

(案)

動物用医薬品・飼料添加物評価書

コリスチン

2007年12月

**食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
食品安全委員会 肥料・飼料等専門調査会**

目次

	頁
審議の経緯	3
食品安全委員会委員名簿	3
食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	3
食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	3
要約	4
. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要	5
1 . 用途	5
2 . 有効成分の一般名	5
3 . 分子式	5
4 . 分子量	5
5 . 構造式	5
6 . 使用目的および使用状況等	5
. 安全性に係る試験の概要	6
1 . 吸収・分布・代謝・排泄	6
(1) 投与試験 (ウサギ、鶏、イヌ、豚、牛およびヒト)	6
(2) 残留試験 (牛、豚、鶏、七面鳥及びウサギ)	7
(3) 残留試験 (豚、鶏及びウサギ)	7
(4) 残留試験 (鶏)	7
(5) 残留試験 (豚)	7
(6) 残留試験 (牛)	8
(7) 乳汁移行試験 (乳牛)	8
(8) 鶏卵移行試験 (鶏)	9
2 . 急性毒性試験	9
(1) 急性毒性試験 (マウス)	9
3 . 亜急性毒性試験	10
(1) 35 日間亜急性毒性試験 (ラット)	10
(2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)	10
(3) 26 週間亜急性毒性試験 (ラット)	10
(4) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)	11
4 . 慢性毒性試験及び発がん性試験	11
5 . 生殖発生毒性試験	11
(1) 発生毒性試験 (ラット)	12
6 . 遺伝毒性試験	12
7 . 微生物学的影響に関する試験	12
(1) <i>E.coli</i> に対する最小発育阻止濃度	12
(2) ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度	12
(3) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度	12
8 . その他	13
(1) 視覚器に及ぼす影響	13
(2) 神経に及ぼす影響等	14

.食品健康影響評価	14
1. 毒性学的 ADI について	14
2. 微生物学的 ADI について	14
3. 食品健康影響評価について	16
・表 2 各試験における無作用量または無毒性量	17
・別紙 1 検査値等略称	19
・参照	20

審議の経緯

2007年 3月 5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0305025号）
2007年 3月 6日 関係書類接受
2007年 3月 8日 第181回食品安全委員会（要請事項説明）
2007年 7月 25日 第23回肥料・飼料等専門調査会
2007年 10月 31日 第24回肥料・飼料等専門調査会
2007年 11月 27日 第84回動物用医薬品専門調査会
2007年 12月 20日 第220回食品安全委員会（報告）

食品安全委員会委員名簿

見上 彪 (委員長)
小泉 直子 (委員長代理)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
本間 清一

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿

(2007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
小川 久美子 林 真
渋谷 淳 平塚 明
嶋田 甚五郎 藤田 正一
鈴木 勝士 吉田 緑
津田 修治

(2007年10月1日から)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 寺本 昭二
今井 俊夫 頭金 正博
今田 由美子 戸塚 恭一
江馬 眞 中村 政幸
小川 久美子 林 真
下位 香代子 山崎 浩史
津田 修治 吉田 緑
寺岡 宏樹

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿

(2007年9月30日まで)

唐木 英明 (座長)
酒井 健夫 (座長代理)
秋葉 征夫 西澤 直子
小野 信一 深見 元弘
香山 不二雄 三浦 克洋
嶋田 甚五郎 元井 葎子
下位 香代子 米山 忠克
高木 篤也
津田 修治

(2007年10月1日から)

唐木 英明 (座長)
酒井 健夫 (座長代理)
秋葉 征夫 西澤 直子
池 康嘉 深見 元弘
小野 信一 細川 正清
下位 香代子 三浦 克洋
高木 篤也 元井 葎子
津田 修治 米山 忠克
戸塚 恭一

要 約

飼料添加物及び牛や豚の細菌性下痢症の治療を目的として用いられるポリミキシン群抗生物質であるコリスチンについて、食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、投与試験(ウサギ、鶏、イヌ、豚、牛及びヒト)、残留試験(牛、豚、鶏、七面鳥、ウサギ、乳汁及び鶏卵)、急性毒性試験(マウス)、亜急性毒性試験(ラット、イヌ)、発生毒性試験(ラット)、遺伝毒性試験、微生物学的影響に関する試験等である。

