロフロキサシンのヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC

菌名	株数	MIC（μg/mL）		
		エンロフロキサシン		
		MIC_{50}	MIC_{90}	範囲
Bacteroides spp.	10	1	4	0.5～4
Bifidobacterium spp.	10	0.5	2	0.016～2
Clostridium spp.	10	0.5	4	0.125～4
Eubacterium spp.	10	0.25	0.25	0.125～4
Fusobacterium spp.	10	0.125	8	0.062～8
Peptostreptococcus spp.	10	0.25	8	0.062～16
Enterococcus spp.	10	1	1	0.5～1
Escherichia coli	10	0.031	0.062	0.031～0.062
Lactobacillus spp.	10	0.5	1	0.5～4
Proteus spp.	10	0.125	0.125	0.062～0.125

調査された菌種のうち、最も低い MIC_{50}が報告されているのは *E. coli* の 0.031 μg/mL であった。次いで *Fusobacterium* spp.及び *Proteus* spp.の 0.125 μg/mL であった。

③　代謝物のヒト腸内細菌叢分離菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）

エンロフロキサシン及びエンロフロキサシンの代謝物として同定されたシプロフロキサシン、オキソシプロフロキサシン、開環オキソシプロフロキサシン、7-aminoacetic fluroquinolonic acid、desethylene enrofloxacin、desethylene ciprofloxacin、n-formyl ciprofloxacin、7-aminofluoro-quinolonic acid、オキソエンロフロキサシンについて、*E. coli*、*Proteus*、*Lactobacillus*、*Enterococcus* 及び *Staphylococcus* に対する MIC が測定されたが、抗菌活性はシプロフロキサシンを除きいずれもエンロフロキサシンよりも弱かった。（参照 52、53）

④　pH の最小発育阻止濃度（MIC）に及ぼす影響

エンロフロキサシンの *Bacteroides* spp.、*Bifidobacterium* spp.、*Clostridium* spp.、*Enterococcus* spp.、*E. coli*、*Eubacterium* spp.、*Fusobacterium* spp.、*Lactobacillus* spp.、*Peptostreptococcus* spp.及び *Proteus* spp.に対する MIC（算術平均）に pH が及ぼす影響が調査された。少数例[15]を除き pH7.2 では、pH6.2 又は 5.2 よりも強い抗菌活性が認められた。（参照 52、53）

⑤　*in vitro* 擬似腸内環境における細菌の生存率

エンロフロキサシンを Cooked meat 培地に加え、適当な pH 及び塩濃度でペプシン及びパンクレアチン処理した腸内環境を模した条件下において、*Bifidobacterium* は 0.4

[15] *Peptostreptococcus* spp.、*Eubacterium* spp.は pH5.2 においてやや強い抗菌活性を示した。

μg/mL、*E. coli* は 0.56 μg/mL、*Enterococcus* 及び *Clostridium* は 0.9 μg/mL、*Bacteroides* は 1.4 μg/mL の濃度のエンロフロキサシン存在下においても菌の増殖が認められた。これらはいずれも[II. 11. (1)①]で測定された MIC よりも高い濃度であった。(参照 52、53)

（2）ヒトボランティアにおけるシプロフロキサシンの微生物学的影響

エンロフロキサシンについて、ヒトにおける直接の知見は得られていないが、シプロフロキサシンについては複数の事例が報告されている。

健常ボランティア（男性 12 名）について、シプロフロキサシンを 7 日間経口投与（500 mg/ヒト/回、1 日 2 回投与）し、投与前、最終投与日及び最終投与 1 週後の糞便中の大腸菌群（Coliforms）、*Streptococcus*、*Staphylococcus*、酵母及び偏性嫌気性菌数の変動が報告された。最終投与日では、大腸菌群が消失し、*Streptococcus* 及び *Staphylococcus* は統計学的に有意に減少した。酵母は増加、偏性嫌気性菌は減少したがいずれも僅かであった。最終投与 1 週後では、これらはほぼ回復した。（参照 54）

健常ボランティア（男女各 6 名）について、シプロフロキサシン 7 日間経口投与（400 mg/ヒト/回、1 日 2 回投与）し、投与前、投与 2 及び 5 日、並びに最終投与 1、3 及び 8 日後の糞便中の *E. coli*、*Enterococcus faecalis*[16]、*Enterococcus faecium*[17]、カンジダ酵母、偏性嫌気性菌（*Bacteroides*、*Bifidobacterium*）等の変動が報告された。投与開始後、*E. coli* が消失し、*E. faecalis* 及び *E. faecium* が減少した。カンジダ酵母及び偏性嫌気性菌は減少したがいずれも僅かであった。最終投与後、これらは徐々に回復した。また、*Clostridium difficile* は投与前、投与期間中、投与後共に検出されなかった。（参照 55）

