

間の亜急性毒性試験で雌でも認められたが、値はラットの生理的変動の範囲内であった。また、150mg 投与群の雌雄で白血球数の増加が認められた。ただし、好中球/リンパ球比に異常はなく、未熟形白血球の増加や骨髓細胞の異常は認められなかった。プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間に異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、50mg 以上投与群の雄及び150mg 投与群の雌で総たん白質、グロブリン、アルブミンの減少、150mg 投与群の雄でALTの増加が認められた他、散発的に有意差が認められる項目が認められた。グロブリン、アルブミン、総たん白質の減少は本試験に先立って実施された1ヶ月間の亜急性毒性試験でも認められたが、値はラットの生理的変動の範囲内であった。

尿検査では被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、150mg 投与群の雌雄で肝臓の相対重量の増加、脳の絶対重量の低値が認められた。さらに雄では心臓の絶対重量の低値、雌では腎臓の相対重量の増加が認められた。これらに関連する生化学的あるいは病理組織学的所見は認められなかった。

剖検では特に被験物質投与に起因した異常は認められなかった。

病理組織学的検査は対照群と150mg 投与群のみで実施されたが、特に被験物質投与に起因した異常は認められなかった。

本試験におけるNOAELは50mg/kg 体重/日であった。

#### 【若齢イヌを用いた3ヶ月間亜急性毒性試験】<sup>(21),(22),(23)</sup>

9~12ヵ月齢のビーグル犬(対照群及び60mg 投与群は雌雄各7頭/群、5及び20mg 投与群は雌雄各4頭/群)を用いた強制経口投与(0、5、20、60 mg/kg 体重/日)による3ヶ月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。投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には空のカプセルを同様に投与した。なお、対照群及び60mg 投与群の雌雄各3頭は、投与終了後1ヶ月間を回復期とし、その間についても状態の観察が実施されている。

一般的な臨床症状観察では、被験物質の投与に関連すると考えられる所見として、自発運動低下、嘔吐、眼瞼下垂、流涎、耳の腫脹、縮腫が認められた。60mg 投与群の雄の1例では投与後に振戦が認められた。流涙、下痢あるいは軟便も認められたが、これらの用量相関性は明確でなかった。

眼科学検査(眼底鏡及び細隙灯)では網膜を含む眼の構造に異常は認められなかった。

体重変化、摂餌量に特に被験物質の投与に起因した変化は認められなかった。

血液学的検査では、60mg 投与群の雄で活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が認められたが、通常の変動範囲内と考えられた。他に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。

血液生化学的検査では、60mg 投与群の雄の数頭でALTの増加が認められた。回復期まで観察された個体では、試験118日には正常範囲に回復していた。このALTの増加は本試験に先だって実施された1ヶ月間亜急性毒性試験においても認められていた。1ヶ月間亜急性毒性試験で認められていた血清中総たん白質の減少は本試験では認められなかった。

尿検査では、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。

臓器重量では、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。

剖検では、20mg 以上の投与群で顆粒を含む胆汁が認められ(4/8、5/8)、組織学的検査では結晶性物質であった。結晶性物質については1ヶ月間亜急性毒性試験においてジフロキサシンのグルクロン酸抱合体であ

<sup>1</sup>フリーベース換算量。投与量は最新の体重測定値に基づき補正。

ることが確認されている。これらの結晶性物質は回復試験群では認められなかった。

この他、網膜電(位)図検査、心電図検査が実施されている。網膜電(位)図検査では 20mg 以上投与群で A 及び B 波頂点時間の規則的延長と振幅の減少が特に 3ヶ月の投与後に観察された。同様の所見は1ヶ月間亜急性毒性試験においても認められているが、回復期には消失した。心電図検査では特に被験物質投与に起因した異常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。

3.5~3.8 カ月齢のビーグル犬(対照群及び 125mg 投与群は雌雄各 8 頭群、他の投与群は雌雄各 6 頭群)を用いた強制経口投与(0、5、25、35、50、125mg/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通りであった。投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には空のカプセルを同様に投与した。なお、対照群及び 125mg 投与群の雌雄各 2 頭は、投与終了後 1ヶ月間を回復期とし、その間についても状態の観察が実施されている。なお、跛行、手根関節の平坦化が発現したため、25mg 投与群の 3 頭(雄 2、雌 1)、35mg 以上投与群では 4 頭(雌雄各 2)を投与 24 日に(125mg 投与群の雄については 8 及び 10 日に 1 頭ずつ)安楽死させ、剖検に供した。その他には試験期間中に死亡例はなかった。

