資料７

肥料・飼料等専門調査会における審議結果について

１．審議結果

厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた「ジニトルミド」に係る食品健康影響評価（令和２年２月 13 日付け厚生労働省発生食 0213 第 8 号）については、令和７年３月 14 日に開催された第 207 回肥料・飼料等専門調査会において審議結果（案）がとりまとめられた。

２．ジニトルミドに係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

１）募集期間

令和７年４月 22 日（火）開催の食品安全委員会（第 981 回会合）の翌日、令和７年４月 23 日（水）から令和７年５月 22 日（木）までの期間

２）受付体制

電子メールフォーム（ホームページ上）、ファックス及び郵送

３）意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等をとりまとめ、肥料・飼料等専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果をとりまとめ、食品安全委員会に報告する。

（案）

動物用医薬品評価書

ジニトルミド

令和７年（２０２５年）４月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目　次

〈審議の経緯〉

2020 年	2 月	13 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（厚生労働省発生食 0213 第 8 号)、関係資料の接受
2020 年	2 月	18 日	第 773 回食品安全委員会（要請事項説明）
2020 年	3 月	9 日	第 151 回肥料・飼料等専門調査会
2020 年	3 月	25 日	厚生労働省へ追加資料提出依頼
2022 年	2 月	26 日	厚生労働省より追加資料 1 の提出
2022 年	4 月	13 日	厚生労働省より追加資料 2 の提出
2023 年	9 月	11 日	第 192 回肥料・飼料等専門調査会
2025 年	3 月	14 日	第 207 回肥料・飼料等専門調査会
2025 年	4 月	22 日	第 981 回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2021 年 6 月 30 日まで）
佐藤　洋　（委員長）
山本　茂貴　（委員長代理）
川西　徹
吉田　緑
香西　みどり
堀口　逸子
吉田　充

（2024 年 6 月 30 日まで）
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

（2024 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）
祖父江　友孝（委員長代理　第二順位）
頭金　正博（委員長代理　第三順位）
小島　登貴子
杉山　久仁子
松永　和紀

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2020 年 3 月 31 日まで）
今井　俊夫（座長*）
山中　典子（座長代理*）
新井　鐘蔵　　佐々木　一昭
荒川　宜親　　下位　香代子
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
桒形　麻樹子　山田　雅巳
小林　健一
*2019 年 11 月 6 日から

（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　眞理子
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

（2022 年 3 月 31 日まで）
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

（2023 年 9 月 30 日まで）
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　　植田　富貴子
新井　鐘蔵　　小林　健一
荒川　宜親　　佐々木　一昭
井上　薫　　　高橋　研
今田　千秋　　中山　裕之
*2022 年 4 月 25 日から

（2024 年 3 月 31 日まで）
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　　佐々木　一昭
新井　鐘蔵　　高橋　研
井上　薫　　　平田　暁大
今井　俊夫　　山田　雅巳
植田　富貴子　山中　典子
*2022 年 4 月 25 日から

（2024 年 4 月 1 日から）
山中　典子（座長*）
川本　恵子（座長代理*）
高橋　研（座長代理*）
赤沼　三恵　　大山　和俊
新井　鐘蔵　　佐々木　一昭
井上　薫　　　平田　暁大
今井　俊夫　　山田　雅巳
植田　富貴子　吉田　敏則
*2024 年 4 月 17 日から

〈第 151 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）

〈第 192 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

今井　俊夫（元国立研究開発法人国立がん研究センター研究所　動物実験施設長）

山田　雅巳（防衛大学校　応用科学群　応用化学科教授）

山中　典子（国立研究開発法人　農業・食品産業技術総合研究機構　動物衛生研究部門疾病対策部　病性鑑定室）

〈第 207 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

小林　健一（独立行政法人労働者健康安全機構労働安全衛生総合研究所　有害性試験研究領域試験グループ統括研究員）

森田　　健（独立行政法人製品評価技術基盤機構化学物質管理センター上席技術専門官）

要　約

抗コクシジウム剤である「ジニトルミド」（CAS No. 148-01-6）について、文献報告及びACGIH 評価資料等を用いて、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（鶏）、残留（鶏）、遺伝毒性、急性毒性（ラット及びイヌ）、亜急性毒性（ラット）、慢性毒性（ラット及びイヌ）、生殖発生毒性（ラット）及び対象動物に対する安全性試験（鶏）等の試験成績である。

薬物動態試験の結果、ジニトルミドはニトロ基の還元により 3-ANOT 及び 5-ANOT に代謝され、その後、アミド基の加水分解により 3-ANOTA 及び 5-ANOTA が生成されると考えられた。5-ANOT は生成後、大部分が未変化のまま排泄される一方、3-ANOT は組織と結合し、一部が加水分解により 3-ANOTA として排泄されると考えられた。

残留試験の結果、ジニトルミドの混餌（125 mg/kg 飼料）投与 24 時間後の筋肉及び肝臓におけるジニトルミド濃度は、いずれも不検出であった。一方で、投与 24 時間後の 3-ANOT 濃度は筋肉で 0.1 μg/g 未満、肝臓では 0.2 μg/g であった。

各種遺伝毒性試験の結果、ジニトルミドは *in vitro* の Rec アッセイ、細菌を用いる復帰突然変異試験及び培養細胞を用いる染色体異常試験で陽性であったが、*in vitro* のニトロ還元酵素欠損株を用いた復帰突然変異試験、*in vivo* のマウスの骨髄小核試験並びにラットの肝臓及び大腸を用いたコメット試験は陰性であった。これらのことから、ジニトルミドは生体にとって特段問題となる遺伝毒性は示さず、ADI の設定は可能と判断した。

各種毒性試験で得られた NOAEL の最小値は、ラットの 2 年間慢性毒性試験の 3 mg/kg 体重/日であった。ラットの 2 年間慢性毒性試験においては、発がん性の有無を判断することは適切ではないと考えられた。また、生殖発生毒性試験においては、評価項目、動物匹数が少なく生殖発生毒性の十分な評価ができなかった。以上を総合的に勘案し、追加の安全係数として 5 を用いることが適当と判断した。これらのことから、毒性学的 ADI については、ラットの 2 年間慢性毒性試験における NOAEL である 3 mg/kg 体重/日を根拠とし、安全係数 500 で除した、0.006 mg/kg 体重/日と判断した。

微生物学的 ADI については、供試株の MIC が高く、設定不要と判断した。

以上より、ジニトルミドの ADI を 0.006 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

抗原虫薬及び合成抗菌薬

２．有効成分の一般名

和名：ジニトルミド

英名：Dinitolmide

３．化学名

IUPAC：2-methyl-3,5-dinitrobenzamide

CAS No. 148-01-6

（参照1）

４．分子式

$C_8H_7N_3O_5$

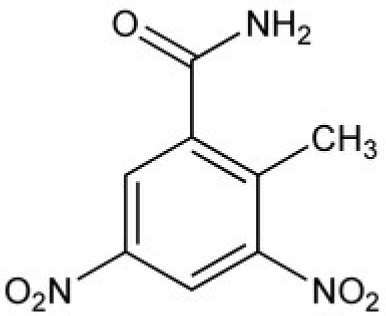
（参照 1）

５．分子量

225.16

（参照 1）

６．構造式



（参照 1）

７． 使用目的及び使用状況

ジニトルミドはダウ・ケミカルにより開発された抗コクシジウム剤である。コクシジウム原虫のスポロゾイト～メロゾイトの時期に分裂増殖を抑制すると考えられている。国内では肉用鶏、海外では鶏及び七面鳥（肉用）の抗コクシジウム剤として使用されている。産卵鶏への使用は国内外とも承認されていない。

国内では、動物用医薬品としては、グリカルピラミド・ジニトルミド混合製剤が、承認･販売されている。1983 年に飼料添加物としての指定は取り消しとなった。海外では、米国、カナダ、オーストラリア等で動物用医薬品として承認・販売されており、残留基準が設定されている。