健常ボランティア（男女各 6 名）について、シプロフロキサシンを 5 日間経口投与（500 mg/ヒト/回、1 日 2 回投与）し、投与前、投与 1、3 及び 5 日、最終投与 2 及び 14 日後の糞便中の種々の通性嫌気性菌（enterobacteria、*Enterococcus* 等）や偏性嫌気性菌（嫌気性球菌、*Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Fusobacterium* 等）の変動が報告された。投与開始後、enterobacteria 及び *Enterococcus* は顕著に減少したが、偏性嫌気性菌の減少は僅かであった。最終投与 14 日後では、これらはほぼ回復した。*C. difficile* 及びその毒素は投与前、投与期間中、投与後共に検出されなかった。また、MIC_{50}が 1 mg/L を超える耐性菌の出現は認められなかった。（参照 56）

健常ボランティア（12 名）について、シプロフロキサシンを 6 日間経口投与（200 mg/ヒト/回、1 日 4 回投与）し、投与前、投与期間中毎日、最終投与 4 日後までの糞便

[16] 参照 55 では *Streptococcus faecalis* と記載
[17] 参照 55 では *Streptococcus faecium* と記載

中の *E. faecalis*[18]、カンジダ酵母及び腸内細菌科の細菌の変動が報告された。腸内細菌科の細菌は投与 4 日には消失し、*E. faecalis* は僅かに減少、カンジダ酵母が僅かに増加した。最終投与 7 日後の時点では、これらはほぼ回復した。また、耐性菌の出現は認められなかった。（参照 57）

肝硬変患者（男性 5、女性 9 名）について、シプロフロキサシンを 5～10 日間経口投与（500 mg/ヒトを 1 日 1 回、又は 250 mg/ヒトを 1 日 2 回投与）し、投与前、投与 3～5 日、最終投与 2～4、5～8 及び 9～14 日後の糞便中の種々の通性嫌気性菌、偏性嫌気性菌及び酵母の変動が報告された。投与開始後、腸内細菌科の細菌は顕著に減少し、*Bacteroides* も減少したが、最終投与 14 日後にはこれらはほぼ回復した。各投与群の 1 名で投与期間中カンジダ酵母が認められ、最終投与 14 日後においてもなお認められた。（参照 58）

健常ボランティア（10 名）について、シプロフロキサシンを単回経口投与（750 mg/ヒト）し、投与前及び投与 8 日後までの糞便中の種々の通性嫌気性菌、偏性嫌気性菌及び酵母の変動が報告された。投与開始後、腸内細菌科の細菌が顕著に減少し、このため通性嫌気性菌数が減少した。偏性嫌気性菌、*Streptococcus*、*Staphylococcus* 及び酵母には投与の影響はほとんど認められなかった。また、*Pseudomonas aeruginosa*、*C. difficile* は投与前に *C. difficile* の健常キャリアであった 1 名を除き検出されなかった。投与によりナリジクス酸耐性の腸内細菌科の細菌が増加したが、投与 5～8 日後までには投与前の状態となった。（参照 59）

健常ボランティアにシプロフロキサシンを投与し、糞便中濃度を測定する試験が 3 試験実施された。これらの試験では、健常ボランティアにシプロフロキサシンを最長 7 日間まで経口投与（100～1,000 mg/ヒト/日）した。糞便中シプロフロキサシン濃度は、個人差がみられた。これらの試験のうち 2 試験の結果から、結腸内容物量を 220 g と仮定した場合、経口投与したシプロフロキサシンの約 20 %が結腸に存在すると考えられた。（参照 73）

Ⅲ．食品健康影響評価

１．諸外国の評価

（１）JECFA における評価

JECFA では、エンロフロキサシンについて第 43 回会議（1994 年）及び第 48 回会議（1997 年）で評価されている。

第 43 回会議（1994 年）では、ヒト腸内細菌叢分離菌に対するエンロフロキサシンのデータが得られていなかったことから、シプロフロキサシンの限られた菌種に対する MIC から暫定的な微生物学的 ADI 0.6 μg/kg 体重/日が設定された。

