内閣府食品安全委員会事務局平成24年度食品安全確保総合調査

No. 25 ラサロシド

ポジティブリスト制度施行に伴う 暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品 及び飼料添加物に係る食品健康影響評価 に関する調査

調査報告書

平成 25 年 1 月

(株) 東レリサーチセンター

目 次

1. 調査の概要	1
2. 作業内容	1
2. 1 専門家の選定等	1
2. 2 翻訳	2
2. 3 評価書の情報の整理	3
3. 調查期間	3
4. 調査結果4.	3

1. 調査の概要

ポジティブリスト制度導入に伴い、食品安全委員会において、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価が行われている。

国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(以下「JMPR」という。)及び FAO/WHO 合同添加物専門家会議(以下「JECFA」という。)と最新の評価を行っている欧州食品安全機関(以下「EFSA」という。)、欧州医薬品庁(以下「EMA」という。)の評価書が我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後、評価を行うべき農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)のうち、JMPR、JECFA、EFSA 及び EMA の評価結果を有しているものについて、それぞれの評価書の翻訳を行うとともに必要な情報を整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

2. 作業内容

ポジティブリスト制度導入に伴い暫定基準が設定された農薬等のうち、平成24年度に要請される予定の物質のうち表1に示す物質を調査対象とし、EMA、EFSAにおける評価書の翻訳を行うとともに、必要な情報の整理を行った。

 No.
 物質名
 用途

 25
 ラサロシド
 動物薬/飼料添加物・抗生物質

表 1 調査対象の農薬等

2.1 専門家の選定等

本調査では、5分野(①動物代謝、②植物代謝及び環境中運命(土壌中、水中、土壌 残留)、③毒性(一般毒性、病理、発がん性)、④生殖発生毒性、⑤遺伝毒性))の専門家 に、翻訳確認のご協力を頂いた。専門家一覧を表2に示した(五十音順)。

専門家の選定は、食品安全委員会事務局担当官殿の了解のもとに実施した。

		仪 ∠ 守门外 見
分 野	氏 名	所 属※
② 植物代謝及び 環境運命	上路 雅子	日本植物防疫協会 顧問
① 動物代謝、③ 毒性	宇佐見 誠	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 第4室長
④ 生殖発生毒性	江馬 眞	(独)産業技術総合研究所 安全科学研究部門 招聘研究員
① 動物代謝	黒瀬 陽平	北里大学獣医学部 准教授
3 毒性	三枝 順三	(独)科学技術振興機構 技術参事

表 2 専門家一覧

⑤ 遺伝毒性	下位 香代子	静岡県立大学 環境科学研究所 教授
① 動物代謝	須藤 まどか	(独)農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 栄養素代謝研究チーム長
③ 毒性	高木 篤也	国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 室長
④ 生殖発生毒性	高橋 研	(財)残留農薬研究所 毒性部 生殖毒性研究室 主任
② 植物代謝及び 環境運命③ 毒性	中田 晴彦	熊本大学大学院 自然科学研究科 准教授
⑤ 遺伝毒性	松元 郷六	(財)残留農薬研究所 毒性部副部長 兼 遺伝毒性研究室長
② 植物代謝及び 環境運命	與語 靖洋	(独)農業環境技術研究所 有機化学物質研究領域 研究コーディネータ

(※平成25年1月現在)

2. 2 翻訳

評価書の必要部分を原文に忠実に翻訳を行った。調査対象の評価書を表3に示した。 翻訳に際しては「食品の安全性に関する用語集(食品安全委員会第4版)」等を用いて翻訳し、原文に記載の略称等は英語での正式名称、日本語訳をまとめた表を作成した。

2.1 に示した専門家には、専門分野に係る試験方法、試験結果等(数値及び単位を含む。)の専門的な表現、記述等について翻訳文の確認を依頼した。

表 3 調査対象の評価書

番号	物質名	評価書タイトル	文書番号 (物質名_発行機関_通し番号)		
25	ラサロシド	Lasalocid sodium: Summary report - Committee for Veterinary Medicinal Products 2004	ラサロシド _EMA_01		
		Lasalocid sodium (Extension to eggs): Summar report - Committee for Veterinary Medicina Products	ラサロシド _EMA_02		
		Lasalocid sodium (Extension to eggs): Summary report (3) - Committee for Veterinary ラサロ: Medicinal Products			
	MRL assessment report (EPMAR) - Commit	Lasalocid (bovine species): European public MRL assessment report (EPMAR) - Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	ラサロシド _EMA_04		
		The EFSA Journal (2004) 77, 1-45	ラサロシド _EFSA_01		
		ラサロシド _EFSA_02			
		EFSA Journal 2011;9(4):2116	ラサロシド _EFSA_03		

2. 3 評価書の情報の整理

評価書の次の①~③の項目について情報の整理を行った。

- ① 評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成。
- ② 翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載。
- ③ 評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめ。該当する試験がない場合はその旨を記載。

3. 調査期間

平成 24 年 6 月 19 日~平成 25 年 1 月 31 日

4. 調査結果

表 1 に示した物質における評価書(表 3) について「毒性試験とその結果の概要一覧」および「評価書の翻訳文」(以下、「和訳版」)を作成した。その結果を物質ごとに整理して、調査報告書にまとめた。

以上

添付資料

評価書(受領文書番号):7報

- ラサロシド _EMA_01
- ラサロシド _EMA_02
- ラサロシド _EMA_03
- ラサロシド _EMA_04
- ラサロシド _EFSA_01
- ラサロシド _EFSA_02
- ラサロシド _EFSA_03

ラサロシドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書: EMA, Lasalocid sodium: Summary report - Committee for Veterinary Medicinal Products 2004)

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性 (経口)	マウス		LD ₅₀ =146 mg/kg 体重	2	2
急性毒性 (経口)	ラット		LD ₅₀ =122 mg/kg 体重以上	2	2
急性毒性 (経口)	新 生 ラ ット		LD ₅₀ =33 mg/kg 体重以上	2	2
急性毒性 (経口)	ウサギ		LD ₅₀ = 40 mg/kg体重	2	2
急性毒性 (経皮)	ウサギ		LD ₅₀ = 1400 mg/kg体重	2	2
急性毒性 (腹腔内)	マウス		LD ₅₀ = 68 mg/kg体重 ・ 毒性兆候:震戦 ・ 用量依存性の死亡率増加。	2	2
急性毒性 (腹腔内)	ラット		LD ₅₀ = 26.5 mg/kg体重 ・ 毒性兆候:チアノーゼ、自発運動の低下、呼吸抑制。 ・ 用量依存性の死亡率増加。		
急性毒性(経口)	ニワトリ	39~317mg/kg 体重 単回経口投与	LD ₅₀ = 59 mg/kg体重LD ₅₀ = 84 mg/kg体重・ 不活発状態、羽の垂下、ひざ上 休息などの臨床兆候があり、おおむね24時間以内に死亡。その後に死亡した動物には、衰弱、 脱水症状あり。・ 解剖により、腎肥大、脾膨張、 肝腫大を確認。	2	2
急性毒性 (経口)	ニワトリ	2種の媒体を 用いて 強制経口投与	5%アカシアゴム: LD ₅₀ =112 mg/kg 体重 5%エマルション製品: LD ₅₀ =84 mg/kg体重 ・ 両方で用量依存性の体重抑制 あり。	2	2
亜急性毒 性(経口)	離乳ラット	ラサロシドナ トリウム 1、2、3、10 mg/kg 体重/日 混餌投与 13 週間	NOEL: 1 mg /kg 体重/日 2 mg/kg 体重/日群の雌でのヘマトクリット値のわずかな低下とわずかな好中球増加症(neutrophilic leucocytosis)の発症に基づく。	3	3
亜急性毒 性(経口)	イヌ	2、5、10 mg/kg 体重/日 カプセル投与 13 週間	NOEL: 2 mg/kg 体重/日。 5 mg/kg 体重と 10 mg/kg 体重の ラサロシドナトリウムを投与した イヌでの、統計学的に有意な血清 塩化物値の低下に基づく。	3	3

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
慢性毒性 (経口)	イヌ	10 、35 、180 mg/kg 混餌投与 2 年間	NOEL: 35 mg/kg 飼料 (雌雄ともおよそ 1 mg/kg 体重/日に相当) ラサロシド 180 mg/kg (5 mg/kg 体重/日)を混餌投与した雄において、飼料摂取量の一時的な減少、血清アルカリホスファターゼ活性の持続的上昇、前立腺重量の低下が発生したことに基づく。	3	3
亜急性毒 性(経口)	ニワトリ	投与量記載な し 反復投与	飼料中濃度 125 mg/kg(およそ 7 ~11 mg/kg 体重/日)まで、有害な 影響なし。	3	4
亜急性毒 性(経口)	1日齢ヒヨコ	ラサロシドナ トリウム 飼料中濃度 75 ~375 mg/kg 9 週間	飼料中濃度 225 mg/kg までは、 死亡率、体重、飼料効率または血 液学に有意な違いなし。	3	4
亜急性毒 性(経口)	1日齢 ヒヨコ	ラサロシド 飼料中濃度 75、150、225、 375 mg/kg 13 週間	飼料中濃度 225 および 375 mg/kg で、死亡率の増加、体重増加量の抑制と飼料効率の低下が認められたが、血液学への影響は認められなかった。	3	4
生殖毒性 (経口) 1 世代	ラット	ラト投し雄交投 雌交妊ウシム記 配間・配野・変期・変期・変期・変期・投いになる。 で期中投いになる。 でが、に、、、乳	NOEL: 3 m g/kg 体重/日 10 mg/kg 体重/日での母体体重 増加量の抑制の発生に基づく。	4	4
生殖毒性 (経口) 3世代		ラサロシドナ トリウム 0、10、35、120 mg/kg 体重 交配前 9 週間 混餌投与 3 世代	NOEL: ラサロシド 10 mg/kg (およそ ラサロシド 0.5~0.8 mg/kg 体重/日) ・ 120 mg/kg 体重群: P1 の雌で有意に体重減少。P3F3bで有意に妊娠率と出産率の低下。P3F3bの子世代において離乳率と哺育生存率も有意に低下。第1世代と第3世代で平均産児数が低下。遅発性の骨化症の増加。 ・ 35 および 120mg/kg 体重群: P1F1a 世代と P3F3 世代の両方で、黄体数と着床数が減少。	4	4
生殖毒性	ウサギ	0、1、2、4 mg/kg 体重/日 妊娠 6~28 日 目	 ・ 体重増加の用量依存的な抑制。 ・ 4 mg/kg 体重群:早期並びに後期の胚死亡数の増加に起因する平均生存着床数の減少。1 匹で、小さい皮弁を伴う短尾。 ・ 全用量群:胎児体重抑制。 	4	

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
生殖毒性 (経口)	ウサギ	ラサロシドナ トリウム 0、0.5、1、2 mg/kg 体重/日 強制経口投与 妊娠 6~28 日 目	胎児毒性の NOEL: ラサロシド 0.5 mg /kg/日(妊娠成績と胎児体重に基づく) 母動物毒性の NOEL: ラサロシド 0.5 mg /kg/日(全身毒性に基づく)	5	5
遺伝毒 性:Rec アッセイ	Bacillus subtilis M45 株 H17 株	ラサロシドナ トリウム 1、10、100 μ g/disc	DNA 損傷作用なし	5	5
遺伝毒 性:復帰 突然変異	Salmonel la typhimur ium, Escheric hia coli	ラサロシドナ トリウム 最大 2000 μ g/kg/プレート	最大 $2000 \mu \text{ g/kg/}$ プレートまで代謝 活性化系存在下と非存在下のいず れにおいても、遺伝子突然変異を 誘導しなかった。	5	5
遺伝毒性:有糸分製遺伝子変換試験	Saccharo myces cerevisia e	ラサロシド 0、0.05、0.17、 0.50、1.67、5 mg/ml	ラサロシドは代謝活性化系存在下 と非存在下のいずれでも遺伝子変 換、復帰突然変異または有糸分裂 乗換を誘導しなかった	5	5
遺伝毒性	チャイ ニハス ター V79 胞	ラサロシド $1 \sim 20~\mu$ g/ml (代謝活性化系 非存在下) $1~\sim~60~\mu$ g/ml(代謝活性 化系存在下)	高濃度のラサロシドで細胞毒性。 ラサロシドは代謝活性化系存在下 と非存在下のいずれにおいても、 試験に用いた培養哺乳類細胞では 遺伝子の突然変異を誘導しないこ とが示唆された。	5	5
遺伝毒 性:不定 期 DNA 合成試験	雄ラット肝細胞の初代培養	ラサロシド (1)0~12.5 μ g/ml (2)0 ~ 5 μ g/ml	4μ g/ml 以上:強い細胞毒性。 1μ g/ml:形態変化。 ラサロシドは細胞毒性を起こす濃度までは、代謝活性化系存在下と非存在下のいずれにおいても修復にいたるような DNA 損傷を誘導しなかった。そのため、本試験から遺伝毒性の結論は出されなかった。	5	5
遺伝毒 性:染色 体異常	ヒトの 末梢血 リンパ 球	0 ~ 8 mg/ml (代謝活性化系 非存在下) 0~10 μ g/ml (代謝活性化系 存在下)	2~8 µ g/ml では、代謝活性化系存在下と非存在下とも、染色体異常誘発能はなし。 ※高濃度では、細胞毒性により評価ができなかった。	5	6

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
発がん性	マウス	ラサロシドナトリウム 0、10、35、120 mg/kg (最初の 5 週は 20 と 60 mg/kg)	 臨床徴候や眼部への影響、死亡率への影響、体重あるいは飼料摂取量への一貫した影響はなし。 試験中に死亡または安楽死処分した雌では、リンパ肉腫の発生が、低用量と高用量群(それぞれ9例と10例、2つの対照群では3例と5例)で増加。 	6	6
発がん性 (経口)	ラット	ラサロシドナ トリウム 0、10、35、120 mg/kg 混餌投与 130 週以上	全ての影響に対する保守的 NOEL: 10 mg/kg (雄では約 0.5 mg/kg/日、雌では 0.6 mg/kg/日に相当) (5 mg/kg の混餌投与での血糖値の上昇と尿素窒素値の低下および副腎重量の増加に基づく)	6	6
皮膚刺激 性	ウサギ	記載なし	刺激性なし。	6	6
眼刺激性	ウサギ	記載なし	刺激性あり。	6	6
感作性	モルモット	記載なし	ラサロシドで誘発した動物は、媒体のみで誘発した動物よりもラサロシドの投与に対する反応が大きいということはなかった。	6	6
ADI	ヒト		2.5 μ g/kg/日 (すなわち 150 μ g/60 kg 体重 人/日) ラットでの 2 年間慢性経口毒性 試験とウサギでの母体毒性試験から得られた NOEL (0.5 mg/kg/日)に 基づき、神経毒性に関して限られたデータしかないことによる不確 実係数 200 を適用して算出された。	6, 8	7, 8

EMEA/MRL/912/04-FINAL October 2004

動物用医薬品委員会

ラサロシドナトリウム

サマリーレポート

(原文、1ページ)

1. ラサロシドはカルボン酸イオノフィア系の抗生物質である。ラサロシドはナトリウム塩として使用されている(CAS No 25999-20-6)。ラサロシドは $Streptomyces\ lasaliensis$ により生産され、いくつかの密接に関連した同族体 A、B、C、D、E の混合物である。ラサロシド同族体 B、C、D、E の合計は、活性物質であるラサロシドの総重量の 10%に限られている。ラサロシドは主にグラム陽性菌に対して活性をもつ。ラサロシドはニワトリやシチメンチョウのコクシジウム症の予防のための飼料添加物として委員会指令(Council Directive)70/520/EEC の下で認可されている。飼料添加物としては、ラサロシドはニワトリに 0 日から 16 週まで $75\sim125$ mg/kg の用量で継続的に投与され休薬期間(withdrawal period)が 5 日間、七面鳥では $90\sim125$ mg/kg の用量で 12 週齢目まで混餌投与され、投与中止期間が 5 日間である。動物用医薬品としてのラサロシドは、鳥類に対して Eimeriaspp.によるコクシジウム症予防のために使用することが目的である。混餌投与の所要用量(The intended doses)は、ニワトリの肥育で $75\sim120$ mg/kg 、七面鳥で $90\sim120$ mg/kg そしてキジ、ヤマウズラ、ウズラで $90\sim120$ mg/kg である。

ラサロシドナトリウムは人の医薬品では使用されない。

2. ラサロシドナトリウムは二価と一価の陽イオンを結合するカルボン酸イオノフィアである。脂質膜を通過するイオン輸送の変化(alteration)は、細胞からのカテコールアミン分泌を引き起こす。

ラサロシドをイヌに 1 mg/kg 体重の用量で静脈内投与後、明確な心筋収縮に影響を与える作用 (inotropic effect)が認められ、また冠状動脈と腎血流の増加も明らかとなった。 $In\ vitro\$ データは、 $10\ \mu g/ml\$ (培養)で哺乳類細胞標本のゴルジ体における可逆的効果と $0.2\ \mu M$ で血小板からのセロトニン分泌の増加を明らかにした。更なる薬力学的データは入手可能でない。

3. 1 mg/kg 体重の 14 C-ラサロシドをマウスとラットに単回経口投与した後の薬物動態では、ラサロシドの急速な吸収が示された。最大血中濃度 $0.7~\mu$ g/ml と $0.05~\mu$ g/ml がマウスとラットでそれぞれ $0.25~\mu$ g 時間と 3 時間で得られた。マウスとラットの血液中半減期はそれぞれ 3 時間、4.8 時間であった。両動物種とも投与した放射能のほぼ $90\sim95\%$ が投与後 48 時間で糞便から回収され、ラサロシド残留物はほとんどが糞便に排出されることが示唆された。ラットとマウスにおいてラサロシドは広範な分布を示し、筋肉、肝臓、皮膚、脂肪、心臓、胸腺、肺、脾臓など多くの組織に作用している。最も高濃度の組織は肝臓で、最大濃度は $2500\sim4000~\mu$ g/kg の範囲であった。尿中の放射性残留物の排出は両動物種のおよそ 1%であった。腸管にカニューレ挿入したラットに対する $1~\mu$ g/kg 体重の 14C-ラサロシドを強制経口投与の後、投与量の 60%が消化管から血液に吸収された。投与用量の 58%が胆汁で回収され、これは吸収用量のほぼ 100% が胆管により排出されたことを示す。投与用量の 1.1% のみが尿中で回収された。

ニワトリに 75 mg/kg の非標識ラサロシドを 16 日間の混餌投与後、5 mg/kg 体重の用量の標識ラサロシドを含有するカプセルを 3 日間投与し、 14 C-標識ラサロシドの薬物動態の検討を行った。標識ラサロシドの最大血漿濃度は 5.62 μ g/ml で、最後のカプセル投与から 2 時間後に得られた。ラサロシドの血液排出半減期は、最終投与後 3 時間と 48 時間で、ラサロシド濃度は 0.39 μ g/ml に低下した。可食組織の放射能含有量の分析後、放射性残留物の最大濃度は、肝臓、筋肉、脂肪、腎臓でそれぞれ 10.3、0.76、1.4、3 mg/kg であった。排泄物中から回収された総放射性残留物は、投与用量の

95.6%であった。

1日齢の二ワトリ 25 羽に 125 mg/kg 体重相当の 14 C-ラサロシドを含有するカプセルを 7日間混餌投 与後、血漿中に平均濃度 $0.56~\mu$ g/ml の放射性残留物が認められた。血漿の放射能濃度は、投与終了から 7日後、 $0.003~\mu$ g/ml に低下した。投与した標識ラサロシドの 88%が、投与終了日に排泄物に排出され、投与終了から 7日目に排出された分画の線量は 91%であった。 投与終了から 7日後に動物の排泄物中のラサロシド A 成分が分析され、投与された用量の 74.3~76.9% がラサロシド A として排泄物から回収され、0.8~4.1%がラサロシド A の同族体として、そして 0.3~4.4%が未同定の化合物として回収された。

4. ラサロシドの急性毒性を経口、経皮、腹腔内、皮下の暴露経路で研究した。経口で、ラサロシドナトリウムの毒性をマウス、ラット、新生ラットとウサギで試験を行った。これらの動物種では、ラサロシドはマウスと成体ラットで中程度の急性経口毒性を示し、経口 LD_{50} はそれぞれ 146 mg/kg体重と 122 mg/kg 体重であった。ラサロシドは新生ラットとウサギにおいて経口経路では高い毒性を示し、経口 LD_{50} はそれぞれ 33 mg/kg 体重と 40 mg/kg 体重であった。急性経皮毒性試験がウサギで行われた。 24 時間の暴露後、更に 14 日間の観察を行ったところ、ラサロシドは、おおよそ 1400 mg/kg 体重の経皮 LD_{50} と算出され、ラサロシドの毒性が低いことが示された。腹腔内投与の急性毒性をマウスとラットで調査した。毒性の兆候には、マウスでの震戦(tremors)やラットでのチアノーゼ (cyanosis)、自発運動の低下(decreased motor activity)と呼吸抑制 (respiratory depression)が含まれた。用量依存性の死亡率増加が両動物種で認められた。マウスとラットの LD_{50} は それぞれ 68 mg/kg 体重と 26.5 mg/kg 体重 であった。皮下経路での急性毒性については、マウスによる試験が 1 件実施され、 LD_{50} 値は 140 mg/kg 体重と算出された。ウサギと新生ラットは、ラサロシドに対する感受性増大が示唆された。

ニワトリによるラサロシドの急性経口毒性試験は2つの単回投与試験で行われた。

第 1 の最初の単回投与試験では、ラサロシドナトリウムをブロイラーのニワトリに 39 から 317 mg/kg 体重までの異なる用量でカプセルで経口投与した。毒性の発現は急速で、不活発状態 (lethargy)、羽の垂下(wing droop)、うずくまり(resting on hocks)といった臨床兆候があり、そして 概ね 24 時間以内に死亡した。後に死亡したニワトリは衰弱(emaciation)と脱水症状(dehydration)を示した。解剖により、散在した病巣の壊死(scattered foci of necrosis)を伴う腎肥大(nephromegaly)、脾腫張(splenomegaly)、肝腫大(hepatomegaly)が認められた。各バッチでの LD_{50} として、59 と 84 mg/kg 体重が算出された。第 2 の急性毒性試験では、媒体として 5% のアカシア・ゴム又は 5%の乳剤を用いて、ニワトリにラサロシドナトリウムの強制経口投与を行った。ラサロシドナトリウムの経口 LD_{50} は、それぞれの媒体で 112 と 84 mg/kg 体重が算出された。各媒体で、用量依存性の体重抑制が見いだされた。

- 5. ウマや 7 日齢までの子ウシなどの若齢動物でラサロシドの強い毒性が認められた。推定されたラサロシドの経口 LD_{50} はウマで 21.5 mg/kg 体重であった。 臨床症候群には活動低下(depression)、運動失調(ataxia)、知覚異常(paresis)、まひ(paralysis)、食欲不振(anorexia)、横臥(recumbency)がみられた。心筋は強く影響を受けた。 $5\sim8$ mg/kg 体重の用量で若齢子ウシに致死作用を起こした(単回投与または複数回投与)。
- 6. 3つの13週の経口毒性試験がCD ラットで行われた。これらの試験では成体ラット、離乳ラットと 投与した親由来の離乳ラットを使用した。生物学的パラメーターで認められた作用は3件のラット 試験全般の概して一貫性があり、雌はラサロシド投与の影響に対して、雄ラットよりも一貫して高 い感受性を示した。共通の結果として、ヘマトクリット値とヘモグロビンの低下、白血球増加症 (leucocytosis)、少数の標的細胞(small numbers of target cells)、赤血球の浸透圧による溶解耐性 (resistance of erythrocytes to lyses by osmotic stress)、肝臓と腎臓中のヘモシデリンレベルの増加、 アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)とアラニンアミノ トファンスフェラーゼ(ALT)の上昇と心筋の空砲形成(vacuolation of cardiac muscle)があった。

離乳ラットによる 13 週の経口毒性試験で、ラサロシドナトリウムを 1, 2, 3, 10 mg/kg 体重/日の用量で混餌投与した。歩行(gait)、体位(body position)、筋緊張(mustle tone)、脚の動作と反射神経(reflexes)の観察による神経学的試験、眼底検査(ophthalmoscopic examinations)、血液学、血清化学と尿検査の測定が行われた。投与終了時、全ての生存ラットを剖検した。体重増加量の低下と/又は体重減少が 10 mg/kg 体重で見られ、雌でより顕著であった。ヘマトクリット値の低下、ヘモグロビン値の低下、標的細胞の赤血球の減少とわずかな好中球増加症といった血液学的作用が投与したラットで認められたが、雌ではより著しかった。血液学的作用は 2 mg/kg 体重以上を投与した雌と 3 mg/kg 体重以上の用量の雄で認められた。浸透圧による赤血球細胞膜の感受性の低下が 10 mg/kg 体重を投与した何匹かのラットで認められた。血清アルカリホスフィターゼの生物学的に有意な増加とアスパレートアミノトランスフェラーゼ(AST)の上昇が 10 mg/kg 体重の用量を投与した雌に認められた。血清電解質値の変化がも 10 mg/kg 体重で認められた。心筋の空砲が 10 mg/kg 体重を投与した雌に認められ、雌の腎臓と、雄雌の肝臓のヘモシデリンの値の増加がみられたが、3と 10 mg/kg 体重群の雌により顕著であった。2 mg/kg 体重/日群の雌でのヘマトクリット値のわずかな低下とわずかな好中球増加症(neutrophilic leucocytosis)の発症に基づき、1 mg/kg 体重/日の NOEL が確立された。

13週の経口毒性試験がビーグル犬で行われた(用量:2、5、10 mg/kg 体重/日 カプセル利用)。一般行動、毒性の兆候、飼料摂取量を毎日観察し、体重は1週間に1度記録した。投与の前とおよそ毎月の間隔で、眼底検査、神経学的検査、心電図の検査と血液学、血清化学の測定を行った。投与終了時、全てのイヌを剖検し、肉眼で形態異常と全身的な異常と組織構造を検査した。5 mg/kg 体重と 10 mg/kg 体重のラサロシドナトリウムを投与したイヌに、わずかではあるが統計学的に有意な血清 Cl(塩素イオン)の低下が同時実施の対照群と比較して認められた。この低下は生物学的に意味を持つ可能性がある。神経学的臨床兆候(筋肉衰弱(muscular weakness)と/又は後肢の震戦、ぎこちない歩行(awkward))が認められたが、投与群のイヌの中枢神経系と末梢神経に病理組織的変化は認められなかった。10 mg/kg 体重を投与した 3 頭の雌に肝臓実質細胞の空砲形成(vacuolation of hepatic parenchymal cells)が観察された。水腫性の細胞変化(hydropic cellular changes)は一般的には可逆性で非特異的である。この試験の結果から、NOEL 用量はラサロシド 2 mg/kg 体重/日を保持することができる。

2年間の経口慢性毒性試験がビーグル犬(雄と雌)により行われた。ラサロシドを 10、35、180 mg/kgの用量で混餌投与した。臨床徴候と飼料摂取量を毎日測定し記録した。体重は毎週計測した。身体 検査、神経学的試験と組織腫瘤(tissue masses)の触診が試験前と月に一度の間隔で行われた。神経 学的試験には、以下の反射神経の観察が含まれた:立ち直り(righting)、膝蓋骨(patellar)、屈筋(flexor)、 伸筋(extensor)、視覚性置きなおし反応(visual placing response)、角膜と瞳孔。中枢神経系の観察 には、以下が含まれた:挙動、動作、刺激に対する反応性、筋肉の緊張。眼底検査、心電図、血液 学、臨床化学と尿検査のパラメーターが測定された。投与終了時、全ての生存するイヌを剖検し、 全身の異常と組織学の検査を行った。飼料摂取量のわずかな減少が、投与の最初の 3 ヶ月の間に高 用量群で認められた。アルカリホスファターゼ値の上昇が、6ヶ月目から試験終了時まで高用量群で 認められた。神経学的臨床兆候(四肢の間欠性まひ(intermittent paralysis of the limbs))が高用量群 に認められた。それにもかかわらず、投与したイヌの中枢神経系と坐骨神経に組織病理学的変化は 認められなかた。前立腺重量の有意な低下が高用量群の雄で認められた。眼底検査では、網膜の病 変が観察されたが、病変には炎症性の素地(inflammatory basis)がもともとあったかもしれない。器 官重量の変化は組織病理学的病変とは関連していなかった。ラサロシド 180 mg/kg (5 mg/kg 体重/ 日)を混餌投与した雄において、飼料摂取量の一時的な減少、血清アルカリホスファターゼ活性の持 続的上昇、前立腺重量の低下が発生したことに基づき、NOEL はラサロシド 35 mg/kg 飼料 (雄と 雌共におよそ 1 mg/kg 体重/日に相当) が制定された。イヌは、ラットよりもラサロシドの作用に対 して感受性が低いように思われる。

7. ニワトリへのラサロシドの経口毒性は、反復投与試験により研究が行われ。亜慢性混餌投与試験において、飼料中濃度 125~mg/kg までの濃度 (およそ $7\sim11~mg/kg$ 体重/日に相当) では、観察しう

る有害な影響はなかった。

1日齢のヒョコに $75\sim375$ mg/kg の濃度のラサロシドナトリウムを最大 9 週間混餌投与する試験を行った。飼料中濃度 225 mg/kg までは、死亡率、体重、飼料効率または血液学に有意な違いはみられなかった。1日齢のヒョコに対する 13 週間の試験では、225 と 375 mg/kg の飼料で死亡率の増加、体重増加量の抑制と飼料効率の低下が認められたが、血液学への影響は認められなかった。混餌投与でラサロシド 75 mg /kg 又は 150 mg /kg (およそ 8.8 mg/kg 体重/日相当)では有害影響は認められなかった。

- ラサロシドナトリウムの1世代生殖試験がラットで行われた。雄は交配前の21日間および14日間 の交配期間中に投与した。雌は交配前の21日間、14日間の交配期間中、妊娠中、授乳中21日目ま で投与した。F0 の体重と飼料摂取量が試験前とそれ以降は毎週の間隔で測定した。母動物は妊娠日 後、毎週の間隔で計測した。出産後、同腹児の外観異常を検査した。児動物は、出生時に数と体重、 性別を計測し、体重は、さらに毎週計測した。授乳21日目に、児動物を離乳し60匹/性別/用量で、 13 週間の毒性試験のために飼養した。FO 又は F1 世代では、臨床徴候または死亡率に薬物に関連 した影響はなかった。10 mg/kg 体重を投与した親世代の雌の体重は妊娠 0 日目以降、対照群の雌よ りも有意に低かった。出生時の児動物の体重は、投与の影響はなかった。授乳日4、7、14日目では、 10 mg/kg 体重で投与した親動物群の児動物の体重は、対照群の児動物と比較して有意に低かった。 授乳 21 日目でこの差は減少し、統計的有意性はなくなった。認められた異常には、胃壁破裂症 (gastroschisis)(児動物 1 匹、1 mg/kg 体重群)、低い筋肉協調性を伴う四肢の異常屈曲(abnormal flexion of the limbs accompanied by poor muscular coordination)(児動物 1 匹、3 mg/kg 体重の用 量で)、 両側性無眼球症(bilatateral anophthalmia)(児動物 1 匹、1 mg/kg 体重群)と 1 匹の多発性 障害(multiple defects)()10mg/kg 体重) があった。妊娠数や妊娠率、妊娠期間、出生児動物数と平均 産児数、一腹当たりの着床部位の平均数、生存児動物の性別分布、妊娠、生存、授乳指数について、 投与による影響はなかった。胎児の観察は外観の観察に限定された。10 mg/kg 体重/日での母体体 重増加量の抑制の発生に基づき、全ての影響に対する NOEL は3 m g/kg 体重/日が設定された。
- 3世代の生殖試験と催奇形性試験が P1 世代の雄雌各 20 匹と次の世代のラット群により行った。ラ ット(雌雄)に 0、10、35、120 mg/kg 体重のラサロシドナトリウムを 3 世代続けて、交配前 9 週間 混餌投与した。生殖パラメーターの評価に加えて、第一世代の初回の繁殖(P1F1a)の雌を妊娠 13 日 目に屠殺し、そして第三世代の三回目の交配(P3F3c)の雌を妊娠 19 日目に屠殺し、催奇形性の評価 を行った。各世代の成長段階で、高用量群の雌に体重減少がみられたが、P1 雌でのみ統計学的に有 意であった。P1 および P3 の高用量群の雌の妊娠期間にわずかな体重減少がみられたが、統計学的 には有意でなかった。高用量の P1 および P3 の雌の飼料摂取量もまた妊娠期間にわずかに減少した が、P1 の母動物で第一週目のみ有意であった。成長期の飼料摂取量に影響はなかった。高用量群の 妊娠率と出産率は一貫して低下したが、P3F3bでのみ有意であった。離乳率と哺育生存率(lactation survival index)も、P3F3b 高用量の子世代において有意に低下した。出生時の平均産児数は第1世 代と第3世代で、120 mg/kg 投与群で低下した。児動物の出生時体重は各群で同様であったが、出 世以後 4 日目の P2 と P3 児童物は対照群と比較して低かった。黄体数と着床数は P1F1a 世代と P3F3 世代の両方の中用量群と高用群で減少した。120 mg/kg 群で遅発性の骨化症(delayed ossification)の増加がみられたが、F3c 世代の内臓または骨格の異常の発生率に影響はなかった。F3b 世代には組織病理学的所見はみられなかった。本研究の NOEL は、ラサロシド飼料中濃度 10 mg/kg (およそ ラサロシド $0.5\sim0.8 \text{ mg/kg}$ 体重/目)であった。
- 10. 胚・胎児毒性の予備試験を雌のニュージーランドホワイトウサギで行われた。ウサギに 0、1、2、4 mg/kg 体重/日を投与した。妊娠 6 日目から 28 日目まで毎日投与した。臨床徴候は毎日検査し、生存率は 1 日 2 回チェックした。胎児の外観の形態異常を調べ、一腹あたりの生存胎児の総重量を記録した。体重増加の用量依存的な抑制がみられた。早期並びに後期の胚死亡数の増加に起因する平均生存着床数の減少が、4 mg/kg 体重で見いだされた。 胎児体重が全ての用量で抑制された。4 mg/kg 体重を投与した 1 匹に小さい皮弁(small skin flap)を伴う短尾(shortened tail) が認められた。

第2回目の試験が、雌のニュージーランドホワイトウサギで実施された。妊娠6日目から28日目まで、0、0.5、1、2 mg/kg 体重/日を(強制)経口投与した。毎日、臨床兆候を検査した。体重と飼料摂取量は、妊娠4日目または5日目より毎日記録した。妊娠29日目に屠殺し、解剖して胎児を検査した。投与に関連した母動物の死亡はみられなかった。ウサギのラサロシドナトリウム投与は、1 および2 mg/kg 体重で、用量依存性の飼料摂取量の抑制を伴った。このことは、2 mg/kg 体重において、糞便排せつ量の低下と有意な体重/体重増加の抑制をもたらした。2mg/kg では、角膜混濁(corneal opacity)のある胎児の発生率にわずかな増加があった。1 および2 mg/kg 体重/日では、蒼白色の脾臓(pale spleen)の発生率がわずかに増加した。2 mg/kg 体重/日においてのみ、上顎(maxilla) にきょう骨弓(jungals) が融合する胎児の発生率が対照群より多かった。完全な第13過剰肋骨と骨盤帯の位置異常(displaced pelvic girdle)のみられる胎児の発生率が、2 mg/kg 体重/日で対照群と比較してわずかに多かった。2 mg/kg 体重/日では、骨化遅延(不完全骨化)の胎児の発生率が増加した。胎児毒性のNOELは、ラサロシド0.5 mg/kg 体重/日(妊娠成績(pregnancy performance)と胎児体重に基づく)となった。母動物毒性のNOELは、全身毒性に基づきラサロシド0.5 mg/kg/日と考えられている。

11. ラサロシドは、一連の *in vitro* 突然変異性試験系で試験された。DNA 修復試験では、Wilkins-Chalgren ラサロシドの修復欠損細胞(repair-deficient cells)の死滅能について調査した。濃度 1、10、100 μ g/disc のラサロシドナトリウムをジメチルスルホキシドに溶解し、*Bacillus subtilis* M45 株 (DNA 組換え欠損)と H17 株 (DNA 組換 proficient)とともに培養した。24 時間の培養後、各濃度のラサロシドの2つの菌株の増殖阻害帯の差は陽性対照と陰性対照のどちらよりも低かった。よって、本試験ではラサロシドナトリウムは DNA 損傷作用を示さなかった。細菌の復帰突然変異試験では、ラサロシドナトリウムの突然変異の可能性を *Salmonella typhimurium* TA1535 株、TA 1537 株、TA 98 株と TA 100 株、*Escherichia coli* trp-B/r WP2 株と trp-WP2 hcr 株を用いて、代謝活性化系存在下と非存在下で調査した。細菌による復帰突然変異試験の結果は、ラサロシドナトリウムは濃度が最大 2000 μ g/kg/プレートまで代謝活性化系存在下と非存在下のいずれにおいても、試験したこれらの菌株において、遺伝子突然変異を誘導しないことを示した。

酵母試験法では、 $Saccharomyces\ cerevisiae\ D7$ 株を ade 2マーカーを使って、trp5 遺伝子座の遺伝子変換の頻度、有糸分裂組換 (mitotic recombination) とその他の有糸分裂分離 (mitotic segregation) と、ilv1-92 座の変異対立遺伝子($ilv\ 1$ -92 mutant allele)の復帰突然変異を検出するために用いた。代謝活性化系存在下と非存在下の両方で0、0.05、0.17、0.50、1.67 と 5 mg/ml の濃度のラサロシドを用いた。ラサロシドは代謝活性化系存在下と非存在下のいずれでも遺伝子変換、復帰突然変異または有糸分裂交さを誘導しなかった。

ラサロシドの変異原性活性をチャイニーズハムスター肺 V79 細胞の hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferas (HGPRT)遺伝子座で評価された。細胞を $1\sim20\mu g/ml$ のラサロシドとともに代謝活性化系存在下で培養した。高濃度のラサロシドで細胞毒性が認められ、評価を妨げた。本試験の結果は、ラサロシドは代謝活性化系存在下と非存在下のいずれにおいても、試験に用いた培養哺乳類細胞では遺伝子の突然変異を誘導しないことが示唆された。

ラサロシドの遺伝毒性を雄ラット肝細胞の初代培養の不定期 DNA 合成試験で評価した。0 \sim 12.5 μ g/ml のラサロシドを最初に試験し、次に $0\sim$ 5 μ g/ml の濃度のラサロシドを試験した。ラサロシドナトリウムは 4 μ g/ml 同じかそれ以上の濃度では、評価のために利用できる生存細胞が得られず、強い細胞毒性があった。 1μ g/ml の濃度で形態変化(altered morphology)が発生した。ラサロシドは細胞毒性を起こす濃度までは、代謝活性化系存在下と非存在下のいずれにおいても修復に至るような DNA 損傷を誘導しなかった。そのため、本試験から遺伝毒性の結論は出されなかった。

ラサロシドについて、ヒト末梢血リンパ球に染色体異常を誘導する可能性が評価された。代謝活性系非存在下で $0\sim8\mu g/ml$ の濃度で3回、また代謝活性系存在下で $0\sim10\mu g/ml$ の濃度でも行われた。 各試験において、高濃度のラサロシドにおいて細胞毒性により評価ができなかった。しかし、 $2\sim$ 8μg/ml の濃度のラサロシドは、代謝活性化系存在下と非存在下のいずれにおいても、染色体異常誘発能はないことが本試験により結論された。

ラサロシドは、遺伝毒性がないことが結論された。

12. マウスとラットを用いた 2 つの *in vivo* げっ歯類での発がん性試験が報告されている。マウスを用いた試験では、ラサロシドナトリウムを低用量と中用量である 20 と 60 mg/kg が投与された最初の 5 週間を除き、0、10、35 と 120 mg/kg の濃度で 2 年間混餌投与した。臨床徴候や眼部への影響 (ophthalmic effects)は認められず、死亡率への影響はなく、体重あるいは飼料摂取量への一貫した影響もみられなかった。雄と屠殺まで生存した雌では、投与に関連した病理あるいは組織病理は認められず、腫瘍(neoplasms)の発生率は全ての群で同様であった。試験中に死亡または安楽死処分した雌では、リンパ肉腫(lymphosarcoma)の発生が、低用量と高用量群(それぞれ 9 例と 10 例、2 つの対照群では 3 例と 5 例)で増加した。しかし、中用量群の死亡動物(4 例)や、試験終了時まで生存した各投与群の約 50%の動物では増加はみられなかった。投与群の雄あるいは最終屠殺時の雌では、リンパ肉腫の発生の増加は見出されなかった。

ラットによる試験では、ラサロシドナトリウムを 0、10、35、120 mg/kg の濃度で混餌投与した。 1 週間後、ラットを交配した。交配、妊娠と授乳を通して投与を継続した。離乳時、さらに 130 週の投与を継続するため F1 ラットを選択した。本試験終了時の生存率は低かったが($21.8 \sim 43.6\%$)、104 週目の生存率は 50%以上であったため、本試験は適正であるとみなされた。血清尿素窒素(serum blood urea nitrogen)量の低下が、低用量群を含む全用量群で 26 および 78 週目に認められた。腎臓の組織病理学的変化は認められなかった。 27 から 53 週までの期間中、中用量群および/または高用量群の雌 (高用量群でより高い発生率で)と高用量の雄に、握り反射あるいは立ち直り反射が緩慢 (100 100

- 13. ラサロシドの皮膚と眼球刺激を、ニュージーランドウサギを用いて評価を行った。本試験は、ラサロシドは皮膚への刺激性はないが、眼球の刺激性はあることを示唆した。モルモットによるマキシミゼーションテストでラサロシドの感作性(sensitisation potential)を検討した。ラサロシドで誘発した動物は、媒体のみで誘発した動物よりもラサロシドの投与に対する反応が大きいということはなかった。
- 14. 明確な神経毒性の試験はこれまで提供されていない。公表されているデータによると、ラサロシドは鳥類の末梢神経に組織病理学変化を引き起こしたと示している。神経系における生物物理学的または生物化学的変化は、イヌとラットでも記述されている。イヌでの急性、亜慢性、慢性試験では、ラサロシド $5 \, \text{mg/kg}$ 体重またはそれ以上の用量で神経筋への作用が起きたことが示された。これらの用量では、作用は一過性で組織病理学的な所見はなかった。 $1 \, \text{件のラットでの慢性試験では、握り (grasping)}と立ち直り (righting)に対する影響が、およそ <math>2 \, \text{mg/kg}$ と $6 \, \text{mg/kg}$ 体重に相当する投与量で、いくつかの時点で報告された。

総合的に、消費者の安全に対して神経毒性作用の重大なリスクが存在するとはみなされなかった。

- 15. ヒトでの具体的なデータはこれまで提供されていない。ラサロシドは人間の医薬品には使用されていない。
- 16. ラサロシドの毒性学的 ADI は、ラットでの 2 年間慢性経口毒性試験とウサギでの母体毒性試験から得られた NOEL (0.5 mg/kg/日)に基づき、神経毒性に関して限られたデータしかないことによる不確実係数 200 を適用して算出された。

17. 3つの感受性細菌株(Staphylococcus aureus(黄色ブドウ球菌)、Enterococcus faecalis(大便連鎖球菌) そして Clostridium perfringens(ウェルシュ菌)) を亜致死濃度のラサロシドの存在下と非存在下で連続的に 20 回培養した。交差耐性の可能性もまた調査した。ラサロシドの存在下で有意性のない耐性選択圧が認められた。8 種類の抗生物質パネルにおいて交差耐性の選択(cross resistant selection) は認められなかった。

ヒト腸内微生物叢を代表する 15 菌株の嫌気性細菌でラサロシドナトリウムの最小発育阻止濃度 (MIC) が決定された。それらは、*Bacteroides spp.、Fusobacterium spp.、Peptostreptococcus spp* それぞれの 5 つの分離株で構成された。試験系は NCCLS ガイドラインに記述の通り標準寒天希釈 MIC 法(standard agar dilution MIC methodology)に基づいた。MIC の測定は、ヒト腸内生態系の pH 幅を代表する条件の pH 7.1、pH 6.0、pH 8.5 の寒天を使用して行われた。試験した 15 培養系 のうちの 14 について、いずれか 2 つの pH での MIC の差の最大は、MIC シリーズの 2 倍希釈の 2 つと同等であった。*Fusobacterium* の 1 菌株では、pH 8.5 のラサロシドの MIC は pH 7.1 で得られ たよりも 3 倍希釈分高かった(three dilutions higher)。しかしながら、pH 6.0 の MIC もまた pH 7.1 での MIC よりも 2 倍希釈で高かった(by a factor of two dilutions)。よって、寒天 pH でこの菌株に 対するラサロシドの MIC の差異についての明確な傾向はなかった。

ラサロシドの糞便結合試験(faecal binding study)が行われた。ラサロシドの抗菌活性における糞便結合作用について、0、10、20、50% w/v の濃度で無菌保存されたヒトの便を用いて、選択されたラサロシド濃度($0\sim100~\mu g/ml$)で培養することにより検討を行った。最大 8 時間まで各組合せで培養した後、固形便 (faecal solids)を遠心分離で取り除き、上澄みをラサロシドに感受性のある Enterococcus faecalis 菌株に接種し 48 時間培養した。接種したサンプルの抗菌作用を細菌増殖の存在下と非存在下で、24 時間後と 48 時間後に測定した。便の前培養なしでは、 $1~\mu g/ml$ 濃度のラサロシドは、6 サンプリング時点において E. faecalis の増殖を常に阻害した。6 の便で短時間の培養の後、6 が、6 が

