



薬食審第 0627023 号
平成15年 6 月27日

厚生労働大臣 坂 口 力 殿

薬事・食品衛生審議会
会 長 井 村 伸 正

答 申 書

平成13年11月13日厚生労働省発食第267号をもって諮問された畜水産食品中に
残留する動物用医薬品の基準設定について、下記のとおり答申する。

記

サラフロキサシン、ジヒドロストレプトマイシン／ストレプトマイシン、ダノフ
ロキサシンについては、別紙のとおり設定することが適当である。

(別紙)

	動物用医薬品	ADI	残留基準値	
1	サラフロキサシン	0.30 μ g/kg 体重/日	肉 (鶏・七面鳥)	0.01 ppm
			肝臓 (鶏・七面鳥)	0.08 ppm
			腎臓 (鶏・七面鳥)	0.08 ppm
			脂肪 (鶏・七面鳥)	0.02 ppm
2	ストレプトマイシン ／ジヒドロスト レプトマイシン	50 μ g/kg 体重/日	肉 (牛・羊・豚・鶏)	0.6 ppm
			肝臓 (牛・羊・豚・鶏)	0.6 ppm
			腎臓 (牛・羊・豚・鶏)	1.0 ppm
			脂肪 (牛・羊・豚・鶏)	0.6 ppm
			乳 (牛)	0.2 ppm
			(注1)	
3	ダノフロキサシン	18 μ g/kg 体重/日	肉 (牛・鶏)	0.20 ppm
			肝臓 (牛・鶏)	0.40 ppm
			腎臓 (牛・鶏)	0.40 ppm
			脂肪 (牛・鶏)	0.10 ppm
			豚肉	0.10 ppm
			豚肝臓	0.05 ppm
			豚腎臓	0.20 ppm
			豚脂肪	0.10 ppm

(注1) ストレプトマイシン及びジヒドロストレプトマイシンの和としての値



薬食審第 0627008 号
平成15年 6月27日

薬事・食品衛生審議会
会 長 井 村 伸 正 殿

食品衛生分科会
分科会長 吉 倉 廣

畜水産食品中に残留する動物用医薬品の基準設定に関する
薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会報告について

平成13年11月13日厚生労働省発食第267号をもって厚生労働大臣から諮問された下記動物用医薬品の残留基準設定について、当分科会において審議を行った結果、別紙のとおり取りまとめたので報告する。

記

サラフロキサシン、ジヒドロストレプトマイシン／ストレプトマイシン、ダノフロキサシン

(別紙)

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
乳肉水産食品・毒性合同部会報告

平成13年11月13日厚生労働省発食第267号をもって厚生労働大臣から諮問されたサラフロキサシン等3品目について、平成15年3月24日に開催した本合同部会での審議結果は、次のとおりである。

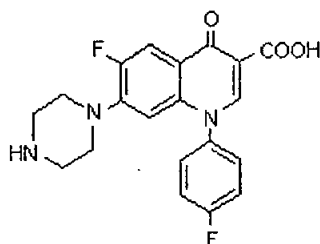
なお、各個別物質の審議結果は別添1～3のとおりである。

	動物用医薬品	ADI	残留基準値	
1	サラフロキサシン	0.30 μ g/kg 体重/日	肉 (鶏・七面鳥)	0.01 ppm
			肝臓 (鶏・七面鳥)	0.08 ppm
			腎臓 (鶏・七面鳥)	0.08 ppm
			脂肪 (鶏・七面鳥)	0.02 ppm
2	ストレプトマイシン/ジヒドロストレプトマイシン	50 μ g/kg 体重/日	肉 (牛・羊・豚・鶏)	0.6 ppm
			肝臓 (牛・羊・豚・鶏)	0.6 ppm
			腎臓 (牛・羊・豚・鶏)	1.0 ppm
			脂肪 (牛・羊・豚・鶏)	0.6 ppm
			乳 (牛)	0.2 ppm
			(注1)	
3	ダノフロキサシン	18 μ g/kg 体重/日	肉 (牛・鶏)	0.20 ppm
			肝臓 (牛・鶏)	0.40 ppm
			腎臓 (牛・鶏)	0.40 ppm
			脂肪 (牛・鶏)	0.10 ppm
			豚肉	0.10 ppm
			豚肝臓	0.05 ppm
			豚腎臓	0.20 ppm
			豚脂肪	0.10 ppm

(注1) ストレプトマイシン及びジヒドロストレプトマイシンの和としての値

(別添 1)

サラフロキサシン (SARAFLOXACIN)



サラフロキサシンの構造式

(1) 使用方法

サラフロキサシンは DNA ジャイレースの活性を阻害するフルオロキノロン系の抗菌性物質である。大腸菌やサルモネラ菌により起こる家禽の細菌感染の治療と予防に使用される。

(2) ADI 設定について

1) 吸収・分布・代謝・排泄

マウスを用いた^[14C]放射性同位元素標識サラフロキサシン単回経口投与試験 (10、100mg/kg 体重) では、投与後 24 時間以内に尿中に放射活性の約 25%、18%が、糞便中に 80%、74%がそれぞれ回収された。また、経口 (10、100mg/kg 体重) 投与後、尿中に同定された化合物のうち、それぞれ 69、66%は未変化体で、糞便中では、それぞれ 99、98%が未変化体の親化合物であった。

SD ラットを用いた^[14C]放射性同位元素標識サラフロキサシン単回経口投与試験 (10mg/kg 体重) では、投与後 3 日以内に放射活性の約 37%が尿中に、約 52%が糞便中に回収された。

ニュージーランドホワイトウサギにおける^[14C]放射性同位元素標識サラフロキサシン単回経口投与試験 (10mg/kg 体重) において、5 日間以内に投与量の約 11%の放射活性が尿中に、79%が糞便中に回収された。また、回収された被験薬剤のうち、尿中の 84%、糞便中のほぼ 100%が未変化体の親化合物であった。

イヌにおける^[14C]放射性同位元素標識サラフロキサシン経口又は静脈内投与試験 (10mg/kg 体重) において、吸収は AUC からは 73%、分布容積との比較からは 89%と計算された。また、投与した放射活性の約 54%が尿中に、約 27%が糞便中に回収された。また、投与量の 79%が未変化体の親化合物として排出された。胆汁中には未変化体及びグルクロニド抱合体がほぼ等しい割合で認められた。

年齢 20～39 歳の健康な男性ボランティアにおける単回経口投与試験（100、200、400、800mg）において、血漿中濃度は投与後 1.5～4 時間後に最高値に達し、平均ピーク濃度はそれぞれ 140、180、240 及び 350ng/ml であった。その後二相性の消失を示し、平均終末相半減期は、それぞれ 9、9、10、および 11 時間であった。排泄は、主として未変化体の尿中排泄によって生じ、未変化体の平均尿中回収率は、それぞれ 19、14、10 及び 7% であった。サラフロキサシンの代謝は、通常はピペラジニル置換基の酸化的分解を伴い、最初に 3'-オキソ-サラフロキサシンが生成する。その後の酸化によってエチレンジアミン置換キノロンが生成し、次にこれが酸化されてアミノキノロンが生成する。尿中における主要な排泄物はサラフロキサシンであり、その量はすべての尿中代謝物の 75～80% に相当するものであった。親化合物と代謝物を合計した総尿中回収率は、低値かつ用量依存性を示し、100mg から 800mg への用量の増大に伴って 24% から 10% に低下した。

2) 毒性試験

① 単回投与試験

マウスへの経口投与でサラフロキサシンの LD₅₀ は 5,000mg/kg 体重、ラットでは LD₅₀ は 8,000mg/kg 体重であった。

② 反復投与試験

SD ラットを用いたサラフロキサシン 3 ヶ月間反復強制経口投与試験（0、20、75、280、1000mg/kg 体重/日）において、投与開始 1 ヶ月及び 3 ヶ月後に剖検を行った。投与開始 1 ヶ月後に 280、1000mg/kg 投与群において、投与開始 3 ヶ月後に雄の 75、280、1000mg/kg 投与群、雌の 280、1000mg/kg 投与群において盲腸拡張が認められたが、病理組織学的検査において異常は認められなかった。投与終了 1 ヶ月後に行った剖検では、盲腸拡張は認められなかった。

