

動物用医薬品評価書

フロルフェニコール  
(第 2 版)

2015年8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	4
○ 食品安全委員会肥料・飼料等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. 用途	7
2. 有効成分の一般名	7
3. 化学名	7
4. 分子式	7
5. 分子量	7
6. 構造式	7
7. 開発の経緯及び使用状況等	7
II. 安全性に係る知見の概要	8
1. 薬物動態試験	8
(1) 薬物動態試験 (ラット)	8
(2) 薬物動態試験 (豚)	8
(3) 薬物動態試験 (牛)	9
2. 残留試験	10
(1) 残留試験 (豚)	10
(2) 残留試験 (牛)	11
3. 急性毒性試験	13
(1) 急性毒性試験	13
4. 亜急性毒性試験	13
(1) 4週間亜急性毒性試験 (ラット)	13
(2) 13週間亜急性毒性試験 (マウス)	14
(3) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)	14
(4) 13週間亜急性毒性試験 (イヌ)	15
5. 慢性毒性及び発がん性試験	16
(1) 52週間慢性毒性試験 (ラット)	16
(2) 52週間慢性毒性試験 (イヌ)	17
(3) 104週間発がん性試験 (ラット)	17
(4) 2年間発がん性試験 (マウス)	18
6. 繁殖毒性試験及び発生毒性試験	18
(1) 二世代繁殖試験 (ラット)	18

(2) 発生毒性試験 (ラット) .....	19
(3) 発生毒性試験 (マウス) .....	19
7. 遺伝毒性試験 .....	19
8. 一般薬理試験 .....	20
(1) 中枢神経系への作用 .....	20
(2) 心臓、循環系への作用 .....	20
(3) 体性神経系への作用 .....	21
(4) 末梢自律神経系への作用 .....	21
(5) 血液凝固系に対する作用 .....	21
(6) その他 .....	21
9. 微生物学的影響に関する特殊試験 .....	21
(1) ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) .....	21
(2) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) .....	22
10. ヒトにおける知見について .....	22
(1) ヒトにおけるフロルフェニコールの毒性影響 .....	22
11. その他 .....	22
III. 食品健康影響評価について .....	23
1. 繁殖毒性及び発生毒性について .....	23
2. 遺伝毒性/発がん性について .....	23
3. 毒性学的影響のエンドポイントについて .....	23
4. 微生物学的影響のエンドポイントについて .....	23
5. 食品健康影響評価 .....	24
<別紙1: 代謝物略称> .....	24
<別紙2: 検査値等略称> .....	25
<参照> .....	26

## <審議の経緯>

### 第1版関係

- 2005年 9月 13日 厚生労働大臣から残留基準の設定に係る食品健康影響評価(第24条第1項関連)について要請(厚生労働省発食安第0913007号)、関係書類の接受
- 2005年 9月 15日 第111回食品安全委員会(要請事項説明)
- 2005年 11月 29日 暫定基準告示(参照1)
- 2006年 7月 18日 厚生労働大臣から残留基準の設定に係る食品健康影響評価(第24条第2項関連)について要請(厚生労働省発食安第0718021号)、関係書類の接受
- 2006年 7月 20日 第153回食品安全委員会(要請事項説明)
- 2007年 1月 12日 厚生労働大臣から残留基準の設定に係る食品健康影響評価(第24条第2項関連)について要請(厚生労働省発食安第0112020号)
- 2007年 1月 15日 関係書類の接受
- 2007年 1月 18日 第174回食品安全委員会(要請事項説明)
- 2007年 3月 13日 第71回動物用医薬品専門調査会
- 2007年 4月 27日 第73回動物用医薬品専門調査会
- 2007年 5月 30日 第75回動物用医薬品専門調査会
- 2007年 6月 22日 第77回動物用医薬品専門調査会
- 2007年 7月 12日 第198回食品安全委員会(報告)
- 2007年 7月 12日 から8月10日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2007年 8月 28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
- 2007年 8月 30日 第204回食品安全委員会  
(同日付け厚生労働大臣に通知)

### 第2版関係

- 2015年 4月 23日 厚生労働大臣から残留基準の設定に係る食品健康影響評価(第24条第1項関連)について要請(厚生労働省発食安0421第1号)、関係書類の接受
- 2015年 4月 28日 第559回食品安全委員会(要請事項説明)
- 2015年 6月 26日 第104回肥料・飼料等専門調査会
- 2015年 8月 12日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2015年 8月 18日 第573回食品安全委員会  
(同日付け厚生労働大臣に通知)

<食品安全委員会委員名簿>

第1版関係

(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

(2006年12月20日まで)

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

(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

第2版関係

(2015年6月30日まで)

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 洌子  
村田 容常

(2015年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長)  
山添 康 (委員長代理)  
熊谷 進  
吉田 緑  
石井 克枝  
堀口 逸子  
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>

第1版関係

(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  
明石 博臣  
江馬 眞

大野 泰雄  
菅野 純  
嶋田 甚五郎  
鈴木 勝士  
津田 洋幸

寺本 昭二  
長尾 美奈子  
中村 政幸  
林 眞  
藤田 正一

(2007年2月13日まで)

三森 国敏 (座長)  
井上 松久 (座長代理)  
青木 宙  
明石 博臣  
江馬 眞  
大野 泰雄

小川 久美子  
渋谷 淳  
嶋田 甚五郎  
鈴木 勝士  
津田 修治  
寺本 昭二

長尾 美奈子  
中村 政幸  
林 眞  
藤田 正一  
吉田 緑

(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

明石 博臣

江馬 眞

小川 久美子

渋谷 淳

嶋田 甚五郎

鈴木 勝士

津田 修治

寺本 昭二

長尾 美奈子

中村 政幸

林 眞

平塚 明

藤田 正一

吉田 緑

<食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿>

第2版関係

(2013年10月1日から)

津田 修治 (座長\*)

今井 俊夫 (座長代理\*)

