

(案)

動物用医薬品評価書

ミロサマイシン

2008年6月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	4
○食品安全委員会動物用医薬品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. 開発の経緯	6
II. 安全性に係る試験の概要	7
1. 体内動態（吸収・分布・代謝・排泄）	7
(1) 薬物動態試験（雌ラット）	7
(2) 薬物動態試験（豚）	8
(3) 薬物動態試験（鶏）	10
2. 残留試験	12
(1) 残留試験（豚）①	12
(2) 残留試験（豚）②	12
(3) 残留試験（豚）③	13
(4) はちみつ中の残留試験	13
3. 急性毒性試験	13
4. 亜急性毒性試験	14
(1) 28日間亜急性毒性試験（ラット）	14
(2) 6ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）	15
5. 慢性毒性試験及び発がん性試験	16
6. 生殖発生毒性試験	16
(1) 胎児の器官形成期投与試験（ラット）	16
(2) 催奇形性試験（ウサギ）	17
7. 遺伝毒性試験	17
8. その他の試験	18
(1) 抗原性試験及び皮膚感作性試験	18
(2) 局所刺激性試験	19
9. 微生物学的影響に関する特殊試験	20

Ⅲ. 食品健康影響評価	21
1. 毒性学的影響について	21
(1) 亜急性毒性試験	21
(2) 生殖発生毒性試験	21
(3) 遺伝毒性／発がん性試験	21
(4) 毒性学的影響のエンドポイントについて	21
2. 微生物学的影響について	22
3. 一日摂取許容量 (ADI) の設定について	22
4. 食品健康影響評価について	23
・別紙 1 : 動物用医薬品の用法・用量	24
・別紙 2 : 検査値等の略称	25
・参照	26

〈審議の経緯〉

- 2004年12月3日 農林水産大臣より「ミロサマイシンを有効成分とするみつばちの飼料添加剤（みつばち用アピテン）」の再審査に係る食品健康影響評価について要請（16消安第6970号）、関係書類の接受
- 2004年12月9日 第73回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2004年12月21日 第21回動物用医薬品専門調査会
- 2005年8月5日 農林水産大臣より「ミロサマイシンを有効成分とする豚の注射剤（マイプラビン注100）」の製造承認に係る食品健康影響評価について要請（17消安第4663号）、関係書類の接受
- 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0805005号）、関係書類の接受
- 2005年8月25日 第108回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2005年9月26日 第35回動物用医薬品専門調査会
- 2005年11月29日 暫定基準告示（参照1）
- 2006年7月18日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0718015号）、関係書類の接受
- 2006年7月20日 第153回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2008年1月29日 第88回動物用医薬品専門調査会
- 2008年2月29日 第89回動物用医薬品専門調査会
- 2008年6月26日 第244回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006年6月30日まで)

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

(2006年12月20日まで)

寺田 雅昭 (委員長)
見上 彪 (委員長代理)
小泉 直子
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
本間 清一

(2006年12月21日から)

見上 彪 (委員長)
小泉 直子 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄**
本間 清一

*: 2007年2月1日から

** : 2007年4月1日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

(2005年9月30日まで)

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

(2007年2月11日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 津田 修治
明石 博臣 寺本 昭二
江馬 眞 長尾 美奈子
大野 泰雄 中村 政幸
小川 久美子 林 眞
渋谷 淳 藤田 正一
嶋田 甚五郎 吉田 緑
鈴木 勝士

(2007年9月30日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 寺本 昭二
明石 博臣 長尾 美奈子
江馬 眞 中村 政幸
小川 久美子 林 眞
渋谷 淳 平塚 明
嶋田 甚五郎 藤田 正一
鈴木 勝士 吉田 緑
津田 修治

(2007年10月1日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 寺本 昭二
今井 俊夫 頭金 正博
今田 由美子 戸塚 恭一
江馬 眞 中村 政幸
小川 久美子 林 眞
下位 香代子 山崎 浩史
津田 修治 吉田 緑
寺岡 宏樹

