

No. 8 セファセトリル

ポジティブリスト制度施行に伴う
暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品
及び飼料添加物に係る食品健康影響評価
に関する調査

調査報告書

平成25年1月

(株) 東レリサーチセンター

目次

ページ

1. 調査の概要	1
2. 作業内容	1
2. 1 専門家の選定等	1
2. 2 翻訳	2
2. 3 評価書の情報の整理	3
3. 調査期間	3
4. 調査結果	3

1. 調査の概要

ポジティブリスト制度導入に伴い、食品安全委員会において、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価が行われている。

国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（以下「JMPR」という。）及び FAO/WHO 合同添加物専門家会議（以下「JECFA」という。）と最新の評価を行っている欧州食品安全機関（以下「EFSA」という。）、欧州医薬品庁（以下「EMA」という。）の評価書が我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後、評価を行うべき農薬、動物用医薬品及び飼料添加物（以下「農薬等」という。）のうち、JMPR、JECFA、EFSA 及び EMA の評価結果を有しているものについて、それぞれの評価書の翻訳を行うとともに必要な情報を整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

2. 作業内容

ポジティブリスト制度導入に伴い暫定基準が設定された農薬等のうち、平成24年度に要請される予定の物質のうち表1に示す物質を調査対象とし、EMAにおける評価書の翻訳を行うとともに、必要な情報の整理を行った。

表 1 調査対象の農薬等

No.	物質名	用途
8	セファセトリル	動物薬・抗生物質

2. 1 専門家の選定等

本調査では、5分野（①動物代謝、②植物代謝及び環境中運命（土壌中、水中、土壌残留）、③毒性（一般毒性、病理、発がん性）、④生殖発生毒性、⑤遺伝毒性）の専門家に、翻訳確認のご協力を頂いた。専門家一覧を表2に示した（五十音順）。

専門家の選定は、食品安全委員会事務局担当官殿の了解のもとに実施した。

表 2 専門家一覧

分野	氏名	所属※
② 植物代謝及び環境運命	上路 雅子	日本植物防疫協会 顧問
① 動物代謝、③ 毒性	宇佐見 誠	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 第4室長
④ 生殖発生毒性	江馬 眞	(独)産業技術総合研究所 安全科学研究部門 招聘研究員
① 動物代謝	黒瀬 陽平	北里大学獣医学部 准教授
③ 毒性	三枝 順三	(独)科学技術振興機構 技術参事

⑤ 遺伝毒性	下位 香代子	静岡県立大学 環境科学研究所 教授
① 動物代謝	須藤 まどか	(独)農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 栄養素代謝研究チーム長
③ 毒性	高木 篤也	国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 室長
④ 生殖発生毒性	高橋 研	(財)残留農薬研究所 毒性部 生殖毒性研究室 主任
② 植物代謝及び 環境運命 ③ 毒性	中田 晴彦	熊本大学大学院 自然科学研究科 准教授
⑤ 遺伝毒性	松元 郷六	(財)残留農薬研究所 毒性部副部長 兼 遺伝毒性研究室長
② 植物代謝及び 環境運命	與語 靖洋	(独)農業環境技術研究所 有機化学物質研究領域 研究コーディネータ

(※平成 25 年 1 月現在)

2. 2 翻訳

評価書の必要部分を原文に忠実に翻訳を行った。調査対象の評価書を表 3 に示した。

翻訳に際しては「食品の安全性に関する用語集（食品安全委員会第 4 版）」等を用いて翻訳し、原文に記載の略称等は英語での正式名称、日本語訳をまとめた表を作成した。

2. 1 に示した専門家には、専門分野に係る試験方法、試験結果等（数値及び単位を含む。）の専門的な表現、記述等について翻訳文の確認を依頼した。

表 3 調査対象の評価書

番号	物質名	評価書タイトル	文書番号 (物質名_発行機関_通し番号)
8	セファセトリル	COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS CEFACETRILE SUMMARYREPORT (1)	セファセトリル _EMA_01
		COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS CEFACETRILE SUMMARYREPORT (2)	セファセトリル _EMA_02
		COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS CEFACETRILE SUMMARYREPORT (3)	セファセトリル _EMA_03

2. 3 評価書の情報の整理

評価書の次の①～③の項目について情報の整理を行った。

- ① 評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成。
- ② 翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載。
- ③ 評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめ。該当する試験がない場合はその旨を記載。

3. 調査期間

平成 24 年 6 月 19 日～平成 25 年 1 月 31 日

4. 調査結果

表 1 に示した物質における評価書（表 3）について「毒性試験とその結果の概要一覧」および「評価書の翻訳文」（以下、「和訳版」）を作成した。その結果を物質ごとに整理して、調査報告書にまとめた。

以上

添 付 資 料

評価書 (受領文書番号) : 3 報

- セファセトリル _EMA_01
- セファセトリル _EMA_02
- セファセトリル _EMA_03

セファセトリルの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書: EMA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS CEFACETRILE SUMMARYREPORT(1))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性(皮下)	ラット		LD ₅₀ =11600 mg/kg 体重	1	2
急性毒性(静脈内)	マウス		LD ₅₀ =3700 mg/kg 体重以上	1	2
急性毒性(皮下)	マウス		LD ₅₀ =7500 mg/kg 体重以上	1	2
急性毒性(皮下)	モルモット		LD ₅₀ = 240 mg/kg体重	1	2
急性腎毒性	ラット・イヌ・ウサギ		<ul style="list-style-type: none"> 腎毒性を有する類似物質であるセファロリジンのそれよりも低い。 高用量のセファセトリル (最高用量はラットで4500 mg/kg 体重、ウサギで6000 mg/kg 体重)の投与でも、腎臓の変化は軽微であった。 イヌへの330 mg/kg 体重の静脈内投与でも影響なし。 	1	2
亜急性毒性(皮下)	ラット	0、100、300、1000mg/kg 体重 皮下投与 30日間	投与部位での局所反応を除き、投与に関連した反応なし。	2	2
亜急性毒性(静脈内)	イヌ	0、150、400 mg/kg 体重 4週間	全試験において、静注投与と関連して流涎および/または嘔吐と頭部搔痒が観察された。しかし、全ての投与量で、本物質に起因するような臨床化学的影響も肉眼的・組織学的影響もなし。	2	2
亜急性毒性(静脈内)	イヌ	0、250、500、750 mg/kg 体重 静脈内投与 90日間	NOEL 750 mg/kg 体重 全試験において、静注投与と関連して流涎および/または嘔吐と頭部搔痒が観察された。しかし、全ての投与量で、本物質に起因するような臨床化学的影響も肉眼的・組織学的影響もなし。	2	2
催奇形性(静脈内)	マウス	0、200、400、600 mg/kg bw 静脈内投与 妊娠6から15日	400 mg/kg bw以上：母体毒性影響(死亡数の増加)。 600 mg/kg bw：着床数および生存胎児数の有意な減少。 ※入手された情報は要約のみ。	2	2
生殖毒性(静脈内)	ラット	0、200、400、800 mg/kg bw 静脈内投与 妊娠6-10日あ	800 mg/kg bw：母体毒性(一時的無関心(temporary apathy))あり。これらの母動物からの胎児の平均体重は減少。	2	2

試験種類	供試動物等	投与量(投与期間等)	結果	和訳版(ページ)	原文(ページ)
		るいは11-15日	※入手された情報は要約のみ。		
生殖毒性(静脈内)	ウサギ	0、100、300、1000 mg/kg bw 静脈内投与 妊娠6から15日	1000 mg/kg bw：母動物に母体毒性(体重増加の減少)を引き起こし、胎児の平均体重は減少。 ※入手された情報は要約のみ。	2	2
遺伝毒性	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA 1535、TA 1537、TA 1538、TA 100、TA 98)	2000 µg/plate まで	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性	<i>Saccharomyces</i>	5000 µg/ml まで	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性	酵母細胞	記載なし	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性：宿主経由試験(マウス)	酵母細胞	記載なし	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性：in vivo骨髄細胞小核試験	マウス	100 mg/kg bw まで 静脈内投与	染色体異常：陰性	2	2
遺伝毒性：細胞遺伝学的試験	チャイニーズハムスター	5000 mg/kg bw まで 腹腔内投与	染色体異常：陰性	2	2
遺伝毒性：DNA修復試験(In vitro)	ヒト線維芽細胞 WI-38	5000 µg/ml まで	陰性	2	2
局所刺激性試験	乳牛	セファセトリル製剤	乳房刺激は軽微から中程度。	2	3
ADI	ヒト		微生物学的ADI=3.5 µg/kg 210 µg/人	3	3

