

平成 28 年 9 月 21 日

食品安全委員会

委員長 佐藤 洋 殿

肥料・飼料等専門調査会 座長 今井 俊夫

動物用医薬品に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

平成 23 年 1 月 20 日付け厚生労働省発食安 0120 第 13 号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたスピラマイシンに係る食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。

別添

動物用医薬品評価書

スピラマイシン

2016年9月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目 次

	頁
○ 審議の経緯	4
○ 食品安全委員会委員名簿	4
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	4
○ 要 約	5
I. 評価対象動物用医薬品の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	7
5. 分子量	7
6. 構造式	7
7. 使用目的及び使用状況	8
II. 安全性に係る知見の概要	9
1. 薬物動態試験	9
(1) 薬物動態試験（ラット）	9
(2) 薬物動態試験（モルモット）	9
(3) 薬物動態試験（牛）	10
(4) 薬物動態試験（豚）	11
(5) 薬物動態試験（鶏）	13
(6) 薬物動態試験（ぶり）	15
(7) ヒト	16
2. 残留試験	16
(1) 残留試験（牛）	16
(2) 残留試験（乳汁）	18
(3) 残留試験（豚）	18
(4) 残留試験（鶏）	21
(5) 残留試験（鶏卵）	22
(6) 残留試験（ぶり）	25
3. 遺伝毒性試験	26
4. 急性毒性試験	27
(1) 急性毒性試験（実験動物）	27
(2) 急性毒性試験（ぶり）＜参考資料＞	28
5. 亜急性毒性試験	29
(1) 4週間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料＞	29
(2) 32日間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料＞	29

(3) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	29
(4) 8~10 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	29
(5) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)	30
(6) 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ) ①<参考資料>	31
(7) 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ) ②<参考資料>	31
(8) 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ) ③<参考資料>	31
(9) 56 日間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	32
(10) 28 週間亜急性毒性試験 (イヌ)	32
(11) 5 日間反復投与試験 (サル) <参考資料>	33
(12) 10 日間反復投与試験 (ぶり) ①<参考資料>	33
(13) 10 日間反復投与試験 (ぶり) ②<参考資料>	33
6. 慢性毒性及び発がん性試験	34
(1) 1 年間慢性毒性試験 (ラット)	34
(2) 2 年間慢性毒性試験 (イヌ)	34
(3) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	35
7. 生殖発生毒性試験	36
(1) 生殖毒性試験 (マウス)	36
(2) 生殖毒性試験 (ラット) <参考資料>	36
(3) 発生毒性試験 (ラット) <参考資料>	36
(4) 発生毒性試験 (マウス、ラット及びウサギ) <参考資料>	37
(5) 発生毒性試験 (ウサギ) ①	37
(6) 発生毒性試験 (ウサギ) ②<参考資料>	37
8. その他の毒性試験	38
(1) 皮膚感作性試験 (モルモット)	38
9. ヒトにおける知見	38
10. 一般薬理試験	38
(1) 中枢神経に対する作用	38
(2) 末梢作用	39
(3) 酵素に対する影響	39
11. 微生物学的影響に関する試験	39
(1) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ①	39
(2) ヒト大腸内嫌気性細菌叢分離菌に対する MIC	40
(3) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC②	40
(4) 5 日間経口投与試験 (ヒト)	40
(5) 無菌マウスを用いた <i>in vivo</i> 試験	40
III. 国際機関等の評価	41
1. JECFA における評価	41
2. EMEA における評価	42

IV. 食品健康影響評価	42
1. 毒性学的 ADI について	42
2. 微生物学的 ADI について	43
3. ADI の設定について.....	43
▪ 表 40 JECFA における各種試験の無毒性量等	44
▪ 別紙 1：代謝物略称.....	47
▪ 別紙 2：検査値等略称.....	48
▪ 参照	49

〈審議の経緯〉

2011 年 1 月 24 日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安 0120 第 13 号）、関係資料の接受

2011 年 1 月 27 日 第 364 回食品安全委員会（要請事項説明）

2014 年 9 月 24 日 第 93 回肥料・飼料等専門調査会

2016 年 8 月 9 日 第 618 回食品安全委員会（報告）

2016 年 8 月 10 日 から 9 月 8 日まで 国民からの意見・情報の募集

2016 年 9 月 21 日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2012 年 6 月 30 日まで)	(2015 年 6 月 30 日まで)	(2015 年 7 月 1 日から)
小泉 直子（委員長）	熊谷 進（委員長*）	佐藤 洋（委員長）
熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理*）	山添 康（委員長代理）
長尾 拓	山添 康（委員長代理*）	熊谷 進
野村 一正	三森 国敏（委員長代理*）	吉田 緑
畑江 敬子	石井 克枝	石井 克枝
廣瀬 雅雄	上安平 冽子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

* : 2011 年 1 月 13 日から * : 2012 年 7 月 2 日から

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2015 年 9 月 30 日まで)	(2015 年 10 月 1 日から)
津田 修治（座長*）	今井 俊夫（座長*）
今井 俊夫（座長代理*）	山中 典子（座長代理*）
荒川 宜親 戸塚 恭一	荒川 宜親 高橋 和彦
池 康嘉 中山 裕之	石原 加奈子 戸塚 恭一
石原 加奈子 細川 正清	今田 千秋 中山 裕之
今田 千秋 宮島 敦子	植田 富貴子 細川 正清
桑形 麻樹子 宮本 亨	桑形 麻樹子 宮島 敦子
小林 健一 山田 雅巳	小林 健一 宮本 亨
下位 香代子 山中 典子	下位 香代子 山田 雅巳
高橋 和彦 吉田 敏則	管井 基行 吉田 敏則

* : 2013 年 10 月 10 日から * : 2015 年 10 月 28 日から

〈第 93 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

要 約

マクロライド系抗生物質である「スピラマイシン」(CAS No. 8025-81-8)について、JECFA の評価書、製剤承認時の薬事資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、薬物動態(ラット、モルモット、牛、豚、鶏、ぶりとヒト)、残留(牛、豚、鶏及びぶりとヒト)、遺伝毒性、急性毒性(マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌ及び七面鳥)、亜急性毒性(ラット及びイヌ)、慢性毒性及び発がん性(ラット及びイヌ)、生殖発生毒性(マウス及びウサギ)、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

スピラマイシンについては、各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られていることから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられ、毒性学的 ADI を設定することは可能と考えられた。また、発がん性はみられなかった。

毒性試験の成績に基づき、毒性学的 ADI を次のように推定した。各種毒性試験のうち何らかの毒性影響が認められた試験の最小の NOAEL は、イヌを用いた 28 週間亜急性毒性試験における 60 mg/kg 体重/日であったが、当該試験よりも長期試験であるイヌを用いた 2 年間慢性毒性試験の成績があり、当該試験における NOAEL 75 mg/kg 体重/日を用いることのほうが適当と考えられた。この NOAEL 75 mg/kg 体重/日に、安全係数として 1,000 (種差及び個体差 100、追加の安全係数として 10) を用いると、毒性学的 ADI は 0.075 mg/kg 体重/日と推定された。

微生物学的 ADI は、0.025 mg/kg 体重/日と算出された。

毒性学的 ADI の推定値が微生物学的 ADI よりも高い値であることから、ADI としては微生物学的 ADI を採用することが適切と考えられ、このことは JECFA の評価と同様であった。

以上から、スピラマイシンの ADI を 0.025 mg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：スピラマイシン

英名：Spiramycin

3. 化学名

スピラマイシン¹

CAS (No. 8025-81-8)

スピラマイシン I

IUPAC

英名：2-[(4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[(2S,3R,4R,5S,6R)-5-[(2S,4R,5S,6S)-4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl]oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-10-[(5S,6R)-5-(dimethylamino)-6-methyloxan-2-yl]oxy-4-hydroxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-2-oxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl]acetaldehyde

CAS (No. 24916-50-5)

スピラマイシン II

IUPAC

英名：[(4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[(2S,3R,4R,5S,6R)-5-[(2S,4R,5S,6S)-4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl]oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-10-[(2R,5S,6S)-5-(dimethylamino)-6-methyloxan-2-yl]oxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-2-oxo-7-(2-oxoethyl)-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-4-yl] acetate

CAS (No. 24916-51-6)

スピラマイシン III

IUPAC

英名：[(4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[(2S,3R,4R,5S,6R)-5-[(2S,4R,5S,6S)-4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl]oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-10-[(2R,5S,6S)-5-(dimethylamino)-6-methyloxan-2-yl]oxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-2-oxo-7-(2-oxoethyl)-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-4-yl] propanoate

CAS (No. 24916-52-7)

¹ スピラマイシン I、II 及び III の混合物。

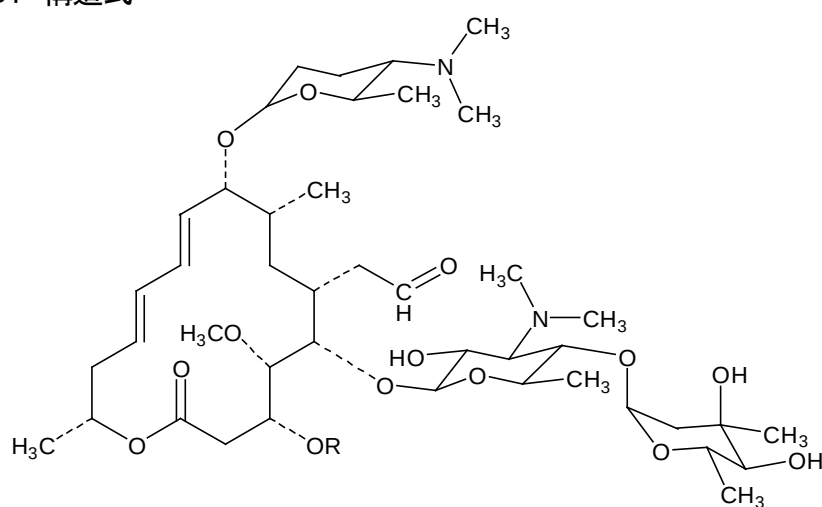
4. 分子式

スピラマイシン I	$C_{43}H_{74}N_2O_{14}$
スピラマイシン II	$C_{45}H_{76}N_2O_{15}$
スピラマイシン III	$C_{46}H_{78}N_2O_{15}$

5. 分子量

スピラマイシン I	843.07	
スピラマイシン II	885.10	
スピラマイシン III	899.13	(参照 1)

6. 構造式



Spiramycin I	R = H
Spiramycin II	R = COCH ₃
Spiramycin III	R = COCH ₂ CH ₃

(参照 1)

(参考)

アジピン酸スピラマイシン

1. 一般名

和名：アジピン酸スピラマイシン

英名：Spiramycin Adipate

2. 化学名

IUPAC (スピラマイシン I のアジピン酸塩として)

英名：2-[(4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[(2S,3R,4R,5S,6R)-5-[(2S,4R,5S,6S)-4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl]oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-10-[(5S,6R)-5-(dimethylamino)-6-methyloxan-2-yl]oxy-4-hydroxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-2-oxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl]

acetaldehyde;hexanedioic acid
CAS (No. 68880-55-7)

3. 分子式 : $C_{49}H_{84}N_2O_{18}$ (スピラマイシン I のアジピン酸塩として)

4. 分子量 : 989.19 (スピラマイシン I のアジピン酸塩として)

エンボン酸スピラマイシン

1. 一般名

和名 : エンボン酸スピラマイシン

英名 : Spiramycin Embonate

2. 化学名

IUPAC (スピラマイシン I のエンボン酸塩として)

英名 : 2-[(4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[(2S,3R,4R,5S,6R)-5-[(2S,4R,5S,6S)-4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl]oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-10-[(2S,5S,6R)-5-(dimethylamino)-6-methyloxan-2-yl]oxy-4-hydroxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-2-oxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl]acetaldehyde;4-[(3-carboxy-2-hydroxynaphthalen-1-yl)methyl]-3-hydroxynaphthalene-2-carboxylic acid

CAS (No. 67724-08-7)

3. 分子式 : $C_{66}H_{90}N_2O_{20}$ (スピラマイシン I のエンボン酸塩として)

4. 分子量 : 1231.42 (スピラマイシン I のエンボン酸塩として)

7. 使用目的及び使用状況

スピラマイシンは *Streptomyces ambofaciens* が産生するマクロライド系の抗生物質で、スピラマイシン I、II 及び III の 3 物質の混合物である。スピラマイシンは、ブドウ球菌、レンサ球菌、コリネバクテリウム及びクロストリジウムに対しては静菌的な作用を示す。大腸菌及び緑膿菌に対してはほとんど抗菌活性を示さない。スピラマイシンの静菌作用は、休薬後も持続するという特性がある。スピラマイシンの作用機序は、50S リボソームとの結合による細菌のタンパク質合成阻害である。

スピラマイシンは、ヒト又は動物用医薬品として使用される。

海外では、動物用医薬品として、牛では肺炎、腸炎、乳房炎等の治療及び予防に、豚では肺炎、発咳、感染性胃腸炎等の治療及び予防に用いられている。(参照 2)

日本では、ヒト用医薬品として、アセチルスピラマイシンを有効成分とする製剤(錠剤)が肺炎、表在性皮膚感染症等を適応症として承認されている。動物用医薬品として、すずき目魚類を対象としたエンボン酸スピラマイシンを有効成分とする飼料添加剤が

承認されている。(参照 3、4)

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値²が設定されている。(参照 5)

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA の評価書等を基に、スピラマイシンの毒性に関する主な知見を整理した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験 (ラット)

① 単回経口投与試験

ラット (系統、性別及び匹数不明、平均体重 200 g) にスピラマイシンを単回強制経口投与 (500 mg(力価)/kg 体重) し、経時的に血液及び組織中濃度を *Micrococcus luteus* ATCC 9341³を試験菌とするバイオアッセイ⁴により測定した。

結果を表 1 に示した。

血中濃度は、投与 1 時間後に最も高く (6.5 µg(力価)/mL)、投与 10 時間後以降は痕跡が認められるのみであった。組織中濃度は、投与 5 又は 10 時間後に最高濃度を示し、投与 20 時間後にも 39~224 µg(力価)/g を維持した。(参照 6、7)

表 1 ラットにおけるスピラマイシン単回経口投与後の血液及び組織中濃度 (µg(力価)/mL 又は µg(力価)/g)

