

動物用医薬品評価書

ブロナポールを有効成分とする
孵化を目的としたニシン目魚類の魚卵用消毒剤及びカレイ目魚類稚魚の薬浴用消毒剤
(パイセス)

(第4版)

2013年10月

食品安全委員会

目次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	4
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	5
○要約	6
I. 評価対象動物用医薬品の概要	7
1. 主剤	7
(1) 有効成分の一般名	7
(2) 化学名	7
(3) 分子式	7
(4) 分子量	7
(5) 構造式	7
2. 効能・効果	7
3. 用法・用量	8
(1) ニシン目魚類の魚卵	8
(2) カレイ目魚類の稚魚（魚体重 50 g 以下）	8
4. 添加剤等	8
5. 開発の経緯及び使用状況	8
II. 安全性に係る知見の概要	10
1. ヒトに対する安全性	10
2. 薬物動態及び残留性について	10
(1) 成魚における薬浴試験	10
(2) にじますにおける薬物動態試験	11
(3) 魚卵における残留性について	11
(4) ひらめ稚魚における薬物動態及び残留試験	11
(5) 実験動物における薬物動態（ラット、イヌ及びウサギ）〈参考試験〉	14
(6) プロノポールの中における分解について〈参考試験〉	15
3. 魚類に対する安全性	16
(1) にじます卵における安全性試験	16
(2) 大西洋さけ（Atlantic salmon）卵における安全性試験	16
(3) ひらめ稚魚における安全性試験	16
(4) ひらめ稚魚における臨床試験	17
4. 魚卵消毒用途における再審査期間の安全性に関する研究報告	17
5. 魚卵消毒用途における再審査期間の承認後の副作用報告	17
III. 食品健康影響評価	18

▪ 別紙：検査値等略称	19
▪ 参照	20

〈審議の経緯〉

第1版関係：承認関係

- 2004年 9月 3日 農林水産大臣から輸入承認に係る食品健康影響評価について要請
(16 消安第 4650 号)、厚生労働大臣から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 0903001 号)、関係資料の接受 (参照 1~14)
- 2004年 9月 9日 第 61 回食品安全委員会 (要請事項説明)
- 2004年 9月 21日 第 18 回動物用医薬品専門調査会
- 2004年 10月 20日 第 19 回動物用医薬品専門調査会
- 2004年 11月 4日 第 68 回食品安全委員会 (報告)
- 2004年 11月 4日 から 2004年 12月 1 日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2004年 12月 8日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2004年 12月 9日 第 73 回食品安全委員会
(同日付で農林水産大臣及び厚生労働大臣に通知)
- 2004年 12月 9日 厚生労働大臣から農林水産大臣へ動物用医薬品の承認に係る意見について回答 (残留基準は設定は不要)
- 2005年 2月 14日 動物用医薬品輸入承認

第2版関係：承認事項変更関係

- 2007年 10月 12日 厚生労働大臣から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 1012005 号)、関係資料の接受 (参照 15~21)
- 2007年 10月 18日 第 211 回食品安全委員会 (要請事項説明)
- 2007年 11月 27日 第 85 回動物用医薬品専門調査会
- 2008年 1月 8日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2008年 1月 10日 第 221 回食品安全委員会
(同日付で厚生労働大臣に通知)

第3版関係：再審査関係

- 2012年 11月 20日 農林水産大臣から再審査に係る食品健康影響評価について要請
(24 消安第 3932 号)、関係資料の接受 (参照 22~24)
- 2012年 11月 26日 第 455 回食品安全委員会 (要請事項説明)
- 2013年 1月 7日 第 459 回食品安全委員会 (審議)
(同日付で農林水産大臣に通知)

第4版関係：承認事項変更関係

- 2013年 8月 6日 厚生労働大臣から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0805第1号）、関係資料の接受（参照25
～34、36～38）
- 2013年 8月 19日 第485回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2013年 9月 4日 第157回動物用医薬品専門調査会
- 2013年 9月 30日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2013年 10月 7日 第490回食品安全委員会（審議）
（同日付で厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006年6月30日まで)

寺田 雅昭 (委員長)
寺尾 允男 (委員長代理)
小泉 直子
坂本 元子
中村 靖彦
本間 清一
見上 彪

(2009年6月30日まで)

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

*: 2007年2月1日から

** : 2007年4月1日から

(2012年7月1日から)

熊谷 進 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)
三森 国敏 (委員長代理)
石井 克枝
上安平 冽子
村田 容常

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

(2005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
大野 泰雄 林 眞
菅野 純 藤田 正一
嶋田 甚五郎
鈴木 勝士
津田 洋幸

(2007年2月11日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 津田 修治
明石 博臣 寺本 昭二
江馬 眞 長尾 美奈子
大野 泰雄 中村 政幸
小川 久美子 林 眞
渋谷 淳 藤田 正一
嶋田 甚五郎 吉田 緑
鈴木 勝士

(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 眞
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

(2008年3月31日まで)

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 眞
下位 香代子 山崎 浩史
津田 修治 吉田 緑
寺岡 宏樹

(2012年7月1日から)

山手 丈至 (座長*)
小川 久美子 (座長代理*)
石川 さと子 松尾 三郎
石川 整 山口 成夫
寺本 昭二 山崎 浩史
天間 恭介 吉田 敏則**
頭金 正博 渡邊 敏明
能美 健彦
福所 秋雄
舞田 正志

*: 2012年8月22日から

** : 2012年10月1日から

要 約

「ブロナポール」(CAS No.52-51-7)を有効成分とする孵化を目的としたニシン目魚類の魚卵用消毒剤及びカレイ目魚類稚魚の薬浴用消毒剤(パイセス)について動物用医薬品承認申請書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

