

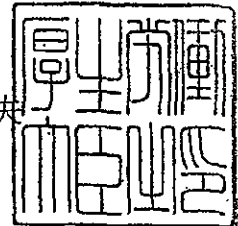
厚生労働省発食安第0309003号

平成 1 9 年 3 月 9 日

薬事・食品衛生審議会

会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 柳澤 伯夫



諮 問 書

食品衛生法(昭和22年法律第233号)第11条第1項の規定に基づき、
下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる動物用医薬品の食品中の残留基準設定について

ニトロフラン類(ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン及
びフラルタドンをいう)

※農薬・動物用医薬品部会報告(案) パブリックコメント平成 19 年 4 月 16 日まで募集

ニトロフラン類 (ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン) (案)

1. 概要

(1) 背景

ニトロフラン類(ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン)はフラン系の合成抗菌剤であり、動物用医薬品として細菌性感染症の治療等を目的として使用されるが、食用動物への使用は国内及び諸外国において多くで禁止されている。

国際的には、FAO/WHO合同添加物専門家会議(JECFA)において、ニトロフラゾン及びフラゾリドンについては発がん性又は遺伝毒性を有することから「NO ADI」と評価されている(1992年)。また、欧州医薬品審査庁(EMA)において、ニトロフラゾン、ニトロフラントイン及びフラルタドンについてはADIを設定するための情報が不十分であること(1993年)、フラゾリドンについてはNOELが得られないこと及び遺伝毒性が認められることから(1997年)、いずれもAnnex IV¹該当物質として評価されており、それぞれの代謝化合物を含め1 μ g/kgのMRPLs(Minimum Required Performance Limits)²が鶏肉及び水産製品に対して設定されている。

国内においては、過去にニトロフラゾンの代謝物であるセミカルバジド(SEM)及びフラゾリドンの代謝化合物である3-アミノ-2-オキサゾリドン(AOZ)が輸入粉卵から検出されたことから、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会においてこれらの評価がなされている(2003年6月)。その結果、フラゾリドンは遺伝毒性を有する発がん物質である可能性が高いこと、AOZについては*in vivo*及び*in vitro*の遺伝毒性が陽性と判断され発がん性を有する可能性が極めて高いと考えられることから許容一日摂取量(ADI)を設定することは適当でない、ニトロフラゾン及びSEMについては発がん性を示した試験結果があり、そのメカニズムは明らかでないもののADIを設定することは適当ではないとされ、これらが検出された食品はその流通を認めないこととされた。

これらの評価を踏まえ、食品中の残留農薬等に関するポジティブリスト制度の導入に際し、ニトロフラン類については、「食品、添加物の規格基準」(昭和34年厚生省告示第370号)の一般規則5において「食品中に不検出とする農薬等の成分である物質」として規定され、それぞれの代謝化合物を分析対象化合物として規制がなされている(2006年5月)。

一方、近年、SEMが瓶詰め食品から検出され、これがニトロフラゾンに由来するものではなく、金属蓋に装着されているシーリング剤に添加された発泡剤

¹ 食用動物への使用を認めない動物用医薬品のリスト。

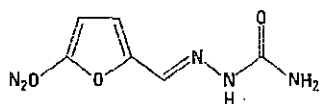
² 基準設定不可能な物質の分析法における不検出の精度を調和させることを目的として設定される検出限界値。

のアゾジカルボンアミドに由来することが明らかとなったことを端緒として、欧州食品安全機関(EFSA)において SEM のリスク評価がなされ(2003年10月、2005年7月)、国内においても複数の *in vivo* 遺伝毒性試験が報告される等、SEM の毒性等に関する新たな知見が得られている。また、カラギーナン、ゼラチン、粉卵等の食品や、食品原料を次亜塩素酸で処理した際、あるいは詳細な生成機構は不明であるが、自然に SEM が生じることも明らかとなっている。

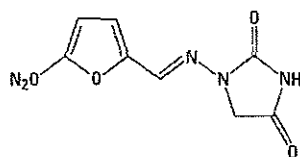
こうした状況を踏まえ、今般、食品安全委員会に対して食品安全基本法第24条第2項の規定に基づきニトロフラン類及びその代謝化合物に係る食品健康影響評価について意見を求め、その評価結果を踏まえてこれら物質の管理措置の見直しを行うものである。

