

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(10) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖性に及ぼす影響

ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験

(資料 18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1984 年

検体の純度：

試験動物： CD(SD)系ラット、1 群雄 15 匹及び雌 30 匹、投与開始時 6 週齢

投与期間： F₀ 世代 — 投与開始から F₁ 児の離乳時まで (168 日)
(1982 年 6 月 8 日～1982 年 11 月 22 日)

F₁ 世代 — 離乳時から F₂ 児の離乳時まで (219～221 日)
(1982 年 11 月 30 日～1983 年 7 月 7 日)

投与方法： 検体をアセトンに溶解し、0、25、100 及び 400 ppm の濃度まで基本飼料に混入し、
随時摂食させた。

なお、投与量の設定に際しては亜急性経口毒性試験の結果(資料 11)を参考とした。

方法及び試験項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率：各種検査時期に、全生存動物について一般状態及び生死を 1 日 2 回観察した。

体重及び摂餌量：体重及び摂餌量については雌雄とも週 1 回測定した。また、妊娠動物では妊娠並びに授乳期間中にも体重を測定した。

交配及び妊娠の確認：交配は雄 1 匹につき雌 2 匹を同居させることにより行い、翌日に膣垢中の膣栓あるいは精子の存在により交尾を確認した。

妊娠の有無は触診及び出産により確認した。

ラットを用いた2世代繁殖毒性試験の概要

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F ₀	0 生育期 (14 週)		<ul style="list-style-type: none"> ・症状及び生死を1日2回観察 ・体重及び摂餌量を週1回測定
	100 交配期 (2 週)	雄1匹と雌2匹を同居させ、交尾は陰栓あるいは精子の存在で確認 (妊娠0日)	<ul style="list-style-type: none"> ・交尾状況の観察 ・交配期間の終了後に雄を屠殺し、精巣及び精巣上体の病理組織学的検査
	妊娠期 (3 週)		<ul style="list-style-type: none"> ・症状及び生死を1日2回観察 ・体重を週1回測定
	121 出産		<ul style="list-style-type: none"> ・出産状況の観察
F ₁	哺育期 (3 週)		<ul style="list-style-type: none"> ・新生児数及び死産児数の調査、外表及び内部異常検査、性別検査及び同腹児の体重測定 ・授乳0、4、14及び21日に生存児数の調査、児動物及び母動物の体重測定 ・途中死亡新生児の外表及び内部異常検査
	160 離乳期	継代用として各群の雄15匹と雌30匹を無作為に選抜 (雌については各同腹群より1匹)	<ul style="list-style-type: none"> ・継代用以外の児動物、母動物及び未妊娠雌動物を屠殺し、肉眼的病理検査 ・各群雌雄各5匹の児動物については各種臓器及び組織の病理組織学的検査、残りの動物については肉眼的病変部の病理組織学的検査
	生育期 (14 週)		
	280 交配期 (3 週)	(F ₀ 世代に準ずる) 交配期間を5日間延長し、さらに雄1匹と未交尾雌1匹を同居	(F ₀ 世代に準ずる)
	妊娠期 (3 週)		
F ₂	301 出産		(F ₀ 世代に準ずる)
	哺育期 (3 週)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
	340 離乳期		<ul style="list-style-type: none"> ・離乳後全ての児動物、離乳後一定期間経過後、親動物をそれぞれ屠殺し、肉眼的病理検査 ・各群雌雄各5匹の児動物と全ての親動物から摘出した各種臓器の重量測定 ・各群雌雄各5匹の児動物と雌雄各10匹の親動物については各種臓器及び組織、残りの動物については肉眼的病変部及び組織塊の病理組織学的検査
	370		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

繁殖性に関する指標：交配、妊娠および授乳期の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交尾した動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{受精率} = \frac{\text{交尾した雄動物数}}{\text{交配に用いた雄動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾を認めた雌動物数}} \times 100$$

妊娠期間：膈垢中に膈栓あるいは精子の存在を確認した日を妊娠0日とし、出産までの期間を求めた。

$$\text{出産率} = \frac{\text{生存児を出産した動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100$$

新生児数：各母動物別に新生児数を数え、生存児数と死産児数を求めた。

性別：肛門と生殖器の距離により性別を調べた。

$$\begin{aligned} \text{4日後生存指数} \\ (\text{新生児生存率}) \end{aligned} = \frac{\text{生後4日における生存児数}}{\text{出産児数}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{21日後生存指数} \\ (\text{哺育率}) \end{aligned} = \frac{\text{生後21日における生存児数}}{\text{生後4日における生存児数}} \times 100$$

肉眼的病理検査：各世代とも、死亡動物及び各検査時期の屠殺動物について肉眼的病理検査を実施した。

臓器重量：F₁及びF₂世代の動物については、各検査時期に解剖後、脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓及び精巣（精巣上体を含む）の各重量を測定した。

また、これらの臓器重量、最終体重及び脳重量から各臓器の対体重比及び対脳重量比を求めた。

病理組織学的検査：F₀世代－全生存動物について雄では精巣と精巣上体、雌では肉眼的病変部について病理標本を作製し、検鏡した。

F₁及びF₂世代－離乳後に各群雌雄各5匹の児動物（F₁及びF₂世代）、児動物の離乳後一定期間経過後に各群雌雄各10匹の親動物（F₁世代）を対象として、上記の重量測定臓器と副腎、骨、食道、眼、腸（盲腸、直腸、十二指腸、回腸）、肺、リンパ節、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

乳腺、神経、膵臓、下垂体、前立腺、子宮、唾液腺、精嚢、骨格筋、皮膚、脾臓、胃、甲状腺、副甲状腺、胸腺、気管、膀胱、肉眼的病変部及び組織塊について病理標本を作製し、検鏡した。

結果： 次頁以降に示した。

25 ppm 投与群では F₁ 児動物の 21 日後生存指数で有意の低下がみられたが、背景データ (91.2~100%) の範囲内であったことから、この低下は検体投与による影響とは考えられなかった。この検査項目以外においても、検体投与によると考えられる影響はなかった。

100 ppm 投与群では親動物の体重低下 (F₀ 及び F₁ 世代)、受胎率の低下 (F₁ 世代) 及び受精率の低下 (F₁ 世代) がみられた。

400 ppm 投与群では親動物の体重低下 (F₀ 及び F₁ 世代)、繁殖性に関する指数 (交尾率、妊娠率、出産率及び受精率) の低下及び臓器重量の増減 (心臓、脾臓及び卵巣重量の減少、脳/体重比の増加、心臓/脳重量比、肝臓/脳重量比、脾臓/脳重量比、精巣/脳重量比及び卵巣/体重比の減少) がみられた。さらに、この親動物から生まれた児動物には、生存に関する指数を含む多くの検査項目に検体投与によると考えられる明らかな影響が認められた。

以上の結果より、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、100 ppm 以上の投与群に親動物の体重低下、繁殖性に関する指数の低下及び臓器重量の増減、また児動物の生存に関する指数の低下がみられた。

従って、親の一般毒性影響に関する無毒性量、並びに親動物の繁殖能力及び児動物に対する無毒性量はいずれも 25 ppm (雄：1.6mg/kg/日、雌：2.0mg/kg/日) と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットを用いた2世代繁殖毒性試験結果

世代		親動物：F ₀ 、児動物：F _{1a}				親動物：F ₁ 、児動物：F _{2a}				
投与量		対照群	25ppm	100ppm	400ppm	対照群	25ppm	100ppm	400ppm	
動物数	雄	15	15	15	15	15	15	15	15	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
親動物	一般状態				後期に脱毛					
	死亡率	雄	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
		雌	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30
	体重変化	雄			軽度の減少	軽度の減少			軽度の減少	軽度の減少
		雌			初期に軽度の減少	軽度の減少				軽度の減少
	摂餌量	雄			増過	増過			増過	増過
		雌			増過	増過				増過
	検体摂取量 (mg/kg/日)	雄 [成長期]	0	1.7	7.0	29.0	0	1.9	7.8	32.9
		雄 [児動物の離乳後]	—	—	—	—	0	1.2	4.8	20.7
		雌 [成長期]	0	2.1	8.8	36.7	0	2.2	9.2	42.1
		雌 [児動物の離乳後]	—	—	—	—	0	1.6	6.6	30.2
	交尾率	雄	15/15 [100%]	13/15 [86.7%]	13/14 [92.9%]	15/15 [100%]	13/15 [86.7%]	13/15 [86.7%]	14/15 [93.3%]	9/15 [60.0%]
		雌	27/30 [90.0%]	25/30 [83.3%]	26/30 [86.7%]	27/30 [90.0%]	26/30 [86.7%]	24/30 [80.0%]	25/30 [83.3%]	23/30 [76.7%]
	受胎率		23/27 [85.2%]	16/25 [64.0%]	20/26 [76.9%]	20/27 [74.1%]	22/26 [84.6%]	19/24 [79.2%]	14/25 [56.0%]	7/23** [30.4%]
	受精率		14/15 [93.3%]	11/13 [84.6%]	11/13 [84.6%]	14/15 [93.3%]	12/13 [92.3%]	12/13 [92.3%]	9/14 [64.3%]	6/9 [66.7%]
	妊娠期間 (平均±標準偏差)		(21) 22.0±0.2	(15) 22.1±0.5	(20) 22.3±0.6	(19) 22.2±0.4	(19) 22.2±0.6	(17) 22.1±0.9	(14) 22.1±0.4	(6) 22.2±0.4
	出産率		23/23 [100%]	16/16 [100%]	20/20 [100%]	20/20 [100%]	22/22 [100%]	19/19 [100%]	14/14 [100%]	7/7 [100%]
	肉眼的病理 検査所見	雄 雌								
臓器重量		—	—	—	—				脳、心臓、 肝臓、脾臓、 精巣、卵巣 の重量ある いは相対重 量の増減	
病理組織学的検査所見										
精巣：上皮細胞 の変性		1/15	1/15	3/15	2/15	—	—	—	—	
甲状腺：髄質癌		—	—	—	—	雌：0/10	雌：0/10	雌：0/10	雌：1/10	
副腎：皮質腺腫		—	—	—	—	雌：1/10	雌：1/10	雌：1/10	雌：2/10	

注) 空欄は異常なし又は著変なしを示す。「—」は検査していないことを示す。()は親動物数。*: P<0.05, **: P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットを用いた2世代繁殖毒性試験結果(つづき)

世代		親動物：F ₀ 、児動物：F _{1a}				親動物：F ₁ 、児動物：F _{2a}			
投与量		対照群	25ppm	100ppm	400ppm	対照群	25ppm	100ppm	400ppm
動物数	雄	15	15	15	15	15	15	15	15
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30
着床痕数 [平均±標準偏差]		(23) 13.8±2.3	(16) 13.1±2.8	(19) 13.2±3.0	(20) 11.7±4.0	(22) 12.5±2.8	(19) 12.4±2.7	(14) 11.9±2.9	(7) 10.6±2.8
	全新生児数 [平均±標準偏差]	(23) 13.0±2.5	(16) 12.3±2.6	(20) 12.3±3.7	(20) 11.6±4.0	(22) 11.8±2.7	(19) 10.7±3.1	(14) 10.4±3.0	(7) 9.7±2.9
性比 [雄/雌]		1.0	1.3	1.2	0.9	0.9	0.9	1.2	1.0
誕生時の全生存数/ 全新生児数		294/300 [98.0%]	189/196 [96.4%]	236/241 [97.9%]	221/231 [95.7%]	251/259 [96.9%]	177/204 [86.8%]	140/146 [95.9%]	63/68 [92.6%]
誕生時の平均生存 児数		(23) 12.8±2.5	(16) 11.8±2.5	(20) 11.8±3.7	(20) 11.0±3.8	(22) 11.4±2.6	(19) 9.4±3.9	(14) 10.0±3.1	(7) 9.0±2.6
4日後生存指数		272/294 [92.5%]	172/189 [91.0%]	195/236** [82.6%]	92/221** [41.6%]	204/251 [81.3%]	131/177 [74.0%]	95/140** [67.9%]	7/63** [11.1%]
21日後生存指数		269/272 [98.9%]	163/172* [94.8%]	182/195** [93.3%]	63/92** [68.5%]	155/204 [76.0%]	112/131 [85.5%]	56/95** [58.9%]	0/7** [0.0%]
親動物	体重 (g)								
	授乳 0 日	(23) 6.0±0.4	(16) 6.5±0.5*	(20) 6.1±0.8	(20) 5.6±0.7	(22) 5.9±0.6	(19) 6.2±0.7	(14) 5.8±0.7	(7) 5.4±0.8
	授乳 4 日	(23) 8.4±1.0	(15) 9.1±1.3	(19) 8.4±1.9	(14) 6.1±1.4**	(20) 7.6±1.5	(17) 7.8±1.5	(11) 7.5±1.9	(2) 5.2±0.2
	授乳 14 日	(23) 24.7±2.7	(15) 26.4±3.4	(18) 23.8±3.4	(9) ** 20.0±4.8	(19) 19.7±4.8	(16) 20.7±4.8	(10) 19.3±4.3	b
	授乳 21 日	(23) 39.4±4.8	(15) 42.3±5.5	(18) 37.2±6.2	(9) ** 31.8±6.4	(19) 30.8±5.8	(16) 30.9±7.4	(9) 28.5±6.9	b
一般状態									
肉眼的病理所見									
臓器重量	雄				脳、心臓、 腎臓、肝臓、 精巣、脾臓 の重量ある いは相対重 量の減少				b
	雌								b
病理組織学的検査所見									
回腸上皮 細胞の空 胞化	雄	0/5	0/5	1/5	4/5	2/5	2/5	1/5	b
	雌	2/4	1/4	2/5	2/5	2/5	3/4	2/4	b

注) 空欄は異常なし又は著変なしを示す。a:1匹は検査せず、b:全例が死亡、()は親動物数、*:P<0.05、**:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 89)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

検体純度：

供試動物： Wistar Hannover ラット (BrlHan:WIST@Jcl [GALAS])、1 群当たり雌雄各 24 匹
投与開始時週齢；5 週齢
投与開始時体重；雄 141~162 g、雌 110~124 g

投与期間： 2009 年 2 月 3 日~2009 年 11 月 2 日
P 世代 雌雄；育成開始から F₁ 児離乳後の剖検終了までの約 18~20 週間
F₁ 世代 雌雄；F₁ 親動物として選抜後の育成開始から F₂ 児離乳後の剖検終了までの約 18~20 週間

投与方法： 検体を 0、30、100 および 300 ppm の濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。なお、飼料に添加する際、検体の適量を基礎飼料と混合してプレミックスを調製した。検体を混入した飼料の保存は、安定性が保証されている期間(冷暗所で 5 週間保管後、室温で 7 日間放置)を超えないようにした。対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与量設定根拠：

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表 1 にまとめた。

親動物：一般状態および死亡率；試験期間中、親動物の一般状態および死亡の有無を毎日観察した。さらに体重測定日には詳細な検査を行った。

体重；雄の体重は、投与開始日、育成期間中と繁殖期間中は週 1 回、および剖検日に測定した。雌の体重は、投与開始日、育成期間中は週 1 回、繁殖期間中は妊娠 0、7、14 および 20 日、哺育 0、4、7、14 および 21 日ならびに剖検日に測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

摂餌量；摂餌量を1ケージ当たりの収容動物数と給与日数で除して1匹当たりの1日の平均摂餌量 (g/ラット/day) として1週間間隔で算出した。哺育期間中の雌については、母動物と児動物の飼料消費量の合計として表した。交配期間中は、雌雄とも摂餌量の測定を行わなかった。

検体摂取量；雌雄について、平均体重と平均摂餌量に基づき、育成期間中および繁殖期間中の検体摂取量 (mg/kg/day) について算出した。

交尾および妊娠の確認；交配は雌の発情を膣垢で確かめ、F₁世代においては兄妹交配を避けて、同群の雄と1対1で最長2週間同居させ、膣栓又は膣垢中の精子の存在により交尾を確認した。膣栓又は膣垢中に精子が検出された日を妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および分娩の観察に基づき、次の指標を調べた。

性成熟；F₁親動物として選抜された全動物を対象に、性成熟の指標として雄の包皮分離を35日齢から、雌の膣開口を26日齢から毎日観察し、完了日齢および体重を記録した。

発情周期；交配に先立って発情周期に伴う膣垢像の変化を3週間以上観察し、発情周期長（発情期から次の発情期の前日までの日数の平均値）および発情周期正常雌率を算出した。

交尾率および交尾所要日数；交尾の確認を、膣栓の有無又は膣垢中の精子の有無によって行い、雌雄それぞれについて、次の式から交尾率を求めた。雌ごとに同居を開始した日から交尾が確認された日までの日数（交尾所要日数）を数えた。

$$\text{雄（雌）の交尾率（\%）} = \frac{\text{交尾を認めた雄（雌）数}}{\text{交配に用いた雄（雌）数}} \times 100$$

受胎率；妊娠の確認を、分娩の有無および子宮内の着床痕の有無によって行い、次の式から受胎率を算出した。

$$\text{受胎率（\%）} = \frac{\text{妊娠雌数}}{\text{交尾を認めた雌数}} \times 100$$

出産率；難産などの分娩異常がみられず、1匹以上の生存児を出産した場合に正常出産とし、次の式から出産率を算出した。

$$\text{出産率（\%）} = \frac{\text{正常出産雌数}}{\text{妊娠雌数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

妊娠期間；交尾確認日（妊娠 0 日）から分娩完了日（哺育 0 日）までの日数とした。

着床数；雌の剖検時に、子宮内の着床痕の数を数えた。

精子検査；精巣の精子頭部数；精巣から採取した精子頭部について血球計算盤を用いて計数した。

精巣上体の精子数、運動性および形態；精巣上体尾部（原則として右側）から採取した精子の数および運動性は、精子画像解析装置を用いて調べた。精巣上体尾部精子の形態は、10%中性緩衝ホルマリン液で固定して顕微鏡で観察した。精子頭部数および精子数は、総数および組織 1 g 当りの数として、精子の運動性は、自動性を示す精子の百分率として、精子の形態は、観察した 200 個当りの正常形態精子の百分率として表した。

病理学的検査；

肉眼的病理検査；実験終了時の全生存親動物について剖検を行った。雌親動物については、剖検前に膣垢像を観察して発情周期の段階を確認し、剖検時には子宮の着床痕数を記録した。

臓器重量；実験終了時の全生存親動物を対象として以下の臓器重量を測定した。脳、甲状腺、下垂体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、卵巣、子宮（頸部と卵管を含む）、精巣、精巣上体、精囊（凝固腺とともに分泌物を含む）および前立腺（腹側葉）。

病理組織学的検査；対照群および 300 ppm 投与群の親動物について、哺育児を離乳できた雌雄の組を無作為に 10 組選抜し、生殖器官（卵巣、卵管、子宮（角部および頸部）、膣、精巣（原則として左側）、精巣上体（原則として左側）、精囊、凝固腺および前立腺）、下垂体および副腎を病理組織学的に検査した。F1 雌親動物の卵巣については、原子卵胞を計数した。また、重量の変化が認められた P 雄親動物の脳および P 雌親動物の肝臓についても病理組織学的検査を行った。対照群を含む全ての群において、不妊が疑われた雌雄の組および異常出産又は全哺育児の死亡がみられた雌についても、生殖器官、下垂体および副腎の病理組織学的検査を実施した。また、肉眼的異常の認められた臓器についても病理組織学的検査を行った。

児動物；一般状態および死亡；哺育期間中、全児動物の一般状態および死亡の有無を毎日観察した。さらに体重測定日には詳細な検査を行った。

産児数；哺育 0 日に、正常に出産した腹ごとに生存児数と死亡児数を数え、それらの合計を産児数とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

性比；哺育0日に、腹ごとに児の性を調べ、次の式から群ごとに性比を求めた。

$$\text{性比} = \frac{\text{総雄産児数}}{\text{総産児数}}$$

生存率；哺育0、4、7、14 および 21 日に、腹ごとに生存児数を数え、次の式から生存率を腹ごとに求めた。

$$\text{哺育0日の生存率 (\%)} = \frac{\text{哺育0日の生存児数}}{\text{産児数}} \times 100$$

$$\text{哺育4日の生存率 (\%)} = \frac{\text{哺育4日の生存児数}}{\text{哺育0日の生存児数}} \times 100$$

$$\text{哺育7、14 および 21 日の生存率 (\%)} = \frac{\text{哺育7、14 および 21 日の生存児数}}{\text{哺育4日に選抜した児数}} \times 100$$

体重；各腹について、哺育0、4、7、14 および 21 日に児動物の体重を測定した。哺育0日には雌雄別に1腹分まとめて測定し、哺育4日以降は個体別に測定して雌雄ごとの平均体重を算出した。

病理学的検査；

肉眼的病理検査；哺育4日に選抜されなかった哺育児は、その日のうちに剖検した。

F₁世代の親動物に選抜されなかったF₁離乳児およびすべてのF₂離乳児は、26日齢で剖検した。哺育期間中および離乳後に死亡した児動物についても、発見後速やかに剖検した。

臓器重量；F₁およびF₂離乳児のうち、1腹あたり雌雄各1匹について、剖検日に体重を測定し、剖検後に脳、脾臓、胸腺および子宮の重量を測定した。

表 1. 試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成 (10 週間)		体重、摂餌量を週 1 回測定 投与 8 週時から発情周期を検査
	交配 (最長で 2 週間)	雌雄 1 対 1 で交配。交尾 は膣栓又は膣垢中の精 子で確認 (妊娠 0 日)	交配状況の観察
	妊娠 (3 週間)		妊娠 0、7、14、20 日に体重、摂餌量を週 1 回測定
	出産		出産状況の観察 (分娩完了日を哺育 0 日) 産児数、死産児数、外表異常および性別検査
	哺育 (3 週間)	哺育 4 日に各同腹児数を 雄 4 匹、雌 4 匹に調整 (不可能な場合、雌雄計 8 匹)	母動物の体重を哺育 0、4、7、14、21 日に、摂餌量を週 1 回測定 哺育 0、4、7、14、21 日に生存児数観察、哺育児体重測定 途中死亡および哺育 4 日に選抜されなかった児動物につい て肉眼的病理検査
	離乳	F ₁ 親動物用の各群雌雄各 24 匹を無作為に選抜	哺育児の離乳後、全親動物について肉眼的病理検査、臓器 重量測定、雄の精子検査 対照群と最高用量群の雌雄および不妊が疑われる動物の生 殖器官、下垂体および副腎について病理組織学的検査 F ₁ 親動物として選抜されなかった児動物の肉眼的病理検 査。各腹雌雄各 1 匹について臓器重量測定
F ₁	生育 (10 週間)		P 世代に準ずるが、その他に発育指標として、膣開口および 包皮分離を観察
	交配 (最長で 2 週間)	(P 世代に準ずるが 兄妹交配を避けた)	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週間)		(P 世代に準ずる)
	出産		(P 世代に準ずる)
	哺育 (3 週間)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	離乳		F ₁ 親動物および F ₂ 離乳児の観察・検査を P 世代に準じて実 施 対照群と最高用量群の F ₁ 雌親動物について、卵巣における 原始卵胞数を測定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

