

コリスチンの食品健康影響評価について(案)

食品安全委員会は、平成19年3月5日付厚生労働省発食安第0305025号により、コリスチンにおける食品中の残留基準の設定にかかる食品健康影響について意見を求められた。

コリスチンについては、硫酸コリスチンが(動物用医薬品及び)飼料添加物として用いられており、EMEA及びJECFAにおいても、主に硫酸コリスチンの試験データからコリスチンが評価されている。本評価書では、EMEAレポート(1995⁽⁴⁾、2002年⁽⁴⁾)及び、JECFAレポート(2006年)⁽⁴⁾の知見を中心に整理しながら、及びコリスチンを有効成分とする動物用医薬品に係る食品健康影響評価資料⁽⁴⁾などのを基に、入手可能な資料もふまえ、主に硫酸コリスチンの試験データからコリスチンの食品健康影響評価をおこなった。毒性に関する主な科学的な知見を整理したものである。

I. 1. 評価対象薬剤の概要⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾

1. 用途

飼料添加物 (硫酸コリスチン)

2. (1)有効成分の一般名—物質名

和名：コリスチン (Colistin)：コリスチン A 及び B を主成分)

英名：colistin

3. 分子式

コリスチン A : $C_{53}H_{100}N_{16}O_{13}$

コリスチン B : $C_{52}H_{98}N_{16}O_{13}$

(参考) 硫酸コリスチン A : $C_{53}H_{100}N_{16}O_{13} \cdot 2.5H_2SO_4$

硫酸コリスチン B : $C_{52}H_{98}N_{16}O_{13} \cdot 2.5H_2SO_4$

4. 分子量

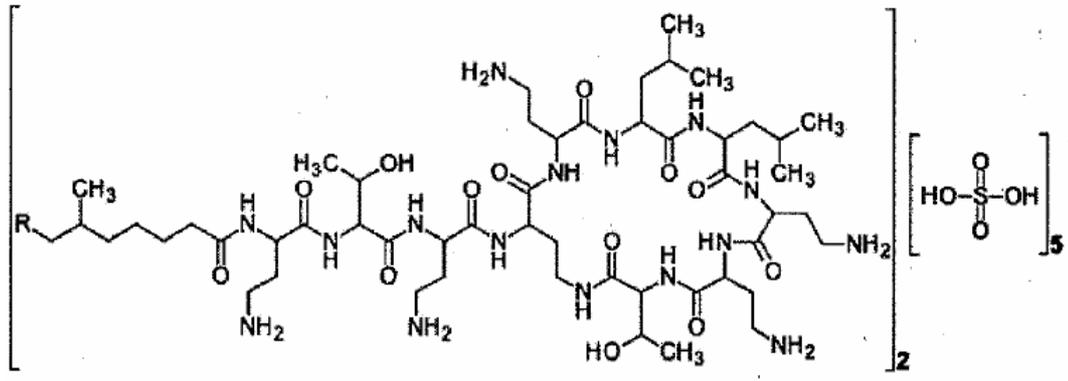
コリスチン A : 1169.47

コリスチン B : 1155.44

(参考) 硫酸コリスチン A : 1414.67

硫酸コリスチン B : 1400.64

5. (2) 構造式 (硫酸コリスチン)



1
2 硫酸コリスチン A : R = CH₃

3 硫酸コリスチン B : R = H

4
5 **(3) 分子式**

6 コリスチン A : C₅₃H₁₀₀N₁₆O₁₃

7 コリスチン B : C₅₂H₉₈N₁₆O₁₃

8 (参考) 硫酸コリスチン A : C₅₃H₁₀₀N₁₆O₁₃ · 2.5H₂SO₄

9 硫酸コリスチン B : C₅₂H₉₈N₁₆O₁₃ · 2.5H₂SO₄

10
11 **(4) 分子量**

12 コリスチン A : 1169.47

13 コリスチン B : 1155.44

14 (参考) 硫酸コリスチン A : 1414.67

15 硫酸コリスチン B : 1400.64

16
17 **(5) 性状**

18 白色または灰黄白色の粉末状

19
20 **(6) 溶解性**

21 メタノールに溶けにくく、水には極めて溶けにくい。エーテルにはほとんど溶けな
22 い。

23 (参考) 硫酸コリスチンは水に溶けやすく、アセトンまたはエーテルにほとんど溶
24 けない。

25
26 **6. (7) 使用目的及び使用状況等**

27 コリスチンは *Bacillus polymyxa* var. *colistinus* から分離されたポリミキシン群抗
28 生物質で、ポリミキシン E と同一であるとされており、コリスチン A 及びコリスチン

1 B の混合物である。~~いる。~~コリスチンはポリペプチド系抗生物質で菌細胞膜を破壊し
2 たり、酸化酵素代謝を阻害することにより、グラム陰性菌の発育を阻止する。コリス
3 チンに対する耐性はまれである。

4 欧州では、コリスチンはウサギ、豚、鶏、牛、羊及び山羊の *Salmonella* や *Escherichia*
5 *coli* などのコリスチンに感受性である細菌に起因する疾病の予防や治療に用いられて
6 いる。動物用医薬品では、通常、経口投与には硫酸塩が、非経口投与にはメタンスル
7 ホン酸塩が使用され、る。採卵鶏や、搾乳用の牛、羊及び山羊に対して使用され、飼
8 料や飲水、代用乳に混ぜて 100,000 IU コリスチン 3.33mg/kg 体重/日相当量が 5~10
9 日間投与されるほか、非経口投与及び乳房内投与も行われている有効である。誘導体
10 である硫酸コリスチンは飼料添加物に使用されている。(1)-1,2 (2)-1,3

