

みられなかった。

100 mg 投与群の F₀ 雌雄で受胎率^pおよび妊娠率^qの著しい低下がみられ、精子検査の結果雄 12 匹に精子数減少、精子活動性低下、精子の形態異常の増加が認められた。出生児数が著しく減少し、平均体重も低下が認められた。25 mg 及び 50 mg 投与群の交尾率、受胎率、妊娠率及び妊娠期間はいずれの世代においても対照群と同様であり、出生児の数、性比、授乳期間中の生存率及び体重に被験物質投与の影響はみられなかった。離乳児の肉眼的検査で形態異常は認められず、病理組織学的検査(F_{2b})でも投与に起因した異常は認められなかった。

本試験においては、親動物の一般毒性に対する NOAEL は 21.0mg/kg 体重/日^rであり、生殖発生毒性に対する NOAEL は 46.7mg/kg 体重/日^sと考えられた。なお、これらの値は塩酸塩としてのものであり、フリーベースとしての値は約 80%程度と推定される。

【ラットを用いた催奇形性試験】⁽²⁷⁾

ラット(Crl:CD(SD)BR ;雌 20 匹/群)の妊娠 6-15 日に強制経口(0、15、65、275 mg/kg 体重/日)投与して胚および胎児発育への影響試験が実施されている。

275mg 投与群で試験期間中の母動物の体重増加抑制及び、摂餌量の低下が認められた。275mg 投与群では妊娠ラット 17 例中 10 例で全胚吸収が認められ、胚/胎児生存率の著大な低下がみられ、胎児体重は低値を示した。

275mg 投与群の 8 胎児に浮腫が認められたが、発現頻度に対照群との差は認められなかった。65mg 以上投与群で肋骨、腰椎数、胸骨の変異または化骨遅延の発現頻度の上昇が認められた。

本試験における NOAEL は母動物に対して 65mg/kg 体重/日、胎児動物に対して 15mg/kg 体重/日と考えられた。

【ラットを用いた受胎能および一般生殖能試験】^{(28),(29)}

ラット(CD(SD)COBS;雌 40 匹/群)の交配 14 日前から分娩後 21 日の離乳時まで強制経口(0、15、45、150 mg/kg 体重/日)投与して、受胎能および一般生殖能試験が実施されている。各群の雌(F₀)の半数は妊娠 20 日に帝王切開して胎児の検査を行い、残りの雌については分娩させ、児(F₁)を生後 21 日に離乳して 40 日齢まで行動検査を行なった。すべての行動観察終了後 6 週齢で F₁ 動物の中から雌雄各 20 匹/群を選抜して生殖能を調べ、雌を妊娠 20 日に帝王切開して F₂ 胎児への影響を調べ、雄は帝王切開終了後に剖検した。

母動物(F₀)において、150mg 投与群で流涎が認められ、45 mg 以上投与群で鼻周囲の赤色乾燥物が観察された。

150mg 投与群において妊娠期から授乳期にかけて体重増加抑制と体重の低値が認められた。母動物の剖検では被験物質投与に関連した異常は認められなかった。母動物の性周期、妊娠期間、分娩行動に被験物質投与の影響は認められなかった。

^p 妊娠が成立した雌の数(または最低一腹を妊娠させた雄の数)/交配に使われた雌(または雄)の総数

^q 妊娠が成立した雌の数/交尾した雌の数

^r 25mg 投与群の F₁ 雌及び F₂ 雄における実摂取量の最低値

^s F₀ 雌の 50mg 投与群における実摂取量の最低値

^t フリーベース換算量。投与は所定の濃度に調整された懸濁液を最新の体重測定値に基づき 10mL/kg の容量で経口投与。

^u フリーベース換算量。投与は所定の濃度に調整された懸濁液を最新の体重測定値に基づき 10mL/kg の容量で経口投与。

帝王切開では、生存胎児数、黄体数、着床数に被験物質投与の影響は認められなかった。胎児体重は45mg 以上投与群で用量依存的な低下が認められた。

150mg 投与群の4匹の胎児に異常(内3匹は同腹で臍帯ヘルニア)が認められたが、胎児奇形の発現率に有意差はみられなかった。胎児の骨格変異及び化骨遅延については、45mg 以上投与群で頸肋、化骨遅延の腹当たりの発現率の上昇が認められた。

分娩されたF₁ 児の授乳1日及び4日の生存率は150 mg 投与群でやや低かった。授乳1日におけるF₁ 児体重は45 mg 以上投与群で有意に低く、150 mg 投与群では授乳期間中低値であった。

生後のF₁ 児の耳介開展、眼瞼開裂、正向反射^v、断崖回避、音響驚愕反応^w、聴覚機能^x、眼科的検査、オープンフィールド行動検査^y、M 迷路学習検査^zの結果には被験物質投与の影響は認められなかった。

F₁ 世代各群雌雄の交配実験では被験物質投与の影響はみられなかった。

F₁ 世代には被験物質の投与に起因した一般症状の異常は認められなかったが、150mg 投与群の雌雄で平均体重が試験期間を通じて低値を示した。45mg 以上の投与群では腎の病理組織学的変化(集合管と腎盂の嚢胞性拡張、出血、線維症)の発現頻度が高かった。F₁ の性周期、受胎率、生存胎児数、着床数、黄体数、着床後胚/胎児死亡数、F₂ 胎児体重、胎児の頭腎長および性比には被験物質の投与に起因した影響は認められなかった。

本試験の母動物および児動物に対するNOAELは15mg/kg 体重/日と考えられた。

【ウサギを用いた催奇形性試験】⁽³⁰⁾

ニュージーランドホワイトのウサギ(18匹/群)の妊娠6-18日に強制経口(0、15、35、75 mg/kg 体重/日^a)投与して催奇形性試験を実施した。

被験物質の投与に起因すると考えられる流産が75 mg 投与群で9例、15及び35 mg 投与群で2例認められた。75mg 投与群では妊娠12日以降に体重減少が認められた。35mg 投与群では妊娠12日、15mg 投与群では妊娠18日に体重の低下が認められた。75mg 投与群のすべて、15mg、35mg 投与群では2あるいは3匹で排便及び排尿が減少した。軟便が75mg 投与群で高頻度にみられた。

75mg 投与群では、妊娠29日に剖検された5匹の妊娠動物のうち3匹で全胚吸収が認められた。その他の投与群では、着床数、黄体数、胎児の体重及び性比に異常は認められなかった。母動物の剖検においては75mg 投与群の流産例で肝臓の小葉明瞭化が認められた他、投与に関連した影響は認められなかった。

