

動物用医薬品評価書

フロルフェニコールを有効成分とする牛の注射剤(フロロコール 200 注射液)及び豚の注射剤(フロロコール 100 注射液)の再審査に係る食品健康影響評価について(案)

2007年7月

食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会

<目次>

	頁
・ 目次	1
・ 審議の経緯	2
・ 食品安全委員会委員名簿	2
・ 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	2
1. はじめに	3
2. フロロコール注射液について	3
3. 再審査における安全性に関する知見等について	3
(1) ヒトに対する安全性について	3
(2) 安全性に関する研究報告について	4
(3) 承認後の副作用報告について	4
4. 再審査に係る食品健康影響評価について	4
5. 参考資料	5

(別添) 動物用医薬品評価書 フロルフェニコールの食品健康影響評価について (案)

〈審議の経緯〉

平成17年 3月11日	農林水産大臣から食品健康影響評価について 要請、関係書類接受
平成17年 3月17日	第86回食品安全委員会（要請事項説明）
平成17年 3月24日	第24回動物用医薬品専門調査会
平成17年 9月13日	厚生労働大臣から食品健康影響評価について 要請、関係書類の接受
平成17年 9月15日	第111回食品安全委員会（要請事項説明）
平成18年 7月18日	厚生労働大臣から食品健康影響評価について 要請、関係書類の接受（24条2項関連）
平成18年 7月20日	第153回食品安全委員会（要請事項説明）
平成19年 1月18日	第174回食品安全委員会（要請事項説明）
平成19年 3月13日	第71回動物用医薬品専門調査会
平成19年 4月27日	第73回動物用医薬品専門調査会
平成19年 5月30日	第75回動物用医薬品専門調査会
平成19年 6月22日	第77回動物用医薬品専門調査会
平成19年 7月12日	第198回食品安全委員会（報告）
平成19年 7月12日 — 8月10日	国民からの意見情報の募集

〈食品安全委員会委員〉

平成18年6月30日まで	平成18年12月20日まで	平成18年12月21日から
委員長 寺田 雅昭	委員長 寺田 雅昭	委員長 見上 彪
委員長代理 寺尾 允男	委員長代理 見上 彪	委員長代理* 小泉 直子
小泉 直子	小泉 直子	長尾 拓
坂本 元子	長尾 拓	野村 一正
中村 靖彦	野村 一正	畑江 敬子
本間 清一	畑江 敬子	廣瀬 雅雄**
見上 彪	本間 清一	本間 清一

*平成19年2月1日から
**平成19年4月1日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員〉

平成17年9月30日まで	平成19年2月11日まで	平成19年2月12日から
三森 国敏（座長）	三森 国敏（座長）	三森 国敏（座長）
井上 松久（座長代理）	井上 松久（座長代理）	井上 松久（座長代理）
青木 宙 寺本 昭二	青木 宙 津田 修治	青木 宙 寺本 昭二
明石 博臣 長尾 美奈子	明石 博臣 寺本 昭二	明石 博臣 長尾 美奈子
江馬 眞 中村 政幸	江馬 眞 長尾 美奈子	江馬 眞 中村 政幸
大野 泰雄 林 眞	大野 泰雄 中村 政幸	小川 久美子 林 眞
菅野 純 藤田 正一	小川 久美子 林 眞	洪谷 淳 平塚 明
嶋田 甚五郎	洪谷 淳 藤田 正一	嶋田 甚五郎 藤田 正一
鈴木 勝士	嶋田 甚五郎 吉田 緑	鈴木 勝士 吉田 緑
津田 洋幸	鈴木 勝士	津田 修治

フロルフェニコールを有効成分とする牛の注射剤(フロロコール 200 注射液)及び豚の注射剤(フロロコール 100 注射液)の再審査に係る食品健康影響評価について(案)

1.はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法(平成15年法律第48号)第24条第1項第8号の規定に基づき農林水産大臣から「フロルフェニコールを有効成分とする牛の注射剤(フロロコール 200 注射液)及び豚の注射剤(フロロコール 100 注射液)」、同法第24条第1項第1号及び同法第24条第2項の規定に基づき厚生労働大臣から「フロルフェニコール」について、意見を求められた。(平成17年3月11日に農林水産大臣から関係書類を接受。平成17年9月13日(法第24条第1項関係)及び平成18年7月18日(法第24条第2項関係)に厚生労働大臣から関係書類を接受。)

2.フロロコール注射液について⁽¹⁾

フロロコール100注射液については、平成8年1月24日、フロロコール200注射液については、平成7年6月5日に農林水産大臣より動物用医薬品として承認を受けた後、所定の期間(6年間)が経過したため再審査申請が行われた。製剤の内容については次の通りである。

①主剤

主剤はフロルフェニコールである。

②効能・効果

適応症は豚の胸膜肺炎(フロロコール100注射液)、牛の細菌性肺炎(フロロコール200注射液)である。

③用法・用量

豚の胸膜肺炎については1日1回豚体重1kgあたりフロルフェニコールとして5mgを1～5日間筋肉内注射する。牛の細菌性肺炎については1日1回牛体重1kgあたりフロルフェニコールとして10mgを2～3日間筋肉内注射する。休薬期間は豚で21日、牛で30日であり、搾乳牛に対しては使用しないこととされている。

④その他

防腐剤としてパラオキシ安息香酸メチル及びパラオキシ安息香酸プロピル、溶剤としてN-メチル-2-ピロリドン及びマクロゴール200が使用されている。

3.再審査における安全性に関する知見等について

(1)ヒトに対する安全性について

フロルフェニコールを主剤とする動物用医薬品は国内では豚、牛の他、鶏及び魚類にも注射や混餌等の投与形態で使用されている。米国、EU諸国等では鶏、豚、牛、羊及び魚類等を対象として使用されている。EMEAで3µg/kg体重/日⁽²⁾、FDAで10µg/kg体重/日⁽³⁾、のADIが設定されているが、JECFA等国際機関における評価は行われていない。また、日本においては残留基準¹が設定されているが、ADIの設定はされていない。

防腐剤として使用されているパラオキシ安息香酸メチル及びパラオキシ安息香酸プロピルは添加量は微量で医薬品添加物や化粧品の防腐剤として広く利用されている。溶剤として使用されているN-メチル-2-ピロリドンは、EMEAにおいて、0.25mg/kg体重/日のADIが設定さ

¹平成17年厚生労働省告示第499号によって新たに定められた残留基準

れているが、急速に代謝され、排出されることからMRLは設定されていない。また、高い溶解性をもつことから、医薬品添加物や化粧品にも使用されている⁽⁶⁾。溶剤として使用されているマクロゴール200(一般名:ポリエチレングリコール)は毒性の低い医薬品添加物で懸濁剤や溶剤、結合剤等として使用されている。^{(5),(7)}

(2)安全性に関する研究報告について⁽⁴⁾

調査期間中のMedlineを含むデータベース検索の結果、耐性菌に関する報告等が複数報告されているが、フロルフェニコールに対する低感受性株、または耐性株の出現についての報告は得られていないとされている。

(3)承認後の副作用報告について⁽⁴⁾

牛に対する安全性については、承認後の調査期間中に510頭の使用成績調査、64頭の臨床試験が実施され、使用成績調査で1頭に粘膜チアノーゼ・開口呼吸等、3頭で軽い流涎が認められたが、原因は不明とされている。粘膜チアノーゼ、開口呼吸等の症状は、抗アレルギー剤及び副腎皮質ホルモンの投与により回復した。これら4頭で認められた症状は、承認申請時の大量投与安全性試験においても観察されていない症状であり、2年次の特定診療所のみで報告された症状であったことから、フロルフェニコールが直接関与したものではないと考えられた。臨床試験においては注射局所及び全身性の副作用は全く認められていない。豚に対する安全性については、承認後の調査期間中に292頭の使用成績調査、60頭の臨床試験が実施され、新たな副作用は認められなかったとされている。