動物用医薬品委員会

セファセトリル

サマリーレポート(1)

(原文、1 ページ)

1. セファセトリルはセファロスポリンの第一世代である。セファセトリルのナトリウム塩は乳牛の乳房炎の乳房治療に推奨される油性製剤に含まれている。1日あたり 250mg/分房のセファセトリル塩が、1回あるいは 24 時間間隔で 2 回、乳房下部より注射で投与される。セファセトリルはヒト用医薬品でもあり、細菌感染症治療においては 1 日用量 2-6g で筋肉内及び静脈内投与製剤として用いられる。
2. セファセトリルは、実験的に感染させた実験動物では、*Staphylococci* や *Streptococci* といったグラム陽性細菌に対しては高い活性を發揮する(MIC 値は 2µg/ml 以下)が、*E. coli*、*Klebsiella*、*Salmonella* spp. のようなグラム陰性細菌に対しては活性が低い(MIC 値は 5µg/ml 近い)。セファセトリル治療は、*Pseudomonas* spp.、*Listeria* spp. や、ペニシリンやセファロスポリン耐性の系統によって誘発された感染においては効果がない、あるいは低い。さらに未変化体以外に、主代謝物であるデスアセチルセファセトリル(desacetylcefacetrile)が、ある程度の微生物活性を示すことがわかった。この代謝物の MIC 値は親化合物より 2.5 から 7.5 倍高い。
3. 実験動物(ラット、ウサギ)、反芻動物(ウシ、ヒツジ、ヤギ)及びヒトへのセファセトリル非経口投与後の薬物動態は、この物質の体内分布が低いこと(V_d は、0.2-0.5 リットル/kg)、排出時の血清あるいは血漿中の半減期が短いこと(およそ 1 時間かそれ以下)、デスアセチルセファセトリルを伴う代謝が乏しく検出される代謝物はそのラクトンのみであることが示された。この物質は迅速に、ほとんどが尿経路で排出される。 ^{14}C 標識セファセトリルを投与したラット及びウサギ(50mg/kg 体重、静脈内又は皮下投与)においては、投与量の大部分(80%)が投与後 4 時間以内に尿中に回収され、排出は 72 時間以内に完了した。尿中の放射活性は未変化のセファセトリルとデスアセチルセファセトリルに認められる。静脈投与の経路での血漿中の消失半減期は、約 20 分であった。ヤギ(10mg/kg 体重、皮下投与)では、投与量の約 80%が 12 時間以内に、90%以上が投与後 1 日以内に、抗菌活性物質として尿中に回収された。セファセトリルを静脈内投与したウシ及び雌ヒツジ(8.5-12mg/kg 体重)における消失半減期は、1 時間以内であったと報告された。ヒトにおいては、投与した ^{14}C 標識セファセトリル(約 1g/人、静脈投与)のほぼ 100%が 48 時間以内に尿経路で排出され、それらは未変化のセファセトリル(76%)、デスアセチルセファセトリル及びそのラクトン(21%)であった。血清半減期は 0.7 から 1.3 時間であった。

セファセトリルの経口生物活性はやや低いように見える。ウシで観察されたように、経口投与量(20mg/kg 体重)の約 3%のみが消化管から吸収された。ヒトにおける小腸での吸収率は明らかではない。乳房からの吸収は中程度であった。単回の乳房内投与(250mg セファセトリルナトリウム/分房)後のウシにおいては、投与約 4 時間後に最大血漿濃度は約 170µg 等量/リットルであった(バイオアッセイにより測定)。その後、血漿濃度は迅速に低下する。投与 23.5 時間後では、血漿濃度は 10µg 等量/リットルより低くなった。 ^{14}C 標識セファセトリルを乳房内投与したウシ(210-216mg/分房)では、5 日以内に、乳汁中で 54.6%、尿及び糞便中で 21%、組織から 2.5%が回収された。

乳汁及び乳房組織における抗菌活性の残留は、ほとんどが親セファセトリル(90%以上)であることが示された。他のウシ組織における抗菌剤濃度は、代謝分析をするには低すぎた。

4. セファセトリルの急性毒性は低く、LD₅₀ 値はラット(皮下投与)で 11,600mg/kg 体重、マウス(静脈内投与)で 3,700mg/kg 体重以上、マウス(皮下投与)で 7,500mg/kg 体重以上である。モルモットは上記

の動物よりも感受性が高く、LD₅₀ 値は 240mg/kg 体重(皮下投与)である。ラット、イヌ、ウサギに静脈内あるいは皮下投与して惹起されるセファセトリンの急性腎毒性は、腎毒性を有する類似物質であるセファロジンのそれよりも低い。高用量のセファセトリン(最高用量はラットで 4,500mg/kg 体重、ウサギで 6,000mg/kg 体重)を投与しても、腎臓の変化は軽微なものであった。イヌに 330mg/kg 体重を静脈内投与しても影響はみられなかった。

5. セファセトリンの非経口的反復投与毒性試験がラット及びイヌで実施されている。ラット(各群雌雄各 10 匹)に、0、100、300、1,000mg/kg 体重を、30 日間毎日皮下投与した。投与部位での局所反応を除き、投与に関連した反応は見られなかった。イヌ(各群雌雄各 2-3 匹)に、0、150、400mg/kg 体重を 4 週間、また、0、250、500、750mg/kg 体重を 90 日間毎日静脈内投与した。すべての実験において、静脈内投与と関連して流涎及び/又は嘔吐と頭部搔痒が観察された。しかしながら、この反復投与毒性試験の全ての投与量で、本物質に起因するような影響は臨床化学的にも肉眼的・組織学的病理検索においても、何も観察されなかった。イヌでの 90 日間の静脈内投与毒性試験に基づき、NOEL は 750mg/kg 体重とされた。セファセトリンの反復経口投与毒性試験に関するデータは見当たらなかった。
6. セファセトリンの実験動物の繁殖能に及ぼす影響は、調査されていない。しかしながら、今のところセファロスポリン系抗生剤は生殖毒性とは関連づけられていない。

セファセトリンの胚・胎児毒性及び催奇形性の可能性は、マウス、ラット及びウサギで調査された。残念ながら、これらの試験は要約報告しか提供されていない。マウスの催奇形性試験(妊娠 6 から 15 日に静脈内投与量 0、200、400、又は 600mg/kg 体重)によると、400mg/kg 体重以上の投与で母体毒性影響(死亡数の増加)、600mg/kg 体重を投与された母動物の胎児において着床数及び生存胎児数の有意な減少が明らかとなった。ラット(妊娠 6-10 日あるいは 11-15 日に静脈内投与量 0、200、400、又は 800mg/kg 体重)では、800mg/kg 体重において一時的無関心(temporary apathy)で示されるような母体毒性が見られ、これらの母動物からの胎児の平均体重は減少した。ウサギ(妊娠 6 から 15 日に静脈内投与量 0、100、300、又は 1,000mg/kg 体重)では、セファセトリンは 1,000mg/kg 体重において母動物に母体毒性(体重増加の減少)を引き起こし、この投与群の胎児の平均体重は減少した。提供されたデータより、マウス及びラットでの 400mg/kg 体重、ウサギでの 300mg/kg 体重という静脈内投与量が、これらの種で胚・胎児毒性や催奇形性の作用がない量であることが示唆される。より高い投与量において胎児にみられた影響はすべての実験において母体毒性影響に対応したものの、あるいは先導されたものとさえいえる。しかしながら、これらの研究は不完全なものであり、明確な NOEL は導き出せなかった。

7. セファセトリンの変異原性について、原核細胞及び真核細胞の異なるエンドポイントを用いて調査された。ミクロソーム活性化の有り無しでの *Salmonella typhimurium* アッセイ(TA1535、TA1537、TA1538、TA100、TA98 株;2,000µg/plate まで)、及び *Saccharomyces* 株を用いて(5,000µg/ml まで)、当該物質の遺伝子突然変異活性を試験した。酵母細胞を用いた代謝活性化後の遺伝子突然変異活性は、セファセトリンを投与したマウスの尿や、マウスでの宿主経路試験でも検討された。染色体異常については、マウスでの *in vivo* 骨髄細胞小核試験(静脈内投与、100mg/kg 体重まで)、及びチャイニーズハムスターでの細胞遺伝学的試験(腹腔内投与、5,000mg/kg 体重まで)により検討した。*In vitro* の DNA 修復試験は、代謝活性化の有り無しでヒト線維芽細胞 WI-38 を用いて実施した(5,000µg/ml まで)。どの試験においても、セファセトリンの有意な遺伝毒性を示すようなデータは全く得られなかった。(セファセトリン)分子は既知の変異原性物質と関連性があると思われる。
8. 発がん性試験は実施されていない。しかしながら、分子構造から腫瘍原性はない様に思われ、また、変異原性試験の陰性結果から、発がん性試験は必要ではないと考えられる。
9. 市販のセファセトリン製剤を用いた乳牛での局所刺激性試験では、本剤の乳房刺激は軽微から中程度であった。