荒川 宜親

池 康嘉

石原 加奈子

今田 千秋

桑形 麻樹子

小林 健一

下位 香代子

高橋 和彦

戸塚 恭一

中山 裕之

細川 正清

宮島 敦子

宮本 亨

山田 雅巳

山中 典子

吉田 敏則

\*: 2013年10月10日から

<第104回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿>

唐木 英明

## 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)」(CAS No. 73231-34-2) について、食品健康影響評価を実施した。なお、今回、薬物動態試験 (牛) 及び残留試験 (牛) が提出された。

評価に用いた試験成績は薬物動態 (ラット、豚、牛)、残留 (豚、牛)、急性毒性 (ラット、マウス)、亜急性毒性 (ラット、マウス、イヌ)、慢性毒性 (イヌ、ラット)、発がん性 (ラット、マウス)、繁殖毒性及び発生毒性 (ラット、マウス)、遺伝毒性並びに微生物学的影響に関する試験成績等である。

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* の染色体異常試験及び小核試験においては全て陰性であったことから、生体にとって問題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ことから、一日摂取許容量 (ADI) を設定することが可能であると判断した。

各毒性試験の NOAEL の最小値はイヌを用いた 52 週間慢性毒性試験の 1 mg/kg 体重/日であった。毒性学的一日摂取許容量 (ADI) はこれを根拠として、安全係数 100 で除した 0.01 mg/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 0.012 mg/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 0.01 mg/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り、これについては検討中である。

## I. 評価対象動物用医薬品の概要

### 1. 用途

合成抗菌剤

### 2. 有効成分の一般名

和名：フロルフエニコール

英名：Florfenicol

(参照 2、3)

### 3. 化学名

CAS (No. 73231-34-2)

英名：2,2-Dichloro-*N*[(1*S*,2*R*)-1-(fluoromethyl)-2-hydroxy-2-[4-(methylsulfonyl)-phenyl]ethyl]-acetamide

(参照 4)

### 4. 分子式

$C_{12}H_{14}Cl_2FNO_4S$

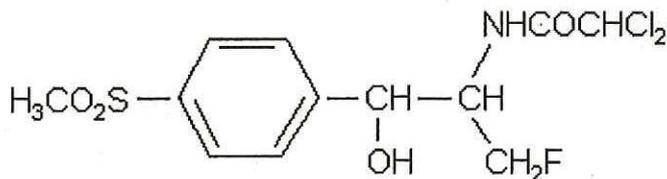
(参照 2、3)

### 5. 分子量

358.2

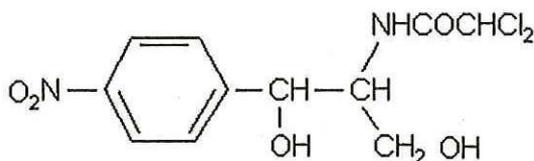
(参照 2、3)

### 6. 構造式



(参照 2、3)

<参考> クロラムフェニコール (Chloramphenicol)



### 7. 開発の経緯及び使用状況等

フロルフエニコールは構造的、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、タンパク質合成を阻害する。(参照 5)

フロルフエ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。

今回、フロルフェニコール及びフルニキシメグルミンを有効成分とする牛（搾乳牛を除く。）の注射剤の承認及びフロルフェニコールを有効成分とする豚の経口投与剤の適用拡大（動物種(牛)の拡大）に伴う残留基準設定に係る評価が厚生労働大臣から要請されたものである。

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、動物用医薬品承認時申請書資料等をもとに、フロルフェニコールの毒性に関する主な知見を整理した。（参照 2～43）

代謝物略称及び検査値等略称を別紙 1 及び 2 に示した。

### 1. 薬物動態試験

#### (1) 薬物動態試験（ラット）

ラット（SD 系、雌雄各 6 匹）に  $^{14}\text{C}$  標識フロルフェニコール<sup>1</sup>を 7 日間経口投与（65 mg/kg 体重）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活性の約 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活性の約 60.4%（雄：52.4%、雌：68.5%）、糞中には約 23.9%（雄：30.4%、雌：17.4%）が排泄された。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。（参照 6）

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 により各試料を分離したところ、試料の種類により存在比は異なるものの 5 種類に分離された。（参照 7）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、フロルフェニコールアミン（FFNH<sub>2</sub>）、フロルフェニコールオキサミド酸（FFCOOH）、フロルフェニコールアルコール（FFOH）、モノクロロフロルフェニコールであった。尿中からは未変化体、糞中からは FFNH<sub>2</sub><sup>2</sup>が主に検出された。（参照 8）

#### (2) 薬物動態試験（豚）

豚（ランドレース種、3 頭）におけるフロルフェニコールの単回筋肉内投与（10 mg/kg 体重）において、T<sub>max</sub> は 1 時間であり、その時の血清中濃度の C<sub>max</sub> は約 4.2 µg/mL、T<sub>1/2</sub> 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を調査したところ、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 FFCOOH 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。FFNH<sub>2</sub> は未変化体の 1/10 未満で、FFOH 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

<sup>1</sup> ベンゼン環の炭素すべてに標識

<sup>2</sup> 抱合体含む

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。(参照 9)

### (3) 薬物動態試験 (牛)

牛 (ホルスタイン種、3 頭) におけるフロルフェニコールの単回筋肉内投与 (10 mg/kg 体重) 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  $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$  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を調査したところ、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 FFCOOH 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。FFNH<sub>2</sub> は未変化体の 1/5 程度で、FFOH 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。(参照 10)

子牛 (4 頭/群) におけるフロルフェニコールの単回筋肉内投与又は皮下投与 (40 mg/kg 体重) において、筋肉内投与時の血清中濃度の  $C_{max}$  は 15.1  $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{max}$  の中央値は 1.0 時間、 $T_{1/2}$  は 12.2 時間<sup>3</sup>、AUC (投与から最終測定値まで) は 194  $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$ 、AUC (投与から消失まで) は 213  $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$  であった。

皮下投与時の血清中濃度の  $C_{max}$  は 2.93  $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{max}$  の中央値は 4.0 時間、 $T_{1/2}$  は 79.8 時間<sup>4</sup>、AUC (投与から最終測定値まで) は 101  $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$ 、AUC (投与から消失まで) は 265  $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$  であった。(参照 11)