4.再審査に係る食品健康影響評価について

上記のように、承認時から再審査調査期間中にこれまで把握されていなかった新たな副作用報告、安全性を懸念させる研究報告は認められておらず、提出された資料の範囲において、当製剤に関する安全性に係る新たな知見の報告は認められないと考えられる。

防腐剤のパラオキシ安息香酸メチル及びパラオキシ安息香酸プロピルは、添加量、現在の使用状況及び休薬期間を考慮すると、これらの添加剤が食品を通してヒトの健康に影響を与える可能性については無視できると考えられる。また、溶剤のN-メチル-2-ピロリドン及びマクロゴール200についても、現在の使用状況、外国評価機関の評価及び休薬期間を考慮すると、これらの添加剤が食品を通してヒトの健康に影響を与える可能性については無視できると考えられる。

しかしながら、本製剤は豚、牛の筋肉内に注射されるものであり、フロルフェニコールについては、日本においてMRLの設定がされているものの、ADIが設定されていないことから、フロルフェニコールのADIの設定について別添の通り評価を実施した。

フロルフェニコール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。

フロルフェニコール 0.01mg/kg体重/日

ただし、本剤の評価については、薬剤耐性菌を介した影響について考慮する必要があり、これについてはなお検討中である。

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。

5.参考資料

- (1) フロロコール100注射液、フロロコール200注射液 再審査申請書（未公表）
- (2) EMEA:COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, FLORFENICOL SUMMARY REPORT(1)
- (3) 21CFR Parts 556.283 Florfenicol
- (4) フロロコール 100 注射液、フロロコール 200 注射液：効能又は効果及び安全性についての調査資料（未公表）
- (5) 医薬品添加物ハンドブック 日本薬学会訳編 ；丸善株式会社
- (6) EMEA:COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, 1-METHYL-2-PYRROLIDONE, SUMMARY REPORT
- (7) EMEA:COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, POLYETHYLENE GLYCOLES, SUMMARY REPORT

動物用医薬品評価書

フロルフェニコールの食品健康影響評価について(案)

2007年7月

食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会

〈目次〉

	頁
・目次	1
・審議の経緯	2
・食品安全委員会委員名簿	2
・食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	2
・要約	3
1. 薬剤の概要	4
2. 毒性試験の概要	
2-1. 吸収・分布・代謝・排泄	4
2-2. 毒性試験	7
(1) 急性毒性試験	7
(2) 亜急性毒性試験	7
(3) 慢性毒性・発がん性試験	10
(4) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験	12
(5) 遺伝毒性試験	13
(6) 一般薬理試験	14
(7) 微生物学的影響に関する特殊試験	15
(8) ヒトにおける知見について	16
(9) その他	16
3. 食品健康影響評価について	16
4. 参考資料	18

〈審議の経緯〉

平成17年	3月11日	農林水産大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成17年	3月17日	第86回食品安全委員会（要請事項説明）
平成17年	3月24日	第24回動物用医薬品専門調査会
平成17年	9月13日	厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成17年	9月15日	第111回食品安全委員会（要請事項説明）
平成18年	7月18日	厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受（24条2項関連）
平成18年	7月20日	第153回食品安全委員会（要請事項説明）
平成19年	1月12日	農林水産大臣から食品健康影響評価について要請
平成19年	1月15日	関係書類の接受
平成19年	1月18日	第174回食品安全委員会（要請事項説明）
平成19年	3月13日	第71回動物用医薬品専門調査会
平成19年	4月27日	第73回動物用医薬品専門調査会
平成19年	5月30日	第75回動物用医薬品専門調査会
平成19年	6月22日	第77回動物用医薬品専門調査会
平成19年	7月12日	第198回食品安全委員会（報告）
平成19年	7月12日	
	— 8月10日	国民からの意見情報の募集

〈食品安全委員会委員〉

平成18年6月30日まで	平成18年12月20日まで	平成18年12月21日から
委員長 寺田 雅昭	委員長 寺田 雅昭	委員長 見上 彪
委員長代理 寺尾 允男	委員長代理 見上 彪	委員長代理* 小泉 直子
小泉 直子	小泉 直子	長尾 拓
坂本 元子	長尾 拓	野村 一正
中村 靖彦	野村 一正	畑江 敬子
本間 清一	畑江 敬子	廣瀬 雅雄**
見上 彪	本間 清一	本間 清一

* 平成19年2月1日から
** 平成19年4月1日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員〉

平成17年9月30日まで	平成19年2月11日まで	平成19年2月12日から
三森 国敏(座長)	三森 国敏(座長)	三森 国敏(座長)
井上 松久(座長代理)	井上 松久(座長代理)	井上 松久(座長代理)
青木 宙 寺本 昭二	青木 宙 津田 修治	青木 宙 寺本 昭二
明石 博臣 長尾 美奈子	明石 博臣 寺本 昭二	明石 博臣 長尾 美奈子
江馬 眞 中村 政幸	江馬 眞 長尾 美奈子	江馬 眞 中村 政幸
大野 泰雄 林 眞	大野 泰雄 中村 政幸	小川 久美子 林 眞
菅野 純 藤田 正一	小川 久美子 林 眞	小川 久美子 林 眞
嶋田 甚五郎	洪谷 淳 藤田 正一	洪谷 淳 嶋田 甚五郎
鈴木 勝士	嶋田 甚五郎 吉田 緑	嶋田 甚五郎 藤田 正一
津田 洋幸	鈴木 勝士	鈴木 勝士 吉田 緑
		津田 修治

要 約

広い抗菌スペクトルを持つ合成抗菌剤である「フロルフェニコール(Florfenicol)」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動物代謝・残留(ラット、豚、牛)、急性毒性(ラット)、亜急性毒性(マウス、ラット、イヌ)、慢性毒性(イヌ、ラット)、発がん性試験(ラット、マウス)、繁殖毒性及び催奇形成試験(ラット、マウス)及び遺伝毒性試験、微生物学的影響に関する試験等である。

遺伝毒性については、*in vitro* の染色体異常試験において一部陽性の所見がみられたが、*in vivo* の染色体試験及び小核試験においてはすべて陰性であったことから、生体にとって影響となる毒性はないと考えられた。また、発がん性は認められなかった。繁殖への影響については NOAEL3mg/kg 体重/日が得られ、催奇形性は認められなかった。

各毒性試験の無毒性量の最小値はイヌを用いた 52 週間亜急性毒性試験の1mg/kg 体重/日であった。毒性的 ADI はこれを根拠として、安全係数 100 で除した 0.01mg/kg 体重/日と設定した。一方、微生物学的影響から導き出された ADI は 0.012mg/kg 体重/日と設定した。

以上より、フロルフェニコールの食品健康影響評価については、ADIとして0.01mg/kg 体重/日を設定した。なお、薬剤耐性菌を介した影響については別途考慮する必要がある、これについては薬剤耐性菌に係る WG で検討中である。

フロルフェニコールの食品健康影響評価について(案)

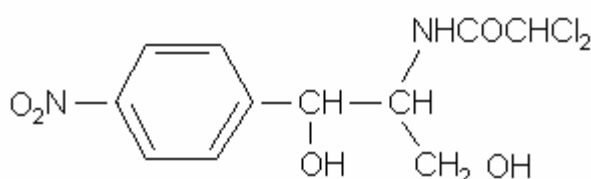
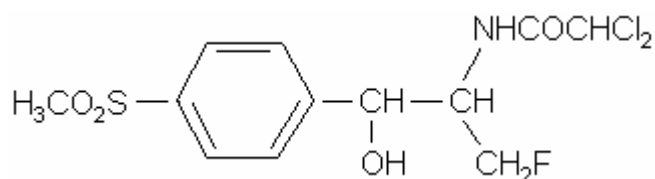
1. 薬剤の概要

(1)物質名^{(1),(2)}

フロルフェニコール(Florfenicol)

(2)構造式

<参考>クロラムフェニコール(Chloramphenicol)



