

動物用医薬品・飼料添加物評価書

サリノマイシン

2018年5月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯	4
○ 食品安全委員会委員名簿	4
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	4
○ 要約	5
I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況	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 (マウス)	8
(2) 薬物動態試験 (妊娠マウス)	11
(3) 薬物動態試験 (ラット)	12
(4) 薬物動態試験 (マウス及びラット)	13
(5) 薬物動態試験 (ウサギ)	13
(6) 薬物動態試験 (牛)	14
(7) 薬物動態試験 (豚)	14
(8) 薬物動態試験 (鶏) ①	15
(9) 薬物動態試験 (鶏) ②	17
(10) 薬物動態試験 (鶏) ③	17
(11) 薬物動態試験 (鶏) ④	17
(12) 代謝試験 (マウス、ラット及び鶏)	18
(13) 鶏における代謝	18
2. 残留試験	18
(1) 残留試験 (牛) ①	18
(2) 残留試験 (牛) ②	20
(3) 残留試験 (牛) ③	20
(4) 残留試験 (乳汁)	20
(5) 残留試験 (鶏) ①	20
(6) 残留試験 (鶏) ②	22
(7) 残留試験 (鶏) ③	23

(8) 残留試験 (鶏) ④.....	24
(9) 残留試験 (鶏卵) ①.....	25
(10) 残留試験 (鶏卵) ②.....	26
(11) 残留試験 (鶏卵) ③.....	26
(12) 残留試験 (鶏卵) ④.....	26
3. 遺伝毒性試験.....	27
4. 急性毒性試験.....	29
(1) 急性毒性試験 (マウス、ラット、イヌ及び鶏).....	29
(2) 急性毒性試験 (マウス、ラット及びウサギ).....	29
(3) 急性毒性試験 (マウス、ラット及びイヌ、サリノマイシン Na 原体).....	30
(4) 吸入毒性試験 (ラット).....	31
5. 亜急性毒性試験.....	32
(1) 3 か月間亜急性毒性試験 (マウス).....	32
(2) 6 か月間亜急性毒性試験 (マウス).....	33
(3) 1 か月間亜急性毒性試験 (ラット).....	33
(4) 3 か月間亜急性毒性試験 (ラット).....	34
(5) 6 か月間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>.....	35
(6) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ).....	36
(7) 6 か月間亜急性毒性試験 (イヌ) ①.....	36
(8) 6 か月間亜急性毒性試験 (イヌ) ②<参考資料>.....	37
6. 慢性毒性及び発がん性試験.....	38
(1) 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (マウス) ①.....	38
(2) 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (マウス) ②.....	39
(3) 2 年間発がん性試験 (マウス).....	40
(4) 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット) ①.....	40
(5) 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット) ②.....	41
(6) 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット) ③.....	42
(7) 30 か月間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット).....	43
(8) 30 か月間発がん性試験 (ラット).....	44
(9) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ).....	44
7. 生殖発生毒性試験.....	45
(1) 2 世代生殖毒性試験 (マウス).....	45
(2) 生殖毒性試験 (ラット).....	46
(3) 2 世代生殖毒性試験 (ラット) ①.....	47
(4) 2 世代生殖毒性試験 (ラット) ②<参考資料>.....	47
(5) 発生毒性試験 (マウス).....	48
(6) 発生毒性試験 (ラット) ①.....	49
(7) 発生毒性試験 (ラット) ②.....	49
(8) 発生毒性試験 (ウサギ) ①.....	50
(9) 発生毒性試験 (ウサギ) ②.....	50

(10) 発生毒性試験 (ウサギ) ③	51
(11) 発生毒性試験 (ウサギ) ④	51
(12) 発生毒性試験 (ウサギ) ⑤	52
8. 対象動物を用いた安全性試験	53
(1) 牛	53
(2) 鶏	54
9. その他の試験	55
(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)	55
(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)	55
(3) 皮膚感作性試験 (モルモット)	55
(4) 免疫学的試験	55
(5) 一般薬理試験	55
10. 各種動物におけるその他の知見	55
(1) 牛	55
(2) 豚	56
(3) 七面鳥	56
(4) 馬	57
(5) イヌ及びネコ	57
11. ヒトにおける知見	57
12. 微生物学的影響に関する試験	58
(1) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ①	58
(2) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC ②	58
(3) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC ③	59
(4) 各種細菌に対する MIC	59
III. 国際機関等における評価	61
1. EFSA における評価	61
2. FDA における評価	61
IV. 食品健康影響評価	62
1. 毒性学的 ADI について	62
2. 微生物学的 ADI について	62
3. ADI の設定について	63
・ 表 34 EFSA 及び食品安全委員会における無毒性量等の比較	64
・ 別紙 1: 検査値等略称	67
・ 別紙 2: ¹⁴ C 放射標識サリノマイシン Na の標識部位	68
・ 参照	69

〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
2012年 7月 18日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安0718第14号）、関係資料の接受
2012年 7月 23日 第440回食品安全委員会（要請事項説明）
2016年 4月 6日 第112回肥料・飼料等専門調査会
2018年 4月 10日 第692回食品安全委員会（報告）
2018年 4月 11日 から5月10日まで 国民からの意見・情報の募集
2018年 5月 23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
2018年 5月 29日 第698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厚生労働大臣へ通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2015年6月30日まで)	(2017年1月6日まで)	(2017年1月7日から)
熊谷 進 (委員長*)	佐藤 洋 (委員長)	佐藤 洋 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理*)	山添 康 (委員長代理)	山添 康 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理*)	熊谷 進	吉田 緑
三森 国敏 (委員長代理*)	吉田 緑	山本 茂貴
石井 克枝	石井 克枝	石井 克枝
上安平 浏子	堀口 逸子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

* : 2012年7月2日から

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2016年9月30日まで)	(2017年9月30日まで)	(2017年10月1日から)
今井 俊夫 (座長)	今井 俊夫 (座長)	今井 俊夫 (座長*)
山中 典子 (座長代理)	山中 典子 (座長代理)	山中 典子 (座長代理*)
荒川 宜親 菅井 基行	荒川 宜親 菅井 基行	新井 鐘蔵 下位 香代子
石原 加奈子 高橋 和彦	今田 千秋 高橋 和彦	荒川 宜親 菅井 基行
今田 千秋 戸塚 恭一	植田 富貴子 戸塚 恭一	今田 千秋 高橋 和彦
植田 富貴子 中山 裕之	川本 恵子 中山 裕之	植田 富貴子 中山 裕之
桑形 麻樹子 宮島 敦子	桑形 麻樹子 宮島 敦子	川本 恵子 宮島 敦子
小林 健一 宮本 亨	小林 健一 宮本 亨	桑形 麻樹子 山田 雅巳
佐々木 一昭 山田 雅巳	佐々木 一昭 山田 雅巳	小林 健一 吉田 敏則
下位 香代子 吉田 敏則	下位 香代子 吉田 敏則	佐々木 一昭

* : 2017年10月25日から

〈第112回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明 (公益財団法人食の安全・安心財団理事長)

要 約

抗生物質及び寄生虫駆除剤である「サリノマイシン」(CAS No. 53003-10-4) について、サリノマイシンナトリウム (CAS No. 55721-31-8) の試験資料 (EFSA の評価書、残留基準見直しに関する資料等) を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、薬物動態 (マウス、ラット、ウサギ、牛、豚及び鶏)、残留 (牛、鶏)、遺伝毒性、急性毒性 (マウス、ラット、ウサギ、イヌ及び鶏)、亜急性毒性 (マウス、ラット及びイヌ)、慢性毒性及び発がん性 (マウス及びラット)、生殖発生毒性 (マウス、ラット及びウサギ)、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

遺伝毒性試験の結果から、サリノマイシンには生体にとって特段問題となる遺伝毒性はなく、一日摂取許容量 (ADI) を設定することは可能と考えた。

亜急性毒性試験並びに慢性毒性及び発がん性試験でみられた主な影響は、マウス及びラットでは自発運動量減少及び体重増加抑制、イヌでは神経毒性であった。発がん性はみられなかった。

生殖発生毒性試験では、親及び児動物に体重増加抑制がみられたが、催奇形性はみられなかった。

毒性学的 ADI は、イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験及びウサギを用いた発生毒性試験①で得られた NOAEL 0.5 mg/kg 体重/日 (Na 塩として) に安全係数として 100 を適用し、0.005 mg/kg 体重/日と設定した。

微生物学的 ADI は、0.025 mg/kg 体重/日と算出した。

毒性学的 ADI が微生物学的 ADI より小さいことから、サリノマシンの ADI を 0.005 mg/kg 体重/日 (Na 塩として) と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

1. 用途

抗生物質、寄生虫駆除剤

2. 有効成分の一般名

和名：サリノマイシン

英名：Salinomycin

3. 化学名

IUPAC

英名：(2R)-2-[(5S,6R)-6-[(2S,3S,4S,6R)-6-[(3S,5R,7S,9S,10S,12R,15R)-3-[(2R,5R,6S)-5-ethyl-5-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]-15-hydroxy-3,10,12-trimethyl-4,6,8-trioxadispiro[4.1.5⁷.3⁵]]pentadec-13-en-9-yl]-3-hydroxy-4-methyl-5-oxooctan-2-yl]-5-methyloxan-2-yl]butanoic acid

CAS (No. 53003-10-4)

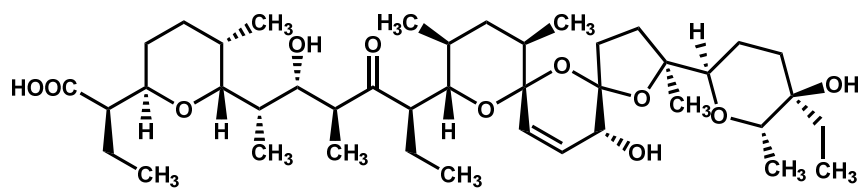
4. 分子式

C₄₂H₇₀O₁₁ (参照 2)

5. 分子量

751.01 (参照 2)

6. 構造式



(参照 2)

〈参考〉

・サリノマイシンナトリウム

1. 一般名

和名：サリノマイシンナトリウム

英名：Salinomycin sodium salt

2. 化学名

IUPAC 名 : Ethyl-6-[5-{2-(5-ethyltetrahydro-5-hydroxy-6-methyl-2H-pyrano-2-yl)-15-hydroxy-2,10,12-trimethyl-1,6,8-trioxadispiro [4,1,5,3]pentadec-13-en-9-yl}]2-hydroxy-1,3-dimethyl-4-oxoheptyl]tetrahydroxy-5-methyl-2H pyran-2-acetic acid, sodium
(参照 3)

CAS (No. 55721-31-8) (参照 2、3)

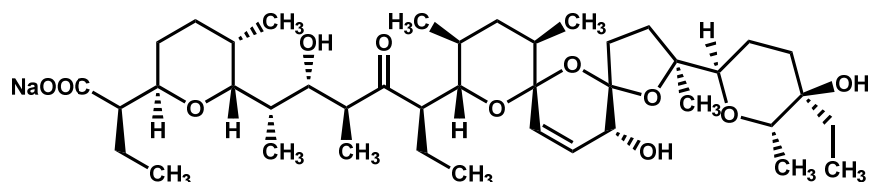
3. 分子式

772.99 (参照 2)

4. 分子量

C₄₂H₆₉NaO₁₁ (参照 2)

5. 構造式



(参照 3、4)

7. 使用目的及び使用状況

サリノマイシンは、1968年に科研化学株式会社（現 科研製薬株式会社）によって発見された *Streptomyces albus* の培養液から得られるポリエーテル系のイオノフォア抗生物質であり、寄生虫駆除剤（抗コクシジウム剤）である。一般に、ナトリウム塩として使用される。（参照 3、5～8）

海外では、サリノマイシンナトリウム（以下「サリノマイシン Na」という。）は、抗コクシジウムを目的に、飼料添加物又は動物用医薬品として世界的に広く使用されている。EU では、飼料添加物として鶏¹及びうさぎに使用されている（参照 3）。米国では、動物用医薬品として鶏及びうずらに使用されている。（参照 9）

日本では、サリノマイシン Na は、飼料添加物として指定されており、鶏及び牛²に使用される（参照 10）。ヒト用及び動物用医薬品としては使用されていない。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値³が設定されている。（参照 1）

¹ 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、動物用医薬品の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

² 搾乳中の牛又は産卵中の鶏若しくはうずら並びに食用を目的としてと殺する前 7 日間の牛（生後おおむね 6 月を超えた肥育牛を除く。）、鶏又はうずらに使用してはならない。（参照 10）

³ 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値（参照 1）

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、EFSA の評価書、残留基準見直しに関する資料、飼料添加物指定時の審査用資料等を基に、サリノマイシン Na の毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称を別紙 1 に、¹⁴C 標識サリノマイシン Na の標識部位を別紙 2 に記載した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（マウス）

① 単回経口投与

a 吸収・分布及び代謝

マウス（ICR 系、雄 2 匹/時点）に、¹⁴C 標識サリノマイシン Na⁴を単回経口投与（0.25 mg/匹、溶媒：0.3%炭酸水素ナトリウム水溶液 1 mL）し、経時的（投与 15 分後～48 時間後）に検体（血液、組織、消化管内容物、脂肪、尿及び糞）を採取して放射活性を測定し、サリノマイシンの吸収・分布及び代謝が調べられた。（参照 4、11）

(a) 吸収・分布

放射活性濃度及び分布率は消化管内容物で最も高い値を示し、血液中の放射活性は低かった（表 1）。組織では、肝臓、胃及び小腸でやや高い値を示したが、その他の組織、血液及び脂肪では極めて低い値であった。しかし、胆汁を含む胆嚢では分布率は低い、放射活性濃度は高かった。

投与 24 時間後では、肝臓、胆嚢、消化管及び消化管内容物に放射活性が残存するが、その他の組織からはほとんど消失した。投与 48 時間後では、肝臓、消化管及び消化管内容物に僅かに放射活性が認められた程度で、その他の組織からは消失した。

⁴ ¹⁴C の標識部位は別紙 2 を参照

表1 マウスにおける ^{14}C 標識サリノマイシン Na 単回投与後の組織等における放射活性濃度 (dpm/mg) 及び分布率 (%)

組織等	投与後時間 (hr)							
	0.25	0.5	1	2	3	6	24	48
血液	28 0.76	39 1.10	12 0.38	11 0.38	10 0.27	5 0.16	1 0.01	0 0
肺	35 0.18	31 0.17	17 0.09	11 0.06	10 0.06	4 0.02	2 0.01	0 0
心臓	32 0.12	36 0.15	10 0.04	11 0.04	8 0.03	5 0.02	1 0	0 0
肝臓	477 20.44	484 19.28	282 11.51	292 13.11	275 12.99	151 8.06	56 2.99	20 1.16
胆嚢	197 0.06	601 0.24	1,744 0.55	1,047 0.54	1,587 1.24	2,152 1.08	2,578 0.76	4 0
腎臓	58 0.62	54 0.74	12 0.16	13 0.22	12 0.19	6 0.10	3 0.05	0 0
胃	523 3.07	455 3.14	549 3.79	357 3.01	474 3.65	218 2.04	49 0.34	1 0.01
小腸	190 6.01	218 6.20	217 8.85	321 10.71	226 9.00	156 6.51	111 5.56	5 0.32
盲腸	33 0.12	37 0.14	15 0.05	16 0.06	25 0.11	39 0.18	6 0.03	0 0
大腸	26 0.26	45 0.55	15 0.16	17 0.17	18 0.20	37 0.37	9 0.06	0 0
脂肪	60 0.28	209 0.91	64 0.28	118 0.91	88 0.36	47 0.22	4 0.02	1 0
胃内容物	5,916 45.65	1,985 24.11	1,875 25.02	1,817 17.76	2,085 11.32	493 5.20	60 1.30	0 0.01
小腸内容物	606 8.74	592 3.87	2,310 4.96	3,890 11.54	3,972 14.92	953 13.36	5,109 10.74	2 0.05
盲腸内容物	18 0.07	45 0.20	63 0.34	110 0.44	106 0.57	474 2.94	137 0.63	2 0.04
糞	23 — ^a	12 —	48 —	100 —	35 —	2,928 —	259 —	6 —
尿	126 —	60 —	259 —	125 —	250 —	83 —	32 —	1 —

上段:放射活性濃度 (dpm/mg) 下段:放射活性の組織等当たりの分布率(投与量に対する%)

a:記載なし

(b) 代謝

放射活性の分布率が比較的高かった肝臓及び消化管内容物の試料を用い、TLCにより経時的に代謝物が調べられた。

肝臓に到達した ^{14}C 標識サリノマイシンは速やかに代謝され、未変化体のサリノマイシンが減少して、多数の代謝物が検出された。体内に吸収されたサリノマイシンは主に肝臓で代謝された後、胆汁を経て小腸内へ排泄されると推定された。

消化管内容物については、胃内容物で未変化体のサリノマイシンの割合が高く、代謝物の種類が少ないが、小腸内容物では未変化体が比較的速やかに消失し、肝

臓での代謝に由来する多数の代謝物が観察され、未変化体は投与 3 時間後には検出されなかった。後述の排泄試験で得られた糞では未変化体は全く検出されず、全て代謝物であった。

b 排泄

試験前に一晩絶食させたマウス（ICR 系、雌雄各 3 匹）に、¹⁴C 標識サリノマイシン Na⁵を単回経口投与（0.25 mg/匹/日、溶媒：0.3%炭酸水素ナトリウム水溶液 1 mL）し、0～6 時間、6～24 時間及び 24～48 時間に排泄された糞、尿及び呼気を採取して放射活性を測定し、排泄率が調べられた。

排泄は、ほとんどが糞からで、糞、尿及び呼気を合わせた投与量に対する総排泄率は投与後 24 時間で約 90%であり、48 時間後では雄で 91.54%、雌で 93.72%であった。排泄については、特に雌雄の差は認められなかった。（参照 4、11）

② 連続経口投与

マウス（ICR 系、雄 2 匹/時点）に非標識サリノマイシン Na を 1 日 1 回 6 日間連続経口投与（0.25 mg/匹/日、溶媒：0.3%炭酸水素ナトリウム水溶液 1 mL）した後、一晩絶食させ、単回投与時と同様に ¹⁴C 標識サリノマイシン Na⁵（0.25 mg/匹、溶媒：0.3%炭酸水素ナトリウム水溶液 1 mL）を経口投与し、吸収及び分布が調べられた。

連続経口投与時におけるサリノマイシンの吸収及び分布は、単回投与時とほぼ同様であった（表 2）。投与 48 時間後では、肝臓、消化管及び消化管内容物に放射活性が僅かにみられたが、その他の臓器からは消失した。肝臓及び消化管内容物での放射活性の減衰速度に単回投与時との差がみられ、全般的に連続投与の減衰速度の方が速かった。これは連続投与によって生じる代謝酵素の誘導が関与したものと推定された。上述の単回投与試験及び本試験の結果を踏まえると、組織内消失速度からみてサリノマイシンの半減期は約 4 時間と推定された。（参照 4、11）

⁵ ¹⁴C の標識部位は別紙 2 を参照

表2 マウスにおけるサリノマイシン Na 6 日間経口投与後の ¹⁴C 標識サリノマイシン Na の組織等における放射活性濃度 (dpm/mg) 及び分布率 (%)

組織等	最終投与後時間 (hr)							
	0.25	0.5	1	2	3	6	24	48
血液	33 1.10	14 0.35	14 0.37	7 0.19	8 0.26	3 0.08	0 0	0 0
肺	52 0.29	15 0.08	14 0.08	6 0.03	5 0.03	2 0.01	0 0	0 0
心臓	52 0.21	14 0.07	10 0.04	5 0.02	5 0.02	4 0.03	0 0	0 0
肝臓	305 14.67	247 11.75	237 11.45	159 6.80	124 6.47	101 4.50	22 1.43	18 1.21
胆嚢	266 0.20	1,762 1.87	2,714 1.07	1,559 1.24	3,152 2.92	3,521 2.81	16 0	11 0
腎臓	68 0.87	23 0.37	15 0.25	9 0.16	9 0.14	3 0.04	0 0	0 0
胃	520 3.28	776 6.92	557 4.64	411 3.39	652 5.52	647 5.11	13 0.12	1 0.01
小腸	174 10.26	174 9.45	231 12.65	246 12.38	146 7.91	56 3.21	25 1.58	5 0.35
盲腸	28 0.15	24 0.14	36 0.15	20 0.10	11 0.06	103 0.47	3 0.02	0 0
大腸	32 0.36	21 0.20	13 0.13	10 0.11	6 0.07	27 0.31	3 0.03	0 0
脂肪	64 0.27	52 0.42	30 0.44	11 0.11	8 0.12	1 0.01	0 0	0 0
胃内容物	4,621 48.06	1,560 18.27	1,424 8.38	1,535 8.81	1,613 8.67	449 0.85	9 0.10	0 0
小腸内容物	450 5.71	2,664 6.70	2,315 5.40	4,560 10.61	6,537 29.17	1,449 9.64	24 0.54	2 0.05
盲腸内容物	23 0.09	100 0.29	251 1.34	161 0.43	119 0.30	4,065 27.25	52 0.58	3 0.04
糞	10 —	35 —	47 —	114 —	136 —	1,351 —	221 —	5 —
尿	26 —	80 —	180 —	54 —	183 —	114 —	3 —	0 —