(2008年4月1日から)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙 寺本 昭二
今井 俊夫 頭金 正博
今田 由美子 戸塚 恭一
江馬 眞 中村 政幸
小川 久美子 能美 健彦
下位 香代子 山崎 浩史
津田 修治 吉田 緑
寺岡 宏樹

要約

マクロライド系抗生物質である「ミロサマイシン (CAS No.73684-69-2)」について、各種評価書等（動物用医薬品再審査申請時の添付資料等）を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、体内動態（雌ラット、豚及び鶏）、残留（豚及びはちみつ）、急性毒性（マウス及びラット）、亜急性毒性（ラット）、生殖発生毒性（ラット及びウサギ）、遺伝毒性及び微生物学的影響に関する特殊試験等である。

試験の結果から、ミロサマイシン投与による影響は、体重増加抑制、脾臓重量の低下、雄のWBCの低値などであった。

慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていないが、EMEAにより同じ16員環マクロライド系抗生物質であるタイロシンのげっ歯類を用いた発がん性試験は陰性であることが確認されており、また、本剤のラットへの6ヶ月投与において明らかな細胞障害性及び増殖性を示唆する毒性学的影響は得られていないこと及び遺伝毒性試験の結果、ミロサマイシンが生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないことから、慢性毒性試験及び発がん性試験を欠いても一日摂取許容量（ADI）の設定は可能であると考えられた。

各毒性試験の無毒性量または作用量の最小値は、ラットの器官形成期投与試験から得られた無毒性量40 mg/kg体重/日であった。生殖発生毒性試験のデータが不十分であること、慢性毒性試験及び発がん性試験がないことを踏まえて、安全係数1,000を適用した毒性学的ADIは0.04 mg/kg体重/日であった。一方、微生物学的ADIは、VICHの算出式に基づいて0.004 mg/kg体重/日と設定した。

以上によりミロサマイシンの食品健康影響評価については、ADIとして0.004 mg/kg体重/日を設定した。

I 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：ミロサマイシン

英名：Mirosamicin

3. 化学名

IUPAC

英名：(1R,2S,3R,6E,8S,9S,10S,12R,14E,16R)-9-[(2S,3R,4S,6R)-4-dimethylamino-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-3-ethyl-2-hydroxy-2-[[[(2R,3R,4R,5R,6R)-5-hydroxy-3,4-dimethoxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]-8,10,12-trimethyl-4,17-dioxabicyclo[14.1.0]heptadeca-6,14-diene-5,13-dione

CAS (No.73684-69-2)

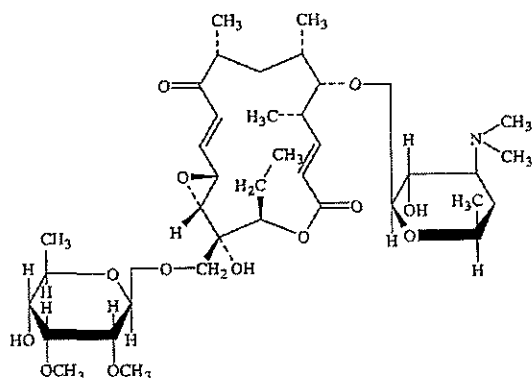
4. 分子式

$C_{37}H_{61}NO_{13}$

5. 分子量

727.89

6. 構造式



7. 開発の経緯

ミロサマイシンはグラム陽性菌、一部のグラム陰性菌及びマイコプラズマに対して抗菌力を有するマクロライド系抗生物質である。ミロサマイシンの日本医薬品一般名称 (Japanese Accepted Names for Pharmaceuticals) は、当初、ミポラマイシンと定められたが (1986年)、その後、国際的一般名称 (International Nonproprietary Name)