ヒトの消化管微生物叢を代表する 84 菌株のラサロシドナトリウムの最小発育阻止濃度(MIC) が決定された。Bifidobacterium spp. 10 菌株、Eubacterium spp. 10 菌株、Clostridium spp. クロストリジウム属菌株、Peptostreptococcus spp. 10 菌株、Lactobacillus acidophilus 3 菌株、Enterococcus spp. 9 菌株、Streptococcus spp. 10 菌株、Bacteroides fragilis 3 菌株、Fusobacterium spp. 7 菌株、Escherichia coli 3 菌株、Proteus spp. 3 菌株、Salmonella enterica serovar Enteritidis または serovar Typhimurium 6 菌株を試験した。採用された試験方法は、嫌気性細菌の試験方法として NCCLS で記述されている MIC 寒天希釈法(M11-43)であった。ラサロシドの蛋白質との結合で説明できる異なる培地間の MIC50 に差異があり、Wilkins-Chalgren 培地の MIC50がラサロシドナトリウムの最小発育阻止濃度の評価には最も適していると考えられた。追加の試験において、ヒトの腸内微生物叢を代表する 30 菌株のラサロシドナトリウムの MIC が決定された。健康で服薬していない人の糞便微生物叢から Bacteroides spp.、Fusobacterium spp.、Peptostreptococcus spp. それぞれ 10 菌株を分離した。試験系は NCCLS に記述される MIC 測定の標準寒天希釈法を使った。

全体の微生物学的 ADI の決定を目的とするため、 *Fusobacterium spp.、Escherichia coli、Proteus* spp.と *Salmonella enterica* の MIC データは、感受性が不足していることから除外され、両試験から得られた *Bifidobacterium* spp、 *Eubacterium* spp、 *Clostridium* spp.、 *Peptostreptococcus* spp.、

Lactobacillus acidophilus、Enterococcus spp.、Streptococcus spp.と Bacteroides fragilis の値が全体の MIC_{50} の決定のために用いられた。 MIC_{50} の最小 10%信頼限界(CL10%lower)は $0.134~\mu$ g/ml であった。

微生物学的 ADI の設定のため、CVMP が了承した以下の公式を使用さしれた。

以上より、微生物学的 ADI は下記の通り算出された。

$$\frac{0.134 \text{ x } 1}{1}$$
 x 220
ADI =
$$\frac{1}{0.1 \text{ x } 60}$$
 = 4.91 μg/kg 体重 i.e. = 294.6 μg/ 60 kg ヒト

下記の通り仮説が立てられた。

- CF1 = 1 ラサロシドまたはその他のイオノフィア系抗生物質において *in vitro* または *in vivo* の条件下で耐性の選択(resistant selection) が実証されなかったため。
- CF2=1 それより高い値の正当性が認められなかったため。
- 投与量のうち利用可能な状態で残っている割合は 10%であった。
- 220 g は 1 日の糞便の重量であった。

4.91μg/kg/日体重の微生物学的 ADI (すなわち 294 μg/ヒト) が算出された。

- 18. 毒性学的 ADI は微生物学的 ADI よりも低いことを考慮し、毒性学的 ADI 2.5 μg/kg/日が消費者の 安全評価の全般的な ADI(overall ADI)と判断された(150 μg/ヒト/日)。
- 19. ニワトリとラットの血漿動態(plasma kinetics)は類似していた。しかしながら、提供されているニワトリの代謝プロフィールは限定的なデータであるため、ニワトリと実験動物でラサロシドの代謝運命を比較することは困難である。
- 20. 14 C 標識ラサロシドの残留をニワトリで、 75 mg/kg の非標識ラサロシドを 16 日間の混餌投与し、続いて 5 mg/日の用量の標識ラサロシドを含有するカプセルを 3 日間投与した試験を行った。可食組織の放射能含有量を分析すると、肝臓、筋肉、脂肪、腎臓の放射能残留量の最大濃度はそれぞれ 10300 、 760 、 1400 、 3000 480 であった。

127 mg/kg の ¹⁴C 標識ラサロシドをブロイラーに 7 日間混餌投与した後、総放射能残留物の濃度をラサロシド A と比較した。投与から 8 時間で、肝臓中の放射能濃度は $2.01~\mu g/m l$ でラサロシド A の 濃度は $0.094~\mu g/m l$ であった。 肝臓中のラサロシド A は放射能残留物の 4.6% であった。

30 羽のコーニッシュ・クロス系ニワトリに 125 mg/kg の非標識ラサロシドを 34 日間混餌投与し、その後 21 日間 132 mg/kg の放射標識ラサロシドを混餌投与した。ニワトリ休薬後(treatment suppression)から 0、1、2、3、4、5 日目に屠殺し、可食組織を回収した。放射性組織の残留物を定量化した。投与後 0 日の脂肪、皮膚、腎臓、筋肉、肝臓の放射能濃度はそれぞれ 860、1590、2480、610、11930 μg/kg であった。投与後 24 時間では、脂肪、皮膚、腎臓、筋肉、肝臓の放射能濃度はそれぞれ 140、220、360、60、2630μg/kg であった。投与後 48 時間の脂肪、皮膚、腎臓、筋肉と肝臓の放射能濃度はそれぞれ 60、130、230、30、1720μg/kg であった。投与後 3 日から 5 日の皮膚、脂肪、筋肉と腎臓の放射性残留物濃度は 200μ g/kg を下回った。投与後 3、4、5 日目の肝臓の放射性濃度はそれぞれ 1590、1370、 1150μ g/kg で、これは残留物の肝臓の排出パターンは相対的に遅いことを示唆していた。

40 匹のブロイラーに、14 日間非標識ラサロシドを 90 mg/kg の濃度で混餌投与した。投与後 0 日から 7 日の血液、肝臓と筋肉のラサロシド濃度を ELISA 法で定量した。ラサロシドの排出半減期は血清、肝臓、筋肉でそれぞれ 11、36、41 時間であった。投与後 7 日で、肝臓においてのみラサロシド濃度が 10μ g/kg を上回っていた。

25 日齢のブロイラーに、125 mg/kg 相当の 14 C 標識ラサロシドを含有するカプセルを 7 日間混餌投与した後、可食組織の総放射能濃度を定量した。また、ラサロシド A 濃度を HPLC 法で定量した。組織の総放射能残留を分析した後、幾つかのラサロシド A 同族体が見いだされ、7 つまでの未知の代謝物が検出された。0 時間の休薬期間で、総放射性残留物は肝臓、腎臓、筋肉、皮膚+脂肪でそれぞれ $^{1.22}$ 、 $^{0.40}$ 、 $^{0.08}$ 、 $^{0.43}$ $^{1.92$

- 21. 0 時間の休薬期間での組織の総放射能残留濃度に基づき、MRLs は、肝臓と皮膚+脂肪で 100 ug/kg、 腎臓 50 μg/kg、筋肉 20 μg/kg が維持された(訳注:本文の位置は原文通り)。ハトとウズラ中のラサ ロシドの組織残留物を検討した。90 mg/kg のラサロシドを 27 日間ウズラに投与した後、組織の濃 度(皮膚、筋肉と皮膚+脂肪)を分析した。最も高かった組織の濃度は、皮膚(298.3 μg/kg、55 μg/kg、 $30.8 \,\mu g/kg$ と $33.7 \,\mu g/kg$ 、それぞれ 投与後 0、 3、 6 と 9 日)で、筋肉のラサロシド濃度の 10 倍 高かった。132 mg/kg のラサロシドナトリウムを 7 日間キジに薬剤添加飼料(medicated feed)で投与 後、肝臓と皮膚+脂肪のラサロシド A の濃度はそれぞれ 28.5 と 30.7 であった。 ラサロシドAは、 標識残留物として、ウズラとキジの組織に認められた。提供された試験は、家禽類への外挿のため 動物由来の食品における動物医療品中の残留物に関するリスク分析アプローチに関する指針書 (Notes for Guidance on Risk Analysis Approach for Residues of Veterinary Medicinal Products in Food of Animal Origin) (EMEA/CVMP/187/00-FINAL)及びマイナー動物種の最大残留基準地設定 (Establishment of Maximum Residue Limits for Minor Animal (EMEA/CVMP/153a/97-FINAL)の要件に従って行われた。この手法は他の家禽類にも適用可能であ り、よってこの観点から全ての家禽類への外挿が可能である。
- 22. ラサロシドナトリウム(ラサロシド A)を定量化するために用いられた分析方法は、液液抽出に続いて 蛍光検出の HPLC 法を伴うものであった。HPLC 法はニワトリの食用組織(筋肉、肝臓、腎臓と皮膚+脂肪)中のラサロシド A の検出を表す。この方法は全組織において 20 \sim 500 μ g/kg の幅で、 定量限界は全組織で 20 μ g/kg、検出限界は筋肉で 0.4 μ g/kg、肝臓で 1.6 μ g/kg 、腎臓で 2 μ g/kg と 皮膚+脂肪で 0.5 μ g/kg で適用可能である。その他のイオノフォア(例えば、モネンシン,サリノマイシンとナラシン)に対する分析方法の正確さ(accuracy)と精度(precision)は、提案された MRLs に従って算出された。この分析方法はウズラとキジ中のラサロシド A の組織残留物の定量化に適用できる。

23. 欧州食品安全機関の FEEDAP パネル(EFSA Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in animal feed)もまた、欧州委員会の物質再評価を行いその有効性と安全性について助言をするという要請に基づきラサロシドナトリウムを含む製品の評価を行っている。EFSA の科学パネルは、提供されたデータは提起されたいくつかの質問に対して最終的な回答を行うには、不十分であることが判明したと結論した。ラットによる 2 年間の慢性毒性試験及びウサギによる母体毒性試験から最小の NOEL (lowest NOEL) 0.5 mg/kg 体重/日が設定され、5 μg/kg の 体重/日 ADI が導かれた。しかし、実験動物(ラット)とニワトリにおけるラサロシドナトリウムの代謝プロフィールの類似性は十分に確立されておらず、よってニワトリ組織の残留物評価の妥当性には懸念が残ると考えられた。肝臓は標的組織として確立されているが、マーカー残留物も MRL も確立することができなかった。委員会は、ラサロシドナトリウムの再評価は、委員会指令 70/524/EEC で定められた条件はラサロシドナトリウムを 15%含有する特定の製品に対して十分であることを示しているため、よって 10 年間は認められるべきであるとした。委員会規則(EC) No 1455/2004 にその判断を公表した。

結論および勧告

次の事を考慮した:

- 毒物学的試験に基づき、ADI 2.5 μg/kg/日 (すなわち 150 μg/60 kg 体重 人/日) が設定された。
- ラサロシド A はマーカー残留物として保持された。マーカー残留物は投与後 0 時間で、肝臓、 腎臓、筋肉、皮膚+脂肪でそれぞれ総残留物の 22%、41%、55%、52%を示した。
- マーカー残留物ラサロシドAはウズラとキジの組織に認められた。
- ニワトリ中のラサロシド A の濃度を測定するための検証されたルーチン分析手法は利用可能である。
- その他の家禽類の残留物をモニタリングする分析手法は利用可能である。
- 0 時間の筋肉の残留物は低値であったことから、筋肉の MRL は分析方法の定量下限で設定された。
- 卵の残留物試験または分析手法は提供されていないため、本物質はその卵がヒトの消費のため に生産される鳥類に使用することは認められない。

動物用医薬品委員会は下表に従い、ラサロシドを委員会規則(EEC)No. 2377/90 の Annex I に含めることを勧告する。

薬理学的	マーカー	動物種	MRLs	標的組織	その他条件
活性物質	残留物				
ラサロシド	ラサロシド	家禽類	20μg/kg	筋肉	卵が人の消費のために
	A		100μg/kg	皮膚 + 脂肪	生産される動物種への
			100μg/kg	肝臓	使用は不可。
			50μg/kg	腎臓	

これらの MRL 値に基づくと、一日摂取量は ADI の約 49.4%に相当する。

原文目次

SUMMARY REPORT	1
Conclusions and recommendation.	10

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
ALP	Alkaline Phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
CAS	Chemical Abstract Service	米国化学会の情報部門であるケミカル・アブ
		ストラクツ・サービス
CVMP	Committee for Medicinal Products for	動物用医薬品委員会
	Veterinary Use	
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid	デオキシリボ核酸
HGPRT	hypoxanthine guanine phosphoribosyl	ヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル
	transferase	基転移酵素
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
LD50	Lethal Dose 50%	半数致死量
MIC	minimal inhibitory concentration	最小発育阻止濃度
MRL	Maximum residue level	残留基準
NCCLS	National Committee for Clinical	米国臨床検査標準委員会
	Laboratory Standards	
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量

ラサロシドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書: EMA, Lasalocid sodium (Extension to eggs): Summary report - Committee for Veterinary Medicinal Products)

一覧表に記入すべき毒性情報はなかった。

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)

EMEA/CVMP/46049/2006-FINAL-corr¹ July 2006

動物用医薬品委員会

ラサロシドナトリウム (卵に拡張)

サマリーレポート

(原文、1ページ)

1. ラサロシドはカルボン酸イオノフィア系の抗生物質である。ラサロシドはナトリウム塩として使用されている(CAS No 25999-20-6)。ラサロシドは $Streptomyces\ lasaliensis$ により生産され、いくつかの密接に関連した同族体 A、B、C、D、E の混合物である。ラサロシド同族体 B、C、D、E の合計は、活性物質であるラサロシドの総重量の 10%に限られている。ラサロシドは主にグラム陽性菌に対して活性をもつ。ラサロシドはニワトリやシチメンチョウのコクシジウム症の予防のための飼料添加物として委員会指令(Council Directive)70/520/EEC の下で認可されている。飼料添加物としては、ラサロシドはニワトリに 0 日から 16 週まで 75 ~125 mg/kg の用量で継続的に投与され体薬期間が 5 日間、シチメンチョウでは 90 ~125 mg/kg の用量で 12 週齢目まで混餌投与され、体薬期間が 5 日間である。動物用医薬品としてのラサロシドは、鳥類に対して $Eimeria\ spp$ によるコクシジウム症予防のために使用することが目的である。混餌投与の所要用量(The intended doses)は、ニワトリの肥育で 75~120 mg/kg 、シチメンチョウで 90~120 mg/kg そしてキジ、ヤマウズラ、ウズラで 90~120 mg/kg である。

ラサロシドナトリウムは人の医薬品では使用されない。

現在、ラサロシドは下表に従い委員会規則(EEC)No 2377/90 の附属書(Annex)I に含まれる。

薬理学的	マーカー	動物種	MRLs	標的組織	その他条件
活性物質	残留物				
ラサロシド	ラサロシド A	家禽類	20 μg/kg	筋肉	その卵が人の消費の
			100 μg/kg	皮膚 + 脂肪	ために生産される動
			100 μg/kg	肝臓	物種へは使用しない
			50 μg/kg	腎臓	こと。

- 2. ラサロシドを卵へ拡張する申請が提出された。提案された家禽類への適応は *Eimeria spp.* による コクシジウム症予防である。提案された飼料中の推奨用量は産卵鶏に $75\sim125$ mg/kg、産卵狩猟鳥類(例えば、キジ、ヤマウズラ)に $90\sim120$ mg/kg、産卵シチメンチョウに $90\sim125$ mg/kg である。
- 3. 24 羽のブロイラー産卵鶏に 12 日連続で放射標識ラサロシドナトリウムを経口投与した。放射標識ラサロシドナトリウムは、薬剤添加飼料の投与をシミュレートするため 125 mg/kg のラサロシドの濃度で、1 日 3 回に分けて投与された。卵は、投与期間中(12 日間)と投与後の 21 日間に回収された。産卵鶏は 12 羽ずつ 2 群に分け、最初の群は卵白と卵黄に分けて放射性残留物の定量に用い、次の群では全卵のラサロシドの残留物を試験した。放射性残留物の総計は、液体シンチレーションアナライザーで定量した。卵白中から検出された総放射性残留物の最大濃度(291 μg/kg) は、卵黄中(32500μg/kg) よりも低く、ラサロシド残留物は卵黄に対して大きな親和性があることを示唆した。卵黄中の総放射性残留物の濃度が、投与 7 日目まで投与期間中に上昇したことは、この組織における残留定

¹論点 3 における産卵鶏に対する用量は、 μ g から mg に訂正された。

常状態の濃度は、達するのが非常に困難であることを示唆する。しかしながら、卵白では、3 日間の投与後にこの定常状態に至っている。全卵の総放射線残留物の濃度パターンは卵黄のパターンに類似しているが、低濃度で定常状態の平均濃度では、およそ $11000 \sim 12000 \, \mu g/kg$ である。投与中止後、放射性残留物の総濃度は 10 日目($207 \, \mu g/kg$)までゆっくり低下し、ラサロシド残留物が長期間卵中に残ることを示唆している。投薬後 0、8、9、10 日目に相当する全卵試料を HPLC 法で分析し、マーカーと総残留物の比を算出するため、ラサロシド A を定量した。この比率は、投与終了時の 0.5 から投与中断 10 日間後に得られた 0.26 の間にあった。投与後 0、8、9、10 日目のマーカー残留物濃度は、それぞれ 6206、460、128、 $61 \, \mu g/kg$ であった。ラサロシド A は、卵中のマーカー残留物として保持され、投与後 9 日目の卵中の総残留物の 37.5%に相当した。

全卵残留抽出物のクロマトグラフィー分離により、投与後 2、8、9日目のラサロシド A のピーク面積割合の平均は 59.5、64.4、65.8 を示した。観察された主要代謝物は、総放射活性面積(total radioactive area)の $27\sim29\%$ を示し、その他の代謝物は $2\sim4\%$ のみを示した。代謝物の分子構造は LC/MS/MS で解明され、全卵に存在する放射線標識残留物はラサロシド A 分子の酸化及び/又はヒドロキシル化の結果によるものであったとの結果が示された。

4. 全卵中のマーカー残留物(ラサロシド A)を測定するルーチン LC-MS/MS 法は ISO 78/2 の標準フォーマットに従って利用できる。本手法は、 $10 \sim 750 \, \mu \text{g/kg}$ の範囲で、定量限界 (LOQ) $10 \, \mu \text{g/kg}$ と検出限界 (LOD) $0.093 \, \mu \text{g/kg}$ で適用できる。正確性および精度は十分に対処されている。モネンシン、サリノマイシンやナラシンなど他のイオノフィア系物質の存在下において、特異性は十分に検証されているとはみなすことはできなかった。貯蔵条件下の飼料中のラサロシド A の安定性については十分に取り組まれなかった。

結論および勧告(原文、2ページ)

次のことを考察した。

- 毒性試験に基づき ADI は 2.5 μg/kg/日 (すなわち 150 μg/60 kg 体重 人/日)が設定された。
- ラサロシド A は卵中のマーカー残留物として同定され、投与後 9 日目で卵中の総残留物の 37.5%に相当した。
- 鶏卵中のラサロシドのMRLは、卵中の放射性残留物排出試験に基づき制定することができる。
- 卵中のラサロシド残留物をモニタリングする分析手法は利用できるが、その他のイオノフィア 系物質の存在下における特異性と貯蔵安定性については検証されていない。

動物用医薬品委員会は、下表に従い、卵について委員会規則(EEC) No 2377/90 の附属書(Annex)III にラサロシドを含めることを勧告する。

薬理学的	マーカー	動物種	MRLs	標的組	その他条件
活性物質	残留物			織	
ラサロシド	ラサロシド A	家禽類	150 μg/kg	卵	暫定 MRLs は 2008 年 1
					月1日に有効期限切れ

委員会はまた、下表に従い、委員会規則(EEC) No 2377/90 の附属書(Annex) I のラサロシドの現在 内容を修正することを勧告する。

薬理学的	マーカー	動物種	MRLs	標的組織	その他条件
活性物質	残留物				
ラサロシド	ラサロシド	家禽類	20 μg/kg	筋肉	
	A		100 μg/kg	皮膚 + 脂肪	
			100 μg/kg	肝臓	
			50 μg/kg	腎臓	

これらの MRLs 値に基づき、一日摂取量は ADI(組織+卵)の約 78.4% に相当する

家禽類の卵について委員会規則(EEC) No. 2377/90 附属書(Annex) I にラサロシドを含めることを認める前に、質問リストに含まれる点に対処されなければならない。

質問リスト(原文、4ページ)

- 1 申請者は次に関係する分析方法の検証を提供しなければならない。
 - モネンシン、サリノマイシンやナラシンなど他のイオノフィア系物質の存在下の特異性について。
 - 基質内(in the matrix)のラサロシドAの貯蔵安定性について。貯蔵状態は検証報告の中に明示され説明されなければならない。

原文目次

SUMMARY REPORT	1	l
Conclusions and recommendation.	2	2
LIST OF QUESTIONS		

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CAS	Chemical Abstract Service	米国化学会の情報部門であるケミカル・アブ
		ストラクツ・サービス
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
180	International Organization for	国際標準化機構
	Standardization	
LC-MS/MS	Liquid Chromatography - tandem Mass	液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計
	Spectrometry	
LOD	Limit of Detection	検出限界
LOQ	Limit of Quantification	定量下限
MRL	Maximum residue level	残留基準

ラサロシドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書: EMA, Lasalocid sodium (Extension to eggs): Summary report (3) - Committee for Veterinary Medicinal Products)

一覧表に記入すべき毒性情報はなかった。

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)

 $\begin{array}{c} EMEA/CVMP/201708/2007\text{-}Final\text{-}corr^1\\ May\ 2007 \end{array}$

動物用医薬品委員会

ラサロシド (卵に拡張)

サマリーレポート

(原文、1ページ)

1. ラサロシドはカルボン酸イオノフィア系の抗生物質である。ラサロシドはナトリウム塩として使用されている(CAS No 25999-20-6)。ラサロシドは $Streptomyces\ lasaliensis$ により生産され、いくつかの密接に関連した同族体 A、B、C、D、E の混合物である。ラサロシド同族体 B、C、D、E の合計は、活性物質であるラサロシドの総重量の 10%に限られている。本物質は主にグラム陽性菌に対して活性をもつ。主にグラム陽性菌に活性がある。動物用医薬品では、ラサロシドは鳥類に対して $Eimeria\ spp$.によるコクシジウム症予防のために、ニワトリの肥育で $75\sim120\ mg/kg$ 、シチメンチョウで $90\sim120\ mg/kg$ 、、そしてキジ、ヤマウズラ、ウズラで $90\sim120\ mg/kg$ の用量で用いられる。産卵鳥 $(laying\ birds)$ における推奨用量は、メンドリでは $75\sim120mg/kg$ 、狩猟鳥では $90\sim120mg/kg$ (e.g. キジ、ヤマウズラ)、七面鳥で $90\sim125mg/kg$ である。

ラサロシドはニワトリやシチメンチョウのコクシジウム症の予防のための飼料添加物として委員会指令(Council Directive)70/520/EEC の下で認可されている。飼料添加物としては、ラサロシドはニワトリに 0 日から 16 週まで 75 ~125 mg/kg の用量で継続的に投与され休薬期間が 5 日間、シチメンチョウでは 90 ~125 mg/kg の用量で 12 週齢目まで混餌投与され、休薬期間が 5 日間である。

ラサロシドは、人の医薬品では使用されない。

現在、ラサロシドは下表に従い委員会規則(EEC)No 2377/90 の附属書(Annex)I に含まれる。

薬理学的活性物質	マーカー 残留物	動物種	MRLs	標的組織	その他条件
ラサロシド	ラサロシド A	家禽類	20 μg/kg 100 μg/kg 100 μg/kg 50 μg/kg	筋肉 皮膚 + 脂肪 肝臓 腎臓	

また、附属書(Annex)IIIには下表に従い含まれる。

薬理学的活性物質	マーカー	動物種	MRLs	標的組織	その他条件
	残留物				
ラサロシド	ラサロシド A	家禽類	150 μg/kg	戼	暫定 MRLs は 2008 年
					1月1日に期限切れと
					なる

¹ 論点 3 における産卵鶏に対する用量は、 μ g から mg に訂正された。

- 2. 家禽類の卵のラサロシドの最終 MRL の設定のために要求していた情報が現在提供された。CVMP は質問リストへの回答を評価し、暫定 MRL は最終値として承認できるとみなした。評価の要旨は以下に提供している。
- 3. 24 羽のブロイラー産卵鶏に 12 日連続で放射標識ラサロシドナトリウムを経口投与した。放射標識 ラサロシドナトリウムは、薬剤添加飼料の投与をシミュレートするため 125 mg/kg のラサロシドの 濃度で、1日3回に分けて投与された。卵は、投与期間中(12日間)と投与後の21日間に回収された。 産卵鶏は12羽ずつ2群に分け、最初の群は卵白と卵黄中に分けて放射性残留物の定量に用い、次の 群では全卵のラサロシドの残留物を試験した。放射性残留物の総計は、液体シンチレーションアナ ライザーで定量した。卵白中から検出された総放射性残留物の最大濃度(291 μg/kg) は、卵黄中 (32500 ug/kg) よりも低く、ラサロシド残留物は卵黄に対して大きな親和性があることを示唆した。 卵黄中の総放射性残留物の濃度が、投与 7 日目まで投与期間中に上昇したことは、この組織におけ る残留定常状態の濃度は、達するのが非常に困難であることを示唆する。しかしながら、卵白では、 3日間の投与後にこの定常状態に至っている。全卵の総放射線残留物の濃度パターンは卵黄のパター ンに類似しているが、低濃度で定常状態の平均濃度では、およそ 11000 ~12000 ug/kg である。投 与中止後、放射性残留物の総濃度は 10 日目(207μg/kg)までゆっくり低下し、ラサロシド残留物が長 期間卵中に残ることを示唆している。投薬後 0、8、9、10 日目に相当する全卵試料を HPLC 法で分 析し、マーカーと総残留物の比を算出するため、ラサロシド A 定量した。この比率は、投与終了時 の 0.5 から投与中断 10 日間後に得られた 0.26 の間にあった。投与後 0.8、9、10 日目のマーカー 残留物濃度は、それぞれ 6206、460、128、61 $\mu g/kg$ であった。ラサロシド A は、卵中のマーカー 残留物として保持され、投与後9日目の卵中の総残留物の37.5%に相当した。

全卵の残留物をクロマトグラフィーによる分離法で抽出し、投与後 2、8、9日目のラサロシド A のピーク面積割合の平均は 59.5、64.4、65.8 であった。観察された主要代謝物は総放射活性面積(total radioactive area)の $27\sim29\%$ を意味し、その他の代謝物は $2\sim4\%$ のみ意味した。代謝物の分子構造は LC/MS/MS で解明され、全卵に存在する放射線標識残留物はラサロシド A 分子の酸化及び/又はヒドロキシル化の結果によるものであったとの結果が示された。

4. 全卵の標識残留物(ラサロシド A)を測定するルーチンの LC-MS/MS 法は ISO 78/2 の標準フォーマットに従い入手可能である。この方法は定量限界 (LOQ) 10 μ g/kg と検出限界(LOD) 0.093 μ g/kg で 10 ~ 750 μ g/kg の範囲で適用できる。正確性および精度は十分に対処されている。他のイオノフィア系物質であるマデュラマイシン(maduramycin)、サリノマイシン、ナラシン、モネシン、セムズラマイシン、ナイカルバジン、ロベニジンの存在下における特異性は実証された。貯蔵条件下での試料中ラサロシド A の安定性もまた証明された。本方法は欧州連合の医薬品に関する規則 8 巻(Volume 8 of the Rules Governing Medicinal Products in the European Union)に従って検証された。

結論及び勧告(原文、3ページ)

次のことを考察した。

- 毒性試験に基づき ADI は 2.5 μg/kg/日 (すなわち 150 μg/60 kg 体重 人/日)が設定された。
- ラサロシド A は卵中のマーカー残留物として同定され、投与後 9 日目で卵中の総残留物の 37.5%に相当した。
- 卵中のラサロシドの残留物をモニタリングする為の検証された分析手法は利用でき。

動物用医薬品委員会は、下表に従い、委員会規則(EEC) No 2377/90 の附属書(Annex) I のラサロシドの記載を、卵を含めるために修正することを勧告する。

薬理学的活性物質	マーカー残留物	動物種	MRLs	標識組織	その他条件
ラサロシド	ラサロシド A	家禽類	20 μg/kg	筋肉	
				皮膚 + 脂肪	
			100 μg/kg	肝臓	
			50 μg/kg	腎臓	
			150 μg/kg	印	

卵の MRL 値と設定されたこれら組織の MRL 値に基づき、理論上の一日摂取量は ADI の約 78.4% に相当する。

原文目次

SUMMARY REPORT	. 1
Conclusions and recommendation.	. 3

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CAS	Chemical Abstract Service	米国化学会の情報部門であるケミカル・アブ
		ストラクツ・サービス
CVMP	Committee for Medicinal Products for	動物用医薬品委員会
	Veterinary Use	
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
MRL	Maximum residue level	残留基準

ラサロシドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書:EMA, Lasalocid (bovine species): European public MRL assessment report

(EPMAR) - Committee for Medicinal Products for Veterinary Use)

一覧表に記入すべき毒性情報はなかった。

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)

MRL 評価報告書 (EPMAR: European public MRL assessment report) ラサロシド (ウシ属)(原文、1ページ)

2012 年 2 月 1 日、欧州委員会は、欧州連合全体で有効なウシ属のラサロシドの最大残留基準値を設定する規則¹を採択した。これらの最大残留基準値は、奨励的な意見(favourable opinion)と動物用医薬品委員会で採択された評価報告書に基づいたものであった。

ラサロシドはコクシジウム症の治療のためウシ属に使用することを目的としており、混餌で経口的に投与される。

ラサロシドは、家禽類の最大残留基準値がすでに設定2されている。

ベルギーのアルファーマ社(Alpharma Belgium BVBA)は、2010年7月28日に最大残留基準値の拡張の申請を欧州医薬品庁に提出した。

関係書類のデータに基づき、動物用医薬品委員会は 2011 年 5 月 5 日にウシ属のラサロシドの最大残留 基準値の設定を勧告した。

続いて、委員会は 2011 年 12 月 1 日に、ウシ属の最大残留基準値が設定されたことを勧告した。この勧告は 2011 年 12 月 22 日に動物用医薬品常任委員会で確認され、2012 年 2 月 1 日に欧州委員会で採択された。

¹ 委員会規則 (EU) No 86/2012, O.J. L30, of 02.02.2012

² 委員会規則 (EC) No 1353/2007, O.J. L303, of 21.11.2007

MRLs を設定するための科学的議論のまとめ(原文、2 ページ)

物質名: ラサロシド・ナトリウム

薬効分類:抗炎症剤/抗生物質申請番号:EU/10/179/ALP

申請者: Alpharma Belgium BVBA

標的種: ウシ

目的とする治療適応症: コクシジウム症 投与経路: 混餌による経口投与

1. 序文(原文、2ページ)

ラサロシドはカルボン酸イオノフィア系の抗生物質でナトリウム塩として使用されている $(CAS\ No\ 25999-20-6)$ 。ラサロシドは $Streptomyces\ lasal\ tab$ $streptomyces\ lasal\ tab$

動物用医薬品では、ラサロシドは家禽類に対し $Eimeria\ spp$.によるコクシジウム症予防のために使用され、肥育鶏で $75\sim125\ mg/kg$ 、シチメンチョウで $90\sim125\ mg/kg$ そしてキジ、ヤマウズラ、ウズラで $90\sim120\ mg/kg$ で混餌投与される。ウシでは、本物質は若齢(非泌乳)ウシのコクシジウム症の治療のため、 $28\ H\ 1\ mg/kg$ 体重の用量、同様に混餌投与される。

ラサロシドは二ワトリやシチメンチョウのコクシジウム症の予防のための飼料添加物として委員会指令(Council Directive)70/524/EEC の下で認可されている。飼料添加物としてのラサロシドは、二ワトリとシチメンチョウに 0 日から 16 週まで継続的に、75 ~125 mg/kg の用量で混餌投与し、投与中止期間は 5 日間である

ラサロシドは人の医薬品では使用されない。

CVMP は以前にラサロシドナトリウムの消費者の安全性を評価しており、ADI 2.5 μ g/kg/日 (すなわち 150 μ g/ 60 kg 体重 人/日)を設定している。

現在、ラサロシドナトリウムは下表に従い、委員会規則 No 37/2010 の附属書に含まれる。

薬理学的活性物	マーカー	動物種	MRLs	標的組織	その他条件	薬効分類
質	残留物					
ラサロシド	ラサロシド	家禽類	20 μg/kg	筋肉	記載なし	抗炎症剤/ 抗
	A		100 μg/kg	皮膚と脂肪		生物質
			100 μg/kg	肝臓		
			50 μg/kg	腎臓		
			150 μg/kg	卯		

2. 科学的リスク評価(原文、3ページ)

2.1. 安全性評価(原文、3ページ)

ラサロシドナトリウムは以前に CVMP が評価を行い、ラットによる 2 年間慢性経口毒性試験による NOEL 0.5 mg/kg/日とウサギによる母体毒性試験で神経毒性に関するデータが限られているため安全 係数 200 を適用し、毒性学的 ADI は 2.5 μ g/kg 体重、すなわち 150 μ g/人が設定された。

そのため、ラサロシドナトリウムの適用拡張の目的として消費者の安全に関する更なる評価は要求されていない。

2.2. 残留評価(原文、3ページ)

2.2.1. 標的動物種(target species)の薬物動態(原文、3ページ)

ウシにおける ¹⁴C 標識ラサロシドナトリウムの動態を GLP 適合試験で 12 頭の若齢反すう肉牛を用いて調査した。ウシに放射能標識ラサロシドナトリウムを含有する経口投与のカプセルを 1 日 2 回 10 日間連続で、1 mg/kg 体重/日の供与量率(a dose rate of)で投与した。4 頭のウシ(雄 2 頭、雌 2 頭)を代謝ケージに入れ、最終投与後から組織残留物分析の為に屠殺した。168 時間(7 日間)まで、血液、尿、便を定期的にサンプリングした。残りの 8 頭のウシは集団で収容し、最終投与の後 4 頭の群(雄 2 頭、雌 2 頭)で 0 時間と 72 時間目にそれぞれ屠殺した。血漿検体の分析により、初回投与の後およそ 144 時間でプラトーに達し、定常状態に達したことを示した。投与休止の後、血漿の値は急速に低下した。排出の主な経路は糞便で、投与した用量の平均 74%が最終投与の後 1 日で、また 80%が最終投与の後 7 日で排出された。対照的に、尿の排出は非常に低かった(7 日の休薬期間で投与した用量の 0.6%)。親化合物のラサロシドはこの 2 試料(糞便と尿)で唯一検出された化合物であった。

肝臓は全放射能残留物の中で最も高値を示し(投与後 0、72、168 時間で、3.6、1.1、 $0.4 \mu g/kg$)、一方で筋肉は低値であった($0.05 \mu g/kg$ 未満)。総残留物濃度は時間の経過とともに徐々に低下した。親化合物のラサロシドとは別に 3 成分が $0.1 \mu g$ 相当/g 以上を構成したが、休薬 0 時間と 72 時間において肝臓中の総放射能残留物(TRR)の 10%未満であった。さらに、多くの微量成分($0.1 \mu g$ 相当/g 未満)が見いだされた、それらは休薬 72 時間ではもはや検出されなかった。見いだされた代謝物の物質情報を LC-MS分析でさらに明らかにした。見いだされた代謝物はジヒドロキシラサロシド(dihydroxylasalocid)、ヒドロキシルラサロシド(hydroxylasalocid)と物質の同定が確立できなかった別の代謝物であった。腎臓では、親化合物ラサロシドは主成分残留物であった。雄の腎臓サンプルから $0.017 \mu g$ 相当/g (28.82% TRR)の未知化合物が検出された。このピークの物質の同定は、後に実施した再分析ではそれが存在しなかっため確立できなかった。質量分析の結果、絶対的な確信で結論することはできないが、このピークは不純物であったと考えられた。脂肪では、親化合物のラサロシドは唯一の重要な化合物であった。雄サンプル中に $0.016 \mu g$ 相当/g (14.09% TRR)の単極(single polar)の未知構成成分が検出された。極性を示す物質が脂肪に蓄積することは疑わしいため、その他の組織や排泄物の結果に基づき、再度、このピークも不純物であったとみなした。筋肉の残留物濃度は、特性評価を行うには低すぎた。

2.2.2. 残留物消失試験(原文、3ページ)

GLP 適合の組織残留物試験が実施された。体重 $49\sim162~kg$ の月齢 $2\sim3$ ヶ月の若齢ウシ 30 頭に、1.05~mg/kg 体重の用量のラサロシドを 28~ 日間連続で混餌投与した。6 頭の群を薬用餌の休薬から 12、24、72、120~ と 168~ 時間で屠殺し、組織を分析した。用いられた分析手法は完全に検証されたもので、全ての組織の定量限界(LOQ) は $5\mu g/kg$ 、検出限界(LOD)は筋肉と腎臓で $0.14~\mu g/kg$ 、肝臓で $0.13~\mu g/kg$ 、脂肪で $2.81~\mu g/kg$ の特異的な LC-MS/MS 法が使用された。この試験では動物はそれぞれの体重に従い個別に投与された。筋肉中のラサロシド A の平均(\pm SD)残留物は、12~ 時間と 24~ 時間の休薬でそれぞれ $12.58~\mu g/kg$ (±9.98)と $13.68~\mu g/kg$ (±6.80)であった。製品の投与後 72~ 時間と 120~ 時間では、ラサロシ

ドAの残留物は筋肉では検出されなかった。投与後 12、24、72 と 120 時間の肝臓中のラサロシド A 残留物はそれぞれ 1165.06 μ g /kg (±300.55)、943.22 μ g /kg (±373.38)、101.39 μ g /kg (±51.09) と 17.90 μ g /kg (±7.80)であった。脂肪と腎臓中では、投与後 12 時間と 24 時間後のサンプルにのみ定量可能な 残留物が認められ、脂肪でそれぞれ 21.73 μ g /kg (±7.91)と 20.14 μ g /kg (±14.25)、腎臓で 22.20 μ g /kg (±6.27) と 26.48 μ g /kg (±15.98) であった。

マーカー残留物の設定

総放射能残留物の結果と代謝プロフィールに基づき、ラサロシド A はマーカー残留物として引き続き用いられた。全残留物に対するマーカーの比率の計算のため、マーカー残留物の濃度と 0 日の休薬時間の総残留物濃度の検討が行われた。得られた比率は、それぞれ肝臓 0.131(0.489/4.047)、腎臓 0.331(0.018/0.056)、脂肪 0.253(0.027/0.107)であった。筋肉中は、見いだされた残留濃度が低かったため比率は 1 とみなされた。

2.2.3. モニタリングあるいは暴露データ(原文、4ページ)

提供されたデータはない。

2.2.4. 残留物モニタリングのための分析方法(原文、4ページ)

ウシの組織中(筋肉、腎臓、肝臓と脂肪)のラサロシド A の定量的測定の分析方法を開発し検証するための研究が行われた。ラサロシド A の定量化は液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (LC-MS/MS)で行われた。全ての分析実験は GLP の原則の下、そして欧州共同体における医薬品に関する規則(Rules Governing Medicinal Products in the European Union)の Volume 8 の申請者への通知 (Notice to Applicants)に規定される勧告に沿って行われた。分析方法の説明は、国際的に認可されたフォーマットに従って提示された。本分析方法は、医薬品に関する規則の Volume 8 の要求に則り検証されたとみなされた。

この分析方法の定量限界は筋肉で 5 μg /kg、脂肪で 10 μg /kg、肝臓で 50 μg/kg そして腎臓で 10 μg/kg と設定され、検出限界は筋肉、腎臓、肝臓、脂肪でそれぞれ、0.14、0.14、0.13、2.81 μg/kg と設定された。

2.2.5. EU または国際的な学術団体の所見(findings) (原文、4ページ)

EFSA の家畜用飼料に用いられる添加物に対する科学パネル(The EFSA Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed) もまた、ラサロシドナトリウムを再評価しその有効性と安全性についてアドバイスをするという欧州委員会の要請に加えて、家禽類において飼料添加剤として用いられる当該物質を含有する製品の評価を行った。EFSA の科学パネルは、提供されたデータは提起されたいくつかの質問に対して最終的な回答を行うには、不十分であることが判明したと結論した。ラットによる 2 年間の慢性毒性試験により最小の NOEL (lowest NOEL) 0.5 mg/kg 体重/日が設定され、安全係数 100 を適用したウサギによる母体毒性試験により、5 μg/kg の 体重/日 ADI が導かれた。しかし、実験動物(ラット)とニワトリにおけるラサロシドナトリウムの代謝プロフィールの類似性は十分に確立されておらず、よってニワトリ組織の残留物評価の妥当性には懸念が残ると考えられた。肝臓は標的組織として確立されているが、マーカー残留物も MRL も確立することができなかった。欧州委員会は、ラサロシドナトリウムの再評価は、委員会指令 70/524/EEC で定められた条件はラサロシドナトリウムを 15%含有する特定の製品に対して十分であることを示しているため、よって 10 年間は認められるべきであるとした。委員会規則(EC) No 1455/2004 にその判断を公表した。本規則は、規則 (EEC) No 2377/90 (規則(EC) No 470/2009 により廃止)のもとで確立されたラサロシドのキャリア(carrier)と MRL の変更3を考慮に入れるために、後に委員会規則 (EC) No 2037/2005 により修正された。

-

³ 訳注:原文 mofidication は modification のスペルミスと解釈した。

委員会規則 (EU) No 874/2010 は、EFSA の意見に従い、細菌および/または *Eimeria spp.*への耐性が 出来る可能性をコントロールするための市販後モニタリングを条件として、ラサロシドを含有する飼料添加物をシチメンチョウに 16 週まで使用することを新たに承認した。本規則は、規則(EU) No 37/2010 で設定した MRL も同様に考慮している。

2007 年 9 月、EFSA は飼料添加物として認可されたラサロシドによる非標的の飼料原料(non-target feeding stuffs)の交差汚染についての意見を提示し、当該意見では、飼料交差汚染により暴露された動物製品中のラサロシド残留物に暴露されることによる消費者の健康悪影響は、10%まであったとしても、起こりそうもない、との結論を述べた。

3. リスク管理の考察(原文、5ページ)

3.1. 工業的食品加工で用いられる微生物への潜在的影響(原文、5ページ)

提供されているデータはない。ラサロシドは微生物学的特性があるにもかかわらず、乳の MRL の設定の提案が行われていないことを考慮し、工業的食品加工における本物質の作用のデータは要求されていない。

3.2. 最大残留基準値設定の為のその他関連リスク管理の考察(原文、5ページ)

なし。

3.3. MRLs の詳細(Elaboration)(原文、5ページ)

組織中の残留物分布と残留物消失データに基づき、肝臓、腎臓、筋肉と脂肪の MRL はそれぞれ 100、20、 10 と 20 μg/kg と勧告することができる。

残留物の理論上一日摂取許容量の計算

組織	MRL	マーカー/総	総残留物	消費係数	摂取量	
	(μg/kg)	比率	(μg/kg)	(kg)	(μg)	
肝臓	100	0.131	763.36	0.1	76.34	
腎臓	20	0.331	60.42	0.05	3.02	
筋肉	10	1	10	0.3	3.00	
脂肪	20	0.253	79.05	0.05	3.95	
総摂取量 (μg)=	86.31					
% of ADI=	% of ADI=					

これらの MRLs 値は ADI の 57.5%を示す。卵からの理論上の摂取量 $(42.2~\mu g)$ を加えると、理論上の総残留物消費量は ADI の 85.5% となる。

本製品は幼若動物への使用を目的としており、乳中の残留物データは提供されていない。よって使用は非泌乳動物に制限されるべきである。

3.4. MRLs の外挿可能性に関する考察原文、6ページ)

規則 (EU) No 470/09 の第 5 条に従い、委員会は、ヒトの健康の保護を高レベルに確保しつつ、食品生産動物に影響を与える疾患に対する動物医薬製品の供給確保を視野に入れ、ウシに推奨されている

MRL を他の食品生産動物へ外挿する可能性を検討した。

MRLs の外挿は、同じ分類(class)の動物種は、類似の代謝と残留のパターンを示すという事実に基づいている。MRLs の外挿を熟考する際、CVMPは、外挿が提案されている動物種/組織中での物質の代謝は元の動物種/組織に類似しているかどうか、そして特に、設定したマーカー残留物が外挿される動物種/組織中で生成されるかどうかについて考慮しなければならない。更に、CVMPはMRLが外挿される食料品の消費の結果起こり得る消費者の残留物への暴露を考慮しなければならない。総残留物に対するマーカーの比率は、食料品の潜在的な総残留物のレベルをMRLから導くことを可能とするツールである。動物種間および種間での組織/食品間の薬物動態に違いがあることから、消費者の安全性を確保しつのMRLの設定を行うためには、各動物種の各組織/食品のこの比率が判ることが理想である。

しかし、マイナーな動物種については、マイナーな動物種中の残留物が消費者に暴露されることが一般 的に限られているという事実により、各動物種の特異的なデータが不足していることによる限界は代償 されているとみなすことができる。現在のところ、

種特異的データの提供なしに、主要動物種の安全な MRL を設定するための科学的論拠は確立されていない。

これら原則は、申請者への通知とガイドライン — 動物医薬品 — 動物由来の食品中の動物医薬品製品の残留物の最大残留基準値(MRLs)の設定 (欧州共同体における医薬品に関する規則 volume 8)に記述されている取り組みの基準(the basis for the approach)を形成し、そこでは、"動物種(class)内の残留物消失の変動の知識を慮し、そしてそれにより暴露評価においては、動物種(class)内のリスクの特性評価は実質的には相違しない"と述べている。そして、動物由来の食品における動物用医薬品中の残留物に関するリスク分析アプローチに関する指針書(Note for guidance on the risk analysis approach for residues of veterinary medicinal products in food of animal origin EMEA/CVMP/187/00-FINAL)で、さらに詳しく述べられている。

マイナー動物種への外挿に関しては、動物由来の食品における動物用医療品中の残留物に関するリスク分析アプローチに関する指針書は、原則として、マイナー動物種への MRLs の外挿、本ケースはヤギへの外挿、を認めている。また指針書では、マイナー動物種中でマーカー残留物が生じるという確認が必要で、残留物コントロールに提案されている分析方法の適用可能性を示すことが必要であると明記している。

