

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6) コイを用いた急性毒性試験

(資料No. 1)

被験物質： フロアブル (クロルフェナピル 10.0%)

供試生物： コイ (学名 *Cyprinus carpio*)

10尾/群、体長 4.6 ± 0.16 cm、体重 1.0 ± 0.19 g

方 法： 必要量の被験物質を試験用水に添加し、攪拌して試験液を調製した。試験液は曝露開始前および換水直前に調製した。被験物質を含まない試験用水のみの対照区を設けた。

試験液にコイを96時間暴露し、生死および症状を暴露24、48、72、96時間後に観察した。試験は半止水式で実施し、曝露期間中穏やかな曝気を行った。

試験水温： 22.8-23.0 °C

結 果：

設定濃度 (mg/L)	0.260、0.364、0.510、0.710、1.00	
LC50 (mg/L) (95%信頼限界)	24時間	>1.00
	48時間 ^a	0.642 (0.519~0.858)
	72時間 ^b	0.507 (0.401~0.639)
	96時間 ^b	0.463 (0.369~0.557)
NOEC (mg/L)	0.260	
死亡例の認められなかった最高濃度 (mg/L)	0.260	

a : Probit法 により算出

b : Moving average法により算出

曝露期間中に観察された症状は、表層集中、嗜眠状態および活動低下であった。対照区では、死亡および症状はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

7) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料No. 2)

被験物質： フロアブル (クロルフェナピル 10.0%)

供試生物： オオミジンコ (学名 *Daphnia magna*)

20頭/群 (生後24時間以内の幼体)

方 法： 必要量の被験物質を試験用水に添加し、攪拌して100mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液を攪拌しながら必要量を分取し、試験用水で希釈して0.100mg/Lの試験原液を調製した。これらの試験原液を攪拌しながら必要量分取して試験液を調製した。被験物質を含まない試験用水のみの対照区を設けた。

試験液にオオミジンコを24および48時間曝露し、遊泳阻害および症状を観察した。試験は止水式で実施した。

試験水温： 20.0 °C

結 果：

設定濃度 (mg/L)	0.000391、0.00156、0.00625、0.0250、0.100	
EC50 (mg/L) ^a (95%信頼限界)	24時間	0.0407 (0.0250~0.100)
	48時間	0.0407 (0.0250~0.100)
NOEC (mg/L)	0.00156	

a : Binominal法により算出

曝露期間中に観察された症状は、嗜眠状態、遊泳阻害および活動低下であった。対照区では症状はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

8) 藻類生長阻害試験

(資料No. 3)

被験物質： フロアブル (クロルフェナピル 10.0%)

供試生物： 緑藻 (学名 *Pseudokirchneriella subcapitata*, ATCC 22662)

初期濃度 1.0×10^4 cells/mL

方 法： 必要量の被験物質をOECD推奨培地で希釈して設定濃度0.772、4.63、27.8、167、1000 mg/Lの試験液を調製した。被験物質を含まない培地のみを対照区を設けた。

曝露開始後24時間ごとに、72時間まで細胞濃度を測定した。培養は白色蛍光ランプ (400~700 nm) による連続照明下 (照度 約4000 lux) で、振とう培養した。

培養温度： 23.1 ~23.5 °C

結 果：

設定濃度 (mg/L)	0.772、4.63、27.8、167、1000	
EC50 (mg/L) (95%信頼限界)	EbC50 (0-72h)	126 (38.3~412)
	ErC50 (24-48h)	>1000
	ErC50 (24-72h)	>1000
NOEC (mg/L)	NOEbC (0-72h)	0.772
	NOErC (24-48h)	27.8
	NOErC (24-72h)	27.8

1000および167 mg/L区では膨張している細胞がやや多くみられた。27.8 mg/L区では形状は対照区と同様であるが集合体を形成しているものが若干観察された。

2. 有用昆虫等に及ぼす影響

検体 : クロルフェナピル水和剤 (フロアブル) (10%)

分類	生物種	試験方法	試験結果			試験機関 (報告年)					
カ イ コ	カ イ コ (錦秋 ×鐘和) 4齡起蚕 初秋蚕期	野外桑葉に散布 検体(10%フロアブル)の 2000倍希釈液を 120L/10aで野外桑葉 に散布後、桑葉を採 取してカイコに摂食 させた。 1区50頭2連制	残毒期間 (初秋蚕期)								
			發育の斉一度 4~5 齡減蚕歩合								
			30日*	斉一	4%						
			40	斉一	4%						
			50	斉一	4%						
			*散布から桑葉採取までの日数								
コ	(初秋蚕期)										
			雌			雄		中毒 症状			
		結繭 蚕数	化繭 歩合	繭重	繭層 重	繭層 歩合	繭重		繭層 重	繭層 歩合	
		30日*	46	92	1.76	36.8	20.9	1.36	34.6	25.4	食欲不振
		40	46	92	1.69	35.9	21.3	1.35	34.9	25.9	食欲不振
		50	46	92	1.96	40.4	20.6	1.55	39.1	25.2	
		60	45	91	2.00	42.9	21.5	1.51	39.2	25.9	
		無散布	48	94	2.00	43.6	21.8	1.58	40.6	25.7	
		30日及び40日区で食欲不振となり、繭重、繭層重が劣り、 安全基準日数は50日である。									
		*散布から桑葉採取までの日数									

(有用昆虫等に及ぼす影響—つづき)

分類	生物種	試験方法	試験結果						試験機関 (報告年)	
カイコ	(錦秋× 鐘和)	野外桑葉に散布 検体(10%フ○アフ ル)の2000倍希釈 液を100L/10aで 野外桑葉に散布 後、桑葉を採取し てカイコに摂食 させた。 1区50頭2連制	残毒期間 (初秋蚕期)							
	4齡起蚕		發育の斉一度		4~5 齡減蚕歩合					
	初秋蚕期		29日*	不斉	0%					
			39	不斉	1%					
	晩秋蚕期		50	斉一	0%					
		60	斉一	0%						
			対照	斉一	0%					
(初秋蚕期)										
			雌			雄			中毒 症状	
		結繭 蚕数	化繭 歩合	繭重	繭層重	繭層 歩合	繭重	繭層重	繭層 歩合	
	29日*	50.0	98	2.59	58.2	22.5	2.02	54.4	27.0	経過不 遅延
	39	49.5	97	2.63	58.5	22.2	2.03	54.2	26.8	経過不 遅延
	50	50.0	98	2.65	58.7	22.2	2.04	55.2	27.1	異常なし
	60	50.0	99	2.60	57.4	22.1	2.04	55.5	27.2	異常なし
	対照	50.0	96	2.56	56.7	22.1	2.02	53.7	26.7	異常なし
残毒期間 (晩秋蚕期)										
		發育の斉一度		4~5 齡減蚕歩合						
	0日*	不斉		3%						
	5	不斉		1%						
	10	不斉		3%						
	15	不斉		9%						
	20	不斉		4%						
	対照	斉一		1%						
(晩秋蚕期)										
		雌			雄			中毒 症状		
		結繭 蚕数	化繭 歩合	繭重	繭層重	繭層 歩合	繭重	繭層重	繭層 歩合	
	0日*	48.5	95	2.01	45.6	22.7	1.50	41.3	27.6	経過不 遅延
	5	49.0	94	2.09	46.2	22.2	1.59	41.0	25.8	経過不 遅延
	10	48.5	90	2.00	44.4	22.2	1.59	41.8	26.4	経過不 遅延
	15	45.5	89	2.07	46.6	22.6	1.57	42.1	26.8	経過不 遅延
	20	48.0	92	1.97	42.6	21.7	1.57	40.8	26.1	経過不 遅延
	対照	50.0	99	2.01	42.5	21.2	1.61	41.1	25.6	異常なし
0日~20日区において發育の遅延、化繭歩合の低下及び死亡蚕の発生が認められ、 また、29日区及び39日区で發育の若干の遅延が認められたので安全日数は50日である。										
*散布から桑葉採取までの日数										