がミロサマイシンと決定された。(1989年) ことを受け、1990年にミロサマイシンに変更した。

1978年に *Micromonospora griseorubida* sp. nov. の培養ろ液から、マクロライド系抗生物質であるミシナマイシン群が発見され、この中から主要な成分である 16 員環のミロサマイシンを単離することに成功したことから、動物用医薬品としての開発が着手された。ミロサマイシンは、1988年3月に鶏の呼吸器性マイコプラズマ病及び伝染性コリーザの治療薬(飼料添加剤)として承認され、その後、豚の胸膜肺炎及びマイコプラズマ肺炎の治療薬(飼料添加剤)及びみつばちのアメリカ腐疽病の予防薬(飼料添加剤)として承認された。今回、新たに豚のマイコプラズマ肺炎を適応症とする注射剤としての承認申請がなされている。なお、今日までミロサマイシンはヒト用医薬品としての使用はない。

休薬期間については、豚(飼料添加剤)は、食用に供するためにと殺する前7日間、鶏(飼料添加剤)は食用に供するためにと殺する前5日間、みつばち(飼料添加剤)14日間である。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が設定されている。

II 安全性に係る試験の概要

1. 体内動態(吸収・分布・代謝・排泄)

(1) 薬物動態試験(雌ラット)

① 血清中濃度及び体内動態(参照2)

Wistar系ラット(8週齢、雌、35匹/群)にミロサマイシン30及び60mg(力価)/kg体重を単回強制経口投与し、投与30分、1、2、4、6、8及び10時間後の血清中濃度が微生物学的定量法で測定されている。最高血清中濃度については、30mg(力価)/kg体重投与群で2時間後に0.53µg/mLとなり、8時間後には検出限界(0.05µg(力価)/mL)未満となった。60mg(力価)/kg体重投与群では、2時間後に2.2µg/mLとなり、投与10時間後には0.11µg/mLが検出された。薬物動態パラメーターでは、30及び60mg(力価)/kg体重投与群でそれぞれ $T_{1/2}$ は1.42及び1.28時間、 K_e (消失速度定数)は0.49及び0.54 hr^{-1} 、AUCは2.01及び6.85µg·hr/mLであり、消失速度に投与量による相違は認められなかった。

② 分布(雌ラット)(参照3)

Wistar系ラット(12週齢、雌、15匹/群)にミロサマイシン20及び30mg(力価)/kg体重を単回強制経口投与し、投与1時間後における組織中(脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、小腸壁、脂肪、筋肉、卵巣、子宮及び血清)の体内分布が微生物学的定量法で調べられている。ミロサマイシンはラットの体内に広く分布し、20及び30mg(力価)/kg体重投与群ともに肺(各々平均0.64及び2.05µg/g)、肝臓(1.52及び4.21µg/g)、腎臓(0.99及び2.75µg/g)及び脾臓(0.75及び1.68µg/g)では血清(0.11及び0.30µg/mL)と比べて高濃度の分布が認められ、臓器親和性の高い薬物であること

¹平成17年厚生労働省告示第499号によって新たに定められた残留基準値

が示唆された。

(2) 薬物動態試験 (豚)

① 分布 (参照 4)

LWD 種豚 (概ね 3 ヶ月齢、雌 : 6 頭、去勢雄 : 3 頭) にミロサマイシン製剤をミロサマイシンとして 5mg (力価) /kg 体重を単回筋肉内投与し、経時的に組織中の分布について検討されている。(微生物学的定量法)

経時的な分布の結果は表 1 のとおりである。ミロサマイシンは投与 30 分及び 1 時間後に広範囲の組織に分布が確認され、投与 4 時間後においても脂肪を除く全組織に分布が認められた。

表.1 各測定時点におけるミロサマイシンの組織内平均濃度 n=3

採材部位	組織内濃度 (µg(力価)/g(mL))		
	投与 0.5 時間後	投与 1 時間後	投与 4 時間後
血漿	1.2	1.0	0.21
筋肉	0.39	0.40	0.10
脂肪	0.08	0.10	<0.05
肝臓	3.3	4.5	0.87
腎臓	7.6	9.8	4.2
小腸	2.2	1.8	0.28
肺	2.0	2.3	1.3
脾臓	4.3	4.4	1.5
胆汁	225	263	71
注射部位筋肉	285	153	28
周辺筋肉	84	28	1.8

検出限界 : 0.05 µg(力価)/g(mL)

② 吸収及び排泄 (参照 5)

