

動物用医薬品評価書

エンロフロキサシンを有効成分とする製造用原体(バイトリル原体)、鶏の飲水添加剤(バイトリル 10%液)、牛の強制経口投与剤(バイトリル 2.5%HV 液)並びに牛及び豚の注射剤(バイトリル 2.5%注射液、同 5%注射液、同 10%注射液)の再審査に係る食品健康影響評価について

2006年5月

食品安全委員会

<目次>

	頁
1. バイトリルについて	3
2. 再審査における安全性に関する知見等について	3
3. 再審査に係る評価について	4
4. 参考文献	4

<別添目次>

1. 薬剤の概要	1
2. 毒性試験の概要	1
2-1. 吸収・分布・代謝・排泄	1
2-2. 毒性試験	4
(1) 急性毒性試験	4
(2) 亜急性毒性試験	4
(3) 慢性毒性試験	8
(4) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験	11
(5) 遺伝毒性試験	14
(6) 一般薬理試験	15
(7) その他	16
(8) 微生物学的影響に関する特殊試験	17
(9) ヒトにおける知見について	19
3. 食品健康影響評価について	19
4. 参考文献	24

〈審議の経緯〉

平成16年10月29日	農林水産厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成16年11月4日	第68回食品安全委員会（要請事項説明）
平成16年11月16日	第20回動物用医薬品専門調査会
平成17年9月13日	厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成17年9月15日	第111回食品安全委員会（要請事項説明）
平成17年11月9日	第39回動物用医薬品専門調査会
平成17年12月16日	第41回動物用医薬品専門調査会
平成18年2月24日	第46回動物用医薬品専門調査会
平成18年3月16日	第135回食品安全委員会
平成18年3月16日	
平成18年4月12日	国民からの意見情報の募集
平成18年4月28日	第52回動物用医薬品専門調査会
平成18年5月17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
平成18年5月18日	第143回食品安全委員会（報告） 同日付で食品安全委員会委員長から農林水産大臣、厚生労働大臣に通知

〈食品安全委員会委員〉

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

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員〉

H17. 9. 30まで

座長	三森	国敏		
座長代理	井上	松久		
	青木	宙	津田	洋幸
	明石	博臣	寺本	昭二
	江馬	眞	長尾	美奈子
	大野	泰雄	中村	政幸
	菅野	純	林	眞
	嶋田	甚五郎	藤田	正一
	鈴木	勝士		

H17. 10. 1から

座長	三森	国敏		
座長代理	井上	松久		
	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		

エンロフロキサシンを有効成分とする製造用原体(バイトリル原体)、鶏の飲水添加剤(バイトリル10%液)、牛の強制経口投与剤(バイトリル2.5%HV液)並びに牛及び豚の注射剤(バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液)の再審査に係る食品健康影響評価について

1. バイトリルについて^{(1),(2),(3),(4),(5),(6)}

バイトリル原体、バイトリル10%液、バイトリル2.5%HV液については平成3年11月15日、バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液については平成4年6月2日に農林水産大臣より動物用医薬品として承認を受けた後、所定の期間が経過したため再審査申請が行われた。製剤の内容については次の通りである。

①主剤

主剤はエンロフロキサシンである。

②効能・効果

適応症はバイトリル10%液が鶏の呼吸器性マイコプラズマ病及び大腸菌症(適応菌種はマイコプラズマ・ガリセプティカム、大腸菌)、バイトリル2.5%HV液が牛の肺炎、大腸菌性下痢症(適応菌種はマイコプラズマ・ボビス、ウレアプラズマ・ディバーサム、パストツレラ・ムルトシダ、大腸菌)、バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液が牛の肺炎、大腸菌性下痢症、豚の胸膜肺炎、大腸菌性下痢症(適応菌種は大腸菌、パストツレラ・ムルトシダ、アクチノバチルス・プルロニューモニエ、マイコプラズマ・ボビス、ウレアプラズマ・ディバーサム)である。