国内外において、人用医薬品としての承認はない。

Ⅱ．安全性に係る知見の概要

文献報告、ACGIH 評価資料等を用いて、ジニトルミドの毒性に関する主な知見を整理した。

１．薬物動態試験

（１）代謝試験（鶏①）

鶏（白色レグホン種）に ^{14}C 標識ジニトルミド（3.15 mCi/mmol）を 8 週間混餌投与（125 mg/kg 飼料）後、肝臓を採取しペーパークロマトグラフィー及びスポットテストにより肝臓ホモジネート中の代謝物検索が実施された。

肝臓ホモジネートからアセトンで容易に抽出される主要な遊離放射性化合物として、3,5-dinitro-*o*-toluamide（ジニトルミド未変化体）が検出された。また、肝臓ホモジネートの強酸性下（pH1.5）のペプシン消化による加水分解処理によって分離された組織結合性放射性化合物の大部分は、アミノ-ニトロ-*o*-トルアミド（ANOT）であることが示された。ANOT には、2 つの異性体（3-アミノ-ニトロ-*o*-トルアミド：3-ANOT 及び 5-アミノ-ニトロ-*o*-トルアミド：5-ANOT）が存在するが、本試験でのペーパークロマトグラフィーによる分析系では識別できなかった。（参照2）

（２）代謝試験（鶏②）

鶏肝臓ホモジネート 100 g（0.2M リン酸緩衝生理食塩水 100 mL を溶液として使用）にジニトルミド 30 mg 及び ^{14}C 標識ジニトルミド 0.57 mg（9.46 mCi/mmol）を加えて 39℃で 6 時間反応後、ホモジネート中に生成された化合物の分析が実施された。

ホモジネートのアセトン抽出物をさらにエチルエーテルで抽出し、エーテル相と水相に分け、エーテル相は蒸発乾固後アセトンに溶解しヘプタンを加え、この溶液を、酸化アルミニウムを含むカラムに導入し、80%エチルアルコールで溶出した画分を蒸発乾固させ、残渣を昇華させて分析サンプルⅡを得た。一方、水相はさらにエーテル抽出し、蒸発乾固させたエーテル相の残渣を 90%アルコールに溶解し、ろ過後高真空下で昇華させ分析サンプルⅠを得た。

3-ANOT 及び 5-ANOT の標準化合物とサンプルⅠの結晶形の X 線解析及び赤外分光分析により、サンプルⅠが 3-ANOT に一致していることが示された。また、サンプルⅡとジニトルミド未変化体の標準化合物の赤外線分析の比較により両者は同一であることが示された。

ジニトルミドと鶏肝臓ホモジネートのインキュベーションにおいて、ニトロ基の還元により、3-ANOT の生成が示された。また、鶏における代謝では、通常 3-ANOT は組織に結合して存在することが示唆された。（参照3）

（３）代謝試験（鶏③）

鶏（白色レグホン種）に ^{14}C 標識ジニトルミドを混餌投与（125 mg/kg 飼料）し、採取した排泄物中の代謝物検索が実施された。

排泄物のアセトン抽出溶液からペーパークロマトグラフィーにより各代謝物を分離、標準化合物との比較を行い、さらにオートラジオグラフを作成して、各領域の放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。さらに、エチルアルコールによる抽出、単離を行い、昇華及び結晶化により精製したサンプルについて質量分析及びX線解析を実施した。

排泄物中に検出された代謝物の結果を表1に、鶏におけるジニトルミドの推定代謝経路を図1に示した。

^{14}C 標識ジニトルミドを混餌投与した鶏の排泄物中の主要代謝物として、ジニトルミド未変化体、3-ANOT、5-ANOT、3-アミノ-5-ニトロ-o-トルイル酸（3-ANOTA）が検出され、さらに5-アミノ-3-ニトロ-o-トルイル酸（5-ANOTA）、ジアミノ化合物である3,5-ジアミノ-o-トルアミド（DAOT）及び3,5-ジアミノ-o-トルイル酸（DAOTA）が検出された。また、3,5-ジニトロ-o-トルイル酸（DNOTA）がしばしば痕跡的に検出された。

ジニトルミドの代謝の最初のステップは1つのニトロ基の還元による3-ANOT及び5-ANOTの生成であり、その後、アミド基の加水分解により3-ANOTA及び5-ANOTAが生成されると考えられた。生成される3-アミノ化合物の比率は5-アミノ化合物に対してやや高く1.2を示した。また、排泄物中の3-ANOT及び3-ANOTAの割合は同程度（それぞれ22%及び20%）であったが、5-ANOT及び5-ANOTAの割合はそれぞれ32%及び6%であったことから、3-ANOTの加水分解率は5-ANOTより高いことが示唆された。また、3-ANOTは5-ANOTと比較して容易に塩酸塩を形成することから、5-ANOTは生成後、大部分が未変化のまま排泄される一方、3-ANOTは組織と結合し、一部が加水分解により3-ANOTAとして排泄されると考えられた。排泄物中代謝物の87%で1つ以上のニトロ基が還元されているため、ニトロ基の還元がジニトルミドの代謝における主要なステップであり、アミド基からカルボキシル基への変換が起きる割合は排泄物中代謝物の29%であることから、加水分解ステップは限定的な反応であると考えられた。また、排泄物中のジアミノ化合物（DAOT及びDAOTA）の割合は少ないことから、2番目のニトロ基の還元は急速な反応ではないと考えられた。

以上から、鶏でのジニトルミドの混餌投与における排泄物中代謝物検索から、ジニトルミドの代謝について、3-ニトロ基の還元とその後のアミド基の加水分解及び5-ニトロ基の還元の2つの主要な経路が示された。（参照4）

表1　鶏における ^{14}C 標識ジニトルミド混餌投与後の排泄物中代謝物分布割合（%）

代謝物	総放射活性分布割合[a]
3,5-ジニトロ-*o*-トルアミド（DNOT）[b]	14.6±2.3
3-アミノ-5-ニトロ-*o*-トルアミド（3-ANOT）	22.2±2.1
3-アミノ-5-ニトロ-*o*-トルイル酸（3-ANOTA）	20.5±1.9
5-アミノ-3-ニトロ-*o*-トルアミド（5-ANOT）	32.0±3.7
5-アミノ-3-ニトロ-*o*-トルイル酸（5-ANOTA）	5.7±1.5
3,5-ジアミノ-*o*-トルアミド（DAOT）	2.9±1.1
3,5-ジアミノ-*o*-トルイル酸（DAOTA）	3.8±0.8
3,5-ジニトロ-*o*-トルイル酸（DNOTA）	痕跡程度

a：10 羽の平均値
b：ジニトルミド未変化体

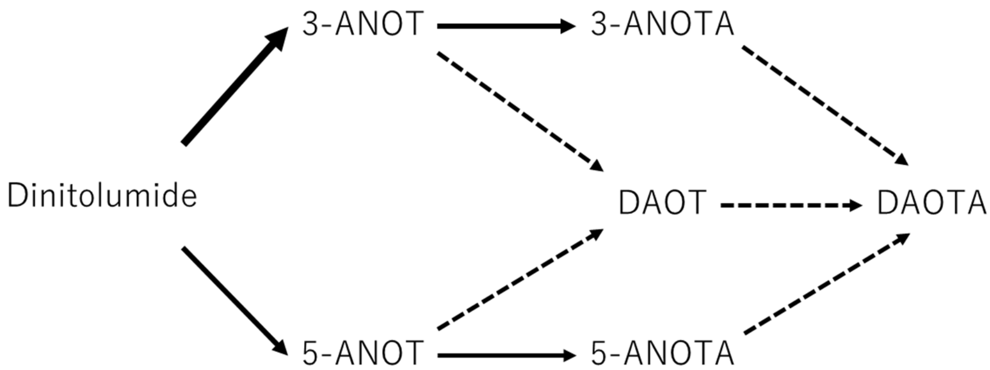


図1　鶏におけるジニトルミドの推定代謝経路（参照 4）

２．残留試験

（１）残留試験（鶏①）

① 強制経口投与試験

鶏（白色レグホン種、8 週齢、供試数不明）に、^{14}C 標識ジニトルミド（3.15 mCi/mmol）を含む大豆ミールを充填したゼラチンカプセル（ジニトルミドとして 0.57 mg）を投与（1 時間間隔で 1 カプセルを 10 回）した。強制経口投与間及び最終投与終了後は、非薬物含有飼料を摂取させた。投与開始直前及び投与開始後不等間隔で採取した血液試料について、総放射活性を指標に濃度（総放射活性濃度）が測定された。