試験の結果から、繁殖能に対する影響、発生毒性および遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験については、EMEA では硫酸コリスチンは発がん性に関する構造的特性を有していないこと、JECFA でもコリスチンは顕著な遺伝毒性の活性がなく、既知の発がん性物質と化学的に関連がないこと及び遺伝毒性試験の結果が陰性であることが報告されていることから、発がん性試験は不要と判断した。

各毒性試験の無毒性量の最小値は、EMEA 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 12.5mg/kg 体重/日に安全係数 200 を適用し、ADI は 0.0625 mg/kg 体重/日としている。また、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 50.5 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、ADI は 0.5 mg/kg 体重/日としている。一方、微生物学的影響から導き出された ADI は、現時点において国際的コンセンサスが得られている VICH 算出式に基づいて微生物学的 ADI を 0.004mg/kg 体重/日と設定した。この微生物学的 ADI は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た時の食品中における安全性を十分に担保していると考えられる。

以上より、コリスチンの食品健康影響評価については、ADI として 0.004mg/kg 体重/日を設定した。

・評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

1. 用途

抗菌剤（硫酸コリスチン）

2. 有効成分の一般名

和名：コリスチン（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

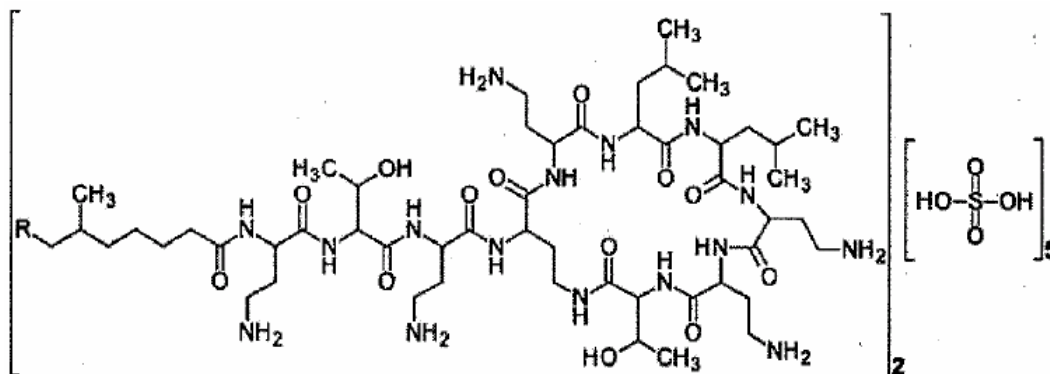
コリスチン A : 1169.47

コリスチン B : 1155.44

（参考）硫酸コリスチン A : 1414.66

硫酸コリスチン B : 1400.63

5. 構造式（硫酸コリスチン）



硫酸コリスチン A : R = CH₃

硫酸コリスチン B : R = H

6. 使用目的及び使用状況等（参照 1、2、3、4）

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 B を主成分とする混合物である。コリスチンはペプチド系抗生物質で菌細胞膜を破壊したり、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。

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 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いる。動物用医薬品では、通常、硫酸塩が使用され、採卵鶏、搾乳用の牛、羊及び山羊に対して、飼料

や飲水、代用乳に混ぜてコリスチン 3.33mg/kg 体重/日相当量が 5~10 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。

我が国においては、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。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省令により定められ使用されている。また、ヒト用医薬品及び欧州で動物用医薬品として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は、コリスチン誘導体のナトリウム塩である。

なお、純粋なコリスチンの力価は 1mg あたり 30,000 単位であり、硫酸コリスチンの理論的な力価は 1mg あたり 24,000 単位（硫酸コリスチン 1mg はコリスチン 800 μ g に相当）である。

・安全性に係る試験の概要

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、EMA 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、EMA レポート(1995、2002 年)(参照 1、2)及び JECFA レポート(2006 年)(参照 3)の知見を中心に整理しながら、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(参照 4)などの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。

