

動物用医薬品・飼料添加物評価書

アビラマイシン

2011年6月

食品安全委員会

目次

頁

○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	3
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	3
○要約	4
I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況等	6
II. 安全性に係る知見の概要	6
1. 薬物動態（吸収・分布・代謝・排泄）	7
(1) 薬物動態試験（ラット）	7
(2) 薬物動態試験（豚）	7
(3) 薬物動態試験（鶏）	9
2. 残留試験	9
(1) 残留試験（豚）	10
(2) 残留試験（鶏）	11
(3) 残留試験（七面鳥）	12
(4) 残留試験（ウサギ）	13
3. 急性毒性試験	13
4. 亜急性毒性試験	13
(1) 28日間亜急性毒性試験（マウス）	13
(2) 2週間亜急性毒性試験（ラット）	14
(3) 28日間亜急性毒性試験（ラット）	15
(4) 6ヶ月間亜急性毒性試験（イヌ）	15
(5) 21週間亜急性毒性試験（豚）	15
(6) 62日間亜急性毒性試験（鶏）	16
(7) 14日間亜急性毒性試験（七面鳥）	16
(8) 16週間亜急性毒性試験（七面鳥）	16
5. 慢性毒性及び発がん性試験	16
(1) 2年間慢性毒性/発がん性試験（ラット）	16
(2) 104週間発がん性試験（マウス）	17

6. 生殖発生毒性試験	17
(1) 3世代繁殖毒性試験(ラット)	17
(2) 発生毒性試験(ラット)	18
(3) 発生毒性試験(ウサギ)	19
(4) 生殖発生毒性試験(豚)	19
7. 遺伝毒性試験	19
8. 特殊試験	21
(1) 神経毒性試験(マウス、ウサギ)	21
(2) 皮膚感作試験(マウス)	21
(3) 皮膚感作試験(モルモット)	21
(4) 眼粘膜刺激性試験(ウサギ)	21
9. 一般薬理試験	22
10. 微生物学的影響に関する試験	22
III. 食品健康影響評価	24
1. 毒性学的 ADI について	24
2. 微生物学的 ADI について	24
3. ADI の設定について	25
4. 食品健康影響評価について	25
表 5 JECFA における各種試験の無毒性量等の比較	26
表 6 EMEA における各種試験の無毒性量等の比較	27
表 7 オーストラリアにおける評価	28
・別紙 1 : 検査値等略称	29
・参照	30

〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
2008年 9月 12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0912006号）
2008年 9月 25日 第255回食品安全委員会（要請事項説明）
2010年 6月 29日 第38回肥料・飼料等専門調査会
2011年 3月 3日 第369回食品安全委員会（報告）
2011年 3月 3日 から 2011年 4月 1日 国民からのご意見・情報の募集
2011年 6月 7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
2011年 6月 9日 第385回食品安全委員会（報告）
（同日付けで厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2011年1月6日まで)

小泉 直子 (委員長)
見上 彪 (委員長代理)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

(2011年1月7日から)

小泉 直子 (委員長)
熊谷 進 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

* : 2011年1月13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〉

(2009年10月1日から)

唐木 英明 (座長)
酒井 健夫 (座長代理)
青木 宙 高橋 和彦
秋葉 征夫 舘田 一博
池 康嘉 津田 修治
今井 俊夫 戸塚 恭一
江馬 眞 細川 正清
桑形 麻樹子 宮島 敦子
下位 香代子 元井 葭子
高木 篤也 吉田 敏則

要 約

オルトソマイシン系の抗生物質である「アピラマイシン」について、各種評価書等（JECFA レポート、飼料添加物の指定時の試験成績等の抄録等）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、薬物動態試験（ラット、豚及び鶏）、残留試験（豚、鶏、七面鳥及びウサギ）、急性毒性試験、亜急性毒性試験（マウス、ラット、イヌ、豚、鶏及び七面鳥）、慢性毒性/発がん性試験（マウス及びラット）、生殖発生毒性試験（ラット、ウサギ及び豚）、遺伝毒性試験、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

アピラマイシンは、各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られており、生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えられる。また、マウス及びラットを用いた慢性毒性/発がん性試験において発がん性は認められていないことから、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、ADIを設定することが可能であると判断された。

毒性試験においては、高用量の投与による急性毒性試験等を除いて、いずれもアピラマイシン投与によると考えられる毒性影響は認められておらず、各試験における最高用量（用量が一つの場合を含む。）が各試験のNOAELと考えられた。それらのNOAELのうち、アピラマイシンの残留に係る食品の安全性を評価するために最も適切と考えられる指標は、ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性試験及び3世代繁殖毒性試験のNOAEL 150 mg(力価)/kg 体重/日であった。