投与開始後、血液中総残留放射活性濃度は速やかに増加し、投与開始 8 時間後（9 回目投与）で定常状態に達したが、最終投与終了 4 時間後までに速やかに減少した。（参照5）

② 3 日間及び 7 日間給餌試験

鶏（白色レグホン種、供試数不明）に、^{14}C 標識ジニトルミド（3.15 mCi/mmol）を 25%含む大豆ミールを混合した市販のジニトルミド混合飼料（125 mg/kg 飼料）を 3 日間又は 7 日間給餌後、それぞれ非薬物含有飼料を 2 日間又は 5 日間給餌し、経時的

に血液中の総放射活性濃度が測定された。また、休薬開始後、経時的に鶏を剖検し、組織中の総放射活性濃度が測定された。

結果を表 2 に示した。

3 日間給餌では、血液中の総放射活性濃度はジニトルミド混合飼料の給餌開始約 24 時間後で定常状態に達した。休薬開始後は速やかに減少して 24 時間までに 90%が消失したが、24 時間以降も 0.2 μg/g 相当の放射活性がみられ、48 時間後の消失はわずかであった。これらの結果から、血液中で少なくとも 2 つの主要な放射性成分の存在が示唆された。7 日間給餌においても類似の血液中の総放射活性濃度プロファイルがみられ、より長い休薬期間において血液中総放射活性濃度の漸減が示された。

組織中の総放射活性濃度は、肝臓及び腎臓で比較的高く 3 日間給餌の休薬開始 12 時間後では、肝臓で約 65%、腎臓で約 70%の減少がみられたが、3 日間給餌では 48 時間後において肝臓、腎臓とも 0.7 μg/g、7 日間給餌では 96 時間後において肝臓で 0.4 μg/g、腎臓で 0.3 μg/g を示した。[1]（参照 5）

表 2　鶏における ^{14}C 標識ジニトルミド混餌投与後の組織中総放射活性濃度（μg/g）

測定対象	3 日間給餌				7 日間給餌		
	休薬後経過時間（h）				休薬後経過時間（h）		
	0	12	24	48	0	72	96
肝臓	5.3	1.8	1.0	0.7	6.3	0.6	0.4
腎臓	4.9	1.3	0.7	0.7	6.5	0.5	0.3
心臓	1.7	0.4	0.1	0.1	2.5	0.1	<0.1
筋胃	1.8	0.2	0.1	0.1	2.3	0.1	0.1
大腿筋	1.8	0.2	0.1	<0.1	2.3	0.1	<0.1
胸筋	1.8	0.2	0.1	<0.1	2.1	0.1	0.1
脂肪	0.9	0.1	<0.1	<0.1	1.2	0.1	<0.1
血液	1.9	0.4	0.2	0.2	2.5	0.2	0.2
皮膚	1.6	0.3	0.1	0.1	1.5	0.1	0.1
肺	2.1	0.6	0.1	0.1	3.9	0.2	0.1
脾臓	1.8	0.3	0.1	0.1	2.8	0.1	0.1
精巣	2.3	0.3	0.1	0.1	2.5	0.1	<0.1
羽毛	-	-	-	-	4.9	2.6	3.2
骨	-	-	-	-	0.7	<0.1	<0.1

③ 8 週間給餌試験

鶏（白色レグホン種、雄、2 週齢、9 羽）に、^{14}C 標識ジニトルミド（3.15 mCi/mmol）を 25%含む大豆ミールを混合した市販のジニトルミド混合飼料（125 mg/kg 飼料）を 8 週間給餌し、週ごとに血液を採取し総放射活性濃度が測定された。また、休薬前及

[1] Fig.3 の説明は 7 日間投与となっているが、グラフは 8 週間投与の推移を示したもので、Fig.4 が 7 日間投与の推移（X 軸スケールは Days ではなく Hours）を示したものと推察した。

び休薬後 12、24 及び 96 時間に血液及び臓器を採取し総放射活性濃度が測定された。なお、全血、血漿及び赤血球の各血液画分と各組織試料はアセトン抽出を行って、抽出物及び残渣の両方について放射活性測定を実施し、それぞれ遊離性放射性化合物及び結合性放射性化合物として区別した。

休薬後の各血液画分及び組織中総放射活性濃度の結果を表 3 及び表 4 に示した。

血液中の総放射活性濃度は給餌期間中、週齢に応じた飼料摂取量の減少にともなって漸減し、休薬開始後は速やかに血中総放射活性濃度が減少した。血漿中総濃度は休薬開始後 24 時間までに痕跡程度まで減少したが、赤血球画分中の総放射活性濃度の減少は比較的緩やかで、赤血球の残渣分の総放射活性濃度は休薬開始前から休薬期間中までほぼ一定であったことから、血中放射活性の速やかな減少は主として遊離性放射性化合物の消失であり、結合性放射性化合物はほぼ一定の割合で赤血球タンパク質画分に存在することが示唆された。組織中総放射活性濃度は肝臓及び腎臓で比較的高く、その他の組織では休薬開始後 12 時間までに約 80～90%の減少を示した。肝臓では休薬開始前における 5.1 μg/g 中 3.4 μg/g、休薬開始後 12 時間における 3.6 μg/g 中 3.3 μg/g 及び休薬 24 時間以降の総放射活性濃度は、アセトン抽出されない結合性放射性化合物であった。比較的低濃度の筋肉組織においても、休薬開始後 24 時間までにアセトン抽出可能な大部分は消失する一方、抽出されない部分はわずかに減少し、以降はほぼ一定の濃度で推移したことから、組織中に少なくとも 2 つの主要成分が存在することが示唆された。(参照 5)

表３　鶏における ^{14}C 標識ジニトルミドの８週間混餌投与後の各血液画分中総放射活性濃度（μg/g）

休薬後経過時間（h）	供試数	全血		血漿		赤血球	
		総濃度	残渣分	総濃度	残渣分	総濃度	残渣分
0	4	1.7	0.4	1.2	0.05	2.4	1.2
		1.7	0.4	1.2	0.05	2.4	1.2
		1.8	0.5	0.9	0.05	2.6	1.3
		1.8	0.4	1.0	-	2.6	1.3
12	4	0.7	0.5	0.1	0.05	1.9	1.2
		0.8	0.6	0.1	0.04	1.6	1.3
		0.8	0.5	0.1	0.05	1.6	1.2
		0.7	0.6	-	-		-
24	6	0.7	0.7	0.07	0.05	1.6	1.7
		0.5	0.4	0.05	0.06	1.9	1.6
		1.1	0.4	0.06	0.03	1.4	1.6
		0.8	0.7	-	0.03	-	1.1
		0.7	0.7	-	0.06	-	1.6
		1.1	0.7	-	0.06	-	1.0
96	4	0.6	0.7	0.06	0.04	1.1	1.0
		0.6	0.6	0.08	0.04	1.4	1.1
		0.5	0.5	0.07	0.05	0.9	1.3
		0.5	0.5	0.07	0.04	1.1	1.2

表４　鶏における ^{14}C 標識ジニトルミド８週間混餌投与後の組織中総放射活性濃度（μg/g）

測定対象[a]	休薬後経過時間（h）			
	0	12	24	96
肝臓	5.1	3.6	3.0	1.4
腎臓	5.0	1.3	1.2	1.2
心臓	1.5	0.2	0.2	0.1
筋胃	1.4	0.2	0.2	0.2
胸筋	1.6	0.2	0.1	0.1
大腿筋	1.5	0.2	0.1	0.1
脂肪	0.9	0.1	0.1	0.1
血液	1.8	0.8	0.8	0.6
皮膚	1.4	0.4	0.3	0.2
脾臓	1.5	0.2	0.2	0.2

a：供試数不明

（2）残留試験（鶏②）

初生雛（白色レグホン種及び白色ロック種）に 8～10 週間、ジニトルミドを混餌（125 mg/kg 飼料）投与後、筋肉及び肝臓を採取し、組織中のジニトルミド濃度が呈色後に分光光度計で定量された。また、ジニトルミドを混餌（125 mg/kg 飼料）投与後の鶏（白色ロック種、9 週齢）について、ジニトルミドの休薬（非含有飼料に切替え）前及び休薬後 4、8、12 及び 24 時間に、筋肉及び肝臓を採取し、同様の方法で組織中のジニトルミド濃度が測定された。