既存のデータは、ラット、家禽類とウシにみられる代謝物のパターンは、主要代謝物が親化合物ラサロシドで、類似していることを示唆している。既存の生物種間の代謝データに基づき、親代謝物はヤギ中でも主要代謝物となり、その結果として、親代謝物はウシと同様にヤギにおいてもマーカー残留物として認められる、という仮定が合理的に立てられる。しかし、ヤギの組織と乳中の分析方法の適用可能性を実証するデータが提供されなかった。そのため、ヤギの組織と乳中の残留物のモニタリングに使用することができる残留物コントロール提案された分析方法の確実性が不足しているため、ラサロシドのウシのMRLsをヤギに外挿することは推奨できない。

加えて、CVMP は、ラサロシドは異なる動物種間で異なる毒性プロフィールを示し(他のイオノフィア系物質と同様に)、そのため他の動物種へのラサロシドの使用には可能性のある各標的種における特異的な研究を必要とすると言及した。

3.5. 結論および最大残留基準値についての勧告(原文、7ページ)

以下の事が考慮された。

- ラサロシドのこれまでに設定された ADI は $2.5 \,\mu g/kg$ (すなわち. $150 \,\mu g/ヒト$) であった。
- ウシでは、投与量の80%糞便と尿から変化なく(unaltered)排泄される。
- ウシにおけるラサロシドの代謝プロフィールはニワトリとラットに非常に類似している。
- ラサロシドAはマーカー残留物として保持された。
- ウシ中のマーカー残留物と総残留物の比率は肝臓、腎臓、筋肉、脂肪でそれぞれ、0.131、0.331、1、0.253 である。
- 肝臓は、試験を行った全動物種のラサロシド A の標的組織で、脂肪(ニワトリは脂肪+皮膚)が それに続く。
- 提案されたウシの MRLs は組織の残留物の分布に従う。
- 推奨された MRLs は、後の段階で設定される乳の MRL において考慮されるべきである。
- 欧州共同体における医薬品に関する規則の volume 8 の要件に従って、ウシの組織中の残留物をモニタリングする分析手法は利用可能である。

委員会は下表に従い、2010 年 12 月 22 日の委員会規則(EU) No 37/2010 の付属書(Annex)の表 1 のラサロシドの内容を修正することを勧告する。

薬理学的活性物 質	マーカー残 留物	動物種	MRLs	標的細胞	その他条件	薬効分類
ラサロシド	ラサロシド A	ウシ	10 μg/kg 20 μg/kg 100 μg/kg 20 μg/kg	筋肉 脂肪 肝臓 腎臓	人が消費する乳 を生産する動物 種には使用でき ない。	抗炎症剤/ 抗生物質

4. 手続きの背景情報(原文、7ページ)

書類の提出 2010年7月28日

物質評価のステップ

申請書の検証: 2010 年 8 月 10 日

評価開始: 2010年8月11日

質問リストの採用: 2010年12月8日

質問リストの回答のまとめを提出: 2011年2月4日

評価の再開: 2011年2月5日

 CVMP の意見の採用:
 2011 年 5 月 5 日

原文目次

European public MRL assessment report (EPMAR) Lasalocid (bovine species)1
Summary of the scientific discussion for the establishment of MRLs
1.Introduction
2.Scientific risk assessment
2.2.Residues assessment
2.2.1. Pharmacokinetics in target species
2.2.2. Residue depletion studies
2.2.3. Monitoring or exposure data
2.2.4. Analytical method for monitoring of residues
2.2.5. Findings of EU or international scientific bodies
3.Risk management considerations
3.1.Potential effects on the microorganisms used for industrial food processing5
3.2.Other relevant risk management considerations for the establishment of maximum residue
limits5
3.3.Elaboration of MRLs5
3.4.Considerations on possible extrapolation of MRLs
3.5.Conclusions and recommendation for the establishment of maximum residue limits
4.Background information on the procedure7

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CAS	Chemical Abstract Service	米国化学会の情報部門であるケミカル・アブ ストラクツ・サービス
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
GLP	Good Laboratory Practice	優良試験所基準
LC-MS		液体クロマトグラフ質量分析
LC-MS/MS	Liquid Chromatography - tandem Mass Spectrometry	液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計
LOD	Limit of Detection	検出限界
LOQ	Limit of Quantification	定量下限
MRL	Maximum residue level	残留基準
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
SD	Standard Deviation	標準偏差
TRR	total radioactive residues	全放射性残留物

ラサロシドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書: EFSA, Update of an opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the reevaluation of coccidiostat Avatec in accordance with article 9G of Council Directive 70/524/EEC(EFSA-Q-2004-076))

ラサロシドナトリウムの毒性(特に記載がない場合、投与物質はラサロシドナトリウム)

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性 (経口)	新生ラッ ト		LD ₅₀ : 30mg/kg 体重	33	23
急性毒性 (経口)	新生ウサ ギ		LD ₅₀ : 40mg/kg 体重	33	23
急性毒性 (経口)	ラット		LD ₅₀ : 122mg/kg 体重	33	23
急性毒性 (経口)	マウス		LD ₅₀ : 146mg/kg 体重	33	23
急性毒性 (経口)	イヌ		1回の用量が 5mg/kg 体重までは 良く耐えていたが、20mg/kg 体重 以上では飼料消費量の低下、嘔 吐、後四半部の麻痺、運動失調、 排便、流涎などが生じた。	33	23
急性毒性 (経口)	ウマ	ラサロシド 5、50mg/kg 体 重	LD ₅₀ : 21.5 mg/kg 体重 ※現在は、15、21、22、26mg/kg 体 重での死亡から示唆された最小 毒性用量: 15mg/kg 体重に基づい て LD ₅₀ が推定されている。	40	28
急性毒性 (吸入)	マウス	12.5mg/ L (最大 達成可能濃度) 4時間暴露	暴露期間中の死亡なし。 2時間後:過剰な流涙、軽度の赤色眼漏、粘液性鼻漏の発生。 14日の観察期間:過剰な流涙、重度の角膜混濁、眼瞼腫脹の発生、軽度の赤色眼漏の発生、脱毛、顔や咽喉の周りの黄色い物質の出現および全般的な欠乏症状態。検視では、肺の変色を確認。	42	29
急性毒性 (吸入)	ラット	0 (大気)、0.20、 0.87、2.19、4.11、 8.05mg/L 4 時間暴露	・ 臨床症状は、活動量の低下、ラッセル呼吸音、努力呼吸、喘ぎ呼吸、赤色もしくは粘液性鼻漏など。 ・ 0.87 mg/L 以上: 暴露 14 日後まで死亡あり。 ・ 0.87 mg/L 投与群: 検視により肺の変色、腎盂拡張および肝臓の変色を確認。 ・ 2.19mg/L 投与群: 試験中に体重の減少が比較的大きく、よる腹部の膨張および肺の変色を確認。	42	29

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性(吸入)	モルモット	11.5 mg/L(最大 達成可能濃度) 1 時間	・ 暴露 30 分後:少数の暴露個体に粘液性鼻漏と喘ぎ呼吸。 ・ 45 分後:雌1匹死亡、喘ぎ呼吸の発生が増加。 ・ 0 日目:雄1匹が死亡。 ・ 生存個体の観察:粘液性鼻漏、過剰な流涙、全般的な欠乏力、 ・ 生存個体の観察:粘液性炎炎炎、状態あり。角膜混濁、努力、 ・ 大態あり。角膜混濁、努力、 ・ 大きないで、 ・ をでは14 日間生存した個体に共通。 ・ 全死亡個体に共通する肉による腹部の膨張。	42	30
急性毒性 (経皮)	ウサギ	500 、 1000 、 2000mg/kg 体 重 単回投与 (24 時間の乾燥 粉末の密封経 皮暴露)	1000 および 2000 mg/kg 体重:投与 2~6 日後に死亡あり。 ※この試験では供試動物数が少ないことが指摘されている。	43	30
亜急性毒 性(経口)	ラット	1、2、3、10mg/kg 体重/日 90 日間	 1mg/kg 体重/日。 2mg/kg 体重/日:ヘマトクリット値の僅かな低下や軽度な好中球増加症などの微小などの他小などの他小な変化。 3mg/kg 体重/日:雌ラットに血液学的検査値の僅かなリンの増加。 10mg/kg 体重/日:主に雌ラットに体重増加の減少、血清電解の変化、臓器量の変化、臓器で変化が、血清電が、カードで変化が、血流を質が、大の増加および心筋の空胞形成。 	35	24
亜急性毒 性(経口)	イヌ	2、5、10mg/kg 体重/日 カプセル投与 13 週間	NOEL は 2mg/kg 体重/日 ・ 10mg/kg 体重/日:筋力低下や 後肢の震えなどの一過性の神 経学的変化。 ・ 5mg/kg 体重/日:血清塩化物 値が対照群より僅かに低下。	35	25

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
慢性毒性 (経口)/ 発がん性	ラット	飼料中濃度 10、35、 120mg/kg (雄:0.5、1.8、 6.2mg/kg 体重/ 日、雌:0.6、2.2、 8.1mg/kg 体重/ 日に相当)	NOEL: 雄ではラサロシドナトリウム 0.5mg/kg 体重/日、雌では 0.6mg/kg 体重/日。 ・ 35 および 120mg/kg: 血中グルコース濃度の増加と BUN 濃度の低下。肝臓重量、副腎重量の増加。 ・ ど用量でも腫瘍の増加が認められなかったことから、ラサロシドナトリウムは発がん性を有していないと判断された。	36	25
慢性毒性 (経口)/ 発がん性	イヌ	飼料中濃度 10、 25 、 180mg/kg (0.3、1、6mg/kg 体重/日に相当) 1 年間?	NOEL は 1mg/kg 体重/日。 ・ 180mg/kg: 飼料消費量の僅かな低下。前立腺重量の低下(6 および12ヶ月後)および睾丸重量の増加。 ・ 前立腺を含めたどの組織も、肉眼および顕微鏡検査で異常がなく、ラサロシドナトリウムは発癌性ではないと判断された。	37	26
生殖毒性	ラット	1、2、3、10 mg/kg 体重/日 交配前の 21 日間と交配期間 中 14 日間、雌 は離乳まで	母体および新生児毒性に関する NOEL は 3 mg/kg 体重/日。 ・ 10 mg/kg 体重/日: 雌親で体重 増加量の低下。児動物で哺育 4、7 および 14 日に体重増加 量の低下。	37	26
生殖毒性	ラット	10、35、120 mg/kg feed (雄では 0.6~0.8、1.9~2.9、6.9~10.1 mg/kg 体重/日、雌では 0.7~1.1、2.6~3.7、8.3~14.2 mg/kg 体重/日に相当) 交配前の 9 週間とその後の期間、3 世代	生殖影響に関する NOEL: 雄で 0.6 mg/kg 体重/日、雌で 0.7 mg/kg 体重/日。 ・ 35 および 120 mg/kg: F2 世代の平均黄体数、着床数が低下。 ・ 120 mg/kg: F0 および F2 世代の雌の妊娠中の摂餌量が低。妊娠期間中の摂餌量低下。F0 および F2 世代の雌の妊娠期間の平均摂餌量が低。全世代を通じた妊娠率と出生率が低。F2a 児の世代で産児体重が低。	38	26

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
生殖毒性	ウサギ	ラサロシド 0、0.5、1、2 mg/kg 体重/日	胎児毒性に関する NOEL:	38	27
遺伝毒 性:DNA 修復試験 (in vitro)	B. subtilis	0(DMSO) 、 0 (水)、1、10、100 µ g/disc.	100 µ g/disc.まで 陰性	34	23
遺伝毒 性:復帰突 然変異(in vitro)	S. typhimuri um, E. coli	0(DMSO) 0(水)、100、200、 500、1000、2000 μ g/plate	2000 μ g/plate まで陰性(±S9)	34	23
遺伝毒 性:復帰突 然変異/ 有糸分裂 乗換(in vitro)	S. cerevisiae	0(DMSO), 0.05, 0.17, 0.50, 1.67, 5.0mg/ml	5mg/ml まで陰性(±S9)	34	23
遺伝毒 性:前進突 然変異(in vitro)	チャイニ ーズハム スター V79 細胞	0(DMSO), 1, 5, 10, 15, 20 μ g/ml (±S9), 0(DMSO), 1, 10, 20, 40, 60 μ g/ml(+S9)	15μg/ml まで陰性(±S9)	34	23
遺伝毒 性:不定期 DNA 合成 (in vitro)	ラット肝細胞	0 (DMSO)、0.5、 1.0、2.5、5.0、 7.5、10.0、12.5 μ g/ml、 2 回目: 0 (DMSO)、0.5、 1.0、2.0、3.0、 4.0、5.0 μ g/ml	4μg/ml まで陰性	34	23

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版(ページ)	原文 (ページ)
遺伝毒 性:染色体 異常(in vitro)	ヒト末梢 血リンパ 球	0 (溶媒)、0 (陰 性)、4、6、7μ g/ml DMSO(± S9); 2 回目 0、5、6、 7 μg/ml(-S9)、 0、0、2、4、6、 8 、 10 μ g/ml(+S9)	8μg/ml まで陰性(±S9)	34	23
皮膚刺激性	ウサギ	蒸留水で湿ら せた 500mg の ラサロシド トリウム粉末 有傷皮膚と4 時間 局所投与	暴露終了から 4、24、48 時間後: 毒性や刺激性の兆候なし。	43	30
眼刺激性	ウサギ	0.036g (0.1mL) が各個体の片 目の結膜嚢に 単回滴下	滴下5分後に水で眼を洗浄した 群、滴下24時間後に同様に眼を 洗浄した群どちらも、結膜の充血 が認められた。	44	30
皮膚感作性	モルモット	経皮および局 所暴露	投与群、対照群とも暴露後に紅斑 が出現したが、紅斑の程度には有 意差は無かった。両群とも浮腫は 発生しなかった。	44	31
その他:心臓への影響(静脈 内)	イヌ	ラサロシド lmg/kg 体重/日	ラサロシドが心筋機能と冠血流量に及ぼす影響、出血性ショックを与えている間の心筋機能と腎血流量を調査。ラサロシド投与は、陽性の変力作用と冠血流量および腎血流量の増加をもたらした。	39	28
ADI	ヒト		ADI=0.005mg/kg 体重/日(体重60kgのヒト1人あたり0.3mg/日に相当)2年間のラット慢性経口毒性試験とウサギ母体毒性試験から得られた最も低いNOEL:0.5mg/kg 体重/日に、安全係数を100として計算。	41	29

理事会指令70/524/EEC第9G条に基づく抗コクシジウム剤アバテックの再評価についての動物飼料用の添加物および製剤または物質に関する科学パネルの意見書1の最新版2

(EFSA-Q-2004-076)

2004年7月1日採択

要約(原文、1ページ)

アバテックは、家禽類の消耗性原虫感染症の一種"コクシジウム症"の抑制に用いる飼料添加物である。他の多くの抗コクシジウム剤とともに、アバテックは EU レベルで認められた法定要件への適合性の再評価が実施されることになっている。欧州委員会は EFSA に製剤アバテックの再評価およびアバテックの効果と安全性に関する情報提供を要請した。この件は"動物飼料用の添加物および製剤もしくは物質に関する科学パネル"(FEEDAP パネル)に任せられた。関係書類に提供されたデータは、欧州委員会からの幾つかの質問に対して最終的な返答をするには不十分であった。

アバテックは、ポリエーテル系イオノフォア化合物群の一種であるラサロシドを 15%含み、肥育鶏や産卵鶏のコクシジウム症抑制の目的で完全配合飼料 1kg あたりラサロシドナトリウム $75\sim125$ mg の用量で用いられる。

添加物の効果は、肥育鶏もしくは産卵鶏のいずれの野外試験もおこなわれていないため、十分に評価することができない。しかし、平飼い試験では 3 つの受け入れ可能な研究が提出され、肥育鶏には 90 mg が有効であることが示唆された。産卵鶏に関しては、飼料への 90 mg/kg feed の継続的添加および 105 mg/kg + 80 mg/kg の 2 回添加が有効であることが示された。したがって、会社側が主張する用量の妥当性は立証されなかった。

アバテックは感染程度を他の抗コクシジウム剤と同じレベルにまで低下させた。このことは、会社側から提出されたデータや最近の文献でも確認できる。野外で *Eimeria spp.*(アイメリア属原虫)のラサロシドナトリウム抵抗性に異常が生じる可能性は無いと判断する。

¹ 2004年4月15日採択、EFSA Journal (2004) 53, 1-44

 $^{^2}$ この最新版は、補足関係書類に提供された新しいデータに基づいて製剤の安全性に関する意見を出すようにとの欧州委員会の要請に応じたものである。修正箇所は文書の 2、20、22、27、28、29 および 38 ページの太字の部分である。

ラサロシドナトリウムはグラム陽性細菌に対する選択的な抗微生物活性を有するが、グラム陰性細菌の多くは自然抵抗性である。抵抗性や交差抵抗性の誘導は認められなかった。 肥育鶏における *Salmonella Typhimurium* 菌排出の増加が2つの試験で示された。しかし、この点ではおそらくラサロシドは他のイオノフォア類と変わりないと思われる。

耐性試験では、ラサロシドナトリウムを完全配合飼料 1kg あたり 150mg もしくは最大推奨 用量(同125mg/kg)の1.2倍投与した肥育鶏に悪影響は認められなかった。産卵鶏の場合も、125mg/kg を投与した場合の安全性を裏付けるデータしか提供されていないが、同量のラサロシドナトリウムを投与できると FEEDAP パネルは考える。

養鶏に用いられたラサロシドナトリウムとチアムリンの相互作用の可能性に関する提出データは不十分であった。したがって、FEEDAPパネルはラサロシドナトリウムとチアムリンの同時投与は避けた方が安全であり、現在おこなっている忠告は続けるべきであると考える。日常的に肥育鶏や産卵鶏に与えている用量では、ラサロシドは馬や他のウマ科動物に対して毒性である。これに関しての使用上の注意での警告が推奨される。

ラサロシドナトリウムは吸収・代謝されて多くの代謝物に転換されるが、これまでに排泄 物中および組織中のいずれの代謝物も同定されていない。**肝臓が標的組織であるが、**指標 残留物は同定されていない。代謝の定量的側面は、まだ明確な立証がなされていない。

ラサロシドナトリウムは遺伝毒性ではなく、発癌性を示す証拠も存在しない。2年間のラット慢性経口毒性試験とウサギ母体毒性試験から、最も低い値の 0.5mg/kg 体重/日が NOEL に設定されている。安全係数 100 の適用により、ADI は 0.005mg/kg 体重/日(すなわち体重60kg のヒトに対して 0.3mg/日)となった。しかし、実験動物(ラット)とニワトリにおけるラサロシドナトリウムの代謝プロファイルの類似性は完全には立証されていない。したがって、ニワトリ組織中残留物の評価の妥当性には懸念が残り、MRL を設定することはできない。

動物飼料中のラサロシドナトリウムのモニタリングに有効な分析方法が利用可能である。 また、食品中の残留ラサロシドの測定のための各種分析方法も利用可能であるが、指標残 留物は同定されていない。

ラサロシドナトリウムは、気道や肺に局所毒性を、他の臓器に全身毒性を引き起こす可能性を有していた。ラサロシドナトリウムは皮膚刺激や皮膚感作を生じなかったが、眼刺激を引き起こした。取り扱いの際は常に、作業者のアバテック暴露を軽減するための適正なリスク管理方法の利用や防護対策の実施が推奨される。

提供されたデータによると、最大推奨用量でのアバテック使用によってもたらされる陸生および水生生物に対するリスクの可能性は排除できない。しかし、実際には PEC/PNEC 比を下げると思われる多くの要因がある(代謝や生物分解など)。これらのことを考慮すると、定量化は可能ではないが、陸圏および水圏環境に対するリスクは低いと考えられる。

キーワード:アバテック、抗コクシジウム剤、飼料添加物、ラサロシドナトリウム、抗コクシジウム作用、微生物学的リスク、対象動物安全性、消費者安全性、ADI、MRL、作業者安全性、環境安全性

背景(原文、3ページ)

理事会指令 70/524/EEC 第 9g 条(理事会指令 96/51/EC に改正)によると、流通担当者が関与して 1988 年 1 月 1 日までに付則 I に盛り込む認可を受けようとする添加物は再評価を受けなければならない。

理事会指令 70/524/EEC 第 9g 条によると、各製剤の担当者は 1998 年 10 月 1 日までにモノグラフや識別記号とともにその製剤の新しい認可申請書を提出しなければならない。 さらに、関係書類は 70/524/EEC 第 4 条に従って 2000 年 10 月 1 日までに提出されなければならない。

この指令は関係書類の再評価を提出3年後、すなわち2003年10月1日までには済ませることを求めている。

2000 年 10 月 1 日の期限までに 15 個の関係書類が提出されている。各報告担当加盟国およびその他の加盟国は、理事会指令 87/153/EEC(理事会指令 94/40/EC に改正)に定められた動物栄養における添加物の審査指針との関係書類の適合性を調べた。その結果は 2001 年 1 月 29 日の動物栄養に関する常任委員会の会議の場で承認された。

"抗コクシジウム剤等の薬剤"の区分に属する製剤に関する 7 個の関係書類は指針の必要要件を満たしており、したがって再評価は続けられている。

抗コクシジウム剤

- ・デコキネート (Deccox®: デコックス)
- ・ハロフジノン (Stenorol®:ステノロール)
- ・ラサロシドナトリウム (Avatec 15 %®: アバテック)
- ・モネンシンナトリウム (Elancoban®:エランコバン)
- ・ナラシン (Monteban®: モンテバン)
- ・サリノマイシンナトリウム (Sacox 120 micro-Granulate®: サコックス 120 微粒剤)
- ・塩酸ロベニジン (Cycostat 66G®)

動物栄養に関する常任委員会は、2001年1月29日にこれらの製剤の効果と安全性に関する再評価を開始した。

本意見書は抗コクシジウム剤アバテック 15%に関するものである。

委託事項(原文、3ページ)

委員会は、上記の各製剤の審査とそれらの効果および安全性に関する助言を EFSA に求めた。動物飼料用の添加物および製剤もしくは物質に関する科学パネル(Panel on Additives and Products or Substances in Animal Feed: FEEDAP パネル)は、提出書類に基づく添加物アバテックの審査の中で以下の質問に応えるよう求められた。

飼料用添加物としての使用のために提案された条件下で(表 1)、

- ・本製剤の効果は示されているか?
- ・本製剤の使用が予防もしくは治療用製剤に対する細菌の抵抗性発達を引き起こす可能性はないか?
- ・本製剤とその代謝物は以下のものに対して安全であるか?
 - 対象動物
 - 使用者
 - 消費者
 - 環境
- ・本製剤はモニタリングが可能であるか?

付則記載事項(原文、4ページ)

表 1. 添加物の使用条件

添加物	組成、	動物の	最大	最小	最大	その他の規定
(商標名)	化学式、	種	齢数	含有量	含有量	
	説明	または				
		分類				
				完全配	合飼料	
				1kg あた	きりの活	
				性物質ı	ng	
ラサロシド	C ₃₄ H ₅₃ O ₈ Na	肥育鶏	-	75	125	使用上の注意で、少なく
ナトリウム	(Streptomyces					とも食肉処理前5日間の
(アバテック	<i>lasaliensis</i> 菌に					使用禁止を指示:
15%)	よって生成され					"この飼料はイオノフォ
	るポリエーテル					アを含んでいます:他の
	モノカルボン酸					薬物との併用は禁忌で
	のナトリウム					j "
	塩)					
		産卵鶏	16 週	75	125	使用上の注意で指示:
						"この飼料はイオノフォ
						アを含んでいます:他の
						薬物との併用は禁忌で
						 "

Table of Contents

Summary	1
Background	3
Terms of reference	3
Annex inscriptions	4
Assessment	7
1. Introduction	7
1.1. Physical and chemical properties	7
1.2. Mode of action	8
1.3. Stability	8
1.4. Control methods	8
2. Efficacy	9
2.1. Dose titration and confirmation studies	9
2.2. Controlled floor pen studies	10
2.3. Controlled field trials	12
2.4. Studies on the development/incidence of resistance in Eimeria	12
2.5. Quality of animal produce	14
2.6. Conclusion on efficacy for chickens for fattening and reared for laying hens	14
3. Safety - Studies on target species	15
3.1. Tolerance tests on target species	15
3.2. Incompatibilities or interactions	16
3.3. Microbiological safety	17
3.4. Conclusion on tolerance, interactions and microbiological safety	18
3.5. Metabolism	19
3.6. Residues	20
3.7 Conclusion on metabolism and residues	22
4. Safety - Studies on laboratory animals	22
4.1. Pharmacokinetics and metabolism in laboratory animals	22
4.2. Acute toxicity in laboratory animals	23
4.3. Mutagenicity	23
4.4. Subchronic (90-day) oral toxicity studies	24
4.5. Chronic oral toxicity studies (including carcinogenicity studies)	25
4.6. Reproduction toxicity studies including teratogenicity	26
4.8. Conclusion	28
5. Safety evaluation for the human consumer	28
5.2. Proposal for an ADI	29

ラサロシド_EFSA_01

5.3. Proposal for maximum residue limits (MRL's)	29
6. User safety assessment	29
6.1. Acute inhalation toxicity	29
6.2. Dermal and eye toxicity	30
6.3. Skin irritation	30
6.4. Eye irritation	30
6.5. Skin sensitisation	31
6.6. Conclusions on user safety	31
7. Environment	31
7.1. Exposure assessment	31
7.2. Effect assessment	34
7.3. Risk Characterisation	36
7.4. Conclusion	36
CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	37
Documentation provided to EFSA	39
References	40
Panel Members	42
Acknowledgement	42

評価(原文 7 ページ)

1. 序文(原文、7ページ)

アバテック(Avatec 15 %®)は、肥育鶏(ブロイラー)および産卵鶏用の飼料添加物である。本製剤は抗コクシジウム剤として 1970 年代前半に開発された。ヨーロッパでは、アバテックは理事会指令 70/524/EEC の付則 I に肥育鶏に関しては 1983 年、産卵鶏に関しては 1984 年、シチメンチョウに関しては 1992 年に記載された。

アバテックは活性成分としてラサロシドナトリウム 15%、賦形剤としてレシチン 2%、大豆油 2%、酸化鉄 0.05%、その他にトウモロコシ穂軸ミールを含む粒剤である。本製剤は肥育鶏には食肉処理 5 日前までライフサイクル全般に、産卵鶏には 16 週齢まで混餌される。提案された濃度は完全配合飼料 1kg あたりラサロシドナトリウム $75\sim125$ mg であった。推奨濃度は 0.6kg/t で、最終濃度はラサロシドナトリウム 90mg/kg となる。

ラサロシドナトリウムは二価のポリエーテル系イオノフォア化合物群に属する。糖質、植物油、オレイン酸およびエステル類、複合窒素源および無機塩類の培地上で、Streptomyces lasaliensis subsp lasaliensis (ATCC 31180)の発酵によって生成される。ラサロシドナトリウムは酸性化によって発酵培地から回収され、酢酸エチルで抽出される。ラサロシドナトリウムは、水酸化ナトリウム水溶液を添加してから蒸留により酢酸エチルを除去し、得られた水生懸濁液を乾燥することによって得られる。主要活性成分はラサロシドナトリウムA(ナトリウム6-3R,4S,5S,7R)-7-[2S,3S,5S)-5-エチル-5-[(2R,5R,6S)-5-エチル-5-ヒドロキシ-6-メチルテトラハイドロ-2H-ピラン-2-イル]-テトラハイドロ-3-メチル-2-フリル]-4-ヒドロキシ-3,5-ジメチル-6-オキソノニル]-2,3-クレソチン酸; $C_{34}H_{54}O_{8}Na$;CAS番号25999-20-6)であり、少なくとも活性物質の90%を占める。

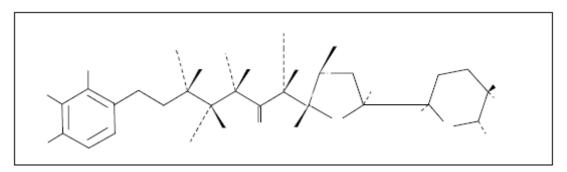


図 1. ラサロシドの化学構造

申請者から提示された純度は無水物ベースで最低 80%であり、FEEDAP パネルの見方ではかなり低いようである。ラサロシドの同族体 B、C、D および E が存在し、それぞれ異なる位置のメチル基 1 つがエチル基に置換された構造を持ち、ラサロシドナトリウムの最大 10%を占めるが、一般的には 6%未満である。類型分析で示された比率は、ラサロシドナトリウム A が 93.5%で、同族体 B、C、D および E はそれぞれ 0.9、1.5、1.5 および 2.2 %であった。品質管理検査パラメータには重金属類(Cd、Pb、As、Hg)や各種有機汚染物質(アフラトキシン B_1 、有機塩素系農薬などの農薬類)が含まれ、十分な要件を満たしている。なお、最終製剤は生細胞を通過できない。

1.1. 物理化学特性(原文、7ページ)

ラサロシドナトリウムの物理特性を表 2 に示した。ラサロシドナトリウムの蒸気圧は情報 提供されなかったが、環境リスク評価において大気への分配は無視できると考えられる。

2021	1	
パラメータ	値	条件
分子量	612.8 g /mol	ナトリウム含有
水溶性	$1.06~\mathrm{g}$ /L	MQ ミリポア水、30℃
オクタノール/水分配係数(対数値)	2.3	HPLC 法
	1.4	フラスコ振盪法

表 2. ラサロシドナトリウムの物理特性3

1.2. 作用機序(原文、8ページ)

ラサロシドナトリウムは、他のイオノフォア類と同様に各種イオンとの親和性を有し、一価および二価カチオンと結合することによって生体膜透過性が高くなる。これが要因となり細胞の正常な生理的過程に混乱をもたらす。ラサロシドナトリウムを暴露した腸管腔内のコクシジウム種虫(スポロゾイト)は、大きく膨張して小胞が巨大化し、表面に孔が開いて浸透圧に著しい致死的なダメージを受ける。いずれのイオノフォアが蓄積しても、ラサロシドナトリウム暴露した腸管腔内のアイメリア属(Eimeria)原虫のスポロゾイトは、宿主細胞侵入後の生理的撹乱作用を持続する。したがって、ラサロシドナトリウムは宿主細胞に比較的無害なままで、細胞内のスポロゾイトを選択的に破壊することができる。

³ Dossier Section V p. 15

1.3. 安定性(原文、8ページ)

ラサロシドナトリウム試料が、酸および塩基性溶液、酸化および UV 照射 4 に暴露された。 高温による影響も、他の変数と組み合わせて調べられた。pH10 で 80° Cに暴露した結果、 48 時間以内に効力が 30%失われた。pH12 の条件下では、本化合物は不安定になり、効力 は 8 時間経たないうちに失われた。なお常温では、ラサロシドナトリウムは安定であった。

調製および貯蔵中の安定性に関する 3 つの試験で供試された飼料試料中のアバテック 15% のラサロシドナトリウム濃度が調べられた5。ラサロシド濃度は、1 ヶ月貯蔵後に 1%、3 ヶ月貯蔵後に5%低下した。本製剤は3 ヶ月貯蔵される飼料中では安定と考えることができる。

1.4. 分析方法(原文、8ページ)

1.4.1. ニワトリ飼料中のラサロシドナトリウムの測定(原文、8ページ)

予混合物および飼料中のラサロシドナトリウムの定量のために、HPLC-蛍光検出法が開発されている。本定量法の再現性と精度が確認され、マトリックス干渉が生じないことも調べられている6。本定量法は委員会公認の方法として採用されている6(委員会指令1999/76/EC)。予混合物および飼料のいずれの場合も検出限界(limits of detection: LOD)および定量限界(limits of quantification: LOQ)は、それぞれ5および30mg/kg である。

1.4.2. 組織中の残留ラサロシドの測定(原文、8ページ)

ニワトリの筋肉、肝臓および脂肪中のラサロシドの定量法が幾つか公表されている。これらは飼料の分析に用いられるHPLC法を改良したもの(Weiss *et al.*,1983)であるが、ガスクロマトグラフィーやELISA法を用いたものもある。HPLC法は標的組織と考えられる皮膚

⁴ Additional dossier (2003). Section II, Volume 3

⁵ Biedermann, et al. (2000) Additional Dossier (2003). Section II, Volume 3, Annex 25

⁶ Section II, vol.3, Annex 27, May 2003

と脂肪の分析のために開発され、アメリカでおこなわれた室内試験で有効性が確認されている(Frank and Barnes, 1989)。LOQは0.3mg/kgとなっている。

2. 効果(原文、9ページ)

委員会指令2001/79/ECは、本製剤の効果に関する対象動物の3段階の試験データの提出を求めている:(a)バタリーケージ試験(単独および複合感染)、(b)平飼い試験(模擬使用条件)および(c)野外試験(実使用条件)。

抗コクシジウム剤の長期間にわたる継続的な使用と遺伝的進歩による体重の改善は、 *Eimeria* spp.個体群の抗コクシジウム剤に対する感受性を変化させている可能性がある。また、指令は"関係書類は現状の知見に基づいて添加物の審査ができるようにしなければならない"と明言している。このアバテック15%の再評価では、FEEDAPパネルは1990年前後以降に実施された効力試験のみを参考にしている。

FEEDAPパネルはバタリーケージ試験に1つだけ例外を認めている。この試験は、単独および複合感染に対する添加物の抗コクシジウム効果の重要な発見や確認、もしくは用量漸増試験に役立つものである。

委員会指令2001/79/ECは各対象動物の3段階(バタリー、平飼いおよび野外)の試験を求めているが、FEEDAPパネルは産卵鶏にも肥育鶏と同種のEimeria属原虫が感染すると考え、産卵鶏に関しては十分な数の肥育鶏の試験データが提出された場合に限り例外を認めている。産卵鶏は肥育鶏に比べて、品種が多様、成長速度が遅い、飼料摂取量が多い、および添加物投与期間が長いなどの特徴がある。したがって、平飼い試験と野外試験をそれぞれ1回ずつ実施するので十分と考えられる。

2.1. 用量漸増試験および確認試験(原文、9ページ)

肥育鶏(原文、9ページ)

これらの試験では、実験室および野外由来のEimeria 属原虫に感染したブロイラーにおけるラサロシドナトリウムの抗コクシジウム効果を調べることを目的とした。各用量(0, 25, 75および100mg/kg feed)におけるラサロシドナトリウムの効果が、肥育鶏のコクシジ

 $^{^7\,}$ Section IIIA: references 1.1A, 1.1B, 1.1C, 1.1D, 1.1E, 1.1 F, 1.1,G. Volumes I and II, 1973-1974

ウム症に関して最も重要なEimeria原虫(実験室由来)1種の単独感染について報告された(31 試験)。同様の用量漸増試験が、野外で分離したEimeria原虫の複合感染に対しておこなわれた(14試験)。いずれの試験も、非感染群と非投与感染群(陽性および陰性対照群)を設けて実施された。1 個体あたりの感染量は、単独感染の場合では胞子形成オーシスト100,000~200,000個、複合感染の場合では200,000~300,000個前後であった。低用量(25mg/kg feed)ではE. tenella およびE. praecoxまたは複合感染に対して効果が無かった。75および100mg/kg feedを混餌した肥育鶏は単独感染もしくは複合感染による影響を受けず、生産能力は非感染群と同等であった。このデータは幾つかの書類に報告・公表されている(Mitrovic and Schildknecht, 1974, Edgar and Flanagan, 1974 and Mitrovic et al,1974)。

産卵鶏(原文、9ページ)

Eimeria原虫の実験室株を感染させた産卵鶏におけるラサロシドナトリウムの抗コクシジウム効果がバタリーケージ試験で調べられて報告された8(1986年)。完全配合飼料あたり75 および125mg/kgの用量のラサロシドナトリウムが2週齢の産卵鶏に混餌された(14試験)。単独感染(最も重要な Eimeria 原虫)と複合感染により、中程度(胞子形成オーシスト50,000~500,000個)と強度(100,000~1000,000個)の2タイプの攻撃感染がおこなわれた。いずれの用量においても、アバテック15%は発病を軽減し、生産能力を非投与感染群と同等のレベルにまで改善した。

2.2. 平飼い試験(原文、10ページ)

肥育鶏(原文、10ページ)

スイス(1996年)、スコットランド(1998年)、フランス(1999年)、デンマーク(1999年および 2000年の2つ)で実施された5つの試験が報告された。各試験は3期に分けられた。

いずれの試験も、完全配合飼料へのラサロシドナトリウム90mg/kgの添加を、Eimeria原虫の野外分離株を人為的に感染させた後で他の抗コクシジウム剤および非投与群と比較した(自然感染であったスイスの試験を除く)。フランスの試験(投与停止期間7日)以外は少なくとも5日間の投与休止期間を設けた。スコットランドとフランスの試験では、非投与非感染群も設けられた。アバテック15%由来のラサロシドの飼料中含有量が分析・確認された。試験の10(フランス)、13、15(デンマーク)もしくは19(スコットランド)日目に各種Eimeria原

⁸ Section IIIB (Reference IIIB. 1.1.A)

虫を肥育鶏に接種した。フランスの試験ではオーシストの排出量が17および24日目に、スコットランドの試験では敷料中の排出量が最終日に調べられた。また、試験によっては21、23および26日後に病変スコアが調べられた(表3)。主な生産力パラメータとして死亡率、体重(増体量)、飼料消費量および飼料効率(増体量/飼料摂取量(g/g)が報告された。最も重要な試験結果を表3に示す。

表3.5つの平飼い試験の結果の概要

試験	スイス	スイス スコットランド		デンマーク	デンマーク
	1996年	1998年	1999年	1999年	2000年
投与あたりの反復数	4×8	40×8	40×8	125×8	125×8
および動物数	投与9	投与10	投与11	投与12	投与13
感染	自然感染	19日目に	10日目に	13日目に	15日目に
		接種1	接種2	接種3	接種4
調査日	34	42	42	34	35
致死率(%)					
非投与・非感染		4.2	3.8		
非投与・感染		6.3	4.8	34.2	11.2
アバテック・感染		4.5	5.8	34.2	11.0
体重(g)	26	42	42	34	35
非投与・非感染	1110	2452	2225		
非投与・感染		2337	2017	1766	1799
アバテック・感染	1186	2534	2186	1771	1816
飼料要求率					
非投与・非感染		1.77	1.79		
非投与・感染		1.85	1.79	1.63	1.62
アバテック・感染		1.72	1.78	1.58	1.61
腸の病変スコア	26	25	23	21	21
非投与・非感染		6 *	0.31		
非投与・感染	2.89**	75*	0.00 **	2.84 **	1.4 **
アバテック・感染	1.38**	45	0.31**	3.20**	1.5**

複合感染(E. acervulina, maxima およびtenella: 50 000, 11000, 15000)

2

複合感染(E. avervulina およびtenella 500000/50000)

3

複合感染(E. avervulina およびtenella 150000/50000)

4

⁹ Section IIIA (Reference 2.2A)ドイツ語 (翻訳無し)

¹⁰ Section III A (Reference 2.2B)

¹¹ Section III A (Reference 2.2C)

¹² Section III A (Reference 2.2D)

¹³ Section III A (Reference 2.2D)

複合感染(E. avervulina およびtenella 150000/50000)

* 各腸画分のスコアの合計

**Johnson and Reid(1970)による腸の病変スコア

産卵鶏14(原文、11ページ)

アバテック15%由来のラサロシドの効果は2つの試験(イギリスおよびフランス)で調べられた。両試験で同じ試験計画を用いて、野外のコクシジウム類を複合感染させた産卵鶏の生産能力を調べた。対照非投与非感染群、ラサロシドナトリウム投与感染群および非投与感染群の3つの投与群を設けた。イギリスの試験では、アバテック15%由来のラサロシドは初期(0~28日)に105mg/kg feed、4~6週(28~112日)に80mg/kg/kg feedが添加された。フランスの試験では、アバテック15%由来のラサロシドは全試験期間(0~112日)を通じて90mg/kgが使用された。イギリスの試験では投与あたり12反復、フランスの試験では4反復実施された。その結果、両試験とも0~56日の感受性期間に感染した産卵鶏においてラサロシド投与による陽性効果が示された。表4にイギリスの試験で得られた主なデータを示す。

表4. 産卵鶏の試験結果の概要

	体重		飼料消費量		飼料要求率		致死率%		平均
	g		g						病変
									スコア
調査日	56	112	$1 \sim 56$	$56\sim$	$1 \sim 56$	$56\sim$	$1 \sim 56$	$56\sim$	25
				112		112		112	
UUC	749^{a}	1492^{a}	2016^{a}	4279^{a}	2.69^{ab}	5.76^{a}	0.60^{a}	0.00^{a}	0.05^{a}
IUC	$698^{\rm b}$	$1469^{\rm b}$	1975^{a}	4386^{a}	2.83^{b}	$5.69^{\rm a}$	$9.82^{\rm c}$	0.00^{a}	$1.93^{\rm c}$
アバテック1	754^{a}	1495^{a}	2015^{a}	4296^{a}	2.67^{a}	5.80^{a}	$2.23^{\rm b}$	0.00^{a}	$1.54^{\rm b}$

異なる上付き文字が付いたデータ間は有意差がある

UUC: 非投与非感染対照群 IUC: 非投与感染対照群

1)105mg/kg(0~4週)+80mg/kg(4~16週)

2.3. 野外試験(原文、12ページ)

¹⁴ Section IIIB (Reference 2.2A; 2.2 B)

肥育鶏 – シャトルプログラム15 (原文、12ページ)

アバテック15%由来のラサロシドナトリウム(90mg/kg feed)と他のイオノフォア類との比較が、68,000羽の肥育鶏と4頭のウマを供試しておこなわれた(オランダ、1999年)。試験開始時(0~12週)の飼料には、合成抗コクシジウム剤が含まれていた。イオノフォア類は13~31日目だけ添加され、その後は36日目まで5日間の休止期間が設けられた。肥育鶏は36日目に1回目の食肉処理のために一部が除かれ、47日目まで休止期間下で食肉処理が続けられた。体重と飼料消費量が調べられ、健康状態とオーシスト防除効果も記録された。2つの投与間で有意な効果は認められなかった。

産卵鶏16(原文、12ページ)

産卵鶏におけるアバテック由来ラサロシドナトリウムの効果は、申請者によって示された2つの野外試験で調べられた。しかし、FEEDAPパネルはこれらのデータを試験条件から平飼い試験とみなして審査した(上記の第2.2章参照)。

2.4. Eimeria 属原虫における抵抗性の発達/発生に関する試験(原文、12ページ)

抗コクシジウム剤感受性試験(原文、12ページ)

会社側は、ラサロシドナトリウムと他の抗コクシジウム製剤による家禽コクシジウム症予防の継続的な世界規模の効力調査¹⁷の結果を報告した。試験は最近の10年間に実施された5つの試験で構成されている。ブロイラーに全試験期間を通じて23~24日間にわたって添加物が与えられ、16もしくは17日目に野外分離株が接種された。そして、体重、飼料消費量、飼料効率およびその他のパラメータ(病変スコアとオーシスト排出量など)が調べられた。

試験1(1993年)では、19株の野外分離株(フランス、スペイン、オランダ、イスラエル、南アフリカ、イギリス、ベルギーおよびイタリア由来)が<math>5ヶ所の養鶏場に供試された。試験 2(1994年)では、31株の野外分離株(メキシコ、フランス、南アフリカ、スペイン、ベルギー、ポルトガル、ドイツ、チェコ共和国、イスラエル、エジプト、ブラジルおよびオランダ由

¹⁵ Section IIIA (reference IIIA.3.2.D)

¹⁶ Section III B (Reference 2.2A.; 2.2 B)

¹⁷ Section IIIA (References 1,3A, 1,3B, 1,3C, 1,3D, 1,3E, 1,3F. Volumes III and IV. 1993-1999)

来)が供試された。両試験とも、飼料中の添加物含有量が分析により確認された。

これらの試験から、EU内の各地域および生産条件を代表する2つの国(試験1: スペイン、試験2: ドイツ)の試験結果を表5に詳細に示す。

表5. 2つの国の*Eimeria*属原虫野外分離株を感染させた肥育鶏の生産能力および寄生生物学的パラメータ

	試験1 スペイン(1993年)*			試験2 ドイツ(1994年)*				
投与	$\mathrm{DWG}^{(1)}$	$FCR^{2)}$	病変	オーシ	$\mathrm{DWG}^{1)}$	$FCR^{2)}$	病変	オーシ
製剤	$16 \sim 23$	$16 \sim 23$	スコア	スト	16~23	$16 \sim 23$	スコア	スト
	g	g/g	十二指腸	排出3	g	g/g	十二指腸	排出3
UUC	49^{a}	$1.55^{\rm b}$	0	0	$54^{ m a}$	1.43^{b}	0	0
ラサロシド	43^{b}	$1.57^{\rm b}$	1.25	476	$37^{ m cd}$	1.78^{ab}	0.61	45
90mg/kg								
ラサロシド	$45^{\rm b}$	$1.54^{\rm b}$	2.00	531	41 ^d	$1.53^{\rm b}$	0.55	33
105 mg/kg								
イオノフォア-1	$46^{ m ab}$	$1.56^{\rm b}$	1.75	237	$31^{\rm d}$	2.04^{a}	0.58	62
イオノフォア-2	49a	1.46^{b}	0.92	88	$35^{ m d}$	2.01^{a}	0.08	49
イオノフォア-3	$42^{\rm b}$	1.64^{b}	2.08	587	$46^{ m abc}$	$1.50^{\rm b}$	0.67	41
SYN	$42^{\rm b}$	1.91a	2.42	398	$48^{ m ab}$	1.49^{b}	0.67	5
IUC	$43^{\rm b}$	1.68^{b}	1.92	336	$34^{ m d}$	1.82^{ab}	0.53	63

* 投与あたり3反復、対照群6羽、1反復あたり12羽

異なる上付き文字が付いたデータ間は有意差(p <0.05)がある

UUC: 非投与非感染対照群 IUC: 非投与感染対照群

¹ DWG 16~23:16~23日目の日増体量

² FCR: 飼料効率(g feed/g gain)