毒性学的ADIは、このNOAELに種差10、個体差10の安全係数100を適用し、1.5 mg/kg 体重/日と設定された。

一方、微生物学的影響については、残留アピラマイシンは大部分が代謝され、ヒト結腸中に入るまでに微生物学的活性が非常に低いものになること、可食部位組織からは微生物学的に活性な残留物は検出されないこと及び大部分が結腸中で糞便内容物と不可逆的に結合し、微生物学的活性はさらに低下すると考えられたことから、残留アピラマイシンはヒト消化管内において定着障壁を崩壊させるとは考えられない。

アピラマイシンは、豚に常在する腸球菌の中のアピラマイシン耐性菌を選択する可能性があるが、一旦選択圧が除去されればアピラマイシン耐性菌は感受性の細菌叢に駆逐され生残不可能であると推測された。また、アピラマイシンに対し交差耐性を示す唯一の薬剤である evernimicin は、実用化されておらず、アピラマイシン類の抗生物質はヒト用医薬品として使用されていない。また、アピラマイシン及び evernimicin は、タンパク質合成を阻害すると考えられているが、他のタンパク質合成阻害剤とは交差耐性を示さないとされている。したがって、現在得られている知見を考慮すると、アピラマイシンに対する耐性並びに動物用及びヒト用の医薬品として一般に使用される多くの抗菌性物質に対する交差耐性が進展するとは考えられない。

これらのことから、微生物学的ADIを設定する必要がないと考えられ、アピラマイシンのADIは、毒性学的ADIの1.5 mg/kg 体重/日を採用することが適当であると考えられた。

以上より、アピラマイシンのADIとして1.5 mg/kg 体重/日を設定した。

I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：アビラマイシン

英名：Avilamycin

3. 化学名

アビラマイシンA

英名：O-(1R)-4-C-acetyl-6-deoxy-2,3-O-methylene-D-galactopyranosylidene-(1'3-4)-2-O-(2-methyl-1-oxopropyl)- α -L-lyxopyranosyl-O-2,6-dideoxy-4-O-(3,5-dichloro-4-hydroxy-2-methoxy-6-methylbenzoyl)- β -D-arabino-hexopyranosyl-(1,4)-O-2,6-dideoxy-D-arabino-hexopyranosylidene-(1'3-4)-O-2,6-dideoxy-3-C-methyl- β -D-arabino-hexopyranosyl-(1'3)-O-6-deoxy-4-O-methyl- β -D-galactopyranosyl-(1'4)-2,6-di-O-methyl- β -D-mannopyranoside

アビラマイシンB

英名：O-4-C-acetyl-6-deoxy-2,3-O-methylenehexo-pyranosylidene-(1'3-4)-2-O-acetyl-L-lyxopyranosyl-O-2,6-dideoxy-4-O-(3,5-dichloro-4-hydroxy-2-methoxy-6-methylbenzoyl)- β -D-arabino-hexopyranosyl-(1'4)-O-2,6-dideoxy-D-ribo-hexopyranosylidene-(1'3-4)-O-2,6-dideoxy-3-C-methyl-D-arabino-hexo-pyranosyl-(1'3)-O-6-deoxy-4-O-methyl- β -D-galactopyranosyl-(1'4)-2,6-di-O-methyl-D-mannopyranoside

4. 分子式

$C_{61}H_{88}Cl_2O_{32}$ (アビラマイシンA)

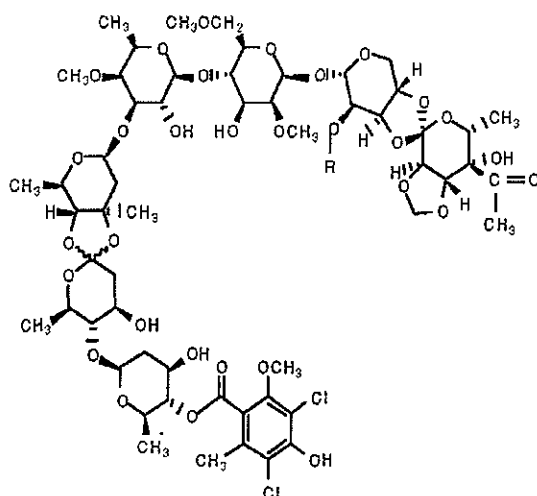
$C_{59}H_{84}Cl_2O_{32}$ (アビラマイシンB)

5. 分子量

1,403 (アビラマイシンA)

1,375 (アビラマイシンB)

6. 構造式



アビラマイシン	R
A	COCH(CH ₃) ₂
B	COCH ₃

7. 使用目的及び使用状況等

アビラマイシンは、1961年に *Streptomyces viridochromogenes* A23575 (NRRL2860) 株の醗酵濾液から発見されたオルトソマイシン系の抗生物質で、アビラマイシン A (60%以上)、アビラマイシン B (18%未満) 及び 14 の微量因子¹の混合物から成る。