結果を表 5 及び表 6 に示した。

筋肉及び肝臓の組織中濃度はそれぞれ 0.7～1.3 μg/g 及び 0.4～0.8 μg/g であった。また、休薬後は筋肉及び肝臓とも組織中濃度は経時的に漸減し、休薬後 24 時間にはいずれも不検出となった。（参照6）

表 5　鶏におけるジニトルミド混餌（125 mg/kg 飼料）投与中の組織中ジニトルミド濃度

組織	系統	日齢（と殺時）[a]	濃度（μg/g）[b]
筋肉	白色レグホン種	9～59	1.0
		9～59	0.7
	白色ロック種	9～59	0.8
		9～59	0.8
		1～60	1.3
		1～60	1.2
肝臓	白色レグホン種	9～59	0.4
		9～59	0.5
	白色ロック種	9～59	0.7
		9～59	0.6
		1～60	0.8
		1～60	0.8

a：供試数不明
b：回収率（筋肉：77%、肝臓：86%）で補正した値

表 6　鶏におけるジニトルミド混餌（125 mg/kg 飼料）投与時の休薬後の組織中ジニトルミド濃度

休薬後経過時間 (h)	濃度（μg/g）[a]	
	筋肉 [b]（供試数）	肝臓 [b]（供試数）
0 [c]	0.8～1.7（10）	1.5（2）
4	0.6～1.0（3）	0.6（3）
8	0.1～0.2（3）	0.1～0.2（3）
12	<0.1～0.1（3）	<0.1（3）
24	不検出（3）	不検出（3）

a：回収率（筋肉：77%、肝臓：86%）で補正した値
b：試料重量：50 g
c：休薬開始前

（３）残留試験（鶏③）

ジニトルミドを混餌（125 mg/kg 飼料）で与えられた鶏（白色レグホン種及び白色ロック種、8～10 週齢）の筋肉及び肝臓を採取し、組織中の 3-ANOT 濃度が呈色後に分光光度計で定量された。また、ジニトルミドを混餌（125 mg/kg 飼料）で与えられた鶏（白色レグホン種、10～12 週齢）について、ジニトルミドの休薬（非含有飼料に切替え）前及び休薬後 4、8、12、24 及び 48 時間に、筋肉及び肝臓を採取し、前述の方法で組織中の 3-ANOT 濃度が測定された。

結果を表 7 及び表 8 に示した。

3-ANOT の筋肉及び肝臓の組織中濃度はそれぞれ 0.5～0.7 μg/g 及び 1.3～1.8 μg/g であった。ジニトルミド休薬後は筋肉及び肝臓とも 3-ANOT の組織中濃度は経時的に漸減し、筋肉では休薬後 24 時間には 0.1 μg/g 未満となったが、肝臓では休薬後 48 時間においても 0.2 μg/g の検出がみられた。（参照7）

表 7　鶏におけるジニトルミド混餌（125 mg/kg 飼料）投与中の組織中 3-ANOT 濃度（μg/g）

組織	系統	日齢（と殺時）[a]	濃度（μg/g）[b]
筋肉	白色レグホン種	9～59	0.5
		9～59	0.6
	白色ロック種	8～59	0.7
		8～59	0.6
		1～60	0.7
		1～60	0.7
肝臓	白色レグホン種	9～59	1.7
		9～59	1.7
		10～59	1.7
		10～59	1.8
	白色ロック種	8～59	1.4
		8～59	1.3
		8～59	1.5
		8～59	1.4
		1～60	1.7
		1～60	1.5

a：供試数不明
b：回収率（筋肉：86%、肝臓：87%）で補正した値

表 8　鶏におけるジニトルミドの休薬時間と筋肉又は肝臓中 3-ANOT 残留濃度（μg/g）

休薬後経過時間	濃度（μg/g）[a]	
(h)	筋肉[b]（供試数）	肝臓[b]（供試数）
0[c]	0.5～0.6（2）	1.7～1.8（4）
4	0.3（3）	1.0～1.1（2）
8	0.2～0.4（3）	0.7～0.9（3）
12	<0.1～0.1（2）	0.3（2）
24	<0.1（3）	0.2（2）
48	-	0.2（2）

a：回収率（筋肉：86%、肝臓：87%）で補正した値
b：試料重量：50 g
c：休薬開始前

（４）残留試験（鶏④）

鶏（白色レグホン種）にジニトルミドを混餌投与する残留試験が実施された。表 9 に示した投与プログラムにしたがってジニトルミド添加飼料（ジニトルミド：125 mg/kg 飼料及び 250 mg/kg 飼料）を自由摂取させた鶏から筋肉（胸肉及びもも肉）及び肝臓を採取し、各組織から抽出したジニトルミドを HPLC で測定した。

結果を表 10 に示した。

推奨用量の 2 倍である 250 mg/kg 飼料の 7 日間投与では、胸肉で 0.218 μg/g、もも肉では 0.435 μg/g の残留がみられたが、125 mg/kg 飼料の 7 日間投与後及び 15 日間投与後 5 日間休薬経過時では、胸肉及びもも肉とも 0.05 μg/g 未満であった。（参照8）

表 9　鶏におけるジニトルミド混餌投与プログラム

投与量（mg/kg 飼料）	供試数	投与及び休薬期間
125	1	15 日間投与後 5 日間休薬した後と殺
	1	7 日間投与後 3 日間休薬し、さらに 7 日間投与後にと殺
250	1	7 日間投与後にと殺

表 10　鶏におけるジニトルミド混餌（125 mg/kg 飼料又は 250 mg/kg 飼料）投与後の組織中ジニトルミド濃度

投与量（mg/kg 飼料）	投与及び休薬期間	ジニトルミド濃度（μg/g）	
		胸肉	もも肉
125	15 日間投与→5 日間休薬	<0.05	<0.05
	7 日間投与→3 日間休薬→7 日間投与	<0.05	<0.05
250	7 日間投与	0.218	0.435

（５）残留試験（鶏⑤）

鶏（白色レグホン種、18 羽、体重 410～580 g）にグリカルピラミド・ジニトルミド混合製剤添加飼料（飼料 1 kg 中、グリカルピラミド 60 mg 及びジニトルミド 125 mg 含有）を 7 日間不断給餌し、7 日間休薬する残留試験が実施された。休薬期間経過後、鶏から筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓を採取し、組織中グリカルピラミド及びジニトルミドを、紫外吸収検出器付き HPLC で定量した。

結果を表 11 に示した。

グリカルピラミド・ジニトルミド混合製剤添加飼料を 7 日間不断給餌後 7 日間休薬した鶏における筋肉、脂肪、肝臓及び脂肪中のグリカルピラミド及びジニトルミドは検出限界未満であった。（参照9）

表 11　鶏におけるグリカルピラミド・ジニトルミド混合製剤添加飼料の 7 日間投与後 7 日間休薬期間経過後の組織中ジニトルミド濃度

測定対象	検体番号	グリカルピラミド	ジニトルミド
筋肉	1	<LOD	<LOD
	2	<LOD	<LOD
	3	<LOD	<LOD
脂肪	1	<LOD	<LOD
	2	<LOD	<LOD
	3	<LOD	<LOD
肝臓	1	<LOD	<LOD
	2	<LOD	<LOD
	3	<LOD	<LOD
腎臓	1	<LOD	<LOD
	2	<LOD	<LOD
	3	<LOD	<LOD

<LOD：検出限界（0.01 µg/g）未満

（６）残留試験（鶏⑥）

鶏（系統不明、雌雄各 200 羽/群）に、リンコマイシン・ジニトルミド混合飼料（飼料 1 t 中、リンコマイシン 0、2 又は 4 g 及び各々ジニトルミド 113.4 g 含有）を 53 日間給餌する残留試験が実施された。給餌 53 日（休薬 0 日）に、鶏をと殺し、肝臓及び筋肉（皮膚及び脂肪を含む。）を採取し、ジニトルミド及び 3-ANOT の組織中濃度を、分光光度計で定量した。

