府　食　第　１　６　号
令 和 ４ 年 １ 月 １ ９ 日

厚生労働大臣
　後藤　茂之　殿

食品安全委員会
　委員長　　山本　茂貴

食品健康影響評価の結果の通知について

平成25年12月６日付け厚生労働省発食安1206第5号及び令和３年２月９日付け厚生労働省発生食0209第8号をもって厚生労働大臣から当委員会に意見を求められたナイカルバジンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第２項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添１のとおりです。

また、本件に関して行った国民からの意見・情報の募集において、貴省に関連する意見・情報が別添２のとおり寄せられましたので、お伝えします。

記

ナイカルバジンの許容一日摂取量を 0.2 mg/kg 体重/日（DNC として）とする。

別添1

動物用医薬品・飼料添加物
評価書

ナイカルバジン

令和４年（２０２２）年１月

食品安全委員会

目次

頁

〈審議の経緯〉

2005 年	11 月	29 日	暫定基準告示（参照 1）
2013 年	12 月	6 日	厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安 1206 第 5 号）
2013 年	12 月	16 日	第 498 回食品安全委員会（要請事項説明）
2021 年	2 月	9 日	厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発生食 0209 第 8 号）
2021 年	2 月	16 日	第 805 回食品安全委員会（要請事項説明）
2021 年	3 月	26 日	第 160 回肥料・飼料等専門調査会
2021 年	5 月	14 日	第 162 回肥料・飼料等専門調査会
2021 年	6 月	23 日	第 164 回肥料・飼料等専門調査会
2021 年	11 月	30 日	第 840 回食品安全委員会（報告）
2021 年	12 月	1 日	から 12 月 30 日まで　国民からの意見・情報の募集
2022 年	1 月	12 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
2022 年	1 月	18 日	第 844 回食品安全委員会 1 月 19 日付で厚生労働大臣へ通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2015 年 6 月 30 日まで）		（2021 年 6 月 30 日まで）	
熊谷 進	（委員長）	佐藤 洋	（委員長*）
佐藤 洋	（委員長代理）	山本 茂貴	（委員長代理*）
山添 康	（委員長代理）	川西 徹	
三森 国敏	（委員長代理）	吉田 緑	
石井 克枝		香西 みどり	
上安平 洌子		堀口 逸子	
村田 容常		吉田 充	

＊: 2018 年 7 月 2 日から

（2021 年 7 月 1 日から）

山本 茂貴（委員長）
浅野　 哲（委員長代理　第一順位）
川西　 徹（委員長代理　第二順位）
脇　 昌子（委員長代理　第三順位）
香西 みどり
松永 和紀
吉田　 充

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2021 年 9 月 30 日まで）

今井 俊夫 （座長）
山中 典子 （座長代理）
新井 鐘蔵　下位 香代子
荒川 宜親　代田 真理子
井手 鉄哉*　中山 裕之
今田 千秋　宮島 敦子
植田 富貴子　森田 健
川本 恵子　山口 裕子
小林 健一　山田 雅巳
佐々木 一昭

＊: 2021 年 6 月 30 日まで

（2021 年 10 月 1 日から）

森田 健 （座長*）
川本 恵子 （座長代理*）
吉田 敏則 （座長代理*）
赤沼 三恵　小林 健一
新井 鐘蔵　佐々木 一昭
荒川 宜親　代田 眞理子
井上 薫　高橋 研
今田 千秋　中山 裕之
植田 富貴子

＊: 2021 年 10 月 25 日から

〈第 162、164 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明（公益財団法人食の安全・安心財団理事長）
吉田 敏則（東京農工大学農学研究院動物生命科学部門准教授）

要約

抗原虫作用を有する動物用医薬品及び飼料添加物である「ナイカルバジン」CAS（330-95-0）について、各種資料を用いて食品健康影響評価を実施した。
遺伝毒性試験については、ナイカルバジン並びにその構成成分であるDNC及びHDPには、ナイカルバジンが動物用医薬品又は飼料添加物として用いられた場合、食品を介してヒトに対して特段問題となる遺伝毒性はなく、ADIが設定可能であると判断した。

亜急性毒性試験及び慢性毒性試験では、ナイカルバジンについては、LOAELとして100 mg/kg 体重/日が得られた。DNC及びHDPの混合物については、52週間投与試験における主に腎臓の所見に基づき、NOAELが、DNCとして20 mg/kg 体重/日、HDPとして8 mg/kg 体重/日とする結果が得られた。DNCについては、91日間投与試験におけるNOAELは、709 mg /kg 体重/日とする結果が得られた。

生殖発生毒性試験では、DNC を投与した試験は実施されていない。ナイカルバジンについては、ウサギを用いた発生毒性試験において、母動物のNOAELについては肝臓における所見から 60 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は胎児への影響がみられないことから120 mg/kg 体重/日とする結果が得られた。DNCとHDPの混合物では、胎児に対する毒性として、LOAELがDNCとして580 mg/kg 体重/日、HDPとして193mg/kg 体重/日と判断された。

ナイカルバジンの ADI の設定に当たっては、ナイカルバジンの鶏における薬物動態及び残留試験の結果から、ヒトがばく露する物質は、鶏へ投与されるナイカルバジンではなく、その構成成分であるDNC及びHDPであると考えられた。また、DNCと HDP を比較すると、DNC の方が残留期間は長く、毒性試験において、ADI の設定根拠となる試験は、ナイカルバジンを投与したものではなく、混合物を投与する毒性試験を用いて評価することが適当であると考えられた。DNC については毒性データが不足していることから、混合物の毒性試験結果で評価を行った。

各種毒性試験のうち、DNC及びHDPについて最も低いNOAELは、ラットを用いた52週間慢性毒性試験におけるDNC 20 mg/kg 体重/日及びHDP 8 mg/kg 体重/日であった。これらのNOAELに基づき、安全係数100を適用し、毒性学的ADIは、DNCについては0.2 mg/kg 体重/日、HDPについては0.08 mg/kg 体重/日と設定した。

微生物学的影響調査結果においては、ナイカルバジン、DNC 及び HDP のいずれも抗菌活性がみられないことから、微生物学的 ADI の設定は不要であり、毒性学的ADIを採用することが適当であると考えた。

体内動態試験、薬物動態試験、残留試験の結果から、ヒトへの主なハザードはナイカルバジンではなく、その構成成分であるDNCであるため、動物用医薬品又は飼料添加物としてナイカルバジンが用いられた場合、そのADIは、上記NOAELに基づき、DNCとして0.2 mg/kg 体重/日であると判断した。

Ⅰ．評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

１．用途

動物用医薬品：鶏を対象動物とする抗コクシジウム薬
飼料添加物：鶏飼料中の栄養成分の有効利用（参照 2）

２．有効成分の一般名

和名：ナイカルバジン
英名：Nicarbazin（参照 2）

３．化学名等

IUPAC：1,3-bis(4-nitrophenyl)urea; 4,6-dimethyl-1H-pyrimidin-2-one
CAS: 330-95-0
別名：4,4'-dinitrocarbanilide (DNC)・4,6-dimethyl-2-pyrimidinol (HDP)
※DNC は、日本における残留基準における名称としては *N,N'*−ビス−（4−ニトロフェニル）ウレアとされている。
※DNC と HDP は等モルコンプレックス[1]を形成（参照 25）

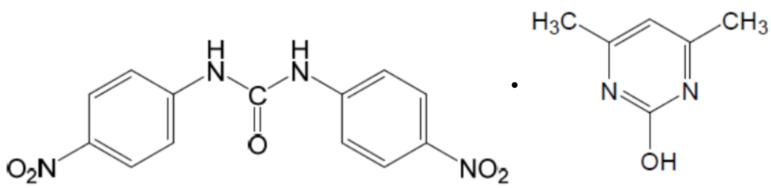
４．分子式

$C_{19}H_{18}N_6O_6$（参照 2、3、6）

５．分子量

426.39（参照 6）

６．構造式



（4,4'-dinitrocarbanilide（DNC））　（4,6-dimethyl-2-pyrimidinol（HDP））

（参照 3、6）

７．使用目的及び使用状況等

ナイカルバジンは 1,3-bis(4-nitrophenyl)urea（DNC）及び 4,6-dimethyl-1H-pyrimidin-2-one（HDP）の等モルコンプレックスであり、抗原虫作用を有する。

日本では動物用医薬品及び飼料添加物として使用されている。動物用医薬品とし

[1]ナイカルバジンは複合体や化合物ではなく、主な構成成分の DNC と HDP が水素結合を含む分子間力で結合する「コンプレックス」を形成している(参照 5)。

ては、肉用鶏及び卵用鶏（採卵鶏を除く）のコクシジウム病の予防を目的とし、飼料１ｔ当たり 100～200 g を配合する飼料添加剤が承認されている。本動物用医薬品は、農林水産省令に基づきと畜前 16 日間の使用禁止期間が設定されている。なお、この 16 日間の使用禁止期間は、給餌器等を介した物理的移行残留を考慮したものとされている。飼料添加物としては、飼料中の栄養成分の有効利用を目的とし、肉用鶏用飼料のうち前期のみに添加を限定し、1t 当たり 100 g までの添加が認められている。

海外では、鶏の抗コクシジウム剤として、欧米を含む 60 か国以上で、販売・使用が認められている。この場合、抗コクシジウム作用を有するナラシン（イオノフォア抗生物質）との合剤で用いられる場合も多い。主な海外での使用状況を表 1 にまとめた。ヒト用医薬品としての販売・使用に関する報告は確認されていない。

今回、インポートトレランス申請に伴い、厚生労働省から鶏に関する残留基準値の設定について食品健康影響評価の要請がなされた。

なお、ナイカルバジンはポジティブリスト制度導入に伴う残留基準が設定されている。このナイカルバジンの基準値は、DNC と HDP のコンプレックスではなく、主な構成成分である *N*, *N'*-ビス－（４－ニトロフェニル）ウレア（DNC）とされている。（参照 2、4、7、8、9）

表 1　主な海外での使用状況

国	薬剤	用量（mg/kg 飼料）	適応症	休薬期間（日）
EU	ナイカルバジン	125	肉用鶏：コクシジウム及びヒストモナス症	1
	ナラシン合剤 [a]	40/40～50/50	コクシジウム症（*Eimeria acervulina*、*E. brunetti*、 *E. maxima*、*E. necatrix* 及び *E. tenella*）	なし
米国	ナイカルバジン	100～200	肉用鶏：盲腸コクシジウム及び小腸コクシジウム症	4 (<125) 5 (>125)
	ナラシン合剤	30/30～50/50	コクシジウム症（*E. necatrix*、 *E. tenella*、*E. acervulina*、*E. brunetti*、 *E. mivati* 及び *E. maxima*）	なし
カナダ	ナイカルバジン	100～150 200	幼・中雛：コクシジウム症（12 日齢まで）	4
	ナラシン合剤	40/40～50/50	肉用鶏：コクシジウム症（*E. necatrix*、 *E. tenella*、*E. acervulina*、*E. brunetti*、 *E. maxima*、*E. mitis*）	なし
オーストラリア	ナイカルバジン	～125	肉用鶏：コクシジウム症	1
	ナラシン合剤	40/40～50/50	コクシジウム症（*E. acervulina*、*E. brunetti*、 *E. maxima*、*E. mivati*、 *E. necatrix* 及び *E. tenella*）	なし
ブラジル	ナラシン合剤	40/40～70/70	コクシジウム症（*E. necatrix*、 *E. tenella* *E. acervulina*、*E. brunetti*、 *E. mivati* 及び *E. maxima*）	8
メキシコ	ナラシン合剤	40/40～50/50	肉用鶏：コクシジウム症（*E. necatrix*、 *E. tenella*、*E. acervulina*、*E. brunetti*、 *E. maxima*、*E. mivati*）	5

a: ナラシンはサリノマイシン誘導体（ポリエーテル系イオノフォア）である抗コクシジウム剤。各種抗コクシジウム剤との合剤として用いられる場合がある。

Ⅱ．安全性に係る知見の概要

本評価書では、残留基準設定に関する審査用資料、EFSA による評価書等をもとに毒性に関する主な知見を整理した。

１．体内動態試験

（１）体内動態試験（ラット、ナイカルバジン、単回又は 8 日間経口投与）

① 単回経口投与試験

ラット（詳細不明）にナイカルバジンを単回経口投与（1、5 又は 10 mg/kg 体重）する体内動態試験が実施された。投与後 6 及び 18 時間後に各群 1 匹から血液を採取し DNC 及び HDP 濃度が測定された。

その結果、投与 6 時間後では DNC 濃度は低く、18 時間後では検出限界（LOD）未満であった。血中 HDP 濃度は投与後 6 時間から 18 時間の間に上昇し、比較的高い濃度がみられた。

② 8 日間反復経口投与試験

ラット（詳細不明）にナイカルバジンを 8 日間経口投与（0.1、1 又は 5 mg/kg 体重）する体内動態試験が実施された。最終投与 4 及び 24 時間後に血液を採取し、血中 DNC 及び HDP 濃度を測定した。

その結果、血中 HDP 濃度は用量依存性がみられたが、DNC 濃度は平坦であり、それらの動態は①の試験と同様であった。また、最終投与 5 時間後の尿中ではナイカルバジン濃度が投与量依存的にみられ、DNC に比べ HDP 濃度は基礎値が 10 倍高値であった [2]。（参照 10）

（２）体内動態試験（ラット、ナイカルバジン、DNC、DNC＋HDP、単回経口投与）

ラット（SD 系、雄 11.5 週齢、各 5 匹/群）にナイカルバジンを経口投与（50、150 又は 450 mg/kg 体重（DNC として 35、106 又は 319 mg/kg 体重））する薬物動態試験が実施された。ナイカルバジンの体内動態を分析するために、DNC 単独（150、450 又は 900 mg/kg 体重）及び DNC と HDP の混合物（50、150 又は 450 mg/kg 体重）を経口投与する群を設定した。投与 0.5、1、2、4、8、12、24、36、48 及び 72 時間後に採血し、血漿中 DNC 濃度が測定された。

ナイカルバジン投与群では、投与 0.5 時間後で全例から DNC が検出され、最高血中濃度到達時間（T_{max}）は投与 2～4 時間後であり、その後時間の経過とともに減少したが、投与 72 時間後においても LOQ（0.1 ng/mL）を上回った。

DNC 単独投与群では、投与 0.5 時間後で全例から DNC が検出され、T_{max} は 450 及び 900 mg/kg 体重投与群では投与 2 時間後で、150 mg/kg 体重投与群では投与 12 時間後であり、その後減少したものの、投与 72 時間後においてもほとんどの例で LOQ を超えていた。DNC と HDP 混合物投与群では、投与 0.5 時間後に全ての血漿から DNC が検出され、T_{max} は 50 mg/kg 体重投与群で投与 24

[2] 参照資料に値は示されていない。

時間後、150 mg/kg 体重投与群で 2 時間後、450 mg/kg 体重投与群では 8 時間後であり、その後減少したが、投与 72 時間後においてもほとんどの例で LOQ を超える DNC が検出された。

DNC はナイカルバジンの形で投与するより、DNC 単独又は DNC と HDP の混合物として投与する方がより高い体内ばく露となることが示された。(参照 2、11、12、13)

（３）体内動態試験（ラット、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、5 日間経口投与）

ラット（Fischer 系、雌雄各 3 匹）に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン[3]を 5 日間経口投与（1 mg/mL/日）する体内動態試験が実施された。

糞便抽出物は、総放射活性の 77%を含み、尿は 60%を含んでいた。代謝に性差はみられず、薄層クロマトグラフィー（TLC）により糞便中の主要物質は DNC 及び M1（*N,N'*-ビス（4-アセチルアミノフェニル）尿素）と同定され、尿中では M1 及び M3（*N,N'*-4 アセチルアミノ-4'-ニトロジフェニル尿素）が主要物質であることが示された。高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析により代謝物 M1 は DNC の両方のニトロ基が還元され、アセチル化された物質であり、M3 は 1 ニトロ基が還元、アセチル化されたものであった。鶏を用いた試験結果との比較から、ラットでの残留プロファイルは、鶏のプロファイルと類似することが示された。（参照 12、14）

（４）体内動態試験（ラット、DNC、91 日間経口投与）

ラット（Sprague Dawley 系、雌雄各 4 匹/群）に、DNC を 91 日間経口投与（106、284 又は 709 mg/kg 体重/日（ナイカルバジンとして 150、400 又は 1,000 mg/kg 体重/日に相当））する体内動態試験が実施された。

各週 1 回採血した血中動態検査では、雌及び雄の血漿中濃度−時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}\tau}$）及び血中最大濃度（C_{max}）は、106 mg/kg 体重から 284 mg/kg 体重投与群では用量依存的に増加したが、試験終了時における 284 mg/kg 体重及び 709 mg/kg 体重投与群では両検査項目とも増加しなかった。（参照 11）