(3)分子式 : C₁₂H₁₄Cl₂FNO₄S

(4)分子量 : 358.2

(5)常温における性状 : 白色の結晶性粉末

(6)融点 : 約 154°C

(7) 使用目的及び使用状況等

フロルフェニコールは構造的、作用的にクロラムフェニコールと類似しており、広い抗菌スペクトルを持つ合成抗菌剤である。効果は一部の菌種を除いて静菌的であり、細菌の 70S リボゾームの 50S サブユニットに結合することにより、ペプチド転移酵素を阻害し、たん白質合成を阻害する。⁽³⁾

フロルフェニコールを主剤とする動物用医薬品は、国内では牛、豚、鶏といった家畜の他、一部の魚類にも使用されている。米国、EU 諸国においても牛、豚、鶏、羊及び魚類(finfish)に対して使用が認められている。ヒト用医薬品としての使用はない。

2. 毒性試験の概要

2-1.吸収・分布・代謝・排泄

【ラットにおける経口投与試験】

SD ラット(雌雄各 6 匹)に 65mg/kg 体重の ¹⁴C-標識フロルフェニコール^aを 7 日間経口投与し、1 及び 6 回目の投与後 24 時間までの尿と糞が採取された。1 回目投与後 24 時間の尿中に平均して総投与放射能の約 62.7%(雄 : 59.2%、雌 : 66.2%)、糞中に約 16.1%(雄 : 19.6%、雌 : 12.6%)が排泄された。6 回目投与後 24 時間では、尿中に平均して総投与放射能の約 60.4%(雄 : 52.4%、雌 : 68.5%)、糞中には約 23.9%(雄 : 30.4%、雌 : 17.4%)が排出された。総投与放射能に対する回収率は低下したが、排泄経路の割合はほぼ同じであった。被験動物は 7 回目投与 2 時間後に安楽死、剖検され組織中の分布が調べられた。血液中より高い放射活性を示した臓器は肝臓と腎臓であった。⁽⁴⁾

さらに上記で採取された、血漿、尿、糞及び肝臓、腎臓、筋肉、脂肪中の代謝物の同定が試みられている。TLC、HPLC により各サンプルを分離したところ、サンプルの種類により存在比は異なるものの

^a ベンゼン環の炭素すべてに標識。

5種類に分離された⁽⁵⁾。尿、糞についてさらに詳細に検討されたところ、これらは未変化体の他、フロルフエニコールアミン、フロルフエニコールオキサミド酸、フロルフエニコールアルコール、モノクロロフロルフエニコールであった。尿中からは未変化体、糞中からはフロルフエニコールアミン^bが主に検出された。⁽⁶⁾

【ブタにおける単回投与試験】

ブタ(ランドレース種3頭)におけるフロルフエニコールの単回筋肉内(10mg/kg 体重)投与において、 T_{max} は1時間であり、その時の血清中濃度の C_{max} は約4.2 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は約5.2時間であった。投与1及び8時間後の組織中分布が調査されたところ、1時間後の組織中分布は腎臓、胆汁、肝臓、血漿、肺、筋肉、小腸、脂肪の順に高く、腎臓の濃度は血漿の2倍以上を示した。8時間後ではこれらの濃度は全ての組織で1/2程度に低下していた。代謝物のオキサミン体は肝臓、腎臓、胆汁、血漿で認められたが8時間後では肝臓、腎臓で1/2程度となり、未変化体と同様の挙動を示した。アミノ体は未変化体の1/10未満で、アルコール体はほとんど検出されなかった。未変化体及び代謝物を合計して24時間までに投与量の約57%が尿・糞中に排泄された。そのほとんどは尿中への排泄で、主要なものは未変化体であった。⁽⁷⁾

【ウシにおける単回投与試験】

ウシ(ホルスタイン種3頭)におけるフロルフエニコールの単回筋肉内(10mg/kg 体重)投与において、 T_{max} は1時間であり、その時の血清中濃度の C_{max} は約1.6 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は約18.2時間であった。投与2及び24時間後の組織中分布が調査されたところ、2時間後の組織中分布は腎臓、胆汁、血漿、小腸、筋肉、肺、肝臓、脂肪の順に高く、腎臓の濃度は血漿の2倍以上を示した。24時間後ではこれらの濃度は1/2程度に低下していた。代謝物のオキサミン体は胆汁で高く、肝臓、肺、腎臓、小腸、脂肪、血漿で認められたが24時間後では未変化体と同様に減少した。アミノ体は未変化体の1/5程度で、アルコール体はさらに微量であった。未変化体及び代謝物を合計して48時間までに投与量の約52%が尿・糞中に排泄された。そのほとんどは尿中への排泄で、主要なものは未変化体であった。⁽⁸⁾

子ウシ(4頭群)におけるフロルフエニコールの単回筋肉内または皮下(40 mg/kg 体重)投与において、筋肉内投与時の血清中濃度の C_{max} は15.1 μ g/mL、 T_{max} の中央値は1.0時間、 $T_{1/2}$ は12.2時間、AUC(投与から最終測定値まで)は194 μ g \cdot hr/mL、AUC(投与から消失まで)は213 μ g \cdot hr/mLであった。

皮下投与時の血清中濃度の C_{max} は2.93 μ g/mL、 T_{max} の中央値は4.0時間、 $T_{1/2}$ は79.8時間^d、AUC(投与から最終測定値まで)は101 μ g \cdot hr/mL、AUC(投与から消失まで)は265 μ g \cdot hr/mLであった。⁽⁹⁾

子ウシ(3頭群)にフロルフエニコールを単回皮下(20 mg/kg 体重)及び筋肉内(10 mg/kg 体重/日を3日間)投与した試験が実施されている。試験終了後14日間の休薬期間を設け、投与方法を入れ替えて同様に投与を行なった。

単回皮下投与群の C_{max} (≤ 2.6 ppm)は投与後9及び6時間に認められ、投与後24時間で1.0 ppmまで低下した。反復筋肉内投与群の C_{max} は3日間とも投与後3時間に認められ、投与後24時間で1 ppm以下に低下した。⁽¹⁰⁾

^b 抱合体含む

^c 調和平均。

^d 調和平均。

【ブタにおける残留試験】

3-4ヶ月齢のブタ（ランドレース種、15頭/群）にフロルフェニコール10および20 mg/kg 体重/日を5日間連続して筋肉内投与し、投与後28日までの血漿、腎臓、肝臓、注射部位筋肉、筋肉、小腸および脂肪中濃度を測定した。10 mg 投与群では、投与後3日の血漿中に定量限界（血漿：0.05 µg/mL、その他：0.05 µg/g）を下回る微量が認められたが、その他の組織は定量限界未満であり、血漿中濃度も投与後7日以降定量限界未満であった。20 mg 投与群では、投与後3日の血漿及び腎臓中、7日の腎臓中では定量限界を下回る微量が認められたが、その他の組織では定量限界未満であり、14日以降は腎臓でも定量限界未満であった。その他の組織は投与後3日以降定量限界未満であった。⁽¹¹⁾

約2ヶ月齢のブタ（LW系、16頭/群）にフロルフェニコール10および20 mg/kg 体重/日を5日間連続して筋肉内投与し、投与後21日までの血清、筋肉、腎臓、肝臓、注射部位筋肉、注射部位周辺部筋肉、小腸及び脂肪中濃度を測定した。10 mg 投与群では、投与後1日の腎臓で0.10-0.24 µg/g、注射部位筋肉で0.10-3.52 µg/g、注射部位周辺部筋肉0.24 µg/gが検出された。20 mg 投与群では、投与後1日の血清及び組織中に残留が観察され、特に注射部位筋肉で高濃度（8.21-192.52 µg/g）であった。両投与群とも、投与後3日以降には全ての試料で検出限界未満（血漿：0.05 µg/mL、その他：0.05 µg/g）となった。⁽¹²⁾

【ウシにおける残留試験】

3-4ヶ月齢の子ウシ（ホルスタイン種、雌15頭/群）及び約2ヶ月齢の子ウシ（ホルスタイン種、雌15頭/群）にフロルフェニコール10および20 mg/kg 体重/日を3日間連続して筋肉内投与し、投与後1、5、10、20、30日に3頭ずつの血漿、筋肉、腎臓、肝臓、注射部位筋肉、注射部位周辺部筋肉、小腸及び脂肪中濃度を測定した。