10. 実験動物に対するセファセトリルの眼及び皮膚刺激性は、軽微から中程度であった。前感作したモルモットでは、セファセトリルは皮膚投与後、軽度の皮膚感作作用を示した。
11. 毒性試験は GLP 基準が設定される前に実施されたものであることや、試験成績のすべてがセファセトリルの非経口的投与に基づくものであることを考慮すると、明確な毒性学的 ADI は設定できない。それにもかかわらず、データからは、実験動物に明らかな影響(マウスの母体毒性)を惹起するには 200mg/kg 体重以上の静脈内投与が必要であることが明確に示唆された。本剤は比較的低い全身毒性を示し消化管吸収がほとんどないことから、セファセトリルの適切な ADI の設定にはその抗菌特性が根拠となる。
12. ヒトの腸内細菌叢(全部で 80 菌株)のうち代表的な微生物についての MIC データが提供された。pH7.1、微生物濃度 10^8 cfu/ml の条件下での MIC₅₀ 値は、*Proteus* や *Bifidobacterium* の 40µg/ml から、*Fusobacterium* や *Peptostreptococcus* の 0.5µg/ml までの範囲である。

微生物学的リスク評価のために、CVMP により推奨されている公式を使用した(use was made of the formula) :

$$\text{ADI} = \frac{\frac{\text{幾何平均 MIC}_{50} \times \text{CF2}}{\text{CF1}} (\mu\text{g/ml}) \times \text{1 日の糞便量(150ml)}}{\frac{\text{経口投与量のうち微生物に作用する割合} \times \text{ヒト体重(60kg)}}{(\mu\text{g/kg 体重})}}$$

上記の式に基づくと、微生物学的 ADI は以下のように計算される :

$$\text{ADI} = \frac{\frac{2.1 \times 2}{3} \times 150}{1 \times 60} = 3.50 \mu\text{g/kg 体重 i.e.} = 210\mu\text{g/人}$$

以下の仮定がなされた。

- CF1=3, : 染色体及びプラスミドの両方の耐性機構を考慮;
 - CF2=2 : *in vivo* 状況をより反映した細菌濃度での MIC 値は、限定的ではあるが、(*in vitro* での)MIC 測定値よりも高いことが示唆されるため;
 - 1 日の糞便量は 150g;
 - 全ての試験菌株の幾何平均 MIC₅₀ 値(信頼限界 10%以下)=2.1;
 - 経口吸収がほとんどないため、大腸内細菌に作用する量の割合=1.
13. 乳製品のスターター微生物におけるセファセトリルの影響については妥当な研究はなされていない。しかしながら、食品や乳製品産業でよく用いられている *Bifidobacterium* 属、*Streptococcus* 属、

Lactobacillus 属の細菌は、セファセトリルに対する感受性が低～中程度であることがわかり、最も低い MIC 値は 5µg/ml であった。

14. 投与された動物由来の食品に残留したセファセトリルを摂取したヒトでの免疫学的効果のリスクは、知られていないが、経口投与後の吸収が少ないことから低いと考えられる。
15. ¹⁴C 標識セファセトリルの残留分布について、ウシで検討された(210 から 216mg/分房)。臓器における残留が最も高いのは腎臓と乳房組織であった。投与 5 日後の屠殺において、腎臓、乳房及び肝臓の残留総量は、セファセトリルナトリウム等量としてそれぞれ 232ug/kg、227ug/kg、33ug/kg であった。

新しい非放射性 GLP 試験においては、24 時間おきに 2 回、乳房内投与(250mg セファセトリルナトリウム/分房)をした 12 頭のウシにおいて、組織中残留の減少が検討された。ウシは投与 1、3、5 日後に屠殺した。肝臓、腎臓、脂肪、筋肉及び乳房の検体は、バイオアッセイ及び LC-MS/MS(定量限界 25µg/kg)で分析した。定量限界値以上の残留は、乳房組織でのみみられた。投与 1 日後に、バイオアッセイと LC-MS/MS で測定した微生物学的に活性な残留と親セファセトリルの平均濃度は、それぞれ 221µg/kg 及び 295µg/kg であった。

乳汁についての新しい非放射性 GLP 試験においては、8 頭の泌乳牛に、24 時間間隔で 2 回、分房あたり 250mg のセファセトリルナトリウムを乳房内投与した。投与後最初に搾乳した乳汁についてバイオアッセイで測定した平均残留濃度は 14,257µg/l であり、2 回目は 1,860µg/l であった。その後、濃度は 5 回目の搾乳で約 208µg/l まで減少し、7 回目の搾乳時には約 20µg/l、9 回目の搾乳時には 5µg/l 以下であった。乳汁検体は、投与後 3 回目の搾乳まで LC-MS/MS でも分析した。それにより得られた濃度は実験誤差範囲内であり、ほとんどの微生物学的に活性な残留は親セファセトリルであることが示唆された。

2 つの重要な残留試験において、乳汁や乳房組織で微生物学的に活性な残留の 90%以上がこの物質に起因したものであることから、親化合物セファセトリルは最も適した指標残留であると結論付けられる。他の可食組織における残留は低すぎて定量できなかった。

16. 乳汁及び組織のバイオアッセイが行われた。定量限界は、乳汁については 10µg/kg、組織については 25µg/kg であった。しかしながら、生物学的手法の特異性が全般的に欠如しているため、欧州共同体の医薬品に関する規則の第 4 巻の基準に従い、これは検証されたルーチンの分析手法ではない。セファセトリルの確証的なルーチン分析手法は、HPLC-MS/MS に基づくものが提供されている。しかしながら、この手法は全ての関連パラメーターについて完全に検証されたものではない。

結論及び勧告(原文、5 ページ)

以下のように考える:

- セファセトリルについては、微生物学的 ADI $3.5\mu\text{g}/\text{kg}$ ($210\mu\text{g}/\text{人}$)とする,
- セファセトリルは乳汁における微生物学的活性残留のほとんど全てに相当する指標残留である,
- 投与 1 日後の標的組織では、微生物学的に活性な残留は検出されなかった,
- 乳汁に関する分析手法は検証されていない;

委員会は、以下のように、理事会規則(EEC) No.2377/90 の Annex III にセファセトリルを含めることを勧告する:

薬理活性物質	指標残留	動物種	標的組織	MRLs	その他の事項
セファセトリル	セファセトリル	ウシ	乳汁	$125\mu\text{g}/\text{kg}$	乳房内使用のみ。 暫定的 MRL は 2001 年 1 月 1 日で期限が切れる。

さらに、以下のように、理事会規則(EEC) No.2377/90 の Annex II にセファセトリルを含めることを勧告する:

薬理活性物質	動物種	その他の事項
セファセトリル	ウシ	乳房内使用のみ、乳汁以外のすべての組織用

乳汁の MRL に基づき、可食組織での微生物学的活性残留が定量限界の $25\mu\text{g}/\text{kg}$ より低いことを考慮すると、総微生物学的活性残留の理論上の最大 1 日摂取量は ADI の約 90%であると推計できる。

委員会が理事会規則(EEC) No.2377/90 の Annex I にセファセトリルを含めることを検討する前に、懸案事項に含まれている点の対応がなされるべきである。

要求事項（原文、6 ページ）

1. 申請者は、食品や食産業で用いられているスターターカルチャーにおけるセファセトリルの影響を評価するのに適した試験データを提出すべきである。
2. 申請者は、乳汁中のセファセトリルの分析について完全に検証されたルーチンの分析手法を提供すべきである。本手法は、国際的に認められた様式(ISO78/2 など)で述べられているべきであり、欧州共同体の医薬品に関する規則の第 4 巻の基準に従って検証されるべきである。さらに、文書は乳汁抽出物中のセファセトリルの安定性についてのデータを提供すべきである。

原文目次

SUMMARY REPORT(1) 1
Conclusions and recommendation..... 5
LIST OF QUESTIONS 6

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
GLP	Good Laboratory Practice	優良試験所基準
HPLC-MS/MS	high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry a	高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
LD50	Lethal Dose50%	半数致死量
MIC	minimal inhibitory concentration	最小発育阻止濃度
MRL	Maximum residue level	残留基準
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量