結果を表 12 に示した。

リンコマイシン非含有とリンコマイシン含有飼料において肝臓及び筋肉中のジニトルミド及び 3-ANOT 濃度に顕著な差はみられなかった。また、リンコマイシン、ジニトルミド及び 3-ANOT を添加した対照組織のジニトルミド及び 3-ANOT の回収試験では、リンコマイシンの影響はみられなかった。（参照10）

表 12　鶏におけるリンコマイシン・ジニトルミド混合飼料投与後のジニトルミド及び 3-ANOT の組織中濃度

群	飼料中の薬物量（g/t 飼料）		組織中濃度（μg/g）[a]		
	リンコマイシン	ジニトルミド	ジニトルミド	3-ANOT	ジニトルミドと 3-ANOT の合計
1	0	113.4	0.35±0.37 0.20±0.16	0.40±0.06 0.13±0.05	0.74±0.33 0.34±0.16
2	2	113.4	-	-	-
3	4	113.4	0.38±0.17 0.14±0.03	0.39±0.08 0.26±0.23	0.77±0.21 0.39±0.24

a：雌雄各 3 羽の平均値±標準偏差（上段は肝臓、下段は筋肉（皮膚及び脂肪を含む。）の値）
-：データ非提示

３．遺伝毒性試験

ジニトルミドの遺伝毒性試験の結果を表 13 に示した。

表 13　ジニトルミドの遺伝毒性試験結果

試験項目		試験対象	用量	結果	参照
in vitro	DNA 修復試験（Rec アッセイ）	*Bacillus subtilis* H17 (rec^{+}), M45 (rec^{-})	1～1,000 μg/disk	陽性	11
	復帰突然変異試験	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 *Escherichia coli* WP2*uvrA*	～1,000 μg/plate（±S9、プレインキュベーション法）	陽性（±S9、全菌株）	11
		S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2*uvrA*/pKM101	*S. typhimurium*：4.88～2,500 μg/plate *E. coli*：9.77～5,000 μg/plate （±S9、プレインキュベーション法）	陽性（±S9、全菌株）	12
	復帰突然変異試験	*S. typhimurium* TA98, TA98NR, TA100, TA100NR	19.5～5,000 μg/plate[a] （±S9、プレインキュベーション法）	陽性（±S9、TA98, TA100） 陰性（TA98NR, TA100NR）	13

試験項目		試験対象	用量	結果	参照
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来培養細胞（CHL/IU）	6時間処理:0.58～2.3 mg/mL（±S9） 24時間処理:0.1～0.3 mg/mL（－S9）	陽性[b]（24時間処理、構造異常誘発）	14
in vivo	小核試験	雌雄マウス（CD-1）、骨髄	単回経口投与（250、500、1,000 mg/kg 体重）、投与 24 時間後に骨髄採取[c]	陰性	15
	コメット試験	雄ラット（CD）、肝臓、大腸（結腸）	21時間間隔で2回経口投与（125、250、500 mg/kg 体重/日）、最終投与3時間後に肝臓及び結腸採取	陰性	16

±S9：代謝活性化系存在下及び非存在下
NR：ニトロ還元酵素欠損株
a：5,000 µg/plate では顕著な生育阻害がみられた。
b：細胞増殖抑制率 50%以上の細胞毒性濃度で陽性
c：予備試験において投与後 24 及び 48 時間のいずれにおいても小核の誘発は認められなかった。

ジニトルミドは *in vitro* において Rec アッセイ、細菌を用いた復帰突然変異試験及び培養細胞を用いた染色体異常試験で陽性であった。*in vivo* ではマウスの骨髄小核試験並びにラットの肝臓及び大腸を用いたコメット試験で陰性であった。

Rec アッセイでは極めて高用量において、*rec*$^{+}$株と *rec*$^{-}$株の阻止帯長差が陽性と判定する基準をわずかに超え、陽性と判定された。しかしながら、阻止帯長及びその差が処理濃度にかかわらずほぼ一定であることから、この差は DNA 修復能の相違によるものではなく、各菌株のジニトルミドに対する感受性差によるものと考えられた。

復帰突然変異試験は通常の菌株を用いた試験では陽性であったが、ニトロ還元酵素欠損株を用いた試験では陰性であったことから、陽性結果は、ニトロ基を有するジニトルミドと細菌特異的なニトロ還元酵素との反応に基づくものと考えられた。

in vitro 染色体異常試験では 24 時間処理（-S9）で陽性であったが、マウス骨髄小核試験は陰性であり、*in vivo* における染色体損傷性はみられなかった。

また、ラットの肝臓及び大腸（結腸）を用いた *in vivo* コメット試験が陰性であったことから、生体におけるジニトルミドそのもの及び肝臓における活性代謝物による DNA 損傷並びに腸内細菌による活性代謝物生成による消化管での DNA 損傷の懸念はないと考えられた。

以上より、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、ジニトルミドは生体にとって特段問題となる遺伝毒性は示さず、ADI の設定は可能と判断した。

４．急性毒性試験

ジニトルミドの急性毒性試験の結果を表 14 に示した。

表 14　ジニトルミドの急性毒性試験結果

動物種	投与経路等	LD_{50}（mg/kg 体重）等	参照
ラット	経口	600	17
	経口	メトヘモグロビン形成 （150 mg/kg 体重 単回投与）	
イヌ（参考資料[a]）	静脈内	75	

a：静脈内投与試験であることから、参考資料とした。

５．亜急性毒性試験

（１）90 日間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（系統不明、雌雄各 12 匹/群）にジニトルミドを 90 日間混餌投与（0、30、100、300、1,000 又は 3,000 mg/kg 飼料）する亜急性毒性試験が実施された。投与期間中は外観及び一般状態観察、体重及び摂餌量を測定し、途中死亡例については剖検を行った。各群 2 例は投与開始後 30 日に剖検し、病理組織学的検査を実施したところ、1,000 mg/kg 飼料以上投与群の雄及び 3,000 mg/kg 飼料投与群の雌で、腎臓の尿細管上皮細胞の変性及び壊死がみられ、1,000 mg/kg 飼料投与群の雄で精巣の萎縮（線維化による置換を伴う精細管変性）がみられた。

投与開始後 90 日に各群 2 例の雄については血液学的検査を実施し、全動物を 1 晩絶食後、剖検して肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓及び精巣の重量測定を行い、これらの臓器並びに膵臓及び副腎について病理組織学的検査を実施した。

毒性所見を表 15 に示した。

30 mg/kg 飼料投与群の雌雄及び 100 mg/kg 飼料投与群の雌では、外観、一般状態、摂餌量、死亡率、発育、血液検査、最終体重、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査において毒性所見はみられなかった。（参照18）

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、雌雄にみられた体重増加抑制及び雄にみられた精巣の所見に基づいて、本試験における NOAEL[2]を雄は 100 mg/kg 飼料（6.38 mg/kg 体重/日）、雌は 300 mg/kg 飼料（24.84 mg/kg 体重/日）と判断した。

[2] 表 16 の平均摂餌量及び平均体重により算出した。

表 15　ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 飼料)	毒性所見	
	雄	雌
3,000	・死亡：6 例 ・摂餌量減少 ・多染性赤血球、Ht 値減少傾向 ・肝臓：相対重量増加	・死亡：8 例 ・摂餌量減少
1,000 以上	・精巣：相対重量減少、萎縮、間質水腫 ・肝臓：限局性壊死 ・腎臓：尿細管上皮変性・壊死 ・脾臓：相対重量増加	・体重増加抑制 ・肝臓：相対重量増加、限局性壊死 ・腎臓：尿細管上皮変性・壊死 ・脾臓：相対重量増加
300 以上	・精巣：精細管変性・精子形成消失 ・体重増加抑制	所見なし（300 以下）
100 以下	所見なし	

表 16　ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における平均摂餌量 [a] 及び平均体重 [b]