3-4ヶ月齢の子ウシにおいて、10 mg 投与群で投与後1日の血漿及び組織中濃度は注射部位筋肉で平均262.06 µg/g、次いで注射部位周辺部筋肉で72.44 µg/g、腎臓で1.30 µg/g、筋肉で1.19 µg/g、血漿で0.72 µg/mL、肝臓で0.34 µg/gであった。小腸では1/3例が検出限界（0.05 µg/g）未満、2例は0.59および1.03 µg/gであった。脂肪では全例が検出限界未満であった。投与後5日では、注射部位筋肉で平均9.09 µg/g、次いで注射部位周辺部筋肉で1.01 µg/g、血漿で0.13 µg/g、腎臓で0.05-0.19 µg/gであった。肝臓及び筋肉では1/3例が検出限界未満となり、脂肪および小腸では全例が検出限界未満であった。投与後10日では注射部位筋肉の2例を除き全て検出限界未満となり、休薬20日以降では全試料で検出限界未満となった。20 mg 投与群では、投与後1日の血漿及び組織中濃度は注射部位筋肉で平均1208.91 µg/g、次いで注射部位周辺部筋肉で132.59 µg/g、腎臓で5.22 µg/g、小腸で3.00 µg/g、肝臓で2.47 µg/g、血漿で2.20 µg/mL、筋肉で1.23 µg/g、脂肪で0.64 µg/gであった。投与後5日では注射部位筋肉で平均27.65 µg/g、注射部位周辺部筋肉で1.26 µg/gとなり、腎臓、筋肉、血漿、小腸、肝臓でも検出されたが、脂肪は検出限界未満であった。投与後10日では、注射部位筋肉、注射部位周辺部筋肉および腎臓での各2/3例を除き全て検出限界となり、投与後20日以降は全試料で検出限界未満となった。⁽¹³⁾

約2ヶ月齢の子ウシにおいて、10 mg 投与群で投与後1日の血漿及び組織中濃度は注射部位筋肉で平均452.83 µg/g、次いで注射部位周辺部筋肉で99.67 µg/g、腎臓で1.27 µg/g、血漿に0.45 µg/g、筋肉で0.43 µg/g、小腸で0.39 µg/g、肝臓で0.10-0.43 µg/gであった。脂肪では1/3例で0.10-0.20 µg/gであり、2/3例は検出限界（0.05 µg/g）未満であった。投与後5日では、注射部位筋肉で平均5.88 µg/g、注射部位周辺部筋肉の1/3例の0.05-0.10 µg/gを除いて検出限界未満となり、投与後10日以降は全試料が検出限界未満となった。20 mg 投与群で、投与後1日の血漿及び組織中濃度は注射部位筋肉で平均1178.46 µg/g、次

いで注射部位周辺部筋肉で 254.42 µg/g、腎臓で 4.05 µg/g、肝臓で 1.36 µg/g、血漿で 1.33 µg/g、筋肉で 1.03 µg/g、小腸で 0.90 µg/g、脂肪で 0.10-0.40 µg/g であった。投与後 5 日には、注射部位筋肉で平均 926.52 µg/g、注射部位周辺部筋肉で 533.71 µg/g、血漿で 0.10-0.34 µg/g、腎臓で 0.10-0.29 µg/g であった。肝臓、筋肉及び小腸では 1/3 例が検出限界未満となり、脂肪は全例検出限界未満となった。投与後 10 日では、注射部位筋肉 (2/3 例) 及び注射部位周辺部筋肉 (1/3 例) を除いて検出限界未満となり、投与後 20 日以降は全試料が検出限界未満となった。⁽¹⁴⁾

約 2-4 ヶ月齢の子ウシ (ホルスタイン種、雄 15 頭/群) および 4-8 ヶ月齢のウシ (ホルスタイン種、雄 15 頭/群) にフロルフェニコール 20 および 40 mg/kg 体重を単回皮下投与し、投与後 1、5、30、40 及び 50 日にそれぞれ 3 頭の血漿、筋肉、腎臓、肝臓、注射部位直下筋肉、注射部位直下の周辺部筋肉、小腸及び脂肪中濃度を測定した。

約 2-4 ヶ月齢のウシにおいて、投与後 1 日の血漿及び組織中濃度は、20 及び 40 mg 投与群において注射部位直下筋肉でそれぞれ平均 41.44、17.61 µg/g、次いで周辺部筋肉で 5.60、6.29 µg/g、腎臓で 1.64、2.26 µg/g、血漿で 1.42、1.50 µg/g、肝臓で 1.18、1.25 µg/g、筋肉で 1.12、1.16 µg/g、小腸で 0.43、0.75 µg/g、脂肪で 0.18 および 0.15 µg/g であった。その後、両投与群において、投与後 5 日に脂肪中濃度が検出限界 (0.05 µg/g) 未満となり、投与後 30 日以降には全試料が検出限界未満となった。⁽¹⁵⁾

4-8 ヶ月齢のウシにおいて、投与後 1 日の血漿及び組織中濃度は、20 及び 40 mg 投与群において注射部位直下筋肉でそれぞれ平均 592、679 µg/g が、次いで周辺部筋肉で 143、26 µg/g、腎臓で 2.1、2.6 µg/g、筋肉で 0.78、1.9 µg/g、肝臓で 0.79、1.3 µg/g、血漿で 0.71、1.2 µg/g、小腸で 0.60、0.95 µg/g、脂肪で 0.22、1.0 µg/g であり、投与後 5 日においても全試料が検出された。投与後 30 日では、20 mg 投与群で筋肉 (2/3 例)、脂肪および血漿 (各 1/3 例) で、40 mg 投与群で血漿及び小腸 (各 2/3 例)、投与部位直下筋肉及び筋肉 (各 1/3 例) を除いて検出限界 (0.05 µg/g) 未満となり、投与後 40 日以降には、両投与群とも全試料が検出限界未満となった。⁽¹⁶⁾

2-2. 毒性試験

(1) 急性毒性試験

ICR 系マウスに対する 2000mg/kg 体重までの経口投与及び 3000mg/kg 体重までの腹腔内投与において雌雄とも死亡動物は認められなかった。⁽¹⁷⁾

SD ラットに対する 2000mg/kg 体重までの経口投与において雌雄とも死亡動物は認められなかった。腹腔内投与による LD₅₀ は雌で 1865mg/kg 体重、雄で 2047mg/kg 体重であった。⁽¹⁸⁾

(2) 亜急性毒性試験

【ラットを用いた 4 週間亜急性毒性試験】

SD ラット (雌雄各 10 匹/群) を用いた強制経口 (0、20、65、200mg/kg 体重/日) 投与による 4 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では全投与群に腹部膨満、軟便が認められた。これらは腸内細菌への影響に伴う二次的影響と考えられた。

体重変化では、200mg 投与群で増体重の低値が認められた。摂餌量では 200mg 投与群の雄で低値が認められた。

血液学的検査では 65mg 以上投与群の雄で MCV、MCH の高値、200mg 投与群で RBC の低値が認められた。雌では 200mg 投与群で MCV、MCH の高値、RBC の低値のほか、Hb、Ht の低値が認められた。

65mg 以上投与群の雄で好中球の低値とリンパ球の低値傾向による総白血球数の低値が認められ、このうち好中球については全投与群で低値を示した。雌では全投与群で好中球の低値が認められた。

血液生化学的検査では、いくつかのパラメーターで変動が認められたが雌雄で相関は見られなかった。

尿検査では、特に被験物質投与に起因する異常は認められなかった。

臓器重量では、200mg 投与群の雄で精巣の相対及び絶対重量、雌で顎下腺、心臓の相対及び絶対重量の低値が認められた。雌では更に 65 mg 以上投与群で肺の相対及び絶対重量の低値を示した。