胎児の奇形及び変異の発現率は、75mg 投与群では得られた胎児数が少なかったため正確な評価はできなかったが、他の投与群と対照群との間に差は認められなかった。

以上の結果から、本試験における母動物に対するNOAELは求められなかったが、胎児動物に対するNOAELは35 mg/kg/日と考えられた。

^v 仰向けの状態からの復帰反応

^w 単発の短音に対する反応

^x Veiner and Alleva の方法によるガルトン笛に対するPreyer's 反射の観察

^y Hall の方法による行動観察

^z Butcher らの方法による水を満たしたM字型迷路における刺激光に対する反応観察

^a フリーベース換算量。投与は所定の濃度に調整された懸濁液を最新の体重測定値に基づき2ml/kgの容量で経口投与。

(5) 遺伝毒性試験

変異原性に関する各種の *in vitro* 試験の結果を次表にまとめた。

【変異原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 ¹	結果
染色体異常試験	培養ヒト全血リンパ球 ⁽³¹⁾	37.5, 75.0, 113, 150 µg/mL ² (-S9 ; 50.5hr)	陰性
		100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL ³ (+S9 ; 27.4hr)	陰性
前進突然変異試験 (Hprt)	CHO(K1-BH4/HGPRT) ⁽³²⁾	288, 384, 511, 682, 909 µg/mL ⁴ (-S9 ; 5+20hr)	陰性
		216, 288, 384, 511, 682 µg/mL (+S9 ; 5+20hr)	陰性
		511, 682, 909, 1212 µg/mL ⁵ (-S9 ; 5+20hr)	陰性
		511, 682, 909, 1212 µg/mL ⁵ (+S9 ; 5+20hr)	陰性
前進突然変異試験 (Tk)	L5178Y マウスリンパ腫細胞 ⁽³³⁾	10~700 µg/mL (-S9) ⁶	陰性
		10~500 µg/mL (+S9) ⁷	陰性 ⁸
不定期 DNA 合成(UDS)	ラット初代培養肝細胞(-S9) ⁽³⁴⁾	5.03-503 µg/mL ⁹	陽性 (≥101µg/mL)

1 塩酸塩の値

2 150µg/mL で 細胞毒性が認められた。

3 500µg/mL 以上で著しい細胞毒性が認められた。

4 909µg/mL で 著しい細胞毒性が認められた。また 288µg/mL は試験途中で細菌が混入したため評価できなかった。

5 1212µg/mL では 著しい細胞毒性のため平板培地上で細胞を得ることができなかった。

6 700µg/mL では 相対増殖率が10%未満に低下。

7 500µg/mL では 相対増殖率が10%未満に低下。

8 500µg/mL では 所定の変異率をわずかに超過したが、細胞毒性が著しいため解析から除外された。

9 503µg/mL では 細胞生存率がやや低下(81.3%)。

in vitro の試験においては、染色体異常試験、ほ乳類培養細胞を用いた前進突然変異試験のいずれも代謝活性化の有無にかかわらず陰性を示した。一方、UDS 試験では 101µg/mL 以上の用量で陽性所見がみられた。*in vitro* の UDS については、キノロン系の抗生物質でしばしば陽性が認められている。*in vivo* の試験は実施されていない。

(6) 微生物学的影響に関する特殊試験

【*in vitro* の MIC に関する試験】

①臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)

ヒト腸内に生息する可能性のある臨床分離株に対するジフロキサシン及びサラフロキサシンについての MIC が複数の公表論文で報告されている。その概要は次の通りであった。

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (µg/mL)						出典等
		Difloxacin			Sarafloxacin			
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	
グラム陰性菌								
<i>Bacteroides fragilis</i>	40	4.0		1.0-16	4.0		2.0-16	35
	73	2	4	≤0.125-8	2	4	≤0.125-8	36
	27	2	4	1-4	1	2	0.5-4	37
	51	2	4	1-8	2	4	1-32	38
	29	4	16	2>32	4	8	1>32	39
<i>Bacteroides bivius</i>	2			2.0-2.0			8.0-8.0	35
<i>Bacteroides distasonis</i>	2			4.0-4.0			8.0-8.0	35
<i>Bacteroides melaninogenicus</i>	6	2.0		2.0-4.0	4.0		2.0-8.0	35
<i>Bacteroides ovatus</i>	7	16		4.0>16	16		4.0>16	35
<i>Bacteroides thetaiotaomicrom</i>	9	8.0		1.0-16	8.0		1.0>16	35
<i>Bacteroides vulgatus</i>	3			2.0-16			8.0>16	35
<i>Bacteroides</i> spp.	117* ¹	1	8	≤0.125-64	1	8	≤0.125-32	36
	29	4	16	2-32	4	32	2-64	38
<i>Campylobacter jejuni</i>	10	1.0	1.0	0.5-2	1.0	1.0	0.5-1.0	40
	25	0.25	0.25	0.125-0.25				41
	34	0.25	0.5	0.12-0.5	0.12	0.25	0.06-0.25	42
<i>Campylobacter coli</i>	26	0.125	0.25	0.015-0.5				41
<i>Citrobacter freundii</i>	20	0.125	1.0	≤0.06-2	0.06	0.25	≤0.06-0.5	40
	22	0.5	4	≤0.015-4	0.03	0.5	≤0.015-0.5	43
	14	0.25	2.0		0.03	0.25		35
	36* ²	0.25	1	0.25-2	0.15	0.125	≤0.08-0.5	39
	30	0.125	1.0	0.06-1.0	0.015	0.125	≤0.004-0.25	44
<i>Citrobacter diversus</i>	10	0.12	0.12		0.03	0.03		35
				0.25-5			≤0.015	43
	27* ²	0.125	0.25	0.125-2	0.015	0.125	≤0.008-0.125	39
	20	0.06	0.25	0.06-2.0	0.015	0.03	≤0.04-0.25	44
<i>Citrobacter</i> spp.	16	0.25	4	≤0.03-32	≤0.03	0.5	≤0.03-4	45
	28	0.12	1	≤0.03-4	≤0.03	0.12	≤0.03-0.25	37
<i>Enterobacter cloacae</i>	30	0.125	0.25	≤0.06-4	0.06	0.06	≤0.06>0.5	40
	24	0.25	0.25		0.03	0.06		35
	20* ²	0.25	0.5	0.06-1	0.06	0.25	≤0.008-0.25	39
	50	0.125	0.25	0.015-1.0	0.015	0.03	≤0.004-0.125	44
<i>Enterobacter aerogenes</i>	20	0.125	0.125	≤0.06-0.25	0.06	0.125	≤0.06-0.125	40
	24	0.25	0.5		0.06	0.06		35
	19* ²	0.25	0.5	0.06-4	0.03	0.06	≤0.008-0.25	39
	20	0.125	0.25	0.03-0.5	0.015	0.03	≤0.004-0.06	44
<i>Enterobacter agglomerans</i>	10	0.25	4.0		0.03	0.12		35
	15	0.06	0.25	0.008-1.0	0.015	0.06	≤0.004-0.25	44
<i>Enterobacter</i> spp.	18	0.5	1	0.03-4	0.015	0.25	≤0.015-0.25	43
	28	0.12	1	0.06-2	≤0.03	0.25	≤0.03-1	45
	30	0.25	0.25	0.06-4	≤0.03	≤0.03	≤0.03-0.25	37
<i>Escherichia coli</i>	30	≤0.06	0.125	≤0.06-0.125	≤0.06	0.06	≤0.06	40
	20	0.25	0.25	0.015-0.5	0.015	0.03	≤0.015-0.06	43
	34	0.12	0.25		0.03	0.06		35
	140	0.12	0.25	≤0.03-4	≤0.03	0.06	≤0.03-1	45
	49	0.06	0.12	≤0.03-0.25	≤0.03	≤0.03	≤0.03	37
	23* ²	0.125	0.5	≤0.008-0.5	0.15	0.03	≤0.008-0.25	39
	100	0.06	0.125	0.015-1.0	0.015	0.03	0.008-0.25	44