結果：概要を表 2-1～2-2（親動物）および表 3（児動物）に示す。

親動物に対する影響

一般状態および死亡；試験期間中、死亡動物又は途中切迫殺動物はなかった。両世代のいずれの投与群においても、検体投与に関連した臨床所見は認められなかった。

体重；30 ppm 投与群では、P 世代の雌の哺育 0-4 日および 0-7 日の体重増加量に有意な低値が認められたが、哺育期間中の体重には有意差は認められず、同群の F₁ 雌で再現性はみられなかったことから、検体投与とは関連のない偶発的なものと考えられた。

100 ppm 投与群において、P 世代の雄では体重の有意な低値または体重増加量の有意な低値が試験期間の大部分または試験期間を通して認められた。P 世代の雌では哺育 4 日の体重および妊娠 0-7 日ならびに哺育 0-4、0-7 および 0-14 日の体重増加量に有意な低値が認められた。F₁ 世代では雌雄ともに体重および体重増加量に有意な変化は認められなかった。

300 ppm 投与群において、P および F₁ 世代の雄では試験期間を通して体重および体重増加量は低値を示し、有意な低値が P 世代の体重では投与 1-4 週、F₁ 世代では投与 0-9 週に認められた。P および F₁ 世代の雌では育成期間および哺育期間を通して体重は低値を示し、有意な低値が散発的に認められた。また、体重増加量の有意な低値が育成期間、妊娠 0-7 日または哺育 0-14 日に認められた。また、体重増加量の有意な低値が P 世代の雌では育成期間の 0-1、0-4、0-6 および 0-9 週、妊娠期間の 0-7 日、哺育期間の 0-4、0-7 および 0-14 日に認められ、F₁ 世代の雌では育成期間の 0-1 週および哺育期間の 0-7 日に認められた。

摂餌量；30 ppm 投与群では、いずれの世代においても雌雄の摂餌量は対照群の値とほぼ同じか、それより高い値であった^{申請者注1}。

100 ppm 投与群では、P 雄の投与 1 週に有意な減少がみられたが、F₁ 雄では摂餌量に変化はみられなかった。雌では P および F₁ 世代で哺育 7～21 日に有意な低値が認められた。

300 ppm 投与群では、P 雄の投与 1 および 2 週に有意な減少がみられたが、繁殖期間中の摂餌量は対照群より高い値を示した。F₁ 雄では変化はみられなかった。雌の育成期間中の摂餌量は、P 世代では投与 1 週に有意な低値がみられたが、F₁ 世代では大部分が対照群の値より高く、一貫性はみられなかった。しかし、哺育期間中の摂餌量には P 雌および F₁ 雌とも有意な低値が認められた。

^{申請者注1} F₁ 雌雄の投与 1 週に有意な摂餌量の高値が認められたが、摂餌量の高値には毒性学的意義はないものと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

繁殖能に関する指標：

性成熟；30 ppm 投与群の雄の包皮分離完了日齢が有意に低かったが、高用量群における値が対照群とほぼ同じであることから、この変化に検体投与との関連性はないと考えられた。300 ppm 投与群の雌雄では、包皮分離および膣開口完了日の体重が有意に低かったが、各指標の完了日齢に差は認められなかった。この体重変化は、F₁ 世代の親動物の育成期間中における低体重を反映したものと考えられた。

発情周期長；雌の発情周期長には、P および F₁ 世代のいずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。

発情周期正常雌率；30 ppm 投与群の F₁ 雌 2 例、100 ppm 投与群の P 雌 2 例、F₁ 雌 3 例において、発情期の膣垢像が周期的に認められなかった。しかし、高用量群の P および F₁ 世代の雌では発情周期の異常は認められなかった。したがって、30 および 100 ppm 投与群の雌にみられた変化は検体投与とは関連性がないと考えられた。

交尾率および交尾所要日数；P および F₁ 世代の交尾率および交尾所要日数には、対照群と投与群との間で有意な差は認められなかった。

受胎率；P および F₁ 世代の雌の受胎率には、対照群と投与群との間で有意な差は認められなかった。

300 ppm 投与群の F₁ 世代において、F₂ 哺育児が得られなかった親動物が雌雄各 4 例あったため、これらの動物について無処置動物との再交配試験を実施した。その結果、雄親動物では全例で妊性が確認された。雌親動物では、交尾は全例で確認されたが、哺育児が得られたのは 1 例で、残りの 3 例では剖検時に受胎産物は認められなかった。本試験と同系統のラットを用いた 9 試験の背景対照データ（下表参照）において、F₁ 世代の受胎率の最小値が 83.3% であることから、300 ppm 投与群の受胎率の低下〔再交配試験の結果を合わせて 87.5% (21/24)〕は背景データの範囲内にあり、軽度であった。これらのことから、300 ppm 投与群の受胎率の低値と検体投与との間に明確な関連性はみられなかった。

Wistar Hannover ラットを用いた繁殖試験における背景対照データ

試験	1	2	3	4	5	6	7	8	9
実施年	2004	2004	2005	2005	2007	2007	2008	2009	2009
F ₁ 世代の 受胎率 (%)	23/24 (95.8)	20/24 (83.3)	23/24 (95.8)	24/24 (100)	24/24 (100)	23/24 (95.8)	21/24 (87.5)	23/24 (95.8)	23/24 (95.8)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

出産率；P および F₁ 世代の雌の出産率には、対照群と投与群との間で有意な差は認められなかったが、300 ppm 投与群の P 雌 1 例で、営巣等の母性行動の障害といった異常出産が認められ、この変化は検体投与による母体毒性に起因するものと考えられた。

妊娠期間；P および F₁ 世代の各投与群の妊娠期間は、対照群とほぼ同じであった。

着床数；P および F₁ 世代の平均着床数には、対照群と投与群との間で有意な差は認められなかった。

精子検査；P および F₁ 世代の雄親動物における精巣精子頭数、精巣上体尾部の精子数、運動率および正常形態出現率には、対照群と投与群との間で有意な差は認められなかった。

肉眼的病理所見；300 ppm 投与群の F₁ 雌において、脱毛（4/19）および腎盂拡張（0/19）の出現頻度に、それぞれ有意な高値および低値が認められたが、脱毛はラットで一般的にみられる所見であって特定部位に偏っていないこと、また腎盂拡張の出現頻度は対照群より低いことから、これらの所見は検体投与とは関連性のないものであると考えられた。いずれの世代の動物においても、検体投与に関連した病理所見は認められなかった。

臓器重量；P 世代の雄では、100 および 300 ppm 投与群で脳の対体重比が有意に高かったが、この変化は、これらの動物では対照群と比較して体重が低かったことによるものと考えられた。F₁ 世代の雄では、100 ppm 投与群の副腎の対体重比および 300 ppm 投与群の前立腺の絶対重量に有意な低値が認められた。100 ppm 投与群の副腎の変化は、同様の変化が高用量群ではみられなかったため、検体投与とは関連がないと考えられた。300 ppm 投与群の前立腺では、対体重比に有意差はみられないため、これは剖検時の体重が対照群に比べてやや低かったことによるものと考えられた。

雌では、F₁ 世代の 30 ppm 投与群で腎臓の絶対重量が有意に高かったが、高用量群では同様の変化がみられなかったことから、検体投与とは関連のないものと考えられた。100 および 300 ppm 投与群の肝重量には、P および F₁ 世代で散発的に有意な低値がみられたが、高用量群の F₁ 雌の肝重量には有意な差がみられなかったことから、これらの変化は偶発的なものと考えられた。100 および 300 ppm 投与群の P 雌の副腎絶対重量および対体重比ならびに同群 F₁ 雌の副腎の対体重比には有意な低値がみられ、これらは検体投与に関連した変化であると考えられた。

病理組織学的所見；P および F₁ 世代の雌雄の生殖器官、下垂体、副腎、P 雄の脳および P 雌の肝臓には、検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。F₁ 雌の原始卵胞数については、対照群と 300 ppm 投与群の間で有意な差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

児動物に対する影響

一般状態および死亡；300 ppm 投与群の F₁ および F₂ 哺育児 において、母動物によると思われる喰失が高頻度で認められ、F₁ 哺育児ではその出現率に有意差が認められた。

産児数；いずれの世代においても、各投与群の平均産児数は対照群とほぼ同じであった。

性比；いずれの世代においても、各投与群における性比に影響は認められなかった。

生存率；300 ppm 投与群において、F₁ 哺育児の哺育 4 日以降および F₂ 哺育児の哺育 4 日における生存率に低値がみられ、F₁ 哺育児の哺育 4、14 および 21 日の生存率には有意差が認められた。

体重；100 および 300 ppm 投与群の F₁ および F₂ 哺育児の雌雄で体重の低値が認められた。

100 ppm 投与群では、F₁ 哺育児の哺育 7 日以降、F₂ 哺育児の哺育 14 日以降、300 ppm 投与群では、F₁ および F₂ 哺育児の哺育 0 日以降（F₂ 雌哺育児の哺育 0 日を除く）において有意差が認められた。

肉眼的病理所見；哺育 0 日の死産児および哺育 4 日に淘汰した哺育児の剖検では、検体投与に関連した異常は認められなかった。哺育 5～21 日に死亡した哺育児および離乳児の剖検では、300 ppm 投与群の F₁ 哺育児において、部分的喰失の出現率にわずかな高値がみられた。これは哺育 5～7 日および哺育 8～14 日に高頻度で認められた哺育児の死亡に起因するものと考えられた。300 ppm 投与群の F₁ 哺育児では腎盂拡張の出現頻度に有意差がみられたが、出現率は対照群より低く 0%であった。

臓器重量；30 ppm 投与群では、F₁ 雌離乳児の剖検日の体重が対照群と比較して有意に低かったが、哺育期間中の群平均体重は対照群とほぼ同じであったことから、この変化は偶発的なものであると考えられた。また、30 ppm 投与群の F₁ 雌離乳児の子宮の対体重比が有意に高かったが、F₂ 離乳児では再現されず、この変化は低体重に起因するもので、検体投与との関連性はないと考えられた。

100 および 300 ppm 投与群の F₁ および F₂ 離乳児では、剖検日の平均体重、脳の絶対重量、脾臓の絶対重量、胸腺の絶対重量が対照群と比べて低く、有意差が散発的にみられた。しかし、脾臓および胸腺の対体重比は対照群とほぼ同じであり^{申請者注2}、これらの投与群の脳および子宮の対体重比は対照群よりも高かった。したがって、これらの変化は剖検時の低体重に起因するものと判断された。100 ppm 投与群の F₂ 離乳児にみられた子宮の絶対重量の有意な高値は、300 ppm 投与群で同様の変化がみられなかったことから、検体投与とは関連性のない偶発的な変動と考えられた。

^{申請者注2} 300ppm 投与群の F₁ 雌雄離乳児の脾臓の対体重比に有意な差が認められたが、それらの対照群に対する変動率はそれほど大きくはなく（8.3%あるいは13.2%）、また、F₂ 離乳児では有意な差が認められなかったことから、毒性学的に重要な変化でないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

以上の結果より、2世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、一般状態に関する影響として、100 ppm 以上投与群の親動物で雌雄の体重、体重増加量および摂餌量の低値、雌の副腎の絶対重量および対体重比の低値が認められた。繁殖能力に関しては、検体投与に関連した明らかな変化は認められなかったが、300 ppm 投与群において、哺育4日以降のF₁哺育児の生存率の低値に関連した出産率 (gestation index) の低値が認められた。これらの変化は、検体投与に起因した営巣や授乳等の母性行動の障害と関連性があると考えられた。児動物では、100 ppm 投与群でF₁およびF₂哺育児の哺育7日以降の体重低値が認められ、300 ppm 投与群では、F₁およびF₂哺育児における哺育期間中の一貫した体重の低値、F₁哺育児の哺育4日以降およびF₂哺育児の哺育4日における生存率の低値、F₁またはF₂哺育児の哺育期間中の母動物によると思われる喰失または死亡の出現頻度の増加が認められた。

したがって、一般毒性に対する無毒性量は、親動物および児動物のいずれに対しても30 ppm (P雄: 1.89 mg/kg/day、P雌: 2.29 mg/kg/day、F₁雄: 2.28 mg/kg/day、F₁雌: 2.59 mg/kg/day) であると判断される。

繁殖能力に対する無毒性量は100 ppm (P雄: 6.46 mg/kg/day、P雌: 7.78 mg/kg/day、F₁雄: 7.62 mg/kg/day、F₁雌: 8.94 mg/kg/day) であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 2-1. 結果の概要－親動物

世代		親動物：P、児動物：F1				親動物：F1、児動物：F2							
投与群 (ppm)		0	30	100	300	0	30	100	300				
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24				
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24				
臨床所見		検体投与に関連した所見は認められなかった。											
死亡数/切迫殺数		雄	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0				
		雌	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0				
親動物	体重 (g)	0 週	雄	152	152	152	152	60	60	60	↓53		
			雌	117	117	117	117	57	58	58	↓51		
		1 週	雄	195	194	↓187	↓178	100	102	101	↓89		
			雌	136	135	135	↓130	89	91	90	↓79		
		2 週	雄	237	234	↓225	↓221	147	150	149	↓133		
			雌	155	154	155	151	119	122	121	↓111		
		3 週	雄	268	266	↓256	↓254	190	193	192	↓174		
			雌	170	169	172	166	140	143	142	↓131		
		4 週	雄	296	293	↓280	↓281	234	237	238	↓217		
			雌	183	182	184	↓175	160	162	162	↓151		
		5 週	雄	314	312	↓298	301	272	276	277	↓255		
			雌	191	190	193	185	177	182	179	169		
		6 週	雄	334	332	↓316	320	304	306	308	↓286		
			雌	202	199	202	↓194	190	196	192	183		
		7 週	雄	349	347	↓330	334	328	331	333	↓311		
			雌	207	204	209	200	200	206	204	195		
		8 週	雄	362	359	↓342	346	349	350	355	↓330		
			雌	212	210	213	205	208	214	213	202		
		9 週	雄	373	368	↓350	355	363	366	370	↓345		
			雌	216	213	219	209	217	223	220	210		
		10 週	雄	382	377	↓359	364	376	380	386	359		
			雌	221	218	223	214	222	229	228	218		
		繁殖期間 (雄)		11 週	390	385	368	374	385	391	396	371	
				12 週	398	392	↓374	381	396	400	409	382	
				13 週	404	396	381	389	403	410	416	390	
				14 週	409	401	386	393	412	419	426	396	
				15 週	418	409	↓392	400	418	423	433	402	
				16 週	425	415	↓399	405	424	432	442	408	
				17 週	430	421	↓405	411	431	438	447	411	
		繁殖期間 (雌)		妊娠中	0 日	221	218	223	217	225	230	230	218
					7 日	240	237	238	233	242	246	245	232
					14 日	264	262	264	259	266	269	269	254
20 日	322				320	321	315	324	324	324	308		
哺育中	0 日			238	239	240	239	249	250	250	239		
	4 日			261	251	↓249	↓240	266	266	261	↓244		
	7 日			268	261	259	↓255	272	274	270	↓256		
	14 日	283	278	273	↓271	287	288	284	↓269				
	21 日	269	269	269	265	271	278	273	259				

↑ ↓ : P < 0.05 ↑ ↓ : P < 0.01 (Dunnett の多重比較検定または Dunnett 型の多重比較検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 2-2. 結果の概要－親動物（続き）

世代		親動物：P、児動物：F1				親動物：F1、児動物：F2						
投与群 (ppm)		0	30	100	300	0	30	100	300			
動物数		雄	24	24	24	24	24	24	24			
		雌	24	24	24	24	24	24	24			
親動物	体重増加量 (g)	育成期間	0-1 週	雄	44	42	↓35	↓26	40	42	41	↓36
				雌	18	18	18	↓13	32	33	32	↓28
			0-2 週	雄	85	83	↓73	↓69	87	89	88	↓80
				雌	38	37	38	34	62	64	63	60
			0-3 週	雄	116	115	↓104	↓103	130	132	131	↓121
				雌	53	52	55	49	83	84	84	80
			0-4 週	雄	144	142	↓129	↓129	174	177	177	↓163
				雌	66	65	67	↓58	102	104	104	100
			0-5 週	雄	162	160	↓146	↓149	212	216	217	202
				雌	74	72	76	68	119	123	121	118
		0-6 週	雄	183	181	↓164	↓168	244	245	247	232	
			雌	85	82	85	↓77	132	137	134	132	
		0-7 週	雄	198	196	↓179	183	268	270	273	258	
			雌	90	87	92	83	142	148	145	144	
		0-8 週	雄	211	207	↓190	194	289	290	294	277	
			雌	95	93	96	88	151	155	155	151	
		0-9 週	雄	221	216	↓199	↓203	303	305	309	292	
			雌	99	96	102	↓92	160	164	162	159	
		0-10 週	雄	230	225	↓207	213	316	319	325	306	
			雌	104	101	106	97	165	170	169	167	
	繁殖期間 (雄)	0-11 週	238	233	↓216	223	325	330	336	317		
		0-12 週	246	240	↓223	230	336	340	348	329		
		0-13 週	252	245	↓229	237	343	349	355	337		
		0-14 週	257	249	↓234	241	352	358	365	343		
		0-15 週	266	257	↓240	248	359	363	372	349		
		0-16 週	273	263	↓247	253	364	372	382	355		
	繁殖期間 (雌)	妊娠中	0-7 日	19	19	↓15	↓16	18	16	15	13	
			0-14 日	44	45	41	42	42	39	39	36	
			0-20 日	101	102	98	98	99	94	94	90	
		哺育中	0-4 日	23	↓13	↓10	↓1	17	16	12	↓7	
			0-7 日	31	↓23	↓19	↓15	23	24	20	19	
			0-14 日	45	39	↓33	↓31	38	38	34	32	
			0-21 日	31	31	29	25	22	28	23	22	
	合計 (0-18 週)		雄	280	271	↓256	261	375	380	387	360	
			雌	131	135	137	135	197	204	204	203	

↑ ↓ : P < 0.05 † ‡ : P < 0.01 (Dunnett の多重比較検定または Dunnett 型の多重比較検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 2-3. 結果の概要－親動物（続き）

世代		親動物：P、児動物：F1				親動物：F1、児動物：F2						
投与群（ppm）		0	30	100	300	0	30	100	300			
動物数		雄	24	24	24	24	24	24	24			
		雌	24	24	24	24	24	24	24			
親動物	摂餌量 (g)	育成期間	1週	雄	16.9	17.0	⇓15.6	⇓11.4	8.7	↑9.3	9.2	8.4
			雌	12.5	12.4	11.8	⇓8.7	8.1	⇓8.8	8.4	7.6	
			2週	雄	19.3	19.3	18.5	↓18.2	14.7	15.5	15.4	13.9
			雌	14.0	13.8	14.4	13.7	12.7	13.1	13.4	12.9	
			3週	雄	19.6	19.4	18.8	18.8	18.1	18.3	18.3	17.6
			雌	14.0	13.4	13.7	13.8	13.7	14.0	14.7	14.5	
			4週	雄	19.5	19.4	19.1	19.4	19.8	20.0	20.2	19.6
			雌	14.2	14.7	14.9	14.0	14.4	14.4	15.3	15.0	
			5週	雄	19.1	19.2	18.9	19.6	21.5	21.8	21.5	21.2
			雌	14.9	14.2	15.5	14.8	15.1	16.0	16.2	16.3	
			6週	雄	18.5	18.5	18.2	18.8	21.9	21.7	21.8	21.9
			雌	14.8	14.6	14.7	14.5	15.6	16.5	16.5	16.7	
			7週	雄	18.9	18.8	19.1	19.2	22.0	21.6	21.8	22.1
			雌	15.0	14.6	15.3	15.6	15.6	16.7	↑17.0	⇓17.3	
			8週	雄	18.7	18.7	18.9	18.8	21.6	21.3	21.7	22.0
			雌	14.7	14.6	15.4	15.3	15.5	16.3	⇓17.3	16.7	
			9週	雄	18.4	18.2	18.5	18.6	21.1	20.9	21.4	21.3
			雌	14.7	14.0	15.3	14.7	15.6	16.1	16.8	17.0	
			10週	雄	18.5	18.4	18.5	18.5	21.0	20.5	20.9	20.9
			雌	14.9	14.5	15.3	15.5	15.7	16.4	↑17.0	⇓17.6	
繁殖期間 (雄)		12週	17.7	18.8	18.3	⇓19.6	20.2	20.3	20.7	21.5		
		13週	18.3	18.5	18.4	↑20.0	19.8	20.7	20.7	21.5		
		14週	18.5	19.0	18.8	19.9	20.5	21.1	20.9	21.8		
		15週	18.9	19.4	18.6	19.9	19.9	20.7	20.9	21.2		
		16週	18.9	19.5	19.1	20.1	20.1	20.5	21.2	20.9		
		17週	18.5	19.3	19.1	↑20.1	19.1	20.2	20.2	20.7		
繁殖期間 (雌)		妊娠中	0-7日	16.3	15.4	15.8	15.2	15.0	15.0	15.1	15.5	
			7-14日	18.3	18.1	18.9	18.4	18.8	18.0	18.0	18.0	
			14-20日	18.9	19.1	19.5	19.9	19.7	19.4	19.5	18.6	
		哺育中	0-7日	32.1	30.6	31.7	⇓26.4	32.3	32.9	29.8	↓28.6	
			7-14日	49.7	48.0	↓44.5	⇓39.2	50.5	48.8	⇓42.9	⇓42.8	
			14-21日	60.8	60.6	↓55.4	⇓46.3	60.2	60.1	⇓51.3	⇓50.6	
検体 摂餌量 ^a	育成期間	雄	—	1.89	6.46	18.8	—	2.28	7.62	24.2		
		雌	—	2.29	7.78	23.1	—	2.59	8.94	28.3		
	繁殖期間	雄	—	1.41	4.81	15.1	—	1.47	4.85	16.0		
		雌	—	3.55	11.50	31.1	—	3.47	10.64	33.2		
	平均	雄	—	1.71	5.84	17.4	—	1.98	6.58	21.2		
		雌	—	2.76	9.18	26.1	—	2.92	9.57	30.1		