上段：放射活性濃度 (dpm/mg) 下段：放射活性の分布率 (投与量に対する%)

a：記載なし

(2) 薬物動態試験 (妊娠マウス)

妊娠 17 日のマウス (ICR 系、2 匹/時点) に ¹⁴C 標識サリノマイシン Na⁶ を経口投与 (0.25 mg/匹、溶媒：0.3%炭酸水素ナトリウム水溶液 1 mL) し、体内分布が調べられた。

投与 15 分後では、卵巣、子宮、胎盤及び羊水に放射活性がみられたが、胎児には認められなかった。投与 6 時間後では、これらの組織及び胎児から放射活性はみられず、生殖器系組織への蓄積及び胎児への移行は認められなかった。(参照 4、11)

⁶ ¹⁴C の標識部位は別紙 2 を参照

(3) 薬物動態試験 (ラット)

① 吸収・分布及び代謝

ラット (Wistar 系、雄 2 匹/時点) に、 ^{14}C 標識サリノマイシン Na^7 を単回経口投与 (1.5 mg/匹、溶媒 : 0.3%炭酸水素ナトリウム水溶液 5 mL) し、経時的 (投与 15 分 ~ 48 時間後) に検体 (血液、尿、組織及び消化管内容物) を採取して放射活性を測定し、サリノマイシンの吸収・分布及び代謝が調べられた。(参照 4、11)

a 吸収・分布

放射活性濃度及び分布率は、マウスの場合と同様に消化管内容物で最も高く、血液中放射活性濃度も低かった。投与後 6 時間以内の組織では、肝臓で 12.40~23.09% とやや高く、胃及び小腸で数%の値を示したが、その他の組織及び血液では極めて低い値であった。

投与 24 時間後では肝臓、小腸、胃内容物及び小腸内容物に放射活性が 0.84~3.00% 残存していたが、その他の組織からはほとんど消失した。投与 48 時間後では、肝臓、小腸、胃内容物及び小腸内容物のみに 0.05%未満ながら放射活性が認められた程度で蓄積はなかった。

b 代謝

放射活性の分布率が比較的高かった肝臓及び消化管内容物の試料を用い、TLC により経時的に代謝物が調べられた。

肝臓に到達した ^{14}C 標識サリノマイシンは代謝されて、5~6 種類の代謝物が主に検出されたが、未変化体も認められた。胃内容物では未変化体サリノマイシンがマウスに投与した場合より長く残存し、主な代謝物は 1 種類であった。小腸内容物でも未変化体がマウスより長く残存したが、胃及び肝臓での代謝に由来すると考えられる多数の代謝物が検出された。後述の排泄試験で得られた糞では未変化体が僅かに検出されたが、放射活性の大部分は代謝物によるものであった。

したがって、投与された ^{14}C 標識サリノマイシンは主に消化管及び肝臓で代謝された後に胆汁中に排泄され、最終的に糞中に排泄されて、その他の臓器及び組織での吸収、分布、代謝及び蓄積はほとんどないものと推定された。

② 排泄

a 糞、尿及び呼気中への排泄

ラット (Wistar 系、雄、体重 230~250 g、2 匹) に ^{14}C 標識サリノマイシン Na^8 を単回経口投与 (1.5 mg/匹、溶媒 : 0.3%炭酸水素ナトリウム水溶液 5 mL) し、0 ~ 24 時間、24~48 時間及び 48~72 時間に排泄された糞、尿及び呼気を採取して放射活性を測定し、排泄率が調べられた。

排泄はほとんどが糞からで、総投与量の 90.71%が投与後 72 時間までに糞中に排泄され、尿及び呼気による排泄は 5%程度であった。(参照 4、11)

b 胆汁中への排泄

⁷ ^{14}C の標識部位は別紙 2 を参照

胆管にポリエチレンチューブを挿入したラット（Wistar 系、雄）を用い、¹⁴C 標識サリノマイシン Na⁸を単回経口投与（1.5 mg/匹、溶媒：0.3%炭酸水素ナトリウム水溶液 5 mL）して経時的に胆汁を採取し、放射活性を測定して胆汁中への排泄が調べられた。

排泄速度は比較的穏やかであり、投与後 48 時間までの投与量に対する総排泄率は 30.5%であった。（参照 4、11）

（4）薬物動態試験（マウス及びラット）

マウス及びラットに ¹⁴C 標識サリノマイシンを強制経口投与（マウス：10 mg/kg 体重/日、ラット：6 mg/kg 体重/日）し、投与 15 及び 30 分後並びに 1、2、3、6、24 及び 48 時間後に試料を採取した。尿、糞、胆汁及び呼気中の放射活性が測定され、二次元の TLC により代謝物が分離された。主な結果は以下のとおりであった。

- ①マウス及びラットにおける排泄率はほぼ同様で、投与 48 時間後ではそれぞれ投与量の 87%及び 91%が糞中に、2.6%及び 2.7%が尿中に、3%が呼気に排泄された。
- ②ラットでは、かなりの胆汁排泄（48 時間以内に 31%）がみられ、サリノマイシンは大量に吸収されることが示された。
- ③マウス及びラットの排泄物及び肝臓から分離された代謝物の一般的なパターンから、総残留に占める未変化体のサリノマイシンの割合は非常に小さく、24 時間後には検出不能となることが示された。さらに、多数の代謝物が排泄物、胆汁及び肝臓にみられた。
- ④用いた TLC の限界から、分離された代謝物の同一性を確認できなかった。それゆえ、マウス、ラット及び鶏における代謝プロファイルの類似性については結論できなかった。

しかし、ラットにおけるサリノマイシン代謝物に関する報告では、糞から分離された主要代謝物は、鶏で既に同定された 5,15-ジヒドロキシサリノマイシンと HPLC 上で同じ挙動を示し、同様の質量スペクトルを有することが示された。このため、EFSA の「動物用飼料に使用する添加物及び製品又は物質に関する科学パネル」（FEEDAP パネル）は、鶏とラット/マウスのサリノマイシンの代謝経路には少なくともある程度の共通性が存在すると判断した。（参照 12、13）

（5）薬物動態試験（ウサギ）

ウサギに ¹⁴C 標識サリノマイシンを経口投与（投与量不明）したところ、迅速かつ広範囲に吸収された。排泄は主に糞（3～8 日までの間に 56～80%）を介して行われ、尿からは、8～15%が回収された。呼気には標識物質はみられなかった。サリノマイシン代謝物は急速に胆汁中に出現したことから、腸肝循環が想定された。

15 日間経口投与試験では、放射標識したサリノマイシンは投与開始 24 時間後まで

⁸ ¹⁴C の標識部位は別紙 2 を参照

に最大組織中濃度に到達した。

サリノマイシンは、肝臓で代謝されて多くの代謝物を生じ、主にモノ -、ジ - 及びトリ - ヒドロキシ化誘導体が生じるが、未変化体のサリノマイシンは胆汁中に検出されなかった。肝臓で最大残留量がみられ、最高値は 4,000ng eq/g であった。標識サリノマイシンは、腎臓、脂肪、筋肉及び腸壁からも検出された。最大認可用量では、投与後 48 時間以内に、肝臓を除いて組織中濃度が検出限界 (10 ng eq/g) 以下に低下した。

肝臓の主要なサリノマイシン代謝物 4 種類のうち、3 種類は最終投与 24 時間後には検出されなかった (検出限界 10 ng eq/g)。モノヒドロキシサリノマイシン濃度は、最終投与 12 日後も 290 ng eq/g であった。

サリノマイシンを最大認可用量で混餌投与 (20 ppm) した試験では、肝臓のみで検出され、サリノマイシンとして約 4,000 ng eq/g (休薬 0 日) から 2,200 ng eq/g (休薬 2 日)、1,300 ng eq/g (休薬 8 日) 及び 290 ng eq/g (休薬 12 日) に低下した。(参照 3、14)

(6) 薬物動態試験 (牛)

牛 (品種、性別及び頭数不明) に ¹⁴C 標識サリノマイシン Na を経口投与 (0.9 mg/kg 体重/日) し、組織中のサリノマイシンの総放射活性濃度が測定された。

腎臓、筋肉及び脂肪中では、いずれも定量限界 (59 ng eq/g) 未満であった。肝臓では、最終投与 12 及び 36 時間後に検出され、サリノマイシンとしてそれぞれ 2,263 及び 1,548 ng eq/g であった。(参照 3)

(7) 薬物動態試験 (豚)

豚にサリノマイシンを経口投与すると、迅速かつ効率的に吸収された。

標識サリノマイシンの豚への経口投与後 (品種、性別及び頭数不明) には、放射活性の平均 83.5% が糞中に排泄され、未変化体のサリノマイシンはほとんど存在しなかった。投与量の約 2.1% は尿中に排泄された。

投与 4 日後の肝臓中の総残留放射活性濃度は 100 ng eq/g であり、腎臓、筋肉及び脂肪では検出限界 (10 ng eq/g) 未満であった。

豚の胆汁は主にジ - 及びトリ - ヒドロキシ化誘導体を含むが、肝臓は更に他のヒドロキシ化誘導体としてウサギの肝臓にもみられるモノヒドロキシ誘導体が顕著にみられた。

単回投与 12 時間後では、投与量の 71~88% が消化管にみられ、臓器では肝臓のみに放射活性が検出された。

反復投与試験 (投与量及び投与期間不明) では、放射化学的分析法 (検出限界 0.01 µg eq/g) により測定され、最終投与 8 時間後の肝臓で 1.5 µg eq/g の残留がみられた。最終投与 12 時間後では 0.4 µg eq/g (モノヒドロキシサリノマイシンはみられず、ジ - 及びトリ - ヒドロキシサリノマイシンのみ存在) に減少し、24 及び 60 時間後ではそれぞれ 0.2 及び 0.06 µg eq/g であった。(参照 3)

豚（品種、性別及び頭数不明）にサリノマイシンを 29 日間混餌投与（41 ppm）した後、¹⁴C 標識サリノマイシンを 12 時間間隔で 8 日間混餌投与（41 ppm）した試験では、上記試験と同様の結果が得られた。

¹⁴C 標識サリノマイシンの最終投与 8 時間後の総残留放射活性濃度は、腎臓、筋肉及び脂肪で定量限界（5 ng eq/g）未満であったが、肝臓では 1,800 ng eq/g であった。

肝臓中の未変化体のサリノマイシンは、肝臓の全試料において総残留放射活性濃度の 1%未満であった。サリノマイシンは大部分が代謝され、肝臓中に多数の代謝物を生じた。肝臓中の総残留の約 15~20%は組織に結合していた。肝臓抽出物中のイオノフォア活性は、同量のサリノマイシンの 10%であった。（参照 3）

（8）薬物動態試験（鶏）①

試験前に一晩絶食させた鶏（肉用種、約 3 週齢、雄 2 羽/時点）に、¹⁴C 標識サリノマイシン Na⁹を単回経口投与（1.14 mg/羽、飼料に混ぜてカプセルに充填したもの）し、経時的に検体（血液、組織及び消化管内容物）を採取して放射活性を測定し、薬物動態試験が実施された。（参照 11）

① 吸収・分布

放射活性濃度及び分布率は、マウス及びラットの場合と同様に消化管内容物で最も高かった。組織では肝臓、胃及び小腸でやや高い値を示したが、その他の組織、血液、胸部筋肉及び脂肪では極めて低い値であった。

投与 24 時間後では胆汁及び消化管内容物に放射活性が残存していたが、その他の組織からはほとんど消失した。48 時間後では胆汁及び盲腸内容物に微量の放射活性が認められた程度で蓄積はなかった。

② 代謝

放射活性の分布率が比較的高かった肝臓、胆汁、消化管内容物及び糞尿の試料を用い、TLC により経時的に代謝物が調べられた。

胃内容物には、マウス及びラットの場合と異なり、投与後初期から代謝物の種類が多く、未変化体のサリノマイシンの経時的減少とともに、代謝物の種類が増えた。小腸内容物では、未変化体が投与後初期から認められ、6 時間後でもなお残存していた。未変化体は盲腸内容物及び糞尿中にも検出された。胃内容物の試料に胆汁が混入しており、TLC では胆汁及び小腸内容物中代謝物と同じスポットがみられたことから、鶏ではマウス及びラットに比べて小腸内容物の胃内への逆流現象が著しかったと考えられた。

肝臓に到達した ¹⁴C 標識サリノマイシンは速やかに代謝され、その代謝物は胆汁により小腸へ排泄された。

⁹ ¹⁴C の標識部位は別紙 2 を参照

③ 排泄（糞尿及び呼気）

鶏（肉用種、約3週齢、雄2羽）に、¹⁴C 標識サリノマイシン Na¹⁰を単回経口投与（1.14 mg/羽、飼料に混ぜてカプセルに充填したもの）し、糞尿及び呼気への排泄が調べられた。なお、糞尿については、まとめて分析した。

排泄は主に糞尿から行われたが、消化管内容物の放射活性の分布から、ほとんどが糞中と考えられた。呼気への排泄は僅かであった。糞尿及び呼気を合わせた総排泄率は投与48時間後までで94.63%、72時間後までで97.03%であり、投与された¹⁴C 標識サリノマイシンの大部分が排泄された。

④ 代謝物

a 胃内容物中の代謝物

胃内容物中に未変化体サリノマイシン及び多種類の代謝物がみられたことから、代謝物の安全性について検討された。

サリノマイシンは酸性側で不安定であることから、これらの代謝物は胃内の塩酸により変化を受けたものと推定し、¹⁴C 標識サリノマイシンの0.1 N 塩酸20%メタノール水溶液を37°C30分処理してTLCを行い、これを鶏の胃内容物のTLCパターンと比較した。両パターンはほぼ一致し、代謝物の大部分は胃内の塩酸により変化したと考えられた。

次に、非標識サリノマイシンを塩酸の酸性によってTLC上に未変化体が検出されなくなるまで分解し、中和後濃縮乾固した試料を用い、各種微生物に対する抗菌力試験及び急性毒性試験が実施された。塩酸酸性分解物では、サリノマイシン感受性の*Bacillus subtilis*、*Staphylococcus aureus*、*Micrococcus flavus*等に対する抗菌活性はほとんど失われた。

マウスへの経口投与による急性毒性試験では、塩酸酸性分解物のLD₅₀は700 mg/kg以上であり、未変化体サリノマイシンのLD₅₀（70 mg/kg）に比べ、急性毒性の顕著な低下がみられた。

b 肝臓中の代謝物

鶏及びマウスの肝ホモジネートを用いて*in vitro*試験によるサリノマイシン代謝物の安全性が検討された。マウスでは代謝物の生成がみられたが、鶏では酵素反応が進まなかったこと、及び代謝物のみを量的に単離することが困難であったことから、肝臓中の代謝物の安全性について検討できなかった。

c 糞尿中の代謝物

最終的に代謝物の大部分が排泄される糞尿を集め、代謝物の安全性が検討された。

鶏（50羽）に非標識サリノマイシンを経口投与（2 mg/羽、カプセル）し、投与後72時間までの糞尿を集めて、糞尿中の代謝物を分画し、濃縮乾固して得られた試料を用いて抗菌力試験及び急性毒性試験が実施された。

¹⁰ ¹⁴C の標識部位は別紙2を参照

その結果、サリノマイシン感受性の *B. subtilis*、*S. aureus*、*M. flavus* 等に対する抗菌活性はほとんど失われていた。

マウスへの経口投与による急性毒性試験では、代謝物の分画の LD₅₀ は 1,000 mg/kg 以上であり、未変化体のサリノマイシンに比べ、急性毒性の顕著な低下がみられた。

(9) 薬物動態試験 (鶏) ②

鶏 (品種、性別及び羽数不明) を用いたサリノマイシンの経口及び静脈内投与による単回投与 (20 mg/kg 体重) 試験では、吸収相の半減期は 0.2 時間、消失相の半減期は 2 時間であった。バイオアビリティは 73% であった。サリノマイシンの動態は、2 コンパートメントオープンモデルで説明され、定常状態での Vd は 3.3 L/kg であり、全身クリアランスは 27.4 mL/kg/分であった。

経口投与後の血清中 C_{max} は 2.48 mg/L で、T_{max} は 30 分であった。サリノマイシンは投与 1 日後には血清中には検出されなかった。

サリノマイシンは、調べた全ての組織で経口投与 2 時間後に最高濃度に到達し、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪、心臓及び皮膚でそれぞれ、2,300、2,100、1,900、1,650、1,300 及び 90 µg/g であった。サリノマイシンの残留は、肝臓 (100 ng/g) を除き、投与 48 時間後の組織からは検出されなかった (定量限界 100 ng/g)。投与 72 時間後までには、サリノマイシンは完全に消失した。

2 週間混餌投与 (60 ppm) 後のサリノマイシンの血清及び組織中濃度は、単回経口投与 (20 mg/kg 体重) 試験の場合よりも低かった。最終投与 2 時間後に最高濃度に到達し、肝臓、脂肪、心臓、筋肉、腎臓及び皮膚でそれぞれ、1,100、900、700、670、670 及び 380 ng/g であった。最終投与 48 時間後には、いずれの組織からも検出されなかった。(参照 3)

(10) 薬物動態試験 (鶏) ③

鶏 (肉用種、雄、40 羽) に非標識サリノマイシンを 14 日間混餌投与 (60 ppm) した。血漿中からの消失は迅速で、最終投与後 48 時間以内に ELISA で検出限界 (0.16 ng/g) 未満に低下した。筋肉及び肝臓中のサリノマイシン濃度は、最終投与日にそれぞれ約 2.5 及び 14 ng/g であった。筋肉では最終投与 2 日後に、肝臓では最終投与 4 日後に消失した (検出限界 0.3 ng/g)。(参照 3)

(11) 薬物動態試験 (鶏) ④

鶏 (品種、性別及び羽数不明) に ¹⁴C 標識サリノマイシンを 1 日 2 回、7 日間経口投与 (70 ppm 混餌投与に相当) し、鶏組織中の総残留放射活性及び未変化体のサリノマイシンを測定した。最終投与後 3 日間で最も総残留放射活性濃度 (サリノマイシン当量として) が高かった組織は肝臓であり、続いて腎臓、皮膚/脂肪及び筋肉であった。未変化体のサリノマイシンは、組織中残留のうち極少量で急速に消失する画分であり、最終投与後 12 時間以内に、肝臓、筋肉及び皮膚/脂肪中でそれぞれ 1、2 及び 5 ng/g に減少した。(参照 3)

(12) 代謝試験 (マウス、ラット及び鶏)

¹⁴C 標識サリノマイシンを用い、マウス、ラット及び鶏の生体内代謝物を TLC で検討したところ、22 種類の物質が検出された。これらの代謝部位は、胃、腸及び肝臓であると推定された。胃内代謝物 4 種類のうち、量的に多くみられた 3 種類はサリノマイシンが胃酸により分解され開環したサリノマイシンの変化体であると推定された。(参照 5)

(13) 鶏における代謝

サリノマイシンは鶏では大部分が代謝され、未変化体のサリノマイシンが排泄物中の総残留放射活性に占める割合は極めて少ない。20 種類以上の代謝物が排泄物から分離同定され、それらの代謝物はいずれも、サリノマイシン由来化合物の合計の 10%未満である。モノ -、ジ - 及びトリ - ヒドロキシサリノマイシン並びにケト誘導体が酸化的代謝経路によって産生される。組織中の代謝物についても、排泄物中の代謝物と定性的に同様なプロフィールが得られるが、代謝物の割合は異なり、肝臓ではモノヒドロキシ代謝物の割合が高く、排泄物ではトリヒドロキシ代謝物の割合が高い。これらの代謝物は、それぞれ組織中の総放射活性の 10%未満である。組織中残留物のかなりの部分は抽出されないが、このことは特に筋肉及び脂肪中の残留で顕著である。¹⁴C 標識サリノマイシンの脱炭酸は、限定的であるが有意に起こり、標識脂肪酸が産生される (標識タンパク質も産生される可能性がある。) (参照 3、15)。また、未変化体のサリノマイシン Na は、性別に関わらず排泄物中の総放射活性の 10%未満 (代謝プロフィールから推定) と報告されている。(参照 15)