③用法・用量

バイトリル10%液は飲水1L当たりエンロフロキサシンとして50mgを均一に混和して飲水投与する。バイトリル2.5%HV液は1日1回体重1kg当たりエンロフロキサシンとして牛の肺炎については2.5~5mgを3~5日間、大腸菌性下痢症については2.5mgを3日間、強制経口投与する。バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液は、1日1回体重1kg当たりエンロフロキサシンとして牛の肺炎については2.5~5mgを3~5日間、大腸菌性下痢症については2.5mgを3日間、頸部皮下に注射、豚の胸膜肺炎については2.5~5mgを3日間、大腸菌性下痢症については1.25~2.5mgを1~3日間、頸部筋肉内に注射する。休薬期間はバイトリル10%液が7日、バイトリル2.5%HV液が30日、バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液が牛については21日(搾乳は96時間)、豚については20日である。なお、これらの製剤については、第一選択薬が無効の症例のみに使用することとされている。

2. 再審査における安全性に関する知見等について

(1)ヒトに対する安全性について

バイトリルについては、上記の通り国内では鶏の呼吸器性マイコプラズマ病及び大腸菌症、牛の肺炎、大腸菌性下痢症、豚の豚胸膜肺炎、大腸菌性下痢症を対象に使用されている。また、欧州、米国においても広く使用されており、EMEAで6.2µg/kg体重/日^{(7),(8),(9),(10),(11)}、FDAで3µg/kg体重/日⁽¹²⁾、JECFAで2µg/kg体重/日⁽¹³⁾のADIが設定されている。日本においてADI及びMRLの設定はされていない。なお、米国ではフルオロキノロン耐性カンピロバクターに対するリスク評価が実施され、鶏に対する使用許可が2005年9月12日に取り消された。⁽¹⁴⁾

(2)安全性に関する研究報告について^{(15),(16)}

調査期間中のMedlineを含むデータベース検索の結果、分析、耐性菌に関する報告等が複数報告されている。

(3)承認後の副作用報告について⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾

対象動物に対する安全性については、10%液について調査期間中に鶏171,313羽、2.5%HV液について牛661頭、2.5%注射液については牛358頭及び豚481頭、5%注射液については牛513頭及び豚502頭、10%注射液については牛431頭及び豚356頭の調査が実施され、いずれも対象動物に対する新たな副作用は認められなかったとされている。

3. 再審査に係る評価について

本製剤は鶏に飲水投与、牛や豚に筋肉内注射されるが、日本においてMRLの設定はなされていないことから、エンロフロキサシンのADI設定について別添の通り評価を実施した。

エンロ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。

エンロフロキサシン 0.002mg/kg体重/日

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

4. <参考文献>

- (1) バイトリル原体 再審査申請書(未公表)
- (2) バイトリル2.5%HV液 再審査申請書(未公表)
- (3) バイトリル10%液 再審査申請書(未公表)
- (4) バイトリル2.5%注射液 再審査申請書(未公表)
- (5) バイトリル5%注射液 再審査申請書(未公表)
- (6) バイトリル 10%注射液 再審査申請書(未公表)
- (7) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(1) ;EMEA
- (8) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(2) ;EMEA
- (9) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(3) ;EMEA
- (10) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(4) ;EMEA
- (11) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(5) ;EMEA
- (12) 21CFR 556.228
- (13) WHO Food Additives Series 39, ENROFLOXACIN
- (14) <http://www.fda.gov/cvm/FQWithdrawal.html>
- (15) バイトリル原体, バイトリル 2.5%HV 液, バイトリル 10%液 再審査申請書添付資料:効能又は効果及び安全性についての調査資料(未公表)
- (16) バイトリル 2.5%注射液, バイトリル 5%注射液, バイトリル 10%注射液 再審査申請書添付資料:効能又は効果及び安全性についての調査資料(未公表)