剖検では、全ての投与群で盲腸の拡張、200mg 投与群で精巣の萎縮、軟化が認められた。

病理組織学的検査では、全投与群で顎下リンパ節の濾胞の萎縮、200mg 投与群の雌雄で回腸、盲腸、結腸の拡張、胸骨髄の細胞密度の低下、精細管の萎縮が認められた。65mg/kg 以上投与群の肺で認められた肺重量の変化は、対応する組織学的変化が認められなかったことから、投与に関連した変化ではないと考えられた。

これらの所見のうち盲腸の拡張は腸内細菌叢の変動、顎下リンパ節の所見は抗菌剤投与による二次的影響の可能性もあり、いずれも毒性影響ではないものと考えられた。

本試験における NOAEL は求められなかった。⁽¹⁹⁾

【マウスを用いた 13 週間亜急性毒性試験】

CD-1 マウス(雌雄各 10 匹/群) を用いた強制経口(0、10、50、200、400mg/kg 体重/日) 投与による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量、摂水量については特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査については実施されていない。

臓器重量では、400 mg 投与群の雄で肝臓の相対重量、雌で相対及び絶対重量の増加が認められた。

剖検では特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。

病理組織学的検査は、対照群と 400mg 投与群についてのみ実施されているが、特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 200mg/kg 体重/日であった。⁽²⁰⁾

【ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験】

SD ラット(雌雄各 20 匹/群) を用いた強制経口(0、10、30、100mg/kg 体重/日) 投与による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、各群半数については 13 週間の投薬後 4 週間無処置で飼育し、回復性が確認されている。

一般的な臨床症状観察、摂餌量については特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。

体重変化では 100mg 投与群の雌雄で体重増加量の低値が認められ、雄の 7 週、雌の 8 週以降では体重も低値を示した。

摂水量については 100mg 投与群の雄でわずかに高値であった。

血液学的検査では、100mg の雄で MCH、MCV の高値、RBC、Hb の低値が認められ、Hb を除き回復期間後も同様の傾向が認められた。

血液生化学的検査では、雄の全投与群と雌の 30mg 以上投与群で A/G 比の高値を伴う総たん白質の低値が認められた。

尿検査、眼検査に異常は認められなかった。

臓器重量では、100 mg 投与群の雄で精巣の絶対および相対重量の減少が認められた。

剖検では投与期間または休薬期間によらず、100mg 投与群で精巣の小型化と軟化が認められた。100mg 投与群で盲腸の拡張が認められ、10、30mg 投与群でも散見された。盲腸の拡張は休薬により回復した。

病理組織学的検査は、精巣と顎下リンパ節を除き対照群と 100mg 投与群についてのみ実施されている。投与期間または休薬期間によらず、100mg 投与群の全例で精子形成が停止した高度な精細管の萎縮が両側性に認められた。30mg 投与群では精巣に変化は認められなかったものの、精巣上体管内の脱落精上皮細胞の増加が認められた。この脱落細胞の増加は有意ではないが、10mg 投与群の回復期間においても認められた。全投与群で顎下リンパ節の濾胞の萎縮の頻度上昇が認められた。

これらの所見のうち盲腸の拡張は腸内細菌叢の変動、顎下リンパ節の所見は抗菌剤投与による二次的影響の可能性もあり、いずれも毒性影響ではないものと考えられた。

本試験における NOAEL は求められなかった。⁽²¹⁾

【イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験】

約 4 ヶ月半齢のビーグル犬 (雌雄各 4 頭/群)を用いたゼラチンカプセル経口(0、10、30、100mg/kg 体重/日)投与による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量については特に異常は認められなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、糞検査、眼検査は 6 週と 12 週時点で実施されている。

血液学的検査では、30mg 以上投与群の雌で RBC の低値、100mg 投与群の雌雄で Hb の低値傾向が認められ、12 週時点では対照群と比較して有意となった。100 mg 投与群で白血球数の減少が、雄では 6、12 週、雌では 12 週時点で認められた。好中球数の減少は、雄の全投与群、雌では 100 mg 投与群で認められた。骨髓検査では投与に関連した異常は 100mg/kg 群の雄 1 頭を除き認められなかった。この雄 1 頭では血液学的検査で好中球減少症が認められた。また、骨髓検査で骨髓の低形成部が散見され、赤芽球系細胞の減少による骨髓球／赤芽球比の増加が確認された。しかし、同個体の顆粒球系細胞に異常は認められず、骨髓巨核球数も十分見られた。血液生化学的検査では、12 週の 30mg 以上投与群の雄、100mg 投与群の 6 週の雌及び 12 週の雌で Tchol の高値が認められ、100mg 投与群の値は背景対照の上限であった。尿検査に異常は認められず、糞便中に潜血は認められなかった。

臓器重量では、雄の全投与群及び 30mg 以上投与群の雌で肝臓の相対及び絶対重量の高値が認められた。30mg 以上投与群の雄で腎臓の絶対及び相対重量の高値、100mg 投与群で精巣及び前立腺重量の低値が認められた。

剖検では特に異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、全投与群で小葉中間帯の肝細胞肥大とグリコーゲン野の拡大、小脳顆粒層及び脊髄の灰白質に空胞化が認められ、その頻度は 100mg 投与群の雌雄で有意に増加した。100mg 投与群の雄で精巣の精細管萎縮、腎臓の尿細管拡張が認められた。

本試験における NOAEL は決定できなかった。⁽²²⁾

約 6 ヶ月齢のビーグル犬 (雌雄各 4 頭/群)を用いたゼラチンカプセル経口(0、1、3、12mg/kg 体重/日)投与による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、対照群と 12mg 投与群についてはさらに 2 頭ずつに並行して投与し、投与期間終了後 4 週間の回復期間を設定し、休薬による回復状況が観察された。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼検査について

は特に異常は認められなかった。臓器重量では、12 mg 投与群の雄で肝臓の相対重量の増加が認められた。

剖検・病理組織学的検査では、特に異常は認められなかった。本試験における NOAEL は 3mg/kg 体重/日であった。⁽²³⁾

(3)慢性毒性・発がん性試験

【ラットを用いた 52 週間慢性毒性試験】

SD ラット(雌雄各 20 匹/群)を用いた強制経口(0、3、12、48mg/kg 体重/日)投与による 52 週間慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では、雌の 48mg 投与群で頭部や胴体の被毛の汚れが高頻度で認められた。

体重変化では、12mg 以上投与群の雄と 48mg 投与群の雌で体重増加量の減少が認められた。ただし、雄の体重増加量の減少の程度は逆転していた。また、12mg 投与群の雌でも体重増加量の減少傾向が認められたが有意差はなかった。

摂餌量、摂水量については特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。

血液学的検査は 12、25、38、50 週に実施されている。12mg 以上投与群の雄では全ての検査時に RBC の低値、MCH 及び MCV の高値が認められた。3mg 投与群の雄及び雌では検査時期によって異なる結果が得られ、あいまいであった。

血液生化学的検査については、12mg 以上投与群の雄及び 48mg 投与群の雌で総たん白質の低値が認められた。これは、A/G 比の高値を伴っていた。尿検査では特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。

眼検査では特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。

臓器重量では、12 mg 以上投与群の雄で精巣重量の減少、12mg 以上投与群の雌及び 48mg 投与群の雄で腎臓重量の高値が認められた。

剖検では、12mg 以上投与群で精巣の小型化および／あるいは軟化が認められた。

病理組織学的検査では、48mg 以上投与群で精細管の萎縮、12mg 以上投与群で精巣上体管内に脱落精上皮細胞の増加が認められた^f。本試験における NOAEL は 3mg/kg 体重/日であった。⁽²⁴⁾

【イヌを用いた 52 週間慢性毒性試験】

ビーグル犬(雌雄各 4 頭/群)を用いたゼラチンカプセル経口(0、1、3、12mg/kg 体重/日)投与による 52 週間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量、摂水量、眼科検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査については特に異常は認められなかった。