11 ~~コリスチンやコリスチンと同一系統を有効成分とする製剤は、我が国においては、~~
12 硫酸コリスチンが動物用医薬品、飼料添加物及びヒト用医薬品として利用されている。
13 動物用医薬品としては、牛や豚の細菌性下痢症に対して効果があり、飼料及び飲水に
14 混じて経口投与される。飼料添加物としては、対象とする飼料や含有量などの基準が
15 省令により定められ使用されている。また、及びヒト用医薬品としては、コリスチン
16 の誘導体のナトリウム塩であるコリスチンメタンスルホン酸ナトリウムも利用使用さ
17 れている。及び欧州で動物に使用されているコリスチンメタンスルホン酸ナトリウム
18 は、コリスチン誘導体のナトリウム塩である。

19 なお、純粋なコリスチンの力価は 30,000 単位/mg であり、硫酸コリスチンの理論
20 的な力価は 24,000 単位/mg (硫酸コリスチン 1mg はコリスチン 800µg に相当) であ
21 る。(1)-3 (2)-4

22

23

24 **II. 安全性にかかる試験の概要**

25 コリスチンについては、硫酸コリスチンが (動物用医薬品及び) 飼料添加物として
26 用いられており、EMEA 及び JECFA においても、主に硫酸コリスチンの試験データ
27 からコリスチンが評価されている。本評価書では、EMEA レポート(1995⁽¹⁾、2002 年
28 ⁽²⁾)及び JECFA レポート (2006 年) ⁽³⁾の知見を中心に整理しながら、コリスチンを有
29 効成分とする動物用医薬品に係る食品健康影響評価資料⁽⁴⁾などの入手可能な資料もふ
30 まえ、主に硫酸コリスチンの試験データからコリスチンの食品健康影響評価をおこな
31 った。

32

33 **2. 毒性試験の概要**

34 **1. 2-1. 吸収・分布・代謝・排泄試験**

35 硫酸コリスチンは、経口投与後、ヒト、実験動物及び対象動物においてほとんど吸
36 収されずないとされており、通常、血漿中にも検出されなかった。ただし、6 ヶ月

1 齢未満の乳児の消化管から、ごく限られた量のコリスチン吸収が認められたという報
2 告がある。吸収率は筋肉内投与後の方がずっと高く、血漿中濃度のピークは投与後約
3 2 時間後に認められた。血中濃度は、硫酸コリスチンよりコリスチンメタンスルホ
4 ン酸ナトリウムの投与の方が血中濃度は高かった。実験動物では、コリスチンは血漿
5 蛋白と結合するが、結合の程度は用量が増加するに伴って低下した。硫酸コリスチン
6 のほうがコリスチンメタンスルホン酸ナトリウムより高かった。(1)-5 (2)-6

7 対象動物における薬物動態のデータによると、硫酸コリスチンは仔ウシ、ブタ及び
8 ウサギに経口投与してもほとんど吸収されず、通常、血清中濃度も検出限界以下未満
9 であった。ニワトリでは、飲水投与後 6 時間まで血清中での残留が検出された。一方、
10 仔ウシや乳牛に筋肉内または静脈内投与した場合、投与後 24 時間まで血清中にコリス
11 チンの残留が検出された。仔ウシでは、筋肉内投与後の生物学的利用率 生体利用効率
12 はほぼ 100%であった。雌のヒツジでは、筋肉注射後2 時間後にで最高血清中濃度
13 8~20µgug/mLを示した。(1)-18,19 (2)-20,21

14 イヌにおける研究では、微生物学的に対して不活性な代謝物が生じるとのデータが
15 報告されているが、コリスチンの代謝物としては同定されていない。コリスチンの非
16 経口投与後のコリスチンは尿中に排泄され、糞便中には残留物は見られなかった。で
17 は、尿中に排泄され、糞便中には認められなかったが、経口投与では糞便中に排泄さ
18 れた。ヒトにおける研究でもは、経口投与後のコリスチンは糞便中に排泄され、コリ
19 スチンが糞便中に結合していることが示唆された。(1)-6 (2)-7

20 経口投与後の仔ウシ、ブタ、ウサギ及びニワトリでは、における経口投与後の可食
21 組織におけるコリスチンのでの残留は、通常、検出限界以下未満であった。しかし、
22 これらの試験は、屠殺時点の供試動物やトリの数量が“Rules Governing Medicinal
23 Products in the European Community”第4巻の要求を満たしていなかった。ヒツ
24 ジやヤギに関する残留試験は実施されていない。(1)-20 また、仔ウシに静脈注射すると、
25 主に結合型残留物として、肝臓及び腎臓に最も残留が認められたが、注射部位の残留
26 に関する報告はない。(1)-21 (2)-23

27

28 (1)-【ウシ、ブタ、ニワトリ、七面鳥及びウサギにおける残留性試験】

29 ウシ、ブタ各 4 頭（雌雄 2 頭ずつ）、ニワトリ、七面鳥各 6 羽（雌雄 3 羽ずつ）及
30 びウサギ 12 匹（雌雄 6 匹ずつ）に対し、コリスチン 100,000IUcolistin3.33mg/kg
31 体重/日相当量（コリスチン 3.33mg に相当）を 1 日 2 回連続混餌投与（ウシ：代用
32 乳に混ぜて 7 日間、ブタ：7 日間、ニワトリ、七面鳥、ウサギ：5 日間）し、最終投
33 与 6 時間後に各組織のコリスチン濃度を HPLC（蛍光）で分析^aした。全ての可食組
34 織のコリスチン及び抗菌活性残留物の濃度は、それぞれ定量限界以下未満だった。