主剤であるブロナポールは、十分高用量まで試験された *in vivo* のマウス骨髄を用いた小核試験で陰性であることから、ブロナポールは生体にとって問題となるような遺伝毒性を発現しないものと考えられる。ラットを用いた2年間の飲水投与試験において発がん性は認められていない。魚卵中にブロナポールが蓄積される可能性は低く、たとえ薬剤の魚卵中への分配が生じたとしても魚卵の容積が小さいこと、成魚による薬浴試験及びひらめ稚魚における残留試験の結果から魚体における蓄積性が認められないこと、また、いずれも食品として供されるまでには少なくとも数か月を要することから、所定の用法・用量で使用される限りにおいて、主剤であるブロナポール及び代謝物が食品中に残留する可能性は無視できると考えられる。

溶解補助剤としてジプロピレングリコールモノメチルエーテルが含有されているが、これについても SIDS INITIAL ASSESSMENT PROFILE において、遺伝毒性、発がん性、発生毒性及び蓄積性のいずれもないと評価されている。

これらのことから、本薬剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 主剤 (参照 1~4、15、22、25)

主剤は、ブロンポールである。本製剤 1 L 中にブロンポールが 500 g 含まれている。

(1) 有効成分の一般名

和名：ブロンポール

英名：Bronopol

(2) 化学名

IUPAC

和名：2-ブromo-2-ニトロプロパン-1,3-ジオール

英名：2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol

CAS(No. 52-51-7)

和名：2-ブromo-2-ニトロ-1,3-プロパンジオール

英名：2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol

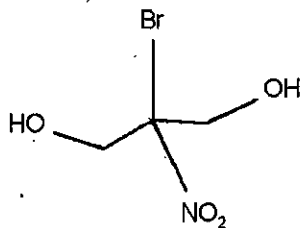
(3) 分子式

$C_3H_6BrNO_4$

(4) 分子量

199.99

(5) 構造式



2. 効能・効果 (参照 1、15、22、25)

(1) ニシン目魚類：孵化を目的とした魚卵消毒（ミズカビ類(*Saprolegnia diclina*) の寄生繁茂の蔓延抑制）である。

(2) カレイ目魚類：稚魚（魚体重 50 g 以下）の *Tenacibaculum maritimum* に起因する滑走細菌症による死亡率の低下である。

3. 用法・用量 (参照 1、15、22、25)

(1) ニシン目魚類の魚卵

①連日薬浴

受精後 24 時間から発眼卵¹として検卵するまで飼育水 1 L 当たり本製剤 0.1 mL を均一に混ぜ (プロノポールとして 50 mg/L)、1 日 1 回 30 分間連日薬浴する。²

②間歇薬浴

受精後 24 時間から発眼卵として検卵するまで飼育水 1 L 当たり本製剤 0.2 mL を均一に混ぜ (プロノポールとして 100 mg/L)、1 日 1 回 30 分間で隔日若しくは 3 日に 1 度の頻度で薬浴する。³

(2) カレイ目魚類の稚魚 (魚体重 50 g 以下)

海水 1 t 当たり本製剤 80 mL を均一に混ぜ (プロノポールとして 40 mg/L)、1 日 1 回 2 時間で 3 日間薬浴する。⁴

4. 添加剤等 (参照 1、15、22、25)

溶解補助剤として、ジプロピレングリコールモノメチルエーテルが使用されている。

5. 開発の経緯及び使用状況 (参照 5～9、15、23、25、26)

プロノポールは 1960 年代にイギリスで開発され、シャンプーや化粧品等の保存剤、レジオネラ対策としての冷却水塔消毒、さらには様々な工業用途等でも消毒や保存の目的で広範囲に使用されてきている。医薬品分野では感染創用の外用薬として使用されている。プロノポールは細菌に対して広域の抗菌スペクトルを有する。糸状菌や酵母に対しての効果はそれよりやや弱いとされる。(参照 5)

¹ 受精卵が育ち、黒い粒の形をした目がある卵をさす。

² 流水下 (滴下式) で使用する場合には、以下の計算式によって投薬時間及び本製剤必要量を算出すること。なお、本製剤はあらかじめ飼育水で十分に希釈してから薬浴に用いることとし、使用後は 30 分以内に飼育水槽中の飼育水が完全に入れ替わるように飼育水槽への流量を調整することとされている。

$$\text{投薬時間 (分)} = \frac{\text{飼育水槽容量 (L)}}{\text{流量 (L/分)}} + 30$$

$$\text{本製剤必要量 (mL)} = \frac{\{\text{流量 (L/分)} \times \text{投薬時間 (分)}\} + \text{滴下用水槽及び配管容量 (L)}}{10}$$

³ 本製剤はあらかじめ飼育水で十分に希釈してから薬浴に用いることとし、使用後は 30 分以内に飼育水槽中の飼育水が完全に入れ替わるように飼育水槽への流量を調整することとされている。

⁴ 薬浴の際には、本製剤を添付のメジャーカップを用いて少なくとも 10 L 以上の海水の入ったバケツ内に加え、十分攪拌する。水槽に注入されている海水を止め、水位を下げた後、希釈液が均一になるように複数の場所からバケツ内の薬液を飼育水面に向けて緩やかに流布し、エアレーション装置等により速やかに浴槽内の本製剤の濃度を均一にするとされている。