(有用昆虫等に及ぼす影響一つづき)

分類	生物種	試験方法	試験結果	試験機関 (報告年)																				
ミ ツ バ チ	セイヨウ ミツバチ (<i>Apis melliera</i>)	直接散布	<p><u>外役バチに対する影響</u></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>希釈倍率</th> <th>死亡率</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>250倍</td> <td>100 %</td> </tr> <tr> <td>500</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>1000</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>2000</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>4000</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>8000</td> <td>96.3</td> </tr> <tr> <td>16000</td> <td>54.7</td> </tr> <tr> <td>32000</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>対照 (水)</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table> <p>LC₅₀値は6ppmであり、強い殺虫性を示す。</p>	希釈倍率	死亡率	250倍	100 %	500	100	1000	100	2000	100	4000	100	8000	96.3	16000	54.7	32000	0	対照 (水)	0	
		希釈倍率	死亡率																					
250倍	100 %																							
500	100																							
1000	100																							
2000	100																							
4000	100																							
8000	96.3																							
16000	54.7																							
32000	0																							
対照 (水)	0																							
	<p><u>群態への影響</u></p> <p>検体(10%7077^βR)の2000倍希釈液を帰巢する働きバチに散布し、①~④は20日後まで、⑤は30日後まで調査した。</p>	<p><u>①女王バチの異常行動</u></p> <p>処理3日後まで女王バチが巢板を離れたり、産卵が不規則となる。</p> <p><u>②女王バチに対する働きバチの異常行動</u></p> <p>なし</p> <p><u>③巢内における働きバチの異常行動</u></p> <p>なし</p> <p><u>④働きバチの攻撃性の昂進</u></p> <p>処理3日後まで働きバチの攻撃性の昂進が認められた。</p> <p><u>⑤巣箱内外の働きバチの死亡数</u></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">30日後までの累積死亡数</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2000倍</td> <td>1105.0</td> </tr> <tr> <td>水散布区</td> <td>3.0</td> </tr> </tbody> </table> <p>速効性の強い影響が認められた。</p> <p>群態への影響が認められた。</p>	30日後までの累積死亡数		2000倍	1105.0	水散布区	3.0																
30日後までの累積死亡数																								
2000倍	1105.0																							
水散布区	3.0																							

(有用昆虫等に及ぼす影響一つづき)

分類	生物種	試験方法	試験結果	試験機関 (報告年)
ミ ツ バ チ	セイヨウ ミツバチ (<i>Apis melliera</i>)	<u>帰巢能力</u> 巣箱より200m 離れた地点で検体 (10%フロアブル)の 2000倍希釈液を外 役働きバチに散布 し、散布当日より 2日後までの帰巢 率を調べた。	<u>帰巢能力に及ぼす影響</u> 2日後の帰巢率 2000倍 0 % 対照 (水) 91.0% 帰巢する個体は見られず、帰巢能力へ の強い影響が認められた。	
		<u>訪花忌避</u> 検体(10%フロアブル)の 2000倍希釈液を開 花中のレンゲ畑散 布し、散布直後か ら5日後までの訪 花数を調べた。 散布圃場を訪花し ている個体を採取 し、48時間後まで の死亡率を調べた。	<u>訪花忌避に及ぼす影響</u> 訪花個体数 2000倍 対照 (水) 散布直前 28.0 27.7 散布直後 0.0 0.0 1時間後 27.3 27.0 3時間後 29.0 29.7 1日後 29.3 29.7 2日後 26.3 26.3 3日後 26.3 27.0 4日後 27.7 27.0 5日後 26.3 26.7 ミツバチの訪花忌避作用はない。 死亡率 2000倍 28.3% 対照 (水) 0 % 訪花したミツバチに死亡が認められた。 10%フロアブルの2000倍希釈液は、ミツバ チに対する殺虫性は極めて強く、野外で 活動中の個体や蜜源植物へ散布されると 外役バチやミツバチ群態に対してかなり の影響がある。	

(有用昆虫等に及ぼす影響一つづき)

分類	生物種	試験方法	試験結果	試験機関 (報告年)																										
ミ ツ バ チ	セイヨウ ミツバチ (<i>Apis mellifera</i>)	<u>いちご葉上の 残効性</u> ビニールハウスのいちごに、検体(10%7077P)の2000倍希釈液を散布し、1~10日後及び15日後にいちご葉を採取し、ミツバチに接触させ死亡率を調べた。 (1区3反復)	<u>ミツバチに対する影響</u> <table border="1"> <thead> <tr> <th>散布後日数</th> <th>死亡率</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1日後</td><td>28.3%</td></tr> <tr><td>2日後</td><td>21.7</td></tr> <tr><td>3日後</td><td>19.0</td></tr> <tr><td>4日後</td><td>17.3</td></tr> <tr><td>5日後</td><td>10.7</td></tr> <tr><td>6日後</td><td>5.7</td></tr> <tr><td>7日後</td><td>3.3</td></tr> <tr><td>8日後</td><td>1.7</td></tr> <tr><td>9日後</td><td>0.7</td></tr> <tr><td>10日後</td><td>0</td></tr> <tr><td>15日後</td><td>0</td></tr> <tr><td>無処理区</td><td>0</td></tr> </tbody> </table> <p>死亡率は散布1日後に28.3%で、その後漸減し、9日後に0.7%となり、10日以降は死亡が認められなかった。</p>	散布後日数	死亡率	1日後	28.3%	2日後	21.7	3日後	19.0	4日後	17.3	5日後	10.7	6日後	5.7	7日後	3.3	8日後	1.7	9日後	0.7	10日後	0	15日後	0	無処理区	0	
	散布後日数	死亡率																												
1日後	28.3%																													
2日後	21.7																													
3日後	19.0																													
4日後	17.3																													
5日後	10.7																													
6日後	5.7																													
7日後	3.3																													
8日後	1.7																													
9日後	0.7																													
10日後	0																													
15日後	0																													
無処理区	0																													
		<u>群態への影響</u> ビニールハウスのいちごに、検体(10%7077P)の2000倍希釈液を散布し、翌日ミツバチ巣箱を再導入し散布翌日より10日までと15、20、30日後に巣箱を内見した。 (1区2反復)	<p>①女王バチの異常行動 なし</p> <p>②女王バチに対する働きバチの異常行動 なし</p> <p>③巣内における働きバチの異常行動 なし</p> <p>④働きバチの攻撃性の昂進 なし</p> <p>⑤巣箱内外の働きバチの死亡数</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">30日後までの累積死亡数</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2000倍</td> <td>247.5</td> </tr> <tr> <td>無処理区</td> <td>1.0</td> </tr> </tbody> </table> <p>9日までの巣箱内外の死亡個体数は247.5頭で10日以降は死亡個体がほとんど見られなかった。</p> <p>群態への影響が認められなかった。</p>	30日後までの累積死亡数		2000倍	247.5	無処理区	1.0																					
30日後までの累積死亡数																														
2000倍	247.5																													
無処理区	1.0																													

(有用昆虫等に及ぼす影響—つづき)