試料	投与後経過時間 (h)				
	1	3	5	10	20
血液	6.5	5.4	3.4	痕跡	痕跡
肝臓	75	120	143	302	224
肺	52	98	126	70	67
脾臓	72	91	116	89	86
腎臓	21	48	71	62	39

② 反復経口投与試験

ラット (系統、性別及び匹数不明) にスピラマイシンを 6 日間経口投与 (150 又は 400 mg/kg 体重/日) した。投与後、スピラマイシンは骨中に高濃度 (40 及び 50 µg/g) が検出され、その後 24 日間以上かけて減少した。(参照 8)

(2) 薬物動態試験 (モルモット)

モルモットにスピラマイシンを単回筋肉内投与 (50 mg/kg 体重) した。投与 1 日後に、比較的高い濃度 (23~70 µg/g) が血液、心臓、肝臓、肺、脾臓及び腎臓中にみ

² 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値 (参照 5)

³ 現在の菌名は、*Kocuria rhizophila* である。

⁴ 以下、バイオアッセイは *Micrococcus luteus* ATCC 9341 株を試験菌としている。

られ、組織中濃度は投与後 4 日間比較的高い濃度（20～58 µg/g）であった。（参照 8）

（3）薬物動態試験（牛）

① 代謝

a 代謝物と濃度

牛では、代謝物として脱ミカロース体（ネオスピラマイシン）が生成した。筋肉と腎臓中の脱ミカロース体の濃度は、投与 14～28 日後（投与経路不明）においてスピラマイシン濃度より僅かに高く、筋肉ではスピラマイシンと脱ミカロース体の濃度はほとんど同様であった。（参照 8）

b 静脈内投与試験

牛（品種、性別及び頭数不明）にスピラマイシンを静脈内投与し、同一の血漿をバイオアッセイ及び HPLC で測定した。バイオアッセイと HPLC から算出した薬物濃度曲線下面積を比較した結果、比率は約 1.2 : 1 と推定され、血漿中に抗菌活性を有する代謝物が存在することが示された。投与 96 時間後までは約 70%の抗菌活性がスピラマイシンによるものであると考えられた。（参照 9）

c 筋肉内投与試験

牛（品種、性別及び頭数不明）にスピラマイシンを 48 時間間隔で 2 回筋肉内投与（100,000 IU/kg 体重(約 32 mg(力価)/kg 体重⁵⁾）し、組織中濃度を測定した。微生物学的抗菌活性をバイオアッセイにより測定し、スピラマイシン及び脱ミカロース体の濃度は HPLC で測定した。同一試料の濃度の比較を表 2 に示した。

表 2 牛におけるスピラマイシン 2 回筋肉内投与後の組織中残留濃度（ng/g）

試料	測定方法	最終投与後経過日数（日）			
		14	21	28	35
肝臓	HPLC ^a	480	300	140	<120
	バイオアッセイ	718	220	151	118
	比率 (%) ^b	67	100	93	100
腎臓	HPLC	470	170	<50	<30
	バイオアッセイ	742	172	85	48
	比率 (%)	63	99	59	62
筋肉	HPLC	90	<60	<30	<30
	バイオアッセイ	66	53	<25	27
	比率 (%)	100	100	100	100
脂肪	HPLC			<30	50
	バイオアッセイ			85	69
	比率 (%)			35	72

⁵ IU の換算は、WHO の標準力価「3,200 IU/mg」に基づいている。（参照 11）

n=3

a : HPLC の測定値は、スピラマイシン及び脱ミカロース体の残留濃度の合計を示す。

b : HPLC で得られた残留濃度/バイオアッセイで得られた残留濃度×100

2 方法による組織中濃度の比較から、スピラマイシン及び脱ミカロース体が牛の組織における抗菌活性を有する総残留の大部分を占めることが示された。筋肉では、スピラマイシン及び脱ミカロース体のみが検出可能な残留物であった。肝臓では、最終投与 21 日以降にはスピラマイシン及び脱ミカロース体が、抗菌活性を有する残留物の 93%以上を占めることが示された。腎臓では、その結果にばらつきがあり、スピラマイシン及び脱ミカロース体の比率は抗菌活性を有する代謝物の 60~100% の範囲であった。脂肪の測定値は最終投与 28 及び 35 日後の限定的なもので、それぞれ 35 及び 72%であった。肝臓及び腎臓中の少量の未知の代謝物は、L-システインが脱ミカロース体に付加されることにより極性代謝物へ代謝されることによるものと考えられた。(参照 9、10)

② 排泄

牛（品種及び頭数不明）にスピラマイシンを筋肉内又は皮下投与した場合、スピラマイシンは乳汁中に排泄された。(参照 8)

(4) 薬物動態試験（豚）

① 分布

a 混餌投与試験

豚（品種、性別及び頭数不明）にエンボン酸スピラマイシンを 7 日間混餌投与（16 mg/kg 体重/日）した。最終投与 12 時間後の肝臓及び腎臓中濃度はそれぞれ 4~7.5 及び 7~12 µg/g であった。筋肉及び脂肪中濃度は低かった（それぞれ 0.12 及び <0.1 µg/g）。最終投与 3 日後までに腎臓及び肝臓中濃度は著しく低下（1~2 µg/g）し、筋肉及び脂肪では 0.1 µg/g 未満となった。最終投与 10 日後には、腎臓及び肝臓中濃度はそれぞれ 0.3 µg/g 未満及び 0.15 µg/g 未満となった。25 mg/kg 体重/日の用量で同様の投与試験を実施した結果、ほぼ同じ結果が得られた。(参照 8)

② 代謝

a 代謝物

エンボン酸スピラマイシンを用いて豚の代謝試験を実施し、豚の肝臓における極性代謝物を同定した。最初に *in vitro* 試験を実施し、主要な代謝変化を解明した。その結果から、豚の肝臓中に比較的大量に存在する L-システインが環状の高分子アルデヒドと反応し、チアゾリジンカルボン酸になることが示された。追加の試験によって、このアルデヒド部分が修飾されているスピラマイシン誘導体はこの代謝変化を受けないことが示された。

豚（品種、性別及び頭数不明）にスピラマイシンを 7 日間経口投与（50 mg/kg 体重/日）した試験で、HPLC（検出限界 0.2 µg/g）によって以下の 6 種のスピラマイ

シン代謝物が検出された。(表 3) (参照 9、10)

表 3 豚におけるスピラマイシン 7 日間経口投与後の代謝物

スピラマイシン代謝物	濃度 (μg/g)
スピラマイシン I	0.2
スピラマイシン III	0.2
代謝物 A	6.4
代謝物 B	4.1
代謝物 C	1.2
代謝物 D	1.0
総スピラマイシン残留	13.1

b 7 日間混餌投与試験

豚 (品種不明、体重 15~18 kg、去勢雄、4 頭/時点) にエンボン酸スピラマイシンを 7 日間混餌投与 (450 ppm、22 mg(力価)/kg 体重/日) し、最終投与 0、3 又は 10 日後の肝臓中濃度を HPLC 及びバイオアッセイにより測定した。

HPLC による測定結果を表 4 に示した。最終投与後 3 時点の全てにおいて、最高濃度を示したのは代謝物 A 及び B であった。脱ミカロース体及びそのシステイン抱合体の濃度は非常に低かった。

HPLC 及びバイオアッセイによる肝臓中濃度の結果を表 5 に示した。

表 4 及び 5 の結果は、豚の肝臓においてスピラマイシンは非常に僅かしか脱ミカロース体に代謝されないという仮説を裏付けるものである。スピラマイシン及び脱ミカロース体は速やかに L-システインと結合し、チアゾリジン誘導体が生成されるものと考えられた。(参照 9、12)

表 4 豚におけるエンボン酸スピラマイシン 7 日間混餌投与 (22 mg/kg 体重/日) 後の肝臓中濃度 (ng/g)

スピラマイシン代謝物	最終投与後経過日数 (日)		
	0	3	10
スピラマイシン I+代謝物 D (共溶出)	1,000	430	ND
スピラマイシン III	200	ND	ND
代謝物 A	1,800	80	ND
代謝物 B	1,800	280	80
代謝物 E	100	130	30
代謝物 C	200	ND	ND

n=4 定量限界: 100 ng/g ND: 定量限界未満

表 5 豚におけるエンボン酸スピラマイシン 7 日間混餌投与後の肝臓中濃度 (ng/g)

試験方法	最終投与後経過日数 (日)		
	0	3	10
HPLC	5,000	900	100
バイオアッセイ	5,300 ⁶	1,300	200 ⁷

③ 排泄

豚を用いたスピラマイシンの薬物動態試験において、胆汁への排泄後、糞中へ排泄される可能性が示唆された。(参照 8)

(5) 薬物動態試験 (鶏)

① 分布

鶏 (白色レグホン種、体重約 1 kg、雌 2 羽/時点/群) にアジピン酸スピラマイシンを筋肉内又は強制経口投与 (両投与経路ともに 0 又は 300 mg(力価)/kg 体重) し、投与 10 及び 30 分、並びに 1、2、6、12、24 及び 48 時間後に、血清及び組織中濃度を円筒平板法によるバイオアッセイにより測定した。

筋肉内及び強制経口投与後の血清及び組織中濃度を表 6 及び 7 に示した。

両投与経路において、スピラマイシンは脳を除く各組織に広く分布した。投与 48 時間後においても、筋肉内投与群では脳を除く各組織から、経口投与群では脳及び筋肉 (胸部) を除く各組織から検出された。両投与群ともに胆汁中濃度が最も高かった。(参照 6、13)

表 6 鶏におけるアジピン酸スピラマイシン単回筋肉内投与後の血清及び組織中濃度 (µg(力価)/mL 又は µg(力価)/g)

試料	投与後経過時間 (h)							
	1/6	1/2	1	2	6	12	24	48
血清	16.8	19.2	23.1	25.8	15.9	12.2	8.6	4.6
筋肉 (胸部)	1.8	2.6	2.8	6.5	4.8	3.8	3.6	3.0
肺	70.0	87.5	112.5	180.0	125.0	120.0	87.5	70.0
肝臓	43.5	112.5	200.0	215.0	190.0	230.0	125.0	105.0
胆汁	176.3	260.0	973.0	2,500.0	3,458.0	4,362.5	6,708.0	1,879.2
脾臓	48.5	49.0	87.5	255.0	135.0	112.5	110.0	109.0
腎臓	43.5	55.0	80.0	105.0	95.0	97.5	160.0	70.0
脳	ND	ND	ND	0.5	ND	ND	ND	ND

n=2 ND : 検出限界未満

検出限界 : 血清 0.24 µg(力価)/mL、組織 0.40 µg(力価)/g

⁶ 参照 9 では、5.2 µg/g と記載している。

⁷ 参照 9 では、<0.2µg/g と記載している。

表 7 鶏におけるアジピン酸スピラマイシン単回経口投与後の血清及び組織中濃度 (μg(力価)/mL 又は μg(力価)/g)

試料	投与後経過時間 (h)							
	1/6	1/2	1	2	6	12	24	48
血清	ND	ND	2.1	3.9	6.3	5.9	1.9	1.1
筋肉 (胸部)	ND	ND	1.1	0.8	2.5	0.8	1.2	ND
肺	ND	1.0	25.0	40.0	55.0	43.5	30.5	9.3
肝臓	ND	ND	38.5	40.0	27.0	160.0	107.0	95.0
胆汁	4.3	6.0	212.5	312.5	3,593.8	1,218.8	750.0	1,418.8
脾臓	ND	ND	34.5	35.0	34.5	70.0	55.0	30.5
腎臓	1.8	2.4	34.5	35.0	36.5	49.0	66.5	21.0
脳	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

n=2 ND: 検出限界未満

検出限界: 血清 0.24 μg(力価)/mL、組織 0.40 μg(力価)/g

② 代謝

a 60 日間混餌投与試験

鶏 (品種、性別及び羽数不明) にスピラマイシンを 60 日間混餌投与 (10 又は 100 ppm) し、代謝試験が実施された。試験期間終了時に筋肉、肝臓及び腎臓を採取した。TLC バイオオートグラフで組織中濃度を測定した。

結果を表 8 に示した。

本試験の結果から、スピラマイシン及び脱ミカロース体は、3 組織中の主要な抗菌活性を有する残留物であることが示された。極性代謝物は、暫定的ではあるが脱ミカロース体の抱合体又は結合体 (conjugates or bound forms) であると特定された。脱ミカロース体は、50~60℃での有機溶媒を用いた残留物の処理又は室温での長時間にわたる保存の際に、抱合体から生成される可能性がある。

TLC バイオオートグラフに用いた *Bacillus subtilis* に対する極性代謝物の阻止帯は、他の 2 物質 (スピラマイシン及び脱ミカロース体) の阻止帯の合計より小さかったことから、極性代謝物は総残留量の 50%を超えることはないと考えられた。(参照 9、10)

表 8 鶏におけるスピラマイシン 60 日間混餌投与 (100 ppm) 後の組織中濃度 (μg/g)

試料	スピラマイシン残留物		
	スピラマイシン	脱ミカロース体	極性代謝物
筋肉	0.010~0.015	<0.010	ND
肝臓	1.0~1.3	0.8~1.0	<2.3
腎臓	0.12~0.15	0.10~0.12	<2.7

ND: 未検出 検出限界: スピラマイシン 0.01 μg/g、脱ミカロース体 0.02 μg/g

b 3 日間飲水投与試験

鶏（品種及び性別不明、6羽/時点）にアジピン酸スピラマイシン製剤を3日間飲水投与（0.8 g/L）した。最終投与5、10、15及び20日後に、HPLCによって筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪付き皮膚におけるスピラマイシン及び脱ミカロース体濃度を測定した。

結果を表9に示した。

肝臓中の残留濃度が最も高く、最終投与5日後に5例で定量可能であったが、最終投与10日後では2例のみから検出された。腎臓では、最終投与5日後に2例で定量限界以上の濃度が検出され、残り4例は検出されたが定量限界未満であった。筋肉及び脂肪付き皮膚では、最終投与5日後において大部分が定量限界未満であった。（参照9、10）

表9 鶏におけるスピラマイシン製剤3日間飲水投与後の組織中残留濃度（ng/g）

試料	残留物	最終投与後経過日数（日）			
		5	10	15	20
筋肉	スピラマイシン	55 (n=2)	+	+	+
	脱ミカロース体	+	+	+	+
肝臓	スピラマイシン	699 (n=5)	423 (n=2)	+	+
	脱ミカロース体	579	491	+	+
腎臓	スピラマイシン	280 (n=2)	+	+	+
	脱ミカロース体	+	+	+	+
脂肪付き皮膚	スピラマイシン	99 (n=3)	+	+	+
	脱ミカロース体	+	+	+	+