ブロナポールの作用は静菌的であるが、高濃度では殺菌的に作用する。作用機作について完全には解明されていないが、ブロナポールがチオール基と触媒的に反応してジスルフィドを生成させることにより、生体内に広く存在するグルタチオンやチオール基を活性の発揮に必要とする酵素を阻害するとする仮説が提唱されている。微生物の細胞膜に存在するチオール基を有する脱水素酵素が阻害されると細胞膜構造が変化し、細胞内容物が溶出し、場合によっては溶菌するとされている。(参照 6~8) また、この過程で生じる酸素ラジカルが抗菌活性に関与するとする報告もある。(参照 9)

ニシン目魚類の養殖においては卵の採取、受精、孵化、育成を養殖場の管理下で行っているが、受精から孵化までの過程で発生した死卵にミズカビが寄生し、周囲の生卵に蔓延して発眼率・孵化率に大きな影響を及ぼす。このため、定期的に魚卵を消毒し、ミズカビの発生を抑制する操作が行われている。これまで消毒剤としてマラカイトグリーンが汎用されてきたが、毒性が強く、発がん性や催奇形性が指摘されているため、世界的に食用動物への使用を制限する方向にある。これに代わる薬剤が探索された結果、近年になってブロナポールが効果、安全性ともに高いとして、欧州を中心に切り替えが進んでいる。(参照 5)

T. maritimum に起因する滑走細菌症は、我が国ではまだい、くろだい、ひらめ等の海水魚の種苗生産場や養殖場で発生する主要な細菌病の一つである。*T. maritimum* は環境条件の悪化(水質の悪化、過密養殖等)により発症が惹起される条件性病原菌と考えられている。本症は、種苗導入後の3月から6月にかけて体長3から10 cmの稚魚に多発し、尾びれ、背びれの崩壊、欠損、皮膚のびらん及び壊死が発現し、悪化すると皮膚の潰瘍化を呈する。ひらめにおける滑走細菌症のほとんどは導入間もない稚魚に発生すると報告⁵もある。現在、カレイ目魚類の稚魚の滑走細菌症には、ニトロフラン系の合成抗菌剤であるニフルスチレン酸ナトリウムが用いられているが、発がん性や変異原性が懸念されている。そのため、これに代わる医薬品が探索された結果、浸漬による生残状況及び対象病原体に対するMICが検討され、本製剤の有効性及び安全性が確認された。(参照 25、26)

本製剤は、1999年にデンマーク領フェロー諸島で承認されて以来、EU諸国、カナダ、チリ等の12か国で承認・販売されている。(参照 23)

孵化を目的としたニシン目魚類の魚卵消毒を効能効果として2005年2月に初めて我が国で動物用医薬品として輸入承認された。(参照 15)その後、2008年5月に用法・用量の追加による事項変更が承認され、2013年1月に輸入承認取得から所定(6年間⁶)の期間が経過したため、再審査が行われた。(参照 23) 今般、カレイ目魚類の稚魚への適用拡大に基づく効能・効果及び用法・用量の追加による事項変更の承認申請が行われたため食品健康影響評価の要請がなされたものである。(参照 25)

⁵ 大分県海洋水産研究センター調査研究報告 No.2 (1999) : 1980年から1997年にかけて大分県で発生した養殖海産魚介類の疾病の報告による。

⁶ ブロナポールを有効成分とする動物用医薬品は承認されていなかったため、新有効成分含有動物用医薬品として再審査期間は6年とされた。

II. 安全性に係る知見の概要

1. ヒトに対する安全性 (参照 3、8、10、11、16)

プロノポールについては、*in vitro* の培養ヒトリンパ球を用いた試験で弱い染色体異常誘発性が認められたが、十分高用量まで試験された *in vivo* のマウス骨髄を用いた小核試験で陰性であることから、プロノポールは生体にとって問題となるような遺伝毒性を発現しないものと考えられる。また、ラットを用いた2年間の飲水投与試験において発がん性は認められていない。(参照 3、8、10) EUにおいては1998年にサケ科の魚卵の殺菌に限定して使用が認められ(参照 8)、その後2001年には魚卵だけでなく魚類全般に適用範囲が拡大されている。なお、国内に輸入される魚の中ではさけがプロノポールの使用対象となるが、使用は幼魚の期間だけであり、成魚に残留する可能性は少ない。EMEAではADIを20 µg/kg 体重/日と評価しているが、いずれの場合も使用法と残留性を考慮してMRLの設定は不要としている。(参照 10) 一方、米国では家畜や飼料作物に対する使用実態はないが、EPAが評価を行っており、RfDとして0.1 mg/kg 体重/日を設定している。(参照 3) JECFA及びJMPRにおいては評価されていない。

また、溶解補助剤としてジプロピレングリコールモノメチルエーテルが含有されているが、これについてもSIDS INITIAL ASSESSMENT PROFILE (参照 11)において、遺伝毒性、発がん性、発生毒性及び蓄積性のいずれもないと評価されている。

2. 薬物動態及び残留性について

(1) 成魚における薬浴試験 (参照 10、12、27)

大西洋さけ (Atlantic salmon)⁷ (稚魚 60尾、平均体重 32.4 g) を 21.91 mg/L の¹⁴C 標識プロノポールに30分間薬浴させ、その後0、6、12、24時間後及び3、7日後の放射活性を測定した。測定のサンプルには切り身(頭部、尾部及びひれを除去し、皮を含め筋肉を骨から切り離したもの)を均質化して用いた。サンプル中の放射活性は0、6及び12時間後ではそれぞれ0.259、0.266及び0.255 µg eq/gであった。その後減少し、24時間後に0.194 µg eq/g、3日後に0.102 µg eq/g及び7日後には0.039 µg eq/gとなった。