(2) 構造式及び化学名

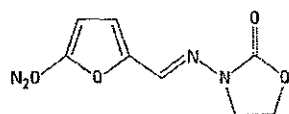
親化合物



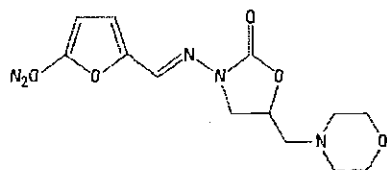
Nitrofurazone
(5-Nitro-2-furfural semicarbazone)
 $C_6H_6N_4O_4$



Nitrofurantoin
(N-(5-Nitro-2-furfurylidene)-1-aminohydantoin)
 $C_8H_6N_4O_5$

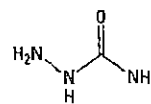


Furazolidone
(3-(5-Nitrofurfurylideneamino)-2-oxazolidinone)
 $C_8H_7N_3O_5$

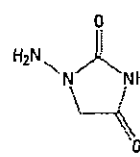


Furaltadone
(5-Morpholinomethyl-3-(5-nitrofurfurylideneamino)-2-oxazolidinone)
 $C_{13}H_{16}N_4O_6$

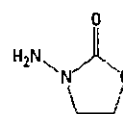
代謝化合物



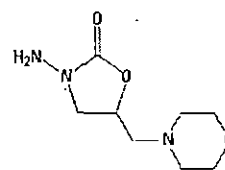
SEM
(Semicarbazide)
 CH_5N_3O



AHD
(1-aminohydantoin)
 $C_3H_5N_3O_2$



AOZ
(3-Amino-2-oxazolidinone)
 $C_3H_6N_2O_2$



AMOZ
(3-Amino-5-morpholinomethyl-2-oxazolidinone)
 $C_8H_{15}N_3O_3$

2. 許容一日摂取量(ADI)評価

食品安全基本法(平成15年法律第48号)第24条第2項の規定に基づき、平成19年1月12日付け厚生労働省発食安第0112018号により、食品安全委員会に対して意見を求めたニトロフラン類に係る食品健康影響評価については、以下のとおり評価されている。

【ニトロフラン類のADIの設定について】

ニトロフラン類は現在フラゾリドン、ニトロフランチン、フラルタドン、ニトロフラゾンを対象として、『食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質』に指定され、これらの代謝物であるAOZ、AHD、AMAZ及びSEMを分析対象化合物として規制が実施されている。

今般提出された資料からは、フラゾリドン及びAOZについては遺伝毒性発がん性を否定できず、ADIを設定することは適当でないとする薬食審の評価を変更する根拠は認められない。

ニトロフランチン及びAHDについては、NTPの報告においてマウス、ラットで発がん性が認められているが、そのメカニズムに関する情報は全く得られていないため、ADIの設定が可能であるかどうかは判断できない。JECFAにおいてはニトロフラゾンの評価書中でニトロフランチンはマウスにおける良性腫瘍の増加に対する影響は否定できず、NOELも求められないと評価され、EMEAにおいてもADI及びMRLを設定せず、食用動物への使用を禁じていることを考慮すると、現時点において、ADIを設定することは適当でないと考えられる。

フラルタドン及びAMAZについては、ほとんど情報が得られていない状況にあり、評価を行うことは出来ない。これらについてEMEAでは、ADI及びMRLは設定せず、食用動物への使用を禁じている。ニトロフラン類の多くが発がん性を疑われる物質であることを考慮すると、必要な科学的知見が得られるまで、ADIを設定することは適当でないと判断するのが適当であると考えられる。

ニトロフラゾンについては、従前の、発がん性のメカニズムは明らかでないものの、入手された資料から見る限り、ADIを設定することは適当でないとする薬食審の評価を変更する根拠は認められない。SEMについては、ニトロフラゾンの使用に伴うもの以外の暴露経路が明らかにされたことを踏まえて、2003及び2005年にEFSAにおいて新たにリスク評価が実施されている。また我が国において、新たに*in vivo*の遺伝毒性試験が報告されたことから、以下に別途考察を行った。