２．残留に関する知見

（１）対象動物における薬物動態試験

①　薬物動態試験（鶏、ナイカルバジン、DNC＋HDP、単回経口投与）

鶏を用いたナイカルバジン投与後の血中及び組織中濃度変化について検討した薬物動態試験が報告されている。本試験は以下の 4 つの小試験により行われた。（参照 15）

---

[3] 本評価書では、ナイカルバジンの放射性標識部位について、DNC 部位を ^{14}C で標識したものを ^{14}C-DNC ナイカルバジンとし、HDP 部位を ^{14}C で標識したものを ^{14}C-HDP ナイカルバジンと表記する。

a.　試験 1（ナイカルバジン、DNC＋HDP 混合物、単回経口投与）

鶏（卵用鶏、4 週齢、5 羽/群/時点）にナイカルバジンを単回経口投与（1,000 mg/kg 体重）する薬物動態試験が実施された。対照群として DNC（650 mg/kg 体重）と HDP（350 mg/kg 体重）の混合物投与群を設けた。投与 0.5、1、2 及び 4 時間後に剖検し、血中、排泄物中及び消化管内の DNC 及び HDP 濃度が測定された。

結果を表 2 に示した。

DNC の吸収は速やかであるが HDP に比較すると緩やかであり、HDP の吸収は DNC と HDP の混合物よりもナイカルバジン投与時の方が遅く、混合物であってもナイカルバジンと同様に、HDP の方が DNC よりも吸収速度は速かった。腸管内よりも糞便中 HDP 濃度が高いのは、HDP が急速に吸収・排泄されるためであると考えられた。

表 2　鶏におけるナイカルバジン又は DNC+HDP 混合物単回経口投与後の血漿及び組織中の DNC 及び HDP 濃度(μM)

組織	投与物質[a]	測定物質	投与後時間（時間）			
			0.5	1.0	2.0	4.0
前位腸管	ナイカルバジン	DNC	496	199	142	13
		HDP	183	142	117	34
	混合物	DNC	430	430	288	96
		HDP	90	47	36	15
後位腸管	ナイカルバジン	DNC	20	275	453	166
		HDP	11	52	99	29
	混合物	DNC	0	27	818	341
		HDP	25	25	16	4
排泄物	ナイカルバジン	DNC				586
		HDP				171
	混合物	DNC				364
		HDP				169
血漿	ナイカルバジン	DNC	2.2	2.2	5.7	8.9
		HDP	400	600	700	500
	混合物	DNC	0	0.7	0	1.1
		HDP	1,500	1,500	1,100	400

a: ナイカルバジン：1,000 mg/kg、混合物：DNC（650 mg/kg）+HDP（350 mg/kg）

b.　試験 2（ナイカルバジン、DNC＋HDP 混合物、DNC、HDP、単回経口投与）

鶏（卵用鶏、4 週齢、5 羽/群/時点）にナイカルバジンを単回経口投与（1,000 mg/kg 体重）する薬物動態試験が実施された。対照群として DNC（650 mg/kg 体重）及び HDP（350mg/kg 体重）の各単独又は混合物投与群が設定された。投与 2 及び 20 時間後に血漿中濃度が測定された。

表 3 に結果を示した。

HDP の急速な吸収が示唆され、投与後 20 時間では LOD 未満であったことから、排泄も迅速であることが示された。DNC は投与後 20 時間でも検出さ

れ、HDPより吸収、代謝、排泄が緩徐であった。HDPは単独及び混合投与よりもナイカルバジンとしての投与での吸収がより緩徐であった。

表3　鶏におけるナイカルバジン、DNCとHDPの各単独あるいは混合物の単回経口投与後の血中DNC及びHDP濃度(μM)

投与物質(mg/kg)	検出物	投与後時間（時間）	
		2	20
ナイカルバジン(1,000)	DNC	8.5	12.0
	HDP	460	0
混合 (DNC650+HDP350)	DNC	3.5	3.0
	HDP	860	0
DNC単独(650)	DNC	2.5	1.0
	HDP	0	0
HDP単独(350)	DNC	0	0
	HDP	870	0

c.　試験3（ナイカルバジン、単回経口投与）

鶏（卵肉兼用種、3週齢、雌雄5羽/群/時点）にナイカルバジンを単回経口投与（250又は1,000 mg/kg体重（587又は2,357 μmol/kg体重））する薬物動態試験が実施された。投与1、2、4及び24時間後に血液が採取され、DNC及びHDPの血中濃度が測定された。

結果を表4に示した。

DNC及びHDPの最大濃度は投与2時間後にみられ、その後急速に低下したが、投与24時間後でも血中にみられた。

表4　鶏におけるナイカルバジン単回経口投与後のDNC及びHDPの血中濃度

投与量(mg/kg体重)	測定物質	血中濃度(μM)			
		投与後時間（時間）			
		1	2	4	24
250	DNC	5.7±1.84	10.7±2.22	7.1±0.60	3.9±0.87
	HDP	199±41.7	200±28.7	146±57.1	50±50.4
1,000	DNC	7.9±1.94	13.3±2.70	9.9±1.72	8.3±1.67
	HDP	526±130.8	592±100.8	345±116.2	118±97.4

値：平均値±SE, n=5羽/群

d.　試験4　（鶏、ナイカルバジン、12週間混餌投与）

鶏（卵用鶏、4日齢）にナイカルバジンを12週間混餌投与（100、200、400又は800 mg/kg飼料）する代謝・分布試験が実施された。投与開始4、9及び12週間後並びに投与終了24時間後及び48時間後に血液を採取し、また、肝臓及び筋肉については投与開始12週間後並びに投与終了24時間後及び48時間後に採取した。

結果を表5及び表6に示した。

HDP はいずれの時点に採取した血液からも検出されなかったが、DNC の濃度は投与量に伴って検出された。DNC は血漿からは迅速に消失し、投与終了後 2 日には痕跡程度の量であった。

肝臓でのみ HDP の検出が可能であり、100～400 mg/kg 飼料の投与では肝臓からの迅速な排泄を示唆し、投与終了 24 時間後には LOD 未満となった。肝臓での DNC 濃度は HDP に比較して緩徐な消失であるが、投与終了 48 時間後では DNC 濃度の 80～90%が消失した。筋肉中 DNC 濃度は血漿中濃度と同程度であり、投与 48 時間後では検出できなかった。

表 5　鶏におけるナイカルバジン 12 週間混餌投与後の血中 DNC 濃度の推移

投与量（mg/kg 飼料)	血中 DNC 濃度(μM)				
	投与開始後の時間(週)			投与終了後の時間(時間)	
	4	9	12	24	48
100	2.2	4.8	5.3	2.1	<1
200	6.6	7.6	9.8	3.2	<1
400	9.9	12.6	11.4	5.1	<1
800	40.6	34.6	18.8	10.0	<1

値：DNC 濃度（μM), n=10 試料/時点

表 6　鶏におけるナイカルバジン 12 週間混餌投与後の血中並びに組織中の DNC 及び HDP 濃度の推移

投与量 (mg/kg 飼料)	試料	血漿又は組織中濃度(μM/L 血漿又は μM//kg 組織)					
		投与終了時		投与終了 24 時間後		投与終了 48 時間後	
		DNC	HDP	DNC	HDP	DNC	HDP
100	血漿	5.3	0	2.1	0	0	0
	肝臓	－	－	－	－	－	－
	筋肉	－	－	－	－	－	－
200	血漿	9.8	0	3.2	0	0	0
	肝臓	79.4	274.4	16.6	0	7.9	－
	筋肉	6.3	0	0	0	－	－
400	血漿	11.4	0	5.1	0	0	0
	肝臓	92.0	293.8	13.9	0	15.6	－
	筋肉	9.3	0	0	0	－	－
800	血漿	18.8	0	10.0	0	0	0
	肝臓	99.3	345.6	37.4	170.6	－	－
	筋肉	11.6	0	4.6	0	－	－

値：n=5（プール検体）

以上から、ナイカルバジンの HDP 部位は DNC 部位より吸収及び排泄又は代謝がより早く、最大推奨濃度（例：200 mg/kg 飼料）で投与された鶏の血漿において HDP は検出できず、また、肝臓では 24 時間の休薬後は検出できないとしている。したがってナイカルバジンの混餌投与の休薬 48 時間後では、組織及び血漿中の DNC 濃度は痕跡程度であった。

② 薬物動態試験（鶏、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン、3 日間混餌投与）

鶏に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 3 日間混餌投与（125 mg/kg/飼料）する代謝試験が実施された。投与終了直後（試験開始 3 日後）から投与終了 18 日後（試験開始 21 日後）まで試料が採取され、組織中の放射活性が測定された。

結果を表 7 に示した。

HDP 由来の放射活性は全ての組織において投与終了 5 日以後 LOD（0.03～0.04 mg/kg）未満となった。DNC 由来の放射活性も投与終了 5 日後までに速やかに減衰し、投与終了 5 日以後は、肝臓において低濃度が検出された以外、全組織で LOD 未満であった。これらのことは DNC、HDP 及びその関連代謝物は、投与された鶏から速やかに排泄されることを示唆している。（参照 2、16、17）。

表 7　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン 3 日間混餌投与終了 0～18 日後の組織中総ナイカルバジン濃度

投与終了後日数(羽数)	ナイカルバジン当量（mg/kg）[a]							
	血漿		筋肉		肝臓		腎臓	
	DNC	HDP	DNC	HDP	DNC	HDP	DNC	HDP
0 日（2)	4.48～5.32	1.50～1.79	8.15～9.30	1.78～2.00	41.48～51.5	1.80～2.38	36.58～40.05	2.63～3.73
2 日（5)	＜0.04	＜0.04	＜0.04	0～0.18	0.2～0.34	0～0.216	0～0.085	＜0.04
5 日（5)	＜0.04	＜0.04	＜0.04	0～0.115	0.105～0.228	＜0.04	0～0.13	＜0.04
8 日（2)	＜0.04	＜0.04	＜0.04	＜0.04	0.080～0.088	＜0.04	＜0.04	＜0.04
11 日(2)	＜0.04	＜0.04	＜0.04	＜0.04	＜0.04	＜0.04	＜0.04	＜0.04
18 日（2)	＜0.04	＜0.04	＜0.04	＜0.04	0.053～0.073	＜0.04	＜0.04	＜0.04

a: 放射活性からナイカルバジン当量に換算。

③ 薬物動態試験（鶏、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン、7 日間混餌投与）

鶏（4 週齢）に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 7 日間混餌投与（ナイカルバジンとして 125 mg/kg/飼料）する薬物動態試験が実施された。組織含有量を検索する試料は投与終了 2～7 日後に採取された。

結果を表 8 に示した。

血漿中 ^{14}C-HDP の測定に基づく総ナイカルバジン濃度は、投与終了後 2 日に最大（2.1 mg/kg）であり、^{14}C-DNC の測定に基づく総ナイカルバジンの最大濃度は投与終了 4 日後（3.8 mg/kg）にみられた。^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン濃度は、血漿及び筋肉よりも肝臓及び腎臓で高く、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン濃度は肝臓、腎臓、血漿及び筋肉では同程度であり、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン濃度の肝臓及び腎臓における濃度は、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン濃度の約 10 分の 1 であった。（参照 2、16、17、18）

表 8　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン（125 mg/kg）の 7 日間混餌投与終了 2～7 日後の組織中ナイカルバジン濃度

投与終了後日数	ナイカルバジン当量（mg/kg）[a]							
	血漿		筋肉		肝臓		腎臓	
	DNC	HDP	DNC	HDP	DNC	HDP	DNC	HDP
2 日	2.50	2.07	4.11	2.13	23.11	2.36	18.26	3.52
3 日	2.54	1.84	3.86	2.03	26.48	2.15	19.26	3.09
4 日	3.80	1.58	5.57	1.52	34.79	1.89	27.44	2.48
5 日	2.75	1.07	4.52	1.42	29.82	1.32	20.35	1.96
7 日	3.33	1.79	5.98	1.63	33.78	2.08	26.74	2.95

a：2 例の平均値、値は ^{14}C 標識放射活性からナイカルバジン当量に換算。

④　薬物動態試験（鶏、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、7 日間経口投与）

鶏（21 日齢、雌雄各 3 羽/時点）に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジンを 7 日間（カプセル、2 回/日）経口投与（125 mg/kg 飼料相当）する残留試験が実施された。最終投与 24 時間後（正確には 16 時間後）、5 日後及び 10 日後に雌雄各 3 羽から試料を採取し、LC/MS/MS 法により血漿中及び組織中の放射性ナイカルバジン関連物質の濃度が測定された。

結果を表 9 及び表 10 に示した。

血漿中濃度は投与終了後 4 日で一定の値となった。投与終了後 1 日での総ナイカルバジン濃度は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン投与試験での値より高く [4]、皮膚及び脂肪では 50 倍、肝臓では 300 倍であった。肝臓は残留の標的組織であるが、全ての組織中放射活性の消失は迅速であり、投与終了後 4 日までに急激に低下した。

投与終了 1 日後での抽出可能な残留量は高かった（肝臓：94%、筋肉：83%、皮膚/脂肪：90%）が、投与終了後の日数の経過に伴い低下した（肝臓、5 日後：75%、10 日後：27%）。DNC 及びアセチル化 DNC が投与終了 1 日後での全ての組織における主要な残留物であり、他に多数の微量な代謝物（肝臓：13 種、筋肉及び皮膚/脂肪：4 種）が 10%未満みられた。（参照 2、11、12、19、20）

---

[4] ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン投与試験（7 日間経口投与、125 mg/kg 飼料相当）における投与終了後 1 日での組織残留量（HDP ㎎当量/kg の平均値±標準偏差）：筋肉;0.084±0.037、皮膚/脂肪；0.106±0.036、肝臓；0.095±0.041、腎臓；0.134±0.061（参照 20）

表 9　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン（125 mg/kg 飼料、 カプセル入り、2 回/日）7 日間経口投与後の組織残留量

投与終了後(日)	組織中 DNC 濃度（mg/kg）			
	筋肉	皮膚/脂肪	肝臓	腎臓
1[a]	4.431±0.571	5.122±0.320	27.797±1.445	16.776±1.254
5	0.069±0.016	0.151±0.039	0.608±0.198	0.369±0. 121
10	0.002±0.001	0.024±0.010	0.050±0.014	0.033±0.011

a:値はDNCmg当量/kgの平均値±標準偏差, LOQ: 0.004, n=6（雄3羽、雌3羽/時点）

表 10　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン（125 mg/kg 飼料、カプセル入り、2 回/日）7 日間経口投与後の総 DNC 残留量に対する DNC 比率

投与終了後(日)	DNC/総 DNC 残留量比（%）			
	筋肉	皮膚/脂肪	肝臓	腎臓
1	21～27	40～55	38～49	31～42
5	0～18	—	23～48	0～5

⑤　代謝・分布試験（鶏、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン、3 日間混餌投与）

鶏（詳細不明）に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 3 日間混餌投与（125 mg/kg 飼料）する代謝・分布試験が実施された。投与終了 0、5、8、11、14 及び 21 日後に試料が採取された。

DNC 関連物質は HDP 関連物質に比較して濃度が高く、安定していた。HDP 関連物質の残留は投与終了 5 日後で LOD 未満であり、DNC 関連物質は 21 日後まで肝臓（0.063 mg/kg, n=5）及び筋肉（0.074mg/kg, n=5）で測定可能であった。（参照 14）

⑥　分布・代謝試験（鶏、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、5 日間混餌投与）

鶏に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジンを 5 日間混餌投与（50 mg/kg 飼料）する分布・代謝試験が実施された。投与終了時に採材され、組織中の代謝物の濃度が測定された。

最大放射活性は肝臓でみられ、続いて腎臓、脂肪、皮膚及び筋肉であった。糞便中の代謝物の主要な成分は、DNC が 40%であり、M1 が 25%、少量の 2 代謝物（M2（1,4-ジアセチルアミノベンゼン）及び M3）及び極性代謝物が 35%であった。胆汁での主要代謝物は M1 及び M3 であった。主要代謝物の成分割合について、DNC は肝臓で 79%、腎臓で 6%みられ、M3 は肝臓及び腎臓でそれぞれ 10 及び 13%、M1 はそれぞれ 2%及び痕跡程度であった。M2 は肝臓で痕跡程度みられたが、腎臓ではみられなかった。極性代謝物は腎臓で 68%みられた。代謝物は TLC で分離し、質量分析（MS）により同定され、胆汁からの M3 はニトロ

基還元及びアセチル化により生じた DNC のアセチルアミノ誘導体であり、M1 は2つのニトロ基のジアセチルアミノ誘導体に該当した。糞便からのM2は *N,N'*-1-4-フェニレンジアセトアミドと同定された。組織中の代謝物は胆汁及び排泄物中同定された物質とクロマトグラフィー動態は同様であった。（参照 14）

⑦ 分布・代謝試験（鶏、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン＋ナラシン、5 日間混餌投与）

鶏（肉用鶏、約 6 週齢）に、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジンを 5 日間混餌投与（50 mg/kg 飼料）する分布・代謝試験が実施された。比較対照群としてナラシンとの混合投与群 [a] を設けた。

結果を表 11 に示した。

代謝パターンは、ナラシンの有無にかかわらず同様であり、ナイカルバジン（注 : 標識した構成成分 DNC のことを意味していると考えられる。）は、肝臓の総放射活性のうち約 79%を占め、代謝物 M3 は約 10 %、M1 は約 2%であった。腎臓の放射活性の約 6%が上記ナイカルバジンであり、代謝物 M1 は 13%、残りは抽出不可能な極性活性物であった。代謝物 M2 は排泄物中にのみみられた。（参照 2、17、18、21）

表 11　肉用鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン 5 日間混餌投与後の組織中ナイカルバジン濃度