第 48 回会議（1997 年）では、エンロフロキサシンの毒性学的データ並びにエンロフ

[18] 参照 57 では *Streptococcus faecalis* と記載

ロキサシン及びシプロフロキサシンの微生物学的影響を考慮した上で、微生物学的影響が ADI を設定するために最も感受性の高いエンドポイントであると判断した。エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンのヒト腸内細菌叢分離菌に対するデータが新たに評価された。その結果、ヒト腸内細菌叢分離菌のうち最も感受性の高い *Fusobacterium* spp.10 菌種に対するエンロフロキサシンの MIC_{50}（0.125 μg/g）に、一日糞便量として 220 g、腸内細菌が利用可能な分画としてシプロフロキサシンのヒトボランティア試験に基づき 0.2（20%）、広範囲にわたる微生物学的データが得られたことから安全係数 1、ヒト体重 60 kg を適用し、下記の計算式で示されるとおり、微生物学的 ADI 2.3 μg/kg 体重/日が設定された。この微生物学的 ADI は、イヌの試験における精巣毒性に基づいた NOEL 1.2 mg/kg 体重/日に対しても十分な安全域を有するとされた。（参照 35、73）

$$\text{ADI} = \frac{0.125^{a}\ (\mu g/g) \times 220^{b}\ (g)}{0.20^{c} \times 1^{d} \times 60^{e}\ (kg)} = 2.3\ (\mu g/kg\ 体重/日)$$

a：エンロフロキサシンに対し最も感受性の高い菌種である *Fusobacterium* spp.の MIC_{50}
b：一日糞便量
c：ヒトボランティア試験における糞便中のシプロフロキサシン濃度より算出
d：広範囲にわたる微生物学的データが得られたため
e：ヒト体重

（２）EMEA における評価

EMEA では、1996 年にヒト腸内細菌叢分離菌の数菌種に対するエンロフロキサシンの MIC 試験で、*E. coli* が最も感受性が最も高く、MIC は 0.015～0.03 μg/mL であったことから、一日糞便量として 150 g、安全係数に 10、腸内細菌が利用可能な分画として 0.12（12%）、ヒト体重 60 kg を適用し、微生物学的 ADI 0.3125 μg/kg 体重/日（18.75 μg/ヒト）が設定された。この微生物学的 ADI は、イヌ（ビーグル種、3 か月齢）の 90 日間混餌投与試験における精巣毒性に基づいた NOEL 1.2 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用して算出した毒性学的 ADI 12 μg/kg 体重/日よりも小さかった。

1998 年には、ラット及びイヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験が再評価され、幼若イヌにおける関節症を根拠とした NOEL 3 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、毒性学的 ADI 30 μg/kg 体重/日が設定された。一方、ヒト腸内細菌叢分離の 10 菌種各 10 菌株から成る 100 菌株に対する異なる 3 濃度のエンロフロキサシンの MIC 試験が実施され、最も感受性の高い *E. coli* の MIC_{50}は 10^{9} cfu/mL の濃度で 0.062 μg/mL であったことから、以下のとおり CVMP の算出式により微生物学的 ADI 6.2 μg/kg 体重/日が設定された。微生物学的 ADI は毒性学的 ADI より小さかったため、エンロフロキサシンの ADI として微生物学的 ADI 6.2 μg/kg 体重/日が設定された。（参照 37）

$$ADI = \frac{\frac{0.062^{a} \times 2^{b}}{1^{c}} \times 150^{d}}{0.25^{e} \times 0.2^{f} \times 60^{g}} = 6.2\ (\mu g/kg\ 体重/日)\ (3726.2\ \mu g/ヒト)$$

a：エンロフロキサシンに対し最も感受性の高い菌種である *E. coli* の MIC_{50}
b：pH の変化による MIC の上昇を含む *in vivo* と *in vitro* の菌の発育条件の違いの補正値
c：フルオロキノロン耐性に関する染色体の性質及び最も感受性の高い菌種の MIC_{50}を使用したことを考慮した係数
d：一日糞便量
e：ラットを用いた経口投与試験でバイオアベイラビリティが 75%であったことから、腸内細菌が利用可能な経口用量の分画として、1−0.75＝0.25（25%）
f：ヒトの糞便中の ^{14}C 標識エンロフロキサシンの腸内容物への結合率が約 80%であったため。
g：ヒト体重

２．毒性学的影響について

（１）関節影響に関する知見について

キノロン剤は未成熟な動物における関節痛や関節膨張等の関節障害を起こすことが知られている。エンロフロキサシンについては、イヌ（ビーグル種、3 か月齢）を用いた 13 週間の混餌投与試験において関節影響が観察された。3.0、9.6 又は 75 mg/kg 体重/日の用量が 13 週間投与され、一般状態の観察で 75 mg/kg 体重/日投与群に手根関節の過伸展が、病理組織学的検査で 9.6 mg/kg 体重/日以上投与群に股関節及び膝関節の異常が認められた。これらは 3.0 mg/kg 体重/日投与群では観察されず、関節影響に対する NOAEL は 3.0 mg/kg 体重/日であると考えた。