セファセトリルの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : EMA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS CEFACETRILE
SUMMARYREPORT(2))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性(皮下)	ラット		LD ₅₀ =11600 mg/kg 体重	1	2
急性毒性(静脈内)	マウス		LD ₅₀ =3700 mg/kg 体重以上	1	2
急性毒性(皮下)	マウス		LD ₅₀ =7500 mg/kg 体重以上	1	2
急性毒性(皮下)	モルモット		LD ₅₀ = 240 mg/kg体重	1	2
急性腎毒性	ラット・イヌ・ウサギ		<ul style="list-style-type: none"> 腎毒性を有する類似物質であるセファロリジンのそれよりも低い。 高用量のセファセトリル (最高用量はラットで4500 mg/kg 体重、ウサギで6000 mg/kg 体重)の投与でも、腎臓の変化は軽微であった。 イヌへの330 mg/kg 体重の静脈内投与でも影響なし。 	1	2
亜急性毒性(皮下)	ラット	0、100、300、1000mg/kg 体重 皮下投与 30日間	投与部位での局所反応を除き、投与に関連した反応なし。	2	2
亜急性毒性(静脈内)	イヌ	0、150、400 mg/kg 体重 4週間	全試験において、静注投与と関連して流涎および／または嘔吐と頭部搔痒が観察された。しかし、全ての投与量で、本物質に起因するような臨床化学的影響も肉眼的・組織学的影響もなし。	2	2
亜急性毒性(静脈内)	イヌ	0、250、500、750 mg/kg 体重 静脈内投与 90日間	NOEL 750 mg/kg 体重 全試験において、静注投与と関連して流涎および／または嘔吐と頭部搔痒が観察された。しかし、全ての投与量で、本物質に起因するような臨床化学的影響も肉眼的・組織学的影響もなし。	2	2
催奇形性(静脈内)	マウス	0、200、400、600 mg/kg bw 静脈内投与 妊娠6から15日	400 mg/kg bw以上：母体毒性影響(死亡数の増加)。 600 mg/kg bw：着床数および生存胎児数の有意な減少。 ※入手された情報は要約のみ。	2	2
生殖毒性(静脈内)	ラット	0、200、400、800 mg/kg bw 静脈内投与 妊娠6-10日あ	800 mg/kg bw：母体毒性(一時的無関心(temporary apathy))あり。これらの母動物からの胎児の平均体重は減少。	2	2

試験種類	供試動物等	投与量(投与期間等)	結果	和訳版(ページ)	原文(ページ)
		るいは11-15日	※入手された情報は要約のみ。		
生殖毒性(静脈内)	ウサギ	0、100、300、1000 mg/kg bw 静脈内投与 妊娠6から15日	1000 mg/kg bw：母動物に母体毒性(体重増加の減少)を引き起こし、胎児の平均体重は減少。 ※入手された情報は要約のみ。	2	2
遺伝毒性	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA 1535、TA 1537、TA 1538、TA 100、TA 98)	2000 µg/plate まで	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性	<i>Saccharomyces</i>	5000 µg/ml まで	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性	酵母細胞	記載なし	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性：宿主経由試験(マウス)	酵母細胞	記載なし	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性：in vivo骨髄細胞小核試験	マウス	100 mg/kg bw まで 静脈内投与	染色体異常：陰性	2	2
遺伝毒性：細胞遺伝学的試験	チャイニーズハムスター	5000 mg/kg bw まで 腹腔内投与	染色体異常：陰性	2	2
遺伝毒性：DNA修復試験(In vitro)	ヒト線維芽細胞 WI-38	5000 µg/ml まで	陰性	2	2
局所刺激性試験	乳牛	セファセトリル製剤	乳房刺激は軽微から中程度。	2	3
ADI	ヒト		微生物学的ADI=3.5 µg/kg 210 µg/人	3	3

動物用医薬品委員会

セファセトリル

サマリーレポート(2)

(原文、1 ページ)

1. セファセトリルはセファロスポリンの第一世代である。セファセトリルのナトリウム塩は乳牛の乳房炎の乳房治療に推奨される油性製剤に含まれている。1日あたり 250mg/分房のセファセトリル塩が、1回あるいは 24 時間間隔で 2 回、乳房下部より注射で投与される。セファセトリルはヒト用医薬品でもあり、細菌感染症治療においては 1 日用量 2-6g で筋肉内及び静脈内投与製剤として用いられる。
- 現在は、セファセトリルは、理事会規則(EEC) No.2377/90 の Annex II に含まれており、ウシについて以下の表の通りとされている：

薬理活性物質	動物種	その他の事項
セファセトリル	ウシ	乳房内使用のみ、乳汁以外のすべての組織用

また、セファセトリルは現在、理事会規則(EEC) No.2377/90 の Annex III にも入っており、乳汁について以下の通りとなっている：

薬理活性物質	指標残留	動物種	標的組織	MRLs	その他の事項
セファセトリル	セファセトリル	ウシ	乳汁	125µg/kg	乳房内使用のみ。 暫定的 MRL は 2001 年 1 月 1 日で期限が切れる。

追加的なデータが、要求事項に対し、さらには乳汁におけるセファセトリルの暫定的 MRL の設定に対して提出された。

2. セファセトリルは、実験的に感染させた実験動物では、*Staphylococci* や *Streptococci* といったグラム陽性細菌に対しては高い活性を發揮する(MIC 値は 2µg/ml 以下)が、*E. coli*、*Klebsiella*、*Salmonella spp.* のようなグラム陰性細菌に対しては活性が低い(MIC 値は 5µg/ml 近い)。セファセトリル治療は、*Pseudomonas spp.*、*Listeria spp.* や、ペニシリンやセファロスポリン耐性の系統によって誘発された感染においては効果がない、あるいは低い。さらに未変化体以外に、主代謝物であるデスアセチルセファセトリル(desacetylcefazolin)が、ある程度の微生物活性を示すことがわかった。この代謝物の MIC 値は親化合物より 2.5 から 7.5 倍高い。
3. 実験動物(ラット、ウサギ)、反芻動物(ウシ、ヒツジ、ヤギ)及びヒトへのセファセトリル非経口投与後の薬物動態は、この物質の体内分布が低いこと(V_dは、0.2-0.5 リットル/kg)、排出時の血清あるいは血漿中の半減期が短いこと(およそ 1 時間かそれ以下)、デスアセチルセファセトリルを伴う代謝が乏しく検出される代謝物はそのラクトンのみであることが示された。この物質は迅速に、ほとんどが尿経路で排出される。14C 標識セファセトリルを投与したラット及びウサギ(50mg/kg 体重、静脈内あるいは皮下投与)においては、投与量の大部分(80%)が投与後 4 時間以内に尿中に回収され、排出は 72 時間以内に完了した。尿中の放射活性は未変化のセファセトリルとデスアセチルセファセトリルと一致した。

リルに認められる。静脈内投与の経路での血漿中の消失半減期は、約 20 分であった。ヤギ(10mg/kg 体重、皮下投与)では、投与量の約 80%が 12 時間以内に、90%以上が投与後 1 日以内に、抗菌活性物質として尿中に回収された。セファセトリルを静脈内投与したウシ及び雌ヒツジ(8.5-12mg/kg 体重)における消失半減期は、1 時間以内であったと報告された。ヒトにおいては、投与した ¹⁴C 標識セファセトリル(約 1g/人、静脈内投与)のほぼ 100%が 48 時間以内に尿経路で排出され、それらは未変化のセファセトリル(76%)、デスアセチルセファセトリル及びそのラクトン(21%)であった。血清半減期は 0.7 から 1.3 時間であった。

セファセトリルの経口生物活性はやや低いように見える。ウシで観察されたように、経口投与量(20mg/kg 体重)の約 3%のみが消化管から吸収された。ヒトにおける小腸での吸収率は明らかではない。乳房からの吸収は中程度であった。単回の乳房内投与(250mg セファセトリルナトリウム/分房)後のウシにおいては、投与約 4 時間後に最大血漿濃度は約 170µg 等量/リットルであった(バイオアッセイにより測定)。その後、血漿濃度は迅速に低下する。投与 23.5 時間後では、血漿濃度は 10µg 等量/リットルより低くなった。¹⁴C 標識セファセトリルを乳房内投与したウシ(210-216mg/分房)では、5 日以内に、乳汁中で 54.6%、尿及び糞便中で 21%、組織から 2.5%が回収された。