投与開始 3 ヶ月後の剖検において、全ての投与群において数例の耳介腫脹が認められたが、用量依存性が認められなかったため、この所見は投与に関連したものとは考えられなかった。最高用量群の耳介腫脹を有する雌 3 匹には、病理組織学的検査において結節状の軟骨増殖及び細胞浸潤（主として単核細胞浸潤）を伴う耳介軟骨炎が認められた。試験期間中に最高用量群の雄 3 匹が死亡し、これらのうち 1 例は投与に関連していた可能性があるが、死因を特定することはできなかった。その他 2 例の死亡は、投与失宜に起因するものと考えられた。NOEL は 75mg/kg 体重/日における盲腸拡張に基づいて、20mg/kg 体重/日であった。

ビーグル犬を用いたサラフロキサシン 90 日間反復経口投与試験 (0、5、25、125mg/kg 体重/日) において、体重増加量の減少は認められなかった。雄の 125mg/kg 投与群、雌の 25、125mg/kg 投与群における平均血清グロブリン濃度は対照と比較して有意に低くなった。この結果から、NOEL は 5mg/kg 体重/日であった。

ビーグル犬を用いた別のサラフロキサシン 90 日間経口投与試験において、試験当初 2 週間は 8、40、160mg/kg 体重/日を投与し、その後 10、50、200mg/kg 体重/日に変更した。160mg/kg 投与群において投与開始 3 週間で雌雄各 2 例に眼周囲、眼瞼、及び耳介の腫脹が見られ、雌では眼分泌物の増加が認められた。また、投与開始 9～14 週の間、160mg/kg 投与群の雄 1 例に全身性紅斑が認められた。160mg/kg 投与群の雄及び 40、160mg/kg 投与群の雌に平均血清グロブリン濃度の有意な低下が認められた。その他、投与に関する所見は認められなかった。これらの試験結果から NOEL は 8mg/kg 体重/日であった。

③ 長期/発がん性試験

CD マウスを用いた長期/発がん性混餌投与試験 (0、150、750、3000mg/kg 体重/日) において、投与開始から 78 週後における生存率は、3000mg/kg 投与群の雄で 23%、雌で 28%、750mg/kg 投与群の雄で 45%、雌で 40%であったため、78 週目に試験を中止した。150mg/kg 投与群の生存率は、対照群と同程度であった。早期死亡例には、一貫して腹部膨満ならびに糞便量および糞便水分の増加が認められた。750、3000mg/kg 投与群の雌において腎毒性 (尿細管拡張を伴う上皮細胞の空胞化及び間質性腎炎) が認められ、3000mg/kg 投与群の雄に、胆嚢結石、尿路結石が認められた。全ての投与群において盲腸拡張が見られ、750、3000mg/kg 投与群においては盲腸捻転が認められた。これらの所見は高用量の薬物による盲腸内細菌叢に対して及ぼした局所作用に起因するものと考えられた。低用量群の動物には、投与に関連した病理所見は認められなかった。また、発がん性を示す所見は認められなかった。

SD ラットを用いた 52 週間混餌投与による慢性毒性試験 (0、61、670、1700mg/kg 体重/日) において、1700mg/kg 投与群の雌雄で体重増加量の減少が認められた。また、血中尿素窒素とクレアチニン濃度の増加も見られた。また、総タンパク質濃度については、検査を行ったすべての用量群の雄において有意な低下が認められた。1700mg/kg 投与群の雌において腎臓の絶対・相対重量の増加が見られ、雌雄各 20 例中 10 例及び 670mg/kg 投与群の雌 20 例中 1 例に尿細管腎症が認められた。670、1700mg/kg 体重/日投与群の多くに盲腸拡張が見られたが、病理組織学的検査では異常は認められなかった。これらの結

果から NOEL は 61mg/kg 体重/日であった。

また、平行して実施された 104 週間発がん性混餌投与試験 (0、54、580、1500mg/kg 体重/日) において認められた所見は、慢性毒性試験で認められたものと同様であり、特に発がん性を示す所見は認められなかった。

④ 遺伝毒性試験

サラフロキサシンは、*in vitro* におけるチャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた前進突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成試験、また、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞を用いた染色体異常試験において陽性を示した。しかし、本剤は、充分高用量まで検討された *in vivo/in vitro* におけるラット肝細胞での不定期 DNA 合成試験及び *in vivo* でのマウス骨髄を用いた小核試験において陰性であったため、*in vitro* で認められた遺伝毒性が *in vivo* で発現する可能性は低いものと考えられた。

⑤ 生殖毒性試験

SD ラットを用いた 3 世代生殖毒性試験 (0、75、275、1000mg/kg 体重/日：強制経口投与；交配 70 日前から投与) では、275、1000mg/kg 投与群において被験薬剤排泄に伴う軟便、白色便が 3 世代全ての親動物に観察された。275、1000mg/kg 投与群の F₀ 親動物の雌、F₁ 親動物の雌雄及び F₂ 親動物の雄の肝臓、1000mg/kg 投与群の F₂ 雌親動物の肝臓に、有意な絶対・相対重量減少が見られ、用量に相関が認められた。これらの結果から、親動物に対する NOEL は 75mg/kg 体重/日であった。なお、全投与群において、生殖能、出生児及び胎児の形態について、投与に関連した所見は認められなかった。

⑥ 催奇形性試験

SD ラットを用いた催奇形性試験 (0、20、75、280、1000mg/kg 体重/日：妊娠 6～15 日に強制経口投与、妊娠 20 日に屠殺) において、親動物における臨床症状、体重、摂餌量、着床数に投与に関連する所見は認められなかった。胎児について死亡率、性比、群平均体重、外表、内臓及び骨格の形態に投与に関連する所見は認められなかった。これらの結果から NOEL は 1,000mg/kg 体重/日であった。

ニュージーランドホワイトウサギを用いた催奇形性試験 (0、15、35、75mg/kg 体重/日：妊娠 6～18 日に強制経口投与) において、全ての投与群の親動物に排便量及び排尿量の減少等の毒性所見が認められ、それぞれ 3 匹、4 匹、7 匹が流産した。親動物の体重に対する影響は 15mg/kg 投与群で軽度であったが、

35、75mg/kg 投与群では影響が強く、投与期間中及び投与終了後の期間に親動物の体重は減少した。35、75mg/kg 投与群の胎児に、平均胎児体重の減少が認められ、一部の腹の胎児に外表、内臓及び骨格の奇形が認められた。催奇形性および胎児毒性に関する NOEL は、15mg/kg 体重/日であった。催奇形作用は母体毒性による二次的なものと考えられ、投与に直接起因するものとは考えられなかった。

⑦特殊試験

ア 微生物に関する試験

210 菌株に対するサラフロキサシンの抗菌作用が評価され、最も高い感受性を示したのは *Escherichia coli* および *Enterobacter cloacae* であり、いずれも MIC₅₀ 値は <0.031µg/ml であった。最も高い感受性を示した優勢な細菌叢は *Peptostreptococcus spp.* であり、MIC₅₀ 値は 0.125µg/ml であった。サラフロキサシンとその 4 つの代謝物について、ヒト臨床分離株を用いて MIC₅₀ を調べたが、代謝物は親化合物より抗菌活性が低いことが明らかとなった。

in vitro 消化管モデル系の評価(ヒト由来の各 5 種類の *E. coli* 株、*B. fragilis* 株及び *Bifidobacterium spp* 株)において、*E. coli* 株は、モデル消化管の場合にはブイヨン培養の場合より高濃度のサラフロキサシン存在下で増殖を示した。また、pH の影響を *in vitro* で評価したところ、ヒト消化管内に存在する可能性があると考えられるそれぞれの菌種における幾何平均 MIC 値は、pH の低下に伴って上昇した。

サラフロキサシンの抗菌作用に対して最も高い感受性を示した菌種 (*E. coli* 及び *Enterobacter cloacae*) は胃腸管内の総細菌数の約 1% にしか相当せず、消化管内におけるコロニー形成耐性に対する寄与率は極めて軽微であると考えられた。優勢な細菌叢におけるデータが少数であったため、ヒト消化管の優勢な細菌叢についての評価は十分ではなかったが、同系統のフルオロキノロンの活性に関する公表文献においては、*Clostridium perfringens* 及び *Peptostreptococcus spp* が最も感受性の高い菌種であることが明らかにされている。優勢な細菌叢の中で、MIC₅₀ 値が最低であったのは *Peptostreptococcus spp* の 0.125µg/ml であった。