試験番号	動物数	組織中濃度 : ナイカルバジン当量（mg/kg）				
		筋肉	脂肪	皮膚	肝臓	腎臓
1	6	1.47	1.77	1.52	10.84	7.17
2	8	1.35	2.00	1.62	11.64	7.57
3[a]	8	2.13	2.65	2.26	14.00	10.09

a: ナイカルバジンをナラシンと同時投与した。

⑧ 代謝・分布試験（鶏、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン、7 日間経口投与）

鶏（21 日齢、雌雄各 3 羽/群）に ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 7 日間（カプセル入り、2 回/日）経口投与（125 mg/kg 飼料相当）する代謝・分布試験が実施された。最終投与 1 日後（正確には 16 時間後）、3、5 及び 10 日後に試料を採取し、放射性 HPLC 法により組織中の HDP 等の濃度を測定した。

結果を表 12 に示した。

組織中の最大の総放射活性残留濃度は、投与終了 1 日後にみられ、最大濃度を示した臓器は腎臓であり、続いて皮膚/脂肪、肝臓及び筋肉の順に高い濃度を示した。総放射活性残留濃度は、投与終了後に時間の経過に伴い減少した。（参照 11）

測定に用いた組織中における構成成分の分離度は十分でなく、全ての組織において HDP と推定される物質（肝臓 : 45～64%、腎臓 : 26%）が主な残留物であり、その他に総残留の 10%を超える構成成分はみられなかった。（参照 2、11、12、22）

表 12　鶏における ^{14}C 標識 HDP ナイカルバジン（125 mg/kg 飼料、カプセル入り、2 回/日）7 日間経口投与後の組織残留量

投与終了後(日)	組織中 HDP 濃度（mg/kg）			
	筋肉	皮膚/脂肪	肝臓	腎臓
1	0.084±0.037	0.106±0.036	0.095±0.041	0.134±0.0061
3	0.0032±0.001	0.027±0.010	0.008±0.003	0.0051±0.003
5	0.0022±0.001	0.0172±0.010	0.006±0.002	0.0022±0.001
10	＜LOQ	0.0062±0.002	0.0022±0.002	0.0022±0.001

LOQ（定量下限）：肝臓、腎臓、筋肉：0.004、皮膚/脂肪：0.011 mg/kg
数値は HDPmg 当量/kg の平均値±標準偏差

⑨ 分布試験（鶏、^{14}C-標識ナイカルバジン、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、^{14}C 標識ナラシン、ナイカルバジン+^{14}C 標識ナラシン、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン＋ナラシン、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン＋ナラシン、5 日間混餌投与）

鶏（3 週齢、5 羽/群）に ^{14}C 標識ナイカルバジン（50 mg/kg）又は ^{14}C 標識ナラシン（50 mg /kg）等を 5 日間混餌投与する以下の 3 つの分布試験が実施された。（参照 23）

a.　試験 1（鶏、^{14}C-標識ナイカルバジン、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン+ナラシン、^{14}C-標識ナラシン、ナイカルバジン+^{14}C 標識ナラシン）

鶏（7 週齢、雌雄各 3 羽/群）に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン（50 mg/kg 飼料）単独を 5 日間混餌投与した。また、対照投与群として、^{14}C 標識ナラシン（50 mg/kg 飼料）単独、非標識ナイカルバジン（50 mg/kg 飼料）と ^{14}C 標識ナラシン（50 mg/kg 飼料）の混合物、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン（50 mg/kg 飼料）とナラシン（50 mg/kg 飼料）の混合物を 5 日間混餌投与した。投与終了直後に試料が採取された。

上記混合物投与では DNC 由来の組織中総残留量が肝臓で 20%、腎臓で 35%、筋肉で 42%、脂肪で 21%、皮膚/脂肪で 4%それぞれ増加した。（参照 23）

b.　試験 2（^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン＋ナラシン 5 日間混餌投与）

鶏（6 週齢、雌雄各 5 羽/群）に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン（50 mg/kg 飼料）単独又は非標識ナラシン（50 mg/kg 飼料）との混合物を 5 日間混餌投与し、投与終了直後に試料が採取され、ナイカルバジンの構成成分濃度が測定された。

ナイカルバジンはナラシンとの混合投与により、排泄並びに胆汁、肝臓及び腎臓における構成成分の分布パターンは変化しなかった。DNC 由来の組織中

の総残留濃度はナラシンとの混合物より肝臓で25%、腎臓で37%、筋肉で51%、脂肪で40%、皮膚/脂肪で38%それぞれ増加した。（参照23）

c. 試験3（^{14}C-HDP標識ナイカルバジン、^{14}C-HDP標識ナイカルバジン＋ナラシン、5日間混餌投与）

鶏（6週齢、雌雄各5羽/群）に^{14}C-HDP標識ナイカルバジン（50 mg/kg 飼料）単独又は非標識ナラシン（50 mg/kg 飼料）との混合物を5日間混餌投与し、投与終了直後に試料が採取され、濃度が測定された。

^{14}C標識HDPナイカルバジン由来の組織中総残留濃度は、ナラシン混合により変化しなかった。総残留量に対するHDPは、肝臓で71%、腎臓で67%、筋肉で84%であった。ナイカルバジンの構成成分であるHDPの代謝はナラシン混合により影響されなかった。（参照23）

⑩ 薬物動態試験（鶏、^{14}C-DNC標識ナイカルバジン＋ナラシン、6日間混餌投与）

鶏（肉用鶏、8週齢、雌雄各2羽）に^{14}C-DNC標識ナイカルバジンを6日間、ナラシンとともに混餌投与（^{14}C-DNC標識ナイカルバジン：50 mg/kg 飼料＋ナラシン：50 mg/kg/飼料[5]）する分布・代謝試験が実施された。試料は投与終了0、1、3、5 及び7日後に採取され、総放射活性測定法及びHPLC法により組織中濃度が測定された。

結果を表13に示した。

放射活性及びHPLC測定の結果は、筋肉、脂肪、皮膚で一致し、これらの組織中ではナイカルバジンの構成成分はみられず、投与終了5日後にDNCが検出されたのは肝臓だけであった。

総残留濃度（TR）に対するHPLC法によるDNC濃度の割合（DNC/TR比）は、投与終了0、1、3 及び5日後において、肝臓でそれぞれ0.61、0.61、0.42及び0.45、腎臓で0.24、0.25、0.13 及び測定不能、筋肉で0.69、0.64、0.91 及び検出限界未満であり、皮膚及び脂肪では0.77～1.28の範囲であった。（参照2、18、24）

5 承認申請書の概要書ではmg/kg体重とされている。原著のタイトルに50ppmとの記載があるので、誤記だと考えられる。

表 13　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン＋ナラシンの混合物 6 日間投与後の組織中総残留濃度及び DNC 濃度

組織		投与終了後日数				
		0	1	3	5	7
筋肉	DNC(mg/kg)	1.52	0.49	0.1	LOD	NA
	TR(mg/kg)	2.19	0.76	0.11	0.02	LOD
	DNC/TR比	0.69	0.64	0.91	-	-
組織		投与終了後日数				
		0	1	3	5	7
皮膚	DNC(mg/kg)	2.98	1.09	0.1	LOD	NA
	TR(mg/kg)	2.44	0.85	0.13	0.03	0.01
	DNC/TR比	1.22	1.28	0.77	-	-
脂肪	DNC(mg/kg)	2.67	0.78	0.12	LOD	NA
	TR(mg/kg)	2.85	0.97	0.13	0.02	0.01
	DNC/TR比	0.94	0.80	0.92	-	-
肝臓	DNC(mg/kg)	10.24	4.82	0.50	0.10	LOD
	TR(mg/kg)	16.81	7.88	1.19	0.22	0.06
	DNC/TR比	0.61	0.61	0.42	0.45	-
腎臓	DNC(mg/kg)	2.95	1.32	0.1	LOD	NA
	TR(mg/kg)	12.09	5.38	0.8	0.14	0.03
	DNC/TR比	0.24	0.25	0.13	-	-

TR：総残留濃度、LOD：検出限界未満、NA：分析せず、n=4

⑪　分布試験（鶏、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン＋ナラシン、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン＋ナラシン、5 日間混餌投与）

鶏に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンをナラシンとともに 5 日間混餌投与（50　又は 60 mg/kg 飼料。ナラシンの投与量は不明。）する分布試験が実施された。最終投与直後に組織中の放射活性が測定された。

結果を表 14 に示した。

両用量投与群における ^{14}C-DNC-ナイカルバジン組織中濃度は、肝臓及び腎臓で最も高く、HDP 検出による総ナイカルバジン濃度は、DNC 検出による総ナイカルバジン濃度と比較して約 1/8～1/53 であった。（参照 2、16、18）

表 14　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン＋ナラシン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン＋ナラシン 5 日間混餌投与直後の組織中ナイカルバジン濃度

^{14}C標識部位及び投与量（mg/kg飼料）	組織中濃度：ナイカルバジン当量（mg/kg）				
	筋肉	脂肪	皮膚	肝臓	腎臓
DNC　60	2.36	2.43	2.59	14.86	11.46
HDP　60	0.31	-	0.18	0.28	0.34
DNC　50	1.18	1.93	1.81	11.15	7.24

⑫　分布・代謝試験（鶏、^{14}C 標識 DNC ナイカルバジン、^{14}C 標識 DNC ナイカルバジン＋ナラシン、^{14}C 標識ナラシン、ナイカルバジン+^{14}C 標識ナラシン、5 日間混

餌投与）

鶏（肉用鶏、5 羽/群）に ^{14}C 標識 DNC ナイカルバジンを 5 日間混餌投与（50 mg/kg 飼料）する分布・代謝試験が実施された。比較対象群として、^{14}C 標識ナラシン単剤投与群（50 mg/kg 飼料）、^{14}C 標識ナラシン＋非標識ナイカルバジン合剤群（50 mg/kg 飼料+50 mg/kg 飼料）及び ^{14}C 標識 DNC ナイカルバジン＋非標識ナラシン合剤投与群（50 mg/kg 飼料+50 mg/kg 飼料）が設定された。投与終了日に組織（肝臓、筋肉、腎臓、脂肪、皮膚）が回収され、放射活性からナイカルバジン及びナラシン濃度が算出された。

結果を表 15 に示した。

ナイカルバジン単剤投与に比べナラシンとの混合投与では、組織濃度が高い傾向であったが、試験実施者はこの差は群間の生物学的変動範囲内とした。ナラシン単剤及びナイカルバジンとの合剤投与の両群では、残留に明らかな影響はみられなかった。

肝臓中の DNC を HPLC 法により分析した結果、単剤投与時は 11.2 μg/g、ナラシンとの合剤投与時は 13.4 μg/g であり、いずれの場合も総放射活性測定値と変わらなかった。

これらのことは、肝臓中の主たる残留物は DNC の未変化体であることを示唆している。（参照 2、25）

表 15　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン＋非標識ナラシン、^{14}C 標識ナラシン、^{14}C 標識ナラシン＋ナイカルバジン 5 日間混餌投与直後の組織中ナイカルバジン又はナラシン濃度

分析対象	試験群	投与物質	組織中濃度（μg/g 換算, n=5）				
			筋肉	脂肪	皮膚	肝臓	腎臓
ナイカルバジン(DNC を測定)	ナイカルバジン単剤（50 mg/kg 飼料)	^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン	1.2	1.9	1.8	11.2	7.2
	ナラシンとの合剤(50+50 mg/kg 飼料)	^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン＋非標識ナラシン	1.7	2.3	1.9	13.4	9.8
ナラシン	ナラシン単剤（50 mg/kg 飼料)	^{14}C 標識ナラシン	0.01	0.18	0.09	0.37	0.08
	ナイカルバジンとの合剤(50+50 mg/kg 飼料)	^{14}C 標識ナラシン＋非標識ナイカルバジン	0.01	0.14	0.15	0.35	0.07

⑬　代謝・排泄試験（鶏、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン、3 日間混餌投与）

鶏に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 3 日

間混餌投与（ナイカルバジンとして 125 mg/kg 飼料）する代謝・排泄試験が 2 試験実施された。

a.　3 日間代謝・排泄投与試験

鶏（詳細不明、2 羽/群）に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 3 日間混餌投与（ナイカルバジンとして 125 mg/kg 飼料）する代謝・排泄試験が実施された。投与開始から終了後 4 日間の尿及び糞便が収集され、放射活性が測定された。

結果を表 16 に示した。

^{14}C-DNC は尿中から 10%のみ検出されたが、^{14}C-HDP については 95%が尿中へ排泄された。

7 日間の排泄試験での回収率は、投与 ^{14}C 標識物のほぼ全量であり、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン投与では 94%、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン投与では 105%[6]であった。（参照 2、16、17、18）

表 16　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン 3 日間混餌投与後の尿中及び糞便中の放射活性回収率

日	^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン				^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン			
	投与量		排泄量		投与量		排泄量	
	mg	総量(%)[a]	尿(%)	糞便(%)	mg	総量(%)[a]	尿(%)	糞便(%)
投与 1 日後	27.5	37	21.7	1.3	17.5	22	0.4	4.6
投与 2 日後	28.8	75	53.8	4.1	34.4	65	5.9	23.1
投与 3 日後	17.5	100	83.9	6.7	28.1	100	7.5	44.5
投与終了 1 日後		100	90.4	8.2		100	8.4	63.8
投与終了 2 日後		100	90.7	9.0		100	8.8	79.4
投与終了 3 日後		100	90.7	9.3		100	9.0	83.7
投与終了 4 日後		100	90.8	9.8		100	9.0	85.4
排泄されたピリミジノン部位の総量=100.6 %					排泄された尿素部位の総量=94.4 %			

a: 3 日間で投与した総投与量の%を計算

b.　7 日間代謝・排泄動態試験

鶏（7 又は 14 週齢）に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 7 日間 [7]混餌投与（125 mg/kg 飼料）する代謝・排泄試験が実施された。尿中及び糞便中の総ナイカルバジン濃度が測定された。

結果を表 17 に示した。

---

[6] 参照 16 の table 5 の数値を用いた。

[7] EFSA 評価書では 7 日間投与とあるが、3 日間投与、投与後 4 日間休薬と考えられる。

^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンは脱炭酸反応による代謝分解に適しており、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン代謝分解では当該反応は関与しない。

血漿及び組織中の最大放射活性は、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンでは投与 2 日後及び ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジンでは投与 4 日後であった。排泄動態は人工肛門処置をした動物で検討され、3 日間の ^{14}C 標識ナイカルバジン投与（125 mg/kg 飼料）に続く 3 日間の休薬期間が設けられた。^{14}C 標識ナイカルバジン由来放射活性の 91%が 6 日間の試験期間に糞便から回収された。血漿クリアランス及び肝臓での残留量が測定され、DNC は比較的広範に吸収されことが示唆された。加えて、原材料の放射活性は 24 時間後まで糞便へ排出され、これらの動物での腸通過時間は 4 時間であることから、DNC には腸肝循環系が存在することが示唆された。^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンでは尿からの回収が 90%であった。（参照 14、16、17）

表 17　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C- HDP 標識ナイカルバジン 3 日間混餌投与し、4 日間休薬後の尿及び糞便中放射活性総回収率

群	^{14}C-標識 HDP				^{14}C-標識 DNC			
	投与量	排泄量	排泄量	総排泄量	投与量	排泄量	排泄量	総排泄量
	mg	尿（%）[a]	糞便（%）[a]	(%)[b]	mg	尿（%）[a]	糞便（%）[a]	(%)[b]
7 週齢	53.1	89.8	10.2	110	50	10.1	89.9	95.4
14 週齢 実験 1	—	—	—	—	78.8	7.1	92.9	93.1
14 週齢 実験 2	73.8	90.3	9.7	100.5	80	9.5	90.5	94.4

a：尿中及び糞便中に排泄された放射能の合計量に対する%
b：尿及び糞便中に排泄された放射能の投与量に対する%

⑭　代謝・排泄試験（鶏、ナイカルバジン、3 日間混餌投与）

鶏に（詳細不明、2 羽/群）に ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 3 日間混餌投与（ナイカルバジンとして 125 mg/kg/飼料）後 4 日間休薬する代謝・排泄に関する 3 試験が実施された。

^{14}C-DNC 標識及び ^{14}C-HDP 標識の排泄は、対照的であり、その概算値を表 18 に示した。

この結果から、HDP の主な排泄経路は尿であり（90%）、投与終了後 3 日までに投与の 83 %が排泄されたことから、HDP の吸収、排泄は迅速であると考えられた。これに比較して DNC の排泄は、主として糞便中に排泄され（90%）、投与終了後 3 日までに大半の放射活性が回収された。尿中 DNC 濃度は糞中 HDP 濃度の 5～10%に過ぎず、DNC の腎臓経由の排泄は HDP よりも遅く、DNC の血漿クリアランスは HDP よりもかなり低く、そのため DNC の血漿中濃度は HDP よりも高かった。（参照 2、16、17）

表 18　鶏における ^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン又は ^{14}C-標識 HDP ナイカルバジン
　　3 日間混餌投与後の排泄試験結果の概要

標識部位	投与終了 3 日後(%)		投与終了 4 日後(%)		合計(%)		総 計 (%)
	尿中	糞便中	尿中	糞便中	尿中	糞便中	
^{14}C 標識 DNC	5.6	50.1	3.3	41	8.9	91.1	100
^{14}C 標識 HDP	83	7.4	7	2.6	90.0	10.0	100