一般的な臨床症状観察では、被験物質の投与に関連すると考えられる所見として、眼窩周囲の腫脹(swelling)、耳部、鼻口部、腹部の一部あるいは全ての皮膚の紅潮(red skin)、瞬膜腫脹(elevated)、結膜、耳部、鼻口部の一部あるいは全ての腫脹(swollen)が認められた。また、35mg 以上の投与群で嘔吐が用量相関的に増加した。125mg 投与群では瞳孔収縮、痙攣(convulsion)、脱水症状、横臥、流涎、斜視、緊張(tonic)、振戦、引きつり(twitching)、衰弱も認められた。

体重変化では 50mg 投与群の雌及び 125mg 投与群の雌雄で有意に低下した期間が認められた。

摂餌量では 25mg 投与群の雌で投与 1-2 日、35mg 及び 50mg 投与群の雌、125mg 投与群の雌雄で 42 日までの間でしばしば有意な減少が認められた。5mg 投与群の雌、25、35、50mg 投与群の雌雄の平均摂餌量は有意ではないがしばしば対照群を下回った。

眼科学検査(間接検眼鏡)では特に異常は認められなかった。

血液学的検査では、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。

血液生化学的検査では、25mg 以上投与群の雌雄でグロブリン及び総たん白質の低下が認められた。50mg 以上投与群の雄及び 125mg 投与群の雌で ALT が増加した。125mg 投与群の雌では AST の増加も認められた。γ-グルタミルトランスフェラーゼは 125mg 投与群の雌で有意な、雄で有意ではないが増加が認められた。

尿検査では、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。

臓器重量では、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。

剖検及び病理組織学的検査では、大腿骨、脛骨近位端、橈骨遠位端及び手根骨部の関節軟骨に中間層の空隙形成、軟骨原線維形成、軟骨細胞密集等の病変が全ての投与群で認められた。発生の頻度は高用量でより顕著であった。また、肝内胆管増殖が 35mg 以上投与群で認められた。

この他、網膜電(位)図検査、心電図検査、跛行検査が実施されている。網膜電(位)図検査では特に被験物質投与に起因した異常は認められなかった。心電図検査では投与群で心拍数の増加が認められたが、統計学的な有意差、用量相関性とも認められなかった。跛行検査では全ての投与群で左右手根関節の平坦化の発生頻度が用量依存的に増加した。跛行は 50mg 以上の投与群で認められた。踵関節の低位が 35mg 以上

<sup>1</sup> フリーベース換算量。投与量は最新の体重測定値に基づき補正。

投与群の雄及び 125mg 投与群の雌で認められた。

全ての投与群で関節軟骨の変化が認められたため、本試験における NOAEL は求められなかった。

3～4 ヶ月齢のビーグル犬(雌雄各 4 頭/群)を用いた強制経口投与(0、0.3、1.0、3.0mg/kg 体重/日<sup>k</sup>)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通りであった。投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には空のカプセルを同様に投与した。なお、試験期間中に死亡例はなかった。

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 0.3 及び 1.0mg 投与群の雄で数週間の間、増加が認められた。これらの投与群では散発的に摂餌量の増加が観察されていた。3.0mg 投与群ではこのような変化は認められなかった。

眼科学検査(間接検眼鏡)、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では、いずれも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。

跛行検査では両側性で軽度な手根関節平坦化が 3.0mg 投与群の雌雄各 1 例で認められた。

本試験における NOAEL は 1.0mg/kg 体重/日であった。

### (3)慢性毒性試験

#### 【マウスを用いた 2 年間発がん性試験】<sup>(24)</sup>

CD-1 マウス(雌雄各 70 匹/群)を用いた混餌(0、5、25、75、150mg/kg 体重/日<sup>l</sup>; 雄 0、4.0、20.5、67.6、123.0mg/kg 体重/日, 雌 0、4.1、20.6、61.7、123.6mg/kg 体重/日<sup>m</sup>)投与による 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通りであった。

一般的な臨床症状観察では、対照群を含めて雄で肛門性器の汚れが認められ、75mg 以上の投与群では発生率の増加が明らかであった。雌では同様の所見は認められなかった。