投与量 (mg/kg 飼料)	摂餌量（g/ラット/日）		平均体重（g）	
	雄	雌	雄	雌
0	21.3	16.1	320	193
30	20.5	15.2	325	194
100	20.4	14.8	320	191
300	19.4	15.9	303	192
1,000	17.9	14.2	293	165
3,000	12.2	10.8	212	158

a：投与開始後 30 日までの平均摂餌量
b：試験終了後の最終平均体重

６．慢性毒性試験

（１）2 年間慢性毒性試験（ラット）

ラット（系統不明、44 日齢[投与開始時]、雌雄各 29～31 匹/群）にジニトルミドを 2 年間混餌投与（0、15.6、31.2、62.5 又は 125 mg/kg 飼料（0、0.8、1.5、3 又は 6 mg/kg 体重/日相当））する慢性毒性試験が実施された。投与期間中、外観及び一般状態観察、体重測定を実施し、投与開始後 6 か月及び 1 年経過時に対照群及び 125 mg/kg 飼料投与群の雌雄各 5 匹について血液検査を実施するとともに、1 年経過時には各群の雌雄 5 匹について剖検、臓器重量測定（肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓及び精巣）及び病理組織学的検査（肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、膵臓及び副腎）を実施した。各群の残り 20 匹は投与を継続し、2 年経過時に各群雌雄 5 匹について血液検査を行い、全例について 1 年経過時と同様に剖検、病理学的検査を実施した。

毒性所見を表 17 に示した。

6 か月及び 1 年経過時の各観察、測定及び検査項目について、いずれの投与群においても毒性所見はみられなかった。

試験実施者は、62.5 mg/kg 飼料投与群まで、一般状態、行動、生育、死亡率、血液学的及び病理学的（器官重量、肉眼及び病理組織学的）検査において異常はみられな

かったが、125 mg/kg 飼料投与群の雌における肝臓重量の軽度増加、雌雄でみられた肝臓の脂肪化はジニトルミド投与によるものと考察している。（参照19）

ACGIH は、62.5 mg/kg 飼料以下の投与群では、一般状態、行動、生育、死亡率、血液学的及び病理学的（器官重量、肉眼及び病理組織学的）検査において異常はみられず、125 mg/kg 飼料投与群では、肝臓重量の軽度増加が雌に、肝臓の脂肪滴（fatty vacuoles）の軽度増加が雌雄に認められたことから、NOAEL を 62.5 mg/kg 飼料（3 mg/kg 体重/日）と評価している。また、腫瘍の増加はみられなかったとしている。（参照 17）

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、雌雄ともジニトルミド投与による肝臓への影響を踏まえ、本試験における非発がん影響の NOAEL を 62.5 mg/kg 飼料（3 mg/kg 体重/日）であると判断した。

なお、1 年以上投与した動物において、少なくとも病理組織学的検索を行った臓器・組織では特定の腫瘍やそれに関連する過形成の発生増加がみられなかったが、本試験の各群の供試動物数は 30 匹のうち、各群 10 匹は投与開始 1 年後までに途中剖検し、残り 20 匹についても肺炎等による死亡により、2 年間の投与期間が満了した個体は各群 6～14 匹と半数以下であること、途中死亡例については肉眼所見のみが示され、途中及び最終剖検例についても腫瘍性病変の一部は組織学的診断が不明であり、また、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、膵臓及び副腎以外の臓器・組織については病理組織学的検査が実施されていないことを踏まえると、本試験結果をもってジニトルミドの発がん性の有無を判断することは適切ではないと考えた。

表 17　ラットを用いた 2 年間慢性毒性試験の毒性所見

投与量（mg/kg 飼料）	毒性所見	
	雄	雌
125	肝細胞の脂肪化	肝細胞の混濁腫脹、軽度な壊死、大脂肪滴の出現
62.5 以下	毒性所見なし	

（2）1 年間慢性毒性試験（イヌ）＜参考資料[3]＞

イヌ（ビーグル、6.5～8 か月齢[投与開始時]、雌雄各 3 頭/群）に、ジニトルミドを 1 年間混餌経口投与（0、60、125 又は 250 mg/kg 飼料（0、2.5、5 又は 10 mg/kg 体重/日相当））する慢性毒性試験が実施された。投与期間中、定期的に体重測定、血液、尿及び糞便検査を実施した。投与開始後 90 日経過時に各群の雌雄各 1 頭を剖検、残りの各 2 頭は投与を継続して 1 年の投与期間満了後に剖検し、臓器重量測定（肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓及び精巣）及び病理組織学的検査（肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、膵臓及び副腎）を実施した。

雌雄ともジニトルミド投与による毒性所見はみられなかった。（参照20）

[3] 検査頭数等が不足していることから参考資料とした。

＜ジニトルミドの長期投与における影響＞

2 年間慢性毒性試験（ラット）及び 1 年間慢性毒性試験（イヌ）において、重篤な毒性はみられなかった。90 日間亜急性毒性試験（ラット）では 1,000 mg/kg 飼料以上の投与群で肝臓に限局性壊死等の変化がみられたが、300 mg/kg 飼料以下の投与群では肝臓への毒性はみられなかった。一方で、2 年間慢性毒性試験（ラット）では 125 mg/kg 飼料投与群で肝臓に混濁腫脹等がみられ、投与期間の長期化に伴い肝臓への毒性がより低濃度で発現すると考えられた。

７．生殖発生毒性試験

（１）2 世代繁殖試験（ラット）＜参考資料[4]＞

ラット（系統不明、P 世代（週齢不明）：雌 12 匹及び雄 4 匹/群、F_1 世代：雌 12 匹及び雄 4 匹/群）にジニトルミドを 2 世代にわたって混餌投与（0、30.6、61.2 又は 125 mg/kg 飼料）する繁殖試験が実施された。P 世代は混餌投与開始 1 週間後に交配し、得られた F_1（F_{1a} 及び F_{1b}）世代の F_{1b} 動物について 21 日齢（離乳後）から 110 日齢まで投与後、交配し F_2（F_{2a} 及び F_{2b}）世代を得た。各世代における妊娠動物数、出生時生存及び死亡児動物数並びに 5 日齢及び離乳時の生存児動物数の観察、離乳児の体重測定を行った。

試験実施者は、受胎能、妊娠、生存率及び哺育に投与による影響はみられなかったと判断している。（参照21）

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、検査匹数、評価項目等が不足していることから、本試験から生殖発生毒性については十分に評価できないと判断した。ただし、親動物に関して、動物数が雌雄ともに少なく、雄について精子検査が行われていないが、配偶子形成に必要な期間の全体にわたって被験物質投与を受けた雌雄の繁殖能に特段の有害な作用は認められていないと考えられた。また、児動物に関して、動物数が少なく性成熟完了日を含む生後の身体発達について調べられていないが、胎児期を含む配偶子形成の全期間にわたって被験物質の投与を受けても、成熟後の繁殖能に特段の有害な作用は認められていないと考えられた。

８．対象動物に対する安全性＜参考資料[5]＞

（１）8 週間混餌投与試験（鶏）

鶏（白色レグホン種、1 日齢、雄 52 羽/群）にジニトルミドを 8 週間混餌投与（0、150[6]、300 又は 600 mg/kg 飼料）する試験が実施された。試験終了後、生存したすべての動物の体重を測定し、臓器の剖検を行った。そのうち各群から無作為に 15 羽選別し、体重及び臓器重量（脾臓、精巣、肝臓、腎臓、心臓及び砂嚢）を測定した。

600 mg/kg 飼料投与群では他の投与群に比べて体重増加抑制がみられたが、臓器相

---

[4] 検査匹数、評価項目等が不足していることから参考資料とした。
[5] 鳥類を用いた試験はヒトへの外挿性が乏しいため参考資料とした。
[6] 150 mg/kg 飼料投与群の摂餌量（70 g/日）及び平均体重（641 g）から換算すると 16 mg/kg 体重/日に相当。

対重量は同程度であった。(参照22)