値はいずれも平均概算値

⑮　**排泄試験（鶏、^{14}C-DNC 標識ナイカルバジン、7 日間経口投与）**

鶏（21 日齢、雌雄各 5 羽）に ^{14}C-DNC 標識-ナイカルバジンを 7 日間経口投与（カプセル、125 mg/kg 飼料）する代謝・排泄試験が実施された。

血漿中濃度は投与 5 日後には安定した。7 日間の蓄積した排泄物中の代謝物は主として（排泄標識物の約 90%）構成成分の DNC であり、次いで DNC のアセチル化誘導体（5%）、そして 13 種の微量代謝物（総標識物の 2%以下）であった。（参照 11）

⑯　**排泄試験（鶏、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン、7 日間経口投与）**

鶏（21 日齢、雌雄各 5 羽）に ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 7 日間経口投与（カプセル 125 mg/kg 飼料）する代謝・排泄試験が実施された。

血漿中濃度は投与 6 日後には安定し、約 97%の放射活性が 16 時間後の排泄物から回収され、HDP の代謝が迅速であることを示唆している。未変化体 HDP が総放射活性の 65%であり、微量代謝物が 6%以下であった。投与終了日では、HDP は組織中残留放射活性の主体であった（肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪付き皮膚の放射活性は各々77、22、57 及び 46%）。（参照 11）

⑰　**排泄試験（鶏、^{14}C-HDP 標識ナイカルバジン、6 日間混餌投与）**

鶏に ^{14}C-HDP 標識ナイカルバジンを 6 日間混餌投与（125 mg/kg 飼料）する排泄試験が実施された。

大部分の放射活性は、排泄物（86%）、肝臓（89%）及び腎臓（84%）に HDP としてみられ、代謝物の 10%の同定は十分でなく、長期にわたる消失結果も得られていない。（参照 14）

（２）残留試験

①　**残留試験（鶏、ナイカルバジン、28 日間混餌投与）**

鶏（1 日齢、雌雄各 3 羽/時点）にナイカルバジン製剤を 28 日間混餌投与（125 mg/kg 飼料）する残留試験が実施された。投与終了 1、5、7、9、11 及び 14 日後に食用の組織を採取し、組織中の DNC 濃度が測定された（LOQ、肝臓：0.050、腎臓：0.100、筋肉：0.025 及び皮膚/脂肪：0.025mg/kg）。

結果を表 19 に示した。

組織残留量は投与終了 5 日後までに大幅に減少し、投与終了 7 日後には LOQ 未満となった。（参照 2、11）

表 19　鶏におけるナイカルバジン 28 日間混餌投後の組織中 DNC 残留濃度

投与終了後日数	各組織の DNC 濃度（mg/kg）			
	筋肉	皮膚/脂肪	肝臓	腎臓
1	2.110±0.506	2.327±0.372	9.249±1.804	3.007±1.095
5	0.045±0.008	0.131±0.033	0.453±0.047	＜LOQ
7	＜LOQ	＜0.027±0.004	＜LOQ	＜LOQ

n=6（雄3羽、雌3羽/時点）

② 残留試験（鶏、ナイカルバジン、42 日間混餌投与）

鶏（肉用鶏、3 日齢、雌雄各 4 羽/時点）にナイカルバジンを 42 日間（3 日～44 日齢）混餌投与（125 mg/kg 飼料）する残留試験が実施された。投与終了 0、1、3、5、7 及び 9 日後に食用利用する組織を採取し、DNC をパルスポーラログラフィー法により測定した（LOQ<0.1 mg/kg、LOD< 0.03 mg/kg）。

結果を表 20 に示した。

試料採取のどの時点においても肝臓中の濃度が最も高く、次いで腎臓、皮膚/脂肪及び筋肉の順であった。腎臓、皮膚/脂肪及び筋肉における残留は、投与終了 4～6 日後で LOQ 未満であり、投与終了 1 日後での、その他組織の残留量は肝臓の 1/10 以下であった。

本試験では、敷料からのナイカルバジン再摂取の所見は見られなかった。（参照2、17、18）

表 20　鶏におけるナイカルバジン 42 日間混餌投与後の組織中 DNC 残留濃度

投与終了後日数	各組織のDNC濃度（mg/kg）			
	筋肉	皮膚/脂肪	肝臓	腎臓
1日後	1.4～2.2	1.6～3.0	14.4～21.0	2.8～5.4
3日後	0.12～0.78	0.18～0.86	3.0～9.4	0.18～2.5
5日後	＜LOQ～0.1	＜LOQ～0.22	0.40～2.7	＜LOQ～0.28
7日後	＜LOQ	＜LOQ～0.1	0.14～0.59	＜LOQ
9日後	＜LOQ	＜LOQ	＜LOQ～0.12	＜LOQ

LOQ:0.1 mg/kg, LOD:0.03 mg/kg　（n=8、雄4羽、雌4羽/時点）

③ 残留試験（鶏、ナイカルバジン、49 日間混餌投与）

鶏（肉用鶏、3 日齢、雌雄各 2 羽/時点）にナイカルバジンを 49 日間混餌投与投与（125 mg/kg 飼料）する残留試験が実施された。投与終了 1、1.5、2、2.5 及び 3 日後に肝臓、筋肉及び皮膚/脂肪を採取し、DNC の残留濃度を HPLC 法により測定した。

結果を表21に示した。

各組織の残留は速やかに減衰した。最も高い残留は投与終了1日後の肝臓であった。（参照2、17、18、26）

表21　鶏におけるナイカルバジン49日間混餌投与後の組織中DNC残留濃度

投与終了後日数（日）	各組織のDNC濃度（mg/kg）		
	筋肉	皮膚/脂肪	肝臓
1	0.85～1.23	0.66～0.99	2.69～9.12
1.5	0.37～0.88	0.68～1.06	2.79～7.09
2	0.23～0.45	0.43～0.66	3.33～4.79
2.5	<0.1～0.233	0.14～0.51	2.71～3.42
3	<0.1～0.21	<0.1～0.28	0.90～3.39

n=4（雄2羽、雌2羽/時点）

④　残留試験（鶏、ナイカルバジン12週間混餌投与）

鶏（詳細不明、1日齢、28～38羽/群）にナイカルバジンを11～12週間混餌投与（100 、200又は400 mg/kg飼料）する残留試験が実施された。組織中濃度は比色法により測定された。

結果を表22に示した。

血中DNC濃度は投与量依存的であった。脚及び胸筋肉は血漿濃度と同レベルであったが、肝臓濃度は筋肉及び血漿濃度の10倍以上であった。筋肉では投与終了後24時間で完全に除去され、血漿では50～75%であった。肝臓DNCは約70～80%が24～48時間内に消失し、投与終了72時間後では組織中にDNCは検出されなかった。ナイカルバジンの400 mg/kg飼料までの濃度を投与した時、投与終了24時間以内に肝臓からHDPは消失した。（参照27）

表22　鶏へのナイカルバジン11～12週間投与後の血漿及び組織中濃度

投与量(mg/kg飼料)	動物数	平均DNC濃度(mg/dL又はg)							
		血漿			筋肉		肝臓		
		投与終了後の時間							
		0	24	48	0	24	0	24	48
0	38	0	0	0	0	0	0	0	0
100	38	0.081	0.040	0	0.036	0	0.334	—	—
200	28	0.175	0.047	0	0.145	0	1.509	0.504	0.237
400	38	0.288	0.075	0	0.313	0	2.199	0.417	0.471

⑤　残留試験（鶏、野外試験、ナイカルバジン混餌（育成期～出荷時）投与）

鶏（詳細不明）にナイカルバジンを育成期から出荷時まで混餌投与（125mg/kg飼料）する野外での残留試験が3試験実施された。

試験1では、肝臓、筋肉及び皮膚/脂肪中DNC濃度は投与終了3日後まで直線的に減少した。（参照14 、26）

他の2試験の結果（参照14）では標的組織は肝臓であり、残留測定指標はDNC

であることが示され、DNC の減少は投与終了 7 日後まで続いた。試験 2 では明らかな DNC 濃度の上昇がみられ、排泄物中のナイカルバジンを消化する鳥類の食糞性との関連性が指摘され（参照 14）、125mg/kg 飼料の混餌投与では、筋肉ではなく肝臓での残留濃度は 0.2mg/kg を超えた。同様の条件で 1998～2000 年に実施された試験では、32.3 mg/kg 飼料で育成された鶏では筋肉及び脂肪での残留は、測定限界（LOD<0.01mg/kg）を超えないとされているが、肝臓中の DNC 濃度は測定されておらず、結論は得られなかった。（参照 14、26）

⑥ **残留試験（鶏、ナイカルバジン＋ナラシン合剤、35 日間混餌投与）**

鶏（肉用種、1 日齢、雌雄各 3 羽/時点）にナイカルバジン＋ナラシン合剤を 35 日間混餌投与する残留試験が実施された。投与終了 0、3、5、7 日後に肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪が採取され、残留濃度が LC-MS/MS を用いて測定された。

結果を表 23 に示した。

DNC の平均残留濃度は、投与終了 0 日後（投与直後）では肝臓が最も高く、次いで腎臓、皮膚/脂肪、筋肉の順に高い値であった。各組織の DNC の残留濃度は時間の経過に伴い減少し、投与終了 5 日後では、組織中 DNC 濃度は 750 µg/kg 以下となり、投与終了 7 日後では肝臓 5 例及び皮膚/脂肪の 1 例を除き、全ての組織で LOQ 未満となった。なお、各組織におけるナラシン濃度は、投与終了後どの時点においても LOD 未満（2.85µg/kg）であった。（参照 2、12、28）

表 23 鶏におけるナイカルバジン＋ナラシン合剤 35 日間混餌投与後の組織残留 DNC 濃度（平均値）

投与終了後（日）	各組織のDNC濃度（µg/kg）			
	筋肉	皮膚/脂肪	肝臓	腎臓
0	1,610	2,040	9,190	4,290
3	187	313	2,450	295
5	<27.8[b]	59.6	355	<LOQ
7	<LOQ	<25.9[c]	<87.8[a]	<LOQ

a：1個体でLOQ未満
b：3個体でLOQ未満
c：5個体でLOQ未満
LOQ：筋肉:25 µg/kg、皮膚/脂肪: 25 µg/kg、肝臓: 50 µg/kg、腎臓: 100 µg/kg、n=6（雄3羽、雌3羽/時点）

⑦ **残留試験（鶏、ナイカルバジン＋ナラシン合剤、42 日間混餌投与）**

鶏（1 日齢、雌雄各 3 羽/群）にナイカルバジン＋ナラシン合剤を 42 日間混餌投与（各 70+70 mg/kg 飼料；測定値:61.9±18.2+70.5±9.0 mg/kg）する残留試験が実施された。投与終了 3 時間後、1 及び 5 日後に組織試料が採取され、LC-MS/MS によりナイカルバジン（測定対象：DNC）及びナラシンの残留濃度が測定された（LOQ は、DNC が 20 µg/kg、ナラシンは肝臓及び筋肉が 1.2µg/kg、腎

臓及び皮膚/脂肪が 1.5 μg/kg。)。
結果を表 24 に示した。
投与終了 3 時間後に、DNC 濃度は肝臓、筋肉及び皮膚/脂肪において EU における残留基準値(肝臓:15 mg/kg、筋肉・皮膚/脂肪:4 mg/kg)を下回り、腎臓では残留基準値(6 mg/kg)をわずかに上回った。EFSA は全ての組織が DNC の残留基準値を下回るのは投与終了 1 日後であるとしている。(参照 29)

表 24　鶏におけるナイカルバシン+ナラシン合剤、42 日間混合投与後の組織残留濃度

投与終了後の時間	組織濃度(mg/kg)			
	肝臓	腎臓	筋肉	皮膚/脂肪
3	8.988±1.965 (12.918)	3.515±1.485 (6.485)	1.813±0.430 (2.673)	2.018±0.660 (3.338)
24	5.377±0.963 (7.303)	1.811±1.140 (4.091)	1.279±0.518 (2.315)	1.611±0.372 (2.355)
3 (ナラシン)	0.003±0.003 (0.009)	0.003±0.003 (0.009)	0.001±0 (0.001)	0.026±0.012 (0.050)

値:平均値±SD

⑧ 残留試験(鶏、ナイカルバジン、ナイカルバジン+ナラシン合剤、28 日間混餌投与)

鶏(肉用鶏、1 日齢、120 羽/群)にナイカルバジンを 21 日間混餌投与(0 又は 125 mg/kg 飼料、実測値:125.65 mg/kg 飼料)する残留試験が実施された。陽性対照群としてナラシン合剤(ナイカルバジン:50 mg/kg 飼料(実測値:48.83 mg/kg 飼料)+ナラシン:50 mg/kg 飼料(実測値:53.67 mg/kg 飼料))が 28 日間混餌投与される群を設けた。ナイカルバジン投与群では投与開始 14、21、22、23、25 及び 27 日後に各 6 羽ずつから試料が採取された。また、対照群および陽性対照群では、ナイカルバジン投与群に対応して、投与開始 14～34 日後の間に各 6 羽(/時点)から試料が採取された。DNC とナラシン濃度が HPLC-MS/MS により測定された。
結果を表 25 及び表 26 に示した。
筋肉中 DNC 濃度は投与開始 14 日後及び投与終了時(投与開始 21 日後)において同水準であった。DNC 濃度は投与終了後から経時的に低下したが、投与開始後 25 日(投与終了後 4 日)までは EU における残留基準値(200 μg/kg)よりも高値を維持し、当該残留基準値よりも低値となるために必要な休薬期間は投与終了後 6 日と考えられた。英国では肉用鶏への飼料添加物としての休薬期間は 9 日と設定されている。一方で、EFSA では休薬期間を 1 日としているが、この設定については、Codex が残留基準値(200 μg/kg)を考慮しないで設定したためとしている。
ナイカルバジンは、経口投与では消化管からの吸収性は良好であり、吸収後、生体内の各組織に広く分布し、HDP 及び DNC へ迅速に分割される。肝臓及び

腎臓ではDNC濃度がHDP濃度よりも高く、DNCは糞便中へ、HDPは尿中へ排泄される。採卵鶏及び肉用鶏の肝臓でのDNC濃度は胸筋肉よりも高濃度であった。鶏と体でのDNC残留濃度の調査では、MRLよりも高値の筋肉組織はなく、肝臓組織の12.1%はこのMRL値よりも高値であった。それゆえ、肝臓組織はDNC残留検証の至適組織である。

ナイカルバジン＋ナラシン合剤投与群では、投与終了4日後にはDNC濃度はEUにおける残留基準値（200 µg/kg）よりも低値であった。しかしながら、ナイカルバジン投与実量は約半量であり、混合投与の作用機序は明らかにならなかった。（参照30）

表25　鶏におけるナイカルバジン21日間混餌投与後の筋肉内DNC濃度

投与開始後の時間（日）	投与終了後の時間（日）	DNC濃度(µg/kg)
14		5,353.33±428.42[a]
21	0	5,070.00±1,090.54[a]
22	1	3,431.67±594.45[a]
23	2	1,220.17±372.63[b]
25	4	212.23±135.57[c]
27	6	34.80±16.40[d]

a-d:異なる符号間に有意差あり(p<0.05)。

表26　鶏におけるナイカルバジン＋ナラシン合剤28日間混餌投与後の筋肉内DNC濃度

投与開始後の時間（日）	投与終了後の時間（日）	DNC濃度（µg/kg）
14		2,863.33±313.86[a]
21		2,748.33±408.28[a]
28	0	2,288.33±375.79[a]
29	1	1,103.83±433.77[b]
30	2	418.66±154.69[c]
32	4	35.63±26.50[d]

a-d:異なる符号間に有意差あり(p<0.05)。

⑨　残留試験（卵、ナイカルバジン、70又は100日間混餌投与）

鶏（卵用鶏、3羽/群）にナイカルバジンを70又は100日混餌投与（0、125 mg/kg飼料）し、卵におけるナイカルバジン濃度を測定する残留試験が実施された。この他、微量投与の影響を調べるため生後4か月まで0.45 mg/kg飼料、その後1.1 mg/kg飼料を産卵開始後10日まで投与する微量投与群を設けた。卵中のナイカルバジンを逆相HPLC法で測定（LOD＝0.01 mg/kg飼料）した。

出生から70及び100日間投与群の産卵開始は150～160日齢であり、卵から検出はできなかった。微量投与群での産卵開始の卵すべてからナイカルバジンが検出（検出濃度は平均0.25 mg/kg）された。その検出はすべて卵黄で、卵白からは検出されなかった。微量投与群の産卵開始後10日からナイカルバジンを含まない対照群飼料を給与した時、投与終了後2日から卵中のナイカルバジン濃度は

低下し、9 日後には LOD 未満となった。

投与量及び投与期間の影響を検討するため、ナイカルバジンを微量含有した飼料を 1 日投与（0.26 又は 1 mg/kg 飼料）した例では、0.26 mg/kg 飼料投与群では投与 5 日後で 0.01 mg/kg、8 日では LOD 未満となり、1 mg 投与群では投与 2 日後から検出可能となり、5 日後で 0.032 mg/kg、10 日後で LOD 未満となった。