子牛 (3 頭/群) にフロルフェニコールを単回皮下投与 (20 mg/kg 体重) 及び反復筋肉内投与 (10 mg/kg 体重/日を 3 日間) 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。

単回皮下投与群の血漿中濃度の  $C_{max}$  は投与 6 時間後に認められ、投与 24 時間後で 1.0 ppm まで低下した。反復筋肉内投与群の血漿中濃度の  $C_{max}$  は 3 日間とも投与 3 時間後に認められ、投与 24 時間後で 1 ppm 以下に低下した。(参照 12)

子牛 (ホルスタイン種系、雄 3 頭/群) にフロルフェニコールを単回経口投与 (5 又は 10 mg/kg 体重) 又は単回筋肉内投与 (10 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。

各投与群における薬物動態パラメーターを表 1 に示した。経口投与の 2 群は、いずれも投与 1~2 時間後に最高値を示し、投与 48 時間後には検出限界 (0.02  $\mu\text{g/mL}$ ) 未満となった。

5 mg/kg 体重を経口投与した群における投与後 72 時間の尿及び糞中の各代謝物濃度を測定し、投与量に対する排泄率を表 2 に示した。フロルフェニコール及びその代謝物はほとんどが投与後 24 時間までに尿中に排泄され、尿中排泄の主体はフロルフェニコ-

<sup>3</sup> 調和平均。

<sup>4</sup> 調和平均。

ルであった。

10 mg/kg 体重を経口投与した群における投与 2 時間後の組織中のフロルフェニコール及びその代謝物の濃度を表 3 に示した。(参照 44、45)

表 1 牛におけるフロルフェニコール単回投与後の薬物動態パラメーター

投与経路	投与量 (mg/kg 体重)	C <sub>max</sub> (µg/mL)	T <sub>max</sub> (hr)	T <sub>1/2</sub> (hr)	AUC <sub>0-48</sub> (µg·hr/mL)
経口	5	4.1	1.3	4.8	37.0
経口	10	4.8	2.0	3.9	52.4
筋肉内	10	1.5	1.7	28.7	35.8

表 2 牛におけるフロルフェニコール経口投与後 72 時間の  
フロルフェニコール及び代謝物の尿中及び糞中排泄率 (%) <sup>a</sup>

試料 (n=3)	フロルフェニ コール	代謝物			計
		FFOH	FFNH <sub>2</sub>	FFCOOH	
糞	0.4	0.5	0.0	1.0	1.9
尿	70.4	9.3	3.9	5.9	89.6
計	70.8	9.9	3.9	6.9	91.5

a : 分析時の添加回収率による補正值

表 3 経口投与 2 時間後の牛組織中のフロルフェニコール  
及び代謝物の濃度 (µg/mL 又は µg/g) <sup>a</sup>

試料 (n=3)	フロルフェニ コール	代謝物		
		FFOH	FFNH <sub>2</sub>	FFCOOH
血漿	5.63	<0.10~0.15	<0.10~0.51	0.34
肝臓	4.80	<0.10~0.25	0.54	0.47
腎臓	10.37	<0.10~0.17	<0.10~0.16	1.42
肺	4.76	<0.10~0.43	0.29	1.16
小腸	4.55	<0.10	0.16	<0.10~0.14
胆汁	7.36	<0.10~0.32	<0.10~0.96	1.75
筋肉	4.80	<0.10	<0.10	<0.10
脂肪	1.28	<0.10	<0.10	0.25

a : 平均値又は測定値の範囲 (検出限界(0.10 µg/mL 又は µg/g)未満の測定値を含む場合)

## 2. 残留試験

### (1) 残留試験 (豚)

豚 (ランドレース種、3~4 か月齢、15 頭/群) にフロルフェニコールを 5 日間連続して筋肉内投与 (10 又は 20 mg/kg 体重/日) し、投与 28 日後までの血漿、腎臓、肝臓、注射部位筋肉、筋肉、小腸及び脂肪中濃度を測定した。10 mg/kg 体重/日投与群では、投与 3 日後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 7 日後以降定量限界未満であった。20 mg/kg 体重/日投与群では、投与 3 日後の血漿及び腎臓中、7 日後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日後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3日後以降定量限界未満であった。(参照13)

豚(交雑種(LW)、約2か月齢、16頭/群)にフロルフェニコールを5日間連続筋肉内投与(10又は20 mg/kg 体重/日)し、投与21日後までの血清、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/kg 体重/日投与群では、投与1日後の腎臓で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で0.24 µg/gが検出された。20 mg/kg 体重/日投与群では、投与1日後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3日後以降には全ての試料で検出限界(血清及び組織:0.05 µg/g)未満となった。(参照14)

## (2) 残留試験(牛)

3~4か月齢の子牛(ホルスタイン種、雌3頭/時点/群)及び約2か月齢の子牛(ホルスタイン種、雌3頭/時点/群)にフロルフェニコールを3日間連続して筋肉内投与(10又は20 mg/kg 体重/日)し、投与1、5、10、20及び30日後に血漿、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か月齢の子牛において、10 mg/kg 体重/日投与群で投与1日後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3例中1例が検出限界(0.05 µg/g)未満、2例は0.59及び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5日後では、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3例中1例が検出限界未満となり、脂肪及び小腸では全例が検出限界未満であった。投与10日後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/kg 体重/日投与群では、投与1日後の血漿及び組織中濃度は注射部位筋肉で平均1,208.91 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5日後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、小腸及び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10日後では、注射部位筋肉、注射部位周辺部筋肉及び腎臓での各3例中2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。(参照15)

約2か月齢の子牛において、10 mg/kg 体重/日投与群で投与1日後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3例中1例で0.10~0.20 µg/gであり、2例は検出限界(0.05 µg/g)未満であった。投与5日後では、注射部位筋肉で平均5.88 µg/g、注射部位周辺部筋肉の3例中1例の0.05~0.10 µg/gを除いて検出限界未満となり、投与10日後以降は全試料が検出限界未満となった。20 mg/kg 体重/日投与群で、投与1日後の血漿及び組