（２）45 週間混餌投与試験（鶏）

鶏（レグホン種、1 日齢、雌 100 羽/群、雄 12 羽/群）にジニトルミドを 45 週間混餌投与（0、150 mg/kg 飼料）する試験が実施された。ジニトルミド投与群には、継続的にジニトルミドを投与する群、10 週齢までジニトルミドを投与する群及び 10% の産卵率になるまでジニトルミドを投与する群を設けた。

ジニトルミドの投与により、産卵率、卵重量、受精率及び孵化率に影響はみられなかった。(参照23)

（３）1 年間混餌投与試験（鶏）

鶏にジニトルミドを 1 年間混餌投与（150 mg/kg 飼料）する試験が実施された。雄の 2 羽に認められた小型の精巣では、結合組織の軽度増生と精子の完全消失（精細管腔内顆粒状物を伴う）が認められた。雌では重量の増加を伴った肝臓の脂肪変性が 10 羽中 2 羽に、中等度の脂肪化が他の 4 羽に認められた。(参照 17)

（４）13 か月間混餌投与試験（鶏）

鶏（白色レグホン種、雌 100 羽/群、雄 12 羽/群）にジニトルミドを 13 か月間混餌投与（0、150 mg/kg 飼料）する試験が実施された。無添加対照群以外に、10 週間混餌投与後に無添加飼料を投与した群及び 5 か月間混餌投与後に無添加飼料を投与する群を設けた。

投与期間中は一般状態の観察、体重、摂餌量及び産卵数を測定し、産卵を開始して約 2 か月後に 8 週間隔で採取した卵を用いて受精及び発生率を算定した。また、8～9 か月後に採取した卵の重量を測定した。試験終了時（390 日）に雌雄各 10 羽/群から採血し、ヘモグロビン、ヘマトクリット値及び白血球数を測定した。全生存動物を剖検し、肝臓、精巣、心臓及び脾臓の重量を測定するとともに、肝臓、精巣、心臓、脾臓、肺、腎臓、脳、坐骨神経などの各種組織を採取し、病理組織学的検査を実施した。

いずれの群においても、一般状態、行動、成長、死亡率、受精及び繁殖能、卵の孵化率、卵重量、体重、臓器重量、血液学的検査値、病理肉眼並びに病理組織学的所見に異常はみられなかった。(参照24)

（５）6 か月間混餌投与試験（鶏）

鶏（白色レグホン種、雄 5 羽/群）に 3-ANOT を 6 か月間（26 週間）混餌投与（0、250、500、1,000 mg/kg 飼料（0、21、42、85 mg/kg 体重/日相当））する試験が実施された。

対照群を含むすべての群で精巣の萎縮がみられたが、用量依存性がみられなかった。1,000 mg/kg 飼料投与群において発育の鈍化（投与開始後 15 週以降）並びに肝臓及び腎臓重量のわずかな増加がみられ、軽微な病理組織学的変化としては、肝臓では脂肪変性、腎臓では軽度の混濁腫脹がみられた。250 及び 500 mg/kg 飼料投与群では試

験期間を通し、一般状態、行動、発育、死亡率、体重、臓器重量、肉眼的及び病理組織学的検査に影響はみられなかった。（参照25）

（６）安全性に関する報告（鳩、鶏）

オーストラリアの3か所の農場で、0～300 mg/kg 飼料のジメトリダゾール及び180～226 mg/kg 飼料のジニトルミドを含む若鳩用市販固形飼料を給餌された鳩が微細振戦、歩行異常及び運動失調を呈する神経障害を示した。検査施設に持ち込まれた43羽は、少数例のクラミジア症、*Salmonella* Typhimurium 感染による肝炎又は回虫症の個体を除いて、状態は良好であり、肉眼的異常はみられなかった。

病理組織学的検査では、小脳皮質のプルキンエ細胞の脱落（非罹患農場の鳩の当該部位で観察される細胞数の10～15%）が認められた。検査施設に持ち込む直前まで当該固形飼料が給餌されていた個体では、好酸性細胞質及び核濃縮を示す著明なグリア反応を伴ったプルキンエ細胞壊死が観察された。罹患例の肝臓中の塩濃度は正常で、組織中に鉛やヒ素は認められず、有機塩素系殺虫剤の痕跡は少数例で認められた。

同じ飼料を与えられた雑種雄鶏は、神経学的反応を示さず、産卵鶏もこの飼料の影響を受けなかった。（参照26）

９．その他の試験

（１）刺激性試験（ウサギ）

ジニトルミド（ジニトルミド90%含有ラクトース）は、ウサギの眼（洗眼及び非洗眼）及び皮膚（正常及び擦過時）に刺激性を示さなかった。（参照27）

１０．ヒトにおける知見

ニトロフランと共に鶏用飼料へ添加した試験に従事した養鶏場作業者の女性２名に、職業上の接触による湿疹がみられた。Zoalene®[7]に対する皮膚反応は陽性であった。（参照28）

50名を対象としたパッチテストでは、ジニトルミドは皮膚一次刺激性及び皮膚感作性を示さなかった。（参照 17）

Ⅲ．国際機関等における評価

１．ACGIH における評価（2007 年）

ジニトルミドの TLV-TWA は 1 mg/m³ とされた。この数値は、ラットの２年間慢性毒性試験における NOEL の 3 mg/kg 体重に基づくものであり、イヌの１年間慢性毒性試験の NOEL の 6 mg/kg 体重[8]に支持される。

ジニトルミドについて得られたデータは限定的で、ラット及び鶏では高用量において精巣、肝臓及び腎臓が標的器官であり、細菌では遺伝毒性が示されているが、吸入ばく

---

[7] Zoetis 社が販売するジニトルミドを有効成分とする抗コクシジウム剤

[8] イヌの１年間慢性毒性試験と同じ試験と考えられるが、記載された投与量が異なるのは、換算方法の違いによる差異と考えられる。

露のデータはない。また、ラットの 2 年間慢性毒性試験の結果を基に、A4（ヒトの発がん物質として分類できない）に分類された。経皮吸収又は感作性の表示あるいは TLV-STEL の設定についてはデータが不十分であるとされた。(参照 17)

Ⅳ．食品健康影響評価

鶏のコクシジウム症の予防に使用される抗原虫薬であるジニトルミドについて食品健康影響評価を実施した。

薬物動態試験では、3-ニトロ基の還元とその後のアミド基の加水分解及び5-ニトロ基の還元の 2 つの主要な経路が示された。ジニトルミドはニトロ基の還元により 3-ANOT 及び5-ANOT に代謝され、その後、アミド基の加水分解により 3-ANOTA 及び5-ANOTA が生成されると考えられた。5-ANOT は生成後、大部分が未変化のまま排泄される一方、3-ANOT は組織と結合し、一部が加水分解により 3-ANOTA として排泄されると考えられた。

残留試験では、鶏にジニトルミド混合飼料（125 mg/kg 飼料）を 3 日間投与した結果、血中放射活性濃度は投与開始後約 24 時間で定常状態に達し、休薬開始後は速やかに減少して 24 時間までに 90%が消失したが、24 時間以降も 0.2 μg/g 相当の放射活性がみられた。鶏にジニトルミド混合飼料（125 mg/kg 飼料）を 8 週間投与した試験では、組織中総放射活性濃度は肝臓及び腎臓で比較的高く、その他の組織では休薬開始後 12 時間までに約 80～90%の減少を示した。初生雛に 8～10 週間、ジニトルミドを混餌（125 mg/kg 飼料）投与した試験では、休薬後は筋肉及び肝臓とも組織中濃度は経時的に漸減し、休薬後 24 時間にはいずれも不検出となった。ジニトルミドを混餌投与（125 mg/kg 飼料）し、組織中の 3-ANOT 濃度を測定した試験では、ジニトルミド休薬後は筋肉及び肝臓とも 3-ANOT の組織中濃度は経時的に漸減し、筋肉では休薬後 24 時間には 0.1 μg/g 未満となったが、肝臓では休薬後 48 時間においても 0.2 μg/g の検出がみられた。