2-ブromo-2-ニトロエタノール、2-ニトロプロパン-1,3-ジオール及びトリス(ヒドロキシメチル)ニトロメタンの標準品を用いてプロノポールの代謝物について検討が行われた。各時点の組織抽出物をHPLCで測定したところプロノポール及び2-ブromo-2-ニトロエタノールは検出されなかった。主要代謝物は2-ニトロプロパン-1,3-ジオール又はトリス(ヒドロキシメチル)ニトロメタンである可能性が示唆された。

⁷ ニシン目に属する。(参照 28)

(2) にじますにおける薬物動態試験 (参照 25、27)

にじます⁸(10尾/時点/群)を5又は15°Cの水温のプロノポール製剤の溶液(20 mg/L)に1日1回30分間14日間薬浴させ、薬浴終了0、6及び24時間後の可食組織中の2-ニトロプロパン-1,3-ジオール及びトリス(ヒドロキシメチル)ニトロメタンの濃度を測定した。

2-ニトロプロパン-1,3-ジオールの測定結果を表1に示した。

トリス(ヒドロキシメチル)ニトロメタンは、いずれの時点においても定量限界(0.05 mg/kg)未達の痕跡程度検出されるのみか、または検出されなかったことから、プロノポールの主要な代謝物は2-ニトロプロパン-1,3-ジオールと考えられた(検出限界: 0.002 mg/kg)。

表1 にじますにおけるプロノポール製剤14日間薬浴後の可食部組織中
2-ニトロプロパン-1,3-ジオール濃度 (mg/kg)

水温 (°C)	薬浴終了後時間 (時間)		
	0	6	24
5	0.154	0.168	0.161
15	0.238	0.223	0.184

(3) 魚卵における残留について (参照 3、13~15、17、18)

魚卵におけるプロノポールの残留性試験は実施されていない。

一般に魚卵の卵膜は物質透過性が低く、プロノポールのn-オクタノール/水分配係数が1.3であることを考慮すると、薬浴中に卵中へのプロノポールの分配が起こったとしても、これが高度に濃縮・蓄積される可能性は低い。さらに、プロノポールで消毒された魚卵を孵化・育成させ、これが成魚として食品に供されるまでには少なくとも数か月⁹を要することから、成魚の薬浴試験で認められた魚体可食部におけるプロノポールの減衰を考慮すると、孵化を目的としたさけ・ます、あゆ等のニシン目魚類の魚卵の消毒に用いる限りにおいて、プロノポールが食品中に残留することはないと考えられる。(参照 13)

なお、プロノポールの水溶液は通常的环境条件下では2日程度の半減期で光分解を受けると考えられており、n-オクタノール/水分配係数からも、適切に希釈される限りにおいて、食用魚介類が二次汚染される恐れはないと考えられる。(参照 3、14)さらに、活性炭による吸着除去の有効な方法が注意事項に付記されている。(参照 15、17、18)

(4) ひらめ稚魚における薬物動態及び残留試験 (参照 25、31、32)

試験【II.2.(1)及び(2)】の結果から、ニシン目魚類とカレイ目魚類の違いはあるが、いずれも投与経路が同じであることから、ひらめにおいてもプロノポールは代謝され

⁸ ニシン目に属する。(参照 28)

⁹ ニシン目魚類の魚卵消毒を目的として本製剤を使用した場合、本製剤使用後から出荷に適した大きさとなるには、通常、最短でも6か月程度を要するとされている。(参照 29、30)

て 2-ニトロプロパン-1,3-ジオールを生成していると考えられたため、ひらめの筋肉を用いた確認試験が実施された。

ひらめの筋肉に既知濃度のプロノポールを添加し、11種の抽出溶媒で抽出法の検討を行ったところ、いずれの溶媒においても抽出物中にプロノポールは検出されなかった。また、プロノポールを添加していない試料を水で希釈し上澄みにプロノポール(0.1 ppm)を添加した場合でも、プロノポールは検出されなかった。同様の条件で添加量を10 ppmとした場合ではわずかに検出されたが、生体由来物質を含まない水にプロノポールを添加した場合に添加量に応じたプロノポールが検出されていることから、プロノポールが生体由来物質と接触することで何らかの変化が起こることが考えられ、生体においてプロノポールは残留しないと考えられた。

① 薬物動態試験 (参照 25、31)

養殖ひらめ(投与開始前体重:平均 42.0 g、12尾/時点/群)を海水 1 t 当たり本製剤を 80 mL 溶解させた人工海水中に 2 時間、単回薬浴させ、薬浴終了 24 時間後までの血漿、筋肉、肝臓及び腎臓中の 2-ニトロプロパン-1,3-ジオール及びトリス(ヒドロキシメチル)ニトロメタンの濃度を LC/MS/MS により測定した。

結果を表 2 に示した。2-ニトロプロパン-1,3-ジオールは、薬浴終了 24 時間後までの全時点で検出され、筋肉、肝臓及び血漿ではいずれの時点においても大きな変動はみられず、腎臓では薬浴終了後 24 時間で減少する傾向がみられた。一方、トリス(ヒドロキシメチル)ニトロメタンは薬浴終了 30 分後までのいずれの試料からも検出されなかった。

以上のことから、プロノポールの主要代謝物は 2-ニトロプロパン-1,3-ジオールと考えられた。

表 2 ひらめ稚魚におけるプロノポール製剤の単回薬浴後の組織中 2-ニトロプロパン-1,3-ジオール及びトリス(ヒドロキシメチル)ニトロメタン濃度(μg/g)

測定対象物質	試料*	投与後時間(時間)					
		15分	30分	1	3	6	24
2-ニトロプロパン-1,3-ジオール	肝臓	0.179	0.165	0.167	0.160	0.190	0.243
	腎臓	0.447	0.399	0.420	0.419	0.355	0.162
	筋肉	0.275	0.266	0.311	0.300	0.263	0.293
	血漿	0.237	0.225	0.243	0.293	0.248	0.255
トリス(ヒドロキシメチル)ニトロメタン	肝臓	<0.005	<0.005	—	—	—	—
	腎臓	<0.005	<0.005	—	—	—	—
	筋肉	<0.005	<0.005	—	—	—	—
	血漿	<0.005	<0.005	—	—	—	—