鶏の肝臓から抽出された全てのサリノマイシン代謝物のイオノフォア活性は、サリノマイシンの約 20%である。(参照 3)

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛) ①

牛への混餌投与による残留試験が 2 試験実施された。

一つ目の試験では、牛 (ホルスタイン種、約 8 か月齢、去勢雄、1 頭/時点) にサリノマイシン Na を 90 日間混餌投与 (サリノマイシン Na として 0、15、30、60 又は 120 ppm) し、投与期間中並びに最終投与 0、1、3 及び 5 日後の組織 (肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸) 中サリノマイシン残留濃度をバイオアッセイ (検出限界 0.02 µg/g) により測定した。

二つ目の試験では、牛 (ホルスタイン種、去勢雄、約 8 か月齢、1 頭/時点) にサリノマイシン Na を 90 日間混餌投与 (サリノマイシン Na として 0、15、30、60 又は 90) し、投与期間中並びに最終投与 1、3 及び 5 日後の組織 (肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸) 中サリノマイシン残留濃度をバイオアッセイ (検出限界 0.02 µg/g) により測定した。

両試験における肝臓及び小腸の結果を表 3 に示した。いずれの試験においても最終投与 1 日後には肝臓及び小腸でサリノマイシンの残留がみられたが、最終投与 3 日後

以降には両組織ともに検出限界 (0.02 µg/g) 未満となった。腎臓及び筋肉では、投与期間中及び投与終了後ともに検出限界未満であった。脂肪では、60 ppm 投与群の投与開始 60 日後の試料の一部 (試験 2 の 1 施設のデータ) に残留 (0.04 µg/g) がみられたが、その他は全て検出限界未満であった。(参照 6、16)

表 3 牛におけるサリノマイシン Na 90 日間混餌投与後の肝臓及び小腸中残留濃度 (µg/g) ^a

試験	組織	投与量 ^b (ppm)	投与開始後日数 (日)			最終投与後日数 (日)			
			30	60	90 ^c	0	1	3	5
1	肝臓	15	—	0.04 0.06 (0.05) ^d	—	0.03 0.04 (0.04) ^d	ND ND	ND ND	—
			—	0.19 0.16 (0.18) ^d	—	0.06 0.09 (0.08) ^d	0.08 0.09 (0.09) ^d	ND ND	ND ND
		60 ^c	0.19 0.25 (0.22) ^d	0.39 0.42 (0.41) ^d	0.19 0.20 (0.20) ^d	0.31 0.32 (0.32) ^d	0.12 0.13 (0.13) ^d	ND ND	ND ND
			—	0.74 0.85 (0.80) ^d	—	0.59 0.74 (0.67) ^d	0.28 0.48 (0.38) ^d	ND ND	ND ND
	小腸	15	—	ND ND	—	ND 0.02	ND ND	ND ND	—
			—	ND 0.02	—	0.21 0.14 (0.18) ^d	0.05 0.02 (0.04) ^d	ND ND	ND ND
		60	ND ND	0.47 0.36 (0.42) ^d	0.35 0.15 (0.25) ^d	0.03 0.06 (0.05) ^d	ND ND	ND ND	ND ND
			—	0.11 0.04 (0.08) ^d	—	0.09 0.16 (0.13) ^d	0.09 0.06 (0.08) ^d	ND ND	ND ND
2	肝臓	15	—	0.04 0.08 (0.06) ^d	—	0.08 0.07 (0.08) ^d	ND ND	ND ND	ND ND
			—	0.10 0.12 (0.11) ^d	—	0.08 0.10 (0.09) ^d	0.05 0.04 (0.05) ^d	ND ND	ND ND
		60	—	0.26 0.34 (0.30) ^d	—	0.22 0.28 (0.25) ^d	0.08 0.10 (0.09) ^d	ND ND	ND ND
			—	0.34 0.48 (0.41) ^d	—	0.35 0.37 (0.36) ^d	0.14 0.18 (0.16) ^d	ND ND	ND ND
	小腸	15	—	0.18 0.10 (0.14) ^d	—	0.11 0.05 (0.08) ^d	ND ND	ND ND	ND ND
			—	0.16 0.04 (0.10) ^d	—	0.06 0.02 (0.04) ^d	ND ND	ND ND	ND ND
		60	—	0.34	—	0.24	ND	ND	ND
			—	0.34	—	0.24	ND	ND	ND

				0.25 (0.30) ^d		0.23 (0.24) ^d	ND	ND	ND
		90	—	0.32 0.16 (0.24) ^d	—	0.04 ND	ND ND	ND ND	ND ND

n=1 ND：検出限界 (0.02 µg/g) 未満 —：採取せず

a：分析は複数施設で実施したことから、各分析値及びその平均値を示した。

b：サリノマイシン Na としての投与量

c：投与開始 90 日後の試料は最終投与直後に、最終投与 0 日後の試料は最終投与 2 時間後に採材

d：分析値の平均値

(2) 残留試験 (牛) ②

牛 (交雑種、体重約 370 kg¹¹、3 頭(雌雄の性比 2 : 1、採取時点ごとに交互)/時点) にサリノマイシン Na を 21 日間混餌投与 (100 mg/頭/日) し、最終投与 0、6、24 及び 48 時間後の組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪) 中残留濃度をバイオオートグラフィーにより測定した。

最終投与 0 時間後では、3 例中 1 例の肝臓 (0.1 µg/g) を除き、全ての組織で検出限界 (0.1 µg/g) 未満であった。肝臓においても、最終投与 6 時間後には、全例で検出限界未満となった。なお、本試験の分析法における添加回収率を表 4 に示した。(参照 6、16)

表 4 牛の組織におけるサリノマイシンの添加回収率 (%)

組織	添加回収率
肝臓	65 ± 24
腎臓	56 ± 7
筋肉	98 ± 19
脂肪	55 ± 9

n 数：肝臓 19、腎臓及び脂肪 7、筋肉 13 平均 ± 標準偏差

(3) 残留試験 (牛) ③

子牛 (ホルスタイン種、3 か月齢、雄 2 頭/時点) にサリノマイシン Na を 103 日間混餌投与 (20 ppm (力価)) し、最終投与 0 (最終投与 2 時間後)、1 及び 2 日後の血清及び組織 (肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸) 中残留濃度をバイオアッセイにより測定した。

全時点の全試料で検出限界 (0.02 µg/g) 未満であった。(参照 17、18)

(4) 残留試験 (乳汁)

サリノマイシンの乳中移行の可能性については情報がない。(参照 3)

(5) 残留試験 (鶏) ①

鶏 (肉用種、雌雄各 3~5 羽/時点/投与群 (最終投与 0 時間後のみ 5 羽/群)、雌雄各

¹¹ 参照 16 では「出荷時体重の牛」と記載している。

5羽/対照群) にサリノマイシン Na (874 µg(力価)/g) を初生時から8週齢まで56日間混餌投与(0~3週齢までは20、30又は40 ppm、その後8週齢までそれぞれ50、75又は100 ppmに増量)し、最終投与0、12、24、48、72、96及び120時間後の血液、組織及び消化管内容物を採取してバイオアッセイ(検出限界0.02 µg/g)により残留濃度を測定した。

結果を表5に示した。

血液及び組織では、いずれの投与群においても最終投与12時間後以降には検出されなかった。腹腔内脂肪では、投与群3(40→100 ppm投与群)で最終投与12時間後まで検出されたが、24時間後以降には検出されなかった。消化管内容物では、投与群1(20→50 ppm投与群)で最終投与12時間後まで、投与群2(30→75 ppm投与群)及び3で最終投与24時間後まで検出され、48時間後以降には検出されなかった。

(参照5、19)

表5 鶏におけるサリノマイシン Na 56 日間混餌投与後の血液、組織及び消化管内容物
中残留濃度 (µg/g)

試料		投与群 (混餌濃度)										
		1 (20 ^a → 50 ^b ppm)			2 (30 ^a → 75 ^b ppm)				3 (40 ^a → 100 ^b ppm)			
		最終投与後時間 (h)										
		0	12	24	0	12	24	48	0	12	24	48
血液	雌	ND	ND	—	ND	ND	—	—	ND	ND	—	—
	雄	ND	ND	—	ND	ND	—	—	ND	ND	—	—
肝臓	雌	ND	ND	—	ND	ND	—	—	0.03	ND	ND	—
	雄	ND	ND	—	ND	ND	—	—	0.04	ND	ND	—
腎臓	雌	ND	ND	—	ND	ND	—	—	ND	ND	ND	—
	雄	ND	ND	—	ND	ND	—	—	0.03	ND	ND	—
心臓	雌	ND	ND	—	ND	ND	—	—	ND	ND	—	—
	雄	ND	ND	—	ND	ND	—	—	ND	ND	—	—
胸部筋肉	雌	ND	ND	—	ND	ND	—	—	ND	ND	—	—
	雄	ND	ND	—	ND	ND	—	—	ND	ND	—	—
腹腔内 脂肪	雌	0.03	ND	ND	0.06	ND	ND	—	0.09	0.04	ND	ND
	雄	0.04	ND	ND	0.05	ND	ND	—	0.08	0.03	ND	ND
そのう	雌	0.12	ND	ND	0.10	ND	ND	—	2.28	ND	ND	—
	雄	0.28	ND	ND	0.12	ND	ND	—	1.09	ND	ND	—
食道	雌	0.17	ND	ND	0.14	ND	ND	—	0.29	ND	ND	—
	雄	0.37	ND	ND	0.24	ND	ND	—	0.23	ND	ND	—
筋胃	雌	ND	ND	—	ND	ND	—	—	0.17	ND	ND	—
	雄	ND	ND	—	ND	ND	—	—	0.14	ND	ND	—
小腸下部	雌	ND	ND	—	ND	ND	—	—	0.06	ND	ND	—
	雄	ND	ND	—	ND	ND	—	—	0.03	ND	ND	—
そのう 内容物	雌	1.20	ND	ND	1.73	ND	ND	ND	2.62	ND	ND	—
	雄	1.64	ND	ND	1.89	2.90	ND	ND	2.36	ND	ND	—
筋胃 内容物	雌	0.20	0.14	ND	0.31	0.12	0.10	ND	0.45	0.21	0.13	ND
	雄	0.19	0.21	ND	0.39	0.34	0.11	ND	0.35	0.30	0.10	ND
小腸下部 内容物	雌	0.07	ND	ND	0.11	0.09	ND	ND	0.17	0.04	0.02	ND
	雄	0.07	ND	ND	0.16	0.04	ND	ND	0.19	0.06	0.05	ND

n=3 (最終投与0時間後のみ n=5) ND: 検出限界 (0.02 µg/g) 未満 —: 分析せず

a: 0~3 週齢時混餌濃度 b: 4~8 週齢時混餌濃度

(6) 残留試験 (鶏) ②

鶏 (肉用種、雄、5羽/時点/投与群 (最終投与0時間後のみ 15羽/群)、25羽/対照群)
にサリノマイシン Na を初生時から 63 日齢まで混餌投与 (27 日齢まで 20 又は 40

ppm、28 日齢から 63 日齢までそれぞれ 50 又は 100 ppm (に増量) し、最終投与 0、24 及び 48 時間後の組織及び消化管内容物を採取してバイオアッセイ (検出限界 0.02 µg/g) により組織中残留濃度を測定した。

結果を表 6 に示した。

脂肪を除く組織では、いずれの投与群においても最終投与 24 時間後以降にはサリノマイシンの残留は検出されなかった。脂肪では、投与群 2 (40→100 ppm 投与群) で最終投与 24 時間後に検出されたが、48 時間後には検出されなかった。筋胃内容物及び小腸下部内容物では、最終投与 24 時間後まで検出されたが、48 時間後には検出されなかった。(参照 5、19)

表 6 鶏におけるサリノマイシン Na 63 日間混餌投与後の組織及び消化管内容物中残留濃度 (µg/g)

試料	投与群					
	1 (20 ^a → 50 ^b ppm)			2 (40 ^a → 100 ^b ppm)		
	最終投与後時間 (h)			最終投与後時間 (h)		
	0	24	48	0	24	48
肝臓	ND	ND	ND	0.05	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	0.04	ND	ND
心臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND
胸部筋肉	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	0.04	ND	ND	0.10	0.02	ND
そのう	0.18	ND	ND	2.02	ND	ND
筋胃	0.04	ND	ND	0.20	ND	ND
筋胃内容物	0.24	0.15	ND	0.42	0.21	ND
小腸下部内容物	0.09	ND	ND	0.15	0.05	ND

ND : 検出限界 (0.02 µg/g) 未満

a : 27 日齢までの混餌濃度 b : 28 日齢から 63 日齢までの混餌濃度

(7) 残留試験 (鶏) ③

鶏 (肉用種、雄、5 羽/時点) にサリノマイシン Na を初生時から 5 週齢まで 35 日間混餌投与 (50 又は 100 ppm (力価、総薬物摂取量はそれぞれ 102.25 又は 178.0 mg/羽) し、最終投与 0、1、3 及び 5 日後の肝臓、腎臓、筋肉及び腹腔内脂肪を採取してバイオアッセイ (検出限界 0.02 µg/g) により組織中残留濃度を測定した。

結果を表 7 に示した。

腹腔内脂肪以外の組織では、いずれの投与群においても最終投与 1 日後以降には検出されなかった。腹腔内脂肪では、最終投与 1 日後に検出されたが、3 日後以降には検出されなかった。(参照 5、19)

表7 鶏におけるサリノマイシン Na 35 日間混餌投与後の組織中残留濃度 (µg/g) ^a

組織	投与量 (ppm)	最終投与後日数 (日)			
		0 ^b	1	3	5
肝臓	50	0.03 0.03 (0.03) ^c	ND ND	— ND	— ND
	100	0.06 0.05 (0.06)	ND ND	— ND	— ND
腎臓	50	ND ND	ND ND	— ND	— ND
	100	0.02 ND	ND ND	— ND	— ND
筋肉	50	ND ND	ND ND	— ND	— ND
	100	ND ND	ND ND	— ND	— ND
腹腔内脂肪	50	0.19 0.08 (0.14)	0.06 0.03 (0.05)	ND ND	ND ND
	100	0.14 0.10 (0.12)	0.02 0.02 (0.02)	ND ND	ND ND

n=5 ND : 検出限界 (0.02 µg/g) 未満 — : 分析せず

a : 各分析は2施設で実施したことから、各分析値及びその平均値を示した。

b : 最終投与直後 c : 2施設の分析値の平均値

(8) 残留試験 (鶏) ④

鶏 (肉用種、32 日齢、雌雄各 3 羽/時点) に、¹⁴C 標識サリノマイシンを 1 日 2 回 5 日間連続経口投与 (カプセル投与、70 ppm 含有飼料を用いた混餌投与に相当。) し、最終投与 6 時間後並びに 1、3、5 及び 7 日後の肝臓、腎臓、胸部筋肉及び大腿部筋肉並びに皮膚/脂肪中の総放射活性及びサリノマイシン量を測定した。

結果を表 8 に示した。

データに性差は認められなかった。

肝臓、腎臓及び筋肉中の総残留放射活性濃度は、最終投与後 7 日間にわたって低下した。筋肉では、大腿部筋肉の濃度が胸部筋肉よりも高かった。皮膚/脂肪中濃度は、最終投与 1 日後から 7 日後まで定常状態であった。最終投与 1 日後までは肝臓の総残留放射活性濃度が最も高かったが、その後は皮膚/脂肪の方が総残留放射活性濃度及びサリノマイシン濃度が高かったことから、標的組織と考えられた。

サリノマイシンの残留は、最終投与 6 時間後の全ての組織から検出され、肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪でそれぞれ総残留の 9、25、31 及び 17%であった。肝臓、腎臓及び筋肉では最終投与 1 日後に定量限界又は定量限界未満に低下し、皮膚/脂肪では最終投与 3 日後に定量限界付近に低下した。

片対数プロットによる残留動態の解析から、放射活性の消失について最終投与 1 日

後までを含む急速な消失相及びその後の緩徐な消失相から成る 2 相が明らかになった。肝臓及び腎臓では総残留放射活性の半減期が 4.5～5 日、筋肉では約 8 日、皮膚/脂肪では 8 日以上であった。5～8 日（又はそれ以上）の残留半減期をもつコンパートメントは、タンパク質や脂質のような、標識された内因性化合物の消失（ターンオーバー）を示唆した。（参照 20）

表 8 鶏における ^{14}C 標識サリノマイシン 5 日間経口投与後の組織中残留濃度

組織	測定項目	最終投与後時間 (hr)				
		6 時間	1 日	3 日	5 日	7 日
肝臓	総放射活性 ^a	0.579 ±0.235	0.198 ±0.060	0.086 ±0.026	0.063 ±0.028	0.047 ±0.004
	サリノマイシン ^b	0.050 ±0.041	0.001 ±0.001	0.001 ±0.0	—	—
腎臓	総放射活性	0.159 ±0.057	0.079 ±0.010	0.043 ±0.008	0.026 ±0.009	0.022 ±0.005
	サリノマイシン	0.040 ±0.038	ND	ND	—	—
筋肉	総放射活性	0.036 ±0.010	0.022 ±0.005	0.020 ±0.005	0.016 ±0.003	0.014 ±0.005
	サリノマイシン	0.011 ±0.006	0.001 ±0.0	ND	—	—
皮膚/脂肪	総放射活性	0.365 ±0.138	0.173 ±0.011	0.153 ±0.030	0.147 ±0.024	0.146 ±0.015
	サリノマイシン	0.061 ±0.031	0.006 ±0.003	0.002 ±0.001	—	—

n=6 ND：定量限界 (0.001 $\mu\text{g/g}$) 未満 —：測定せず

a：総放射活性濃度 (サリノマイシン Na として $\mu\text{g eq/g}$)

b：サリノマイシン濃度 ($\mu\text{g/g}$)

(9) 残留試験 (鶏卵) ①

鶏 (白色レグホン種、360 日齢、10 羽/群) にサリノマイシン Na を 3 週間混餌投与 (50、75 又は 100 ppm (力価)) し、投与開始前日、投与開始 2、5、8、11、14、17 及び 20 日後¹²並びに最終投与 1、2、3、5、7 及び 10 日後の鶏卵を採取して、鶏卵 (卵黄及び卵白) 中の残留濃度をバイオアッセイ (検出限界 0.02 $\mu\text{g/g}$) により調べた。

卵黄中サリノマイシン濃度の測定結果を表 9 に示した。50 及び 75 ppm 投与群では投与開始 5 日後から、100 ppm 投与群では投与開始 2 日後からサリノマイシンが検出され、50 ppm 投与群では投与開始 8 日後に、75 及び 100 ppm 投与群では投与開始 11 日後にほぼ平衡濃度に達した。最終投与後は速やかに濃度が低下し、5 日後以降には検出されなかった。

卵白ではいずれの投与群においても検出されなかった。(参照 5、19)

¹² 参照資料では、投与の開始日が第 1 日となっていることから、投与開始 20 日後が最終投与日に相当する。

表9 鶏におけるサリノマイシン Na 3週間混餌投与後の卵黄中濃度 (µg/g)

投与量 ^a (ppm)	投与開始後日数 (日)						
	2	5	8	11	14	17	20
50	<0.02	0.12	0.29	0.25	0.21	0.24	0.32
75	<0.02	0.16	0.21	0.41	0.38	0.37	0.40
100	0.07	0.22	0.43	0.54	0.55	0.56	0.55
投与量 ^a (ppm)	最終投与後日数 (日)						
	1	2	3	5	7	10	
50	0.28	0.20	0.10	ND	ND	ND	
75	0.34	0.22	0.06	ND	ND	ND	
100	0.41	0.34	0.20	ND	ND	ND	

ND : 検出限界 (0.02 µg/g)未満

a : 混餌濃度

(10) 残留試験 (鶏卵) ②

鶏 (白色レグホン種、体重 1.5~2.1 kg、60羽) にサリノマイシン Na を 14 日間混餌投与 (30、60、90 又は 150 ppm) し、鶏卵の残留試験が実施された。鶏卵は、投与期間及び最終投与後 3 日間にわたって採取し、サリノマイシン濃度を HPLC (定量限界 10 ng/g) により測定した。

卵白中残留濃度は、30 ppm 投与群では投与期間及び休薬期間にわたって定量限界未満であった。60、90 及び 150 ppm 投与群では、それぞれ 80、110 及び 200 ng/g であった。

卵黄中残留濃度については、全投与群で投与開始 13 日後に最高濃度に達した。30、60、90 及び 150 ppm 投与群の最高濃度は、それぞれ 1,400、2,000、2,800 及び 3,700 ng/g¹³であった。最終投与後、残留濃度は減少したが、最終投与 3 日後でも定量限界以上の残留がみられた。(参照 3、21、22)