体重変化では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

飼料摂取量では、統計学的に有意な変化が散発的に認められたが、用量相関性はなかった。

血液学的検査では 150mg 投与群の雌雄でヘモグロビン、ヘマトクリットの低下、赤血球数の減少が認められたが、低下の程度は試験実施施設の背景データの範囲内であった。なお、血液生化学的検査は実施されていない。

剖検及び病理組織学的検査で、投与量にかかわらず5%以上の発生頻度で腫瘍が認められたのは、肺気管支/肺胞癌、腺腫、肝細胞癌、腺腫、血管腫、子宮組織球性肉腫、平滑筋腫、血管腫、子宮内膜ポリープ、下垂体腺腫、リンパ腫、ハーダー腺の嚢胞腺腫であった。雄では肺腺癌が150mg投与群で多く認められたが、Peto法では統計学的な有意差は無く、またこの系統は肺気管支/肺胞癌、腺腫の自然発生頻度が高いため、毒性学的意義はないと考えられた。雌ではいずれも差は認められなかった。肝臓では150mg投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大が対照群よりも多く認められたが、肝細胞腺腫および癌、これらの併発例の発生率には投与群と対照群間で有意差は認められなかった。150mg投与群の雌雄で鼻甲介のエオシン好性の呼吸上皮、嗅覚上皮、エナメル器の陥入、鼻孔内のタンパク様液の発生頻度の増加が認められ、また、雌の75mg投与群で子宮血管腫の発現数が増加したが、150mgを含め他の投与群では認められなかった。雄の75mg以上投与群で精巣細動脈の石灰沈着(mineral deposit)、150mg投与群で精母細胞・精子細胞の巨細胞及び精巣白膜石灰沈着が認められた。

<sup>k</sup> フリーベース換算量。投与量は最新の体重測定値に基づき補正。

原末換算における計画投与量。混餌濃度は最新の体重測定値及び摂餌量に基づき調整。

<sup>m</sup> 混餌濃度及び摂餌量から求めた実投与量(フリーベース換算量)

本試験において被験物質投与に係るがん原性は認められなかった。また、原末で雄の 75mg 投与群で影響が認められたことから、フリーベース換算における NOAEL は 20.5mg/kg 体重/日であった。

#### 【ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験】<sup>(25)</sup>

CD 系ラット(雌雄各 70 匹/群)を用いた混餌(0、5、25、50、100mg/kg 体重/日<sup>n</sup>; 雄 0、4.0、20.5、41.2、82.2mg/kg 体重/日, 雌 0、4.0、20.6、41.0、81.4mg/kg 体重/日<sup>o</sup>)投与による 2 年間の慢性毒性/発がん性併合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、雌の 50mg 投与群で生存率が低かった他は、群間比較では有意な生存率の変化は認められなかったが、雄では傾向検定で生存率の減少傾向が認められた。

一般的な臨床症状観察では、赤く腫脹した耳部が 50mg 投与群の雌及び 100mg 投与群の雌雄で認められた。片側性血涙が 50mg 以上投与群の雄で認められた。

体重変化では、100mg 投与群の雌雄の 2 年目に減少が認められた。

飼料摂取量では、100mg 投与群の雄で全期間を通じて、雌の 100mg 投与群で 44 週まで、25 及び 50mg 投与群で 40 週まで増加が認められた。

血液学的検査は 3 ヶ月毎に血液を採取して実施された。白血球数の増加が 100mg 投与群の雄及び 12 ヶ月までの雌で認められ、50mg 投与群の雄でも 3 及び 9 ヶ月に認められた。100mg 投与群の雄では、投与開始後 12 ヶ月までヘモグロビン濃度、ヘマトクリット、9 ヶ月まで赤血球数が低下もしくは減少した。15 ヶ月では血小板数が増加していた。これらの変化はいずれも背景データの範囲内であった。また、12 ヶ月までの間にプロトロンビン時間の変化が認められたが、投与との関連性は不明であった。

血液生化学的検査では、50mg 以上投与群の雌雄で投与 15 ヶ月までの間でしばしば無機リン酸濃度の増加が認められた。また、総たん白質の減少と総コレステロールの増加が散発的に認められたが、これらは背景データの範囲内であった。

尿検査では、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。

臓器重量では、50mg 以上投与群の雄で前立腺の相対及び絶対重量の減少が認められた。また、100mg 投与群の雄で精巣の絶対重量の減少、腎臓の相対重量の増加、脳の絶対重量の減少、雌で脳の絶対重量の減少が認められた。