³1羽および1日あたり×10⁶

試験3(1995年)では、E. acervulina(5株)およびE. tenella (21株)を含む野外分離株26株(メキシコ、オランダ、イタリア、ベルギー、イギリス、スペイン、チリ、ブラジルおよびイスラエル由来)が供試された。

試験4(1996年)では、E. acervulinaもしくはE. acervulina、E. tenellaおよびE. maximaの混合(1996年)を含む野外分離株32株(スペイン、イスラエル、イギリス、フランス、ベルギー、オランダ、イタリア、メキシコ、南アフリカおよびドイツ由来)が供試された。

試験5(1998年)では、野外分離株29株(ヨーロッパ8カ国(25試料)、チュニジア、モロッコ、トルコおよびメキシコ由来)が供試された。いずれの分離株もE.acervulina もしくはE.acervulina + E. tenella やE. maximaを含んだ。

これらの総合的調査ではいずれも、抗コクシジウム添加物は生産能力を向上させた。飼料中のラサロシドやその他の製剤の分析の結果が報告された。ラサロシドは他の製剤と同等以上の効果を示した。ラサロシド100もしくは105mg/kg feedの添加は90mg/kgよりも生産力パラメータが優れた。

公表された試験(原文、13ページ)

抗コクシジウム剤抵抗性は、もっと最近の添加物でも生じている広く知られた現象である。 ヨーロッパの肥育鶏生産において臨床的に重要な*Eimeria*属原虫の抵抗性の状況を説明す るため、FEEDAPパネルは最近10年間に公表された4つの試験の結果をレビューした。

Peeters et al.(1994年)の試験は、臨床的コクシジウム症が発生していない122か所のブロイラー農場から分離したコクシジウムを供試しておこなわれた。この試験では、シャトルプログラムが最も一般的に用いられた。 E. acervulina 146株、 E. maxima 65株および E. tenella 88株の分離株が、17の感受性プロファイルにおいて供試された。試験結果は、抗コクシジウム剤の使用プログラムによって異なった。データは抗コクシジウム剤抵抗性が広範囲に広がっていることを明らかに示唆しており、ほとんどのイオノフォア剤が分離株に対する有意な防除効果を示さなかった。供試したイオノフォア剤間の差異は、(著者らによると)以前のポリエーテル系イオノフォア剤に対する不完全な交差抵抗性のデータを裏付けている。

1997年(Stephan *et al.*)と1998年(Daugschies *et al.*)に公表された2つの試験は、ドイツの状況を示している。Stephan *et al.*(1997年)は*Eimeria*野外分離株10株の感受性を調べた。分離株のうちの9株が抵抗性を示し、そのほとんどが多剤抵抗性であった。そして、7株がマズラマイシン、6株がモネンシン、5株がサリノマイシン、8株がナイカルバジン、7株がハロフジノンに対して部分的もしくは完全抵抗性を示した。5株ではマズラマイシン、モネンシンおよびサリノマイシン間の交差抵抗性が認められた。

Daugschies *et al.* (1998年)は薬剤抵抗性が疑われた経歴があるブロイラー約100,000羽を 飼育する営利農場において、各種添加物の効果を隣接した3つの鶏舎間で比較した。コクシジウム原虫が指標鶏から分離され、感受性プロファイルはバタリー試験に倣って調べられた。抗コクシジウム剤はナイカルバジン、ナラシン、ハロフジノン、サリノマイシン、メチクロルピンドール+メチルベンゾクエートおよびモネンシンが供試された。最初の鶏舎は野外でのバタリー試験において使用された抗コクシジウム剤(ナイカルバジン/モネンシ

ン)とハロフジノンに対して抵抗性を示した。

最近の出版物(Peek and Landman, 2003)では、オランダの家禽生産における Eimeria 属原 虫の薬剤抵抗性が調べられている。臨床コクシジウム症の問題を抱える農場から選抜され た1996年の4分離株、亜臨床的疾患を有する農場から分離した1999年の4分離株、同2001 年の7分離株が供試された。本試験はChapman (1998年)による in vivoでの抗コクシジウム 剤感受性試験に従って実施された。感受性プロファイルは、非投与非感染対照群との比較 による病変スコアの低下に基づいた。

Eimeria acervulinaは、1996年に供試した全抗コクシジウム剤(ジクラズリル、ハロフジノン、ラサロシド、メチクロルピンドール+メチルベンゾクエート、モネンシン、ナラシンおよびナイカルバジン)に対して多かれ少なかれ抵抗性を示し、4分離株中3株はマズラマイシンとサリノマイシン(1株は感受性低下を示した)に対する抵抗性を示した。1999年には、これと同種の分離株が同様の抵抗性パターンを示し、4分離株中1株がモネンシンとナラシンに対して抵抗性を示した。2001年には感受性の増加が認められた。高い感受性はメチクロルピンドール/メチルベンゾクエート(7/7)、サリノマイシンおよびナラシン(4/7)に対して認められ、続いて高かったのはナイカルバジン(3/7)とモネンシン(2/7)であった。抵抗性はラサロシド(5/7)、ナイカルバジン(4/7)、ジクラズリル(2/7)、モネンシン(2/7)、ナラシン(2/7)およびサリノマイシン(2/7)に対して認められた。1999年に供試されたE. acervulinaの対照株は、全供試薬剤に対して完全な感受性を示した。1996年と1999/2001年の試験結果の違いは、分離株の由来を反映している可能性もあるが(1996年の分離株は臨床疾患を有する集団から分離しため感染力が強い)、接種量が多かったことも原因と思われる。

オランダのコクシジウム症監視プログラムに参加しているブロイラー農場では、コクシジウム症(*E. acervulina*)発生率は1996年に約70(68)%、2000年に約91(84)%、2001年に約73(67%)であった。抵抗性の発達は明らかであるが、臨床的問題の増加は認められなかった。著者らは、自然感染による免疫獲得が野外で生じた可能性を示唆した。

FEEDAPパネルは、*Eimeria*属原虫類はほとんど全部の抗コクシジウム剤に対して広範な(部分的な)抵抗性を有しているが、野外条件下では抗コクシジウム剤使用によるメリットは基本的に失われていないと判断した。最近のデータも、抵抗性の発達はローテーション(抗コクシジウム剤の鶏舎から鶏舎への交代)やシャトルプログラムによって実際に回避できることを確証している。

2.5. 動物製品の品質(原文、14ページ)

動物製品の(官能的、栄養的、技術的)品質に関する試験は提出されなかった。

2.6. 肥育鶏および産卵鶏への効果についての結論(原文、14ページ)

初期段階の試験(バタリーケージ試験)ではアバテックがラサロシドナトリウム75~125 mg/kg feedの用量で肥育鶏と産卵鶏のコクシジウム症の抑止に有効であることが示されている。

平飼い試験の結果は、肥育鶏に対するラサロシドナトリウム90mg/kg feedの有効性を示したが、提案された用量 $(75\sim125$ mg/kg)の妥当性を立証できなかった。産卵鶏に関しては、飼料への90mg/kg feedの継続的添加および105 mg/kg +80mg/kgの2回添加が有効であることが示された。これらの値はいずれも申請者から提案された最小用量よりも高い。

野外試験は、陰性対照群が実際に設けられないので、信憑性のある野外試験を計画することは難しい。添加物の効果は陽性対照群(他の抗コクシジウム剤の投与を受けること)との比較によって調べるしかない。したがって、FEEDAPパネルはシャトルプログラムに基づいた試験を、添加物が供試された期間が非シャトルプログラムでの試験よりも短くても、完全な野外試験として認めている。

野外試験が1つだけしか提出されていないのでは、委員会指令2001/79/ECの野外試験数に関する要求を満たしていない。有効性が十分に示されたことを認めるためには、各対象動物に関する3つの有意な結果が提出されなければならない。したがって、野外試験における実際のアバテックの有効性に関する全面的審査は基本的にはできていない。申請者から提供された産卵鶏に関するデータは、試験が平飼い条件でおこなわれたため、野外試験とみなされていない。そのため、FEEDAPパネルはこれらの試験を平飼い試験とみなして審査した。

薬剤抵抗性に関しては、多くの国々のブロイラー農場から分離した Eimeria 属原虫の防除効果において、アバテックと他のイオノフォア系抗コクシジウム剤添加物との間に有意差は示されなかった。アバテックは感染程度を他の添加物と同じレベルにまで低下させた。このことは、申請者から提出されたデータや最近の文献でも確認できる。野外では Eimeria 属原虫のラサロシドナトリウム抵抗性に、肥育鶏と産卵鶏に対するアバテックの効果を下げるような異常が生じる可能性は無いものと判断する。

データの不足により、鶏製品の品質にアバテックが及ぼす潜在的影響の審査をおこなうことができない。しかし、長年にわたるラサロシドナトリウムの恒常的な使用により、製品品質への負の影響の報告がもたらされたことは無いようである。

- 3. 対象種に対する安全性試験(原文、15ページ)
- 3.1. 対象種に対する耐性試験(原文、15ページ)

ラサロシドナトリウムのGLP(試験実施適正基準: Good Laboratory Practice)対応の対象動物安全性試験は、ブロイラーと産卵鶏を用いた試験が報告されている(Untawale and Miller, 1986)¹⁸。産卵鶏1日齢の雌200羽と、ブロイラー1日齢の雌160羽および雄20羽が各4群供試された。供試鶏に0、125(1x)、375(3x) および625(5x) mg/kg feedのラサロシドナトリウムが112日間投与された。1~112日後まで、生産力パラメータと敷料水分率が毎日記録された。4日、8週および16週後に骨髄の臨床病理学および組織学的検査が、16週後に組織病理学的検査が実施された。16週までラサロシドを与えた産卵鶏が産んだ卵は、卵重、卵殻厚および卵品質の調査に用いられた。また、産卵数に対する週間飼料摂取量の比率が計算された。ブロイラーの雌(雄と一緒に飼育)が産んだ卵は孵化器に入れられ、受精率と孵化率が調べられた。これらの卵から孵化した雛は、28日間飼育されてから奇形の有無が調べられた。

ブロイラー(112日齢)では、125mg/kg feedのラサロシドを与えた鶏群の体重、飼料効率、死亡率および敷料水分率に有意差は認められなかった。375および625mg/kgを与えた鶏群の体重と飼料効率は、対照群よりも試験の56日間を通じて有意に低かった。両用量では、供試鶏の死亡率も対照群より56日間を通じて有意に高かった。375mg/kgを与えた鶏群は試験最終日の死亡率が対照群よりも高かった。125もしくは375mg/kgのラサロシドを最初の16週間に与えても、卵の受精率、孵化率のいずれにも影響を及ぼさなかった。これらの卵から孵化した雛に毒性の兆候は認められなかった。625mg/kgを与えた鶏群は、死亡率が高かったため、84日後に試験を打ち切った。両鶏種とも、625mg/kgの用量では死亡率の増加、成長の遅延、飼料効率の低下、敷料水分率の増加、心室心筋症(ventricular myocarditis)および骨格筋の横紋筋融解(rhabdomyolysis)などが認められた。

産卵鶏では、125mg/kgを与えた1日齢~16週齢の鶏群に飼料消費量、敷料含水率および死亡率への有意な影響は認められなかった。625mg/kgを与えた鶏群(56~84日齢)の体重と飼

¹⁸ Untawale, G. and Miller, D.M. (1986). Dossier Section IV, Volume 2, Reference IV.1.1.2.C

料消費量は、対照群よりも有意に低かった。375および625mg/kgを与えた鶏群の死亡率は、それぞれ56、84、112日および56、84日に対照鶏群よりも高かった。375mg/kgを与えた鶏群は、死亡率と成長遅延の増加、飼料効率の若干の低下および敷料含水率の増加を示した。375mg/kgを与えた鶏群では、血液、骨髄および主要臓器の組織病理学的状態、卵の受精率、孵化率、雛の生存率および肉眼的病変に影響は認められなかった。

他の非GLP試験¹⁹では、平飼い条件下でブロイラーにラサロシド0、75、150、187.5および 225mg/kgを8週間与えた試験がおこなわれた。ブロイラー24羽(雄雌各12羽、96日齢)が5群 供試された。供試鶏の観察は毎日続けられ、体重が0日、4週および8週間後に記録された。飼料消費量は4週および8週間後に記録された。血液は4週および8週間後に検査された。死亡率は、いずれの用量の投与群も対照群と有意差が無かった。体重、飼料効率および血液プロファイルは、いずれの用量の投与群も投与4週および8週間後では対照群と同等もしくは有意差が無かった。全体的に、濃度225mg/kgまで悪影響は認められなかった。

その他の試験では、亜慢性経口毒性試験²⁰が示された。この試験は、75、150、225および 375mg/kgのラサロシドを13週間継続して混餌して実施された13週間の非GLP毒性試験である。初生のブロイラー鶏が、体重によって10群(雄雌各5羽)に分けて供試された。75および150mg/kgでは、対照群と比べて成長、飼料効率、死亡率、血液、肉眼的病理所見および組織病理学的所見に悪影響は認められなかった。225および375mg/kgでは、血液、肉眼的病理所見および組織病理学的パラメータには変化が認められなかったが、成長抑制、飼料効率の低下および死亡率の増加が生じた。本試験は、この動物分類群における安全性の範囲を定めている(1.2 最大推奨用量)。

ポリエーテル系イオノフォアは一般的に安全性の範囲が狭いことで知られており、心臓や 筋肉を標的組織とした過剰投与による幾つかの偶発的中毒が科学文献に記されている。

3.2. 配合禁忌もしくは相互作用(原文、16ページ)

臨床的に重要なイオノフォア系抗コクシジウム剤と抗生物質チアムリンの相互作用は、ニワトリやシチメンチョウなどの種に良く知られた現象である。この相互作用は、用量 (Meingassner *et al.*, 1979; Lehel *et al.*, 1995; Weisman *et al.*,1983a, 1983b)とイオノフォア自体(co-administration of tiamulin and lasalocid being without adverse effects (Comben, 1984))に依存する。チアムリンはモネンシンの代謝分解と排出を抑制すると考え

¹⁹ Taylor, et al. (1972). Dossier Section IV, Volume 2, Reference IV.1.1.2.B

²⁰ Marusich et al., 1972. Dossier Section IV, Vol. 2, Ref. IV.1.1.2.D, p. 428

られた(Meingassner et al., 1979)。また、後にポリエーテル類(主にモネンシン)との他の毒性相互作用が、スルホンアミド(Frigg *et al.*, 1983)、クロラムフェニコール(Broz and Frigg, 1987)、エリスロマイシン、オレアンドマイシンおよびフラゾリドン(Anadón and Martínez-Larrañaga (1990)およびAnadón and Reeves-Johnson (1999)のレビューを参照)でも知られるようになった。

チアムリン(Witkamp *et al.*, 1994, 1995, 1996)とマクロライド系抗生物質(Larry *et al.*, 1983; Watkins *et al.*, 1986)による相互作用を調べた最近のデータは、多くの内因性および外因性化合物(モネンシンも含む、Nebbia *et al.*, 1999)の酸化および還元代謝に重要な役割を担うチトクロームP-450の阻害が、この相互作用に関与していることを示唆している。モネンシン自体は肝臓ミクロソーム酵素に有意な影響を及ぼさない(Szucs *et al.*, 2000)。したがって、この(イソ)酵素と結合する、もしくは阻害することができる化合物が、イオノフォア類との毒性相互作用を引き起こすと考えられた。

ラサロシドナトリウムに関しては、申請者から提供されたデータにラサロシド125mg/kg添加飼料を給餌したニワトリにおいて、3日間のチアムリン250mg/Lの飲水投与(現在の家禽類に対するチアムリン投与推奨期間である5日間の代わりとして)がニワトリの畜産生産性に影響を与えないことが示されている。

- 3.3. 微生物学的安全性(原文、17ページ)
- 3.3.1. 抗微生物スペクトルおよびMIC試験(原文、17ページ)

グラム陰性細菌がラサロシドなどのポリエーテル系イオノフォアに対して抵抗性を示すことを、いくつかの*in vitro*試験が立証している。最近の研究では、ラサロシドの*Salmonella* Typhimurium(ネズミチフス菌)、*Escherichia coli*(大腸菌)、*Proteus mirabilis*(霊菌もしくはミラビリス変形菌)、*Pseudomonas aeruginosa*(緑膿菌)および*Acinetobacter* spp.(アシネトバクター属)に対するMIC(最小阻止濃度:minimum inhibitory concentration)が、いずれも256mg/Lを超えていた。

グラム陽性細菌では、*Staphylococcus aureus*(黄色ブドウ球菌)、*Enterococcus faecalis*(腸球菌もしくは大便連鎖球菌)および*Enterococcus faecium*(腸球菌)が感受性を示し、MICは0.12~4mg/Lの範囲であった。他の細菌では、*Staphylococcus* spp.(ブドウ球菌)、*Streptococcus* spp.(ストレプトコッカス属)および*Lactococcus* spp.(ラクトコッカス属)が同程度のMIC0.5~4mg/Lを示した。中でも*Clostridium* spp.(クロストリジウム属)、

Lactobacillus spp.(ラクトバチルス属)、Micrococcus luteusおよびPediococcus spp.(ペディオコッカス属)は最も感受性が高い細菌であり、 $MICは0.06\sim0.12$ mg/Lであった。

3.3.2. 家禽由来の細菌株に関する研究(原文、17ページ)

供試細菌株は、各加盟国で健康な動物から採集された*Enterococcus faecalis* (24) と*E. faecium* (415)(Butaye *et al.*, 2000; Wheadon 2002²¹)、日本で壊死性腸炎を発症したニワトリから分離された*Clostridium perfringens* (88)(Kondo, 1988)などである。*Enterococcus faeciumとE. faecium*は感受性を示し、MICは0.25~2mg/Lの範囲であった。*Clostridium perfringens*のMICは0.025~6.25mg/Lであった。しかし、この*Clostridium*属細菌の採集は1980年代中頃におこなわれ、現在のMICはこれと異なる可能性がある。

3.3.3. 抵抗性および交差抵抗性選抜の可能性(原文、17ページ)

準抑止濃度のラサロシドで培養後の*in vitro*での抵抗性細菌株の発生可能性が、ラサロシド、ナリジクス酸もしくはテトラサイクリン(陽性対照)の存在・非存在下で20回継代培養した3種の細菌株(*Staphylococcus aureus*、*Enterococcus faecalis*および*Clostridium perfringens*)を用いて調べられた²²。継代培養の前に、抗生物質パネル(ラサロシド、塩酸テトラサイクリン、ナリジクス酸、ゲンタマイシン、アンピシリン、エリスロマイシン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール、塩酸クリンダマイシン)に最適な菌株のMICが調べられた。

準抑止濃度のラサロシドもしくは他の抗生物質の暴露を受けた細菌株のMIC値が変化したことを示す実験証拠は無かった。

抗微生物剤抵抗性監視プログラム(FEFANA)の一環としてフランス、オランダ、スウェーデンおよびイギリスの4加盟国から2年間かけて収集された $Enterococcus\ faecium$ 細菌株の感受性に関する試験 23 では、 $1998\sim2000$ 年の間にラサロシド感受性の変化は認められなかった。

ラサロシドナトリウムは、ニワトリから分離された抗生物質抵抗性の大腸菌の数に影響を

²¹ Wheadon A. (2002). 未発表の報告書 Report No. 21960

²² Wheadon A. (2002). Report No. 22319 (日付なし)

²³ Wheadon、日付なし

与えなかった²³。ラサロシドナトリウム投与群でストレプトマイシン抵抗性大腸菌の増加が認められたが、全体的には抗生物質に対する抵抗性は低下する傾向にあった。また、投与群ではペニシリン、テトラサイクリン、エリスロマイシンおよびリンコマイシン抵抗性の Enterococcus 属細菌分離株の数が、非投与対照群と比べて有意に低かった。ネオマイシンは、抵抗性 Enterococcus 属細菌分離株の数が増加した唯一の抗生物質であった。非投与群から分離された Salmonella Typhimuriumを接種したニワトリは、セファロスポリンとアミカシンに対する抵抗性の発生率が有意に高かった。他の抗生物質に関しては、Salmonella 属細菌分離株の抗生物質抵抗性パターンに投与群と非投与対照群との有意差は認められなかった。

3.3.4. 人畜共通微生物の消化管や排出物の中に存在する日和見病原体の数に及ぼす影響(原文、18ページ)

1羽あたり10 9 cfuのSalmonella Typhimuriumを経口感染させたニワトリの感染経過は、75mg/kgのラサロシドナトリウムを混餌して与えた鶏群も非投与の餌を与えた鶏群も同様であった 24 。しかし、これよりも高用量(175mg/kg)では、2倍の数のニワトリでSalmonellaのコロニー形成が維持され、高い比率でSalmonellaの排出が認められたが、統計分析は実施されなかった。2つめの試験 25 では、125mg/kgのラサロシドナトリウムを混餌しても、Salmonella Typhimuriumの排出に影響を与えないことがわかった。投与群間の唯一の差異として、ラサロシドナトリウム投与鶏群はSalmonellaを攻撃感染から最初の18日間において対照鶏群よりも大量に排出する傾向が認められた。しかし、攻撃感染後58日間を全般的に見てみれば、対照鶏群との差異は認められなかった。

GLP試験²⁶では、2つの異なる条件(1日齢に 2.2×10^5 もしくは8日齢に 2.5×10^8 の Salmonella enteritidisを強制経口感染)でニワトリに感染させた Salmonella enteritidisの感染経過が、ラサロシドナトリウム(アバテック 15%)を提案された用量よりも高い125mg/kgで混餌して与えた投与鶏群も非投与の餌を与えた鶏群も同様であることが示された。細菌接種後の細菌排出量の推定が、無作為に選んだニワトリの排泄腔スワブからの S. enteritidis の分離、半定量的菌数測定、および検屍解剖と組織からの分離により様々な時期におこなわれた。投与鶏群と非投与鶏群との間で、S. enteritidis の排出パラメータに統計的有意な差異は認められなかった。

²⁴ Green and Bishop (1980). Report No. 53/10/79 (26 August 1980)

²⁵ Maestrone G. and Yeisley, H., 1986. Report No. 123735 (27 January 1986)

²⁶ Alexander, A., and Dibb-Fuller, M. (2002) Report No. 20953 (19 February 2002)

3.4. 抵抗性、相互作用および微生物学的安全性に関する結論(原文、18ページ)

耐性試験では、ラサロシドナトリウムを完全配合飼料 1kg あたり 150mg もしくは最大推奨 用量(同 125mg/kg)の 1.2 倍投与した肥育鶏において、生存率、体重増加、飼料効率および 血液学的パラメータに悪影響は認められなかった。産卵鶏の場合も、125mg/kg を投与した 場合の安全性を裏付けるデータしか提供されていないが、同量のラサロシドナトリウムを 投与できると FEEDAP パネルは考える。

養鶏に用いられたラサロシドナトリウムとチアムリンの相互作用の可能性に関する提出データは不十分であった。したがって、FEEDAPパネルはラサロシドナトリウムとチアムリン等のチトクロームP450イソ酵素阻害薬との同時投与は避けた方が安全であると考える。

ラサロシドナトリウムは選択的な抗微生物活性を有し、グラム陽性細菌では濃度 $0.06\sim 4$ mg/L で Enterococcus faecium、 E. faecalis および Staphylococcus spp.などに対して活性を示すが、多くの腸内細菌(Enterobacteriaceae)はラサロシドナトリウムに対して自然抵抗性である。感受性細菌株の発育阻止濃度は飼料中に添加される用量よりも低く、in vivo で得られた濃度と思われる。抵抗性や交差抵抗性の誘導は認められなかった。肥育鶏における Salmonella Typhimurium 菌排出の増加が 2 つの試験で示された。しかし、この点では恐らくラサロシドは他のイオノフォア類と変わりないと思われる。

活性物質が抗微生物活性を示す場合、添加物に対する細菌の抵抗性を監視するための野外 試験が提供されなければならない。現在の我が国(イタリア)の抗微生物剤抵抗性監視プログ ラムでは、動物におけるラサロシド抵抗性の監視はおこなわれていない。

3.5. 代謝(原文、19ページ)

ニワトリにおけるラサロシドナトリウムの代謝運命は、¹⁴C酪酸塩を基質とした生合成によって得られた¹⁴C標識分子を用いて研究されている。主に炭素骨格の3つの位置(13、17および21位)が標識化されたが、カルボン酸機能に関与するC1位でも僅かに標識化(1.5%)された2つの非GLP試験が1970年代に実施され、非標識化ラサロシドナトリウムを125および75mg/kg混餌して34日間与えた後に、¹⁴Cラサロシドナトリウムを同量混餌して21日間与えられたニワトリについて詳細に記載されている²⁷²⁸。その内容は、i)3日後から血液中の放射

²⁷ Ref.17 of the dossier

²⁸ Ref. 21 of the dossier

能は定常状態になった; ii)投与された放射能の92%は最初の24時間の排泄物の中に排出され、95%が48時間以内に排出された; iii)排泄物中の放射能のほとんどはラサロシドが関連するもの(ラサロシドおよびその代謝物)であり、排出できない残留物は2時間もしくは5日間の投与休止後に脂肪中に少量が検出されたが(それぞれ12および10%)、この期間に肝臓では残留物が増加した(それぞれ15および80%)ことから、結合型残留物もしくは内因性化合物への14C標識取り込みの重大性が浮き彫りとなった; iv)抽出不可能な放射能が14C分子断片の取り込みによる内因性化合物の標識化に関与している可能性があるとの申請者の指摘は間接的に裏付けられたが、説得力のある完全な証拠は得られなかった。

14Cラサロシドナトリウムの比較代謝のGLP対応試験が、ニワトリ、シチメンチョウ、ブタ、 イヌ、マウスおよびラットでおこなわれている²⁹。127mg/kgを混餌して連続7日間与えられ たニワトリは、最終投与から8時間後に食肉処理された。尿中および糞便中もしくは胆汁中 のいずれの排出量も測定されなかったため、ニワトリにおけるラサロシドナトリウムの実 際の吸収程度について結論を導くことができない。未変化のラサロシドは総排出放射能の 12%を占めた。マウス、ラットおよびイヌは体重1kgあたり1mgが7日間投与され、最終投 与から4時間後に屠殺された。尿中排出量はマウス、ラットおよびイヌでは極めて少なく(そ れぞれ摂取量の0.6、1.0および0.6%)、ほとんどが糞便中に排出された。ラットで測定され た胆汁中排出量(摂取量の約50%)は、この親油性化合物の吸収量が多いことを示唆している。 また、抽出可能な放射性物質をニワトリの排泄物から分離する試みがおこなわれている。 この際に用いられた分離方法の精度が非常に低かったため、FEEDAPパネルはニワトリと ラットの代謝プロファイルが同様であるとの判断を下せない。ニワトリの肝臓の分析では、 放射能の50%が抽出不可能であり、未変化のラサロシドが総放射能の11%を占め、幾つか の代謝物が抽出可能であることが示されたが(しかし、このときの分析方法では分離されな かった)、各代謝物の同定はなされなかった。したがって、組織からの排出に関しても同様 に結論を引き出すことはできない。

もっと最近(2003年)の試験³⁰では、¹⁴Cラサロシドナトリウム(C1位での¹⁴C標識化率は不明)がニワトリに想定最大用量(飼料中125mg/kgに相当)で1日2回、連続7日間投与され、供試鶏は最終投与から0、1、3、5および7日間の休止期間の後に食肉処理された。代謝平衡時(投与7日後)に採集された排泄物の分析により、7日目の排泄物中(24時間の尿と糞便)に排出された総放射能が毎日投与された用量の約90%に上ることが示された。未変化のラサロシドは排泄物の総放射能の74および77%(雄および雌)を占めた。また、それぞれ5および7つの代謝物が分離され、それらの割合は排泄物の総放射能の10%未満であった。これらの結果は、以前に得られた試験結果(排泄物中の未変化のラサロシドは12%しか検出されなかっ

²⁹ Hawkins, et al. (1987). Section IV, Volume 33, References IV.1.2.18

³⁰ Mc Lellan et al., 2003, Section IV, Additional answers Vol. 1, Attachment 2

た)³¹と矛盾した。FEEDAPパネルは、提出されたデータに基づき、これらの2つの異なる、しかし科学的に明らかに正しい方法を用いて得られた試験結果に対して批判的な見方を述べる立場にない。また、標識化ラサロシドの投与方法の違い、すなわち以前の試験では飼料中に混和されたのに対して、最近の試験ではカプセルに入れて1日2回投与されたことが、血漿中濃度(それぞれ4.5および0.45mg/L)に認められた差異の理由であるとは考えられない。休止期間0日で採集された組織の分析では、メタノール抽出物が総放射能の58%(肝臓)、61%(腎臓)、80%(筋肉)および72%(皮膚と脂肪)以上を占め、その中には未変化のラサロシドのみならず単体もしくは未分離の代謝物も総放射能の10%以上を占める量が肝臓、腎臓および筋肉中に含まれることが示された。また、補足試験(2004年)³²で、投与休止期間0日で食肉処理されたニワトリの肝臓代謝物の同定がおこなわれている。総放射能の最大70%が排出され、その圧倒的主成分はラサロシド(雄雌それぞれ26および46%)であった。2.5~15%を占める最大7つの代謝物が分離され、質量分析によってラサロシドのモノ水酸化誘導体として同定された。ただし、詳細な水酸化位置に関する示唆は得られなかった。もっと長い投与休止期間での抽出収率と比較代謝プロファイリングに関するデータは提供されなかった。

SCAN(動物栄養に関する科学委員会: Scientific Committee of Animal Nutrition)からのラサロシド代謝物の同定に関する質問(1978年) 33 に対し、申請者は非常に短く要約して、ニワトリの排泄物から分離された代謝物 1 つおよび肝臓から分離された代謝物 2 つが同定されていると返答した。しかし、生データは提供されていない。

3.6. 残留物(原文、20ページ)

ラサロシドナトリウム使用認可の原申請に添えられた関係書類には、ニワトリ組織中の残留動態を調べた3つの試験が提供された。これらうちの2つの試験^{34,35}における用量(飼料中50mg/kg)は提案された最大用量よりも低かったことから、これらの試験結果は考慮の対象から除外する。既に議論された3つ目の試験³⁶では、ラサロシドナトリウムとして表記された組織中の総放射能から肝臓が標的組織であることが示され、続いて腎臓、皮膚と脂肪、および筋肉の順で放射能が高く、いずれの組織においても投与休止期間が長くなるにした

³¹ Hawkins, et al. (1987). Section IV, Volume 23, References IV.1.2.18.

³² Appendix 1, Investigation of the nature and identity of labelled components present in samples of liver collected from broiler chickens following the oral administration of [14C]-lasalocid

³³ Section IV, Volume 34, Reference IV.1.2.19

³⁴ Section IV, Volume 3, Reference IV.1.3.1.A (日付なし)

³⁵ Section IV, Volume 38, Reference IV.1.2.26 (1973)

³⁶ Section IV, Volume 32, References IV.1.2.17. (1977)

がって放射能の減少が認められた。

ブロイラーにおける残留¹⁴Cラサロシドナトリウムの減少に関する試験が2003年に実施され(第3.5項の方法論的条件を参照)、申請者が考えた総残留物(に対する指標残留物としてのラサロシドナトリウム組織中の総放射能として測定)の比率が調べられた。総放射能およびラサロシドナトリウムの測定は、主な可食性組織でおこなわれた。この試験の分析方法(HPLCによる分離およびラサロシド関連分子イオンの監視)では、複数のラサロシド代謝物が同じリテンションタイムに同時に検出されている可能性があり、ラサロシド含有量を過大評価していることに留意しなければならない。いずれの動物および時点の試験結果も利用可能ではないため、平均値の代わりに最大値が用いられている(表6)。

表6. ニワトリへの14Cラサロシドナトリウム反復投与(125mg/kgで7日間)と投与休止期間の後の組織中残留動態(最大値を報告)

		投与休止期間(日数)				
		0	1	3	5	7
肝臓	TRR^{1}	1.26	1.06	0.84	0.50	0.22
	LS^2	0.29	0.09	0.02	0.04	ND
	LS/TRR	0.23	0.08	0.02	0.07	-
腎臓	TRR	0.40	0.25	0.12	0.10	0.03
	LS	0.13	0.03	0.03	0.03	ND
	LS/TRR	0.31	0.11	0.27	0.29	-
皮膚/脂肪	TRR	0.64	0.17	0.12	0.08	0.03
	LS	0.34	0.07	0.04	0.04	ND
	LS/TRR	0.53	039	0.34	0.43	-
筋肉	TRR	0.10	0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03
	LS	0.05	ND^3	ND	ND	ND
	LS/TRR	0.56	-	-	-	-

¹ TRR=総残留放射能(ラサロシドナトリウム当量として表記);定量限界0.03mg/kg

肝臓が標的組織であり、次に多く残留するのは皮膚/脂肪および腎臓である。休止期間0日では、筋肉、皮膚/脂肪および腎臓にかなり多くの残留物画分をラサロシドが占め、残りの残

 $^{^2}$ LS=ラサロシドナトリウム濃度(ラサロシドに相当するリテンションタイムのHPLCピークに現れる放射能量として測定、ラサロシド当量mg/kgとして表記); 検出限界0.02mg/kg 3 ND=検出されず

留物はラサロシドの水酸化誘導体として同定された多数のマイナー代謝物であると思われる。休止期間0日での抽出可能性や残留物の性質(遊離および抽出不可能)などに関するデータが欠けているため、指標残留物に関して結論を示すことができない。既に上記で触れたように、同じ用量でも投与方法や供試したラサロシドの14C標識化が異なる2つの試験間で定常状態での血漿中放射能にかなり大きな差異があるという矛盾が存在することから、FEEDAPパネルは残留物の定量的側面の検討に関心を示している。

高い比率の抽出不可能残留物が肝臓にあることから、ラットにおけるそれらの生物利用性を評価する2つの試験が実施された^{37,38}。¹⁴Cラサロシドナトリウムを添加した飼料を与えて異なる投与休止期間後に食肉処理したニワトリから組織(肝臓、脂肪および皮膚)を採取するとともに、¹⁴Cラサロシドナトリウムを与えたラットの胆汁、尿および糞便が採集された。1つ目の試験では、ニワトリにおいてラサロシドナトリウムが大量に吸収(76.5%)されて胆汁にかなり大量(50.8%)に排出される一方、5日間の投与休止期間後に肝臓に存在する残留物の生物利用性は低かった(2.7%)ことが示された。2つめの試験では、肝臓よりも抽出可能画分が遥かに多く測定された脂肪および皮膚の残留物の生物利用性が、投与休止期間0日および2日でそれぞれ31%および18%であったことが示された。投与休止期間の増加に伴う肝臓残留物の生物利用性の急速な減少(0、2および5日後にそれぞれ19%、2.2%、1.6%)も確認された。

最後に、 $0\sim16$ 週齢におけるペレット飼料へのラサロシドナトリウム添加(飼料中125mg/kg) が初産卵(20週目)の残留ラサロシドナトリウム含有量に及ぼす影響を調べた試験において、30個のうち0.01および0.02mg/kg egg massのラサロシドナトリウムが含まれていた2個の卵は例外として、いずれの卵の含有量も0.01mg/kg(2のときの分析方法の検出限界)よりも下回ることが示された。

3.7. 代謝と残留物に関する結論(原文、22ページ)

ニワトリでは、かなり多くのラサロシドナトリウムが吸収され、3日後には血漿中で代謝平衡に達する。その多くが数多くの代謝物に代謝されるが、その量はいずれも排泄物中の総放射能の10%にも満たない。しかし、未変化のラサロシドの割合に関する明確な結論を引き出すことはできない。

肝臓が標的組織であり、次に多く残留するのは皮膚/脂肪および腎臓である。休止期間0日で

³⁷ Gallo-Torres, H. (1974). Dossier IV, Volume 36, References IV.1.2.25

³⁸ Laurencot, et al. (1977). Section IV, Volume35. References IV.1.2.24

は、筋肉、皮膚/脂肪および腎臓にかなり多くの残留物画分をラサロシドが占め、残りの残留物はラサロシドの水酸化誘導体として同定された多数のマイナー代謝物であると思われる。休止期間0日での抽出可能性や残留物の性質(遊離および抽出不可能)などに関するデータが欠けているため、指標残留物を同定することは不可能である。

同じ用量でも¹⁴C標識化分子や投与方法が異なる試験間で試験結果に矛盾があることから、 FEEDAPパネルは残留物の定量的側面の検討に関心を示している。ニワトリとラットにお けるラサロシドの代謝プロファイルの類似性は、試験方法が不適切であったために立証す ることができなった。

16週齢までラサロシドナトリウム添加飼料を(指定条件に従って)与えられた産卵鶏の初産 卵における残留ラサロシドナトリウムの量は非常に低いもしくは検出限界未満である。

- 4. 実験動物への安全性試験(原文、22ページ)
- 4.1. 実験動物における薬物動態と代謝(原文、22ページ)

ラット(原文、22ページ)

GLP対応代謝試験³⁹において、1群雄雌各5匹のSprague-Dawleyラットに1mg/kg 体重/日のラサロシドナトリウムが、7日間強制経口投与された。24時間間隔で尿および糞便試料が、投与1日前、投与期間中および投与休止期間に採集された。投与量の約67%が24時間以内に尿および糞便中に排出された。これらの試験結果は、以前に同じ用量で実施された試験 ^{40,41,42}で3時間後に血漿中濃度が0.049μg/mlでピークに達し、排出半減期が4.8時間であったことの妥当性を裏付けている。

マウス(原文、23ページ)

GLP対応試験43において、1群雄雌各13匹のCD-1マウスに1.18mg/kg 体重/日のラサロシド

³⁹ Hawkins *et al.* (1987). Report No. HRC/HLR 164/8710

⁴⁰ Westheimer, J. and Hutchinson, H.L. (1978a). Section IV, Volume 7, Reference IV.2.3.1.A

⁴¹ Laurencot, etal. (1978). (25 April 1978). Section IV, vol.5., Ref. IV.2.3.1.C, p. 276

 $^{^{42}}$ Laurencot, et al. (1979). Report No.: Not specified (7 June 1979). Section IV, vol 7, Ref. IV. 2.3.1.E, p.2

⁴³ Hawkins et al. (1987). Report No. HRC/HLR 159/879

ナトリウムが、ラットと同様の試験計画と投与方法で7日間与えられた。その結果、初回投与後24時間以内の尿と糞便中の放射能の排出が、投与用量の約97%を占めた。これらの試験結果は、以前に同じ用量で実施された非GLP対応試験44,45,46で投与後15~30分以内に血漿中濃度が0.62~0.69µg/mlでピークに達し、排出半減期が3時間であったことの妥当性を裏付けている。

4.2. 実験動物における急性毒性(原文、23ページ)

経口投与後のラサロシドナトリウムは、新生児ラットおよびウサギに対して毒性(LD_{50} 値は それぞれ30および40mg/kg 体重)、ラットとマウスに対して有害と(LD_{50} 値はそれぞれ122 および146mg/kg 体重)と考えられた47。性別による違いは認められなかった。

雄イヌ1匹にカプセルによる経口投与が毎日おこなわれた結果、1回の用量が5mg/kg 体重までは良く耐えていたが、20mg/kg 体重以上では飼料消費量の低下、嘔吐(emesis)、後四半部の麻痺(paralysis of hind-quarters)、運動失調(ataxia)、排便(defecation)および流涎(salivation)などが生じた。血液および臨床化学分析に及ぼす影響に関する投与は、記載されていなかった4。このイヌ1匹の試験では、FEEDAPパネルは結論を導き出せない。

4.3. 変異原性(原文、23ページ)

ラサロシドナトリウムの遺伝毒性を調べるため、GLP対応(DNA修復試験(Recアッセイ)以外)の一連の*in vitro*試験がおこなわれた(表7)。細菌のDNA修復に関する"Recアッセイ"の結果は、100μgまでならDNA損傷作用を示さないことを、細菌の復帰突然変異試験のデータは、供試細菌株において遺伝子突然変異を誘発しないことを、また、*Saccharomyces cerevisiae* D7株を用いた変異原性試験は、遺伝子の損傷を誘導しないことを示している(表7)。

チャイニーズハムスターの肺細胞⁴⁷(V79/HGPRTアッセイ)を用いてラサロシドナトリウム (純度94.9%)について検討された。復帰突然変異および前進突然変異に関する2つの*in vitro* 試験がそれぞれおこなわれた。これらの試験結果は、ラサロシドナトリウムが供試した哺乳類培養細胞において遺伝子突然変異を誘発しないことを示唆している(表7)。

⁴⁴ Westheimer and Hutchinson, 1978b. Section IV, Volume 8, References IV.2.3.1.B

⁴⁵ Laurencot et al. (1980a). Section IV, Volume 9, Reference IV.2.3.1.D

⁴⁶ Laurencot, H.J., et.al. (1980b). Section IV, Volume 13, Reference IV.2.3.1.F

⁴⁷ Pool et al. (1972). Unpublished report. (27 September 1972)

表7. 遺伝毒性試験

毒性指標	 試験対象	 濃度もしくは用量	 結果
In vitroでの	B. subtilis	0 (DMSO)、0 (水), 1, 10,	100μg/disc.まで
DNA修復	M45 & H17	100μg/disc.	陰性
(Recアッセイ) ⁴⁸	1,110 00 1111	100 pg. 0120.	1212
In vitroでの	S. typhimurium	0 (DMSO), 0 (水), 100, 200,	$2000 \mu \mathrm{g/plate}$
復帰突然変異45	TA98, TA100,	500, 1000, 2000 μg/plate	で陰性(±S9)
	TA1535, TA1538		
	E. $coli WP2(B/r)$,		
	WP2 (hcr ⁻)		
In vitroでの	S. cerevisiae D7	0 (DMSO), 0.05, 0.17, 0.50,	5mg/mlまで陰
復帰突然変異およ		1.67,	性(±S9)
び有糸分裂乗換49		5.0mg/ml	
In vitroでの	チャイニーズハムス	0 (DMSO), 1, 5, 10, 15,	15μg /mlまで陰
前進突然変異50	ター	$20\mu \mathrm{g/ml}(\pm \mathrm{S9})$	性(±S9)
	V79細胞	0 (DMSO), 1,10, 20, 40, 60	
		μg/ml(+S9)	
In vitroでの	ラット肝細胞	0 (DMSO), 0.5, 1.0, 2.5, 5.0,	4μg/mlまで陰性
不定期DNA合成51		$7.5,10.0,12.5\mu \mathrm{g/ml}$	
		2回目0 (DMSO), 0.5, 1.0, 2.0,	
		3.0,4.0, 5.0 μg/ml	
In vitroでの	ヒト末梢血リンパ球	0 (溶媒), 0 (陰性), 4, 6, 7μg/ml	8μg /mlまで陰
染色体異常52		$DMSO(\pm S9)$;	性(±S9)
		2回目 $0, 0, 5, 6, 7$ μg/ml、	
		0, 0, 2, 4, 6, 8, 10μg/ml(+S9)	

 $In\ vitro$ での不定期DNA合成試験 48 では、成熟雄Fu-アルビノラットから $in\ situ$ -コラゲナーゼ灌流法により分離した初代肝細胞を、溶媒に溶解したラサロシドナトリウム(純度94.9%)に18時間暴露した。ラサロシドナトリウムは濃度が $4.0\mu g/ml$ 以上では、生存細胞を計数できないほどの強い細胞毒性を示した。細胞の形態的変化は濃度 $1.0\mu g/ml$ 以上で生じた。ラサロシドナトリウム投与群では、対照群の核内粒子数をひいた平均純核内粒子数も平均総核内粒子数も対照群と有意差がなかった。また、細胞質中の粒子数も対照群と差がなかった。これらのデータから、ラサロシドナトリウムはDNA修復につながるようなDNA損傷を誘発しないと思われる(表7)。

⁴⁸ Yamashita, T. and Fukuhara, K. (1977). Section IV, Volume 5, Reference IV.2.2.A

⁴⁹ Albertini, S. (1988). Section IV, Volume 6, Reference IV.2.2.D

⁵⁰ Strobel, R. (1989a). Section IV, Volume 5, Reference IV.2.2.B

⁵¹ Strobel, R. (1989b). Section IV, Volume 6, Reference IV.2.2.C

⁵² Dresp, J. (1989). Section IV, Volume 6, Reference IV.2.2.E

ヒト末梢血リンパ球の染色体分析53の結果は、ラサロシドナトリウムが染色体異常を増加させないことを示している。

4.4. 亜慢性(90日)経口毒性試験(原文、24ページ)

ラット(原文、24ページ)

ラットでは、3つの亜慢性(90日)経口毒性試験(GLP制定前の試験)が評価されている^{54,55,56}。 これらの試験は、投与および非投与の成体(親)とその離乳児ラットを用いて始められた。

この試験の後半では、投与群の親ラットが投与4、8もしくは13週間後に屠殺されて詳細な 剖検がおこなわれた。ラサロシドナトリウムは、雄雌各40匹/群の $Sprague\ Dawley\ CD$ ラットに名目投与量が1、2、3および $10mg/kg\ 体重/日となるよう計算された可変濃度で飼料 中に投与された。<math>1mg/kg\ 体重/日では、対照群と比べて臨床的、検査所見的および形態的 変化は認められなかった。$

2mg/kg 体重/日では、ヘマトクリット値の僅かな低下や軽度な好中球増加症(neutrophilic leukocytosis)などの微小な変化が認められた。3mg/kg 体重/日では、雌ラットに血液学的検査値の僅かな変化や肝臓と腎臓のヘモジデリンの増加が認められた。10mg/kg 体重/日では、主に雌ラットに体重増加の減少、血液学的検査値の変化、血清電解質値の変化、臓器重量の僅かな減少、肝臓と腎臓のヘモジデリンの増加および心筋の空胞形成が認められた。この試験のNOEL(無影響量:no observed effect level)はラサロシドナトリウム1mg/kg 体重/日であった。

イヌ(原文、25ページ)