分類	生物種	試験方法	試験結果	試験機関 (報告年)
ミ ツ バ チ	セイヨウ ミツバチ (<i>Apis mellifera</i>)	<u>訪花行動</u> ビニールハウスのいちごに、検体(10%7077β)の2000倍希釈液を散布し、翌日ミツバチ巣箱を再導入し散布翌日より15日までと20、25、30日後の訪花数を調べた。 (1区2反復)	<u>訪花行動に及ぼす影響</u> 訪花個体数 2000倍 無処理区 散布前日 26.0 28 1日後 10.0 24 5日後 13.5 28 10日後 19.5 19 15日後 22.0 19 20日後 24.0 24 25日後 27.0 23 30日後 25.5 23 散布翌日より訪花個体はみられたが、7日後までは無処理区の約半分、8~9日後は約3分の2であったが、10日以降は無処理区とほぼ同程度となった。 ビニールハウスのいちごに、10%7077βの2000倍希釈液を散布した場合、ミツバチ巣箱の再導入は散布後10日を経過してからが安全である。	
マ ル ハ ナ バ チ	マルハナバチ (<i>Bombus terrestris</i>)	<u>殺虫性</u> 検体(10%7077β)の1000~32000倍希釈液を働きバチに散布し、72時間後までの累積死亡数を調べた。 <u>導入群への影響</u> 検体(10%7077β)の2000倍希釈液をトマトハウス内に散布し、3日毎に4回にわたり、新しい群を導入し、①~③の項目を調べた。 <u>訪花試験</u> 上記ハウスで「振動採粉」するマルハナバチを調べた。 ・検体(10%7077β)の2000倍希釈液を散布後、9日間以上を経過してからマルハナバチを導入するのが安全である。	1000~8000倍の希釈濃度で100%の死亡であり、やや遅効性であった。 16000、32000倍では死亡はなかった。 <u>①働きバチ成虫の亡失数</u> 散布当日、散布3日後、6日後のいずれの導入においても、その後3日間の活動では帰巢しなかったり死亡した働きバチ成虫の割合が無処理区より高く、散布9日後の導入で影響がみられなくなった。 <u>②卵及び孵化幼虫への影響</u> 卵に対して、散布当日、散布3日後、6日後のいずれの導入後の働きバチに3日間活動させた場合、繭化率、羽化率に著しい影響があった。散布9日後の導入ではその後の発育に影響はなかった。 <u>③中・老齢(3~4令幼虫)への影響</u> 中・老齢幼虫に対しても、②と同様の結果であった。 散布6日後まで、訪花数は無処理区に比べて少なかった。	

(有用昆虫等に及ぼす影響—つづき)

分類	生物種	試験方法	試験結果			試験機関 (報告年)
			希釈倍数	濃度	補正死亡率	
天敵	ケガカブリダニ (<i>Amblyseius longispinosus</i>)	<u>直接散布—室内試験</u> インゲンマメ葉にケガカブリダニ雌成虫20~25個体を接種し、検体(10%フコアル)の希釈液を散布し、2日後の成虫の生存率を調査した。	4000 2000 1000	25ppm 50 100	0.9 % 4.4 1.1	
		<u>直接散布—圃場試験</u> 2番茶萌芽前に検体(10%フコアル)の2000倍希釈液を散布し、散布前、散布7日、14日、21日後に各区20枚の成葉を採取し、ケガカブリダニの個体数を調査した。 1区 5m ² 、3反復 品種：やぶきた	散布前 散布7日後 散布14日後 散布21日後	雌成虫3, 若虫1 雌成虫3, 雄成虫1, 若虫8, 卵11 卵3, 若虫幼虫4	天敵数 2000倍 無散布	
			散布2日後の死亡率は極めて低く、ケガカブリダニ雌成虫に対する悪影響は認められなかった。			
			天敵類は、ケガカブリダニ、ハダニタマハエ、ナカヒダニ類(<i>Agistemus sp.</i>)が確認できたが、ケガカブリダニが最優先種であった。 ハダニの天敵であるケガカブリダニの発生は無散布区と大きな差がなく、悪影響は認められなかった。			

(有用昆虫等に及ぼす影響—つづき)

分類	生物種	試験方法	試験結果	試験機関 (報告年)
天敵	ハカメシ	<u>直接散布一圃場試験</u> なすに検体(10%フアブル)の2000倍希釈液を散布し、散布直前、散布1日後に1区20葉当たりのハカメシの個体数を調査した。 1区1株、5区制 品種：千両	2000倍 無処理 個体数 散布前 4.1 3.7 散布1日後 0.4 3.1 補正密度指数 散布1日後 12 100 無処理区に比較してハカメシの個体数が減少し、悪影響が認められる。	
	ヒメハカメシ	<u>試験管ドライフィルム法</u> 検体(10%フアブル)の2000倍希釈液を試験管に入れ、薬液を捨てて風乾後、試験管に検体の2000倍希釈液に浸漬後風乾したなす葉をいれヒメハカメシの成虫または幼虫(4,5齢)を5頭入れ、24時間後の供試虫の生死を調査した。	供試虫数 24時間後 24時間後 生存虫数 死亡率 2000倍 成虫 20 0 100% 幼虫 20 0 100% 無処理 成虫 20 19 5% 幼虫 20 20 0% 試験管ドライフィルム法により強い影響が認められた。 天敵類に対する薬剤の影響は毒性の持続期間も重要であるので、残毒日数について検討の必要あり。	
	ナミハカメシ (<i>Orius sauteri</i>)	<u>室内試験</u> なすに検体(10%フアブル)の2000倍希釈液を散布し、散布1日、8日後になす葉を採取し、試験管に入れ、ナミハカメシを接種し、処理24、48時間後に供試虫の生死を調査した。	24時間後 48時間後 日数 供試虫数 生存虫数 死亡率 生存虫数 死亡率 2000倍 1日 10 6 40.0% 0 100% 8 6 5 16.7 4 33.3 無処理 1 11 10 9.1 10 9.1 8 6 6 0 6 0 ナミハカメシ成虫に対する残毒日数を調査した結果、散布1日後に毒性が認められたが、散布8日後に毒性は低下し、毒性の持続期間は比較的短い。 本剤のヒメハカメシ類に対する残毒日数はシキイロザシマ類に対する残毒日数より短いようで、本剤はヒメハカメシ類の有用性を大きく損なわずに利用することも可能である。	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(有用昆虫等に及ぼす影響—つづき)

分類	生物種	試験方法	試験結果		試験機関 (報告年)								
天敵	ヒメダニカブリケンハネカクシ <i>(Oligota sp.)</i>	<p align="center"><u>室内試験</u></p> <p>検体(10%フオアブル)の2000倍希釈液を散布し、散布1日後の葉をガラス管に入れ、ヒメダニカブリケンハネカクシ成虫を接種し、処理24時間後に供試虫の生死を調査した。</p>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>供試虫数</th> <th>死亡率</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2000倍</td> <td>34</td> <td>100%</td> </tr> <tr> <td>無処理</td> <td>24</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	供試虫数	死亡率	2000倍	34	100%	無処理	24	0	<p>ヒメダニカブリケンハネカクシ に対する殺虫活性は強い。</p>
供試虫数	死亡率												
2000倍	34	100%											
無処理	24	0											

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3. 鳥類に対する影響

資料 No.	試験の種類・被験物質	供試生物	1群当りの供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又はLC ₅₀ 及び無影響量	観察された影響等	試験機関 (報告年)
1 GLP	急性経口毒性試験・原体	コリンウズラ ¹⁾	10羽	強制経口投与	1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 mg/kg	LD ₅₀ 34 mg/kg NOEL 8 mg/kg	異常糞、嗜眠、痙攣	
2 GLP	急性経口毒性試験・原体	マガモ ²⁾	10羽	強制経口投与	1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 mg/kg	LD ₅₀ 10.3 mg/kg NOEL 1 mg/kg	異常糞、呼吸困難、嗜眠、痙攣、運動失調	
3 GLP	混餌投与毒性試験・原体	コリンウズラ ¹⁾	10羽	5日間混餌投与	10, 20, 40, 80, 160, 320 ppm	LC ₅₀ 132 ppm NOEC 10 ppm	異常糞	
4 GLP	混餌投与毒性試験・原体	マガモ ²⁾	10羽	5日間混餌投与	4, 6, 9, 13.5, 20.3 ppm	LC ₅₀ 8.6 ppm NOEC <4 ppm	異常糞、呼吸困難、嗜眠、痙攣、運動失調、異常行動、正向反射失調	