【SEMについて】

上記の通り、現時点において入手された科学的知見からは、ニトロフラゾンについてはADIあるいはTDIの設定は適当でないと判断され、不検出の対象として管理されることが適当である。しかしながら、現在ニトロフラゾンの分析対象とされているSEMについては、ニトロフラゾンの使用の有無にかかわらずいくつかの食品から検出されることが分かっており、SEMそのもののリスクの程度によっては分析対象としては適切でない可能性がある。このことから、厚生労働省からの意見聴取要請にあたって、別途の管理手法を検討していることが示され、あわせてSEMについての評価も求められている。

SEMそのもののリスクについては、発がん性、遺伝毒性、催奇形性の限られた

知見しか得られていない。動物実験で認められた発がん性については、雌マウスで 94~130 mg/kg 体重/日程度という高用量投与で対照群においても認められた肺腫瘍の発生頻度の増加が認められたもので、強いものではないと考えられる。遺伝毒性については、*in vitro* のいくつかの試験では弱い陽性結果が見られるものの、複数の *in vivo* 試験で陰性であり、現時点では *in vivo* において遺伝毒性を有することを示唆する報告はない。このため SEM が *in vivo* において問題となる遺伝毒性を示す可能性は低く、SEM の暴露が EFSA 等で報告されている程度であれば、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示すことはないと考えられる。催奇形性については約 30-40 mg/kg 体重/日の NOAEL が示されており、投与期間や観察項目が不十分であることについても、10 倍程度の安全率を考慮すれば問題がない程度と考えられる。このように、現在得られている知見から SEM について ADI あるいは TDI を設定するに足る十分な知見は得られていないが、その中で現時点において可能と考えられる評価を行うとすると、EFSA で実施されたものと同様、動物実験で認められた各種の知見と、食品から想定される暴露量との比較となる。

EFSA の評価では、体重当たりで最も多く SEM を摂取する可能性があるのは乳児であるが、最悪ケースの推定でもその摂取量は 0.35~1.4 μ g/kg 体重/日であった。この暴露量はマウスで弱い発がん性が認められた用量と少なくとも 5 桁のマージンがある。催奇形性についても 3 桁もしくはそれ以上のマージンがあると記載している。

発がん性と催奇形性に関連する知見が限定的であるが得られているものの、詳細な毒性情報が得られていないと言う状況において実施するものとしては、EFSA が実施した保守的な試算暴露量と、得られている範囲での動物における毒性発現用量との比較をもってリスクの程度を判断する手法は合理性があり、また一定の科学的根拠があるリスク評価であると考えられる。国内における SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されているものと同程度であれば、暫定的評価として、SEM が毒性影響を示す量と暴露量との MOE³ は大きく、リスクとしては小さいものであると判断できると考えられる。

なお、ニトロフラゾンそのものを測定対象とし、規制する場合は、その代謝物の暴露量も含めて毒性影響が十分に低いレベル、少なくとも SEM について上記で考察された食品中の含有量及びヒトが摂取する暴露量以下になると考えられるレベルの検出感度が得られる分析法を採用すべきである。

【食品健康影響評価について】

以上のことから、ニトロフラン類（フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾン）及びその代謝物である 3-アミノ-2-オキサゾリドン、1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドンに ADI を設定することは適当でない。

SEM についてはニトロフラゾンの使用にかかわらず複数種の食品から暴露されることが想定されるが、SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されているものと同程度であれば、SEM が生体に毒性影響を示す量と暴露量との MOE は大きく、リスクとしては小さいものと考えられた。

しかしながら、本評価はあくまで暫定的なものであり、現在得られている知見からは ADI あるいは TDI を設定することは出来ないことから、今後、代謝・毒性

³ Margin Of Exposure ; 暴露マージン

(短期・長期毒性、遺伝毒性、生殖発生毒性等)等の知見の収集が引き続き行われるべきである。

また、国内における SEM の発生源、食品中の含有状況や乳幼児を含めたヒトの食品からの暴露量等について把握し、必要に応じて発生源対策や暴露の低減措置等が行われるべきであることを申し添える。