（２）若齢イヌにおける精巣毒性について

若齢イヌにおける精巣に対する影響ついては、イヌ（ビーグル種、3 か月齢）を用いた 13 週間の混餌投与試験が実施された。精細管中の精原細胞の空胞化が対照群を含めて観察された。空胞化自体は対照群を含めて観察されていたが、用量相関性はないものの最高用量（2,500 ppm）投与群における発生頻度が高かったため、この変化がエンロフロキサシンの投与に関連するものであるかを検討する目的で最高用量を 3,200 ppm に設定した追加の試験が実施された。追加の試験においても、対照群を含めた全群で同様の精原細胞の空胞化が認められ、これらの試験条件下においては投与の有無にかかわらず空胞変性の発生が認められるものと考えられた。一方、発生頻度は最高用量投与群を含め投与群間で差は認められず、高用量投与群における空胞変性の発生頻度の増加は再現できなかった。これらのことから、これら若齢イヌにおいて認められた精原細胞の空胞変性は発達過程における生理的な変化の範囲内であり、エンロフロキサシンの投与に伴う影響ではないと判断した。なお、成熟イヌにおいては 2,000 ppm までの濃度の投与でもこれらの変化は認められなかった。

（３）生殖発生毒性について

生殖発生毒性については、ラットの 2 世代繁殖試験、ラット及びウサギの発生毒性試験が実施された。ラットの 2 世代繁殖試験において高用量で精子の変性が認められたが、NOAEL が明確になっており（10 mg/kg 体重/日）、また回復性の変化であった。

ラット、ウサギともに催奇形性は認められなかった。

（４）遺伝毒性／発がん性について

遺伝毒性試験（*in vitro*）については、ほ乳動物培養細胞を用いた染色体異常試験では非代謝活性化条件下において細胞毒性が認められる用量で陽性の結果が得られた。また、ほ乳動物培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験では遺伝子変異を疑わせる所見が散見されたが、その発生頻度には用量相関性がなく、再現性も認められなかった。UDS 試験及び復帰突然変異試験では代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった。一方、*in vivo* 試験では骨髄に毒性影響が認められる用量まで試験されたマウスを用いた骨髄小核試験及び最大耐量まで投与されたラットを用いた骨髄染色体異常試験のいずれも陰性であった。これらのことから、エンロフロキサシンには生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えた。

発がん性については、マウス及びラットの 2 年間の慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。このうちマウスの試験では発がん性を示唆する報告は認められなかった。ラットの試験では、雌の 6,000 ppm 投与群で統計学的な有意差はないが、心内膜下神経鞘腫の増加が認められ、心内膜下間葉性細胞過形成と合算した場合、統計学的に有意であった。この所見は別途評価され、本試験では対照群の雌雄で心内膜下間葉性細胞腫と過形成の発生がなく、対照群における同病変の頻度は背景データより低い値であること、雄では用量相関性が観察されなかったこと等から、雌雄ともこれらの病変の増加は投与との関連性はないと結論されており、EMEA 及び JECFA においてもその結論は支持されている。また、本試験の雌雄で増加した心筋症との関連性も認められていない。さらに、心内膜下神経鞘腫はラットにのみ発生する種特異的な腫瘍であると考えられている。これらの結果より、心内膜の腫瘍性病変の発生頻度の増加が投与に関連する可能性は極めて低く、またヒトへの外挿性はないと考えた。

（５）光毒性について

1990 年代後半からフルオロキノロン剤について光毒性／光遺伝毒性があることが報告されてきており、そのメカニズムについて光照射によって活性化された分子の DNA との直接作用、光照射によって生じた活性酸素やフリーラジカルの生成による二次的傷害が提案されている。フルオロキノロン剤の光毒性や光遺伝毒性についてはいくつかの報告があり、構造的に 6 位及び 8 位にハロゲン置換基を有するフルオロキノロン剤が明らかに強い光毒性を示すこと（参照 62）、1 位の置換基の種類によっては光毒性が減弱することが報告されている。（参照 63、64）エンロフロキサシンについて直接のデータは得られていないが、代謝物であるシプロフロキサシンについてはいくつかの報告が得られている。エンロフロキサシンとシプロフロキサシンの構造的な違いはエチル基の有無のみであり、光毒性／光遺伝毒性についてはほぼ同様と推定される。