(11) 残留試験 (鶏卵) ③

鶏 (卵用種、約 35 週齢、6羽/群) にサリノマイシンを混餌投与 (0.9、1.8、4.6、9.1 及び 13.9 ppm) し、鶏卵のサリノマイシン残留が調べられた。サリノマイシンは、全投与群の卵で投与開始後 1 日以内に検出された (検出限界 1 ng/g)。サリノマイシン濃度は、約 9 日後に定常状態に達した。卵中の平均サリノマイシン濃度は、常時 60 ng/g を超えることはなかった。(参照 3、23)

(12) 残留試験 (鶏卵) ④

鶏 (品種及び羽数不明) にサリノマイシンを混餌投与して鶏卵中の残留を調べた複数の試験の結果をまとめている報告では、サリノマイシン Na を 7 日間混餌投与 (60 ppm) した試験では、サリノマイシン濃度は、卵白では 50 ng/g、卵黄では 1,500 ng/g

¹³ 参照 21 の卵黄中濃度は誤記と考えられることから、参照 3 及び 22 に基づき記載した。

であった。また、サリノマイシン Na を 5 日間混餌投与 (60 ppm) した試験では、卵白では 10 ng/g 未満であり、卵黄では 220 µg/g であった。(参照 3、22)

3. 遺伝毒性試験

サリノマイシン及びその Na 塩の遺伝毒性試験結果を表 10 にまとめた。

表 10 サリノマイシン及びその Na 塩の遺伝毒性試験結果

試験	対象	用量	結果	参照	
<i>in vitro</i>	DNA 修復試験 (Rec-assay)	<i>Bacillus subtilis</i> M17 Rec ⁺ 、M45 Rec ⁻	430 mg/g サリノマイシン Na 含有バイオマス ~5,000 µg/disk	陰性	13
		<i>B. subtilis</i> M17 Rec ⁺ 、M45 Rec ⁻	サリノマイシン Na (純度 98%) ~20 µg/disk	陰性	13
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535、TA1536、TA1537、TA1538 <i>Escherichia coli</i> WP2	サリノマイシン Na (純度 98%) ~5,000 µg/plate (±S9)	陰性	13
		<i>S. typhimurium</i> TA1538、 <i>E. coli</i> WP2	107 mg/g サリノマイシン Na 含有バイオマス ~5,000 µg/plate (±S9)	陰性	13
		<i>S. typhimurium</i> TA1538、 <i>E. coli</i> WP2	204.7 mg/g サリノマイシン Na 含有バイオマス ~5,000 µg/plate (±S9)	陰性	13
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 <i>E. coli</i> WP2	430 mg/g サリノマイシン Na 含有バイオマス ~5,000 µg/plate (±S9)	陰性	13
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537 <i>E. coli</i> WP2	22.5%サリノマイシン含有バイオマス ~10,000 µg/plate (±S9)	陰性	12、13
		<i>S. typhimurium</i> TA97a、TA98、TA100、TA1535	12%サリノマイシン混合物 12.3、37、111.1、333.3、1,000 µg/plate (±S9)	陰性	24
		<i>S. typhimurium</i> TA97a、TA98、TA100、TA1535	サリノマイシン 12%粒 12.3、37、111.1、333.3、1,000 µg/plate (±S9)	陰性	24

		<i>S. typhimurium</i> TA97a、TA98、 TA100、TA1535	サリノマイシン Na 12% 粒 12.3、37、111.1、 333.3、1,000 µg/plate (± S9)	陽性 (TA98、 +S9)	24
	遺伝子突然変 異試験	L5178Y マウスリンパ 腫細胞 (<i>Tk⁺</i>)	22.5%サリノマイシン Na 含有バイオマス ～37.5 µg/mL (–S9) ～90 µg/mL (+S9)	陰性	12
	宿主経路試験	<i>S. typhimurium</i> G46、ICR マウス (雄)	サリノマイシン Na (純度 98%) ～20 mg/kg 体重 宿主：ICR マウス (雄)	陰性	13
<i>in vivo</i>	小核試験	CD-1 マウス骨髄細胞 (雌雄)	22.5%サリノマイシン Na 含有バイオマス ～50 mg/kg 体重/日、単回 経口投与、投与 24 及び 48 時間後採取	陰性	12、13
		CD-1 マウス骨髄細胞 (雌雄)	22.5%サリノマイシン Na 含有バイオマス 31.3、62.5、125 mg/kg 体重/日 (サリノマイシン Na として 7、14、28 mg/kg 体重/日相当)、2 日 間経口投与 (24 時間間隔) 最終投与 48 時間後採取	陰性	12、13
		NMRI マウス骨髄細胞 (雌雄)	10%サリノマイシン Na 含有バイオマス ～23.6 mg/kg 体重/日 (サ リノマイシン Na として ～23.6 mg/kg 体重/日相 当)、2 日間経口投与、 最終投与 6 時間後採取	陰性	12

a：ばく露時間 6～8 時間では陰性

in vitro の遺伝毒性試験では、復帰突然変異試験が 1 試験陽性であったが、より高用量で陰性の結果もある等、他の復帰突然変異試験はいずれも陰性だった。また、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験においても陰性であった。一方、*in vivo* の小核試験は陰性であった。また、*in vitro* の染色体異常試験で陽性の報告¹⁴があったが、それらの試験は用量、純度等が不明であることから、参考資料とした。

以上のことから、食品安全委員会は、サリノマイシンには生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

¹⁴ 参照 13 及び 24 に記載されている試験

4. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験（マウス、ラット、イヌ及び鶏）

マウス、ラット、イヌ及び鶏におけるサリノマイシン Na の急性毒性試験結果を表 11 に示した。

表 11 各種動物におけるサリノマイシン Na の急性毒性試験結果

動物種 ^a	投与経路 ^b	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		所見	参照
		雄	雌		
マウス (ICR)	腹腔内	15.5	15.8	自発運動低下、呼吸深大 剖検所見異常なし	5
	皮下	16.4	18.9	自発運動低下、呼吸深大、流涎 剖検所見異常なし	
	経口	99.0	68.5	自発運動低下、呼吸深大、流涎、流涙、 後肢麻痺例あり、体重減少(生存例)、肺・消化 管の充血及び腹水貯留(死亡例)	
	経皮	164.3	171.1	自発運動低下、呼吸深大、流涎、諸臓器うっ 血傾向(死亡例)	
ラット (Wistar)	腹腔内	11.8	10.1	症状：マウスの腹腔内投与とほぼ同様 肝臓の腫脹・癒着(生存例)	
	皮下	15.5	12.0	症状：マウスの皮下投与とほぼ同様 剖検所見異常なし	
	経口	48.9	47.6	症状：マウスの経口投与とほぼ同様、四肢・ 耳朶・口唇に紅潮・浮腫(死亡例)	
	経皮	>1,200	>1,200	高用量群の3日後から自発運動減少、呼吸深 大、流涎、剖検所見異常なし	
イヌ (ビーグル)	経口	22.6	24.2	自発運動抑制、後肢麻痺、歩行異常、嘔吐、 間代性痙攣(生存例1例)、呼吸困難(死亡例)、 胃・十二指腸の粘膜糜爛及び充出血(死亡例)	7
鶏 (肉用種)	経口	167.6	147.0	歩行失調、脚麻痺、昏睡状態	5

a：マウス、ラット及び鶏（雌雄各 10 匹/群）、イヌ（雄 1～4 匹/群、雌 2～5 匹/群）

b：投与サリノマイシンの純度（マウス、ラット及び鶏：962 μg(力価)/mg、イヌ：935 μg(力価)/mg）

(2) 急性毒性試験（マウス、ラット及びウサギ）

マウス、ラット及びウサギにおけるサリノマイシン Na の経口投与による急性毒性試験の結果を表 12 に示した。

サリノマイシン Na は、中等度あるいは中等度～強度の経口急性毒性を示すと考えられた。

表 12 各種動物におけるサリノマイシン Na の急性毒性試験結果

動物種	投与	投与サリノマイシン Na の形態等	性別	経口 LD ₅₀ (mg/kg 体重)	所見	参照
マウス	経口	製剤又は発酵産物 (3 形態) ^a	雄	10.9~13.6 ^b	自発運動の低下、 昏睡、呼吸困難	24
			雌	8.9~12.8 ^b		
	経口	—	—	50~148	自発運動の低下、 呼吸深大、流涎	13
	強制 経口	— (2 試験)	—	50~71	立毛、自発運動の 低下、円背、呼吸 困難、よろめき	12
ラット	経口	製剤又は発酵産物 (3 形態) ^a	雄	17.0~50.7 ^b	自発運動の低下、 昏睡、呼吸困難	24
			雌	12.8~44.8 ^b		
	経口	—	—	46~124	自発運動の低下、 呼吸深大、流涎	13
	強制 経口	— (2 試験)	—	50~71	立毛、自発運動の 低下、円背、呼吸 困難、よろめき	12
ウサギ	強制 経口	— (1 試験)	—	21	不明	12、13

a : サリノマイシン Na 含量、12%又は 28.5% b : サリノマイシンとして — : 詳細不明

(3) 急性毒性試験 (マウス、ラット及びイヌ)

純度の低いサリノマイシン Na のマウス、ラット及びイヌにおける経口投与による急性毒性試験結果を表 13 に示した。

表 13 各種動物におけるサリノマイシン Na の経口急性毒性試験結果

動物種 ^a	投与	サリノマイシン Na の純度 (μg(力価)/mg)	性別	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	臨床徴候等	参照
マウス (ICR)	経口	103 ^b	雄	812.2	自発運動減少、呼吸緩徐、流涎、流涙、後肢麻痺、体重減少・軟便 (生存例)、消化管充血 (死亡例)	5
			雌	731.4		
		10.3 ^c	雄	>6,000	投与可能最大量 (6,000 mg/kg 体重) で死亡例なし	
			雌	>6,000		
	440 ^d	雄	370	自発運動減少、呼吸数減少・粗大、耳介蒼白、流涙、後肢麻痺、チアノーゼ、間代性痙攣、眼球突出	25	
		雌	340			
経皮	440 ^d	雄	>5,000	なし		
		雌	>5,000			
ラット (Wistar)	経口	103 ^b	雄	658.6	自発運動減少、呼吸深大、流涎、流涙、軟便、下痢、四肢末端・口唇周囲・耳朶に紅潮・浮腫 (死亡例)、肺充血・胸水貯留 (死亡例)、十二指腸・空腸出血 (死亡例)	5
			雌	480.8		
		10.3 ^c	雄	>6,000	投与可能最大量 (6,000 mg/kg 体重) で死亡例なし	
			雌	>6,000		
ラット (SD)	経口	440 ^d	雄	249	自発運動減少、呼吸数減少・粗大、耳介蒼白、流涎、後肢麻痺、チアノーゼ、間代性痙攣、四肢端の蒼白・浮腫	25
			雌	310		
	経皮	440 ^d	雄	>5,000	なし	
			雌	>5,000		
イヌ (雑種)	経口	430 ^d	雄	約 26	自発運動減少、鎮静、流涎、嘔吐、呼吸数減少・粗大、歩行失調、四肢麻痺、間代性痙攣	
			雌	約 26		

a: マウス及びラット (雌雄各 10 匹/群)、イヌ (雄 2~4 匹/群、雌 4 匹/群)

b: 精製級 c: b の 10 倍散 d: 飼料級

(4) 吸入毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、齢不明、雌雄各 5 匹) を用いて 12% サリノマイシン Na 製剤を噴霧剤 (呼吸可能な粒子径である 1~4 μm の粒子を 30.5% 含む。) として経鼻吸入によって 4 時間投与 (33 μg/L、サリノマイシンとして 4 μg/L 相当。) した。呼吸量 0.1~0.2 L/分にに基づき、4 時間吸入によるサリノマイシンの総投与量は、約 0.5~1 mg/kg

体重であった。

死亡例はみられず、投与による体重変化はみられなかった。剖検及び肺重量に投与による影響はみられなかった。

本試験においてサリノマイシン Na の吸入毒性はみられなかったことから、ラットに対する LC₅₀ は算出されず、本試験における 12%サリノマイシン Na 製剤の NOEC は 33 µg/L 超（サリノマイシンとして 4 µg/L 超相当。）と考えられた。（参照 12）

5. 亜急性毒性試験

(1) 3 か月間亜急性毒性試験（マウス）

マウス (ICR 系、雌雄各 10 匹/群) にサリノマイシン Na (飼料級、440 µg (力価)/mg) を混餌投与 (0、150、450、900 又は 1,350 ppm) し、3 か月間亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 14 に示した。

死亡は、450 ppm 以上投与群でみられた。450 ppm 投与群の死亡例については、同投与群雄では死亡例がないこと、及び 2 年間慢性毒性試験では投与開始 3 か月後まで 400 ppm 投与群では死亡例が発生していないことから、偶発的なものと考えられた。

血液学的検査では、900 ppm 以上投与群で WBC の減少がみられたが、投与量との関連性はなく、正常の範囲内であった。

血液生化学的検査では、900 ppm 投与群で ALT の上昇が、900 ppm 以上投与群で AST の上昇がみられたが、いずれも投与量との関連性はなく、正常の範囲内であった。

剖検では、450 ppm 以上投与群で腹腔内脂肪減少がみられた。

試験実施者は、450 ppm 投与群の死亡例は偶発的なものと考えられるとして、本試験における NOEL を 450 ppm (雄 61 mg/kg 体重/日、雌 64 mg/kg 体重/日) と考えた。（参照 25）

食品安全委員会は、450 ppm 投与群の死亡例は偶発的なものと考え、900 ppm 投与群で死亡、体重増加抑制等がみられたことから、本試験における NOAEL を 450 ppm (サリノマイシンとして雄 27 mg/kg 体重/日、雌 28 mg/kg 体重/日¹⁵) と判断した。

¹⁵ 純度を考慮して算出した。

表 14 マウスを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	毒性所見
1,350	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (雌雄各 7/10 例) ・削瘦、被毛粗剛 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・尿の比重低下 ・肝臓、腎臓及び肺のうっ血 (死亡例)
900	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (雌雄各 2/10 例) ・削瘦、被毛粗剛 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・尿の比重低下 ・肝臓、腎臓及び肺のうっ血 (死亡例)
450 以下	所見なし

(2) 6 か月間亜急性毒性試験 (マウス)

マウス (ICR 系、雌雄各 20 匹/群) にサリノマイシン Na (精製級、純度 : 874 µg(力価)/mg) を混餌投与 (0、10、30、100 又は 300 ppm) し、6 か月間亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 15 に示した。

全ての群で死亡例はみられなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、投与による影響はみられなかった。

病理組織学的検査では、投与に起因する変化はみられなかった。

試験実施者は、本試験における NOEL を 100 ppm (15.14 mg/kg 体重/日) と考えた。(参照 5)

食品安全委員会は、300 ppm 投与群で自発運動量減少、体重増加抑制等がみられたことから、本試験における NOAEL を 100 ppm (サリノマイシンとして 13 mg/kg 体重/日¹⁶) と判断した。

表 15 マウスを用いた 6 か月間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量(ppm)	毒性所見
300	<ul style="list-style-type: none"> ・自発運動量減少 ・被毛粗剛、立毛、被毛の光沢減少 ・体重増加抑制、摂餌量減少
100 以下	所見なし

(3) 1 か月間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) にサリノマイシン Na (精製級、純度 : 962 µg(力価)/mg) を強制経口投与 (0、2.5、5.0、10 又は 20 mg/kg 体重/日) し、1 か月間亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 16 に示した。

¹⁶ 純度を考慮して算出した。

尿検査では、全ての群で異常はみられなかった。

剖検では、10 mg/kg 体重以上/日投与群で肺炎の例数が多く、体脂肪の減少がみられた。

病理組織学的検査では、5 mg/kg 体重/日投与群で胃粘膜表層粘液貯留及び肝臓のクッパー細胞の活性化がみられたが、これらの所見はいずれも軽度であった。

試験実施者は、5 mg/kg 体重/日投与群でみられた胃粘膜表層の粘液増加及び肝臓のクッパー細胞の活性化傾向はいずれも軽度であり、他の諸検査項目において対照群との間にほとんど差異は認められないとして、本試験における NOEL を 5 mg/kg 体重/日と考えた。(参照 5)

食品安全委員会は、10 mg/kg 体重/日投与群で死亡、自発運動量減少、体重増加抑制、心筋混濁腫脹等がみられたことから、本試験における NOAEL を 5 mg/kg 体重/日 (サリノマイシンとして 4.8 mg/kg 体重/日¹⁷) と判断した。

表 16 ラットを用いた 1 か月間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
20	・死亡 (雄：4/10 例、雌：1/10 例) ・自発運動量減少、食欲減退 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・好中球増加傾向及びリンパ球減少傾向 (雌) ・K ⁺ 増加傾向 (雄)、AST 増加傾向 (雌) ・リンパ節リンパ液貯留、脾臓のヘモジデリン沈着、心筋混濁腫脹
10	・死亡 (雄：2/10 例、雌：1/10 例) ・自発運動量減少、食欲減退 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・ST 増加傾向 (雌) ・リンパ節リンパ液貯留、脾臓のヘモジデリン沈着、心筋混濁腫脹
5.0 以下	所見なし

(4) 3 か月間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 10 匹 /群) にサリノマイシン Na (飼料級、純度：440 µg (力価)/mg) を混餌投与 (0、150、450、900 又は 1,350 ppm) し、3 か月間亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 17 に示した。

尿検査では、全ての群で異常はみられなかった。

剖検では、450 ppm 以上投与群で、盲腸の軽度膨満がみられた。

臓器重量では、450 ppm 以上投与群で、盲腸の絶対重量の軽度な増加がみられた。

病理組織学的検査では、盲腸に特に変化はみられなかった。

試験実施者は、本試験におけるサリノマイシン Na (飼料級) の NOEL を 450 ppm (飼料級原体として、雄：67.6 mg/kg 体重/日、雌：77.7 mg/kg 体重/日) と考えた。

¹⁷ 純度を考慮して算出した。

(参照 25)

食品安全委員会は、450 ppm 以上投与群で盲腸の膨満及び重量の増加がみられたものの、被験物質の投与による腸内細菌叢の変動による影響と考えて毒性影響と判断しなかった。また、900 ppm 投与群で死亡、体重増加抑制、血液生化学的パラメーターの変動等がみられたことから、本試験における NOAEL を 450 ppm (サリノマイシンとして雄 30 mg/kg 体重/日、雌 34 mg/kg 体重/日¹⁸⁾) と判断した。

表 17 ラットを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	毒性所見
900 以上	<ul style="list-style-type: none">・死亡 (900 : 雄 1/10 例、雌 4/10 例、1,350 : 雄 8/10 例、雌 9/10 例)・軽度抑うつ、削瘦、被毛粗剛・体重増加抑制、体重減少、摂餌量減少・PLT の軽度な減少 (雌)・ALP の軽度な増加・AST 及び BUN の軽度な増加 (雌)
450 以下	毒性所見なし

(5) 6 か月間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料¹⁹⁾>

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) にサリノマイシン Na (精製級、純度 : 874 µg(力価)/mg) を混餌投与 (0、20、50、130 又は 320 ppm) し、6 か月間亜急性毒性試験が実施された。

死亡は、320 ppm 投与群の雄 1 例であった。

一般状態では、320 ppm 投与群で自発運動量減少、食欲減退及び衰弱がみられ、雌で顕著であった。320 ppm 投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少傾向がみられた。

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、対照群と比較して特記すべき変化はみられなかった。

剖検では、対照群を含む全ての群でマイコプラズマの混合感染による肺炎症状がみられ、雌では卵胞嚢水腫がみられた。

臓器重量では、130 ppm 投与群の雄で胸腺の絶対及び相対重量の増加並びに肺の相対重量の減少傾向がみられ、雌では胸腺、肝臓及び卵巣の絶対及び相対重量の減少並びに脳及び肺の絶対重量の減少がみられた。320 ppm 投与群の雄では脳及び肝臓の絶対重量の減少並びに甲状腺の相対重量の増加がみられ、雌では肝臓、肺及び卵巣の絶対重量の減少がみられた。

病理組織学的検査では、対照群及び投与群ともに脾臓のうっ血及び肺炎像がみられた。130 ppm 以上投与群では肝臓のクッパー細胞の賦活化がみられ、320 ppm 投与群ではリンパ節の網内系細胞の賦活化及び肝臓のうっ血がみられた。

試験実施者は、本試験における NOEL を 130 ppm と考えた。(参照 5)