アビラマイシンは、主にグラム陽性菌に抗菌力を有し、グラム陰性菌にはほとんど抗菌力を持たない。対象動物で吸収されにくく、残留のおそれが少ないこと等の特長から世界的に開発が進められた。

海外では、鶏、七面鳥、豚及びウサギの腸内細菌感染のコントロールを目的とした動物用医薬品として使用されている。鶏、七面鳥及び豚では、100 mg/kg 体重/日の用量で 21 日間混餌投与される。ウサギでは、80 mg/kg 体重/日の用量で 28 日間混餌投与される。

ヒト用医薬品としては使用されていない。

日本では、動物用医薬品としては承認されておらず、豚及び鶏を対象とした飼料添加物として指定されている。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値²が設定されている。(参照 2~4)

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA レポート、飼料添加物の指定時の試験成績等の抄録等をもとに、毒性に関する主な知見を整理した。

¹ 14 微量因子：アビラマイシン A、C、D₁、D₂、E、F、G、H、I、J、K、L、M 及び N

² 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 (参照 1)

1. 薬物動態 (吸収・分布・代謝・排泄)

アビラマイシンは、豚、ラット及び鶏では吸収されにくく、大部分が代謝され、速やかに排泄される。アビラマイシン投与後に、組織中に微生物学的に活性な残留物は検出されなかった。(参照 3、4)

(1) 薬物動態試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 3 匹、体重：雄 248~265 g、雌 214~222 g) を用いて ^{14}C -アビラマイシンの 3 日間強制経口投与 (100 mg eq/kg 体重/日) 試験を実施し、初回投与後 24 時間毎に各被験動物の尿及び糞を別々に採取し総放射活性を測定した。さらに、最終投与後 24 時間の糞中のアビラマイシン及びその代謝物について測定した。

経口投与において、アビラマイシンは速やかに排泄され、投与放射活性の 90 % 以上が最終投与 24 時間以内に糞中から回収された。尿中への排泄は、投与放射活性の 0.25 % 未満であった。糞の中性画分には放射活性の 85~87 %、酸性画分には 12~14 % が含まれていた。また、中性画分には、アビラマイシン A 及びアビラマイシン B が放射活性の 40~60 % を占めた。(参照 4)

ラット (雌雄各 3 匹) を用いて ^{14}C -アビラマイシンの 4.5 日間混餌投与 (550 ppm) 試験を実施した。投与期間中の尿及び糞を採取し、試験終了直後の肝臓を採取して代謝物について調べた。

その結果、糞中の総放射活性の約 19 % はアビラマイシン A であった。糞中には、アビラマイシンのオリゴ糖及び eurekaanate portion 由来の 3 種類の代謝物が検出され、最も多い代謝物はフランビック酸であった。フランビック酸は、極性の高い酸化化合物であり試料処理する間にフランバラクトンに変換した。(参照 4、5)

(2) 薬物動態試験 (豚)

豚 (交雑種、雌 2 頭、体重約 40 kg) に非標識アビラマイシンを 1 日 2 回 7 日間混餌投与 (餌：0.9 kg、60 ppm (力価)) した。非標識アビラマイシンの混餌投与後、各豚に 120 mg の ^{14}C -アビラマイシン (9.3 kBq/mg) を単回混餌投与 (餌：450 g) し、その後、試験期間中さらに無添加の給餌 (0.9 kg) を 1 日 2 回実施した。

2 頭はともに ^{14}C -アビラマイシン投与 4 日以内に ^{14}C の大半を排泄し、うち ^{14}C -アビラマイシン投与 2 及び 3 日に 91 % 以上を排泄した。放射活性の尿中への排泄は ^{14}C -アビラマイシン投与 24 時間後までにピークに達した (それぞれ 2.75 及び 3.30 %)。 ^{14}C -アビラマイシン投与 9 日後までには、2 頭の豚はそれぞれ総投与放射活性の 96.9 及び 99.0 % を排泄した。排泄された放射活性の平均 93.4 % が糞中に認められ、平均 4.54 % が尿中に認められた。(参照 4)

子豚 (雌 7 頭、雄 4~5 頭/剤型、体重 7~12 kg) に 3 種類の異なる剤型のアビラマイシン (結晶状、微粉粒状及び非微粉粒状) を 6 日間混餌投与 (20 ppm) した。糞を微生物学的定量法及びガスクロマトグラフ法 (GC) を用いて検査した。

微生物学的には、結晶状、微粉粒状及び非微粉粒状アビラマイシンを含有する飼料を

投与した糞で、それぞれGCで測定したアビラマイシン及びその分解産物の2.0、4.5及び15.0%が活性であり、それぞれアビラマイシンとして0.94、2.28及び8.45 µg/gが含まれていることが示された。GC測定においては、アビラマイシンが加水分解されて、ジクロロイソエバニニック酸(dichloroisoeverninic acid : DIA)となるまでのすべての分解産物の総残留を測定し、結晶状、微粉粒状及び非微粉粒状アビラマイシンの飼料を投与された糞中に、それぞれ43.3、40.1及び43.4 µg/gが認められた。(参照4)