シプロフロキサシンについて、*in vitro* では CHL V79 培養細胞を用いた UV 照射による細胞毒性の増強、コメットアッセイ（参照 65）や光小核試験（参照 66）でいずれも UV 照射による毒性の増強が認められたが、他のフルオロキノロン剤との比較では相対的に弱いものであった。また、UV 照射後のマウスの耳介炎症を指標とした試験（参

照 62、63）において光毒性が弱いことが知られるオフロキサシンとほぼ同レベルであったこと、ヒトボランティアの UV 照射後皮膚紅斑を指標とした試験においては、1 回 500 mg/ヒトの 7 日間投与でも影響は弱かったこと（参照 67）が報告されている。

これらのことから、少なくともエンロフロキサシンについてはフルオロキノロン剤の中では光毒性／光遺伝毒性は弱い部類に分類される。また、適切に管理される限り、通常食品中のエンロフロキサシンの残留はごく微量であり、食品を介して生体にとって問題となる光遺伝毒性が生じる可能性は無視できる程度と考えた。

（６）毒性学的 ADI について

エンロフロキサシンについては、遺伝毒性及び発がん性を示さないと考えられることから、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、ラットの 2 年間慢性毒性試験で認められた胆管過形成であり、NOAEL は 2.9 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 100（種差 10、個体差 10）を適用し、0.029 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えた。

３．微生物学的 ADI 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。エンロフロキサシンは生体内で代謝されるが、シプロフロキサシンを除き、代謝物の抗菌活性はほとんどない。シプロフロキサシンの抗菌活性はエンロフロキサシンとほとんど同等であり、主要な畜産動物における残留物は未変化体のエンロフロキサシンが主であった。エンロフロキサシンについてヒトにおける直接の知見は得られておらず、シプロフロキサシンについてはいくつかのヒトにおける知見があるが、明確な無影響量は特定できていない。このため、微生物学的影響の評価については、エンロフロキサシンの *in vitro* の MIC_{50}を用いて検討するのが適当と考えた。

エンロフロキサシンの MIC_{50}については、ヒト腸内細菌叢から優勢に検出される *Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、*Eubacterium*、*Fusobacterium*、*Peptostreptococcus*、*Enterococcus*、*E. coli*、*Lactobacillus*、*Proteus* の 10 種について 10 菌株の合計 100 菌株について MIC_{50}の情報が得られている。

単純に最も感受性が高かった細菌種は *E. coli* であり、その MIC_{50}は 0.031 μg/mL 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僅か（1%程度）で、腸内細菌叢の変動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いる。（参照 60、61）

指標として適当と考えられる細菌種の中で、最も感受性が高かったのは *Fusobacterium* spp.及び *Proteus* spp.における 0.125 μg/mL であり、現時点においてはこれらにおける MIC_{50}の 0.125 μg/mL を採用することが適当であると判断した。

微生物学的影響について、結腸内容物 220 g、細菌が暴露される分画 0.2（20%）、ヒト体重 60 kg を適用し、下記の計算式のとおり算出された。

$$\text{ADI（mg/kg 体重/日）} = \frac{0.000125\text{（mg/mL）} \times 220\text{（g）}}{0.2^{19} \times 60\text{（kg）}} = 0.002 \text{ mg/kg 体重/日}$$

４．食品健康影響評価について

微生物学的 ADI（0.002 mg/kg 体重/日）は毒性学的 ADI（0.029 mg/kg 体重/日）よりも小さいことから、エンロフロキサシンの ADI としては 0.002 mg/kg 体重/日と設定することが適当と判断した。