イ ヒトに対する影響

健常人のボランティアに対してサラフロキサシン 100~800mg/人/日を 1~7 日間の連続経口投与したところ、報告された副作用として、無力症、血管拡張、不安、めまい、神経質及び傾眠が全ての用量群において散発的に認

められた。

3) ADI の設定

以上の試験から、次のように ADI を算定した。

微生物学的なサラフロキサシンの ADI を以下の計算により求めた。

$$\text{微生物学的 ADI} = \frac{0.125\mu\text{g/g}^a \times 220\text{g}}{0.76^b \times 2^c \times 60\text{kg}} = 0.30\mu\text{g/kg 体重/日}$$

- a 本評価において使用したこの値は、*Peptostreptococcus spp.* の 3 種類のヒト臨床分離株（サラフロキサシン感受性の評価が実施されたヒト胃腸内細菌叢の優勢な細菌叢の中で最も高い感受性を示した菌株）についての MIC₅₀ である。
- b 投与用量のうち、結腸内細菌に対して作用を及ぼす可能性がある量の割合は、ヒトにおける試験結果に基づくものである。すなわち、サラフロキサシンの 100mg を経口投与した場合、その約 76% が吸収されないことを試験結果は示している。
- c 安全係数 2 を採用した理由は、ヒト消化管の感受性細菌に関する MIC データが限られた範囲のものであるためである。

これにより得られた微生物学的 ADI の 0.30μg/kg 体重/日は、動物試験で得られた最小の NOEL（イヌを用いた 90 日間投与試験）5mg/kg 体重/日を安全係数 100 で除した 50μg/kg 体重/日と比較すると、150 倍の安全幅が見込まれており、0.30μg/kg 体重/日をサラフロキサシンの ADI とする。

(3) 残留基準値の設定について

残留基準値については、国際基準と同様に設定しても、日本人 1 日あたりの肉の平均摂取量（厚生労働省国民栄養調査成績）から試算される理論最大摂取量は（2）の 3）で得られた ADI を越えないことから、以下のとおりとする。

肉（鶏・七面鳥）	0.01	ppm
肝臓（鶏・七面鳥）	0.08	ppm
腎臓（鶏・七面鳥）	0.08	ppm
脂肪（鶏・七面鳥）	0.02	ppm

理論最大摂取量の試算

サラフロキサシン

- ① 全ての食肉を残留基準値の高い肝臓又は腎臓（基準値：0.08ppm）で摂取した場合を仮定すると、

食肉からの摂取量は、

$$0.08 \times 78.2 \text{g} \div 1000 = 0.006256 \text{mg}$$

と算出でき、これが理論最大摂取量となる。

- ② ADI (0.3μg/kg 体重/日) 比は、(体重 50kg とする)

$$0.006256 \text{mg} \times 1000 \div (0.3 \mu\text{g}/\text{kg} \times 50) \times 100 = 41.7\%$$

ADI 比 41.7%

78.2g：平成 12 年国民栄養調査結果による肉類の摂取量

小児（1～6 歳）の理論最大摂取量の試算

サラフロキサシン

- ① 全ての食肉を残留基準値の高い肝臓又は腎臓（基準値：0.08ppm）で摂取した場合を仮定すると、

食肉からの摂取量は、

$$0.08 \times 51.7 \text{g} \div 1000 = 0.004136 \text{mg}$$

と算出でき、これが理論最大摂取量となる。

- ② ADI (20μg/kg 体重/日) 比は、

$$0.004136 \text{mg} \times 1000 \div (0.3 \mu\text{g}/\text{kg} \times 15.8 \text{kg}) \times 100 = 87.3 \%$$

ADI 比 87.3 %*

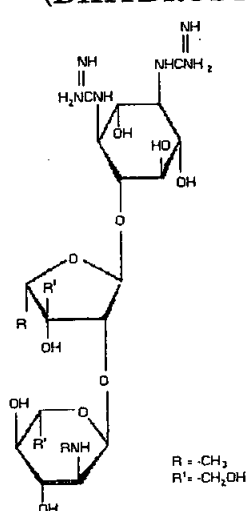
15.8kg：平成 12 年国民栄養調査結果による 1～6 歳の平均体重

51.7g：平成 12 年国民栄養調査結果による 1～6 歳の肉類摂取量

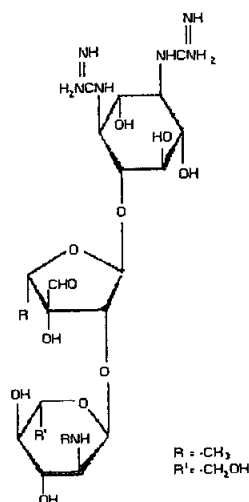
※ 摂取している全ての食肉を残留基準値が最も高い肝臓又は腎臓（基準値：0.08ppm）で摂取した場合を仮定した ADI 比であり、全て食肉（基準値：0.01ppm）で摂取したと仮定し算出すると、理論最大摂取量は 0.52μg となり、ADI 比は 10.9%となる。

(別添 2)

ジヒドロストレプトマイシン・ストレプトマイシン
(DIHYDROSTREPTOMYCIN・STREPTOMYCIN)



dihydrostreptomycin



streptomycin

ジヒドロストレプトマイシン及びストレプトマイシンの構造式

(1) 使用方法

ストレプトマイシンは土壌放線菌 *Streptomyces griseus* によって産生されるアミノグリコシド系抗生物質であり、ジヒドロストレプトマイシンはストレプトマイシンの還元により生成する。いずれも、牛の乳房炎、家畜や家禽の細菌性感染症等の治療に使用される。

(2) ADI 設定について

ジヒドロストレプトマイシンとストレプトマイシンは薬物動態的特性、毒性プロフィール、抗菌作用、生物学的作用範囲が類似していることから、単一の ADI 設定について検討した。

1) 吸収・分布・排泄

(ジヒドロストレプトマイシン)

ラットを用いた硫酸ジヒドロストレプトマイシン及び塩酸ジヒドロストレプトマイシンの単回経口投与試験において、血中濃度は投与後 1~2 時間で最高濃度に達した。

ウシを用いたジヒドロストレプトマイシンの非経口投与試験で、乳中にジヒドロストレプトマイシンが検出されたが、投与 48 時間以降は検出されなかった。

ヒトにおいて、アミノグリコシド系抗生物質の膜透過性は非常に低く、腸内

に炎症や潰瘍が存在する場合においても、経口投与量の約 1%しか吸収されなかった。アミノグリコシド系抗生物質は血漿濃度依存的に腎臓に蓄積すること、数週間にわたり尿中からアミノグリコシド系抗生物質が検出されることから、腎臓内での結合が示唆された。蓄積は内耳の外リンパ内にも発生し、ここでは排泄半減期が血清中よりもはるかに長かった(血清: 2 時間、外リンパ: 10~12 時間)。アミノグリコシド系抗生物質は胎盤を通過し、胎児の血清中濃度は母親の血清中濃度の 20~40%の範囲であった。非経口投与後の排泄率は腎機能に依存し、クレアチニンクリアランス速度に直線的に関連していた。成人における排泄半減期は 2 時間であったが、新生児の場合は糸球体濾過速度が低いため 5~6 時間であった。

(ストレプトマイシン)

マウスを用いた経口投与試験においては、投与後 45~60 分で最高血中濃度に達した。

ラットを用いた硫酸ストレプトマイシン、塩化カルシウムストレプトマイシン経口投与試験では、投与後 1~2 時間で最高血中濃度となった。

イヌを用いた単回経口投与試験において、ストレプトマイシンは血漿及び胆汁中からは検出されず、投与量の 3.9~10%が尿中に検出された。また、投与 24 時間後では投与量の 60~80%が吸収されずに消化管から未変化体として検出された。

ウシを用いた単回筋肉内投与試験において、投与後 6~18 時間に乳中にストレプトマイシンが検出された。乳房内投与では吸収はほとんどなく、血中からは検出されなかったが、尿中からは投与後 27 時間まで有意量が検出された。