乳汁及び乳房組織における抗菌活性の残留は、ほとんどが親セファセトリル(90%以上)であることが示された。他のウシ組織における抗菌剤濃度は、代謝分析をするには低すぎた。

4. セファセトリルの急性毒性は低く、LD₅₀ 値はラット(皮下投与)で 11,600mg/kg 体重、マウス(静脈内投与)で 3,700mg/kg 体重以上、マウス(皮下投与)で 7,500mg/kg 体重以上である。モルモットは上記の動物よりも感受性が高く、LD₅₀ 値は 240mg/kg 体重(皮下投与)である。ラット、イヌ、ウサギに静脈内あるいは皮下投与して惹起されるセファセトリルの急性腎毒性は、腎毒性を有する類似物質であるセファロジンのそれよりも低い。高用量のセファセトリル(最高用量はラットで 4,500mg/kg 体重、ウサギで 6,000mg/kg 体重)を投与しても、腎臓の変化は軽微なものであった。イヌに 330mg/kg 体重を静脈内投与しても影響はみられなかった。
5. セファセトリルの非経口的反復投与毒性試験がラット及びイヌで実施されている。ラット(各群雌雄各 10 匹)に、0、100、300、1,000mg/kg 体重を、30 日間毎日皮下投与した。投与部位での局所反応を除き、投与に関連した反応は見られなかった。イヌ(各群雌雄各 2-3 匹)に、0、150、400mg/kg 体重を 4 週間、また、0、250、500、750mg/kg 体重を 90 日間毎日静脈内投与した。すべての実験において、静脈内投与と関連して流涎及び/又は嘔吐と頭部搔痒が観察された。しかしながら、この反復投与毒性試験の全ての投与量で、本物質に起因するような影響は臨床化学的にも肉眼的、組織学的病理検索においても、何も観察されなかった。イヌでの 90 日間の静脈内投与毒性試験に基づき、NOEL は 750mg/kg 体重とされた。セファセトリルの反復経口投与毒性試験に関するデータは見当たらなかった。
6. セファセトリルの実験動物の繁殖能に及ぼす影響は、調査されていない。しかしながら、今のところセファロsporin系抗生剤は生殖毒性とは関連づけられていない。

セファセトリルの胚・胎児毒性及び催奇形性の可能性は、マウス、ラット及びウサギで調査された。残念ながら、これらの試験は要約報告しか提供されていない。マウスの催奇形性試験(妊娠 6 から 15 日に静脈内投与量 0、200、400、又は 600mg/kg 体重)によると、400mg/kg 体重以上の投与で母体毒性影響(死亡数の増加)、600mg/kg 体重を投与された母動物の胎児において着床数及び生存胎児数の有意な減少が明らかとなった。ラット(妊娠 6-10 日あるいは 11-15 日に静脈内投与量 0、200、400、又は 800mg/kg 体重)では、800mg/kg 体重において一時的無関心(temporary apathy)で示されるような母体毒性が見られ、これらの母動物からの胎児の平均体重は減少した。ウサギ(妊娠 6 から 15 日に静脈内投与量 0、100、300、又は 1,000mg/kg 体重)では、セファセトリルは 1,000mg/kg 体重において母動物に母体毒性(体重増加の減少)を引き起こし、この投与群の胎児の平均体重は減少した。提供されたデータより、マウス及びラットでの 400mg/kg 体重、ウサギでの 300mg/kg 体重という静

脈内投与量が、これらの種で胚・胎児毒性や催奇形性の作用がない量であることが示唆される。より高い投与量において胎児にみられた影響はすべての実験において母体毒性影響に対応したもの、あるいは先導されたものとさえいえる。しかしながら、これらの研究は不完全なものであり、明確な NOEL は導き出せなかった。

7. セファセトリルの変異原性について、原核細胞及び真核細胞の異なるエンドポイントを用いて調査された。ミクロソーム活性化の有り無しでの *Salmonella typhimurium* アッセイ (TA1535、TA1537、TA1538、TA100、TA98 株;2000 μ g/plate まで)、及び *Saccharomyces* 株を用いて(5,000 μ g/ml まで)、当該物質の遺伝子突然変異活性を試験した。酵母細胞を用いた代謝活性化後の遺伝子突然変異活性は、セファセトリルを投与したマウスの尿や、マウスでの宿主経路試験でも検討された。染色体異常については、マウスでの *in vivo* 骨髄細胞小核試験(静脈内投与、100mg/kg 体重まで)、及びチャイニーズハムスターでの細胞遺伝学的試験(腹腔内投与、5,000mg/kg 体重まで)により検討した。*In vitro* の DNA 修復試験は、代謝活性化の有り無しでヒト線維芽細胞 WI-38 を用いて実施した(5,000 μ g/ml まで)。どの試験においても、セファセトリルの有意な遺伝毒性を示すようなデータは全く得られなかった。(セファセトリル)分子は既知の変異原性物質と関連性があると思われる。
8. 発がん性試験は実施されていない。しかしながら、分子構造から腫瘍原性はない様に思われ、また、変異原性試験の陰性結果から、発がん性試験は必要ではないと考えられる。
9. 市販のセファセトリル製剤を用いた乳牛での局所刺激性試験では、本剤の乳房刺激は軽微から中程度であった。
10. 実験動物に対するセファセトリルの眼及び皮膚刺激性は、軽微から中程度であった。前感作したモルモットでは、セファセトリルは皮膚投与後、軽度の皮膚感作用を示した。
11. 毒性試験は GLP 基準が設定される前に実施されたものであることや、試験成績のすべてがセファセトリルの非経口的投与に基づくものであることを考慮すると、明確な毒性学的 ADI は設定できない。それにもかかわらず、データからは、実験動物に明らかな影響(マウスの母体毒性)を惹起するには 200mg/kg 体重以上の静脈内投与が必要であることが明確に示唆された。本剤は比較的低い全身毒性を示し消化管吸収がほとんどないことから、セファセトリルの適切な ADI の設定にはその抗菌特性が根拠となる。
12. ヒトの腸内細菌叢のうち代表的な微生物(全部で 80 菌株)についての MIC データが提供された。pH7.1、微生物濃度 10⁸cfu/ml の条件下での MIC₅₀ 値は、*Proteus* や *Bifidobacterium* の 40 μ g/ml から、*Fusobacterium* や *Peptostreptococcus* の 0.5 μ g/ml までの範囲である。

微生物学的リスクの評価のために、CVMP により推奨されている公式を使用した(use was made of the formula) :

$$\text{ADI} = \frac{\text{幾何平均 MIC}_{50} \times \text{CF2}}{\text{CF1}} \quad (\mu\text{g/ml}) \quad \times \quad \text{1日の糞便量(150ml)}$$

$$\text{ADI} = \frac{\text{幾何平均 MIC}_{50} \times \text{CF2}}{\text{CF1}} \quad (\mu\text{g/kg 体重}) \quad \times \quad \text{経口投与量のうち微生物に作用する割合} \quad \times \quad \text{ヒト体重(60kg)}$$

上記の式に基づくと、微生物学的 ADI は以下のように計算される :

$$\text{ADI} = \frac{\frac{2.1 \times 2}{3} \times 150}{1 \times 60} = 3.5 \mu\text{g}/\text{kg 体重 i.e.} = 210 \mu\text{g}/\text{人}$$

以下の仮定がなされた。

- CF1=3, : 染色体及びプラスミドの両方の耐性機構を考慮;
 - CF2=2 : *in vivo* 状況をより反映した細菌濃度での MIC 値は、限定的ではあるが、(*in vitro* での)MIC 測定値よりも高いことが示唆されるため;
 - 1 日の糞便量は 150g;
 - 全ての試験菌株の幾何平均 MIC₅₀ 値(信頼限界 10%以下)=2.1;
 - 経口吸収がほとんどないため、大腸内細菌に作用する量の割合=1.
13. 乳製品のスターター微生物におけるセファセトリルの影響については妥当な研究はなされていない。しかしながら、食品や乳製品産業でよく用いられている *Bifidobacterium* 属、*Streptococcus* 属、*Lactobacillus* 属の細菌は、セファセトリルに対する感受性が低～中程度であることがわかり、最も低い MIC 値は 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。
14. 投与された動物由来の食品に残留したセファセトリルを摂取したヒトでの免疫学的効果のリスクは、知られていないが、経口投与後の吸収が少ないことから低いと考えられる。
15. ¹⁴C 標識セファセトリルの残留分布について、ウシで検討された(210 から 216mg/分房)。臓器における残留が最も高いのは腎臓と乳房組織であった。投与 5 日後の屠殺において、腎臓、乳房及び肝臓の残留総量は、セファセトリルナトリウム等量としてそれぞれ 232 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、227 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