臓器重量では、12 mg 投与群の雄で肝臓の絶対及び相対重量の増加が認められた。

剖検・病理組織学的検査では、12mg 投与群の雌雄で胆嚢上皮に嚢胞性上皮過形成が認められ、3mg 投与群の雌 1 頭にも軽度な同様の所見が認められた。この胆嚢上皮の嚢胞性過形成は自然発生するのは稀であるが、抗生物質の長期あるいは高用量投与などで報告されていることから、3mg 投与で観察された軽度な同病変についても投与との関連性が示唆された。また、12 mg 投与群の雄で肝細胞のグリコーゲン変性が

^e 104 週の発がん性慢性毒性試験の中間処置群

^f 3mg/kg 投与群でも対照群に比べて、精細管萎縮の発現頻度に増加が認められる。

認められた。

本試験における NOAEL は 1mg/kg 体重/日であった。⁽²⁵⁾

【ラットを用いた 104 週間発がん性試験】

SD ラット(雌雄各 50 匹/群)を用いた強制経口(0、3、12、48mg/kg 体重/日)投与による 104 週間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では、雄の 12mg 以上投与群及び雌の 48mg 投与群で頭部や胴体の被毛の汚れの頻度の増加が認められた。

体重変化では、48mg 投与群の雌で体重増加量の減少が認められた。

摂餌量、摂水量については特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。

血液学的検査は 26、52、78、104 週に実施されている。赤血球と白血球に関連したいくつかのパラメーターに影響が認められ、48mg 投与群の雄で MCH、MCV の高値、雌で MCH、MCV の高値及び RBC の低値が認められた。白血球については総白血球数及び好中球の低値が用量相関性はないものの全ての投与群の雌雄で散発的に認められた。

血液生化学的検査は実施されていない。

剖検では雄の 12mg 以上投与群の肝臓で白色巣あるいは白色斑の発生頻度の増加、48mg 投与群で小型及び/又は軟化した精巣の発生頻度の増加が認められた。

病理組織学的検査では、12mg 以上投与群で両側性の精細管の萎縮、精巣上体細管内の脱落精上皮細胞の増加、48mg 投与群で両側性の精子形成欠如が認められた[§]。

肝臓における変異肝細胞巣の発生頻度の増加が 48mg 投与群で認められた。

精巣間細胞腫の頻度の増加が 48mg 投与群で認められ、同様の変化が 3mg 投与群でも認められたが、用量相関性がなく、背景病変の発生率との差はごくわずかであることから、発がん性を示すものではないと考えられた。

本試験における NOAEL は 3mg/kg 体重/日であった。⁽²⁶⁾

【マウスを用いた 2 年間発がん性試験】

CD-1 マウス(雌雄各 50 匹/群)を用いた強制経口(0、20、100、200mg/kg 体重/日)投与による 2 年間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量、飲水量、血液学的検査に差は認められなかった。

血液生化学的検査、尿検査、臓器重量については報告されていない。剖検・病理組織学的検査では、200mg 投与群で両側性の精巣胚上皮細胞の変性が認められ、精巣上体の精子数減少あるいは無精子を伴っていた。

発がん性については雄の 100mg 以上投与群で対照群と比較して肝細胞がんの頻度が増加したが、出現頻度自体は背景対照の範囲内であり、対照群における発生率が例外的に低かった(0/50)ことに起因する偶発的なものと判断された。これ以外には発がん性を疑わせる所見は認められず、マウスに発がん性は認められなかった。⁽²⁷⁾

[§] 有意差は認められないものの、3mg/kg 投与群でも対照群に比べて精巣に対する影響(精細管萎縮、精子形成欠如)の増加が認められている。

(4)繁殖毒性試験及び催奇形性試験

繁殖毒性試験及び催奇形性試験については以下の試験が行われた。なお、ウサギを用いた催奇形性に関する予備試験が実施されたが、0.5mg の低量投与においても腸内細菌叢への影響によるものと考えられる摂食量や体重の減少などの母体毒性が認められた。このことからウサギを用いた催奇形性試験は実施できなかった。

【ラットを用いた2世代繁殖試験】

SD ラットを用いた強制経口 (0、1、3、12 mg/kg 体重/日)投与による2世代繁殖試験が実施されている。被験物質の投与及び交配は次の要領で実施された。

F₀ 世代では、雌雄各28匹/群にフロルフェニコールのPEG400溶液を交配開始前10週から2回の繁殖(F_{1a}、F_{1b})期間中(交配・妊娠・授乳期間中)を通じて投与した。F_{1a}は離乳後に剖検に供され、F_{1b}動物は雌雄各24匹/群を選抜し、各投与量の被験物質を生後25日から2回の繁殖(F_{2a}、F_{2b})期間中を通じて投与した。

12mg 投与群で雄F₀及びF₁の精巢上体重量が有意に低かった。

12mg 投与群でF_{2b}の生後4-21日の生存率の低値が見られた。

本試験におけるNOAELは3mg/kg 体重/日であった。⁽²⁸⁾

【ラットを用いた催奇形性試験】

SD雌ラット(17~24匹/群)の妊娠6-17日に強制経口(0、4、12、40 mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験が実施されている。母動物は妊娠20日に帝王切開し、着床数、吸収胚数、胎児重量、胎児の外表及び骨格所見等について検討した。妊娠ラットについては、12mg 以上投与群で摂餌量の低下、飲水量の増加がみられた。

胎児については、40mg 投与群の胎児体重は低値を示した。胎児の奇形及び変異の発現率に投与群と対照群との間に差は認められなかった。

本試験におけるNOAELは4mg/kg 体重/日であった。⁽²⁹⁾

【マウスを用いた催奇形性試験】

CD-1雌マウス(29~30匹/群)の妊娠6-15日に強制経口(0、1、3、60 mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験が実施されている。母動物は妊娠17.5日に帝王切開し、着床数、吸収胚数、胎児重量、胎児の外表・内臓及び骨格所見等について検討した。

妊娠マウス及び胎児において投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

本試験におけるNOAELは60mg/kg 体重/日と考えられた。⁽³⁰⁾

(5) 遺伝毒性試験

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

【遺伝毒性に関する各種試験の結果一覧】

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
不定期 DNA 合成試験 (UDS 試験) ⁽³¹⁾	ラット初代培養肝細胞	10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500µg/mL	陰性 ¹
前進突然変異試験 (Tk) ⁽³²⁾	L5178Y マウスリンパ腫細胞	125, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000 mg/mL(-S9)	陰性 ²
		125, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000 mg/mL(+S9)	不明確 ³
		62.5, 125, 250, 500, 1000, 1500, 2000mg/mL(+S9)	陰性 ⁴
染色体異常試験 (33)	CHO 培養細胞(CHO-10 B4)	313, 625, 1250, 2500 µg/mL (+S9 ; 6h)	陽性 ⁵ (2500µg/mL)
		62.5, 125, 625, 1250 µg/mL(-S9 ; 24h)	陰性 ⁶

1 5000µg/mL では細胞致死。

2 全用量で中程度から高度の細胞毒性(成長率約 14-38%)。2000µg/mL 以上では一部溶解せず。

3 125、1000、2000µg/mL で変異の出現率が増加したが、用量依存性、再現性なし。2000µg/mL 以上では一部溶解せず。

4 2000µg/mL では完全には溶解せず。500µg/mL 以上で用量相関的な生育阻害が認められた。(500 で 35%—2000 で 69%)

5 2500µg/mL で細胞毒性。1250µg/mL 以上で一部溶解せず。

6 625µg/mL 以上で細胞毒性。1250µg/mL 以上で一部溶解せず。

in vivo 試験

試験	対象	投与量	結果
染色体異常試験 ⁽³⁴⁾	マウス骨髄	500、1667、5000mg/kg 単回経口	陰性
		500、1667、5000mg/kg 5 日間経口	陰性
小核試験 ⁽³⁵⁾	マウス骨髄	5000mg/kg 単回経口	陰性