織中濃度は注射部位筋肉で平均1,178.46 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5日後には、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3例中1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10日後では、注射部位筋肉(3例中2例)及び注射部位周辺部筋肉(3例中1例)を除いて検出限界未満となり、投与20日後以降は全試料が検出限界未満となった。(参照16)

約2~4か月齢の子牛(ホルスタイン種、雄3頭/時点/群)及び4~8か月齢の牛(ホルスタイン種、雄3頭/時点/群)にフロルフェニコールを単回皮下投与(20又は40 mg/kg体重)し、投与1、5、30、40及び50日後に血漿、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か月齢の牛において、投与1日後の血漿及び組織中濃度は、20及び40 mg/kg体重投与群の注射部位直下筋肉でそれぞれ平均41.44及び17.61 µg/g、次いで周辺部位筋肉で5.60及び6.29 µg/g、腎臓で1.64及び2.26 µg/g、血漿で1.42及び1.50 µg/g、肝臓で1.18及び1.25 µg/g、筋肉で1.12及び1.16 µg/g、小腸で0.43及び0.75 µg/g、脂肪で0.18及び0.15 µg/gであった。その後、両投与群において、投与5日後に脂肪中濃度が検出限界(0.05 µg/g)未満となり、投与30日後以降には全試料が検出限界未満となった。(参照17)

4~8か月齢の牛において、投与1日後の血漿及び組織中濃度は、20及び40 mg/kg体重投与群の注射部位直下筋肉でそれぞれ平均592及び679 µg/g、次いで周辺部位筋肉で143及び26 µg/g、腎臓で2.1及び2.6 µg/g、筋肉で0.78及び1.9 µg/g、肝臓で0.79及び1.3 µg/g、血漿で0.71及び1.2 µg/g、小腸で0.60及び0.95 µg/g、脂肪で0.22及び1.0 µg/gであり、投与5日後においても全試料が検出された。投与30日後では、20 mg/kg体重投与群で筋肉(3例中2例)、脂肪及び血漿(各3例中1例)で、40 mg/kg体重投与群で血漿及び小腸(各3例中2例)、投与部位直下筋肉及び筋肉(各3例中1例)を除いて検出限界(0.05 µg/g)未満となり、投与40日後以降には、両投与群とも全試料が検出限界未満となった。(参照18)

子牛(ホルスタイン種、1~2か月齢、4頭/時点)を用い、同様の試験設定で2試験の残留試験を実施した。牛にフロルフェニコールを5日間経口投与(10 mg/kg体重/日、代用乳に混和して朝の給餌時に投与)し、最終投与1、2、3及び4日後の肝臓、腎臓、小腸、筋肉及び脂肪中のフロルフェニコール濃度を測定した。

試験1及び試験2の結果を表4に示した。

試験1では、最終投与1日後に、肝臓及び筋肉で4例中2例、腎臓及び小腸では4例中3例にフロルフェニコールが検出され、検出濃度は0.05~0.39 µg/gであった。脂肪では全例で検出限界(0.05 µg/g)未満であった。最終投与2日後では、肝臓、腎臓、筋肉及び小腸のそれぞれ4例中1例に検出(0.07~0.11 µg/g)され、最終投与3及び4日後には、分析した全例で検出限界未満となった。(参照44、46)

試験 2 では、最終投与 1 日後に肝臓及び小腸で 4 例中 3 例、腎臓及び筋肉では全例にフロルフェニコールが検出され、検出濃度は 0.07~0.53 µg/g であった。脂肪では全例で検出限界 (0.05 µg/g) 未満であった。最終投与 2 及び 3 日後には、全例で検出限界未満となった。(参照 44、47)

表 4 牛における 5 日間経口投与後の組織中残留濃度 (µg/g)

試験	組織 (n=4)	最終投与後時間 (日)			
		1	2	3	4
1	肝臓	<0.05~0.19	<0.05~0.07	<0.05	<0.05
	腎臓	<0.05~0.39	<0.05~0.07	<0.05	<0.05
	小腸	<0.05~0.19	<0.05~0.11	<0.05	<0.05
	筋肉	<0.05~0.38	<0.05~0.07	<0.05	<0.05
	脂肪	<0.05	<0.05	/	/
2	肝臓	<0.05~0.18	<0.05	<0.05	/
	腎臓	0.16~0.53 (0.31)	<0.05	<0.05	/
	小腸	<0.05~0.14	<0.05	<0.05	/
	筋肉	0.07~0.09 (0.08)	<0.05	<0.05	/
	脂肪	<0.05	<0.05	<0.05	/

( ) : 平均値、/ : 分析せず

### 3. 急性毒性試験

#### (1) 急性毒性試験

ICR マウスに対する 2,000 mg/kg 体重までの経口投与及び 3,000 mg/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。(参照 19)

SD ラットに対する 2,000 mg/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 LD<sub>50</sub> は雌で 1,865 mg/kg 体重、雄で 2,047 mg/kg 体重であった。(参照 20)

### 4. 亜急性毒性試験

#### (1) 4 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 10 匹/群) を用いた強制経口投与 (0、20、65 又は 200 mg/kg 体重/日) 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とおりであった。

一般状態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、200 mg/kg 体重/日投与群で増体重の低値が認められた。摂餌量では 200 mg/kg 体重/日投与群の雄で低値が認められた。

血液学的検査では 65 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で MCV、MCH の高値、200 mg/kg 体重/日投与群で RBC の低値が認められた。雌では 200 mg/kg 体重/日投与群で MCV、MCH の高値、RBC の低値のほか、Hb、Ht の低値が認められた。65 mg/kg 体重/日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 WBC 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みられなかった。

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、200 mg/kg 体重/日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/kg 体重/日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、全投与群で盲腸の拡張、200 mg/kg 体重/日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、200 mg/kg 体重/日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。65 mg/kg 体重/日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。(参照 21)