ヒトへの経口投与では、投与後 12 時間以降は血清中からは検出されず、1%が尿中に、60%~100%が未変化体のまま糞中に排泄される。非経口投与後、24 時間以内に約 50~60%が未変化体のまま尿中に排泄されたほか、約 1%は胆汁中に排泄された。近位尿細管で少量の再吸収が認められた。投与されたストレプトマイシンの約 0.5%は 24 時間以内に母乳中に排泄された。

2) 代謝試験

(ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン)

アミノグリコシド系抗生物質は人体内では代謝されず、糸球体濾過により未変化体が排泄される。

3) 毒性試験

①単回投与試験

(ジヒドロストレプトマイシン)

マウスにおける硫酸ジヒドロストレプトマイシン経口投与試験における LD₅₀ は >30,000mg/kg 体重、塩酸ジヒドロストレプトマイシンの LD₅₀ は >12,500mg/kg 体重であった。

(ストレプトマイシン)

マウスへの経口投与試験における LD₅₀ は 15,500mg/kg 体重、塩化カルシウムストレプトマイシンは 8,750mg/kg 体重、硫酸ストレプトマイシンは 25,000

mg/kg 体重であった。

ゴールデンハムスターにおける硫酸ストレプトマイシン経口投与試験における LD₅₀ は 400mg/kg 体重であった。

②反復投与試験

(ジヒドロストレプトマイシン)

モルモットを用いた 90 日間経口投与試験 (40mg/kg 体重/日) において、聴覚障害は認められなかった。

ネコを用いた 90 日間経口投与試験 (0、1、5、10mg/kg 体重/日) において、投与に関連する所見は認められなかった。別の 90 日間経口投与試験 (40 mg/kg 体重/日) においても、投与に関連する所見は認められず、また、正向反射試験により前庭機能にも異常は認められなかったことから、投与における NOEL は 40mg/kg 体重/日とされた。

ウシ、ヒツジ及びブタを用いてジヒドロストレプトマイシン及びベンジルペニシリンプロカインをそれぞれ 30mg/kg 体重/日 (5 日間)、又はそれぞれ 10mg/kg 体重/日 (15 日間) を筋肉内投与したが、投与に関連する所見は認められなかった。

(ストレプトマイシン)

マウスを用いた 6 日間混餌投与試験 (150、300、600、1500mg/kg 体重/日) において、投与期間中及び投与終了後 10 日間において、臨床的な変化は認められなかった。

ラットを用いた混餌投与試験 (300、900mg/kg 体重/日) において、900mg/kg 投与群において投与後 24 時間以内に、また 300mg/kg 投与群では投与後約 6 週間で異常興奮性が観察された。

ハムスターを用いた混餌投与試験 (2、10、40mg/kg 体重/日) において、投与開始から 6 日後に 40mg/kg 投与群の全ての動物、10mg/kg 群の 90%の動物が死亡したが、2mg/kg 群では全てが生存した。

ネコを用いた塩化カルシウムストレプトマイシン経口投与試験 (1000、2000 mg/kg 体重/日) において、1000mg/kg 投与群の 4 例中 2 例は投与開始 9、12 日に運動失調を呈し、残りの 2 例は 8、11 日後に神経毒性の兆候を示さず死亡した。2000mg/kg 投与群では嘔吐が激しく、12、19 日後に運動失調を呈した。

サルを用いた一連の 5 日間皮下又は筋肉内投与試験において、100mg/kg 以上の投与群では、蛋白尿、肝臓障害が観察された。25mg/kg 以上の投与群では、肝臓に脂肪変性が観察され、同様に脂肪変性がまれに腎臓にも観察された。

③長期/発がん性試験

(ジヒドロストレプトマイシン)

CD ラットを用いたジヒドロストレプトマイシン 2 年間混餌投与試験 (0、1、5、10mg/kg 体重/日) において、ジヒドロストレプトマイシン投与群の 25 例中 12~17 例が生存した。投与期間を通じて生存率、摂餌量、尿分析、血液学的検査、聴力に投与に関連した所見は認められなかった。10mg/kg 投与群の雄で体重増加量の減少及び化膿性中耳炎が認められた。その他の投与に関する病

理組織学的変化は認められなかった。腫瘍の発現頻度は対照群と比較して同程度であった。NOEL は、雄における体重増加量の減少に基づく 5mg/kg 体重/日であった。

(ストレプトマイシン)

長期/発がん性試験は実施されていない。

④遺伝毒性

遺伝毒性に関するデータはほとんどなく、特に遺伝子突然変異に関する試験は行われていない。ただし、ほ乳類培養細胞を用いる遺伝毒性試験の場合、培地中にストレプトマイシンが添加されるのが定法であり、突然変異誘発性に関しては問題のないものと考えられる。

(ジヒドロストレプトマイシン)

培養ヒトリンパ球細胞に染色体異常誘発性を示さなかった。

(ストレプトマイシン)

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で陽性の結果が得られたものもあったが、10mM 以上の用量での陽性であり、非生理的培養条件下にみられる非特異的な反応であり、生物学的意義のある反応とは考えられなかった。培養ヒトリンパ球細胞を用いた染色体異常試験では、*in vitro* 処理及び *in vivo* 暴露で染色体異常誘発性は確認されなかった。

⑤生殖毒性試験

ラットにおける生殖毒性試験は実施されていないが、細菌性感染症の治療、または、予防のためにストレプトマイシン及びジヒドロストレプトマイシンを非経口的に投与された家畜の繁殖成績が報告されている。

成熟雄ブタ 18 頭にストレプトマイシン及びジヒドロストレプトマイシン併用薬 (各 25mg/kg 体重) を 14 日間隔で 2 回注射し、3 週間にわたって精液量及び精子運動性を調べたが、薬物による影響は認められなかった。

25 頭の雌ブタにストレプトマイシン及びジヒドロストレプトマイシン併用薬 (各 15mg/kg 体重) を 1 回注射した後に繁殖させたが、薬物投与の影響は認められなかった。

18 ヶ月齢の雄ウシ 9 頭にジヒドロストレプトマイシン (22mg/kg 体重) を 12 時間間隔で 2 回皮下投与し、3 及び 7 日後に精液 pH、精子の運動性及び濃度の検査、8、17 及び 26 日後に精巣の重量測定及び組織学的検査を行ったが、投与による影響は認められなかった。

妊娠雌ウシ及び雄ウシ約 6000 頭にペニシリン/ジヒドロストレプトマイシン (またはストレプトマイシン) 併用薬を 5g/頭で 3~4 日間連続、または、25mg/kg 体重を 14 日間隔で 2 回筋肉内投与したが繁殖機能への影響は認められなかった。

⑥催奇形性試験

(ジヒドロストレプトマイシン)

モルモットを用いた催奇形性試験 (10、25、50、100、200mg/kg 体重/日 :

妊娠中筋肉内投与。期間不明)において、100、200mg/kg 投与群で 8~10 日以内に流産または死亡が観察された。25、50mg/kg 投与群では、数例に流産または死産が観察された。10mg/kg 投与群では 24 日間の投与では、流産は発生せず、生存した F₁ 動物の前庭及び聴覚機能は臨床的に正常で、組織学的検査においても中枢神経系に異常は認められなかった。なお、同様の結果がストレプトマイシンを用いた試験においても報告されている。

ダッチ種ウサギを用いた催奇形性試験 (0、5、10mg/kg 体重/日：妊娠 6~18 日間強制経口投与、妊娠 30 日にと殺)において、投与に関連する所見は認められなかった。

ヒトでは、結核治療のため妊娠中に母親がジヒドロストレプトマイシンを非経口的に投与された子供において、成人同様に主として通常会話周波数範囲外の高周波数の聴力への影響が報告されている。しかしながら、催奇形性物質とは異なり、胎児に対する作用は胚形成の感受期とは無関係に妊娠期間を通して発生する可能性がある。

(ストレプトマイシン)

スィスマウスを用いた催奇形性試験 (0.025、0.25 μ g/kg 体重：妊娠 14 日目に単回皮下投与し、分娩させて F₁ 動物の発育を観察した。)において、同腹児数に影響は認められず、奇形の発生もみられなかった。0.025 μ g/kg 投与群で精囊及び副腎の重量が減少し、0.25 μ g/kg 投与群では特に腎臓、副腎及び脾臓の重量が減少した。