定量限界：筋肉 50 ng/g、肝臓 100 ng/g、腎臓 200 ng/g、脂肪付き皮膚 75 ng/g

＋：定量限界未満

これらの試験のデータから、スピラマイシンは、加水分解により脱ミカロース体に代謝されるものと考えられた。鶏の筋肉中の抗菌活性を有する残留物のほぼ100%がスピラマイシン及び脱ミカロース体であり、肝臓、腎臓及び脂肪付き皮膚では抗菌活性を有する残留物の50%と考えられた。

（6）薬物動態試験（ぶり）

ぶり（体重 1.6 kg、2歳魚、2～3尾/時点、水温 18℃）にスピラマイシン又はエンボン酸スピラマイシンを単回強制経口投与（40 mg(力価)/kg 体重、ゼラチンカプセル投与）した。投与 12、24、48、96、168 及び 336 時間後に、血液及び組織中濃度を円筒平板法を用いたバイオアッセイにより測定した。

結果を表 10 及び 11 に示した。

スピラマイシンの投与では、血液及び各組織中濃度は投与 12 時間後に最高値を示した。その後、残留濃度は減少し、投与 336 時間後に血液及び全ての組織で検出限界（血液：0.3 µg/g、組織：0.16 µg/g）未満となった。

エンボン酸スピラマイシンの投与では、血液及び各組織中濃度は投与 24 時間後に最高値に達した。その後漸減し、筋肉では投与 168 時間後に、血液、肝臓、脾臓及び腎臓では投与 336 時間後に検出限界未満となった。(参照 6、14)

表 10 ぶりににおけるスピラマイシン単回強制経口投与後の血液及び組織中濃度 (μg(力価)/g) ^a

試料	投与後経過時間 (h)					
	12	24	48	96	168	336
血液	79.0	35.0	15.5	5.5	3.3	<0.3
肝臓	272.0	83.0	51.0	13.5	9.0	<0.16
脾臓	108.5	36.5	24.0	15.5	5.9	<0.16
腎臓	64.0	31.5	19.0	11.8	10.8	<0.16
筋肉	52.5	38.5	34.0	10.5	5.5	<0.16

n=3

a: 平均値。投与カプセルの全部又は一部を吐き出した個体は、平均値の算出に含めていない。

表 11 ぶりににおけるエンボン酸スピラマイシン単回強制経口投与後の血液及び組織中濃度 (μg(力価)/g) ^a

試料	投与後経過時間 (h)					
	12	24	48	96	168	336
血液	8.9	24.8	7.7	2.7	2.5	<0.3
肝臓	38.0	106.5	18.5	11.0	2.8	<0.16
脾臓	15.9	40.5	10.3	3.4	2.7	<0.16
腎臓	4.7	35.0	10.5	3.8	3.4	<0.16
筋肉	3.5	14.5	7.5	2.0	<0.16	<0.16

n=3

a: 平均値。投与カプセルの全部又は一部を吐き出した個体は、平均値の算出に含めていない。

(7) ヒト

健康な成人男性に 15～30 mg/kg 体重を単回経口投与した結果、投与 3～4 時間後に血漿中濃度は C_{max} (0.96～1.65 mg/L) に達した。静脈内投与 (7.25 mg/kg 体重) では、分布容積 (Vd) は大きく (Vdss : 5.6 L/kg)、組織中分布が広範囲にわたることが示唆された。胆汁中排泄が主要な排泄経路で、経口投与量の 7～20%が尿中に排泄された。血清中濃度に比較して、肺、前立腺及び皮膚の濃度が高くなることが知られている。(参照 8)

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛)

① 筋肉内投与試験

牛 (シャロレー種又は交雑種、体重 177～350 kg、雄 6 頭及び雌 12 頭、3 頭/時点)

にスピラマイシン製剤を2回筋肉内投与（100,000 IU/kg 体重(31 mg(力価)/kg 体重)/回、48時間間隔で投与）し、残留試験が実施された。最終投与14、21、28、35、42及び49日後に組織（投与部位筋肉、筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪）を採材した。最終投与14及び21日後には雄のみを、最終投与28、35、42及び49日後には雌のみを採材した。組織中濃度は、HPLCによりスピラマイシン及び脱ミカロース体を測定した。脱ミカロース体濃度は、スピラマイシンと脱ミカロース体の力価の比率としての補正係数0.88を用いてスピラマイシン当量とした。

結果を表12に示した。

投与部位以外の組織では、肝臓で最も高濃度の残留がみられ、最終投与28日後まで定量可能であった。投与部位筋肉の残留濃度は、高濃度を長期間持続したが、最終投与35日以降には0.16 µg/g未満となった。表には示していないが、脱ミカロース体の残留濃度は、スピラマイシンとほぼ同様の濃度であった。（参照2、9）

表12 牛におけるスピラマイシン製剤を2回筋肉内投与後の組織中残留濃度（スピラマイシン当量、µg/g）

試料	最終投与後経過日数（日）					
	14	21	28	35	42	49
筋肉	0.09	<0.06	<0.03	<0.03	<0.015	<0.015
肝臓	0.48	0.30	0.14	<0.12	<0.12	<0.06
腎臓	0.47	0.17	0.05	<0.03	<0.03	<0.015
脂肪			<0.015	0.05	<0.03	<0.015
投与部位①	20.91	10.23	0.47	0.11	0.13	0.05
投与部位②	35.12	10.30	0.60	0.31	0.16	0.04

n=3 検出限界：0.015 µg/g

② 7日間混餌投与試験

牛（ホルスタイン種、雌、8～15日齢、42頭）に、1週間の馴化期間後に表13に示す方法でスピラマイシンを7日間混餌投与し、最終投与3、7、14、24及び35日後に組織中濃度をバイオアッセイにより測定した。

結果を表14に示した。

オキシテトラサイクリンの併用は、スピラマイシン及びその代謝物の残留濃度に影響しなかった。さらに、オキシテトラサイクリンは組織中のスピラマイシン残留の測定を有意に阻害することはなかった。（参照2、9）

表 13 牛におけるスピラマイシン混餌投与の残留試験の方法

群	動物数 (頭)	投与物質	投与量 (mg/kg 体重/日)
1	4	対照	
2	22	スピラマイシン	25
3	16	スピラマイシン+オキシテトラサイクリン	25+40

表 14 牛におけるスピラマイシン単独又はオキシテトラサイクリンとの併用による 7 日間混餌投与後の組織中濃度 (µg/g) ⁸

試料	最終投与後経過日数 (日)				
	3	7	14	24	35
筋肉	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	ND
肝臓	9.17	3.03	1.1	0.2	<0.1
腎臓	13.7	5.3	1.7	<0.1	ND
脂肪	0.15	<0.1	<0.1	ND	ND

ND : 検出限界未満

(2) 残留試験 (乳汁)

泌乳牛 (乳用種(品種不明)、6 頭) にスピラマイシン製剤を単回筋肉内投与 (30,000IU/kg 体重(9.3 mg(力価)/kg 体重)) し、乳汁中の残留濃度を測定した。乳汁は投与後 25 回の搾乳にわたり採取し、バイオアッセイ (検出限界 : 0.062 µg(力価)/mL) により乳汁中残留濃度を測定した。

結果を表 15 に示した。乳汁中濃度は、投与後 1 回目が最も高く、その後減少し、投与後 18 回目の搾乳時以降は検出限界未満となった。(参照 2、9、11)

表 15 泌乳牛におけるスピラマイシン単回筋肉内投与後の乳汁中残留濃度 (µg(力価)/mL)

試料	投与後搾乳回数 (回)					
	1	2	3	4	5	6
乳汁	16.54±7.50	10.00±3.18	5.27±1.62	2.74±0.90	1.50±0.40	1.06±0.25
	7	8	9	10	11	12
	0.74±0.15	0.57±0.09	0.43±0.08	0.40±0.05	0.32±0.06	0.30±0.06
	13	14	15	16	17	18~25
	0.24±0.10	0.19±0.03	0.16±0.03	0.14±0.03	0.09	<0.06

n=6 検出限界 : 0.062 µg(力価)/mL

(3) 残留試験 (豚)

① 3 日間筋肉内投与試験

⁸ 参照 2 及び 9 では、表 13 がスピラマイシンの単独投与後の結果又はオキシテトラサイクリンとの併用投与後の結果であるのかは不明。

豚（品種及び性別不明、10～12 週齢、3 頭/時点）にスピラマイシンを 3 日間筋肉内投与（25 mg/kg 体重/日）した。最終投与 1、3、5、7 及び 14 日後に肝臓、腎臓、筋肉、脂肪、皮膚、心臓及び脳中濃度をバイオアッセイ（検出限界：0.025 µg(力価)/g）により測定した。

結果を表 16 に示した。

最終投与 14 日後には、腎臓以外の全組織の残留濃度が検出限界（0.025 µg/g）未満となった。（参照 2、9、11）

表 16 豚におけるスピラマイシン 3 日間筋肉内投与後の組織中残留濃度（µg(力価)/g）

試料	最終投与後経過日数（日）				
	1	3	5	7	14
肝臓	9.01	2.26	0.68	0.49	<0.025
腎臓	21.59	4.75	1.24	0.48	0.04
筋肉	0.29	0.20	0.05	<0.025	<0.025
脂肪	0.03	0.09	0.05	0.04	<0.025
皮膚	0.11	0.20	0.07	0.04	<0.025
心臓	0.32	0.20	0.10	0.07	<0.025
脳	0.04	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025

n=3 検出限界：0.025 µg(力価)/g

② 7 日間経口投与試験

豚（交雑種(LW)、体重 25～30 kg、雌雄、3 頭/時点）にエンボン酸スピラマイシンを 7 日間経口投与（16 又は 25 mg/kg 体重/日）し、残留試験が実施された。組織中のスピラマイシン及びその抗菌活性を有する代謝物の濃度は、バイオアッセイにより測定した。

結果を表 17 及び 18 に示した。

両試験において、肝臓が最も残留している組織であったが、16 mg/kg 体重/日投与試験では投与 10 日後に、25 mg/kg 体重/日投与試験では投与 20 日後に定量限界（0.3 µg(力価)/g）未満となった。（参照 2、9、11）

表 17 豚におけるエンボン酸スピラマイシンを 7 日間経口投与（16 mg/kg 体重/日）後の組織中残留濃度（µg(力価)/g）

試料	最終投与後経過日数（日）					
	0.5	3	7	10	15	20
肝臓	6.26±1.26	1.44±0.24	0.58±0.19	<0.30	<0.30	<0.30
腎臓	8.90±1.75	1.30±0.56	0.23±0.07	<0.15	<0.15	<0.15
筋肉	0.12±0.01	<0.10	<0.10			
脂肪	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10		

n=3

表 18 豚におけるエンボン酸スピラマイシン 7 日間経口投与 (25 mg/kg 体重/日) 後の組織中残留濃度 (μg(力価)/g)

試料	最終投与後経過日数 (日)		
	7	10	20
肝臓	1.45±0.40	0.89±0.35	<0.30
腎臓	0.56±0.11	0.19±0.05	<0.15
筋肉	<0.10	/	/
脂肪	<0.10		

n=3

③ 経口又は皮下投与試験

豚 (品種及び性別不明、2 頭/時点/群) にスピラマイシンを単回経口投与 (50 又は 100 mg/kg 体重) 又は皮下投与 (12.5、25 又は 50 mg/kg 体重) し、残留試験が実施 (組織中濃度の測定方法は不明) された。

結果を表 19 に示した。

同じ投与量の場合、皮下投与の方が経口投与より生物学的利用率は顕著に高かった。どちらの投与経路においても、筋肉中濃度は他の組織中濃度より低かった。(参照 2、9)

表 19 豚におけるスピラマイシン単回経口又は皮下投与後の組織中濃度 (μg/mL 又は μg/g)

投与経路	投与後時間	投与量 (mg/kg 体重)	試料						
			肝臓	胆汁	腎臓	腸間膜神経節	肺	腸	筋肉
経口	24 h	50	19.00	37.50	30.00	12.00	10.75	14.00	1.25
	24 h	100	56.25	217.5	67.50	33.75	44.25	62.50	1.85
皮下	24 h	12.5	8.25	100.0	29.00	13.50	12.75	4.50	1.65
	24 h	25	19.25	155.0	55.00	24.75	37.50	13.25	0
	24 h	50	52.50	345.0	112.5	42.50	81.25	50.00	6.0
	48 h	50	27.50	67.50	77.50	147.5	22.50	13.75	0
	8 d	50	18.25	/	/	/	/	/	/

n=2

④ 30 日間又は 1 週間混餌投与試験<参考資料⁹⁾>

豚 (品種、性別及び頭数不明) にスピラマイシンを 30 日間混餌投与 (200 ppm) した。最終投与 5 日後に血液、筋肉、肝臓、腎臓等の組織中濃度を調べた結果、残留は全くみられなかった。

また、1 週間混餌投与 (200 ppm) しても、最終投与日の翌日から組織中残留はみ

⁹⁾ 試験の詳細が不明なため、参考資料とした。

られなかった。(参照 6、15)

(4) 残留試験 (鶏)

① 7 日間混餌投与試験

鶏 (白色レグホン種、約 10 か月齢、5 羽/時点) にスピラマイシンを 7 日間混餌投与 (1,000 ppm) した後、通常の飼料で飼育し、最終投与 0、2、4、6 及び 12 日後の肝臓中濃度を円筒平板法によるバイオアッセイ (検出限界 0.45 µg(力価)/g) により測定した。

結果を表 20 に示した。

最終投与後の肝臓中スピラマイシン濃度は投与後経過日数とともに減少し、最終投与 12 日後には、5 羽中 3 羽が検出限界未満となった。(参照 6、16)

表 20 鶏におけるスピラマイシン混餌投与後の肝臓中残留濃度 (µg(力価)/g)

最終投与後経過日数 (日)				
0	2	4	6	12
10.00~425.0	2.88~24.00	0.75~4.20	0.50~1.08	7.53、2.40、 ND(3) ^a

n=5 検出限界 0.45 µg(力価)/g ND : 検出限界未満

a : 括弧内の数値は、ND の羽数

② 10 日間混餌投与試験

鶏 (肉用鶏(品種不明)、体重約 1.2 kg、性別不明、13 羽) にスピラマイシンを 10 日間混餌投与 (300 ppm : 43 mg/羽相当) し、最終投与 0、1、3、5 又は 8 日後の肝臓及び筋肉中濃度をバイオアッセイ (検出限界 : 0.02 µg(力価)/g) により測定した。