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. 残留基準の設定

(1) ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン

食品安全委員会における食品健康影響評価の結果を踏まえ、ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドンについては、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として定めるとともに、これらの物質の代謝化合物である AHD、AOZ 及び AMOZ を不検出確認のための分析対象化合物とする現行の管理措置を維持するものとする。

(2) ニトロフラゾン

食品安全委員会における食品健康影響評価の結果を踏まえ、ニトロフラゾンについては、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として定めることとする。ただし、その代謝化合物である SEM については、食品健康影響評価の結果を踏まえ、食品中の含有量、暴露量について以下のとおり考察を行った。

① EFSA における食品中の SEM の含有量調査

食品中に検出される SEM の量は瓶詰めのベビーフードで高く、EFSA の報告によると、EU 諸国等における瓶詰めベビーフード中の SEM 検出量は以下のとおりとなっている(2005年7月)。

EU 諸国等における瓶詰めベビーフード中の SEM 検出量

調査国等	検体数	平均検出量(検出範囲)
オランダ	40	13 ppb (3-26 ppb)
スペイン	88	16 ppb (1-87 ppb)
フランス	10	— (6-15 ppb)
ドイツ	133	13 ppb (<0.5-140 ppb)
フィンランド	15	11 ppb (<1-28 ppb)
アイルランド	50	7ppb (<1-42 ppb)
スロベニア	12	— (1-17 ppb)
Industrial Group	63	11 ppb (0.1-27 ppb)

— : 平均値不明

調査の結果、各国間の平均検出量、検出範囲に大きな相違は見られず、これらを総合すると、ベビーフード中の SEM 検出量は 385 検体の調査で平均 13 ppb であった。また、果実、野菜、ジャム、ピクルス等の一般食品についての調査結果も各国間で相違は見られず、121 検体の調査で平均 1.0 ppb であった。

② EFSA における SEM の暴露評価

EFSA におけるリスク評価では、体重当たり最も多く SEM を摂取する可能性があるのは乳児であることから、乳児が日常的に摂取する食品のうち SEM を含有する可能性のあるベビーフードや飲料中に含まれる SEM の量を、瓶詰めベビーフードに平均的に含まれる量(13 ppb)と同量であるとのケースを想定し、以下のとおり SEM 暴露量の試算がなされている(2005 年 7 月)。

EU 諸国における乳児のベビーフード等摂取量及び SEM 暴露量 (SEM 含有量 13 ppb)

月齢	平均体重 (kg)	ベビーフード等摂取量		SEM 暴露量	
		平均値 (g/日)	95%上限値 (g/日)	平均値 (μ g/kg 体重/日)	95%上限値 (μ g/kg 体重/日)
3	5.8	67±65	192	0.15	0.43
6	7.8	195±114	407	0.33	0.68
9	8.8	234±127	464	0.35	0.69
12	9.8	208±128	424	0.28	0.56

この試算によると、9ヶ月齢の乳児における SEM 暴露量は、平均的なベビーフード等の摂取量(234 g/日)で 0.35μ g/kg 体重/日、95%上限値の摂取量(464 g/日)で 0.69μ g/kg 体重/日であるとされている。

一方で、動物実験において影響が認められている SEM の用量は、マウスの発がん性について 100 mg/kg 体重/日程度であり、最悪のケースを想定しても弱い発がん性が認められた用量と、乳児を含めたヒトの暴露との間には、少なくとも 5 桁の MOE があるとし、食品中に検出される SEM の発がん性によるヒトの健康影響は重要でないと評価されている。また、催奇形性についても 3 桁若しくはそれ以上の MOE があるとしている。

③ 国内における食品中の SEM の含有量及び推定暴露量

平成 15 年度の国内におけるベビーフード中の SEM 含有実態調査によると、市販の瓶詰めベビーフード 38 検体から検出された SEM の平均含有量は約 17 ppb(6-42 ppb)であり、EU 諸国等における調査結果(13 ppb)とほぼ同程度となっている。

一方、国内における乳児のベビーフード等の摂食量の調査結果はないが、国内において 8～11ヶ月齢の乳児を対象として市販されている瓶詰めベビーフ

一ドの摂食目安量は、一般的に一食当たり 100～130 g 程度⁴となっており、これを一日三回摂食するものと仮定した場合(300～390 g/日)、SEM 暴露量は以下のとおり試算される。