0.05、0.1、0.5 又は 1 mg/kg 飼料の 10 日間反復投与後では、投与濃度依存的に残留濃度が増加するとともに消失期間の延長がみられた。（参照 31）

⑩ 残留試験（鶏・卵、ナイカルバジン＋ナラシン合剤、14 日間混餌投与）

鶏（卵用鶏、50 羽）にナイカルバジン+ナラシン合剤を 14 日間混餌投与（80 mg/kg 飼料（実測値　ナイカルバジン：86.2±7.74 mg/kg 飼料、ナラシン：79.3±6.82 mg/kg 飼料））する残留試験が実施された。投与終了後 22 日まで休薬期間とし、投与終了日に 6 羽、その後 22 日まで漸次 3 羽から試料を採取し、組織中及び卵中の DNC 濃度を LC-MS/MS 法により測定した。

胸筋肉及び消化管における残留濃度の結果を表 27 に示した。

DNC 濃度は、卵及び肝臓で投与終了後 22 日において高値であった。卵における残留濃度については、最高値が DNC では 5,140 ±1,390 μg/kg、ナラシンでは 119 ±47.2 μg/kg であり、休薬後濃度は急激に低下し、休薬 22～24 日後において、DNC で 54.2 ±45.77 μg/kg、ナラシンでは 9.32 ±3.049 μg/kg であった。

投与終了時の肝臓での DNC 濃度は 4,440±569 μg/kg であったが、試験終了時には 30.5±32.40 μg/kg であり、DNC 濃度は投与終了後 4 日まで急速に減少し、5 日には投与終了後の安定値（56.1±51.38 μg/kg）に達した。

胸の筋肉での DNC 及びナラシン濃度は肝臓に比べ著しく低く、投与終了後 2 日での濃度は、DNC の最大規制値（25 μg/kg）及びナラシンの LOD よりも低かった。（参照 32）

表 27　鶏におけるナイカルバジン＋ナラシン合剤 14 日間混餌投与後の胸筋肉及び消化管における DNC 及びナラシンの残留濃度

投与終了後(日)	筋肉濃度（μg/kg）		消化管濃度(mg/kg)	
	DNC	ナラシン	DNC	ナラシン
0	415±47.6	10.9±8.44	35.7±9.41	35.4±14.06
1	45.2±13.95	<0.21	0.79±0.196	2.36±0.911
2	10.9±7.54	<0.21	0.14±0.149	1.55±0.478
3	9.6±8.25	<0.21	0.25±0.085	1.71±0.945
4	2.6±2.22	<0.21	0.05±0.105	1.37±0.440
6	1.8±2.18	<0.21	0.04±0.076	1.72±0.485

薬物動態試験及び残留試験によれば、ナイカルバジンの構成成分である HDP は、DNC と比較して吸収及び排泄又は代謝が早い傾向が認められた。鶏に最大推奨濃度

（200 mg/kg 飼料）のナイカルバジンを 12 週間投与した薬物動態試験によれば、投与終了後から HDP は血漿及び筋肉から検出されず、肝臓については 24 時間の休薬後から検出されなかった。なお、ナイカルバジンは、動物用医薬品として、と畜前 16 日間の使用禁止期間が設定されるとともに、飼料添加物として、肉用鶏用飼料のうち前期（21 日齢まで）のみに添加が認められている。したがって、肉用鶏及び卵用鶏（採卵鶏を除く）に動物用医薬品又は飼料添加物としてナイカルバジンが用いられた場合におけるヒトへの主なハザードは、ナイカルバジンではなく、その構成成分である DNC と考えられる。

３．遺伝毒性試験

ナイカルバジンの遺伝毒性試験の結果について、表 28 に示した。

表 28　ナイカルバジンの遺伝毒性試験結果

試験名		試験系	対象物質、用量等	結果	参照
In vitro	復帰突然変異試験①	*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、*Escherichia coli* WP2*uvrA*	ナイカルバジン：3、10、33、100、333、1,000 µg/plate（±S9）	弱陽性[a] (TA98, ±S9)	12、33
	復帰突然変異試験②	*S. typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100	ナイカルバジン：100–2000 µg/plate、HDP：200–2000 µg/plate、DNC：100–2000 µg/plate、(±S9)	陰性[b]	10、11、14、34
	復帰突然変異試験③	*S. typhimurium* TA98、TA1538、TA100、TA1535、TA1537、*E. coli* WP2*uvrA*	ナイカルバジン：10000 µg/plate までの 4 濃度段階（±S9）	陽性 (TA98, TA1538)	11、34
	復帰突然変異試験④	*S. typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100、TA102	ナイカルバジン：2500 µg/plate までの 6 濃度段階	陽性（TA98, ±S9)	35
	復帰突然変異試験⑤	*S. typhimurium* G46、TA1535、TA100、C3076、TA1537、D3052、TA1538、TA98、*E. coli* WP2、WP2*uvrA*	EL-9193[c], ナラシン、ナイカルバジン：4 濃度勾配（0.1-1.0 µg/mL, 1.0-10 µg/mL, 10-100 µg/mL, 100-1000 µg/mL）[d]、(±S9)	陰性	12

	復帰突然変異試験⑥	*S. typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100	EL-9193[c,e]：50–1250 μg/plate、ナラシン：125–1000 μg/plate、ナイカルバジン：25–500 μg/plate、(±S9)	陰性	12
	DNA 損傷試験（Rec アッセイ）	*Bacillus subtilis* H17 (*rec*+)、M45（*rec*-）	ナイカルバジン：不明(±S9)	陰性	10、11、14、34
	遺伝子突然変異試験（MLA）	マウスリンパ腫細胞 L5178Y *Tk* +/−	ナイカルバジン：0.25-100 μg/mL[f](±S9)	陰性	11、36
	遺伝子突然変異試験 MLA）	マウスリンパ腫細胞 L5178Y *Tk* +/−	EL-9193、ナラシン、ナイカルバジン：用量不明、(±S9)	陰性	12
	染色体異常試験	ヒトリンパ球	ナイカルバジン：最高濃度 125 μg/mL[g]、3h 処理+17h 培養(±S9)、20h 処理(−S9)、3h 処理+41h 培養(+S9)	陰性	35
	UDS 試験	ラット初代肝細胞	EL-9193、ナラシン、ナイカルバジン：いずれも 50 μg/mL まで（溶解限度）	陰性	12
	小核試験	CD-1 マウス 、骨髄、1 群雌雄各 5 匹	ナイカルバジン：2000 mg/kg、2 回経口投与後 24 時で採取	陰性	11、12、37
	小核試験	SD ラット 、骨髄、1 群雌雄各 5 匹	ナイカルバジン：50、1000、2000 mg/kg、 2 回経口投与後 24 時で採取	陰性	35
In vivo	UDS 試験	Fisher ラット 、肝臓、1 群雄 3 匹	1000、2000 mg/kg、単回経口投与、投与 2～4 時間後および 12～16 時間後に採取	陰性	38
	姉妹染色分体交換試験（SCE）	雌チャイニーズハムスター、骨髄	EL-9193：12.5, 25, 50, 100 mg/kg、ナラシン：1、5、10、 15、 20、 25、30 、 35 、 40 、 45 、 50 mg/kg、ナイカルバジン：200、300、 400、500 mg/kg、単回経口	陰性	12

注）+/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下
a：1,000 μg/plate で沈殿

b：ナイカルバジンは 500 μg/plate 以上、DNC は 300 μg/plate 以上で沈殿
c：EL-9193 は Maxiban™ 72 のコード名で、ナラシン （純度 92%）とナイカルバジン（純度 98.80%）の等重量混合物
d：濃度勾配プレート法による試験
e：EL-9193 の 1 回目は 50-250 μg/plate、2 回目は 125-1000 μg/plate で実施
f： -S9 での 1 回目（4 時間処理）は 12.5-100 μg/mL、2 回目（24 時間処理）は 0.25-100 μg/mL。+S9（4 時間処理）での 1 回目は 12.5-100 μg/mL、2 回目は 1-100 μg/mL。いずれも 100 μg/mL で沈殿。
g：125 μg/mL で軽微な沈殿

in vitro では、GLP に準拠して実施されたナイカルバジンを用いた 2 つの復帰突然変異試験（表 28 中試験①及び④）において *S. typhimurium* TA98 で S9 の有無に関わらず陽性を示した。さらに 1 件の論文報告では TA98 および TA1538 での陽性が報告されている（表 28 中試験③）。このうちデータが示されている GLP に準拠した試験（試験①）では、その陽性反応は沈殿用量の 1,000 μg/plate で認められる程度の、弱いもの（陰性対照の 3 倍未満）であった。一方で GLP、非 GLP を問わず、3 つの試験（表 28 中試験②、⑤、⑥）で陰性が報告されている。これらはいずれもナイカルバジンを試験物質の 1 つとして用いており（沈殿用量は 500 μg/plate とされている）、この 3 件のうち 1 件の試験（試験⑤）は濃度勾配プレート法によるものであった。まとめると、6 件の試験のうち、3 件で TA98 での陽性が報告され、別の 3 件では陰性と報告されている。これらの結果から、ナイカルバジンは TA98 に対し陽性を示すと判断されるものの、沈殿用量域で認められたものであり、また、1 件の GLP 試験の知見からその反応は弱いことが示されている。また、ナイカルバジンの構成成分である HDP 及び DNC については 1 件であるもののそれぞれ陰性報告がなされており、ナイカルバジンの陽性知見と矛盾している。この相違の要因は不明だが、TA98 に対する陽性反応は決定的なものではないことを示唆している。

ナイカルバジンは、*in vitro* のその他の試験について、DNA 損傷試験（Rec アッセイ）、2 件の遺伝子突然変異試験（MLA）、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ラット初代肝細胞を用いた UDS 試験で陰性であった。特に哺乳類細胞による MLA での陰性知見は、細菌の復帰突然変異試験で認められた陽性反応が細菌特異的である可能性を示唆している。

in vivo では、2 件の骨髄小核試験（マウスおよびラット）、ラット肝 UDS 試験及びチャイニーズハムスターSCE 試験で陰性であった。さらに、*in vitro* 及び *in vivo* UDS 試験の陰性知見は、ナイカルバジンの哺乳類に対する DNA 損傷性の欠如を示している。

以上の知見から、ナイカルバジンは復帰突然変異試験において TA98 に陽性を示すものの、遺伝子突然変異試験（MLA）での陰性知見、並びに実施した他の *in vitro* 及び *in vivo* 試験のすべてで陰性であったことから、食品安全委員会は、ナイカルバジン並びにその構成成分である DNC 及び HDP については、ヒトに対して特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

４．急性毒性試験

ナイカルバジンの齧歯類を用いた急性経口毒性試験の結果を表 29 に示した。

表 29　ナイカルバジンの急性毒性試験結果

動物種	性別	投与物質	LD$_{50}$ (mg/kg 体重)	参照
マウス	雌雄	ナイカルバジン	>25,000	2、10、14、39
	雌雄不明		>5,000	35
	雌雄	HDP	約 4,000	2、10、18、39
		DNC	>18,000	2、10、39
ラット	雌雄	ナイカルバジン	>10,000	2、10、14、18、39

５．亜急性毒性試験

（１）13 週間亜急性毒性試験（ラット、ナイカルバジン、混餌投与）

ラット（Sprague Dawley 系、雌雄各 15 匹/群）に、ナイカルバジンを 13 週間投与（低用量投与群：200、中用量投与群：600 の後 400、高用量投与群：1,000 の後 600 mg/kg 体重/日）する亜急性毒性試験が実施された。

一般状態、体重及び摂餌量を観察・測定するとともに、眼検査、血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼病理検査及び臓器重量測定を行い、全動物の腎臓並びに対照群及び最高用量投与群の全身諸臓器・組織おいて病理組織学的検査が実施された。

投与開始 1 週間後に摂餌量及び体重の減少がみられたため、投与開始 11 日以降、中用量投与群は 600 mg/kg 体重/日から 400 mg/kg 体重/日に、高用量投与群は 1,000 mg/kg 体重から 600 mg/kg 体重/日にそれぞれ投与量が変更された。

摂餌量及び体重への影響を表 30 に、主な毒性所見を表 31 に示した。

一般状態及び眼科学的検査では投与に関連した影響はみられなかった。投与期間中の被験物質平均摂取量は、雄でそれぞれ 181、384 及び 599 mg/kg 体重/日、雌でそれぞれ 189、400 及び 619 mg/kg 体重/日であった。高用量投与群では雄 1 例が投与開始後 11 日、雌 2 例が 85 日に死亡した。中用量投与群では雄 2 例が 88 日及び 90 日に死亡した。

本試験の NOAEL については決定できず、LOAEL については 181 mg/kg 体重/日未満とした。（参照 2、11、12、40）

食品安全委員会は、全投与群での体重及び摂餌量の減少、各種組織及び臓器の相対重量の増加、肉眼的病変及び腎臓病変から、LOAEL を雄では 181 mg/kg 体重/日、雌では 189 mg/kg 体重/日と判断した。

表 30　ラットにおけるナイカルバジン 13 週間混餌投与試験終了時の体重及び摂餌量への影響

項目	性別(匹)	投与量（mg/kg 体重/日）			
		対照群（0）	200	600→400[a]	1,000→600[a]
体重(g)	雄(15)	588.3±66.03	445.7±45.24[b]	328.9±26.58[b](13)	284.7±31.80[b](14)
	雌(15)	314.0±33.25	275.6±20.53[b]	247.1±16.47[b]	235.2±26.05[b](13)
摂餌量(g)[c]	雄(15)	29.18±2.807	20.51±1.784[b]	14.02±4.806[b]	13.36 ±2.411[b](14)
	雌(15)	19.36±2.095	16.90±1.306[b]	13.85±1.772[b]	12.36±1.522[b](13)

値：平均値±SD (n=匹数)
a：投与開始 11 日後に投与量を変更
b：対照群との間に有意差あり（p<0.001）
c：13 週での平均値

表 31　ラットにおけるナイカルバジン 13 週間混餌投与試験における主な毒性所見

投与量（mg/kg 体重/日）[a]	毒性所見
1,000→600（雄：599、雌：619）[b]	雄：精細管変性/萎縮
200（雄:181、雌:189）以上	体重増加抑制、摂餌量減少 各種器官・臓器の相対重量の増加及び肉眼的変化 赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値の減少、血漿中の尿素窒素及びクレアチニン、血漿リン酸、血漿コレステロールの増加並びに血漿総タンパク質、アルブミン及びグロブリンの用量依存的な減少 腎臓における病理所見（尿細管再生、慢性炎症、線維化等）
0	なし

a：カッコ内は摂餌量に基づく
b: 投与開始 11 日後に投与量を変更

（２）13 週間亜急性毒性試験（ラット、ナイカルバジン、混餌投与）

ラット（SD 系、雌雄）にナイカルバジンを 13 週間混餌投与（100、200、230（雌:266) mg/kg 体重）する亜急性毒性試験が実施された。

主な毒性所見を表 32 に示した。

EFSA は本試験から NOAEL は決定できなかったとしている。（参照 35）

食品安全委員会は、100 mg/kg 体重/日以上でみられた体重減少の所見に基づき、本試験の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日と判断した。

表 32　ラットにおけるナイカルバジン 13 週間混餌投与試験における主な毒性所見

投与量（mg/kg 体重/日）	主な所見 雄	主な所見 雌
230（雌:266）	－	血液学的変化、種々の臨床生化学値の変化
200 以上	血液学的変化、摂餌量減少、種々の臨床生化学値の変化、腎臓及び副腎の相対重量増加、尿路上皮の過形成等の腎所見、リンパ組織の過形成、脾臓造血能の低下	摂餌量減少、腎臓及び副腎の相対重量増加、尿路上皮の過形成等の腎所見、リンパ組織の過形成、髄外造血の抑制
100 以上	体重増加抑制	体重増加抑制
0	なし	なし

（３）13 週間亜急性毒性試験（ラット、ナイカルバジン又は DNC＋HDP 混合物、混餌投与）

ラット（SD 系、雌雄各 10 匹/群）にナイカルバジン（100 mg/kg 体重）又は DNC と HDP の混合物（DNC 71 mg/kg 体重及び HDP 29 mg/kg 体重）を 13 週間混餌投与する亜急性毒性試験が実施された。

ナイカルバジン投与群の雄では投与開始 22 日から試験期間を通し、体重増加量は低かったが、雌では影響はみられなかった。DNC と HDP の混合物投与群の雄では体重への影響はみられなかったが、雌では投与開始 22 日から試験期間を通して体重増加量が低下した。この変化は、摂餌量の低下と関連していた。

ナイカルバジン投与群の雄で赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値が低下し、また、白血球数の増加と関連した活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮がみられた。これらの変化はナイカルバジン投与群の雌および DNC と HDP の混合物投与群の雌雄ではみられなかった。

ナイカルバジン投与群の雄では、クレアチン及び尿素濃度の増加並びに電解質の変化（低 Cl、高 Ca 及び無機 P）がみられた。これらは、尿量増加、比重及び pH の低値と関連していた。雌ではわずかなクレアチン値の上昇がみられただけである。これらの変化は腎臓の病理組織学的変化と一致していた。加えて、低血糖及び高コレステロール値が雄でみられた。上記の所見は DNC と HDP の混合物投与群ではみられなかった。ナイカルバジン投与群では雌雄の腎臓で、複屈折性硝子円柱、多発性の好塩基性尿細管と尿細管基底膜肥厚、尿