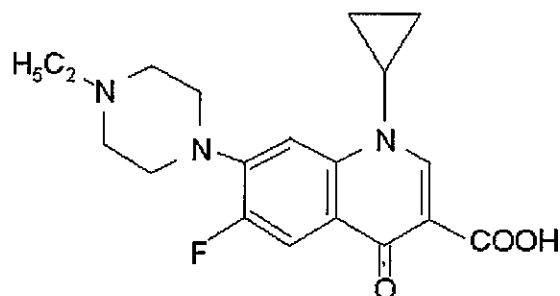
(別添)

エンロフロキサシンの食品健康影響評価について

1. 薬剤の概要

(1)物質名⁽¹⁾

エンロフロキサシン(Enrofloxacin)



分子式 : C₁₉H₂₂FN₃O₃

分子量 : 359.40

常温における性状 : 淡黄色～黄色の結晶性粉末

融点 : 約 222°C (分解)

溶解度 : 溶解性 クロロホルムに溶けやすく、メタノール、アセトンに溶けにくく、水、エーテルにほとんど溶けない。

蒸気圧 : nonvolatile

(2) 効能・効果

エンロフロキサシンはニューキノロン^a剤に属し、グラム陰性菌に加え、多くのグラム陽性菌に対しても有効である。作用は殺菌的であり、細菌のⅡ型トポイソメラーゼ^bである DNA ジャイレース、あるいはトポイソメラーゼⅣに作用し DNA 複製を阻害するものと考えられている。⁽²⁾

(3) その他

エンロフロキサシンを主剤とする動物用医薬品は、国内では鶏の呼吸器性マイコプラズマ病、大腸菌症、牛の肺炎、大腸菌性下痢症、豚の胸膜肺炎、大腸菌性下痢症を対象に使用されている。欧州、米国等においも広く使用されているが、米国ではフルオロキノロン耐性カンピロバクターに対するリスクを高める恐れがあるとして鶏への適用を取りやめている。また、代謝物である ciprofloxacin は抗菌活性を有し、ヒト臨床において使用されている。

2. 毒性試験の概要

2-1. 吸収・分布・代謝・排泄

【ラットにおける投与試験】

Wistar 系雄ラット(各4匹/群)に¹⁴C 標識エンロフロキサシン(5mg/kg)を単回強制経口投与あるいは静脈内

^a ノルフロキサシン以降に合成された塩基性環の6位にフッ素、7位に環状塩基性基を有するキノロン薬を総称して言う。

^b DNA 鎖に一時的な切れ目を導入し、閉環 DNA の超らせんの程度の調節や連環状二量体の形成・解除に作用する。

投与し、最長 48 時間までの血液を経時的に採取した。 T_{max} はいずれも投与直後(0.5 時間)に認められ、 C_{max} は経口投与で 570ng-eq/mL、静脈内投与で 1448ng-eq/mL、 $T_{1/2}$ (β 相)はそれぞれ 11.7 と 7.9 時間、AUC は 2941.8 と 3824.3 ng·h/mL で生物学的利用率は 75.3%であった。また、単回強制経口投与後 24 時間までの胆汁中からは約 40%が回収された。

Wistar 系雄ラット(各 3 匹群)に ^{14}C 標識エンロフロキサシン(5mg/kg)を単回強制経口投与し、2、4、8、24、36、48 時間後の肝臓、腎臓、筋肉、脂肪中の放射活性が測定されている。放射活性は各組織とも投与 2 時間後に最高濃度に達し、その時の濃度は順に 1.85、1.14、0.52、0.02ppm であった。その後の消失は速やかであり、投与後 48 時間ではすべて 0.01ppm 以下となった。

6 時間後までの胆汁中の主要な代謝物は未変化体で 73.6%を占め、極性代謝物が 9.8%、シプロフロキサシンが 4.6%、その他 5 種類の未同定代謝物が検出された。尿中からは未変化体が 30.3%、シプロフロキサシンが 33.8%、極性代謝物が 24.7%検出された。⁽⁴⁾