¹⁸⁾ 純度を考慮して算出した。

¹⁹⁾ ラットのサリノマイシン一日摂取量が不明であることから、参考資料とした。

(6) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/群) に 23.4%サリノマイシン Na 含有発酵物 (fermentaiton product) を強制経口投与 (サリノマイシン Na として 0、0.2、0.5 又は 1 mg/kg 体重/日²⁰、ゼラチンカプセル) し、90 日間亜急性毒性試験が実施された。毒性所見を表 18 に示した。

1 mg/kg 体重/日投与群で、試験 22 日目に雄 1 例が瀕死状態となったため、検査が行われた。

0.2 及び 1 mg/kg 体重/日投与群の雌で、軽度であるが有意な体重増加抑制及び有意な脾臓の絶対重量の増加がみられたが、これらの所見は雄でみられていないこと及び用量依存性ではなかったことから、投与に起因する影響ではないと考えられた。

剖検では、投与に起因する影響はみられなかった。

また、用量依存性の軽度な子宮内膜の萎縮 (reduction in uterine physiological hyperplasia) 及び発情周期の変化がみられたが、これらの変化は試験実施施設で実施した 90 日間毒性試験において対照群でみられた発情周期と同様な範囲であったことから、偶発的な所見と考えられた。

EFSA は、本試験における NOEL をサリノマイシン Na として 0.5 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 15、24)

食品安全委員会は、1mg/kg 体重/日投与群で後肢の引きずり、坐骨神経の軸索の変性等がみられたことから、本試験における NOAEL をサリノマイシン Na として 0.5 mg/kg 体重/日と判断した。

表 18 イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
1	・後肢のひきずり、呼吸深大、粘膜蒼白、心拍数増加 ・坐骨神経の軸索の変性
0.5 以下	なし

(7) 6 か月間亜急性毒性試験 (イヌ) ①

イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/群) にサリノマイシン Na (精製級、純度 : 935 µg(力価)/mg) を週 6 回強制経口投与 (0、0.3、1.0 又は 3.0 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセル) し、6 か月間亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 19 に示した。

死亡例は、いずれの群にもみられなかった。

剖検及び臓器重量では、投与によると考えられる変化はみられなかった。

病理組織学的検査では、投与群の雄で肺の間質性充血並びに腎臓の間質性充血及び糸球体充血が、投与群の雌で脾臓のうっ血及びヘモジデリン沈着並びに肝臓のうっ血が対照群に比べやや多くみられたが、その変化はいずれも軽度であり、投与量との相

²⁰ 参照 24 (2004 年) では用量は発酵物の量として記載されていたが、参照 15 (2006 年) でサリノマイシン Na としての用量に修正された。

関はみられなかった。

試験実施者は、1.0 mg/kg/日投与群の一般症状、発育推移、各臨床検査、病理組織学的検査で、投与に起因すると考えられる特異的かつ重篤な所見はみられなかったことから、本試験における NOEL を 1.0 mg/kg 体重/日と考えた。(参照 7)

食品安全委員会は、1.0 mg/kg 体重/日投与群でみられた血液学的及び血液生化学的検査におけるパラメーターの変動に用量相関性はないと考え、3.0 mg/kg 体重/日投与群で歩行失調、痙攣、体重増加抑制傾向等がみられたことから、本試験における NOAEL は 1.0 mg/kg 体重/日 (サリノマイシンとして 0.94 mg/kg 体重/日²¹) と判断した。

表 19 イヌを用いた 6 か月間亜急性毒性試験における所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
3.0	<ul style="list-style-type: none">・嘔吐、歩行失調及び痙攣・体重増加抑制傾向・RBC 及び WBC 減少、PT 短縮・AST 軽度増加、ALP 減少、ChE 増加・尿中 WBC 及び上皮細胞数増加
1.0 以下	所見なし

(8) 6 か月間亜急性毒性試験 (イヌ) ②<参考資料²²>

イヌ (ビーグル種、雌雄各 2 匹/群) にサリノマイシン Na (飼料級、純度: 430 µg (力価)/mg) を強制経口投与 (0、1、3 又は 10 mg/kg 体重/日、乳糖で希釈し 10 倍散としてゼラチンカプセルに詰めたもの) し、6 か月間亜急性毒性試験が実施された。

死亡は、10 mg/kg 体重/日投与群の雌雄に各 1 例みられたが、投与に起因するものではなかった。

一般状態では、10 mg/kg 体重/日投与群で軟便、嘔吐、歩行失調及び四肢の麻痺がみられた。体重では、10 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制又は体重減少がみられ、摂餌量の減少がみられた。

血液学的検査では、10 mg/kg 体重/日投与群で好中球の増加を伴う白血球増加がみられたが、正常の範囲内の値であった。

血液生化学的検査では、10 mg/kg 体重/日投与群で BUN の上昇がみられたが、正常の範囲内の値であった。

尿検査及び臓器重量では、全ての群で異常はみられなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、投与に起因する変化はみられなかった。

試験実施者は、本試験におけるサリノマイシン Na (飼料級) の NOEL を 3 mg/kg 体重/日 (サリノマイシン Na として 1.2 mg/kg 体重/日相当) と考えた。また、サリノマイシン Na (飼料級) の 3 mg/kg 体重/日は精製級に換算すると 1.2 mg/kg 体重/日

²¹ 純度を考慮して算出した。

²² 試験動物数が少ないことから、参考資料とした。

に相当するが、サリノマイシン Na (精製級) のイヌの 6 か月間亜急性毒性試験で得られた NOEL は 1.0 mg/kg 体重/日であったことから、サリノマイシン Na (飼料級) はサリノマイシン Na (精製級) と比較して毒性に差はないと考えた。(参照 25)

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (マウス) ①

マウス (ICR 系、雌雄各 50 匹/群) にサリノマイシン Na (純度: 903 µg (力価)/mg) を 2 年間混餌投与 (0、10、30、100 又は 300 ppm (雌については投与開始 6 か月以降 250 ppm に変更)) し、慢性毒性及び発がん性試験が実施された。

毒性所見を表 20 に示した。

死亡率は、300 ppm 投与群ではやや高い傾向が認められたが、その他の投与群では対照群との間に明らかな差は認められなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、対照群で肺炎及び白血病による異常値が散見され、投与群で同様の傾向がみられた。

剖検では、300 ppm 投与群で全身性の臓器萎縮がみられたが、食欲不振による栄養不良及び加齢に伴う衰弱のためと考えられた。

病理組織学的検査では、肝細胞の混濁腫脹以外に、被験物質の投与による影響はみられなかった。

腫瘍発生については、肺又は乳腺の腺腫又は腺癌が多くみられ、副腎、肝臓、生殖器等にも腫瘍が散見されたが、その種類及び発生率において対照群と投与群との間に差はみられず自然発生腫瘍と考えられ、投与による影響ではないと考えられた。

試験実施者は、本試験における NOEL を 100 ppm (雄 15.50 mg/kg 体重/日、雌 13.28 mg/kg 体重/日) と考えた。(参照 7)

食品安全委員会は、300 ppm 投与群で自発運動量減少、体重増加抑制、肝細胞の混濁腫脹等がみられたことから、本試験における NOAEL を 100 ppm (雄 15.50 mg/kg 体重/日 (サリノマイシンとして 14 mg/kg 体重/日²³)、雌 13.28 mg/kg 体重/日 (サリノマイシンとして 12 mg/kg 体重/日²⁵)) と判断した。発がん性はみられなかった。

表 20 マウスを用いた 2 年間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	毒性所見
300 ^a	<ul style="list-style-type: none"> ・ 自発運動量減少、被毛失沢/粗剛、立毛 ・ 体重増加抑制、摂餌量減少 ・ WBC の増加 ・ AST 増加 ・ 肝細胞の混濁腫脹
100 ^b 以下	毒性所見なし

a : 35.81~50.29 mg/kg 体重/日相当 b : 13.28~15.50 mg/kg 体重/日相当

²³ 純度を考慮して算出した。

(2) 2年間慢性毒性及び発がん性試験(マウス)②

マウス(ICR系、5週齢、雌雄各70匹/群)にサリノマイシンNa(飼料級、純度:430 µg又は440 µg(力価)/mg)を混餌投与(0、50、100、200又は400 ppm)し、2年間慢性毒性及び発がん性試験が実施された。

毒性所見を表21に、腫瘍発生率を表22に示した。

死亡率は、被験物質投与群と対照群において大きな差はみられなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、投与による影響はみられなかった。

臓器重量では、400 ppm投与群で、肝臓、腎臓及び脾臓の絶対重量の減少傾向がみられたが、相対重量では対照群との差はみられなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、対照群を含む全ての群で自然発生腫瘍及び加齢に伴う変化がみられたが、投与に起因する変化はみられなかった。

腫瘍の発生頻度及び発生時期は、投与群と対照群で大きな差はみられず、投与量との関連性もみられなかった。

試験実施者は、本試験におけるNOELを200 ppm(雄:18.0 mg/kg体重/日、雌:19.9 mg/kg体重/日)とし、発がん性はないと考えた。また、サリノマイシンNa(飼料級)の200 ppmは精製級に換算すると約90 ppmに相当するが、サリノマイシンNa(精製級)のマウス2年間慢性毒性試験で得られたNOELは100 ppmであったことから、サリノマイシンNa(飼料級)はサリノマイシンNa(精製級)と比較して毒性に差はないと考えた。(参照25)

食品安全委員会は、400 ppm投与群で消瘦、体重増加抑制等がみられたことから、本試験におけるNOAELを200 ppm(雄18.0 mg/kg体重/日(サリノマイシンとして7.7又は7.9 mg/kg体重/日²⁴)、雌19.9 mg/kg体重/日(サリノマイシンとして8.6又は8.8 mg/kg体重/日²⁶))と判断した。発がん性はみられなかった。

表21 マウスを用いた2年間慢性毒性及び発がん性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	毒性所見
400	・消瘦、被毛粗剛 ・体重増加抑制、摂餌量減少
200 以下	毒性所見なし

表22 マウスを用いた2年間慢性毒性及び発がん性試験における腫瘍発生率 (%)

性別	投与量 (ppm)				
	0	50	100	200	400
雄	55.7	65.7	60.9	65.2	47.8
雌	43.4	47.1	42.0	50.0	39.1

²⁴ 試験に用いたサリノマイシンNaの純度が430又は440 µg(力価)/mgであることから、それぞれの純度で算出した。

(3) 2年間発がん性試験 (マウス)

マウス (CD-1 系、雌雄各 100 匹/群) に 20.6%サリノマイシン Na 含有バイオマス を 2 年間混餌投与 (0、50、200 又は 800 ppm (32 週以降 600 ppm に変更²⁵)、サリノマイシン Na として 1.5、6.2 又は 24.7 mg/kg 体重/日 (32 週以降 18.6 mg/kg 体重/日) 相当) し、発がん性試験が実施された。

毒性所見を表 23 に示した。

生存率には、投与による影響はみられなかった。

血液学的検査では、投与による影響はみられなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、尾部の病変を除き、腫瘍性及び非腫瘍性のいずれの病変の発生率も投与による影響はみられなかった。

EFSA は、本試験における NOEL を 20.6%サリノマイシン Na 含有バイオマスとして 200 ppm (サリノマイシン Na として 5.8 mg/kg 体重/日相当) とし、本バイオマスに発がん性はみられないと判断した。(参照 12)

食品安全委員会は、最高用量群で尾部の病変の発生率増加、体重増加抑制等がみられたことから、本試験における NOAEL を 200 ppm (サリノマイシン Na として 5.8 mg/kg 体重/日) と判断した。発がん性はみられなかった。

表 23 マウスを用いた発がん性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	毒性所見
800→600	・うずくまり姿勢、尾部の病変 (尾先端部の欠如、先端部から後部までの黒ずみ、かさぶた、腫れ等) の発生率の増加 ・体重増加抑制
200 以下	所見なし

(4) 2年間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット) ①

ラット (Wistar 系、雌雄各 50 匹/群) にサリノマイシン Na (純度:903 µg(力価)/mg) を 2 年間混餌投与 (0、20、50、130 又は 320 ppm) し、2 年間慢性毒性及び発がん性試験が実施された。投与開始 12、18 及び 24 か月後に、それぞれ雌雄各 10、20 及び 20 匹/群について検査した。

投与による毒性所見を表 24 に示した。

死亡率は、対照群に比べ投与群でやや高い傾向がみられたが、投与量との相関はみられなかった。

血液学的検査では、投与群でリンパ球の増加等がみられた。血液生化学的検査では、投与群と対照群との間に大きな差はみられなかった。

尿検査では、全ての群で加齢に伴う尿蛋白の増加がみられた。320 ppm 投与群における尿蛋白増加傾向は他の群より低かった。

剖検及び病理組織学的検査では、投与開始 12 か月後には、投与量の増加に伴い、脾臓、肝臓、副腎及び肺のうっ血性変化並びに肝細胞の萎縮傾向がみられた。18 か月後においても、投与量の増加に伴い、脾臓、肝臓及び腎臓にうっ血又は充血傾向がみら

²⁵ 過剰な体重増加抑制がみられたため、用量を減量した。

れた。24 か月後には、脾臓にうっ血傾向がみられた。

腫瘍発生については、下垂体前葉の嫌色素性腺腫が対照群を含む全ての群で多くみられ、ほかに乳腺の腺腫及び線維腺腫、皮下組織の線維腫及び線維肉腫等がみられたが、いずれも加齢に伴う所見であり投与による影響はみられなかった。

試験実施者は、本試験における NOEL を 130 ppm (5.06~6.85 mg/kg 体重/日) とし、発がん性はないと考えた。(参照 7)

食品安全委員会は、320 ppm 投与群で自発運動量減少、体重増加抑制等がみられたことから、本試験における NOAEL を 130 ppm (5.06~5.82 mg/kg 体重/日(サリノマイシンとして 4.6~5.3 mg/kg 体重/日²⁶⁾) と判断した。発がん性はみられなかった。

表 24 ラットを用いた 2 年間慢性毒性及び発がん性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	毒性所見
320	・自発運動量減少、食欲減退、衰弱、被毛失沢 ・体重増加抑制
130 以下	毒性所見なし

(5) 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット) ②

ラット (Wistar 系、雌雄各 50 匹/群) に 20.7%サリノマイシン Na 含有発酵物を混餌投与 (サリノマイシン Na として 1.5、3.0 又は 6.0 mg/kg 体重/日、投与開始後 40 週目の初めからそれぞれ 3.0、6.0 又は 9.0 mg/kg 体重/日に変更。) し、2 年間慢性毒性及び発がん性試験が実施された。投与開始 12 か月後及び 2 年後にそれぞれ雌雄各 6 及び 10 匹/群から組織を採取した。残りのラットは投与終了 1 か月後に組織を採取した。

毒性所見を表 25 に示した。

死亡率は、全ての群で同様であった。

摂餌量では、投与量の増量後に中及び高用量群に減少がみられたが、投与による一貫した影響はみられなかった。

中枢神経系の機能及び眼底検査では、投与による影響はみられなかった。

血液生化学的検査でみられた多くの変化は、投与終了 4 週間後にはみられなくなった。

尿検査では、投与による変化はみられなかった。

剖検では、中及び高用量群で盲腸の膨満が認められた。

腫瘍発生率は、全ての群で同様であった。

EFSA は、20.7%サリノマイシン Na 含有発酵物に発がん性がないと判断した。また、投与による影響の多くは比較的重要性が低く、薬理作用と密接に関連していた。この試験では NOEL を設定することはできないが、最低用量でみられた影響の性質を考慮すると LOEL とみなすことが可能であることから、本試験における LOEL をサリノマイシン Na として 1.5 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 20)

食品安全委員会は、血液学的検査及び血液生化学的検査において、全投与群で投与

²⁶ 純度を考慮して算出した。

による影響がみられたことから、本試験における LOAEL をサリノマイシン Na とし
て 1.5 mg/kg 体重/日と判断した。発がん性はみられなかった。

表 25 ラットを用いた 2 年間慢性毒性及び発がん性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
6.0 (9.0 に変更)	<ul style="list-style-type: none"> ・増量後に体重減少及び一般状態の悪化 ・増量後に体重増加の抑制 ・PLT の増加、PCT の増加 ・CK の低下、AST の増加 (雌雄)、血清タンパク質の増加、BUN 及び Bil の増加 ・肝臓及び腎臓の相対重量 (脳重量に対して、雄) の減少 ・耳下腺の腺房細胞の肥大
3.0 (6.0 に変更)	<ul style="list-style-type: none"> ・増量後に体重増加の抑制 ・PLT の増加、PCT の増加 (散発) ・CK の低下、AST の増加 (雌)、血清タンパク質の増加、BUN 及び Bil の増加 ・肝臓及び腎臓の相対重量 (脳重量に対して、雄) の減少 ・耳下腺の腺房細胞の肥大
1.5 (3.0 に変更)	<ul style="list-style-type: none"> ・PLT の増加 (散発) ・CK の低下 (散発) ・AST の増加 (雌)、BUN 及び Bil の増加 ・肝臓及び腎臓の相対重量 (脳重量に対して、雄) の減少

(6) 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット) ③

ラット (SD 系、5 週齢、雌雄各 85 匹/投与群、雌雄各 135 匹/対照群) にサリノマイシン Na (飼料級、純度 : 430 µg 又は 440 µg (力価)/mg) を混餌投与 (0、100、200、400 又は 600 ppm) し、2 年間慢性毒性試験が実施された。投与開始 2 年後に、雌雄各 35 匹/群について臨床及び病理学的検査を実施し、その他の項目については全例について検査した。また、残りの雌雄各 50 匹/群について、雄では 26 か月間、雌では 28 か月間まで投与し、発がん性について検討された。

毒性所見を表 26 に、腫瘍発生率を表 27 に示した。

死亡率は、600 ppm 投与群の雄で最も低かったが、雌では対照群と投与群で差はみられなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、投与による影響はみられなかった。

臓器重量では、400 ppm 以上投与群で、盲腸重量 (内容物を含む。) の増加がみられた。

剖検及び病理組織学的検査では、対照群を含む全ての群で、自然発生腫瘍及び加齢に伴う変化がみられたが、投与に起因する変化はみられなかった。

腫瘍の発生頻度及び発生時期には、対照群と投与群で大きな差はみられず、投与量との関連性もみられなかった。

試験実施者は、本試験における NOEL を 400 ppm (雄 : 16.9 mg/kg 体重/日、雌 :

20.3 mg/kg 体重/日) とし、発がん性はないと考えた。また、サリノマイシン Na (飼料級) の 400 ppm は精製級に換算すると約 170 ppm に相当するが、サリノマイシン Na (精製級) のラット 2 年間慢性毒性試験で得られた NOEL は 130 ppm であったことから、サリノマイシン Na (飼料級) はサリノマイシン Na (精製級) より毒性は低いと考えた。(参照 25)

食品安全委員会は、400 ppm 以上投与群でみられた盲腸重量の増加は、被験物質の投与による腸内細菌叢の変動による影響と考えて毒性影響と判断しなかった。600 ppm 投与群で体重増加抑制等がみられたことから、本試験における NOAEL を 400 ppm (サリノマイシンとして雄 7.3 又は 7.4 mg/kg 体重/日²⁷、雌 8.7 又は 8.9 mg/kg 体重/日²⁹) と判断した。発がん性はみられなかった。

表 26 ラットを用いた 2 年間慢性毒性及び発がん性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	毒性所見
600	・削瘦、被毛粗剛 ・体重増加抑制、摂餌量減少
400 以下	毒性所見なし

表 27 ラットを用いた 2 年間慢性毒性及び発がん性試験における腫瘍発生率 (%)

性別	投与量 (ppm)				
	0	50	100	200	400
雄 ^a	87.0	86.0	94.0	76.0	76.0
雌 ^b	94.0	92.0	94.0	96.0	87.8

a : 26 か月間投与

b : 28 か月間投与

(7) 30 か月間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、3 週齢、雌雄各 50~52 匹/群) にサリノマイシン Na (飼料級、炭酸ナトリウムでサリノマイシンとして 10%含有するように調整したもの) を混餌投与 (サリノマイシンとして 0、50、100 又は 200 ppm) し、30 か月間慢性毒性及び発がん性試験が実施された。

毒性所見を表 28 に示した。

死亡率及び一般状態では、投与群と対照群で差はみられず、特記すべき異常はみられなかった。

摂餌量は、雌雄ともに投与群と対照群の間でほとんど差はみられなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査に投与に起因する影響はみられなかった。

剖検及び病理組織学的検査も、投与に起因する影響はみられず、発がん性はみられなかった。

²⁷ 試験に用いたサリノマイシン Na の純度が 430 又は 440 µg (力価)/mg であることから、それぞれの純度で算出した。

試験実施者は、本試験における NOEL を 50 ppm (雄：約 2 mg/kg 体重/日、雌：約 3 mg/kg 体重/日) とし、発がん性はないと考えた。(参照 26)