結果を表 21 に示した。

筋肉では最終投与 5 日後に、肝臓では最終投与 8 日後に残留濃度が検出限界未満となった。(参照 2、9)

表 21 鶏におけるスピラマイシン 10 日間混餌投与後の組織中残留濃度 (µg(力価)/g)

試料	最終投与後日数 (日)				
	0	1	3	5	8
肝臓	3.78	1.67	0.89	0.21	<0.02
筋肉	0.19	0.08	0.04	<0.02	<0.02

検出限界 : 0.02 µg(力価)/g

③ 8 週間混餌投与試験

鶏 (肉用鶏(品種不明)、初生ひな、2 羽/時点/群) にスピラマイシンを 8 週間混餌投与 (0、20、500 又は 1,000 ppm) し、投与期間中及び最終投与後に経時的に血液、肝臓及び筋肉中残留濃度を円筒平板法によるバイオアッセイ (検出限界 : 血液 0.27

μg(力価)/mL、肝臓及び筋肉 0.45 μg(力価)/g¹⁰⁾ により測定した。

結果を表 22 に示した。

20 ppm 投与群では、投与開始 8 週後の血液、筋肉及び肝臓中にスピラマイシンは検出されなかった。1,000 ppm 投与群では、スピラマイシンは筋肉中にほとんど検出されなかったが、肝臓中には高濃度で検出されており、最終投与 7 日後にも検出された。(参照 6、17)

表 22 鶏におけるスピラマイシン 8 週間混餌投与中及び最終投与後の血液及び組織中残留濃度 (μg(力価)/g)

投与量 (ppm)	試料	投与開始後週数 (週)				
		2	4	6	8	
20	血液	ND	ND	ND	ND	
	筋肉	ND	ND	ND	ND	
	肝臓	ND	0.55	ND	ND	
500	血液	0.92	0.88	0.29	0.30	
	筋肉	0.50	0.70	ND	ND	
	肝臓	15.00	14.50	9.50	6.00	
1,000	血液	2.24	1.37	0.39	0.70	
	筋肉	0.87	1.25	ND	ND	
	肝臓	32.00	31.50	26.00	15.00	
投与量 (ppm)	試料	最終投与後経過日数 (日)				
		1	2	3	5	7
20	血液	ND	ND	ND	ND	ND
	筋肉	ND	ND	ND	ND	ND
	肝臓	ND	ND	ND	ND	ND
500	血液	ND	ND	ND	ND	ND
	筋肉	ND	ND	ND	ND	ND
	肝臓	4.00	5.10	1.10	0.50	ND
1,000	血液	0.38	0.30	ND	ND	ND
	筋肉	ND	ND	ND	ND	ND
	肝臓	15.00	8.00	4.60	12.25	0.75

n=2 検出限界：血液 0.27 μg(力価)/mL、肝臓及び筋肉 0.45 μg(力価)/g ND：検出限界未満

(5) 残留試験 (鶏卵)

① 7 日間混餌投与試験

採卵鶏にスピラマイシンを 7 日間混餌投与し、鶏卵の残留試験が実施された。

実験 1 では、鶏 (白色レグホン種、約 9 か月齢、14 又は 15 羽/群) にスピラマイシン

¹⁰⁾ 検出限界の単位について、参照 6 では「μg(力価)/mg」となっているが、参照 17 では「μg(力価)/g」となっていることから、参照 6 の記載は誤記と判断した。

ンを7日間混餌投与（0、20、500又は1,000 ppm）し、最終投与後7日間通常の飼料で飼育し、経時的に鶏卵中濃度を測定した。鶏卵中濃度は円筒平板法によるバイオアッセイ（検出限界：0.45 µg(力価)/g）により測定した。

実験2では、鶏（白色レグホン種、約10か月齢、10又は12羽/群）にスピラマイシンを7日間混餌投与（0、20、50、100、200、500又は1,000 ppm）し、最終投与後12日間通常の飼料で飼育し、経時的に鶏卵中濃度を測定した。鶏卵中濃度は円筒平板法によるバイオアッセイ（検出限界：0.45 µg(力価)/g）により測定した。

結果を表23に示した。

実験1では、20 ppm 投与群では、最終投与1日後に微量のスピラマイシンが検出されたが、それ以降は検出限界未満であった。500又は1,000 ppm 投与群では、投与開始から最終投与7日後までスピラマイシンが検出され、その濃度は投与日数が増えるにつれて高くなり、投与終了後は減少した。

実験2では、投与開始7日後に全投与群においてスピラマイシンが検出され、投与の終了後以降は減少した。1,000 ppm 投与群では、最終投与6日後でもスピラマイシンが検出されたが、最終投与12日後には検出限界未満となった。（参照6、16）

表23 鶏におけるスピラマイシン混餌投与中及び最終投与後の全卵中濃度（µg(力価)/g）^a

実験	混餌濃度 (ppm)	投与開始後日数（日）							
		1	2	3	4	5	6	7	
1	20	ND ^b	ND	0.07	ND	ND	ND	ND	
	500	0.17	0.83	1.14	1.35	1.49	1.47	1.76	
	1,000	0.20	0.67	1.58	1.96	2.23	2.25	3.12	
2	20							0.05	
	50							0.10	
	100							0.17	
	200							0.17	
	500							0.52	
	1,000							1.62	
実験	混餌濃度 (ppm)	最終投与後経過日数（日）							
		1	2	3	4	5	6	7	12
1	20	0.07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	500	1.45	1.41	1.03	0.95	0.64	0.52	0.39	
	1,000	1.66	1.60	1.06	1.03	0.79	0.70	0.50	
2	20	ND	ND	ND		ND			
	50	0.07	0.07	ND		ND		ND	
	100	0.14	0.10	ND		ND		ND	
	200	0.13	ND	ND		ND		ND	
	500		0.41		0.23		ND		ND
	1,000		1.13		0.51		0.12		ND

n=5 検出限界：0.45 µg(力価)/g

a：卵黄と卵白の残留濃度及び重量から、全卵中の残留濃度を算出した。

b：卵黄及び卵白中の残留濃度が検出限界未満の場合、「ND」とした。

② 経口及び筋肉内投与試験（鶏卵）

鶏（品種不明、7～16 か月齢、8羽/群）にアジピン酸スピラマイシンを5日間飲水投与（120,000 IU/kg 体重/日（37.5 mg(力価)/kg 体重/日））、エンボン酸スピラマイシンを7日間混餌投与（52,800 IU/kg 体重/日（16.5 mg(力価)/kg 体重/日））、又はスピラマイシン水溶液を単回筋肉内投与（5.0 g/kg 相当）し、鶏卵中のスピラマイシン濃度を円筒平板法によるバイオアッセイにより測定した。

結果を表24～26に示した。

飲水又は混餌投与では、最終投与1日後又は投与開始7日目に全卵中のスピラマイシン濃度が最も高く（それぞれ0.92 µg(力価)/g、0.33 µg(力価)/g）、その後減少した。

筋肉内投与では、投与2日後に最高濃度（1.03 µg(力価)/g）となったが、投与10日後には0.06 µg(力価)/gまで低下した。（参照6、18）

表24 鶏におけるアジピン酸スピラマイシン5日間飲水投与後の平均全卵中濃度（IU/g）

試料	投与開始後日数（日）						
	1	2	3	4	5		
全卵		0.76 (0.24) ^a	1.55 (0.48)	1.95 (0.61)	2.88 (0.90)		
試料	投与後経過日数（日）						
	1	2	3	4	5	6	7
全卵	2.94 (0.92)	2.17 (0.68)	1.61 (0.50)	1.10 (0.34)	0.76 (0.24)	0.55 (0.17)	

n=8 a：括弧内の数値はµg(力価)/gに換算したもの

表25 鶏におけるエンボン酸スピラマイシンの7日間混餌投与後の平均全卵中濃度（IU/g）

試料	投与開始後日数（日）						
	1	2	3	4	5	6	7
全卵		0.35 (0.11) ^a	0.61 (0.19)	0.69 (0.22)	0.79 (0.25)	0.96 (0.30)	1.04 (0.33)
試料	投与後経過日数（日）						
	1	2	3	4	5		
全卵	0.98 (0.31)	0.89 (0.28)	0.60 (0.19)	0.44 (0.14)			

n=8 a：括弧内の数値はµg(力価)/gに換算したもの

表 26 鶏におけるスピラマイシン水溶液の単回筋肉内投与後の全卵中濃度 (IU/g)

試料	投与後経過日数 (日)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
全卵	0.79 (0.25) ^a	3.30 (1.03)	2.13 (0.67)	1.68 (0.53)	1.11 (0.35)	0.99 (0.31)	0.76 (0.24)	0.37 (0.12)	0.21 (0.07)	0.19 (0.06)	

n=8 a: 括弧内の数値は $\mu\text{g}(\text{力価})/\text{g}$ に換算したもの

(6) 残留試験 (ぶり)

① 10 日間混餌投与試験 a

ぶり (当歳魚、平均体重 150 g、3 尾/時点、水温 24~29℃) にエンボン酸スピラマイシンを 10 日間混餌投与 (80 mg(力価)/kg 体重/日) した。最終投与 1、3、6、24、48、96、144、240 及び 336 時間後に血液、胆汁及び組織 (肝臓、脾臓、腎臓及び筋肉) 中濃度を円筒平板法によるバイオアッセイにより測定した。

結果を表 27 に示した。

血液及び組織中濃度は、最終投与 3~24 時間後に最高値に達し、その後減衰し、筋肉では最終投与 240 時間後に、血液、胆汁及びその他の組織では最終投与 336 時間後に検出限界未満となった。(参照 6、14)

表 27 ぶりにおけるエンボン酸スピラマイシンの 10 日間混餌投与後の血液、胆汁及び組織中残留濃度 ($\mu\text{g}(\text{力価})/\text{g}$ 又は $\mu\text{g}(\text{力価})/\text{mL}$)

試料	最終投与後経過時間 (時間)								
	1	3	6	24	48	96	144	240	336
血液	19.9	20.0	23.7	11.1	8.4	5.3	2.6	0.6	<0.3
筋肉	3.5	5.4	6.3	7.3	3.1	1.6	0.7	<0.16	<0.16
肝臓	11.5	25.6	14.1	19.9	16.4	5.4	6.6	1.8	<0.16
腎臓	4.5	24.0	17.5	20.0	8.5	5.9	3.6	0.7	<0.16
脾臓	8.9	21.5	18.5	9.0	8.9	4.6	2.9	0.6	<0.16
胆汁	>500	>500	>500	>500	>500	>500	80	40	<0.8

n=3

検出限界: 血液 0.3 $\mu\text{g}(\text{力価})/\text{g}$ 筋肉、肝臓、腎臓、脾臓 0.16 $\mu\text{g}(\text{力価})/\text{g}$ 胆汁 0.8 $\mu\text{g}(\text{力価})/\text{mL}$

② 10 日間混餌投与試験 b

ぶり (当歳魚、平均体重 550 g、3 尾/時点、水温 24~26℃) にエンボン酸スピラマイシンを 10 日間混餌投与 (20、30 又は 40 mg(力価)/kg 体重/日) した。最終投与 1、3、6、9、24、48、96、120、144、240 及び 336 時間後に血液及び胆汁中濃度を円筒平板法によるバイオアッセイにより測定した。

結果を表 28 に示した。

血液、胆汁中濃度は共に、20 mg(力価)/kg 体重/日投与群では 144 時間後に、30 mg(力価)/kg 体重/日投与群では 240 時間後に、40 mg(力価)/kg 体重/日投与群では 336 時間後に検出限界未満となった。(参照 6、14)

表 28 ぶりににおけるエンボン酸スピラマイシン 10 日間混餌投与後の血液及び胆汁中残留濃度 (µg(力価)/g 又は µg(力価)/mL)

試料	投与量	最終投与後経過時間 (時間)										
		1	3	6	9	24	48	96	120	144	240	336
血液	20	4.5	3.5	2.3	3.2	3.3	2.6 ^a	0.5 ^a	0.6	<0.3	<0.3	<0.3
	30	7.5	2.5	9.8 ^a	5.7	4.4	3.5 ^a	8.1	4.5	2.5	<0.3	<0.3
	40	12.7	14.7	16.9	6.5	6.9	5.9	8.3	9.7	6.1	0.5	<0.3
胆汁	20	>500	>500	>500	>500	>500	>500 ^a	>500	400	<0.8	<0.8	<0.8
	30	>500	>500	>500 ^a	>500	>500	>500 ^a	>500	180	125	<0.8	<0.8
	40	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	260	500	89	<0.8

n=3 投与量単位：mg(力価)/kg 体重/日 a：2 尾の平均値

検出限界：血液 0.3 µg(力価)/g、胆汁 0.8 µg(力価)/mL

3. 遺伝毒性試験

スピラマイシンの遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 29 に示した。(参照 8)

表 29 スピラマイシンの遺伝毒性試験

試験	対象	用量	結果	参照
in vitro				
遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスター 卵巣由来細胞 (CHO 細胞) (HPRT 座位)	[アジピン酸スピラマイシン] 0~40,000 IU/mL (0~12.5 ¹¹ mg/mL) (±S9) 0~20,000 IU/mL (0~6.25 mg/mL) (±S9)	陰性 ^a	8
		[エンボン酸スピラマイシン] 0~1,250 µg/mL (±S9)	陰性 ^b	8
染色体異常試験	CHO 細胞	[アジピン酸スピラマイシン] 0~5,800 IU/mL (0~1.8 mg/mL) (±S9) 0~600 IU/mL (0~0.19 mg/mL) (±S9)	陰性	8
		[エンボン酸スピラマイシン] 0~1,000 µg/mL (±S9)	陰性	8
in vivo				
小核試験	CD-1 マウス	[アジピン酸スピラマイシン] 0、0.21、0.42、0.63 MIU/kg 体重 (0、65.6、131.3、196.9 mg/kg 体重) 単回又は 2 回静脈内投与	陰性	8
		[エンボン酸スピラマイシン]	陰性	8