定量限界: 0.005 μg/g —: 分析せず

*: 筋肉、肝臓及び血漿は各時点 6 尾ずつプールして 2 試料、腎臓は 12 尾すべてをプールして 1 試料とした。

② 残留試験 (参照 25、32)

養殖ひらめ (投与開始前体重：平均 46.8 g、24 尾/時点/群) を海水 1 t 当たり本製剤を 80 mL 溶解させた人工海水 (プロノポールとして 40 mg/L) 中に 3 日間薬浴 (1 日 1 回 2 時間) させ、薬浴終了 14 日後までの筋肉、肝臓及び腎臓中の指標残留物 (2-ニトロプロパン-1,3-ジオール) 濃度を LC/MS/MS により測定した。

結果を表 3 に示した。薬浴終了 14 日後にはいずれの組織中濃度も定量限界近傍となった。

表 3 ひらめ稚魚におけるプロノポール製剤 3 日間薬浴後の組織中
指標残留物濃度及び半減期* (µg/g)

試料	薬浴終了後経過日数 (日)							半減期 (日)
	6 時間	12 時間	1	2	4	7	14	
肝臓	0.761	0.598	0.483	0.405	0.200	0.064	0.006	1.99
腎臓	1.074	1.066	0.951	0.644	0.287	0.073	0.006	1.80
筋肉	0.827	0.833	0.611	0.436	0.235	0.081	0.006	1.96

検出限界：0.0015 µg/g 定量限界：0.005 µg/g

*：3 試料の平均濃度、1 試料は 8 尾分をプールしたもの。

③ 残留試験 (参照 25、32)

養殖ひらめ (投与開始前体重：平均 47.9 g、24 尾/時点/群) を海水 1 t 当たり本製剤を 80 mL 溶解させた人工海水中に 3 日間薬浴 (1 日 1 回 2 時間) させ、薬浴終了 14 日後まで計 8 時点における筋肉、肝臓及び腎臓中の指標残留物 (2-ニトロプロパン-1,3-ジオール) 濃度を LC/MS/MS により測定した。

結果を表 4 に示した。

表 4 ひらめ稚魚におけるプロノポール製剤 3 日間薬浴後の組織中
指標残留物濃度及び半減期* (µg/g)

試料	薬浴終了後経過日数 (日)							半減期 (日)
	6 時間	12 時間	1	2	4	7	14	
肝臓	0.754	0.609	0.580	0.460	0.227	0.064	0.010	2.19
腎臓	0.737	0.566	0.495	0.385	0.239	0.098	0.009	2.26
筋肉	0.852	0.762	0.768	0.526	0.270	0.091	0.008	2.04

*：3 試料の平均濃度、1 試料は 8 尾分をプールしたもの。

検出限界：0.0015 µg/g 定量限界：0.005 µg/g

以上の試験 [II. 2. (4) ②及び③] 結果から、指標残留物の半減期は約 2 日であり、薬浴終了 14 日後に定量限界近傍から 0.01 µg/g のプロノポールの指標残留物が検出されているものの、統計学的な解析を行った結果では、0.01 µg/g 以下となる期間は最長で薬浴終了 17 日後 (肝臓) と推定された。また、本製剤を使用するひらめは体重 50 g 以下の稚魚であり、成魚として食用に供されるまでに、一般的に数か月から 1 年以上 (体

重 500 g 以上) ¹⁰を要することから、本製剤を所定の用法・用量で使用される限りにおいて、主剤であるプロノポール及び代謝物が食品中に残留する可能性は無視できると考えられる。

(5) 実験動物における薬物動態(ラット、イヌ及びウサギ) <参考試験> (参照 34、35)

ラット (CFY 系、雌雄) に ¹⁴C 標識プロノポールを胃挿管による単回強制経口投与 (1 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。また、別の試験ではイヌ (ビーグル種、雌雄、体重 8~10 kg) に ¹⁴C 標識プロノポール (2 mg/匹) 及び非標識プロノポール (6~8 mg/匹) を混じてゼラチンカプセルにより単回経口投与し、薬物動態試験が実施された。

両被験動物において、放射活性は速やかに吸収、排泄され、主要な排泄経路は尿中であつた。ラットでは、放射活性濃度は投与後 2 時間以内に C_{max} に達し、 α 相の $T_{1/2}$ は 5 時間であつた。投与後 24 時間で、尿中に 80.9% が、糞 (投与後 48 時間) 中に 5.2% が、呼気中に 8.4% が排泄された。¹⁴C 標識プロノポール及びその代謝物は均一に分布した。イヌでは、血漿中放射活性濃度は投与後 0.5~2 時間に C_{max} に達し、 α 相の $T_{1/2}$ は約 4 時間であつた。放射活性は、投与後 12 時間で 63.9% までが尿中に排泄された。投与後 5 日間で尿中に 81.1% が、糞中に 3.1% が排泄された。放射活性は、投与 1.5 時間後及び投与 6 時間後の両時点とも腎臓に最も多く分布した。

両被験動物において、投与後 24 時間の尿中からは 5 種類の代謝物が検出され、主要代謝物は 2-ニトロプロパン-1,3-ジオールであつた。この主要代謝物は血漿中から検出された唯一の放射活性物質であり、投与 4 時間後までの血漿中放射活性の 45~65% を占めたが、投与 24 時間後には 10~20% に減少した。血漿中からは未変化体は検出されなかつた。(参照 34)