LWD 種豚 (概ね 3 ヶ月齢、去勢雄、3 頭) にミロサマイシン製剤をミロサマイシンとして 5mg (力価) /kg 体重を単回筋肉内投与し、経時的に血漿 (投与前日、投与 30 分、1、2、4、8、12 及び 12 時間後)、糞及び尿 (投与前日~投与直前、投与後 0~4、4~8 時間、8~12 時間、12~24 時間、48~72 及び 72~96 時間) を採取してミロサマイシンの吸収及び排泄について検討されている。(微生物学的定量法)

吸収試験の結果は、表 2 のとおりであった。ミロサマイシンの血漿中濃度は投与後急速に上昇し、平均 AUC_t は 2.43 µg (力価) · 時間/g、平均 C_{max} は 1.1 µg (力価) /g、平均 T_{1/2} は 1.4 時間であった。

表.2 単回筋肉内投与後の平均血漿中濃度

血漿中濃度 (1.1µg (力価) /g) n=3							AUC _t *	C _{max} **	T _{1/2} ***
投与後経過時間 (時間)									
投与前	0.5	1	2	4	8	12			
<0.05	0.98	0.96	0.51	0.22	0.05	<0.05	2.43	1.1	1.4

単位：* $[\mu\text{g}(\text{力価}) \cdot \text{時間}/\text{g}]$ 、** $[\mu\text{g}(\text{力価})/\text{g}]$ 、*** $[\text{時間}]$ 、検出限界：0.05 $\mu\text{g}(\text{力価})/\text{mL}$

糞中への排泄は、投与後 0~4 時間から認められ、投与後 12~24 時間または 24~48 時間で最高排泄率を示した後、急激に減少したが、投与後 72~96 時間においても排泄が観察された。尿中への排泄は、投与後 0~4 時間に最高排泄率を示した後、急激に減少したが、投与後 72~96 時間においても排泄が観察された。投与後 96 時間以内の投与量に対する平均総排泄率は、糞中 6.8%、尿中 12.5%、糞尿中 19.4%であった。(表 3)

表.3 単回筋肉内投与後 96 時間以内の排泄量及び排泄率 (微生物学的定量法) n=3

	総排泄量 (mg(力価))	投与量 (mg(力価))	投与量に対する排泄率(%)
糞	17.8	260	6.8
尿	32.5	260	12.5
糞尿	50.4	260	19.4

検出限界：0.05 $\mu\text{g}(\text{力価})/\text{g}(\text{mL})$

③ 代謝 (参照 6)

WL 種豚 (体重約 20kg、5 頭) にミロサマイシン 30mg (力価) /kg 体重を単回強制経口投与し、投与 2 時間後の組織中のミロサマイシン及び代謝物の組成比率について検討された。(HPLC 法)

未変化体の組成比率は血清、腎臓、肺でそれぞれ平均 73%、72%、75%と高い比率で存在していたが、胆汁及び肝臓中ではそれぞれ平均 54%、59%と他の組織と比べ低い比率であった。

また、代謝物 A (3'-N-デメチルミロサマイシン) は血清中に 17%、肺に 11%、腎臓に 10%、肝臓に 19%、胆汁中に 34%と高い組成比率で検出された。代謝物 D (10,11-ジヒドロミロサマイシン) は肝臓で 6%検出されたが、その他の組織ではわずかであった。これらのことから、ミロサマイシンは主に肝臓で代謝されると推定され、主な代謝物は代謝物 A であると考えられた。(表 4)