<i>Fusobacterium</i> spp.	30	1	4	≤0.125-8	0.5	4	≤0.125-8	36
	3	4	4	2-4	4	4	4	38
<i>Klebsiella oxytoca</i>	25* ²	0.125	0.5	0.125-1	0.015	0.06	0.015-0.25	39
	20	0.125	0.25	0.06-0.5	0.015	0.015	0.008-0.03	44
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30	0.5	1.0	≤0.06-2	≤0.06	0.25	≤0.06-0.5	40
	34	0.25	0.5	0.06-4	0.06	0.12	≤0.03-1	45
	34* ²	0.5	2	0.125-2	0.06	0.25	≤0.015-0.5	39
	20	0.25	1.0	0.06-4.0	0.03	0.25	0.015-0.25	44
<i>Klebsiella</i> spp.	34	0.25	0.5		0.06	0.12		35
	25	0.25	0.5	0.03-2	0.06	0.25	≤0.015-0.25	43
	35	0.12	0.5	≤0.03-1	≤0.03	0.06	≤0.03-0.12	37
<i>Morganella morganii</i>	10	0.5	0.5	0.125->0.5	0.125	0.5	0.125-0.5	40
	14	1	2	0.12-2	0.06	0.5	≤0.015-0.5	43
	10	0.5	0.5		0.12	0.12		35
	12	0.5	1	0.25-2	0.06	0.25	≤0.03-1	45
	48	0.5	1	0.06-8	≤0.03	0.12	≤0.03-2	37
	28* ²	0.5	1	0.125-2	0.06	0.5	0.03-1	39
<i>Proteus mirabilis</i>	15	2	2	1-2	0.25	0.5	0.06-0.5	43
	26	0.5	1.0		0.12	0.25		35
	43	1	2	0.25-4	0.25	0.5	0.06-2	45
	30	1	1	0.25-4	0.12	0.25	≤0.03-0.25	37
	30* ²	1	2	1-8	0.125	0.5	0.125-4	39
	50	1.0	1.0	1.0	0.125	0.25	0.03-0.5	44
<i>Proteus vulgaris</i>	10	1.0	2	1.0-2	0.25	0.5	0.25-0.5	40
	16	1	2	0.25-4	0.12	0.25	0.03-0.5	43
	10	1.0	1.0		0.12	0.25		35
	33	0.5	1	≤0.03-1	≤0.03	0.06	≤0.03-0.06	37
	26* ²	0.5	2	0.25-8	0.06	0.5	0.03-2	39
	15	0.5	1.0	0.25-1.0	0.06	0.125	0.03-0.25	44
<i>Proteus</i> spp.	30	1.0	2	1.0-2	0.375	0.5	0.25-0.5	40
<i>Providencia rettgeri</i>	10	0.5	2.0		0.12	0.25		35
	19	1	2	0.12-2	0.12	0.12	≤0.03-0.12	37
	27* ²	1	4	0.05-8	0.25	1	0.06-2	39
<i>Providencia stuartii</i>	26	0.5	4.0		0.12	1.0		35
	30	0.25	1	≤0.03-4	≤0.03	0.06	≤0.03-1	37
	32* ²	1	8	0.25-64	1	4	0.06-8	39
<i>Providencia</i> spp.	15	1	2	0.25-2	0.06	0.5	0.03-0.5	43
	25	0.5	2	≤0.03-16	0.06	0.25	≤0.03-2	45
	23	0.5	2.0		0.12	0.25		35
	11	2	4	0.12-8	1	4	≤0.03-4	45
<i>Salmonella enteritidis</i>	34	0.5	1	0.03-2	0.03	0.06	0.015-0.12	43
	39* ²	0.25	0.5	0.125-0.5	0.03	0.06	0.015-0.125	39
<i>Salmonella</i> spp.	18	0.12	0.5	0.06-4	0.03	0.06	≤0.015-0.5	45
	28	0.125	0.25	0.125-1.0				41
	93	0.25	0.25	0.06-0.5	0.03	0.06	0.008-0.06	42
<i>Serratia marcescens</i>	20	0.5	32	0.5-2	0.125	0.5	0.06-4	40
	30	1	2	0.5-4	0.12	1	≤0.015-1	43
	35	1.0	2.0		0.25	0.25		35
	29	1	4	0.5-8	0.25	0.5	≤0.03-1	45
	29* ²	1	4	0.25-8	0.125	0.5	0.03-2	39
	50	1.0	2.0	0.06-4.0	0.125	0.25	0.015-0.5	44
<i>Shigella sonnei</i>	15	0.25	0.5	0.06-0.5	0.015	0.03	≤0.015-0.06	43
<i>Shigella</i> spp.	9	0.12	4	≤0.03-4	≤0.03	0.5	≤0.03-0.5	45
	20	0.06	0.125	0.015-0.25				41

	34* ²	0.125	0.5	0.06-2	0.015	0.06	0.015-0.5	39
	144	0.06	0.12	0.015-0.12	0.015	0.015	0.008-0.06	42
<i>Veillonella parvula</i>	2	1	2	1-2	0.5	1	0.5-1	38
<i>Yersinia enterocolitica</i>	17	0.03	0.125	0.025-0.25				41
	25* ²	0.06	0.25	0.015-1	≤0.07	0.125	≤0.008-0.5	39
	68	0.12	0.25	0.03-0.25	0.03	0.03	0.004-0.06	42
グラム陽性菌								
<i>Clostridium difficile</i>	4			4.0-8.0			4.0-8.0	35
	20	8.0	8.0	4.0-8.0				41
	4	4	8	4-8	4	4	4	38
<i>Clostridium spp.</i>	10* ³	1.0		≤0.12-8.0	1.0		≤0.12-4.0	35
	13	2	4	0.5-4	2	4	0.25-8	38
	24* ⁴	0.25	8	≤0.03-16	0.25	8	≤0.03-32	39
<i>Enterococcus spp.</i>	34	4	8	2-8	2	4	1-4	43
	16	4.0	8.0		4.0	8.0		35
	58	4	8	0.06-16	2	4	0.25-8	45
	29	4	8	2-8	2	2	0.5-2	37
<i>Eubacterium spp.</i>	33	2	8	≤0.125-32	1	8	≤0.125-16	36
<i>Peptococcus spp.</i>	64	4	16	≤0.125-32	2	8	≤0.125-16	36
	11	4	4	0.5-16	4	4	0.5-8	38
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	4			0.25-0.5			0.25-0.5	35
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>	4			2.0-8.0			2.0-8.0	35
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	40	2	16	≤0.125-16	2	8	≤0.125-8	36
	8	0.5	8	0.25-8	0.5	8	0.25-8	38
<i>Propionibacterium acnes</i>	14	2	4	2-4	2	4	2-16	38
<i>Propionibacterium granulosum</i>	6	2	2	2-2	2	16	2-16	38
<i>Staphylococcus aureus</i>	30	0.25	0.375	0.125-0.5	0.375	0.5	0.125-0.5	40
	18	0.5	1	0.12-1	0.5	0.5	0.12-0.5	43
	57	0.12	0.25		0.12	0.25		35
	70	0.25	0.25	0.12-8	0.25	0.25	0.06-4	45
	50	0.25	0.5	0.12-0.5	0.12	0.25	0.06-0.25	37
	35	0.125	0.25	0.03-2	0.125	0.25	0.03-0.5	39
	20	0.25	0.5	0.125-0.5	0.25	0.25	0.125-0.5	44
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10	0.5	0.5	0.25-1.0	0.5	0.5	0.125-1.0	40
	15	1	2	0.5-2	0.25	1	0.12-1	43
	43	0.25	1	0.12-4	0.25	0.5	0.03-4	45
	27	0.25	1	0.12-1	0.12	0.25	0.12-0.25	37
	35	0.25	0.5	0.125-8	0.25	0.5	0.06-8	39
	25	0.5	0.5	0.25-0.5	0.25	0.5	0.125-0.5	44
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	20	0.25	0.5	0.25-0.5	0.125	0.5	0.125-0.25	44
<i>Staphylococcus hominis</i>	20	0.5	0.5	0.125-1.0	0.25	0.5	0.125-0.5	44
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	45	1	1	0.25-1	0.25	0.25	0.12-0.5	37
<i>Streptococcus agalactiae</i>	20	1.0	2.0		1.0	2.0		35
	13	2	4	1-4	1	2	0.5-2	45
	22	4	4	2-4	1	2	1-2	37
	25	4.0	8.0	2.0-8.0	2.0	4.0	2.0-4.0	44
<i>Streptococcus bovis</i>	10	2	16	0.25-16	2	4	1-8	39
<i>Streptococcus faecalis</i>	30	4	8	2-8	4	8	1.0-8	40
	25	2.0	4.0		2.0	4.0		35
	24	1	2	0.25-4	1	2	0.5-2	39
	25	2.0	4.0	1.0-4.0	1.0	2.0	0.5-4.0	44
<i>Streptococcus faecium</i>	30	16	32	8-32	16	16	4-32	40
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	20	1.0	2.0		1.0	2.0		35
	33	1	2	1-2	0.5	0.5	0.25-0.5	37
	17	0.5	2	≤0.06-4	0.5	2	≤0.06-2	39