35 (2)-22,24,25,26,27

^a 定量限界：肝臓、筋及び脂肪付皮膚（ウシは脂肪）・75 µg/kg 腎臓・100 µg/kg

1
2 **(2)【ウシにおける残留性試験】**

3 仔ウシ 20 頭にコリスチン ~~114,000IUcolistin~~3.80mg/kg 体重/日相当量を連続 15 日
4 間代用乳に混ぜて投与し、投与後 ~~5~~ 日後まで経時的（雌雄各 2 頭の計 4 頭ずつ）に
5 各組織のコリスチン濃度を HPLC 及びバイオアッセイ試験で分析^bした。腎臓では、
6 における平均抗菌活性残留物濃度がは、投与後 2 時間、1、2、3 及び 5 日後で、
7 それぞれ 210µg/kg、98µg/kg、150µg/kg、定量限界 (100µg/kg) 以下未満及び 100µg/kg
8 以下定量限界未満であった。他の全ての可食組織におけるコリスチン及び抗菌活性
9 残留物の濃度もは、それぞれ定量限界以下未満だった。(2)-22

10
11 **(3)【ブタ、ニワトリ及びウサギにおける残留性試験】**

12 ブタ 20 頭、ニワトリ（ブロイラー）30 羽及びウサギ 30 匹にコリスチン
13 ~~114,000IUcolistin~~3.80mg/kg 体重/日相当量を連続 15 日間混餌投与し、投与後 5 日
14 後まで経時的（ブタ：雌雄各 2 頭、ニワトリ：雌雄各 3 羽、ウサギ：雌雄各 3 匹）
15 に各組織のコリスチン濃度を HPLC 及びバイオアッセイ試験で分析^dした。全ての
16 可食組織におけるコリスチン及び抗菌活性残留物の濃度は、それぞれ定量限界以下
17 未満だった。(2)-24,25,27

18
19 **(4)【ウシ及びヒツジにおける乳汁中残留性試験】**

20 乳牛（5 頭）に筋肉内投与した場合、投与後に搾乳された 2~6 回目の乳汁中に残留
21 物が検出された。乳房（5 頭）に直接注入した後の残留物は著しく多かったが、投与
22 後 7 回目の搾乳までには検出されなくなった。ヒツジでは、筋肉内投与後 2 時間で
23 乳汁中に最高濃度の 2µg/ml が認められ、乳汁中残留物の約 10%は結合物であった。
24 (1)-22 (2)-28

25
26 乳牛 10 頭（高生産搾乳前期 5 頭、低生産搾乳後期 5 頭）にアモキシシリン 10mg
27 とコリスチン ~~25,000IUcolistin~~0.83mg/kg 体重/日相当量を 5 日間連続筋肉内注射し、
28 12 時間おきに 1 日 2 回搾乳し、乳汁中のコリスチン濃度を HPLC（蛍光）で測定^cし
29 た。最初の注射後 ~~24~~ 時間後と最後の注射後 ~~24~~ 時間後における乳汁中の平均コリス
30 チン濃度は約 50µg/kg（30~109µg/kg）で、2、3 及び 4 回目の投与後の平均乳汁中
31 濃度は、それぞれ 13µg/kg（10 未満~33µg/kg）、8µg/kg（10 未満~16µg/kg）、10µg/kg
32 以下（10 未満~12µg/kg）であった。(2)-28

33
34 乳牛 8 頭（高生産搾乳前期 4 頭、低生産搾乳後期 4 頭）にコリスチン

^b 定量限界：肝臓、筋及び脂肪・75 µg/kg 腎臓・100 µg/kg

^c 定量限界：10 µg/kg

1 100,000IUcolistin3.33mg/kg 体重/日相当量を添加した飼料による 10 日間連続混餌
2 投与試験が実施され、12 時間おきに 1 日 2 回搾乳し、全乳中のコリスチン濃度と抗
3 菌性残留物を HPLC 及びバイオアッセイ試験で分析した^d。全乳中のコリスチン及び
4 抗菌活性残留物の濃度はいずれも定量限界以下未満であった。(2)-28

5 6 (5)【ニワトリの卵における残留試験】

7 硫酸コリスチンを飲水投与されたニワトリの卵における残留は検出限界未満以下
8 であった。筋肉内注射の場合、卵には投与後 8 日後まで顕著な残留が認められた。(1)-23
9 (2)-29

10 20羽の産卵鶏にコリスチン 114,000IUcolistin3.80mg/kg 体重/日相当量を添加した
11 飼料による 15 日間連続混餌投与試験が実施され、全卵（黄身+白身）を HPLC 及び
12 バイオアッセイ試験で分析した（定量限界：150µg/kg）。採集された卵におけるコリ
13 スチン及び抗菌活性残留物の濃度は、投与中、投与前及び投与後-1、3、5、7 及び
14 10 日後において、いずれも定量限界以下未満であった。(2)-29

15 16 2-2.毒性試験

17 2. (1)急性毒性試験

18 EMEA では、以下の知見が記載されている。

19 硫酸コリスチンについては、経口投与による急性毒性は中程度から低めだったが、
20 非経口投与による急性毒性はそれより高い傾向であった。LD₅₀ は、試験に用いた硫
21 酸コリスチンの力価や純度の影響で多様な値となり、経口投与による急性 LD₅₀ は
22 452~1,366mg/kg 体重であった。(1)-7 (2)-8