¹¹ 参照 8 では 2.5 mg/mL と記載しているが、換算値から誤記と判断した。

		0、1,250、2,500、5,000 mg/kg 体重 単回又は2回経口投与		
--	--	---	--	--

a：10,000 及び 20,000¹² IU/mL (3.13 及び 6.25 mg/mL) で有意な細胞毒性がみられた。

b：-S9 の 500 µg/mL を超える濃度で細胞毒性がみられた。

in vitro の遺伝子突然変異試験及び染色体異常試験並びに *in vivo* の小核試験の結果はいずれも陰性であった。また、参考¹³ではあるが、細菌を用いた復帰突然変異試験の結果も陰性と報告されている。(参照 19)

以上のことから、スピラマイシンには生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられた。

4. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (実験動物)

各種動物におけるスピラマイシンの急性毒性試験の結果を表 30 に示した。

表 30 各種動物におけるスピラマイシンの急性毒性

投与物質	動物種	雌雄	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
アジピン酸スピラマイシン	マウス	雄	経口	3,130
		雌雄	静脈内	220
	ラット	雄	経口	9,400
		雄	経口	4,850
		雄	皮下	3,500
		雌雄	静脈内	350
	モルモット	雄	経口	3,000~4,000
	ウサギ	雄	経口	4,330
	ネコ	雌雄	皮下	950
	イヌ	雌	経口	5,200
	七面鳥	不明	皮下	850
エンボン酸スピラマイシン	マウス	雌雄	経口	>5,000
		不明	経口	>5,600
		不明	皮下	>4,000
		不明	腹腔内	523~693
	ラット	雌雄	経口	>4,350
		不明	経口	>6,400
		不明	皮下	>2,400
		不明	腹腔内	877~915

¹² 参照 8 では 10,000 IU/mL となっているが、換算値から誤記と判断した。

¹³ 参照 19 では、細菌を用いた復帰突然変異試験の用量が不明であることから、参考とした。

アジピン酸スピラマイシン及びエンボン酸スピラマイシンはラット及びマウスにおいて、経口投与後の急性毒性は低かった。

アジピン酸スピラマイシンの経口投与試験において、高用量投与における毒性徴候として、ラット及びイヌで食欲不振、下痢及び倦怠感がみられた。マウスの高用量投与では、不穏、協調運動失調、痙攣、下痢、発声及び運動失調がみられた。病理組織学的検査では、ラットでは肝細胞壊死が生じたが、イヌでは肝細胞の空胞変性がみられた。また、ラット及びイヌにおいて、遠位曲尿細管の壊死がみられた。

エンボン酸スピラマイシンの経口投与試験において、ラットでは、最高用量（4,350 mg/kg 体重）でも毒性徴候はみられなかったが、マウスでは、2,500 及び 5,000 mg/kg 体重の用量で運動失調及び呼吸困難がみられた。これらの徴候は 2 日以内に消失した。（参照 6、8、20）

（２）急性毒性試験（ぶり）＜参考資料¹⁴＞

ぶり（２歳魚、平均体重 1.6 kg）を用いたエンボン酸スピラマイシンの単回強制経口投与（0、200、400 又は 800 mg(力価)/kg 体重、麻酔後ゼラチンカプセル投与）による急性毒性試験が実施された。投与後 2 週間無給餌のまま、斃死数、魚体及び行動の異常について観察した。投与 7 及び 14 日後に各群 3～6 尾について血液及び組織（肝臓、脾臓、腎臓、胃及び幽門）を採取し、血液学的検査及び病理組織学的を行った。

血液学的検査結果を表 31 に示した。

観察期間中に死亡例はみられなかった。

剖検所見では、異常はみられなかった。組織学的所見として、全投与群に肝細胞に軽度から高度の萎縮がみられたが、対照群にもみられたことから、長期絶食による飢餓性の変化と判断された。

血液学的検査では、投与 7 日後の 800 mg(力価)/kg 体重投与群において低色素性の傾向がみられた。投与 14 日後では、各投与群において赤血球の小型化と低色素性の傾向がみられたが、腎臓の造血組織に、血液性状の変化を直接裏付ける異常はみられなかった。（参照 6、14）

表 31 ぶりにおけるエンボン酸スピラマイシン単回投与後の血液学的検査結果

投与量 (mg(力価)/kg 体重)	投与 7 日後			投与 14 日後		
	RBC ($\times 10^4$ mL)	Ht (%)	Hb (g/dL)	RBC ($\times 10^4$ mL)	Ht (%)	Hb (g/dL)
0	362.5	62.2	16.0	345.0	62.8	15.4
200	334.5	59.2	15.9	432.4	60.1	14.6
400	363.7	63.3	15.7	466.3	62.9	15.5
800	369.3	55.6	14.7	420.4	65.7	15.6

n=3～6

¹⁴ 被験動物が魚類でほ乳類でないことから参考資料とした。

5. 亜急性毒性試験

(1) 4週間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料¹⁵⁾＞

ラット（系統不明、雌雄各 6 匹/群）にアジピン酸スピラマイシンを 4 週間経口投与（0.25 又は 1 g/kg 体重/日）した。尿検査及び血液学的検査に投与の影響はみられず、毒性徴候もみられなかった。（参照 8）

(2) 32 日間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料¹⁶⁾＞

ラット（SD 系、雌雄各 10 匹/群）にアジピン酸スピラマイシンを 32 日間静脈内投与（0、90,000、180,000 又は 270,000 IU/kg 体重/日（0、28.1、56.3¹⁷⁾又は 84.4 mg(力価)/kg 体重/日）、0.9%生理食塩水に溶解して投与）した。別の群（雄 5 匹及び雌 10 匹）では同様の投与試験を実施し、回復試験（reversibility study）を行った。

投与期間中、流涎及び振戦が 56.3 及び 84.4 mg/kg 体重/日投与群でみられた。84.4 mg/kg 体重/日投与群の雄に僅かな食欲低下がみられ、体重増加量の抑制を伴っていた。84.4 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓重量の増加がみられ、これらの所見は 15 日間の回復期間中持続した。

剖検では、異常はみられなかった。病理組織学的検査では、脾臓に泡沫状マクロファージ（foamy macrophage）が 84.4 mg/kg 体重/日投与群の全例、56.3 mg/kg 体重/日投与群の数例及び 28.1 mg/kg 体重/日投与群の 1 例にみられた。これらの影響は 15 日の回復期間後にはみられなかった。（参照 8）

(3) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料¹⁸⁾＞

ラット（系統不明、雌雄各 10 匹）にエンボン酸スピラマイシンを 90 日間強制経口投与（700 mg(力価)/kg 体重/日）した。

一般状態では、特に異常はみられず、投与期間中に僅かな体重増加抑制が観察されたのみであった。

血液生化学的検査では、ALP の僅かな上昇がみられた。

病理組織学的検査では、脾臓に細網細胞の増生がみられた。（参照 6、20）

(4) 8～10 週間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料¹⁹⁾＞

ラット（Wistar 系、雄、匹数不明）にアジピン酸スピラマイシンを 8～10 週間皮下投与（0、200 又は 600 mg/kg 体重/日）した。

200 mg/kg 体重/日投与群では、投与 1 時間以内に反射異常亢進及び痙攣がみられた。投与部位には壊死がみられた。体重及び摂餌量は投与開始 7 日後に対照群を下回った。血液学的検査では、投与開始 4 週後に Hb が減少した。飲水量及び尿量は増加した。

¹⁵⁾ 試験の詳細が不明なため、参考資料とした。

¹⁶⁾ 静脈内投与試験のため、参考資料とした。

¹⁷⁾ 参照 8 では 2.8、5.6 mg/kg 体重/日と記載されているが、90,000、180,000 IU/kg 体重/日からの換算の誤記と判断した。

¹⁸⁾ 一用量で実施された試験であるため、参考資料とした。

¹⁹⁾ 皮下投与試験のため、参考資料とした。

尿検査では、比重が対照群より小さかったが、正常値であった。剖検では、多くの器官（胃幽門部、結腸、腸間膜、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、骨格筋）の褪色が顕著であり、副腎の肥大がみられた。

600 mg/kg 体重/日投与群では、200 mg/kg 体重/日投与群と同様の所見がみられた。腎臓の水腫が顕著であり、遠位尿細管の壊死を伴っていた。消化管の粘膜上皮及び粘膜固有層の変性及び腸陰窩の拡張が顕著にみられた。副腎皮質細胞の肥大と空胞化がみられ、精巣の精細管には精子がみられず多核精母細胞がみられた。（参照 8、21）

（５）13 週間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（SD 系、雌雄各 20 匹/群）にエンボン酸スピラマイシンを 13 週間混餌投与（0、2,000、10,000 又は 50,000 ppm）した。最終投与後に各群の雌雄各 10 匹を剖検に供し、残りの動物には更に 1 週間被験物質を投与し、その後 4 週間の回復期間を設けた（試験開始 18 週まで）。各混餌濃度における投与量を表 32 に示した。

表 32 ラット 13 週間混餌投与試験における投与量（mg/kg 体重/日）

混餌濃度（ppm）	雌雄	投与第 1 週	投与第 13 週	平均
2,000	雄	219	89	140
	雌	214	116	162
10,000	雄	1,204	473	718
	雌	1,019	581	785
50,000	雄	5,858	2,488	3,695
	雌	5,233	2,779	3,911

毒性所見を表 33 に示した。

試験期間中、投与に起因した死亡及び臨床徴候はみられなかった。

血液生化学的検査に有意な影響はみられなかった。

剖検時、臓器重量では、肝臓の相対重量が減少した。

骨髓検査の結果、50,000 ppm 投与群の雄でリンパ球の減少がみられたが、このリンパ球への影響は投与期間中にはみられなかったため、投与に起因するものではないと考えられた。

病理組織学的検査でみられた唯一の主な影響は盲腸の拡張であった。精巣の変性はみられなかった。（参照 6、8、11）

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、投与開始 6 週後に 10,000 ppm 投与群の雌雄で好中球数の減少がみられ、回復期間中においても好中球数及びリンパ球数の減少が 10,000 ppm 以上投与群の雄で顕著であったことから、本試験の NOAEL は約 140 mg/kg 体重/日と考えた。

表 33 ラットの 13 週間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	毒性所見
50,000	・体重増加量の顕著な抑制 ・著しい摂餌量の減少 (雄) ・投与開始 16 週後(回復期間)に好中球数及びリンパ球数の減少 (雄) ・投与開始 6 週後に尿タンパク量の減少 (雄)
10,000	・投与開始 6 週後に好中球数の減少 (雌雄) ・投与開始 16 週後(回復期間)に好中球数及びリンパ球数の減少 (雄)
2,000	所見なし

(6) 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ) ①<参考資料²⁰⁾>

イヌ (品種及び性別不明、2 匹) にアジピン酸スピラマイシンを 4 週間経口投与 (200 又は 500 mg/kg 体重/日) した。毒性影響はみられず、肝臓又は腎臓の組織学的検査及び血液学的検査において投与の影響はみられなかった。(参照 8、11)

(7) 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ) ②<参考資料²¹⁾>

イヌ (ビーグル種、齢不明、雌雄各 3 匹/群) にアジピン酸スピラマイシンを 4 週間静脈内投与 (240,000、360,000 又は 540,000 IU/kg 体重/日 (75、112.5 又は 168.8 mg(力価)/kg 体重/日)、1 日 2 回に分けて投与) した。

投与期間中、耳の紅斑並びに耳及び顔面の浮腫がみられた。体重は正常であった。摂餌量、ECG、眼科学的検査、血液生化学的検査、血液学的検査及び尿検査において投与の影響はみられなかった。

剖検では、明らかな変化はみられなかった。168.8 mg/kg 体重/日投与群の雌雄及び 112.5 mg/kg 体重/日投与群の数例において脾臓の絶対及び相対重量の増加がみられた。112.5 mg/kg 体重/日以上投与群で脾臓が腫大し、白脾髄周辺部に散在性又は巣状のマクロファージ浸潤を伴っていた。また、168.8 mg/kg 体重/日投与群の全例で、腎糸球体において傍糸球体部及びメサングウム細胞の僅かな肥大と淡明化がみられた。(参照 8)

(8) 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ) ③<参考資料²²⁾>

イヌ (ビーグル種、齢不明、雌雄各 2 匹) にアジピン酸スピラマイシンを 4 週間静脈内投与 (50 mg/kg 体重/日、5 日間/週投与) した。対照群は設定されなかった。

初回投与後に虚脱、痙攣、嘔吐、流涎、チアノーゼ及び運動失調がみられた。その後の投与により頭部振盪及び流涎を示した。

血液学的検査及び血液生化学的検査は正常であった。

剖検では、肉眼的な異常はみられなかった。絶対又は相対臓器重量にも影響はみら

²⁰⁾ 動物数が少なく、試験の詳細が不明であることから参考資料とした。

²¹⁾ 静脈内投与試験のため、参考資料とした。

²²⁾ 静脈内投与試験のため、参考資料とした。

れなかった。

病理組織学的検査でも顕著な変化はみられなかった。(参照 8)

(9) 56 日間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料²³>

イヌ (雑種、齢不明、雄 14 匹及び雌 6 匹) にアジピン酸スピラマイシンを 56 日間又は死亡するまで経口投与 (500 mg/kg 体重/日) した。対照群には 10 匹を用いた。

試験期間中、投与群の半数が投与開始 4 週間後まで生存したが、試験終了時までに 2 例を除く全例が死亡した。

一般状態では、様々な程度の食欲不振、流涎、嘔吐、下痢及び異常興奮がみられた。死亡前には、無気力になり蒼白となった。視覚障害が 3 例でみられた。死亡直前には、衰弱、暗色糞、身体の硬直及び脱糞がみられた。

摂餌量は、投与開始 1~2 週間後に減少し、死亡前には顕著であった。

血液学的検査では、投与群で顕著な貧血がみられ、Ht、RBC 及び Hb が試験期間を通して徐々に減少した。

血液生化学的検査では、血漿中の TG 及び Chol が減少した。

尿検査では、死亡する前の週に、尿中に Alb 及び Bil がみられた。

剖検では、腸には内容物がなく、小腸に緑色の液体が、大結腸に暗緑色の液体がみられたのみであった。脾臓は褪色、腫大し脆弱であった。膵臓及び肝臓にも褪色がみられた。副腎の肥大、精巣の萎縮がみられた。

病理組織学的検査では、腸管に異常はみられなかった。精巣では精細管の精子形成の低下がみられた。肝臓では類洞内張り細胞は肥大し、肝細胞は類洞内張り細胞の肥大により圧迫されているようであった。腎臓の数か所で壊死がみられたが、特にヘンレの係蹄で顕著であった。(参照 8、11)