マウスを用いた催奇形性試験 (400 μ g/kg 体重/日：妊娠 9~11 日に皮下投与)において、着床数と胎児体重が低下したが、奇形の発現はみられなかった。

ICR マウスを用いた催奇形性試験 (250mg/kg 体重/日：妊娠 12~16 日に腹腔内投与し、分娩させて F₁ 動物の発育を観察した。)において、前庭機能の低下が示唆され、形態学的変化として有毛細胞のポリープ様細胞質突出が認められた。

ヒトにおいては、ジヒドロストレプトマイシンと同様の毒性が報告されている。

⑦特殊試験

ア 聴器毒性

(ジヒドロストレプトマイシン)

片方の耳を外科的に破壊したネコを用いた投与試験 (300mg/kg 体重/日：21 日目から 100mg/kg 体重/日：60 日間)において、休薬 1 年後、剖検し、内耳及び脳幹神経核の組織病理学的検査を行ったが、異常は認められなかった。高周波数聴覚障害、回転後眼振消失、運動失調及び体重減少が観察され、病理組織学的には、内耳前庭と蝸牛に変性を認めた。同様の変化がストレプトマイシンを用いた検討においても報告されている。

(ストレプトマイシン)

モルモットを用いた 3~6 週間投与試験 (100~400mg/kg 体重/日、投与経路不明)における内耳の組織学的検査では、各投与群において聴覚障害及び前庭機能不全の臨床的兆候を伴う中心核 (主として前庭及び蝸牛神経核) の

神経細胞の変性が観察された。すべての動物において第八脳神経のミエリン染色像及び迷路の感覚細胞は正常であった。21～60 日間経口投与試験(200～400mg/kg 体重/日)において、前庭及び蝸牛の中枢側及び末梢側の両方に変化が認められたが、これは蝸牛より前庭の方が重度であった。

イヌ3頭を用いた28日筋肉内投与試験(170mg/kg 体重/日)において、臨床症状として、運動失調、首振り運動、追尾運動、及び虚弱などが観察された。投与後9日目に1例が死亡し、進行性両側性壊死性腎細動脈炎、糸球体炎が確認された。

イ 微生物学的作用

ハムスターを用いた混餌投与試験(0、10mg/kg)において、47日後、オキシテトラサイクリン(10mg/kg)を飼料に添加し、ジヒドロストレプトマイシン及びオキシテトラサイクリン両方に感受性を持つ *E. coli* (10⁸ 個/ml) 懸濁液を飲料水に2週間添加した。投与期間中糞便を収集し、ジヒドロストレプトマイシンまたはオキシテトラサイクリンのいずれかに耐性を持つ乳糖発酵腸内細菌について試験したが、いずれの時点においても耐性菌は検出されなかった。

ビーグル犬を用いた35日間混餌投与試験(50、250 µg/kg 体重/日)において、15日後、糞便内細菌叢がジヒドロストレプトマイシン感受性乳糖発酵細菌種優勢から耐性菌優性へと有意に変化し、投与終了後28日間持続した。以上のことから、腸内細菌において薬物耐性化する NOEL は 50 µg/kg 体重/日以下とされた。

健康人ボランティアに、ジヒドロストレプトマイシン 0.75mg を含む食事を週に4日、7週間投与した。毎週糞便を収集し、R-因子支配ジヒドロストレプトマイシン耐性をもつ菌について精査した。耐性菌は非投与対照群の約30%において週毎に変動し、この変動が薬物投与群においても同様に観察された。薬物投与群の25例中4例、及び対照群の29例中6例は耐性菌を決して排泄することはなかった。しかし、耐性菌獲得後は薬物存在下で、耐性菌はより長期間、より多く増加した。

硫酸ジヒドロストレプトマイシンの MIC を健康な成人の腸内または糞便から検出した細菌について *in vitro* で試験したところ、*Bifidobacterium spp.* が最も高い感受性を示し、MIC₅₀ 値は 32 µg/ml であった。

ウ 腎毒性

ラットに対して、水負荷と同時にストレプトマイシンの経口投与(250、500mg/kg 体重)を行った結果、投与後2時間目の尿排泄量は減少したが、5時間後には対照群と同等レベルにまで回復した。尿排泄量は投与量に応じて減少したが、投与後3日目では、この影響は消失した。

サルを用いた皮下及び静脈内投与試験(25、50、100、200 mg/kg 体重/日)において、高用量群で蛋白尿や血液尿素窒素の上昇が認められたが、いずれも生理的範囲内であった。また、25mg/kg 静脈内投与群において、投与初日の尿量が減少したが、10日目には回復した。

⑧人における所見

ア 聴器毒性

ストレプトマイシン及びジヒドロストレプトマイシンの両薬物とも、通常会話に伴う周波数範囲が影響される前に、高音域における聴力低下が発症する。聴覚障害は治療 1～6 ヶ月後に発症し、永久的で、用量関連性はない。アミノグリコシド系抗生物質は、内耳の外リンパに蓄積する。大部分は腎臓から未変化体のまま排泄されるため、腎機能に障害がある場合に聴器毒性が増強する危険性がある。ジヒドロストレプトマイシンはストレプトマイシンよりも部分的な、または、完全な聴覚障害の原因になりやすいと報告されているため、ヒトにおける使用は推奨されていない。ストレプトマイシンを用いた検討では、筋肉内投与（3～36mg/kg 体重/日）1 週間目において、26 例中 25 例にめまいが報告された。より長期の投与（9～19 週）において、18 例中 13 例で腎クリアランスの機能低下が報告された。15mg/kg 体重/日約 7 日間の投与において、1000 例中 1 例に前庭機能障害が報告された。

イ 腎毒性

アミノグリコシド系抗生物質により、一般的に蛋白尿、円柱尿及び尿濃縮不全を伴う急性尿細管壊死が生じ、これに続いて血清クレアチニンや血中尿素窒素の上昇を伴う糸球体ろ過率の減少が生じる。しかし、ストレプトマイシンではこのような腎障害が重篤化するのはいまだである。腎障害は通常、投与中止により改善される。ストレプトマイシンはアミノグリコシド系抗生物質の中で最も腎毒性の低いことが知られている。

ウ 神経節遮断

アミノグリコシド系抗生物質は、運動神経末端からのアセチルコリン放出の減少と終板の接合後部での感受性低下によって、非分極型の神経・筋遮断を起こす。この遮断は、カルシウム投与により完全に回復する。

エ アレルギー反応

アミノグリコシド系抗生物質の全身投与に起因するアレルギー反応の発症は極めて稀である。ジヒドロストレプトマイシンによるアレルギー発症の報告はない。

ストレプトマイシンによって生じる皮膚及び全身性の過敏症は一般的であり、しばしば強く現れ、発赤と発熱を伴う。

オ その他の作用

その他の毒性が発症することは稀である。ストレプトマイシンは三叉神経枝の毒性神経炎の原因になり、その結果として顔面または口内の感覚鈍麻、ひりひり感及び灼熱感をもたらす。更に、薬の有害反応として、好中球減少症、再生不良性貧血、剥奪性皮膚炎、全身性エリテマトーデス、紫斑、ネオマイシンとの交差反応による皮膚感作、接触性じんま疹、術後呼吸機能低下、

黄色視症(色覚障害)、無嗅覚症(嗅神経知覚の損失)、せん妄、妄想性幻覚性精神病、無顆粒球症、血清病及びアナフィラキシーが報告されている。また、肝酵素の一時的な高値が時々発生する。

4) ADI の設定

以上の試験成績から、以下のように ADI を算定した。

ジヒドロストレプトマイシンとストレプトマイシンの抗菌活性は等しいため、*in vitro*におけるジヒドロストレプトマイシンの微生物学的試験をストレプトマイシンにも適用し、両薬物の残留物の和に対する ADI を算出した。

$$\text{微生物学的 ADI} = \frac{32\mu\text{g/g}^a \times 220\text{ g}}{1^b \times 1^c \times 60\text{ kg}} = 120\mu\text{g/kg 体重}$$

- a ヒトの消化管内優性細菌叢の中で最も感受性の高い菌属である *Bifidobacterium* spp. の MIC₅₀ 値を採用した。
- b 消化管内容物との結合に関する情報がないため、腸内細菌叢におけるジヒドロストレプトマイシン及びストレプトマイシンの利用能を 100% とした。
- c 腸内細菌叢は比較的安定しており、特定の個人における変動性は個人間の変動性と同程度であること、及び、この算出におけるそれぞれの値については、安全性を十分に考慮して適切な値を組み込んでいることから、安全係数は 1 とした。