Wistar 系ラットに ^{14}C 標識エンロフロキサシン 165mg/kg 体重/日を 3 日間、50mg/kg 体重/日を 4 日間連続で強制経口投与し、6 日目の投与後 24 時間までの尿について代謝物の同定が実施されている。主要な化合物として未変化体が雌 36.2%、雄 30.5%、極性代謝物が雌 31.2%、雄 26.0%、シプロフロキサシンが雌 19.0%、雄 28.9%検出された。⁽⁴⁾

未同定の極性代謝物についてさらに詳細な検討が実施されたところ、この代謝物はエンロフロキサシンのグルクロン酸抱合体であることが示唆された。⁽⁵⁾

【ウシにおける投与試験】

3 日～約 8 週齢のウシ(フリージアン種)にエンロフロキサシン 2.5 mg/kg を静脈内(6 頭)、皮下(10 頭)あるいは経口(各 4 頭)経路で単回投与し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイ法により最長 24 時間までの血清中濃度が検討された。

静脈投与における T_{max} は投与直後(0.5 時間)で C_{max} は $1.8 \pm 0.3 \mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (β 相)は 5.4 ± 0.9 時間で、24 時間後の平均血清中濃度は $0.06 \mu\text{g/mL}$ であった。皮下投与の T_{max} は投与後 1～2 時間(1.7 ± 0.48)に認められ、 C_{max} は $1.1 \pm 0.24 \mu\text{g/mL}$ で、2 時間後以降は静脈投与と同様に推移した。経口投与はミルク媒体と直接投与の 2 試験が実施され、 T_{max} はそれぞれ 4-6 時間、1 時間、 C_{max} は $0.9 \pm 0.23 \mu\text{g/mL}$ 、 $1.5 \pm 0.45 \mu\text{g/mL}$ 、であった。24 時間後の血清中濃度はそれぞれ 0.3 ± 0.19 、 $0.2 \pm 0.22 \mu\text{g/mL}$ であった。

また、各群 6 頭のウシに 2.5 あるいは 5mg/kg 体重を皮下投与後 24 時間間隔でさらに 2 回経口投与し、1、2、4、6、24 時間後の血液がそれぞれ採取された。 T_{max} は投与量にかかわらず皮下投与で 2 時間、経口投与で 6 時間、 C_{max} は 2.5 mg 投与群の皮下投与で $1.5 \pm 0.47 \mu\text{g/mL}$ 、経口投与は 2 回ともに $1.1 \pm 0.3 \mu\text{g/mL}$ 、5.0mg 投与群の皮下投与で $2.2 \pm 0.21 \mu\text{g/mL}$ 、1 回経口投与後で $1.8 \pm 0.3 \mu\text{g/mL}$ 、2 回経口投与後で $1.9 \pm 0.59 \mu\text{g/mL}$ で、蓄積性は認められなかった。

さらに、各群 6 頭のウシを用いて 2.5mg/kg 体重を単回筋肉内投与後 1、4、12 時間の血清、胆汁、尿及び各組織中濃度が検討された。投与 1 及び 4 時間後に血清中より高濃度の抗菌活性が検出されたのは、肺、腎臓、肝臓、脾臓、心臓、リンパ節、腸管壁で、特に腎臓と肝臓で約 3～4 倍の濃度であった。4 時間後で最高値となった尿を除き組織中濃度は経時的に減少していた。⁽⁶⁾

3～4 週齢の仔ウシに ^{14}C 標識エンロフロキサシン 5mg/kg 体重/日を 7 日間強制経口投与し、最終投与後 12 あるいは 72 時間における肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の代謝物の同定が実施されている。主要な化合物は未変化体とシプロフロキサシンで、肝臓でシプロフロキサシンが 51.1%、未変化体が 30.9%、腎臓でそれぞれ 45.3%、37.4%、筋肉で 44.4%、51.5%、脂肪で 37.3%、49.9%検出された。検出濃度は経時的に減少したが、肝臓で最も高濃度であった。⁽⁷⁾