<i>Streptococcus pyogenes</i>	20	0.5	8.0		0.5	8.0		35
	13	1	2	0.25-8	0.5	2	0.25-4	45
	32	1	2	1-2	0.5	0.5	0.25-0.5	37
	16	1	2	0.25-8	0.5	2	0.06-4	39
	25	1.0	2.0	0.5-4.0	0.5	1.0	0.125-2.0	44
<i>Streptococcus</i> spp.	30	4	4	4-16	1.5	3	1.0-8	40
	37	1	4	≤0.125-16	1	4	≤0.125-8	36
Viridans Streptococci	20	2	6	2-8	1.5	2	0.5-2	40
	15	1	1	0.125-2	1	2	≤0.015-2	39

表中の太字はJECFA、VICH等で「relevant species」として推奨されている細菌種

*1 *B. fragilis* を除く

*2 Ampicillin resistant

*3 *C. perfringens* (3), *C. bifementans* (2), *C. ramosum* (2), *C. sporogenes* 他2

*4 *C. difficile*, *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. botulinum*, *C. butyricum*, *C. novyi*

これらの調査は $10^4 \sim 5 \times 10^5$ CFU/spotの菌濃度^{bb}で実施されたが、一部の菌種を用いた確認試験において $10^3 \sim 10^8$ CFU/spotにおいてもMICへの影響はほとんど認められなかったと報告されている^{(36), (37)}。

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 *Escherichia coli* の $\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$ であった。次いで *Yersinia enterocolitica* の $0.03 \mu\text{g/mL}$ 、*Shigella* spp. の $0.06 \mu\text{g/mL}$ であった。ヒト腸内で優勢と考えられる菌種で最も低いMIC₅₀を示したのは *Peptostreptococcus* spp. で $0.5 \mu\text{g/mL}$ であった。

また、ほとんど全ての菌種に対して、ジフロキサシンの代謝物であるサラフロキサシンがジフロキサシンよりも低いMIC₅₀を示した。

これらの報告では、通例腸内細菌叢への影響を検討する際に考慮することが推奨される菌種のうち *Bifidobacterium*、*Lactobacillus* の知見が得られなかった。

②その他のヒト病原細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)

一般的に腸内細菌叢を構成しないが、ヒトの疾病に関係する細菌について臨床分離株に対するジフロキサシン及びサラフロキサシンのMIC₅₀が複数の公表論文で報告されている。その概要は次の通りであった。

菌名	株数	最小発育阻止濃度 ($\mu\text{g/mL}$)						出典等
		Difloxacin			Sarafloxacin			
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	
グラム陰性菌								
<i>Acinetobacter anitratus</i>	10	0.125	0.5	≤0.06-0.5	0.5	0.5	≤0.06-0.5	40
	36**	0.06	0.25	≤0.008-1	0.125	0.5	0.015-1	39
	40	0.06	0.125	0.008-0.25	0.06	0.25	0.03-0.25	44
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	35	0.12	0.25	0.06-0.25	0.06	0.12	≤0.03-0.25	37
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	40	0.03	0.125	0.008-0.25	0.06	0.125	0.015-0.25	44
<i>Acinetobacter</i> spp.	7		0.5	≤0.015-0.5		0.25	≤0.015-0.25	43
	17	0.12	0.5		0.12	1.0		35
	13	0.12	2	0.06-4	0.12	0.5	0.06-0.5	45
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3			0.12-0.5			≤0.06	43
	13**	0.06	0.125	0.03-0.25	≤0.008	0.015	≤0.008-0.03	39
	15	0.06	0.25	0.03-1.0	0.03	0.06	≤0.004-0.5	44

^{bb} 論文8は未記載

<i>Aeromonas</i> spp.	6			$\leq 0.06-0.125$			≤ 0.06	40
<i>Brachamella catarrhalis</i> (<i>Moraxella catarrhalis</i>)	10	0.03	0.03		0.03	0.03		35
	12	0.06	0.25	0.06-2	0.03	0.5	0.03-1	39
<i>Gardnerella vaginalis</i>	20	4	8	2-8	4	8	4-8	46
<i>Haemophilus influenzae</i>	40	0.015	0.015		0.015	0.015		35
	21	0.12	0.12	$\leq 0.03-0.12$	0.12	0.12	$\leq 0.03-0.12$	45
	30	≤ 0.03	≤ 0.03	$\leq 0.03-0.12$	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	37
	20	≤ 0.004	≤ 0.004	$\leq 0.004-0.008$	≤ 0.004	≤ 0.004	$\leq 0.004-0.008$	44
<i>Haemophilus ducreyi</i>	10	≤ 0.03	0.12	$\leq 0.03-0.12$	≤ 0.03	0.12	$\leq 0.03-0.25$	46
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	58	0.03	0.06		0.015	0.03		35
	8	0.015	0.5	$\leq 0.007-0.5$	0.015	0.5	0.015-0.5	45
	31	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	37
	28	≤ 0.008	≤ 0.008	≤ 0.008	≤ 0.008	≤ 0.008	≤ 0.008	39
	25	0.007	0.03	0.003-0.06	0.003	0.015	0.0015-0.03	46
<i>Neisseria meningitidis</i>	19	0.015	0.015		0.015	0.015		35
	5			$\leq 0.008-0.015$			$\leq 0.008-0.015$	39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	1	4	0.5-8	0.25	0.5	0.06-1	43
	70	2.0	8.0		0.5	2.0		35
	53	2	4	$\leq 0.03-16$	0.25	1	$\leq 0.03-2$	45
	88	1	2	0.12-16	0.12	0.25	$\leq 0.03-0.5$	37
	48**	2	8	0.25->32	1	2	0.125-16	39
	100	2.0	8.0	1.0-32.0	1.0	2.0	0.25-8.0	44
<i>Pseudomonas cepacia</i>	20**	1	8	0.03-32	0.5	8	0.03-16	39
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	8	1.0	4.0	1.0-4.0	0.125	1.0	0.06-1.0	44
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	19**	1	4	0.5-4	1	2	0.06-4	39
	38	1.0	8.0	0.25-16.0	1.0	2.0	0.125-4.0	44
<i>Pseudomonas maltophilia</i> / <i>cepacia</i>	14	2.0	8.0		2.0	8.0		35
<i>Pseudomonas putida</i>	17	1.0	4.0	0.25-4.0	0.25	0.5	0.03-1.0	44
<i>Pseudomonas</i> spp.	30	2	4	1.0-8	1.25	4.5	0.25-16	40
	23	0.5	2.0		0.12	0.25		35
	11	2	4	0.12-8	1	4	$\leq 0.03-4$	45
	31	2	4	0.12->128	0.12	0.25	$\leq 0.03-4$	37
	22	2	4	0.5-4	1	0.5	0.06-8	39
<i>Vibrio cholerae</i>	34	0.06	0.5	0.06-1	0.004	0.004	0.004-0.25	42
<i>Vibrio</i> spp.	10	0.125	0.125	$\leq 0.008-0.125$				41
グラム陽性菌								
<i>Actinomyces</i> spp.	14	2	4	$\leq 0.125-8$	1	8	$\leq 0.125-16$	36
<i>Bacillus cereus</i>	17	0.125	0.25	0.06-0.25	0.125	0.25	0.015-0.25	44
<i>Corynebacterium</i> JK spp.	10	1	2	1-2	1	2	1-2	39
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	2	2-4	2	2	2	40
	30	1	2	0.5-4	0.5	1	0.5-2	39
	12	1.0	1.0	1.0-2.0	0.5	0.5	0.5-1.0	44
マイコプラズマ								
<i>Mycoplasma hominis</i>	44	1.0	1.0	0.25-1.0				47
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	11	12.5	25	0.2-25	12.5	12.5	3.1-12.5	46
	29	1	2	0.5-2.0				47