^a : mg/kg/日

↑ ↓ : P<0.05 ⇓ ⇓ : P<0.01 (Dunnett の多重比較検定または Dunnett 型の多重比較検定)

— : 該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 2-4. 結果の概要－親動物（続き）

世 代			親動物：P、児動物：F ₁				親動物：F ₁ 、児動物：F ₂			
投与量 (ppm)			0	30	100	300	0	30	100	300
動物数	雄		24	24	24	24	24	24	24	24
	雌		24	24	24	24	24	24	24	24
性成熟	包皮分離完了	日齢	—	—	—	—	41.2	40.0↓	40.3	41.3
		体重 (g)	—	—	—	—	173	168	165	↓157
	陰開口完了	日齢	—	—	—	—	31.8	30.7	31.3	31.3
		体重 (g)	—	—	—	—	97	94	92	↓84
発情周期長 (日)			4.0	4.1	4.1	4.1	4.1	4.0	4.2	4.3
発情周期正常雌率 (%)			24/24 (100)	24/24 (100)	22/24 (91.7)	24/24 (100)	24/24 (100)	22/24 (91.7)	21/24 (87.5)	24/24 (100)
交尾所要日数 (日)			2.0	1.0	1.1	1.4	1.7	1.8	1.3	1.3
雄の交尾率 (%)			22/24 (91.7)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	23/24 (95.8)	23/24 (95.8)	24/24 (100)	24/24 (100)
雌の交尾率 (%)			24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)
受胎率 (%)			24/24 (100)	23/24 (95.8)	23/24 (95.8)	23/24 (95.8)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	20/24 (83.3)
出産率 (%)			24/24 (100)	23/23 (100)	23/23 (100)	22/23 (95.7)	24/24 (100)	23/24 (95.8)	24/24 (100)	20/20 (100)
妊娠期間 (日)			22.2	22.2	22.1	22.1	22.0	22.1	22.1	22.1
平均着床数			12.8	12.6	12.5	12.7	12.3	11.9	12.3	11.8
精子検査	精巣精子頭数 (×10 ⁶ /g)		126	132	129	128	130	129	127	130
	精巣上体精子数 (×10 ⁶ /g)		553	608	616	564	558	574	593	597
	運動率 (%)		89.1	88.1	90.4	88.1	89.2	90.7	91.4	92.1
	正常形態出現率 (%)		97.9	98.0	97.6	96.1	98.7	96.8	98.7	98.6

A：絶対重量 (mg)、R：対体重比 (%)

↑↓：P<0.05 ♂↓：P<0.01 (Dunnett の多重比較検定または Dunnett 型の多重比較検定)

—：該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 2-5. 結果の概要－親動物（続き）

世 代		親動物：P、児動物：F ₁				親動物：F ₁ 、児動物：F ₂					
投与量 (ppm)		0	30	100	300	0	30	100	300		
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24		
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24		
肉眼的病理検査											
脱毛	雄	2/22	3/23	1/23	2/23	0/23	0/23	0/24	0/20		
	雌	1/22	0/23	1/23	0/21	0/23	1/22	1/24	4/19*		
腎臓；腎盂拡張	雄	0/22	0/23	0/23	0/23	1/23	0/23	0/24	0/20		
	雌	0/22	0/23	0/23	0/21	5/23	2/22	1/24	0/19*		
親動物 臓器重量	剖検日体重 (g)	雄	432	423	↓407	412	435	441	447	413	
		雌	248	252	254	253	254	262	262	254	
	雄	脳	A	2057	2052	2090	2099	2057	2070	2101	2063
			R	0.478	0.487	↑0.516	↑0.512	0.475	0.473	0.474	0.502
		副腎	A	63.5	60.2	57.2	61.9	69.1	67.0	64.8	67.1
			R	0.0147	0.0143	0.0141	0.0150	0.0160	0.0152	↓0.0145	0.0163
	前立腺	A	547	530	508	503	519	527	500	↓442	
		R	0.127	0.126	0.125	0.123	0.120	0.120	0.113	0.107	
	雌	肝臓	A	11305	11393	10570	↓10046	11578	11452	11136	11322
			R	4.54	4.50	↓4.15	↓3.97	4.55	4.37	↓4.23	4.45
		副腎	A	88.3	84.4	↓80.4	↓80.7	90.1	87.0	84.2	81.9
			R	0.0356	0.0335	↓0.0317	↓0.0319	0.0355	0.0333	↓0.0321	↓0.0322
	腎臓	A	1916	1954	1968	1891	1956	↑2071	2014	1953	
		R	0.772	0.775	0.775	0.749	0.771	0.792	0.770	0.771	
病理組織学的検査		検体投与に関連した所見は認められなかった。									
原始卵胞数						220	—	—	181		

A：絶対重量 (mg)、R：対体重比 (%)

↑↓：P<0.05 ↑↓：P<0.01 (Dunnett の多重比較検定または Dunnett 型の多重比較検定)

*：P<0.05 (Fisher の直接確率計算)

—：該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 3. 結果の概要－児動物

世 代		親動物：P、児動物：F ₁				親動物：F ₁ 、児動物：F ₂					
投与量 (ppm)		0	30	100	300	0	30	100	300		
検査腹数		24	23	23	23	24	23	24	20		
児動物	平均着床数	12.8	12.6	12.5	12.7	12.3	11.9	12.3	11.8		
	平均産児数	12.1	11.9	12.0	11.4	11.7	11.5	11.7	10.9		
	性比	0.478	0.474	0.462	0.431	0.482	0.468	0.496	0.477		
	臨床所見： 母動物による 喰失(%)	哺育 1-4日	0.3	0.8	0.8	↑12.8	0.3	0.6	1.1	7.5	
		哺育 8-14日	0.5	0.6	3.7	↑6.1	0.0	0.0	0.7	0.7	
	生存率 (%)	哺育0日	99.2	99.7	98.9	97.5	100	99.7	99.7	98.6	
		哺育4日	99.4	99.2	98.8	↓86.3	99.3	99.4	98.9	92.2	
		哺育7日	99.5	99.5	98.9	92.2	100	99.5	99.0	98.6	
		哺育14日	99.0	98.9	95.1	↓89.9	100	99.5	98.4	97.9	
		哺育21日	99.0	98.9	95.1	↓89.9	99.5	99.5	98.4	97.9	
	体重 (g)	哺育 0日	雄	5.9	5.8	5.7	↓5.3	5.9	5.9	6.0	↓5.7
			雌	5.6	5.5	5.4	↓5.0	5.6	5.7	5.6	5.3
		哺育 4日	雄	10.1	10.0	9.2	↓7.8	10.3	10.5	10.1	↓9.3
			雌	9.9	9.6	9.0	↓7.7	10.0	10.4	9.8	↓9.0
		哺育 7日	雄	16.3	15.9	↓14.1	↓11.9	17.0	16.7	15.7	↓14.5
			雌	16.0	15.4	↓13.9	↓11.7	16.4	16.4	15.3	↓13.9
		哺育 14日	雄	34.4	33.2	↓29.7	↓24.9	34.7	34.5	↓31.8	↓29.6
			雌	33.7	32.2	↓29.0	↓25.0	33.6	33.8	↓31.5	↓28.9
		哺育 21日	雄	54.8	52.8	↓47.4	↓39.9	54.1	54.9	↓49.8	↓45.6
			雌	52.7	50.6	↓45.7	↓39.4	51.9	53.0	↓48.6	↓43.9
		肉眼的 病理所見	検査腹数 (児動物数)	24 (139)	23 (135)	23 (126)	22 (103)	24 (192)	23 (181)	24 (176)	19 (148)
			腎盂拡張 (%)	9.2	3.3	0.9	↓0.0	4.2	2.2	2.6	0.0
	部分的喰失 (%)		0.0	0.0	0.0	3.8	0.0	0.0	0.0	0.0	
	屠殺時体 (g)	雄	80	76	↓67	↓56	76	78	↓70	↓67	
		雌	75	↓70	↓62	↓53	71	73	↓67	↓62	
	臓器重量	雄	脳	A	1543	1552	1497	↓1443	1541	1545	1551
R				1.94	2.05	↑2.25	↑2.69	2.02	1.99	2.23	2.28
脾臓			A	318	310	↓262	↓197	305	301	↓267	↓251
			R	0.400	0.406	0.389	↓0.347	0.398	0.387	0.382	0.374
胸腺			A	292	282	↓241	↓205	292	283	↓263	↓247
			R	0.368	0.371	0.360	0.362	0.382	0.364	0.378	0.368
雌		脳	A	1491	1481	1449	↓1405	1490	1494	1484	1461
			R	2.01	2.14	↑2.35	↑2.69	2.10	2.06	↑2.23	↑2.36
		脾臓	A	279	281	↓227	↓183	263	277	↓235	↓229
			R	0.374	0.402	0.365	↓0.343	0.370	0.381	0.353	0.368
		胸腺	A	283	266	↓229	↓203	275	270	262	↓227
			R	0.380	0.382	0.368	0.381	0.386	0.371	0.391	0.366
		子宮	A	69.4	86.8	76.3	64.0	63.6	75.0	↑87.3	69.7
			R	0.0932	↑0.1238	↑0.1217	↑0.1222	0.0893	0.1030	↑0.1292	↑0.1112

A：絶対重量 (mg)、R：対体重比 (%)

↑ ↓ : P<0.05 ↑↓ : P<0.01 (Dunnett の多重比較検定または Dunnett 型の多重比較検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

2) 催奇形性

ラットにおける催奇形性試験

(資料 19)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1983 年

検体の純度：

試験動物： CD (SD) 系ラット (9 週齢)、1 群 24 匹

試験期間： 妊娠期間 20 日 (1982 年 5 月 17 日～1982 年 6 月 24 日)

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、0、2、10 及び 40 mg/kg の投与用量で妊娠 6 日から妊娠 19 日までの 14 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群にはコーンオイルを同様に投与した (10 mL/kg)。
投与量設定のため、予備投与試験を実施し、その結果を参考とした。

試験項目：

母動物：行動の変化と中毒症状を 1 日 2 回観察し、妊娠 0、6、15 及び 20 日目に体重を測定した。

妊娠 20 日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡胎児数、吸収胎児数を調べた。

生存胎仔：性別検査、体重測定及び肉眼的外表検査を行った。

各同腹児の約半数の胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。また、内臓検査に用いた胎児についても、頭部を除く骨格異常の有無を検査した。

結果： 次頁以降の表に示した。

10 mg/kg 投与群で親動物の体重増加の抑制が、40 mg/kg 投与群ではさらに中毒症状 (振顫) 及び胎児動物の体重減少がそれぞれ認められた。

骨格検査においては、40 mg/kg 投与群で胸骨の化骨遅延の発生頻度がわずかに増加したが、対照群と比べ統計学的有意差が認められなかったことより、この増加は自然発生範囲内にあるものと考えられた。

内臓検査においては、40 mg/kg 投与群で内臓変異の発生頻度が対照群と比べ有意に高かったが、死後の検査期間中に受けた損傷に起因するもので検体投与による影響とは考えられなかった。また 2 及び 10 mg/kg 投与群で腎臓あるいは子宮の奇形の発生頻度が対照群と比べ高かったが、背景データ (腎臓の空洞：1.0%、子宮の拡張：4.6%、子宮の蛇行：8.0%) の範囲内であったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した時の母動物における最大無作用量は 2 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 40 mg/kg/日の投与でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

ラットにおける催奇形性試験結果

投与群 (mg/kg)		賦形剤対照	2	10	40	
1群当たりの動物数		24	24	24	24	
親	一般状態				流涎、被毛の汚れ及び振顫	
	死亡率	0/24 (0.0%)	0/24 (0.0%)	1/24 (4.2%)	1/24 (4.2%)	
	体重変化			増加抑制	増加抑制	
	妊娠率	24/24 (100%)	24/24 (100%)	23/24 (95.8%)	24/24 (100%)	
動物	着床所見	黄体数	18.3±3.1	17.3±3.0	17.0±1.8	17.7±2.7
		着床数	15.5±2.5	14.5±1.9	15.0±2.0	15.2±2.1
		生存胎児数 (率)	14.8±2.3 (95.7%)	13.5±2.1 (93.3%)	14.2±2.3 (94.2%)	14.6±2.4 (95.9%)
		吸収胎児数 (率)	0.7±0.9 (4.3%)	1.0±2.0 (6.7%)	0.8±1.0 (5.8%)	0.6±0.8 (4.1%)
胎児動物	体重 (g)	雄	3.30±0.24	3.34±0.19	3.24±0.35	2.85±0.38**
		雌	3.14±0.26	3.16±0.23	3.10±0.34	2.71±0.36**
	性比 [雄/雌]	1.1	1.2	0.9	1.2	
	外表異常	4/355 (1.1%)	2/323 (0.6%)	1/313 (0.3%)	3/336 (0.9%)	
	骨格異常					
	化骨遅延 及び変異	345/355 (97.2%)	311/323 (96.3%)	302/313 (96.5%)	331/336 (98.5%)	
	奇形	2/355 (0.6%)	1/323 (0.3%)	0/313 (0.0%)	0/336 (0.0%)	
	内臓異常					
	変異	4/182 (2.2%)	6/168 (3.6%)	2/161 (1.2%)	14/174* (8.0%)	
	奇形	5/182 (2.7%)	13/168 (7.7%)	27/161** (16.8%)	4/174 (2.3%)	
腎臓の空洞、子宮の拡張と蛇行	5/182 (2.7%)	10/168 (6.0%)	19/161 (11.8%)	1/174 (0.6%)		

注) 空欄は異常なしを示す。

Dunnett の多重比較検定または Fischer の直接確率検定、* : P<0.05、** : P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットにおける催奇形性試験結果 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		賦形剤対照	2	10	40		
1群当たりの動物数		24	24	24	24		
胎児動物	外表異常 (奇形)	検査母動物数	24	24	22	23	
		検査胎児数	355	323	313	336	
		右前脚の暗紫色部位	胎児数	1	0	0	0
			腹数	1	0	0	0
		尾の暗紫色領域 (先部)	胎児数	1	0	0	0
			腹数	1	0	0	0
		尾の暗紫色化 (基部から3/1領域)	胎児数	0	0	0	1
			腹数	0	0	0	1
		無尾	胎児数	0	1	0	0
			腹数	0	1	0	0
		淡色化	胎児数	1	0	0	1
			腹数	1	0	0	1
		左耳周囲の暗紫色化	胎児数	0	0	0	1
			腹数	0	0	0	1
		生気のない外観 (glassy appearance)	胎児数	1	1	0	0
			腹数	1	1	0	0
浮腫	胎児数	0	0	1	0		
	腹数	0	0	1	0		
合計	胎児数 ^a	4/35 (1.1%)	2/323 (0.6%)	1/313 (0.3%)	3/336 (0.9%)		
	腹数 ^b	4/24 (16.7%)	2/24 (9.3%)	1/22 (4.5%)	3/23 (13.0%)		

^a: 奇形を有する胎児数

^b: 奇形のみられた胎児を有する母動物数

Fischer の直接確率検定、統計学的有意差なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットにおける催奇形性試験結果 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		賦形剤対照	2	10	40	
1群当たりの動物数		24	24	24	24	
胎児動物	内臓異常 (奇形)	検査母動物数	24	24	22	23
		検査胎児数	182	168	161	174
	腎臓の空洞 (両側性)	胎児数	3	4	9	0
		腹数	3	2	3	0
	腎臓の空洞 (片側性)	胎児数	1	3	1	0
		腹数	1	3	1	0
	腎臓の空洞 (片側性) 及び壊死部位を有する肝臓	胎児数	0	1	0	0
		腹数	0	1	0	0
	腎臓の空洞及び蛇行尿管	胎児数	0	0	4	1
		腹数	0	0	3	1
	腎臓の空洞蛇行尿管及び壊死部位を有する肝臓	胎児数	0	0	1	0
		腹数	0	0	1	0
	尿管の拡張および蛇行	胎児数	1	0	0	0
		腹数	1	0	0	0
	尿管蛇行	胎児数	0	2	4	0
		腹数	0	2	4	0
	壊死部位を有する肝臓	胎児数	0	0	1	0
		腹数	0	0	1	0
	大脳半球-側脳室の拡張	胎児数	0	1	6	0
		腹数	0	1	3	0
	内臓逆位 (胸腔及び腹腔)	胎児数	0	1	0	0
		腹数	0	1	0	0
	内臓逆位 (腹腔)	胎児数	0	0	1	0
		腹数	0	0	1	0
	小型精巣 (片側性)	胎児数	0	1	0	0
		腹数	0	1	0	0
	精巣欠損 (片側性)	胎児数	0	0	0	1
		腹数	0	0	0	1
	皮下浮腫	胎児数	0	0	0	1
		腹数	0	0	0	1
異形心臓、右大動脈弓、右肺動脈弓及び不完全な心腔	胎児数	0	0	0	1	
	腹数	0	0	0	1	
皮下浮腫、大動脈弓拡大、小型肺動脈弓、異形心臓、心室中隔欠損及び内臓逆位 (腹腔)	胎児数	0	0	1	0	
	腹数	0	0	1	0	
合計	胎児数 ^a	5/182 (2.7%)	13/168 (7.7%)	27/161 (16.8%)**	4/174 (2.3%)	
	腹数 ^b	4/24 (16.7%)	10/24 (41.7%)	11/22 (50.0%)	4/23 (17.4%)	

^a: 奇形を有する胎児数

^b: 奇形のみられた胎児を有する母動物数

Fischer の直接確率検定、** : P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットにおける催奇形性試験結果 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		賦形剤対照	2	10	40	
1群当たりの動物数		24	24	24	24	
胎 児 動 物	内臓異常 (変異)	検査母動物数	24	24	22	23
		検査胎児数	182	168	161	174
	結膜囊の赤色物 (片側性)	胎児数	1	0	0	0
		腹数	1	0	0	0
	網膜背部の赤色物	胎児数	0	1	0	0
		腹数	0	1	0	0
	水晶体に硬質赤褐色部位	胎児数	1	0	0	0
		腹数	1	0	0	0
	鼻部皮下の赤褐色物または赤色物	胎児数	0	2	0	5
		腹数	0	2	0	3
	鼻部外表隆起	胎児数	0	0	1	0
		腹数	0	0	1	0
	鼻上部の赤色物	胎児数	0	0	0	1
		腹数	0	0	0	1
	大脳半球の赤色物	胎児数	1	0	0	0
		腹数	1	0	0	0
	扁平な大脳半球	胎児数	0	0	0	1
		腹数	0	0	0	1
	嗅葉表面の赤色物	胎児数	0	0	0	1
		腹数	0	0	0	1
	嗅葉および延髄周囲の血管	胎児数	0	0	0	1
		腹数	0	0	0	1
	内部臓器の淡色	胎児数	0	0	0	1
		腹数	0	0	0	1
	単葉肺	胎児数	0	0	1	0
		腹数	0	0	1	0
	腎臓の赤色部位および腎盂の暗赤色化	胎児数	0	1	0	0
		腹数	0	1	0	0
	腎臓中央部の赤色化尿管に赤色液および腎盂に赤色物	胎児数	0	1	1	1
		腹数	0	1	1	1
副腎の暗紫色化	胎児数	1	0	0	0	
	腹数	1	0	0	0	
副腎の拡張	胎児数	0	0	0	4	
	腹数	0	0	0	1	
精巣外表血管異常配列	胎児数	0	1	0	0	
	腹数	0	1	0	0	
合計	胎児数 ^a	4/182 (2.2%)	6/168 (3.6%)	2/161 (1.2%)	14/174 (8.0%)*	
	腹数 ^b	4/24 (16.7%)	6/24 (25.0%)	2/22 (9.1%)	7/23 (30.4%)	

^a: 変異を有する胎児数

^b: 変異のみられた胎児を有する母動物数

Fischer の直接確率検定、*: P<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットにおける催奇形性試験結果 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		賦形剤対照	2	10	40			
1群当たりの動物数		24	24	24	24			
胎児動物	骨格異常 (奇形)	検査母動物数	24	24	22	23		
		検査胎児数	355	323	313	336		
	波状肋骨 (5-11 右肋骨および5、6 および 11 左肋骨)	胎児数	1	0	0	0		
		腹数	1	0	0	0		
	横突起癒合 (第6 および 7 頸椎)	胎児数	1	0	0	0		
		腹数	1	0	0	0		
	椎骨未骨化 (第6腰椎、全仙椎および尾椎)	胎児数	0	1	0	0		
		腹数	0	1	0	0		
	合計	胎児数 ^a	2/355 (0.6%)	1/323 (0.3%)	0/313 (0.0%)	0/336 (0.0%)		
		腹数 ^b	2/24 (8.3%)	1/24 (4.2%)	0/22 (0.0%)	0/23 (0.0%)		
	胎児動物	骨格異常 (変異)	第1 胸骨分節非対称	胎児数	1	0	0	7
			第2 胸骨分節非対称	胎児数	23	2	12	37
			第3 胸骨分節非対称	胎児数	3	1	4	16
			第4 胸骨分節非対称	胎児数	33	20	19	77
			第6 胸骨分節非対称	胎児数	173	206	178	105
頭頂不完全骨化			胎児数	1	3	3	6	
頭頂骨間不完全骨化			胎児数	2	2	0	5	
上後頭骨不完全骨化			胎児数	3	0	0	4.9	
頬骨不完全骨化			胎児数	8	2	1	1	
頬骨未骨化			胎児数	4	0	0	2	
舌骨不完全骨化			胎児数	1	1	0	3	
舌骨未骨化			胎児数	23	17	22	17	
胸椎中心二分			胎児数	8	4	12	12	
痕跡状過剰肋骨			胎児数	8	11	6	14	
12肋骨			胎児数	7	5	4	10	
13肋骨	胎児数	3	1	2	6			
胎児動物	骨化異常 (変異)	第1 胸骨分節未骨化	胎児数	1	1	0	7	
		第2 胸骨分節未骨化	胎児数	5	1	3	25	
		第3 胸骨分節未骨化	胎児数	2	0	0	8	
		第4 胸骨分節未骨化	胎児数	2	0	3	22	
		第5 胸骨分節未骨化	胎児数	172	138	143	266	
		第6 胸骨分節未骨化	胎児数	113	72	84	205	
		頸椎横突起不完全骨化	胎児数	10	10	22	74	
		胸椎中心不完全骨化	胎児数	149	118	126	151	
		胸椎中心未骨化	胎児数	6	2	2	10	
		尾椎中心未骨化	胎児数	20	10	13	85	
		腰椎不完全骨化	胎児数	1	2	0	5	
		尾椎横突起未骨化	胎児数	146	91	74	171	
		尾椎横突起不完全骨化	胎児数	2	1	0	6	
		仙椎横突起未骨化	胎児数	55	23	17	84	
		仙椎横突起不完全骨化	胎児数	7	3	5	8	
		骨盤未骨化	胎児数	1	3	1	9	
		骨盤不完全骨化	胎児数	5	2	2	22	
		前肢末節骨未骨化	胎児数	259	231	213	261	
		合計	胎児数 ^c	345/355 (97.2%)	311/323 (96.3%)	302/313 (96.5%)	331/336 (98.5%)	
			腹数 ^d	24/24 (100%)	24/24 (100%)	22/22 (100%)	23/23 (100%)	