23 24 (1)【マウスを用いた急性毒性試験】

25 マウス（ddY-N 系、雌雄）雌雄に硫酸コリスチン (505mg 力価/g) を経口
26 (756~2,313mg/kg 体重) 及びまたは腹腔内 (15.2~53.2mg/kg 体重) 投与する単回
27 投与試験が実施された。経口投与でのによる LD₅₀ は (95%信頼限界) は、雌雄それ
28 ぞれ雌では 1,284mg/kg 体重 (1,145~1,440-コリスチン 648mg/kg 体重相当量)、雄
29 では 1,366mg/kg 体重 (1238~1507:95%信頼限界コリスチン 690mg/kg 体重相当量)
30 であった。—腹腔内投与でのによる LD₅₀ は (95%信頼限界) は、雌雄それぞれ雌で
31 は 32mg/kg 体重 (29~35-コリスチン 16mg/kg 体重相当量)、雄では 33mg/kg 体重
32 (31~36-コリスチン 17mg/kg 体重相当量÷95%信頼限界) であった。両投与経路に
33 おいて、死亡例は投与後 3 時間以内に集中していた。④ 急性③

34 35 3. (2)亜急性毒性試験

^d 定量限界：いずれも 25 µg/kg

1 (1) 【ラットを用いた 35 日間亜急性毒性試験】

2 ラット (SD-JCL 系、5 週齢、雌雄各 10 匹/群) に 35 日間の硫酸コリスチン (19,000
3 単位/mg) の強制経口投与試験 (0、75、150、300、600mg/kg 体重/日、それぞれコ
4 リスチン 0、47.5、95、190、380mg/kg 体重/日相当量) が実施された。

5 死亡の発生は 300mg/kg 体重/日 (コリスチン 190mg/kg 体重/日相当量) 以上投与
6 群で認められた。一般状態観察においては、300mg 以上投与群で自発運動の減少、
7 鎮静、呼吸抑制、~~及び運動失調等~~の中毒症状が認められたが、150mg/kg 体重/日 (コ
8 リスチン 95mg/kg 体重/日相当量) 以下投与群では、軽度の自発運動の減少及び鎮静
9 状態が認められる程度であった。体重増加量、~~摂餌量飼料摂取量、末梢血液学的所見、~~
10 血液生化学的所見、~~及び尿所見~~には、硫酸コリスチン投与の影響は投与群と対照群と
11 の有意差は認められなかった。病理組織学的所見では、死亡例で肺、肝臓、腎臓のう
12 ゝ血が認められた以外、投与に関連すると思われる変化は認められなかった。⁽⁴⁾ 慢
13 性・亜急性⑥

15 (2) 【ラットを用いた 90 日間間亜急性毒性試験】

16 ラット (Wistar 系、5 週齢、雌雄各 15 匹/群) に 90 日間の硫酸コリスチン (16,000
17 単位/mg) の強制経口投与試験 (コリスチン 0、10、25、63、156mg 力価/kg 体重/
18 日相当量) が実施された。各群雌雄各 15 匹については、投与試験終了後 30 日間無
19 投与で飼育し、休薬による回復性が観察されている (投与期間中に死亡した 5 個体
20 を除く)。

21 死亡の発生は 156mg/kg 体重/日投与群雄で 5 例認められた。一般状態観察におい
22 ては、156mg/kg 体重/日投与群で腹臥姿勢、鎮静、流涙、軽度のチアノーゼ等がみ
23 られ、同群雄で体重増加抑制及び尿量減少が認められた。血液検査所見においては、
24 156mg/kg 体重/日投与群で GPT (グルタミン酸ピルビン酸トランスアミラーゼ)、~~及~~
25 ~~び~~ GOT (グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミラーゼ) の軽度の上昇、同群雄に
26 白血球数、~~及び~~ BUN (尿素体窒素)、~~NPN~~ の上昇、~~及び~~同群雌にコレステロールの
27 軽度の低下が認められた。尿検査においては、156mg/kg 体重/日投与群雄で、尿タ
28 ンパクの上昇が認められた。病理学的検査においては、63mg/kg 体重/日以上投与群
29 では盲腸重量の増加が認められ、156mg/kg 体重/日投与群では胃の腺胃部に炎症細
30 胞の浸潤及び粘膜剥離などの胃障害と尿細管上皮の変性及び尿細管拡張などの腎障
31 害が認められた。(盲腸の重量の増加は、病理組織学的変化はなく、腸内細菌叢の変
32 動による二次的な影響と考えられた。)

33 この実験から、NOAEL は 63.0mg 力価/kg 体重/日とされた。⁽⁴⁾ 慢性・亜急性⑤

35 ラット (SD-JCL 系、5 週齢、雌雄各 10 匹/群) に 3 ヶ月間 (日曜日を除く) の硫
36 酸コリスチン (19,000 単位/mg) の強制経口投与試験 (0、24、60、150mg/kg 体重

1 /日、それぞれコリスチン 0、15.2、38、95mg/kg 体重/日相当量) が実施されたてい
2 る。

3 死亡の発生は、60 及び 150mg/kg 体重/日投与群で用量相関的に認められた。一般
4 状態観察においては、60 及び 150mg/kg 体重/日投与群で、自発運動の減少、鎮静、
5 呼吸抑制等の中毒症状を呈した。また、体重増加量及び摂餌量飼料摂取量、末梢血液
6 所見、血液生化学的所見及び尿所見及び病理組織学的所見については、硫酸コリスチ
7 ン投与の影響と見られる差は認められなかった。(4) 慢性・亜急性⑦

8
9 ラット (系統、匹数等不明) を用いた 90 日間亜急性毒性試験の文献によると、硫
10 酸コリスチンの経口投与量コリスチン 6.67、20、60mg/kg 体重/日相当量の硫酸コリ
11 スチンをまで経口投与してもは顕著な影響は認められなかった。が、コリスチンメタ
12 ンスルホン酸ナトリウムを毎日 0.83~7.5mg/kg 体重/日の用量で筋肉内注射すると、
13 用量相関的な腎臓毒性が認められたとされている。(2)-10(3)