1): *Colinus virginianus*

2): *Anas platyhynchos*

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

Ⅶ. 使用時安全上の注意、解毒法等

1. 使用時安全上の注意事項

- 1) 医薬用外劇物。取扱いには十分注意すること。

誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。

本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。

- 2) 散布の際は防護マスク、手袋、不浸透性防除衣などを着用すること。

作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをする。

- 3) 常温煙霧中はハウス内に入らないこと。また、常温煙霧終了後はハウスを開放し、十分換気した後に入室すること。

- 4) 街路、公園等で使用する場合は、散布中及び散布後（少なくとも散布当日）に小児や散布に関係のない者が散布区域に立ち入らないように縄囲いや立て札を立てるなど配慮し、人畜等に被害を及ぼさない注意を払うこと。

2. 解毒法及び治療法

活性炭素と硫酸ナトリウムの併用処置およびジアゼパム処置、フェノバルビタール処置により死亡率の有意な減少と平均生存時間の有意な延長がみられた。

3. 製造時、使用時等における事故例

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日本農薬株式会社にある。

Ⅷ. 毒性

<毒性試験一覧表>

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は最大無作用量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-1 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	経口	♂♀ 39、59、88、 132、198、296、 444、667、1000	♂ 461 ♀ 304		b-7
T-2 (GLP)	急性毒性 14日間観察	マウス	♂♀5	経口	♂♀ 35、70、140	♂ 45 ♀ 78		b-8
T-4 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ウサギ	♂♀5	経皮	♂♀ 2000	♂♀ >2000		b-9
T-8 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	吸入	♂♀ 0.0、34、0.71、 1.8、2.7 mg/L	LC ₅₀ ♂ 0.83mg/L ♀ >2.7 mg/L		b-10
T-14 (GLP)	皮膚刺激性 3日間観察	ウサギ	♂6	塗布	0.5 g/匹	刺激性なし		b-12
T-10 (GLP)	眼刺激性 7日間観察	ウサギ	♂6	点眼	0.1 g/匹	中等度の 刺激性あり		b-13
T-11 (GLP)	眼刺激性 4日間観察	ウサギ	♂3 (非洗眼:3, 洗眼:3)	点眼	0.1 g/匹	軽度の 刺激性あり 洗眼効果あり		b-14
T-16 (GLP)	皮膚感作性 Buehler 法 2日間観察	モルモット	♂10 又は5	塗布	感作:200 mg/匹 誘発:200 mg/匹 (検体そのまゝ)	感作性なし		b-15
T-17 (GLP)	皮膚感作性 Maximization法 2日間観察	モルモット	♀20 又は5	皮内 又は 塗布	感作:2%(皮内) 10%(塗布) 誘発:0.4%(塗布)	感作性なし		b-17
T-3 (GLP)	急性神経毒性 14日間観察	ラット	♂♀10	経口	♂♀ 0、45、90、 180	無作用量 ♂♀ 45 非致死量で 急性神経毒性なし		b-20
T-19 (GLP)	90日間亜急性 経口毒性 13週間投与	ラット	♂♀20	飼料 混入	0、150、300、600、 900、1200 ppm ♂ 0、10.9、22.0、 44.9、69.5、92.2 ♀ 0、12.5、26.1、 51.8、75.4、102.8	♂♀ 150 ppm ♂ 10.9 ♀ 12.5		b-23
T-20 (GLP)	90日間亜急性 経口毒性 13週間投与	マウス	♂♀20	飼料 混入	0、40、80、160、320ppm ♂ 0、7.1、14.8、 27.6、62.6 ♀ 0、9.2、19.3、 40.0、78.0	♂♀ 40 ppm ♂ 7.1 ♀ 9.2		b-28
T-21 (GLP)	90日間亜急性 経口毒性 13週間投与	イヌ	♂♀4	飼料 混入	0(対照)、60(低)、 120 ppm(中)、 300/240/200(高) ♂0、2.1、3.9、4.4~7.3 ♀0、2.2、4.5、6.0~7.1	♂♀ 120 ppm ♂ 3.9 ♀ 4.5		b-32
T-22 (GLP)	28日間亜急性 経皮毒性 4週間投与	ウサギ	♂♀6	経皮	♂♀0、100、400、1000	♂♀100		b-37

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 ・期間	供試 生物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 最大無作用量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載 頁
T-26 (GLP)	反復経口投与 神経毒性 12カ月間投与 4カ月間回復	ラット	♂♀25	飼料 混入	0、60、300、600 ppm ♂0、2.6、13.6、28.2 ♀0、3.4、18.0、37.4	♂♀ 60 ppm ♂ 2.6 ♀ 3.4 神経病変が発現 したが回復した。		b-40
T-27	反復経口投与 神経毒性 4～7週間投与 0～12週間回復	マウス	♂40 (病理検査 対象動物)	飼料 混入	0、500 ppm (神経病変の発現及 び回復過程を光顕・ 電顕で検査)	神経病変は回復 し機能へは影響 与えない。		b-58
T-23 (GLP)	慢性毒性 12カ月間投与	イヌ	♂♀ 5 又は6	飼料 混入	0、60、120、240 ppm ♂0、2.1、4.0、8.7 ♀0、2.3、4.5、10.1	♂♀ 120 ppm ♂ 4.0 ♀ 4.5		b-62
T-24 (GLP)	慢性毒性 発がん性 24カ月間投与	ラット	♂♀ 65	飼料 混入	0、60、300、600 ppm ♂0、2.9、15.0、30.8 ♀0、3.6、18.6、37.0	♂♀ 60 ppm ♂ 2.9 ♀ 3.6 発がん性なし		b-67
T-25 (GLP)	発がん性 18カ月間投与	マウス	♂♀ 65	飼料 混入	0、20、120、240 ppm ♂0、2.8、16.6、34.5 ♀0、3.7、21.9、44.5	♂♀ 20 ppm ♂ 2.8 ♀ 3.7 発がん性なし		b-86
T-28 (GLP)	繁殖 2世代 投与期間 P : ♂16週 ♀19週 F ₁ : ♂♀23週	ラット	♂♀ 30	飼料 混入	0、60、300、600 ppm P [交配前] ♂0、4.5、22.2、44.0 ♀0、5.0、24.5、48.3 P [交配後] ♂0、3.3、16.3、31.3 P [妊娠] ♀0、4.9、23.4、46.3 P [哺育] ♀0、8.8、42.3、81.4 F ₁ [交配前] ♂0、4.4、22.5、44.6 ♀0、5.1、25.6、50.7 F ₁ [交配後] ♂0、2.8、14.3、29.6 F ₁ [妊娠] ♀0、4.7、23.6、47.7 F ₁ [哺育] ♀0、8.6、41.8、82.9	親動物、仔動物 ♂♀ 60 ppm ♂ 4.4、♀ 5.0 繁殖 ♂♀ 600 ppm ♂44.0、♀48.3		b-101
T-29 (GLP)	繁殖 1世代 投与期間 P : ♂♀16～17 週間 F ₁ : ♂♀11週間	ラット	♂♀ 30	飼料 混入	0、30、60 ppm P[交配前] ♂0、1.84、3.60 ♀0、2.09、4.15 P[妊娠] ♀0、1.52、3.19 P[哺育] ♀0、4.25、8.87 F ₁ [交配前] ♂0、2.22、4.57 ♀0、2.52、5.32	親動物、仔動物 ♂♀ 60 ppm ♂3.60、♀3.19 繁殖 ♂♀ 60 ppm ♂3.60、♀3.19		b-110
T-30 (GLP)	催奇形性 10日間投与	ラット	♀25 (交尾動 物)	経口	0、25、75、225	母体 : 25 胎仔 : 225 催奇形性なし		b-117