表.4 投与 2 時間後の生体内でのミロサマイシン及び代謝物の平均組成比率 (%) n=5

投与条件	試料	ミロサマイシン	代謝物 (組成比率)
30 mg/kg 体重 単回	血清	73.2	代謝物A(16.7)、代謝物B,C(4.3)、代謝物D(1.0)、代謝物E,F(-)、代謝物G(0.3)、その他(4.5)
	胆汁	53.5	代謝物A(34.1)、代謝物B,C(5.1)、代謝物D(1.0)、代謝物E,F(0.2)、代謝物G(1.1)、その他(5.0)
	肝臓	58.9	代謝物A(19.0)、代謝物B,C(5.1)、代謝物D(6.0)、代謝物E,F(1.1)、代謝物G(1.3)、その他(8.6)
	腎臓	72.3	代謝物A(9.8)、代謝物B,C(4.2)、代謝物D(2.8)、代謝物E,F(0.5)、代謝物G(0.6)、その他(9.8)
	肺	75.4	代謝物A(11.4)、代謝物B,C(5.0)、代謝物D(1.3)、代謝物E,F(-)、代謝物G(0.6)、その他(6.3)

—：ピークが検出されず、ピーク面積を 0 として算出した。

- 代謝物 A : 3"-N-デメチルミロサマイシン
- 代謝物 B : 3"-O-デメチルミロサマイシン
- 代謝物 C : 2"-O-デメチルミロサマイシン
- 代謝物 D : 10,11-ジヒドロミロサマイシン
- 代謝物 E : 3"-O-デメチル-10,11-ジヒドロミロサマイシン
- 代謝物 F : 2"-O-デメチル-10,11-ジヒドロミロサマイシン
- 代謝物 G : 3"-N-オキサイドミロサマイシン

④ 排泄 (参照 7)

豚 (体重 20.4kg/頭、約 2 ヶ月齢、雄 3 頭) にミロサマイシン 30mg (力価) /kg 体重を単回強制経口投与し、経時的に糞及び尿 (投与後 0~4、4~8、8~12、12~24、24~48、48~72 及び 72~96 時間) を採取してミロサマイシンの排泄について検討された。

微生物学的定量法における糞中の排泄率は、投与後 24~48 時間が 7.0% と最も多く、投与後 96 時間の累積排泄率は 11.4% であった。また、尿中の排泄率は投与後 12 時間の累積排泄率が 13.1% であり、その後の排泄はわずかで、投与後 96 時間の累積排泄率は 15.3% であった。

HPLC 法における尿中の累積排泄率は、投与後 12 時間が 6.9% であり、その後の排泄はわずかで、投与後 48 時間で 7.9% であった。投与後 48 時間以降は未変化体の検出は不能となった。

表.5 単回経口投与後 96 時間の平均累積排泄量及び排泄率 (微生物学的定量法) n=3

	平均投与量 (mg (力価)/頭)	累積排泄量 (mg (力価))	投与量に対する排泄率 (%)
糞	610	68.7	11.4
尿	610	93.4	15.3

(3) 薬物動態試験 (鶏)

① 代謝 (参照 8)

鶏 (ブロイラー、3 羽/群) を用いてミロサマイシンの単回強制経口投与 (20 mg/kg 体重) 試験が実施され、経時的に体内における組織中のミロサマイシン及び代謝物について検討されている。

HPLC 法により測定した結果は表 6 のとおりである。測定した各時点においてすべての組織でミロサマイシンが主成分として存在したが、肝臓、胆汁中でミロサマイシン含有組成比が約 50% と低い値であった。また、代謝物は肝臓中で代謝物 A が 14.3~17.8% 及び代謝物 D が 11.0~14.0%、胆汁中では代謝物 A が 25.6~30.7% の組成比で存在していたが、それ以外はいずれもわずかな比率で代謝物が測定されたにすぎなかった。

表.6 鶏の生体内でのミロサマイシン及び代謝物の平均組成比率 (%) n=3

投与量 (mg/kg 体重)	試料*	ミロサマイシン 及び代謝物**	経過時間 (時間)			
			2	4	6	8
		ミロサマイシン	80.0	81.8	82.5	77.8