細管の拡張、間質性炎症、線維化などの一連の病理学的所見がみられ、雄でより顕著であった。これらの所見は DNC と HDP の混合物投与群ではみられなかった。

これらの腎臓所見は高濃度のナイカルバジン（100 mg/kg 体重/日）の混餌投与により生じ、同用量の DNC と HDP 混合物の投与ではみられないことから、同用量であれば、混合物投与の方が変化は軽度と考えられた。（参照 35）

（４）91 日間亜急性毒性試験（ラット、DNC、経口投与）

ラット（SD 系、雌雄各 15 匹/群）に、DNC を 91 日間経口投与（106、284 又は 709 mg/kg 体重/日、ナイカルバジンとして 150、400 又は 1,000 mg/kg 体重/日に相当）する亜急性毒性試験が実施された。外観、一般状態、死亡及び摂餌量及び飲水量を観察・測定するとともに、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、肉眼病理検査、臓器重量測定及び腎組織の病理組織学的検査が実施された。

試験期間を通し死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、飲水量、眼科所見、臨床病理学的所見、臓器重量、肉眼所見及び病理組織学的所見に DNC 投与による影響はみられなかった。

この試験における NOEL は DNC として 709 mg/kg 体重/日としている。（参照 2、11、12、41）

食品安全委員会は、いずれの投与量においても影響がみられないことから、本試験の NOAEL を最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日（DNC として 709 mg/kg 体重/日）と判断した。

（５）13 週間亜急性毒性試験（ラット、ナラシン＋ナイカルバジン混合物、混餌投与）

ラット（Fischer 344 系、雌雄各 20 匹/群）に、ナラシン及びナイカルバジン（１：１混合）を 13 週間混餌投与（各々7.5、20 又は 60 mg/kg 飼料[8]（雄：0.52、1.36 又は 4.14、雌：0.58、1.57 又は 4.53 mg/kg 体重に相当））する亜急性毒性試験が実施された。

一般状態、体重及び摂餌量を観察・測定するとともに、身体検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、肉眼病理検査及び病理組織学的検査が実施された。

本試験でみられた主な毒性所見を表 33 に示した。

試験期間を通して投与に関連する死亡例はなく、高用量投与群の雄の最初の1 か月及び雌での試験期間を通した摂餌量は対照群に比較して減少したが、試験期間を通した 1 日当たりの平均摂餌量には差はみられなかった。その他の各種検査において被験物質の投与に関連した異常所見はみられなかった。

試験開始当初 1 か月における体重増加量の抑制を基に、本試験における NOEL/NOAEL を、ナラシン 20 mg/kg 飼料及びナイカルバジン 20 mg/kg 飼

[8] 申請書資料では g/kg 飼料とされているが、mg/kg 飼料の誤記と判断した。

料（時間加重平均で雄では 1.36 mg/kg 体重、雌では 1.57 mg/kg 体重に相当）としている。（参照 2、12、42）

食品安全委員会は、高用量群の体重増加抑制を基に、本試験の NOAEL を雄では 1.36 mg/kg 体重/日、雌では 1.57 mg/kg 体重/日とした。

表 33　ラットにおけるナラシン及びナイカルバジン混合物 13 週間投与試験における主な毒性所見

投与量（ナラシン/ナイカルバジン:mg/kg 体重/日）	主な毒性所見
雄：4.14/4.14 雌：4.53/4.53	体重増加抑制
雄：1.36/1.36 雌：1.57/1.57	所見なし

６．慢性毒性及び発がん性試験

（１）52 週間慢性毒性試験（ラット、DNC＋HDP 混合物、混餌投与）

ラット（SD 系、雌雄各 20 匹/群）に DNC と HDP の混合物を 52 週間混餌投与（20/8、50/20.5、154/63 mg（DNC/HDP）/kg 体重/日））する慢性毒性試験が実施された。

一般状態、体重、摂餌量を観察・測定するとともに、眼科検査（対照群及び 154/63 mg（DNC/HDP）/kg 体重/日投与群）、血液及び血液生化学検査、尿検査並びに肉眼病理学的及び病理組織学的検査が実施された。

主な毒性所見を表 34 に示した。

血液及び血液生化学検査、尿検査では、中用量（50/20.5 mg（DNC/HDP）/kg 体重/日）及び高用量（154/63 mg（DNC/HDP）/kg 体重/日）投与群の雌雄で、尿沈渣に結晶がみられた。これは腎臓で観察された、好塩基性尿細管、慢性間質性炎症、単核細胞浸潤、尿細管拡張、嚢胞、尿細管内の炎症細胞、蛋白円柱、腎乳頭部水腫などの変化を反映しており、雄では雌よりも変化が著明であった。また、中用量ではこれらの変化はより軽度であった。

EFSA では、本試験の NOAEL は 20/8（DNC/HDP）mg/kg 体重/日であるとしている。（参照 35）

なお、EFSA では本試験の NOAEL から安全係数を 100 とし、DNC の ADI を 0.2 mg/kg 体重/日、HDP の ADI を 0.08 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 43）

食品安全委員会は、中用量でみられた腎臓の所見に基づき、本試験の NOAEL は、DNC については 20 mg/kg 体重/日、HDP については 8 mg/kg 体重/日と判断した。

表 34　ラットにおける DNC＋HDP 混合物 52 週間混餌投与慢性毒性試験（ラット、DNC＋HDP 混合物、52 週間、混餌投与）における毒性所見

投与量（mg/kg 体重/日）	主な毒性所見
DNC: 50 HDP: 20.5　　以上	尿沈渣に結晶 好塩基性尿細管、慢性間質性炎症、炎症性単核細胞浸潤、尿細管拡張、嚢胞、尿細管内の炎症細胞、蛋白円柱、腎乳頭浮腫などの腎臓の組織学的変化
DNC: 20 HDP: 8	所見なし

（２）24 か月間慢性毒性及び発がん性試験（ラット、DNC＋HDP 混合物、混餌投与）

ラット（FDRL 系、体重; 雄：66 g、雌：64 g、雌雄各 40 匹（低及び中用量）/群又は 50 匹（対照及び高用量）/群）に、DNC と HDP の混合物を 2 年間混餌投与（DNC：50、150 又は 300 mg/kg 体重/日並びに HDP：17、50 又は 100 mg/kg 体重/日を含有）する慢性毒性及び発がん性試験が実施された。動物の行動、外観及び生存率、体重、摂餌量及び飼料効率、飲水量及び尿量を観察・測定するとともに、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、肉眼病理学的検査及び病理組織学的検査が実施された。対照群及び DNC 300mg/kg 体重、HDP100 mg/kg 体重投与群の雌雄 5 匹を投与開始後 6 及び 18 か月並びに各投与群の雌雄各 10 匹を 56 週で剖検し、病理組織学的検査に供した。残りの動物は試験終了時に剖検、病理組織学的検査等が実施された。

試験期間を通し、異常行動はみられず、死亡率は投与量の影響を受けず、摂餌量、飲水量及び体重増加量は群間に差がみられなかった。ヘモグロビン、ヘマトクリット値、白血球、血中尿素窒素、血清 ALT 活性、血中グルコース、各種尿パラメータ、臓器重量及び肉眼病理所見に投与に関連した影響はみられなかった。病理組織学的に、尿細管、腎盂糸球体及び髄質における石灰化等の変化と結石が、投与開始 56 週で投与群に高頻度にみられたが、試験終了時には全群でほぼ同じであった。104 週の剖検では雄の精巣萎縮の発生頻度が、投与群で軽度に上昇したが有意な差ではなかった。病理組織学的検査で、加齢に伴う副腎及び下垂体の過形成、腎臓の線維化及び石灰化、動脈の変性及び炎症性硬化、肺及びリンパ節における細網肉腫、皮下及び乳腺における線維腫がみられたが、投与及び非投与動物に共通した所見であり、検体投与の影響ではなかった。

本試験における NOEL は、400 mg/kg 体重/日（DNC: 300mg/kg 体重/日、HDP: 100 mg/kg 体重/日）としている。

EFSA は、本試験において、DNC と HDP 混合物の投与は、腫瘍の発生率に影響せず、2 年間の試験期間中に投与に関連した肉眼的又は組織病理学的変化の徴候はなかったことから、NOEL として、最高用量を採用し、DNC については 300mg/kg 体重/日、HDP については 100 mg/kg 体重/日としている。（参照 2、10、11、12、14、18、44 ）

食品安全委員会は、最高用量群においても毒性所見がみられなかったことから、本試験の NOAEL を DNC について 300mg/kg 体重/日、HDP: 100 mg/kg 体重/日と判断した。

（３）2 年間慢性毒性試験（イヌ、DNC＋HDP 混合物、混餌投与）

イヌ（ビーグル種、雌雄各 5 匹/群）に、DNC と HDP の混合物を 2 年間混餌投与（週 6 日、DNC：60、180 又は 600 mg/kg 体重/日、HDP：20、60 又は 200 mg/kg 体重/日）する慢性毒性試験が実施された。一般状態、神経反射、体重、摂餌量、飲水量及び尿量について観察・測定するとともに、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査が投与開始後 3、 6、 12、18 及び 24 か月に実施された。

主な毒性所見を表 35 に示した。

投与後の行動及び一般状態に変化はみられなかったが、雄 1 例の死亡が中用量（DNC：180 mg/kg 体重/日及び HDP：60 mg/kg 体重/日）投与群で 44 週にみられた。投与した全動物の排泄物に、緑色から黄色の色調変化がみられた。体重増加量、摂餌量、血液学的パラメータ及び尿パラメータに、投与量による影響はみられなかった。最高用量（DNC：600 mg/kg 体重/日及び HDP：200 mg/kg 体重/日）投与群の雄 2 例、中用量投与群の雄 1 例、低用量（DNC：60 mg/kg 体重/日及び HDP：20 mg/kg 体重/日）投与群の雄 1 例において、血清 ALT 活性の増加がみられ、最高値は約 12 か月であり、高用量投与群では高値が持続したが、中用量以下の投与群では一過性であった。臓器重量及び肉眼的病理所見に投与に関連した変化はみられなかった。病理組織学的検査では、12 か月時点の高用量投与群 1 例における軽度な胆管上皮の増生以外は、特筆すべき所見はみられず、高用量投与群のこの 1 例で血清 ALT 活性が増加していた。

イヌに 24 か月間ナイカルバジンを混餌投与した際の血液 ALT 値の変化と肝臓の病理所見との関連は明確でないが、12 か月での試験例（1 例、no9216M）から、被験剤の最高用量投与は、胆管増生を伴う ALT 値の増加をもたらすと類推され、本試験の NOAEL は、DNC180 mg /kg 体重/日及び HDP60 mg /kg 体重/日（週 6 日投与）と考え、また、週 6 日の投与であったことから 7 日投与に換算した NOAEL は DNC については 154 mg/kg 体重/日、HDP については 51 mg /kg 体重/日とした。

EFSA は、これらの所見から、NOEL を DNC については 154 mg/kg 体重/日、HDP については 51 mg/kg 体重/日とし、ナイカルバジンについては 200 mg/kg 体重/日と評価している。（参照 2、10、11、12、14、18、45）

食品安全委員会は、高用量投与量群での血清 ALT の高値の持続及び胆管の病理変化から、本試験の NOAEL を DNC については 154 mg/kg 体重/日、HDP については 51 mg/kg 体重/日と判断した。

表 35　イヌにおける慢性毒性試験時の（イヌ、DNC・HDP 混合物、2 年間、混餌投与）における毒性所見

投与量（mg/kg 体重）	主な毒性所見
DNC:600 HDP:200	血清 ALT 活性の高値（2 例） 軽度の胆管増生
DNC:180 HDP:60	所見なし

７．生殖発生毒性試験

（１）3 世代生殖毒性試験（ラット、DNC＋HDP 混合物、混餌投与）

ラット（FDRL 系、28 日齢、雌雄各 12 匹/群）に DNC と HDP の混合物（3：1 の割合）を混餌投与（50/17、150/50 又は 300/100 mg/kg 体重）して各世代 2 産を得る 3 世代生殖毒性試験が実施された。

第 1 世代（F_0）には交配 10 週間前から投与を開始し、14 日間の交配後妊娠動物は分娩させ、産児（F_{1a}）を 1 腹当たり 8 匹に調整して、21 日齢で剖検するまで哺育させた。F_0 は離乳 7 日後から 14 日間再交配し、妊娠動物は分娩させて第 2 産児（F_{1b}）を得、分娩後 21 日の離乳時に剖検した。

F_{1b} は離乳後 7 日間対照飼料を給与し、雌雄各 12 匹/群を F_1 として 28 日齢から 10 週間それぞれの用量を投与した。その後 F_0 世代と同様に交配、分娩させて F_{2a} 及び F_{2b} を得、F_{2b} を F_2 として、F_1 と同様に生育後に繁殖させて F_{3a} 及び F_{3b} を得た。 F_{3b} 離乳時に F_2 及び F_{3b} を剖検し、対照群および高用量群（300/100 mg/kg 体重）投与群の F_2 雄動物は精巣を採取、病理組織学的検索に供した。また、F_{3b} の雌雄各 5 匹の肝臓、腎臓、心臓、膀胱及び生殖腺を病理組織学的検索に供した。

その結果、いずれの世代の親動物も交配前の体重及び摂餌量に投与の影響はみられなかった。また、交尾率、妊娠期間、哺育状態に投与の影響は認められなかった。出生児については、高用量群で F_{1b} の体重増加が軽度に抑制されたが、F_{1a} 及びその後の世代の出生児の発育に投与の影響は認められなかった。生存については、F_{2a} の高用量群及び F_{2b} の低用量投与群で死産児数の増加がみられ、F_{3a} の高用量群で死亡児数が増加して群当たりの産児数が減少したが、その他の世代の高用量群では生存に投与の影響は見られなかった [9]。

各世代の親動物及び児動物の剖検、F_2 親雄の精巣及び F_{3b} 児の組織検査では投与に関わる影響はみられなかった。

各週測定した摂餌量から算出された DNC 摂取量は、F_0 雄では 0、47、140 及び 284 mg/kg 体重/日、交配前 10 週間の F_0 雌では 0、51、159 及び 325 mg/kg 体重/日、F_1 雄では 0、49、152 及び 302 mg/kg 体重/日、交配前 10 週間での F_1

[9] EFSA 及び JECFA は、高用量群に哺乳期間中のわずかな体重増加抑制と、出生時の同腹児数のわずかな減少が認められたとしている。

雌では、0、55、157 及び 327 mg/kg 体重/日であった。

①各世代の親動物では、生存性、体重増加量又は摂餌量に投与の影響はみられず、病理検査及び精巣検査では一貫した所見はみられなかったこと、②妊娠率と妊娠期間は影響を受けず、高用量投与群の F_{1b} 児動物の体重増加量は授乳期にわずかに減少したが、同様の影響は他の投与群の児動物にはみられなかったこと、及び③それ以降の世代では、高用量投与群での F_{2a} 及び F_{3a} 児でわずかに児動物数が減少したが、この影響は F_{2b} 又は F_{3b} 児動物においては再現性がみられず、F_{3b} 児動物の特定臓器の病理組織学的検査では、投与に起因する異常はみられず、生殖に関わる影響はないことから、本試験における無作用量（NOEL）は、ナイカルバジンとして 400 mg/kg 体重/日であると結論している。

JECFA は、最高用量で見られた出生時の同腹児数のわずかな減少あるいは哺育期間中の体重増加抑制は特定の腹での発生で、多くの腹では認められず、世代を重ねても増強されることはなかったことから、ナイカルバジンは生殖に有意な影響を及ぼさず、本試験における NOEL をナイカルバジンとして 400 mg/kg 体重/日と評価している。

EFSA は、F_{3b} 児の臓器組織学的検査では異常はみられず、生殖への影響は無いと結論した。しかしながら、最高用量投与群でわずかな疑義がみられることから、NOEL を低めにとり 200 mg/kg 体重/日（DNC:150+HDP:50 mg/kg 体重）とした。

FDA は、最低用量でみられた所見から、NOEL/NOAEL は設定できないとしているが、本試験の LOEL/LOAEL に最低用量から 1 つ上の用量を採用し、DNC については 150 mg/kg 体重/日、HDP については 50 mg/kg 体重/日と評価している。（参照 12、14、18、46）

食品安全委員会は、NOAEL は設定できず、LOAEL を、DNC については 50 mg/kg 体重/日、HDP については 17 mg/kg 体重/日と判断した。

（２）2 世代生殖毒性試験（ラット、ナイカルバジン、混餌投与）（参考資料 [10]）

ラット（系統不明、雌雄各 24 匹/群）にナイカルバジンを混餌投与（100 又は 400 mg/kg 飼料）し、2 世代生殖毒性試験が実施された。

2 世代の繁殖成績並びに 3 世代までの体重に投与の影響はみられなかった。

F_1 及び F_2 世代の第 2 産で得られた出生児から各群雌雄各 10 匹を選抜して実施した生殖試験では、最高用量の 400 mg/kg 体重/日（DNC:300+HDP:100mg/kg 体重/日）群でも、受胎、妊娠、生存性及び授乳に投与の影響はみられなかった。（参照 14）

（３）2 世代生殖毒性試験　（ラット、DNC＋HDP 混合物、混餌投与）

ラット（SD 系、詳細不明、雌雄各 24 匹/群）に DNC と HDP の混合物を、交配前 10 週から試験期間を通じて混餌投与（100/33、300/100、580/193 mg/kg 体重）