非GLP対応の13週間の毒性試験⁵⁷において、ラサロシドナトリウムが雄雌各3匹/群のビーグル犬3群に2、5および10mg/kg 体重/日がカプセルによって投与された。10mg/kg 体重/日投与されたイヌは、筋力低下(muscular weakness)や後肢の震え(tremor)などの一過性の神経学的変化が生じた。この試験では、対照群と比べて5mg/kg 体重/日を投与したイヌで血清塩化物値が僅かに低下したことを除いて、他の臨床的変化は認められなかった。NOEL

⁵³ Dresp, J. (1989).). Section IV, Volume 6, Reference IV.2.2.E

⁵⁴ Pfizer, E.A. and Roberts, G.K. (1973). Section IV, Volume 16, Reference IV.2.4.1.B

⁵⁵ Pfizer, E.A. and Roberts, G.K. (1975a). Section IV, Volume 15, Reference IV.2.4.1.A

⁵⁶ Pfitzer, E.A. and Roberts, G.K. (1975b). Section IV, Volume 17, Reference IV.2.4.1.C

⁵⁷ Pfitzer, E.A. and Swarms, R.L. (1973). Report No.: Not specified (7 November 1973)

は、ラサロシドナトリウム2mg/kg体重/日であった。

4.5. 慢性経口毒性試験(発癌性試験を含む)(原文、25ページ)

ラット(原文、25ページ)

GLP対応の慢性/発癌性併合試験58がおこなわれた。雄雌各40匹/群のFisher 344系ラットの飼料に、名目用量10、35および120mg/kg feedのラサロシドナトリウム(雄では0.5、1.8 および6.2mg/kg 体重/日、雌では0.6、2.2および8.1mg/kg 体重/日に相当)が24ヶ月間投与された。投与は交配(雄雌各1匹を2週間つがわせた)の1週間前から開始され、産児たちが離乳して生涯飼育用個体を選抜するまで続けられた。

いずれの用量においても、生存率への悪影響は認められなかった。平均体重および飼料消費量は、全般的に投与群と対照群との間に差が無かった。投与による臨床的症状、神経学的影響、眼変化もしくは肉眼でわかる腫瘍(tumor)や結節(nodule)も、いずれの用量においても認められなかった。

血液学的プロファイルには、小さな変化が認められた。35および120mg/kgでは、血中グルコース濃度の増加とBUN濃度の低下が認められた。他の血液化学パラメータへの影響は認められなかった。尿検査では、いずれの用量でも投与物質に無関係な影響が認められた。中間~高い用量の投与群では、投与による臓器重量の変化が確認され、肝臓重量の増加が雄雌ともに26週目および雌の130週目に、副腎重量の増加が雌の26、78および130週目に認められた。肝臓と副腎に組織形態学的な変化は認められず、肉眼的病理検査でも全組織で投与による病変は認められなかった。さらに顕微鏡検査でも、全用量の26、78および130週目においてラサロシドナトリウム投与に起因する発癌性もしくは非腫瘍性作用は認められなかった。

いずれの用量でも腫瘍(tumor)の増加が認められなかったことから、ラサロシドナトリウムは発癌性を有していないと判断された。NOELは、雄ではラサロシドナトリウム0.5mg/kg 体重/日であった。

イヌ(原文、26ページ)

-

⁵⁸ Reno, F.E. (1981). Section IV, Volume 20. Reference IV.2.4.2.B

GLP対応試験 59 において、雄雌各 10 匹/群のビーグル犬にラサロシドナトリウムが飼料中に 10 、 35 および 180 mg/kg feed(雄雌ともに平均日摂取量 $^{0.3}$ 、 1 および 6 mg/kg 体重/日に相当)の濃度で経口投与された。

いずれの用量においても、死亡や投与による臨床症状は認められなかった。また、いずれの用量でも投与による眼科的および心電図的変化は認められず、体重増加も影響を受けなかった。180mg/kg feedでは、飼料消費量の僅かな低下が雄雌両方で投与から2週間後にのみ認められた。

いずれの用量においても、平均アルカリ性ホスファターゼ濃度の上昇(180mg/kg feedにおいて6ヶ月後~試験最終まで)以外には、血液化学および臨床化学パラメータは雄雌ともに影響を受けなかった。また、これらの用量では薬理効果も認められなかった。180mg/kg feedにおいて前立腺重量の低下(6および12ヶ月後)および睾丸重量の増加が認められたが、他の臓器重量に差異は認められなかった。肉眼および顕微鏡検査では、前立腺を含めたいずれの組織にもラサロシドナトリウム投与が関連する異常は認められなかった。したがって、ラサロシドナトリウムは発癌性ではないと判断された。この試験でのNOELは1mg/kg 体重/日であった。

4.6. 生殖毒性/発生毒性試験(原文、26ページ)

4.6.1. 生殖能力(原文、26ページ)

ラット(原文、26ページ)

最初の試験60(非GLP対応試験)では、雌雄のSprague-Dawley CDラットに飼料に添加したラサロシドナトリウムを1、2、3および10 mg/kg 体重/日の用量で交配前の21日間と交配期間中14日間,ならびに雌には交配前の21日間から産児が離乳するまで投与された。

いずれの用量においても、臨床症状や死亡率に被験物質に関連する影響は認められなかった。 10~mg/kg体重/日を投与した雌親には、対照群と比較して体重増加量の低下が認められた。同じ影響が、10~mg/kg体重/日を投与したラットの産児にも、哺育4、7および14日に認められた。

⁵⁹ Hogan, G.K. and Rienehart, W.E. (1980). Section IV, Volume 25, Reference IV.2.4.2.C

⁶⁰ Hoar, et al. (1974). Section IV, Volume 27, References IV.2.5.A

妊娠雌数または妊娠率、平均妊娠期間、分娩雌数、平均産児数、平均着床数、死産児数、生存児の性比、出産率、生存率および哺育率(離乳率)に有意な影響は認められなかった。母体および新生児毒性に関するNOELは3 mg/kg体重/日であった。

4.6.2. 多世代試験(原文、26ページ)

ラット(原文、26ページ)

2つめの試験 61 (GLP対応)では、雌雄の第1世代(F_0)と第2および第3世代(F_1 および F_2)の Sprague Daley CDラットに10、35および120 mg/kg feed(雄では1日摂取量 $0.6\sim0.8$ 、1.9 \sim 2.9および $6.9\sim10.1$ mg/kg体重/日、雌では $0.7\sim1.1$ 、 $2.6\sim3.7$ および $8.3\sim14.2$ mg/kg体 重/日に相当)のラサロシドナトリウムが、交配前の9週間とその後の期間,3世代の試験期間 を通じて継続的に経口投与された。

親動物に被験物質に関連する死亡もしくは臨床症状は認められなかった。いずれの用量においても、各世代の育成期間における飼料摂取量に悪影響は認められなかった。 F_0 および F_2 世代の雌の妊娠中の飼料摂取量は、120~mg/kg~feedを投与したラットで一貫して低かった。帝王切開に選定された雌親では,妊娠期間中の飼料摂取量が最高用量の120~mg/kg~feedを投与したラットで低下した。この用量では、 F_0 および F_2 世代の雌の妊娠期間の平均飼料摂取量も低かった。全世代を通じた妊娠率と出生率は、最高用量において低かった。

中間および高用量の35および120 mg/kg feedを投与したラットでは、 F_2 世代の平均黄体数および着床数が低下した。最高用量120 mg/kg feedでは、 F_{2a} 児の世代で産児体重が低かった。

新生児の分娩日およびその後の生存率は、いずれの世代においても投与による影響を受けなかった。また、 F_{2b} 世代ではいずれの用量でも内臓および骨格異常の発生と病理組織学的所見に影響は認められなかった。生殖影響に関するNOELは、雄では0.6~mg/kg体重/日、雌では0.7~mg/kg体重/日であった。

4.6.3. 発生毒性試験(原文、27ページ)

ウサギ(原文、27ページ)

⁶¹ Reno, et al. (1990). Section IV, Volume 27, References IV.2.5.B

GLP対応試験において、12匹/群のニュージーランド白色種の妊娠ウサギに0、0.5、1および2 mg/kg体重/日のラサロシドが妊娠1、2および3日に投与された⁶²。その結果、ラサロシドナトリウムを投与したウサギは、1および2 mg/kgの投与で、用量に関連した飼料摂取量の減少が認められた。これによって、2 mg/kgでは糞便排泄量の減少と体重/体重増加量の有意な減少が生じた。

2 mg/kg体重/日では、早期胚死亡数の増加が認められた。胎児体重は、対照群と比べて1および2 mg/kgで減少した。また、2 mg/kgでは、角膜混濁を有する胎児の発生が僅かに増加した。1および2 mg/kgでは、脾臓淡色化の微増が認められた。2 mg/kgにおいてのみ、頬骨の上顎骨との癒合がみられる胎児の発生が対照群より多かった。

2mg/kg 体重/日では、完全な第13過剰肋骨および骨盤の位置異常を有する胎児の発生が、 対照群よりわずかに多かった。また、2 mg/kg 体重/日では、骨化が不完全な頭蓋骨、舌骨、 歯突起、恥骨、指・趾骨、長骨端および距骨を持つ胎児の発生の増加が認められた。

平均胎児体重は、対照群と比べて1 mg/kg 体重/日で低下した。

データの統計解析は、ラサロシドナトリウム投与に起因する発生毒性(催奇形性)は0.5、1.0 もしくは2.0 mg/kg 体重/日では認められないとの結論を裏付けている。しかし、より高い用量では妊娠成績や胎児体重などに幾つかの影響が認められているので、胎児毒性に関するNOELは0.5 mg/kg 体重/日に設定することができる。

4.7. 非標的動物種での特殊な試験(原文、28ページ)

4.7.1. イヌにおける心臓への影響(原文、28ページ)

ラサロシドの心臓への影響に関する公表された試験(Hanley et~al., 1975)では、合計22匹の雑種犬(体重20~35kg)が供試された。16匹のイヌは、起床中、常時計測および正常血圧の状態で供試された。このうちの6匹はラサロシドが心筋機能と冠血流量に及ぼす影響が調べられ、残りの10匹は局部的血行学的影響が調べられた。さらに、麻酔した6匹のイヌにおいて、出血性ショックを与えている間の心筋機能と腎血流量が調べられた。1mg/kg 体重/日のラサロシド投与は、陽性の変力作用と冠血流量および腎血流量の増加をもたらした。この試験は、ラサロシドを静脈内投与により1回の用量を1mg/kg 体重としておこなったため、

⁶² Clubb, S.K. and Sutherland, J.R. (2002). Additionnal dossier (2003). Section IV, Volume 2

薬理学的なNOELを設定することはできなかった。

4.7.2. ウマに対する毒性(原文、28ページ)

モネンシン、ラサロシドおよびナラシンによる中毒にかかったウマでは、食欲不振 (anorexia)、不安症(uneasiness)、多尿症(polyuria)、呼吸困難(dyspnea)、進行性失調症 (progressive ataxia)および臥位(recumbency)などが認められた。一般的には発汗が認められるものだが、ラサロシド中毒の動物には発汗症状は報告されなかった。ウマに対するイオノフォアの毒性症状では、臥位から頻繁に起き上がろうとして肢をバタバタさせ続けて死に至る(Matsuoka, 1976; Hanson et~al., 1981)。

Hanson et~al. (1981)がウマの急性毒性試験をおこない、単回経口投与により5および50mg/kg 体重のラサロシドを与えた結果、 LD_{50} 値は21.5mg/kgであった。現在推定されているウマに対するラサロシドの LD_{50} 値は、15、21、22および26mg/kg 体重で死亡した4頭のウマから得た8つのデータから示唆されたウマの最小毒性用量15mg/kg 体重(Kronfeld, 2002)に基づいている。

4.8. 結論(原文、28ページ)

遺伝子レベルでの変異原性影響は無いということが、細菌および哺乳動物細胞のいずれにおいても示された。*in vitro*でのラサロシドナトリウムの遺伝毒性は認められなかった。ラットとイヌの慢性経口毒性/発癌性試験の結果は、発癌性の徴候が無いことを示唆している。ウサギにおける胎児毒性が認められたが、それは発生毒性および母体毒性に関連していた。特殊な発生毒性(催奇形性)試験は、齧歯類における試験が利用可能である。しかし、ラット2世代試験から得られた関係データは、ラサロシドに発生毒性が無いことを裏付けるのに十分な証拠となると考えられる。

薬理学的毒性指標は、イヌの慢性毒性試験で供試された用量では明らかにならなかった。 したがって、薬理学的NOEL値は毒性学的NOEL値よりも大幅に高くなるものと思われる。

- 5. 消費者に対する安全性評価(原文、28ページ)
- 5.1. ヒト腸管内菌叢、抗微生物スペクトルおよびMICに関する試験(原文、28ページ)

ある試験 63 は、ヒト腸管内における広範囲のグラム陰性細菌の低感受性を、嫌気性細菌 *Bacteroides fragilis*を例外として確認した。ラサロシドに対する嫌気性細菌を含むほとんど のグラム陽性細菌(*Bifidobacterium* spp. $[0.063\sim0.5 \text{mg}^{-1}]$, *Eubacterium* spp. $[0.063\sim0.25 \text{mg}^{-1}]$, *Peptostreptococcus* spp. $[0.063\sim0.125 \text{mg}^{-1}]$)の高感受性も、無血培地を用いた試験方法により確認された。感受性細菌株の発育阻止濃度は、飼料中に添加される用量よりも低いが、可食性組織に認められた残留物濃度よりも遥かに高い。

5.2. ADIに関する提案(原文、29ページ)

ウサギへのラサロシドナトリウム投与による発生毒性影響が認められた。指針に通常求められている2つめの動物種の試験は提供されなかった。しかし、ラットの2世代試験による関連データが、ラサロシドナトリウムの発生毒性試験の不足を補う裏付け証拠として十分利用できると考えられている。

2年間のラット慢性経口毒性試験とウサギ母体毒性試験から最も低い0.5mg/kg 体重/日のNOEL値が得られている。安全係数を100として計算すると、ADIは0.005mg/kg 体重/日(体重60kgのヒト1人あたり0.3mg/日に相当)となる。

しかし、実験動物(ラット)とニワトリにおけるラサロシドナトリウムの代謝プロファイルの 類似性は完全には立証されていない。したがって、ニワトリ組織中残留物の評価の妥当性 には懸念が残る。

5.3. 最大残留基準(MRL)に関する提案(原文29ページ)

ラットとニワトリの代謝経路の類似性が立証されさえすれば、ニワトリ組織中残留物に関する入手可能データにより消費者暴露量を計算にすることができる。また、指標残留物を同定することができて、組織中濃度の分析方法の感度が入手可能となれば、MRL(最大残留限界: Maximum Residue Limit)の設定も可能となるであろう。

6. 使用者安全性評価(原文29ページ)

⁶³ McConcille, 1999. Section IV, vol. 17, p. 20

6.1. 急性吸入毒性(原文29ページ)

マウス(原文、29ページ)

非GLP試験において⁶⁴、雄雌各5匹のCD-1系マウスの1群が最大達成可能濃度(12.5mg/L)のラサロシドナトリウムのダストを含む大気に4時間暴露された。ダストの空気力学的重量中位径もしくは平均粒子径は指定されなかった。暴露期間終了後、マウスは14日間の観察期間に置かれた。いずれのマウスも暴露14日後に屠殺され、肉眼による病理検査がおこなわれた。

暴露期間中の死亡は認められなかった。暴露から2時間後には、過剰な流涙(excessive lacrimation)と軽度の赤色眼漏(red ocular discharge)および粘液性鼻漏(mucoid nasal discharge)の発生が認められた。14日の観察期間には、過剰な流涙が続くとともに、重度の角膜混濁(corneal opacity)と眼瞼腫脹(swelling of the eyelids)の発生、軽度の赤色眼漏の発生、脱毛、顔や咽喉の周りの黄色い物質の出現および全般的な欠乏症状態(general deficient condition)が認められた。検視では、肺の変色が明らかになった。

ラット(原文、29ページ)

雄雌各5匹/群のSprague Dawleyラット6群が、各濃度の精製ラサロシドナトリウムを含む大気に4時間暴露された65。大気中のラサロシドナトリウムダストの平均名目濃度は0(大気)、0.20、0.87、2.19、4.11および8.05mg/L)であった。ダストの空気力学的重量中位径もしくは平均粒子径は指定されなかった。死亡個体と生存個体の両方の検視がおこなわれた。

0.87 mg/L以上の高濃度では、暴露14日後まで死亡個体が生じた。臨床症状は、活動量の低下(reduced activity)、ラッセル呼吸音(rale)、努力呼吸(labored respiration)、喘ぎ呼吸 (gasping respiration)、赤色もしくは粘液性鼻漏などが認められた。0.87 mg/L投与群では、検視により肺の変色(lung discoloration)、腎盂拡張(dilated renal pelvis)および肝臓の変色 (liver discoloration)が明らかになった。2.19mg/L投与群のラットは、試験中に体重の減少が比較的大きく、検視では肺の変色、ガスによる腹部の膨張および肺の変色が明らかになった。

⁶⁵ Thackara, J. W. and Rinehart, W. E. (1977c). Section IV, Volume 5, Reference IV.2.1.D

 $^{^{64}\,}$ Thackara, J.W and Rinehart, W.E. (1977a). Section IV, Volume 5, Reference IV.2.1.B

モルモット(原文、30ページ)

非GLP試験で、雄雌各5匹/群のHarthey系モルモット1群が最大技術的達成可能濃度(11.5 mg/L)で1時間暴露された⁶⁶。ダストの空気力学的重量中位径もしくは平均粒子径は指定されなかった。供試動物は観察され、毒性症状と体重が記録された。14日目に全生存個体が屠殺され、肉眼による病理検査がおこなわれた。

暴露30分後に、少数の暴露個体に粘液性鼻漏と喘ぎ呼吸が認められた。45分後には、雌1個体が死亡し、喘ぎ呼吸の発生が増加した。0日目は、2匹目の個体(雄)が死亡した。残りの雄雌各4個体の観察では、粘液性鼻漏、過剰な流涙および全般的な欠乏症状態が認められた。また、角膜混濁、努力呼吸、乾性ラッセル呼吸音(dry rale)、緑色の口腔内分泌物(green oral discharge)、眼瞼腫脹、脱毛および軟便(soft stool)も散見された。全死亡個体に共通する肉眼病理所見は、肺の変色とガスによる腹部の膨張であった。肺の変色は14日間生存した個体だけに共通して認められた。また、単独で膀胱の膨張(distension of the urinary bladder)、胆嚢の膨張(distension of the gall bladder)および肺の変色も指摘された。

6.2. 経皮/眼毒性(原文、30ページ)

ウサギ(原文、30ページ)

雄雌各2匹/群のNew Zealand White系ウサギ3群を用いて、ウサギ急性経皮毒性試験(非GLP)67がおこなわれた。供試動物は有傷皮膚および無傷皮膚(1個体/性/用量)に24時間の乾燥粉末の密封経皮暴露により、500、1000および2000mg/kg 体重の用量で単回投与された。暴露14日後に供試動物の観察がおこなわれた。自発運動量の減少(decreased motor activity)、ケージ内での萎縮および流涙が投与によって生じた。死亡個体は1000および2000mg/kg 体重の用量で投与2~6日後に生じた。この試験では供試動物数が少ないことが指摘されている。

6.3. 皮膚刺激性(原文、30ページ)

雄雌どちらか一方のNew Zealand White系ウサギ3匹68が、蒸留水で湿らせた500mgのラサ

⁶⁶ Thackara, J.K. and Reinehart, W.E., (1977b). 4 August 1977. (Study reference: IV.2.1.C)

⁶⁷ Hane, D. (1977). Roche, January 24

Talle, D. (1977). Roche, January 24

⁶⁸ Hane D. (1977a). Section IV, Volume 5, Reference IV.2.1.E

ロシドナトリウム粉末を用いて有傷皮膚と無傷皮膚に4時間局所投与された。供試動物は暴露終了から4、24および48時間後に毒性徴候と皮膚上の紅斑(erythema)、浮腫(edema)および瘢痕形成(scar formation)の部位が調べられた。毒性や刺激性の兆候は見られなかった。

6.4. 眼刺激性(原文、30ページ)

非GLP試験 69 においてNew Zealand White系ウサギ3匹が供試され、ラサロシドナトリウムによる眼刺激性の可能性が調べられた。ラサロシドナトリウムの乾燥粉末0.036g (0.1mL)が各個体の片目の結膜嚢に単回滴下された。1投与群のウサギは、滴下5分後に水で眼を洗浄し、他の投与群は滴下24時間後に同様に眼を洗浄した。そして、結膜、虹彩および角膜への刺激性が調べられた。いずれの投与群も、結膜の充血(Conjunctivae redness)が認められた。

6.5. 皮膚感作(原文、31ページ)

モルモット(原文、31ページ)

皮膚感作に関するマキシミゼーションテスト70(非GLP)が、1群10匹のH.H. Harthey系アルビノ雌性モルモット2群を用いておこなわれた。供試動物は10匹ずつ2群に分け、両群ともラサロシドナトリウムを完全フロイントアジュバントもしくは流動ワセリンに混ぜて経皮および局所暴露したのち、流動ワセリンに混ぜたラサロシドナトリウムを局所暴露した。対照群には担体のみを暴露させてから、流動ワセリンに分散させた25%のラサロシドナトリウムを局所暴露させた。両群とも暴露後に紅斑が出現したが、紅斑の程度には投与群と対照群との間で有意差が無かった。また、両群とも浮腫は発生しなかった。

6.6. 使用者の安全性に関する結論(原文、31ページ)

マウス、ラットおよびモルモットにおける吸入試験の結果は、ラサロシドナトリウムダストが気道や肺に局所毒性を、他の臓器に全身毒性を引き起こす可能性を有していることを示唆した。急性経皮毒性は低く、皮膚からの吸収が少ないことが示唆された。ラサロシドナトリウムは皮膚刺激や皮膚感作を生じなかったが、眼刺激を引き起こした。

⁶⁹ Hane D. (1977). January 24. Sec. IV, vol. 26, p. 23 (ref. IV, 4.3)

⁷⁰ Felling, 1975. Section IV, vol. 24, Ref. 9 (various experiments)

試験は最終製剤のアバテック15%ではなく、活性ラサロシドナトリウムを用いて実施された。そのため、最終製剤によるアバテック15%の使用者の安全性を完全に評価することはできない。しかし、アバテック15%製剤(>80%トウモロコシ粉)の性質と、精製ラサロシドナトリウム($0.1 mg/m^3$ 、8時間の時間加重平均値として表記)およびアバテック15%($0.67 mg/m^3$ 、8時間の時間加重平均値)の体内への職業暴露限界(internal occupational exposure limit: IOEL)から考えると、アバテック使用者への悪影響の可能性は無いと思われる。

7. 環境(原文、31ページ)

この活性成分は、環境への安全性が立証された生理活性物質や天然物質ではない。また、 伴侶動物への使用は想定されていない。したがって、環境中予測濃度(PEC: predicted environment concentration)を調べるために第I相の審査を実施する必要がある。

第I相および第II相の審査においては、最大推奨用量では添加物の100%が親化合物として排出されるという前提で、総残留物法により初期の最大PECが計算される。他の環境媒体への分配も親化合物の特性に基づいているが、関連代謝物に関する入手不可能データは無い。

7.1. 暴露評価(原文、31ページ)

7.1.1. 代謝と排出(原文、31ページ)

バタリー試験において、ブロイラーに0.0075%のラサロシドを添加した飼料が $0\sim11$ 週間与えられた 71 。試料採集皿は飼料による糞便の汚染を最小限にするために改良された。第 $0\sim4$ 週は3回/週、第5、6および10週は2回/週、第7、9および11週は1回/週の $^{\circ}$ ースで試料採集がおこなわれ、毎週3試料が薄層バイオオートグラフィー法により分析された。その結果、齢数の増加に伴う糞便中ラサロシド濃度の減少が認められ、初期は平均 $5\sim6$ mg/kgであったのに対して最後には $2\sim3$ mg/kgになった。

他の試験68では、平飼いのブロイラーに75mg/kg feedのラサロシドを与えながら(投与群によって5日間および1週間の休止期間あり)各8週間の飼育を2回もしくは3回連続しておこない、敷料中のラサロシド濃度が測定された。試料採取は敷料の断面を切り取っておこなった。その結果、敷料の深さによるラサロシドの濃度の差異は認められなかった。ラサロシ

⁷¹ Felling, 1975. Section IV, vol. 24, Ref. 9 (various experiments)

ド濃度の範囲は2~6mg/kgであり、定常状態であった。

両試験とも極めて簡潔に記載されており、糞尿の分析方法の妥当性(再現性や精度など)、分析時間(および貯蔵中の安定性)、糞尿の特徴(水分含量など)は示されていない。また、添加直後に抽出された場合のラサロシドの回収率は90%を超えるが、糞便添加後の抽出が遅いと回収率が低くなり抽出効率が不十分となることがFDAの報告で指摘されている。したがって、これらの試験結果は信頼性が低い。

GLP対応試験で、ブロイラー鶏における 14 Cラサロシドナトリウムの排出量が、125mg/kg feedの用量により 7 日間連続で調べられた。排泄物の分析から、ラサロシド 4 Aが総放射能残留物の 4 A 4 A 5 A

7.1.2. 運命と挙動(原文、32ページ)

7.1.2.1. 生分解性(原文、32ページ)

ラサロシドナトリウムの生分解性が調べられた⁷²。ラサロシドナトリウムは、28日間以内の 試験条件下では生分解されにくいことがわかった。

7.1.2.2. 糞尿中における運命と挙動(原文、32ページ)

排泄直後の糞便にラサロシドを5および10 mg/kgの濃度で添加し分解が調べられた68。ラサロシドは改良TLCオートグラフ法により測定した。その結果、30日後に75%以上のラサノシドが消失していた。図らずも乾燥してしまった試料中では、ラサロシド濃度の低下は認められなかった。追加試験で、ラサロシドを投与した飼料(75 mg/kg)を与えたブロイラーの糞便中のラサロシドの分解が調べられた。糞便は温度32%、相対湿度85%で貯蔵された。その結果、6もしくは29日で約75%の活性が失われた。

最初の試験では、ラサロシドの添加から抽出までの1時間以内に活性の著しい低下 $(27\sim 36\%)$ が生じた。24時間後には、 $40\sim 60\%$ の非常に著しい活性の減少が認められた。したがって、活性低下の原因は少なくとも一部は分解よりも、むしろ吸着であると考えざるを得ない。また、分解を調べた試験条件が実際の条件に合致しているかどうかも疑わしい。

-

⁷² Ref. Bätscher, 1999

7.1.2.3. 土壌中の運命と挙動(原文、32ページ)

吸着(原文、32ページ)

 14 C標識ラサロシドナトリウムの吸着が、OECD(経済協力開発機構)の試験ガイドラインNo. 106 に従って、微砂質埴壌土(pH 6.1、有機炭素2.5%、粘度20%)、砂壌土(pH 7.5、有機炭素1.3%、粘度13%)および埴壌土(pH 5.3、有機炭素4.3%、粘度34%)で調べられた 73 。微砂質埴壌土、砂壌土および埴壌土のKoc値(土壌吸着定数)は、それぞれ1620、846および942であった。 30 の土壌型はいずれもFreundlich定数が同等のレベルで $^{0.86}$ ~0.94の範囲であった。これらの結果はラサロシドナトリウムが、有機炭素および粘度含量が最も高い埴壌土と微砂質埴壌土において最も強い吸着性をもつことより、低移動性を有することを示唆した。

<u>生物分解</u>(原文、32ページ)

土壌中の生物分解が、3つの試験により調べられた。2つの試験は1975年に実施されたが、現在のGLPの基準を満たしていないため検討に入れられなかった。3つ目の試験は2003年に実施され、 14 C標識ラサロシド(純度97.5%)が用いられた。土壌中の運命と挙動が、HPLC及び代謝物の同定にはTLC、無機化の定量には CO_2 トラップ法 74 が用いられて評価された。供試土壌は砂壌土、埴壌土および微砂質埴壌土であった。幾つかの代謝物が検出されたが、代謝物の同定はなされなかった。未知代謝物Cと表記された代謝物1つだけが10%TARより高濃度で検出され、微砂質埴壌土では処理32日後に最大の20%であったが120日後には17%に減少した。 CO_2 への無機化は砂壌土で23%、埴壌土で15%、微砂質埴壌土で11%を占めた。非抽出性残留物は、砂壌土で57%を占めた。 DT_{50} 値(土壌中半減期)は、砂壌土、埴壌土および微砂質埴壌土で23%、で

7.1.2.4. 水中の運命と挙動(原文、33ページ)

ラサロシドナトリウムの加水分解は、OECDガイドラインNo. 111に従って様々なpH条件で

⁷³ McCorquodale S.Y. and Paterson, K. 2003. Report No 22621, vol. 3, Sec. IV, p. 3, ref. No 5

⁷⁴ McCorquodale and Clayton, MA. 2003. Report no 22463. Sec IV, vol. 4, ref. 21

調べられた75。pH4および7では、50℃で5日後に10%未満が分解された。pH9では、約32%が分解された。濾過処理および非濾過処理した糞便抽出物および池水中におけるラサロシドの安定性も調べられた68。糞便抽出液は、濾過処理および非濾過処理のいずれもラサノシド活性の約90%が失われた。一方、濾過処理および非濾過処理の池水中では、活性がそれぞれ90および80%維持された。ラサロシドナトリウムは水中で安定であると考えられている。糞便抽出液における活性低下が濾過処理と非濾過処理とで同等であったことから、活性喪失の原因は分解よりもむしろ吸着であると考えざるを得ない。

結論(原文、33ページ)

ラサロシドの平均 K_d および K_∞ 値は、それぞれ31および1140である。提供されたデータは、 糞尿中のラサロシドの分解速度に関する結論を引き出すには不十分である。ラサロシドの 土壌中の DT_{50} 値は $0.6\sim14.2$ 日、平均は5.5日である。主要な未同定代謝物が1つ生成される が、その生物活性は不明である。ラサロシドの加水分解は遅い。

7.1.3. 環境中予測濃度(PEC)(原文、33ページ)

土壌、地下水および地表水中の環境中予測濃度(Predicted environmental concentrations: PEC)の最大値の計算方法は付則Iに示されている。計算値を表8に示した。

表8. 土壌、地下水および表面水におけるラサロシドの環境中予測濃度

環境媒体	濃度		トリガー値
	脆弱地域	非脆弱地域	
土壌	580 μg/kg-	1200 μg/kg	10 μg/kg
地下水	29 μg/L-	$60~\mu \mathrm{g/L}$	$0.1~\mu \mathrm{g/L}$
地表水	$2.9~\mu \mathrm{g/L}$ -	$6.0~\mu\mathrm{g/L}$	

土壌と地下水の第I相のPECトリガー値は超えている。したがって、第II相の審査が必要と 考えられる。

-

⁷⁵ Tognucci, 1999. Section IV, vol. 3, 1999b, Ref. 3, project 739427

第II相のTier Aは、親化合物の毒性データに基づいて第I相で計算された総残留物量(初期最大濃度)と総合的な影響評価を参考にしている。これは、親化合物が最も毒性の高い化合物であることを前提とした暴露期間に関係のない安全性レベルである。

- 7.2. 影響評価(原文、34ページ)
- 7.2.1. 土壌生物に対する毒性(原文、34ページ)
- 7.2.1.1.植物への影響(原文、34ページ)

植物に対するラサロシドの植物毒性は、2つの試験において、75~225mg/kg feedのラサロシドを混ぜた飼料を8週間与えたニワトリの糞尿(鶏糞堆肥)の影響が調べられた。2つめの試験では、150mg/kgのラサロシドを直接土壌に混和した処理もおこなわれた。堆肥試料は10t/haの割合で土壌に混和された。単子葉植物のトウモロコシ(Zea mays)、オオムギ(Hordeum vulgare)、ライグラス(Lolium perenne)、双子葉植物のダイズ(Glycine max)、トマト(Lycopersicon esculentum)およびキュウリが混播された。発芽にばらつきがあったため、最初の試験では何も結論が引き出せなかった。2つめの試験では、いずれの処理においても発芽に及ぼす悪影響は認められなかった。ラサロシド投与鶏の敷料を施用した植物は、恐らく敷料の肥効によって敷料無施用の植物よりも速く生育した(総新鮮重量が高かった)。ラサロシド混和土壌で育てた植物と非混和土壌の植物の総新鮮重量に有意差は無かった。

ペレニアルライグラス(Lolium perenne)、ニンジン (Raphanus sativus)およびリョクトウ (Pheseolus aureus)の発芽と実生成長にラサロシドナトリウムが及ぼす影響が、OECDガイドラインNo. 208^{74} に従って砂壌土で調べられた 74 。試験期間は18日間(少なくとも50%が発芽してから14日間)であった。これらの植物の発芽に対する LC_{50} 値(半数致死濃度)は、本試験での最大濃度(100mg/kg soil dw)よりも高かった。生育に対する最低EC $_{50}$ 値(半数効果濃度)は、ライグラスの場合で87.8mg/kgと推定された。ラサロシドのNOEC(無影響濃度: No Observed Effect Concentration)は10mg/kg soilとなっている。

7.2.1.2. ミミズへの影響(原文、34ページ)

ミミズ(*Eisenia foetida andrei*)に対するラサロシドナトリウムの急性毒性は、OECDガイドラインNo.207に従って、名目濃度600mg/kg dry soil、20 \mathbb{C} 、14 日間の限度試験において調

べられた⁷⁶。砂70%、カオリナイト粘土20%およびミズゴケピート10%で構成された人工 土壌が用いられた。最も高い2つの濃度(300および600mg/kg)では、全部のミミズが14日後 に死亡した。有機物5%に正規化されたラサロシドのLC50値は、71.8mg/kgである。ミミズ の体重変化に対するラサロシドのNOECは75mg/kgと推定された。

7.2.1.3. 土壌微生物への影響(原文、34ページ)

活性汚泥における好気性廃水微生物の呼吸速度に対するラサロシドナトリウムの阻害作用が、OECDガイドラインNo.209に従って濃度 $10\sim100$ mg/Lでの3時間の呼吸阻害試験で調べられた。最大試験濃度だけが27%の呼吸阻害作用が認められた。したがって、 EC_{50} 値は>1000mg/Lであった。いずれの試験条件も、許容限界以内であった。

7.2.2. 水生生物に対する毒性(原文、35ページ)

7.2.2.1. 藻類への影響(原文、35ページ)

Selenastrum subspicatusに対するラサロシドナトリウムの急性毒性が、OECDガイドラインNo.201に従って、ラサロシド $0.22\sim10$ mg/Lの名目濃度で調べられた 78 。実濃度は名目濃度の $86\sim99\%$ であり、試験の最後まで安定に保たれた。他の試験条件はいずれも許容限界以内であった。バイオマス量と成長速度に基づくラサロシドの72時間NOECは1.0mg/Lであ

⁷⁶ Clayton and Knight, 2002. Section IV, volume 5, ref. no 22, report 21775

⁷⁷ Chapleo et al., 2003. Section IV, vol. 5, Ref. 23 and 24

⁷⁸ Bätscher, 1999. Section IV, vol. 5, Ref. 25

った。バイオマス量と成長速度に基づくラサロシドの EC_{50} 値は、それぞれ2.0および3.1mg/L であった。最後の値は、最も生態学的関連性の高い値と考えられている。同種の藻類を用いた以前の研究では、細胞数とクロロフィル量に基づくラサロシドの96時間 EC_{50} 値がいずれも8mg/Lであった。しかし、この試験は記載が不十分であった(回復について報告されなかったなど)。リスク評価には、成長速度への影響が用いられる。

7.2.2.2. 甲殻類への影響(原文、35ページ)

甲殻類 $Daphnia\ magna$ (オオミジンコ)に対するラサロシドナトリウムの急性毒性が、OECDガイドラインNo.202に従い、ラサロシド1.5~32mg/Lの名目濃度で止水条件のもとで調べられた 79 。実濃度は名目濃度の86~89%であり、試験の最後まで安定に保たれた。実濃度に基づく48時間 EC_{50} 値は5.4mg/L(95%C.l.: <math>4.1~7.1)であった。同種の甲殻類を用いた以前の研究では、ラサロシドの48時間 EC_{50} 値は2.4mg/Lであった。しかし、この試験は記載が不十分であった(回復について報告されなかったなど)。

7.2.2.3. 魚類への影響(原文、35ページ)

ゼブラフィッシュ $Brachydanio\ rerio$ に対するラサロシドナトリウムの急性毒性が、OECD ガイドラインNo.203に従い、ラサロシド $0.32\sim32$ mg/Lの名目濃度で止水条件のもとで調べられた80。実濃度は名目濃度の $75\sim87\%$ であり、試験の最後まで安定に保たれた。実濃度に基づく96時間 EC_{50} 値は2.5mg/L($95\%C.l.:1.1\sim5.5$)であった。ブルーギル Lepomis macrochirusを用いた以前の試験では、96時間 EC_{50} 値は3.6mg/Lであった。キンギョを用いた他の試験では、ラサロシドの72時間 EC_{50} 値が6mg/Lとなった。しかし、両試験とも記載が不十分であった(回復について報告されなかったなど)。

7.2.2.4. 結論

土壌媒体に関する入手可能な情報は、植物、土壌生息生物および土壌微生物の3つの主要関連生物群を網羅している。したがって、土壌媒体に関する環境リスクは判定可能である。 ミミズに対するラサロシドの最低LC(EC)50値は71.8mg/kgである。植物および微生物に対するラサロシドのNOECは、それぞれ10および>5mg/Lである。土壌における生物分解の

⁷⁹ Bätscher, 1999. Section IV, vol. 5, Ref. 25

⁸⁰ Bätscher, 1999. Section IV, vol. 5, Ref. 27.

速さから考えて、安全係数100が最低LC(EC)50値に適用され、ラサロシドのPNEC値(予測無影響濃度: predicted no-effect concentration)は0.72mg/kgとなった。これは土壌微生物に対するリスクにも適用できると考えられる。

水媒体に関する最低毒性値は、魚類の場合で $LC(EC)_{50}$ 値が2.5mg/Lとなっている。安全係数1000を適用し、水生生物に対するラサロシドのPNECは2.5μg/Lである。

7.2.3. 生体内蓄積(原文、36ページ)

生体内蓄積に関するデータは何も提出されていない。log Kow < 3であるので、生体内蓄積に関するリスクは低いと考えられる。

7.3. リスク判定(原文、36ページ)

7.3.1. 土壌に対するリスク(原文、36ページ)

土壌生物に対するリスクは、計算されたPEC値とPNEC値とを比較することによって推定できる。この比較を表9に示した。非脆弱地域のPEC/PNEC比は1を超え、土壌生物に対するリスクの存在を示唆している。

しかし、以下の観点から、実際のPECは計算値よりも低いと考えられる:

- 1. 投与休止期間がPECの計算に加味されていない。
- 2. ラサロシドが代謝されるという証拠がある(10%を超えて排出される代謝物は無い)。
- 3. 糞尿(堆肥)貯蔵中のラサロシドの生物分解に関する証拠がある。
- 4. ニワトリの糞尿(鶏糞堆肥)は350kg nitrogen/haの施用量では1回の施用で十分拡散すると思われない。

したがって定量化は可能ではないが、土壌生物に対するリスクは低いと考えられる。

表9. 土壌媒体に対するPECとPNECの比較

場所	PECsoil	PNEC	PEC/PNEC
	mg/kg	mg/kg	

脆弱地域	0.58	0.72	0.8
非脆弱地域	1.20	0.72	1.7

7.3.2. 地下水に対するリスク

付則Iに示されている計算式に基づく脆弱地域および非脆弱地域のPEC地下水は、それぞれ 20および40 μ g/Lである。しかし、ラサロシドの分解の速さを考慮すると、地下水のトリガー値0.1 μ g/Lを超えるとは思われない。このことは、FOCUSモデルPEARLを用いた試算によって確認できる。

7.3.3. 水生生物に対するリスク(予備判定)(原文、36ページ)

水生生物に対するリスクは、計算されたPEC値とPNEC値とを比較することによって推定できる。この比較を表10に示した。非脆弱地域のPEC/PNEC比は1を超えており、水生生物に対するリスクの存在を示唆している。データの不足により、今のところ底質生息生物に対するリスクの可能性も排除できない。

土壌に関して述べた観点と同じ観点から、地表水のPECも計算値よりも低いと考えられる。 したがって定量化は可能ではないが、水生生物に対するリスクは低いと考えられる。

表10. 水媒介に対するPECとPNECの比較

場所	PECsoil μg/kg	PNEC μg/kg	PEC/PNEC
脆弱地域	2.9	2.5	1.2
非脆弱地域	6	2.5	2.4

7.4. 結論(原文、36ページ)

提供されたデータに基づくと、最大推奨用量でのアバテック使用によってもたらされる陸圏および水圏生物に対するリスクの可能性は排除できない。しかし、実際にはPEC/PNEC比を下げると思われる多くの要因がある(代謝や生物分解など)。これらのことを考慮すると、定量化は可能ではないが、陸圏および水圏環境に対するリスクは低いと考えられる。

結論および提案(原文、37ページ)

ラサロシドナトリウムに関する提出データの審査から、FEEDAPパネルは主として以下のような結論に達している:

現在の効果(原文、37ページ)

野外試験がおこなわれていないため、効果は十分に評価することができない。しかし、平 飼い試験では3つの受け入れ可能な研究が提出され、肥育鶏には90mgが有効であることが 示唆された。産卵鶏に関しては、飼料への90mg/kg feedの継続的添加および105mg/kg +80mg/kgの2回添加が有効であることが示された。これらの値はいずれも申請者から提案 された最小用量よりも高い。

申請者から提供された*Eimeria*属原虫に関する最近の出版物やデータは、他のイオノフォア類と同様にラサロシドナトリウムに対する抵抗性が生じる可能性を示唆した。しかし、それはローテーションやシャトルプログラムの実施により回避できる。

細菌の抵抗性(原文、37ページ)

ラサロシドナトリウムは、一部のグラム陽性細菌に対する活性を有するポリエーテル系イオノフォア抗生物質であるが、多くの腸内細菌(*Enterobacteriaceae*)は自然抵抗性である。

最も感受性の高い細菌株も網羅するMICは、飼料中に添加される用量よりも低いが、可食性組織に認められた残留物濃度よりも遥かに高い。

抵抗性や交差抵抗性の誘導は試験条件では認められず、感受性の増加や効果不足はヒトや動物薬に使用されるもっと重要な抗生物質で生じていることであった。肥育鶏における Salmonella Typhimurium 菌排出の増加が 2 つの試験で示された。しかし、この点では恐らくラサロシドは他のイオノフォア類と変わりないと思われる。

活性物質が抗微生物活性を示す場合、細菌の添加物に対する抵抗性を監視するための野外 試験が提供されなければならない。現在の国の抗微生物剤抵抗性監視プログラムでは、動 物におけるラサロシド抵抗性の監視はおこなわれていない。

対象動物種に対する安全性(原文、37ページ)

耐性試験では、ラサロシドナトリウムを完全配合飼料 1kg あたり 150mg もしくは最大推奨 用量(同 125mg/kg)の 1.2 倍投与した肥育鶏において、生存率、体重増加、飼料効率および 血液学的パラメータに悪影響は認められなかった。産卵鶏の場合も、125mg/kg を投与した 場合の安全性を裏付けるデータしか提供されていないが、同量のラサロシドナトリウムを 投与できると FEEDAP パネルは考える。

養鶏に用いられたラサロシドナトリウムとチアムリンの相互作用の可能性に関する提出データは不十分であった。したがって、FEEDAPパネルはラサロシドナトリウムとチアムリン等やそのようなその他の薬効物質との同時投与は避けた方が安全であり、現在の助言は保持すべきであると考える。

日常的にニワトリに与えている用量では、ラサロシドは馬や他のウマ科動物に対して毒性である。

消費者に対する安全性(原文、38ページ)

ラサロシドナトリウムは広く吸収・代謝されて多くの代謝物に転換されるが、その量はいずれも排泄物中の総放射能の10%にも満たない。しかし、未変化のラサロシドの割合に関する明確な結論を引き出すことはできない。

肝臓が標的組織であり、次に多く残留するのは皮膚/脂肪および腎臓である。休止期間0日では、筋肉、皮膚/脂肪および腎臓にかなり多くの残留物画分をラサロシドが占め、残りの残留物はラサロシドの水酸化誘導体として同定された多数のマイナー代謝物であると思われる。休止期間0日での抽出可能性や残留物の性質(遊離および抽出不可能)などに関するデータが欠けているため、指標残留物を同定することは不可能である。

遺伝毒性指標の範囲を十分に網羅する分析がおこなわれたが、分析結果は陰性であった。 ラサロシドナトリウムは細菌に対する試験でも変異原性ではなかった。ラサロシドナトリ ウムは染色体損傷を生じず、*in vitro*で哺乳動物細胞に対して変異原性を示さない。ラット とイヌで実施された慢性経口毒性/発癌性試験の結果は、発癌性の徴候を示さなかった。

2年間のラット慢性経口毒性試験とウサギ母体毒性試験から、最も低い値の毒性学的 NOEL(0.5mg/kg 体重/日)が設定された。

薬理学的毒性指標は、イヌの慢性毒性試験で供試された用量では明らかにならなかった。 試験結果は薬理学的NOEL値が毒性学的NOEL値よりも大幅に高くなることを示唆している。したがって、安全係数を100として計算すると、ADIは0.005mg/kg 体重/日(体重60kgのヒト1人あたり0.3mg/日に相当)となる。しかし、実験動物(ラット)とニワトリにおけるラサロシドナトリウムの代謝プロファイルの類似性は完全には立証されていない。したがって、ニワトリ組織中残留物の評価の妥当性には懸念が残る。

ラットとニワトリの代謝経路の類似性が立証されさえすれば、ニワトリ組織中残留物に関する入手可能データにより消費者暴露量を計算にすることができる。また、指標残留物を同定することができて、組織中濃度の分析方法の感度が入手可能となれば、MRLの設定も可能となるであろう。

使用者に対する安全性(原文、38ページ)

ラサロシドナトリウムは、眼刺激物質であるが、皮膚刺激もしくは皮膚感作物質ではない。 ラサロシドナトリウムに対する呼吸暴露は、気道や肺に局所毒性を、他の臓器に全身毒性 を引き起こす可能性がある。