(10) 28 週間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、齢不明、雌雄各 3 匹/群) にアジピン酸スピラマイシンを 28 週間経口投与 (0、60、120 又は 240 mg/kg 体重/日、6 日/週カプセル投与) した。

毒性所見を表 34 に示した。

体重増加量、血液学的検査及び尿検査において、明らかな影響はみられなかった。(参照 8)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、120 mg/kg 体重/日以上投与群で BUN 増加並びに肝臓及び腎臓の変性変化がみられたことから、本試験における NOAEL は 60 mg/kg 体重/日と考えた。

²³ 一用量で実施された試験であるため、参考資料とした。

表 34 イヌの 28 週間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
240	・顕著な活動低下 ・脾臓の腫大 ・甲状腺及び腎臓の褪色
120 以上	・BUN 増加 ・肝臓及び腎臓の変性変化
60	毒性所見なし

(1 1) 5 日間反復投与試験 (サル) <参考資料²⁴>

サル (カニクイザル、雌雄 2 匹/群) にアジピン酸スピラマイシンを 5 日間静脈内投与 (0、240,000、360,000 又は 540,000 IU/kg 体重/日 (0、75、112 又は 169 mg(力価)/kg 体重/日)) した。

一般状態では、投与中に過度の流涎が全投与群でみられた。筋緊張低下及び吐気発作 (nauseous spasticity) が 169 mg(力価)/kg 体重/日投与群の数例及び 75 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例にみられた。

体重に異常はなかったが、摂餌量は全投与群で減少した。

剖検では、投与に起因する影響はみられなかった。

血液学的検査では、169 mg(力価)/kg 体重/日投与群で Hb、RBC 及び Ht の僅かな低値がみられた。

血液生化学的検査及び尿検査では、異常はみられなかった。

病理組織学的検査は実施されなかった。(参照 8)

(1 2) 10 日間反復投与試験 (ぶり) ①<参考資料²⁵>

ぶり (当歳魚、平均体重 400 g、20 尾/群) にエンボン酸スピラマイシンを 10 日間混餌投与 (40 又は 80 mg(力価)/kg 体重/日) した。投与期間中及び最終投与後 2 週間にわたり、死亡数並びに魚体及び行動を観察した。また、最終投与 1 及び 14 日後には各群 3 尾を病理組織学的検査に供した。

その結果、死亡例はみられず、行動異常並びに摂餌状況及び摂餌量の異常はみられなかった。病組織学的検査では、最終投与 144 時間後²⁶の 80 mg(力価)/kg 体重/日群の 2 例で、肝臓の実質細胞に軽微な萎縮がみられたのみであった。(参照 6、14、20)

(1 3) 10 日間反復投与試験 (ぶり) ②<参考資料²⁷>

ぶり (当歳魚、平均体重 600 g、100 尾/群) にエンボン酸スピラマイシンを 10 日間混餌投与 (0 又は 400 mg(力価)/kg 体重/日) した。投与 5 日前及び最終投与 5 日後

²⁴ 投与期間が短く静脈内投与試験のため、参考資料とした。

²⁵ 被験動物が魚類でほ乳類でないことから参考資料とした。

²⁶ 参照 14 及び 20 の試験方法では、病理組織学的検査は最終投与後 14 日に実施したとあるが、結果の表において 144 時間と記載している。

²⁷ 被験動物が魚類でほ乳類でないこと、投与期間が短いことから参考資料とした。

に体重を測定し、試験期間中の魚体、行動、摂餌状況等について観察した。また、最終投与 5 日後に各群 5 尾を検査した。

その結果、観察期間中に死亡例はみられず、行動異常並びに摂餌状況及び摂餌量の異常はみられなかった。体重も 400 mg(力価)/kg 体重/日投与群と対照群との間に差はみられなかった。(参照 6、14、20)

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 1 年間慢性毒性試験 (ラット)

ラット (系統及び齢不明、雌雄各 20 匹/群) にアジピン酸スピラマイシンを 1 年間混餌投与 (0、800、2,400 又は 7,200 ppm (0、80、240 又は 720 mg/kg 体重/日)) し、慢性毒性試験が実施された。投与開始 14 週後に雌雄各 5 匹/群を中間剖検に供した。

毒性所見を表 35 に示した。

摂餌量及び血液学的検査に異常はみられなかった。

病理組織学的検査では、対照群を除く投与群で肝細胞グリコーゲンの枯渇がみられたが、この所見の毒性学的意義は不明であった。(参照 6、8、11)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、720 mg/kg 体重/日投与群の雌で体重増加量の減少並びに雌雄で肝臓、腎臓及び副腎の相対重量の増加がみられたことから、本試験における NOAEL は 240 mg/kg 体重/日と考えた。

表 35 ラットの 1 年間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
720	・ 投与終了時に体重増加抑制 (雌) ・ 投与終了時に肝臓、腎臓及び副腎の相対重量増加 (雌雄)
240 以下	毒性所見なし

(2) 2 年間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、齢不明、雌雄各 4 頭/群) にアジピン酸スピラマイシンを 2 年間混餌投与 (0、3,000、4,000、5,000 又は 6,000 ppm (0、75、100、125 又は 150 mg/kg 体重/日)) し、慢性毒性試験が実施された。試験開始 70 週から追加の雌雄各 1 頭に 150 mg/kg 体重/日を混餌投与し、その 45 週後に薬物非含有の基礎飼料に切り替え、回復試験を行った。

毒性所見を表 36 に示した。

試験期間中に死亡はみられず、一般状態にも異常はみられなかった。

体重、血液学的検査、血液生化学的検査、尿定性検査、血圧及び心拍数に投与の影響はみられなかった。

投与開始 28 週で眼科学的变化が顕著にみられた。この変化は、投与開始 43、82 及び 105 週でも明確であり、100 mg/kg 体重/日以上投与群で発現した。この変化は、脈絡叢輝板 (タペタム) の構造消失を伴う斑状色素沈着であった。試験開始 70 週から追加した 2 匹では、投与 15 日後にタペタムに変化がみられ、投与 45 日後には本試験

で観察されたものと同様の重篤度であった。基礎飼料に切り替えると、この変化は14日以内に消失した。視力の低下はみられなかった。しかし、125 mg/kg 体重/日以上投与群では、試験開始 65 週で遠近調節の不全及び光感受性の不全を示し、両群の被験動物の舌には青く変色した部分がみられた。

回復試験に用いた 2 匹に網膜の傷害はみられなかった。(参照 6、8、11)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、100 mg/kg 体重/日以上投与群にタペタムの構造消失を伴う斑状色素沈着及び肝臓、脾臓等の組織の変性変化がみられたことから、本試験における NOAEL は 75 mg/kg 体重/日と考えた。

表 36 イヌの 2 年間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
125 以上	・心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎及び膵臓の絶対及び相対重量増加 ・網膜の空胞化及び萎縮性変化 ・心臓細動脈壁の一部肥厚
100 以上	・脈絡叢輝板（タペタム）の構造消失を伴う斑状色素沈着 ・肝臓、脾臓、前立腺、膵臓、リンパ節、胃、胆嚢、胆管、副腎及び小腸等の変性変化（大部分が細胞の空胞化）
75	毒性所見なし

（3）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

ラット（SD 系、齢不明、雌雄各 50 匹/群）にアジピン酸スピラマイシンを 2 年間混餌投与（0、1,500、3,000 又は 6,000 ppm(0、75、150 又は 300 mg/kg 体重/日)）し、慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

毒性所見を表 37 に示した。

投与群における死亡率の増加はみられなかった。

試験期間中、一般状態に異常はみられなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では影響はみられなかった。

病理組織学的検査では、投与に起因する影響はみられず、腫瘍発生率の増加もみられなかった。(参照 6、8、11)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、300 mg/kg 体重/日投与群で僅かな体重増加率の抑制並びに腎臓及び子宮重量の僅かな増加がみられたことから、本試験における NOAEL は 150 mg/kg 体重/日と考えた。発がん性はみられなかった。

表 37 ラットの 2 年間慢性毒性試験/発がん性併合試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
300	・体重増加率の僅かな抑制（試験終了時の対照群に比較して約 17%） ・腎臓及び子宮重量の僅かな増加
150 以下	毒性所見なし

7. 生殖発生毒性試験

(1) 生殖毒性試験（マウス）

マウス（CD-1 系、約 30 匹/群）の妊娠 5～15 日にアジピン酸スピラマイシンを強制経口投与（0、100、200 又は 400 mg/kg 体重/日）した。母動物は自然分娩をさせ、妊娠 21 日に出産しなかった動物については帝王切開し子宮内容物の検査を実施した。分娩後に児動物を検査し、生後 30 日間飼育し、児動物を剖検した。

母動物では、400 mg/kg 体重/日投与群において摂餌量が僅かに減少し、試験開始 15 及び 19 日後には対照群と比較して有意な体重の減少がみられた。

投与群において胎児毒性はみられず、出生時体重にも影響はみられなかった。生後の発達及び死亡率に投与の影響はみられなかった。生後 30 日において投与群の児動物の体重に投与の影響はみられなかった。（参照 6、8、11）

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、400 mg/kg 体重/日投与群の母動物で摂餌量減少を伴う有意な体重減少がみられたことから、母動物の NOAEL は 200 mg/kg 体重/日、児動物の NOAEL は 400 mg/kg 体重/日と考えた。

(2) 生殖毒性試験（ラット）＜参考資料²⁸＞

ラット（系統及び匹数不明、雄）にスピラマイシンを 8 日間投与（30 mg/kg 体重/日、投与経路不明）した。

その結果、精祖細胞における有糸分裂異常及び減数分裂異常がみられた。精母細胞の核変性は顕著にみられ、生殖細胞中の酵素活性（グルコース-6-リン酸脱水素酵素、コハク酸デヒドロゲナーゼ及び乳酸脱水素酵素）の低値がみられた。これらの変化は雄の繁殖能力を低下させると考えられたが、その低下の程度については本試験から評価することはできなかった。（参照 6、8）

(3) 発生毒性試験（ラット）＜参考資料²⁹＞

ラット（SD 系、20 匹/群）の妊娠 6～15 日にアジピン酸スピラマイシンを静脈内投与（0、90,000、180,000、又は 270,000 IU/kg 体重/日（0、28、56 又は 84 mg(力価)/kg 体重/日））した。妊娠 21 日に帝王切開し、子宮内容物について調べた。

母動物では、84 mg/kg 体重/日投与群で投与直後に短時間（5 分間）の運動失調及び振戦がみられ、流産を呈する動物もみられた。他に母体毒性はみられなかった。摂餌量又は体重に投与の影響はみられず、試験終了時の剖検でも影響はみられなかった。

黄体数、着床数、生存胎児数、及び吸収胚数に投与の影響はみられなかった。56 mg/kg 体重/日投与群において、僅かだが有意な胎児体重の低値がみられたが、いずれも背景データの範囲内であった。

本試験において、胎児の異常の発生頻度の増加はみられなかった。（参照 6、8、11）

²⁸ 投与経路が特定されないため、参考資料とした。

²⁹ 静脈内投与試験のため、参考資料とした。

(4) 発生毒性試験（マウス、ラット及びウサギ）＜参考資料³⁰⁾＞

マウス、ラット及びウサギの妊娠 5～15 日にエンボン酸スピラマイシンを経口投与 (400 mg(力価)/kg 体重/日) した。

その結果、胎児毒性、胎児の子宮内での成長に対する影響及び催奇形性はみられなかった。(参照 6、20)

(5) 発生毒性試験（ウサギ）①

ウサギ（フォーブ・ド・ブルゴーニュ種、約 20 匹/群）の妊娠 6～16 日にアジピン酸スピラマイシンを経口投与（0、100、200 又は 400 mg/kg 体重/日）した。動物は妊娠 28 日に帝王切開し、子宮内容物について調べた。胎児については、肉眼的異常、性別及び骨格異常を調べた。

母動物では、200 mg/kg 体重/日以上投与群で、摂餌量が僅かに減少した。投与期間中妊娠を継続した動物では、体重に投与の影響はみられなかった。200 mg/kg 体重/日以上投与群では流産した動物がみられ、流産した動物では対照群に比べて体重が減少した。いずれの群でも死亡例はみられなかった。

剖検の結果、200 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で著しい盲腸の拡張がみられた。著者らが実施した小規模の試験（スピラマイシンを 12 日間経口投与）では、200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群で盲腸重量がそれぞれ 43 及び 70%増加し、腸内細菌叢に対する顕著な影響が示唆された。

着床数は、投与群と対照群で同様であった。100 mg/kg 体重/日投与群では胎児毒性はみられず、対照群と比較して吸収率は低く、生存胎児数は多かった。しかし、200 mg/kg 体重/日以上投与群では著しい胎児毒性がみられた。帝王切開時まで妊娠を継続した母動物の一腹当たりの生存胎児数に投与の影響はみられなかったが、途中で流産した母動物の一腹当たりの生存胎児数は有意に減少し、吸収胚数は顕著に増加した。100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群では、胎児体重及び骨化の程度に投与の影響はみられなかった。400 mg/kg 体重/日投与群では、顕著な胎児体重の減少という発育遅延を呈したが骨化程度は正常であった。催奇形性はみられなかった。(参照 8、11)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、200 mg/kg 体重/日以上投与群において摂餌量の減少及び流産等がみられたことから、母動物に対する NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と考えた。また、200 mg/kg 体重/日以上投与群では流産をした母動物において一腹当たりの生存胎児数の顕著な減少といった胎児毒性がみられたことから、胎児に対する NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と考えた。

(6) 発生毒性試験（ウサギ）②＜参考資料³¹⁾＞

ウサギ（NZW 種、14 匹/群）の妊娠 6～19 日にアジピン酸スピラマイシンを静脈内投与（0、90,000、180,000 又は 270,000 IU/kg 体重/日(0、28、56 又は 84 mg(力価)/kg 体重/日)）した。妊娠 29 日に帝王切開し、子宮内容物について調べた。

³⁰⁾ 試験内容が乏しいことから、参考資料とした。

³¹⁾ 静脈内投与試験のため、参考資料とした。

母動物では、試験期間中、対照群 4 例及び 84 mg(力価)/kg 体重/日投与群 2 例が死亡又は瀕死状態により切迫殺した。これらの動物の剖検の結果、投与による影響はみられなかった。投与後に不随意的な咀嚼 (involuntary mastication)、流涎及び呼吸促迫が対照群を含む全群でみられた。これらの変化は被験物質投与群でより顕著であったが、用量相関性はみられなかった。体重及び摂餌量に投与の影響はみられなかった。