## (2) 13 週間亜急性毒性試験 (マウス)

マウス (CD-1 系、雌雄各 10 匹/群) を用いた強制経口投与 (0、10、50、200 又は 400 mg/kg 体重/日) 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とおりであった。

一般状態、体重、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/kg 体重/日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 400 mg/kg 体重/日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 200 mg/kg 体重/日であった。(参照 22)

## (3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 20 匹/群) を用いた強制経口投与 (0、10、30 又は 100 mg/kg 体重/日) 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とおりであった。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。

一般状態、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。

体重では 100 mg/kg 体重/日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 100 mg/kg 体重/日投与群の雄でわずかに高値であった。

血液学的検査では、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で 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 30 mg/kg 体重/日以上投与群で A/G 比の高値を伴う TP 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/kg 体重/日投与群の雄で精巣の絶対及び相対重量の減少が認められた。

剖検では投与期間又は回復期間によらず、100 mg/kg 体重/日投与群で精巣の小型化と軟化が認められた。100 mg/kg 体重/日投与群で盲腸の拡張が認められ、10 及び 30 mg/kg 体重/日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 100 mg/kg 体重/日投与群についてのみ実施されている。投与期間又は回復期間によらず、100 mg/kg 体重/日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。30 mg/kg 体重/日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、10 mg/kg 体重/日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。(参照 23)

#### (4) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、約 4 か月半齢、雌雄各 4 匹/群) を用いたゼラチンカプセル経口投与 (0、10、30 又は 100 mg/kg 体重/日) 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とおりであった。

一般状態、体重、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 週及び 12 週時点で実施されている。

血液学的検査では、30 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で RBC の低値、100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で 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/kg 体重/日投与群で WBC の減少が、雄では 6 及び 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/kg 体重/日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 100 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例を除き認められなかった。この雄 1 例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みられた。血液生化学的検査では、12 週の 30 mg/kg 体重/日以上投与群の雄、100 mg/kg 体重/日投与群の 6 週の雌及び 12 週の雌で T.Cho の高値が認められ、100 mg/kg 体重/日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、全投与群の雄及び 30 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で肝臓の絶対及び相対重量の高値が認められた。30 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で腎臓の絶対及び相対重量の高値、100 mg/kg 体重/日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 100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で有意に増加した。100 mg/kg 体重/日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。(参照 24)

イヌ（ビーグル種、約 6 か月齢、雌雄各 4 匹/群）を用いたゼラチンカプセル経口投与（0、1、3 又は 12 mg/kg 体重/日）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とおりであった。なお、対照群及び 12 mg/kg 体重/日投与群についてはさらに 2 匹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。

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び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/kg 体重/日投与群の雄で肝臓の相対重量の増加が認められた。

剖検及び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 3 mg/kg 体重/日であった。(参照 25)

## 5. 慢性毒性及び発がん性試験

### (1) 52 週間慢性毒性試験（ラット）

ラット（SD 系、雌雄各 20 匹/群）を用いた強制経口投与（0、3、12 又は 48 mg/kg 体重/日）による 52 週間慢性毒性試験<sup>5</sup>において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

一般状態では、48 mg/kg 体重/日投与群の雌で頭部や胴体の被毛の汚れが高頻度で認められた。

体重では、12 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 48 mg/kg 体重/日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、12 mg/kg 体重/日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。

摂餌量及び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 及び 50 週に実施されている。12 mg/kg 体重/日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。3 mg/kg 体重/日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、12 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 48 mg/kg 体重/日投与群の雌で TP の低値が認められた。これは、A/G 比の高値を伴っていた。

<sup>5</sup> 104 週の発がん性/慢性毒性試験の中間処置群

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/kg 体重/日以上投与群の雄で精巣重量の減少、12 mg/kg 体重/日以上投与群の雌及び 48 mg/kg 体重/日投与群の雄で腎臓重量の高値が認められた。

剖検では、12 mg/kg 体重/日以上投与群で精巣の小型化及び／又は軟化が認められた。

病理組織学的検査では、48 mg/kg 体重/日以上投与群で精細管の萎縮、12 mg/kg 体重/日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<sup>6</sup>。

本試験における NOAEL は 3 mg/kg 体重/日であった。(参照 26)

## (2) 52 週間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/群) を用いたゼラチンカプセル経口投与 (0、1、3 又は 12 mg/kg 体重/日) 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とおりであった。

一般状態、体重、摂餌量、摂水量、眼科検査、尿検査、血液学的検査及び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/kg 体重/日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。

剖検及び病理組織学的検査では、12 mg/kg 体重/日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、3 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例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、抗生物質の長期又は高用量投与などで報告されていることから、3 mg/kg 体重/日投与群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/kg 体重/日投与群の雄で肝細胞のグリコーゲン変性が認められた。

本試験における NOAEL は 1 mg/kg 体重/日であった。(参照 27)

## (3) 104 週間発がん性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 50 匹/群) を用いた強制経口投与 (0、3、12 又は 48 mg/kg 体重/日) 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とおりであった。

一般状態では、12 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 48 mg/kg 体重/日投与群の雌で頭部や胴体の被毛の汚れの頻度の増加が認められた。

体重では、48 mg/kg 体重/日投与群の雌で体重増加量の減少が認められた。

摂餌量及び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 及び 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、48 mg/kg 体重/日投与群の雄で MCH、MCV の高値、雌で MCH 及び MCV の高値並びに RBC の低値が認められた。白血球については総 WBC 及び好中球の低値が用量相関性はないものの全投与群の雌雄で散発的に認められた。

<sup>6</sup> 3 mg/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。

血液生化学的検査は実施されていない。

剖検では、雄の 12 mg/kg 体重/日以上投与群の肝臓で白色巣又は白色斑の発生頻度の増加、48 mg/kg 体重/日投与群で小型及び／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、12 mg/kg 体重/日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、48 mg/kg 体重/日投与群で両側性の精子形成欠如が認められた<sup>7</sup>。