1 . 吸収・分布・代謝・排泄

(1) 投与試験(ウサギ、鶏、イヌ、豚、牛及びヒト)(参照 1、2)

経口投与後の硫酸コリスチンは、ヒト、実験動物及び対象動物において非常に吸収されにくく、通常、血漿中にも検出されなかった。ただし、6 ヶ月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告がある。吸収は筋肉内投与後のほうがはるかに多く、血漿中濃度のピークは投与約 2 時間後に認められた。実験動物では、コリスチンは血漿蛋白と結合するが、結合の程度は用量が増加するに伴って低下した。

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、仔牛、豚及びウサギに経口投与しても、通常、組織及び血清中に検出されず、吸収されにくいと考えられた。鶏では、飲水投与 6 時間後まで血清中での残留が検出された。一方、仔牛や乳牛に筋肉内または静脈内投与した場合、投与 24 時間後まで血清中にコリスチンの残留が検出された。仔牛では、筋肉内投与後の生物学的利用率はほぼ 100%であった。雌の羊では、筋肉注射 2 時間後に最高血清中濃度 8~20 μ g/mL を示した。

イヌにおける研究では、微生物に対して作用のない代謝物が生じるとのデータが報告されているが、コリスチンの代謝物としては同定されていない。非経口投与後のコリスチンは尿中に排泄され、糞便中に残留物は見られなかった。ヒトにおける研究では、経口投与後のコリスチンは糞便中に排泄され、糞便中に結合型残留物として存在していることが示唆された。

仔牛、豚、ウサギ及び鶏では、経口投与後の可食組織におけるコリスチンの残留は、通常、検出限界未満であった。しかし、これらの試験は、供試動物の数量が“Rules Governing

Medicinal Products in the European Community”の要求を満たしていなかった。また、仔牛に静脈注射した場合は、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、注射部位の残留に関する報告はない。

(2) 残留試験(牛、豚、鶏、七面鳥及びウサギ)(参照2)

牛、豚各4頭(雌雄2頭ずつ)、鶏、七面鳥各6羽(雌雄3羽ずつ)及びウサギ12匹(雌雄6匹ずつ)に対し、コリスチン3.33mg/kg体重/日相当量を1日2回連続混餌投与(牛:代用乳に混ぜて7日間、豚:7日間、鶏、七面鳥及びウサギ:5日間)し、最終投与6時間後の各組織についてコリスチン濃度をHPLC(蛍光)で分析した。全ての可食組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(肝臓、筋及び脂肪付皮膚(牛は脂肪):75µg/kg 腎臓:100µg/kg)未満であった。

(3) 残留試験(豚、鶏及びウサギ)(参照2)

豚20頭、鶏(ブロイラー)30羽及びウサギ30匹にコリスチン3.80mg/kg体重/日相当量を連続15日間混餌投与し、投与2時間後、1、2、3及び5日後まで経時的(豚:雌雄各2頭、鶏:雌雄各3羽、ウサギ:雌雄各3匹)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した。全ての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(肝臓、筋及び脂肪付皮膚:75µg/kg 腎臓:100µg/kg)未満であった。

(4) 残留試験(鶏)(参照4)

鶏(ブロイラー、雌雄各50羽、100羽/群)を硫酸コリスチン添加(コリスチン0、100、500ppm相当量)飼料で8週間飼育後、主要臓器及び血清中のコリスチン濃度を測定したが、臓器、血清のいずれからもコリスチンは検出限界(0.25µg力価/g)未満であった。

(5) 残留試験(豚)(参照4)

仔豚(YL交雑種、21日齢、雌雄各2頭)4頭に硫酸コリスチン添加(コリスチン400ppm相当量)飼料で12週間飼育後、主要臓器及び血清中のコリスチン濃度を調べたところ、臓器、血清のいずれにおいてもコリスチンは検出限界(0.28µg力価/g)未満であった。