** Ampicillin resistant

これらの細菌種についても基本的にサラフロキサシンがより低いMICを示した。

③特定菌株に対する最小発育阻止濃度 (MIC)⁽⁴⁸⁾

その他、菌株毎のMIC₅₀が報告されている。その概要は次の通りであった。

供試菌	株名	ジフロキサシン	サラフロキサシン
グラム陰性菌			
<i>Citrobacter freundii</i>	TL-12	3.13	0.39
	TU-971	6.25	0.78
	GN-346	0.2	0.025
<i>Enterobacter cloacae</i>	TL-14	0.78	0.1
	TU-680	0.2	0.05
<i>Escherichia coli</i>	NIH JC-2	0.39	0.05
	1346	0.2	0.025
	ML-1410 RGN-823	12.5	1.56
	ML-1410 RGN-238	12.5	1.56
	KC-14	0.1	0.025
	ATCC 27166	≤0.006	≤0.006
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5075	0.2	0.025
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	PCI-602	0.78	0.1
	5038	0.39	0.1
<i>Morganella morganii</i>	0068	3.13	0.78
	Kono	0.78	0.1
	6501	0.78	0.1
<i>Proteus mirabilis</i>	TU-1698	0.78	0.2
<i>Proteus vulgaris</i>	IID-874	0.78	0.1
	6064	0.78	0.2
	6028	0.78	0.1
	GN76/c-1	0.78	0.1
<i>Providencia rettgeri</i>	6256	0.39	0.1
	6259	0.78	0.2
<i>Providencia stuartii</i>	6761	≤0.006	≤0.006
	6764	0.39	0.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PI-67	0.78	0.1
	TU-408	0.78	0.39
	No.12	1.56	0.2
	35 R	3.13	0.78
	4096	3.13	0.78
	4098	0.78	0.1
<i>Salmonella typhi</i>	T-58	0.39	0.05
<i>Salmonella typhimurium</i>		0.39	0.05
<i>Serratia marcescens</i>	7006	3.13	0.39
	OU-29	1.56	0.39
<i>Shigella sonnei</i>		0.2	0.05
グラム陽性菌			
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	0.1	0.05
<i>Enterococcus faecalis</i>	CN-478	3.13	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i>	209P JC-1	0.39	0.1
	Terajima	0.78	0.39
	Smith	0.2	0.1
	252R	0.39	0.2
	199R	0.2	0.2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kawamura	0.2	0.2

報告された細菌種のほとんど全てでサラフロキサシンがより低いMICを示した。

④pHによるMICの変化

異なる pH 条件下におけるジフロキサシン、サラフロキサシンの MIC₅₀ の変動が公表論文で報告されている。*Enterobacteriaceae* 26 菌株 (*E. coli*(7)、*Enterobacter*(3)、*Klebsiella*(3)、*Serratia*(3)、*Citrobacter*(2)、*Morganella*(2)、*Proteus*(3)、*Providencia*(3)) の pH8.0 における MIC(幾何学平均)は 1.3(pH6.5 では 0.29)であった。*Pseudomonas aeruginosa*(8 菌株)、Gram-positive cocci(13 菌株)の MIC はいずれも *Enterobacteriaceae* より大きかった。サラフロキサシンでは pH による変動は小さかったが、*Enterobacteriaceae* ではむしろ高 pH において 3 倍程度低い MIC(幾何学平均)を示した⁽⁴⁵⁾。また、腸内細菌 60 菌株について、pH6.8、7.4、8.0 におけるジフロキサシンの生育阻害の変動が調べられている。pH8.0 では *E. coli*、*Enterobacter*、*Klebsiella*、*Morganella morganii*、*Proteus mirabilis*、*Providencia stuartii* それぞれ 10 菌株の合計 60 菌株においては、0.5µg/mL で約半数(47%)の生育阻害が認められた(pH6.8 では 0.06µg/mL で 43%)。 *Pseudomonas aeruginosa*、*Acinetobacter calcoaceticus*、*Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis* (それぞれ 10 菌株)においても pH の増加に伴って抗菌活性は減弱したが、*Staphylococci* では 0.5µg/mL で 75%の生育阻害(0.25µg/mL は 10%)、他は 1µg/mL で 50%の生育阻害であった⁽³⁷⁾。

一方、*Bacteroides fragilis*(6 菌株)、*Bacteroides* spp.(7 菌株)、*Fusobacterium* spp.(2 菌株)、*Clostridium* spp.(4 菌株)、*Peptococcus/Peptostreptococcus* spp.(5 菌株)については pH による MIC(幾何学平均)の変化はほとんど見られないが *Bacteroides* ではむしろ低下した^{(36),(37)}。

【耐性の出現について】

①Rapid Selection による MIC の上昇

MIC の 1/2 に相当する濃度の抗生物質を含む平板培地に細菌を接種し、選択された菌をその 2 倍量の抗生物質を含む平板培地に接種してさらに選択する操作を繰り返すことにより、より高い MIC₅₀ を有する菌群を選択できることが報告されている⁽⁴⁹⁾。ジフロキサシンを用いて 7 菌種(*Enterobacter aerogenes*、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Serratia marcescens*、*Staphylococcus aureus*、*Streptococcus faecalis*)について 128µg/mL を上限として、菌の生育が認められなくなるまでこの操作を行ったところ、全ての菌で MIC の上昇が認められた。当初の MIC が最も低かった *Escherichia coli* では最大 2.3µg/mL(0.08→)、*Streptococcus faecalis* では 97µg/mL(4.6→)まで MIC(5 菌株の幾何学平均値)が上昇した菌株が得られた。*Enterobacter aerogenes* の 1 菌株と *Serratia marcescens* の 2 菌株では 128µg/mL の濃度でも菌の生育が認められた⁽⁴⁰⁾。