肝臓における変異肝細胞巣の発生頻度の増加が 48 mg/kg 体重/日投与群で認められた。

精巣間細胞腫の頻度の増加が 48 mg/kg 体重/日投与群で認められ、同様の変化が 3 mg/kg 体重/日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 3 mg/kg 体重/日であった。(参照 28)

#### (4) 2 年間発がん性試験 (マウス)

マウス (CD-1 系、雌雄各 50 匹/群) を用いた強制経口投与 (0、20、100 又は 200 mg/kg 体重/日) 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とおりであった。

一般状態、体重、摂餌量、飲水量及び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、尿検査及び臓器重量については報告されていない。

剖検及び病理組織学的検査では、200 mg/kg 体重/日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又は無精子を伴っていた。

発がん性については 100 mg/kg 体重/日以上投与群の雄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 (50 例中 0 例) 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。(参照 29)

### 6. 繁殖毒性試験及び発生毒性試験

繁殖毒性試験及び発生毒性試験については以下の試験が行われた。なお、ウサギを用いた発生毒性に関する予備試験が実施されたが、0.5 mg の低用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発生毒性試験は実施できなかった。

#### (1) 二世世代繁殖試験 (ラット)

SD ラットを用いた強制経口投与 (0、1、3 又は 12 mg/kg 体重/日) による二世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。

F<sub>0</sub> 世代では、雌雄各 28 匹/群にフロルフエニコールの PEG400 溶液を交配開始前 10 週から 2 回の繁殖 (F<sub>1a</sub>、F<sub>1b</sub>) 期間中 (交配・妊娠・授乳期間中) を通じて投与した。

<sup>7</sup> 有意差は認められないものの、3 mg/kg 体重/日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。

F<sub>1a</sub> は離乳後に剖検に供され、F<sub>1b</sub> 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<sub>2a</sub>、F<sub>2b</sub>) 期間中を通して投与した。

12 mg/kg 体重/日投与群で雄 F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub> の精巣上体重量が有意に低かった。

12 mg/kg 体重/日投与群で F<sub>2b</sub> の生後 4～21 日の生存率の低値が見られた。

母動物及び児動物に対する NOAEL は、いずれも 3 mg/kg 体重/日であった。繁殖能に対する影響は認められなかった。(参照 30)

## (2) 発生毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌 17～24 匹/群) の妊娠 6～17 日に強制経口投与 (0、4、12 又は 40 mg/kg 体重/日) による発生毒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、12 mg/kg 体重/日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、40 mg/kg 体重/日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。

母動物に対する NOAEL は 4 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 12 mg/kg 体重/日であった。催奇形性はみられなかった。(参照 31)

## (3) 発生毒性試験 (マウス)

マウス (CD-1 系、雌 29～30 匹/群) の妊娠 6～15 日に強制経口投与 (0、1、3 又は 60 mg/kg 体重/日) による発生毒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。

母動物及び胎児に対する NOAEL は、いずれも 60 mg/kg 体重/日であった。催奇形性はみられなかった。(参照 32)

## 7. 遺伝毒性試験

遺伝毒性に関する各種の *in vitro*、*in vivo* 試験の結果を表 5 及び 6 にまとめた。

表 5 *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
不定期 DNA 合成試験 (UDS 試験) (参照 33)	ラット初代培養肝細胞	10、25、50、100、250、500、1,000、2,500 µg/mL	陰性 <sup>a</sup>
前進突然変異試験 (Tk) (参照 34)	L5178Y マウスリンパ腫細胞	125、500、1,000、1,500、2,000、3,000、4,000 mg/mL (-S9)	陰性 <sup>b</sup>
		125、500、1,000、1,500、2,000、3,000、4,000 mg/mL (+S9)	用量依存性及び再現性なし <sup>c</sup>
		62.5、125、250、500、1,000、1,500、2,000 mg/mL (+S9)	陰性 <sup>d</sup>

染色体異常試験 (参照 35)	CHO 培養細胞 (CHO-10 B4)	313、625、1,250、2,500 µg/mL (+S9 ; 6h)	陽性 <sup>e</sup> (2,500 µg/mL)
		62.5、125、625、1,250 µg/mL (- S9 ; 24h)	陰性 <sup>f</sup>

a : 5,000 µg/mL では細胞致死。

b : 全用量で中程度から高度の細胞毒性 (成長率約 14~38%)。2,000 µg/mL 以上では一部溶解せず。

c : 125、1,000、2,000 µg/mL で変異の出現率が増加したが、用量依存性、再現性なし。2,000 µg/mL 以上では一部溶解せず。

d : 2,000 µg/mL では完全には溶解せず。500 µg/mL 以上で用量相関的な生育阻害が認められた。(500 µg/mL で 35%、2,000 µg/mL で 69%)

e : 2,500 µg/mL で細胞毒性。1,250 µg/mL 以上で一部溶解せず。

f : 625 µg/mL 以上で細胞毒性。1,250 µg/mL 以上で一部溶解せず。

表 6 *in vivo* 試験

試験	対象	投与量	結果
染色体異常試験 (参照 36)	マウス骨髄	500、1,667、5,000 mg/kg 単回経口	陰性
		500、1,667、5,000 mg/kg 5 日間 強制経口	陰性
小核試験 (参照 37)	マウス骨髄	5,000 mg/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、フロルフェ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。

## 8. 一般薬理試験

### (1) 中枢神経系への作用

一般行動 (マウス ; Irwin 法) では、100 mg/kg 体重以上の腹腔内投与で一過性の自発運動の低下、300 mg/kg 体重以上では反応性の低下、3,000 mg/kg 体重では非特異的な全身抑制による鎮静状態がみられ (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 1,000 mg/kg 体重の腹腔内投与、体温 (ウサギ) については 1,000 mg/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。(参照 38)

### (2) 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 300 mg/kg 体重では影響は認められなかったが、1,000 mg/kg 体重では減少傾向を示した。血圧については 300 mg/kg 体重では 60 分まで下降傾向、1,000 mg/kg 体重では 180 分まで下降が認められた。心拍数については 1,000 mg/kg 体重で減少が認められた。(参照 38)