ラット (SD 系、雌雄各 4~5 匹) に ¹⁴C 標識プロノポールを単回強制経口投与 (10 又は 50 mg/kg 体重) 又は、非標識プロノポールを 14 日間強制経口投与後に ¹⁴C 標識プロノポールを単回強制経口投与し、薬物動態試験が実施された。

被験物質はよく吸収され、速やかに尿中経路で排泄された。投与 (最終投与) 168 時間後のカーカス及び組織中放射活性は投与量の 3% 未満であつた。吸収及び排泄の結果を表 5 に示した。雌雄に大きな違いはみられなかつた。プロノポールは代謝されており、尿中に未変化体はみられなかつた。尿中には多種の極性代謝物がみられ、主要代謝物は 2-ニトロプロパン-1,3-ジオールであつた。一部の放射活性は呼気中の炭酸ガスとして排泄された。(参照 34)

¹⁰ カレイ目魚類稚魚の薬浴消毒を目的として本製剤を使用した場合、本製剤使用後から出荷に適した大きさとなるには、通常、最短でも 6 か月程度を要するとされている。(参照 29、30、33)

表 5 ラットにおける ^{14}C 標識プロノポール経口投与後の吸収、排泄及び分布 (%)

項目	投与量 (mg/kg 体重)					
	10*		50*		10**	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
吸収	76.6	75.4	76.0	85.6	94.8	92.4
尿中排泄 (0~24 時間)	68.2	70.1	64.2	74.7	73.5	64.3
尿中排泄 (0~168 時間)	71.6	73.1	67.6	78.6	83.2	80.9
糞中排泄	11.4	10.2	14.4	11.7	3.1	3.5
呼気中 CO_2	4.1	1.8	7.4	6.2	8.8	9.0
カーカス及び組織中残留	0.9	0.5	1.0	0.8	2.9	2.6

*: 単回経口投与

** : 非標識プロノポールを 14 日間経口投与 (10 mg/kg 体重) 後、翌日に ^{14}C 標識プロノポールを単回経口投与 (10 mg/kg 体重)。

ラット (Wistar 系、6~7 匹) に ^{14}C 標識プロノポールを経皮又は静脈内投与 (10 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。

経皮投与では、投与放射活性の約 40% が吸収され、約 19% が尿、糞及び呼気中に排泄された。投与後 24 時間に尿及び呼気中から回収された放射活性は、経皮投与でそれぞれ 15% 及び 2%、静脈内投与でそれぞれ 74% 及び 9% であった。TLC により調べた結果、尿中には 3 種の代謝物がみられた。両投与経路において未変化体プロノポールは検出されなかった。(参照 35)

ラット (CFY 系、6 匹) 及びウサギ (NZW 種、4 匹) の剃毛した背部に ^{14}C 標識プロノポールのアセトン溶液を経皮投与 (ラット : 1.2 mg/kg 体重、ウサギ : 0.72 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。

ラットでは、放射活性は経皮的にいくらか吸収され、投与後 24 時間の尿中に約 11% が排泄された。大部分の放射活性は投与部位に残留し、カーカス中の放射活性は、投与 6、12、24、48、72 及び 96 時間後で 3% 未満であった。ウサギでは、大部分の放射活性は投与部位に残留し、カーカス中の放射活性は、投与 6、12、24 及び 48 時間後のいずれの時点においても 5% 未満であった。(参照 34)

(6) プロノポールの水中における分解について<参考試験> (参照 6、8、36)

プロノポールの加水分解の速度は濃度依存性を示し、pH 7 及び 9 で迅速に分解し、濃度が低くなるにつれて加水分解速度が増加した。0.01~0.1% のプロノポール濃度では、加水分解半減期は 25°C で 1 日以内であった。pH 4 ではプロノポールは安定であるが、時間経過に伴い一定の速度で加水分解を示し、加水分解速度の濃度依存性は大きくなかった。

プロノポールは、塩基性水溶液中で四つの分解経路が同定されている。そのうち三つの経路では、ホルムアルデヒドの脱離反応を初発とし、2-ブロモ-2-ニトロエタノールを経て分解した。これらの反応において、2-ブロモ-2-ニトロエタノールの生成過程は可逆的であることが示された。一方、残り一つの分解経路は不可逆反応であり、臭化水素の β 脱離後、ホルムアルデヒドとの縮合と水素化を経て、トリス (ヒドロキシメ

チル) ニトロメタンを生成した。

〔Ⅱ.2.(1)～(6)〕から、プロノポールは酵素的及び非酵素的に分解されることが示唆された。

3. 魚類に対する安全性

(1) にじます卵における安全性試験 (参照 19、21)

にじます卵 (200 個/群) を用いて連日薬浴試験 (プロノポールとしての濃度 : 0、50、150 又は 250 mg/L、時間 : 1 時間) が実施された。その結果、投与によると思われる異常は認められなかったとされている。(参照 19) 2 箇所の試験場でにじます卵 (10,000 個/群、9,680 個/群) を用いて間歇薬浴試験 (プロノポールとして 100 mg/L の濃度で 1 日 30 分間、2～3 日毎の薬浴) が実施された。その結果、投与によると思われる異常は認められなかったとされている。(参照 21)

(2) 大西洋さけ (Atlantic salmon) 卵における安全性試験 (参照 20)

大西洋さけ (Atlantic salmon) 卵 (200 個/群) を用いて連日薬浴試験 (プロノポールとしての濃度 : 0、50、150 又は 250 mg/L、時間 : 50 mg/L 投与群は 30 分又は 1 時間、150 及び 250 mg/L 投与群は 1 時間) が実施された。その結果、投与によると思われる異常は認められなかったとされている。