20	血液	代謝物 A	10.1	4.1	5.0	5.9
		代謝物 B	0.5	1.0	0.7	1.0
		代謝物 C	2.2	4.7	3.2	3.7
		代謝物 D	2.4	3.3	3.3	3.6
	胆汁	ミロサマイシン	46.6	45.4	53.4	46.7
		代謝物 A	30.1	30.7	25.6	28.8
		代謝物 B	1.9	2.5	2.3	3.1
		代謝物 C	3.2	4.4	3.3	4.4
		代謝物 D	2.3	3.0	3.7	2.8
	肝臓	ミロサマイシン	50.7	51.5	53.5	53.2
		代謝物 A	15.9	14.3	17.0	17.8
		代謝物 B	1.9	1.0	0.7	0.2
		代謝物 C	2.6	1.5	3.4	3.2
		代謝物 D	14.0	11.3	11.8	11.0
	腎臓	ミロサマイシン	67.7	69.4	67.2	70.8
		代謝物 A	7.3	6.3	7.0	5.0
代謝物 B		0.9	0.7	0.8	0.6	
代謝物 C		3.3	7.1	6.3	6.0	
代謝物 D		7.5	7.6	8.6	7.8	

* : 他に肺及び糞尿混合物のデータ有り。血液、腎臓と同様の結果を示した。

** : 他に代謝物 E 及び代謝物 F、代謝物 G、その他のデータ有り。いずれも量的に少なかった。

代謝物 A : 3'-N-デメチルミロサマイシン

代謝物 B : 3'-O-デメチルミロサマイシン

代謝物 C : 2'-O-デメチルミロサマイシン

代謝物 D : 10,11-ジヒドロミロサマイシン

代謝物 E : 3'-O-デメチル-10,11-ジヒドロミロサマイシン

代謝物 F : 2'-O-デメチル-10,11-ジヒドロミロサマイシン

代謝物 G : 3'-N-オキサイドミロサマイシン

② 排泄 (糞尿混合) (参照 9)

鶏 (ブロイラー:アーバーエーカー、約 9 週齢、雄、9 羽/群) を用いてミロサマイシン製剤の単回強制経口 (ミロサマイシンとして 10 及び 20 mg (力価)/kg 体重) 投与し、経時的に糞尿混合物を採取してミロサマイシンの排泄について検討された。

微生物学的定量法によりミロサマイシン濃度を測定した結果は表 7 のとおりである。10 及び 20 mg (力価)/kg 体重投与群における投与後 24 時間の糞尿中の平均累積排泄率はそれぞれ 19.7 及び 22.9%であった。

表.7 糞尿混合物中平均累積排泄率 (%) (微生物学的定量法) n=9

投与量 (mg(力価)/kg 体重)	経過時間 (時間)						
	1	2	4	6	8	10	24
10	0.4	1.7	4.7	8.9	12.1	14.3	19.7
20	2.0	7.2	11.0	15.3	17.5	19.4	22.9

③ 排泄（糞尿別）（参照 10）

鶏（採卵鶏、約 60 週齢、5 羽、人工肛門を外科的に設着）にミロサマイシン製剤を単回強制経口（ミロサマイシンとして 10 mg(力価)/kg 体重）投与し、経時的に糞と尿を別々に採取してミロサマイシンの排泄について検討されている。（糞・尿：微生物学的定量法、尿：HPLC 法）

糞及び尿中のミロサマイシン濃度を測定した結果は表 8、9 のとおりである。投与後 24 時間のミロサマイシンの糞中における累積排泄率は 11.1%であった。また、尿中の累積排泄率は微生物学的定量法で 5.1%、HPLC 法で 4.9%であった。

表.8 糞尿別平均累積排泄率 (%) (微生物学定量法) n=5

試料	投与量 (mg(力価)/kg 体重)	経過時間 (時間)			
		4	8	12	24
尿	10	2.5	3.8	4.4	5.1
糞		3.7	8.0	9.5	11.1

表.9 尿中の累積排泄率 (%) (HPLC 法) n=5

試料	投与量 (mg(力価)/kg 体重)	経過時間 (時間)			
		4	8	12	24
尿	10	2.8	4.1	4.4	4.9

2. 残留試験

(1) 残留試験 (豚) ① (参照 11)