15 (3)-【ラットを用いた 26 週間亜急性毒性試験】-

16 ~~Wistar~~系ラット (Wistar 系) を用いた硫酸コリスチンの混餌 (0、40、200、
17 1,000ppm~~mg/kg~~) 投与による 26 週間亜急性毒性試験が実施された。最高濃度
18 ~~(1,000ppm~~mg/kg~~)~~投与群においては臓器組織重量にやや変化が認められたが、そ
19 れに対応する病理学的変化は認められなかった。NOEL は 200ppm の混餌投与群の
20 データから、12.5mg/kg 体重/日とされたてい~~る~~。(1)-8 (2)-9

21
22 ラット (Wistar 系、5 週齢、♂♀雌雄各 25 匹/群) を用いた硫酸コリスチン原末 (505mg
23 力価/g) の 26 週間の硫酸コリスチン混餌投与試験 (0、40、200、1,000ppm、コリ
24 スチン 0、20.2、101、505ppm 相当量) 投与による 26 週間毒性試験が実施された
25 が、体重増加量、摂餌量飼料摂取量、解剖所見、血液形態学的所見、血液生化学的所
26 見、尿所見及び病理組織所見に硫酸コリスチン由来と考えられる異常は認められな
27 かったてい~~ない~~。(4) 慢性・亜急性⑧

28 JECFA においても、同様な試験内容及び結果が記載されており、NOEL は、最高
29 用量である 1,000ppm の混餌投与群のデータから、50.5mg/kg 体重/日と評価されて
30 いる。(3)

31
32 ~~ラット (系統、匹数等不明) を用いた硫酸コリスチン (505mg 力価/g) の混餌 (0、~~
33 ~~40、200、1,000ppm、コリスチンベースで 0、20.2、101、505ppm に相当) 投与に~~
34 ~~よる 26 週間亜急性毒性試験が実施された。投与に関係して、毒性学的に有意な変化~~
35 ~~は認められなかったことから、NOEL は、最高用量である 505ppm の混餌投与群の~~
36 ~~データから、コリスチンベースで 50.5mg/kg 体重/日とされた。(3)~~

1
2 ラット (Sprague-Dawley) を用いた硫酸コリスチンの混餌 (0、2、40、120mg/kg
3 体重/日相当) 投与による 26 週間亜急性毒性試験が実施された。最高量である
4 120mg/kg 体重の投与群で臓器組織重量にやや変化が認められたが、それに対応する
5 病理学的変化は認められなかった。NOEL は 40.0mg/kg 体重/日とされた。(2)・10

7 (4) 【イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験】

8 イヌ (系統、匹数等不明) を用いた硫酸コリスチンの経口 (コリスチン 6.67、20、
9 60mg/kg 体重/日相当量) 投与による 90 日間亜急性毒性試験の文献ではによると、
10 一般行動、成長率、血液検査や生化学的検査、尿検査の値には目立った変化は認めら
11 れず、肉眼的、及び病理学的組織変化について、悪影響は全く認められなかったと
12 されている。しかし、実験の詳細が不十分だとして NOEL は設定されていない。(2)・11(3)

14 4. (3) 慢性毒性試験/発がん性試験

15 EMEA では、慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていないが、変異原性試
16 験で陰性の結果が得られていること、硫酸コリスチンの化学構造で注意が必要な構造
17 的特性がないことから、その必要はないと判断されている。(1)・13 (2)・14

18 また、JECFA でも、コリスチンにおいて、発がん性を含む長期の毒性試験は報告
19 されていないが、顕著な遺伝毒性の活性がないこと、既知の発がん性物質と化学的に
20 関連性がないこと等から、発がん性のリスクとしては位置付けられないと判断してい
21 る。(3)

23 5. (4) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験

24 多世代毒性試験は実施されていないが、繁殖毒性及び催奇形性の併合試験、催奇形
25 性及び周産期及び産後の仔の発達を調べる併合試験が実施されており、すべての必要
26 なエンドポイントは検討されている。繁殖毒性試験は毒性の低いコリスチンメタン
27 スルホン酸ナトリウムでいくつか実施されているが、その薬物動態は硫酸コリスチンと
28 は異なるため、これらの試験から、硫酸コリスチンの NOEL を推定することはでき
29 なかった。しかし、コリスチンがラット及びマウスの雌雄どちらの繁殖性にも影響を
30 及ぼさないと結論付けることは可能であった。さらに、コリスチンは、ラット、ウサ
31 ギ及びマウスにおいて催奇形性を示さなかった。

32 ラット (系統、匹数等不明) を用いた硫酸コリスチンの試験から得られた胎仔毒性
33 及び催奇形性の NOEL は、最高投与量の 130mg/kg 体重/日より大きな値となった。
34 また、ラット (系統、匹数等不明) を用いたコリスチンメタンズルホン酸ナトリウム
35 の非経口投与試験では、25mg/kg 体重/日投与群において、胎仔毒性 (骨化遅延) 及
36 び生存胎仔数の減少が認められ、この試験から、NOEL は 12.5mg/kg 体重/日とされ

1 た。(1)-11(2)-12

2

3 **(1)【ラットを用いた催奇形性試験】**

4 ラット (Wistar 系、20 匹/群) ~~80 匹に~~を用い、妊娠後 7~17 日まで毎日 1 回、硫酸
5 コリスチン (670mg 力価/g) を強制経口投与 (コリスチン 0、2.6、65、130mg/kg
6 体重/日相当量) 投与した場合の催奇形性試験が実施された。について検討されてい
7 る。