遺伝毒性については、ジニトルミドは *in vitro* において Rec アッセイ、細菌を用いる復帰突然変異試験及び培養細胞を用いる染色体異常試験で陽性であった。*in vivo* ではマウスの骨髄小核試験並びにラットの肝臓及び大腸を用いたコメット試験で陰性であった。Rec アッセイの陽性は *rec*+株と *rec*-株の DNA 修復能の相違によるものではなく、ジニトルミドに対する感受性差によるものと考えられた。復帰突然変異試験の陽性は、ニトロ還元酵素欠損株を用いた試験では陰性であったことから、細菌特異的なニトロ還元酵素に基づくものと考えられた。*in vitro* 染色体異常試験では陽性であったが、マウス骨髄小核試験は陰性であり、*in vivo* における染色体損傷性はみられなかった。また、ラットの肝臓及び大腸（結腸）を用いた *in vivo* コメット試験が陰性であったことから、肝臓における活性代謝物生成及び腸内細菌による活性代謝物生成に起因する DNA 損傷の懸念はないと考えられた。これらのことから、ジニトルミドは生体にとって特段問題となる遺伝毒性は示さず、ADI の設定は可能と判断した。

ラットの 90 日間亜急性毒性試験では、雌雄にみられた体重増加抑制及び雄にみられた精巣の所見に基づいて本試験における NOAEL を雄は 100 mg/kg 飼料（6.38 mg/kg 体重/日）、雌は 300 mg/kg 飼料（24.84 mg/kg 体重/日）と判断した。

ラットの 2 年間慢性毒性試験では、雌雄にみられた肝臓への影響を踏まえ、NOAEL を 62.5 mg/kg 飼料（3 mg/kg 体重/日）であると判断した。

各種毒性試験で得られた NOAEL の最小値は、ラットの 2 年間慢性毒性試験の 3 mg/kg 体重/日であった。ラットの 2 年間慢性毒性試験について、1 年以上投与した動物において、少なくとも病理組織学的検索を行った臓器・組織では特定の腫瘍やそれに関連する過形成

の発生増加がみられなかったが、発がん性の有無を判断することは適切ではないと考えられた。生殖発生毒性試験においては、ジニトルミドが親動物に対して配偶子形成に必要な全期間及び児動物に対して胎児期を含む配偶子形成の全期間において投与されており、繁殖能に対して特段の有害な影響を及ぼさないと考えられたが、評価項目、動物匹数が少なく生殖発生毒性の十分な評価ができなかった。以上を総合的に勘案し、安全係数については、追加の 5 を用いることが適当と判断した。これらのことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、毒性学的 ADI の設定にあたっては、ラットの 2 年間慢性毒性試験における NOAEL である 3 mg/kg 体重/日を根拠とし、安全係数 500 で除した、0.006 mg/kg 体重/日と設定することが適当と判断した。

また、本成分についての微生物学的影響調査結果（参照29）において、供試された 11 菌種において 9 菌種の MIC_{50} が>128 μg/mL、2 菌種の MIC_{50} が 128 μg/mL であったことから、微生物学的 ADI の設定は不要と判断した。

以上より、ジニトルミド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。

0.006 mg/kg 体重/日

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

〈別紙　検査値等略称〉

略称	名称
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists：米国産業衛生専門官会議
HPLC	High Performance Liquid Chromatography：高速液体クロマトグラフィー
Ht	Hematocrit：ヘマトクリット値
LD_{50}	Lethal Dose 50：半数致死量
MIC	Minimum Inhibitory Concentration：最小発育阻止濃度
MIC_{50}	50% Minimum Inhibitory Concentration：50 %発育阻止濃度
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level：無毒性量
TLV-TWA	Threshold Limit Value - Time Weighted Average：作業環境許容濃度-時間荷重平均
TLV-STEL	Threshold Limit Value - Short Term Exposure Limit：作業環境許容濃度-短時間ばく露限界値

〈参照〉

1 The Merck Index, 15th edition
2 Smith GN, Thiegs BJ, and Ludwig PD. Identification of the Metabolites of 3,5-Dinitro-o-toluamide-C[14] (Zoalene) in chicken tissues. Agricultural and Food Chemistry, 1963; 11 (3): 253-6.
3 Smith GN, Thiegs BJ, and Ludwig PD. The isolation and Identification of the Amino-nitro-o-toluamide Formed by the Biological Reduction of 3,5-Dinitro-o-toluamide. Agricultural and Food Chemistry, 1963; 11 (3): 257-60.
4 Smith GN. Pathways for the Metabolism of 3,5-Dinitro-o-Toluamide (Zoalene) in Chickens. Analytical Biochemistry, 1964; 7: 461-471.
5 Smith GN, Thiegs BJ, and Ludwig PD. The metabolism of 3,5-Dinitro-o-toluamide-C[14] (Zoalene) in Chickens. Agricultural and Food Chemistry, 1963; 11 (3): 247-251.
6 Smith GN, Thiegs BJ, and Swank MG. Determination of 3,5-Dinitro-o-toluamide (Zoalene) in Chicken Tissues. Agricultural and Food Chemistry, 1961; 9 (3): 197-201.
7 Thiegs BJ and Smith GN. Determination of 3-Amino-5-nitro-o-toluamide (ANOT) in Chiken Tissues. Agricultural and Food Chemistry, 1961; 9 (3): 201-204.
8 ジニトルミドの残留試験　株式会社養日化学研究所
9 鶏におけるグリカルピラミド及びジニトルミドの混合製剤の飼料添加投与での使用基準対応残留試験　報告書　動物医薬品検査所　検査第二部　（平成 15 年 7 月 18 日）
10 Zoamix® and LINCOMIX® FREEDOM OF INFORMATION SUMMARY, NADA 141-489. (2018)
11 Ohta T, Moriya M and Kaneda Y. Mutagenicity of screening of feed addives in the microbial system. Mutat. Res., 1980; 77: 21-30.
12 ジニトルミドの細菌を用いる復帰突然変異試験報告書　中央労働災害防止協会　日本バイオアッセイ研究センター　（2007 年 6 月 26 日）
13 ジニトルミドの細菌を用いる復帰突然変異試験　株式会社養日化学研究所
14 ジニトルミドのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験報告書　中央労働災害防止協会　日本バイオアッセイ研究センター　（2007 年 7 月 31 日）
15 ジニトルミドのマウスを用いた小核試験　株式会社ボゾリサーチセンター　御殿場研究所　（2009 年 6 月 15 日）
16 ラットを用いるジニトルミドのアルカリコメットアッセイ（厚生労働省・令和 4 年 4 月 13 日付けで提出）
17 3,5-DINITRO-o-TOLUAMIDE, ACGIH® (2007)
18 Results of 90-day dietary feeding of zoalene to rats. Dow Chemical Company Report. Dow Chemical Company, Midland MI. (1959)
19 Results of two-year dietary feeding of zoalene to rat. Dow Chemical Company Report. Dow Chemical, Midland MI. (1959)
20 Results of one-year dietary feeding studies zoalene with dogs. Dow Chemical Company Report. Dow Chemical, Midland MI. (1959)
21 Results of fertility and reproduction studies in rats maintained on diets containing zoalene. Dow Chemical Company Report. Dow Chemical Company, Midland MI. (1959)
22 ゾエティス・ジャパン株式会社提出資料：（追加資料）安全性に係るレポート（鶏、8 週間混餌投与試験）（非公表）
23 ゾエティス・ジャパン株式会社提出資料：（追加資料）安全性に係るレポート（鶏、

45 週間混餌投与試験）（非公表）
24 ゾエティス・ジャパン株式会社提出資料：（追加資料）安全性に係るレポート（鶏、13 か月間混餌投与試験）（非公表）
25 ゾエティス・ジャパン株式会社提出資料：（追加資料）安全性に係るレポート（鶏、6 か月間混餌投与試験）（非公表）
26 Reece RL and Hooper PT. Toxicity in utility pigeons caused by the coccidiostat dinitolmide. Aust. Vet. J., 1984; 61(8): 259-261.
27 Olson K. Results of range finding toxicological tests on Zoalene and Zoamix. Dow Chemical Company Report. Dow Chemical, Midland, MI (1960)
28 Kozlar B and Sesevicka L. Eczema due to poultry feed. Pracovni Lekarstui, 1971; 23: 240-244.
29 食品安全委員会：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 2007