剖検では、50mg 以上投与群の雌雄で耳部の腫脹及び褪色、肝臓の褪色の発生頻度が上昇した。100mg 投与群の雄で精巣の萎縮又は軟化が認められ、雌の投与群で卵巣の嚢胞が認められた。

病理組織学的検査では、50mg 以上の投与群で高頻度に認められた腫脹あるいは褪色した耳部で類軟骨過形成、うっ血が認められた。肝臓では胆管増生及び胆管線維症の発生率の増加が 25mg 以上投与群の雌雄で認められたが、これらの病変では投与との関連性はなかった。肝臓の褪色部ではうっ血が認められたが、不完全な放血に起因するものと考えられた。100mg 投与群の雄では精母細胞・精子細胞性巨細胞の精細管内形成を伴う精上皮の変性又は萎縮が高頻度で認められた。これらの変化を有する精巣上体では無精子症、精子減少症、上体管腔内の細胞破片集簇が認められた。卵巣の嚢胞は対照群を含めて用量に無関係に散発的に認められ、剖検で嚢胞とカウントされたものの多くは病理組織学的には嚢胞を確認できなかった。

腫瘍の発生頻度については、対照群と投与群間で有意差は認められなかった。

原末で雌雄の 50mg 投与群で影響が認められたことから、フリーベース換算における本試験の NOAEL

<sup>n</sup>原末換算における計画投与量。混餌濃度は最新の体重測定値及び摂餌量に基づき調整。

<sup>o</sup>混餌濃度及び摂餌量から求めた実投与量(フリーベース換算量)

は 20.5mg/kg 体重/日であった。

#### (4)繁殖毒性試験及び催奇形性試験

##### 【ラットを用いた3世代繁殖試験】<sup>(26)</sup>

ラット(Crl:CD(SD)BR;雌雄各30匹/群)を用いた混餌投与(0、25、50、100 mg/kg 体重/日)による3世代繁殖試験が実施されている。100mg 投与群では受胎率及び出生率の著しい減少が認められたため、F<sub>1</sub>世代以降は50mgまでの3用量で実施された。

被験物質の投与はF<sub>0</sub>世代では7週齢、F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代では生後22日に開始し、雌雄とも最短でも第1回交配前の70日間及び2回の繁殖期を通して投与を行った。第1産児(F<sub>1a</sub>、F<sub>2a</sub>、F<sub>3a</sub>)は生後21日の離乳まで哺育させ、第1産児の離乳から最短10日後に2回目の交配を行い、第2産児(F<sub>1b</sub>、F<sub>2b</sub>、F<sub>3b</sub>)を離乳まで哺育させた。F<sub>1b</sub>、F<sub>2b</sub>については離乳後各群から雌雄各30匹を繁殖用に選抜し、それぞれF<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>世代を得た。被験物質の混合量は交配前については最新の体重と摂餌量に基づいて毎週濃度調整され、交配、妊娠、授乳中は交配前の体重と摂餌量に基づいた調整濃度に維持された。交配期間中同一ケージに同居させた雌雄についてはどちらか低濃度に調整された方の濃度の混餌飼料を与えた。混餌濃度と摂餌量から求められた実投与量はF<sub>0</sub>については次の表の通りであった。この被験物質濃度はフリーベース換算されていない。なお、授乳期間の値は出生児の摂餌のため上昇した。

性	時期	投与量理論値(mg/kg 体重/日)		
		25	50	100
雄	第1回交配前	25.4	50.7	101.1
	第1回と第2回交配の間	24.3	47.0	94.6
	第2回交配後	24.2	48.5	95.5
雌	第1回交配前	25.3	50.9	101.9
	第1回妊娠期間	24.3	46.7	115.0
	第1回授乳期間	62.3	127.0	148.8
	第2回交配前	28.0	53.3	95.7
	第2回妊娠期間	23.7	48.7	112.7
	第2回授乳期間	59.3	117.3	172.3
	第2回離乳後	25.5	52.0	109.5

一般的な臨床症状観察では対照群との間に所見の差はなかった。

親動物では100mg 投与群のF<sub>0</sub>で雄の低体重と増加量減少、妊娠雌でも低体重と増加量減少が認められた。50mg 投与群では、F<sub>0</sub>の妊娠雌で低体重と増加量減少、F<sub>1</sub>の雌雄で低体重、F<sub>1</sub>の妊娠期間及び授乳期間中の低体重、F<sub>2</sub>の雌雄で低体重と増加量減少が認められた。摂餌量の減少が100 mg 投与群のF<sub>0</sub>雌の授乳中、50 mg 投与群のF<sub>0</sub>雌の妊娠中及び授乳中、F<sub>1</sub>の雄、F<sub>2</sub>の妊娠中及び授乳中に認められた。