仔豚(LH交雑種、39日齢、雌雄各7頭)14頭を4ヶ月間硫酸コリスチン添加(無添加、40または200ppm添加・無休薬、40または200ppm添加・休薬1日、40または200ppm添加・休薬3日)飼料で飼育後、肉(筋肉部、脂肪部)、肝臓及び腎臓におけるコリスチンの残留量を異なる2施設で測定した。第1の施設では、全ての調査部位における残留量は、無休薬区、休薬区ともに定量限界(0.05ppm)未満であった。第2の施設では、40ppm添加群では投与終了直後の肝臓に0.052~0.054ppmの残留が認められ、200ppm添加群では投与終了直後及び休薬1日後の肝臓に0.080~0.350ppmの残留が認められた。しかし、休薬3日後には全ての畜産物から検出されなかった(定量限界0.025ppm)。

仔豚(LHD交雑種、体重21~28kg、雌雄各6頭)12頭を4週間硫酸コリスチン添加(コリスチン40または400ppm相当量)飼料で飼育後、血液及び各臓器組織における

コリスチンの残留量を異なる 2 施設で測定した。コリスチンの残留は、主として 400ppm 添加群の腎臓に認められ、400ppm 添加群の筋肉及び脂肪では痕跡程度（測定濃度が検出限界に満たず、わずかに阻止円を生じるもの）で、肝臓及び血液中には認められなかった（定量限界 0.02 または 0.05ppm）。40ppm 投与群では投与終了直後においても、1 頭の脂肪に痕跡程度の残留が認められた以外、残留は認められなかった。

仔豚（LHD 交雑種、体重約 25kg、雌雄各 4 頭）8 頭を 4 週間硫酸コリスチン添加（200ppm）飼料で飼育し、臓器及び血液中のコリスチン残留量（投与終了時、投与終了 72 時間後）を測定した。投与終了時及び投与終了 72 時間後のいずれの場合も、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び血液（全血）中のコリスチン濃度は検出限界（0.05 μ g 力価/g）未満であった。

豚（LW 交雑種、69~80 日齢、去勢）7 頭（対照区 1 頭、試験区 3 頭/群）に硫酸コリスチンを 1 日 1 回 3 日間強制経口投与（コリスチン 10、20mg/kg 体重/日相当量）し、血漿中濃度の経時的推移（投与前、投与終了 1、2、4、6、24 及び 72 時間後）、主要臓器及び組織中（投与終了 72 時間後）のコリスチン濃度を測定した。20mg/kg 体重/日投与群の血漿において、最終投与 1 時間後に 0.08 μ g/g の残留が認められ、それ以降は検出限界（0.05 μ g 力価/g、胆汁のみ 0.1 μ g 力価/mL）未満となった以外、両群のどの組織においても残留は認められなかった。

（6）残留試験（牛）

仔牛 20 頭にコリスチン 3.80mg/kg 体重/日相当量を連続 15 日間代用乳に混ぜて投与し、投与 5 日後まで経時的（雌雄各 2 頭の計 4 頭ずつ）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した。腎臓における抗菌活性残留物の平均濃度は、投与 2 時間後、投与 1 及び 2 日後で、それぞれ 210 μ g/kg、98 μ g/kg、150 μ g/kg であり、投与 3 日後以降は定量限界（腎臓：100 μ g/kg）未満となった。他の全ての可食組織におけるコリスチン及び抗菌活性残留物の濃度も、それぞれ定量限界（肝臓、筋及び脂肪：75 μ g/kg）未満であった。（参照 2）

仔牛（10 日齢）6 頭に硫酸コリスチン添加（コリスチン 400ppm 相当量）飼料で 10 週間飼育後、主要臓器及び血清中のコリスチン濃度を測定したところ、臓器、血清のいずれからもコリスチンは検出限界（0.28 μ g 力価/g）未満であった。（参照 4）

仔牛（ホルスタイン、1 ヶ月齢、雌）5 頭（対照群 1 頭、投与群 2 頭/群）に硫酸コリスチンを 1 日 1 回 3 日間連続強制経口投与（コリスチン 5、10mg/kg 体重/日相当量）し、血漿中濃度の経時的推移（投与前、投与終了 1、2、4、6、24 及び 72 時間後）、主要臓器及び組織中（投与終了 72 時間後）のコリスチン濃度を測定した。両投与群ともに全ての臓器、組織及び血漿中のコリスチン濃度は検出限界（0.05 μ g 力価/g、胆汁のみ 0.1 μ g 力価/mL）未満であった。（参照 4）