^a: 奇形を有する胎児数

^b: 奇形のみられた胎児を有する母動物数

^c: 変異を有する胎児数

^d: 変異のみられた胎児を有する母動物数

Fischer の直接確率検定、統計学的有意差なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギにおける催奇形性試験

(資料 20)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1983 年

検体の純度:

試験動物: New Zealand White 種ウサギ、1 群 18~20 匹

試験期間: 妊娠期間 30 日間 (1982 年 7 月 26 日~1982 年 9 月 15 日)

方法: 検体をコーンオイルに溶解し、0、5、10 及び 15 mg/kg の投与用量で妊娠 7 日から妊娠 29 日までの 23 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群にはコーンオイルを同様に投与した (1 mL/kg)。
なお、予備投与試験において、75 mg/kg 投与群で全例の死亡がみられたので、上記の投与量を設定した。

試験項目:

母動物: 行動の変化と中毒症状を 1 日 2 回観察し、妊娠 0、7、20 及び 30 日に体重を測定した。

妊娠 30 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数及び吸収胎児数を調べた。

生存胎児: 性別検査、体重測定及び肉娘的外表検査を行った。

各同腹児の約半数の胎児について、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児について内臓異常の有無を検査した。

結果: 次頁の表に示した。

10 及び 15 mg/同投与群の親動物で被毛の汚れ及び肝臓の変色が対照群と比べわずかに高い頻度で認められた。さらに、15 mg/kg 投与群の親動物及び胎児動物で統計学的有意ではないが、体重増加の抑制が認められた。

上記以外の検査項目について、変動のみられた項目もあったが、用量相関性が認められなかったことより、検体投与による影響はないものと考えられた。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与した時の母動物における最大無作用量は 5 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 15 mg/kg/日の投与でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギにおける催奇形性試験結果

投与群 (mg/kg)		賦形剤対照	5	10	15
1群当たりの動物数		18	18	19	20
親	一般状態				被毛の汚れ
	死亡率	0/18 (0.0%)	0/18 (0.0%)	2/19 (10.5%)	3/20 ^a (15.8%)
	体重変化				増加抑制
動物	妊娠率	18/18 (100%)	15/18 (83.3%)	19/19 (100%)	15/20 (75.0%)
	流産率	0/18 (0.0%)	1/15 (6.7%)	1/18 ^b (5.6%)	0/15 (0.0%)
着床所見	着床数	7.5±2.4	7.9±2.9	7.3±2.5	9.3±1.7
	生存胎児数 (率)	6.5±2.9 (83.7%)	6.6±2.9 (83.8%)	5.8±2.3 (78.2%)	8.5±1.9 (90.8%)
	吸収胎児数 (率)	1.0±1.3 (16.3%)	1.4±1.6 (16.2%)	1.4±0.9 (21.0%)	0.7±0.8 (8.3%)
胎児動物	体重 (g)	雄 47.4±8.2 雌 46.9±8.3	45.8±6.1 42.7±5.5	46.8±8.8 45.5±7.6	41.2±8.2 40.1±6.6
	性比 (雄/雌)	1.3	1.0	0.9	0.8
	外表異常	0/177 (0.0%)	0/92 (0.0%)	3/104 (2.9%)	0/94 (0.0%)
	骨格異常				
	化骨遅延 及び変異	22/56 (39.3%)	23/43 (53.5%)	15/35 (42.9%)	16/44 (36.4%)
	奇形	8/56 (14.3%)	3/43 (7.0%)	4/35 (11.4%)	3/44 (6.8%)
	内臓異常				
	変異	1/61 (1.6%)	0/49 (0.0%)	0/45 (0.0%)	2/50 (4.0%)
奇形	0/61 (0.0%)	2/49 (4.1%)	1/45 (2.2%)	1/50 (2.0%)	

注) 空欄は異常なしを示す。

^a: 不慮の事故により死亡した1匹を除く。

^b: 妊娠初期に死亡した1匹を除く。

Dunnettの多重比較検定またはFischerの直接確率検定、統計学的有意差なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギにおける催奇形性試験結果 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		賦形剤対照	5	10	15		
1群当たりの動物数		18	18	19	20		
胎児動物	内臓異常 (奇形)	検査母動物数	18	14	14	11	
		検査胎児数	61	49	45	50	
		腎盂の軽度拡張	胎児数	0	1	1	1
			腹数	0	1	1	1
		大脳半球-側脳室の軽度拡張	胎児数	0	1	0	0
			腹数	0	1	0	0
	合計	胎児数 ^a	0/61 (0.0%)	2/49 (4.1%)	1/45 (2.2%)	1/50 (2.0%)	
		腹数 ^b	0/18 (0.0%)	2/14 (14.3%)	1/14 (7.1%)	1/11 (9.1%)	
	内臓異常 (変異)	嗅葉(両側)を取り囲む暗褐色物	胎児数	1	0	0	2
			腹数	1	0	0	1
合計		胎児数 ^c	1/61 (1.6%)	0/49 (0.0%)	0/45 (0.0%)	2/50 (4.0%)	
		腹数 ^d	1/18 (5.6%)	0/14 (0.0%)	0/14 (0.0%)	1/11 (9.1%)	

^a : 奇形を有する胎児数

^b : 奇形のみられた胎児を有する母動物数

^c : 変異を有する胎児数

^d : 変異のみられた胎児を有する母動物数

Fischer の直接確率検定、統計学的有意差なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギにおける催奇形性試験結果 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		賦形剤対照	5	10	15		
1 群当たりの動物数		18	18	19	20		
胎児動物	骨格異常 (奇形)	検査母動物数	18	14	13	11	
		検査胎児数	56	43	35	44	
		胸骨分節癒合	胎児数	4	2	2	0
			腹数	4	1	2	0
		角張った舌骨弓	胎児数	2	0	1	3
			腹数	2	0	1	3
		尾骨癒合	胎児数	1	0	0	0
			腹数	1	0	0	0
		分岐肋骨	胎児数	1	0	0	0
			腹数	1	0	0	0
	胸骨分節および舌骨弓癒合、角張った肋骨、頸肋	胎児数	0	1	0	0	
		腹数	0	1	0	0	
	胸骨分節癒合	胎児数	0	0	0	0	
		腹数	0	0	0	0	
	胸骨分節異常 (癒合、余剰骨化)、湾曲肩甲棘、頭蓋骨化癒合	胎児数	0	0	1	0	
腹数		0	0	1	0		
合計		胎児数 ^a	8/56 (14.3%)	3/43 (7.0%)	4/35 (11.4%)	3/44 (6.8%)	
		腹数 ^b	6/18 (33.3%)	2/14 (14.3%)	4/13 (30.8%)	3/11 (27.3%)	
骨格異常 (変異)	第2胸骨分節非対称	胎児数	0	0	0	1	
	第3胸骨分節非対称	胎児数	0	0	1	1	
	第4胸骨分節非対称	胎児数	0	0	1	1	
	第5胸骨分節非対称	胎児数	7	6	7	4	
	第6胸骨分節非対称	胎児数	2	2	4	1	
	12肋骨 (両側)	胎児数	37	32	22	24	
	13肋骨 (両側)	胎児数	19	11	13	20	
	13肋骨 (片側)	胎児数	4	4	3	3	
	浮動肋骨	胎児数	5	3	1	2	
	痕跡状過剰肋骨 (片側)	胎児数	3	5	2	4	
痕跡状過剰肋骨 (両側)	胎児数	2	2	0	1		
骨化異常 (変異)	舌骨不完全骨化	胎児数	0	8	3	3	
	第5胸骨分節未骨化	胎児数	4	2	1	2	
	合計	胎児数 ^c	22/56 (39.3%)	23/43 (53.5%)	15/35 (42.9%)	16/44 (36.4%)	
		腹数 ^d	10/18 (55.6%)	11/14 (78.6%)	9/13 (69.2%)	8/11 (72.7%)	

^a: 奇形を有する胎児数

^b: 奇形のみられた胎児を有する母動物数

^c: 変異を有する胎児数

^d: 変異のみられた胎児を有する母動物数

Fischer の直接確率検定、統計学的有意差なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(11) 変異原性

細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 21-1)

試験機関：

報告書作成年：1982 年

検体の純度：

試験方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、非活性化法により DNA の損傷の誘発性を検定した。
被験物質を溶解させるため DMSO を用いた。なお、溶解限度である 10000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ (500 mg/mL) を最高濃度とした。

試験結果： 以下に示した。

代謝活性化の有無	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
非活性化	対照 (DMSO)	0	0	0	0
	ベンフラカルブ	50	0	0	0
		100	0	0	0
		200	0	0	0
		500	0	0	0
		1000	0	0	0
		2000	0	0	0
		5000	0	0	0
		10000	0	0	0
	陰性対照 (Kanamycin)	10	6	5	1
陽性対照 (Mitomycin C)	0.1	8	< 1		

検体投与群では、溶解限度である 10000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ において両菌株とも生育阻止が認められなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では両菌株間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、本検体の DNA 損傷の誘発性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 21-2)

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体の純度：

方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び TA1538 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2*hcr* (*uvrA*) 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で、プレインキュベーション法により変異原性を検討した。

検体を溶解させるため DMSO を用いた。なお、溶解限度である 10000 μ g/plate を最高濃度とした。

結果：

次頁に示した。

検体は代謝活性化を含め投与限界である 10000 μ g/plate の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、2-AA、ENNG、9-AA 及び 2-NF では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないと判断される。

〔略語〕

DMSO: Dimethylsulfoxide

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2-AA: 2-Aminoanthracene

ENNG: *N*-Ethyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine

9-AA: 9-Aminoacridine

2-NF: 2-Nitrofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ベンフラカルブの復帰変異原性試験結果

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2uvr	TA98	TA1537	TA1538	
溶媒対象 (DMSO)		-	110	2	7	27	5	22	
			104	5	10	28	4	12	
OK-174	10	-	112	7	17	28	3	13	
			105	1	7	30	5	20	
	50	-	126	6	9	33	4	14	
			79	3	7	32	0	22	
	100	-	110	15	10	24	3	10	
			111	7	7	31	1	15	
	500	-	133	6	14	22	2	14	
			129	7	14	25	3	25	
	1000	-	112	8	14	27	3	8	
			97	7	16	30	7	9	
	5000	-	134	8	11	16	2	7	
			126	5	13	31	2	16	
	10000	-	108	7	8	14	5	17	
			129	5	12	18	6	14	
溶媒対象 (DMSO)		+	85	6	11	27	3	22	
			132	6	9	33	10	18	
OK-174	10	+	98	4	22	44	5	33	
			95	4	14	42	8	22	
	50	+	121	4	15	37	9	28	
			107	10	12	36	3	22	
	100	+	110	5	17	50	5	26	
			117	8	18	37	1	22	
	500	+	153	10	11	45	9	23	
			109	13	13	43	8	24	
	1000	+	123	6	16	41	5	19	
			157	2	18	45	6	30	
	5000	+	108	8	6	33	6	22	
			114	8	16	37	8	23	
	10000	+	141	11	16	32	6	18	
			140	10	11	42	7	25	
陽性対照	S-9Mix の必要 としないもの	名称	AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA	2-NF	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	10	0.04	0.1	80	2	
		コロニー数/プレート	316	1378	155	576	>2000	316	
			323	—	154	728	>2000	324	
	S-9Mix の必要と するもの	S-9Mix の有無	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
			濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.5	2	40	0.5	2	0.5
		+	コロニー数/プレート	349	211	>2000	179	79	181
				260	219	>2000	136	72	161
		-	コロニー数/プレート	113	7	13	23	6	9
				111	12	12	29	4	20

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 21-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1982年

検体の純度：

方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び TA1538 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で、プレート法により変異原性を検討した。検体を溶解させるため DMSO を用いた。なお、5000 μ g/plate を最高濃度とした。

結果： 次頁に示した。

検体は代謝活性化を含め投与限界である 5000 μ g/plate の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた MNNG、2-AA、9-AA 及び 2-NF では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないと判断される。

[略語] DMSO: Dimethylsulfoxide
MNNG: Methylnitro nitrosoguanidine
2-AA: 2-Aminoanthracene
9-AA: 9-Aminoacridine
2-NF: 2-Nitrofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ベンフラカルブの復帰変異原性試験結果:

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538
対照		-	156	24	12	14	11
			171	37	18	17	15
			192	27	23	9	14
溶媒対象 (DMSO)		-	151	25	17	9	17
			164	22	20	13	12
			148	27	14	18	16
ベンフラカルブ	61.7	-	129	48	35	7	7
			113	30	29	9	9
			143	16	50	6	12
	185.2	-	143	30	24	7	9
			128	23	35	9	19
			132	18	35	12	9
	555.6	-	134	12	35	6	16
			169	16	35	7	13
			137	17	33	8	12
	1666.7	-	137	9	31	12	8
			151	14	28	8	11
			150	22	33	8	5
	5000	-	137	16	49	7	13
			132	16	29	7	6
			101	8	36	5	7
対照		+	149	22	64	6	24
			151	16	50	15	31
			170	29	48	9	20
溶媒対象 (DMSO)		+	112	22	47	12	26
			132	22	58	7	27
			126	14	50	12	28
ベンフラカルブ	61.7	+	132	18	40	6	12
			169	27	35	9	12
			172	14	44	15	15
	185.2	+	143	22	31	14	11
			147	23	39	8	17
			153	18	38	10	13
	555.6	+	162	18	33	16	14
			146	11	46	3	18
			146	35	51	5	14
	1666.7	+	138	18	23	12	9
			161	17	53	8	18
			167	17	48	7	16
	5000	+	128	17	56	8	17
			118	13	49	7	18
			149	14	38	9	10
陽性対照	S-9Mix のを必 要とし ないもの	名称	MNNG	MNNG	2-NF	9-AA	2-NF
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	5	50	75	50
		コロニー数/プレート	2326 2359 2320	2245 2230 2102	1464 1438 1469	561 634 604	1514 1439 1550
	S-9Mix のを必 要とするもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	5	5	5	5
		コロニー数/プレート	2723 2711 2578	400 490 405	2581 2604 2559	365 242 252	2366 2492 2402

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

マウスリンパ腫細胞 L5178Y を用いた *in vitro* 哺乳動物細胞遺伝子突然変異試験 (資料 83)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体の純度:

試験方法: マウスのリンパ腫細胞 L5178Y を用い、代謝活性化および非代謝活性化によってチミジンキナーゼ (TK) 遺伝子座における突然変異を検定した。検体は DMSO に溶解した。18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の濃度では、培養培地に沈殿がみられた。

検体は代謝活性化および非代謝活性化とも 33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度まで試験した。第 1 回目の試験では、代謝活性化および非代謝活性化とも 3 時間、検体を処理した。第 2 回目の試験では、代謝活性化では 3 時間、非代謝活性化では 24 時間、検体を処理した。非代謝活性化では 33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で細胞毒性がみられたが、代謝活性化では同濃度で重篤な細胞毒性はみられなかった。また、陽性対照として、エチルメタンスルホネート (EMS) およびジメチルニトロソアミン (DMN) を用いた。

結果: 試験結果を次頁以降に示した。

陽性対照物質により誘発された突然変異の出現頻度は、EMS では 8 または 11 倍まで、DMN では 11 または 33 倍まで増加した。従って、本試験条件は、代謝活性化系は適正に機能し、変異原性の反応の検出に適切であると判断した。

非代謝活性化では、TK 遺伝子座の変異コロニー数が 4.9 倍であった。しかしながら、この増加は細胞毒性のみられた 33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度であった。同濃度区の細胞生存率は 24% であった一方、溶媒対照区と比べてコロニー発現率は 24% であった。つまり、実際の処理後の細胞生存率は 6% であった。さらに、用量相関性が認められなかったこと、高濃度区では沈殿がみられたこと、及び再現性がみられなかったことより、この増加には生物学的な意義に乏しく、検体は非代謝活性化では変異原性を有さないと考えられた。

一方、代謝活性化では、両試験とも変異コロニー数の増加はみられず、変異原性を有さないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

実験 1

濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	処理後の 細胞率 (対対照%)	処理後の CE (対対照%)	実質細胞 生存率 (対対照%) (2)	処理後3日の CE (絶対%)	変異を有する穴数		変異頻度 $\times 10^6$	
					合計 (小 大)	合計 (小 大)		
<u>代謝活性化なし</u> 処理後3時間								
SC1	100	100	100	135	30 (9s 211)	2.4 (0.7s 1.71)		
SC2	—	—	—	143	37 (10s 271)	2.8 (0.8s 2.01)		
0.3	102	103	105	127	49 (8s 411)	4.3 (0.7s 3.61)		
3.3	85	108	92	162	51 (29s 221)	3.5 (2.0s 1.51)		
5.6	92	90	83	145	66 (26s 401)	5.2 (2.0s 3.21)		
10	65	131	85	162	51 (20s 311)	3.5 (1.4s 2.11)		
13	68	75	51	179	43 (3s 401)	2.7 (0.2s 2.51)		
18 (1)	38	14	5	159	57 (6s 511)	4.0 (0.4s 3.61)		
24 (1)	17	6	1	154	22 (8s 141)	1.5 (0.5s 1.01)		
33 (1)	11	7	1	131	15 (9s 61)	1.2 (0.7s 0.51)		
EMS	73	59	43	173	220 (20s 2001)	19.7 (1.8s 17.91)		
<u>代謝活性化あり、8% (v/v)</u> 処理後3時間								
SC1	100	100	100	104	12 (2s 101)	1.2 (0.2s 1.01)		
SC2	—	—	—	95	22 (5s 171)	2.5 (0.6s 1.91)		
0.3	98	102	100	133	17 (7s 101)	1.4 (0.6s 0.81)		
1.0	102	115	117	115	10 (4s 61)	0.9 (0.4s 0.51)		
1.8	98	122	120	98	10 (3s 71)	1.1 (0.3s 0.81)		
3.3	105	110	116	137	9 (5s 41)	0.7 (0.4s 0.31)		
5.6	98	106	104	97	9 (2s 71)	1.0 (0.2s 0.81)		
10	109	94	102	91	11 (2s 91)	1.3 (0.2s 1.11)		
18 (1)	107	105	112	141	17 (3s 141)	1.3 (0.2s 1.11)		
33 (1)	95	110	105	121	12 (3s 91)	1.0 (0.3s 0.81)		
DMN	93	115	107	61	102 (25s 771)	20.2 (5.0s 15.21)		

CE : クローニング効率、EMS : エチルメタンスルホネート、DMN : ジメチルニトロソアミン、
s : 小コロニー、l : 大コロニー、SC : 溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)

(1) 培地中にベンフラカルブの沈殿を確認

(2) 実質細胞生存率 (対対照%) = 処理後の細胞率 (対対照%) \times 処理後のクローニング効率 (対対照%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

実験 2

濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理後の 細胞率 (対対照%)	処理後の CE (対対照%)	実質細胞 生存率 (対対照%) (2)	処理後3日の CE (絶対%)	変異を有する穴数		変異頻度 $\times 10^6$	
					合計 (小 大)	合計 (小 大)		
<u>代謝活性化なし</u> 処理後24時間								
SC1	100	100	100	121	21 (0s 211)	1.9 (0.0s 1.9)		
SC2	—	—	—	129	20 (0s 201)	1.7 (0.0s 1.7)		
1.0	106	92	98	145	24 (2s 221)	1.8 (0.2s 1.7)		
1.8	110	101	111	118	18 (1s 171)	1.6 (0.1s 1.5)		
3.3	119	87	104	154	21 (2s 191)	1.5 (0.1s 1.4)		
5.6	90	93	84	154	30 (3s 271)	2.1 (0.2s 1.9)		
10	74	85	63	123	21 (1s 201)	1.8 (0.1s 1.7)		
13	60	49	29	131	34 (1s 331)	2.8 (0.1s 2.7)		
18 (1)	44	40	18	120	41 (2s 391)	3.8 (0.2s 3.6)		
33 (1)	24	24	6	91	70 (23s 471)	8.8 (2.9s 5.9)		
EMS	84	57	48	79	267 (10s 2571)	60.2 (2.3s 57.9)		
<u>代謝活性化あり、12% (v/v)</u> 処理後3時間								
SC1	100	100	100	167	41 (2s 391)	2.7 (0.1s 2.6)		
SC2	—	—	—	137	30 (2s 281)	2.4 (0.2s 2.2)		
0.3	103	122	126	133	28 (4s 241)	2.3 (0.3s 2.0)		
1.0	99	149	148	165	19 (2s 171)	1.2 (0.1s 1.1)		
1.8	106	134	142	137	29 (2s 271)	2.3 (0.2s 2.1)		
3.3	103	142	146	137	20 (1s 191)	1.6 (0.1s 1.5)		
5.6	101	145	146	147	34 (0s 341)	2.5 (0.0s 2.5)		
10	111	91	101	127	29 (2s 271)	2.5 (0.2s 2.3)		
18 (1)	94	112	105	137	26 (2s 241)	2.0 (0.2s 1.8)		
33 (1)	111	110	122	137	46 (2s 441)	3.7 (0.2s 3.5)		
DMN	106	134	142	90	124 (14s 1101)	17.3 (2.0s 15.3)		

CE : クローニング効率、EMS : エチルメタンスルホネート、DMN : ジメチルニトロソアミン、
s : 小コロニー、l : 大コロニー、SC : 溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)

(1) 培地中にベンフラカルブの沈殿を確認

(2) 実質細胞生存率 (対対照%) = 処理後の細胞率 (対対照%) \times 処理後のクローニング効率 (対対照%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットの骨髄細胞を用いた *in vivo* 細胞遺伝学的試験

(資料 23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1983 年

検体の純度：

試験動物： CD-1 (ICR) 系ラット、1 群雌雄各 5～15 匹

試験期間： 急性試験 1 日

亜急性試験 5 日

方法： ①急性試験：検体を 5、15 及び 50 mg/kg、陽性対照としてシクロフォスファミドを 40 mg/kg 及び賦形剤であるコーンオイルを 10 mL/kg の用量で各動物に 1 回経口投与した。検体投与後 4、22 及び 46 時間後にコルヒチンを 2.0 mg/kg の用量で各動物に腹腔内投与した。