新しい非放射性 GLP 試験においては、24 時間おきに 2 回、乳房内投与(250mg セファセトリルナトリウム/分房)をした 12 頭のウシにおいて、組織中残留の減少が検討された。ウシは投与 1、3、5 日後に屠殺した。肝臓、腎臓、脂肪、筋肉及び乳房の検体は、バイオアッセイ及び LC-MS/MS(定量限界 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$)で分析した。定量限界値以上の残留は、乳房組織でのみみられた。投与 1 日後に、バイオアッセイと LC-MS/MS で測定した微生物学的に活性な残留と親セファセトリルの平均濃度は、それぞれ 221 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び 295 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

乳汁についての新しい非放射性 GLP 試験においては、8 頭の泌乳牛に、24 時間間隔で 2 回、分房あたり 250mg のセファセトリルナトリウムを乳房内投与した。投与後最初に搾乳した乳汁についてバイオアッセイで測定した平均残留濃度は 14,257 $\mu\text{g}/\text{l}$ であり、2 回目は 1,860 $\mu\text{g}/\text{l}$ であった。その後、濃度は 5 回目の搾乳で約 208 $\mu\text{g}/\text{l}$ まで減少し、7 回目の搾乳時には約 20 $\mu\text{g}/\text{l}$ 、9 回目の搾乳時には 5 $\mu\text{g}/\text{l}$ 以下であった。乳汁検体は、投与後 3 回目の搾乳まで LC-MS/MS でも分析した。それにより得られた濃度は実験誤差範囲内であり、ほとんどの微生物学的に活性な残留は親セファセトリルであることが示唆された。

2 つの重要な残留試験において、乳汁や乳房組織で微生物学的に活性な残留の 90%以上がこの物質

に起因したものであることから、親化合物セファセトリルは最も適した指標残留であると結論付けられる。他の可食組織における残留は低すぎて定量できなかった。

16. LC-MS/MS に基づく乳汁中のセファセトリルの測定のための検証済みの分析手法が提供され、ISO78/2 形式で記されている。本手法の定量限界は 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ である。

結論及び勧告(原文、5 ページ)

以下のように考える：

- セファセトリルについては、微生物学的 ADI3.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (210 $\mu\text{g}/\text{人}$)とする、
- セファセトリルは乳汁における微生物学的活性残留のほとんど全てに相当する指標残留である、
- 投与 1 日後の標的組織では、微生物学的に活性な残留は検出されなかった、
- セファセトリル残留をモニターするための検証済みの分析手法がある、
- 申請者は、乳製品のスターターカルチャーにおけるセファセトリルの影響に関する懸案事項に取り組むことをコミットしている；

動物用医薬品委員会は、改正された理事会規則 No.2377/90 の Article4 により、以下の表に従いセファセトリルについての暫定的 MRL の 1 年の延長を推奨する：

薬理活性物質	指標残留	動物種	標的組織	MRLs	その他の事項
セファセトリル	セファセトリル	ウシ	乳汁	125 $\mu\text{g}/\text{kg}$	乳房内使用のみ。 暫定的 MRL は 2002 年 1 月 1 日で期限が切れる。

乳汁の MRL に基づき、可食組織での微生物学的活性残留が定量限界の 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ より低いことを考慮すると、総微生物学的活性残留の理論上の最大 1 日摂取量は ADI の約 90%であると推計できる。

要求事項への応答の評価に続く要求懸案事項リスト（原文、6 ページ）

**(LIST OF OUTSTANDING ISSUES FOLLOWING THE ASSESSMENT OF THE
RESPONSE TO THE LIST OF QUESTIONS)**

1. 申請者は、乳製品のスターターカルチャーにおけるセファセトリルの影響を評価するのに適した試験データを提出すべきである。

原文目次

SUMMARY REPORT(2) 1
Conclusions and recommendation..... 5
LIST OF OUTSTANDING ISSUES FOLOWING THE ASSESSMENT OF THE RESPONSE TO THE
LIST OF QUESTIONS 6

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid	デオキシリボ核酸
GLP	Good Laboratory Practice	優良試験所基準
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
LC-MS/MS	Liquid Chromatography - tandem Mass Spectrometry	液体クロマトグラフィー質量分析法
LD50	Lethal Dose50%	半数致死量
MIC	minimal inhibitory concentration	最小発育阻止濃度
MRL	Maximum residue level	残留基準
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量

セファセトリルの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : EMA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS CEFACETRILE SUMMARYREPORT(3))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性(皮下)	ラット		LD ₅₀ =11600 mg/kg 体重	1	2
急性毒性(静脈内)	マウス		LD ₅₀ =3700 mg/kg 体重以上	1	2
急性毒性(皮下)	マウス		LD ₅₀ =7500 mg/kg 体重以上	1	2
急性毒性(皮下)	モルモット		LD ₅₀ = 240 mg/kg体重	1	2
急性腎毒性	ラット・イヌ・ウサギ		<ul style="list-style-type: none"> 腎毒性を有する類似物質であるセファロリジンのそれよりも低い。 高用量のセファセトリル (最高用量はラットで4500 mg/kg 体重、ウサギで6000 mg/kg 体重)の投与でも、腎臓の変化は軽微であった。 イヌへの330 mg/kg 体重の静脈内投与でも影響なし。 	1	2
亜急性毒性(皮下)	ラット	0、100、300、1000mg/kg 体重 皮下投与 30日間	投与部位での局所反応を除き、投与に関連した反応なし。	2	2
亜急性毒性(静脈内)	イヌ	0、150、400 mg/kg 体重 4週間	全試験において、静注投与と関連して流涎および/または嘔吐と頭部搔痒が観察された。しかし、全ての投与量で、本物質に起因するような臨床化学的影響も肉眼的・組織学的影響もなし。	2	2
亜急性毒性(静脈内)	イヌ	0、250、500、750 mg/kg 体重 静脈内投与 90日間	NOEL 750 mg/kg 体重 全試験において、静注投与と関連して流涎および/または嘔吐と頭部搔痒が観察された。しかし、全ての投与量で、本物質に起因するような臨床化学的影響も肉眼的・組織学的影響もなし。	2	2
催奇形性(静脈内)	マウス	0、200、400、600 mg/kg bw 静脈内投与 妊娠6から15日	400 mg/kg bw以上：母体毒性影響(死亡数の増加)。 600 mg/kg bw：着床数および生存胎児数の有意な減少。 ※入手された情報は要約のみ。	2	2
生殖毒性(静脈内)	ラット	0、200、400、800 mg/kg bw 静脈内投与 妊娠6-10日あ	800 mg/kg bw：母体毒性(一時的無関心(temporary apathy))あり。これらの母動物からの胎児の平均体重は減少。	2	2

試験種類	供試動物等	投与量(投与期間等)	結果	和訳版(ページ)	原文(ページ)
		るいは11-15日	※入手された情報は要約のみ。		
生殖毒性(静脈内)	ウサギ	0、100、300、1000 mg/kg bw 静脈内投与 妊娠6から15日	1000 mg/kg bw：母動物に母体毒性(体重増加の減少)を引き起こし、胎児の平均体重は減少。 ※入手された情報は要約のみ。	2	2
遺伝毒性	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA 1535、TA 1537、TA 1538、TA 100、TA 98)	2000 µg/plate まで	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性	<i>Saccharomyces</i>	5000 µg/ml まで	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性	酵母細胞	記載なし	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性：宿主経由試験(マウス)	酵母細胞	記載なし	遺伝子突然変異活性：陰性	2	2
遺伝毒性：in vivo骨髄細胞小核試験	マウス	100 mg/kg bw まで 静脈内投与	染色体異常：陰性	2	2
遺伝毒性：細胞遺伝学的試験	チャイニーズハムスター	5000 mg/kg bw まで 腹腔内投与	染色体異常：陰性	2	2
遺伝毒性：DNA修復試験(In vitro)	ヒト線維芽細胞 WI-38	5000 µg/ml まで	陰性	2	2
局所刺激性試験	乳牛	セファセトリル製剤	乳房刺激は軽微から中程度。	2	3
ADI	ヒト		微生物学的ADI=3.5 µg/kg 210 µg/人	3	3

動物用医薬品委員会

セファセトリル

サマリーレポート(3)

(原文、1 ページ)