10 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

する、2 世代生殖毒性試験が実施された。
親動物（F_0）には交配前 10 週から投与を開始し、交配、分娩、哺育期間を通じて児動物が離乳するまで投与を継続した。この間、児動物は 4 日齢で同腹児数を雌雄各約 4 匹に調整し、22 日齢で雌雄 1 又は 2 匹を選抜して F_1 世代とした。F_1 動物は 10 週間投与して交配し、F_1 児を得た。F_0 及び F_1 児ともに 1 腹当たり雌雄各 1 匹を選択し、22 日齢前後に剖検した。親動物は、児動物の離乳後に剖検した。
各世代の母動物及び個々の乳児は幅広く検査したが、F_0 及び F_1 児には投与に関連する影響はみられなかった。親動物では、生殖に及ぼす影響はみられなかったが、全投与群で腎臓の結晶沈着、腎重量の変化及び腎障害がみられ、親動物の NOAEL は試験に用いた最低用量 100/33 (DNC/HDP) mg/kg 体重/日を下回ると考えられた。（参照 35）
食品安全委員会は、本試験の LOAEL を親動物の腎臓に対する影響から、DNC については 100 mg/kg 体重/日、HDP については 33 mg/kg 体重/日、児動物は DNC については 580 mg/kg 体重/日、HDP については 193 mg/kg 体重/日と判断した。

（４）発生毒性試験 （ラット、ナイカルバジン、経口投与）

ラット（CD/CRJ 系、24～25 匹/群）に、ナイカルバジン（1 %カルボキシメチルセルロース懸濁液）を妊娠 7～17 日に経口投与（0、70、200 又は 600 mg/kg 体重/日）する発生毒性試験が実施された。母動物では一般状態を観察し、摂餌量、飲水量及び体重を測定するとともに、妊娠 21 日に帝王切開し、得られた胎児について外表、内臓及び骨格検査が実施された。
600 mg/kg 体重/日投与群では摂餌量低下（妊娠 10～21 日）及び体重減少（妊娠 8～14 日）あるいは体重増加抑制（妊娠 21 日まで）がみられ、妊娠 14～21 日に 7 例が死亡した。また、200 mg/kg 体重/日以上の投与群で投与期間中の飲水量が増加し、600 mg/kg 体重/日投与群では妊娠末期まで高値で推移したが、背景データの範囲に戻った。着床数及び生存胎児数は、いずれの投与群も対照群と同様であった。胎児については、600 mg/kg 体重/日投与群で体重が低下したが、200 mg/kg 体重/日投与群を除く各群の１腹のうち１～２例の胎児に口蓋裂、全身浮腫あるいは臍ヘルニア（対照群）が 1～2 例の胎児にみられた。内臓観察では 600 mg/kg 体重/日投与群で腎盂拡張[11]（5 例）、皮下水腫（同腹児の 3 例）、精巣位置異常（1 例）、メッケル憩室の残存（1 例）が観察され、変異あるいは異常を有する胎児の頻度が増加した。また、骨格検査では 200 mg/kg 体重/日以上の投与群で骨化尾椎数の減少及び 600 mg/kg 体重/日投与群で骨化の有意な遅延が認められた。この他、600 mg/kg 体重/日投与群では、腎盂拡張、頚椎、肋骨の肥厚及び屈曲（胎児 4 匹）、第 6 又は第 7 腰椎の仙椎化（2 例）が認められ、変異異常を有する胎児の数が増加した。
本試験における母動物及び胎児への毒性の NOEL は、200 mg/kg 体重/日であ

[11]参照資料（参照 44、2053/4601 頁）を確認した結果、「腎盂拡張」に分類されている変異と判断された。

るとしている。
JECFA は、母動物及び胎児への毒性に基づき、本試験における NOEL を 200 mg/kg 体重/日であると評価している。
EFSA は、結果資料が一部欠落しているが、発生毒性として少なくとも 70 mg/kg 体重までは懸念がないと評価している。
FDA は、これら中用量以上の投与群での結果から、母動物及び胎児の NOEL/NOAEL を 70 mg/kg 体重/日と評価している。（参照 2、10、11、12、14、18、47）
食品安全委員会は、200 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で飲水量の増加がみられ、200 mg/kg 体重/日以上投与群の胎児で化骨遅延がみられたことから、母動物及び胎児の NOAEL を 70 mg/kg 体重/日とし、また、催奇形性はないと考えた。

（５）発生毒性試験（ラット、ナイカルバジン＋ナラシン混合物、混餌投与）

ラット（Wistar 系、雌 25 匹）にナイカルバジン及びナラシン混合物を妊娠 6 日～15 日間経口投与（ナラシンの活性量 10.6 %及びナイカルバジンの活性量 98.8 %に基づいて１：１の比率 0.25/0.25、0.75/0.75、2.25/2.25 mg/kg 体重/日（ナラシン／ナイカルバジンで表記）する発生毒性試験が実施された。試験期間中の毒性兆候、生存性、体重、摂餌量を観察・測定するとともに、妊娠 20 日に剖検し、繁殖パラメータ並びに胎児の外観、内臓、骨格異常について検査された。
高用量群（2.25/2.25 mg/kg 体重/日投与群）では下痢、摂餌量及び体重増加抑制などの毒性兆候がみられ、1 例が死亡した。胎児については、高用量群で体重の低下がみられた。また、生存胎児数の減少がみられたが、これは 3 腹の全胚・胎児吸収による減少と考えられた。奇形や異常の発生頻度は対照群と被験物質投与群との間で差はみられなかった。
高用量群の摂餌量及び体重増加抑制、並びに胎児体重の低下から、母動物及び胎児に対する NOEL を 0.75/0.75 mg 活性等量/kg 体重/日とし、催奇形性はないとされた。（参照 2、12、23、48）

（６）発生毒性試験（ウサギ、ナイカルバジン、経口投与）

ウサギ（NZW 系、雌 24 匹/群）にナイカルバジンを妊娠 6～28 日の間、1 日 1 回経口投与（0、30、60 又は 120 mg/kg 体重）する発生毒性試験が実施された。一般状態を 1 日 2 回観察し、体重及び摂餌量を妊娠 6 日から毎日測定した。動物は、妊娠 29 日に剖検して肉眼病理検査を行い、着床状況を観察し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚胎児を数えた。胎児は、外表、内臓及び骨格を検査した。
一般状態に投与の影響はみられず、体重及び摂餌量は全群で同様であった。投与に起因する生殖パラメータ及び胎児の異常はみられなかった。高用量群（120 mg/kg 体重投与群）の母動物では、2 匹（2/24）の肝臓に顕著な多葉化がみられた。

母動物の NOAEL は、高用量群における肝臓の所見から 60 mg/kg 体重と判断し、発生毒性の NOAEL については、胎児への影響がみられないとし、最高用量（120 mg/kg 体重）と判断している。

EFSA は、母体毒性の NOAEL は安全側にみて 60mg/ kg 体重として確立可能であり、発生毒性に関する NOAEL は 120mg/ kg 体重（最高用量）であると判断した。

FDA は、高用量群（120 mg/kg 体重投与群）での肝の多葉化から、母動物の NOEL/NOAEL は 60 mg/kg 体重/日とした。胎児毒性の NOEL/NOAEL は、骨化不全や軟部組織の異常が全投与群でみられたため決定できなかった。投与によるこれら多様な胎児への影響から、胎児毒性の LOEL/LOAEL を 30 mg/kg 体重/日と判断している。（参照 2、11、12、49）

食品安全委員会は、高用量群における肝臓所見から、母動物の NOAEL は 60 mg/kg 体重/日[12]、胎児の NOAEL を 120 mg/kg 体重/日と判断した。催奇形性は認められなかった。

（７）発生毒性試験（ウサギ、ナイカルバジン、経口投与）

ウサギ（詳細不明、妊娠）にナイカルバジンを妊娠 6～28 日まで経口投与（0、60、120、240 mg/kg 体重/日）する発生毒性試験が実施された。

母動物にはいずれの投与量も影響はみられず、NOAEL は 240 mg/kg 体重/日であった。

胎児については、骨格検査で発育遅延を示唆する骨化遅延が 240 mg/kg 体重/日群においてみられ、胎児の NOAEL は 120 mg/kg 体重/日と結論した。（参照 35）

８．微生物学的影響

（１）ヒト腸内細菌叢分離菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）（ナイカルバジン）

食品安全委員会は、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」において、ヒトの腸内細菌叢に対するナイカルバジン MIC を調査した。

結果を表 36 に示した。

調査された菌種の全て MIC_{50} は>128 μg/mL と算出された。（参照 50）

[12] 高用量群でみられた肝臓の顕著な多葉化は、安全側に立って母動物に対する影響と判断した。

表 36　ナイカルバジンのヒト腸内細菌叢由来株に対する MIC

菌名	株数	MIC (μg/mL)
		MIC_{50}
Escherichia coli	30	>128
Enterococcus spp.	30	>128
Bacteroides spp.	30	>128
Fusobacterium spp.	20	>128
Bifidobacterium spp.	30	>128
Eubacterium spp.	20	>128
Clostridium spp.	30	>128
Peptococcus spp./*Peptostreptococcus* spp.	30	>128
Prevotella spp.	20	>128
Lactobacillus spp.	30	>128
Propionibacterium spp.	30	>128

（２）抗菌スペクトラム並びにヒト腸内細菌に対する MIC（ナイカルバジン）

ヒトの各種腸内細菌に対するナイカルバジンの MIC が測定され、好熱細菌 *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* のみが、わずかながら感受性を示したが、その他の菌に対する抗菌活性がないと判断された。本桿菌がナイカルバジンに対しわずかな感受性を示した理由は不明であるが、調査した他の細菌の全てがナイカルバジンに非感受性であり、ナイカルバジンは一般細菌に対し抗菌活性を有しないと考えられた。（参照 2、50、51）

（３）ヒト腸内細菌に対する MIC（ナイカルバジン、DNC 及び HDP）

EFSA FEEDAP 委員会は 2010 年に申請資料（EFSA 2003）に基づき以下の見解を示している。

「混餌レベルの濃度のナイカルバジンにおいて、DNC 及び HDP は、*in vitro* の標準試験（寒天平板希釈法）において、病原性及び非病原性の内因性及び外因性細菌　(*Salmonella*、*Staphylococcus*、*Enterococcus*、*Escherichia coli*、*Proteus*、 *Lactobacillus*、 *Campylobacter*、*Clostridium* 及び *Bacteroides*) のそれぞれ 5 菌株に対する抗菌活性を有しなかった（MIC>256 mg/l）。490 mg/kg では、ナイカルバジンは *Salmonella* Enteritidis に対し、全く抗菌活性を有しなかった。また、ナイカルバジンは *Salmonella* Enteritidis のコロニー形成又は排菌数に全く影響しなかった）。（参照 11、14、52）

FDA では DNC 及び HDP はヒトの主要な腸内細菌 100 種以上に対し明らかな抗菌活性を持たず、最小 MIC 値は>128μg/mL であり、ヒトの腸内細菌に影響はみられないと結論している。（参照 12）

Ⅲ．国際機関等における評価

１．JECFA における評価

JECFA では、1998 年（第 50 回会合）において評価が実施されている。ナイカルバジンの ADI の設定に当たっては、ラットの発生毒性試験における NOEL 200 mg/kg 体重/日を基本として、長年にわたる多くの諸国での使用実績を勘案した。安全係数は、安全性試験の不十分な点を補うために追加の安全係数 5 を適用し、500 とした。以上より、ADI を 0-400 μg/kg 体重/日と設定した。（参照 10）

２．欧州（EFSA）における評価

EFSA の 2010 年の評価では、JECFA での 1998 年の評価以降にナイカルバジンを用いて実施されたラットを用いた亜急性及びウサギの発生毒性試験の結果は、JECFA で検討されたナイカルバジンの NOAEL よりも低いことが示され、亜急性毒性試験では NOAEL を特定できなかったとしている。

一方で、消費者はナイカルバジンではなく DNC にばく露されるため（HDP 残留物はごくわずかであり、消費者のばく露レベルは動物で毒性を示すレベルよりも数桁少ないと予想される。）、ナイカルバジンに基づく ADI は消費者への安全性を反映しないとしている。

薬物動態試験によると、消費者はナイカルバジンではなく DNC にばく露されるため、ナイカルバジンの安全性評価には DNC を考慮すべきであるとしている。この見地から、イヌの 2 年間慢性毒性試験から得られた NOAEL（154 mg DNC/kg 体重/日）に安全係数 200 を適用し、DNC に対する ADI を 0.77 mg/kg 体重/日と設定した。また、休薬期間を 5 日としている。

ナイカルバジンについての ADI は、ナイカルバジンの使用者（農場従業員、獣医師等）への安全性評価に有用な場合があるとし、ウサギの発生毒性試験における NOAEL 60 mg/kg/日を基に、安全係数 200 を採用し、0.3 mg/kg 体重/日とする暫定 ADI が提言されている。（参照 11）

その後、2017 年の評価では、DNC と HDP の混合物を用いたラットの 52 週間慢性毒性試験の NOAEL（20/8（DNC/HDP）mg/kg 体重/日）から（参照 35）、安全係数を 100 とし DNC 0.2 mg/kg 体重/日及び HDP0.08 mg/kg 体重/日をそれぞれの ADI とした。（参照 43）

３．米国における評価

米国の 2018 年における評価では、ウサギの発生毒性試験のナイカルバジンの NOAEL 30 mg/kg 体重/日を基に、安全係数 200 を採用し、ナイカルバジン（DNC 及び HDP の合計）の ADI を、200 μg/kg 体重/日と設定（150 μg/kg 体重から勘案）している。なお、休薬期間を 5 日としている。（参照 12、53）

４．オーストラリアにおける評価

APVMA は、イヌの 2 年間慢性毒性試験の結果から NOAEL 240 mg/kg 体重/日を基に、ADI を 2 mg/kg 体重/日としている（1982）。また、休薬期間を 4 日と

している。（参照 54）

Ⅳ．食品健康影響評価

ナイカルバジンはDNCとHDPの等モルコンプレックスであり、抗コクシジウム作用を有し、国内外で動物用医薬品及び飼料添加物として使用されている。

対象動物である鶏を用いた薬物動態試験及び残留試験の結果から、ナイカルバジンは、鶏において、投与後速やかにDNCとHDPに分解される。この分解されたHDPの吸収及び排泄はDNCに比べ迅速であり、対象動物である鶏における通常用量での投与では、HDPは投与後組織から速やかに消失し、DNCの残留が認められる。

したがって、動物用医薬品又は飼料添加物としてナイカルバジンが用いられた場合におけるヒトへの主なハザードは、ナイカルバジンではなく、その構成成分であるDNCと考えられる。

遺伝毒性試験についてはナイカルバジン並びにその構成成分である DNC 及び HDP には、ナイカルバジンが動物用医薬品又は飼料添加物として用いられた場合、食品を介してヒトに対して特段問題となる遺伝毒性はなく、ADIが設定可能であると判断した。

亜急性毒性試験及び慢性毒性試験では、ナイカルバジンについては、LOAELとして100 mg/kg 体重/日が得られている。DNC及びHDPの混合物については、52週間投与試験における主に腎臓の所見に基づき、NOAEL については、DNC として 20 mg/kg 体重/日、HDPとして8 mg/kg 体重/日とする結果が得られている。DNCについては、91日間投与試験におけるNOAELは、709 mg/kg 体重/日とする結果が得られている。

生殖発生毒性試験では、DNC を投与した試験は実施されていない。ナイカルバジンについては、ウサギを用いた発生毒性試験において、母動物のNOAELについては肝臓における所見から60 mg/kg 体重/日、胎児に対するNOAELは120 mg/kg 体重/日とする結果が得られた。DNC と HDP の混合物では、胎児に対する毒性として、LOAELがDNCとして580 mg/kg 体重/日、HDPとして193mg/kg 体重/日と判断された。

１．毒性学的ADIについて

ナイカルバジンの ADI の設定に当たっては、ナイカルバジンの鶏における薬物動態及び残留試験の結果から、ヒトがばく露する物質は、鶏へ投与されるナイカルバジンではなく、その構成成分であるDNC及びHDPであると考えられた。また、DNC と HDP を比較すると、DNC の方が残留期間は長く、毒性試験において、ADI の設定根拠となる試験は、ナイカルバジンを投与したものではなく、混合物を投与する毒性試験を用いて評価することが適当であると考えられる。DNC については毒性データが不足していることから、混合物の毒性試験結果で評価を行った。

各種毒性試験のうち、DNC及びHDPについて最も低いNOAELは、ラットを用いた52週間慢性毒性試験におけるDNC 20 mg/kg 体重/日及びHDP 8 mg/kg 体重/日であった。これらのNOAELに基づき、安全係数100を適用し、毒性学的ADIは、DNCとして0.2 mg/kg 体重/日、HDPとして0.08 mg/kg 体重/日と設定した。