国内における乳児の瓶詰めベビーフード摂取量及び SEM 暴露量

月齢	平均体重 (kg)	瓶詰めベビーフード SEM 含有量 (ppb)	瓶詰めベビーフード 摂取量 (g/日)	SEM 暴露量 (μ g/kg 体重/日)
8～11	8.7	17	300～390	0.59～0.76

この結果、国内における乳児の瓶詰めベビーフード摂取による SEM 暴露量は最大で 0.76μ g/kg 体重/日となり、動物実験において発がん性が認められた用量 (100 mg/kg 体重/日) と、乳児を含めたヒトの暴露との間には、EFSA において評価されているものと同様に少なくとも 5 桁の MOE があると考えられ、食品安全委員会の食品健康影響評価の結果を踏まえれば、リスクとしては小さいものと考えられる。

したがって、SEM についてはニトロフラゾンの分析対象から除外し、別途ニトロフラゾンそのものを分析対象化合物とする分析方法を定めることが適当である(別紙)。

⁴ 日本ベビーフード協議会の見解による。

(別 紙)

ニトロフラゾン試験法 (案)

1. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

3. 標準品

ニトロフラゾン 本品はニトロフラゾン 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 238~240℃である。

4. 試験溶液の調製

a はちみつの場合

検体を均一化した後、その 5.00 g を量り採る。

これに 0.1 mol/l 塩酸 10 ml を加え、溶解する。次いでアセトニトリル 20 ml 及び塩化ナトリウム 5 g を加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。残留物及び水層にアセトニトリル 20 ml を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに *n*-プロパノール 10 ml を加えて、40℃以下でアセトニトリル及び *n*-プロパノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0 ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

b a に掲げる食品以外の食品の場合

検体を細切均一化した後、その 5.00 g を量り採る。なお筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除いた上で細切均一化を行う。

これにアセトニトリル 30 ml、アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 20 ml 及び無水硫酸ナトリウム 10 g を加えて細砕した後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル 20 ml を加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに *n*-プロパノール 10 ml を加えて、40℃以下でアセトニトリル及び *n*-プロパノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0 ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径2～5 μm）を用いる。

カラム管 内径 2.0～6.0 mm、長さ 100～250 mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

移動相 アセトニトリル及び10 mmol/l酢酸アンモニウムの混液(1:99)から(1:0)までの濃度勾配を35分間で行う。ニトロフラゾンが約20分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う*。

※ 定量限界：0.001 ppm

(答申案)

食品安全委員会の食品健康影響評価の結果を踏まえ、セミカルバジドについてはニトロフラン類の分析対象から除外し、以下に示すニトロフラゾンそのものを分析対象化合物とする分析法を定めることが適当である。

ニトロフラゾン試験法

1. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものをを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものをを用いる。

3. 標準品

ニトロフラゾン 本品はニトロフラゾン 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 238~240℃である。

4. 試験溶液の調製

a はちみつの場合

検体を均一化した後、その 5.00 g を量り採る。

これに 0.1 mol/l 塩酸 10 ml を加え、溶解する。次いでアセトニトリル 20 ml 及び塩化ナトリウム 5 g を加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。残留物及び水層にアセトニトリル 20 ml を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに *n*-プロパノール 10 ml を加えて、40℃以下でアセトニトリル及び *n*-プロパノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0 ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

b a に掲げる食品以外の食品の場合

検体を細切均一化した後、その 5.00 g を量り採る。なお筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除いた上で細切均一化を行う。

これにアセトニトリル 30 ml、アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 20 ml 及び無水硫酸ナトリウム 10 g を加えて細砕した後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル 20 ml を加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、

毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに *n*-プロパノール 10 ml を加えて、40℃以下でアセトニトリル及び *n*-プロパノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0 ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充填剤 オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 2~5 μm) を用いる。

カラム管 内径 2.0~6.0 mm、長さ 100~250 mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

移動相 アセトニトリル及び 10 mmol/l 酢酸アンモニウムの混液 (1:99) から (1:0) までの濃度勾配を 35 分間で行う。ニトロフラゾンが約 20 分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う*。

※ 定量限界 : 0.001 ppm