豚(交雑種、去勢雄5頭、雌4頭、体重約44 kg)に¹⁴C-アビラマイシンを12時間毎に4、7及び10日間混餌投与(76.19 ppm : アビラマイシンとして80 ppm(力価))した。¹⁴C-アビラマイシンの1日摂取量は約134 mg/頭(アビラマイシンとして3 mg(力価)/kg体重)であった。被験動物は最終投与6時間後にと殺し、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び胆汁を採取して、アビラマイシンの未変化体及びDIA部分を含む残留について検査した。

10日間投与群の肝臓、脂肪及び腎臓における平均総放射活性残留は、アビラマイシンとしてそれぞれ0.22、0.12及び0.10 µg/gであった。筋肉における残留は0.025 µg/g未満であった。筋肉、肝臓及び腎臓において、投与開始4日以内に放射活性は定常状態濃度に達した。脂肪における放射活性はトリグリセリドの脂肪酸部分に分解された¹⁴Cが組み込まれたものであることが示された。

毎日の平均投与量の約7%が胆汁中に排泄されており、豚において胆汁排泄はアビラマイシンの主要排泄経路ではないと考えられ、尿中排泄が少ないことを併せて考えると、アビラマイシンはあまり吸収されないと推測された。

腎臓及び脂肪において、未変化体の残留は認められなかったが、肝臓においては、アビラマイシンの痕跡(0.05 µg/g未満)のみが認められた。肝臓及び腎臓に検出可能な量のDIA関連物質の残留が認められ、肝臓においては総放射活性の50%又はそれ以上を示した。脂肪においては、DIA関連物質の残留は認められなかった。アビラマイシンA及びBは尿及び糞中の総残留放射活性の5%未満であった。肝臓及び排泄物の抽出物中に認められた主要代謝物の1つはフランビック酸で、アビラマイシンのC環及びD環につながるオルトエステルが加水分解された結果形成されたものであった。フランビック酸は、尿及び糞中には総放射活性残留の40~50%、肝臓中には15~20%が認められた。(参照4)

豚(雄4頭、雌2頭、体重約44 kg)に¹⁴C-アビラマイシンを12時間毎10及び14日間混餌投与(60 ppm)した。投与10又は14日後に、筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪を採取し組織中放射活性を測定した。

筋肉、肝臓及び腎臓中のアビラマイシン濃度は10日間投与群及び14日間投与群では統計学的な差異は認められなかった。脂肪中の平均濃度は14日間投与群の方が10日間投与群より有意に高かったが、脂肪中残留はアビラマイシンに関連したものではなく、通常の脂肪酸に組み込まれた放射活性であった。非抽出性の肝臓中残留は肝臓中総残留の33~37%で、10日間及び14日間投与群に差異はなかった。抽出性の肝臓中放射活性は数種の微量な代謝物から構成されていた(<0.1 µg/g)。その中でフランビック酸が最

も多く、0.06 µg/g の濃度まで含まれており、肝臓中の ¹⁴C-アビラマイシン濃度は 0.05 µg/g 未満であった。腎臓中放射活性は肝臓中放射活性と同様のパターンであった。投与量の約 92 % が糞から、8 % が尿から回収された。糞中の放射活性は、¹⁴C-アビラマイシンとして約 120 µg/g であった。(参照 4)

子豚 (30 日齢) にアビラマイシン製剤を 12 週間混餌投与 (アビラマイシンとして 0 及び 40 ppm) し、投与期間中 (投与開始 6 週後) 及び最終投与時 (投与開始 12 週後) に採血した。その結果、いずれの豚の血清からもアビラマイシンは検出されなかった (検出限界 : 0.025 ppm)。(参照 2)

(3) 薬物動態試験 (鶏)

鶏 (ブロイラー、雌雄各 2 羽) に非標識アビラマイシンを 7 日間混餌投与 (アビラマイシン 20 ppm(力価)) し、最終投与後各鶏に 4.0 mg の ¹⁴C-アビラマイシン (15 kBq/mg) のカプセルを単回経口投与した。試料採取の 13 日間に雌雄各 2 羽は、それぞれ総投与量の 84~99 % を排泄した。大部分 (84~96 %) の残留 ¹⁴C は投与 4 日後までに排泄され、うち 50~78 % が投与後 24 時間に排泄された。(参照 4)

鶏 (ブロイラー) にアビラマイシンを 25 日間混餌投与 (22 ppm) した。微生物学的定量法及び GC の両方の方法を用いて調べたところ、血中にアビラマイシン又はその分解産物は認められなかった。(参照 4)