### (3) 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 1,000 mg/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。（参照 38）

### (4) 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 3,000 mg/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 1,000 mg/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 300 mg で 1 例、1,000 mg で 2 例がその後 14 日までの間に死亡した。（参照 38）

### (5) 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  $5 \times 10^{-4}$  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。（参照 38）

### (6) その他

その他、尿所見（ラット；尿量、pH、糖、潜血、タンパク質、ケトン体、浸透圧、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 測定）が 3,000 mg/kg 体重までの皮下投与で検討され、用量相関性は定かではなかったが、1,000 mg/kg 体重の投与で  $\text{K}^+$  の減少が認められ、有意差はないが  $\text{Na}^+$  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。（参照 38）

## 9: 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）

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エニコールに対する（幾何平均） $\text{MIC}_{50}$  は 0.36 (*Fusobacterium* spp.) ~ 11.9 (*Proteus* spp.)  $\mu\text{g/mL}$  であった。（参照 39）

菌名	$\text{MIC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\text{MIC}_{90}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	MIC 幾何平均 ( $\mu\text{g/mL}$ )
<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) において、ヒト臨床分離株等に対するフロルフェニコールの約  $5 \times 10^6$  CFU/spot における MIC が調べられている。(参照 40)

菌名	株数	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )	
		MIC <sub>50</sub>	範囲
<i>E. coli</i>	30	4	4-8
<i>Enterococcus</i> spp.	30	4	4
<i>Bacteroides</i> spp.	30	2	1-4
<i>Fusobacterium</i> spp.	20	0.25	0.12-1
<i>Bifidobacterium</i> spp.	30	2	0.5-4
<i>Eubacterium</i> spp.	20	4	2-4
<i>Clostridium</i> spp.	30	8	4-16
<i>Peptococcus</i> spp./ <i>Peptostreptococcus</i> spp.	30	1	0.5-2
<i>Prevotella</i> spp.	20	1	0.5-1
<i>Lactobacillus</i> spp.	30	4	2-16
<i>Propionibacterium</i> spp.	30	1	1

調査された菌種のうち、最も低い MIC<sub>50</sub> が報告されているのは *Fusobacterium* spp. の 0.25  $\mu\text{g/mL}$  であった。

## 10. ヒトにおける知見について

### (1) ヒトにおけるフロルフェニコールの毒性影響

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。(参照 41～42)

### 11. その他

フロルフェニコールは、FDA 及び EMEA において評価され、一日摂取許容量 (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 (マウス骨髄)、小核 (マウス骨髄) 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 µg/kg 体重/日 (FDA: ラット二世世代繁殖試験の NOAEL 1 mg/kg 体重に安全係数 100、EMEA: イヌ 52 週慢性毒性試験の NOAEL 1 mg/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 MIC<sub>50</sub> の 0.36 µg/mL に CVMP の算定式を適用して、3 µg/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 µg/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。(参照 5、36)

### III. 食品健康影響評価について

#### 1. 繁殖毒性及び発生毒性について

繁殖毒性及び発生毒性については、ラットの二世世代繁殖試験、ラット、マウスの発生毒性試験が実施されている。ラットの二世世代繁殖試験において 12 mg/kg 体重/日の投与量で雄に精巣上体重量の低値と F<sub>2b</sub> 児に生存率の低値が認められ、母動物及び児動物に対する NOAEL は 3 mg/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なかった。

#### 2. 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* の染色体異常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。

#### 3. 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、イヌを用いた 52 週間慢性毒性試験において 3 mg/kg 体重/日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 12 mg/kg 体重/日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、3 mg/kg 体重/日投与群の雌 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、抗生物質の長期又は高用量投与などで報告されていることから、3 mg/kg 体重/日投与群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 1 mg/kg 体重/日であった。

#### 4. 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 MIC<sub>50</sub> 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 0.0013 µg/mL、結腸内容物に 220 g、細菌が暴露される分画に 40%、ヒト体重に 60 kg 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 MIC<sub>50</sub> 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。

## 5. 食品健康影響評価

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 1 mg/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 0.01 mg/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 (0.01 mg/kg 体重/日) と微生物学的データから導かれる ADI (0.012 mg/kg 体重/日) 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、0.01 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

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 0.01 mg/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、これについては検討中である。

<別紙 1：代謝物略称>

略称等	化学名
FFNH <sub>2</sub>	フロルフェニコールアミン (アミノ体)
FFCOOH	フロルフェニコールオキサミド酸 (オキサミン酸体)
FFOH	フロルフェニコールアルコール (アルコール体)

<別紙 2：検査値等略称>

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
AUC	薬物濃度曲線下面積
CFU	コロニー形成単位
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
C <sub>max</sub>	最高血 (漿) 中濃度
CVMP	欧州医薬品庁動物用医薬品委員会
EMA	欧州医薬品庁
FDA	米国食品医薬品庁
Hb	ヘモグロビン (血色素) 量
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Ht	ヘマトクリット値
LD <sub>50</sub>	半数致死量
MCH	平均赤血球血色素量
MCV	平均赤血球容積
MIC	最小発育阻止濃度
MIC <sub>50</sub>	50%最小発育阻止濃度
MIC <sub>90</sub>	90%最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
PEG	ポリエチレングリコール
RBC	赤血球数
T <sub>1/2</sub>	消失半減期
T.Chol	総コレステロール
TLC	薄層クロマトグラフィー
T <sub>max</sub>	最高血 (漿) 中濃度到達時間
TP	総タンパク質
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
WBC	白血球数