一方、毒性試験においては、ストレプトマイシンの長期経口投与毒性試験は実施されていないが、ジヒドロストレプトマイシンにおいて 2 年間経口投与毒性試験が実施されていること、ジヒドロストレプトマイシンと薬物動態的特性、毒性プロファイル、抗菌作用、生物学的作用範囲が類似していること、これまで長期にわたりヒトに対して使用されてきたが、聴器毒性以外については報告がないことからストレプトマイシンの長期経口投与毒性試験が実施されていなくても ADI を設定することが可能であると判断した。

毒性試験での最低の NOEL は、ラットにおけるジヒドロストレプトマイシンの 2 年間経口投与毒性試験における体重増加の減少に基づく 5 mg/kg 体重/日であり、安全係数 100 で除して、ADI は 50 μg/kg 体重/日となる。

従って ADI は、毒性試験に基づく値が微生物学的試験に基づく値より小さくなるため、毒性試験に基づく 50 μg/kg 体重/日とする。

(3) 残留基準値の設定について

残留基準値については、国際基準と同様に設定しても、日本人1日あたりの肉の平均摂取量（厚生労働省国民栄養調査成績）から試算される理論最大摂取量は（2）の4）で得られたADIを越えないことから、以下のとおりとする。

肉（牛・羊・豚・鶏）	0.6	ppm
肝臓（牛・羊・豚・鶏）	0.6	ppm
腎臓（牛・羊・豚・鶏）	1.0	ppm
脂肪（牛・羊・豚・鶏）	0.6	ppm
乳（牛）	0.2	ppm

（ストレプトマイシン、ジヒドロストレプトマイシンの和として）

理論最大摂取量の試算

ストレプトマイシン、ジヒドロストレプトマイシン

- ③ 全ての食肉を残留基準値の高い腎臓（基準値：1.0 ppm）で摂取した場合を仮定すると、食肉からの摂取量は、

$$1.0 \times 78.2 \text{g} \div 1000 = 0.0782 \text{ mg}$$

- ② 乳からの摂取量は、

$$0.2 \times 127.6 \text{g} \div 1000 = 0.0255 \text{ mg}$$

- ③ 従って、理論最大摂取量は、

$$\text{①} + \text{②} = 0.0782 \text{ mg} + 0.0255 \text{ mg} = 0.104 \text{ mg}$$

と算出でき、これが理論最大摂取量となる。

- ④ ADI (50 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日) 比は、(体重 50kg とする)

$$0.104 \text{mg} \times 1000 \div (50 \mu\text{g/kg} \times 50) \times 100 = 4.15 \%$$

ADI 比 4.15 %

78.2g : 平成 12 年国民栄養調査結果による肉類の摂取量

127.6g : 平成 12 年国民栄養調査結果による乳類の摂取量

小児（1～6歳）の理論最大摂取量の試算

ストレプトマイシン、ジヒドロストレプトマイシン

- ① 全ての食肉を残留基準値の高い腎臓（基準値：1.0 ppm）で摂取した場合を仮定すると、食肉からの摂取量は、

$$1.0 \times 51.7 \text{g} \div 1000 = 0.0517 \text{ mg}$$

- ② 乳からの摂取量は、

$$0.2 \times 181.0 \text{g} \div 1000 = 0.0362 \text{ mg}$$

- ③ 従って、理論最大摂取量は、

$$\text{①} + \text{②} = 0.0517 \text{ mg} + 0.0362 \text{ mg} = 0.0879 \text{ mg}$$

と算出でき、これが理論最大摂取量となる。

- ④ ADI (50 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日) 比は、

$$0.0879 \text{ mg} \times 1000 \div (50 \mu\text{g/kg} \times 15.8 \text{kg}) \times 100 = 11.13 \%$$

ADI 比 11.13 %

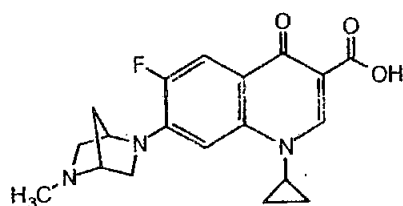
15.8kg : 平成 12 年国民栄養調査結果による 1～6 歳の平均体重

51.7g : 平成 12 年国民栄養調査結果による 1～6 歳の肉類摂取量

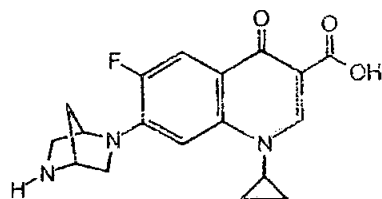
181.0g : 平成 12 年国民栄養調査結果による 1～6 歳の乳類の摂取量

(別添 3)

ダノフロキサシン (DANOFLOXACIN)



Danofloxacin



Desmethyldanofloxacin

ダノフロキサシン及びダノフロキサシン脱メチル化体の構造式

(1) 使用方法

ダノフロキサシンはフルオロキノロン系の抗菌性物質であり、立体特異的に合成された純粋 S (左旋性) 型である。ダノフロキサシンはメシル酸塩が動物用医薬品として、牛、豚および鶏の呼吸器病の治療に使用される。

(2) ADI 設定について

1) 吸収・分布・排泄

鶏を用いた 3 日間経口投与試験 (5mg/kg 体重/日) では、投与期間中、肺及び血漿中濃度はそれぞれ 0.43 及び 0.21µg/ml であった。半減期は、肺で 5.8 時間、血漿で 4.9 時間であった。[H³]放射性同位元素標識ダノフロキサシンの 5 日間経口投与試験 (5mg/kg 体重/日) では、最終投与終了後 6 時間で排泄物中に未変化体のダノフロキサシンが 75% 検出された。ダノフロキサシン脱メチル化体は 5~7% であった。

豚を用いた単回筋肉内投与試験 (1.25mg/kg 体重) では、投与後約 1 時間で最高濃度 (血漿: 0.40µg/g、肺: 1.68µg/g) に達し、血漿半減期は約 7 時間であった。[H³]放射線標識ダノフロキサシン筋肉内投与試験 (1.25mg/kg 体重、5 日間) では、1 日あたりの尿および糞便中の回収率は投与量の 75~81% であった。胆汁中の平均濃度は、投与終了の 12 時間後では 1.7µg/g、48 時間後までには 0.21µg/g に低下した。単回経口投与試験 (5mg/kg 体重) では、投与後約 3 時間で最高血漿濃度 (0.42µg/ml) に達した。生物学的利用能は単回筋肉内投与で 76%、単回経口投与で 89% と推定された。

牛を用いた単回筋肉内投与試験 (1.25mg/kg 体重) では、投与後 1 時間で最高濃度 (血漿: 0.35µg/ml、肺: 1.44µg/ml) に達し、血漿半減期は 3.4 時間であった。単回皮下投与、単回筋肉内投与試験 (1.25mg/kg 体重) では、投与後約 1 時間で最高血漿濃度 (0.37µg/ml) に達し、生物学的利用能はほぼ 100% であった。[H³]放射性同位元素標識ダノフロキサシン 5 日間反復筋肉内投与試験 (1.25mg/kg

体重/日)では、排泄物中のダノフロキサシン関連物質の濃度が投与3日までにプラトーに達し、尿中及び糞中の排泄量はほぼ等しかった。未変化体が糞便中排泄物質の約48%、尿中排泄物質の89%をしめた。脱メチル代謝物は尿サンプル中の12%をしめたが、糞便中では検出されなかった。

2) 生体内代謝

ダノフロキサシンの生体内変化については、ラット、犬、鶏、豚および牛で試験されている。いずれの動物種においても、糞便中の残留物質の多くは未変化体のダノフロキサシンで、ダノフロキサシン脱メチル化体は少量検出されている。牛、犬、およびラットにおける尿中の主要残留物質もダノフロキサシンであった。ラット、犬および豚の尿中にはダノフロキサシン脱メチル化体、N-オキサイドダノフロキサシンおよびβ-グルクロニドが含まれていた。