②亜急性試験：検体を 5、15 及び 50 mg/kg 及び賦形剤であるコーンオイルを 10 mL/kg の用量で各動物に 1 日 1 回 5 日連続して経口投与した。最終投与の 4 時間後にコルヒチンを 2.0 mg/kg の用量で各動物に腹腔内投与した。

両試験とも、コルヒチン投与後約 2 時間を経てから、各動物を炭酸ガス吸入法により窒息させ、両脚大腿骨から骨髄細胞を採取した。1 匹の動物につき 4 枚のスライド標本作製し、1 匹につき 50 個の分裂中期細胞を検鏡し、染色体の異常をギャップ (gap)、切断 (break) 及び交換 (exchange) に分類し計測した。

結果： 次頁に示した。

急性及び亜急性試験ともに、検体投与群では染色体異常の発現頻度において、対照群と比べ統計学的有意な増過は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロフォスファミドでは染色体異常を有する細胞数の顕著な増加がみられた。

以上の結果から、ラットの骨髄細胞を用いた *in vivo* 細胞遺伝学的試験で本検体の染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

染色体異常試験結果

急性試験

検査時期	投与群	検査動物数	検査細胞数	染色体異常数					10個以上の異常を有する細胞数	染色体異常を有する細胞数
				染色分体のギャップ ^a	染色体のギャップ ^a	染色分体の切断	染色体の切断	交換		
6時間	賦活剤対照 (コーンオイル)	10	500	5	0	0	0	0	0	0
	ペンフラカルブ									
	5mg/kg	9	450	3	1	0	0	0	0	0
	15mg/kg	8	400	3	2	1	1	0	0	2
	50mg/kg	9	450	4	0	0	0	0	0	0
24時間	賦活剤対照 (コーンオイル)	9	450	0	0	3	0	0	0	3
	ペンフラカルブ									
	5mg/kg	8	400	0	1	0	0	0	0	0
	15mg/kg	9	450	0	0	0	0	0	0	0
	50mg/kg	10	500	1	0	1	0	0	0	1
	陽性対照 (Cyclophosphamide) 40mg/kg	6	266	6	1	35	4	18	3	28*
48時間	賦活剤対照 (コーンオイル)	6	260	3	0	0	0	0	0	0
	ペンフラカルブ									
	5mg/kg	7	350	1	0	1	0	0	0	1
	15mg/kg	10	500	2	0	2	0	0	0	2
	50mg/kg	8	400	2	0	1	0	0	0	1

^a: 染色分体及び染色体のギャップは染色体異常と考えない。 * : P<0.05

亜急性試験

検査時期	投与群	検査動物数	検査細胞数	染色体異常数					10個以上の異常を有する細胞数	染色体異常を有する細胞数
				染色分体のギャップ ^a	染色体のギャップ ^a	染色分体の切断	染色体の切断	交換		
5日	賦活剤対照 (コーンオイル)	9	415	0	1	1	1	0	0	2
	ペンフラカルブ									
	5mg/kg	9	450	0	0	2	0	0	0	2
	15mg/kg	10	500	3	0	2	1	0	0	3
	50mg/kg	9	450	0	0	2	2	0	0	3

^a: 染色分体及び染色体のギャップは染色体異常と考えない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

培養ヒト末梢リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 84)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体の純度：

試験方法： 健康な成人男性から採取した培養ヒト末梢リンパ球を用い、代謝活性化および非代謝活性化によって染色体異常誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解した。

観察は各培養液プレートあたり 100 個、各用量あたり 200 個の分裂中期像について行った。

染色体異常誘発性の判定は、異常細胞の出現数に用量依存性のある統計学的に有意な増加が認められた場合を陽性とした。統計処理はカイ二乗検定を用いた。

用量設定根拠：

結果： 本試験Ⅰの結果を表1および表2に、本試験Ⅱの結果を表3および表4に示した。本試験Ⅰにおいて、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理用量で染色体異常を示す分裂中期細胞数の有意な増加を引き起こさなかった。

本試験Ⅱでは、非代謝活性化系連続処理法の 24 時間処理において細胞毒性のため染色体異常評価に適正な用量数を得ることができなかつたため、3、10、24、33、42、56、75 および 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 8 用量を設定して再試験を行った。その結果、統計学的有意な染色体異常を有する細胞数の増加は認められなかつた。非代謝活性化系連続処理法の 48 時間処理においては、ギャップ含めた場合では観察した最高用量 (56 $\mu\text{g}/\text{mL}$) で染色体異常を有する細胞数の有意な増加が認められた。しかしながら、この増加には用量依存性がないこと、細胞毒性のある最高用量のみに認められたこと、および試験施設の背景対照データ (最低値 0/100、最大値 7/100；ギャップを含む非代謝活性化系) の範囲内であったことから、生物学的意義は低いものと考えられた。また、代謝活性化系において、統計学的有意な染色体異常を有する細胞数の増加は認められなかつた。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C およびシクロホスファミドは、本試験ⅠおよびⅡいずれにおいても染色体異常を示す分裂中期細胞数の統計学的に有意な増加が認められた。

以上のことより本剤は、代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下において染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表1 本試験 I-短時間処理法 非代謝活性化系

薬物	処理時間 (hr)	処理濃度 (μg/mL)	観察細胞数	数的異常数		異常のみられた染色体数						異常細胞の出現数および出現頻度 (%)		判定	
						Gap	染色分体型		染色体型		断片化	その他	合計		
							P	E	切断	交換			切断		交換
溶媒対照	3	-	200	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	-
検体	3	10	200	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	-
		33	200	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	-
		100 ^a	200	0	0	2	1	0	1	0	0	0	2 (1.0)	4 (2.0)	-
陽性対照	3	0.5	200	0	0	2	11	9	1	0	0	0	20 ^{***} (10.0)	22 ^{***} (11.0)	+

陽性対照：マイトマイシン C

処理時間の後、20~22 時間の回復時間を設けた。

異常細胞の出現数は、1 個の細胞に複数の異常がみられる場合も 1 個とカウントした。

P：倍数体、E：核内倍加

Gap には染色分体型ギャップと染色体型ギャップの両方を含めた。

染色分体切断には染色分体欠損 (Chromatid deletion) を含めた。

染色分体交換には微小断片 (Minute) を含めた。

染色体交換には微小断片 (Double minutes) および二動原体染色体 (Dicentric chromosome) を含めた。

^a：検体の析出が認められた。

^{***}：P<0.001 (カイ二乗検定)

表2 本試験 I-短時間処理法 代謝活性化系

薬物	処理時間 (hr)	処理濃度 (μg/mL)	観察細胞数	数的異常数		異常のみられた染色体数						異常細胞の出現数および出現頻度 (%)		判定	
						Gap	染色分体型		染色体型		断片化	その他	合計		
							P	E	切断	交換			切断		交換
溶媒対照	3	-	200	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	1 (0.5)	-
検体	3	10	200	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	-
		33	200	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	-
		100 ^a	200	0	0	1	2	0	2	0	0	0	4 (2.0)	5 (2.5)	-
陽性対照	3	15	200	0	0	3	9	1	4	0	0	0	14 ^{***} (7.0)	16 ^{***} (8.0)	+

陽性対照：シクロホスファミド

処理時間の後、20~22 時間の回復時間を設けた。

異常細胞の出現数は、1 個の細胞に複数の異常がみられる場合も 1 個とカウントした。

P：倍数体、E：核内倍加

Gap には染色分体型ギャップと染色体型ギャップの両方を含めた。

染色分体切断には染色分体欠損 (Chromatid deletion) を含めた。

染色分体交換には微小断片 (Minute) を含めた。

染色体交換には微小断片 (Double minutes) および二動原体染色体 (Dicentric chromosome) を含めた。

^a：検体の析出が認められた。

^{***}：P<0.001 (カイ二乗検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表3 本試験Ⅱ-連続処理法 非代謝活性化系

薬物	処理時間 (hr)	処理濃度 (μg/mL)	観察細胞数	数的異常数		異常のみられた染色体数							異常細胞の出現数および出現頻度 (%)		判定
				P	E	Gap	染色分体型		断片化	その他	合計				
							切断	交換			切断	交換	-Gap	+Gap	
溶媒対照	24	-	200	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	-
	48	-	200	1	0	0	1	0	1	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	-
検体	24	3 ^b	0												
		10	200	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	-
		24	200	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	-
		33	200	0	0	0	4	0	0	0	0	0	4 (2.0)	4 (2.0)	-
		42 ^c	0												
		56 ^c	0												
		75 ^{a, c}	0												
	100 ^{a, c}	0													
	48	1	200	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3 (1.5)	3 (1.5)	-
		3 ^b	0												
		10	200	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	-
		33 ^b	0												
		56	200	0	1	3	5	0	2	1	0	0	8 (4.0)	11 ⁺ (5.5)	-
		75 ^{a, c}	0												
100 ^{a, c}	0														
陽性対照	24	0.2	200	0	0	1	26	4	10	0	0	0	36 ^{***} (18.0)	36 ^{***} (18.0)	+
	48	0.1	200	1	0	2	24	18	9	8	4	0	50 ^{***} (25.0)	51 ^{***} (25.5)	+

陽性対照：マイトマイシンC

異常細胞の出現数は、1個の細胞に複数の異常がみられる場合も1個とカウントした。

P：倍数体、E：核内倍加

Gapには染色分体型ギャップと染色体型ギャップの両方を含めた。

染色分体切断には染色分体欠損(Chromatid deletion)を含めた。

染色分体交換には微小断片(Minute)を含めた。

染色体交換には微小断片(Double minutes)および二動原体染色体(Dicentric chromosome)を含めた。

^a：検体の析出が認められた。

^b：分裂中期細胞の観察は行わなかった。

^c：細胞毒性により分裂中期細胞の観察は行わなかった。

*：P<0.05、***：P<0.001 (カイ二乗検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表4 本試験Ⅱ-短時間処理法 代謝活性化系

薬物	処理時間 (hr)	処理濃度 (μg/mL)	観察細胞数	数的異常数		異常のみられた染色体数							異常細胞の出現数および出現頻度 (%)		判定	
						Gap	染色分体型		染色体型		断片化	その他	合計			
							切断	交換	切断	交換			-Gap	+Gap		
溶媒対照	3	-	200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	-
検体	3	10	200	1	0	0	0	0	1	1	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	-	
		33	200	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	1 (0.5)	-	
		100 ^a	200	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	2 (1.0)	-	
陽性対照	3	15	200	1	0	8	24	3	7	1	0	0	31 ^{***} (15.5)	37 ^{***} (18.5)	+	

陽性対照：シクロホスファミド

処理時間の後、44～46時間の回復時間を設けた。

異常細胞の出現数は、1個の細胞に複数の異常がみられる場合も1個とカウントした。

P：倍数体、E：核内倍加

Gapには染色分体型ギャップと染色体型ギャップの両方を含めた。

染色分体切断には染色分体欠損(Chromatid deletion)を含めた。

染色分体交換には微小断片(Minute)を含めた。

染色体交換には微小断片(Double minutes)および二動原体染色体(Dicentric chromosome)を含めた。

^a：検体の析出が認められた。

^{***}：P<0.001 (カイ二乗検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

小核試験

(資料 24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1983 年

検体の純度：

試験動物： CD-1 (ICR) 系マウス、1 群雌雄各 4 匹

試験方法： 検体を 5 及び 50 mg/kg、陽性対照としてトリエチレンメラミンを 1.0 mg/kg 及び賦形剤であるコーンオイルを 20 mL/kg の各用量でそれぞれ 2 回経口投与した。投与後約 6 時間後に屠殺した動物の両大腿骨から骨髓細胞を採取し、塗抹標本を作製し、ギムザ染色後、顕微鏡下で各動物について 1000 個の多染性赤血球を調べ、小核の有無を検査した。

結果： 以下に示した。

投与群	検査動物数	多染性赤血球数	小核の出現総数	小核出現数の平均
賦形剤 (コーンオイル)	8	8000	57	7.1 ± 4.3 (0.7%)
ベンフラカルブ 5mg/kg	8	8000	49	6.1 ± 3.7 (0.6%)
50mg/kg	8	7000	49	7.0 ± 3.6 (0.7%)
陽性対照 (トリエチレンメラミン) 1mg/kg	8	7000	294	36.8 ± 9.3** (3.7%)

**： P<0.01

小核の出現頻度については、検体投与群では対照群と比べ、有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照であるトリエチレンメラミン投与群では有意な増加がみられた。

以上の結果より、マウスを用いた *in vivo* 小核試験で本検体の染色体切断能は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(12) 生体の機能に及ぼす影響

仔牛赤血球アセチルコリンエステラーゼに対する影響 (*in vitro*)

(資料 25)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体の純度：

方法： 検体及び関連化合物（カルボフラン及びカルバリル）の *in vitro* での仔牛赤血球アセチルコリンエステラーゼに対する I_{50} 値および2分子反応定数 (K_i 値) を求めた。

結果： 以下に示した。

化合物	アセチルコリンエステラーゼに対する阻害活性	
	I_{50} (M)	K_i 値 ($M^{-1} \text{min}^{-1}$)
検体	7.1×10^{-6}	9.8×10^3
カルボフラン	9.3×10^{-9}	7.5×10^6
カルバリル	8.2×10^{-6}	8.5×10^3

本検体の仔牛赤血球アセチルコリンエステラーゼに対する阻害活性はカルバリルと同等であったが、カルボフランと比較すれば1/765倍の阻害活性であった。本試験に用いた検体には0.2%のカルボフランが含まれていた事を考慮すれば、本剤のアセチルコリンエステラーゼ阻害活性は極めて低いと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットに対する毒性発現機構

(資料 25)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット（体重：260～310g）、1群雄3～5匹、試験開始時9週齢

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、LD₅₀値前後の用量（110及び143mg/kg）で経口投与した。投与後24、48、72及び96時間後に動物をエーテル麻酔下に開腹し、腹大静脈より血液を採取した。採血後、動物を放血死させ、脳を摘出した。Ellmanらの方法を改良したVoss and Sachsseらの方法に準拠し、全血、血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

結果： 以下に示した。

投与群	コリンエステラーゼ活性の低下率 (%) ^a							
	投与後 24 時間				投与後 48 時間			
	全血	血漿	赤血球	脳	全血	血漿	赤血球	脳
対照 (コーンオイル)	0	0	0	0	0	0	0	0
ベンフラカルブ 110mg/kg	71.9	67.1	90.8	78.8	62.5	50.2	71.7	72.5
143mg/kg	60.5	58.7	90.6	83.5	64.2	65.5	74.1	77.7

投与群	コリンエステラーゼ活性の低下率 (%) ^a							
	投与後 72 時間				投与後 96 時間			
	全血	血漿	赤血球	脳	全血	血漿	赤血球	脳
対照 (コーンオイル)	0	0	0	0	0	0	0	0
ベンフラカルブ 110mg/kg	39.7	39.6	47.3	38.3	35.5	32.1	39.3	29.5
143mg/kg	63.4	64.9	65.9	68.6	48.3	46.6	33.9	38.4

a：対照群の低下率を0%とした場合の各群検査値の低下率を示す。

LD₅₀ 値前後の用量でベンフラカルブをラットに投与すると、コリンエステラーゼ活性は投与後 24 時間前後には全血、血漿、赤血球及び脳のすべてにおいて顕著に低下した。その後、回復傾向がみられた。

試験機関：

報告書作成年：1988年

検体の純度：

①マウス及びウサギの中樞神経系に対する作用

i) マウスの一般症状

供試動物：ICR系マウス、体重(23.0~28.0g)、1群雄5匹

方法：検体をコーンオイルに溶解し、5、15及び50mg/kgを経口投与し、一般症状を観察した。

結果：全投与群で感覚機能の低下、眼瞼下垂及び異常歩行がみられ、15mg/kg以上の投与群では呼吸促迫、振戦、流涙及び流涎等がみられた。

ii) マウスにおける自発運動に対する作用

供試動物：ICR系マウス、体重(24.0~29.0g)、1群雄10匹

方法：検体をコーンオイルに溶解し、5、15及び50mg/kgを経口投与し、投与後30分、1、2及び3時間後にそれぞれ3分間の運動量を測定した。

結果：全投与群で投与後1時間後まで自発運動の抑制がみられ、この抑制は50mg/kg投与群では投与後3時間後まで持続した。

iii) ウサギにおける体温に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、体重(2.47~3.04kg)、1群雄5匹

方法：検体をコーンオイルに溶解し、5、15及び50mg/kgを経口投与し、投与後30分、1、2、3及び5時間後に直腸温を測定した。

結果：5mg/kg投与群ではウサギの体温に対する作用は認められなかった。

15mg/kg投与群で投与群で投与後1から3時間後に直腸温の下降(0.7~0.9℃)がみられた例もあったが下痢によるものと考えられた。

50mg/kg投与群では全例死亡した。

iv) マウスにおける筋弛緩作用

供試動物：ICR系マウス、体重(25.0~30.0g)、1群雄10匹

方法：検体をコーンオイルに溶解し、5、15及び50mg/kgを経口投与し、投与後30分、1、2及び3時間後に筋弛緩作用の有無を判定した。

結果：15mg/kg以上の投与群で投与後30分、1時間及び2時間後に筋弛緩作用がみられたが、これは振戦による懸垂不能であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

v) マウスにおける抗痙攣作用

a) 最大電撃痙攣作用

供試動物： ICR系マウス、体重 (29.0~33.0 g)、1群雄 10匹

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、5、15 及び 50mg/kg を経口投与し、投与後 1 時間後に角膜に電気刺激を行い、強直性伸展痙攣の持続時間を測定した。

結果： 15 mg/kg 以上の投与群で強直性伸展痙攣の持続時間の延長がみられたが、抗痙攣作用は認められなかった。

b) 抗ペンテトラゾール作用

供試動物： ICR系マウス、体重 (22.5~24.0 g)、1群雄 10匹

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、5、15 及び 50mg/kg を経口投与し、投与後 1 時間後に 100 mg/kg のペンテトラゾールを皮下投与し、間代性痙攣、強直性伸展痙攣及び死亡の有無を観察した。

結果： 全投与群で抗ペンテトラゾール作用は認められなかった。

vi) ウサギにおける自然脳波に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 (3.07~3.44 kg)、1群雄 3匹

方法： 麻酔下のウサギを固定し脳を手術し電極を埋め込み、麻酔から回復後、無麻酔下で検体のコーンオイル溶液を 5、15 及び 50 mg/kg を経口投与した。投与後 3 時間後まで自発脳波を測定した。

結果： 全投与群で投与後 30 分後より覚醒波がみられ、3 時間後まで持続した。

②ウサギの呼吸、循環器系に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 (2.35~2.90 kg)、1群雄 3匹

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、5、15 及び 50 mg/kg を麻酔下のウサギに経口投与し、投与後 2 時間後まで血圧、心拍数、心電図及び呼吸回数を測定した。

結果： 5 及び 15 mg/kg 投与群では呼吸、循環器系に対する影響は認められなかった。50 mg/kg 投与群で呼吸回数の増加、血圧の低下及び心拍数の減少がみられた。

③ウサギ及びモルモットの自律神経系及び平滑筋に対する作用

i) ウサギの瞳孔径に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 (2.35~28.0 kg)、1群雄 5匹

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、5、15 及び 50 mg/kg を経口投与し、投与後 30 分後、1、2、3、4、5 及び 24 時間後に瞳孔径を測定した。

結果： 以下に示した。

投与量 (mg/kg)	瞳孔径							
	投与前	投与後 30 分	1	2	3	4	5	24 時間
対照 (コーンオイル)	4.2±0.1 ^a	4.1±0.1	4.1±0.1	4.1±0.2	4.2±0.1	4.1±0.2	4.2±0.1	4.1±0.1
検体 5	4.0±0.4	4.0±0.3	3.9±0.3	3.9±0.2	3.8±0.3	4.1±0.3	4.1±0.3	4.0±0.3
15	4.0±0.3	3.9±0.3	3.7±0.4	2.9±0.3 [*]	2.7±0.1 ^{**}	2.4±0.1 ^{**}	2.6±0.2 ^{**}	3.9±0.3
50	4.1±0.2	3.5±0.3	2.5±0.2 ^{**}	— ^b	—	—	—	—

^a: 平均値±標準偏差、^b: 経口投与後 2 時間後に全例死亡、^{*}: P<0.05、^{**}: P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

5 mg/kg 投与群では瞳孔径に対する作用は認められなかった。15 mg/kg 以上の投与群では投与後1から2時間後より縮瞳作用がみられ、この作用は5時間後まで持続した。

ii) ウサギ及びモルモットの摘出回腸に対する作用

a) 自動運動

供試動物：日本白色種ウサギ、体重 (2.30~2.61 kg)、1群雄3匹

方法：検体をジメチルスルフォキシドに溶解し、 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 及び 10^{-5} g/mLの濃度になるように添加し、摘出回腸の自動運動を添加後10分間測定した。

結果：ウサギの摘出回腸の自動運動に対し、 10^{-7} g/mL以上の濃度で収縮高の減少がみられた。

b) 各アゴニストに対する作用

供試動物：Hartley系モルモット、体重 (326~346 g)、1群雄5匹

方法：検体をジメチルスルフォキシドに溶解し、 10^{-7} 、 10^{-6} 及び 10^{-5} g/mLの濃度になるように添加し、添加後3分後にアセチルコリン (10^{-7} g/mL)、ヒスタミン (10^{-6} g/mL) または塩化バリウム (10^{-4} g/mL) を添加し、摘出回腸における各アゴニストに対する作用を検討した。

結果：以下に示した。

処理量 (g/mL)	収縮高の変化率 (%)		
	アセチルコリン	ヒスタミン	塩化バリウム
対照 (ジメチルスルフォキシド)	104±1 ^a	101±1	103±2
検体	10^{-7}	104±1	101±1
	10^{-6}	89±4	81±2
	10^{-5}	—	—

—：強収縮のため測定不可能、^a：平均値±標準誤差

10^{-7} g/mLでは各アゴニストに対する作用は認められなかった。

10^{-6} g/mLでは各アゴニストに対し収縮高の軽度減少あるいは増加がみられた。

iii) ラットの摘出輸精管に対する作用

供試動物：SD系ラット、体重 (232~250 g)、1群雄5匹

方法：検体をジメチルスルフォキシドに溶解し、 10^{-7} 、 10^{-6} 及び 10^{-5} g/mLの濃度になるように添加し、添加後3分後にノルアドレナリン (2×10^{-8} g/mL) を添加し、摘出輸精管におけるノルアドレナリン収縮に対する作用を検討した。