以上より、エンロフロキサ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。

エンロフロキサシン　0.002 mg/kg 体重/日

[19] シプロフロキサシンのヒトボランティア試験における糞便中のシプロフロキサシン濃度の知見に基づく。

表 16　JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 （mg/kg 体重/日）	無毒性量（mg/kg 体重/日）	
			JECFA	EMEA
マウス	24 か月間慢性/発がん性併合	0、1,000、3,300、10,000 ppm（雄；0、323、1,100、3,520、雌；0、373、1,210、3,700） （混餌投与）	323（1,000 ppm） 胆管の過形成 発がん性なし	－ 発がん性なし
ラット	90 日間亜急性毒性	0、500、2,000、7,500 ppm（雄；0、36、150、577、雌；0、45、182、690） （混餌投与）	36（500 ppm） 耳の剖検及び病理組織学的変化	40（300 ppm）
	13 週間亜急性毒性	0、125、500、7,500 ppm （0、10、38、615） （混餌投与）	10（125 ppm） 異常精子	－
	104 週間慢性/発がん性併合 （慢性；52 週間、発がん性；104 週間）	0、770、2,000、6,000、10,000 ppm（雄；0、41、103、338、856、雌；0、58、146、466、1,000） （混餌投与）	－ 発がん性なし	－ 発がん性なし
	24 か月間慢性/発がん性併合	0、100、500 ppm（雄；0、5.3、26、雌；0、7.2、36）　混餌投与	－ 発がん性なし	－ 発がん性なし
	24 か月間慢性毒性	0、10、50 ppm（雄；0、0.6、2.9、雌；0、0.7、3.5） （摂餌投与）	2.9（50 ppm）	－
	2 世代繁殖毒性	0、500、2,000、7,500 ppm　（雄；交配前 70 日間、雌；交配前 2 週間・混餌投与）	165（2,000 ppm） 精子形状変化 妊娠期間延長、同腹児数減少等生殖毒性有り	－
	2 世代繁殖毒性	0、125、300、2,000 ppm （0、6.2、15、100） （雄；交配前 70 日間、雌；交配前 2 週間・混餌投与）	6.2（125 ppm） 精巣上体重量減少、精子形状変化 生殖毒性なし	
	生殖毒性	0、7,500 ppm（0、375） （90 日間混餌投与、投与開始 11 週後、最終投与 3、7、11 週後に交配）	－	

	発生毒性（第 II 節）	0、50、210、875 （妊娠 6～15 日・強制経口投与）	50 胎児体重減少、骨化遅延 催奇形性なし	50 催奇形性なし
ウサギ	胎児毒性・発生	0、1、5、25、75 （妊娠 6～18 日・強制経口投与）	25 母動物の摂餌量、体重減少。着床後胚死亡	25 催奇形性なし
イヌ	91 日間亜急性	0、100、320、2,500 ppm （0、3、9.6、75） 混餌投与	－ 精巣毒性が不明確（幼若イヌ）	3 関節症
	90 日間亜急性	0、320、800、2,000 ppm （雄；0、9.3、22、53、雌；0、8.9、23、51）混餌投与	－ 関節及び精巣病変なし（成熟イヌ）	
	90 日間亜急性	0、10、20、40、3,200 ppm （0、0.3、0.6、1.2、92） 混餌投与	－ 精巣毒性が不明確（幼若イヌ）	1.2 精巣毒性
	90 日間亜急性	0、10、40 ppm（0、0.3、1.2）　混餌投与	1.2（40 ppm） 精巣毒性の遅延（成熟イヌ）	
毒性学的 ADI				30 μg/kg 体重/日 NOEL：3 mg/kg 体重/日 SF：100
毒性学的 ADI 設定根拠				幼若イヌの 13 週間亜急性毒性試験
微生物学的 ADI			2.3 μg/kg 体重/日	6.2 μg/kg 体重/日
微生物学的 ADI 設定根拠			ヒト腸内細菌叢分離菌の MIC_{50}	ヒト腸内細菌叢分離菌の MIC_{50}
ADI			2.3 μg/kg 体重/日	6.2 μg/kg 体重/日

〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
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）］
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）］
AUC	薬物濃度曲線下面積
BUN	血中尿素窒素
cfu	コロニー形成単位
CHO	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	最高血（漿）中濃度
Cre	クレアチニン
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
EMEA	欧州医薬品審査庁
Glob	グロブリン
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Hb	ヘモグロビン量（血色素量）
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法
LD_{50}	半数致死量
MCH	平均赤血球血色素量
MCV	平均赤血球容積
MIC	最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
NOEL	最大無作用量
RBC	赤血球数
$T_{1/2}$	消失半減期
T.Cho	総コレステロール
TG	トリグリセリド
T_{max}	最高血（漿）中濃度到達時間
TP	総タンパク質
WBC	白血球数