これらの試験は最終製剤のアバテック15%ではなく、活性ラサロシドナトリウムを用いて 実施された。アバテック粒剤は最終製剤からのラサロシドナトリウムダストの放出を最小 に抑えているが、飼料製造中は作業者暴露を軽減するために提案された防護手段の利用が 推奨される。

環境への安全性(原文、38ページ)

提供されたデータによると、最大推奨用量でのアバテック使用によってもたらされる陸生および水生生物に対するリスクの可能性は排除できない。しかし、実際には PEC/PNEC 比を下げると思われる多くの要因がある(代謝や生物分解など)。これらのことを考慮すると、定量化は可能ではないが、陸圏および水圏環境に対するリスクは低いと考えられる。

モニタリング(原文、38ページ)

プレミックスや完全配合飼料中のラサロシドナトリウムのモニタリングに有効な方法が記載された。この方法は、欧州共同体の公式モニタリング方法(Official Community Method) として委員会指令199/76/ECに採用されている。

MRLも指標残留物も定まっていない。ラサロシドナトリウムが指標残留物であるという想定の下で、対象組織における残留ラサロシドの定量化のための幾つかの分析方法が開発されている。

提案(原文、39ページ)

ラサロシドナトリウムA(80%)の純度の保証は低く、改善するべきである。

付則の条項の中の"他の規定"に、チアムリンと一部の他の薬剤との同時投与は禁忌であることを記すべきである。

日常的にニワトリに与えている用量では、ラサロシドは馬や他のウマ科動物に対して毒性

である。使用上の注意に、このことに関する警告を入れたほうがよい。

FESAに提供された文書(原文、39ページ)

- 1. Alpharma社から提供されたAvatec®(ラサロシドナトリウム)の登録関係書類の原本
- 2. 2002年7月付の中間書類(科学専門家委員会による質問に対する回答:1冊)
- 3. 2003年5月付のAlpharma社からの補足書類(13冊)
- 4. 科学専門家委員会による質問に対する回答文書(2003年7月)の添付書類。2003年11月に Alpharma社から提出された添加物使用の安全性に関する試験結果。
- 5. 2004年5月および6月付のAlpharma社からの補足書類

パネル構成員(原文、42ページ)

Arturo Anadón, Margarita Arboix Arzo, Georges Bories, Paul Brantom, Joaquim Brufau de Barbera, Andrew Chesson, Pier Sandro Cocconcelli, Joop de Knecht, Noël Dierick, Gerhard Flachowsky, Anders Franklin, Jürgen Gropp, Anne-Katrine Haldorsen, Ingrid Halle, Alberto Mantovani, Kimmo Peltonen, Guido Rychen, Pascal Sanders & CPieter Wester

謝辞

動物飼料用の添加物および製剤または物質に関する科学パネルは、本意見書の草稿作成に 御尽力頂いたJean-François Guillot 教授とMarco Vighi 教授に感謝いたします。 付則 I(原文、43ページ)

環境中予測濃度(PEC)を調べる方法(原文、43ページ)

土壌PEC(原文、43ページ)

土壌に施用される鶏糞堆肥(ニワトリ糞尿)の量は、窒素排出基準と糞尿の窒素含有量によって決まる。SCAN(動物影響に関する科学委員会: Scientific Committee for Animal Nutrition)が用いている動物栄養に関するデータセットによると、ブロイラーの年間飼料消費量は29kg DM、年間窒素排出量は0.394kgである。したがって、窒素排出1kgに対して83kgの飼料(88% DM)が消費される。抗コクシジウム剤が飼料中に1mg/kg添加されて100%排出されるとすると、窒素1kg中に83mgの残留物が生じる計算になる(飼料へのZnとCuの使用についての動物栄養に関する科学委員会の意見書(2003年)の中のリスク評価を参照)。

各加盟国に家畜糞尿(堆肥)による土壌の肥沃化に関連する多様な規則があり、排泄された残留物による環境暴露の状況も多様である。欧州指令は脆弱地域における最大窒素施用量を年間170kg N/haと定めた。非脆弱地域に関しては、年間350kg N/haの最大窒素施用量となっている。Spaepen et al. (1997)の報告によると、イタリアでは年間600kg N/haが施用されているという。しかし、この量は"ロコミ情報"と書かれており信頼性があると思えない。一方、ポー川流域に対して国(イタリア)のポー盆地担当機関は最大窒素施用量を年間350kg N/haに推奨しているが、イタリア国内の他の農業地域に対してはこれよりも低い施用量が奨励されている。この審査においては、両方の可能性が考慮されるであろう。

通常の農作業では、ブロイラー由来の堆肥は耕作地にしか施用されず、草地には施用されない。ほとんどの堆肥は動物のサイクルの終りのほうで作られ、添加物は生産(育成)期間に投与されるため、初めのうちの堆肥中の生物分解は考慮されていない。土壌中濃度(耕作地)は土壌密度1500kg/m³、混和深度0.2mと仮定して、年間排出量が1回で発生した最悪の場合を想定し、以下の計算式により算出される:

 $PEC_{soil} = rac{PEC_{manure} \cdot Q}{RHOsoil \cdot CONV_{area\ field} \cdot DEPTH field}$

入力値			
RHOsoil	土壤RHO	土壤容積重	$1500~\mathrm{kg/m^3}$
DEPTHfield	農地DEPTH	土壤混和深度	0.2 m (耕作地)
CONVarea field	農地面積CONV	農地面積換算率	10000 m^2 /ha
Q		窒素排出基準	[kg/ha·yr]
PECmanure	堆肥PEC	堆肥(家畜糞尿)中の窒素量あたり	[mg/kg]
		の予測濃度	
出力値			
PECsoil	土壤PEC	土壌中の最大予測濃度中の最大濃	[mg/kg soil]
		度	

地下水PEC(原文、43ページ)

地下水PEC(PEC_{gw})は、EU技術指針文書(ECB, 2003)に推奨されているRIVM (Montforts, 1999)による方法を用いて計算される。PEC_{gw}は以下の計算式で算出された:

$$PECgw = PECporewater$$

$$PECporewater = \frac{PECsoil \cdot RHOsoil}{K_{soil \cdot water} \cdot 1000}$$

$$K_{soil \cdot water} = Fair_{soil} \cdot K_{air \cdot water} + Fwater_{soil} + Fsoil_{soil} \cdot \underbrace{KPsoil}_{1000} \cdot RHOsolid$$

$$Kp_{soil} = Foc_{soil} \cdot Koc$$

$$K VP_{air \cdot water} = \frac{VP MOLW}{SOL R TEMP}$$

地下水に関する計算要素の設定

パラメータ	記号	
新鮮土壌の容積重	RHOsoil	1700 kg/m ³
土壌固体の密度	$ m RHO solid_{soil}$	$2500~\mathrm{kg/m^3}$
土壌中の気体画分	${ m Fair}_{ m soil}$	$0.2~\mathrm{m}^3/\mathrm{m}^3$
水中の固体画分	$Fwater_{soil}$	$0.2~\mathrm{m}^3/\mathrm{m}^3$
土壌中の固体画分	$\rm Fsolid_{\rm soil}$	$0.6~\mathrm{m}^3/\mathrm{m}^3$
土壌中の有機炭素画分の重量	$\mathrm{Foc}_{\mathrm{soil}}$	$0.02~\mathrm{kg/kg}$
気体-水相互作用での温度	TEMP	$285~\mathrm{K}$
気体定数	R	$8.314~{ m Pa}~{ m m}^3/{ m mol}$ · K
蒸気圧	VP	[Pa]
モル質量	MOLW	[g/mol]
水溶性	SOL	[mg/l]
土壌中の固体と水の分配係数 (v/v)	$K_{soil\text{-water}}$	$[m^3/m^3]$
土壌中の固体と水の分配係数 (v/w)	Kpsoil	[dm³/kg]
土壌中の気体と水の分配係数	$K_{air\text{-water}}$	$[m^3/m^3]$

地表水PEC(原文、44ページ)

添加物の地表水PECはRIVMによって記された方法(Montforts, 1999)に従って計算される。ここでは、土粒子に吸着されなかった物質は土壌水中に存在して降水中に地表水に混ざると仮定されている。地表水中の濃度は降水量の影響を受け、間隙水や受水による希釈が関与する。また、集水域の大きさは受水河川の大きさに比例する傾向にあると考えられるため、集水域もしくや受水の規模は考慮されていない。さらに、希釈は間隙水が受水に混ざることで生じる。この希釈係数は化学物質の残留性に基づいて定めることができる。最悪の場合、残留性化合物にはデフォルトの係数"1"(希釈無し)が適用され、非残留性化合物には"10"が適用される。

施用後に土壌表面に残留する添加物含有堆肥が降水による流出によって地表水に混ざる可能性もある。今のところ、飼料添加物に対する適切なモデルが利用可能になっていないため、この表層での水媒体のローディングは考慮されていない。

略称等

ᄣᆸᄭᄭᅐ		
略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	acceptable daily intake	一日摂取許容量
EC50	half maximal effective concentration	半数効果濃度
FEFANA	EU Association of Specialty Feed Ingredients and their Mixtures	欧州飼料添加物・プレミックス協会
EFSA	European Food Safety Authority	欧州食品安全機関
EU	European Union	欧州連合
FDA	U S Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FEEDAP	The Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed	動物飼料添加物及び飼料製品パネル
GLP	Good Laboratory Practice	試験実施適正基準
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
KOC	Organic Carbon Normalized Sorption Coefficient	土壌吸着定数
LC50	Lethal Concentration 50%	半数致死濃度
LD50	Lethal Dose 50%	半数致死量
LOD	limit of detection	検出限界
LOQ	limit of quantification	定量限界
MIC	minimal inhibitory concentration	最小発育阻止濃度
MRL	maximum residue limit	最大残留基準値
NOEC	No Observed Effect Concentration	無影響濃度
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PEC	Predicted Environmental Concentration	予測環境濃度
PNEC	Predicted No Effect Concentration	予測無影響濃度
RIVM	Netherlands National Institute for Public Health and the Environment	オランダ国立公衆衛生環境研究所
SCAN	Scientific Committee of Animal Nutrition	動物栄養に関する科学委員会
TLC	Thin Layer Chromatography	薄層クロマトグラフィ

ラサロシドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書: EFSA, Scientific Opinion on the safety and efficacy of Avatec® 150G (lasalocid A sodium) for turkeys)

一覧表に記入すべき毒性情報はなかった。

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)

科学的意見書

Avatec®150G(ラサロシド A ナトリウム)のシチメンチョウに対する安全性と有効性に関する科学的意見書^{1,2}

動物飼料用の添加物および製剤または物質に関する EFSA パネル(FEEDAP) 3,4

欧州食品安全機関(EFSA)、イタリア、パルマ

要約(原文、1ページ)

Avatec®150G(アバテック 150)は、Streptomyces lasaliensis菌の発酵によって生産されるポリエ ーテル系イオノフォア、ラサロシドAナトリウムを15%含む抗コクシジウム飼料添加物であ る。先の審査で本添加物の特性および活性物質の特徴付けは、品質管理パラメータ(重金属、 各種有機不純物)も含めて適切と考えられた。Avatec®150G(ラサロシドAナトリウム)は、シ チメンチョウのコクシジウム症防除にラサロシドAナトリウム75mg/kg feed以上の用量で有 効であり、肥育用シチメンチョウに対しては16週齢まで最大用量(125mg/kg feed)でも安全で ある。安全マージンは付与することができない。本添加物はシチメンチョウの枝肉特性に 影響を及ぼさない。試験条件下では、ラサロシドAナトリウムに対する細菌の抵抗性や交差 抵抗性は認められなかった。肥育鶏におけるSalmonella Typhimurium(チフス菌)の体外排出量 の増加が、2つの試験で示された。新たに提出されたデータにより、ニワトリ、シチメンチ ョウおよびラットにおける代謝経路の類似性を立証することができる。未変化のラサロシ ドAが指標残留物である。ラサロシドAナトリウムは遺伝毒性、発癌性および変異原性では ない。毒性学的ADIは、2年間ラット経口毒性試験およびウサギ母体毒性試験で認められた NOAEL(0.5mg/kg 体重/日)に基づき、安全係数を100として、0.005mg/kg 体重(もしくは 0.3mg/60kg ヒト/日)と算出されている。提案された最大用量でも、消退期間1日後の消費者 暴露はADIを超えない。EUで既に施行されているMRLを遵守するには、消退期間を5日とす るのが適切である。Avatec®150Gの取り扱いが使用者/労働者にリスクをもたらす可能性は

¹ 欧州委員会からの要請による、案件 No. EFSA-Q-2008-751、2010 年 4 月 7 日採択

 $^{^2}$ この科学的意見書は規則 (EC) No1831/2003 の第 8 条 (6) および第 18 条の規定に従って編集されている。修正箇所が文章中に示されている。

³ パネル構成員: Gabriele Aquilina, Georges Bories, Paul Brantom, Andrew Chesson, Pier Sandro Cocconcelli, Joop de Knecht, Noël Albert Dierick, Mikolaj Antoni Gralak, Jürgen Gropp, Ingrid Halle, Reinhard Kroker, Lubomir Leng, Sven Lindgren, Anne-Katrine Lundebye Haldorsen, Alberto Mantovani, Miklós Mézes, Derek Renshaw and Maria Saarela.

連絡先: FEEDAP@efsa.europa.eu

⁴ 謝辞:本パネルは、この科学的意見書の作成に携わった抗コクシジウム剤に関する作業グループの構成員に感謝します。

なさそうである。シチメンチョウへの飼料中の最大推奨濃度でのAvatec[®]150G使用による環境安全性に対する懸念は確認できなかった。

© 欧州食品安全機関、2010年

キーワード

抗コクシジウム剤、ラサロシドAナトリウム、シチメンチョウ、家禽、安全性、有効性

要旨(原文、2ページ)

欧州委員会からの要請により、欧州食品安全機関は抗コクシジウム剤Avatec®150G(ラサロシドAナトリウム15%を活性物質として含む)の安全性と有効性に関する意見書を公表するよう依頼された。Avatec®150Gは、肥育用シチメンチョウにラサロシドAナトリウム75~125mg complete feedの用量で16週齢まで使用される。

Avatec[®]150G(ラサロシドAナトリウム)は、肥育用シチメンチョウに対しては16週齢まで最大用量(125mg/kg complete feed)でも安全であると考えられた。安全マージンは定めることができなかった。

ラサロシドAナトリウムは、ウマ科動物種に対して危険である可能性があり、シチメンチョウにおいては肥育鶏と同様に特定の薬物との併用は禁忌である。

ニワトリとラットにおけるラサロシドAナトリウムの代謝運命に関して提供された追加データは、ニワトリ、シチメンチョウおよびラットの代謝経路の類似性を結論づけるのに十分な証拠を、動物飼料用の添加物および製剤または物質に関するパネル(Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed: FEEDAP)に与えた。未変化のラサロシドAナトリウムが指標残留物である。

新たなデータは無く、FEEDAPパネルはラサロシドAナトリウムが遺伝毒性、発癌性および変異原性ではないとする先の結論を改めて表明した。2年間のラット経口毒性試験およびウサギ母体毒性試験により、最低NOAEL(無毒性量: no observed adverse effect level)が0.5 mg/kg体重/日に設定された。そして、毒性学的ADIは安全係数を100 として0.005 mg/kg体重(もしくは0.3 mg/60 kg ヒト/日)と算出された。

消退期間1日後の消費者暴露量はADIを超えなかった。FEEDAPパネルは、肝臓と比べて腎臓および皮膚/脂肪中の残留物の減少は遅いことや、データの変動が高いことを考慮し、EUで既に施行されているMRL(最大残留基準: Maximum Residue Limit)を遵守するには消退期間を5日とするのが適切であると結論づけた。

新たなデータは無く、FEEDAPパネルはAvatec®150G(ラサロシドAナトリウム)が本添加物を扱う使用者/労働者にリスクをもたらす可能性はなさそうであるとの先の結論を改めて表明した。

FEEDAPパネルは、シチメンチョウへの飼料中の最大推奨濃度でのAvatec[®]150G使用による環境安全性に対する懸念は確認できなかった。

またFEEDAPパネルは、Avatec[®]150Gはシチメンチョウのコクシジウム症防除にラサロシドAナトリウム75mg/kg complete feed以上の用量で有効であると考えた。

さらにFEEDAPパネルは、*Eimeria*属原虫の抗菌剤抵抗性の監視に関して幾つかの提案を示した。

TABLE OF CONTENTS

Abstract	1
Background	4
Terms of reference	4
Assessment	7
1. Introduction	7
2. Characterisation .	7
2.1. Stability and homogeneity	7
2.2. Evaluation of the analytical methods by the European Union Reference	
Laboratory (EURL)	8
3. Safety	8
3.1. Safety for the target species	8
3.1.1. Incompatibilities and interactions.	9
3.1.2. Microbiological safety of the additive	9
3.1.3. Conclusions on the safety of lasalocid sodium for turkeys	9
3.2. Safety for the consumer	9
3.2.1. Metabolism and residue studies	9
3.2.1.1. Metabolic studies .	9
3.2.1.2. Residue studies	11
3.2.1.3. Conclusion .	11
3.2.2. Toxicological studies	. 12
3.2.3. Effect of lasalocid on human intestinal microbiota	. 12
3.2.4. Assessment of the consumer safety	. 13
3.2.4.1. Proposal for the acceptable daily intake (ADI)	. 13
3.2.4.2. Maximum residue limits (MRLs)	. 13
3.3. Safety for the user .	. 14
3.4. Safety for the environment	. 14
3.4.1. Exposure assessment	. 14
3.4.1.1. Fate and behaviour .	. 14
3.4.1.2. Predicted environmental concentrations (PEC)	. 16
3.4.2. Effect assessment	. 16
3.4.2.1. Toxicity to soil organisms	. 16
3.4.2.2. Toxicity to aquatic organisms	. 17
3.4.2.3. Conclusion .	. 18
3.4.2.4. Bioaccumulation	. 18
3.4.3. Risk Characterisation	. 18

3.4.3.1. Risk for soil	18
3.4.3.2. Risk for groundwater .	18
3.4.3.3. Risk for aquatic organisms.	19
3.4.4. Conclusion	19
4. Efficacy	19
4.1. Controlled floor pen studies	19
4.1.1. Post-infection observations	20
4.2. Field trials .	21
4.2.1. Carcass parameters .	21
4.2.2. Conclusions on the efficacy for target species	22
5. Post-market monitoring.	22
Conclusions and recommendations	23
Documentation provided to EFSA .	23
References	24

背景(原文、4ページ)

規則(EC)No 1831/2003⁵は、欧州共同体における動物栄養用添加物の使用認可に関する規則を定めたものである。特に本規則の第10条(2)では、第10条(1)の範囲内の既存製品の申請書は第7条に従って、認可期間が限定されている添加物の場合は指令70/524/EECに定められた認可有効期限の1年前まで、無期限で認可もしくは指令82/471/EECに従って認可された添加物の場合は本規則の効力発生から7年以内に提出しなければならないと明記している。

欧州委員会は、シチメンチョウ用飼料添加物として用いられる製品Avatec®150G(ラサロシドAナトリウム)(分類:抗コクシジウム剤および抗ヒストモナス剤)の認可申請を、表1に示した条件でAlpharma BVBA 6 社から受けた。

規則(EC) No 1831/2003の第7条(1)に従い、欧州委員会はこの申請書を第10条(2)/(7)(認可された飼料添加物の再評価)の規定下の申請書として欧州食品安全機関(European Food Safety Authority: EFSA)に送った。EFSAはこの申請書に添える技術的関係書類⁷(Technical dossier)を申請者から直接受け取った。EFSAは申請者から提出された詳報や書類を確認した後、本飼料添加物が第5条に示された条件に適合しているかどうかを調べるため、本規則第8条に従って審査をおこなわなければならない。申請書に添えられた詳報や書類は、EFSAにより2009年3月19日の時点で有効と考えられた。

Avatec[®]150Gは、イオノフォア系抗コクシジウム剤の活性成分ラサロシドAナトリウム15% を含む抗コクシジウム飼料添加物である。肥育鶏、産卵鶏およびシチメンチョウのコクシジウム症防除に使用される。Avatec[®]150G(E 763)は、肥育鶏、産卵鶏(認可期間は2014年8月まで)およびシチメンチョウ(認可期間は2009年9月まで)における使用が認可されている。

動物栄養に関する科学委員会(Scientific Committee on Animal Nutrition: SCAN)は、本製品の意見書をシチメンチョウ(1991年)と肥育鶏(1982年)に関して発表した。

EFSAは理事会指令70/524/EECの第9条に従い、Avatec[®]150G の再評価に関する2つの意見書 (2004年4月15日および2004年7月1日採択)、および規則(EC) No 1831/2003に従いAvatec[®]150G の新規製剤に関する意見書(2005年8月8日採択)を発表した。

⁵ OJ L 268, 18.10.2003, p.29

⁶ Alpharma (Belgium) BVBA. Laarstraat 16, 2610 Antwerp. Belgium

⁷ EFSA Dossier reference: FAD-2008-0050

委託事項(原文4ページ)

規則(EC)No 1831/2003の第8条に従い、EFSAは本飼料添加物が第5条に示された条件に適合しているかどうかを調べなければならない。EFSAは、表1に示した条件で使用された場合の製品Avatec®150G(ラサロシドAナトリウム)の対象動物、使用者、消費者および環境に対する安全性と有効性に関する意見書を送らなければならない。

表1:申請者から提案された本添加物の性状と使用条件

添加物	ラサロシドAナトリウム 15g/100g
登録番号/ECNo/No	E 763
(該当する場合)	
添加物の分類	抗コクシジウム剤および抗ヒストモナス剤
添加物の官能基	-

性状				
組成、性状	化学式	純度基準	分析方法	
		(該当する場合)	(該当する場合)	
活性物質:	$C_{34}H_{53}NaO_8$			
ラサロシドナト				
リウム	Streptomyces lasaliensis(ATCC	 関連不純物:	HPLC法	
	31180)により生産される		IIFLCIA	
添加物組成:	6-[(3R,4S,5S,7R)-7-[(2S,3S,5S)-5-			
ラサロシドAナト	エチル-5-[(2R,5R,6S)-5-エチル	9 9 ∠B 3E . ≤ 10 %		
リウム:150g/kg	-5-ヒドロキシ-6-メチルテトラ	<u> </u>		
リグニンスルホ	ヒドロ-2H-ピラン2-イル]-テト			
ン酸カルシウ	ラヒドロ-3-メチル-2-フリル]-4-			
ム: 40g/kg	ヒドロキシ-3,5-ジメチル-6-オ			
酸化鉄:1g/kg	キソノニル]-2ヒドロキシ-3-メ			
硫酸カルシウム	チルベンゾエートのナトリウム			
二水和物:809g/kg	塩			
	CAS番号: 25999-20-6			

商標(該当する場合)	Avatec150 G
認可取得者(該当する場合)	Alpharma BVBA (ベルギー)

使用条件				
動物の種もしくは	最大齢数	最低含有量	最高含有量	消退期間
分類		完全配合飼料	中のmg/kg	(該当する場合)
シチメンチョウ	16週齡	75	125	最低でも食肉処理前6
				日は使用禁止

その他の規定や表示のための追加的要件			
使用における特定条件または制	ウマ科動物種には危険。		
限事項(該当する場合)	本飼料はイオノフォアを含む:特定の薬物との併用は禁		
	忌である。		
取り扱いにおける特定条件また			
は制限事項(該当する場合)			
市販後監視(該当する場合)	市販後監視は利用可能な科学技術に従って実施される。		
完全配合飼料への使用における	/		
特定条件(該当する場合)			

最大残留基準(MRL)(該当する場合)					
指標残留物	動物の種もしくは	標的組織もしくは	組織中の		
拍保发笛物	分類	食品	最大含有量		
		肝臓	100		
ラサロシドナトリウム	家禽類	皮膚/脂肪	100		
		腎臓	50		
		筋肉	20		
		列	150		

審査(原文、7ページ)

1. 序文(原文、7ページ)

Avatec[®]150Gは、*Streptomyces lasaliensis*菌(ATCC 31180)の発酵によって生産されるイオノフォア系抗コクシジウム剤の活性成分ラサロシドAナトリウム(以後、ラサロシドナトリウム)を15%含む抗コクシジウム飼料添加物である。

Avatec[®]150G(E 763)は、規則(EC) No 2037/2005[®]の下で肥育鶏(2014年まで)、産卵鶏(2014年まで)およびシチメンチョウ(2009年まで)における使用に対して認可を受けた。同規則に従い、Avatec[®]150Gは最大12週齢までのシチメンチョウにおいてラサロシドナトリウム90~125mg/kg feedの用量および消退期間5日での使用が認可されている。

動物栄養に関する科学委員会(Scientific Committee on Animal Nutrition: SCAN)は、シチメンチョウ用のAvatec15%に関する意見書を1991年に公表した(EC,1991)。ニワトリ用のAvatec15%は、動物飼料用の添加物および製剤または物質に関するパネル(Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed: FEEDAP)によって2004年に見直しがおこなわれた(EFSA, 2004a and EFSA, 2004b)。そして2005年に、FEEDAPパネルは新規製剤Avatec[®]150Gに関する意見書を公表した(EFSA, 2005)。

現在の関係書類は、最大16週齢までのシチメンチョウにおけるラサロシドナトリウム75~ $125 \,\mathrm{mg/kg}$ feedの用量および食肉処理前の消退期間 $6 \,\mathrm{HJL}$ での $Avatec^{\$}$ $150 \,\mathrm{G}$ の使用申請に関するものである。

2. 特徴付け9(原文、7ページ)

現在の関係書類の中のAvatec[®]150G製剤は、EFSAにより2005年に既に審査されたもの(EFSA, 2005)と同一のものである。シェルフライフ試験のデータ以外に新たなデータは提供されていない。

本添加物の特性、活性物質の特徴付けおよび製造過程は既に調査済みである。先の審査 (EFSA, 2005)では、FEEDAPパネルは関係書類のこれらの部分に関して何もコメントを出さ

٠

⁸ OJ L 328, 15.12.2005, p.21

⁹ 本章は規則(EC) No 1831/2003 の第8条 (6) および第18条の規定に従って編集されている。

なかった。FEEDAPパネルは、本製品にはラサロシドナトリウム生産菌株由来の生物が含まれていないと述べた。Avatec15%に関するこれまでの意見書の1つ(EFSA, 2004b)で、FEEDAPパネルは重金属(Cd、Pb、As、Hg)や各種有機不純物(アフラトキシンB1および有機塩化物等の農薬)の測定を含めた品質管理パラメータも十分満足できるものであると考えた。

2.1. 安定性と均一性(原文、7ページ)

シェルフライフ試験 10 は、25C/相対湿度60%(RH)で36ヶ月間、および40C/60%RHで6ヶ月間実施した。3バッチのAvatec $^{®}$ 150Gが分析された。ラサロシドナトリウム含有量(150~151g/kg)の減少は、25C/60%RHで24ヶ月後には認められなかったが(150~151g/kg)、36ヶ月後には僅かな減少が認められた(140~145g/kg)。加速安定性試験では、6か月後でもラサロシドナトリウム含有量の変化は認められなかった(151~152g/kg)。申請者は、Avatec $^{®}$ 150Gのシェルフライフを24ヶ月とすることを提案した。

2005年にFEEDAPパネルは、Avatec[®]150Gがミネラル/ビタミンとの予混合物中で最大6ヶ月間、およびシチメンチョウ用のマッシュおよびペレット状の完全配合飼料中で3ヶ月間、優れた安定性を示したことを指摘した(EFSA, 2005)。また、予混合物および最終的なシチメンチョウ用飼料における均一性が示された。

2.2. 欧州連合リファレンス検査機関(EURL)による分析方法の評価(原文、8ページ)

EFSAは、動物飼料中の活性物質の管理のための分析方法に関するEURL(欧州連合リファレンス検査機関: European Union Reference Laboratory)レポートの検証をおこなっている。 EURLレポートの要旨を付録Aに示す。

規則(EC) No 429/2008¹¹に従い、食品中の残留添加物およびその代謝物の測定のための分析方法のCRLによる評価は、規則(EC) No 470/2009¹²の下で欧州共同体内でのMRLが既に設定されている場合は実施されない。

3. 安全性(原文、8ページ)

¹⁰ Technical Dossier/Section II/Annex 13

¹¹ OJ L 133, 22.5.2008, p.1

¹² OJ L 152, 16.6.2009, p.11

3.1. 対象動物種に対する安全性(原文、8ページ)

申請者は、本シチメンチョウ用添加物の安全性を示す最近のGLP対応試験¹³を提出した。71日齢のシチメンチョウ(雄36羽、雌34羽)にラサロシドナトリウム添加飼料がラサロシドナトリウム0、125、187.5、250および375mg/kg feed(提案された最大ラサロシドナトリウム濃度の0、1倍、1.5倍、2倍および3倍に相当)の用量で16週間与えられた。供試動物は体重と性別ごとに隔離され、無作為にグループ分けされた。

本試験では、4種類の飼料(プレスターター(1~4週)、スターター(5~8週)、育成飼料(9~12週)および仕上飼料(13~16週)が用いられた。ラサロシドナトリウム含有量が想定通りであることが分析により確認された。

供試動物の臨床症状の観察が毎日1回おこなわれた。飼料消費量、飼料効率および体重が毎週記録された。血液学および血液生化学検査(Na、K、Cl、Ca、P、Mg、総蛋白質、アルブミン、グロブリン、グルコース、アミラーゼ、尿酸、AST、ASAT、LDH、γ-GT、AP、CKおよびコレステロール)のため、2羽/1群から血液試料が7日(安楽死個体)、14日(安楽死個体)、28日、56日および112日目(試験最終日)に採取された。試験最終日に供試動物(雄雌各4羽/群、但し187.5mg/kg群のみ雄5羽・雌3羽)は安楽死されて検視がおこなわれ、腎臓、肝臓、脾臓および心臓の重量が測定された。また、対照群と高用量群の肝臓、心臓、腎臓、筋肉、脳および脾臓の組織病理学検査が実施された。

明確な臨床症状は何も認められなかった。187.5 mg/kg群と375 mg/kg群は、それぞれ1個体が死亡した。最終日の個体数は、0、125および250 mg/kg群は10羽、187.5および375 mg/kg群は9羽であった。

最終日の平均体重は、0、125、187.5、250および375mg/kg群でそれぞれ、雄が5203、4893、5735、5864および5365g、雌が3875、3805、4203、4010および3770gであった。各群とも体重は試験中に増加を続けたが、125mg/kg群の体重増加は有意に低かった。これは、主に5~8週における飼料摂取量の減少のためと考えられる。他の投与群で体重への用量依存的な影響は認められなかったことから、飼料調製に関係する要因が関連していると思われる。飼料摂取量や飼料要求率の累積データは無く、第2週の187.5mg/kg群と375mg/kg群の体重変化に関するデータが欠如している。

投与群間の血液学および血液生化学パラメータの有意差は認められなかった。各臓器の肉

- 12 -

¹³ Technical Dossier/Section III/Annex 7

眼検査および顕微鏡検査からは、異常な所見は何も認められなかった。

3.1.1. 不適合性および相互作用(原文、9ページ)

イオノフォア系抗コクシジウム剤と抗生物質チアムリン(および他の抗生物質)との臨床学的に重要な相互作用は、ニワトリやシチメンチョウなどの種に良く知られた現象である(EFSA, 2004)。ラサロシドナトリウムとチアムリンの相互作用に関する新しいデータが申請者から提出され、FEEDAPパネルは先の結論の確証を得た(EFSA, 2004):

'養鶏に用いられたラサロシドナトリウムとチアムリンの相互作用に関して提出されたデータは不十分であった。したがって、FEEDAPパネルはラサロシドとチアムリンおよび他の特定の薬物との併用投与を避けたほうが安全であり、現在の警告を続けるべきであると考える。'

3.1.2. 本添加物の微生物に対する安全性(原文、9ページ)

新たな試験結果は提供されなかった。FEEDAPパネルは2004年に以下のような結論を示した (EFSA, 2004a and 2004b):

'ラサロシドナトリウムは、Enterococcus faecium(腸球菌)、E.faecalis(腸球菌もしくは大便連鎖球菌)およびStaphylococcus spp. (ブドウ球菌)などのグラム陽性細菌に対して $0.06 \sim 4 mg/L$ の濃度で選択的抗微生物活性を有するが、多くの腸内細菌(Enterobacteriaceae)は自然抵抗性である。感受性細菌株に対する発育阻止濃度は飼料中に添加される用量よりも低く、in vivoで得られた濃度と思われる。試験条件下では、抵抗性の誘導や交差抵抗性は認められなかった。肥育鶏におけるSalmonella Typhimurium(チフス菌)の体外排出量の増加が、 $2 \sim 2 m$ の試験で示された。しかし、この点では恐らくラサロシドは他のイオノフォア類と変わりないと思われる。

3.1.3. シチメンチョウに対するラサロシドナトリウムの安全性に関する結論(原文、9ページ)

FEEDAPパネルは耐性試験から、ラサロシドナトリウムは肥育用シチメンチョウに対して16 週齢まで最大用量(125mg/kg complete feed)を与えても安全であるとの結論を下した。試験に問題があるため(供試動物数が少ないこと、記録データが不完全であることなど)、安全マー

ジンは付与することができない。

FEEDAPパネルは、ラサロシドナトリウムはグラム陽性細菌種に対して0.06~4mg/Lの濃度で選択的抗微生物活性を有するとの先の見解を強めている。肥育鶏における*Salmonella* Typhimurium(チフス菌)の体外排出量の増加が、2つの試験で示された。

- 3.2. 消費者に対する安全性(原文、9ページ)
- 3.2.1. 代謝および残留試験(原文、9ページ)
- 3.2.1.1. 代謝試験(原文、9ページ)

今回の再評価に対し、シチメンチョウにおけるラサロシドナトリウムの代謝試験は提出されていない。SCANは1991年に以下のように述べた((EC, 1991):

'毎日127mg/kg feedを14日間投与して5日間の消退期間を経た後におこなわれた代謝バランスの調査では、雄雌それぞれ総投与用量の83.4および80.2%が糞中排泄された。胆汁中排泄量は多く、ラサロシドが大量に吸収されることが示唆された。シチメンチョウの排泄物中には未変化のラサロシドが10%を占め、残りは多数の各種代謝物が占めた。この結果は、ニワトリ排泄物では未変化のラサロシドが12%を占めることと良く符合している。'

申請者は、FEEDAPパネル(EFSA, 2004b)とEMA(欧州医薬品庁: European Medicines Agency) 14,15 によって実施された家禽類におけるラサロシドナトリウムの代謝運命の審査を引き合いに出している。EMA/CVMPは、ニワトリ(主要動物種)から得られたデータをもとに、シチメンチョウを含めた他の家禽類の場合の推定をおこなっている 16 。

Avatec[®]15%に関する先の意見書(EFSA, 2004b)で、FEEDAPパネルはニワトリ、シチメンチョウ、ブタ、イヌ、マウスおよびラットにおける[14 C]-ラサロシドナトリウムの比較代謝試験 17 を参考にした。申請書はニワトリだけを参考にしたため、FEEDAPパネルは以下のように結論づけた:

"…採用された分離方法の精度が非常に低かったため、FEEDAPパネルはニワトリとラット

¹⁴ Technical dossier/Section III/Annex 5

¹⁵ Technical dossier/Section III/Annex 6

¹⁶ http://www.emea.europa.eu/pdfs/vet/swp/153a97en.pdf

¹⁷ Hawkins, et al., Section IV/Volume 20/Reference IV.1.2.18/Original Dossier

の代謝プロファイルが類似していると結論づけることができない。?

ニワトリにおける[¹⁴C]-ラサロシド代謝試験の添付書類が提出され、既にFEEDAPパネルにより審査されている(EFSA, 2004)¹⁸。肝臓(標識化合物を7日間投与した雄雌各3羽から得た肝臓)における消退期間0日での代謝プロファイルを得る追加試験が実施された。抽出率(溶媒抽出による)は雄雌それぞれ69および62%であった。追加処理(酵素および酸加水分解)による抽出率の顕著な増加は認められなかった。HPLC-LSC分析により、雄は6つ、雌は8つの代謝物もしくは非分解代謝物群が分離された。リテンションタイムの比較から、ラサロシドが主要成分(雄雌ともに26%)であり、代謝物は10%未満(雄の肝臓(15%)は例外として)であることがわかった。雄の肝臓抽出物のLC-MS/MS分析では、最大ピークはラサロシドであり、二番目に大きいピークはヒドロキシル化ラサロシド(ヒドロキシル化の位置は不明)であることが確認された。

ラットにおける[14 C]-ラサロシドの代謝に関する最近の試験が提出されている 19 。9~10週齢 (体重は雄雌それぞれ350および200g)のラット6匹(雄雌各3匹)に毎日1mg/kg 体重(約17mg/kg feedに相当)の[14 C]-ラサロシドナトリウムが6日間連続で強制経口投与された。標識位置に関する情報は無かった。試験開始時と終了時に放射性純度が調べられた。そして、尿と糞が毎日別々に採集された。食肉処理時(最終投与後6時間)には、組織(肝臓、腎臓、筋肉および腹部脂肪)、胃腸管および枝肉試料が採取された。全試料の総放射能が測定された。排泄物および組織のHPLC/LSCおよびLC/MS/MS分析により、代謝プロファイルが得られた。

尿中排泄は少量(雄雌それぞれ0.3および0.6%)であり、放射能のほとんどは糞中に排泄されたが(84および79%)、胃腸管に13%、枝肉に約1%の残留が認められた。尿中の主要代謝物(72および60%)は、ジヒドロキシ化ラサロシド(ヒドロキシ化の位置は不明)と同定されている。未知の代謝物(もしくは非分解代謝物群)が検出されているが(0および18%)、ラサロシドは検出されていない。未変化のラサロシドは、糞中排泄された主要化合物(26および48%)であったが、糞ではモノヒドロキシ化およびジヒドロキシ化ラサロシド(ヒドロキシ化の位置は不明、単一もしくは非分解多重化合物)が7~3および9~4%を占めた。組織中の総残留物量が最も高かったのは肝臓で、肝臓ではラサロシドが主要化合物(25および27%)で、次にジヒドロキシ化ラサロシド(9%)とモノヒドロキシ化ラサロシド(2および0%)が多く、同定されていない非分解代謝物が雄雌それぞれ42および26%を占めた。

3.2.1.2. 残留試験(原文、11ページ)

¹⁸ 追加情報/2009年6月

¹⁹ 追加情報/2010年1月

表2. ラサロシドナトリウム130mgのAvatec®150Gを含む飼料を112日間投与して消退期間を 経た後のシチメンチョウにおける残留ラサロシドの消長

消退期間(日)	ラサロシド(mg/kg wet tissue)			
	肝臓	腎臓	筋肉	皮膚/脂肪
0	0.155 ± 0.101	0.108 ± 0.063	0.025 ± 0.015	0.159 ± 0.056
3^1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
5^1	< LOQ	<loq< th=""><th>< LOQ</th><th>2</th></loq<>	< LOQ	2
7^1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ

¹ 肝臓、腎臓、筋肉および皮膚/脂肪のLOQはそれぞれ0.050、0.025、0.010および0.050mg/kg

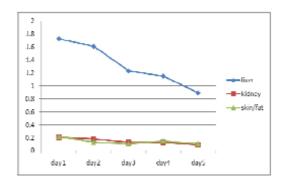
消退期間3日後に、肝臓、腎臓、筋肉および皮膚/脂肪中の残留ラサロシドは分析法のLOQを下回った。

[¹⁴C]-ラサロシドを用いた雄雌のシチメンチョウにおける先の試験²¹では、組織中放射能が 消退期間0日で雄雌各3羽を供試して調べられた。腎臓、筋肉および皮膚/脂肪中の残留量 は表2と同等以下であったが、肝臓中の[¹⁴C]-ラサロシドの総残留量は3.38 + 0.57mg/kg wet tissueに上った。消退期間1、2、3、4および5日では、雄雌各1羽のデータしか入手できなか った。図1に消退期間5日間にわたる肝臓、腎臓および皮膚/脂肪中の残留量の消長を示す(各 時点の測定値から上位2つを採用)。消退期間1日での最大値は、肝臓1.73、腎臓0.21、筋肉<0.02 および皮膚/脂肪0.22mg/kg wet tissueであった。

²4個の値は<LOQ、2個の値は0.11および0.06 mg/kg wet tissue

²⁰ Technical dossier/Section III/Annex 11

²¹ Technical dossier/Section III/Annex 4.7



☑1 Decline of total residues in the liver, kidney and skin/fat over five-day withdrawal times

3.2.1.3. 結論(原文、11ページ)

ニワトリとラットにおけるラサロシドナトリウムの代謝運命に関して提供された追加データは、ニワトリ、シチメンチョウおよびラットの代謝経路の類似性を結論づけるのに十分な証拠をFEEDAPパネルに与えた。未変化のラサロシドAが指標残留物である。

[¹⁴C]-ラサロシドの総残留量のデータは少ないが、消退期間1日にして既に筋肉には測定可能な濃度の残留は無く、肝臓、腎臓および皮膚/脂肪中の残留量は5日間減少し続けることを示唆した。提案された使用法に近い条件での指標残留物から総残留量を再計算すると、ラサロシドナトリウムは消退期間0日では測定可能なレベルまで増加するが、3日後には各組織でLOQを下回る。

3.2.2. 毒性試験(原文、12ページ)

新たな試験結果は提供されていない。FEEDAPパネルは先の結論(EFSA, 2004b)を改めて表明する:

'細菌および哺乳動物細胞のいずれにおいても、遺伝子レベルの変異原性影響は無いことが示された。ラサロシドナトリウムのin vitroでの遺伝毒性に関する実験証拠は無かった。ラットとイヌで実施された慢性経口毒性/発癌性試験の結果は、発癌性の証拠を示さなかった。ウサギにおいて胎児毒性が認められたが、発生毒性および母体毒性に関連したものであった。齧歯類における特別な催奇形性試験は入手可能ではなかった。しかし、ラット二世代試験から得られた関連データでも、ラサロシドの非催奇形性の証拠の裏付けに十分である

と考えられる。?