鶏 (ブロイラー、7 週齢、雌雄各 2 羽/投与期間) に ¹⁴C-アビラマイシンを 4、7 及び 10 日間混餌投与 (14.16 ppm : アビラマイシンとして 15 ppm(力価)) し、投与期間中自由摂餌とした。各投与期間の終了後 6 時間の絶食後に、筋肉、肝臓、腹部脂肪、腎臓及び皮下脂肪/皮膚を採取して放射活性を測定した。

筋肉及び腎臓における放射活性残留は、いずれの投与期間においても検出限界 (それぞれ 0.008 及び 0.024 µg/g) 未満であった。7 日間投与群の肝臓から平均最高値 0.039 µg/g が検出された。10 日間投与群では、皮膚、肝臓及び脂肪における残留総放射活性はアビラマイシンとしてそれぞれ 0.018、0.022 及び 0.024 µg/g であった。また、いずれの組織においても投与開始 4~7 日以内に放射活性の定常状態濃度に達した。(参照 3、4)

鶏にアビラマイシン製剤を 8 週間混餌投与 (アビラマイシンとして 10 及び 20 ppm) し、投与期間中 (投与 4 週) 及び最終投与時に採血した。

その結果、いずれの鶏の血清からもアビラマイシンは検出されなかった (検出限界 : 0.025 ppm)。(参照 2)

2. 残留試験

アビラマイシンは大部分が代謝されるため、放射標識部位は放射活性組織データの全体的な正確な解釈に重要である。

DIA は、アビラマイシン、フランビック酸及び他の代謝物の構造中に存在し、それら

の加水分解により生成されると考えられ、アビラマイシン由来の残留を測定する分析過程で有用であると考えられた。JECFA では、DIA がアビラマイシンの残留マーカーとして選択された。(参照 3)

(1) 残留試験 (豚)

① 放射標識残留

豚 (交雑種、雄 3 頭、雌 2 頭、体重約 46 kg) に[DIA-¹⁴C]アビラマイシンを 12 時間毎に 7 日間混餌投与 (76.19 ppm: アビラマイシンとして 80 ppm(力価)、9.2~12.1 mg/kg 体重/日) した。雄 1 頭は、最終投与直後にと殺した。残りの被験動物は、通常のアビラマイシン無添加) 給餌を行い、雌雄各 1 頭ずつ被験物質の最終投与 3 及び 5 日後にと殺し、各組織中放射活性濃度について調べた。

肝臓及び筋肉では、アビラマイシンに起因する放射活性は、最終投与 3 日以内に検出限界未満 (それぞれの検出限界は 0.024 及び 0.033 mg/kg) となり、腎臓では最終投与 5 日以内に検出限界 (検出限界: 0.025 mg/kg) に近い値となった。脂肪における放射活性は、¹⁴C-アビラマイシンが脂肪酸分画に取り込まれることにより、濃度低下は非常に緩慢であった。(参照 3)

② 21 日間混餌投与残留試験

豚 (交雑種、雌雄各 6 頭、体重 9~15 kg) にアビラマイシンを 21 日間混餌投与 (150 ppm: 9~12 mg/kg 体重/日) し、経時的 (最終投与 0、6 及び 24 時間後) に肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪中のアビラマイシン残留について DIA をマーカーとして LC-MS/MS 及び微生物学的定量法により調べた。

アビラマイシンの DIA 部分は豚の肝臓では最終投与 0 及び 6 時間後に定量可能で、最終投与 6 時間後までに半分以下に減少した。残留は、最終投与 24 時間後には、アビラマイシンとして 28 µg/kg (標準曲線の最低値) 未満となった。DIA の残留は、腎臓で最終投与 0 及び 6 時間後に検出限界以上定量限界未満となり、最終投与 24 時間後には、検出限界未満となった。筋肉及び皮膚/脂肪では、どの時点においても残留は検出されなかった。*Micrococcus luteus* を用いた発育阻止試験 (検出限界: 5 µg/kg) の結果から、いずれの組織においても抗菌活性は検出されなかった。したがって、肝臓及び腎臓において検出された残留 DIA は、抗菌活性を持たないアビラマイシンの代謝物であるということになる。(参照 3)

③ 12 週間混餌投与残留試験 (子豚 1)

子豚 (3 元交雑種、雌雄各 1 頭/時点) にアビラマイシンを離乳から 12 週間混餌投与 (40 ppm) し、経時的 (最終投与直後、3 及び 5 日後) に組織 (肝臓、腎臓、脂肪、筋肉及び腸内容物) 中残留をバイオオートグラフィーにより検討した (検出限界: 0.025 µg(力価)/g)。

その結果、アビラマイシンは最終投与直後の腸内容物を除き、いずれの組織からも検出されなかった。(参照 2、6)