食品安全委員会は、100 ppm 投与群で体重増加抑制がみられたことから、本試験における NOAEL を 50 ppm (サリノマイシンとして雄約 2 mg/kg 体重/日、雌約 3 mg/kg 体重/日) と判断した。発がん性はみられなかった。

表 28 ラットを用いた 30 か月間慢性毒性及び発がん性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	毒性所見
200	・ 体重増加抑制
100	・ 体重増加抑制 (雄)
50 以下	毒性所見なし

(8) 30 か月間発がん性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雄：51～52 匹/群、雌：50～52 匹/群) に 10%サリノマイシン Na 含有菌糸体 (炭酸ナトリウム添加により含有濃度 10%に調整した菌糸体) を 30 か月間混餌投与 (サリノマイシンとして 0、2.5、5 又は 10 mg/kg 体重/日相当) し、30 か月間発がん性試験が実施された。

10 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制がみられた。

死亡率、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び病理組織学的検査では、投与による影響はみられなかった。

EFSA は、10 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制がみられたことから、本試験における NOEL をサリノマイシンとして 5 mg/kg 体重/日と判断した。発がん性はみられなかった。(参照 12)

食品安全委員会は、10 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制がみられたことから、本試験における NOAEL をサリノマイシンとして 5 mg/kg 体重/日と判断した。発がん性はみられなかった。

(9) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、5 か月齢、雌雄各 4 匹/群、追加群：2 匹/群) に 20.6%サリノマイシン Na 含有バイオマスを経口投与 (0、0.5、2.5 又は 12.5 mg/kg 体重/日、カプセル) し、1 年間慢性毒性試験が実施された。追加群は、投与開始 3 か月後に検査に供した。血液及び尿の採取、身体検査、眼検査並びに神経学的検査 (脳神経機能、脊髄分節反射及び姿勢反応) を試験期間中に定期的実施した。心電図検査は、試験終了時に実施した。

毒性所見を表 29 に示した。

死亡は、12.5 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例であり、重度の四肢の脱力、流涎及び痩せ細りがみられた。

脳神経機能を示す反射応答 (瞬目、瞳孔及び角膜) には、投与による影響はなかった。

眼検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、投与によ

る影響はみられなかった。

剖検では、試験の終了前までの死亡例において、幾つかの器官で血管の変化（充血又は紅斑(red patches)）がみられた。

病理組織学的検査では、0.5 mg/kg 体重/日投与群の1例で軽度のミエリン喪失がみられたが、量的にも質的にも高用量群における影響とは異なり、投与によるものではないと考えられた。

12.5 mg/kg 体重/日投与群で深刻な神経毒性がみられたが、2.5 mg/kg 体重/日以下投与群では認められなかった。心臓への影響は高用量でもみられなかった。

EFSA は、本試験における NOEL を 2.5 mg/kg 体重/日（サリノマイシン Na として 0.5 mg/kg 体重/日相当）と判断した。（参照 12）

食品安全委員会は、12.5 mg/kg 体重/日投与群で死亡、神経毒性等がみられたことから、本試験における NOAEL を 2.5 mg/kg 体重/日（サリノマイシン Na として 0.52 mg/kg 体重/日²⁸）と判断した。

表 29 イヌを用いた1年間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
12.5	<ul style="list-style-type: none">・死亡（雌雄各1例）・重度の流涎及び消瘦（死亡例）・歩様異常（ぎこちない動き）、四肢の脱力、首の過伸展、呼吸困難、衰弱、運動失調・体重増加の抑制・伸筋又は屈筋の反射抑制、膝蓋腱反射の抑制、・立ち直り反射及び視覚的置換反応試験（visual displacement reaction tests）における異常応答・死亡例を除く全動物で末梢神経傷害（ミエリンの喪失、一次軸索変性及びウォラー様変性）
2.5 以下	所見なし

7. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代生殖毒性試験（マウス）

マウス（ICR 系、F₀ 世代～F_{2b} 世代）にサリノマイシン Na（純度 903 µg(力価)/mg）を連続して混餌投与（0、10、30 又は 100 ppm）し、2 世代生殖毒性試験が実施された。

F₀ 世代（雌雄各 20 匹/群）に 3 か月間投与した後、交配して得られた F_{1b}（雌雄各 30 匹/群）を育成し、交配を繰り返した。得られた妊娠母動物（10～14 匹/群）を用い、出産前の胎児について外表、内臓及び骨格検査を行った。残りの母動物（15～18 匹/群）は自然分娩させ、得られた F_{2b}（雌雄各 44～72 匹/群）を 3 か月間育成後、剖検及び臓器重量の測定を行った。

各世代ともに交配前の飼育期間中（91 日間）の死亡率及び一般状態に投与による影

²⁸ 原体中のサリノマイシン Na の含有量を考慮して算出した。

響は認められなかった。体重では、F₀及びF_{1b}世代の100 ppm投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低下がみられた。また、F_{1b}世代の30 ppm投与群で離乳直後に一時的な体重低下がみられた。

交尾率、妊娠率及び出産率については、各世代ともに投与による影響は認められなかった。

各世代の100 ppm投与群の妊娠母動物では、体重増加抑制及び摂餌量の低下がみられた。また、F_{1b}世代の30 ppm投与群の初回妊娠時に僅かな体重増加抑制がみられた。哺育期間中は、各世代ともに100 ppm投与群の母動物で体重増加抑制がみられた。

胎児については、100 ppm投与群の雌の生存胎児で、体重増加抑制及び骨格全般の化骨遅延がみられた。30 ppm投与群では、尾椎及び前肢中節骨の化骨遅延がみられた。

産児については、離乳後13週間育成したF_{2b}の剖検では、100 ppm投与群の雌雄で、脾臓の絶対及び相対重量の増加がみられた。骨格検査では、100 ppm投与群で、過剰胸骨核の出現頻度の上昇がみられた。

試験実施者は、本試験におけるNOELを30 ppm (4.72~5.83 mg/kg 体重/日) と考えた。(参照7)

食品安全委員会は、30 ppm投与群でみられた所見について、①第1及び2産でみられた離乳直後の体重増加抑制は、一時的であり、育成期間中の発育、形態等に影響はなかったこと、②妊娠時の体重増加抑制は、第1産時のみでみられたこと、③胎児の化骨遅延は、胎児体重に差がないためごく軽度の発育不全と考えられ、かつ出生児に体重等の発育に影響がなかったことから、被験物質の投与による影響と判断しなかった。一方、100 ppm投与群で親動物及び生存胎児の体重増加抑制がみられたことから、親動物及び児に対するNOAELをいずれも30 ppm (サリノマイシンとして4.3~5.3 mg/kg 体重/日²⁹) と判断した。

(2) 生殖毒性試験 (ラット)

ラット (SD系、約8週齢、雌雄各10匹/群) に12.5%サリノマイシンNa製剤を交配2週間前から妊娠期間及び哺育期間 (21日間) を通しF₁児動物の離乳が終了するまで混餌投与 (サリノマイシンとして0、75、150又は250 ppm) し、生殖毒性試験が実施された。摂餌量から算出した親動物の体重当たりのサリノマイシン摂取量を表30に示した。

表30 摂餌量より算出した親動物のサリノマイシン摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量群 (ppm)	雄	雌
75	4.6~7.1	7.0 (交配前) ~17.3 (泌乳期)
150	10~15	14 (交配前) ~36 (泌乳期)
250	17~23	21 (交配前) ~51 (泌乳期)

²⁹ 純度を考慮して算出した。

F₀ 親動物の一般状態では、150 ppm 以上投与群の雌で円背姿勢がみられ、250 ppm 投与群の雌で消瘦（6/10 例）がみられた。

150 ppm 以上投与群の雌雄で体重増加抑制がみられた。摂餌量では、250 ppm 投与群の雌雄で減少がみられた。

剖検では、250 ppm 投与群の雌でみられた平均着床数の減少以外は、雌雄ともに投与に起因すると考えられる異常はみられなかった。

交尾率、妊娠率及び出産率には、投与による影響はみられなかった。250 ppm 投与群で平均生児数の減少がみられた。F₁ 児動物の体重増加抑制が、150 ppm 投与群では僅かに、250 ppm 投与群では顕著にあった。出生 21 日後の F₁ 児動物の生存率には、投与による影響はみられなかった。（参照 26）

食品安全は、150 ppm 投与群の親動物で体重増加抑制がみられたことから、親動物に対する NOAEL は 75 ppm（雄 4.6～7.1 mg/kg 体重/日、雌 7.0～17.3 mg/kg 体重/日）と判断した。児動物に対する NOAEL は、150 ppm 以上投与群で体重増加抑制がみられたことから、75 ppm（7.0～17.3 mg/kg 体重/日）と判断した。

（3）2 世代生殖毒性試験（ラット）①

ラット（SD 系、F₀ 世代：雌雄各 28 匹/群、F_{1b} 世代：雌雄各 24 匹/群）に 12% サリノマイシン Na 製剤を混餌投与（サリノマイシンとして 1.1～4.8、2.7～13.3 又は 6.6～32.6 mg/kg 体重/日相当。）し、2 世代生殖毒性試験が実施された。

最高用量群の親動物（雌雄）で体重増加量及び摂餌量の僅かな減少がみられた。児動物では、高用量群及び中用量群で明らかな平均体重の低下がみられた。また、F_{1a} 世代の児動物でも僅かな低下がみられた（F_{1b}、F_{2a} 及び F_{2b} 世代の児動物では低下はみられなかった）。

成体の剖検、臓器重量、受精率、妊娠率、同腹児数、生存胎児率及び哺育率並びに児動物の生存率及び児動物における肉眼的異常検査では、投与による影響はみられなかった。

EFSA は、F_{1a} 世代の児動物で体重低下がみられたことから、本試験における NOEL をサリノマイシンとして 1.1 mg/kg 体重/日と判断した。（参照 12）

食品安全委員会は、6.6～32.6 mg/kg 体重/日投与群の親動物で体重増加量及び摂餌量の減少がみられたことから、親動物に対する NOAEL は 2.7～13.3 mg/kg 体重/日と判断した。児動物に対する NOAEL は、2.7～13.3 mg/kg 体重/日投与群で体重低下がみられたことから、1.1～4.8 mg/kg 体重/日と判断した。

（4）2 世代生殖毒性試験（ラット）②<参考資料>³⁰

ラット（SD 系、F₀ 世代～F_{2b} 世代）にサリノマイシン Na（飼料級、純度：440 µg（力価）/mg）を混餌投与（0、100、200 又は 400 ppm）し、2 世代生殖毒性試験が実施された。

F₀ 世代（雌雄各 35 匹/群）に 13 週間投与後、交配を行い、自然分娩させて F_{1a} 及

³⁰ 動物が摂取したサリノマイシン量が不明であることから、参考資料とした。

びF_{1b}を得た。F_{1b}（雄63～84匹/群、雌65～79匹/群）を13～14週間育成した後、交配し、母動物（F_{1b}、30～40匹/群）を自然分娩させF_{2a}及びF_{2b}を得た。残りの母動物（F_{1b}、22～26匹/群）は妊娠末期に胎児（F_{2a}）の骨格観察を行った。F_{2b}（雄85～133匹/群、雌88～137匹/群）は13～14週間育成した後、剖検した。

いずれの世代の親動物においても、交配前の飼育期間中（13週間）の一般状態には投与による影響はみられなかった。体重では、各世代ともに400ppm投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低下がみられた。

分娩所見では、F₀及びF_{1b}の各世代ともに投与に起因する変化はみられなかった。

児動物の生後発育については、400ppm投与群の体重で初産児（F_{1a}及びF_{2a}）及び次産児（F_{1b}及びF_{2b}）ともに体重増加抑制がみられ、膣開口の時期の遅延がみられた。

児動物の生後4日生存率及び離乳率では、投与による差はみられなかった。

妊娠末期の胎児（F_{2b}）の骨格観察では、投与に起因する異常、変異及び化骨遅延はみられなかった。

試験実施者は、本試験におけるNOELを200ppmと考えた。（参照25）

（5）発生毒性試験（マウス）

マウス（ICR系、雌36～42匹/群）にサリノマイシンNa（精製級、純度：920μg（力価）/mg）を妊娠6～8日間連続強制経口投与（0、4、12又は36mg/kg体重/日）し、発生毒性試験が実施された。

母動物では、36mg/kg体重/日投与群で、運動量の減少、眼球突出、呼吸遅延及び流涎がみられ、死亡は40例中13例であった。体重変化では、36mg/kg体重/日投与群で妊娠期間中に発育停滞がみられたが、哺育期間中にはいずれの群も順調な発育を示した。

胎児については、一腹当たりの着床数及び胎児生存率に対して、投与による変化はみられなかったが、36mg/kg体重/日投与群で低体重の傾向がみられた。骨格検査では、12mg/kg体重/日投与群に腰肋骨増加、36mg/kg体重/日投与群で頸肋骨増加及び胸骨格非対照がみられたが、用量依存性がなく投与による影響とは考えられなかった。内臓検査では、全ての群で著変はみられなかった。

児動物については、36mg/kg体重/日投与群で総着床数に対する出生児数の割合低下及び出生児体重の低下がみられた。しかし、以後の発育では体重に投与による影響はみられなかった。児の発育・分化については、投与群に耳介展開、皮膚毛生、門歯萌出及び眼瞼開裂の遅れが散見されたが、著しい変化はみられなかった。骨格及び内臓検査では、36mg/kg体重/日投与群で、肋骨癒合がみられた。臓器重量では、36mg/kg体重/日投与群の雌で、子宮の絶対及び相対重量の増加がみられた。（参照5）

食品安全委員会は、36mg/kg体重/日投与群で死亡例がみられ、12mg/kg体重/日投与群では投与による影響がみられなかったことから、母動物に対するNOAELは12mg/kg体重/日（サリノマイシンとして11mg/kg体重/日³¹）と判断した。胎児については、36mg/kg体重/日投与群で低体重の傾向がみられたことから、胎児に対する

³¹ 純度を考慮して算出した。

NOAELは12 mg/kg 体重/日（サリノマイシンとして11 mg/kg 体重/日³⁴）と判断した。児動物については、36 mg/kg 体重/日投与群で総着床数に対する出生児数の割合低下及び出生児体重の低下がみられたことから、児動物に対するNOAELは12 mg/kg 体重/日（サリノマイシンとして11 mg/kg 体重/日²³）と判断した。胎児及び新生児でみられた変化は、いずれも母動物に顕著な影響がみられた用量での変化であった。催奇形性はみられなかった。

(6) 発生毒性試験（ラット）①

ラット（SD系、雌25匹/群）にサリノマイシン Na 製剤を妊娠6～16日に1日1回強制経口投与（サリノマイシン Na として0、1、3又は10 mg/kg 体重/日）し、発生毒性試験が実施された。妊娠20日³²に剖検し、母動物及び胎児への毒性影響が調べられた。

母動物の一般状態では、10 mg/kg 体重/日投与群で、立毛、円背姿勢及び自発運動量減少のほかに、体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。3 mg/kg 体重/日投与群では、約4分の1の動物に、立毛、円背姿勢及び被毛粗剛がみられた。

着床数、胚・胎児死亡数、胎児体重並びに胎児の内臓及び骨格の異常について、投与による影響はみられなかった。また、化骨遅延もみられなかった。

EFSAは、本試験におけるNOELをサリノマイシンとして1 mg/kg 体重/日と判断した³³。催奇形性はみられなかった。（参照12）

食品安全委員会は、3 mg/kg 体重/日投与群の母動物で立毛、円背姿勢及び被毛粗剛がみられたことから、母動物に対するNOAELはサリノマイシン Na として1 mg/kg 体重/日と判断した。胎児では投与による影響がみられなかったことから、胎児に対するNOAELはサリノマイシン Na として本試験の最高用量である10 mg/kg 体重/日と判断した。催奇形性はみられなかった。

(7) 発生毒性試験（ラット）②

ラット（SD系、25～27匹/群）を用いてサリノマイシン Na（飼料級、純度：430 µg(力価)/mg）を妊娠7～17日に強制経口投与（0、2、6又は20 mg/kg 体重/日）し、発生毒性試験が実施された。

母動物及び妊娠末期の胎児には、投与に起因する異常所見はみられなかった。催奇形性はみられなかった。（参照25）

食品安全委員会は、母動物及び胎児に投与による影響がみられなかったことから、本試験における母動物及び胎児に対するNOAELを最高用量の20 mg/kg 体重/日（サリノマイシンとして8.6 mg/kg 体重/日³⁴）と判断した。催奇形性はみられなかった。

³² 本試験はOECDガイドライン414に従って実施しており、剖検は出産予定日の前日と考えられることから、20日とした。

³³ 参照12において、用量はNa塩として記載されているが、NOELはサリノマイシンとして記載されている。

³⁴ 純度を考慮して算出した。

(8) 発生毒性試験 (ウサギ) ①

ウサギ (品種不明、交配雌、23 匹/群) にサリノマイシン Na 含有発酵物を妊娠 6～29 日に混餌投与 (サリノマイシン Na として 0、5.0、15.0 又は 45.0 ppm) し、発生毒性試験が実施された。妊娠 6～24 日のサリノマイシン Na 摂取量は、0.2、0.5 又は 1.1 mg/kg 体重/日に相当した。妊娠 29 日に剖検した。数例は試験期間中に全く摂餌せず試験から除外され、各群それぞれ 19、17、18 及び 18 匹のデータがまとめられた。

投与群の体重増加量は、投与開始時から濃度依存的に減少し、45.0 ppm 投与群では有意な差がみられた。これは、摂餌量の減少と関連していた。

受胎率及び出産率は、全ての群で同様であった。低体重 (対照群の平均胎児体重の 60%未満) の胎児数が 15.0 及び 45.0 ppm 投与群で増加した。15.0 ppm 投与群では同腹胎児数が多かったことから、投与による影響とは考えられなかったが、45.0 ppm 投与群でみられた変化は投与によるものと考えられた。

胎児の内臓検査では、投与に起因する異常はみられなかった。骨格検査では、45.0 ppm 投与群で化骨遅延がみられた。これは母動物の栄養状態が悪かったことによると考えられ、母動物への毒性による二次的な影響と考えられた。

EFSA は、15.0 ppm 投与群では毒性影響がみられなかったことから、本試験における母動物に対する NOEL をサリノマイシンとして 0.5 mg/kg 体重/日と判断した。

³⁵ (参照 15)

食品安全委員会は、45.0 ppm 投与群の母動物で体重増加抑制がみられたことから、母動物に対する NOAEL を 15.0 ppm (サリノマイシン Na として 0.5 mg/kg 体重/日) と判断した。胎児では投与による影響がみられなかったことから、胎児に対する NOAEL を本試験の最高用量である 45.0 ppm (サリノマイシン Na として 1.1 mg/kg 体重/日) と判断した。催奇形性はみられなかった。

(9) 発生毒性試験 (ウサギ) ②

ウサギ (日本白色種、15 匹/群) にサリノマイシン Na (純度 903 µg(力価)/mg) を妊娠 6～18 日に強制経口投与 (0、0.125、0.25 又は 0.50 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。

母動物の一般状態、体重及び摂餌量に、投与の影響と考えられる異常所見はみられなかった。母動物の臓器重量及び病理学的所見にも、投与による影響はみられなかった。

妊娠末期の剖検では、黄体数、着床数、生存胎児数及び吸収死亡胚数に投与による差はみられなかった。

生存胎児の体重及び性比には投与による差はみられず、外形、内臓及び骨格検査にも投与に起因する異常はみられなかった。

試験実施者は、未経産雌ウサギを用いた予備試験において、1.0 及び 2.0 mg/kg 体

³⁵ 参照 12 において、用量は Na 塩として記載されているが、NOEL はサリノマイシンとして記載されている。

重/日投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられたことから、本試験における 0.50 mg/kg 体重/日の用量は、サリノマイシンの胎児毒性及び催奇形性の検討に当たって十分な高用量であるとし、本試験における NOEL は 0.50 mg/kg 体重/日と考えた。(参照 7)

食品安全委員会は、母動物及び胎児に対して投与による影響がみられなかったことから、本試験における NOAEL を最高用量の 0.50 mg/kg 体重/日 (サリノマイシンとして 0.45 mg/kg 体重/日³⁶) と判断した。催奇形性はみられなかった。

(10) 発生毒性試験 (ウサギ) ③

ウサギ (日本白色種、8~10 匹/群) にサリノマイシン Na (飼料級、440 µg (力価)/mg) を妊娠 6~18 日に強制経口投与 (0、2、5 又は 10 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。

母動物及び妊娠末期の胎児では、投与に起因する異常所見は認められなかった。催奇形性はみられなかった。(参照 25)