2年間のイヌの試験では、いずれの用量でも、動物の外見もしくは行動に及ぼす薬理的影響の証拠は認められなかった(6mg/kg 体重で心電図に変化が無かった)。

2年間のラット慢性経口毒性試験およびウサギ母体毒性試験から、最低NOAELは0.5mg/kg体重/日に設定された。

3.2.3. ラサロシドがヒト腸内微生物叢に及ぼす影響(原文、12ページ)

申請者は、ヒト腸内微生物叢由来の細菌類に対するラサロシドナトリウムの活性に各種パラメータが及ぼす影響を調べた2004年実施の3つのGLP対応試験の結果を提出した。これらの試験はCVMP(動物用医薬品委員会: Committee for Veterinary Medicinal Products)(EMA)によって既に審査されている 22 。

1つ目の試験²³の目的は、ヒト腸内微生物叢由来のBifidobacterium属、Eubacterium属、Clostridium属、Peptostreptococcus属、Lactobacillus acidophilus(好酸性乳酸桿菌)、Enterococcus属、Streptococcus属、Bacteroides fragilis、Fusobacterium属、Escherichia coli(大腸菌)、Proteus属、Salmonella enterica serovar Enteritidis(腸炎菌)およびSalmonella enterica serovar Typhimurium(ネズミチフス菌)の84細菌株に対するラサロシドナトリウムのMICを測定することであった。Fusobacterium属、Escherichia coli、Proteus属、およびSalmonella entericaは、ラサロシドナトリウム感受性ではなかった。一方、供試細菌種のうちのグラム陽性細菌は高い感受性を示し、MIC₅₀(供試細菌の50%の発育を阻止する最小発育阻止濃度)は0.134 mg/Lであった。

2つめの試験は、接種密度がラサロシドナトリウムのMICに及ぼす影響を評価することを目的とした。健康な無投薬のヒトの腸内微生物叢から分離したBacteroides属、Fusobacterium属およびグラム陽性嫌気性球菌(Peptostreptococcus)の各10細菌株が供試された。接種量は、標準的な 10^5 CFU/mlと異常に高い 10^9 CFU/mlの2段階とした。後者の条件から得られたデータは、MIC測定に有用ではなかったため無視された。Bacteroide属10株のMICは $16\sim64$ mg/Lであった。また、Peptostreptococcus属全供試株とFusobacterium属10株中7株は高いラサロシドナトリウム感受性が認められた(MIC <4mg/L)。

²² Technical dossier/Section III/Annex 5

²³ Technical dossier/Section III/Annex 8

3つ目の試験では 24 、酸性、中性およびアルカリ性のpH条件がヒト腸内細菌株に対するラサロシドナトリウムの抗細菌活性に及ぼす影響が調べられた。ラサロシドナトリウムのMICは、pH7.1(中性)、pH6.0(酸性)およびpH8.5(アルカリ性)で2つめの試験と同じ細菌株プール(Bacteroides属、Fusobacterium属およびグラム陽性嫌気性球菌(Peptostreptococcus属))で調べられた。これらの条件は、ヒト腸内生態系に認められる代表的なpH領域のうち、MIC測定において各細菌株の十分な生育を確保できる領域が選ばれた。pHによる有意な影響は認められず、2MIC計算値の変動幅は中央値前後で一段階希釈以内であった。

糞便への結合がラサロシドナトリウムの抗細菌活性に及ぼす影響を定量化するため、4つ目の試験²⁵がおこなわれた(指針EMA/CVMP/234/01に従って実施)。ラサロシドナトリウムを添加した様々な量のヒト滅菌糞便を培養した。培養後(最大8時間)、糞便中の固形物が遠心分離によって除去された。上澄み液にラサロシド感受性Enterococcus faecali細菌株が接種され、48時間培養された。抗細菌活性が24および48時間後(細菌増殖有り/無しで)に測定され、未結合型ラサロシドの濃度が示された。1μg/mlの未結合型ラサロシドは、E. faecalisの増殖を一貫して阻害した。糞便10%に短期暴露した場合、糞便との相互作用を受けた後でE. faecalisの増殖を阻害するのに本試験体系で必要とされたラサロシドナトリウムの初期濃度は100μg/ml以上にまで増加し、ラサロシドナトリウムの初期濃度の99%以上が糞便に結合されたことが示唆された。いずれの糞便濃度でも8時間の培養期間を通して同様の結果が再現されたことから、これは不可逆的であると考えられた。

これらのデータから、CVMP(EMA)²⁶は微生物学的ADI(一日摂取許容量: acceptable daily intake)を4.91µg/kg 体重と算出した。

- 3.2.4. 消費者安全性の評価(原文、13ページ)
- 3.2.4.1. 一日摂取許容量(ADI)の提案(原文、13ページ)

ADIの設定では常に、消費者が毒性試験に用いられた実験動物と同じ残留物の暴露を受けることが前提であり、そのためには対象動物と実験動物における活性物質の代謝運命が類似している必要がある(規則(EC) No 429/2008)²⁷。まさにラサロシドはこれに当てはまる。

したがって、FEEDAPパネルは2年間のラット毒性試験とウサギ発生毒性試験で認められた

²⁴ Tchnical dossier/Section III/Annex 9

²⁵ Technical dossier/Section III/Annex 10

²⁶ Technical dossier/Section III/Annex 5

²⁷ OJ L 133, 22.5.2008, p.1

最低NOAEL(0.5mg/kg 体重/日)から毒性学的ADIを算出することができる。安全係数を100とすると、ADIは0.005mg/kg 体重(0.3mg/60kg ヒト/日)となる。

EMAが算出した毒性学的ADIは同じNOAELに基づいているはずだが、神経毒性に関するデータが少ないため、不確実係数200を適用している。EMAが使用したデータは、上記のNOAELよりも4~12倍も高い用量での影響を示している。FEEDAPパネルは、従来の100よりも高い安全係数を適用する理由は無いと考えている。

3.2.4.2. 最大残留基準(MRL)(原文、13ページ)

FEEDAPパネルは保守的な見地に立って、全てのラサロシド由来残留物はラサロシドとほぼ同等のリスクを有すると見なしている。ラサロシドを用いたシチメンチョウ(雄雌各3羽)の放射性標識化試験から得られた残留物データは、消退期間0日で肝臓100gを食べるとラサロシドを0.338mg(2つのSDを含めると0.452mg)摂取することになり、ADIを超えることを示唆している。しかし、消退期間1日のデータ(シチメンチョウ2羽のみ)は、可食組織からの残留物摂取(規則(EC) No429/2008に準拠)²⁸はADIの2/3となることを示している。ADIを超えないことを保証する消退期間について結論を出すには、消退期間1日以上後の残留物データは供試動物数が少ないことによる不確実性を考慮する必要がある。

欧州共同体内のMRLは、規則(EC) No $470/2009^{29}$ の下で家禽組織(シチメンチョウ組織を含む) に関しては肝臓および皮膚/脂肪は $100\mu g/kg$ 、腎臓 $50\mu g/kg$ 、筋肉 $20\mu g/kg$ および卵 $150\mu g/kg$ に既に設定されている。

残留ラサロシドのデータとこれらのMRLとを照らし合わせて、確実にMRLを下回る消退期間が検討された。消退期間0日での残留物は明らかにMRLを超えたが、肝臓、腎臓および筋肉中の全ラサロシド濃度(各6試料)は消退期間3日以上でLOQを下回った。消退期間5日では、皮膚/脂肪の6試料中1試料の残留ラサロシドが106μg/kgであり、分析の不確実性を考慮して、MRLの100μg/kgと差が無いと考えられた。

FEEDAPパネルは、MRLを遵守するには消退期間は5日間とするのが適当と考える。

3.3. 使用者に対する安全性(原文、14ページ)

²⁸ OJ L 133, 22.5.2008, p.1

²⁹ OJ L 152, 16.6.2009, p.11

申請者から新たなデータは何も提出されていない。

活性物質ラサロシドナトリウムを用いた試験に基づき、FEEDAPパネルは先の意見(EFSA, 2004a and 2005)に関して以下のように結論づけた:

'ラサロシドナトリウムダストは気道や肺に局所毒性を、他の臓器に全身毒性を引き起こす 可能性を有する。急性経皮毒性は軽度であることから経皮吸収は少ないことが示唆され、 ラサロシドナトリウムは皮膚刺激性や皮膚感作を引き起こさなかったが、眼刺激性を引き 起こした。'

Avatec[®]150Gは粒剤化されているため、呼吸器官や眼からの暴露は抑えられている。幾つかのバッチの分析では、平均粒径は500 μ m前後であり、106 μ mのメッシュ篩(供試した最小の目開きの篩)を通れるのは重量の0.1%に過ぎないことが示された。Stauber-Heubach試験によりAvatec[®]150Gはダスト発生の可能性が低いことが確認された(EFSA, 2005)。これらのデータから、Avatec[®]150Gの吸入試験は必要ないと判断された。

FEEDAPパネルは、Avatec[®]150Gを扱う使用者/労働者に対するリスクはなさそうであると結論づける。

3.4. 環境に対する安全性(原文、14ページ)

本活性成分は、環境に対する安全性が立証された生理活性物質/天然物質ではない。また、 伴侶動物への使用は想定されていない。したがって、規則(EC) No 429/2008³⁰に従って、環 境中予測濃度(PEC: predicted environment concentration)を調べるために第I相の審査を実施す る必要がある。

第I相および第II相の審査においては、最初に総残留物法によって、本添加物の100%が親化合物として排出されるという前提でPECが計算される。

3.4.1. 暴露評価(原文、14ページ)

3.4.1.1. 運命および挙動(原文、14ページ)

³⁰ OJ L 133, 22.5.2008, p.1

堆肥中運命(原文、14ページ)

新しいデータは何も提供されていない。堆肥中運命は、既にFEEDAPパネルにより2004年に公表された意見書(EFSA, 2004b)内で評価されている。

土壌中運命(原文、14ページ)

吸着(原文、14ページ)

 $[^{14}C]$ -ラサロシドナトリウムの吸着は、OECD(経済協力開発機構)の毒性試験ガイドラインNo. 106に従って、シルト質埴壌土(pH 6.1、有機炭素2.5%、粘土20%)、砂質壌土(pH 7.5、有機炭素1.3%、粘土13%)および埴壌土(pH 5.3、有機炭素4.3%、粘土34%)で調べられた 31 。シルト質埴壌土、砂質壌土および埴壌土の K_{OC} 値は、それぞれ1400、846および1024であった。3つの土壌型のFreundlich定数はいずれも同等レベルであり、 $0.86\sim0.94$ の範囲であった。

Sassman and Lee $(2007)^{32}$ は、 $pH4.2\sim7.5$ 、粘度 $5\sim41\%$ および有機炭素含有量 $0.52\sim2.91\%$ の8つの土壌型におけるラサロシドの吸着動態を調べた。 K_{OC} 値は $732\sim15700$ であり、土壌pHに反比例した。このことは、これまでの試験では本試験ほど明瞭ではなかった。

分解(原文、14ページ)

生物分解を調べる試験が、2003年に[14 C]-標識化ラサロシドナトリウム(純度97.5%)を用いて実施された。土壌中における運命と挙動を調べるため、HPLCとTLCによって代謝物の同定が、 CO_2 トラップ法により無機化の定量がおこなわれた 33 。土壌は砂質壌土、埴壌土およびシルト質埴壌土が供試された。幾つかの代謝物が検出されたが、代謝物の同定はなされなかった。未知代謝物Cと表記された代謝物1つだけが10%A.R.より高濃度で検出され、シルト質埴壌土では処理32日後に20%で最大であったが120日後には17%に減少した。 CO_2 への無機化は砂質壌土で23%、埴壌土で15%、シルト質埴壌土で11%であった。非抽出可能残留物は、砂質壌土で57%を占めた。 DT_{50} 値(半減期)は、砂質壌土、埴壌土およびシルト質埴壌土で23%、もない23%と指定された。

³¹ Technical Dossier/Section III/Annex III. 4.4

³² Technical Dossier/Section III/Annex III.4.9

³³ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.8

Sassman and Lee $(2007)^{34}$ は、埴壌土(pH7.3、有機炭素2.2%、粘土33%)および砂質土(pH7.0)、有機炭素0.8%、粘土11%)の2つの土壌型におけるラサロシドの分解性を調べた。埴壌土では、堆肥20mg/kg存在下での分解性も調べられた。供試土壌は、72時間インキュベートした後にラサロシド2.1mg/kgが添加され、好気条件下でさらに23°Cでインキュベートされた。殺菌土壌も同様の条件でラサロシド添加とインキュベートがおこなわれた。そして、一定間隔で試料が採取・分析された。ラサロシドはいずれの土壌においても速やかに分解され、半減期はDrummer-30、堆肥施用したDrummer-30およびOakville-31土壌でそれぞれ3.6、4.3および1.5日であった。一方、滅菌土壌での分解は実質上認められず、ラサロシド消失機構は生物的過程であることが示唆された。 DT_{50} 値(半減期)は、これまでの試験で認められた値と等しかった。

水中運命(原文、15ページ)

ラサロシドナトリウムの加水分解は、OECDガイドラインNo. 111に従って様々なpH値で調べられた 35 。pH4および7では、50°Cで5日後に10%未満しか分解されなかった。pH9では、約32%が分解された。

結論(原文、16ページ)

ラサロシドの平均 K_d および K_∞ 値は、それぞれ31および1140である。これらの値は、Sassman and Lee 36 により中性pHの土壌で認められた最低 K_∞ 値と同程度である。したがって、リスク評価には K_∞ 値1140を用いることする。

堆肥中のラサロシドナトリウムの生物分解速度に関する結論を引き出せるデータは提供されなかった。ラサロシドの土壌中の DT_{50} 値は $0.6\sim14.2$ 日、平均値は2.4日である。主要な未同定代謝物が1つ生成されるが、その生物活性は不明である。ラサロシドの加水分解は遅い。

3.4.1.2. 環境中予測濃度(PEC)(原文、16ページ)

³⁴ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.9

³⁵ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.10

³⁶ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.9

土壌、地下水および地表水中の最大PECの計算方法は、環境に対する飼料添加物の安全性評価に関する技術指針(EFSA, 2008)に記されている。計算値を表3に示す。

表3. 土壌(μg/kg)、地下水および地表水(μg/L)中のラサロシドの環境中予測濃度

環境媒体	PEC
土壌	580
地下水	29
地表水	9.6

土壌と地下水は第I相のPECトリガー値を超えている。したがって、第II相の審査が必要と考えられる。

第II相のTier Aは、第I相(初期最大濃度)で計算された総残留物量(初期最大濃度)と親化合物の 毒性データに基づく総合的な影響評価を参考にしている。これは、親化合物が最も毒性の 高い化合物であることを前提とした暴露期間に関係のない安全性レベルである。

3.4.2. 影響評価(原文、16ページ)

3.4.2.1. 土壌生物に対する毒性(原文、16ページ)

植物への影響(原文、16ページ)

ラサロシドナトリウムがペレニアルライグラス(Lolium perenne)、ダイコン(Raphanus sativus) およびリョクトウ(Pheseolus aureus)の発芽と実生成長に及ぼす影響が、OECDガイドライン No.208に従って砂壌土で調べられた(Chapleo et al., 2003) 37 。試験期間は18日間(少なくとも 50%が発芽してから14日間)であった。これらの植物の発芽に対するLC $_{50}$ 値(半数致死濃度) は、本試験での最大濃度(100mg/kg soil dw)よりも高かった。生育に対する最低EC $_{50}$ 値(半数 効果濃度)は、ライグラスの場合で87.8mg/kgと推定された。ラサロシドナトリウムの NOEC(無影響濃度: No Observed Effect Concentration)は10mg/kg soilに設定されている。

ミミズへの影響(原文、17ページ)

ミミズ(Eisenia foetida andrei)に対するラサロシドナトリウムの急性毒性は、OECDガイドラ

³⁷ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.13

インNo.207に従って、名目濃度600mg/kg dry soil、20°C、14日間での限定的試験で調べられた(Clayton and Knight, 2002) 38 。砂70%、カオリナイト粘土20%およびミズゴケピート10%で構成された人工土壌が用いられた。上位2つの濃度(300および600mg/kg)では、全部のミミズが14日後に死亡した。有機物5%に正規化されたラサロシドナトリウムの LC_{50} 値は71.8mg/kgである。ミミズの体重変化に対するラサロシドナトリウムのNOECは75mg/kgと推定された。

追加試験で、ラサロシドナトリウムがミミズの繁殖に及ぼす影響がOECDガイドライン222 に従って調べられた³⁹。人工土壌(OECDガイドライン207に準拠)にラサロシドナトリウムが 0、5.15、10.30、20.60、41.20および82.40mg/kgの濃度で添加された。56日目の繁殖率に対するラサロシドナトリウムのNOECは41.20mg/kgに決定された。

土壌微生物への影響(原文、17ページ)

活性汚泥における好気性廃水微生物の呼吸速度に対するラサロシドナトリウムの阻害作用が、OECDガイドラインNo.209に従って濃度 $10\sim1000$ mg/Lでの3時間の呼吸阻害試験で調べられた 40 。最大試験濃度だけは27%の呼吸阻害作用が認められた。したがって、 EC_{50} 値は>1000mg/Lであった。いずれの試験条件も許容限界以内であった。

(短期間の)呼吸と硝化にラサロシドナトリウムが及ぼす影響が、OECDガイドラインNo.216 および217に従って、砂質壌土を用いて最大容水量の40%の水分条件で調べられた⁴¹。土壌 試料は、1.039および5.195mg/kgのラサロシドナトリウムを混和して20℃・暗黒・好気条件下で56日間インキュベートされた。窒素変換試験の試料は、ルーサンミール0.5%を混和した。0~3時間後と、7、14、28および56日後の土壌呼吸活性と硝酸含量が測定された。28日後の1および5mg/kg混和土壌の平均呼吸速度は、それぞれ対照区よりも42および31%低かった。しかし、56日後の呼吸速度はいずれの濃度でも対照区よりもそれぞれ11および22%高かった。28日後の1mg/kg混和土壌の硝酸含量は、対照区よりも有意に低かった(16%)。しかし、5mg/kg混和土壌では差が認められなかった。したがって、土壌の呼吸および硝化に対するラサロシドナトリウムのNOECは>5mg/kg soilに設定されている。

3.4.2.2. 水生生物に対する毒性(原文、17ページ)

³⁸ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.11

³⁹ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.12

⁴⁰ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.15

⁴¹ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.14

藻類への影響(原文、17ページ)

Selenastrum subspicatusに対するラサロシドナトリウムの急性毒性が、OECDガイドライン No.201に従って、ラサロシドナトリウム $0.22\sim10$ mg/Lの名目濃度で調べられた 42 。実濃度は名目濃度の $86\sim99\%$ であり、試験の最後まで安定に保たれた。他の試験条件はいずれも許容限界以内であった。バイオマス量と成長速度に基づくラサロシドナトリウムの72時間 NOECは1.0mg/Lであった。バイオマス量と成長速度に基づくラサロシドナトリウムの EC_{50} 値は、それぞれ2.0および3.1mg/Lであった。後者の値がリスク評価に用いられている。

甲殻類への影響(原文、18ページ)

甲殻類 $Daphnia\ magna$ (オオミジンコ)に対するラサロシドナトリウムの急性毒性が、OECD ガイドラインNo.202に従い、ラサロシドナトリウム1.5~32mg/Lの名目濃度で止水条件下で調べられた⁴³。実濃度は名目濃度の86~89%であり、試験の最後まで安定に保たれた。実濃度に基づく48時間EC $_{50}$ 値は5.4mg/L(95 %c.l.: 4.1~7.1)であった。

魚類への影響(原文、18ページ)

ゼブラフィッシュ(*Brachydanio rerio*)に対するラサロシドナトリウムの急性毒性が、OECDガイドラインNo.203に従い、ラサロシド $0.32\sim32$ mg/Lの名目濃度で止水条件下で調べられた⁴⁴。 実濃度は名目濃度の75~87%であり、試験の最後まで安定に保たれた。実濃度に基づく96時間EC₅₀値は2.5mg/L(95 %c.l.: $1.1\sim5.5$)であった。

3.4.2.3. 結論(原文、18ページ)

植物に対するラサロシドナトリウムの最低LC(EC) $_{50}$ 値は87.8mg/kgである。この値から、陸環境に対するラサロシドナトリウムのPNEC値(予測無影響濃度: predicted no-effect concentration)値は、安全係数を100として0.88mg/kgと算出される。

水媒体でのラサロシドナトリウムの最低毒性値は、魚類の場合でLC(EC)so値2.5mg/Lであっ

⁴² Technical Dossier/Section III/Annex III.4.16

⁴³ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.17

⁴⁴ Technical Dossier/Section III/Annex III.4.18

た。安全係数1000を適用すると、水生生物に対するラサロシドのPNECは2.5μg/Lである。

3.4.2.4. 生体内蓄積(原文、18ページ)

生体内蓄積に関するデータは何も提出されていない。log Kow < 3であるので、生体内蓄積に関するリスクは低いと考えられる。

3.4.3. リスク判定(原文、18ページ)

3.4.3.1. 土壌に対するリスク(原文、18ページ)

土壌生物に対するリスクは、PECとPNECの計算値を比較することによって推定できる。この比較を表4に示す。PEC/PNEC比は1未満である。

表4. 提案された推奨用量100%でのPECとPNECの比較

PECsoil	PNEC	PEC/PNEC	
(mg/kg)	(mg/kg)		
0.58	0.88	0.66	

3.4.3.2. 地下水に対するリスク(原文、18ページ)

PEC地下水(PEC_{groundwater})を最悪条件での計算(総残留物法)による間隙水中濃度と等しいとした場合、PEC地下水はトリガー値0.1μg/Lを超える。しかし、EFSA提案のメタモデル(EFSA, 2008)を用いた場合、ラサロシドナトリウムの分解の速さを考慮すると、地下水中濃度はトリガー値を超えない。

3.4.3.3. 水生生物に対するリスク(原文、19ページ)

水生生物に対するリスクは、PECとPNECの計算値を比較することによって推定できる。この比較を表5に示す。推奨用量100%でのPEC/PNEC比は1を超えている。しかし、PEC値は、全用量に対して10%の親化合物が排泄されることを示すシチメンチョウの代謝データ(第3.2.1.1章参照)によって精緻化することができ、これによってPEC/PNEC比は0.4と算出され

る。ニワトリとシチメンチョウの排泄物から多数の化合物が検出されたが、2つの代謝物だけで [¹⁴C] 活性の5%以上を占めた⁴⁵。ラサロシドのヒドロキシル化(モノおよびジヒドロキシル化)代謝物が、ラットの排泄物から検出された。イオノフォア系抗生物質の水酸化代謝物はイオノフォア活性が低いことが知られている(Dimenna et al., 1989; Donoho et al., 1984)。一部の代謝物が全体的な毒性に寄与している可能性を考慮して不確実性係数を2とし、排泄物中の親化合物の含有量が倍加されて20%とされた。それでもなお、PEC/PNECは1未満である。

表5. 提案された推奨用量100%および代謝に基づく精緻化によるPECとPNECの比較

	PEC地表水	PNEC	PEC/PNEC	
	$(\mu g/L)$	$(\mu g/L)$		
	9.6	2.5	3.8	
精緻化	1.92	2.5	0.8	

3.4.4. 結論(原文、19ページ)

 $Avatec^{®}150G$ の使用条件を考慮して提供されたデータを審査した結果、環境安全性に対する 懸念は確認できなかった。

4. 有効性(原文、19ページ)

4.1. 平飼い試験(原文、19ページ)

申請者は、野外条件を模して5ヶ所の地点でシチメンチョウのEimeria属原虫感染防除におけるラサロシドナトリウムの効果を調べた7つの平飼い試験のデータを提出した。そのうちの試験の1つ⁴⁶は非投与対照群が無かったため、参考にできなかった。残り6試験のうちの1つ(試験1)はAvatec15%を用いて実施され、他の5つの試験は現在使用されているとされる製品Avatec®150Gを用いて実施された。飼料中のラサロシドナトリウム濃度の分析データから、試験2~6は想定濃度どおりであることが確認された。いずれの試験でも、シチメンチョウに典型的なEimeria属原虫が人工感染された。体重、飼料摂取量および死亡率が全試験で記録された。感染後に特定のパラメータ(オーシスト排泄、腸の病変スコアなど)が調べられた。

⁴⁵ Hawkins, et al., Section IV/Volume 20./Reference IV.1.2.18/Original Dossier

⁴⁶ Technical Dossier/Section IV/Annex IV.2

試験 1^{47} では、9(反復)×11(羽/反復)のBUT種のシチメンチョウの雌に、ラサロシドナトリウム 90mg/kg添加もしくは無添加の飼料が14週間与えられた。19日目に各個体にEimeria adenoides、Eimeria meleagrimitisおよびEimeria dispersaの胞子形成オーシスト混合物(10^4 オーシスト/羽)が接種された。試験最終日のAvatec $^{®}150$ G添加群の体重は、無添加感染群よりも有意に高かった(無添加群7.7kgに対して添加群8.0kg)。全体の死亡率は、殺処分による高い死亡率による影響を受けた。対照群ではコクシジウム症により6羽が死亡し、Avatec $^{®}150$ G 添加群では1羽が死亡した。

試験 2^{48} では、6(反復)×10(羽/反復)のBUT種のシチメンチョウ(雄雌)に、ラサロシドナトリウム90または125mg/kg添加もしくは無添加の飼料が15週間与えられた。16日目に各個体に *Eimeria adenoidesとEimeria meleagrimitis*の胞子形成オーシスト混合物(10^5 オーシスト/羽)が接種された。両Avatec®150G添加群の最終的な体重は、非投与非接種群(10.5kg)と同等で非投与感染群よりも高かったが、有意差には達するほどの差ではなかった。29日目の病変スコアはEimeria属原虫の感染により増加し、Avatec®150Gの用量に依存して減少した (125mg/kg添加群で有意)。

試験 3^{49} では、 $5(反復) \times 25(羽/反復)$ のBUT種のシチメンチョウ(雄雌)に、ラサロシドナトリウム90または125mg/kg添加もしくは無添加の飼料が14週間与えられた。15日目に各個体に Eimeria meleagrimitisとEimeria dispersaの胞子形成オーシスト混合物(10^5 オーシスト/羽)が接種された。いずれのラサロシドナトリウム投与群においても、体重が対照群(12.8kg)と比べて有意に高かった(90または125mg/kg添加群でそれぞれ13.4および13.2kg)。死亡率は低かったが、感染や投与による影響は受けなかった。28日目には、投与による用量依存性のオーシスト排泄量の減少が認められた(有意差検定せず)。

試験 4^{50} では、 $4(反復)\times28(羽/反復)$ のBUT種のシチメンチョウ(雄雌)に、ラサロシドナトリウム75または90mg/kg添加もしくは無添加の飼料が16週間与えられた。15日目に各個体に Eimeria meleagrimitisとEimeria dispersaを主とした胞子形成オーシスト混合物 $(3.8\times10^4$ オーシスト/羽)が接種された。ラサロシドナトリウム添加群では、最終的な体重が増加し、90mg/kg添加群では有意差に達した。28日目のオーシスト排泄量は両投与によって減少した(有意差検定せず)。死亡率は影響を受けなかった(全群で感染後に9/112)。

試験 5^{51} では、6(反復)×30(羽/反復)のBUT種のシチメンチョウの雄に、ラサロシドナトリウム

⁴⁷ Technical Dossier/Section IV/Annex IV.1

⁴⁸ Technical dossier/Section IV/ Annex IV.3

⁴⁹ Technical dossier/Section IV/ Annex IV.5

⁵⁰ Technical dossier/Section IV/Annex IV.6

⁵¹ Supplementary information. January 2010

75mg/kg添加もしくは無添加の飼料が17週間与えられた。15日目に各個体にEimeria adenoids とEimeria meleagrimitisの胞子形成オーシスト混合物(7.5×10⁴オーシスト/羽)が接種された。 Avatec®150G添加群の最終的な体重は、非投与感染群よりも有意に高く(13.3kgに対して 14.2kg)、飼料摂取量も有意に高かった(119g/dayに対して128mg/day)。全体の死亡率は低く、 Avatec[®]150G添加群で10/180、対照群で20/180であった。

試験 6^{52} では、6(反復)×25(羽/反復)のBUT種のシチメンチョウの雌に、ラサロシドナトリウム 75、90または125mg/kg添加もしくは無添加の飼料が13週間与えられた。14日目に各個体に Eimeria adenoids、Eimeria meleagrimitisおよびEimeria dispersaの胞子形成オーシスト混合物 $(7.8 \times 10^4$ オーシスト/羽)が接種された。Eimeria属原虫の感染による最終的な体重の顕著な 減少は認められなかった(非投与群12.6kg、非投与感染群12.3kg)。また、ラサロシドナトリ ウム投与群における体重への影響も認められなかった。オーシスト排泄量は125mg/kg添加 によって有意に減少した。

4.1.1. 感染後の所見(原文、20ページ)

シチメンチョウでのEimeria属原虫接種は低感染圧だったことを考えると、最終的な体重へ の一貫した影響が常に認められるとは思われない。感染直後に体重が増加したことは、コ クシジウム症を防除できたことを示唆すると考えられる。表6にラサロシドナトリウム 75mg/kg feed添加による人工感染直後の体重増加の概要を示す。

表6. 感染直後のラサロシドナトリウム0または75mg/kg添加感染群の体重増加

	試験	感染後日数(日)	非投与感染群の	投与感染群の	有意差
_			体重増加(g/day)	体重増加(g/day)	
	4	6	24.0	27.1	P<0.05
	5	7	18.6	32.0	P<0.001
	6	14	27.3	35.9	P<0.001

4.2. 野外試験(原文、21ページ)

申請者は、野外条件で2地点において実施された3つの試験を提供した。ラサロシド (Avatec®150G)が他の抗コクシジウム剤2種と比較された。抗コクシジウム剤の濃度が想定通 りであることが分析により確認された。

- 30 -

⁵² Technical dossier/Section IV/Annex IV.4

試験1⁵³では、BUT Big 6種のシチメンチョウの初生雛の雌22138羽が、同じ大きさの禽舎2つに同じ環境条件下で飼育された。片方の禽舎の完全飼料にはラサロシドナトリウム125mg/kgが添加され、もう一方の禽舎には合成抗コクシジウム剤(1mg/kg)が添加された。飼料は14週間与えられた。Eimeria meleagrimitis、Eimeria innocum、Eimeria subrotunda、Eimeria meleagridis、Eimeria gallopavonisおよびEimeria adenoidesの自然感染が生じ、いずれの禽舎でもオーシスト体外排出のピークは2~7週の間であった。体重(両群とも8.6kg)と死亡率(ラサロシド群は4.2%、対照抗コクシジウム剤群は3.3%)において、2つの投与群間に有意差は無かった。オーシスト排泄量は6週目に最大であった。6週目のオーシスト排泄量は、ラサロシドナトリウム群よりも対照抗コクシジウム剤群の方が有意に高かった。

試験2⁵⁴は、BUT Big 6種のシチメンチョウの初生雛の雄7000羽が、同じ大きさの禽舎2つに同じ環境条件下で飼育された。片方の禽舎の完全飼料にはラサロシドナトリウム90mg/kgが添加され、もう一方の禽舎にはポリエーテル系イオノフォア(5mg/kg)が添加された。飼料は12週間与えられた。*Eimeria meleagrimitis*の自然感染が生じ、いずれの禽舎でもオーシスト体外排出のピークは3~6週の間であった。体重(ラサロシドナトリウム群は9.1kg、ポリエーテル系イオノフォア群は8.8kg)、オーシスト排泄量および死亡率(ラサロシドナトリウム群は6.8%、ポリエーテル系イオノフォア群は5.2%)において、2つの投与群間に有意差は無かった。

試験3⁵⁵は、BUT Big 6種のシチメンチョウの雌24000羽が、同じ大きさの禽舎2つに同じ環境条件下で飼育された。片方の禽舎の完全飼料にはラサロシドナトリウム90mg/kgが添加され、もう一方の禽舎にはポリエーテル系イオノフォア(5mg/kg)が添加された。飼料は12週間与えられた。*Eimeria meleagrimitis*および*Eimeria adenoides*の自然感染が生じ、いずれの禽舎でもオーシスト体外排出のピークは3~5週の間であった。体重(6.9kg)と死亡率(ラサロシドナトリウム群は3.2%、他のポリエーテル系イオノフォア群は2.7%)において、2つの投与群間に有意差は無かった。ラサロシドナトリウム群は、4週目のオーシスト排泄量がポリエーテル系イオノフォア群よりも低かった。

4.2.1. 枝肉パラメータ(原文、21ページ)

平飼い試験4および5と野外試験3では、幾つかの枝肉パラメータが記録された。平飼い試験

⁵³ Technical dossier/Section IV/Annex IV.7

⁵⁴ Technical dossier/Section IV/Annex IV.8

⁵⁵ Technical dossier/Section IV/Annex IV.8

では、温と体および低と体重量、胸肉の割合、温と体歩留が記録された。平飼い試験4ではラサロシドナトリウム(Avatec®150G)0、75および90mg/kg feed投与群間に差異は認められなかった。平飼い試験5では、75mg/kg投与群の温と体および低と体重量が増加した。野外試験3の2つの投与群間では、特定の枝肉の収量に差異は認められなかった。

4.2.2. 対象動物種に対する有効性に関する結論(原文、22ページ)

平飼い試験の結果は、全体的に肥育用シチメンチョウのコクシジウム症防除におけるラサロシドナトリウム(Avatec®150G)の有効性を裏付けている。これらの結論では、特定および不特定(一般的特性)の毒性指標などのパラメータが考慮されている。最小有効用量に関しては、ラサロシドナトリウム90mg/kgで十分な数(最低3つ)の統計的有意な結果が得られた。

しかし、直接的な感染後の所見、すなわち感染後の体重増加は、ラサロシドナトリウム 75mg/kgが3つの試験(3試験中)で*Eimeria*属原虫感染に対して有効であることを示唆している。

野外試験は、Avatec[®]150Gがラサロシドナトリウム90~125mg/kg feedの用量で、少なくとも 比較に用いた他の抗コクシジウム剤と同程度に有効であることを裏付けている。試験計画 に問題があるため(禽舎が投与ごとに異なる、反復無し)、より詳細な評価は不可能である。

最終的にFEEDAPパネルは、Avatec[®]150Gはラサロシドナトリウム75mg/kg complete feed以上の用量で肥育用シチメンチョウのコクシジウム症防除に有効であると結論づける。ラサロシドナトリウムは、シチメンチョウの枝肉特性に影響を与えないと考えられる。

5. 市販後監視(原文、22ページ)

Avatec[®]150G使用に関係する特定のリスクは確認できなかった。市販後監視計画に関し、飼料衛生規則(Feed Hygiene Regulation)⁵⁶と適正製造基準(Good Manufacturing Practice)に設けられた要件以外に特別な要件を設ける必要性は無いと考えられる。

結論および提言(原文、23ページ)

-

⁵⁶ OJ L 35, 8.2.2005, p.1

結論(原文、23ページ)

Avatec[®]150G(ラサロシドAナトリウム)は、肥育用シチメンチョウに対しては16週齢まで最大用量(125mg/kg complete feed)でも安全である。安全マージンは付与することができない。

ラサロシドAナトリウムは、ウマ科動物種に対して危険である可能性があり、シチメンチョウにおいては肥育鶏と同様に特定の薬物との併用は禁忌である。

ニワトリとラットにおけるラサロシドAナトリウムの代謝運命に関して提供された追加データは、ニワトリ、シチメンチョウおよびラットの代謝経路の類似性を結論づけるのに十分な証拠をFEEDAPパネルに与えた。未変化のラサロシドAナトリウムが指標残留物である。

新たなデータは無く、FEEDAPパネルはラサロシドAナトリウムが遺伝毒性、発癌性および変異原性ではないとする先の結論を改めて表明する。2年間のラット経口毒性試験およびウサギ母体毒性試験により、最低NOAELが0.5 mg/kg 体重/日に設定された。そして、毒性学的ADIは安全係数を100として0.005mg/kg 体重(もしくは0.3mg/60 kg ヒト/日)と算出された。

消退期間1日後の消費者暴露量はADIに適合している。FEEDAPパネルは、肝臓と比べて腎臓および皮膚/脂肪中の残留物の減少は遅いことや、データの変動が高いことを考慮し、EUで既に施行されているMRLを遵守するには消退期間を5日とするのが適切であると結論づけた。

新たなデータは無く、FEEDAPパネルはAvatec®150G(ラサロシドAナトリウム)が本添加物を扱う使用者/労働者にリスクをもたらす可能性はなさそうであるとの先の結論を改めて表明する。

FEEDAPパネルは、シチメンチョウへの飼料中の最大推奨濃度でのAvatec®150G使用による環境安全性に対する懸念は確認できなかった。

FEEDAPパネルは、Avatec[®]150Gはラサロシドナトリウム75mg/kg complete feed以上の用量で肥育用シチメンチョウのコクシジウム症防除に有効であると結論づける。ラサロシドナトリウムは、シチメンチョウの枝肉特性に影響を与えないと考えられる。

提言(原文、23ページ)

FEEDAPパネルは、表示への追加要件として以下のような警告文を続けることを推奨する:ウマ科動物種には危険。本飼料はイオノフォアを含む。特定の薬物との併用は禁忌である。

FEEDAPパネルは、活性物質が抗微生物作用を示す場合、本添加物に対する細菌類の抵抗性を監視するための野外試験の結果を提供するべきであると考える。動物のラサロシドAナトリウム抵抗性の監視は、各国の既存の抗菌剤抵抗性監視プログラムでは実施されていない。

シチメンチョウの*Eimeria*属原虫のラサロシドAナトリウム抵抗性の野外監視が実施されるべきであり、望ましくは認可期間の後半で実施されるべきである。

EFSAに提出された文書(原文、23ページ)

- 1. Avatec 150G(ラサロシドナトリウム)。2008年9月。Alpharma BVBA社提出。
- 2. 飼料添加物に関する欧州連合リファレンス検査機関のAvatec 150Gの分析方法についての評価報告書。
- 3. Avatec 150G(ラサロシドナトリウム)。補足情報。2009年6月。Alpharma BVBA社提出。
- 4. Avatec 150G(ラサロシドナトリウム)。補足情報。2010年1月。Alpharma BVBA社提出。
- 5. ScienceNetを通じて受け取った加盟国からの意見書。

付録A(原文、25ページ)

飼料添加物に関する欧州連合リファレンス検査機関のAvatec[®]150Gの分析方法について の評価報告書の要旨

アバテック(ラサロシドナトリウムA)は、規則(EC) No2037/2005により飼料添加物として、規則(EC) No 1831/2003 の付則Iの分類体系に従って'抗コクシジウム剤'の分類で既に認可された製品である。アバテックの活性物質はラサロシドナトリウムAであり、提案された本化合物の完全飼料中の含有量は $75\sim125$ mg/kgである。

規則(EC) No 1831/2003第10条(2)による現在の用途において、シチメンチョウ(16週齢まで)へのアバテック使用の再評価が求められている。

予混合物および飼料中のラサロシドナトリウムA測定に関して、申請者は規則(EC) No 152/2009にて発表された欧州共同体法を基とする逆相HPLCによる方法で、単独の研究機関で妥当性が確認された方法を提出した。申請者によって調べられた性能特性は、以下に列挙した欧州共同体法を検証した共同試験により報告された特性(シチメンチョウ、飼料および予混合物が対象)と良く一致している:

- 併行精度(repeatability)の相対標準偏差は2.2~2.5%
- 室内再現精度(reproducibility)の相対標準偏差は5.0~5.7%
- 検出限界および定量限界は、それぞれ飼料中5および10mg/kg
- 回収率は飼料からは80%以上、予混合物からは90%以上

CRLによる要望に応えて申請者は、飼料添加物中のラサロシドナトリウムAの測定結果と、上記の欧州共同体法が飼料添加物マトリックスにも適用できることを示す実験証拠を提供した。CRLは報告された試験データから性能特性を、併行精度の標準偏差4.4%、室内再現精度5.7%および回収率98.2%と評価した。

上記の性能特性に基づき、CRLは公的規制として、飼料添加物、予混合物および飼料中のラサロシドナトリウムA測定には規則(EC) No 152/2009にて発表された欧州共同体法を推奨する。

これ以上の試験や検証は必要ないと考えられる。

キーワード:ラサロシドナトリウムA、抗コクシジウム剤、シチメンチョウ(16週齢)

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	acceptable daily intake	一日摂取許容量
CAS	Chemical Abstract Service	ケミカルアブストラクトサービス
CFU	colony forming unit	コロニー形成単位
CRL	The Community Reference Laboratory	(EU) 参照研究所
DT50	degradation time for 50%	土壌中半減期
EC50	half maximal effective concentration	半数効果濃度
EURL	European Union Reference Laboratory	欧州連合リファレンス検査機関
EFSA	European Food Safety Authority	欧州食品安全機関
FEEDAP	The Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed	動物飼料添加物及び飼料製品パネル
GLP	Good Laboratory Practice	試験実施適正基準
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
LC-MS-MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフ/タンデム質量分析
LOD	limit of detection	検出限界
LOQ	limit of quantification	定量限界
MIC	minimal inhibitory concentration	最小発育阻止濃度
MRL	maximum residue limit	最大残留基準値
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEC	No Observed Effect Concentration	無影響濃度
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PEC	Predicted Environmental Concentration	予測環境濃度
PNEC	Predicted No Effect Concentration	予測無影響濃度
SCAN	Scientific Committee of Animal Nutrition	動物栄養に関する科学委員会
TLC	Thin Layer Chromatography	薄層クロマトグラフィ

ラサロシドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書: EFSA, SCIENTIFIC OPINION, Scientific Opinion on the safety and efficacy of Avatec[®]150G (lasalocid A sodium) for pheasants, partridges, quails and guinea-fowl)

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
亜急性毒性 性(経口)	キジ	ラサロシド ナトリウム 120、240、 360 mg/kg (42 日間)	重度の微生物感染と抗生物質治療 実施のため結論なし。	11	8
亜急性毒 性 (経口)	キジ	ラサロシド ナトリウム 飼料中濃度 0、120、180、 240 mg /kg (35 日間)	240mg/kg 群で、体重減少。180 および 240mg/kg 群で、有意な飼料摂取量および飼料要求率の減少。	12	8
亜急性毒性 性 (経口)	ヤマウ ズラ (イワシ ャコ)	ラサロシド ナトリウム 飼料中濃度 0、125、 175、250 mg /kg (28 日間)	 死亡率は低く(2/100羽)、投与とは無関係。 最終的な体重は投与群間で有意差なし。 剖検時に異常なし。 生データがないため結論を出すには限界があるが、125 mg/kgでの安全性を暗示。 	13	8
亜急性毒性 性 (経口)	ホロホ ロチョ ウ	ラサロシド ナトリウム 飼料中濃度 0、75、97.5、 120、142.5、 165、187.5 mg/kg (10 日間)	不良症状は認められなかったが、試験期間が短かったため本試験の結果 は単に傾向として捉えることができる。	13	9
亜急性毒性 性(経口)	ホロホ ロチョ ウ	ラサロシド ナトリウム 飼料中濃度 0、120、180、 240 mg /kg (35 日間)	死亡率は低く(3/180 羽)、投与とは無関係。 試験最終日に、体重、体重増加量、飼料摂取量、水摂取量の累積データは、投与間の有意差なし。 累積飼料要求率は、120mg 群および 180mg 群で対照群と有意差あり。240mg 群は有意差なし。	13	9
結論			キジの耐性試験から、ラサロシドナトリウムは最大推奨用量(120 mg/kg)で安全であると結論付けられる。安全性マージンは約1.7。 最近のホロホロチョウを用いた試験は120mg/kgのラサロシドナトリウムは安全であり、安全性マージンは約2であることを示した。	15	10

科学的意見書

 $Avatec^{\$}150G($ ラサロシドA ナトリウム)のキジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウに対する安全性と有効性に関する科学的意見書^{1,2}

動物飼料用の添加物および製剤または物質に関する EFSA パネル(FEEDAP)³,4

欧州食品安全機関(EFSA)、イタリア、パルマ

要約(原文、1ページ)

Avatec $^{\mathbb{R}}$ 150G(アバテック $^{\mathbb{R}}$ 150G)は、活性物質ラサロシドAナトリウムを15%含む抗コクシジ ウム剤である。Avatec®150Gは、キジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウに対する 抗コクシジウム剤としてラサロシドナトリウム75~120 mg/kg complete feedの使用が提案さ れている。提出されたキジおよびホロホロチョウの耐性試験データに基づいて、FEEDAP パネルはこれらの種に対してラサロシドナトリウム120 mg /kg complete feedが安全であると 判断した。安全性マージンは、キジに対しては1.7、ホロホロチョウに対しては2と推定され た。キジ、ヤマウズラおよびウズラは同じキジ科鳥類に属するため、FEEDAPパネルはラサ ロシドナトリウム120 mg/kg 飼料の安全性に関する結論をキジからヤマウズラおよびウズ ラにまで適用拡大した。ラサロシドAナトリウムは、ウマ科動物種には危険である可能性が あり、全家禽類において特定の薬物との併用は禁忌である。用法が似ていることと種間の 生理学的類似性から、ニワトリとシチメンチョウに共通する代謝および残留状態を家禽類 のマイナー種に外挿することができる。キジとウズラでの追加的残留物試験が、この外挿 の妥当性を裏付けている。家禽組織に対するMRLを遵守するには、5日の休薬期間が必要と される(但し、卵は例外として休薬期間はこれよりも大幅に長くなると推定される)。FEEDAP パネルは、Avatec®150Gが本添加物を扱う使用者/労働者にリスクをもたらす可能性はなさ そうであるとの先の結論を改めて表明する。マイナー家禽種における最大推奨飼料中濃度 でのAvatec®150Gの使用が環境にリスクをもたらすとは考えられない。申請中の種を含めた

-

¹ 欧州委員会からの要請による、案件 No. EFSA-Q-2008-080、2011 年 3 月 16 日採択

 $^{^2}$ この科学的意見書は規則 (EC) No1831/2003 の第 8 条 (6) および第 18 条の規定に従って編集されている。修正箇所が文章中に示されている。

³ パネル構成員: Gabriele Aquilina, Georges Bories, Andrew Chesson, Pier Sandro Cocconcelli, Joop de Knecht, Noël Albert Dierick, Mikolaj Antoni Gralak, Jürgen Gropp, Ingrid Halle, Reinhard Kroker, Lubomir Leng, Anne-Katrine Lundebye Haldorsen, Alberto Mantovani, Miklós Mézes, Derek Renshaw and Maria Saarela. 連絡先: FEEDAP@efsa.europa.eu

 $^{^4}$ 謝辞: 欧州食品安全機関は、この科学的意見書の作成に関して抗コクシジウム剤および抗ヒストモナス剤に関する作業グループの構成員と Paul Brantom 氏に感謝申し上げます。

バタリー、平飼いおよび野外試験から、FEEDAPパネルは申請中の4つのマイナー家禽種全部に対して抗コクシジウム有効用量はラサロシドナトリウム75~125 mg/kg 飼料であると判断する。

© European Food Safety Authority, 2011

キーワード

抗コクシジウム剤、Avatec $^{\$}$ 150G、キジ、ヤマウズラ、ウズラ、ホロホロチョウ、安全性、 有効性

要約(原文、2ページ)

欧州委員会からの要請により、動物飼料用の添加物および製剤または物質に関するEFSAパネル(FEEDAP)はAvatec®150Gのキジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウに対するラサロシドAナトリウム75~120 mg/kg complete feedでの安全性と有効性に関する意見書の作成を依頼された。

Avatec[®]150Gは、活性物質ラサロシドAナトリウムを15%含む飼料添加物であり、家禽類のコクシジウム症防除に用いられる。

提出されたキジおよびホロホロチョウの耐性試験データに基づいて、FEEDAPパネルはこれらの種に対してラサロシドナトリウム120 mg/kg complete feedが安全であると判断した。安全性マージンは、キジに対しては1.7、ホロホロチョウに対しては2と推定された。キジ、ヤマウズラおよびウズラは同じキジ科鳥類に属するため、FEEDAPパネルはラサロシドナトリウム120 mg/kg 飼料の安全性に関する結論をキジからヤマウズラおよびウズラにまで適用拡大した。

ラサロシド**A**ナトリウムは、ウマ科動物種には危険である可能性があり、全家禽類において特定の薬物との併用は禁忌である。

用法が似ていることと種間の生理学的類似性から、ニワトリとシチメンチョウに共通する 代謝および残留状態を家禽類のマイナー種に外挿することができる。キジとウズラでの追 加的残留物試験が、この外挿の妥当性を裏付けている。 家禽組織に対するMRLを遵守するには、5日の休薬期間が必要とされる(但し、卵は例外として休薬期間はこれよりも大幅に長くなると推定される)。

FEEDAPパネルは、Avatec®150Gが本添加物を扱う使用者/労働者にリスクをもたらす可能性はなさそうであるとの先の結論を改めて表明する。

マイナー家禽種における最大推奨飼料中濃度でのAvatec[®]150Gの使用が環境にリスクをもたらすとは考えられない。

申請中の種を含めたバタリー、平飼いおよび野外試験から、FEEDAPパネルは申請中の4つのマイナー家禽種全部に対して抗コクシジウム有効用量はラサロシドナトリウム75~125 mg/kg 飼料であると判断する。

FEEDAPパネルは、肥育用のキジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウなどのマイナー家禽種におけるラサロシドナトリウムの市販後監視および使用制限に関する幾つかの提言を示す。