1. セファセトリルはセファロスポリンの第一世代である。セファセトリルのナトリウム塩は乳牛の乳房炎の乳房治療に推奨される油性製剤に含まれている。1日あたり 250mg/分房のセファセトリル塩が、1回あるいは 24 時間間隔で 2 回、乳房下部より注射で投与される。セファセトリルはヒト用医薬品でもあり、細菌感染症治療においては 1 日用量 2-6g で筋肉内及び静脈内投与製剤として用いられる。
現在は、セファセトリルは、理事会規則(EEC) No. 2377/90 の Annex II に含まれており、ウシについて以下の表の通りとされている：

薬理活性物質	動物種	その他の事項
セファセトリル	ウシ	乳房内使用のみ、乳汁以外のすべての組織用

また、セファセトリルは現在、理事会規則(EEC) No. 2377/90 の Annex III にも入っており、乳汁について以下の通りとなっている：

薬理活性物質	指標残留	動物種	標的組織	MRLs	その他の事項
セファセトリル	セファセトリル	ウシ	乳汁	125 µg/kg	乳房内使用のみ。 暫定的 MRL は 2001 年 1 月 1 日で期限が切れる。

動物用医薬品委員会(CVMP)は、最近、乳汁についての暫定的 MRL の有効期限を 2002 年 1 月 1 日まで延長することを勧告した。

追加的なデータは、乳製品のスターター微生物における影響に関して、さらには乳汁におけるセファセトリルの暫定的 MRL の有効期限の延長の勧告に対して提供された。

2. セファセトリルは、実験的に感染させた実験動物では、*Staphylococci* や *Streptococci* といったグラム陽性細菌に対しては高い活性を發揮する(MIC 値は 2 µg/ml 以下)が、*E. coli*、*Klebsiella*、*Salmonella* spp. のようなグラム陰性細菌に対しては活性が低い(MIC 値は 5 µg/ml 近い)。セファセトリル治療は、*Pseudomonas* spp.、*Listeria* spp. や、ペニシリンやセファロスポリン耐性の系統によって誘発された感染においては効果がない、あるいは低い。主代謝物であるデスアセチルセファセトリル(desacetylcefadril)がある程度の微生物活性を示すことがわかった。この代謝物の MIC 値は親化合物より 2.5 から 7.5 倍高い。
3. 実験動物(ラット、ウサギ)、反芻動物(ウシ、ヒツジ、ヤギ)及びヒトへのセファセトリル非経口投与後の薬物動態は、この物質の体内分布が低いこと (V_aは、0.2 -0.5 リットル/kg)、排出時の血清あるいは血漿中の半減期が短いこと(およそ 1 時間かそれ以下)、デスアセチルセファセトリルを伴う代謝物が乏しく検出される代謝物はそのラクトンのみであることが示された。この物質は迅速に、ほとん

どが尿経路で排出される。¹⁴C 標識セファセトリンを投与したラット及びウサギ(50 mg/kg 体重、静脈あるいは皮下投与)においては、投与量の大部分(80%)が投与後 4 時間以内に尿中に回収され、排出は 72 時間以内に完了した。尿中の放射活性は未変化のセファセトリンとデスアセチルセファセトリンに認められる。静脈内投与の経路での血漿中の消失半減期は、約 20 分であった。ヤギ(10 mg/kg 体重、皮下投与)では、投与量の約 80%が 12 時間以内に、90%以上が投与後 1 日以内に、抗菌活性物質として尿中に回収された。セファセトリンを静脈内投与したウシ及び雌ヒツジ(8.5-12 mg/kg 体重)における消失半減期は、1 時間以内であったと報告された。ヒトにおいては、投与した ¹⁴C 標識セファセトリン(約 1g/人、静脈内投与)のほぼ 100%が 48 時間以内に尿経路で排出され、それらは未変化のセファセトリン(76%)、デスアセチルセファセトリン及びそのラクトン(21%)であった。血清半減期は 0.7 から 1.3 時間であった。

セファセトリンの経口生物活性はやや低いように見える。ウシのみで観察されたように、経口投与量(20 mg/kg 体重)の約 3%のみが消化管から吸収された。ヒトにおける小腸での吸収率は明らかではない。乳房からの吸収は中程度であった。単回の乳房内投与(250 mg セファセトリンナトリウム/分房)後のウシにおいては、投与約 4 時間後に最大血漿濃度は約 170 µg 等量/リットルであった(バイオアッセイにより測定)。その後、血漿濃度は迅速に低下する。投与 23.5 時間後では、血漿濃度は 10 µg 等量/リットルより低くなった。¹⁴C 標識セファセトリンを乳房内投与したウシ(210-216mg /分房)では、5 日以内に、乳汁中で 54.6%、尿及び糞便中で 21%、組織から 2.5%が回収された。

乳汁及び乳房組織における抗菌活性の残留は、ほとんどが親セファセトリン(90%以上)であることが示された。他のウシ組織における抗菌剤濃度は、代謝分析をするには低すぎた。

4. セファセトリンの急性毒性は低く、LD₅₀ 値はラット(皮下投与)で 11600 mg/kg 体重、マウス(静脈内投与)で 3700 mg/kg 体重以上、マウス(皮下投与)で 7500 mg/kg 体重以上である。モルモットは上記の動物よりも感受性が高く、LD₅₀ 値は 240 mg/kg 体重 (皮下投与)である。ラット・イヌ・ウサギに静脈内あるいは皮下投与して惹起されるセファセトリンの急性腎毒性は、腎毒性を有する類似物質であるセファロジンのそれよりも低い。高用量のセファセトリン (最高用量はラットで 4500 mg/kg 体重、ウサギで 6000 mg/kg 体重)を投与しても、腎臓の変化は軽微なものであった。イヌに 330 mg/kg 体重を静脈内投与しても影響はみられなかった。
5. セファセトリンの非経口的反復投与毒性試験がラット及びイヌで実施されている。ラット(各群雌雄各 10 匹)に、0、100、300、1000mg/kg 体重を、30 日間毎日皮下投与した。投与部位での局所反応を除き、投与に関連した反応は見られなかった。イヌ(各群雌雄各 2-3 匹)に、0、150、400 mg/kg 体重を 4 週間、また、0、250、500、750 mg/kg 体重を 90 日間毎日静脈内投与した。すべての実験において、静脈内投与と関連して流涎及び/又は嘔吐と頭部搔痒が観察された。しかしながら、この反復投与毒性試験の全ての投与量で、本物質に起因するような影響は臨床化学的にも肉眼的・組織学的病理検索においても、何も観察されなかった。イヌでの 90 日間の静脈内投与毒性試験に基づき、NOEL は 750 mg/kg 体重とされた。セファセトリンの反復経口投与毒性試験に関するデータは見当たらなかった。
6. セファセトリンの実験動物の繁殖能に及ぼす影響は、調査されていない。しかしながら、長い使用歴においてセファロsporin系抗生剤は生殖毒性とは関連づけられていない。

セファセトリンの胚・胎児毒性及び催奇形性の可能性は、マウス、ラット及びウサギで調査された。これらの試験は要約しか提供されていない。マウスの催奇形性試験(妊娠 6 から 15 日に静脈内投与量 0、200、400、又は 600 mg/kg 体重)によると、400 mg/kg 体重以上の投与で母体毒性影響(死亡数の増加)、600 mg/kg 体重を投与された母動物の胎児において着床数及び生存胎児数の有意な減少が明らかとなった。ラット(妊娠 6-10 日あるいは 11-15 日に静脈内投与量 0、200、400、又は 800 mg/kg 体重)では、800 mg/kg 体重において一時的無関心(temporary apathy)で示されるような母体毒性が見られ、これらの母動物からの胎児の平均体重は減少した。ウサギ(妊娠 6 から 15 日に静脈内投与

量 0、100、300、又は 1000 mg/kg 体重)では、セファセトリルは 1000 mg/kg 体重において母動物に母体毒性(体重増加の減少)を引き起こし、この投与群の胎児の平均体重は減少した。提供されたデータより、マウス及びラットでの 400 mg/kg 体重、ウサギでの 300 mg/kg 体重という静脈内投与量が、これらの種で胚・胎児毒性や催奇形性の作用がない量であることが示唆される。より高い投与量において胎児にみられた影響はすべての実験において母体毒性影響に対応したもの、あるいは先導されたものとさえいえる。しかしながら、これらの研究は不完全なものであり、明確な NOEL は導き出せなかった。