〈参照〉

1. バイエルメディカル株式会社：エンロフロキサシンの構造決定、物理的・化学的性質に関する試験資料（非公表）
2. 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
3. バイエルメディカル株式会社：Disposition and metabolism of Bay Vp 2674 in male rats（非公表）
4. バイエルメディカル株式会社：Biotransformation of BAY Vp 2674-2-^{14}C in Sprague-Dawley Rats（非公表）
5. バイエルメディカル株式会社：Characterization of a rat urinary polar metabolite of BAY Vp 2674（非公表）
6. M. Scheer (1987); Concentrations of active ingredient in the serum and tissues after oral and parenteral administration of Baytril, Vet Med Rev: 1987 (2), 104-118
7. バイエルメディカル株式会社. Metabolism of BAY Vp 2674-2-^{14}C in the cow（非公表）
8. バイエルメディカル株式会社. Metabolism of BAY Vp 2674-2-^{14}C in swine（非公表）
9. バイエルメディカル株式会社. Pharmacokinetics of BAY Vp 2674 in chickens（非公表）
10. バイエルメディカル株式会社. Metabolism of BAY Vp 2674-2-^{14}C in chickens and turkeys （非公表）
11. バイエルメディカル株式会社. Metabolic profile of (2-^{14}C) BAY Vp 2674-2-14C in chickens （非公表）
12. バイエルジャパン株式会社:バイトリル原体、バイトリル 2.5%HV 液、バイトリル 10%液 再審査申請添付資料 16（非公表）
13. バイエルジャパン株式会社：バイトリル 2.5%注射液、バイトリル 5%注射液、バイトリル 10%注射液 再審査申請添付資料 16（非公表）
14. バイエルメディカル株式会社. Evaluation of BAY Vp 2674 in the rat primary hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay （非公表）
15. バイエルメディカル株式会社. 細菌による変異原性試験報告（非公表）
16. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 Salmonella/Mikrosomen-Test zur untersuchung auf punktmutagene Wirkung （非公表）
17. バイエルメディカル株式会社. Clastogenic evaluation of BAY Vp 2674: in an in vitro cytogenetic assay measuring chromosome aberration frequencies in chinese hamster ovary (CHO) cells （非公表）
18. バイエルメディカル株式会社. Mutagenicity evaluation of BAY Vp 2674 in the CHO HGPRT forward mutation assay: Final report （非公表）
19. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 micronucleus-test on the mouse to evaluate for mutagenic effect （非公表）
20. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674: Investigation of effects on bone marrow chromosomes of the rat after acute oral administration (Amended Report)

（非公表）
21. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 Akute toxizität bei ratte, maus, kaninchen und hund （非公表）
22. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp2674 のラット及びマウスにおける急性毒性試験 （非公表）
23. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 のマウスを用いた皮下投与による急性毒性試験 （非公表）
24. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 のラットを用いた皮下投与による急性毒性試験 （非公表）
25. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 のラットにおける 4 週間皮下投与による亜急性毒性試験 （非公表）
26. バイエルメディカル株式会社. Safety evaluation of BAY Vp 2674: Subchronic (13week) feeding study in the rat （非公表）
27. バイエルメディカル株式会社. A subchronic (13week) feeding study followed by a 13-week withdrawal period in male rats with BAY Vp 2674 （非公表）
28. バイエルメディカル株式会社. Safety evaluation of BAY Vp 2674: Subchronic (13week) feeding study in the dog （非公表）
29. バイエルメディカル株式会社. Safety evaluation of BAY Vp 2674: repeat of a subchronic (13week) feeding study in the dog （非公表）
30. バイエルメディカル株式会社. Safety evaluation of BAY Vp 2674: subchronic (13week) feeding study in male dogs （非公表）
31. バイエルメディカル株式会社. Safety evaluation of BAY Vp 2674: subchronic (13week) feeding study in male dogs followed by a 13-week withdrawal period （非公表）
32. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 study of chronic toxicity and carcinogenicity (administration in feed over 24 months) （非公表）
33. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 study of chronic toxicity and carcinogenicity in rats after administration in feed over 2 years （非公表）
34. バイエルメディカル株式会社. Pathology working group on a 2-year chronic feeding study with 1-year interm kill in rats on the compound BAY Vp 2674 （非公表）
35. JECFA: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series 34, 1995. Enrofloxacin
36. FDA: Freedom of Information Summary, NADA 140-828, 1996.
37. EMEA: Committee for Veterinary Medicinal Products, ENROFLOXACIN, Summary Report (1)～(5), 1998～2002
38. バイエルメディカル株式会社. A two-generation reproduction study in rats with BAY Vp 2674 （非公表）
39. バイエルメディカル株式会社. A two-generation reproduction study in rats with BAY Vp 2674(第二報) （非公表）