④ 12週間混餌投与残留試験（子豚2）

子豚（LWD種、約30日齢、雌雄各1頭/時点）にアピラマイシンを12週間混餌投与（0及び40ppm）し、経時的（投与群：投与開始6及び12週後、最終投与1、3、5及び7日後、対照群：投与開始6及び12週後）に血漿及び組織（筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び小腸）中残留をバイオオートグラフィーにより検討した（検出限界：0.025 µg(力価)/g、血漿は0.025 µg(力価)/mL）。

その結果、アピラマイシンは検出されなかった。（参照2、7）

⑤ 84日間混餌投与残留試験（子豚）

子豚（LW種、去勢雄、2頭/時点）にアピラマイシンを84日間混餌投与（0及び40ppm）し、経時的（投与開始42日後、最終投与直後、1及び3日後）に血清及び組織（筋肉、肝臓、腎臓、心臓、脂肪及び小腸）中残留をバイオオートグラフィーにより検討した（検出限界：各組織は0.025 µg(力価)/g、血清は0.025 µg(力価)/mL）。

その結果、投与直後の小腸から検出限界程度の残留が認められたのみで、その他の全試料においては検出限界未満であった。（参照2、8）

⑥ 99日間混餌投与残留試験（育成～仕上げ期豚）

豚（育成～仕上げ期、雌、去勢雄、2～4頭/時点）にアピラマイシンを99日間混餌投与（0及び40ppm）し、最終投与6及び30時間後の組織（筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪）中残留についてバイオオートグラフィーにより検討した（検出限界：0.05 ppm）。

その結果、いずれの組織からも微生物学的に活性な残留は認められなかった。（参照2、9）

(2) 残留試験（鶏）

① 21日間混餌投与残留試験

鶏（ブロイラー、雌雄各9羽）を用いて、アピラマイシンを21日間混餌投与（150ppm）し、経時的（最終投与後0、6及び24時間後）に、組織中アピラマイシン残留をDIAとして分析した。

筋肉、脂肪/皮膚及び腎臓の全てのDIAは、検出限界未満又は定量限界未満であった。肝臓中のDIAの残留は、最終投与0時間後に5/6例において、アピラマイシンとして31.9～113 µg/kgが検出され、最終投与6時間後には、1/6例で肝臓中の残留が、アピラマイシンとして29.8 µg/kgが検出されたのみであった。

最終投与24時間後には、全例の肝臓中残留は、検出限界未満又は定量限界未満であった。（参照13）

② 49日間混餌投与残留試験

鶏（ハバード種、7日齢、雌雄各2羽/時点）にアピラマイシンを49日間混餌投与（20ppm）し、経時的（投与21日、最終投与直後、3、5及び7日後）に組織（肝臓、腎臓、脂肪、筋肉、皮膚及び腸内容物）中残留をバイオオートグラフィーにより測定した（検出限界：0.025 µg(力価)/g）。

その結果、アビラマイシンはいずれの組織からも検出されなかった。(参照 2、6)

③ 56 日間混餌投与残留試験 1

鶏 (ハバード種、初生雛、6羽/投与群、2羽/対照群) にアビラマイシンを 56 日間混餌投与 (0 及び 20 ppm) し、最終投与 6 時間後の組織 (筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪/皮膚) 中残留についてバイオオートグラフィーにより測定した (検出限界: 0.05 µg(力価)/g)。

その結果、いずれの組織からも微生物学的に活性なアビラマイシンの残留は認められなかった。(参照 2、10)

④ 56 日間混餌投与残留試験 2

鶏 (アーバーエーカー種、初生雛、雌、6羽/群) にアビラマイシンを 56 日間混餌投与 (0 及び 10 ppm) し、経時的 (投与開始 28 日後、最終投与直後、1 及び 3 日後) に血清及び組織 (肝臓、腎臓、腹腔内脂肪、筋肉、小腸及び皮膚) 中残留をバイオオートグラフィーにより測定した (検出限界: 0.025 µg(力価)/g、血清は 0.025 µg(力価)/mL)。

その結果、アビラマイシンの残留は全て検出限界未満であった。(参照 2、11)

⑤ 8 週間混餌投与残留試験

鶏 (アーバーエーカー種、初生雛、雌雄、各群 6羽/時点(投与開始 4 週後と殺群のみ 16羽/群)) にアビラマイシンを 8 週間混餌投与 (0 及び 20 ppm) し、経時的 (投与開始 4 週後、最終投与直後、1 日後) に血漿及び組織 (肝臓、腎臓、腹腔内脂肪、筋肉及び小腸) 中残留をバイオオートグラフィーにより測定した (検出限界: 各組織は 0.025 µg(力価)/g、血漿は 0.025 µg(力価)/mL)。

その結果、投与開始 4 週後、最終投与 0 時間及び 1 日後のいずれの組織においてもアビラマイシンの残留は検出限界未満であった。(参照 2、12)