食品安全委員会は、母動物及び胎児に投与による影響がみられなかったことから、本試験における NOAEL を最高用量の 10 mg/kg 体重/日 (サリノマイシンとして 4.4 mg/kg 体重/日³⁷) と判断した。催奇形性はみられなかった。

(11) 発生毒性試験 (ウサギ) ④

ウサギを用いた 2 つの発生毒性試験 (セグメント II) が同じ試験実施者グループにより実施され、評価された。

(試験 1)

ウサギ (ヒマラヤ種、15 匹/群) に約 10%サリノマイシン含有菌糸体を妊娠 6~18 日に強制経口投与 (サリノマイシン Na として 0、0.25、0.63 又は 1.60 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。

母動物の体重及び摂餌量には、投与による影響はみられなかった。母動物の剖検では、肉眼病変はみられず、臓器重量には投与による影響はみられなかった。

1.60 mg/kg 体重/日投与群の母動物のうち 4 例が帝王切開時まで妊娠を維持できなかった。0.25 及び 0.63 mg/kg 体重/日投与群では妊娠維持できなかった母動物はなく、対照群では 1 例であった。黄体数、同腹生存胎児数、胎児の体重及び体長、胎児生存率、性比並びに胎盤の大きさ及び肉眼所見には、投与による影響はみられなかった。胎児の外形、内臓及び骨格検査では、投与による異常は認められなかった。

EFSA は、帝王切開時まで妊娠を維持した母動物数の減少に基づき、本試験における NOEL をサリノマイシン Na として 0.63 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 12)

(試験 2)

ウサギ (ヒマラヤ種、15 匹/群) に 12%サリノマイシン Na 製剤を妊娠 6~18 日に

³⁶ 純度を考慮して算出した。

³⁷ 純度を考慮して算出した。

混餌投与（サリノマイシン Na として 0、2.3～4.1 又は 3.3～8.5 mg/kg 体重/日）し、発生毒性試験が実施された。

両投与群において摂餌量の用量依存的な減少がみられ、一部の動物では飲水量の低下もみられた。体重増加量の明らかな減少もみられた。母動物の剖検では、投与による影響はみられなかった。

黄体数、着床数、生存胎児数、性比、初期及び後期子宮内死亡、胎児生存率、胎盤の組織学的所見並びに胎児の外表、内臓及び骨格検査における異常数には、投与による影響はみられなかった。

EFSA は、以上の結果から、試験に用いたサリノマイシン Na 製剤には胎児毒性及びその他の発生毒性はみられなかったと結論した。（参照 12）

EFSA の上記 2 試験に対する見解は、以下のとおりであった。

2 つの試験の結果は明らかに異なっており、試験 1 で報告された影響は偶然にみられた可能性がある。しかし、2 つの試験には異なった結果を説明できる違いがある。試験に用いた被験物質が異なり、試験 1 では約 10%サリノマイシン含有菌糸体であり、試験 2 では 12%サリノマイシン Na 製剤であった。投与法は、試験 1 では強制経口投与であり、試験 2 では混餌投与であった。強制経口投与では高濃度ばく露になるが、1 日投与量が同じ混餌投与ではより長い時間にわたるばく露になる。それゆえ、ばく露の濃度によって主に影響を受けるエンドポイントは、1 日投与量が同じ混餌投与よりも強制経口投与による影響を受けやすいと考えられる。したがって、ウサギの胚・胎児毒性試験における NOEL は、より低い NOEL であるサリノマイシンとして 0.63 mg/kg 体重/日とすることが賢明であると考えた。³⁸（参照 12）

食品安全委員会は、両試験の結果から、1.60 mg/kg 体重/日投与群の母動物の剖検で投与による影響はみられず、胎児の外形、内臓及び骨格検査でも投与による異常はみられなかったが、帝王切開時まで妊娠を維持した母動物数の減少がみられたことから、母動物に対する NOAEL をサリノマイシン Na として 0.63 mg/kg 体重/日と判断した。また、胎児に対して投与に影響はみられなかったことから、胎児に対する NOAEL をサリノマイシン Na として最高用量の 1.60 mg/kg 体重/日と判断した。催奇形性はみられなかった。

（1 2）発生毒性試験（ウサギ）⑤

ウサギ（ヒマラヤ種、雌 15 匹/群）に 12%サリノマイシン Na 製剤を妊娠 6～18 日に混餌投与（サリノマイシンとして 0、150 又は 300 ppm）し、発生毒性試験が実施された。妊娠 29 日に剖検し、母動物及び胎児への毒性影響が調べられた。摂餌量から算出した母動物の体重当たりのサリノマイシン摂取量を表 31 に示した。

³⁸ 参照 12 において、用量は Na 塩として記載されているが、NOEL はサリノマイシンとして記載されている。

表 31 摂餌量より算出した母動物のサリノマイシン摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与群 (混餌濃度 ppm)	妊娠 6～13 日	妊娠 13～19 日
150	2.30	2.62
300	3.25	4.22

母動物の一般状態では、全ての群において特記すべき異常はみられなかった。体重については、150 及び 300 ppm 投与群で投与 1 週間後では体重の減少がみられたが、投与 2 週間後では投与 1 週間後と比較して増加していた。また、摂餌量の減少 (150 及び 300 ppm 投与群でそれぞれ対照群の約 40 及び 50%減少。) がみられ、それに伴い一部の動物では飲水量の低下もみられた (150 及び 300 ppm 投与群でそれぞれ 2 及び 3 例)。

母動物の剖検では、投与に起因する異常はみられなかった。

150 ppm 投与群の 1 例で生存胎児が得られず、着床痕のみが 2 か所及び黄体 3 個がみられ、早期流産と考えられた。予備試験においても対照群の 15 匹中 3 例に同様の流産がみられたことがあり、投与による影響とは考えられなかった。

黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数並びに帝王切開後の胎児の 1 日生存率には、対照群と比較して差は認められなかった。胎児の外形、内臓及び骨格検査では、投与に起因する異常は認められなかった。

試験実施者は、各投与群で母動物の一時的な体重減少及び摂餌量の減少がみられたが、胎児毒性及び催奇形性はないと考えた。(参照 26)

食品安全委員会は、150 及び 300 ppm 投与群の母動物で認められた体重の減少は摂餌量の減少を伴った一時的なものと判断し、本試験における母動物に対する NOAEL を最高用量の 300 ppm (サリノマイシンとして 3.25～4.22 mg/kg 体重/日) と判断した。胎児については、投与による影響がみられなかったことから、胎児に対する NOAEL を最高用量の 300 ppm (サリノマイシンとして 3.25 mg/kg 体重/日) と判断した。催奇形性はみられなかった。

8. 対象動物を用いた安全性試験

(1) 牛

牛 (ホルスタイン種、7 か月齢、去勢雄 3 頭/群) にサリノマイシン Na (飼料級又は精製級：純度不明) を 90 日間混餌投与 (飼料級：0、20、60 又は 120 ppm、精製級：20 ppm) し、安全性試験が実施された。

いずれの群でも死亡例はみられなかった。120 ppm 投与群では、体重増加抑制がみられた。血液学的検査、生化学的検査及び剖検では、投与に起因する変化は認められなかった。(参照 25)

牛 (ホルスタイン種、3 か月齢、雄 3 頭/群) にサリノマイシン Na (飼料級又は精製級、純度不明) を 91 日間混餌投与 (飼料級：0、20、60、80 又は 100 ppm、精製級：20 ppm) し、安全性試験が実施された。

いずれの群でも死亡例はみられなかった。一般状態、体重及び摂餌量では、投与によると考えられる異常は認められなかった。血液学的検査及び生化学的検査では、いずれの群でも異常はみられなかった。(参照 18)

(2) 鶏

鶏(肉用種、3日齢、雌雄各20羽/群)にサリノマイシンNaを8週間混餌投与(前期:0、20、30又は40ppm、後期:0、50、75又は100ppm)し、安全性試験が実施された。

投与群1(20→50ppm投与群)では、一般状態、発育推移、摂餌量及び病理組織所見で対照群との差はみられなかった。投与量の増量後に、投与群2(30→75ppm投与群)及び投与群3(40→100ppm投与群)では発育抑制傾向がみられ、投与群3(40→100ppm投与群)では病理組織所見で変化がみられた。(参照 5)

鶏(肉用種、15日齢、雌雄混合700羽/群)にサリノマイシンNaを47日間混餌投与(0、25、50又は75ppm)し、安全性試験が実施された。

75ppm投与群では、発育抑制傾向がみられ、病理組織所見では対照群と同様であるものの出現頻度の高い所見があった。(参照 5)

鶏(肉用種、初生雛、雌10羽/群)にサリノマイシンNaを8週間混餌投与(0、50又は100ppm)し、安全性試験が実施された。

50及び100ppm投与群ともに体重増加量、血液検査、臓器重量及び剖検では、対照群と比べ著変はみられなかった。病理組織所見では、100ppm投与群で変化のみられた例があった。(参照 5)

鶏(肉用種、初生雛、雌10羽/群)にサリノマイシンNaを5週間混餌投与(0、50、100又は150ppm)し、安全性試験が実施された。

50及び100ppm投与群では、一般状態、発育推移、摂餌量、剖検及び臓器重量で対照群と比べ大きな差はみられなかった。150ppm投与群では、体重増加抑制及び摂餌量の減少傾向がみられ、剖検では肝臓の退色傾向がみられた。(参照 5)

鶏(肉用種、60羽/群)にサリノマイシンNaを63日間混餌投与(飼料級:0、50、60、80、100又は120ppm、精製級:50又は60ppm)し、安全性試験が実施された。

いずれの群でも死亡例はみられなかった。100ppm以上投与群では体重増加抑制がみられた。血液学的検査及び剖検では、いずれの群でも異常はみられなかった。生化学的検査では、100ppm以上投与群でGlu、AST、ALT、ALP、LDH及びBilに対照群と比べて有意な差がみられた。(参照 25)

9. その他の試験

(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (日本白色種、雄 6 匹) を用いて皮膚一次刺激性試験が実施された。ウサギの健常及び損傷皮膚にサリノマイシン Na (飼料級、純度: 430 µg(力価)/mg) を 24 時間塗布 (0.5 g(0.215 g(力価)相当)/2.5×2.5 cm) し、皮膚の変化を観察した。その結果、中等度の刺激性が認められた。(参照 25)

(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (日本白色種、雄 6 匹) の左眼にサリノマイシン Na (飼料級、純度: 430 µg(力価)/mg) を点眼 (50 mg(21.5 mg(力価))) し、1 分後洗眼した群及び非洗眼群について 1、4、24、48、72、96 及び 168 時間後に肉眼的観察を行った。その結果、洗眼群では中等度の刺激性がみられ、非洗眼群では重度の刺激性がみられた。(参照 25)

(3) 皮膚感作性試験 (モルモット)

モルモット (Dunkin-Hartley 種、試験群 20 匹、対照群 10 匹) を用いて、Maximization test により 12%サリノマイシン Na 製剤の皮膚感作性試験が実施された。試験群に 2.5 mg/kg 体重の濃度で製剤懸濁液 0.5 mL を皮内注射し、350 mg/kg 体重の濃度で製剤懸濁液 0.5 mL を経皮投与して感作した。対照群には溶媒を用いた。感作後、両群ともに 50 mg/kg 体重の濃度で懸濁液 0.5 mL を用いて誘発した。

試験群の全ての動物に皮膚反応がみられ (100%)、そのうち 5 匹は試験部位における重度の損傷のため安楽死させた。対照群では、10 例中 3 例で皮膚反応がみられた (30%)。

EFSA は、本試験に用いた製剤は皮膚感作性を有すると結論付けた。(参照 12)

(4) 免疫学的試験

局所アレルギー試験、沈降反応、アナフィラキシー試験及び受動的皮膚アナフィラキシー試験において陰性であった。(参照 5)

(5) 一般薬理試験

マウス (ICR 系、3~10 匹/群) 及びウサギ (3 匹/群) を用い、一般行動、自発運動、脳波並びに睡眠延長、抗痙攣、筋弛緩及び鎮痛の各作用を調べた結果、特記すべき作用は認められなかった。

ラット (Wistar 系、5 匹/群) を用い、心拍数に対する影響を調べた結果、特記すべき作用は認められなかった。

モルモット及びラットの摘出臓器についてサリノマイシンの影響を調べた結果、特記すべき作用は認められなかった。(参照 5)

10. 各種動物におけるその他の知見

(1) 牛

牛 (品種不明、去勢雄、4 頭) に経鼻胃管を用いてサリノマイシンを単回強制経口

投与（8、10 又は 15 mg/kg 体重）し、毒性が調べられた。

8 mg/kg 体重では、2～6 時間以内に心血管障害、振戦及び摂餌拒否がみられた。症状は 2～3 日間持続し、5 日以内に消失した。10 mg/kg 体重では、死に至り、肺気腫、心筋壊死及び肝臓の巣状壊死がみられた。15 mg/kg 体重については、報告がなかった。（参照 3）

反芻動物におけるサリノマイシンの毒性が、サリノマイシンの重度汚染を受けた粉ミルクで飼養された子牛で報告された。肉用子牛（16 週齢）における最近の中毒例（最大用量 1.5 mg/kg 体重、12 時間間隔で 3 回摂餌。）では、初回投与後 38 時間ほどの早さで死に至ったことから、幼若子牛の感受性は高いことが示唆された。関連所見は広範囲の尿細管腎症及び心臓における所見であった。（参照 3）

肥育牛（11 週齢）におけるサリノマイシンの慢性ばく露（濃厚飼料中濃度：90 ppm）では、心筋病変（多巣性肥大を伴う広範な心筋線維萎縮及び間質性線維化）の発生が報告された。全飼料における濃度は不明であった。（参照 3）

（2）豚

豚（去勢雄 64 頭、未経産雌 64 頭）にサリノマイシンを 14 週間混餌投与（27.5、82.5 又は 137.5 ppm）し、亜急性毒性試験が実施された。一般状態は良好で、毒性徴候はみられなかった。

著者らは、NOAEL を 137.5 ppm（5 mg/kg 体重/日に相当）又はそれ以上であると報告した。（参照 3）

サリノマイシンを混餌投与（60 ppm）した妊娠雌豚では、生殖系への有意な影響は報告されなかった。（参照 3）

離乳豚にサリノマイシンを混餌投与（粗飼料中濃度 441 ppm）し、実験的にサリノマイシン中毒を誘導したところ、重度の運動失調及び急性骨格筋壊死に起因する横臥が認められた。この用量は、以前豚に適用されていた用量より約 10 倍高かった（EU では 2006 年以前に、豚用飼料にサリノマイシンの使用が承認されていた。）。（参照 3）

（3）七面鳥

七面鳥（繁殖用、成体、雌雄）にサリノマイシンを混餌投与（24～37 ppm）した症例報告では、高い死亡率（23～90%）が示された。他の報告では、七面鳥の死亡率はこれより低く 1.6～15.8%（混餌濃度 15～30 ppm）及び 21.7%（混餌濃度 13～18 ppm）であった。

一般症状は、摂餌量減少、呼吸困難、翼下垂、自発運動低下、異常歩行及び繁殖能低下であった。最も一般的な病理組織所見は、骨格筋の変性及び壊死であった。一般症状の出現後 5～12 時間以内に死亡例がみられた。また、サリノマイシンは七面鳥の年齢とともに毒性影響を増すことが示された。（参照 3）

別の症例報告（2006年）では、サリノマイシン Na の混餌投与（60 ppm）による七面鳥の死亡率は2.57%であった。毒性徴候は、呼吸困難、嗜眠、伏臥（後方に脚を伸ばした状態）、起立不能、強直及び虚弱であった。組織学的検査では、多くの部位で骨格筋の筋線維の重度の断片化及び壊死がみられ、心臓では好酸性の心筋線維の断片化がみられた。（参照 3）

（4）馬

馬に対するイオノフォアの毒性に関しては、長年にわたり世界中で報告されている。馬における6例の偶発的なサリノマイシン中毒では、一般症状として食欲不振、疝痛、虚弱及び運動失調がみられた。（参照 3）

サリノマイシン Na 含有飼料（61 ppm）2～3 kg の摂餌（0.12～0.25 mg/kg 体重に相当）による24頭の馬の中毒事故では、6頭のみ生き残ったことが報告された。最も特徴的な臨床症状は、後肢の麻痺のようであった。（参照 3）

馬（去勢雄1頭、雌1頭）に、サリノマイシン Na を60、120又は180 ppm の濃度で添加した豚の飼料を与え、摂餌における偶発的なサリノマイシンばく露の影響が調べられた。馬のばく露量は、それぞれ0.15、0.2又は0.6 mg/kg 体重に相当した。0.15及び0.2 mg/kg 体重では、毒性影響はみられなかったが、摂餌時間の延長がみられ5～7時間を要した。0.6 mg/kg 体重では、摂餌後約50時間で1頭は動かなくなり心拍数及び呼吸数が増加した。剖検及び病理組織学的検査では、うっ滞誘発性充血及び肺水腫を伴う心不全が示された。その他の所見は、肝臓及び心筋における脂肪蓄積、心筋変性、骨格筋組織の癒痕形成及び崩壊等であった。（参照 3）

（5）イヌ及びネコ

イヌにおけるサリノマイシン中毒の偶発症例は報告されていない。

オランダ及びスイスで発生したネコの急性麻痺の症例は、ネコ用乾燥飼料（1社の2製品）のサリノマイシン汚染（飼料中濃度16～21 ppm）により引き起こされた。毒性影響として、跛行及び後肢麻痺を急性発症し、その後に前肢麻痺がみられた。麻痺は、形態学的に末梢神経の多発性神経障害と関連しており、軸索の一次変性及びミエリン鞘の二次変性を特徴としていた。発症したネコの食餌、胃内容物、肝臓及び腎臓の化学分析によりサリノマイシンの存在が確認された。（参照 3）

1 1. ヒトにおける知見

サリノマイシンの製造及び研究に1年間従事した22名の臨床検査の結果、全員に異常所見はみられなかった。（参照 5）

サリノマイシンの製造及び研究に携わった従事者の眼に対する影響が調査された。サリノマイシンに起因する異常はみられなかった。（参照 5）

サリノマイシン取扱者について胸部 X 線による観察が行われた。サリノマイシンの取扱いによる新しい異常はみられず、取扱い前の異常については病巣の変化はみられなかった。(参照 5)

サリノマイシン取扱者へのばく露による全身毒性については、十分な評価はできていない。(参照 12)

1 2. 微生物学的影響に関する試験

(1) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ①

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についての調査」(平成 18 年 9 月～平成 19 年 3 月)において、ヒトの腸内細菌叢分離菌に対するサリノマイシンの MIC が調べられた。

結果を表 32 に示した。(参照 27)

表 32 サリノマイシンのヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC

菌名	株数	MIC (µg/mL)	
		MIC ₅₀	範囲
<i>Escherichia coli</i>	30	>128	>128
<i>Enterococcus</i> spp.	30	0.5	0.5～2
<i>Bacteroides</i> spp.	30	64	8～64
<i>Fusobacterium</i> spp.	20	>128	>128
<i>Bifidobacterium</i> spp.	30	2	1～16
<i>Eubacterium</i> spp.	20	4	1～4
<i>Clostridium</i> spp.	30	1	0.5～2
<i>Peptococcus</i> spp./ <i>Peptostreptococcus</i> spp.	30	≤0.06	≤0.06～1
<i>Prevotella</i> spp.	20	4	4～16
<i>Lactobacillus</i> spp.	30	2	1～4
<i>Propionibacterium</i> spp.	30	2	1～2

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 *Peptococcus* spp./*Peptostreptococcus* spp. の ≤0.06 µg/mL であった。本調査の結果から、微生物学的 ADI の算出に用いる MIC_{calc}³⁹ は 0.671 µg/mL (0.000671 mg/mL) と算出された。

(2) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC ②

サリノマイシン Na の MIC について、10 属から成る合計 109 菌株 (*Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Eubacterium* spp., *Clostridium* spp., *Lactobacillus* spp., *Peptococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus faecalis*,

³⁹ 薬剤がその菌に対して活性を有する最も関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90%信頼限界の下限值

Enterococcus faecium 及び *Escherichia coli*) を用いて調べられた。これらの菌株は、National Collection of Type Cultures (NCTC) 及び German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ) から入手した。

サリノマイシン Na は、*Peptostreptococcus* spp. に対して最も高い活性を示し、MIC は 0.84 µg/mL であった。*Eubacterium* spp. 及び *Clostridium* spp. の MIC は、それぞれ 2.13 及び 2.35 µg/mL であった。*Lactobacillus* spp.、*Enterococcus* spp.、*Bifidobacterium* spp.、*Peptococcus* spp. 及び *Bacteroides* spp. の MIC は、5.86～35.3 µg/mL であった。グラム陰性菌は、サリノマイシン Na に本来耐性であり、MIC は ≥ 128 µg/mL あった。(参照 12)