②高濃度薬剤存在培地における耐性獲得頻度

MIC の 8 倍のジフロキサシンあるいはサラフロキサシンを含む培地に 5 菌種(*Enterobacter cloacae*、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Staphylococcus aureus*)を接種した時の耐性菌の出現頻度はジフロキサシンで 3×10^{-7} (*E. cloacae*) ~ $< 3.8 \times 10^{-9}$ (*P. aeruginosa*)、サラフロキサシンで 8.9×10^{-8} (*K. pneumoniae*) ~ $< 3.8 \times 10^{-9}$ (*P. aeruginosa*)であった。10µg/mL の濃度では、*E. cloacae* を除き、ジフロキサシンの耐性菌は検出できず、サラフロキサシンでは耐性菌は検出できなかつたとされている⁽⁴⁰⁾。

MIC の 4 倍または 8 倍のジフロキサシンあるいはサラフロキサシンを含む培地に 3 菌種(*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*)を接種した時の耐性菌の出現頻度は 4 倍のジフロキサシンで 9×10^{-9} (*K. pneumoniae*) ~ 3×10^{-9} (他 2 菌種)、サラフロキサシンで 7×10^{-9} (*E. coli*) ~ 2×10^{-9} (*K. pneumoniae*)であった。8 倍の濃度では、*K. pneumoniae* を除き、ジフロキサシンの耐性菌は検出できず、サラフロキサシンでは耐性菌は検出できなかつたとされている⁽³⁵⁾。

MIC の 8 倍のジフロキサシンあるいはサラフロキサシンを含む培地に 7 菌種(*Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens*)を接種した時の耐性菌の出現頻度はジフロキサシンで $<8.5 \times 10^9$ (*S. marcescens*) $\sim <1.9 \times 10^9$ (*P. stuartii*)、サラフロキサシンで 4.3×10^9 (*S. marcescens*) $\sim <3.7 \times 10^9$ (*K. pneumoniae*)であった⁽⁴⁴⁾。

(7)ヒトにおける知見について

【ヒトにおけるキノロンの毒性影響】^{(3),(50)}

ジフロキサシンのヒト臨床における使用歴はないが、同系統に属するキノロン類あるいはフルオロキノロン類の抗生物質は広くヒト臨床において利用されている。

臨床で認められた副作用で最も一般的なものは消化器系への影響で、悪心、嘔吐等であるが下痢や抗生物質に起因する大腸炎はまれであるとされている。その他、中枢神経系に関連するものとして頭痛、めまい、消炎薬との併用で痙攣、アレルギー反応に関連するものとして発疹があるとされる。この系統の薬剤による副作用に特徴的なものとして、特に未成熟な動物における関節痛や関節膨張等の関節障害、一部では光毒性に由来する光過敏症がある。

【薬剤耐性菌について】

ジフロキサシンはヒト臨床において使用されていないが、ヒト臨床で使用されているフルオロキノロンとは明らかに交差する。

3. 食品健康影響評価について

【眼に関する知見について】

投与後 3 時間時点におけるジフロキサシンの眼中濃度は Sprague-Dawley 系ラット(アルビノ)と比較して Long-Evans ラットにおいて 30 倍の高値を示し、メラニン色素に富む組織に対してジフロキサシンあるいはその代謝物の親和性が高いのではないかと推測されている。また、イヌの眼組織において房水、硝子体液、水晶体及び角膜と比較して、網膜やブドウ膜といったメラニン色素顆粒層に富む組織では高いことが確認されている。

亜急性及び慢性毒性試験において眼検査が実施され、ほとんどの試験で異常は認められないとされているものの、イヌの亜急性毒性において網膜電(位)図に軽度の一過性の変化が認められ、網膜光受容体細胞に対する薬剤の影響であると報告されている。この所見について報告書では変化が微小であること、投薬終了後には回復したことから、最終的に異常はないとされているが、治療における暴露(一時的)と摂食による慢性暴露の違い、網膜電(位)図が網膜の傷害に対する鋭敏な指標であることを考慮して、これを毒性と判断した。眼毒性に対する NOAEL は 5mg/kg 体重/日であった。

【関節影響に関する知見について】

キノロン剤は未成熟な動物における関節痛や関節膨張等の関節障害を起こすことが知られている。このため、特に 3~4 カ月齢のビーグル犬に対する跛行検査が実施されている。0.3~125mg/kg 体重/日の用量が 13 週間投与され、最も低い用量で認められた影響は両側性で軽度な手根関節平坦化で 3.0mg 投与群の雌雄各 1 例(1/4)で認められた。関節影響に対する NOAEL は 1.0mg/kg 体重/日であった。この用量では慢性毒性試験を含めて他の毒性は観察されておらず、最も感受性の高い指標であると考えられた。

【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3世代繁殖試験、ラットの催奇形性、ラットの受胎能及び一般生殖能試験、ウサギの催奇形性試験が実施されている。ラット、ウサギとも催奇形性は認められなかった。

【遺伝毒性／発がん性について】

遺伝毒性試験については、*in vitro* の染色体異常試験、ほ乳類培養細胞を用いた前進突然変異試験のいずれも代謝活性化の有無にかかわらず陰性を示した。一方、UDS 試験では101µg/mL以上の用量で陽性所見がみられた。*in vitro* のUDSについては、キノロン系の抗生物質でしばしば陽性が認められており、ジフロキサシンの代謝物であるサラフロキサシンにおいても陽性所見が得られている。代謝物であるサラフロキサシンについては、*in vivo/in vitro* のラット肝細胞におけるUDS試験で陰性であり、*in vitro* で認められた遺伝毒性が*in vivo* で発現する可能性は低いものと考えられている。

ジフロキサシンの*in vitro* のUDSにおける陽性所見については、用量相関性が認められている。しかしながら、マウスにおける2年間の発がん試験、ラットにおける2年間慢性毒性／発がん性併合試験のいずれにおいてもがん原性は認められなかったことから、生体において問題となる遺伝毒性発がん性を示さないものと考えられる。サラフロキサシンについては、マウスとラットにおいて発がん性試験が実施されており、いずれもがん原性は認められなかったとされている。

【光毒性について】

1990年代後半からフルオロキノロン剤について光毒性／光遺伝毒性があることが報告されてきており、そのメカニズムについて光照射によって活性化された分子のDNAとの直接作用、光照射によって生じた活性酸素やフリーラジカルの生成による二次的傷害が提案されている。フルオロキノロン剤の光毒性や光遺伝毒性についてはいくつかの報告があり、構造的に6位及び8位にハロゲン置換基を有するフルオロキノロン剤が明らかに強い光毒性を示すこと⁽⁵¹⁾、1位の置換基の種類によっては光毒性が減弱することが報告されている^{(52),(53)}。ジフロキサシンについて直接のデータは得られていないが、構造的に8位にハロゲン置換基を有さないことから光毒性が強い部類には入らないものと推定される。1位の置換基はモノフルオロベンゾ基で、ジフルオロベンゾ基については減弱効果があると報告されているものの、モノフルオロベンゾ基の減弱効果については不明である。

【毒性学的影響のエンドポイントについて】

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、イヌの13週間の経口投与試験の跛行検査において雌雄各1例で認められた両側性で軽度な手根関節平坦化であり、NOAELは1.0mg/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】