結果： 10^{-8} g/mL以下の濃度ではノルアドレナリン収縮に対する作用は認められなかった。 10^{-5} g/mLではノルアドレナリン収縮高の軽度減少 (10~13%) がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

④マウスの消化器に対する作用

i) マウスの炭末輸送能に対する作用

供試動物： ICR系マウス、体重 (27.6~31.5 g)、1群雄 10匹

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、5、15及び50mg/kgを経口投与し、投与後1時間後に0.1mLの炭末(5%炭素末懸濁液)を経口投与した。炭末投与後30分間の小腸における炭末の移行率を測定した。

結果： 5 mg/kg投与群では炭末輸送能に対する作用は認められなかった。
15 mg/kg以上の投与群で炭末輸送能の抑制作用がみられた。

⑤ラットの肝機能に対する作用

i) ラットのICG排泄に対する作用

供試動物： SD系ラット、体重 (108~128 g)、1群雄 10匹

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、5、15及び50 mg/kgを経口投与し、投与後1時間後に4 mg/kgのICGを静脈内に投与した。ICG投与後15分後に血清中のICG濃度を測定した。

結果： 全投与群でラットのICG排泄に対する作用は認められなかった。

⑥ラット及びウサギの血液に対する作用

i) ラットの血液凝固に対する作用

供試動物： SD系ラット、体重 (122~138 g)、1群雄 6匹

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、5、15及び50 mg/kgを経口投与し、投与後1時間後にプロトロンビン時間及び活性化トロンボプラスチン時間を測定した。

結果： 全投与群でラットの血液凝固に対する作用は認められなかった。

ii) ウサギの溶血作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 (2.70~2.95 kg)、1群雄 3匹

方法： 血液を採取しクエン酸処理後遠心して血液を分離し、2%赤血球浮遊液を調製した。検体をジメチルスルフォキシドに溶解し、5 mLの 10^{-7} 、 10^{-6} 及び 10^{-5} g/mLの検体溶液と0.25 mLの2%血液浮遊液を混和し、2時間後に溶血度を測定した。

結果： 全投与群でウサギの溶血作用に対する作用は認められなかった。

⑦ラット腎機能に対する作用

i) ラットの尿量及び尿中電解質に対する作用

供試動物： SD系ラット、体重 (165~175 g)、1群雄 6匹

方法： 2.5 mL/100g体重の生理食塩液を経口投与し、直後にコーンオイルに溶解した検体の5、15及び50 mg/kgを経口投与した。検体投与後65時間の尿量及び尿中電解質(Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 及び Na^+/K^+ 比)を測定した。

結果： 全投与群で尿量及び尿中電解質の増加がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

以上の試験結果より本剤は無麻酔動物、麻酔動物の生体機能に対して、致死量の1/10の処理用である5 mg/kg投与で明らかな作用を示さなかった。しかし、致死量の1/3以上の処理量で縮瞳作用、心臓抑制作用、血圧降下作用及び骨格筋の収縮作用等の自律神経系の抑制作用を認めた。これらの作用は可逆的であった。

生体の機能に及ぼす影響に関する試験の総括

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒：コーン オイル)	投与量 (mg/kg)	動物数/群	作用用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
コリンエステラーゼへの作用	ラット	経口	0、110、143	雄：3～5	≥110	<110	全血、血漿、赤血球および脳コリンエステラーゼ活性の低下
中枢神経系	一般状態 (Irwin法)	マウス	経口 0、5、15、 50	雄：5	≥5	<5	症状：感覚機能の低下、眼瞼下垂、歩行異常、呼吸促拍、振戦、流涙、流涎等 死亡：50 mg/kgで5例中2例
	自発運動量	マウス	経口 0、5、15、 50	雄：10	≥5	<5	自発運動の抑制あり 死亡：50 mg/kgで10例中2例
	体温	ウサギ	経口 0、5、15、 50	雄：5	15	5	体温低下あり 死亡：50 mg/kgで5例中全例
	筋弛緩作用	マウス	経口 0、5、15、 50	雄：10	≥15	5	筋弛緩作用あり 死亡：50 mg/kgで10例中6例
	抗痙攣作用	マウス	経口 0、5、15、 50	雄：10	作用なし	50	抗痙攣作用なし
	抗ベンテトラゾール作用	マウス	経口 0、5、15、 50	雄：10	作用なし	50	抗ベンテトラゾール作用なし 死亡：50 mg/kgで10例中3例
	自然脳波	ウサギ	経口 0、5、15、 50	雄：3	≥5	<5	覚醒波がみられた 死亡：50 mg/kgで3例中全例
呼吸循環器系 呼吸、血圧、心拍数、心電図(麻酔下)	ウサギ	経口	0、5、15、 50	雄：3	50	15	呼吸数増加、血圧および心拍数の低下 死亡：50 mg/kgで3例中1例
自律神経系 瞳孔径	ウサギ	経口	0、5、15、 50	雄：5	≥15	5	縮瞳作用あり 死亡：50 mg/kgで5例中全例
消化器系 炭末輸送能	マウス	経口	0、5、15、 50	雄：10	≥15	5	炭末輸送能の抑制作用あり
肝機能 ICG排泄	ラット	経口	0、5、15、 50	雄：10	作用なし	50	ICG排泄への作用なし
血液凝固	ラット	経口	0、5、15、 50	雄：6	作用なし	50	血液凝固能への作用なし
腎機能 尿量、電解質	ラット	経口	0、5、15、 50	雄：6	≥5	<5	尿量および電解質の増加あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

生体の機能に及ぼす影響に関する試験の総括（つづき）

試験項目	濃度 (g/mL)	結果の概要
ウサギ摘出回腸の自動運動に対する作用	10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5}	10^{-7} g/mL 以上で収縮高の減少
モルモット摘出回腸のアゴニストに対する作用	10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5}	10^{-6} g/mL 以上でアゴニストに対し収縮高の減少あるいは増加
ラット摘出輸精管への作用	10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5}	10^{-5} g/mL で収縮高の減少
ウサギ赤血球への溶血作用	10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5}	溶血作用なし
仔牛赤血球アセチルコリンエステラーゼへの影響 (<i>in vitro</i>)		50% 阻害濃度 (I_{50} , M) : 7.1×10^{-6} 2分子反応定数 (K_i 値, $M^{-1} \text{ min}^{-1}$) : 9.8×10^3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(13) 解毒及び治療

ラットにおける解毒に関する試験

(資料 26)

試験機関：

報告書作成年：1984年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット（7週齢）、1群雄10匹

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、150 mg/kg (LD₅₀ 値付近) 及び 200 mg/kg (致死量) の用量で経口投与した。本剤の中毒に対する硫酸アトロピン及び 2-PAM の解毒効果を検討するため、検体投与後 5 分 (中毒症状の発現前)、10 分 (中毒症状の発現直後)、15 分及び 30 分 (中毒症状の発現後一定時間経過後) に、硫酸アトロピンを 50 mg/kg 及び 100 mg/kg の用量で経口あるいは腹腔内投与した。また、2-PAM についても、検体投与後 5 分に 50 mg/kg 及び 100 mg/kg の用量で腹腔内投与した。その後、症状及び生死を 7 日間観察した。

結果： 以下にその要約を示した。

ベンフラカルブ (mg/kg)	硫酸アトロピン (mg/kg)	2-PAM (mg/kg)	処理時間 (分) ^a	死亡率 (%)
200	—	—	—	100
200	50	—	5	20
200	50	—	10	40
200	50	—	15	50
200	50	—	30	90
200	—	100	5	100

a：硫酸アトロピン又は 2-PAM を腹腔内投与するまでの時間を示す。

硫酸アトロピンの投与により、本剤による中毒症状の消失あるいは緩和がみられ、かつ中毒死の防御も認められた。2-PAM では同様の効果は認められなかった。可及的速やかな硫酸アトロピンの投与により高い解毒効果が得られた。

以上の結果より、本剤による中毒の解毒剤として硫酸アトロピンが有効であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(14) その他 (使用者に対する安全性)

水田におけるボランティア試験

(資料 28)

試験機関：

報告書作成年：1985年

検体の純度：5%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体；5.7%

 鉱物質微粉等； 94.3%

方法： 5%粒剤の使用者に対する安全性を評価するため、実際の使用場面である水田でボランティア試験を実施した。

14名のボランティア（男12名、女2名）が素手で本剤を育苗箱あたり160gをを施用し（最大施用量の2倍）、その後、素足で本田にはいり、本剤施用した稚苗を素手で本田に移植した。本田面積は24a、実働時間は3時間20分であった。

本剤の暴露前後に自覚症状の調査、医師による診察（問診、血圧測定及び身体検査）、血液学的検査（赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数及び血球像）、血液生化学的検査（血清コリンエステラーゼ活性を含む35項目）及び尿検査（pH、タンパク、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン及び潜血）を実施し、本剤暴露による影響を調べた。

結果： 暴露後の自覚症状の調査でボランティアが全身倦怠感、脱力感、違和感、頭重感及び腰痛を訴えたが、カーバメート剤中毒の特徴であるコリンエステラーゼ活性値のい減少が認められなかったことから、これらの症状は長時間の中腰姿勢を伴った田植作業による疲労と考えられた。

医師による診察では、本剤暴露後、健康上の異常を指摘された者は1名もいなかった。

血液学的検査、血液性化学検査及び尿検査で、いずれの項目においても本剤暴露によると考えられる影響は認められなかった。

下表に血清コリンエステラーゼの検査結果を示す。

検査時期		
暴露前3日	暴露後1日	暴露後3日
0.98±0.32	0.95±0.32	1.00±0.33

ΔpH、平均±S. D.

以上の結果より、5%粒剤は実際の使用場面において安全性は高いものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

2. 原体混在物及び代謝物

マウス及びラットに対する急性経口毒性試験

(資料 5)

原体混在物及び代謝物の毒性一覧

区分	名称	急性経口 LD ₅₀ 値 (mg/kg)	試験機関あるいは文献名 (年代)	
代謝物	カルボフラン	ラット： 6.4～14.1	(1976)	
		ラット： 17.9		
		ラット： 69		
		ラット： 1800～2200		
		ラット： 1350		
		ラット： 295		
		マウス： 40～70		(1984)
原体混在物		マウス： 163		
		マウス： 50～100	(1981)	
		マウス： >100		
		マウス： >100		
		ラット： >5000	(1982)	
		マウス： >5000	(1984)	
		マウス： >2000	(2014)	
		マウス： >2000	(2015)	

注) カルボフランは代謝物の欄に入れた。

*：詳細は次頁以後に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

項目		検体名	
検体の純度			
試験動物		ICR系マウス (5週齢) 1群雄 10匹	ICR系マウス (5週齢) 1群雄 10匹
試験期間		7日間観察	7日間観察
方法		コーンオイルに溶解あるいは懸濁して、経口投与。	
試験項目		中毒症状及び生死を7日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について主要臓器の肉眼的病理検査を実施した。	
結果	投与量 (mg/kg)	40、70	130、169、220、286
	LD ₅₀ (mg/kg)	40~70	163
	死亡開始時間 及び終了時間	1時間 3時間	30分 3日
	症状発現及び 消失時間	数分 3時間	10分 3日
	最大無作用量 (mg/kg)	< 40	(死亡例の認められなかった) 最高投与量 : 130

項目		検体名	
検体の純度			
試験動物		SD系ラット (6週齢) 1群雄 10匹	ICR系マウス (5週齢) 1群雄 10匹
試験期間		14日間観察	7日間観察
方法		コーンオイルに溶解あるいは懸濁して、経口投与。	
試験項目		中毒症状及び生死を14もしくは7日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について主要臓器の肉眼的病理検査を実施した。	
結果	投与量 (mg/kg)	1000、3000、5000	5000
	LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000	> 5000
	死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
	症状発現及び 消失時間	著変なし	著変なし
	最大無作用量 (mg/kg)	5000	5000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

項目		検体名	
検体の純度			
試験動物		ICR系SPFマウス(9週齢) 1群雌3匹	ICR系マウス(5週齢) 1群雌雄各5匹
試験期間		14日間観察	14日間観察
方法		コーンオイルに溶解あるいは懸濁して、経口投与。	
試験項目		中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について主要臓器の肉眼的病理検査を実施した。	
結果	投与量(mg/kg)	2000	2000
	LD ₅₀ (mg/kg)	> 2000	> 2000
	死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
	症状発現及び 消失時間	著変なし	著変なし
	最大無作用量 (mg/kg)	2000	2000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 22)

試験機関：

報告書作成年：1981～2015年

代謝物及び原体混在物

資料 No.	(1)	(2)	(3)	(4)
検体	カルボフラン			
試験機関 (年代)	(1981)	(1981)	(1985)	(1982)
検体の純度				
方法	ヒスチジン要求性サルモネラ菌 <i>Salmonella typhimurium</i> (TA100, TA1535, TA98, TA1537 及び TA1538 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法でプレインキュベーション法により変異原性を検討した。検体を溶解させるために DMSO を用いた。			
最高濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	5000	5000	5000	10000
結果	次頁以降の表に示した。 いずれの検体も代謝活性化を含め最高濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。 一方、陽性対照として用いた AF-2、BP、2-AA、ENNG、9-AA 及び 2-NF では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。			
総合判定	陰性	陰性	陰性	陰性

- [略語] DMSO: Dimethylsulfoxide
 AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide
 BP: Benzo[a]pyrene
 2-AA: 2-Aminoanthracene
 ENNG: *N*-Ethyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine
 9-AA: 9-Aminoacridine hydrochloride
 2-NF: 2-Nitrofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

代謝物及び原体混在物 (つづき)

資料 No.	(5)	(6)	(7)
検体			
試験機関 (年代)	(1985)	(1982)	(1985)
検体の純度			
方法	ヒスチジン要求性サルモネラ菌 <i>Salmonella typhimurium</i> (TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び TA1538 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>hcr</i> <i>uvrA</i> 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法でプレインキュベーション法により変異原性を検討した。検体を溶解させるために DMSO を用いた。		
最高濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	5000	10000	1000 (サルモネラ菌) 5000 (大腸菌)
結果	次頁以降の表に示した。 いずれの検体も代謝活性化を含め最高濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。 一方、陽性対照として用いた AF-2、BP、2-AA、ENNG、9-AA 及び 2-NF では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。		
総合判定	陰性	陰性	陰性

- [略語] DMSO: Dimethylsulfoxide
 AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide
 BP: Benzo[a]pyrene
 2-AA: 2-Aminoanthracene
 ENNG: *N*-Ethyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine
 9-AA: 9-Aminoacridine
 2-NF: 2-Nitrofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

代謝物及び原体混在物 (つづき)

資料 No.	(8)	(9)
検体		
試験機関 (年代)	(2014)	(2015)
検体の純度		
方法	ヒスチジン要求性サルモネラ菌 <i>Salmonella typhimurium</i> (TA100、TA1535、TA98 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株) を用い、薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下でプレインキュベーション法により変異原性を検討した。検体を溶解させるために DMSO を用いた。	
最高濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	5000 (S-9 mix 存在下の全菌株及び S-9 mix 非存在下の TA100、TA1535 及び WP2 <i>uvrA</i>) 78.1 (S-9 mix 非存在下の TA98) 313 (S-9 mix 非存在下の TA1537)	5000 (S-9 mix 非存在下の全菌株及び S-9 mix 存在下の TA100、TA1535、TA98 及び WP2 <i>uvrA</i>) 1250 (S-9 mix 存在下の TA1537)
結果	次頁以降の表に示した。 いずれの検体も代謝活性化を含め最高濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。 一方、陽性対照として用いた AF-2、SAZ、ICR-191、BP 及び 2-AA では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。	
総合判定	陰性	陰性

- [略語] DMSO: Dimethylsulfoxide
 AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide
 SAZ: Sodium azide
 ICR-191: 2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino] acridine·2HCl
 BP: Benzo [a] pyrene
 2-AA: 2-Aminoanthracene
 9-AA: 9-Aminoacridine

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

1) カルボフランの復帰変異原性試験結果

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対象 (DMSO)		-	117	7	20	20	6	12
			120	8	26	24	8	15
検体	10	-	105	5	18	24	5	10
			124	8	19	28	9	14
	50	-	120	7	19	19	7	9
			130	8	29	29	7	11
	100	-	109	5	20	20	6	6
			121	6	27	24	8	11
	500	-	115	5	19	19	5	14
			129	7	28	33	8	18
	1000	-	116	6	23	17	7	8
			120	9	25	26	8	14
	5000	-	117	7	15	16	2	8
			120	8	18	16	9	14
溶媒対象 (DMSO)		+	117	8	22	22	10	16
			120	13	22	25	10	20
検体	10	+	107	8	19	16	9	13
			115	12	19	26	11	20
	50	+	120	6	14	24	11	18
			130	8	22	26	12	20
	100	+	94	8	21	21	11	14
			122	9	21	27	11	19
	500	+	110	6	19	23	11	18
			120	8	28	34	11	18
	1000	+	89	5	18	19	7	15
			107	7	26	27	10	18
	5000	+	89	8	18	10	10	15
			104	12	24	19	12	16
陽性 対照	S-9Mixのを必要 としないもの	名称	AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA	2-NF
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	5	0.01	0.1	80	2
		コロニー数/プレート	312	221	195	309	468	416
			355	225	208	323	501	464
	S-9Mixのを必要 とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	2	80	5	5	5
コロニー数/プレート		941	143	376	426	223	214	
	979	168	414	449	316	285		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

2) の復帰変異原性試験結果

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート								
			塩基対置換型						フレームシフト型		
			TA100		TA1535		WP2 <i>uvrA</i>		TA98		TA1537
溶媒対象 (DMSO)		-	118 124 119	13 14 14	20 24 20	22 29 24	8 9 9	16 20 18			
検体	5	-	102 109 105	12 15 13	18 22 20	23 26 24	7 8 8	12 18 13			
	10	-	109 121 121	13 17 14	21 22 21	18 24 20	5 10 7	16 18 17			
	50	-	118 134 121	10 16 13	19 27 20	20 26 23	7 8 8	14 15 15			
	100	-	125 135 127	11 17 15	23 27 24	21 28 22	4 8 6	15 17 16			
	500	-	122 134 133	14 16 16	20 26 24	20 27 24	5 8 5	13 17 16			
	1000	-	115 129 116	13 17 14	16 20 18	21 32 28	6 9 8	15 18 17			
	5000	-	17* 26* 19*	1* 3* 2*	3* 11* 11*	3* 7* 4*	0* 0* 0*	1* 4* 2*			
溶媒対象 (DMSO)		+	113 123 118	9 14 12	24 26 26	28 30 29	8 10 9	17 21 18			
検体	5	+	112 136 120	10 15 11	19 26 24	23 34 29	7 11 7	16 18 17			
	10	+	123 131 128	8 12 12	26 28 26	23 31 31	6 10 7	14 17 16			
	50	+	109 137 110	8 13 12	26 31 28	23 35 29	6 13 8	18 18 18			
	100	+	111 116 113	13 15 13	23 29 29	28 31 28	9 10 10	14 18 16			
	500	+	119 133 124	8 15 13	21 28 26	28 30 28	5 10 7	16 20 19			
	1000	+	115 130 128	8 12 11	21 21 21	24 27 25	5 7 6	12 18 16			
	5000	+	39* 51* 43*	1* 3* 2*	11* 16* 14*	3* 13* 5*	0* 0* 0*	1* 5* 5*			
陽性 対照	S-9Mixのを必要 としないもの	名称	AF-2	ENNG	ENNG	AF-2	9-AA	2-NF			
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	5	2	0.1	80	2			
		コロニー数/プレート	580 644	312 408	864 891	411 433	713 764	697 783			
	S-9Mixのを必要 とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	BP			
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	2	80	5	5	5			
		コロニー数/プレート	868 936	159 190	389 431	757 833	221 263	273 319			

* : 菌の生育阻害が認められた

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

3) の復帰変異原性試験結果

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538	
溶媒対象 (DMSO)		-	100	20	16	20	5	9	
			110	22	22	21	7	10	
			113	23	24	22	8	17	
検体	10	-	112	15	18	17	4	13	
			115	18	20	17	6	14	
			122	22	20	20	7	15	
	50	-	102	17	15	14	6	12	
			112	23	19	16	6	13	
			115	26	21	17	7	16	
	100	-	116	18	13	17	8	10	
			121	20	15	19	8	12	
			121	28	23	25	8	14	
	500	-	103	22	18	15	4	12	
			103	22	19	19	4	14	
			127	27	22	20	7	16	
	1000	-	118	23	16	17	3	12	
			122	24	18	18	4	14	
			130	24	19	18	6	15	
	5000	-	71	12	10	11	2	10	
			83	13	12	13	2	10	
			89	13	12	15	3	11	
	溶媒対象 (DMSO)		+	95	11	21	30	7	18
				111	15	24	31	8	22
				119	15	27	32	10	23
	検体	10	+	95	13	18	29	8	19
				101	13	23	31	9	21
				105	15	29	35	12	23
50		+	91	14	20	26	8	17	
			107	16	26	26	18	20	
			117	17	31	26	13	21	
100		+	109	10	21	27	8	15	
			113	12	23	28	6	20	
			117	13	25	31	12	20	
500		+	85	11	21	27	5	14	
			111	11	22	27	8	21	
			120	15	25	33	9	24	
1000		+	102	11	17	28	3	26	
			122	14	17	30	5	27	
			123	18	21	33	10	27	
5000		+	86	10	11	22	3	19	
			96	10	13	23	3	21	
			115	11	14	30	4	22	
陽性対照		S-9Mixのを必要 としないもの	名称	AF-2	ENNG	ENNG	AF-2	9-AA	2-NF
			濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	5	2	0.1	80	2
			コロニー数/プレート	414	820	>1000	384	532	438
		S-9Mixのを必要 とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	BP
			濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	2	80	5	5	5
			コロニー数/プレート	507	128	214	182	95	124
			548	142	225	193	118	149	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