⑥ 組織及び鶏卵中残留試験

鶏 (雌、7羽) に ¹⁴C-アビラマイシンを 14 日間混餌投与 (30 ppm) して、組織及び卵中の放射活性について調べた。卵黄中の残留は、最終投与 10、12 及び 14 日後で、それぞれ 199、213 及び 213 µg/kg であった。卵白中に残留はみられなかった (70 µg/kg 未満)。また、残留物の特定もされなかった。鶏卵中残留に関してはこれ以上のデータは得られていない。(参照 13)

(3) 残留試験 (七面鳥)

七面鳥 (約 8 週齢、雌雄各 3羽、体重 2.9~5.2 kg) にアビラマイシンを 7 日間混餌投与 (150 ppm : 30 mg/kg 体重/日) し、最終投与直後の肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪中の DIA を LC-MS/MS により調べた。最終投与直後の肝臓及び皮膚/脂肪中残留濃度は非常に低く (アビラマイシンとしてそれぞれ 67.6~195 及び 37.3~105 µg/kg)、筋肉及び腎臓ではアビラマイシンとして 28 µg/kg (標準曲線の最低値) 未満であった。肝臓、腎臓及び筋肉において抗菌活性はみられなかった。(参照 3)

(4) 残留試験 (ウサギ)

ウサギ (約7週齢、雄3匹、雌2匹、体重1.06~1.46 kg) にアビラマイシンを7日間混餌投与 (125 ppm : 7.7 mg/kg 体重/日) し、最終投与直後の肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中のDIAをLC-MS/MSにより調べた。最終投与直後の肝臓及び腎臓中残留濃度は非常に低く (アビラマイシンとしてそれぞれ93~145及び228~352 µg/kg)、筋肉及び脂肪ではアビラマイシンとして28 µg/kg (標準曲線の最低値) 未満であった。肝臓、脂肪、腎臓及び筋肉において抗菌活性はみられなかった。(参照3)

3. 急性毒性試験

アビラマイシンのマウス及びラットにおける急性毒性試験の結果を表1に示した。乾燥発酵産物のアビラマイシンの経口LD₅₀は、マウス及びラット (系統不明) において、> 5,000 mg/kg 体重 (390又は745 mg(力価)/kg 体重) であった。腹腔内投与においては、経口投与の場合より強い毒性を示したが、アビラマイシンそのものの毒性というより、腹腔内で吸収されなかったアビラマイシンが炎症反応を発現させたことによると考えられた。腹腔内投与におけるLD₅₀は、マウスで1,200~3,400 mg/kg 体重、ラットで680~3,100 mg/kg 体重であった。(参照2~4)

表1 アビラマイシンのLD₅₀ (mg/kg 体重)

動物種	性別	飼料級		精製級	
		経口	腹腔	経口	腹腔
マウス	雄	>5,000 (>745(力価)) 乾燥発酵産物	1,531 (337(力価)) 乾燥菌糸体産物	>12,000(力価)	3,435.1(力価)
	雌	>5,000 (>745(力価)) 乾燥発酵産物	1,200 (264(力価)) 乾燥菌糸体産物	>12,000(力価)	1,798.9(力価)
	雌雄	>5,000 (>390(力価)) 乾燥発酵産物 微粉粒状乾燥発酵産物			
ラット	雄	>5,000 (>745(力価)) 乾燥発酵産物	676 (101(力価)) 乾燥発酵産物	>12,000(力価)	2,319.3(力価)
	雌	>5,000 (>745(力価)) 乾燥発酵産物	944 (141(力価)) 乾燥発酵産物	>12,000(力価)	3,114.5(力価)
	雌雄	>5,000 (>390(力価)) 乾燥発酵産物 微粉粒状乾燥発酵産物			

4. 亜急性毒性試験

(1) 28日間亜急性毒性試験 (マウス)

マウス (系統不明) を用いたアビラマイシンの28日間混餌投与試験 (0、30、300及び3,000 ppm(力価) : 0、4.5、45及び450 mg(力価)/kg 体重/日) では、450 mg(力価)/kg 体重/日群の雄の摂餌量及び体重がわずかに増加した。投与に起因する死亡及び毒性徴候

は観察されなかった。

本試験における NOAEL は、最高用量である 450 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 3、4)

マウス(系統不明、約 4 週齢、雌雄各 10 匹/群)を用いた菌糸体アピラマイシンの 28 日間混餌投与試験(0 及び 30,000 ppm(力価):0 及び 4,500 mg(力価)/kg 体重/日)を実施した。投与群の雄において体重及び摂餌量がわずかに増加したが、投与に起因する死亡及び毒性徴候はみられなかった。

本試験における NOAEL は、唯一の用量である 4,500 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 3、4)

(2) 2 週間亜急性毒性試験(ラット)