剖検の結果、影響はみられなかった。

着床数、生存胎児数、着床前及び着床後胚死亡数、胎児体重及び胎盤重量に投与の影響はみられなかった。また、胎児の異常の発生頻度の増加はみられなかった。(参照 8、11)

8. その他の毒性試験

(1) 皮膚感作性試験 (モルモット)

モルモット (Dunkin-Hartley 種、齢、性及び匹数不明) を用いてスピラマイシンの皮膚感作性について調べた。皮内及び局所投与により感作し、その後それぞれ皮内及び局所投与により惹起投与した。アレルギー反応はみられなかった。(参照 6、8)

9. ヒトにおける知見

スピラマイシンは、ヒトにおける薬物代謝酵素活性に影響を及ぼさないと考えられる。スピラマイシンは、ヒトにおけるテオフィリン、アンチピリン又はセファロスポリンの代謝に影響しなかった。

フランスの副作用報告では、ヒトに対する影響は低いことが示唆された。軽度の胃腸障害がスピラマイシンによる治療後にみられた。500 mg/ヒトの用量 (約 7.5 mg/kg 体重) で 1 日 4 回 5 日間投与した結果、血性下痢を伴う重篤な腹部の痙攣がみられた。投与を中止すると、24 時間以内にその症状は消失した。しかし、イヌを用いた試験ではスピラマイシンは腸蠕動に影響を及ぼしてはならず、ヒトにおける作用機序は不明である。

スピラマイシンの投与による食道の潰瘍発生例が 1 例報告されている。

スピラマイシンの投与による肝炎の発生例の報告はない。

アレルギー性皮膚血管炎がスピラマイシンによる治療後に 1 例報告されている。(参照 8)

10. 一般薬理試験

(1) 中枢神経に対する作用

スピラマイシンは、ヒキガエルの摘出心臓及び生体位のウサギの心臓に対し、大量投与又は高濃度で抑制的に作用する。また、ウサギにおいて、呼吸を一過性かつ軽度抑制する。

血圧に対しては降圧作用を示す。この作用は、抗ヒスタミン薬の前処理により、明らかに拮抗されたことから、スピラマイシンの降圧作用はヒスタミンを遊離させることにより発現すると考えられる。(参照 20)

(2) 末梢作用

ウサギの耳殻血管及びカエルの後肢血管に対し、スピラマイシンの大量投与で拡張作用がみられる。この作用は、アドレナリンと拮抗することから、スピラマイシンは自律神経の末梢に作用すると考えられる。また、スピラマイシンはウサギの皮膚血管透過性を亢進させる。

スピラマイシンは、神経筋接合部において、運動神経に対しては何の作用もせず、直接骨格筋に作用する。(参照 20)

(3) 酵素に対する影響

マウス(近交系 Balb/c)にスピラマイシンを1日2回3日間投与(12.5 及び 25 mg/kg 体重、投与経路不明)した結果、ペントバルビタールによる睡眠時間に影響を及ぼさなかったことから、薬物代謝酵素に影響しないことが示唆された。(参照 8)

1 1. 微生物学的影響に関する試験

(1) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ①

平成 18 年度食品安全確保総合調査「動物用抗菌性物質の微生物学影響についての調査」(平成 18 年 9 月～平成 19 年 3 月実施)において、ヒトの腸内細菌叢からの分離菌等に対するスピラマイシンの約 5×10^6 CFU/spot における MIC が調べられている。(表 38)

表 38 スピラマイシンのヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC₅₀

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (µg/mL)	
		MIC ₅₀	範囲
<i>Escherichia coli</i>	30	>128	128～>128
<i>Enterococcus</i> spp.	30	2	0.5～>128
<i>Bacteroides</i> spp.	30	128	8～>128
<i>Fusobacterium</i> spp.	20	>128	>128
<i>Bifidobacterium</i> spp.	30	0.25	0.12～>128
<i>Eubacterium</i> spp.	20	≤0.06	≤0.06～0.25
<i>Clostridium</i> spp.	30	32	2～>128
<i>Peptococcus</i> spp./ <i>Peptostreptococcus</i> spp.	30	1	≤0.06～16
<i>Prevotella</i> spp.	20	1	0.12～4
<i>Lactobacillus</i> spp.	30	1	0.5～4
<i>Propionibacterium</i> spp.	30	1	1～64

調査された菌種のうち、最も低い MIC₅₀ が報告されているのは *Eubacterium* spp. の 0.06 µg/mL 以下であった。本調査の結果から、MIC_{calc}³² は 0.347 µg/mL (0.000347 mg/mL) と算出された。(参照 22)

³² 薬剤がその菌に対して活性を有する最も関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90 %信頼限界の下限值

(2) ヒト大腸内嫌気性細菌叢分離菌に対する MIC

ヒト大腸内細菌叢の代表的な細菌の嫌気性 4 菌種 (*Bacteroides* spp., *Eubacterium* spp., *Clostridium* spp. 及び *Peptostreptococcus* spp.) における 8 菌株の MIC が得られた。純培養の被検菌 10^6 CFU/mL の濃度では、MIC は $0.25 \sim 2 \mu\text{g/mL}$ の範囲、 10^9 CFU/mL の濃度では $2 \sim >128 \mu\text{g/mL}$ の範囲であった。混合培養では、 10^6 CFU/mL の濃度で $16 \mu\text{g/mL}$ 、 10^9 CFU/mL の濃度で $>128 \mu\text{g/mL}$ であった。最頻値 MIC³³ は 10^6 CFU/mL の濃度で $0.5 \mu\text{g/mL}$ とされた。(参照 8、11)

(3) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC②

健常なヒト腸内細菌叢由来の 9 菌種 (各菌種 10 又は 20 菌株) に対するスピラマイシンの MIC の *in vitro* の評価が実施された。腸内細菌叢優勢細菌の *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., *Eubacterium* spp., *Clostridium* spp., *Lactobacillus* spp. 及び *Peptostreptococcus* spp. の各 10 菌株について、 10^9 CFU/mL の濃度で試験を実施した。また、同細菌叢の二番目に主要な細菌では、通性嫌気性菌の *E. coli* 及び *Enterococcus faecalis* の各 20 菌株について、 10^7 CFU/mL の濃度で試験を実施した。全部で 110 菌株を試験し、MIC は $1 \mu\text{g/mL}$ 以上であった。MIC₉₀ は、 $128 \mu\text{g/mL}$ 以上であった。(参照 10、23)

(4) 5 日間経口投与試験 (ヒト)

健常なヒトボランティア 6 名にスピラマイシン 1 g を 1 日 2 回 5 日間にわたり経口投与し、糞便及び口腔細菌叢への影響を調べた。糞便及び唾液試料を投与前、投与期間中並びに最終投与 7 及び 21 日後に採取した。

投与開始 5 日後 (最終投与日) の糞便中からは $689 \pm 48 \mu\text{g/g}$ ³⁴ の濃度のスピラマイシンが検出された。

糞便中では、嫌気性菌数にスピラマイシン摂取の影響はみられず、腸内の細菌及び腸球菌数にも投与の影響はみられなかった。同様に、真菌、ブドウ球菌又は緑膿菌の増加もみられなかった。投与期間中には、高濃度のスピラマイシンに対して耐性を有する腸内細菌数の増加がみられた。同様に、投与期間中の嫌気性菌及び腸球菌の MIC も上昇した。

これらのことから、スピラマイシンは 2 g/ヒト/日 (約 33 mg/kg 体重/日) を投与した健常なヒトの腸内細菌叢に限定的な影響があると考えられた。(参照 8、11)

(5) 無菌マウスを用いた *in vivo* 試験

健常なヒトボランティア由来の糞便中細菌叢の希釈物を嫌気的に無菌マウス (6 週齢、雌 20 匹) に移植し、ヒトの腸内細菌叢の大腸菌群及び腸球菌に対するスピラマイシンの影響について調べた。ヒト糞便中細菌叢を移植する前に *Bacteroides fragilis*

³³ 測定に用いた菌株の MIC のうち最も高頻度に観察された MIC (参照 8)

³⁴ 参照 11 では「a concentration of $689 \pm 48 \mu\text{g}$ (SD) of spiramycin in faeces」と記載されていることから、「 $\mu\text{g/g}$ 」と記載した。

を移植した。被験動物は、ヒト糞便中細菌叢の移植 7 日後に 5 匹ずつ 4 群に分け、表 39 のとおりスピラマイシンを 32 日間飲水投与した。

表 39 ヒト腸内細菌叢を移植した無菌マウスの 32 日間飲水投与試験における飲水濃度

群	動物数 (匹)	スピラマイシン濃度
1 (陰性対照)	5	0 mg/L
2 (陽性対照)	5	200 mg/L
3	5	0.2 mg/L (50 µg/kg 体重/日相当 ³⁵)
4	5	0.4 mg/L (100 µg/kg 体重/日相当)

投与開始 0、9 (10 回投与後) 及び 32 日後に採取した糞各 10 試料について、グラム陰性嫌気性菌、グラム陽性嫌気性菌、大腸菌群及び腸球菌の総数を測定した。さらに、分離した大腸菌群は 512 mg/L スピラマイシン加 PCB-デソキシコレート寒天培地を用いて、腸球菌は 4 mg/L スピラマイシン加胆汁エスクリン寒天培地を用いて、スピラマイシン耐性の程度についても評価した。

スピラマイシン耐性大腸菌群の比率は、全ての濃度の投与群において影響がみられなかった。

スピラマイシン耐性腸球菌の比率は、第 3 群では陰性対照と同様であった。第 2 群 (陽性対照) 及び第 4 群では、スピラマイシン耐性腸球菌の比率が増加した。

しかし、陰性対照群においてスピラマイシン耐性大腸菌群及び腸球菌の比率の変動が試験期間を通じて大きかった (大腸菌群：1.2～28%、腸球菌：4.7～55%) ことから、第 3 及び 4 群においてスピラマイシン耐性の腸球菌の比率が有意に増加したかどうかは不確かであると考えられた。

また、マウスの糞中の大腸菌群及び腸球菌の総数並びに耐性菌数の測定のために用いた選択培地のスピラマイシン濃度は一濃度のみであったことから、この点についても考慮しなければならないと考えられた。(参照 10、23)

III. 国際機関等の評価

1. JECFA における評価

JECFA では、スピラマイシンの毒性試験及びヒトの腸内細菌叢に対する影響を調べた試験の結果の中で、*in vitro* の MIC を測定した試験の結果を安全性の評価に用いるのが最も適切であると考えられた。

[II. 11. (2)]のヒト大腸内の嫌気性細菌叢由来菌を用いた試験で得られた最頻値 MIC 0.5 µg/mL を基に、標準的 *in vitro* 条件の細菌の発育阻害のデータを腸内における発育条件に外挿する不確実性を考慮し、ヒトの腸内細菌叢に影響を及ぼさない濃度は 1 µg/mL³⁶ (1 µg/g に相当) と推定された。

³⁵ 参照 10 では、40 µg/kg 体重/日と記載されている。

³⁶ 最頻値 MIC 0.5 µg/mL を、感受性菌の MIC の範囲を十分にカバーするために 10 で除し、さらに MIC 測定時の細菌濃度、培養や嫌気状態、スピラマイシン活性に対する腸内の好ましくない pH を考慮して 20 を乗じることによって、1 µg/mL が得られた。

[II. 11. (4)]のヒトボランティアの5日間経口投与（1 g のスピラマイシンを1日2回投与）試験では、投与5日後の糞便中に $689 \pm 48 \mu\text{g/g}$ の濃度のスピラマイシンが検出されたことから、利用可能な経口投与の分画は5%と推定された。さらに個人差を考慮した追加の安全係数10が適用された。

その結果、第38回会議（1990年）では、下記の計算式で示されるとおり、暫定的な一日摂取許容量（ADI）として、微生物学的 ADI の $5 \mu\text{g/kg}$ 体重/日（ 0.005 mg/kg 体重/日）を設定した。

$$\begin{aligned}\text{微生物学的 ADI} &= \frac{\text{ヒトの腸内細菌叢に影響を与えない濃度} \times \text{一日糞便量}}{\text{利用可能な経口投与の分画} \times \text{安全係数} \times \text{ヒトの体重}} \\ &= \frac{1(\mu\text{g/mL}) \times 150(\text{g})}{0.05 \times 10 \times 60(\text{kg})} = 5 \mu\text{g/kg 体重}\end{aligned}$$

第43回会議（1994年）では、新たに追加された微生物学的試験（[II. 11. (3)]）の結果も踏まえて、上述の式における安全係数を不要とし、ADIとして $50 \mu\text{g/kg}$ 体重/日が設定された。（参照 8、23）

2. EMEA における評価

当初、JECFA の安全性評価を追認し、暫定的な ADI として $50 \mu\text{g/kg}$ 体重/日を設定した。その後、JECFA の評価に用いられた資料を同様に評価することで、ADI として $50 \mu\text{g/kg}$ 体重/日とした。（参照 24、25）

IV. 食品健康影響評価

1. 毒性学的 ADI について

スピラマイシンについては、各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られていることから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられ、毒性学的 ADI を設定することは可能と考えられた。また、発がん性はみられなかった。

JECFA は毒性学的 ADI を決定していないが、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、毒性試験の成績に基づき、毒性学的 ADI を次のように推定した。

各種毒性試験のうち何らかの毒性影響が認められた試験の最小の NOAEL は、イヌを用いた 28 週間亜急性毒性試験における 60 mg/kg 体重/日であった。しかしながら、当該試験よりも長期試験であるイヌを用いた 2 年間慢性毒性試験の成績があり、当該試験の NOAEL 75 mg/kg 体重/日を用いることのほうが適当と考えられた。この NOAEL 75 mg/kg 体重/日に、通常使用される安全係数の最大値 1,000（種差及び個体差 100、追加の安全係数として 10）を適用したとしても、毒性学的 ADI の推定値は 0.075 mg/kg 体重/日であった。この毒性学的 ADI の推定値は、[IV. 2]の微生物学的 ADI と比較して 3 倍のマージンがある。

毒性学的 ADI の推定値が微生物学的 ADI よりも高い値であることから、ADI としては微生物学的 ADI を採用することが適切と考えられ、このことは JECFA の評価と同様