（7）乳汁移行試験（乳牛）（参照 2）

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 とコリスチン 0.83mg/kg 体重/日相当量を 5 日間連続筋肉内注射し、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）で測定した（定量限界：10 μ g/kg）。最初の注射 24 時間後と最後の注射 24 時間後における乳汁中の平均コリスチン濃度は約 50 μ g/kg（30~109 μ g/kg）で、2、3 及び 4 回目の投与後の平均乳汁中濃度は、それぞれ 13 μ g/kg（10 未満~33 μ g/kg）、8 μ g/kg（10 未満~16 μ g/kg）、10 μ g/kg 未満（10 未満~12 μ g/kg）であった。

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 3.33mg/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及び抗菌活性残留物の濃度を HPLC 及びバイオアッセイ試験で分析した。全乳中のコリスチン及び抗菌活性残留物の濃度はいずれも定量限界（25 μ g/kg）未満であった。

（8）鶏卵移行試験（鶏）

硫酸コリスチンを飲水投与された鶏の卵における残留は検出限界未満であった。筋肉内注射の場合、卵には投与 8 日後まで顕著な残留が認められた。（参照 1、2）

産卵鶏 20 羽にコリスチン 3.80mg/kg 体重/日相当量を添加した飼料による 15 日間連続混餌投与試験が実施され、全卵（黄身 + 白身）を HPLC 及びバイオアッセイ試験で分析した。採集された卵におけるコリ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 1、3、5、7 及び 10 日後において、いずれも定量限界（150 μ g/kg）未満であった。（参照 2）

採卵鶏 5 羽を硫酸コリスチン添加（コリスチン 100ppm 相当量）飼料で飼育し、卵のコリスチン濃度を測定したが、30 個の鶏卵中のコリスチン濃度は検出限界（0.06 μ g 力価/g）未満であった。（参照 4）

2．急性毒性試験

EMA の評価では、硫酸コリスチンの急性毒性については、非経口投与の方が経口投与より強く現れる傾向にあり、経口投与による LD₅₀ は 452~1,366mg/kg 体重であったとの知見が記載されている。（参照 1、2）

（1）急性毒性試験（マウス）（参照 4）

マウス（ddY-N 系、雌雄）に硫酸コリスチン（505mg 力価/g）を経口（756~2,313mg/kg 体重）または腹腔内（15.2~53.2mg/kg 体重）投与する試験が実施された。経口投与による LD₅₀ は、雌では 1,284mg/kg 体重（コリスチン 648mg/kg 体重相当量）、雄では 1,366mg/kg 体重（コリスチン 690mg/kg 体重相当量）であった。腹腔内投与による LD₅₀ は、雌では 32mg/kg 体重（コリスチン 16mg/kg 体重相当量）、雄では 33mg/kg 体重（コリスチン 17mg/kg 体重相当量）であった。両投与経路において、死亡例は投与 3 時間後以内に集中していた。

3. 亜急性毒性試験

(1) 35日間亜急性毒性試験(ラット)(参照4)

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、それぞれコリスチン0、47.5、95、190、380mg/kg体重/日相当量)が実施された。

死亡の発生は300mg/kg体重/日(コリスチン190mg/kg体重/日相当量)以上投与群で認められた。呼吸困難、チアノーゼを経て死に至るものがみられたことから、死因として呼吸麻痺の関与が考えられた。一般状態観察においては、300mg/kg体重/日以上投与群で自発運動の減少、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状態が認められる程度であった。体重増加量、摂餌量、末梢血液所見、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認められなかった。

(2) 90日間亜急性毒性試験(ラット)(参照4)

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単位/mg)の強制経口投与試験(コリスチン0、10、25、63、156mg/kg体重/日相当量)が実施された。各群雌雄各15匹については、投与終了後30日間無投与で飼育し、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個体を除く)。