LWD 種豚 (58~64 日齢、雌、18 頭/群) にミロサマイシン 5 及び 10 mg (力価) /kg を 1 日 1 回、3 日間筋肉内投与し、最終投与 15、20、23、25、28 及び 30 日後の計 6 時点に血清、筋肉、肝臓、腎臓、小腸、脂肪、最終注射部位筋肉、最終注射部位周囲筋肉中濃度を微生物学的定量法で測定した。いずれの時点においても、各組織のミロサマイシンは検出限界 (0.05 µg (力価) /g) 未満であった。

(2) 残留試験 (豚) ② (参照 12)

交雑種の豚 (去勢雄、約 2 ヶ月齢) を用いて本製剤の 1 日 1 回 3 日間連続筋肉内投与 (ミロサマイシンとして、0、常用予定量 : 5 mg(力価)/kg 及び 10 mg(力価)/kg、常用最高予定量の 2 倍量 : 20 mg(力価)/kg) 試験が実施された。各投与群の供試豚数はそれぞれ 1、18、18、24 頭であった。被験動物は経時的 (最終投与 5、15、20、25、30、35、60、90 日後) に組織内のミロサマイシンの残留性について *Micrococcus luteus* ATCC9341 を検定菌とする微生物学的定量法により検討された。

本製剤の筋肉内投与における残留期間は、各投与群ともに注射部位筋肉 > 肝臓、腎臓、小腸 > 血清、筋肉、脂肪、注射部位周辺筋肉の順であった。5 mg(力価)/kg 投与群では、最終投与 15 日後に 3 例中 2 例の注射部位筋肉で検出限界 (0.05 µg(力価)/g) をわずかに上回って (0.05 及び 0.07 µg(力価)/g) いたが、最終投与 20 日後には全例が検出限界未満となった。また、10 mg(力価)/kg 投与群及び 20 mg(力価)/kg 投与群ではそれぞれ最

終投与 25 日及び 30 日後に全例が検出限界未満となった。

(3) 残留試験 (豚) ③ (参照 13)

LWD 系の豚 (去勢雄、2 ヶ月齢) を用いて、本製剤の 1 日 1 回 3 日間連続筋肉内投与 (ミロサマイシンとして、0、常用量 : 5 mg(力価)/kg、2 倍量 : 10 mg(力価)/kg) 試験が実施された。各投与群の供試豚数はそれぞれ 1、15、18 頭であった。経時的 (最終投与 5、15、20、25、28、30 日後) に組織内のミロサマイシンの残留性について (2) と同様の微生物学的定量法で検討された。

本製剤の筋肉内投与における残留期間は 5 mg(力価)/kg 投与群で注射部位周辺筋肉 > 肝臓、腎臓、小腸、注射部位筋肉 > 血清、筋肉、脂肪の順で、10 mg(力価)/kg 投与群では注射部位筋肉 > 肝臓、腎臓、小腸、注射部位周辺筋肉 > 血清、筋肉、脂肪の順であった。5 mg(力価)/kg 投与群では、最終投与 15 日後に 3 例中 1 例 (0.06 µg(力価)/kg) を除く全例が検出限界 (0.05 µg(力価)/g(mL)) 未満となり、この 1 例及び 10 mg(力価)/kg 投与群の全例が最終投与 20 日後に検出限界未満となった。

(4) はちみつ中の残留試験 (参照 14)

西洋みつばち (ゴールデン種雑種、10 巣箱) にミロサマイシン (0、常用量 : 75 mg (力価) /週/巣箱、2 倍量 : 150 mg (力価) /週/巣箱) を含むペースト状飼料を 7 日間連続投与し、投与前及び投与終了 3、7、10、14 及び 21 日後の 6 時点におけるはちみつ中濃度を微生物学的定量法で測定した。なお、150 mg 投与群では 1 巣箱でのみ最終投与 10 日後に定量限界以上の数値 (0.076 µg (力価) /g) が認められたが、それ以外の検体では投与期間を通じて、いずれの投与群においてもミロサマイシンは検出されなかった (定量限界 : 0.05 µg (力価) /g)。1 巣箱のみミロサマイシンが定量限界以上認められたのは、採蜜量が少なかったことに起因すると考えられた。