8 胎仔器官形成期のラットに対して、どの投与群においても供用母ラットの体重増加
9 率、~~摂餌量飼料摂取量~~、健康状態等に異常は認められず、硫酸コリスチン投与に由来
10 すると考えられる~~思われる~~黄体数、着床率、胎仔死亡率及び胎児の内臓諸器官への影
11 響等も認められなかった。また、胎仔骨格検査において~~でも~~、は、指骨基節骨数が対
12 照群に比して増加する傾向を示した以外、異常は認められなかった。(4) 特殊⑪ 認
13 められた頸肋骨や腰肋骨の発現、胸骨、頸椎の骨化遅延に対照群との有意差は認めら
14 れていない。

15 JECFA においても、同様な試験内容及び結果が記載されており、NOEL は、最高
16 用量の 130mg /kg 体重/日とされた。(3)

17

18 **6. (5) 遺伝毒性試験**

19 EMEA では以下の知見が記載されている。

20 硫酸コリスチンは、*in vitro*における細菌を用いた遺伝子突然変異試験及び哺乳類
21 細胞での遺伝子変異試験だけでなく、*in vivo*における小核試験でも、変異原性は認
22 められなかった。(1)-12(2)-13

23 **【変異原性に関する各種試験の結果一覧】**

24 また、遺伝毒性に関する *in vitro* 試験の結果を次表にまとめた。

25 *in vitro* 試験(4) 特殊⑫⑬

試験系	試験対象	用量	結果
復帰突然変異試験 ※1 (硫酸コリスチン： 652mg 力価/g)	<i>Salmonella</i> Typhimurium_TA100、 TA1535	0.05~1.0µg/plate (-S9)	陰性
	<i>Escherichia coli</i> WP2uvrA	0.05~5.0µg/plate (-S9)	陰性
	<i>S.Typhimurium</i> _TA100、 TA1535	0.05~1.0µg/plate (+S9)	陰性
	<i>E.coli</i> _WP2uvrA	0.05~10.0µg/plate (+S9)	陰性

	<i>S.Typhimurium</i> TA98、 TA1537、 TA1538	0.05～5.0µg/plate (+/-±S9)	陰性
復帰突然変異試験 (spot 法) ※2	<i>S.Typhimurium</i> TA1535、 TA1536、 TA1537、 TA1538、 TA98、 TA100、 <i>E.coli</i> B/r WP2 try、 WP2try'her	100～10,000µg/mL	陰性
	<i>S.Typhimurium</i> TA1535、 TA1538、 TA98、 TA100	1.25～25.0µg/mL (-S9)	陰性
	<i>S.Typhimurium</i> TA1538、 TA98、 TA100	1.25～25.0µg/mL (+S9)	陰性
	<i>S.Typhimurium</i> TA1535	1.25、 5.0～ 25.0µg/mL (+S9)	陰性
	<i>S.Typhimurium</i> TA1535	2.5µg/mL (+S9)	陽性 (極めて 弱いも の)

- 1 ※1 試験には、硫酸コリスチン (652µg 力価/mg) を使用した。記載された用量を
2 超えると菌の発育阻害が起こり、高用量添加領域では試験が実施できなかった。
3 ※2 試験には、硫酸コリスチン原末 (525 及び 505µg 力価/mg) を使用した。

4

5 7. (6)微生物学的影響に関する特殊試験

6 (1) ①*E. coli*に対する最小発育阻止濃度

7 EMEA では、硫酸コリスチンを用いた *in vitro* における MIC の試験から、グラ
8 ム陽性菌と及び *Proteus* spp.は硫酸コリスチンに対して感受性がを示さなかつた
9 が、ないことが示された。ヒトの腸内細菌叢に最も関連のある *E.coli* が最も感受性
10 を示し、*in vitro* の MIC₅₀ はが 0.10µg/mL であったと報告している。(1)-15(2)-16

11 また、JECFA では、硫酸コリスチンを用いた *in vitro* における *E.coli* の MIC₅₀ は、
12 ある試験では 0.1µg/mL、別の包括的な試験では 1.0µg/mL であったと報告している。

13 ③

14

15 (2) ②ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度

1 ヒト 6 人に対し、硫酸コリスチンコリスチン 0.450mg に相当する硫酸コリスチン
 2 を用いたの 3 日間連続経口投与試験が実施され、試験前後の糞便中の腸内細菌が調
 3 査された。*Proteus mirabilis* が試験中持続して観察された 1 人の被験者を除いて、
 4 試験開始後 24~48 時間で、全ての被験者の腸内細菌は除菌された。6 人全ての被験
 5 者において、試験終了後にコリスチン感受性の腸内細菌が徐々に再定着した。
 6 *Proteus* 保菌者を除いた全ての被験者において、試験中にコリスチン耐性菌は再定着
 7 しなかった。レンサ球菌群、ブドウ球菌群、酵母及び嫌気性菌は、投与による著しい
 8 影響を受けなかった。しかし、この試験には限界があり、試験結果を基に微生物学的
 9 ADI を設定するのは適切ではないと考えられた。 (1)-16(2)-17(3)

10
 11 **(3) ③臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)**

12 平成 18 年度食品安全確保総合調査の「動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査(平
 13 成 18 年 9 月～平成 19 年 3 月実施)」において、硫酸コリスチンを用いた試験により、
 14 ヒト臨床分離株等に対するコリスチンの約 5×10⁶CFU/spot における MIC が調べら
 15 れている。調査された菌種のうち、最も低い MIC₅₀ が報告されているのは、
 16 *Fusobacterium species* の 0.5µg/mL であった。
 17

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (µg/mL)	
		Colistin	
		MIC ₅₀	範囲
通性嫌気性菌			
<i>E.coli</i>	30	4	4 ~ 8
<i>Enterococcus species</i>	30	>128	>128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides species</i>	30	>128	64 ~ >128
<i>Fusobacterium species</i>	20	0.5	0.25 ~ 0.5
<i>Bifidobacterium species</i>	30	128	64 ~ >128
<i>Eubacterium species</i>	20	>128	>128
<i>Clostridium species</i>	30	>128	>128
<i>Peptococcus species / Peptostreptococcus species</i>	30	>128	>128
<i>Prevotella species</i>	20	4	0.5 ~ >128
<i>Lactobacillus species</i>	30	>128	≥ 128
<i>Propionibacterium species</i>	30	>128	≥ 128