100mg 投与群においてF<sub>0</sub>雄の肝臓、腎臓、精巣および下垂体の相対重量の増加、雌の卵巣の相対及び絶対重量の減少、肝臓の相対重量の減少が認められた。50mg 投与群ではF<sub>0</sub>雄で肝臓、腎臓の相対重量の増加、F<sub>1</sub>雄で肝臓と精巣の相対重量の増加、雌で肝臓と腎臓の相対重量の増加、F<sub>2</sub>雌の腎臓で相対重量の増加が認められた。いずれの臓器においても被験物質投与に関連すると考えられる病理組織学的変化は

みられなかった。

100 mg 投与群の F<sub>0</sub> 雌雄で受胎率<sup>p</sup>および妊娠率<sup>q</sup>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<sub>2b</sub>)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<sup>r</sup>であり、生殖発生毒性に対する NOAEL は 46.7mg/kg 体重/日<sup>s</sup>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】<sup>(27)</sup>

ラット(Cd: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】<sup>(28),(29)</sup>

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(F<sub>0</sub>)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(F<sub>1</sub>)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 F<sub>1</sub> 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 F<sub>2</sub> 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(F<sub>0</sub>)において、150mg 投与群で流産が認められ、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。

<sup>p</sup> 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

<sup>q</sup> 妊娠が成立した雌の数/交尾した雌の数

<sup>r</sup> 25mg 投与群の F<sub>1</sub> 雌及び F<sub>2</sub> 雄における実摂取量の最低値

<sup>s</sup> F<sub>0</sub> 雌の 50mg 投与群における実摂取量の最低値

<sup>t</sup> 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。

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

生後のF<sub>1</sub>児の耳介開展、眼瞼開裂、正向反射<sup>v</sup>、断崖回避、音響驚愕反応<sup>w</sup>、聴覚機能<sup>x</sup>、眼科的検査、オープンフィールド行動検査<sup>y</sup>、M迷路学習検査<sup>z</sup>の結果には被験物質投与の影響は認められなかった。

F<sub>1</sub>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。

F<sub>1</sub>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。F<sub>1</sub>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、F<sub>2</sub>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】<sup>(30)</sup>

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、75mg/kg体重/日<sup>aa</sup>)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75mg投与群で9例、15及び35mg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35mg/kg/日と考えられた。

<sup>v</sup> 仰向けの状態からの復帰反応

<sup>w</sup> 単発の短音に対する反応

<sup>x</sup> 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

<sup>y</sup> Hallの方法による行動観察

<sup>z</sup> 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

<sup>aa</sup> 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 <sup>1</sup>	結果
染色体異常試験	培養ヒト全血リンパ球 <sup>(31)</sup>	37.5, 75.0, 113, 150 µg/mL <sup>2</sup> (-S9 ; 50.5hr)	陰性
		100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL <sup>3</sup> (+S9 ; 27.4hr)	陰性
前進突然変異試験 ( <i>Hprt</i> )	CHO(K1-BH4/ <i>HGPRT</i> ) <sup>(32)</sup>	288, 384, 511, 682, 909 µg/mL <sup>4</sup> (-S9 ; 5+20hr)	陰性
		216, 288, 384, 511, 682 µg/mL (+S9 ; 5+20hr)	陰性
		511, 682, 909, 1212 µg/mL <sup>5</sup> (-S9 ; 5+20hr)	陰性
		511, 682, 909, 1212 µg/mL <sup>5</sup> (+S9 ; 5+20hr)	陰性
前進突然変異試験 ( <i>Tk</i> )	L5178Y マウスリンパ腫細胞 <sup>(33)</sup>	10~700 µg/mL (-S9) <sup>6</sup>	陰性
		10~500 µg/mL (+S9) <sup>7</sup>	陰性 <sup>8</sup>
不定期 DNA 合成(UDS)	ラット初代培養肝細胞(-S9) <sup>(34)</sup>	5.03-503 µg/mL <sup>9</sup>	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 <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	範囲	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	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 thetaotaomicrom</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* <sup>1</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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* <sup>2</sup>	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