２．微生物学的 ADI について

微生物学的影響調査結果においては、ナイカルバジン、DNC 及び HDP のいずれも抗菌活性がみられないことから、微生物学的 ADI の設定は不要と考えられた。

３．ADI の設定について

ADI の設定に当たり、抗菌活性がみられないことから、毒性学的 ADI を採用することが適当であると考えた。

体内動態試験、薬物動態試験、残留試験の結果から、ヒトへの主なハザードはナイカルバジンではなく、その構成成分である DNC であるため、動物用医薬品又は飼料添加物としてナイカルバジンが用いられた場合、その ADI は、上記 NOAEL に基づき、DNC として 0.2 mg/kg 体重/日であると判断した。

したがって、ナイカルバジンの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えた。

ADI　＝　0.2 mg/kg 体重/日（DNC として）

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

表 37　各種試験の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重)	無毒性量(mg/kg 体重/日)			
			EFSA	JECFA	FDA	食品安全委員会
ラット	13 週間亜急性	ナイカルバジン:200, 600/400, 1,000/600	LOAEL: 200(181[13])		LOAEL: 200 (181[13])	LOAEL:雄181[13]、雌189[13]
	13 週間亜急性	ナイカルバジン:100, 200, 230 (雌:266)				LOAEL:100
	91 日間亜急性	DNC:106, 284, 709	709(DNC)		709(DNC)	709(DNC)
	13 週間亜急性	ナイカルバジン+ナラシン混合物(1：1):7.5, 20, 60			20	1.36(雄), 1.57(雌)
	52 週間慢性	DNC+HDP 混合物(DNC/HDP):20/8, 50/20.5, 154/63	20/8(DNC/HDP)			20/8(DNC/HDP)
	24 か月間慢性及び発がん性	DNC+HDP 混合物（DNC として）:50, 150, 300）	300/100(DNC/HDP)	400/300(NICR/DNC)	300(DNC)	300/100(DNC/HDP)
	3 世代生殖	DNC+HDP 混合物(DNC/HDP): 50/17, 150/50, 300/100	150/50(DNC/HDP)	400(NICR)	LOEL/LOAEL(DNC/HDP):150/50	LOAEL(DNC/HDP): 50/17
	2 世代生殖	DNC+HDP 混合物(DNC/HDP): 100/33, 300/100, 580/193	LOAEL(DNC/HDP): 100/33(親動物毒性), 580/193(生殖毒性)			LOAEL(DNC/HDP): 100/33(母動物), 580/193(児動物)

[13] 投与期間中の被験物質平均摂取量

	発生毒性	ナイカルバジン: 70、200、600	70	200	70	70
	発生毒性	ナイカルバジン+ナラシン混合物(DNC/HDP): 0.25/0.25, 0.75/0.75, 2.25/2.25	0.75/0.75(母動物/児動物) 催奇形性なし		0.75/0.75(母動物/児動物), 催奇形性なし	0.75/0.75(母動物/児動物), 催奇形性なし
ウサギ	発生毒性	30、60、120	60(母動物), 120(発生毒性)		60(母動物), 30(胎児,LOAEL)	60(母動物), 120(胎児), 催奇形性なし
	発生毒性	60、120、240	240(母動物), 120(児動物)			
イヌ	2 年間慢性	DNC+HDP 混合物(DNC/HDP):60/20, 180/60 又は 600/200	154/51(DNC/HDP), 200(NICR)	154/51(DNC/HDP)	154/51(DNC/HDP)	154/51(DNC/HDP)
毒性学的 ADI (mg/kg 体重/日)			0.2 NOAEL(DNC):20 安全係数：100	0.4 NOEL:200 安全係数：500	0.2 LOAEL: 30 安全係数：200	0.2 NOAEL(DNC): 20 安全係数：100
毒性学的 ADI 設定根拠資料			ラット 52 週間慢性毒性試験	ラット発生毒性試験	ウサギ発生毒性試験	ラット 52 週間慢性毒性試験
ADI(mg/kg 体重/日)			0.2	0.4	0.2	0.2

＜別紙：検査値等略称＞

略称	名称
ADI	許容一日摂取量
A/G	アルブミン/グロブリン比
ALP	アルカリ性フォスファターゼ
ALT	アラニンアミノ基転移酵素
APVMA	オーストラリア農業・動物医薬品局
$AUC_{0\text{-}\tau}$	投与後 0～t 時間までの血漿中濃度曲線下面積
C_{max}	血中最大濃度（peak concentration）
Codex	コーデックス委員会（Codex Alimentarius Commission）
DNC	N,N'-ビス(4-ニトロフェニル)ウレア(4,4’-dinitrocarbanilide)
EU	欧州連合（European Union）
EMEA	欧州医薬品庁（European Medicines Agency）
EFSA	欧州食品安全機関（European Food Safety Authority）
FDA	米国食品医薬品庁（Food and drug administration）
FEEDAP	動物用飼料に使用する添加物及び製品又は物質に関する科学パネル（The Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed）
FAO	国際連合食糧農業機関（Food agriculture organization of the United Nations）
GRAS	一般に安全とみなされる物質（Substances generally recognized as safe）
GR	オランダ健康評議会（Gezondheidsraad）
HDP	4,6-ジメチル-2-ピリミジノン(4,6-dimethyl-2-pyrimidinol)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー（High Performance Liquid Chromatography）
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives）
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法（Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry）
LC/MS/LC	液体クロマトグラフィー/質量分析/液体シンチレーション計測装置（Liquid Chromatography / Mass Spectrometry/Liquid Scintillation Counter）
LD_{50}	半数致死量（Median Lethal Dose, Lethal Dose 50, 50% Lethal Dose　）
LOAEL	最小毒性量（Lowest-observed-effect level）

LOD	検出限界（Limit of detection）
LOQ	定量限界(Limit of quantitation）
MCHC	平均赤血球血色素濃度（Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration）
MIC	最小発育阻止濃度（Minimal Inhibitory Concentration）
MIC_{50}	50 %最小発育阻止濃度（Minimum Inhibitory concentration 50）
MIC_{calc}	人の腸内細菌叢でみられる代表的な細菌の属（種）を対象とした最小発育阻止濃度
MRL	最大残留基準（Maximum residue limit）
NICR	ナイカルバジン(Nicarbazin）
NOAEL	無毒性量（No-observed-adverse-effective level）
NOEL	無作用量(No-observed-effective level）
NTP	米国国家毒性プログラム（National Toxicology Program）
OECD	経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development）
PNA	p-ニトロアニリン(p-nitroaniline）
T_{max}	最高血中濃度到達時間（maximum drug concentration time）
$T_{1/2}$	半減期（biological half-life）
TLC	薄層クロマトグラフィー（thin-layer chromatography）
TR	総残留濃度
VICH	動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力
WHO	世界保健機関（World health organization）

＜参照＞
1 厚生労働省：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）
2 エランコジャパン株式会社：「ナイカルバジン残留基準値（インポートトレランス）設定のための申請書　概要 2020（非公表）
3 National Institute of Health (NIH): National Library of Medicine (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)
4 厚生労働省：食品、添加物等の規格基準　（昭和 34 年 12 月 28 日　厚生省告示第 370 号）
5 Edward F. Rogers et al.: Science 1983;630-632
6 Merck Index Web 版 (https://www.rsc.org/Merck-ndex/searchresults?searchterm=Nicarbazin)
7 農林水産省：動物用医薬品及び医薬品の使用の規制に関する省令（平成 25 年農林水産省令第 44 号））
8 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 https://www.vm.nval.go.jp/
9 農林水産省　飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年 7 月 24 日農林省令第 35 号）
10 JECFA (International programme on chemical safety Wold Health Organization): Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO Food Additives series 41,923, Nicarbazin, 1998
11 EFSA: SCIENTIFIC OPINION, Scientific Opinion on the safety and efficacy of Koffogran (nicarbazin) as a feed additive for chickens for fattening. EFSA Journal 2010; 8(3):1551
12 FDA, Freedom of Information summary supplemental new animal drug application, NADA 138-952, Maxiban™ 72. 2018
13 エランコジャパン株式会社：（非公表）
14 EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the request from the Commission on the efficacy and safety of the coccidiostat Koffogran]　EFSA Journal 2003, 16
15 Porter CC and Gilfillan JL: The Absorption and Excretion of Orally Administered Nicarbazin by Chickens. Poultry Science 1955; 34 (5): 995-1001.
16 エランコジャパン株式会社：（非公表）Nessel RJ [Nicarbazin: Drug disposition, metabolism and tissue residure of Nicarbazin in chickens.] 1977
17 JECFA, FNP41-11 Nicarbazin,1998
18 JECFA, WHO TRS 888, 1999 [EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN FOOD, Nicarbazin p76/108]
19 エランコジャパン株式会社：　King N, Walker A [The residue depletion and metabolic identification of [14C]-DNC in chickens following repeated administrations of Nicarbazin containing [14C]-DNC.] 2007.
20 エランコジャパン株式会社：Mclellan G, Coyle D [The absorption distribution metabolism and excretion of [14C]-HDP following multiple administrations of Nicarbazin containing [14C]-HDP to broiler chickens.] 2007.
21 エランコジャパン株式会社：　Manthey JA, Zornes LL [A 14C Nicarbazin-Narasin metabolism study in broiler chickens.] 1985

22 エランコジャパン株式会社： McLellan G, Coyle D [The absorption, distribution, metabolism and excreation of [14C]-HDP following multiple administrations of Nicarbazin containing [14C]-HDP to broiler chickens.] 2007
23 EFSA: SCIENTIFIC OPINION: Scientific Opinion on the safety and efficacy of Maxiban® G160 (narasin and nicarbazin) for chickens for fattening. EFSA J 2010; 8(4):1574
24 エランコジャパン株式会社： Manthey JA, Herberg RJ, Giera DD., Thomson TD [Rate of decline of 14C Naicarbazin residues from tissues of chickens dosed orally for six days with a ration containing 50ppm 14C Naicarbazin in the presence of 50ppm Narasin.] 1983
25 エランコジャパン株式会社： Manthey JA, Herberg RJ, Thomson RJ [A 14C Narasin and 14C Nicarbazin combination tissue residue study in chickens.] 1983
26 エランコジャパン株式会社： Determination of Nicarbazin in Chicken Tissues by High-Performance Li quid Chromatography. 社内資料, Kramer HT, 1989
27 Cuckler AC, Malanga CM and Ott WH: The Antiparasitic Activity of Nicarbazi. Poultry Science 1956; 35(1): 98-109.
28 エランコジャパン株式会社： Residue Depletion of Nicarbazin and Narasin in Edible Tissues from Chickens Following Administration of Maxiban® G160 via Feed. Johnston DL & Roberts S. 2008
29 EFSA Scientific Opinion, Modification of the terms of authorisation regarding the maximum inclusion level of Maxiban® G160 (narasin and nicarbazin) for chickens for fattening. EFSA J 2019.5786.
30 de Lima AL, Barreto F, Rau RB, da Silva GR, Lara LJC, de Figueiredo TR, de Assis DCS, Canc,ado SV: Determination of the residue levels of nicarbazin and combination nicarbazinnarasin in broiler chickens after oral administration. PLoS ONE 2017, 12 (7): e0181755.
31 大石・小田：ナイカルバジンの微量摂取時における鶏卵中の残留と消失. 食衛誌 1989, 30(6) 542-547
32 Olejnik M, Szprengier-Juszkiewicz T, Jedziniak P. Depletion study on NICARBAZIN and NARASINin tissues and eggs of hens housed in deep litter. Bull Vet Inst Pulawy 55, 761-766, 2011
33 エランコジャパン株式会社： Testing for mutagenic activity with *Salmonella Typhimurium* TA1536, TA1537, TA98, TA100 and *Escherichia coli* wp2uvrA. Irveresk, 2004. Riach C.G. Nicarbazin mouse lymphoma cell mutation assay. Inveresk 2004
34 Ohta T, Moriya M, Kaneda Y. Mutagenicity of screening of feed addives in the microbial system. Mutat. Res. 1980; 77: 21-30
35 EFSA, SCIENTIFIC OPINION: Safety and efficacy of Monimax® (monensin sodium and nicarbazin) for turkeys for fattening. j.efsa.2017.5094.
36 エランコジャパン株式会社： Riach C.G. Nicarbazin Mouse Lymphoma Cell Mutation Assay. Inveresk 2004
37 エランコジャパン株式会社： Innes D.C. Nicarbazin Micronucleus test in Bone marrow of CD-1mice 0h+24h oral dosing and 48h sampling 20677. Inversk 2001
38 エランコジャパン株式会社： Nesslany F. *In vivo/in vitro* unscheduled DNA

synthesis (UDS) assay in rat hepatocytes with Nicarbazin DSR-060902. Institutt Pasteur De Lille 2007
39 エランコジャパン株式会社： Nicarbazin. Tolerance studies in mammals. Kuna (1955)
40 エランコジャパン株式会社： NICARBAZIN: A 13-week dietary toxicity study in rats. Lloyd Z, 2009
41 エランコジャパン株式会社： Non-Clinical Laboratory Study (Glp):4,4'-Dinitrocarbanilide (Dnc): A 13-Week Oral Gavage Toxicity Study In Rats 2009.INTERIM REPORT
42 エランコジャパン株式会社： A three-month subchronic toxicity evaluation of EL-9193 (NARASIN + NICARBAZIN) administered orally to Fischer 334 rats. Novilla N.M. & Usher R.W. 1984.
43 EFSA: SCIENTIFIC OPINION: Safety and efficacy of Monimax® (monensin sodium and nicarbazin) for chickens for fattening and chickens reared for laying. j.efsa.2018.5459
44 エランコジャパン株式会社： Chronic toxicity studies with nicarbazin formulation in rats. Vogin E.E. (1969)
45 エランコジャパン株式会社： Two-Year Chronic toxicity studies with components of nicarbazin in dogs. Vogin E.E. 1969.
46 エランコジャパン株式会社： Multigeneration reproduction and lactation studies with 4,4'-dinitrocarbanilide(DNC) and 2-hydroxy-4,6-dimethylpyrimidine dihydrate（HDP） Krischner S.L. and Vogin E.E. (1970)
47 エランコジャパン株式会社： Teratogenicity test of nicarbazin with rats by oral administration. A report to the National Safety Validation Project of Feed Additives. Tajima M. 1970
48 エランコジャパン株式会社： A teratology study on a combination of narasin and nicarbazin in wistar rats. Study R12383. Eli Lilly and Co. Novilla MN & Hagopian GS. 1984
49 エランコジャパン株式会社： Nicarbazin developmental toxicity study in rabbits. 24696, Jardine L. & Craige S. 2006.
50 エランコジャパン株式会社： 調査報告書 動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査 H19、大森かおりら：動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査 MBC06K3072. 株式会社三菱化学ビーシーエル、2007
51 エランコジャパン株式会社： 松本昌雄ら：飼料添加物の抗菌性について．食衛誌、1980、Vol.21(3)；224-231
52 食品安全委員会，平成 23 年度食品安全確保総合調査. 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報告書. ナイカルバジン、2012
53 FDA, Nicarbazin - FEED, REG, 4 ppm - As res in uncooked muscle, liver, skin, & kidney of chickens - 556.445; Use in chicken feeds - 558.366.
54 APVMA, Acceptable daily intakes for agricultural and veterinary chemicals. Edition 2/2020

別添２

ナイカルバジ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　令和３年12月１日～令和３年12月30日
２．提出方法　インターネット、ファックス、郵送
３．提出状況　１通
４．頂いた意見・情報及び食品安全委員会の回答

	頂いた意見・情報	食品安全委員会の回答
1	･承認農薬の成分数だけで1,842種(2021/3/31現在）に上っており、添加物（829種）、畜産物・水産物中の抗生物質・ホルモン剤、遺伝子組換え（食品で380種、飼料で100種）、ゲノム編集成分など､全部合わせれば驚くべき数字になる。 そのような状況にも関わらず､影響審査の段階では単品の成分で影響を確認するに留まっている。 複合効果を検証しろと意見を出しても｢世界的機関でその必要性はないと言われているし､複合効果の検証方法は確立されていないので､現在検証方法等について検討している段階｣という言い訳のみ。 複合影響の検証方法が確立されるまで､新規の承認を停止､残留基準はゼロとするか､既存の基準値もすべて安全係数を1,000に設定して基準を厳しくすべき。 ・審査にあたっては、申請者が提出した資料を２４も使っているが､申請者に有利なものに偏るのは当然であり、検証は、全て第三者によって実施されたものに限定して審査すべき。	食品安全委員会は､国民の健康の保護が最も重要であるという基本的認識の下､規制等のリスク管理を行う行政機関から独立して､科学的知見に基づき客観的かつ中立公正に食品健康影響評価を行っています。この食品健康影響評価は、食品安全基本法第11条第3項に基づき､その時点において到達されている水準の科学的知見に基づいて行うこととしております。 複数の化合物へのばく露については､現段階では 、JECFA（FAO/WHO合同食品添加物専門家会議）やJMPR（FAO/WHO合同残留農薬専門家会議）において、複数の化合物へのばく露に対するリスク評価手法について検討することとされていることから、引き続き、最新の情報収集に努めてまいります。 また､食品健康影響評価は、申請者の提出した資料をもとに行いますが､これまでの科学的知見や海外での評価結果も踏まえ､資料の内容についての問題点､疑問点については説明や再提出を求めるとともに､調査会の審議において､資料の内容が不足していると判断された場合は､追加試験等のデータを含め必要な追加資料の提出を求めています。 残留基準の設定等に関するご意見は、リスク管理に関するものと考えられることから､厚生労働省及び農林水産省にお伝えします。

※頂いたものをそのまま掲載しています。