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 ・期間	供試 生物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 最大無作用量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載 頁	
T-31 (GLP)	催奇形性 13日間投与	ウサギ	♀19~20 (人工授精 動物)	経口	0、5、15、30	母体：5 胎仔：30 催奇形性なし		b-120	
T-32 (GLP)	変異原性 復帰変異	サモネラ菌:TA100、 TA98、TA1535、 TA1537、TA1538 大腸菌:WP2uvrA ⁻		<i>in vitro</i>	S9-、S9+: 0、0.5、1、5、10、 15、20、25、50 μg/プレート	S-9mixの有無に かかわらず陰性		b-124	
T-33 (GLP)	変異原性 突然変異	CHO 細胞 HGPRT		<i>in vitro</i>	S9- :0、2.5、5、25、 50、100、250 S9+ :0、5、10、50、 100、250、500 μg/mL	S-9mixの有無に かかわらず陰性		b-128	
T-34 (GLP)	変異原性 染色体異常	CHL 細胞		<i>in vitro</i>	S9-、S9+: 0、0.9、1.8、3.5、 7.0、14.1、28.1、 56.3、112.5、225、450、 900、1800 μg/mL	S-9mixの有無に かかわらず陰性		b-131	
T-35 (GLP)	変異原性 小核試験	マウス	♂♀5	経口	♂ 0、7.5、15、30 ♀ 0、5、10、20	陰性		b-136	
T-36 (GLP)	変異原性 DNA損傷	枯草菌		<i>in vitro</i>	S9-、S9+: 0、0.0156、 0.0313、0.0625、 0.125、0.25、0.5、 1.0 μg/ディスク	S-9mixの有無に かかわらず陰性		b-138	
T-37 (GLP)	変異原性 DNA損傷	ラット肝細胞 (不定期DNA合成)		<i>in vitro</i>	0、0.05、0.075、0.1 0.125、0.15、0.3 μg/mL	陰性		b-141	
T-38	生体の機能に 及ぼす影響	中枢神経系	一般症状	マウス Irwin 法	♂3	経口	0、0.3、1、3、10 30、100	1*	b-143
			ラット Irwin 法	♂3	経口	0、3、10、30、100 300、1000	10		
		睡眠時間	マウス	♂8	経口	0、1、3、10	10 作用なし		
		体温	ラット	♂6	経口	0、3、10、30	10 上昇作用あり		
		自発脳波	ウサギ	♂3	経口	0、3、10、30	30 作用なし		
		呼吸循環器系	ウサギ	♂3	経口	0、3、10、30	30 作用なし		
		自律神経系： 瞳孔径	ラット	♂6	経口	0、3、10、30	30 作用なし		
		消化器系： 腸管輸送能	マウス	♂8	経口	0、1、3、10	10 作用なし		
		骨格筋： 懸垂動作	マウス	♂8	経口	0、1、3、10	10 作用なし		
		血液： 凝固	ラット	♂6	経口	0、3、10、30	30 作用なし		

* 申請者注：本検査の無毒性量は3mg/kgと判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 ・期間	供試 生物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 最大無作用量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載 頁
T-39	解毒 吸収阻害 薬理拮抗	マウス ♂10	前処置：カルフエピル 0、80 (経口)			炭末+硫酸ナリウム 処置、ジアセバム処 置、フェノバルビタル処 置は死亡発生の軽 減効果あり		b-147
			吸収 阻害	<ol style="list-style-type: none"> 1. 硫酸ナリウム: 1g/kg (経口) 2. 炭末: 2g/kg (経口) + 硫酸ナリウム: 1g/kg (経口) 3. ヒマシ油: 20mL/kg (経口) + 硫酸ナリウム: 1g/kg (経口) 				
T-48 (GLP)	発達神経毒性 投与期間 母動物: 妊娠6日～ 分娩10日 児動物: 生後11日 ～21日	ラット	♀40 (交尾動物)	経口	0、5、10、15	10 児動物で神経病変 及び驚愕反応に影 響がみられたが回 復した。		b-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日本農薬株式会社にある。

2. 原体混在物及び代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は最大無作用量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-40 (GLP)	代謝物 ^{a)} 急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	経口	♂♀7.8、15.6、23.4、 31.25、62.5、 125、250	♂ 27.0 ♀ 29.4		b-161
T-41 (GLP)	代謝物 ^{b)} 急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	経口	♂♀5000	♂♀>5000		b-162
T-42 (GLP)	代謝物 ^{c)} 急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	経口	♂ 5000 ♀ 1250、2500、5000	♂ >5000 ♀ 2500		b-163
T-43 (GLP)	代謝物 ^{d)} 急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	経口	♂ 312.5、625、1250、 2500、5000 ♀ 625、1250、2500、 5000	♂ 776 ♀ 1367		b-164
T-49 (GLP)	代謝物 ^{e)} 急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	経口	♂ 78.125、156.25、 312.5 ♀ 78.125、156.25、 312.5、625	♂ 110 ♀ 101		b-165
T-44 (GLP)	代謝物 復帰変異	サルモネラ菌:TA100、 TA98、TA1535、 TA1537、TA1538 大腸菌:WP2uvrA ⁻		<i>in vitro</i>	サルモネラ菌 S9-+: 0、0.05、0.10、0.25、 0.50、1.0、5.0 大腸菌 S9-、S9+: 0、10、25、50、100、 250 μg/プレート	S-9mixの有無 にかかわらず陰性		b-166
T-47 (GLP)	代謝物 復帰変異	サルモネラ菌:TA100		<i>in vitro</i>	<プレート法> S9-、S9+: 0、0.3125、0.625、1.25、 2.5、5.0、10.0 <ブレイクダウン法> S9-: 0、0.15625、0.3125 0.625、1.25、2.5、5.0 S9+: 0、0.625、1.25、 2.5、5.0、10.0、20.0 μg/プレート	S-9mixの有無 にかかわらず陰性		b-170
T-45 (GLP)	代謝物 復帰変異	サルモネラ菌:TA100、 TA98、TA1535、 TA1537、TA1538 大腸菌:WP2uvrA ⁻		<i>in vitro</i>	サルモネラ菌、大腸菌 S9-: 0、5、10、25、50、 100、250 S9+: 0、25、50、100、 250、500、1000 μg/プレート	S-9mixの有無 にかかわらず陰性		b-173
T-46 (GLP)	代謝物 復帰変異	サルモネラ菌:TA100、 TA98、TA1535、 TA1537、TA1538 大腸菌:WP2uvrA ⁻		<i>in vitro</i>	サルモネラ菌 S9-: 0、50、100、250、 500、1000 S9+: 0、100、250、 500、1000、2500 大腸菌 S9-+: 0、250、500、1000、2500、 5000 μg/プレート	S-9mixの有無 にかかわらず陰性		b-177

- a) 代謝物 (F) : 動植物代謝物、原体混在物
 b) 代謝物 (D) : 動植物代謝物、魚代謝物、原体混在物
 c) 代謝物 (G) : 土壌代謝物
 d) 代謝物 (K) : 動植物代謝物
 e) 代謝物 (O) : 水中光分解物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3. 製剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 ・期間	供試 生物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 最大無作用量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載 頁
T-5 (GLP)	10%フコファル 急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	経口	♂♀ 625、1250、 2500、5000	♂ 2293 ♀ 2333		b-181
T-6 (GLP)	10%フコファル 急性毒性 14日間観察	マウス	♂♀5	経口	♂♀ 250、563、1000	♂ 288 ♀ 492		b-182
T-7 (GLP)	10%フコファル 急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	経皮	♂♀ 2000	♂♀ >2000		b-183
T-9 (GLP)	10%フコファル 急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀5	吸入	♂♀ 0、2.0 mg/L	LC ₅₀ ♂♀ >2.0 mg/L		b-184
T-15 (GLP)	10%フコファル 皮膚刺激性 3日間観察	ウサギ	♂6	塗布	0.5 mL/匹	刺激性なし		b-186
T-12 (GLP)	10%フコファル 眼刺激性 3日間観察	ウサギ	♂6	点眼	0.1 mL/匹	軽度の 刺激性あり		b-187
T-13 (GLP)	10%フコファル 水2000倍希釈液 眼刺激性 3日間観察	ウサギ	♂6	点眼	0.1 mL (希釈液) /匹	刺激性なし		b-188
T-18 (GLP)	10%フコファル 皮膚感作性 Buehler 法 2日間観察	モルモット	♂10 又は5	塗布	感作：0.4 mL/匹 誘発：0.4 mL/匹 (検体そのまゝ)	感作性なし		b-189

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1. 原体

(1) 急性毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-1)