上記のように、*in vitro* の CHO 培養細胞を用いた染色体異常試験において、+S9 の条件下で細胞毒性の認められる用量でのみ陽性所見が認められたので、この陽性所見は細胞毒性に起因する非特異的な影響と考えられる。*in vivo* の骨髄染色体異常試験、小核試験はいずれも陰性であった。これらのことから、フロルフエニコールは生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないものと考えられる。

(6)一般薬理試験⁽³⁶⁾

【中枢神経系への作用】

一般行動(マウス;Irwin 法)では、100mg/kg 体重以上の腹腔内投与で一過性の自発運動の低下、300mg 以上では反応性の低下、3000mg では非特異的な全身抑制による鎮静状態が見られ(特に異常は認められず)、一部の動物が死亡した。急性脳波(ウサギ;電極測定)については1000mg/kg 体重の腹腔内投与、体温(ウサギ)については1000mg/kg 体重までの皮下投与において影響は認められなかった。

【心臓、循環系への作用】

ウレタン麻酔されたウサギに腹腔内投与した時の呼吸数、血圧、心拍数が測定されている。呼吸数については300mg/kg 体重では影響は認められなかったが、1000mg では減少傾向を示した。血圧については300mg では60分まで下降傾向、1000mg では180分まで下降が認められた。心拍数については1000mg で減少が認められた。

【体性神経系への作用】

前脛骨筋収縮(ウレタン麻酔ウサギ;直接・関節電気刺激)では1000mg/kg 体重までの腹腔内投与において影響は認められなかった。

【末梢自律神経系への作用】

ウサギの摘出回腸を用いた自動運動(10^{-4} g/mL まで)、モルモット摘出回腸を用いた単独及びアセチルコリン、ヒスタミン、塩化カリウムによる収縮への影響(10^{-4} g/mL まで)、モルモットの摘出精管を用いたノルエピネフリン、塩化カリウムによる収縮への影響(10^{-4} g/mL まで)には影響を与えなかった。

小腸輸送能(マウス;炭末輸送)では3000mg/kg 体重、ウサギの子宮運動(バルーン挿入による圧変化測定)、ウサギの瞳孔測定では1000mg/kg 体重までの皮下投与で影響は認められなかった。

なお、ウサギの瞳孔測定に用いられた動物のうち300mg で1例、1000mg で2例がその後14日までの間に死亡した。

【血液凝固系に対する作用】

ウサギ血液の凝固(傾斜法)、ウサギ血液の溶血性(肉眼比色)では 5×10^{-4} g/mLの濃度までのフロルフエニコールの影響を受けなかった。

【その他】

その他、尿所見(ラット;尿量、pH、糖、潜血、たん白質、ケトン体、浸透圧、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 測定)が3000mg/kg までの皮下投与で検討され、用量相関性は定かでなかったが、1000mg の投与で K^+ の減少が認められ、有意差はないが Na^+ の増加傾向が認められた。その他のパラメーターには投与による影響は認められなかった。

(7) 微生物学的影響に関する特殊試験

①ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)⁽³⁷⁾

ヒトの腸内細菌叢の構成する細菌種のうち、*Bifidobacterium* spp.、*Bacteroides fragilis*、*Escherichia coli*、*Eubacterium* spp.、*Clostridium* spp.、*Streptococcus* spp.、*Fusobacterium* spp.、*Lactobacillus* spp.、*Proteus* spp.、*Peptostreptococcus* spp.について各 10 菌株を用いて測定されたフロルフェニコールに対する(幾何平均)MIC₅₀ は 0.36(*Fusobacterium* spp.)～11.9(*Proteus* spp.)μg/mL であった。

菌名	MIC ₅₀ (μg/mL)	MIC ₉₀ (μg/mL)	MIC 幾何平均(μg/mL)
<i>E. coli</i> (aerob.)	5.9	12.5	8.6
<i>E. coli</i> (anaerob.)	4.7	12.5	7.0
<i>Bifidobacterium</i> spp.	1.7	4.6	2.8
<i>B. fragilis</i>	2.3	3.8	2.8
<i>Eubacterium</i> spp.	1.06	3.1	1.5
<i>Clostridium</i> spp.	2.1	3.6	2.3
<i>Streptococcus</i> spp.	4.0	4.0	4.0
<i>Fusobacterium</i> spp.	0.36	0.78	0.5
<i>Lactobacillus</i> spp.	0.8	1.5	1.2
<i>Proteus</i> spp.	11.9	25.1	17.1
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	0.39	0.75	0.6

②臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)

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調査(平成18年9月～平成19年3月実施)

ヒト臨床分離株等に対するフロルフェニコールの約 5×10⁶CFU/spot における MIC が調べられている。

菌名	株数	最小発育阻止濃度(μg/mL)	
		Florfenicol	
		MIC ₅₀	範囲
通性嫌気性菌			
<i>E. coli</i>	30	4	4-8
<i>Enterococcus</i> species	30	4	4
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> species	30	2	1-4
<i>Fusobacterium</i> species	20	0.25	0.12-1
<i>Bifidobacterium</i> species	30	2	0.5-4
<i>Eubacterium</i> species	20	4	2-4
<i>Clostridium</i> species	30	8	4-16
<i>Peptococcus</i> species/ <i>Peptostreptococcus</i> species	30	1	0.5-2
<i>Prevotella</i> species	20	1	0.5-1
<i>Lactobacillus</i> species	30	4	2-16
<i>Propionibacterium</i> species	30	1	1

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 0.25μg/mL であった。

(8)ヒトにおける知見について

【ヒトにおけるフロルフェニコールの毒性影響】 (38), (39), (40)

フロルフェニコールのヒト臨床における使用歴はないが、類縁物質のクロラムフェニコールでは再生不良性貧血が重篤な副作用として指摘されており、生化学的メカニズムは解明されていないもののニトロ基が関与するとされている。フロルフェニコールはニトロ基を有しておらず、毒性試験における骨髓像も再生不良性貧血を示唆する所見は得られていない。

(9)その他

フロルフェニコールは、FDA、EMEA において評価され、ADI が設定されている。

急性、亜急性・慢性(ラット 13、52 週、イヌ 13 週、52 週)、発がん性(マウス、ラット 2 年)、二世世代繁殖試験(ラット)、催奇形性試験(ラット)、遺伝毒性試験(*in vitro* ; 前進突然変異(マウスリンフォーマ)、染色体異常(CHO)、UDS(ラット初代肝細胞)、*in vivo* ; 染色体異常(マウス骨髓)、小核(マウス骨髓)が検討されている。遺伝毒性・発がん性ともないとされ、毒性学的 ADI として 10 μ g/kg 体重/日(FDA : ラット二世世代繁殖試験の NOAEL 1mg/kg 体重に安全係数 100、EMEA : イヌ 52 週慢性毒性試験の NOAEL 1mg/kg 体重/日に安全係数 100)が設定されている。微生物学的影響については、EMEA は *Fusobacterium* の MIC₅₀ の 0.36 μ g/mL に CVMP の算定式を適用して、3 μ g/kg 体重/日の微生物学的 ADI を設定している。なお、FDA では評価実施当時 25 μ g/kg 体重/日以下のものについては微生物学的影響を考慮していない。

3. 食品健康影響評価について

【繁殖毒性及び催奇形性について】

繁殖毒性及び催奇形性については、ラットの 2 世代繁殖試験、ラット、マウスの催奇形性試験が実施されている。ラットの繁殖試験において 12mg/kg 体重の投与量で雄に精巣上体重量の低値と F_{2b} 児に生存率の低値が認められ NOAEL は 3mg/kg 体重/日であった。また、ラット、マウス共に催奇形性は認められていない。

【遺伝毒性/発がん性について】

遺伝毒性については、*in vitro* の染色体異常試験 において陽性の所見が認められたが、これは細胞毒性に起因すると考えられた。また、*in vivo* の染色体試験及び小核試験においてはいずれも陰性であった。以上のことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられる。

発がん性試験については、ラットを用いた 104 週間発がん試験及びマウスを用いた 2 年間発がん試験が実施された。いずれも発がん性を示唆する所見は認められなかった。