18
 19 **8. (7)その他**

1 (1)【視覚器に及ぼす影響】

2 ラット、ウサギ、イヌに対し、コリスチンの誘導体であるコリスチンメタンスルホ
3 ン酸ナトリウムを投与した試験が報告されている。

4 ラット (Wistar 系、5 週齢の雄 7 匹/群) にコリスチンメタンスルホン酸ナトリウ
5 ム (12,000 単位/mg)—(0、25、40mg/kg)—を 1 日 1 回、35 日間 (日曜を除く) 尾静
6 脈内投与 (0、25、40mg/kg 体重/日、それぞれコリスチン 0、10、16mg/kg 体重/日
7 相当量) し、最終投与翌日に網膜電図 (ERG) を記録し、眼球の病理組織学的検査
8 が実施された。いずれの群においても死亡例は認められず、一般症状、体重増加及び
9 ERG の構成波にも影響は認められなかった。また、病理組織学的所見についても、
10 全群において全く異常は認められなかった。

11 ウサギ (日本白色種、5 ヶ月齢の雄 3 匹/群) にコリスチンメタンスルホン酸ナトリ
12 ム (12,000 単位/mg)—(0、80mg/kg)—を 1 日 1 回、35 日間 (日曜を除く) 耳介静
13 脈内投与 (0、80mg/kg 体重/日、それぞれコリスチン 0、32mg/kg 体重/日相当量)
14 し、眼底検査および病理組織学的検査が実施された。いずれの群においても死亡例は
15 認められず、一般症状及び体重増加に影響は認められなかった。眼底所見及び病理組
16 織学的所見にも特記すべき異常は認められなかった。

17 イヌ (beagle、10~18 ヶ月齢の雄 3 匹/群) にコリスチンメタンスルホン酸ナトリ
18 ム (12,000 単位/mg)—(0、80mg/kg)—を 1 日 1 回、35 日間 (日曜を除く) 静脈内
19 投与 (0、80mg/kg 体重/日、それぞれコリスチン 0、32mg/kg 体重/日相当量) し、
20 眼底所見が検討された。その結果、一般症状、体重増加及び眼底所見に投与の影響は
21 認められなかった。⁽⁴⁾ 特殊 2 2

23 (2)【神経に及ぼす影響等】

24 硫酸コリスチン 18mg/kg 体重を皮下投与したマウスの試験では、神経毒性は認め
25 られていない。ヒトでは、腎障害のある患者への過剰投与や投与量削減措置がうまく
26 いかなかった場合、神経毒性が認められる場合がある。

27 麻酔したイヌに対する硫酸コリスチン 0.5~6.5mg/kg 体重の静脈内投与では、用量
28 相関的な血圧の低下を生じさせた。正常な腎機能を有するヒトにおいて、通常の治
29 療用量を投与された場合の血圧への影響についての報告はない。^{(1)-4 (2)-5}

32 III. 3.——食品健康影響評価について

33 1. 毒性学的 ADI について【ADI の設定について】⁽¹⁾⁻¹⁴⁽²⁾⁻¹⁵⁽³⁾

34 EMEA 及び JECFA の評価では、ともにラットを用いた 26 週間亜急性毒性試験か
35 ら得られた NOEL 12.5mg/kg 体重/日及び 50.5mg/kg 体重/日から毒性学的 ADI を求
36 めている。毒性学的 ADI は、EMEA では安全係数として 200 (最新の試験基準に沿

1 ~~っていないことの2を追加)を適用し0.0625mg/kg体重/日、JECFAでは100を適~~
2 ~~用し0.500mg/kg体重/日としている。~~

3 EMEA及びJECFAは、硫酸コリスチンを用いた毒性試験から、コリスチンの毒
4 性学的ADIを算出している。EMEAでは、ラットを用いた26週間亜急性毒性試験
5 から得られたNOEL12.5mg/kg体重/日に対し、安全係数として200(最新の試験基
6 準に沿っていないため2を追加)を適用し、ADIの0.0625mg/kg体重/日が得られて
7 いる。JECFAでは、ラットを用いた26週間亜急性毒性試験から得られた50.5mg/kg
8 体重/日に安全係数として100を適用し、ADIの0.500mg/kg体重/日が得られている。

9 10 2. 微生物学的ADIについて

11 ~~一方、微生物学的ADIについて、はEMEA及びJECFAでは硫酸コリスチンの試~~
12 ~~験からコリスチンの微生物学的ADIを算出しされている。~~

13 EMEAではヒトの腸内細菌叢に最も関連のある*E.coli*で最も感受性が高かったあ
14 ったことから、MIC₅₀である0.1µg/mLからCVMPの算出式により、

$$15$$
$$16 \text{ ADI} = \frac{0.1 (\mu\text{g/mL})^{(A)} \times 10^{(B)} \times 150 (\text{g})^{(D)}}{1^{(C)} \times 0.5^{(E)} \times 60 (\text{kg})^{(F)}}$$
$$17$$
$$18$$
$$19$$
$$20 = 5 \mu\text{g} / \text{kg 体重/日} (0.005 \text{ mg/kg 体重/日})$$
$$21$$