4) の復帰変異原性試験結果

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対象 (DMSO)		-	90 109 116	15 16 23	18 21 26	22 23 32	7 8 9	12 13 14
検体	10	-	103 106 117	15 18 21	24 27 31	19 20 24	4 5 6	13 13 16
	50	-	96 102 104	15 16 20	21 22 27	21 23 24	5 7 9	12 13 18
	100	-	99 106 113	15 17 23	21 25 26	21 25 27	5 6 6	12 13 15
	500	-	89 95 104	20 23 24	20 22 24	20 21 28	7 7 9	13 14 17
	1000	-	104 108 112	16 18 26	22 24 26	21 23 25	7 7 8	12 14 14
	5000	-	93 101 103	17 19 24	22 23 26	19 20 23	4 6 8	12 13 14
	10000		82 83 98	17 18 19	20 27 28	21 24 25	4 5 7	11 14 14
溶媒対象 (DMSO)		+	107 119 122	16 17 19	24 26 30	23 28 30	8 9 11	15 16 17
検体	10	+	102 107 110	15 19 20	28 30 34	27 28 30	9 12 14	14 16 18
	50	+	110 116 121	12 15 16	29 31 33	25 26 29	8 9 10	15 16 21
	100	+	107 108 118	16 19 21	24 33 36	23 32 32	9 11 12	14 16 20
	500	+	108 117 121	18 21 21	20 23 33	23 29 29	6 7 10	16 17 20
	1000	+	111 113 129	15 16 18	21 26 31	24 28 32	9 9 10	14 15 19
	5000	+	106 115 122	14 17 18	23 24 26	26 27 29	8 9 9	14 15 16
	10000	+	103 119 120	16 18 23	25 26 27	26 28 30	7 9 9	15 17 19
陽性対照	S-9Mixのを必要 としないもの	名称	AF-2	ENNG	ENNG	AF-2	9-AA	2-NF
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	5	2	0.1	80	2
		コロニー数/プレート	390 405	812 886	612 750	398 420	268 294	488 512
	S-9Mixのを必要 とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	2	80	5	5	5
		コロニー数/プレート	783 831	203 217	207 238	247 251	134 156	114 145

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

5) の復帰変異原性試験結果

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538	
溶媒対象 (DMSO)		-	100	20	16	20	5	9	
			110	22	22	21	7	10	
			113	23	24	22	8	17	
検体	10	-	107	15	17	21	3	10	
			111	20	21	22	4	11	
			111	21	24	26	7	13	
	50	-	97	16	18	17	2	8	
			110	24	20	22	3	10	
			112	27	22	23	7	16	
	100	-	105	15	19	17	4	9	
			116	23	22	21	5	11	
			133	24	26	22	7	13	
	500	-	102	17	20	16	5	10	
			113	19	24	21	7	10	
			117	21	25	26	7	12	
	1000	-	98	18	16	16	5	10	
			115	19	22	20	6	11	
			116	24	22	23	7	12	
	5000	-	101	16	16	16	3	12	
			105	18	19	16	4	13	
			110	18	20	17	6	18	
	溶媒対象 (DMSO)		+	95	11	21	30	7	18
				111	15	24	31	8	22
				119	15	27	32	10	23
	検体	10	+	109	9	14	28	7	15
				110	11	21	33	11	20
				129	11	26	36	11	24
50		+	113	10	14	33	3	16	
			119	14	19	39	7	18	
			122	18	20	40	11	20	
100		+	123	9	15	29	8	17	
			130	15	18	35	9	18	
			136	15	26	36	9	22	
500		+	106	10	19	31	7	14	
			112	11	21	34	8	15	
			122	13	21	36	8	22	
1000		+	108	12	18	26	3	14	
			118	13	20	28	5	18	
			120	13	20	31	8	22	
5000		+	96	9	18	26	4	14	
			101	11	19	26	5	16	
			104	12	19	27	7	18	
陽性 対照		S-9Mixのを必要 としないもの	名称	AF-2	ENNG	ENNG	AF-2	9-AA	2-NF
			濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	5	2	0.1	80	2
			コロニー数/プレート	414 450	820 898	>1000	384 397	532 766	438 541
		S-9Mixのを必要 とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	BP
			濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	2	80	5	5	5
			コロニー数/プレート	507 548	128 142	214 225	182 193	95 118	124 149

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

6)

の復帰変異原性試験結果

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート								
			塩基対置換型						フレームシフト型		
			TA100		TA1535		WP2uvrA		TA98		TA1537
溶媒対象 (DMSO)		-	133 135 148	22 23 26	19 20 21	22 24 30	10 10 11	16 17 21			
検体	10	-	102 134 146	22 24 27	17 21 22	24 26 27	7 8 9	14 15 18			
	50	-	121 134 141	23 24 24	18 20 21	26 26 26	7 9 10	15 17 19			
	100	-	112 125 138	21 22 24	22 23 23	21 22 25	9 10 10	15 18 21			
	500	-	117 118 144	21 22 24	19 20 21	22 23 25	8 9 11	14 15 18			
	1000	-	128 132 148	20 22 24	21 22 24	23 26 33	7 9 10	16 17 18			
	5000	-	138 137 148	19 19 21	20 21 21	23 26 27	8 10 11	14 14 15			
	10000		119 123 137	18 21 26	19 21 22	19 22 26	8 12 14	13 15 17			
溶媒対象 (DMSO)		+	116 126 129	14 16 18	22 25 26	31 33 34	10 15 15	19 21 24			
検体	10	+	108 120 131	15 17 17	20 26 27	33 34 36	9 12 14	20 21 26			
	50	+	118 123 148	15 18 18	25 27 27	27 33 35	13 13 15	21 22 24			
	100	+	124 134 147	15 17 22	23 25 26	29 33 39	12 13 13	20 23 27			
	500	+	109 113 123	13 16 21	22 24 26	32 38 39	13 15 15	20 20 24			
	1000	+	115 126 147	13 14 15	23 23 25	29 31 38	12 14 15	20 24 24			
	5000	+	115 134 136	14 15 16	18 21 24	30 32 35	10 10 12	16 18 22			
	10000	+	120 131 131	10 10 13	19 20 20	24 26 30	11 11 12	19 20 21			
陽性 対照	S-9Mixのを必要 としないもの	名称	AF-2	ENNG	ENNG	AF-2	9-AA	2-NF			
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	5	2	0.1	80	2			
		コロニー数/プレート	491 514	824 986	584 657	491 514	481 516	636 671			
	S-9Mixのを必要 とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	BP			
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	2	80	5	5	5			
		コロニー数/プレート	816 923	232 252	247 267	359 403	141 177	172 222			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

7)

の復帰変異原性試験結果

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対象 (DMSO)		-	100 110 113	16 16 21		30 31 32	6 10 11	10 14 17
検体	1	-	98 106 119	17 18 24		18 20 21	7 8 8	13 14 19
	5	-	109 111 124	16 19 19		15 21 27	8 10 10	15 15 22
	10	-	114 115 116	15 16 19		16 21 22	9 10 11	9 14 23
	50	-	109 110 125	13 15 21		17 18 26	7 10 15	16 18 21
	100	-	99 107 118	13 15 15		21 23 24	9 11 13	10 14 19
	250	-	89 97 101	3* 4* 9*		23 24 25	6 6 10	2* 3* 5*
	500	-	37* 64* 69*	1* 2* 5*		18 23 24	3* 3* 4*	0* 2* 3*
	1000	-	38* 56* 59*	0* 0* 0*		13* 13* 17*	1* 3* 4*	0* 0* 0*
溶媒対象 (DMSO)		+	95 111 119	9 11 15		30 31 32	11 12 13	16 17 19
検体	1	+	109 116 131	10 13 14		22 28 29	10 10 12	13 18 19
	5	+	101 118 121	11 12 16		24 30 31	9 11 13	13 14 17
	10	+	113 123 131	10 15 16		28 36 37	14 17 19	13 14 17
	50	+	76 112 115	10 16 16		28 30 32	16 16 17	21 26 29
	100	+	104 108 117	13 14 16		29 29 29	12 16 17	26 28 32
	250	+	104 110 117	8* 9* 9*		27 28 34	11 12 13	14 15 17
	500	+	94 109 117	6* 6* 7*		15 23 23	1* 3* 4*	5* 16 22
	1000	+	63* 68* 69*	5* 5* 6*		12* 16* 18*	0* 1* 2*	2* 6* 7*
陽性 対照	S-9Mixのを必要 としないもの	名称	AF-2	ENNG		AF-2	9-AA	2-NF
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	5		0.1	80	2
		コロニー数/プレート	414 450	716 893		384 397	716 823	384 421
	S-9Mixのを必要 とするもの	名称	BP	2-AA		BP	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	2		5	5	5
		コロニー数/プレート	507 548	168 176		182 193	119 136	151 158

次
頁
に
示
し
た

* : 菌の生育阻害が認められた

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

7)

の復帰変異原性試験結果 (つづき)

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対象 (DMSO)		-			13 14 15			
検体	10	-			14 16 16			
	50	-			16 18 24			
	100	-			15 17 19			
	500	-			18 19 23			
	1000	-			18 22 30			
	5000	-			18 20 22			
溶媒対象 (DMSO)		+			15 16 21			
検体	10	+			17 26 28			
	50	+			17 19 24			
	100	+			14 19 21			
	500	+			20 26 27			
	1000	+			24 27 30			
	5000	+			17 17 19			
陽性対照	S-9Mixのを必要 としないもの	名称			ENNG			
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)			2			
		コロニー数/プレート			>1000			
	S-9Mixのを必要 とするもの	名称			2-AA			
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)			80			
		コロニー数/プレート			238 261			

前
頁
に
示
し
た

前
頁
に
示
し
た

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

8) の復帰変異原性試験結果 (1回目)

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対象 (DMSO)		-	106	9	32	15	7
			102	7	28	16	5
検体	2.44	-	NT	NT	NT	18 16	NT
	4.88	-	NT	NT	NT	15 15	NT
	9.77	-	NT	NT	NT	10 21	7 5
	19.5	-	NT	NT	NT	11 10	4 5
	39.1	-	NT	NT	NT	17 12	6 7
	78.1	-	NT	NT	NT	6* 11*	3 9
	156#	-	NT	NT	NT	NT	4 6
	313#	-	95 106	4 6	32 26	NT	4* 7*
	625#	-	117 111	5 10	29 32	NT	NT
	1250#	-	106 99	7 13	25 31	NT	NT
	2500#	-	116 112	6 3	33 29	NT	NT
	5000#	-	99 105	12 7	30 35	NT	NT
溶媒対象 (DMSO)		+	140	7	25	25	5
			119	13	28	23	7
検体	313	+	139 133	5 2	22 35	21 27	7 8
	625		152 122	5 8	34 42	24 26	6 4
	1250	+	125 135	9 7	40 30	22 30	5 5
	2500#		132 160	10 15	29 35	21 18	4 5
	5000#	+	125 134	10 12	34 34	13 19	6 7
陽性対照			名称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2
S-9Mixのを必要 としないもの	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0	
		コロニー数/プレート	490 454	158 164	61 70	292 277	1526 1514
	S-9Mixのを必要 とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
コロニー数/プレート	876 853	203 217	721 669	341 330	88 71		

* : 菌の生育阻害が認められた。 # : 検体による沈殿が認められた。 NT : 試験していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

8) の復帰変異原性試験結果(2回目)

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対象 (DMSO)		-	102 104	6 13	19 25	18 25	9 5
検体	2.44	-	NT	NT	NT	18 16	NT
	4.88	-	NT	NT	NT	18 23	NT
	9.77	-	NT	NT	NT	25 12	10 8
	19.5	-	NT	NT	NT	18 22	10 7
	39.1	-	NT	NT	NT	28 19	11 5
	78.1	-	NT	NT	NT	19* 23*	5 6
	156#	-	NT	NT	NT	NT	8 10
	313#	-	104 123	7 8	21 26	NT	5* 5*
	625#	-	108 126	9 8	17 16	NT	NT
	1250#	-	106 123	15 7	18 16	NT	NT
	2500#	-	124 116	12 14	19 20	NT	NT
5000#	-	119 109	11 15	13 19	NT	NT	
溶媒対象 (DMSO)		+	119 121	12 13	21 26	35 30	13 10
検体	313	+	113 113	9 7	20 26	22 26	13 10
	625	+	114 142	10 11	22 25	28 36	7 8
	1250	+	131 128	7 8	24 19	25 36	6 7
	2500#	+	140 133	12 10	19 26	37 28	9 7
	5000#	+	142 131	13 8	26 26	28 23	17 13
陽性対照	S-9Mixのを必要 としないもの	名称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
		コロニー数/プレート	580 586	463 402	64 64	339 313	987 1054
	S-9Mixのを必要 とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
		コロニー数/プレート	906 901	309 268	705 688	366 379	100 82

* : 菌の生育阻害が認められた。 # : 検体による沈殿が認められた。 NT : 試験していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

9) の復帰変異原性試験結果

物質	検体濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対象 (DMSO)		-	109	8	22	26	13
			102	11	30	29	14
検体	313	-	121	11	28	29	16
			114	13	37	33	12
	625	-	112	10	27	34	12
			99	11	32	28	7
	1250	-	100	9	30	29	3
			106	11	29	33	4
	2500	-	107	7	31	33	5
			101	5	31	26	4
	5000	-	99	4	28	18	9
			104	11	33	29	16
溶媒対象 (DMSO)		+	130	10	14	38	27
			141	7	14	42	24
検体	78	+	NT	NT	NT	NT	22
							26
	156	+	NT	NT	NT	NT	24
							21
	313	+	129	7	17	34	18
			140	8	14	49	17
	625	+	113	3	14	41	#*
			136	6	19	31	#*
1250	+	141	7	13	30	#*	
		128	5	21	26	#*	
2500	+	117	4*	17	24	NT	
		120	4*	14	19		
5000	+	109*	#*	11	22*	NT	
		131*	#*	9	17*		
陽性対照	S-9Mixのを必要 としないもの	名称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2	9-AA
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数/プレート	293	262	138	301	240
	S-9Mixのを必要 とするもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数/プレート	921	93	285	89	81
		883	113	241	93	92	

* : 菌の生育阻害が認められた。 # : 計測不能であった。 NT : 試験していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

3. 製剤

1) 5%粒剤

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 46)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体の純度：5%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 5.7%

鋳物質微粉等； 94.3%

試験動物： ICR 系マウス (7 週齢)、1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 14 日間観察

方法： 検体を粉砕した後、コーンオイルに懸濁して投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、1000、1300、1600、2100、 2700、3600、4600 (雄のみ)
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：2520 雌：1944 (1987~3137) (1562~2460)
死亡開始時間 及び終了時間	0.5 時間 4 日
症状発現時間 及び消失時間	15 分 3 日
最大無作用量 (mg/kg)	〔死亡の認められなかった最高投与量〕 雄：1600、雌：1000

中毒症状としては、雌雄に関係なく、自発運動の減少、呼吸粗大、流涎、振顫ならびに腹臥が観察された。解剖所見において、死亡例では肺の暗赤色化、腺胃部に暗赤色点の散在、一部では胃内に褐色から黒褐色稠液の貯留および脾臓の萎縮が認められた。生存例では主要臓器に著変は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットにおける急性経口及び経皮毒性試験

(資料 4)

試験機関 : (経口)
: (経皮)
報告書作成年 : 1983 年

検体の純度 : 5% 粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体 ; 5.7%
鉍物質微粉等 ; 94.3%

試験動物 : SD系ラット (7週齢)、1群雌雄各10匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 経口投与では検体を粉砕した後、コーンオイルに懸濁して投与した。
経皮投与では、検体に少量の生理食塩水を加えてペースト状にし、それを刈毛した背部皮膚 (20 cm²) に24時間塗布した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口	経皮
投与量 (mg/kg)	0, 590, 770, 1000, 1300, 1690	0, 2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 : 1078.8 (961.3~1210.3) 雌 : 924.4 (808.0~1050.1)	雌雄共に >2000
死亡開始時間 及び終了時間	1時間 72時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	数分 3日	著変なし
最大無作用量 (mg/kg)	〔 死亡の認められなかった最高投与量 〕 雌雄共に : 590	雌雄共に 2000

中毒症状としては、経口投与では雌雄に関係なく、洗眼様動作、自発運動の減少、振顫、流涎、下痢、腹臥あるいはうずくまりの姿勢、呼吸数の減少並びに被毛の汚れが観察された。経皮投与では一般状態の異常は認められなかった。解剖所見においては、経口及び経皮投与では死亡例ならびに生存例とも主要臓器に著変は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 7-2)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体の純度：5%粒剤

[組成] ペンフラカルブ原体； 5.7%

鋳物質微粉等； 94.3%

試験動物： 日本白色種ウサギ（体重 2.96～3.30 kg）、1群雄 6匹

試験期間： 7日間観察

方法： 背部被毛を刈毛した後、1匹につき 6.25 cm²の無傷皮膚部位と有傷皮膚部位をそれぞれ2ヶ所設け、各1ヶ所に0.5gの検体を生理食塩水で湿らせ24時間塗布した。皮膚に残った検体は水を用いて拭き取った。

試験項目： 塗布後24時間、48時間、72時間及び168時間後に塗布部位の刺激性変化（紅斑、浮腫及び痂皮）の有無と程度を観察した。

結果： 観察した刺激性変化を Draize の評価表に従って採点した結果は、下表のとおりであった。

群	項目	観察項目	塗布後の時間			
			24時間	48時間	72時間	168時間
無傷皮膚 (6匹平均)	紅斑・痂皮	0.33	0.33	0	0	
	浮腫	0	0	0	0	
	合計	0.33	0.33	0	0	
有傷皮膚 (6匹平均)	紅斑・痂皮	0.33	0.33	0	0	
	浮腫	0	0	0	0	
	合計	0.33	0.33	0	0	

無傷皮膚及び有傷皮膚共に塗布後24時間で、6例中2例に軽微な紅斑が認められたが、これらの症状は塗布後72時間で消失した。

以上の結果より、ペンフラカルブ5%粒剤はウサギの皮膚に対して極めて軽微の刺激性があるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料 6-2)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体の純度：5%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 5.7%

鉍物質微粉等； 94.3%

試験動物： 日本白色種ウサギ（体重 2.80~3.15 kg）、洗眼群 3 匹及び無洗眼群 6 匹

試験期間： 7 日間観察

方法： 0.1 g の検体を左眼に点眼し、3 匹は 20~30 秒後に微温湯で 1 分間洗眼した（洗眼群）。残り 6 匹については洗眼しなかった（無洗眼群）。

試験項目： 点眼後 24 時間、48 時間、72 時間、4 日及び 7 日後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察した。

結果： 観察した刺激性変化を Draize の評価表に従って採点した結果は、下表のとおりであった。

群	項目	観察項目	投与後の時間				
			24 時間	48 時間	72 時間	4 日	7 日
洗眼群 (3 匹平均)		角膜	0	0	0	0	0
		虹彩	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0
		分泌物	0	0	0	0	0
	合計	0	0	0	0	0	
無洗眼群 (6 匹平均)		角膜	0	0	0	0	0
		虹彩	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	1.0	0	0	0	0
		浮腫	1.0	0	0	0	0
		分泌物	1.7	0	0	0	0
	合計	3.7	0	0	0	0	

洗眼群では刺激反応は見られなかったが、無洗眼群では結膜の軽微の発赤、腫脹及び分泌物が見られた。

以下の結果より、ベンフラカルブ 5% 粒剤はウサギの眼粘膜に対して軽微の刺激性があるが、混入後直ちに洗眼した場合は刺激性が軽減されるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

2) 1%粒剤

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 47)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検体の純度: 1%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体; 1%
鋳物質細粒等; 99%

試験物質: CD-1 系マウス (5 週齢)、体重 19~27 g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

方法: 検体をコーンオイルに懸濁して 3 時間間隔で 2 回、合計 5000 mg/kg を 18 時間絶食した動物に投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共に >5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	15 分 21 日
最大無作用量 (mg/kg)	(死亡の認められなかった最高投与量) 雌雄共に 5000

中毒症状としては、全ての動物に振顫、自発運動の減少及び、うずくまり姿勢が観察されたが 2 日目には回復した。

解剖所見においては、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 48-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度：1%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体：1%

鉱物質細粒等：99%

試験物質：CD (SD) 系マウス (5週齢)、体重105~120 g、1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体をコーンオイルに懸濁して18時間絶食した動物に投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共に>5000
死亡開始時間 及び終了時間	15分 30分
症状発現時間 及び消失時間	15分 5日
最大無作用量 (mg/kg)	(死亡の認められなかった最高投与量) 雌雄共に<5000

中毒症状としては、雌雄に関係なく、自発運動の減少、運動失調、腹臥、振顫、頻呼吸、減呼吸、ラ音、鼻周囲の汚れ、流涎、うずくまり姿勢、るい瘦及び瞳孔散大が観察された。死亡動物の剖検では、肺の黒色調、肺の不完全虚脱及び胸腔内の淡色・軟質塊状物質の変化がみられた。これらの死亡動物は、試験に用いた調製液の濃度が高く、この調製液の投与が難しかったことから、投与ミスによる外傷に起因したものと考えられる。生存動物の剖検では著変は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 48-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度：1%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 1%

鉱物質細粒等； 99%

試験物質： CD (SD) 系マウス (7~9 週齢)、体重 221~235 g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 14 日間観察

方法： 検体をガーゼに取り約 0.2 mL の蒸留水で湿らせ、このガーゼを刈毛した背部皮膚に 24 時間塗布した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共に >2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	著変なし
最大無作用量 (mg/kg)	(死亡の認められなかった最高投与量) 雌雄共に 2000

中毒症状としては、大部分の動物に鼻周囲の有色物による汚れ及び 1 例の雌に眼から有色分泌物が投与日にみられた。全ての動物に全身的な毒性の著明な症状及び皮膚反応は認められなかった。

解剖所見においては、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 50)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：1%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 1%

鉍物質細粒等； 99%

試験物質： New Zealand White 種ウサギ (3ヶ月齢)、体重 2.92~3.48 kg、1群6匹

試験期間： 72時間観察

方法： 0.5 g の検体を刈毛した動物の背中中の皮膚 (6 cm 四方) に直接塗布した。適用時間は4時間とし、皮膚に残った検体は水を用いて取り除いた。

観察項目： 検体除去後1、24、48及び72時間後に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

観察項目	最高値	適用後の時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

注) 表の点数は6匹の平均値である。

観察期間を通して、全ての動物に刺激性反応は認められなかった。

以上の結果からベンフラカルブ 1%粒剤はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料 49)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度：1%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 1%

鋳物質細粒等； 99%

試験物質： New Zealand White 種ウサギ (3.5ヶ月齢)、体重 2.93~3.90 kg、
洗眼群 3 匹及び非洗眼群 6 匹

試験期間： 8 日間観察

方法： 検体 0.1 g を右眼に点眼し、3 匹は 2 分後に洗眼した (洗眼群)。6 匹については洗眼しなかった (非洗眼群)。

観察項目： 点眼後 1、24、48、72 時間及び 8 日後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目 群	観察項目	最高 値	点眼後の時間				
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	8 日
洗眼群 (3 匹平均)	角膜混濁 (程度)	4	0	0	0	0	—
	角膜混濁 (面積)	4	0	0	0	0	—
	虹彩	2	0	0	0	0	—
	結膜発赤	3	1.3	0.3	0.3	0	—
	結膜浮腫	4	0.3	0	0	0	—
	結膜分泌物	4	0	0	0	0	—
非洗眼群 (6 匹平均)	角膜混濁 (程度)	4	0	0.7	0.2	0	0
	角膜混濁 (面積)	4	0	0.7	0.2	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	0
	結膜発赤	3	0.8	1.3	1.2	1.2	0
	結膜浮腫	4	0.7	0.5	0	0	0
	結膜分泌物	4	0.8	0.8	0.5	0.5	0