死亡の発生は156mg/kg体重/日投与群の雄で認められた。一般状態観察においては、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、156mg/kg体重/日投与群でGPT及びGOTの軽度の上昇、同群雄に白血球数及びBUNの上昇、同群雌にコレステロールの軽度の低下が認められた。尿検査においては、156mg/kg体重/日投与群の雄で、尿タ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胞の浸潤及び限局性粘膜壊死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害が認められた。盲腸重量の増加は、下痢等の症状や病理組織学的変化はないことから、腸内細菌叢の変動による二次的な影響と考えられた。

この実験から、NOAELは63.0mg/kg体重/日とされた。

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)の硫酸コリスチン(19,000単位/mg)強制経口投与試験(0、24、60、150mg/kg体重/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。

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、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、末梢血液所見、血液生化学的所見及び尿所見については、硫酸コリスチン投与の影響は認められなかった。

(3) 26週間亜急性毒性試験(ラット)

ラット(Wistar系)を用いた硫酸コリスチンの混餌(0、40、200、1,000ppm)投与

による 26 週間亜急性毒性試験が実施された。1,000ppm 投与群において臓器重量に変化が認められたが、それに対応する病理学的変化は認められなかった。EMEA では、200ppm の混餌投与群のデータから、NOEL は 12.5mg/kg 体重/日とされた。(参照 1、2)

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 力価/g) の混餌 (0、40、200、1,000ppm、コリスチン 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が、体重増加量、摂餌量、解剖所見、血液形態学的所見、血液生化学的所見、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かった。(参照 4)

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

ラット (Sprague-Dawley) を用いた硫酸コリスチンの混餌 (0、2、40、120mg/kg 体重/日) 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 120mg/kg 体重の投与群で臓器重量に変化が認められたが、それに対応する病理学的変化は認められなかった。NOAEL は 40.0mg/kg 体重/日とされた。(参照 2)

(4) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) (参照 2、3)

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、60mg/kg 体重/日相当量) 投与による 90 日間亜急性毒性試験の報告では、一般行動、成長率、血液検査や生化学的検査、尿検査及び病理組織学的変化について、悪影響は認められなかった。しかし、EMEA 及び JECFA では、実験の詳細が不十分だとして NOEL は設定されていない。

4. 慢性毒性試験及び発がん性試験

EMEA 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、これは遺伝毒性試験で陰性の結果が得られていることや、硫酸コリスチンの化学構造で注意が必要な構造的特性がないことから、それらの試験を実施する必要はないとの判断によるものと述べている。(参照 1、2)

また、JECFA も、コリスチンの発がん性を含む長期の毒性試験については報告されていないが、顕著な遺伝毒性の活性構造がないこと、既知の発がん性物質と化学的に関連性がないこと等から、発がん性のリスクを有するとは考えにくいと判断している。(参照 3)

5. 生殖発生毒性試験 (参照 1、2、4)

マウスを用いた「妊娠前および妊娠初期投与試験」、「器官形成期投与試験」及び「周産期および授乳期投与試験」、ラットを用いた「妊娠前および妊娠初期投与試験」、「器官形成期投与試験」及び「周産期および授乳期投与試験」、ウサギを用いた「器官形成期投与試験」においてコリスチンメタンサルホン酸ナトリウムを静脈内投与したところ、骨化遅延、分娩率・哺育率・児成育率の低下がみられ、マウス及びラットを用いた器官形成期投与試験ではコリスチンメタンサルホン酸ナトリウムを腹腔内投与したところ、マウスで吸収胚の増加が

認められた。いずれの試験でもコリスチンメタンスルホン酸ナトリウムの発生毒性は認められなかった。しかし、コリスチンメタンスルホン酸ナトリウムの薬物動態は硫酸コリスチンとは異なるため、これらの試験から、硫酸コリスチンの NOAEL を推定することはできなかった。(参照 1、2、4)

(1) 発生毒性試験(ラット)

ラット(Wistar系、20匹/群)を用い、妊娠7~17日に硫酸コリスチン(670mg力価/g)を強制経口(コリスチン0、2.6、65、130mg/kg体重/日相当量)投与して発生毒性試験が実施された。

母ラットの一般状態、体重増加率、摂餌量に投与の影響は認められず、黄体数、着床率、胚/胎児死亡率及び胎児体重にも投与の影響はみられなかった。また、胎児の外表、内臓及び骨格検査でも投与の影響は認められなかった。(参照4)