(3) ひらめ稚魚における安全性試験 (参照 25、37)

養殖ひらめ (当歳魚、投与開始時体重 : 12.4～12.8 g、55 尾/群) を、本製剤を溶解させた人工海水中に 3 日間薬浴 (1 日 1 回 2 時間) させ、安全性試験が実施された。薬浴させる人工海水は、1 t 当たりで、常用量投与群では本製剤を 80 mL、3 倍量投与群では本製剤を 240 mL 溶解したものを、対照群では蒸留水を 80 mL 混合したものを用了。

その結果、試験期間中の死亡例はみられなかった。

一般状態では、両投与群において薬浴直後から遊泳活発状態がみられたが、常用量投与群では第 1 から 3 回薬浴開始のそれぞれ 25 分後、10 分後及び 15 分後に、3 倍量投与群では第 1 から 3 回薬浴開始のそれぞれ 36 分後、30 分後及び 20 分後には回復した。3 倍量投与群では一部の供試魚に体色の黒化が観察されたが、最終薬浴終了 2 日後にはみられなかった。

両投与群で、最終薬浴終了後 1 から 4 日間にわたり一過性の摂餌量低下がみられたものの、体重に有意差はみられなかった。

剖検では、3 倍量投与群で最終薬浴終了 1 日後の 5 例中 2 例で体表に軽度の点状赤色斑が、病理組織学的検査では、3 倍量投与群で最終薬浴終了 1 日後の 5 例中 2 例で軽度の炎症性細胞浸潤及びびらんがみられたのみであった。最終薬浴終了 14 日後には異常はみられなかった。

以上より、本製剤の常用量の使用において、投与によると思われる異常は認められなかったとされている。

(4) ひらめ稚魚における臨床試験 (参照 25、38)

養魚場 2 施設 (A 及び B) で滑走細菌症と診断されたひらめ計 1,400 尾を用いて、本製剤の 3 日間薬浴による臨床試験が実施された。各施設における試験方法を表 6 に示した。

表 6 ひらめ稚魚における臨床試験方法

施設	群	使用薬剤	薬浴用量	薬浴期間	供試数 (尾)
A	対照薬	ニフルスチレン酸 ナトリウム製剤	海水 1 t 当たり対照薬を 100 g 溶解する	2 時間/日で 3 日間	400
	被験薬	本製剤	海水 1 t 当たり被験薬を 80 mL 溶解する	2 時間/日で 3 日間	400
B	対照	なし			300
	被験薬	本製剤	海水 1 t 当たり被験薬を 80 mL 溶解する	2 時間/日で 3 日間	300

被験薬投与群において、最終薬浴終了後 4 日間の摂餌状況がやや悪かったが、最終薬浴終了 5 日後より回復した。死亡率及び体重に本製剤投与に起因する影響はみられず、安全性に問題はないと考えられた。

4. 魚卵消毒用途における再審査期間の安全性に関する研究報告 (参照 24)

調査期間 (2005 年 1 月～2010 年 12 月) 中に、MEDLINE を含むデータベース検索の結果、本製剤及びプロノポールの安全性に関して 6 文献が検索された。1 文献を除き化粧品及び化学製品の保存料のヒトへの接触アレルギー性皮膚炎に関する報告で、保存料の 1 品目としてプロノポールがあげられた。当該 1 文献は本製剤を使用した場合の魚卵の細菌数及び生存率に関するものであった。いずれも本製剤の安全性を否定するものではなかった。

5. 魚卵消毒用途における再審査期間の承認後の副作用報告 (参照 24)

さけ及びにじますの卵に対する本製剤の安全性について、調査期間 (2005 年 2 月～2011 年 2 月) 中に全国 4 施設、34 群の調査が実施された結果、本製剤の投与に起因する有害事象は認められなかった。

また、使用成績以外の有害事象報告のうち本製剤の投与との因果関係がある可能性のあるものは 1 症例 1 件で、その内容は使用者のアレルギー反応、湿疹及び結膜炎であった。この有害事象については、本製剤の使用上の注意に記載されている。

Ⅲ. 食品健康影響評価

ブロナポールを有効成分とする孵化を目的としたニシン目魚類の魚卵用消毒剤及びカレイ目魚類稚魚の薬浴用消毒剤（パイセス）について食品健康影響評価を実施した。

孵化を目的としたニシン目魚類の魚卵用消毒剤として使用する場合、本製剤は魚卵が発眼するまでの間の消毒に、1日1回30分間で連日又は隔日若しくは3日に1度、薬浴されるのみである。また、カレイ目魚類の稚魚の滑走細菌症による死亡率の低下を目的として使用する場合、本製剤の使用対象となるひらめは体重50g以下の稚魚である。魚卵中にブロナポールが蓄積される可能性は低く、たとえ薬浴中に薬剤の魚卵中への分配が生じたとしても魚卵の容積が小さいこと、成魚による薬浴試験及びひらめ稚魚における残留試験の結果から魚体における蓄積性が認められていないこと、また、いずれも食品として供されるまでには少なくとも数か月を要することから、所定の用法・用量で使用される限りにおいて、主剤であるブロナポール及び代謝物が食品中に残留する可能性は無視できると考えられる。

溶解補助剤としてジプロピレングリコールモノメチルエーテルが含有されているが、これについても SIDS INITIAL ASSESSMENT PROFILE において遺伝毒性、発がん性、発生毒性及び蓄積性のいずれもないと評価されている。

これらのことから、ブロナポールを有効成分とする孵化を目的としたニシン目魚類の魚卵用消毒剤及びカレイ目魚類稚魚の薬浴用消毒剤（パイセス）が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。

〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
C _{max}	最高濃度
EMA	欧州医薬品審査庁
EPA	米国環境保護庁
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
JMPR	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法
MIC	最小発育阻止濃度
MRL	最大残留基準値
RfD	参照用量
T _{1/2}	消失半減期
TLC	薄層クロマトグラフィー

〈参照〉

1. ノバルティスアニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品輸入承認申請書 パイセス (未公表)
2. ノバルティスアニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品輸入承認申請書 パイセス 添付資料: 物理的・化学的試験に関する資料 (未公表)
3. US-EPA: REREGISTRATION ELIGIBILITY DECISION BRONOPOL
4. ILO: International Chemical Safety Cards 0415 2-BROMO-2-NITRO-1,3-PROPANEDIOL
5. ノバルティスアニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品輸入承認申請書 パイセス 添付資料: 起源または開発の経緯等に関する資料 (未公表)
6. The activity and safety of the antimicrobial agent bronopol (2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol); Bryce DM et al., (1978) J. Soc. Cosmet. Chem. 29, p.3-24
7. Some aspects of the mode of action of antibacterial compound bronopol (2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol). ; Stretton RJ et al., (1973) J. Appl. Bacteriol. 36, p.61-76
8. EMEA: BRONOPOL SUMMARY REPORT(1), 1998
9. Antibacterial Action of 2-Bromo-2-Nitropropane-1,3-Diol (Bronopol); Shepherd JA et al., (1988) Antimicrob. Agents Chemother. 32(11), p.1693-1698
10. EMEA: BRONOPOL SUMMARY REPORT(2), 2001
11. OECD: SIDS INITIAL ASSESSMENT PROFILE Dipropylene Glycol Methyl Ether
12. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品輸入承認申請書 パイセス 添付資料: (¹⁴C)-プロノポール: サケ (*Salmo salar*) における残留漸減試験 (未公表)
13. ノバルティスアニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品輸入承認申請書 パイセス 添付資料: 残留試験に関する資料 (未公表)
14. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品輸入承認申請書 パイセス 添付資料: パイセス®としてのプロノポールの環境毒性に関する資料 (未公表)
15. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品製造販売承認事項変更承認申請書 パイセス (未公表)
16. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品製造販売承認事項変更承認申請書 パイセス 添付資料: 残留性試験 (未公表)
17. 独立行政法人さけ・ます資源管理センター, 活性炭によるパイセス溶液中プロノポール除去に関する検討, 2006
18. 独立行政法人さけ・ます資源管理センター, 活性炭によるパイセス溶液中プロノポールの除去効果に関する検討, 2006
19. UNIVERSITY OF STIRING MARINE ENVIRONMENTAL RESEARCH LABORATORY, TOLERANCE OF EGGS OF THE RAINBOW TROUT, ONCORHYNCHUS MYKISS, TO BRONOPOL (2-BROMO-2-NITROPROPANE-1,3-DIOL) FORMULATED AS PYCEZE, 2000
20. UNIVERSITY OF STIRING MARINE ENVIRONMENTAL RESEARCH LABORATORY, TOLERANCE OF EGGS OF THE ATLANTIC SALMON,

SALMO SALAR L., TOBRONOPOL(2-BROMO-2-NITROPROPANE-1,3-DIOL)
FORMULATED AS PYCEZE®, 2001

21. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, NV-03-05 のニシン目魚類卵に寄生するミズカビに対する臨床試験-追加用法用量の検討- (試験番号 NAH0601) , 2007
22. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品再審査申請書 パイセス (未公表)
23. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品再審査申請書 パイセス 添付資料: 使用成績等の調査概要 (未公表)
24. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品再審査申請書 パイセス 添付資料: 効能又は効果及び安全性についての調査資料 (未公表)
25. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品承認事項変更承認申請書 パイセス (未公表)
26. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品承認事項変更承認申請書パイセス 添付資料: 起源又は開発の経緯 (未公表)
27. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品承認事項変更承認申請書パイセス 添付資料: 参考資料 (未公表)
28. 農林水産省: 水産用医薬品の使用について, 第 26 報, 平成 25 年 2 月 28 日現在
29. 水産海洋ハンドブック, 竹内俊郎, 中田英明ら編, 株式会社生物研究社 2008 年, p.302~307, p.310~313
30. 最新水産ハンドブック, 島一雄, 関 文威ら編, 株式会社講談社 2012 年, p.177~179, p.196~200, p.284~294
31. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品承認事項変更承認申請書パイセス 添付資料: 吸収等試験 (未公表)
32. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品承認事項変更承認申請書パイセス 添付資料: 残留試験 (未公表)
33. 栽培漁業, 文部科学省著, 実教出版株式会社 2003 年, p.245~250
34. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 孵化を目的としたニシン目魚類のプロノポールを有効成分とする魚卵用消毒剤 (追加資料①)
35. The biotransformation and disposition of bronopol following topical and intravenous administration to rats. ; H.S.Buttar and R.H.Downie, (1980) Toxicology Letters. 6, p.101-107
36. The Reaction of Geminal Bromonitroalkanes with Nucleophiles. Part1. The Decomposition of 2-Bromo-2-nitropropane-1,3-diol ('Bronopol') in Aqueous Base. ; Brian C. Challis and Taher I. Yousaf, (1991) J. CHEM. SOC. PERKIN TRANS. p.283-286
37. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品承認事項変更承認申請書パイセス 添付資料: 安全性試験 (未公表)
38. ノバルティス アニマルヘルス株式会社, 動物用医薬品承認事項変更承認申請書パイセス 添付資料: 臨床試験 (未公表)