ほとんどの動物種の肝臓でも、主な残留物質は未変化体のダノフロキサシンであったが、代謝物であるダノフロキサシン脱メチル化体も有意に存在していた。雄牛および雌牛の胆汁にピペラジン環分解産物がそれぞれ放射性同位元素標識物質中43%及び27%検出されたが、ラットと犬の胆汁からはごくわずかな量しか検出されなかった。犬の胆汁には、N-オキサイドダノフロキサシンが含まれていたが、この残留物質は他の動物種にはごくわずかしか存在していない。

3) 毒性試験

①単回投与試験

マウス及びラットへの経口投与でのLD₅₀は、ダノフロキサシンで>2,000mg/kg体重、ダノフロキサシン脱メチル化体では1,500~>2,000 mg/kg体重である。

また、マウスへの静脈内投与でのLD₅₀は、ダノフロキサシンで50~100 mg/kg体重、ダノフロキサシン脱メチル化体で7.5~10mg/kg体重であり、ラットではダノフロキサシンが100~150mg/kg体重、ダノフロキサシン脱メチル化体では40~50mg/kg体重である。

②反復投与試験

ラットに対する経胎盤および授乳期暴露を母動物に0、25、75及び150mg/kg体重/日を投与する形で行った。さらに離乳後3ヶ月間、同量を経口により投与した。雌において投与量と相関的に尿蛋白の増加がみられ、その増加は個体における尿細管性腎症の発現と相関していた。雄では75及び150mg/kg体重/日を投与した群において、絶対及び相対精巣重量が無処置対照群に比して10%低かった。別の、より低用量で行った3ヶ月試験では、処置によると考えられる影響は最高用量群(6.25mg/kg体重/日)においても認められなかった。よって、尿細管性腎症に関するNOELは6.25mg/kg体重/日と結論した。

ダノフロキサシン脱メチル化体のラットに対する経胎盤及び授乳期暴露を母動物に0、1、2.5及び6.25mg/kg体重/日を投与する形で行った。さらに離乳後3ヶ月間、同量を経口投与した。いずれの用量においても有害作用は観察されなかった。

6ヶ月令の犬に0、5、10及び25mg/kg体重/日のダノフロキサシンをゼラチンカプセルの形で3ヶ月間経口投与した。10及び25mg/kg体重/日投与群で関節痛の兆候が認められた。病理学的検査では全ての投与群において、軟骨剥離と糜爛といった関節症の所見が観察され、その重篤度は投与量に相関していた。別の3ヶ月試験では、5ヶ月令のイヌに0、1及び2.4mg/kg体重/日のダノフロキサシンをゼラチンカプセルの形で経口投与した。その結果、関節症その他、いかなる処置に関連する影響も観察されなかった。以上2試験に基づき、イヌにおける関節症のNOELは2.4mg/kg体重/日と結論した。

さらに4から6ヶ月令のイヌに0、2.5、5及び10mg/kg体重/日のダノフロキサシン脱メチル化体をゼラチンカプセルの形で3ヶ月間投与する試験を行った。最高量を投与された雄3例のうち1例と、最低量を投与した雌3例のうち1例で痛みの兆候が見られた。雄では、関節1ヶ所で軟骨に形態的变化が観察された。また、ダノフロキサシン脱メチル化体を0、0.25、0.5mg/kg体重/日投与する試験を繰り返し行った。0.5mg/kg体重/日を投与された雄3例のうち1例に、右膝にキノロン誘発による関節症の典型的な組織病理学的変化がみられた。関節症に関するダノフロキサシン脱メチル化体のNOELは0.25mg/kg体重/日であった。

③長期/発がん性試験

ICR系マウスを用いた2年間混餌投与試験(10、50、100mg/kg体重/日)において、死亡率、体重、摂餌量および血液学的検査のパラメータに用量依存的な影響は認められなかった。また、発がん性を示す徴候も認められなかった。

Long-Evans系ラットを用いた2年間経口投与試験(10、50、100mg/kg体重/日)において、投与終了時では100mg/kg群の雄で平均白血球数及び好中球数の有意な減少、この群の雌では平均ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及びリンパ球数の減少が認められた。雄では、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)及びソルビトールデヒドロゲナーゼ値の有意な上昇、平均グロブリン値の低下及びそれに伴うA/G比の上昇が認められた。ソルビトールデヒドロゲナーゼ値の上昇は50mg/kg群の雄でも認められたが、雌では血液学的検査値に対する影響は認められなかった。尿検査値に投与に関連した変化はみられなかった。100mg/kg群で精巣の対体重平均相対重量が有意に減少したが、絶対臓器重量に有意な変化は認められなかった。肉眼病理検査で、薬物投与群において盲腸肥大の発生率が増加したが、これに関連した病理組織学的所見は認められなかった。病理組織学的検査では、腎乳頭浮腫、精子低形成、精巣上体内容物の異常が100mg/kg群に認められた。

薬物投与群の雌に、子宮および膣顆粒細胞腫の発生率の有意な増加が見られたが、多重比較補正すると有意差は認められなかった。顆粒細胞小増殖巣と腫瘍を合わせた場合の発生率には群間に有意な差は認められなかった。雌の下垂体腺腫の発生率に有意な増加傾向がみられたが多重比較補正した場合には有意差は認められなかった。また、下垂体腺腫の発生率は背景頻度の範囲内であった。

④遺伝毒性試験

(ダノフロキサシン)

細菌を用いる復帰突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験、マウスリンフォーマ TK 試験、チャイニーズハムスター細胞株を用いた前進突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験及びマウスを用いる小核試験が行われており、*in vitro* 染色体異常試験以外はすべて陰性の結果であった。*in vivo* で染色体異常誘発性を検討する小核試験が陰性であり、*in vitro* で認められた染色体異常誘発性が生体内で発現する可能性は低いものと考えられる。

(ダノフロキサシン脱メチル化体)

細菌を用いる復帰突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた UDS 試験及びマウスリンフォーマ TK 試験が、また *in vivo* 試験としてラット肝を用いる UDS 試験及びげっ歯類を用いる小核試験が行われており、*in vitro* での UDS 試験のみ陽性で有り、それ以外は陰性の結果であった。しかし、十分高用量まで検討された *in vivo* UDS 試験の結果は陰性であり、脱メチル化体に関しても生体にとって特段問題とするものではないものと考えられる。

⑤生殖毒性試験

Long-Evans 系ラットを用いた 2 世代生殖毒性試験 (0、25、75、150mg/kg 体重/日：経口投与) において、150mg/kg 群の母動物は妊娠期間中に他の群と比較して体重増加量が低下し、着床数および出生児数が減少した。新生児の体重は出生時および哺育期間を通して有意に低下した。同様の影響が、F₁ 動物の 1 回目の交配時にもみられ、2 回目の交配時にはさらに顕著で、全薬物投与群で妊娠率に悪影響が認められた。薬物投与群の F_{2b} 動物の体重は用量依存的な減少を示した。

3 世代生殖毒性試験 (0、1、2.5、6.25、150mg/kg 体重/日：雄は雌雄同居 (1 : 1) の 9 週間前、雌は 2 週間前から経口投与を開始して妊娠期間、分娩および F₁ 動物の離乳まで投与を継続。その後、F₁ 世代の動物は F_{2b} 動物の離乳まで、F_{2b} 世代の動物は F₃ 動物の離乳まで投与を続けた。) において、親動物の生存率、体重増加量、摂餌量および一般状態に薬物投与の影響はみられなかった。150mg/kg 群の親動物の交尾率と妊娠率は低下し、妊娠期間は延長した。150mg/kg 群では、その他に同腹児数の減少、出生児体重の減少、新生児の体重増加量の低下、および 4 日生存数の低下がみられた。NOEL は 6.25mg/kg 体重/日であった。

ダノフロキサシンの代わりにダノフロキサシン脱メチル化体 (0、1、2.5、6.25mg/kg 体重/日) を用いて上記と全く同じ方法で試験を実施したが、親動物と児動物に薬物投与の影響は認められなかった。

⑥催奇形性試験

ICR マウスを用いた催奇形性試験 (0、50、100、200mg/kg 体重/日：妊娠 6 ~13 日の間、経口投与、妊娠 18 日に屠殺) において、200mg/kg の用量の連続投与終了 5 時間後の羊水中ダノフロキサシンの濃度は、血漿中濃度と同等で