JECFAにおいても、同様な試験内容及び結果が記載されている。NOAELは、最高用量の130mg/kg体重/日と考えられる。(参照3)

6. 遺伝毒性試験

EMA の評価においては、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、遺伝毒性は認められなかったとの知見が記載されている。(参照1、2)

7. 微生物学的影響に関する試験

(1) *E. coli* に対する最小発育阻止濃度

EMA では、硫酸コリスチンを用いた *in vitro* の MIC 試験から、グラム陽性菌及び *Proteus* spp. はコリスチンに対して感受性を示さなかったが、ヒトの腸内細菌叢に最も関連のある *E. coli* が高い感受性を示し、MIC₅₀ は 0.1µg/mL であったと報告している。(参照1、2)

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、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。(参照3)

(2) ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度(参照1、2、3)

ヒト6人に対し、コリスチン450mgに相当する硫酸コリスチンを用いた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、試験開始24~48時間後で、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。*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、投与による著しい影響を受けなかった。しかし、この試験結果を基に微生物学的 ADI を設定するのは適切ではないと考えられた。

(3) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度(参照5)

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」において、硫酸コリスチンを用いた試験により、ヒト臨床分離株等に対するコリスチンの約 5×10^6 CFU/spot における MIC が調べられている。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、*Fusobacterium* spp. の 0.5 µg/mL であった。

表 1 ヒト臨床分離株等に対するコリスチンの MIC₅₀

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>Escherichia coli</i>	30	4	4 ~ 8
<i>Enterococcus</i> species	30	>128	>128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> species	30	>128	64 ~ >128
<i>Fusobacterium</i> species	20	0.5	0.25 ~ 0.5
<i>Bifidobacterium</i> species	30	128	64 ~ >128
<i>Eubacterium</i> species	20	>128	>128
<i>Clostridium</i> species	30	>128	>128
<i>Peptococcus</i> species / <i>Peptostreptococcus</i> species	30	>128	>128
<i>Prevotella</i> species	20	4	0.5 ~ >128
<i>Lactobacillus</i> species	30	>128	128
<i>Propionibacterium</i> species	30	>128	128

8 . その他

(1) 視覚器に及ぼす影響 (参照 4)

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ン酸ナトリウムを投与した試験が報告されているため、評価の参考として記載する。

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ム (12,000 単位/mg) を 1 日 1 回、35 日間 (日曜を除く) 尾静脈内投与 (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 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、全群において全く異常は認められなかった。

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ウム (12,000 単位/mg) を 1 日 1 回、35 日間 (日曜を除く) 耳介静脈内投与 (0、80mg/kg 体重/日、それぞれコリスチン 0、32mg/kg 体重/日相当量) 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織学的所見にも特記すべき異常は認められなかった。

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ウム

(12,000 単位/mg) を 1 日 1 回、35 日間 (日曜を除く) 静脈内投与 (0、80mg/kg 体重/日、それぞれコリスチン 0、32mg/kg 体重/日相当量) し、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認められなかった。

(2) 神経に及ぼす影響等 (参照 1、2)

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いかなかった場合、神経毒性が認められる場合がある。

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。

・食品健康影響評価

1. 毒性学的 ADI について (参照 1、2、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から得られた NOEL の 12.5mg/kg 体重/日に対し、安全係数として 200 (最新の試験基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 NOEL の 50.5mg/kg 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。

2. 微生物学的 ADI について (参照 1、2、3、5)

微生物学的 ADI について、EMEA 及び JECFA は硫酸コリスチンの試験からコリスチンの微生物学的 ADI を算出している。

EMEA の評価では、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ことから、MIC₅₀ である 0.1µg/mL から CVMP の算出式により、