ラット(Fischer 344 系、5~6 週齢、雌雄各 5 匹/群)を用いた乾燥発酵産物アピラマイシン(純度 14.9%)の 2 週間混餌投与試験(0、4、6 及び 10%:0、596、894 及び 1,490 mg(力価)/kg 体重/日)を実施した。

死亡は認められず、体重、摂餌量、飼料効率、血液学的検査、臨床化学検査、臓器重量及び病理組織学的検査において明らかな毒性影響はみられなかった。投与に起因する唯一の所見は、尿によるケージのトレーの変色で、膀胱内及び排泄直後の尿は黄色を呈していたにもかかわらず、茶色から黒色に変色した。このトレーの変色は排泄物の光化学反応による可能性があると考えられた。

本試験における NOAEL は、最高用量である 1,490 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 3、4)

ラット(Fischer 344 系、5~6 週齢、雌雄各 5 匹/群)を用いた結晶アピラマイシン(純度 100%)の 2 週間混餌投与試験(0、3,000、30,000 及び 60,000 ppm(力価):0、300、3,000 及び 6,000 mg(力価)/kg 体重/日)を実施した。

ケージのトレーの尿による茶色から黒色への変色が観察された。試験期間中、体重、摂餌量、血液学的及び血液生化学的パラメータ、臓器重量、剖検並びに病理組織学的検査において毒性学的に有意な影響は観察されなかった。3,000 及び 6,000 mg(力価)/kg 体重/日群で ALT が増加し、全投与群で対照群に比べて T.Bil が減少し、雌では有意差が認められた。しかしながら、T.Bil は正常の範囲内であった。ALT の変化は雌においてのみ観察され、病理組織学的変化及び肝重量の変化は伴っていなかった。

本試験における NOAEL は、最高用量である 6,000 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 3、4)

ラット(系統不明)に結晶アピラマイシンを 14 日間経口投与(雄:250~5,291、雌:230~4,652 mg/kg 体重/日)した結果、投与に起因する影響は観察されなかった。全投与群において、ケージのトレーの敷き紙の変色がみられた。高用量の二群の雌において ALT の増加がみられたが、病理組織学的変化はみられなかった。

本試験における NOAEL は最高用量である 4,652 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 13)

(3) 28日間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（系統不明、約4週齢、雌雄各10匹/群）を用いたアピラマイシンの28日間混餌投与試験（ペレット状飼料、0、30、300及び3,000 ppm(力価)：0、3、30及び300 mg(力価)/kg 体重/日）を実施した。

試験期間中、死亡及び毒性徴候は観察されなかった。体重、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査のパラメータに投与に起因する影響はみられなかった。

本試験におけるNOAELは、最高用量である300 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。（参照3、4）

ラット（系統不明、約4週齢、雌雄各10匹/群）を用いた菌糸体アピラマイシンの28日間混餌投与試験（ペレット状飼料、0及び30,000 ppm(力価)：0及び3,000 mg(力価)/kg 体重/日）を実施した。

試験期間中、死亡及び毒性徴候はみられず、体重、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査のパラメータに投与に起因する影響はみられなかった。

本試験におけるNOAELは、唯一の用量である3,000 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。（参照3、4）

(4) 6ヶ月間亜急性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、4~5ヶ月齢、雌雄各4匹/群）を用いた乾燥発酵産物アピラマイシン（純度17.8%）の6ヶ月間経口投与試験（ゼラチンカプセルにより投与：0、3.56、35.6及び178 mg(力価)/kg 体重/日）を実施した。

投与に起因する死亡はみられず、臨床症状、眼検査、剖検及び病理組織学的検査において投与に起因する影響はみられなかった。血液学的検査及び尿検査の結果は正常値の範囲内であった。血液生化学的検査では、血清ALTが3.56 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群でわずかに増加した以外対照群との差異は観察されなかった。雄では、血清ALTの変化は投与開始14日後において有意差が認められ用量相関性がみられたが、その後回復した。雌では、178 mg(力価)/kg 体重/日群において投与開始14及び119日後にALTがわずかにではあるが有意に増加した。また、これらのALT値は背景データの範囲内であった。被験動物は正常に成長し、178 mg(力価)/kg 体重/日までの6ヶ月間投与において毒性徴候を示すことなく忍容性があった。

本試験におけるNOAELは、最高用量である178 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。（参照3、4）

(5) 21週間亜急性毒性試験（豚）

豚（大ヨークシャー種、8~9週齢、体重11~13 kg、去勢雄及び雌各4頭/群）を用いた菌糸体アピラマイシン（純度7.83%）の21週間混餌投与試験（0、30、300及び3,000 ppm(力価)：0、1.2、12及び120 mg(力価)/kg 体重/日）を実施し、4週間の休薬期間も設けた。一般状態、摂餌量、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査について検討した。

血液生化学的所見（GGT、AST、ナトリウム及び無機リン）は対照群との間に差がみ