【ブタにおける投与試験】

ブタ(ジャーマンランドレース種)にエンロフロキサシン 2.5 mg/kg を筋肉内(18 頭)または経口(17 頭)経路で単回投与し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイ法により最長 24 時間までの血清中濃度が検討された。

T_{max} は筋肉内投与で 1 時間(1.3±0.49)、経口投与で 2 時間(2.3±1.0)、 C_{max} はそれぞれ 0.8±0.12、0.6±0.19µg/mL、 $T_{1/2}$ は 5.8±1.2 時間、6.8±2.9 時間であった。24 時間後の濃度はそれぞれ 0.05、0.06µg/mL となった。

2.5mg/kg 体重を単回筋肉内投与後 1、2、4、6、8、12 時間の血清、胆汁、尿及び各組織中濃度が検討された。一般に組織中濃度は血清中より高濃度で、尿を除き 1 あるいは 2 時間後に最も高濃度を示した。投与後 2 時間目以降は、6 時間後で最高値となった尿を除き組織中濃度は経時的に減少していた。⁽⁶⁾

ブタに ¹⁴C 標識エンロフロキサシン 5mg/kg 体重/日を 7 日間強制経口投与し、最終投与後 12 あるいは 72 時間における肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の代謝物の同定が実施されている。主要な化合物は未変化体とシプロフロキサシンで、あわせて 78~98%を占め、そのほとんどは未変化体であった。検出濃度は経時的に減少したが、肝臓で最も高濃度であった。⁽⁸⁾

【イヌにおける投与試験】

ビーグル犬にエンロフロキサシン 2.5 mg/kg 体重および 5.0 mg/kg 体重を単回皮下投与(各 6 頭)、または 5.0 mg/kg 体重(15 頭)を単回経口投与し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイ法により最長 24 時間までの血清中濃度が検討された。

T_{max} は皮下投与で 0.8±0.3 時間、経口投与で 2.6±1.2 時間、 C_{max} は皮下投与の 2.5mg 投与群で 1.0±0.39µg/mL、5.0mg 投与群で 1.0±0.39µg/mL、経口投与で 1.2±0.47µg/mL、 $T_{1/2}$ は皮下投与で 4.3±1.6 時間、経口投与で 2.3±0.7 時間であった。24 時間後の血清中濃度は皮下投与では用量順に 0.03±0.03、0.03±0.02µg/mL、経口投与では検出限界未満であった。

5.0 mg を単回経口投与した 1 時間後の血清、胆汁、尿及び各組織中濃度は、ほとんどの臓器で血清中より高濃度であった。⁽⁶⁾

【鶏における投与試験】

3~6 週齢の雄ブロイラー(各群 18 羽)にエンロフロキサシン 2.5、10 mg/kg 体重を単回皮下投与、または 2.5、5.0、10 mg/kg を単回経口投与し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイ法により最長 24 時間までの血清中濃度が検討された。

経口投与後の T_{max} は投与後 1~2 時間で、 C_{max} は 2.5 mg 投与群で 0.5µg/mL、5.0 mg 投与群で 0.6µg/mL、10 mg 投与群で 1.4µg/mL、 $T_{1/2}$ は 2~4 時間(2.0~3.5±0.4 時間)であった。皮下投与後の T_{max} は 0.5~1 時間で、 C_{max} は 2.5 mg 投与群で 0.4µg/mL、10 mg 投与群で 1.9µg/mL、 $T_{1/2}$ は 2~6 時間であった。24 時間後の血清中の抗菌活性は 10mg 投与量群でのみわずかに検出された。

2.5mg/kg 体重の単回経口投与において、血清及び組織中濃度は 1 時間に最高値となり、経時的に減少して 24 時間後には検出限界未満となった。10mg/kg 体重の単回経口投与では、血清及び組織中濃度は約 2 時間で最高値となり、その後は経時的に減少した。24 時間後では肝臓が最も高く 0.1µg/g であった。