また、同じ試験を異なるみつばち (西洋みつばち、ゴールデン種雑種、10 巣箱) で行ったところ、対照群、常用量 (75 mg (力価) /週/巣箱) 投与群及び 2 倍量 (150 mg (力価) /週/巣箱) 投与群のすべての検体において、全試験期間を通じてはちみつ中にミロサマイシンの残留は認められなかった。

3. 急性毒性試験 (参照 15)

ddY 系マウス及び Wistar 系ラット (5 週齢、いずれも雌雄各 10 匹/群) にミロサマイシンを経口、皮下及び静脈内投与した。経口投与では投与限界用量でも死亡は認められず、LD₅₀ は雌雄ともにマウス > 2,500 mg/kg 体重、ラット > 2,000 mg/kg 体重であった。また、マウス及びラットともに LD₅₀ は静脈内 < 皮下 < 経口投与の順に高くなり、いずれの投与経路でも性差や種差は認められなかった。(表 10)

表 10. ミロサマイシン投与によるマウス及びラットの LD₅₀

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重) (95%信頼限界)	
		雄	雌
	経口	>2,500	>2,500

マウス	皮下	596 (554~642)	508 (456~547)
	静脈内	171 (159~185)	196 (184~210)
ラット	経口	>2,000	>2,000
	皮下	527 (499~557)	461 (441~482)
	静脈内	243 (236~251)	250 (243~258)

一般的な臨床症状観察では、マウス及びラットともにほぼ同様の経過を示し、経口投与で異常は認められなかった。皮下投与では投与部位の腫脹、皮下充出血、脱毛、硬結、痂皮形成等がみられ、病理組織学的には好中球浸潤による急性炎症像や肉芽組織形成が認められ、ミロサマイシンは粘膜刺激性を有することが報告されていることから、皮下投与における投与部位の反応はミロサマイシンに起因するものと思われる。死亡例では投与部位の腫脹の他、運動抑制やチアノーゼが認められた。静脈内投与では投与直後に死亡例がみられ、死亡例では運動抑制、呼吸抑制または停止、振戦、痙攣等が認められたが、回復例ではその後異常は認められなかった。なお、ミロサマイシン投与による死因は呼吸抑制、チアノーゼ、更に、呼吸停止の後に心拍の停止がみられることから、呼吸機能麻痺と推定された。

ミロサマイシンの微量成分、分解物及び代謝物についても同様に調べた結果、ミロサマイシンとほぼ等しい毒性発現を示した。

4. 亜急性毒性試験

(1) 28日間亜急性毒性試験(ラット)(参照16)

Wistar系ラット(5~6週齢、雌雄各10匹/群)を用いた混餌(0, 3,200, 8,000, 20,000, 50,000 ppm: 雄 0, 273, 721, 1,738, 3,405 mg/kg 体重/日、雌 0, 288, 773, 1,856, 3,611 mg/kg 体重/日)投与における28日間の亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。また、各群5匹の回復群を別に設けて投与終了後28日間の観察と検査を行なった。

試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、50,000 ppm投与群で雌雄ともに投与6日目から粗毛、後半では削瘦が認められた。いずれも休薬期間中に回復が認められた。

体重変化では、20,000ppm投与群の雄で体重増加抑制が見られ、50,000 ppm投与群の雌雄で投与直後から明らかな体重増加抑制が認められた。また、摂餌量及び摂水量にも低値が認められた。いずれも休薬期間中に回復が認められたが、体重は対照群の水準まで達しなかった。

血液学的検査では、50,000 ppm投与群の雌雄でRBC、Ht、Hb及び血小板数の低値がみられ、更に、雄においてはWBCの低値が認められた。RBC、Ht、Hbの低値は20,000 ppm投与群の雄でもみられた。回復試験では、雄のWBCの減少に有意差が認められたがいずれも標準範囲内の変化であった。

血液生化学的検査では、50,000 ppm投与群の雌雄で総タンパク、アルブミン及びトリグリセライドの低値が、雄では更にグルコースの低値及びT.Cholの高値が認められた。20,000 ppm投与群においてもトリグリセライドの低値が雌雄で、アルブミンの低値が