22 (A) MIC₅₀の幾何平均

23 (B) *in vivo*と*in vitro*における生育状況の違いから

24 (C) 最も感受性を有する主要細菌のMIC₅₀であることから

25 (D) 通常の糞便量

26 (E) 微生物が利用可能な経口用量の分画

27 (F) ヒト体重

28 と算出されている。

29
30 JECFAでは微生物学的ADIを設定するのにMICのデータを用いるのが最も適当
31 であるとし、消化管内微生物に対するMIC₅₀として*E.coli*のMIC₅₀である1.0µg/g
32 からJECFAの算出式により、

$$33$$
$$34 \text{ ADI(上限値)} = \frac{\text{MIC}_{50} \times \text{MCC}}{\text{FA} \times \text{SF} \times \text{BW}}$$
$$35$$
$$36$$

$$= \frac{1.0 (\mu\text{g/g}) \times 220 (\text{g})}{0.5 \times 1 \times 60 (\text{kg})}$$

$$= 7 \mu\text{g/kg 体重} (0.007\text{mg/kg 体重/日})$$

MIC₅₀・・・最も感受性の高い菌種の50%最小発育阻止濃度：最も感受性の高かった腸内細菌 *E.coli* の最も感受性の高い菌の MIC₅₀ は *E.coli* のコリスチン濃度 1.0μg/mL (1μg/g) である。

MCC・・・結腸内容量：220g。47回会議で決定した値が算定に使用されている。

FA・・・微生物が利用可能な用量分画：微生物学的に活性な残留はコリスチンである。コリスチンはヒト及び実験動物の消化管からはほとんど吸収されないが、しかし、ヒト糞便中のコリスチン濃度は投与量とは一致しない。ヒト糞便中に排泄されたコリスチンの大部分は結合体であると考えられておりされている。したがって、消化管内微生物のに対する利用可能な用量分画は50%（算定式での値は0.5）。

SF・・・安全係数：安全係数の大きさは得られた微生物学的データの質及び量による。現状評価では、広範にわたる微生物学データが得られていれば、1とするのが適当である。

BW・・・体重：成人体重として60kgを適用。
と算出されている。

また、平成18年度食品安全確保総合調査の動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査における硫酸コリスチンの試験結果から、国際的コンセンサスが得られている手法^eからにより、コリスチンの微生物学的ADIを算出することができる。MIC calc^fに0.541μg/mL、結腸内容物に220g、細菌が暴露される分画に0.5、ヒト体重に60kgを適用し、VICH^gの算出式により

$$\text{ADI} = \frac{\text{MIC calc} (\mu\text{g/mL}) \times \text{結腸内容物 (220g)}}{\text{経口用量として生物学的に} \times \text{ヒト体重(60kg)}} \times \text{利用可能な比率}$$

^e国内の動物用医薬品の申請ガイドラインについても、平成18年3月よりVICHガイドラインが採用されている

^f試験薬に活性のある最も関連のある属の平均MIC₅₀の90%信頼限界の下限值

^g動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議

各試験における無作用量 (NOEL) 等の比較 (コリスチン)

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無作用量 (NOEL) または無毒性量 (NOAEL) (mg/kg 体重/日)		
			EMEA	JECFA	評価資料
ラット	35 日間 亜急性毒性試験	0、47.5、95、190、380 (硫酸コリスチン、経口)			— 190mg 以上投与群で死亡及び中毒症 状が認められた。95mg 以下投与群で は自発運動減少及び鎮静状態が認めら れる程度であった。
		90 日間 亜急性毒性試験	0、10、25、63、156 (硫酸コリスチン、経口)		63 (NOAEL 無毒性量) 156mg 投与群で、死亡、軽度のチアノ ーゼ、鎮静、体重増加抑制、胃障害等、 腎障害等が認められた。
		0、15.2、38、95 (硫酸コリスチン、経口)			15.2* 死亡、自発運動の減少、鎮静等
		6.67、20、60 (硫酸コリスチン、経口)	60* 影響は認められなかった。	60* 影響は認められなかった。	
	26 週間 亜急性毒性試験	0、2、40、120 (硫酸コリスチン、混餌)	40 (NOEL) 120mg 投与群で臓器重量の <u>に</u> 変化が 認められたが、病理学的な変化は認め られなかった。		
		0、40、200、1,000ppm (硫酸コリスチン、混餌)	12.5 (200ppm 投与群) (NOEL) 1,000ppm 投与群で組織臓器重量の <u>に</u> やや変化あり。		
		0、20.2、101、505ppm (硫酸コリスチン、混餌)		50.5 (505ppm 投与群) (NOEL) 毒性学的な影響は認められなかった。	— (505ppm 投与群) * 影響は認められなかった。
	繁殖毒性試験及び 催奇形性試験	0、2.6、65、130 (硫酸コリスチン、経口)		130 (NOEL) 最高投与量で有意な影響は認められなか	130* 影響は認められなかった。

				った。	
イヌ	90 日間 亜急性毒性試験	6.67、20、60 (硫酸コリスチン、経口)	— (実験の詳細が不十分として NOEL 設定せず) 影響は認められなかった。	— (実験の詳細が不十分として NOEL 設 定せず) 影響は認められなかった。	
毒性学的 ADI			0.0625 (ラット 26 週間亜急性毒性試 験、安全係数 200)	0.500 (ラット 26 週間亜急性毒性試験、 安全係数 100)	
微生物学的 ADI			0.005 (<i>E.coli</i> の MIC ₅₀ : 0.1µg/mL、 CVMP)	0.007 (<i>E.coli</i> の MIC ₅₀ : 1.0µg/mL)	0.004 (MIC calc : 0.541µg/mL、 VICH)
微生物学的 ADI 設定根拠資料					平成 18 年度食品安全確保総合調査
ADI					

※ EMEA 又は JECFA 等で、NOEL 又は NOAEL の判断はされていないが、影響が認められなかったと考えられる最高用量を記載した。