微生物学的影響の評価については、ヒトの腸内細菌叢への影響を十分に反映できる単独の試験法が確立されていない現状を考慮すると、得られている知見のうち最も適切と考えられるものを用いて微生物学的ADIを設定する手法が妥当であると考えられる。ジフロキサシンについて現時点で利用可能なものは*in vitro* のMIC₅₀のみであった。

ヒトの腸内細菌叢は極めて多数の細菌種から構成されているが、その大部分は偏性嫌気性菌である。このため、偏性嫌気性菌であり、ヒト腸内細菌叢から検出される *Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、

Eubacterium、*Fusobacterium*、*Peptococcus* / *Peptostreptococcus* 等が微生物学的 ADI の設定に際して MIC₅₀ を用いる場合に適切な菌種として推奨されている。また、R-plasmid のリザーバーとなる可能性や乳幼児で優勢菌種となる可能性を考慮して、通性嫌気性菌の *Enterococcus*、*E. coli*、*Lactobacillus* 等も推奨されてきている。ジフロキサシンについては、ヒト腸内に生息する可能性がある細菌のヒト臨床分離株について、公表論文から 22 種 4538 菌株の MIC₅₀ の情報が得られている。

単純に最も感受性が高かった細菌種は *Yersinia enterocolitica* であり、その MIC₅₀ 値は 0.03 µg/mL であったが、腸内細菌叢のかく乱によるコロニー形成耐性破壊は、むしろこれらの病原細菌の腸内定着・増殖が容易になる恐れをハザードとするものであり、指標細菌としては適切でないと考えられる。上記の菌種についての MIC₅₀(µg/mL)は *Bacteroides* が 1、*Clostridium* が 0.25、*Eubacterium* が 2、*Fusobacterium* が 1、*Peptococcus* が 4、*Peptostreptococcus* が 0.5、*Enterococcus* が 4 で、*E. coli* は ≤0.06、*Bifidobacterium*、*Lactobacillus* についてはデータが得られなかった。最も低い MIC₅₀ が報告されたのは *E. coli* であったが、*E. coli* についてはヒト腸内細菌の総細菌数に占める割合はごくわずか(1%程度)で、腸内細菌叢かく乱に対する寄与率は軽微であること、一般的に高度に感受性が非感受性であることが多いことから、単独で微生物学的 ADI の評価に用いる MIC₅₀ として採用するべきではないとされている⁽⁵⁴⁾、⁽⁵⁵⁾。ジフロキサシンについてもこの傾向は同様であり、この値を評価に採用するのは適当でないと考えられる。次に感受性が高かったのは *Clostridium spp.* の 0.25µg/mL であるが、*C. difficile* や *C. botulinum* 等の病原菌を含んだ知見であった。指標として適当と考えられる細菌種の中で、最も感受性が高かったのは *Peptostreptococcus* における 0.5µg/mL であった。*Bifidobacterium*、*Lactobacillus* についてはデータが得られなかったが、サラフロキサシンの *Bifidobacterium* に対する MIC₅₀ として 8µg /mL の報告があり⁽⁵⁶⁾、*Lactobacillus* については Ciprofloxacin で 8µg /mL、Levofloxacin で 4µg /mL の報告がある⁽⁵⁷⁾。抗菌活性の強弱はあるものの、サラフロキサシンやシプロフロキサシンとジフロキサシンの抗菌スペクトルは類似しており、一般にジフロキサシンの抗菌活性はこれらと同程度かむしろ弱いことから、ジフロキサシンがこれらの菌種について特に強い抗菌活性を示すという可能性は低いものと考えられる。

ジフロキサシンの *Peptostreptococcus* における MIC₅₀ の 0.5µg/mL は 8 菌株についてのものであり、他の 40 菌株を用いた報告では 2µg/mL が得られている。これらの差は、出典ごとの変動が 8 倍以上を有意な変動とする NCCLS の解釈からは一つの知見としてまとめることも可能な範囲であるが、個別のデータは得られていない。また、pH7.1 の培地が使用されているが、*Peptococcus* / *Peptostreptococcus* 5 菌株について pH7.3 と 8.1 における MIC の幾何学平均はほとんど変化していなかった。ジフロキサシンの代謝物であるサラフロキサシンについては、ジフロキサシンと同様に *Peptostreptococcus* が最も感受性の高い細菌種として特定されている。MIC₅₀ については 3 菌株の知見から 0.125µg/mL と報告されており、今回報告されているジフロキサシンの MIC₅₀ と比較して 4 倍強い抗菌活性を示したが、サラフロキサシンの存在比はヒトにおける直接の知見は得られていないものの、齧歯類、イヌ、ブタとも多くて 10%程度と推定される。

これらのことから、現時点においてはジフロキサシンの微生物学的 ADI の算出に当たっては、*Peptostreptococcus* 8 菌株における MIC₅₀ の 0.5µg/mL を採用することが適当であると判断された。

なお、ニューキノロンはナリジクス酸等のオールドキノロンと比較して耐性を付与しにくいとされているが、耐性菌が選択される可能性は否定できない。この問題についての定性あるいは定量的評価には、別途のリスク評価が必要であると考えられるが、キノロン剤のヒト医療上における重要性は明らかである。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

ジフロキサシンについては、遺伝毒性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、若齢犬における関節影響についてのNOAEL 1 mg/kg 体重/日であった。この知見は13週間の試験におけるものであるが、感受性の高い時期について計画された試験であることから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は0.01 mg/kg 体重/日と設定される。

一方、微生物学的影響について現時点で利用可能なものは*in vitro*のMIC₅₀のみであった。

結腸内容物に220g、細菌が暴露される分画に70%(尿中回収率より推測)、8菌株についての知見であること、腸管内で一部がサラフロキサシンに代謝されることを考慮して安全係数に2、ヒト体重に60kgを適用すると、

$$\text{ADI (mg/kg 体重/日)} = \frac{0.0005 \text{ (mg/mL)} \times 220 \text{ (g)}}{0.7 \times 2 \times 60 \text{ (kg)}} = 0.0013 \text{ mg/kg 体重/日}$$

となる。

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、微生物学的データから導かれた値がより小さくなり、感受性が高いと考えられる。また、サラフロキサシンのADIが2桁で表されていることを考慮して、ジフロキサシンの残留基準を設定するに際してのADIとしては、0.0013 mg/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、塩酸ジフロキサシンの食品健康影響評価については、ADIとして次の値を採用することが適当と考えられる。

ジフロキサシン 0.0013 mg/kg 体重/日

本評価書中で使用した略号については次にならった

ADI	一日許容摂取量
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)
Ht	ヘマトクリット
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
$T_{1/2}$	消失半減期
TBIL	総ビリルビン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐用一日摂取量
TG	トリグリセリド
T_{max}	最高血(漿)中濃度到達時間