また、エンロフロキサシン 25、50、100ppm を含む水あるいは 50、200ppm を含む飼料を 14 日間自由

摂取させ、2、7、14 日目に血液を採取し、血清中の抗菌活性が検討された。飲水投与における血清中濃度は25ppm 投与群で0.3-0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、50ppm 投与群で0.6-0.9 $\mu\text{g/mL}$ 、100ppm 投与群で1.1-1.3 $\mu\text{g/mL}$ 、50 ppm、200 ppm 混餌投与における血清中濃度は25ppm、100ppm の飲水投与とほぼ同等であった。試験期間中を通じて血清中濃度はほぼ同等であった。⁽⁶⁾

6~7 週齢の鶏に対してエンロフロキサシン 5mg/kg 体重を静脈内あるいは経口経路で単回投与したときの $T_{1/2}$ はそれぞれ 18.7、14.9 時間と報告されている。AUC の比較から求められた生物学的利用能率は 84.5%であった。⁽⁹⁾

30 日齢の鶏に対して ^{14}C 標識エンロフロキサシン 12mg/kg 体重/日を7及び10日間経口投与し、最終投与6時間後の肝臓、筋肉、皮膚における残留物が検討されている。いずれの組織においても主要残留物はエンロフロキサシンで65.7、78.5、49.7%を占めた。また、シプロフロキサシンがそれぞれ13.3%、3.1%、4.1%検出された。その他の代謝物は微量であったが、皮膚については未同定の1代謝物が7.6%検出された。⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾

2-2. 毒性試験

(1) 急性毒性試験⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾

経口投与による LD_{50} は Bor:CFW1 マウスの雄で 5000 mg/kg 体重以上、雌で 4336 mg/kg 体重、Wistar 系ラットの雌雄で 5000mg/kg 以上、ウサギ(大型チンチラ種)の雌雄で 500-800mg/kg であった。イヌ(ビーグル)では被験物質を嘔吐したため LD_{50} の算出は不可能であった。静脈内投与による LD_{50} は CFW1 マウスの雄で 225 mg/kg 体重、雌で 220 mg/kg 体重であった。

また別の試験においては、経口投与による LD_{50} は ICR 系マウスの雌雄、Wistar 系ラットの雌雄とも 5000mg/kg 以上、筋肉内投与では CD-1 マウスの雌雄、Wistar 系ラットの雌雄とも 1000mg/kg 以上、静脈内投与では CD-1 マウスの雄で 136.0 mg/kg 体重、雌で 143.9 mg/kg 体重、Wistar 系ラットの雄で 233.2 mg/kg 体重、雌で 210.0 mg/kg 体重であった。

皮下投与では、CD-1 マウスの雌雄、Wistar 系ラットの雌雄とも 3000 mg/kg 以上であった。

(2) 亜急性毒性試験

【ラットを用いた4週間亜急性毒性試験】⁽¹⁶⁾

6 週齢の Wistar 系ラットを用いた皮下(0、5、40、300 mg/kg/日)投与における4週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。各群の動物数は0、300 mg 投与群では雌雄各16匹、5、40 mg 投与群では雌雄各10匹で、このうち0、300 mg 投与群の雌雄各6匹は、投与終了後4週(28日)間休業する回復群にあてた。なお、300mg 投与群の雄の3匹が試験期間中に死亡した。

一般的な臨床症状観察では、40mg 以上投与群の雄及び300mg 投与群の雌で投与部位に皮膚の膨隆を伴う硬結が認められた。300mg 投与群では投与の反復につれその数、硬度が増し、投薬期間後半では背部全体が膨隆する重度の変化が認められ、皮膚の一部が潰瘍化する例もあった。また、300mg 投与群の雄では、20 日目頃から全身筋肉の緊張度低下を伴って行動が緩慢になり、眼は退色傾向を示した。休業開始後は、投与部位の変化は経過につれて軽減消退し、行動や眼の変化もみられなくなった。