40. A specialized male fertility study with BAY Vp 2674 in the rat （非公表）
41. バイエルメディカル株式会社. A Teratology (Segment Ⅱ) study in the rat with BAY Vp 2674 （非公表）
42. バイエルメディカル株式会社. Embryotoxicity (including teratogenicity) study with BAY Vp 2674 in the rabbit （非公表）
43. バイエルメディカル株式会社. Dermal sensitization evaluation of BAY Vp 2674 in the guinea pig （非公表）
44. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp2674 の一般薬理試験 （非公表）
45. バイエルメディカル株式会社. ZNS-sicherheitspharmakologische Studie mit BAY Vp 2674 （非公表）
46. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 general/safety respiratory pharmacology: evaluation of bronchoactivity in the guinea-pig isolated trachea （非公表）
47. バイエルメディカル株式会社. Safety pharmacology of BAY Vp 2674 in the gastrointestinal tract: its effect on intestinal charcoal transit, on gastric tolerability and basal gastric acid secretion in rats （非公表）
48. バイエルメディカル株式会社. Influence on hemodynamics and cardiac contractility of anaesthetized dogs after intravenous administration （非公表）
49. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 Blutpharmakologische untersuchungen （非公表）
50. バイエルメディカル株式会社. BAY Vp 2674 Prüfung auf diuretische wirkung an ratten （非公表）
51. バイエルメディカル株式会社. Beeinflussung der blutglucose-bzw. Serumtriglyceridkonzentration gefütterter bzw nüchterner ratten und glucosetoleranz nüchterner ratten nach oraler applikation von BAY Vp 2674 （非公表）
52. バイエルメディカル株式会社. Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of enrofloxacin against 100 bacterial strains of human gut origin at three inoculum levels （非公表）
53. バイエルメディカル株式会社. Expert report on microbiological safety of enrofloxacin. Evaluation of the effects of enrofloxacin on human gut flora and microbial starter cultures. （非公表）
54. W Brumfitt, et al. (1984): Changes in the pharmacokinetics of ciprofloxacin and fecal flora during administration of a 7-day course to human volunteers. Antimicrob Agents Chemother., 1984; (26); No.5: 757-761
55. R Enzensberger, et al. (1985): Impact of oral ciprofloxacin on the faecal flora of healthy volunteers. Infection, 1985 ;(13); Nr.6: 33-35
56. T Bergan, et al. (1986): Pharmacokinetics of ciprofloxacin and effect of repeated dosage on salivary and fecal microflora. Antimicrob Agents Chemother., 1986; (29); No.2: 298-302

57. JJM VAN SAENE, et al. (1986): Quinolones and colonization resistance in human volunteers. Pharmaceutisch Weekblad Sci Ed, 1986; (8): 67-71
58. S Esposito, et al. (1987): Intestinal microflora changes induced by ciprofloxacin and treatment of portal-systemic encephalopathy (PSE). Durg Exptl Clin Res., 1987; XⅢ(10): 641-646
59. S Pecquet, et al. (1990): Faecal excretion of ciprofloxacin after a single oral dose and its effect on faecal bacteria in healthy volunteers. J of Antimicrob Chemother., 1990; (26): 125-129
60. JECFA: Evaluation of certain veterinary drug residues in food (Fifty-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series No. 893, 2000.
61. EMEA (2002): REVISED GUIDELINE ON SAFETY EVALUATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES REGARDING THE EFFECTS ON HUMAN GUT FLORA
62. 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
63. N Hayashi, et al. (2004): New finding on the structure-phototoxicity relationship and photostability of fluoroquinolones with various substituents position 1. Antimicrob Agents Chemother., 2004; (48); No.3: 799-803
64. N Hayashi (2005): New finding on the structure-phototoxicity relationship and photostability of fluoroquinolones. Yakugaku Zasshi., 2005; (125); No.3: 255-261
65. T Zhang, et al. (2004): Compare two methods of measurering DNA damage induced by photogenotoxicity of fluoroquinolones. Acta Pharmacol Sin., 2004; 25(2): 171-175
66. DS Ronald and SC Curt (1999): Photogenotoxicity of fluoroquinolones in Chinese hamster V79 cells: Dependency on active topoisomerase Ⅱ. Photochem and photobiol., 1999; 69(3): 288-293
67. J Ferguson and R Dawe (1997): Phototoxicity in quinolones: comparison of ciprofloxacin and grepafloxacin. J of Antimicrob Chemother., 1997; Suppl. A: 93-98
68. The Merck Index, 14th Edition, 2004
69. バイエル薬品株式会社：バイトリル ワンジェクト注射液　動物用医薬品製造販売承認申請 概要書（非公表）
70. バイエル薬品株式会社：バイトリル ワンジェクト注射液　動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 12-1（非公表）
71. バイエル薬品株式会社：バイトリル ワンジェクト注射液　動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 15-1 （非公表）
72. バイエル薬品株式会社：バイトリル ワンジェクト注射液　動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 15-2（非公表）
73. JECFA: Enrofloxacin. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residue in food, 1997, WHO Food Additives Series No. 39