注) 表の点数は平均値である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

角膜の刺激性変化は洗眼群では認められなかったが、非洗眼群では極く小範囲に及ぶ軽度の角膜混濁が点眼後 24～72 時間に 4 例認められた。

虹彩の刺激性変化は洗眼群及び非洗眼群ともに認められなかった。

結膜の刺激性変化は、洗眼群では軽度の発赤が点眼後 1～48 時間に全例、軽度の浮腫が点眼後 1 時間に 1 例認められた。非洗眼群では軽度の発赤が点眼後 1～72 時間に全例、軽度の浮腫が点眼後 1～24 時間に 4 例、軽度の分泌物が点眼後 1～72 時間に 5 例認められた。

以上の結果から、ベンフラカルブ 1 % 粒剤はウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性があるものと思われる。また、混入後直ちに洗眼した場合は刺激性が軽減されるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 51)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検体の純度: 1% 粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体; 1%
鉍物質細粒等; 99%

試験物質: Hartley 系モルモット、体重 344~500g、

検体投与群; 1 群雌雄各 10 匹

刺激性対照群; 1 群雌雄各 10 匹

陽性対照群; 1 群雌雄各 5 匹

陽性刺激対照群; 1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 30 日間観察

方法: Buehler 法

用量予測試験;

感作: 背部の被毛を刈毛し、1 回につき検体の 50% (w/v) パラフィンオイル懸濁液 0.25 mL を 6 時間塗布し、これを週 1 回で連続 3 週間行った。

陽性対照群には DNCB (ジニトロクロロベンゼン) の 3% (w/v) のエタノール溶液 0.25 mL を同様に塗布した。

惹起: 最終感作の 2 週間後に検体の 50% 及び 10% (w/v) パラフィンオイル懸濁液 0.25 mL を、陽性対照には DNCB の 0.1% (w/v) のアセトン溶液 0.25 mL を皮膚に 6 時間塗布した。

刺激性対照群にも同様の惹起処理を行った。

観察項目: 惹起及び再惹起 24 時間及び 48 時間後に、適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

結果：

対象物質	項目 処理後の 観察時間 (hr)	各評点に該当する動物数					反応のみ られた全 動物数
		0	±	1	2	3	
DNCB	24	3	3	4	0	0	7/10
	48	3	3	4	0	0	7/10
DNCB (刺激性対照)	24	10	0	0	0	0	0/10
	48	10	0	0	0	0	0/10
ベンフラカルブ 1% 粒剤 50% (w/v)	24	17	3	0	0	0	3/20
	48	20	0	0	0	0	0/20
ベンフラカルブ 1% 粒剤 50% (w/v) (刺激性対照)	24	20	0	0	0	0	0/20
	48	20	0	0	0	0	0/20
ベンフラカルブ 1% 粒剤 10% (w/v)	24	18	2	0	0	0	2/20
	48	20	0	0	0	0	0/20
ベンフラカルブ 1% 粒剤 10% (w/v) (刺激性対照)	24	20	0	0	0	0	0/20
	48	20	0	0	0	0	0/20

採点基準： 0；反応なし

±；極く軽度の紅斑

1；軽度の紅斑

2；中等度の紅斑

3；高度の紅斑

50% (w/v) の検体処理群において 20 匹の動物のうち 3 匹に、10% (w/v) の検体処理群において 20 匹の動物のうち 2 匹に極く軽度の紅斑が認められた。これらの反応は処理操作による非特異的反応と考えられた。

刺激性対照群の動物には反応が認められなかった。

陽性対照群においては、10 匹の動物のうち 3 例に極く軽度の紅斑が 4 例に軽度の紅斑が認められた。

以上の結果から、ベンフラカルブ 1% 粒剤のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

3) 8%粒剤

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 52)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度：8%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 8%
鋳物質細粒等； 92%

試験動物： Cri:CD(SD)系ラット、5~6週齢、体重：雄 144.7~160.2 g、雌 107.2~124.6 g
1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 乳鉢で微粉碎した検体をコーンオイルに懸濁し、20 mL/kgの投与量で強制経口投与した。投与前に約18時間絶食した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	
投与量 (mg/kg)	585、795、1081、1471、2000	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：1261.0 (1022.1~1555.7)	雌：1254.6 (971.6~1659.8)
死亡開始時間 及び終了時間	1日 2日	
症状発現時間 及び消失時間	5分 4日	
死亡の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	585	

中毒症状としては、雌雄に関係なく筋肉の繊維束性収縮、歩行異常、自発運動の低下、水様性下痢及び肛門周囲の汚れがみられ、高用量群では振顫、流涎、流涙、痛覚麻痺、眼球突出、鎮静及び紅涙が観察された。

剖検所見では、主要な組織に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 53)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体の純度：8%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 8%
鋳物質細粒等； 92%

試験動物： Crj:CD-1 (ICRD) 系マウス、5~6 週齢、体重：雄 25.3~32.3 g、雌 22.1~26.0 g
1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 14 日間観察

方法： 乳鉢で微粉碎した検体をコーンオイルに懸濁し、20 mL/kg の投与量で強制経口投与した。投与前に約 3 時間絶食した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	
投与量 (mg/kg)	651、911、1276、1786、2500	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：1711.7 (1337.1~2244.2)	雌：1315.6 (1005.3~1711.9)
死亡開始時間 及び終了時間	15 分 1 日	
症状発現時間 及び消失時間	5 分 2 日	
死亡の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	651	

中毒症状としては、雌雄に関係なく自発運動の低下、筋肉の繊維束性収縮、歩行異常、流涙、水様性下痢及び肛門周囲の汚れがみられた。高用量投与群では振顫、間代性痙攣、深呼吸、流涎及び鎮静が観察された。

剖検所見では、主要な組織に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 54)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体の純度：8%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 8%
鋳物質細粒等； 92%

試験動物： Crj:CD (SD) 系ラット、7~8 週齢、体重：雄 286.1~308.3 g、雌 197.2~220.3 g
1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 14 日間観察

方法： 微粉碎した検体を注射用水で湿らせ、刈毛した動物の頸背部に 4×5 cm のリント布を用いて 24 時間閉塞貼付した。対照群には、注射用水で湿らせたリント布のみを同様に貼付した。投与後 24 時間に被覆物を除去し、残存する検体を注射用水を用いて洗浄した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：>2000 雌：>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状なし
最大無作用量 (mg/kg)	2000
死亡の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状ならびに剖検所見とも、特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 56)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体の純度：8%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 8%

鋳物質細粒等； 92%

試験動物： 日本白色種雄性ウサギ、9～10 週齢、体重：1.71～2.16 kg、1 群 6 匹

試験期間： 72 時間観察

方法： 微粉碎した 0.5 g の検体を注射用蒸留水で湿らせ、刈毛した動物の背中に 2.5×2.5 cm のリント布を用いて 4 時間閉塞貼付した。リント布のみを同様に貼付した部位を対照とした。パッチ除去直後に投与部位を注射用蒸留水を用いて洗浄した。

試験項目： 塗布終了後 1、24、48、72 時間に塗布部位の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無等を観察し、農水省ガイドラインの判定基準に従って採点した。刺激性の採点から、皮膚一次刺激指数を算出し、Association Francaise de Normalization (A. F. N. O. R) の刺激性強度の基準に従い、分類した。

結果：

群	項目	最高評点	投与後時間			
			時間	24 時間	48 時間	72 時間
検体	紅斑・痂皮	4	0.33	0.17	0.00	0.00
	浮腫	4	0.00	0.00	0.00	0.00
	合計	8	0.33	0.17	0.00	0.00
対照	紅斑・痂皮	4	0.00	0.00	0.00	0.00
	浮腫	4	0.00	0.00	0.00	0.00
	合計	8	0.00	0.00	0.00	0.00

2 例の検体塗布部位においてパッチ除去後 1 時間に評点 1 の紅斑がみられたが、全ての皮膚反応は 48 時間までに消失した。皮膚一次刺激指数は 0.13 であり、A. F. N. O. R の基準に従って、検体は無刺激物に分類された。

対照部位では皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して、軽微な皮膚刺激性を有すると思われたが、A. F. N. O. R の基準では無刺激物に分類される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料 55)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体の純度：8%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 8%

鋳物質細粒等； 92%

試験動物： 日本白色種雄性ウサギ、9~10 週齢、体重：1.83~2.03 kg、1 群 9 匹

試験期間： 7 日間観察

方法： 微粉碎した 0.1 g の検体を右眼に点眼し、3 匹は 3 分後に生理食塩水を用いて洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。

試験項目： 投与後 1、24、48、72 時間、4、5 及び 7 日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize らの眼反応の判定基準に従って採点した。採点した数値に基づき、Kay & Calandra の眼刺激性強度の分類法により眼刺激性の強度を分類した。

結果： 観察した刺激性変化の採点および刺激性の合計は下表のとおりである。

項目			投与後時間						
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	7 日
非洗眼群 (6 匹平均)	角膜 混濁	程度	0.00	0.50	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00
		面積	—	0.50	0.33	—	—	—	—
	虹彩		1.00	0.67	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	結膜	発赤	2.00	2.00	1.50	1.33	1.33	0.17	0.00
		浮腫	2.83	1.00	0.33	0.17	0.17	0.00	0.00
		分泌物	2.00	0.67	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00
	合計 ^{a)}		18.67	13.17	6.33	3.00	3.00	0.33	0.00
洗眼群 (3 匹平均)	角膜 混濁	程度	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		面積	—	—	—	—	—	—	—
	虹彩		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	結膜	発赤	1.67	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		浮腫	1.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0
		分泌物	0.33	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	合計 ^{a)}		6.67	1.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

^{a)} : (角膜混濁の程度×面積×5) + (虹彩×5) + (結膜の発赤+浮腫+分泌物) ×2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

非洗眼群では、投与後1時間で虹彩に評点1の変化、結膜に評点2の発赤、評点2～3の浮腫、評点2の分泌物が全例にみられた。投与後24時間には角膜に評点1の混濁が3例にみられた。これらの変化は次第に回復し、投与後7日には刺激性変化は全て消失した。洗眼群では、投与後1時間に結膜に評点1～2の発赤と浮腫が全例にみられたものの、投与後48時間までに全て消失した。

非洗眼群における刺激性変化の合計の最高値は投与後1時間の18.67であったが、眼反応が投与後96時間以内に消失しなかったことから、Kay & Calandraの眼刺激性強度の分類法により中等度刺激物に分類された。

以上の結果から、本剤はウサギの眼粘膜に対して、中等度の刺激性があるものと思われる。また、その刺激性は洗眼処置により軽減されると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 57)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体の純度：8%粒剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 8%
鋳物質細粒等； 92%

試験動物： Hartley 系雌性モルモット、5~6 週齢、体重：314~384 g

検体投与群； 1 群 20 匹

刺激性対照群； 1 群 10 匹

陽性対照群； 1 群 10 匹

陽性刺激対照群； 1 群 10 匹

試験期間： 30 日間観察

方法： Buehler 法

用量予測試験；

感作； 背部の被毛を刈毛し、1 回につき検体の 60% (w/v) 注射用水懸濁液 0.20mL を 6 時間塗布し、これを週 1 回で連続 3 週間行った。

陽性対照群には DNCB (ジニトロクロロベンゼン) の 1% (w/v) のエタノール溶液を同様に塗布した。

惹起； 最終感作の 2 週間後に検体の 60% (w/v) 注射用水懸濁液 0.20mL を、陽性対照には DNCB の 0.1% (w/v) のエタノール溶液 0.20 mL を皮膚に 6 時間塗布した。

刺激性対照群にも同様の惹起処理を行った。

観察項目： バッチ除去後 24 及び 48 時間に適用部位の皮膚反応を観察し、Magnusson らの判定基準に従って皮膚反応の強さを判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

結果：各観察時間における皮膚反応の採点は以下の表のとおりである。

試験群			供試動物数	感作反応動物数								陽性動物数
群	感作	惹起		24時間				48時間				
				0	1	2	3	0	1	2	3	
検体感作群	60%懸濁液	60%懸濁液	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0
陽性物質群	1%DNCB	0.1%DNCB	10	0	0	1	9	0	0	3	7	10
検体対照群	注射用水	60%懸濁液	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0
陽性物質 対照群	80%エタノール	0.1%DNCB	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0

検体感作群では、皮膚反応は全く認められなかった。一方、陽性物質群では全動物に明瞭な皮膚反応が認められた。陽性物質群の感作率が100%であったことから、本試験に使用したモルモットは既知の感作物質であるDNCBに正常な反応を示すことが確認された。

検体及び陽性物質対照群に皮膚反応が認められなかったことより、検体及び陽性物質の惹起濃度が適切であったことが確認された。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

4) 20%マイクロカプセル

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 58)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体の純度: 20%マイクロカプセル剤

[組成] ベンフラカルブ原体; 20%
水、界面活性剤等; 80%

試験動物: Sprague-Dawley 系ラット、8~11 週齢、体重: 雄 209~247 g、雌 212~238 g
1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

方法: 無希釈の検体をシリンジおよびプラスチックカテーテルを用いて強制経口投与した。
投与前に 1 晩絶食した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与前、投与後 8 および 15 日に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	320、500、800
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 644 (464~1012) 雌: 643 (470~988)
死亡開始時間 及び終了時間	30 分 1 日
症状発現時間 及び消失時間	6 分 10 日
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 320

中毒症状としては、立毛、円背位、よろめき歩行、嗜眠、呼吸困難、四肢の蒼白、流涎、つま先歩行、振戦、全身衰弱およびグルーミングの消失がみられた。体重および肉眼的病理検査では、特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 59)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体の純度：20%マイクロカプセル剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 20%

水、界面活性剤等； 80%

試験動物： Crj:CD-1 (ICR) 系ラット、～6 週齢、体重：雄 30.7～35.7 g、雌 21.4～25.2 g
1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 14 日間観察

方法： 検体を注射用水に懸濁し、10mL/kg の投与液量で急性経口投与した。投与前約 3 時間絶食した。

試験項目： 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与前、投与後 1、2、3、7 および 14 日に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	492、614、768、956、1200、1500
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：787.8 (665.8～931.6) 雌：938.9 (789.8～1125.1)
死亡開始時間 及び終了時間	15 分 30 分
症状発現時間 及び消失時間	5 分 1 日
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 614

中毒症状としては、雌雄に関係なく筋肉の繊維束性収縮および自発運動の低下がみられ、高用量投与群では振戦、不整呼吸、歩行異常、流涎、流涙および鎮静が観察された。

体重および肉眼的病理検査では、特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 60)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

検体の純度：20%マイクロカプセル剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 20%

水、界面活性剤等； 80%

試験動物： Sprague-Dawley 系ラット、10~12 週齢、体重：雄 266~294 g、雌 238~248 g
1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 14 日間観察

方法： 無希釈の検体を刈毛した動物の背腰部（約 50×50 mm）に適用し、ガーゼおよび防水性フィルムで 24 時間固定した。投与後 24 時間に被覆物を除去し、残存する検体を温水で洗浄した。

試験項目： 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与前、投与後 8 および 15 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄とも>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状なし
最大無作用量 (mg/kg)	2000
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状、体重および肉眼的病理検査では、特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 61)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

検体の純度：20%マイクロカプセル剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 20%

水、界面活性剤等； 80%

試験動物： Sprague-Dawley 系ラット、7~9 週齢、体重：雄 271~306 g、雌 216~238 g
1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 14 日間観察

方法： 蒸留水で希釈 (60:40) した検体をシリンジポンプを用いてエアロゾル発生装置に供給し、4 時間鼻部暴露した。

実測濃度；0、1.07 mg/L (技術的に発生可能な最大濃度)

暴露空気をガラスフィルターを用いて捕集し、秤量法および化学分析法により実測濃度を求めた。

暴露条件；

設定濃度 (mg/L)	49
実測濃度 (mg/L)	1.07
粒子径分布 (%) ^{a)}	
>9.8	21.5
6.0~9.8	36.5
3.5~6.0	16.0
1.55~3.5	20.3
0.93~1.55	4.2
0.52~0.93	1.5
<0.52	0.0
空気力学的質量中位径 (μm)	5.9
吸入可能な粒子 (<7 μm) の割合 (%)	58
チャンバー容積 (L)	30
チャンバー内通気量 (L/分)	25
暴露条件	エアロゾル、4 時間、鼻部暴露

^{a)}：秤量法により測定した平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。体重、摂餌量および摂水量は毎日測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行い、肺の重量を測定した。

結果：

投与方法	吸入
投与量 (mg/L)	1.07
LC ₅₀ 値 (mg/L)	雌雄とも>1.07
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	暴露開始直後 1日
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1.07

暴露終了直後に振戦、呼吸運動の強調、体温低下および被毛の濡れがみられた。体重、摂餌量、摂水量、肉眼的病理検査ならびに肺重量（対体重比）に検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 63)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

検体の純度：20%マイクロカプセル剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 20%

水、界面活性剤等； 80%

試験動物： ニュージーランド白色種ウサギ、12~20 週齢、体重：雄 2.9~4.0 kg、1 群 6 匹

試験期間： 96 時間観察

方法： 0.5 mL の検体を 2.5×2.5 cm のガーゼパッドを用いて、刈毛した動物の背腰部の皮膚に 4 時間塗布した。パッチ除去直後に投与部位を生理食塩水を用いて洗浄した。

試験項目： 塗布終了後 1、24、48、72 および 96 時間に塗布部位の刺激性変化（紅斑・痂皮、浮腫）の有無等を観察した。

結果： 観察した刺激性変化は以下の表に示した。

項目	最高 評点	投与後時間				
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間
紅斑・痂皮	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

注) 表中の数値は 6 例の平均値を示した。

試験期間を通して、全ての動物に皮膚反応はみられなかった。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して刺激性を有さないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料 62)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

検体の純度：20%マイクロカプセル剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 20%

水、界面活性剤等； 80%

試験動物： ニュージーランド白色種ウサギ、15~20 週齢、体重：雄 3.4~4.1 kg、1 群 9 匹

試験期間： 72 時間観察

方法： 0.1 mL の検体を下眼瞼内に点眼した。反対側の眼は無処置とし、対照とした。

試験項目： 投与後 1、24、48 および 72 時間に角膜、虹彩ならびに結膜の刺激性変化を観察した。

結果： 観察した刺激性変化の採点および刺激性の合計は以下の表に示した。

項目		最高 評点	投与後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
角膜混濁	程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0
	面積	4	0.0	0.0	0.0	0.0
虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0
結膜	発赤	4	1.2	0.2	0.0	0.0
	浮腫	3	0.0	0.0	0.0	0.0
合計		17	1.2	0.2	0.0	0.0

注) 表中の数値は 6 例の平均値を示した。

投与後 1 時間に全例に結膜の発赤がみられ、1 例の反応は農林水産省のガイドラインでは陽性であった。これらの刺激性変化は 48 時間では消失した。

以上の結果から、本剤はウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性を有するものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 64)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

検体の純度：20%マイクロカプセル剤

[組成] ベンフラカルブ原体； 20%

水、界面活性剤等； 80%

試験動物： Hartley 系雄性モルモット、5~8 週齢、体重：362~494 g

検体感作群； 1 群 20 匹

検体対照群； 1 群 20 匹

陽性物質感作群； 1 群 10 匹

陽性物質対照群； 1 群 10 匹

試験期間： 30 日間観察

方法： Maximization 法

投与量設定根拠；

皮内感作；肩甲骨上の背部被毛を約 40×60 mm の範囲で刈毛し、1) 水道水と等量混合した Freund's complete adjuvant、2) 水道水で 7.5% (v/v) に調製した検体、および 3) Freund's complete adjuvant と水道水を等量混合した液で調製した 7.5% (v/v) の検体を検体感作群動物に皮内投与した。陽性物質感作群動物には、10% (v/v) の Hexyl cinnamic aldehyde (HCA) を用いて同様に皮内投与した。

検体および陽性物質非感作群動物には、検体およびHCAを用いずに同様に処置した。

経皮感作；皮内感作後 6 日に、肩甲骨間領域の被毛を 40×60 mm の範囲で刈毛・剃毛し、0.5mL の 1% (v/v) のウラリル硫酸ナトリウム含有ワセリンを塗布した。24 時間後に無希釈の検体を検体感作群動物に 24 時間閉塞貼付した。陽性物質感作群動物には、無希釈の HCA を用いて同様に感作した。

検体および陽性物質非感作群動物には、検体およびHCAを用いずに同様に処置した。

惹起；経皮感作の 2 週間後に左脇腹領域の被毛を刈毛・剃毛し、無希釈および蒸留水で希釈した 50% (v/v) の検体を検体感作および非感作群動物に 24 時間閉塞貼付した。陽

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

性物質感作および非感作群動物には、無希釈および50% (v/v) のHCAを用いて同様に閉塞貼付した。

観察項目： 閉塞貼付除去後24、48および72時間に適用部位の皮膚反応を観察した。

結果： 各観察時間における皮膚反応のみられた動物数を以下の表に示した。

試験群	感作	惹起	供試動物数	24時間		48時間		72時間		反応のみられた動物数
				紅斑	痂皮	紅斑	痂皮	紅斑	痂皮	
検体感作群	7.5%希釈液	無希釈液	20	6	2	6	2	5	2	6/19 ^{a)}
		50%希釈液		0	0	0	0	0	0	
検体非感作群	—	無希釈液	20	0	0	0	0	0	0	0/20
		50%希釈液		0	0	0	0	0	0	
陽性物質感作群	10% HCA	無希釈液	10	10	9	9	7	/	10/10	
		50%希釈液		10	7	9	6			
陽性物質非感作群	—	無希釈液	10	0	0	0	0		0/10	
		50%希釈液		0	0	0	0			

a)：足骨折のため、1例を安楽死した。

検体感作群では7例に皮膚反応がみられ、その内6例は陽性反応を示した。

陽性物質群の感作率が100%であったことから、本試験に使用したモルモットは既知の感作物質であるHCAに正常な反応を示すことが確認された。検体および陽性物質対照群に皮膚反応が認められなかったことより、検体および陽性物質の惹起濃度が適切であったことが確認された。

以上の結果から、本剤のモルモットに対する皮膚感作性は陽性であると思われる。