7. セファセトリルの変異原性について、原核細胞及び真核細胞の異なるエンドポイントを用いて調査された。ミクロソーム活性化の有り無しでの *Salmonella typhimurium* アッセイ(TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 100, TA 98 株; 2000 µg/plate まで)、及び *Saccharomyces* 株を用いて(5000 µg/ml まで)、当該物質の遺伝子突然変異活性を試験した。酵母細胞を用いた代謝活性化後の遺伝子突然変異活性は、セファセトリルを投与したマウスの尿や、マウスでの宿主経路試験でも検討された。染色体異常については、マウスでの *in vivo* 骨髄細胞小核試験(静脈内投与、100 mg/kg 体重まで)、及びチャイニーズハムスターでの細胞遺伝学的試験(腹腔内投与、5000 mg/kg 体重まで)により検討した。*In vitro* の DNA 修復試験は、代謝活性化の有り無しでヒト線維芽細胞 WI-38 を用いて実施した(5000 µg/ml まで)。どの試験においても、セファセトリルの有意な遺伝毒性を示すようなデータは全く得られなかった。(セファセトリル)分子は既知の変異原性物質と関連性があると思われる。
8. 発がん性試験は実施されていない。しかしながら、分子構造から腫瘍原性はない様に思われ、また、変異原性試験の陰性結果から、発がん性試験は必要ではないと考えられる。
9. 市販のセファセトリル製剤を用いた乳牛での局所刺激性試験では、推奨投与量において、本剤の乳房刺激は軽微から中程度であった。
10. 実験動物に対するセファセトリルの眼及び皮膚刺激性は、軽微から中程度であった(2.5%ピーナッツ油、gaze patch にて眼に対し 0.1ml、皮膚に対し 2.5ml)。前感作したモルモットでは、セファセトリルは皮膚投与後、軽度の皮膚感作作用を示した。
11. 毒性試験は GLP 基準が設定される前に実施されたものであることや、試験成績のすべてがセファセトリルの非経口的投与に基づくものであることを考慮すると、明確な毒性学的 ADI は設定できない。それにもかかわらず、データからは、実験動物に明らかな影響(マウスの母体毒性)を惹起するには 200 mg/kg 体重以上の静脈内投与が必要であることが明確に示唆された。本剤は比較的低い全身毒性を示し消化管吸収がほとんどないことから、セファセトリルの適切な ADI の設定にはその抗菌特性が根拠となる。
12. ヒトの腸内細菌叢のうち代表的な微生物(全部で 80 菌株)についての MIC データが提供された。pH 7.1、微生物濃度 10⁸ cfu/ml の条件下での MIC₅₀ 値は、*Proteus* や *Bifidobacterium* の 40 µg/ml から、*Fusobacterium* や *Peptostreptococcus* の 0.5 µg/ml までの範囲である。

微生物学的リスクの評価のために、CVMP により推奨されている公式を使用した(use was made of the formula) :

$$\text{ADI} = \frac{\frac{\text{幾何平均 MIC}_{50} \times \text{CF2}}{\text{CF1}} \quad (\mu\text{g/ml}) \quad \times \quad \text{1 日の糞便量(150 ml)}}{\frac{\text{経口投与量のうち微生物に作用する割合} \quad \times \quad \text{ヒト体重(60 kg)}}{(\mu\text{g/kg 体重})}}$$

上記の式に基づくと、微生物学的 ADI は以下のように計算される：

$$\text{ADI} = \frac{\frac{2.1 \times 2}{3} \times 150}{1 \times 60} = 3.5 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg 体重 i.e.} = 210 \text{ } \mu\text{g}/\text{人}$$

以下の仮定がなされた。

- CF1 = 3, : 染色体及びプラスミドの両方の耐性機構を考慮;
 - CF2 = 2 : *in vivo* 状況をより反映した細菌濃度での MIC 値は、限定的ではあるが、(*in vitro* での)MIC 測定値よりも高いことが示唆されるため;
 - 1 日の糞便量は 150 g;
 - 全ての試験菌株の幾何平均 MIC₅₀ 値(信頼限界 10%以下)=2.1;
 - 経口吸収がほとんどないため、大腸内細菌に作用する量の割合=1.
13. 乳製品のスターターカルチャーの発酵特性への影響について、好熱菌及び中温菌を混合したスターターカルチャーを含め、EU の乳製品産業において一般に用いられる微生物系を用いて検討された。経時的な pH 特性に基づき、酸性化阻害(pH0.3 未満での変化(change in pH not grater than 0.3))に対する無影響レベルは、最も感受性が高い培養で 200 $\mu\text{g}/\text{l}$ であった。
14. 投与された動物由来の食品に残留したセファセトリルを摂取したヒトでの免疫学的効果のリスクは、知られていないが、経口投与後の吸収が少ないことから低いと考えられる。
15. ¹⁴C 標識セファセトリルの残留分布について、ウシで検討された(210 から 216 mg/分房)。臓器における残留が最も高いのは腎臓と乳房組織であった。投与 5 日後の屠殺において、腎臓、乳房及び肝臓の残留総量は、セファセトリルナトリウム等量としてそれぞれ 232 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 227 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

新しい非放射性 GLP 試験においては、24 時間おきに 2 回、乳房内投与(250 mg セファセトリルナトリウム/分房)をした 12 頭のウシにおいて、組織中残留の減少が検討された。ウシは投与 1、3、5 日後に屠殺した。肝臓、腎臓、脂肪、筋肉及び乳房の検体は、バイオアッセイ及び LC-MS/MS (定量限界 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$)で分析した。定量限界値以上の残留は、乳房組織でのみみられた。投与 1 日後に、バイオアッセイと LC-MS/MS で測定した微生物学的に活性な残留と親セファセトリルの平均濃度は、それぞれ 221 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 295 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

乳汁についての新しい非放射性 GLP 試験においては、8 頭の泌乳牛に、24 時間間隔で 2 回、分房あたり 250 mg のセファセトリルナトリウムを乳房内投与した。投与後最初の搾乳乳汁についてバイオアッセイで測定した平均残留濃度は 14257 $\mu\text{g}/\text{l}$ であり、2 回目は 1860 $\mu\text{g}/\text{l}$ であった。その後、濃度は 5 回目の搾乳で約 208 $\mu\text{g}/\text{l}$ まで減少し、7 回目の搾乳時には約 20 $\mu\text{g}/\text{l}$ 、9 回目の搾乳時には 5 $\mu\text{g}/\text{l}$ 以下であった。乳汁検体は、投与後 3 回目の搾乳まで LC-MS/MS でも分析した。それにより得られた濃度は実験誤差範囲内であり、ほとんどの微生物学的に活性な残留は親セファセトリルであるこ

とが示唆された。

2 つの重要な残留試験において、乳汁や乳房組織で微生物学的に活性な残留の 90%以上がこの物質に起因したものであることから、親化合物セファセトリルは最も適した指標残留であると結論付けられる。他の可食組織における残留は低すぎて定量できなかった。

16. LC-MS/MS に基づく乳汁中のセファセトリルの測定のための検証済みの分析手法が提供され、ISO 78/2 形式で記されている。本手法の定量限界は 50 µg/kg である。

結論および勧告(原文、5 ページ)

以下のように考える：

- セファセトリルについては、微生物学的 ADI 3.5 µg/kg (210 µg/人) とする、
- セファセトリルは乳汁における微生物学的活性残留のほとんど全てに相当する指標残留である、
- 投与 1 日後の標的組織では、微生物学的に活性な残留は検出されなかった、
- セファセトリル残留をモニターするための検証済みの分析手法がある、
- 申請者は、乳製品のスターターカルチャーにおけるセファセトリルの影響に関する懸案事項に取り組むことをコミットしている；

動物用医薬品委員会は、理事会規則 No. 2377/90 の Annex I に以下のようにセファセトリルを含めることを推奨する：

薬理活性物質	指標残留	動物種	標的組織	MRLs	その他の事項
セファセトリル	セファセトリル	ウシ	乳汁	125 µg/kg	乳房内使用のみ。

乳汁の MRL に基づき、可食組織での微生物学的活性残留が定量限界の 25 µg/kg より低いことを考慮すると、総微生物学的活性残留の理論上の最大 1 日摂取量は ADI の約 90%であると推計できる。

原文目次

SUMMARY REPORT(3) 1
Conclusions and recommendation..... 5

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid	デオキシリボ核酸
GLP	Good Laboratory Practice	優良試験所基準
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
LC-MS/MS	Liquid Chromatography - tandem Mass Spectrometry	液体クロマトグラフィー質量分析法
LD50	Lethal Dose 50%	半数致死量
MIC	minimal inhibitory concentration	最小発育阻止濃度
MRL	Maximum residue level	残留基準
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量