体重変化では、300 mg 投与群において雄で低値、雌で高値が認められた。休業開始後は雌雄とも対照群と比較して有意差は認められなくなった。

摂餌量では各投与群において有意差は認められなかった。

° 午前8時から午後5時にかけて1時間毎に血液を採取しプールしたもの。

眼科的検査(検眼鏡)においては、投与終了時、休薬後ともに異常は認められなかった。

尿検査では、300 mg 投与群において雌雄に比重の増加、雄にケトン体、リン酸マグネシウムアンモニウム結晶の増加が認められた。休薬期間終了時では雌雄ともこのような変化はみられなかった。休薬終了時の300 mg 投与群において尿中精子数が対照群に比べて多い傾向が認められた。

血液学的検査は投与終了時及び休薬期間終了時に実施されている。5 mg 投与群の雌に血小板数の増加が認められたが、用量相関性が無く、皮下投与による出血に伴う影響と考えられた。40 mg 以上投与群の雌雄に主に好中球、リンパ球の増加に伴う白血球数の増加ならびに血小板数の増加、雄に Hb、Ht の減少が認められ、さらに300 mg 投与群では雌雄で網状赤血球の増加を伴う赤血球数の減少、雄で MCV、MCH の減少が認められた。これらの変化はいずれも休薬終了時には雌雄とも回復した。なお、休薬終了時における300 mg 投与群のリンパ球、白血球数は対照群を下回った。

血液生化学的検査は投与終了時及び休薬期間終了時に実施されている。40 mg 以上投与群の雌雄でアルブミン量の減少が認められ、これに伴って40mg 以上投与群の雄及び300mg 投与群の雌で総たん白質量、A/G 比が低下していた。雄で塩素、雌でナトリウムの低値が認められた。また300mg 投与群の雌雄で GPT 活性、カルシウム、ナトリウム及び塩素の減少、AP、TG の増加、雄で Tcho、BUN の減少、無機リンの増加、雌でカリウムの増加が認められた。休薬期間終了時では300 mg 投与群雄の GPT 及びカルシウムの減少が認められた以外は回復した。

臓器重量では、40mg 以上投与群の雄及び300mg 投与群の雌で脾臓の相対及び絶対重量の増加が認められた。300mg 投与群の雌雄で肺重量の増加、雄で唾液腺、胸腺重量の減少、雌で肝重量の増加、子宮重量の減少が認められた。

剖検では、40 mg 以上投与群の雌雄において投与部皮下に出血点、遺残被験物質及び浸出液を含む肉芽嚢が高頻度で、雄で脾臓の腫大が40mg で1/10、300mg では全個体で認められた。その程度は300mg 投与群でより強く、肉芽嚢は全ての個体で認められ、皮膚潰瘍を伴う例もあった。300mg 投与群の雌でも脾臓の腫大が9/10で認められた。また、300 mg 投与群では盲腸の拡張が全ての個体で認められた。300mg 投与群の休薬期間終了時では雌で盲腸の拡張、投与部皮下の出血点が認められた。

病理組織学的検査では、対照群および5mg 群では投与部位に炎症が認められたものの軽度であった。40mg 以上の群では投与部位の炎症性変化は増強し、中心部に被験物質を入れる肉芽嚢の形成がみられ、300mg 群では重度であった。また投与部位における炎症の反応性変化として40mg 以上投与群の雌雄に骨髓で顆粒球系細胞の過形成、脾臓で造血亢進が認められ、300mg 投与群では雌雄で肝臓における顆粒球系細胞の造血が認められた。その他では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

本試験における NOAEL は5mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた13週間亜急性毒性試験】

42日齢のCD(SD)BR系ラット(雌雄各15匹/群)を用いた混餌(0、500、2000、7500ppm:雄36.5、150.0、577.5mg/kg 体重/日、雌;45.0、182.0、690.0mg/kg 体重/日)投与における13週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、試験期間中に500ppm 投与群の1匹が死亡した。

一般的な臨床症状観察では特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。また眼検査(直接検眼鏡)にも異常は認められなかった。