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

(A) 最も感受性が高かった *E.coli* の MIC₅₀

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

(C) 最も感受性を有する主要細菌の MIC₅₀ であることから

(D) 通常の糞便量

(E) 微生物が利用可能な経口用量分画

(F) ヒト体重

と算出されている。

JECFA の評価では、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 から JECFA の算出式により、

$$\begin{aligned} \text{ADI(上限値)} &= \frac{\text{MIC}_{50} \times \text{MCC}}{\text{FA} \times \text{SF} \times \text{BW}} \\ &= \frac{1.0 (\mu\text{g/g}) \times 220 (\text{g})}{0.5 \times 1 \times 60 (\text{kg})} \\ &= 7 \mu\text{g/kg 体重/日} (0.007\text{mg/kg 体重/日}) \end{aligned}$$

MIC₅₀ . . . 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 MIC₅₀ は 1.0µg/mL。

MCC . . . 結腸内容量：220g。

FA . . . 微生物が利用可能な用量分画：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、ヒト糞便中のコリスチン濃度は投与量と一致しない。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、消化管内微生物の利用可能な用量分画は 50%（算出式での値は 0.5）。

SF . . . 安全係数：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。

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¹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 calc²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 の算出式により

$$\begin{aligned} \text{ADI} &= \frac{\text{MIC calc} (\mu\text{g/mL}) \times \text{結腸内容物} (220\text{g})}{\text{経口用量として生物学的に} \times \text{ヒト体重}(60\text{kg}) \times \text{利用可能な比率}} \\ &= \frac{0.541 (\mu\text{g/mL}) \times 220 (\text{g})}{0.5 \times 60 (\text{kg})} \\ &= 4 \mu\text{g/kg 体重/日} (0.004 \text{ mg/kg 体重/日}) \end{aligned}$$

¹ 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

² 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

と算出される。

微生物学的 ADI については、現時点においては、国際的にコンセンサスが得られている手法により算出された平成 18 年度食品安全確保総合調査の結果である 0.004mg/kg 体重/日を採用するのが適切と考えられる。

EMEA 及び JECFA では、硫酸コリスチンによる試験データから、コリスチンとしての微生物学的及び毒性学的 ADI を評価しており、微生物学的 ADI が毒性学的 ADI に比べて十分に低いことを理由に、コリスチンの ADI として微生物学的 ADI を採用している。この微生物学的 ADI は、慢性毒性試験及び発がん性試験がないことを踏まえて、仮に安全係数 1,000 を適用した場合の毒性学的 ADI (0.0125mg/kg 体重/日あるいは 0.05mg/kg 体重/日) よりも十分小さく、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たときのコリスチンの食品中における安全性を十分に担保していると考えられる。

3 . 食品健康影響評価について

以上より、コリスチ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。

コリスチン 0.004 mg/kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表2 各試験における無作用量または無毒性量

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	亜急性毒性試験 (35 日間)	0、47.5、95、190、380 (経口投与)			- 自発運動減少及び鎮静状態	
		0、10、25、63、156 (経口投与)			63 (NOAEL) 死亡、軽度のチアノーゼ、鎮静、体重 増加抑制、胃障害等	
			0、15.2、38、95 (経口投与)			15.2 死亡、自発運動の減少、鎮静等
			6.67、20、60 (経口投与)	60 影響は認められなかった。	60 影響は認められなかった。	
	亜急性毒性試験 (26 週間)	0、2、40、120 (混餌投与)	40 (NOEL) 臓器重量の変化			
		0、40、200、1,000ppm (混餌投与)	12.5 (200ppm 投与群)(NOEL) 臓器重量の変化			
		0、20.2、101、505ppm (混餌投与)		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。	
	発生毒性試験	0、2.6、65、130 (経口投与)		130 (NOEL) 影響は認められなかった。	130 影響は認められなかった。	
	イヌ	亜急性毒性試験 (90 日間)	6.67、20、60 (経口投与)	- (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			0.004

EMEA または JECFA 等で、NOEL または 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。

<別紙1 検査値等略称>

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
BUN	尿素体窒素
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ
HPLC	高速液体クロマトグラフ
LD ₅₀	半数致死量
MIC	最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
VICH	動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議

< 参照 >

1. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, COLISTIN SUMMARY REPORT (1)
2. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, COLISTIN SUMMARY REPORT (2)
3. JECFA: EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN FOOD, COLISTIN
4. 明治製菓株式会社: 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
5. 食品安全委員会: 平成 18 年度食品安全確保総合調査:
動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査