【毒性学的影響のエンドポイントについて】

報告された各種の毒性試験において、最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、イヌの 52 週間慢性毒性試験において 3mg 投与群の雌で認められた胆嚢上皮の嚢胞性過形成であった。本試験においては 12mg 投与群の雌雄で胆嚢上皮に嚢胞性上皮過形成が認められ、3mg 投与群の雌 1 頭にも軽度な同様の所見が認められた。この胆嚢上皮の嚢胞性過形成は自然発生するのは稀であるが、抗生物質の長期あるいは高用量投与などで報告されていることから、3mg 投与で観察された軽度な同病変についても投与との関連性があると判断された。NOAEL は 1mg/kg 体重/日であった。

【微生物学的影響のエンドポイントについて】

微生物学的影響については現時点で利用可能なものは *in vitro* の MIC₅₀ のみであり、国際的コンセンサスが得られている手法として、MICcalc*1 に 0.0013µg/mL、結腸内容物に 220g、細菌が暴露される分画に 40%、ヒト体重に 60kg を適用し、VICH の算出式に基づいて微生物学的 ADI を算出した場合は下記の通りとなる。

$$\text{ADI (mg/kg 体重/日)} = \frac{0.0013 \text{ (mg/mL)} \times 220\text{(g)}}{0.4^{*2} \times 60 \text{ (kg)}} = 0.012 \text{ mg/kg 体重/日}$$

*1 MICcalc: 薬剤がその菌に対して活性を有する関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90% 信頼限界の下限值

*2 VICH ガイドラインでは、結腸内微生物が利用する用量分画を 1 尿中に排泄された (経口投与量の) 分画として計算できる。ヒトのデータが好ましいが、なければ反すう動物以外のデータが要求される。ラットにおける経口投与試験で、約 60% が尿中に排泄された知見をもとに推定した。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

フロルフェニコールについては、生体にとって問題となる遺伝毒性及び発がん性を示さないと考えられることから、ADI を設定することが可能である。

毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、イヌを用いた 52 週間慢性毒性試験における NOAEL は 1mg/kg 体重/日であった。この知見から ADI を設定するにあたっては、種差 10、個体差 10 の安全係数 100 を考慮し、毒性学的データからは ADI 0.01mg/kg 体重/日と設定される。一方、微生物学的影響から導かれた ADI は 0.012 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的データから導かれる ADI と微生物学的データから導かれる ADI を比較すると、毒性学的データから導かれた値がより小さくなることから、フロルフェニコールの残留基準を設定するに際しての ADI としては、0.01mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

【食品健康影響評価について】

以上より、フロルフェニコール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。

フロルフェニコール 0.01mg/kg 体重/日

ただし、本評価については、薬剤耐性菌を介した影響について考慮する必要があり、これについてはなお検討中である。

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。

4. 参考資料

- (1) 物理的、科学的試験に関する資料 ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (2) 物理化学的性状、規格及び検査方法 ナガセ医薬品(株) 社内資料
- (3) EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, FLORFENICOL SUMMARY REPORT (1)
- (4) A Study of the Absorption, Distribution and Excretion of Total Radioactivity Following Multiple Oral Administration of [¹⁴C]-Sch 25298 to Rats (IRI Report No. 4553) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (5) Profiling of radioactivity in tissues and excreta from rats following multiple oral administration of 14C-Sch25298 to Rats (IRI Report No. 4533 addendum 1) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (6) Distribution, metabolism and excretion of 14C-Sch25298 in Rats following seven consecutive oral dose (Study Notebook No 26495) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (7) 豚にフロルフェニコールを筋肉内投与するときの吸収・分布・代謝及び排泄 ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (8) 牛にフロルフェニコールを筋肉内投与するときの吸収・分布・代謝及び排泄 ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (9) Florfenicol pharmacokinetics studies in cattle (Report number A-27558) (STUDY NO. 2220E-61-V95-273-01) ナガセ医薬品株式会社, ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (10) Florfenicol Plasma Concentration Analysis Report (Schering-Plough Research Institute Study Number:02193) (SPAH Study Number:E02-041-01) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (11) DA-313-S の豚における残留性試験 (試験番号 G-92-4) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (12) DA-313-S の豚における残留性試験 (試験番号 92-005) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (13) DA-313-S の牛における残留性試験 (試験番号 TK920131, 京動研 813 号) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (14) DA-313-S の牛における残留性試験 (試験番号 92-162R) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (15) TSA-011 の牛における残留試験 (試験番号 TK030029, 京動研 2094 号) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (16) TSA-011 の牛における残留試験 (試験番号 03-124) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (17) フロルフェニコールのマウスを用いた経口及び腹腔内投与による急性毒性試験 (試験番号 87-146, 147) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (18) フロルフェニコールのラットを用いた経口及び腹腔内投与による急性毒性試験 (試験番号 87-144, 155) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (19) Sch25298 4 WEEK ORAL TOXICITY STUDY IN RATS (IRI Report No. 3911) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (20) 13 week oral dose range finding in Mice (IRI Report No. 5092) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (21) Sch25298 13 WEEK ORAL TOXICITY STUDY IN RATS WITH 4 WEEK RECOVERY PRIOD (IRI Report No. 5111) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (22) 13 week oral toxicity study in Dogs (IRI Report No. 5149) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (23) 13 week oral toxicity study in Dogs with a 4 week recovery period (IRI Report No. 7062) ナガセ医薬品株式会社 社内資料

- (24) 104 week oral toxicity study in Rats with 52week interim kill: Results from the 52 week kill Rats (IRI Report No. 5793) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (25) 52 week oral toxicity in Dogs (IRI Report No. 7455) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (26) 104 week oral chronic toxicity study in Rats with 52 week interim kill: Results from the 104 week kill Rats (IRI report No. 7357) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (27) 104 week oral carcinogenicity study in Mice (IRI Report No. 7375) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (28) Two generations reproduction study in Rats (IRI Report No. 7086)
ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (29) Sch25298 TERATOGENICITY STUDY IN RATS (IRI Report No. 5277) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (30) SCH 25298 TERATOGENICITY STUDY IN MICE: A RETEST WITH LOWER DOSES (IRI Report No. 7381) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (31) EVALUTION OF SCH-25298 IN THE PRIMARY RAT HEPATOCYTE UNSCHEDULED DNA SYNTHESIS ASSAY FINAL REPORT (LBI PROJECT NO. 20991) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (32) MUTAGENICITY EVALUATION OF SCH 25298 IN THE MOUSE LYMPHOMA FORWARD MUTATION ASSAY FINAL REPORT (LBI PROJECT NO. 20989) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (33) Chromosomal aberrations assay with Chinese hamster ovary cells in vitro (IRI Report No. 4703)
ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (34) FDA: NADA Number:141-063
- (35) Micronucleus test in bone marrow of CD-1 Mice (IRI Report No. 4738) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (36) フロルフェニコールの一般薬理試験 最終報告 (試験番号 87-139) ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (37) ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF FLORFENICOL AGAINST HUMAN GUT MICROFLORA (Report Number:A-26701)
ナガセ医薬品株式会社 社内資料
- (38) CHLORAMPHENICOL (WHO FOOD ADDITIVES SERIES: 53)
- (39) グットマン・ギルマン 薬理書 第10版; 廣川書店 (2003)
- (40) 抗菌薬使用の手引き ; 協和企画 (2004)

本評価書中で使用した略号については次にならった

ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン／グロブリン比
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中薬物濃度－時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック AMP
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C _{max}	最高血(漿)中濃度
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(→AST)
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(→ALT)
Hb	ヘモグロビン(血色素)
HPLC	高速液体クロマトグラフ
Ht	ヘマトクリット
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MCV	平均赤血球容積
MBC	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
RBC	赤血球数
PEG	ポリエチレングリコール
T _{1/2}	消失半減期
TBIL	総ビリルビン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐容一日摂取量
TG	トリグリセリド
TLC	薄相クロマトグラフ
T _{max}	最高血(漿)中濃度到達時間