であった。

2. 微生物学的 ADI について

平成 18 年度食品安全確保総合調査「動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査」により、詳細な知見が得られており、この結果から VICH ガイドラインに基づいて微生物学的 ADI を算出することができる。

スピラマイシンの MIC_{calc} は 0.000347 mg/mL 、結腸内容物に 220 g 、微生物が利用可能な経口用量の分画（細菌が暴露される分画）に 0.05 、ヒト体重 60 kg を適用し、VICH の算出式により、以下のとおり算定された。

$$ADI = \frac{0.000347^{1)} \times 220^{2)}}{0.05^{3)} \times 60^{4)}} = 0.025 \text{ mg/kg 体重/日}$$

1) : MIC_{calc} : 薬剤がその菌に対して活性を有する属の平均 MIC_{50} の 90 %信頼限界の下限值 (mg/mL)

2) : 結腸内容物の量 (g)

3) : ヒトの経口投与試験における糞便中のスピラマイシン濃度から利用可能な経口投与の分画として、
 0.05 を適用

4) : ヒトの体重 (kg)

3. ADI の設定について

スピラマイシンの微生物学的 ADI 0.025 mg/kg 体重/日 を ADI として採用することが適当であると判断した。

以上より、スピラマイシンの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

スピラマイシン 0.025 mg/kg 体重/日

暴露量については、当該評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表 40 JECFA における各種試験の無毒性量等

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
マウス	発生毒性	0、100、200、400 (アジピン酸スピラマイシン・強制経口投与)	— 母動物(400) : 摂餌量減少、体重減少 催奇形性なし
ラット	4 週間亜急性毒性	250、1,000 (アジピン酸スピラマイシン・経口投与)	—
	32 日間亜急性毒性	0、28.1、56.3、84.4 (アジピン酸スピラマイシン・静脈内投与)	— 84.4 : 食欲低下、体重増加抑制、肝重量増加 56.3 以上 : 流涎、振戦
	8~10 週間亜急性毒性	0、200、600 (アジピン酸スピラマイシン・皮下投与)	— 600 : 腎臓の水腫、遠位尿細管の壊死、消化管粘膜の変性 200 以上 : 反射異常亢進、痙攣、Hb 減少、多くの器官の褪色、副腎の肥大
	13 週間亜急性毒性	雄 : 140、718、3,695 雌 : 162、785、3,911 (エンボン酸スピラマイシン・混餌投与)	140 雄 3,695、雌 3,911 : 体重増加抑制、摂餌量減少、尿タンパク量の減少、回復期間中の好中球数及びリンパ球数の減少 雄 718、雌 785 : 好中球数の減少、回復期間中の好中球数及びリンパ球数の減少
	1 年間慢性毒性	0、80、240、720 (アジピン酸スピラマイシン・混餌投与)	— 720 : 体重増加抑制、肝臓、腎臓、副腎の相対重量の増加
	2 年間慢性毒性発がん性併合	0、75、150、300 (アジピン酸スピラマイシン・混餌投与)	300 300 : 体重増加率の僅かな抑制、腎臓及び子宮重量の僅かな増加 発がん性なし
	生殖毒性	30 (スピラマイシン・経路不明)	— 精祖細胞の有糸分裂異常及び減数分裂異常、精母細胞の核変性、生殖細胞の酵素活性の低下
	発生毒性	0、28、56、84 (アジピン酸スピラマイシン・静脈内投与)	— 母動物(84) : 運動失調、振戦、流涎 催奇形性なし
ウサギ	発生毒性	0、100、200、400 (アジピン酸スピラマイシン・経口投与)	— 母動物(200 以上) : 摂餌量の減

		シン・経口投与)	少、流産 胎児(200 以上)：流産した母動物の一腹当たりの生存胎児数の減少 催奇形性なし
	発生毒性	0、28、56、84 (アジピン酸スピラマイシン・静脈内投与)	— 催奇形性なし
イヌ	4 週間亜急性毒性	200、500 (アジピン酸スピラマイシン・経口投与)	—
	4 週間亜急性毒性	75、112.5、168.8 (アジピン酸スピラマイシン・静脈内投与)	— 168.8:腎糸球体部及びメサングウム細胞の僅かな肥大 112.5 以上:脾臓の絶対及び相対重量の増加並びに腫大
	4 週間亜急性毒性	50 (アジピン酸スピラマイシン・静脈内投与)	— 虚脱、痙攣、嘔吐、流涎、チアノーゼ、運動失調、頭部振盪
	56 日間亜急性毒性	500 (アジピン酸スピラマイシン・経口投与)	— 死亡、食欲不振、流涎、嘔吐、下痢、摂餌量の減少、貧血、脾臓の褪色及び腫大、脾臓及び肝臓の褪色、副腎の肥大、精巣の萎縮、精子形成の低下、腎臓に数か所の壊死
	28 週間亜急性毒性	0、60、120、240 (アジピン酸スピラマイシン・経口投与)	60 240:活動低下、脾臓の腫大、甲状腺及び腎臓の褪色 120 以上:BUN の上昇、肝臓及び腎臓の変性
	2 年間慢性毒性	0、75、100、125、150 (アジピン酸スピラマイシン・混餌投与)	75 125 以上:網膜の空胞化及び萎縮性変化、心臓・肝臓・腎臓・脾臓・副腎・脾臓の絶対及び相対重量の増加 100 以上:脈絡叢輝板の構造消失を伴う斑状色素沈着、肝臓・脾臓・前立腺・脾臓・副腎・リンパ節・胃等の変性変化
サル	5 日間反復投与	0、75、112、169 (アジピン酸スピラマイシン・静脈内投与)	— 169:Hb、RBC 及び Ht の僅かな低下、筋緊張低下及び吐気発作(数例)

			75 以上：摂餌量減少 75：筋緊張低下及び吐気発作(1例)
毒性学的 ADI			—
微生物学的 ADI (mg/kg 体重/日)			0.05
微生物学的 ADI 設定根拠			健常なヒト腸内細菌叢由来菌の MIC：JECFA 式
ADI			0.05

〈別紙 1：代謝物略称〉

略称等	名称
代謝物 A	スピラマイシン I のシステイン抱合体
代謝物 B	スピラマイシン III のシステイン抱合体
代謝物 C	代謝物 E のシステイン抱合体
代謝物 D	代謝物 F のシステイン抱合体
代謝物 E	スピラマイシン I の脱ミカロース体（ネオスピラマイシン I） IUPAC 名：2-[(4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4-(dimethylamino)-3,5-dihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-10-[(5S,6R)-5-(dimethylamino)-6-methyloxan-2-yl]oxy-4-hydroxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-2-oxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl]acetaldehyde CAS (No. 70253-62-2) 分子式：C₃₆H₆₂N₂O₁₁ 分子量：698.88
代謝物 F	スピラマイシン III の脱ミカロース体（ネオスピラマイシン III） IUPAC 名：[(11Z,13E)-6-[4-(dimethylamino)-3,5-dihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-10-[5-(dimethylamino)-6-methyloxan-2-yl]oxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-2-oxo-7-(2-oxoethyl)-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-4-yl] propanoate CAS (No. 4617-99-6) 分子式：C₃₉H₆₆N₂O₁₂ 分子量：754.95

〈別紙 2：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
Alb	アルブミン
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [＝グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
Bil	ビリルビン
BUN	血液尿素窒素
CFU	コロニー形成単位
Chol	コレステロール
C _{max}	血中最高濃度
ECG	心電図
EMEA	欧州医薬品（審査）庁
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Hb	ヘモグロビン（血色素）量
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	半数致死量
MIC	最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50%最小発育阻止濃度
MIC ₉₀	90%最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
RBC	赤血球数
TG	トリグリセライド
TLC	薄層クロマトグラフィー
Vd	分布容積

〈参照〉

1. The Merck Index, 15th Edition
2. JECFA: Spiramycin. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition Paper 1991; 41/4: 97-107
3. (独) 医薬品医療機器総合機構 医薬品医療機器情報提供ホームページ
<http://www.info.pmda.go.jp/>
4. 農林水産省動物医薬品検査所 動物用医薬品等データベース
http://www.nval.go.jp/asp/asp_dbDR_idx.asp
5. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
6. コーキン化学株式会社：エンボン酸スピラマイシン（スピラマイシン） 食品健康影響評価に関する資料（未公表）
7. スピラマイシン。（社）日本水産資源保護協会、水産用医薬品使用指針 3 p12-22
8. JECFA: Spiramycin. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, 1991, WHO Food Additives Series No.29
9. JECFA: Spiramycin. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition Paper 1995; 41/7: 90-103
10. WHO: Spiramycin. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Technical Report Series 855, 1995, p38-43
11. WHO: Spiramycin. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Technical Report Series 815, 1991, 31-36
12. JECFA: Spiramycin. Residues of some veterinary drugs in animal and foods. FAO Food and Nutrition Paper 41/9, 1997, 78-87
13. 米沢昭一、畦地速見、中村久、寺門誠致、小山敬之、近藤邦雄ら：スピラマイシンの鶏体内における分布と消長。動物医薬品検査所年報、1974; 11:41-47
14. 窪田三朗、宮崎照雄、舟橋紀男、落合忍仁、菅善人：スピラマイシンに関する魚病療法的研究－I ブリにおける吸収、分布、残留性および安全性。三重大学水産学部研究報告、1980; 7:151-166
15. スピラマイシン エンボネート。配合飼料講座編纂委員会編（チクサン出版）、配合飼料講座（上巻）チクサン出版、1980; 375-377
16. Minoru Yoshida, Daisaku Kubota, Shoichi Yonezawa, Hisashi Nakamura, Hayami Azechi and Nobuyuki Terakado: Transfer of dietary spiramycin into the eggs and its residue in the liver of laying hen. 日本家禽学会誌 1971; 8(2): 103-110
17. Minoru Yoshida, Shoichi Yonezawa, Hisashi Nakamura, Hayami Azechi, Nobuyuki Terakado and Teiji Horiuchi: Residue of dietary chlortetracycline and spiramycin in blood, muscles and liver of growing chicks. 日本家禽学会誌 1971; 8(2): 94-102
18. B. Roudaut and J. P. Moretain: Residues of macrolide antibiotics in eggs following medication of laying hens. British Poultry Science 1990; 31: 661-675
19. Rhone Poulenc : Spiramycin (5337 R.P.): medicinal feed additive（未公表）
20. 菅善人：スピラマイシンのすべて。魚病研究 1982; 17(1):87-99

21. Boyd EM and Brown TMD: The chronic subcutaneous toxicity of spiramycin adipate. Can Med Assoc J 1958; 78: 671-674
22. 食品安全委員会：平成 18 年度食品安全確保総合調査 動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査、2007 年
23. JECFA: Spiramycin. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, 1994, WHO Food Additives Series No.34
24. EMEA: Committee For Veterinary Medicinal Products, “SPIRAMYCIN”, Summary Report (1), 1997
25. EMEA: Committee For Veterinary Medicinal Products, “SPIRAMYCIN”, Summary Report (2), 1997

スピラマイシンに係る食品健康影響評価に関する審議結果(案)についての意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 平成28年8月10日～平成28年9月8日
2. 提出方法 郵送、インターネット、ファックス
3. 提出状況 スピラマイシンに係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）について、上記のとおり、意見・情報の募集を行ったところ、期間中に意見・情報はありませんでした。

動物用医薬品「スピラマイシン」に係る評価書の変更点

修正箇所	食品安全委員会第 623 回会合資料 変更後	食品安全委員会第 618 回会合資料 変更前												
P5 L↓10	スピラマイシンについては、各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られていることから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられ、 <u>毒性学的 ADI を設定することは可能と考えられた。また、発がん性はみられなかった。</u>	スピラマイシンについては、各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られていることから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられ、 <u>閾値の設定は可能であると考えられた。また、発がん性もみられなかったことから、毒性学的 ADI を設定することが可能である。</u>												
P13 脚注	⁶ 参照 9 では、5.2 µg/g と記載している。 ⁷ 参照 9 では、<0.2 µg/g と記載している。	⁶ 参照 8 では、5.2 µg/g と記載している。 ⁷ 参照 8 では、<0.2 µg/g と記載している。												
P34 L↓22	食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、100 mg/kg 体重/日以上投与群に <u>タペタム</u> の構造消失を伴う斑状色素沈着及び肝臓、脾臓等の組織の変性変化がみられたことから、本試験における NOAEL は 75 mg/kg 体重/日と考えた。	食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、100 mg/kg 体重/日以上投与群に <u>脈絡叢輝板(タペタム)</u> の構造消失を伴う斑状色素沈着及び肝臓、脾臓等の組織の変性変化がみられたことから、本試験における NOAEL は 75 mg/kg 体重/日と考えた。												
P36 L↓15	56 mg/kg 体重/日投与群において、 <u>僅かだが有意な胎児体重の低値がみられたが、いずれも背景データの範囲内であった。</u>	56 mg/kg 体重/日投与群において、 <u>僅かな有意な胎児体重の低値がみられたが、いずれも背景データの範囲内であった。</u>												
P40 表 39	表 39 ヒト腸内細菌叢を移植した無菌マウスの 32 日間飲水投与試験における飲水濃度 <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <th>群</th><th>動物数 (匹)</th><th>スピラマイシン濃度</th></tr> <tr> <td>(略)</td><td>(略)</td><td>(略)</td></tr> </table>	群	動物数 (匹)	スピラマイシン濃度	(略)	(略)	(略)	表 39 ヒト腸内細菌叢を移植した無菌マウスの 32 日間飲水投与試験における飲水濃度 <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <th>群</th><th>動物数 (匹)</th><th>投与物質又はスピラマイシン濃度</th></tr> <tr> <td>(略)</td><td>(略)</td><td>(略)</td></tr> </table>	群	動物数 (匹)	投与物質又はスピラマイシン濃度	(略)	(略)	(略)
群	動物数 (匹)	スピラマイシン濃度												
(略)	(略)	(略)												
群	動物数 (匹)	投与物質又はスピラマイシン濃度												
(略)	(略)	(略)												
P42 L↓8	スピラマイシンについては、各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られていることから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられ、 <u>毒性学的 ADI を設定することは可能と考えられた。また、発がん性はみられなかった。</u>	スピラマイシンについては、各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られていることから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられ、 <u>閾値の設定は可能であると考えられた。また、発がん性もみられなかったことから、毒性学的 ADI を設定することが可能である。</u>												

※ 修正箇所は、第 618 回会合資料におけるページ数、行数
P ; ページ数、L↓ ; 当該ページの上から数えた行数