検体の純度 :
 試験動物 : SD系ラット、1群雌雄各5匹
 投与時5週齢 (体重 雄112~131g、雌88~105g)
 試験期間 : 14日間観察
 試験方法 : 検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、投与前日の夕方より絶食させた動物に強制経口投与した。
 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肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後3、7及び14日に測定した。
 試験結果 :

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	39、59、88、132、198、 296、444、667、1000	
LD ₅₀ (mg/kg)	461	304
95%信頼限界	294~964	211~444
死亡開始時間	投与後 2時間	
死亡終了時間	投与後 2日	
症状発現時間	投与後 1時間	
症状消失時間	投与後 1日	
最大無作用量 (mg/kg)	39	
死亡例の見られなかった最高投与量 (mg/kg)	88	

中毒症状としては、雌雄に関係なく自発運動の減少、呼吸促迫、間代性痙攣、流涎及び腹臥位が見られた。更に、雄では仰臥位及び左下横臥が見られた。

体重変化について、雌雄とも検体投与による影響は見られなかった。

解剖所見では、死亡例では、雌雄に関係なく、腺胃粘膜の出血及び小腸内の黒色内容物が見られた。他に、急性毒性試験の死亡例でしばしば見られる非特異的な変化として右心房拡張、肺のうっ血、肺水腫、肝臓のうっ血が見られた。生存例では、検体投与による影響は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料T-2)

- 検体の純度 :
試験動物 : CD-1系マウス、1群雌雄各5匹
投与時5~8週齢(体重 雄187~280g、雌182~231g)
試験期間 : 14日間観察
試験方法 : 検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、投与前約4時間絶食させた動物に強制経口投与した。
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肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7及び14日に測定した。
試験結果 :

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	35、70、140	
LD ₅₀ (mg/kg)	45	78
95%信頼限界	37~56	41~152
死亡開始時間	投与後 1日	投与後 1日
死亡終了時間	投与後 8日	投与後 2日
症状発現時間	投与後 1~2時間	投与後 1~2時間
症状消失時間	投与後 2~4時間	投与後 2~4時間
死亡例の見られなかった 最高投与量 (mg/kg)	—	—

中毒症状として、雌雄に関係なく活動性低下が見られた。
体重変化について、雌雄とも検体投与による影響は見られなかった。
解剖所見では、死亡例の1例に肺の明赤色化が見られた。生存例では、雌雄とも主要な組織器官に特記すべき変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ウサギにおける急性経皮毒性試験

(資料T-4)

検体の純度 :
試験動物 : ニュージーランドホホワイト種ウサギ、1群雌雄各5匹
投与時10～16週齢(体重 雄2233～2754 kg、雌2127～3277g)
試験期間 : 14日間観察
試験方法 : 水で湿らせた検体を刈毛した背部皮膚に24時間閉鎖貼布した。
貼布除去後、皮膚に付着した検体を除去した。
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適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7及び14日に測定した。
試験結果 :

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000	
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間 死亡終了時間	(死亡例なし)	(検体投与に起因した死亡例なし)
症状発現時間 症状消失時間	(中毒症状なし)	
最大無作用量 (mg/kg)	2000	

中毒症状は、雌雄とも見られなかった。

投与後2日に雌1例が死亡したが、死亡前に、明らかな一般状態の変化は見られなかった。

体重変化について、雌雄とも検体投与による影響は見られなかった。

解剖所見について、死亡例では、腎臓及び脾臓の退色、肺の赤色斑ならびに肛門及び生殖器の外部に出血が見られた。この出血は、過度の閉鎖貼布の処置が原因と考えられ、死亡は検体投与に起因した変化とは考えられなかった。生存例では雌雄とも主要な組織器官に特記すべき変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料T-8)

- 検体の純度 :
 試験動物 : SD系ラット、1群雌雄各5匹
 投与時7~9週齢 (体重 雄221~291g、雌189~236g)
 試験期間 : 14日間観察
 試験方法 : あらかじめ検体をボールミルにて微粉碎した。ダスト発生機を用いて検体のダストを発生させ、4時間全身暴露した。2.7mg/Lはダスト発生可能な最高濃度であった。尚、対照群には空気のみを通気した。
 設定濃度 (名目濃度) ; 0、3.9、5.8、17.0、80.0mg/L
 実際濃度 ; 0、0.34、0.71、1.8、2.7mg/L (HPLC分析による)
 暴露空気をガラスフィルターを用いて捕集し、重量測定法及びHPLCによる分析により実際濃度を求めた。尚、以下では暴露濃度として、HPLCによる分析濃度を実際濃度として用いる。
 暴露条件 ;

設定濃度 (mg/L)		3.9	5.8	17.0	80.0
実際濃度 (mg/L)		0.34	0.71	1.8	2.7
粒子径分布 ¹⁾ (%, 累積)	≤ 1.0 μm	1.1	0.14	0.24	0.38
	≤ 3.0 μm	8.8	9.4	11	15
	≤ 5.0 μm	25	31	30	40
	≤ 7.0 μm	44	51	48	61
	≤ 10 μm	64	72	68	79
空気力学的質量中位径 (μm)		8.1	7.0	7.3	5.9
呼吸可能な粒子 (≤10 μm)の割合(%) ²⁾		64	72	68	79
チャンバー容積 (L)		100			
チャンバー内通気量 (L/分)		20.0~40.0			
暴露条件		ダスト 4時間 全身暴露			

1) : カスケードインパクトより4回測定した平均。

2) : 米国環境保護庁の標準評価手順書によれば10 μm以下の粒子は気道部(気管・気管支)及び肺胞部へ沈着可能と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験項目 : 中毒症状及び生死を暴露中（暴露日を0日とする）及び暴露後14日間観察した。
 体重を暴露前日、暴露開始直前、暴露後7日及び14日に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果 :

	雄	雌
実際濃度 (mg/L)	0.34、0.71、1.8、2.7	
LC ₅₀ (mg/L)	0.83	>2.7
95%信頼限界	0.48~1.4	—
死亡開始時間	暴露中	暴露後 1日
死亡終了時間	暴露後 1日	暴露後 1日
症状発現時間	暴露開始後 15分	暴露開始後 15分
症状消失時間	暴露後 14日	暴露後 14日
死亡例の見られなかった 最高投与量 (mg/L)	—	0.71

中毒症状として、暴露中には、主に苦悶呼吸及び活動性の低下が見られ、高用量では、あえぎ呼吸が見られ、動物が死亡した。暴露終了後の2時間以内にほとんどの死亡が確認され、生存例にも、暴露中に見られた症状と類似した症状が見られた。また、鼻流出物等の分泌反応及び性器の汚れが高頻度に見られた。暴露後1日に高用量群の死亡がさらに確認された。また、暴露後1日以降、生存例にも暴露直後に見られた症状と類似した呼吸刺激及び分泌刺激を示す症状が、数日間見られ、その後発現頻度が低下し、散発的になった。

体重変化について、ほとんどの生存例は、14日間の観察期間を通じて順調な体重増加を示した。しかし、雌の検体投与群、特に2.7mg/1群に対照群と比較して体重増加抑制が見られ、検体投与に起因する変化と考えられた。

解剖所見として、死亡例に気管の異常内容物（液状）および肺の浮腫が高頻度に見られた。死亡例及び生存例の雄の一部に肺の赤色化が見られ、これらの気管及び肺の変化は検体の投与に起因した変化と考えられた。また、死亡例の皮膚に褐変が見られたが、検体が皮膚に沈着したためと考えられた。生存例の対照群及び低用量群の数例に下顎リンパ節の赤色化が見られたが、高用量群には見られなかったため、その毒性学的意義については、不明であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 T-14)

検体の純度 :
試験動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ、雄6匹、10~16週齢
試験期間 : 3日間観察
試験方法 : 検体0.5gを1インチ四方(約6.5cm²)のガーゼパッドに塗布し、水道水で湿らせ、刈毛した動物の背部皮膚に閉鎖貼布した。塗布時間は4時間とし、皮膚に残った検体は水道水で除去した。
観察項目 : 塗布終了後1、24、48及び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、Draize法に従って採点した。
試験結果 : 観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