(3) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC ③

ヒト糞便の菌叢中で優勢とされる 10 属 (*Bacteroides* spp.、*Bifidobacterium* spp.、*Clostridium* spp.、*Enterococcus* spp.、*Eubacterium* spp.、*Lactobacillus* spp.、*Peptococcus* spp.、*Peptostreptococcus* spp.、*Escherichia coli* 及び *Proteus* spp.) から成る合計 109 菌株を用い、サリノマイシン Na の MIC が調べられた。

グラム陰性菌で高い MIC 値がみられ (>256 µg/mL)、グラム陽性菌に対する抗菌活性が確認された。サリノマイシン感受性が最も高かったのはグラム陽性の嫌気性菌で、特に *Peptostreptococcus* spp. で高かった (MIC₉₀ 0.5 µg/mL)。(参照 13)

(4) 各種細菌に対する MIC

サリノマイシンの各種グラム陽性菌及びグラム陰性菌に対する MIC が調べられている (表 33)。サリノマイシンは、グラム陽性菌に対して強い抗菌活性を示したが、グラム陰性菌に対してはほとんど抗菌活性を示さなかった。(参照 18)

表 33 サリノマイシンの各種グラム陽性菌及びグラム陰性菌に対する MIC

菌名	MIC (µg/mL)	
	好気培養	嫌気培養
グラム陽性菌		
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209 P	1.56	—
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IFO 3702	3.12	—
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	0.39	0.39
<i>Streptococcus agalactiae</i> IID 674	1.56	1.56
<i>Bacillus cereus</i> IFO 3466	0.78	—
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	3.12	—
<i>Trueperella pyogenes</i> NIAH 1055	0.05	0.78
<i>Kocuria rhizophila</i> NIHJ	3.12	—
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> NIAH 1057	—	0.78
グラム陰性菌		
<i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 4617	>100	—
<i>Escherichia coli</i> NIHJ P-17	>100	—
<i>Haemophilus gallinarum</i> 221 ^a (動薬検)	—	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	>100	—
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849	>100	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445	>100	—
<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium ATCC 14028	>100	—

—：記載なし

a：現在は、*Avibacterium* に分類されている。

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. EFSA における評価

FEEDAP パネルがサリノマイシン Na 製剤の評価に当たって設定した ADI 0.005 mg/kg 体重/日が保持されている。

EFSA におけるサリノマイシンの評価の経緯は、以下のとおりである。

サリノマイシンの ADI については、まず EU の動物栄養に関する科学委員会 (SCAN) が、ウサギの催奇形性試験における NOEL 0.25 mg/kg 体重/日 (吸収胚数の増加) に基づき、サリノマイシンの ADI を 0.0025 mg/kg 体重/日と設定した。SCAN は、ヒト腸内細菌叢に対するサリノマイシンの影響については評価しなかった。

その後、FEEDAP パネルが、サリノマイシン Na 製剤 (2 種類) の評価において、イヌの 1 年間経口投与試験の NOAEL 0.5mg/kg 体重/日 (ミエリン喪失、一次軸索変性及びウォラー様変性を伴う神経毒性影響) に基づき、不確実係数 100 を適用して 0.005 mg/kg 体重/日の暫定 ADI を設定した。

FEEDAP パネルは、SCAN が上記 ADI の設定に用いたウサギの催奇形性試験の詳細な情報を入手できなかったが、ウサギを用いた別の複数の生殖発生毒性試験の結果から、この試験項目はサリノマイシンの ADI 設定に不可欠なものではないと判断した。また、サリノマイシンの 109 菌株に対する MIC が測定され、その大部分は感受性を示さなかった。FEEDAP パネルは、ADI の算出に微生物学的データを用いなかったが、これらのデータから低値の ADI が設定される可能性は考えられないとし、微生物学的 ADI は設定しなかった。

さらに、別のサリノマイシン Na 製剤 (1 種類) の評価に当たり、ラットの 2 年間経口投与試験において、血液学的及び血液生化学的影響により LOEL 1.5 mg/kg 体重/日が設定された。発がん性はみられなかった。この LOEL は、短期投与試験 (イヌの 90 日間試験及びウサギの母体毒性) における最小の NOEL (0.5 mg/kg 体重/日) より 3 倍大きい値であった。FEEDAP パネルは、この NOEL に不確実係数 100 を適用し、本製剤におけるサリノマイシン Na の ADI を 0.005 mg/kg 体重/日と設定した。この ADI (0.005 mg/kg 体重/日) が適用され、SCAN により設定された以前の ADI と入れ替えられた。

また、EFSA のフードチェーンにおける汚染物質に関する科学パネル (CONTAM パネル) は、認可対象動物種以外の動物の飼料製造過程におけるサリノマイシン含有飼料の混入による生産物中への汚染残留の可能性及びそのヒトの健康への影響を調査した。

交差汚染が最大認可レベルの 10% までと仮定した場合には、消費者の摂食によるばく露は、FEEDAP パネルで設定した 0.005 mg/kg 体重/日の ADI よりかなり低かった。その結果、CONTAM パネルは、交差汚染が最大認可レベルの 10% までの場合、汚染飼料でサリノマイシンにばく露された動物からの生産物中の残留サリノマイシンを摂取することによる消費者への健康影響は無視できると結論付けた。(参照 3、14、20)

2. FDA における評価

サリノマイシンの ADI は、0.005 mg/kg 体重/日と設定されている。(参照 28)

IV. 食品健康影響評価

マウス、ラット及び鶏に ^{14}C 標識サリノマイシンを経口投与した薬物動態試験では、投与後には消化管内容物及び肝臓への分布が高かった。体内に吸収されたサリノマイシンは、肝臓で速やかに代謝されたことから、代謝後には胆汁排泄されると考えられた。排泄については、マウス及びラットでは放射活性のほとんど（約 90%）が糞に検出された。豚及びウサギの試験でも同様であった。排泄物に検出される未変化体は、マウスでは検出されず、ラットでは僅かに検出される程度であった。鶏では 10%未満との報告がある。また、ラットの胆汁排泄試験では、投与量に対する投与後 48 時間までの総排泄率は 30.5%であった。

非標識サリノマイシンを投与した鶏の糞尿中のサリノマイシン代謝物の抗菌活性について調べた結果、サリノマイシンに感受性細菌（*Bacillus subtilis*、*Staphylococcus aureus*、*Micrococcus flavus* 等）に対する抗菌活性はほとんど失われていた。

牛及び鶏の残留試験では、最終投与 2 又は 3 日後に、全組織中残留濃度は検出限界未満となった。鶏卵の残留試験では、卵黄に残留する傾向がみられた。

遺伝毒性試験の結果では、*in vitro* の復帰突然変異試験が 1 試験陽性であったが、より高用量のものも含め、他の復帰突然変異試験はいずれも陰性であり、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験も陰性であった。また、*in vivo* の小核試験は陰性であった。したがって、サリノマイシンには生体にとって問題となる遺伝毒性はなく、サリノマイシンの ADI を設定することは可能と考えた。

亜急性毒性試験並びに慢性毒性及び発がん性試験でみられた主な影響は、マウス及びラットでは自発運動量減少及び体重増加抑制、イヌでは神経毒性であった。発がん性はみられなかった。

生殖発生毒性試験では、親及び児動物に体重増加抑制がみられたが、催奇形性はみられなかった。

1. 毒性学的 ADI について

各種毒性試験で得られた NOAEL の最小値は、ウサギを用いた発生毒性試験②の 0.45 mg/kg 体重/日であったが、試験の最高用量であったことから、イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験及びウサギを用いた発生毒性試験①で得られた NOAEL (Na 塩として 0.5 mg/kg 体重/日) に安全係数として 100 を適用し、0.005 mg/kg 体重/日と設定することが適切であると考えた。

2. 微生物学的 ADI について

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」の結果から得られた MIC_{calc} 0.000671 mg/mL を用いて、VICH の算出式により微生物学的 ADI を算出した。

$$\text{ADI} = \frac{0.000671^{\text{a}} \times 220^{\text{b}}}{0.1^{\text{c}} \times 60^{\text{d}}} = 0.025 \text{ mg/kg 体重/日}$$

- a : MIC_{calc} (mg/mL)、薬剤がその菌に対して活性を有する最も関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90% 信頼限界の下限値
b : 結腸内容物の量 (g)
c : 鶏の排泄物中の未変化体サリノマイシンの割合は 10%未満であり、サリノマイシンの代謝物には抗菌活性がほとんどみられないことから、微生物が利用可能な経口用量の分画は 0.1。
d : ヒトの体重 (kg)

3. ADI の設定について

毒性学的 ADI が微生物学的 ADI より小さいことから、サリノマイシンの ADI として、0.005 mg/kg 体重/日と設定することが適当と判断した。

以上から、サリノマイ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た。

ADI 0.005 mg/kg 体重/日 (Na 塩として)

ばく露量については、当該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。

表 34 EFSA 及び食品安全委員会における無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量等 (mg/kg 体重/日)	
			EFSA ⁴⁰	食品安全委員会
マウス	3 か月亜急性毒性	飼料級 0、150、450、900、 1,350 ppm		雄：27 雌：28 死亡、体重増加抑制等
	6 か月亜急性毒性	精製級 0、10、30、100、 300 ppm		13 自発運動量減少、体重増加抑制等
	2 年間慢性毒性及び発がん性①	0、10、30、100、 300 ppm		雄：14 雌：12 自発運動量減少、体重増加抑制、肝細胞の混濁腫脹等 発がん性なし
	2 年間慢性毒性及び発がん性②	飼料級 0、50、100、200、 400 ppm		雄：7.7 又は 7.9 雌：8.6 又は 8.8 削瘦、体重増加抑制等 発がん性なし
	2 年間発がん性	サリノマイシン Na 含有バイオマス 0、50、200、800 (32 週以降 600) ppm	5.8 (Na 塩として) 尾部の病変、体重増加抑制 発がん性なし	5.8 (Na 塩として) 尾部の病変の発生率増加、 体重増加抑制等 発がん性なし
	2 世代生殖毒性	0、10、30、100 ppm		親及び児：4.3～5.3 親動物及び児：体重増加抑制
	発生毒性	精製級 0、4、12、36		母動物、児動物及び胎児：11 母動物：死亡 児動物：総着床数に対する 出生児数の割合低下、出生 児の体重低下 胎児：体重低下 催奇形性なし
ラット	1 か月間亜急性毒性	精製級 0、2.5、5.0、10、 20		4.8 死亡、自発運動量減少、体重 増加抑制、心筋混濁腫脹等
	3 か月間亜急性毒性	飼料級 0、150、450、900、 1,350 ppm		雄：30 雌：34 死亡、体重増加抑制、血液生 化学的パラメーターの変動 等
	2 年間慢性毒性及び	0、20、50、130、 320 ppm		4.6～5.3 自発運動量減少、体重増加
	発がん性①			抑制等

⁴⁰ EFSA の評価書では、特段の記載がないものは NOEL として記載されている。

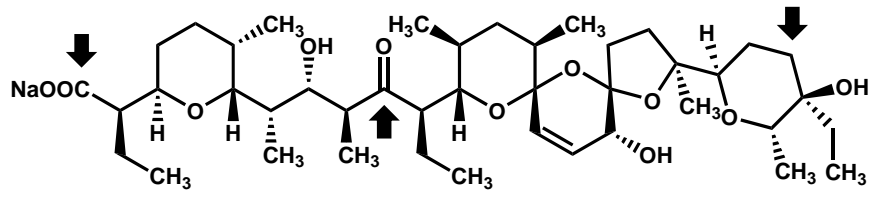
				発がん性なし
	2年間慢性毒性及び発がん性②	サリノマイシン Na 含有発酵物 0、1.5、3.0、6.0 (Na 塩として)	LOEL : 1.5 (Na 塩として) 血液学的及び血液生化学的パラメーターの変動 発がん性なし	LOAEL : 1.5 (Na 塩として) 血液生化学的パラメーターの変動等 発がん性なし
	2年間慢性毒性及び発がん性③	飼料級 0、100、200、400、600 ppm		雄 : 7.3 又は 7.4 雌 : 8.7 又は 8.9 消瘦、体重増加抑制等 発がん性なし
	30 か月間慢性毒性及び発がん性	飼料級 0、50、100、200 ppm (サリノマイシンとして)		雄 : 約 2 雌 : 約 3 体重増加抑制
	30 か月間発がん性	サリノマイシン Na 含有菌糸体 0、2.5、5、10 (サリノマイシンとして)	5 体重増加抑制 発がん性なし	5 体重増加抑制 発がん性なし
	生殖毒性	サリノマイシン Na 製剤 0、75、150、250 ppm (サリノマイシンとして)		親 : 4.6~7.1 児動物 : 7.0~17.3 親及び児動物 : 体重増加抑制
	2 世代生殖毒性①	サリノマイシン Na 製剤 1.1~4.8、2.7~13.3 又は 6.6~32.6 (サリノマイシンとして)	1.1 児動物の体重低下	親 : 2.7~13.3 体重増加抑制 児動物 : 1.1~4.8 体重低下
	発生毒性①	サリノマシシ Na 製剤 0、1、3、10 (Na 塩として)	1 立毛、円背姿勢及び被毛粗剛 催奇形性なし	母動物 : 1 立毛、円背姿勢及び被毛粗剛 胎児 : 10 影響なし 催奇形性なし
	発生毒性②	飼料級 0、2、6、20		母動物 : 8.6 影響なし 胎児 : 8.6 影響なし 催奇形性なし
ウサギ	発生毒性①	サリノマイシン Na 含有発酵物 0、0.2、0.5、1.1 (Na 塩として)	0.5 母動物の体重増加抑制 催奇形性なし	母動物 : 0.5 (Na 塩として) 体重増加抑制 胎児 : 1.1 (Na 塩として) 影響なし 催奇形性なし
	発生毒性②	0、0.125、0.25、0.50		母動物及び胎児 : 0.45 影響なし

				催奇形性なし
	発生毒性③	飼料級 0、2、5、10		母動物及び胎児：4.4 影響なし 催奇形性なし
	発生毒性④	試験1 サリノマイシン含有菌糸体 0、0.25、0.63、1.60 (Na 塩として) 試験2 サリノマイシン Na 製剤 0、2.3~4.1、3.3~8.5 (Na 塩として)	0.63 妊娠維持母動物数の減少 催奇形性なし	母動物：0.63 (Na 塩として) 妊娠維持母動物数の減少 胎児：1.60 (Na 塩として) 影響なし 催奇形性なし
	発生毒性⑤	サリノマイシン Na 製剤 0、150、300 ppm		母動物：3.25~4.22 影響なし 胎児：3.25 影響なし 催奇形性なし
イヌ	90 日間亜急性毒性	サリノマイシン Na 含有発酵物 0、0.2、0.5、1 (Na 塩として)	0.5 (Na 塩として) 後肢のひきずり、坐骨神経の軸索の変性等	0.5 (Na 塩として) 後肢のひきずり、坐骨神経の軸索の変性等
	6 か月間亜急性毒性①	精製級 0、0.3、1.0、3.0		0.94 歩行失調、痙攣、体重増加抑制傾向等
	1 年間慢性毒性	サリノマイシン Na 含有バイオマス 0、0.5、2.5、12.5	0.5 (Na 塩として) 神経毒性	0.52 (Na 塩として) 死亡、神経毒性等
毒性学的 ADI (mg/kg 体重/日)			0.005 NOEL : 0.5 (Na 塩として) 安全係数 : 100	0.005 (Na 塩として) NOAEL : 0.5 (Na 塩として) 安全係数 : 100
毒性学的 ADI 設定根拠			ウサギを用いた発生毒性試験②並びにイヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験及び 1 年間慢性毒性試験	イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験及びウサギを用いた発生毒性試験②
微生物学的 ADI (mg/kg 体重/日)				0.025
微生物学的 ADI 設定根拠				ヒト腸内細菌叢分離菌の MIC ₅₀ から得られた MIC _{calc} : 0.000671 µg/mL
ADI			0.005 (Na 塩として)	0.005 (Na 塩として)

〈別紙 1：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)]
Bil	ビリルビン
BUN	血液尿素窒素
ChE	コリンエステラーゼ
CK	クレアチンキナーゼ
C _{max}	(血中) 最高濃度
CONTAM パネル	フードチェーンにおける汚染物質に関する科学パネル
EFSA	欧州食品安全機関
ELISA	エライザ法 (酵素標識免疫測定法)
FDA	米国食品医薬品局
FEEDAP パネル	動物用飼料に使用する添加物及び製品又は物質に関する科学パネル
Glu	グルコース (血糖)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LOEL	最小作用量
MIC	最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50%最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
NOEC	無影響濃度
NOEL	無作用量
PCT	血小板容積率
PLT	血小板数
PT	プロトロンビン時間
RBC	赤血球数
SCAN	動物栄養に関する科学委員会
TLC	薄層クロマトグラフィー
T _{max}	最高濃度到達時間
Vd	分布容積
WBC	白血球数

〈別紙 2 : ^{14}C 放射標識サリノマイシン Na の標識部位〉



注) 矢印は、 ^{14}C の推定標識部位 (参照 11)

〈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 日付け、厚生労働省告示第 499 号）
2. The Merck Index, 15th Edition, 2013
3. EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on cross-contamination of non-target feedingstuffs by salinomycin authorized for use as a feed additive. The EFSA Journal 2008; 591: 1~38
4. 食品安全委員会：家畜等に使用するサリノマイシンナトリウムによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価 2013 年 6 月
5. 厚生労働省：サリノマイシンナトリウムの残留基準見直しに関する資料 添付資料 I（非公表）
6. 厚生労働省：サリノマイシンナトリウムの残留基準見直しに関する資料 添付資料 III（非公表）
7. 厚生労働省：サリノマイシンに係る追加資料 添付資料 1（非公表）
8. 厚生労働省：サリノマイシンに係る追加資料 添付資料 3（非公表）
9. FDA ホームページ：Animal Drugs @FDA
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/animaldrugsatfda/>
10. 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）
11. 厚生労働省：サリノマイシンの吸収、分布、代謝および排泄に関する研究（非公表）
12. EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a request from the Commission on the re-evaluation of coccidiostat Sacox[®] 120 microGranulate in accordance with article 9G of Council Directive 70/524/EEC. The EFSA Journal 2004; 76: 1~49
13. EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a request from the Commission on the safety and the efficacy of product “BIO-COX 120G” as feed additive in accordance with Council Directive 70/524/EEC. The EFSA Journal 2004; 75: 1~51
14. EC: Reports of the Scientific Committee for Animal Nutrition on the use of Salinomycin Sodium in feedingstuffs for pigs. Reports of the Scientific Committee for Animal Nutrition (Eighth series - 1992)
15. EFSA: Update of the Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a request from the European Commission related to the safety and efficacy of “Kokcisan 120G”. The EFSA Journal 2006; 378: 1~12
16. 厚生労働省：サリノマイシンナトリウムの残留基準見直しに関する資料 添付資料 IV（非公表）
17. 厚生労働省：サリノマイシンナトリウムの残留基準見直しに関する資料 添付資料 VII（非公表）
18. 厚生労働省：サリノマイシンナトリウムの残留基準見直しに関する資料 添付資料 VI

- (非公表)
19. 厚生労働省：サリノマイシンナトリウムの残留基準見直しに関する資料 添付資料Ⅱ
(非公表)
 20. EFSA: Safety of Kokcisan 120G as feed additive for chickens for fattening. Updated Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. The EFSA Journal 2007; 547: 1-10
 21. Akhtar MH, El-Sooud KB and Shehata MAA: Concentrations of salinomycin in eggs and tissues of laying chickens fed medicated feed for 14 days followed by withdrawal for 3 days. Food Additives and Contaminants 1996; 13(8): 897-907
 22. Kan CA and Petz M: Residues of veterinary drugs in eggs and their distribution between yolk and white. J Agric Food Chem 2000; 48(12): 6397-6403
 23. Kennedy DG, Hughes PJ and Blanchflower WJ: Ionophore residues in eggs in Northern Ireland: incidence and cause. Food Additives and Contaminants 1998; 15(5): 535-541
 24. EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a request from the Commission on the evaluation of coccidiostat Kokcisan® 120G. The EFSA Journal 2004; 63: 1~41
 25. 厚生労働省：サリノマイシンナトリウムの残留基準見直しに関する資料 添付資料 V
(非公表)
 26. 厚生労働省：サリノマイシンに係る追加資料 添付資料 4 (非公表)
 27. 食品安全委員会：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についての調査
 28. FDA: Code of Federal Regulations Title 21, Chapter I, Subchapter E, Part 556, Subpart B, Sec. 556.592 Salinomycin