体重変化では、7500ppm 投与群の雌雄で体重増加量の減少と体重の低値が認められた。

摂餌量では、7500ppm 投与群の雌雄で飼料効率がやや低下していたが、その他に差は認められなかった。

血液学的検査は、6週と13週時点の2回が実施されている。7500ppm投与群の雌雄でHbの低値、雌でHtの低値が認められた。Htの低値は7500ppm投与群の雄でも認められたが統計学的な有意差はなかった。6週の7500ppm投与群の雌雄で血小板数の増加が認められた。13週の7500ppm投与群の雌雄においても血小板数の増加が認められたが、統計学的に有意ではなかった。13週の雄でMCVの低値が認められた。

血液生化学的検査は、6週と13週時点に2回が実施されている。2000ppm投与群の13週の雌及び7500ppm投与群の6、13週の雌雄で血清総たん白質の低値が認められた。これはグロブリンの低下に起因しており、7500ppm投与群の雌雄で低値が認められ、雄ではA/G比も高値を示した。7500ppm投与群の6、13週目の雄でASTの低値が認められ、6週の雄の全投与群、13週では雄の7500ppm投与群でALTの低値が認められた。また、2000ppm以上投与群の6週目の雄、7500ppm投与群の13週目の雌雄で無機リンの高値、2000ppm以上投与群でTBILの低値が認められたが、13週では認められなかった。

尿検査では6週目の2000ppm以上投与群の雄、13週目の2000ppm以上投与群の雌でナトリウムの減少が認められた。

臓器重量では、2000ppm以上投与群の雄で前立腺の相対及び絶対、雌で心臓の絶対重量の低値が認められた。2000ppm投与群では雌の心臓の相対重量は低値であった。7500ppm投与群の雄の心臓の絶対重量は高値を示した。7500ppm投与群の雌雄で肝臓の絶対重量の低値が認められ、雌では統計学的に有意であった。また、雄で精巣の相対重量の高値、雌で脾臓の絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、報告書においては、前立腺で認められた重量の低値について、対照群で前立腺炎が認められ、重量が増加したために有意差が認められたと考察されている。

剖検及び病理組織学的検査では、盲腸の拡張が2000ppm以上投与群の雄及び7500ppm投与群の雌で認められた。高用量群の雄の精巣上体及び精巣に病変が認められ、精巣上体管内及び精巣精細管内で精子集団の間に変性あるいは壊死過程の精子細胞が認められた。また、高用量群の3匹(3/30)に膝関節の軟骨変性、骨膜液増生、慢性滑液包炎が認められた。対照群を含めて耳介の腫脹が認められ、病理組織学的には耳介軟骨の異常(発生頻度は用量順に1、1、6、10)と肉芽腫が認められた。⁽¹⁷⁾

上記試験で精巣への影響が示唆されたため、さらに詳細な検討が実施された。37日齢の雄CD@BR系ラットを用いた混餌(0、125、500、7500ppm:9.9、38.0、615.0mg/kg体重/日)投与における13週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。対照群、125ppm投与群、500ppm投与群は各2群(15匹/群)、7500ppm投与群は3群(15匹/群)を設定し、14日目に7500ppm投与群の1群、91日目に各用量1群を剖検し、残りの各1群は181日目まで無投薬で飼育し、回復が観察された。なお、試験期間中に125ppm投与群の1匹が死亡した。

一般的な臨床症状観察では特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

体重変化では、7500ppm投与群で体重増加量の減少と体重の低値が認められた。これは回復期の後期には回復した。

摂餌量では、7500ppm投与群で飼料効率がやや低下した。

臓器重量では、500ppm投与群で精巣上体の絶対重量の低値、7500ppm投与群で精巣上体の絶対及び相対重量の低値及び精巣の相対重量の高値が認められた。

剖検及び病理組織学的検査では、7500ppm群の14日目の検査で10/15に精巣内の異常精子が認められ、全例で精巣上体管中に異常精子の増加、壊死細胞、成熟精子の減少が認められた。91日目の検査で7500ppm投与群の全例で精細管と精巣上体管に、500ppm投与群の3例で精巣上体管に異常精子が認めら