<参照>

1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
2. ナガセ医薬品株式会社. 物理的、科学的試験に関する資料（非公表）
3. ナガセ医薬品株式会社. 物理化学的性状、規格及び検査方法（非公表）
4. The Merck Index, 14<sup>th</sup> Edition, 2006
5. EMEA: Committee for Veterinary Medicinal Products, FLORFENICOL, Summary Report (1), 公表年不明
6. ナガセ医薬品株式会社. A Study of the Absorption, Distribution and Excretion of Total Radioactivity Following Multiple Oral Administration of [<sup>14</sup>C]-Sch 25298 to Rats. (IRI Report No.4553)（非公表）
7. ナガセ医薬品株式会社. Profiling of radioactivity in tissues and excreta from rats following multiple oral administration of <sup>14</sup>C-Sch25298 to Rats. (IRI Report No.4533 addendum 1)（非公表）
8. ナガセ医薬品株式会社. Distribution, metabolism and excretion of <sup>14</sup>C-Sch25298 in Rats following seven consecutive oral dose. (Study Notebook No 26495)（非公表）
9. ナガセ医薬品株式会社. 豚にフロルフエ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.（非公表）
10. ナガセ医薬品株式会社. 牛にフロルフエ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.（非公表）
11. ナガセ医薬品株式会社. Florfenicol pharmacokinetics studies in cattle (Report number A-27558). (STUDY NO.2220E-61-V95-273-01)（非公表）
12. ナガセ医薬品株式会社. Florfenicol Plasma Concentration Analysis Report (Schering-Plough Research Institute Study Number: 02193). (SPAH Study Number:E02-041-01)（非公表）
13. ナガセ医薬品株式会社. DA-313-S の豚における残留性試験（試験番号 G-92-4）.（非公表）
14. ナガセ医薬品株式会社. DA-313-S の豚における残留性試験（試験番号 92-005）.（非公表）
15. ナガセ医薬品株式会社. DA-313-S の牛における残留性試験（試験番号 TK920131, 京動研 813 号）.（非公表）
16. ナガセ医薬品株式会社. DA-313-S の牛における残留性試験（試験番号 92-162R）.（非公表）
17. ナガセ医薬品株式会社. TSA-011 の牛における残留試験（試験番号 TK030029, 京動研 2094 号）.（非公表）
18. ナガセ医薬品株式会社. TSA-011 の牛における残留試験（試験番号 03-124）.（非公表）
19. ナガセ医薬品株式会社. フロルフエ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）.（非公表）
20. ナガセ医薬品株式会社. フロルフエ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）。（非公表）
21. ナガセ医薬品株式会社. Sch25298 4 week Oral Toxicity Study in Rats (IRI Report No. 3911). (非公表)
  22. ナガセ医薬品株式会社. 13 week Oral dose range finding in Mice (IRI Report No.5092). (非公表)
  23. ナガセ医薬品株式会社. Sch25298 13 week Oral Toxicity Study in Rats with 4 week Recovery Priod (IRI Report No.5111). (非公表)
  24. ナガセ医薬品株式会社. 13 week oral toxicity study in Dogs (IRI Report No.5149). (非公表)
  25. ナガセ医薬品株式会社. 13 week oral toxicity study in Dogs with a 4 week recovery Period (IRI Report No.7062). (非公表)
  26. ナガセ医薬品株式会社. 104 week Oral Toxicity Study in Rats with 52 week Interim Kill: Results from the 52 week Kill Rats (IRI Report No.5793). (非公表)
  27. ナガセ医薬品株式会社. 52 week Oral Toxicity in Dogs (IRI Report No.7455). (非公表)
  28. ナガセ医薬品株式会社. 104 week Oral Chronic Toxicity Study in Rats with 52 week Interim Kill: Results from the 104 week Kill Rats (IRI report No.7357). (非公表)
  29. ナガセ医薬品株式会社. 104 week Oral Carcinogenicity Study in Mice (IRI Report No.7375). (非公表)
  30. ナガセ医薬品株式会社. Two Generations Reproduction Study in Rats (IRI Report No.7086). (非公表)
  31. ナガセ医薬品株式会社. Sch25298 Teratogenicity Study in Rats (IRI Report No.5277). (非公表)
  32. ナガセ医薬品株式会社. SCH 25298 Teratogenicity Study in MICE: A Retest with Lower Doses (IRI Report No. 7381). (非公表)
  33. ナガセ医薬品株式会社. Evaluation of SCH-25298 in the Primary Rat Hepatocyte Unscheduled DNA Synthesis Assay Final Report. (LBI PROJECT NO.20991) (非公表)
  34. ナガセ医薬品株式会社. Mutagenicity Evaluation of SCH 25298 in the Mouse Lymphoma Forward Mutation Assay Final Report. (LBI PROJECT NO.20989) (非公表)
  35. ナガセ医薬品株式会社. Chromosomal aberrations assay with Chinese hamster ovary cells in vitro. (IRI Report No.4703) (非公表)
  36. FDA: NADA Number: 141-063
  37. ナガセ医薬品株式会社. Micronucleus test in bone marrow of CD-1 Mice. (IRI Report No.4738) (非公表)
  38. ナガセ医薬品株式会社. 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）。（非公表）
  39. ナガセ医薬品株式会社. Antibacterial Activity of FLORFENICOL Against Human

- Gut Microflora (Report Number: A-26701). (非公表)
40. 食品安全委員会. 平成 18 年度食品安全確保総合調査.
  41. JECFA: CHLORAMPHENICOL. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series No. 53, 2005.
  42. グットマン・ギルマン 薬理書 第 10 版 ; 廣川書店 (2003)
  43. 日本感染症学会, 日本化学療法学会編. 抗菌薬使用の手引き、協和企画 (2004)
  44. 住化エンバイロメンタルサイエンス株式会社 : フロロコール 2%液 動物用医薬品製造販売承認事項変更承認申請添付資料概要 (非公表)
  45. 住化エンバイロメンタルサイエンス株式会社 : フロロコール 2%液 動物用医薬品製造販売承認事項変更承認申請添付資料 吸排-1 (非公表)
  46. 住化エンバイロメンタルサイエンス株式会社 : フロロコール 2%液 動物用医薬品製造販売承認事項変更承認申請添付資料 残留性-1 (非公表)
  47. 住化エンバイロメンタルサイエンス株式会社 : フロロコール 2% 液動物用医薬品製造販売承認事項変更承認申請添付資料 残留性-2 (非公表)