項目		最高 評点	投与後時間			
			1時間	24時間	48時間	72時間
検体群 (6匹平均)	紅斑及び痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

いずれの観察時間でも皮膚の刺激性変化は見られなかった。

以上の結果から、本剤のウサギの皮膚に対する刺激性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

(資料T-10)

検体の純度 :
 試験動物 : ニュージーランドホホワイト種ウサギ、雄6匹、10~16週齢
 試験期間 : 7日間観察
 試験方法 : 0.1gの検体を左眼の下部眼瞼結膜のう内へ投与した。
 観察項目 : 投与後1、24、48、72時間、4日及び7日に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。
 また、紫外線及びフルオレセインを用いて角膜損傷の有無を検査した。

試験結果 : 観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

投与群	部位	判定項目	最高 評点	投 与 後 時 間					
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
非洗眼群 (6匹平均)	角膜	混濁の程度	4	0	0.83	0.67	0.17	0	0
		混濁部の面積	4	0	0.83	0.83	0.17	0	0
	虹彩	2	0	0.5	0.33	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.33	1.67	1.67	1.33	0.83	0
		浮腫	4	1	1.67	0.5	0.33	0.17	0
		分泌物	3	1	1.33	0.17	0	0	0
	合計点		110	6.7	16.0	10.6	4.1	2.0	0

角膜混濁が投与後24、48及び72時間に見られたが、投与後4日には消失した。

虹彩の刺激性変化は投与後24及び48時間に見られたが、72時間には消失した。

軽度又は中程度の結膜の発赤、浮腫及び分泌物が投与後1時間より見られたが、分泌物は投与後72時間、発赤及び浮腫は投与後7日に消失した。

以上の結果から、本剤のウサギの眼粘膜に対する刺激性は中等度（米国 EPAの基準）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日本農薬株式会社にある。

3) ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

(資料 T-11)

検体の純度 :
 試験動物 : 日本白色種ウサギ、雄6匹、11週齢 (体重 2.2~2.4kg)
 試験期間 : 4日間観察
 試験方法 : 0.1gの検体を左眼の下部眼瞼結膜のう内へ投与し、洗眼群の動物は2分後に洗眼した。
 観察項目 : 投与後1、24、48、72時間、4日に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。また、紫外線及びフルオレセインを用いて角膜損傷の有無を検査した。

試験結果 : 観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

投与群	部位	判定項目	最高 評点	投 与 後 時 間				
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日
非洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁の程度	4	1.0	0.7	0	0	0
		混濁部の面積	4	1.3	0.7	0	0	0
	虹彩	2	1.0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	1.0	0.7	0.3	0
		浮腫	4	0.3	0.3	0	0	0
		分泌物	3	1.3	1.0	0	0	0
	合計点	110	17.0	8.0	1.3	0.7	0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0
		混濁部の面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	1.0	1.0	0.3	0
		浮腫	4	0.3	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0.3	0	0
	合計点	110	2.7	2.0	2.7	0.7	0	

角膜の混濁及び虹彩の充血が非洗眼群では見られたが、洗眼群では見られなかった。

結膜の発赤、浮腫及び分泌物が非洗眼群及び洗眼群ともに見られた。

全ての刺激性変化は非洗眼群及び洗眼群ともに投与後4日に消失した。

刺激性変化の合計点については、非洗眼群の最高点が17.0 (投与1時間後) であるのに対し、洗眼群では2.7であった。

以上の結果から、本剤のウサギの眼粘膜に対する刺激性は軽度であり (Key & Calandraの分類法)、洗眼することにより刺激性は軽減されると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(3) 皮膚感作性

1) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 T-16)

検体の純度 :
試験動物 : ハートレー系モルモット、1 群雄 10 匹又は 5 匹
7~9 週齢 (体重 259~323 g)
試験期間 : 誘発暴露終了後 48 時間
試験方法 : Buehler 法
投与液濃度及びその設定根拠 ;

従って、次の用量が設定さ

れた。

感作時 : 200 mg (検体そのまま)

誘発時 : 200 mg (検体そのまま)

また、DNCBの投与液は、背景データにより感作時には0.1%液 (溶媒:エタノール)、誘発時には0.05%液 (溶媒:アセトン) とした。

感作 ; 検体群及び陽性対照物質群では刈毛した左腹側部に、検体液又はDNCB液を6時間閉鎖貼布した (第1回感作暴露)。第1回感作暴露終了後7及び14日に第2回及び第3回の感作暴露を同様に行った。

誘発 ; 第3回感作暴露終了の14日後に刈毛した右腹側部に、検体群及びその対照群では検体液を6時間閉鎖貼布した。同様に陽性対照物質群及びその対照群ではDNCB液を閉鎖貼布した。

観察項目 : 誘発暴露終了後24及び48時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無を観察した。

誘発後の反応の評価; 検体群における誘発後の平均評点が検体に対する対照群の平均評点を上回り、しかも検体群の動物の半数以上が1以上の評点を示した場合、陽性と判定した。

試験結果 : 観察された適用部位の変化を次表 (次頁) 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日本農薬株式会社にある。

(原体のBuehler法による皮膚感作性の結果表)

群	供試動物数	投与量 (濃度)		誘発終了後の 観察時間	感作反応動物数						平均 評点	判定
					皮膚反応評点*							
		感作時	誘発時		0	0.5	1	2	3	4		
検体群	10 (9) #	検体 200mg/匹	検体 200mg/匹	24時間	8	1	0	0	0	0	0.06	陰性
				48時間	9	0	0	0	0	0	0	
検体 対照群	10	—	検体 200mg/匹	24時間	10	0	0	0	0	0	0	
				48時間	10	0	0	0	0	0	0	
陽性対 照物質 群	10	DNCB 0.1%	DNCB 0.05%	24時間	0	0	0	10	0	0	2.0	陽性
				48時間	0	0	0	10	0	0	2.0	
陽性対 照物質 対照群	5	—	DNCB 0.05 %	24時間	3	1	1	0	0	0	0.3	
				48時間	5	0	0	0	0	0	0	

*皮膚反応評点 (Buehler 法の基準を一部修正した基準)

0: 紅斑なし、0.5: ごく軽度の紅斑 (かろうじて認識できる)

1: 軽度の非融合性の紅斑、2: 軽度の融合性の紅斑

3: 中程度～高度の紅斑、4: 高度紅斑から僅かな痂皮の形成 (深部損傷) まで

10匹中1匹が死亡したので、有効動物数は9匹であった (下記参照)。

試験16日目 (第3回感作暴露後) に検体群の1匹で流涎及び振戦が見られ、死亡した。その他の動物では、明らかな一般状態の変化は見られず、死亡例も見られなかったが、用量設定試験において400mg/匹の用量で死亡例が見られたことから、この200mg/匹での死亡例も検体投与によるものと考えられた。

検体に対する皮膚反応: 感作暴露では、いずれの試験動物にも皮膚反応は見られなかった。誘発暴露では、誘発後24時間にごく軽度の皮膚反応が1例に見られたが、48時間にはいずれの試験動物にも皮膚反応は見られなかった。また、対照群では、誘発後24及び48時間では、皮膚反応は見られなかった。

陽性対照 (DNCB) に対する皮膚反応: 第2及び第3回目の感作時において全ての動物に皮膚反応 (評点1又は2) が見られた。誘発暴露では、誘発後24時間及び48時間に皮膚反応が見られた。対照群では、誘発後24時間に皮膚反応が見られたが、48時間後にはいずれの動物の皮膚反応も消失した。

以上の結果から、本剤のBuehler法によるモルモットにおける皮膚感作性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 T-17)

検体の純度 :
試験動物 : ハートレー系モルモット、1群雌20匹又は5匹
6週齢 (体重 373~424g)
試験期間 : 誘発暴露終了後48時間
試験方法 : Maximization 法
投与液濃度及びその設定根拠 ; 検体の溶媒としてオリーブ油を用いた。