あったが、胎児ホモジネート中の濃度は母動物の血漿中濃度の 2～3 倍であった。200mg/kg 群では母動物の 1 例に妊娠 7～10 日に立毛および虚脱がみられたほか、投与期間中、母動物の平均体重増加量が有意に低下した。胚吸収率、胎児死亡率ならびに性比に薬物投与の影響は認められなかったが、200mg/kg 群では、胎児の平均重量が雌雄とも有意に低下し、骨化遅延が増加した。催奇形性の徴候は認められなかった。母体毒性および胎児毒性から判断して、NOEL は 100mg/kg 体重/日であった。

SD ラットを用いた催奇形性試験 (0、50、100、200mg/kg 体重/日：妊娠 6～15 日の間、経口投与、妊娠 20 日に屠殺) において、200mg/kg の用量の連続投与終了 5 時間後の羊水中ダノフロキサシンの濃度は、血漿中濃度と同等であったが、胎児ホモジネート中の濃度は母動物の血漿中濃度の約 3 倍であった。100 及び 200mg/kg 群で母動物の体重増加量は用量依存的に減少し、平均胎児重量も有意に減少を示した。100、200mg/kg 群で胎児の骨化遅延および脳室拡張が有意に増加した。母体毒性および胎児毒性から判断して、NOEL は 50mg/kg 体重/日であった。

New Zealand white 系ウサギを用いた催奇形性試験 (0、2.5、7.5、15mg/kg 体重/日：妊娠 6～20 日の間、経口投与、妊娠 28 日に屠殺) において、15mg/kg 群の母動物 11 例が体重及び摂餌量の減少を示し、妊娠 22～28 日に胎児を流産した。15mg/kg 群の生存胎児が得られた母動物の平均摂餌量は妊娠 13～20 日に有意に減少した。同腹児数、性比、胎児重量、および奇形または変異の発現率に薬物投与の影響は認められなかった。母体毒性から判断して、NOEL は 7.5mg/kg 体重/日であった。

⑦特殊試験

遅延型接触過敏症に関する特殊試験

モルモットを用いた Buehler 閉塞パッチ法試験で、既知の感作性物質ジニトロクロロベンゼンは遅延接触過剰感作性陽性を示したが、メシル酸ダノフロキサシンは陰性であった。

微生物学的影響に関する特殊試験

ダノフロキサシンの抗菌作用を、人腸内嫌気性微生物叢の分離菌について MIC₅₀ を調べた。人における消化管内優勢細菌叢の中で MIC₅₀ 値が最低であったのは *Eubacterium* spp. 及び *Peptostreptococcus* spp. の 0.5μg/ml であった。

人における所見

ダノフロキサシンは人への使用は認められておらず、情報は得られていない。

4) ADI の設定

以上の試験成績から、以下のように ADI が算定される。

ダノフロキサシンはフルオロキノロン系に属し、グラム陰性好気性菌に抗菌作用を示す。微生物学的試験から求めた MIC₅₀ を用いて以下のように ADI を算出した。

$$\begin{array}{l} \text{微生物学的} \\ \text{ADI} \end{array} = \frac{0.5 \mu\text{g/g}^{\text{a}} \times 220 \text{ g}}{0.1^{\text{b}} \times 1^{\text{c}} \times 60 \text{ kg}} = 18 \mu\text{g/kg 体重}$$

- a 人の消化管内優勢細菌叢で最も感受性の高い菌属である、*Eubacterium* spp. 及び *Peptostreptococcus* spp. の MIC₅₀ 値を採用した。
- b 5mg/kg 体重/日を経口投与した豚での試験に基づいて、生物学的利用能は約 90%とした。
- c 関連する多くの微生物学的データが得られていることから安全係数として 1 を用いた。

一方、毒性試験では、反復毒性及び長期/発がん性試験の結果を比較した結果、未成熟犬を用いた 3 ヶ月投与試験において最も低い用量で関節症がみられ、この所見が最も感受性が高い毒性指標であると考えられた。従って、これに基づく最低の NOEL は 2.4mg/kg 体重/日であり、安全係数 100 を考慮して、ADI は 24μg/kg 体重/日となり、これよりも微生物学的 ADI の方が低いため、ダノフロキサシンの ADI を 18μg/kg 体重/日と設定した。

ダノフロキサシン脱メチル化体の NOEL を 0.25mg/kg 体重/日としたが、薬物動態試験および代謝試験の結果から、ダノフロキサシンの経口投与を受けた場合、その主な代謝物であるダノフロキサシン脱メチル化体にも同時に暴露されており、ダノフロキサシン脱メチル化体について別に ADI を設定する必要はないものとした。しかし残留基準値の検討及び理論最大摂取量の計算にあたっては、この代謝物の毒性が約 10 倍であるということを考慮した。

(3) 残留基準値の設定について

残留基準値については、国際基準と同様に設定しても、日本人 1 日あたりの肉の平均摂取量（厚生労働省国民栄養調査成績）から試算される理論最大摂取量は（2）の 4）で得られた ADI を越えないことから、以下のとおりとする。

肉（牛・鶏）	0.20	ppm
肝臓（牛・鶏）	0.40	ppm
腎臓（牛・鶏）	0.40	ppm
脂肪（牛）	0.10	ppm
脂肪/皮（鶏）	0.10	ppm
豚肉	0.10	ppm
豚肝臓	0.05	ppm
豚腎臓	0.20	ppm
豚脂肪	0.10	ppm

（ダノフロキサシンとして）

理論最大摂取量の試算

動物毎の残留データから最大残留量を試算すると以下のとおりとなる。

Df: ダノフロキサシン、Des: ダノフロキサシン脱メチル化体 UR: その他の代謝物

動物種・部位	残留基準値	Des(mg/kg)		UR(mg/kg)		合計(mg/kg)
	Df(mg/kg)		Df 当量		Df 当量	Df 当量として
牛—肉	0.20	0	0	0	0	0.2
脂肪	0.10	0	0	0	0	0.1
肝臓	0.40	0.4	4.0	0.8	0.8	5.2
腎臓	0.40	0	0	0.4	0.4	0.8
豚—肉	0.10	0	0	0.15	0.15	0.25
脂肪	0.10	0	0	0	0	0.1
肝臓	0.05	0.45	4.5	0	0	4.55
腎臓	0.20	0	0	0.6	0.6	0.8
鶏—肉	0.20	0	0	0.02	0.02	0.22
脂肪	0.10	0	0	0	0	0.1
肝臓	0.40	0.12	1.2	0.28	0.28	1.88
腎臓	0.40	0	0	0	0	0.4

- ①全ての食肉を最大残留量が最も多い牛の肝臓（基準値：0.40ppm、最大残留量：5.2ppm(ダノフロキサシン当量として)) で摂取した場合を仮定すると、食肉からの摂取量は、

$$5.2 \times 78.2g \div 1000 = 0.407mg$$

と算出でき、これがダノフロキサシンに換算した理論最大摂取量となる。

- ②ADI (18 μ g/kg 体重/日) 比は、(体重 50kg とする)

$$0.407mg \times 1000 \div (18\mu g/kg \times 50) \times 100 = 45.2\%$$

ADI 比 45.2%

78.2g：平成 12 年国民栄養調査結果による肉類の摂取量

小児（1～6 歳）の理論最大摂取量の試算

- ①全ての食肉を最大残留量が最も多い牛の肝臓（基準値：0.40ppm、最大残留量：5.2ppm(ダノフロキサシン当量として)) で摂取した場合を仮定すると、食肉からの摂取量は、

$$5.2 \times 51.7g \div 1000 = 0.27mg$$

②ADI (18μg/kg 体重/日) 比は、

$$0.27\text{mg} \times 1000 \div (18\mu\text{g/kg} \times 15.8\text{kg}) \times 100 = 94.9\%$$

ADI 比 94.9%*

15.8kg : 平成12年国民栄養調査結果による1～6歳の平均体重

51.7g : 平成12年国民栄養調査結果による1～6歳の肉類摂取量

*摂取している全ての食肉を残留量が最も多いウシの肝臓（基準値：0.40ppm、最大残留量：5.2ppm(ダノフロキサシン当量として)）で摂取した場合を仮定した ADI 比であり、全てブタの筋肉（基準値：0.10ppm、最大残留量：0.25ppm(ダノフロキサシン当量として)）で摂取したと仮定し算出すると、理論最大摂取量は 12.9μg となり、ADI 比は 4.5%となる。