TABLE OF CONTENTS

Abstract.	1
Table of contents	3
Background .	4
Terms of reference	4
Assessment	7
1. Introduction	7
2. Characterisation .	7
2.1. Evaluation of the analytical methods by the European Union Reference	
Laboratory (EURL)	7
3. Safety	7
3.1. Safety for the target species	7
3.1.1. Safety for pheasants	8
3.1.2. Safety for partridges.	8
3.1.3. Safety for quails	9
3.1.4. Safety for guinea fowl	9
3.1.5. Interactions/incompatibilities.	9
3.1.6. Microbiological safety of the additive	9
3.1.7. Conclusions on the safety of lasalocid sodium for the target species	10
3.2. Safety for the consumer	10
3.2.1. Metabolism and residue studies	10
3.2.1.1. Metabolic studies .	10
3.2.1.2. Residues .	10
3.2.1.3. Conclusion .	11
3.2.2. Assessment of the consumer safety	11
3.2.3. Proposal for a withdrawal period	11
3.3. Safety for the user.	11
3.4. Safety for the environment	12
4. Efficacy.	12
4.1. Efficacy in pheasants	12
4.1.1. Battery trials .	12
4.1.2. Floor pen trials	13
4.1.3. Field trials	13
4.2. Efficacy in the partridge	13
4.2.1. Dose titration trials .	13
4.2.2. Battery trials	14

4.3. Efficacy in the quail	14
4.4. Efficacy in the guinea fowl .	14
4.5. Conclusions on efficacy	15
5. Post-market monitoring .	15
Conclusions and recommendations	15
Documentation provided to EFSA.	16
References	16

背景(原文、4ページ)

規則(EC)No 1831/2003⁵は、欧州共同体による動物栄養用添加物の認可に関する規則を定め ている。特に、本規則の第4条(1)は「飼料用添加物もしくは飼料用添加物の新たな使用法の 認可を求める者は如何なる者であっても第7条に従って申請書を提出しなければならない」 と規定している。

欧州委員会はAlpharma BVBA社⁶より、キジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウ用 飼料添加物(分類区分:抗コクシジウム剤および抗ヒストモナス剤)として表1に示した条件 下でのAvatec®150G製剤(ラサロシドAナトリウム)の使用認可の申請を受けた。

規則(EC) No 1831/2003の第7条(1)に従い、第4条(1)(飼料添加物もしくは飼料用添加物の新た な使用法の認可)に基づく申請書として、委員会は欧州食品安全期間(European Food Safety Authority: EFSA)にこの申請書を転送した。EFSAは申請者から、この申請書の技術的関係 書類を直接受け取った⁷。本規則第8条に従い、EFSAは申請者が提出した詳説や書類を点検 した後、本飼料添加物が第5条に規定された条件を遵守しているか否かを調べる審査を実施 しなければならない。申請書に関連する詳説や書類はEFSAにより2008年7月8日に妥当性が 認められた。

Avatec®150Gは、活性成分ラサロシドAナトリウム(イオノフォア系抗コクシジウム剤)を15% 含む抗コクシジウム飼料添加物である。肥育鶏、産卵鶏およびシチメンチョウのコクシジ ウム症防除に用いられる。Avatec®150G(E 763)は飼育鶏、産卵鶏(認可期限: 2014年8月)およ びシチメンチョウ(認可期限:2020年10月)への使用が認可されている。

動物栄養に関する科学委員会(Scientific Committee on Animal Nutrition:SCAN)は、本製剤の シチメンチョウ(1991年)および肥育鶏(1982年)への使用に関する意見書を発行した。

EFSAは、Avatec[®]150G の再評価に関する2つの意見書(2004年4月15日および2004年7月1日採 択)を理事会指令70/524/EECの第9G条に従って、また、Avatec®150G の新規製剤に関する意 見書(2005年8月8日採択)を規則(EC) No 1831/2003に従って発行した。また、最近EFSAは $Avatec^{®}150G$ のシチメンチョウに対する安全性および有効性に関する意見書(2010年4月7日 採択)を発行した。

⁵ OJ L 268, 18.10.2003, p.29

⁶ Alpharma (Belgium) BVBA. Laarstraat 16, 2610 Antwerp. Belgium

⁷ EFSA Dossier reference: FAD-2008-0001

委託事項(原文、4ページ)

規則(EC) No 1831/2003の第8条に従い、EFSAは本飼料添加物が第5条に規定された条件を遵守しているか否かを調べなければならない。EFSAはAvatec[®]150G製剤(ラサロシドAナトリウム)が表1に示した条件下で使用された場合の対象動物、使用者、消費者および環境に対する安全性と有効性に関する意見書を発行しなければならない。

表1:申請者から提案された本添加物の性状と使用条件

添加物	Avatec®150G
登録番号/ECNo/No	E 763
(該当する場合)	
添加物の分類区分	抗コクシジウム剤および抗ヒストモナス剤
添加物の官能基	該当なし

	性状				
組成、性状	化学式	純度基準	分析方法		
		(該当する場合)	(該当する場合)		
ラサロシドAナト リウム:150g/kg リグニンスルホ ン酸カルシウ ム:40g/kg 酸化鉄:1g/kg 硫酸カルシウム 二水和物:809g/kg	$C_{34}H_{53}NaO_{8}$ Streptomyces lasaliensis(ATCC 31180) により生産される 6-[(3R,4S,5S,7R)-7-[(2S,3S,5S)-5-エチル-5-[(2R,5R,6S)-5-エチル-5-ヒドロキシ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン2-イル]-テトラヒドロ-3-メチル-2-フリル]-4-ヒドロキシ-3,5-ジメチル-6-オキソノニル]-2ヒドロキシ-3-メチルベンゾエートのナトリウム塩	関連不純物: ラサロシドナト リウムB~E: ≤10%	HPLC法		
	CAS番号: 25999-20-6				

商標(該当する場合)	Avatec150 G
認可取得者(該当する場合)	Alpharma Belgium BVBA

使用条件				
動物の種もしくは	動物の種もしくは 最大齢数 最低含有量			休薬期間
分類		完全配合飼料中のmg/kg		(該当する場合)
キジ、ヤマウズラ、ウ				
ズラ、ホロホロチョ	-	75	120	7日
ウ、カモ、ガチョウ				

その他の規定や表示のための追加的要件		
使用における特定条件または制	ウマ科動物種には危険。	
限事項(該当する場合)	本飼料はイオノフォアを含む:特定の薬物との併用は禁	
	忌である。	
取り扱いにおける特定条件また	/	
は制限事項(該当する場合)		
市販後監視(該当する場合)	市販後監視は利用可能な科学技術に従って実施される。	
完全配合飼料への使用における		
特定条件(該当する場合)		

最大残留基準(MRL)(該当する場合)				
松神秘	動物の種もしくは	標的組織もしくは	組織中の	
指標残留物 	分類	食品	最大含有量(μg/kg)	
		肝臓	100	
ラサロシドナトリウム	家禽類	皮膚/脂肪	100	
		腎臓	50	
		筋肉	20	
		印	150	

審査(原文、7ページ)

Avatec[®]150Gは活性成分ラサロシドAナトリウム(以後、ラサロシドナトリウム)を15%含むイオノフォア系抗コクシジウム剤であり、ニワトリとシチメンチョウのコクシジウム症防除に用いられる。なお、*Streptomyces lasaliensis*菌(ATCC 31180)の発酵によって生産される。 Avatec[®]150G(E 763)は規則(EC) No 2037/2005⁸に基づき、肥育鶏と産卵鶏に対する使用が(75~125 mg/kg)2014年まで認可されている。また、16週齢までのシチメンチョウへの使用(90~125 mg/kg)が規則(EC) No 874/2010⁹に基づき2020年10月まで認可されている。

先の意見書で、動物飼料用の添加物および製剤または物質に関するEFSAパネル(Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed: FEEDAP)は、理事会指令70/524/EECの第9G条に従って本製剤を審査した (EFSA, 2004a and EFSA, 2004b)。また、2005年にFEEDAPパネルは規則(EC) No 1831/2003に従って、Avatec®150Gの新規製剤に関する意見書を発行した(EFSA, 2005)。さらに最近、FEEDAPパネルはAvatec®150Gの16週齢までの肥育用シチメンチョウに対する用量75~125 mg/kg complete feedでの安全性および有効性を再審査した(EFSA, 2010)。

現時点の関係書類は、キジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウへのラサロシドナトリウム75~125 mg/kg 飼料および休薬期間7日での抗コクシジウム添加物としての Avatec[®]150Gの使用対象拡大の申請書である。したがって、本意見書は新たな対象種に対する安全性と有効性および消費者安全性への影響に焦点を絞っている。関係書類は元々、カモとガチョウに対する申請も含めたものであったが、これらの種は審査の過程で対象から外されている¹⁰。

2. 特徴づけ(原文、7ページ)

本添加物の特性、活性物質の特徴づけおよび製造過程は既にすっかり記載されている(EFSA, 2005 and 2010)。生産性菌株、重金属(Cd, Pb, As, Hg)および各種有機汚染物質(アフラトキシンB1や有機塩素系農薬など)などの品質管理検査が実施されている。

⁸ OJ L 328, 15.12.2005, p. 21.

⁹ OJ L 3263, 6.10.2010. p. 1.

¹⁰ Supplementary information/December 2010.

2.1. 欧州連合リファレンス検査機関(EURL)による分析方法の評価(原文、7ページ)

EFSAは、動物飼料中の活性物質の管理に用いられる分析方法に関するEURL(欧州連合リファレンス検査機関: European Union Reference Laboratory)レポートの検証をおこなっている。 EURLレポートの要旨を付録に示す。

規則(EC) No 429/2008¹¹に従い、欧州共同体内のMRLが規則(EC) No 470/2009¹²に基づいて既に設定されている場合は、その添加物および代謝物の食品中残留物の分析方法はEURLによる評価を受けないことになっている。

3. 安全性(原文、7ページ)

3.1. 対象種に対する安全性(原文、7ページ)

現申請書は、マイナー種に対するものである(最大推奨用量 ラサロシドナトリウム120 mg/kg complete feed)。マイナー種から生理学的類似性近縁マイナー種への安全性データの外挿は、メジャー種の添加物の安全性マージン(10以上)が広い場合には容認可能である。安全性マージンが狭い場合(肥育鶏では1.2、肥育用シチメンチョウでは調べられていない)、マイナー種における耐性試験が必要とされる。

最も早く現れるポリエーテル系抗コクシジウム剤に対する非耐性の徴候は、飼料摂取量と成長量の低下である。死亡、毒性影響を示す臨床所見および剖検所見は高用量でしか認められない。したがって、FEEDAPパネルはマイナー種におけるラサロシドナトリウムの耐性試験を、畜産学的パラメータのみに絞って実施することを容認した。

3.1.1. キジに対する安全性(原文、8ページ)

申請者が耐性試験として提出した5つの試験は、いずれも過剰摂取用量が投与されなかった ため、耐性試験と見なされなかった^{13,14,15,16,17}。ラサロシドナトリウムに携わるFEEDAPパネ

¹¹ OJ L 133, 22.5.2008, p. 1.

¹² OJ L 152, 16.6.2009, p. 11.

¹³ Technical dossier/Section III/Annex 1.

¹⁴ Technical dossier/Section III/Annex 2.

¹⁵ Technical dossier/Section III/Annex 3.

¹⁶ Technical dossier/Section III/Annex 4.

ルの要請により、実用レベル(120 mg/kg)とその2および3倍の濃度が計128羽のキジ (Blue-Packed Pheasant)の初生雛に42日間投与された6つ目 18 の試験が提出された。17日目に、キジは流行性細菌感染症と診断された(21日目に病原菌は $Salmonella\ pullorum$ と同定された)。重度の微生物感染(対照群の死亡率は31%に達した)と抗生物質治療の実施は試験結果を歪め、この両方の外部要因が全投与群に影響を与えたと考えられる。したがって、キジにおけるラサロシドナトリウムの安全性/耐性に関する結論は導き出すことができなかった。

FEEDAPパネルの求めに応じて、申請者はさらに(GLP対応)安全性試験¹⁹を実施した。180羽の初生雛にラサロシドナトリウム無添加のスターター飼料が与えられた。7日後、無作為に 6羽(5+1(予備)/舎(平均体重45g)が平飼い舎に入れられた。そして、各平飼い舎に、それぞれ 0(7舎)、120(7舎)、180 (8舎)および240 mg /kg(8舎)のラサロシドナトリウムを含むスターター 飼料を与える投与が無作為に実施された。なお、飼料中のラサロシドナトリウム含量が分析により確認され(3バッチ/飼料、2つの研究機関)、平均値(6回分析)が109 (想定120)、152 (想定180)および200 (想定240)mg /kgであった。飼料は35日間自由に摂取させた。試験中に、体重、飼料摂取量および水摂取量が1週間毎に測定され、死亡率と臨床所見が毎日記録され、死廃鳥は剖検に供された。体重、体重増加量、飼料摂取量および水摂取量のデータはANOVAとt-検定が実施された。

全体的に死亡率は低く(180mg群で1羽が死亡、1羽が廃鳥措置)、投与とは関係がなかった。 試験最終日に体重(平均450g)と体重増加量(平均360g)の累積データに投与群間の有意差は認められなかった。しかし、240mg投与群では低体重(対照群の値の95%)の傾向が認められた。 累積飼料摂取量は用量依存性の減少を示し(120、180および240mg投与群でそれぞれ対照群の89、77および70%)、180および240mg投与群では有意性が認められた。累積飼料要求率は、180mg投与群(2.7)および240mg投与群(2.5)で対照群(3.5)よりも有意に低く、120mg投与群(3.1)では対照群と有意差が無かった。

3.1.2. ヤマウズラに対する安全性(原文、8ページ)

3つの試験^{20,21,22}が実施されたが、過剰摂取群の設定が無いという理由で考慮に入れられなかった。

¹⁷ Technical dossier/Section III/Annex 5.

¹⁸ Supplementary information/January 2010/Annex 2.

¹⁹ Supplementary information/December 2010.

²⁰ Technical dossier/Section III/Annex 6

²¹ Technical dossier/Section III/Annex 8

²² Technical dossier/Section III/Annex 9.

4つ目の試験²³が100羽のヤマウズラ(イワシャコ)の初生雛を用いて実施され、各群25羽の4群に分けてラサロシドナトリウム0、125、175および250 mg/kg complete feed(分析により確認)を含む飼料が28日間与えられた。死亡率は低く(2/100羽)、投与とは無関係であった。最終的な体重は投与群間で有意差を示さなかった。剖検時に異常は認められなかった。生データがないため結論を出すには限界があるが、この試験はヤマウズラに対してラサロシドナトリウム125 mg/kg complete feedの安全性を暗示している。

3.1.3. ウズラに対する安全性(原文、9ページ)

3つの試験 24 が提出されたが、過剰摂取群の設定が無いという理由で考慮に入れられなかった。

3.1.4. ホロホロチョウに対する安全性(原文、9ページ)

全600羽のホロホロチョウから336羽を選び、14群(24羽/群)に分けた。15日齢になったところで各個体にEimeria属原虫を感染させ(非感染対照群は除く)、それぞれラサロシドナトリウム0、75、97.5、120、142.5、165および187.5 mg/kg complete feedを含む飼料を与えた 25 。なお、試験期間は10日間であった。不良症状は認められなかったが、試験期間が短かったため本試験の結果は単に傾向として捉えることができる。

FEEDAPパネルの求めに応じて、申請者はホロホロチョウを用いた他の(GLP対応)耐性試験 ²⁶を提出した。180羽の初生雛にラサロシドナトリウム無添加のスターター飼料が与えられた。7日後、無作為に6羽(5+1(予備))/舎(平均体重102g)が平飼い舎に入れられた。そして、各平飼い舎にそれぞれの(7舎)、120(7舎)、180(8舎)および240 mg /kg(8舎)のラサロシドナトリウムを含むスターター飼料を与える投与が無作為に実施された。なお、想定通りの飼料中ラサロシドナトリウム含量であることが分析により確かめられた。飼料は35日間自由に摂取させた。試験中に、体重、飼料摂取量および水摂取量が1週間毎に測定され、死亡率と臨床所見が毎日記録され、死廃鳥は剖検に供された。体重、体重増加量、飼料摂取量および水摂取量のデータはANOVAとt・検定もしくはScheffé検定が実施された。

²³ Technical dossier/Section III/Annex 7.

²⁴ Technical dossier/Section III/Annex 10-12.

²⁵ Technical dossier/Section III/Annex 13.

²⁶ Supplementary information/December 2010.

全体的に死亡率は低く(3/180 羽)、投与とは無関係であった。試験最終日に、体重(平均 1156g) と体重増加量(平均 1054g)、飼料摂取量(値が低かった 180mg 群を除く)と水摂取量の累積データは、投与間の有意差が認められなかった。累積飼料要求率は、120mg 群(2.2)および 180mg 群(2.1)で対照群の値(2.4)と有意差が認められ、240mg 群では対照群と有意差が無かった。

3.1.5. 相互作用/配合禁忌(原文、9ページ)

FEEDAP パネルは、先のラサロシドナトリウムに関する意見に言及した(EFSA, 2004a):

'養鶏に試用されたラサロシドナトリウムとチアムリンの潜在的相互作用に関する提出データは不十分であった。したがって、FEEDAP パネルはラサロシドナトリウムとチアムリンなどの他の特定の薬物との併用投与は避けた方が安全であり、禁忌勧告を現在のまま続けるべきであると考える。'

FEEDAP パネルは、この潜在的相互作用に関する結論を全家禽種に適用拡大する。

3.1.6. 本添加物の微生物学的安全性(原文、9ページ)

新たな試験は提供されなかった。FEEDAP パネルは 2004 年に結論をまとめ(EFSA, 2004a and 2004b)、2010 年にそれを改めて表明した(EFSA, 2010):

'ラサロシドナトリウムはEnterococcus faecium、E.faecalisおよびStaphylococcus spp.,などのグラム陽性細菌に対して $0.06\sim4$ mg/Lの濃度で選択的な抗微生物活性を有するが、多くの腸内細菌類(Enterobacteriaceae)は自然抵抗性である。感受性細菌株に対する発育阻止濃度は飼料中に添加される用量よりも低く、 $in\ vivo$ で得られる濃度と思われる。抵抗性や交差抵抗性の誘導は認められなかった。肥育鶏における $Salmonella\ Typhimurium$ 菌排出の増加が2つの試験で示された。'

3.1.7. 対象種に対するラサロシドナトリウムの安全性に関する結論(原文、10ページ)

キジの耐性試験から、ラサロシドナトリウムは最大推奨用量(120 mg/kg)で安全であると結論付けられる。ラサロシドナトリウムの分析濃度と飼料摂取量から算出された安全性マージンは約1.7である。ヤマウズラの試験は、ラサロシドナトリウム125mg/kgの飼料を与えるこ

との安全性を暗示するにすぎないと考える。ウズラに関しては、妥当性のある試験を審査 することができなかった。しかし、キジ、ヤマウズラおよびウズラは同じキジ科鳥類に属 するため、キジに関する結論がヤマウズラとウズラにも適用拡大される。

最近のホロホロチョウを用いた試験は120mg/kgのラサロシドナトリウムは安全であり、安全性マージンは約2であることを示した。

FEEDAPパネルは、ラサロシドナトリウムの微生物学的安全性に関する先の発言を改めて表明した(EFSA, 2004b, 2010)。

3.2. 消費者に対する安全性(原文、10ページ)

3.2.1. 代謝および残留試験(原文、10ページ)

メジャー種のシチメンチョウに飼料添加物として使用されたラサロシドナトリウムの消費者に対する安全性が立証されている(EFSA, 2010)。この結論は特に規則(EC) No 429/2008²⁷の要件に従った代謝および残留試験に基づいている。ラサロシドナトリウムの代謝および残留物の審査が、マイナー種のキジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウへの使用に関しても提案され、メジャー種からマイナー種に拡大して適用するという技術指針に従って実施されている(EFSA, 2008)。

3.2.1.1. 代謝試験(原文、10ページ)

キジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウに使用するラサロシドナトリウムの最大 推奨濃度(120 mg/kg)は、肥育用シチメンチョウに対する最大推奨濃度(125 mg/kg)と基本的に 変わらないため、残留物試験は必要とされていない。

しかし、キジ²⁸とウズラ²⁹で実施された2つの残留物試験が提出されている。

キジ(雌雄各3羽で6羽/群の4群、1日齢)に130mg/kgのラサロシドナトリウム(Avatec®150G により)を添加した飼料が86日間与えられた。各群は1、5、7および14日の休薬期間を経た後

²⁷ OJ L 133, 22.5.2008, p. 1.

²⁸ Technical dossier/Section III/Annex 5.

²⁹ Technical dossier/Section III/Annex 6.

に食肉処理され、各組織が試料として採取された。ラサロシド残留物はHPLC法により測定され、肝臓、腎臓、筋肉および皮膚/脂肪の定量限界(limit of quantification: LOQ)はそれぞれ0.1、0.05、0.02および0.1 mg/kgであった。その結果、休薬期間1日の1羽(1/6)のみは全組織の残留物がLOQを上回ったが、他のいずれの個体、組織および休薬期間においても、ラサロシド残留物がLOQを下回った。LOQ(最悪ケース)と上記の濃度に基づく平均値(1日後)の計算結果は、肝臓、腎臓、筋肉および皮膚/脂肪でそれぞれ<0.117、<0.068、<0.022および<0.116 mg lasalocid/kg tissueとなった。

屋内飼育のウズラ(供試個体総数は未記載)に90mg/kgのラサロシドナトリウム(Avatec®150Gにより)を添加した飼料が27日間与えられた後、休薬期間が設けられた。0、3、6および9日の休薬期間でそれぞれ6羽が無作為に選ばれ、筋肉と皮膚がラサロシド分析に供された。キジで用いたラサロシド測定と同じ方法が用いられ、筋肉および皮膚/脂肪のLOQはそれぞれ0.02および0.1 mg/kgであった。その結果、測定可能な残留物が検出されたのは休薬期間0日の場合だけであり、その値は筋肉および皮膚/脂肪でそれぞれ0.040±0.018および0.298±0.092 mg/kgであった。

3.2.1.3. 結論(原文、11ページ)

シチメンチョウにおけるラサロシドナトリウムの代謝および残留物に関する結論は、マイナー種のキジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウに外挿することができる。キジとウズラでの追加的残留物試験が、この外挿の妥当性を裏付けている。

3.2.2. 消費者安全性の審査(原文、11ページ)

ラサロシドナトリウムの安全性は既に立証されている(EFSA, 2010)。ラット2年間経口毒性 試験の結果およびウサギ生殖試験における母体毒性から導き出されたNOAEL(0.5 mg/kg体 重/日)に基づき、安全係数を100として、ADIはラサロシドナトリウム0.005 mg/kg 体重(また は0.3 mg/60 kg ヒト/日)と導き出されている。

メジャー種の肥育用シチメンチョウにおける組織中残留物に基づいて設定された休薬期間 1日後の消費者暴露量のADI遵守は、肥育用のキジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウに対しても適用される。 MRLは、既に欧州共同体レベルで規則(EC) No 37/2010³⁰に基づき、家禽類組織(キジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウの組織を含む)に対して、肝臓および皮膚/脂肪 100μg/kg、腎臓50 μg/kg、筋肉20 μg/kgおよび卵150 μg/kgに設定されている。キジとウズラの残留物はシチメンチョウと同程度以下であるため、FEEDAPパネルはキジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウの組織中残留物は休薬期間5日後に同規則によって設定されたMRLに適合すると判断する。

Avatec[®]150G投与鳥の卵中の残留物に関するデータは提供されなかった。 $EMA(CVMP)^{31}$ の卵中ラサロシドナトリウム残留物の審査に従って、'ブロイラー産卵鶏'へのラサロシドナトリウム125 mg/kg 飼料の使用認可に基づき、FEEDAPパネルは以下のように考えている:(i)休薬期間無しで卵100gを消費するだけでADIの約400%を摂取することになる。(ii)卵中のラサロシドナトリウムが $MRL(150 \mu g/kg)$ を下回るようになるには9日を要する。卵の消費を考えると、これでは $Avatec^{\$}150G$ の飼料添加物としての採卵用の鳥への使用は全く不可能である。

3.2.3. 休薬期間に関する提言(原文、11ページ)

FEEDAPパネルは、キジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウに対する休薬期間は5日が適当であると考える。

3.3. 使用者に対する安全性(原文、11ページ)

新たなデータは申請者から提出されていない。活性物質ラサロシドナトリウムを用いた試験に基づいて、FEEDAPパネルは先の意見(EFSA, 2004a and 2005)において以下のように結論付けた:

'ラサロシドナトリウムダストは気道と肺に局所毒性を、他の臓器に全身毒性を引き起こす 可能性を有している。急性経皮毒性は低く、皮膚からの吸収が少ないことを示唆した。ま た、ラサロシドナトリウムは皮膚刺激や皮膚感作を生じなかったが、眼刺激を引き起こし た。'

FEEDAPパネルは2010年に以下のような見解を示した:

-

³⁰ OJ L 15, 20.10.2010, p. 1.

³¹ http://www.ema.europa.eu/pdfs/vet/mrls/Lasalocid sodium(3)(extension to eggs).pdf (2007)

'Avatec®150Gは粒剤化されているため、呼吸経路や眼からの暴露は限られている。幾つかのバッチを分析した結果、平均粒径は約500 μ mであり、106 μ mメッシュの篩(供試した篩の中で最も細かい)を通過できるのは重量比での0.1%だけであった。Avatec®150Gの粉化ポテンシャル(dusting potential)はStauber-Heubach 試験で確認された(EFSA, 2005)。これらのデータから、Avatec®150Gの吸入試験は不要と考えられる。FEEDAPパネルは、Avatec®150Gを扱う使用者/労働者に対するリスクは無いようであると結論付けた(EFSA, 2010)。'

FEEDAPパネルは、現時点の審査結果をこのまま適用し続けることとする。

3.4. 環境に対する安全性(原文、12ページ)

メジャー種での動物栄養用飼料添加物の評価結果(EFSA, 2008)をマイナー種にまで適用拡大するという技術指針により、狩猟鳥に対する環境リスク評価はシチメンチョウへのラサロシドナトリウム使用に関して実施された評価を外挿することができる(EFSA, 2010)。シチメンチョウとマイナー家禽種への使用条件は同じであることから、環境への安全性懸念も特に無いと考えられる。

4. 有効性32(原文、12ページ)

メジャー種での実験証拠により作用機構が周知されている、もしくは示されている添加物の場合、マイナー種でも同じ作用機構が示された試験が1つでもあれば、マイナー種におけるその添加物の有効性を示すのに十分である(EFSA, 2008)。

しかし、他の似たような作用機構を有するポリエーテル系抗コクシジウム剤が狩猟鳥の臨床的重要な*Eimeria*属原虫の総てに対して有効なのではないため³³、コクシジウム症予防への有効性については動物種間で外挿をおこなうことはできない³⁴。

4.1. キジにおける有効性(原文、12ページ)

キジ(Phasianus colchicus)におけるラサロシドナトリウムの有効性を示すために、バタリー、

³² 本章は規則(EC) No 1831/2003 の第8条(6) および第18条の規定に従って編集されている。

³³ Technical dossier/Section IV/Annex 3.

³⁴ Technical dossier/Section IV/Annex 1.

リターおよび野外での試験を含めた10個の試験が提出され、そのうちの1つはEU圏外で実施されたものであった。

EUでの認可のために有効性を示すことを目的とした野外試験はヨーロッパ内で実施されることが望ましく、その他の国々で実施された試験は結論につながる根拠としては弱い。Norton $(1989)^{35}$ は、キジの主要Eimeria属原虫は世界各地で異なるように思われると指摘した。また同氏は、ヨーロッパではEimeria colchici、Eimeria duodenalis およびEimeria phasiani が単独もしくは複合感染によって疾患を引き起こすことを発見した。なお、USAでは、Eimeria teertatooimia Eimeria Ei

4.1.1. バタリー試験(原文、12ページ)

ラサロシドナトリウム(Avatec[®]150G)を含む飼料を与えたキジの産肉成績パラメータを調べて他の抗コクシジウム剤と比較した試験が3つ提出された。

試験 1^{36} は、21日齢のキジ(10羽/群)を用いて6日間実施され、ラサロシドナトリウム $(125 \, \text{mg/kg})$ は、21日齢のキジ(10羽/群)を用いて6日間実施され、ラサロシドナトリウム $(125 \, \text{mg/kg})$ は、212種類の他の抗コクシジウム剤による投与間で比較がおこなわれた。なお、体重増加量が唯一の毒性指標とされた。投与個体には複数のEimeria属原虫 $(Eimeria\ colchici\ be\ Eimeria\ phasiani)$ の胞子形成オーシスト 5×10^5 個/羽が接種された。Eimeria属原虫の接種は非投与群の体重増加量を非感染非投与群と比べて30%低下させた。ラサロシドナトリウム投与は体重増加量の減少を軽減した。

試験 2^{37} は、18日齢のキジ(10羽/群)を用いて6日間実施され、ラサロシドナトリウム(75 mg/kg 飼料)と3種類の他の抗コクシジウム剤投与による投与間で比較がおこなわれた。なお、死亡率が唯一の毒性指標とされた。投与個体には複数のEimeria属原虫(Eimeria phasianiとEimeria duodenalis)の胞子形成オーシスト 10^5 個/羽が接種された。Eimeria属原虫の接種により非投与群では死亡率が100%となり、ラサロシドナトリウム投与群では死亡率が10%にまで低下した。

試験3³⁸は、21日齢のキジ(10羽/群)を用いて15日間実施され、ラサロシドナトリウム(120 mg/kg 飼料)と2種類の他の抗コクシジウム剤投与による投与間で比較がおこなわれた。なお、

³⁵ Technical dossier/Section IV/Annex 2.

³⁶ Technical dossier/Section IV/Annex 7.

³⁷ Technical dossier/Section IV/Annex 8.

³⁸ Technical dossier/Section IV/Annex 9.

体重増加量とオーシスト排泄数が毒性指標とされた。投与個体には複数のEimeria属原虫 (Eimeria teartoonimia、Eimeria phasiani、Eimeria pacificaおよびEimeria duodenalis)の胞子形成 オーシスト1.22×10⁵個/羽以上が接種された。ラサロシドナトリウムの添加はオーシストの 体外排出を減少させ、体重増加量を非感染非投与群と同程度にまで回復させた。

4.1.2. 平飼い試験(原文、13ページ)

提出された試験^{39,40}は、投与期間が短い(7日間だけ)もしくはロタウイルスの感染があったため、いずれも参考にすることができなかった。

4.1.3. 野外試験(原文、13ページ)

提出された3つの試験^{41,42,43}は、認可を受けた抗コクシジウム剤を用いていない、もしくは細菌感染があったため、いずれも参考にすることができなかった。

4.2. ヤマウズラにおける有効性(原文、13ページ)

異なる場所で実施された7つのバタリー試験のうちの2つが、ヤマウズラにおけるラサロシドナトリウムの有効性を示すための参考にすることができた。他の3つの試験は、短期間の用量漸増試験と考えられた。

4.2.1. 用量漸増試験(原文、13ページ)

2つの試験 44 が、96羽のヤマウズラ(試験 1 および試験 2 でそれぞれ 2 Perdix 2 perdix および Alectoris 2 Rufa)を用いて実施された。まず、 2 6群に分け(2 反復/群、 2 8羽/反復)、 3 群には 2 19日 齢のときに 2 Eimeria legionensis(および試験 2 1では他の不特定 2 Eimeria属原虫とともに)のオーシスト 1 10%個が人為接種された。飼料は 2 0、 2 90もしくは 2 120 mg/kg 飼料のラサロシドナトリウム

³⁹ Technical dossier/Section IV/Annex 10.

⁴⁰ Technical dossier/Section IV/Annex 27.

⁴¹ Technical dossier/Section IV/Annex 11.

⁴² Technical dossier/Section IV/Annex 17.

⁴³ Technical dossier/Section IV/Annex 26.

⁴⁴ Technical dossier/Section IV/Annex 12.

がAvatec® 15% CC(分析により確認)により添加され、10日間連続して投与された。いずれの試験も(i)Eimeria属原虫の接種により非投与群の死亡率は100%になったが、ラサロシドナトリウム投与群では死亡率が0%にまで減少した、(ii)腸内病変スコアは2つの感染投与群において低かった、(iii)ラサロシドナトリウム投与は感染による体重増加量の低下を完全に抑えることはできなかった(90および120mg/kg投与感染群の体重は、試験1ではそれぞれ非感染群の70および72%、試験2では60および68%であった)。

試験 3^{45} は、125羽のヤマウズラ(イワシャコ: Alectoris chukar)を用いて実施された。まず、5 群(5反復/群、5羽/反復)に分け、0、75、100もしくは125 mg/kg 飼料のラサロシドナトリウムがAvatec® 15 % CC(分析により確認)により添加された飼料が与えられた。21日目に、4 群に対してEimeria kofoidiおよびEimeria legionensisを3:1の比率で混ぜて 3×10^5 、 3.5×10^5 、 4×10^5 および 7.5×10^5 個の胞子形成オーシストが接種された。なお、試験は7日間続けられた。少量接種 $(3\times10^5$ および 3.5×10^5 個)では非投与対照群でも死亡個体が認められなかった。一方、多量接種 $(4\times10^5$ および 7.5×10^5 個)では非投与群で死亡率が100%に達したが、ラサロシドナトリウム投与により用量依存的に死亡率は減少した(44、28および4%)。75mg/kg投与群(4×10^5 個接種以外)でさえ、体重増加量の低下および腸内病変スコアはラサロシドナトリウム投与により有意に軽減された。

4.2.2. バタリー試験(原文、14ページ)

試験1⁴⁶は、178羽のヤマウズラ(アカアシイワシャコ)に複数種のEimeria属原虫を混ぜた胞子形成オーシストを人為接種して実施された。飼料には0もしくは108 mg/kg 飼料のラサロシドナトリウムが添加された(分析により確認)。死亡個体は認められなかった。ラサロシドナトリウムの添加は、腸内病変スコアを有意に低下させたが(接種7日後に6羽/群)、オーシスト排泄数には影響を与えなかった。Eimeria属原虫の感染は試験終了時および感染6日後の体重に影響を与えなかった。

試験2⁴⁷は、90羽のヤマウズラ(アカアシイワシャコ)に複数種のEimeria属原虫を混ぜた胞子形成オーシストを接種して実施された。飼料には0もしくは108 mg/kg 飼料のラサロシドナトリウムが添加された(分析により確認)。Eimeria属原虫の感染は体重を有意に減少させたが、ラサロシドナトリウム投与により軽減された。ラサロシドナトリウム投与はオーシストの体外排出数を減少させたが、盲腸の病変スコアは改善しなかった。

⁴⁵ Technical dossier/Section IV/Annex 13.

⁴⁶ Technical dossier/Section IV/Annex 28.

⁴⁷ Technical dossier/Section IV/Annex 29.

4.3. ウズラにおける有効性(原文 、14ページ)

ウズラ(*Coturnix coturnix*)におけるラサロシドナトリウムの有効性に関する3つのバタリー試験が報告された。そのうちの2つの試験^{48,49}は、コクシジウム感染(コクシジウム感染攻撃が実施されなかった)に関連した毒性指標が何も記録されなかったため、参考にすることができなかった。

試験1⁵⁰は1991年にEU圏外で、16週齢の採卵用ニホンウズラ2系統(白色系および赤色系)を5群(4反復/群、15羽/反復(雄5羽と雌10羽))に分けて実施された。なお、試験は14日間続けられた。供試されたウズラは、試験開始前にコクシジウム症の症状、体重の減少、産卵数の減少および数羽の死亡が認められた。1群を非投与群として残し、その他には75mg/kg 飼料のラサロシドナトリウム(Avatec® 15% CC)を含む飼料を与えた。ラサロシドナトリウム投与群では死亡率が低く、体重増加が改善されるとともにオーシスト体外排出量が減少した。産卵数は、ラサロシドナトリウム投与群において投与後1週間で非投与群と比べて有意に減少したが、その後は増加した。添加物の抗コクシジウム効果は主にEimeria属原虫の種に依存し、宿主(肥育もしくは採卵用家禽類)の生理的状態とは無関係であるため、本試験結果の有効性に関する結論は試験日数が十分経過した場合(>14日)でないと引き出せかった。本試験では、ラサロシドナトリウム75 mg/kg 飼料での初期の抗コクシジウム効果の評価しかできない。

4.4. ホロホロチョウにおける有効性(原文、14ページ)

ホロホロチョウ(*Numida meleagris*)で125 mg/kg 飼料のラサロシドナトリウム(Avatec® 150Gより)を用いて最近実施された2つの試験が提出された 51 。

平飼い試験では、全部で246羽の1日齢のホロホロチョウが2つの投与群(10反復/群、12~15 羽/反復)に分けられた。そして、非投与対照群がラサロシドナトリウム投与群と70日間比較された。なお、想定通りのラサロシドナトリウム濃度であることが分析によって確かめられた。また、2日目だけはコクシジウム症の多発が報告された営利農場から取り寄せたリター上で飼育した。このリターは、Eimeria greineriおよびその他の不特定Eimeria属原虫のオ

⁴⁸ Technical dossier/Section IV/Annex 22.

⁴⁹ Technical dossier/Section IV/Annex 21.

⁵⁰ Technical dossier/Section IV/Annex 16.

⁵¹ Supplementary information/January 2010/Annex IV.

ーシストを含んでいた。毒性指標は、1日飼料摂取量、体重増加量、飼料要求率、死亡率およびオーシスト体外排出量とされた。その結果、ラサロシドナトリウム投与は1日体重増加量と飼料要求率を有意に改善し、18、21、25、35および70日目のオーシスト体外排出量(Eimeria greineriに限る)を低下させたが、28および56日目は改善されなかった。死亡率は、いずれの投与群も低かった(3.8および2.8%)。

野外試験では、総計5500羽の1日齢のホロホロチョウにラサロシドナトリウム添加および無添加飼料が70日間与えられた。農場からの背景データは、*Eimeria greineri*およびその他の不特定*Eimeria*属原虫の自然感染の流行を示していた。ラサロシドナトリウム投与(125 mg/kg、分析により確認)は、オーシストの体外排出を56日齢まで減少させた。

4.5. 有効性に関する結論(原文、15ページ)

FEEDAPパネルは、メジャー種に認められたのと同等のコクシジウム症予防/抗コクシジウム作用を1つの論文に示すことを求めている。論文に示すべき対象と内容は:

- ・肥育用のキジ:キジに感染する一般的な*Eimeria*属原虫を用いたラサロシドナトリウム75~125mg/kg 飼料での3つのバタリー試験の結果。
- ・肥育用ヤマウズラ:ヤマウズラに感染する一般的な*Eimeria*属原虫を用いたラサロシドナトリウム108 mg/kg 飼料での2つのバタリー試験の結果。なお、3つの短期間用量漸増試験は75~125 mg/kgのラサロシドナトリウムが有効であることを示唆した。
- ・肥育用ウズラ:採卵用ウズラを用いたバタリー試験は試験期間が短く、ラサロシドナトリウム75 mg/kg 飼料での初期の抗コクシジウム効果しか評価できないため、限定的に。
- ・肥育用ホロホロチョウ:ホロホロチョウに感染する一般的なEimeria 属原虫を用いたラサロシドナトリウム125mg/kg 飼料での平飼い試験および野外試験の結果。この試験結果は野外観察により裏付けられた。
- (i)ラサロシドナトリウムの抗コクシジウム効果が75 mg/kgで示された肥育用のニワトリおよびシチメンチョウ体内の多く*Eimeria*属原虫株、および(ii)ヤマウズラにおける*Eimeria legionensisとEimeria kofoidii*に対する有効用量と、キジにおける*Eimeria colchicii、Eimeria phasian*および*Eimeria duodenalis*に対する有効用量が同じことを示す実験証拠があることに関し、FEEDAPパネルはホロホロチョウに感染する一般的な*Eimeria*属原虫(*Eimeria greineri*)

に対しても同じ用量が有効であるようだと考えている。最終的にFEEDAPパネルは、4つのマイナー家禽種全部に対するラサロシドナトリウムの抗コクシジウム有効用量は75~125 mg/kg 飼料と考えられると結論付けた。なお、申請者が申請した用量(75~120 mg/kg)はこの有効用量の範囲内であった。

5. 市販後監視(原文、15ページ)

Avatec[®] 150Gの使用が関係する特定のリスクは確認できなかった。市販後監視計画に対する要件は、飼料衛生規則(Feed Hygiene Regulation)⁵²と適正製造基準(Good Manufacturing Practice.)に定められた要件以外は特に必要ないと考えられる。

結論および提言(原文、15ページ)

結論(原文、15ページ)

キジとホロホロチョウの耐性試験で提供されたデータに基づき、FEEDAPパネルはラサロシドナトリウム120 mg/kg complete feedはこれらの種に対して安全であると判断する。安全性マージンはキジに対しては1.7、ホロホロチョウに対しては2と推定される。キジ、ヤマウズラおよびウズラは同じキジ科鳥類に属するため、FEEDAPパネルはラサロシドナトリウム120 mg/kg 飼料の安全性に関する結論をキジからヤマウズラおよびウズラにまで適用拡大する。

用法が似ていることと種間の生理学的類似性から、ニワトリとシチメンチョウに共通する 代謝および残留状態を家禽類のマイナー種に外挿することができる。キジとウズラでの追 加的残留物試験が、この外挿の妥当性を裏付けている。

家禽組織に対するMRLを遵守するには、5日の休期間が必要とされる(但し、卵は例外として休薬期間はこれよりも大幅に長くなると推定される)。

FEEDAPパネルは、Avatec[®]150Gが本添加物を扱う使用者/労働者にリスクをもたらす可能性はなさそうであるとの先の結論を改めて表明する。

-

⁵² OJ L 35, 8.2.2005, p. 1.

マイナー家禽種における最大推奨飼料中濃度でのAvatec®150Gの使用が環境にリスクをもたらすとは考えられない。

FEEDAPパネルは申請中の4つのマイナー家禽種全部に対して抗コクシジウム有効用量はラサロシドナトリウム75~125 mg/kg 飼料であると判断する。

提言(原文、16ページ)

FEEDAPパネルは、マイナー家禽種におけるラサロシドナトリウムの飼料添加物としての利用は肥育用のキジ、ヤマウズラ、ウズラおよびホロホロチョウに限定することを提言する。

ラサロシドナトリウムは、ウマ科動物種には危険である可能性があり、全家禽類において 特定の薬物との併用は禁忌である。

FEEDAPパネルは、活性物質が抗微生物作用を示す場合はその添加物に対する細菌の抵抗性を監視するための野外試験が提供されるべきであると述べている。動物のラサロシドナトリウム抵抗性は、各国の既存の抗菌剤抵抗性監視プログラムでは監視されていない。

キジ、ヤマウズラ、ウズラもしくはホロホロチョウにおける*Eimeria*属原虫のラサロシドナトリウム抵抗性の野外監視は、できれば認可期間の後半で実施されるべきである。

EFSAに提供された文書類

- 1. Avatec[®]150G(ラサロシドナトリウム)。2007年12月。Alpharma BVBA社提出。
- 2. 欧州連合の飼料添加物に関するリファレンスラボラトリーによるAvatec®150Gの分析方法についての評価報告書
- 3. Avatec[®]150G(ラサロシドナトリウム)。捕捉情報。2010年1月。Alpharma BVBA社提出。
- 4. Avatec[®]150G(ラサロシドナトリウム)。捕捉情報。2010年12月。Alpharma BVBA社提出。
- 5. ScienceNet経由で受け取った加盟国からの意見。

付録(原文、18ページ)

欧州連合の飼料添加物に関するリファレンスラボラトリーによるAvatec®150Gの分析方法についての評価報告書の要旨(原文、18ページ)

Avatec® 150G(ラサロシドAナトリウム15g/100g)は、規則(EC) No 2037/2005によって飼料添加物として、規則(EC) No 1831/2003 の付則Iの分類体系に従い'抗コクシジウム剤'の分類区分で既に認可された製品である。Avatec® 150Gの活性物質はラサロシドAナトリウムであり、提案された本化合物の完全配合飼料中の含有量は、最小含有量75 mg/kgおよび最大含有量120 mg/kgであった。

規則(EC) No 1831/2003の第4条(1)に従って提出された現在の申請書では、他の動物、すなわちキジ、ヤマウズラ、ウズラ、ホロホロチョウ、カモおよびダチョウへのAvatec®150G使用の拡大が求められている。

*飼料添加物*中の活性物質(ラサロシドAナトリウム)の測定に、申請者は波長304 nmで測定する紫外線(UV)検出器を備えた逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法を提案した。各剤型で推定された性能特性は容認可能と考えられ、百分率表示で取得された相対的中間標準偏差は1.5%未満であり、相対回収率は100%であった。公的規制・管理にはこの方法が適切と考えられる。

ア混合物および飼料中のラサロシドAナトリウムの測定に、申請者はHPLC法を提案した。この方法は、飼料添加物中の活性物質の測定に用いられる方法と酷似している。本方法の単一試験室による妥当性確認(single-laboratory validation)がおこなわれ、容認可能な性能プロファイルが示された。公的規制には、CRLは委員会指令1999/76/ECに示されたラサロシドAナトリウム測定のための欧州共同体方式を取り入れることを推奨する。この方法は、励起波長310nmでの蛍光分光分析と組み合わせた逆相HPLC法により、波長419nmにて測定する方法である。なお、この方法は申請書に記された目標水準に極めて近い濃度の予混合物および飼料で完全に共同試験による妥当性確認(ring trial validation)がなされている。百分率表示で取得された併行精度の相対的標準偏差は2.12~5.37%であり、室内再現精度の相対的標準偏差は5.03~10.7%であった。なお、これらはいずれも試験で用いられた基質と濃度レベルに依存して変動した。

これ以上の試験や妥当性確認は不要と考えられる。

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	acceptable daily intake	一日摂取許容量
CAS	Chemical Abstract Service	ケミカルアブストラクトサービス
CRL	The Community Reference Laboratory	(EU) 参照研究所
EURL	European Union Reference Laboratory	欧州連合リファレンス検査機関
EFSA	European Food Safety Authority	欧州食品安全機関
FEEDAP	The Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed	動物飼料添加物及び飼料製品パネル
GLP	Good Laboratory Practice	試験実施適正基準
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
LOQ	limit of quantification	定量限界
MRL	maximum residue limit	最大残留基準値
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量