<出典>

1. 動物用医薬品輸入承認申請書(塩酸ジフロキサシン)
2. 塩酸ジフロキサシンの物理的・化学的性質
3. William 2001; 抗微生物薬 ゲッドマン・ギルマン 薬理書(下) 薬物治療の基礎と臨床 第10版; 廣川書店
4. ラットにおける ABBOTT-56619-¹⁴C 塩基の吸収、分布、代謝および排泄
5. ABBOTT-56619 を単回あるいは連続投与時のラットにおける ABBOTT-56619 塩基の薬物動力学およびバイオアベイラビリティ
6. ABBOTT-56619-¹⁴C 塩基を経口投与した Long-Evans ラットの有識眼における放射能濃度
7. イヌにおける ABBOTT-56619-¹⁴C 塩基の代謝及び薬物動力学
8. ABBOTT-56619-¹⁴C 塩基を経口投与時のイヌにおける組織内放射能分布
9. 5, 25 および 125mg/kg/day を1ヵ月間反復経口投与時のイヌにおける ABBOTT-56619 塩基の薬物動力学
10. TV-03 の豚における吸収、分布、排泄試験(飲水添加剤)
11. Difloxacin の豚における体内動態
12. TV-03 の豚における飲水添加投与による血中濃度推移
13. TV-03 の豚における残留試験
14. ラット、ウサギ、イヌおよびヒト血漿における ABBOTT-56619-¹⁴C 塩基の蛋白結合
15. Granneman GR et al. (1986); *Difloxacin metabolism and pharmacokinetics in human after single oral doses* Antimicrob Agents Chemother. : 1986 (30), No.5, 689-693
16. Fritz S, et Al. (1989); *Pharmacokinetic disposition of quinolones in human body fluids and tissues* Clin Pharmacol : 1989 (16), Suppl.1, 5-24
17. ABBOTT-56619(DNA GYRASE 阻害剤)の Maus およびラットを用いた経口投与方法による急性毒性試験
18. 塩酸ジフロキサシンの Maus を用いた皮下投与による急性毒性試験
19. 塩酸ジフロキサシンのラットを用いた皮下投与による急性毒性試験
20. ラットを用いた経口投与方法による ABBOTT-56619 の3ヵ月間毒性試験
21. 若齢犬に経口投与した ABBOTT-56619 の3ヵ月毒性試験
22. イヌにおける A-56619(Difloxacin)カプセル投与による4週間回復期間を含む13週間毒性試験
23. イヌにおける A-56619(Difloxacin)カプセル投与による13週間毒性試験
24. 塩酸ジフロキサシン(A-56619)混餌投与による Maus の癌原性試験
25. 塩酸ジフロキサシン(A-56619)混餌投与によるラットの慢性毒性および癌原性試験
26. 塩酸ジフロキサシン(A-56619)のラットを用いた混餌投与による三世代生殖試験
27. ABBOTT-56619 のラットを用いた経口投与による胚および胎児発育に及ぼす影響の評価
28. A-56619 のラットを用いた受胎能および一般生殖能試験 —第I相: 受胎能および生殖相—
29. A-56619 のラットを用いた受胎能および一般生殖能試験 —第II相: 行動および生殖相—
30. ABBOTT-56619 のウサギを用いた催奇形性試験
31. ABBOTT-56619 のヒト培養全血リンパ細胞を用いた in vitro 染色体異常試験による変異原性評価
32. ABBOTT-56619 の CHO 細胞を用いた HGPRT 前進突然変異試験による変異原性評価
33. ABBOTT-56619 の Maus リンフォーマ細胞を用いた前進突然変異試験による変異原性評価
34. ABBOTT-56619 のラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験による変異原性評価
35. Arthur LB, et al. (1986); *In vitro evaluation of A-56619 and A-56620, two new quinolones* Antimicrob Agents Chemother. : 1986 (29), No.1, 40-43
36. Madhu BB and H. Thadepalli (1987); *Activity of Difloxacin (A-56619) and A-56620 against clinical anaerobic bacteria in vitro*

- Antimicrob Agents Chemother. : 1987 (31), No.4, 619-621
37. Asbjorn D and William LD (1988) ; In vitro activities of A-56619 (difloxacin) and A-56620, two aryl fluoroquinolones
Chemotherapy : 1988 (34), 298-307
 38. Prabhavathi BF, et al. (1986) ; In-vitro and in-vivo potency of five new fluoroquinolones against anaerobic bacteria
J. Antimicrob Chemother. : 1986 (18), 693-701
 39. Lisa H and Harold CN (1987) ; In vitro activity of two new aryl-fluoroquinolone antimicrobial agents, difloxacin (A-56619) and A-56620 compared to that of other antimicrobial agents
Chemotherapy : 1987 (33), 28-39
 40. George M, et al. (1985) ; In vitro activities of the quinolone antimicrobial agents A-56619 and A-56620
Antimicrob Agents Chemother. : 1985 (28), No.4, 514-520
 41. John S, et al. (1989) ; In vitro activities of Lomefloxacin and Temafloxacin against pathogens causing diarrhea
Antimicrob Agents Chemother. : 1989 (33), No.8, 1385-1387
 42. I. Haviyaremye et Al. (1987) ; Activité comparée in vitro de dix nouvelles 4-quinolones sur les bactéries entéro-pathogènes
Path Biol : 1987 (35), No.5, 800-804
 43. Buruce RS, et al. (1986) ; In vitro activities of A56619 and A56620, two new aryl-fluoroquinolone antimicrobial agents
Antimicrob Agents Chemother. : 1986 (29), No.2, 355-358
 44. Kenneth VIR et al. (1987) ; In vitro evaluation of difloxacin (A-56619) and A-56620, and other 4-quinolones against isolates from cancer patients
Chemotherapy : 1987 (33), 419-427
 45. John MS, et al. (1986) ; In vitro evaluation of A-56619 (Difloxacin) and A-56620: new aryl-fluoroquinolones
Antimicrob Agents Chemother. : 1986 (29), No.2, 193-200
 46. Lynne DL, et al. (1986) ; In vitro activities of A-56619 (Difloxacin), A-56620, and other new quinolone antimicrobial agents against genital pathogens
Antimicrob Agents Chemother. : 1986 (30), No.6, 948-950
 47. George EK, et al. (1989) ; Susceptibilities of genital mycoplasmas to the newer quinolones as determined by the agar dilution method
Antimicrob Agents Chemother. : 1989 (33), No.1, 103-107
 48. ベテキノン可溶散 概要
 49. James HT, et al. (1983) ; Rapid selection of organisms with increasing resistance on subinhibitory concentrations of norfloxacin in agar
Antimicrob Agents Chemother. : 1983 (23), No.1, 188-189
 50. 日本感染症学会 日本化学療法学会 編 (2004) ; 抗菌薬使用の手引き ; 協和企画
 51. K Marutani, et al. (1993) ; Reduced phototoxicity of a fluoroquinolone antibacterial agent with a methoxy group at the 8 position in mice irradiated with long-wavelength UV light
Antimicrob Agents Chemother. : 1993 (37), No.10, 2217-2223
 52. N Hayashi, et al (2004) ; New finding on the structure-phototoxicity relationship and photostability of fluoroquinolones with various substituents position 1
Antimicrob Agents Chemother. : 2004 (48), No.3, 799-803
 53. Norihiro Hayashi (2005) ; New findings on the structure-phototoxicity relationship and photostability of fluoroquinolones
Yakugaku Zasshi : 2005 (125), No.3, 255-261.
 54. WHO TRS 893 (2000)
 55. EMEA (2002) ; REVISED GUIDELINE ON SAFETY EVALUATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES REGARDING THE EFFECTS ON HUMAN GUT FLORA

56. WHO: Food Additives Series 41, 1998. SARAFLOXACIN
57. Zarazaga M, et al. (1999) ; In vitro activities of ketolide HMR3647, macrolides, and other antibiotics against *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, and *Pediococcus* isolates
Antimicrob Agents Chemother. : 1999 (43), No.12, 3039-3041