これらの結果に基づき次ぎの濃度が設定された。

感作時 : 一次 (皮内投与) 2%液
二次 (48時間皮膚閉鎖貼付) 10%液
誘発時 : (24時間皮膚閉鎖貼付) 0.4%液

また、陽性対照物質群として1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン (DNCB)を用いた。DNCB液の濃度は、背景データにより感作及び誘発時ともに0.05% (溶媒はオリーブ油) とした。

感作 ; 全動物の頸背部を刈毛し、次の3種類の液を各々2箇所にて0.05mLづつ皮内投与した (一次感作)。

群 (動物数)	投与液
検体群 (20匹)	・ FCA ・ 2%検体液 ・ 4%検体液 + FCA
検体対照群 (20匹)	・ FCA ・ オリーブ油 ・ オリーブ油 + FCA
陽性対照物質群 (5匹)	・ FCA ・ 0.05%DNCB液 ・ 0.1%DNCB液 + FCA
陽性対照物質対照群 (5匹)	・ FCA ・ オリーブ油 ・ オリーブ油 + FCA

FCA : フロイントの完全アジュバント

皮内投与後6日にラウリル硫酸ナトリウムにより皮内投与部位の内側部に軽度の炎症を誘起させ、翌日 (皮内投与後7日) 同部位に検体液又はDNCB液を48時間閉塞貼付した。検体対照群及び陽性対照物質対照群では溶媒であるオリーブ油を投与した (二次感作)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

誘発 ; 二次感作終了の14日後に全動物の両腹側部を刈毛し、片側の腹側部に検体液又はDNCB液を、他方の腹側部に橄榄油を24時間閉塞貼付した。

観察項目 : 誘発暴露終了後24及び48時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無を観察した。

誘発後の反応の評価 ; 検体対照群に皮膚反応が発現しない条件下で、検体群の1例以上に評点1以上の皮膚反応が見られた場合、検体の皮膚感作性を陽性とした。

試験結果 : 観察された適用部位の変化を次表に示す。

群	供試動物数	試験物質		誘発後観察						感作陽性率 (%) ²⁾	
				観察部位	観察時間	[感作反応動物数]					
						皮膚反応評点 ¹⁾					
						0	1	2	3		計
検体群	20	検体	検体	検体投与部	24時間	20	0	0	0	0	0
					48時間	20	0	0	0	0	0
				橄榄油投与部 (対照)	24時間	20	0	0	0	0	0
					48時間	20	0	0	0	0	0
検体対照群	20	橄榄油	検体	検体投与部	24時間	20	0	0	0	0	0
					48時間	20	0	0	0	0	0
				橄榄油投与部 (対照)	24時間	20	0	0	0	0	0
					48時間	20	0	0	0	0	0
陽性対照物質群	5	DNCB	DNCB	DNCB投与部	24時間	0	0	0	5	5	100
					48時間	0	0	0	5	5	100
				橄榄油投与部 (対照)	24時間	5	0	0	0	0	0
					48時間	5	0	0	0	0	0
陽性対照物質対照群	5	橄榄油	DNCB	DNCB投与部	24時間	5	0	0	0	0	0
					48時間	5	0	0	0	0	0
				橄榄油投与部 (対照)	24時間	5	0	0	0	0	0
					48時間	5	0	0	0	0	0

¹⁾皮膚反応評点 (Magnusson & Kligmanの基準)

0 : 紅斑なし、
2 : 中等度のび慢性紅斑、
1 : 弱い散在性紅斑
3 : 強度の紅斑及び浮腫

²⁾ 感作陽性率 (%) = [感作陽性動物数 ÷ 供試動物数] × 100

いずれの動物にも一般状態の変化は見られなかった。また、検体投与に起因する体重への影響は見られず、全動物とも順調な体重増加を示した。

検体に対する皮膚反応 : 誘発暴露では、検体群及びその対照群について誘発後24及び48時間のいずれの観察においても皮膚反応は見られなかった。

陽性対照 (DNCB) に対する皮膚反応 : 誘発暴露では、陽性対照物質群で誘発後24及び48時間にDNCB投与部に評点3の皮膚反応が全

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

例で見られたが、オリーブ油投与部（対照）には皮膚反応は見られなかった。対照群では、いずれの観察時間においても皮膚反応は見られなかった。

以上の結果から、Maximization法による本剤のモルモットにおける皮膚感作性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(4) 急性神経毒性

ラットにおける経口投与による急性神経毒性試験

(資料T-3)

検体の純度 :
試験動物 : SD系ラット、1群雌雄各10匹
投与時7週齢 (体重 雄156.7~211.2g、雌131.7~175.8g)
試験期間 : 14日間観察
試験方法 : 検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、0、45、90、180 mg/kg の投与量で約18時間絶食させた動物に単回強制経口投与した。投与日を投与後1日とした。

投与量設定根拠 ;

試験項目及び結果 :

一般状態及び死亡 ; 一般状態及び死亡を1日2回の頻度で14日間観察した。各群の死亡状況を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	0(対照)	45	90	180
雄				
雌				

表中の数値は死亡数/供試数、* : 投与日に死亡

一般状態観察の結果、90 mg/kg群の2匹に嗜眠状態が見られたが、投与の翌日には回復した。180 mg/kg 群の5匹に投与日に嗜眠状態が見られ、そのうち2匹は投与日に死亡、生存例は投与の翌日に回復した。これらの死亡例及び他の2死亡例では機能観察総合評価法(FOB)による検査でも異常が見られた(後述)。45 mg/kg群には一般状態の変化は見られなかった。

体重変化 ; 投与前及び投与後1日、その後は1週間に1回、ならびに計画屠殺時に測定した。
いずれの投与群の雌雄とも検体投与に起因する有害な影響は見られなかった。

摂餌量 ; 投与日の1週間前から1週間に1回に測定した。
投与群の平均摂餌量は、対照群と同等であった。

神経行動検査 ; 【機能観察総合評価法(FOB)による検査】
投与前、投与後1日(投与日)、8日、15日にすべての生存動物を検査した。評価項目は次の通りである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1. 自律神経系機能：流涙、流涎、立毛、眼球突出、排尿及び排糞数、瞳孔機能及び眼瞼閉鎖
2. 痙攣、振戦及び異常な動作
3. 異常行動、過剰行動又は反復行動、被毛の外見、眼周囲の赤色／痂皮状付着物
4. 視覚、聴覚、触覚及び痛覚刺激に対する反応性
5. 覚醒レベル
6. 姿勢及び歩行
7. 前肢及び後肢の握力
8. 着地時の四肢の広がり
9. 空中正向反射
10. 体重

投与当日の検査の結果、180mg/kg群で歩行異常(体を引きずる)、運動障害、覚醒レベルの低下が見られ、検体投与に起因する変化と考えられた。これらの変化は90 mg/kg以下の群では見られなかった。しかし、180mg/kgは死亡が発現した投与量であることから、これらの変化は特異的な神経毒性を反映したのではなく、検体投与による毒性変化であると考えられた。

投与後8日及び15日の検査時にはいずれの投与群の雌雄とも異常は見られなかった。

【自発運動量の検査】

投与前、投与後1日、8日、15日にすべての生存動物を対象として自動 Photobeam Activity Systemを用いて自発運動量を測定した。1回5分で計12回、合計60分間連続的に測定した。

投与当日、180mg/kg群の雄において自発運動量が対照群に比べて低値であったが、有意差は見られず、同群の雄では投与前検査においても対照群に比べて僅かに低値であり、同群の雌では投与当日に同様の変化が見られなかった。これらのことから、180 mg/kg群雄の自発運動量の変化は検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

45及び90 mg/kg群の雌雄ではいずれの検査時においても対照群の値と同等であった。

肉眼的病理検査；途中死亡動物及び投与後15日の計画屠殺時の全生存動物について剖検を実施した。

種々の病変が見られたが、いずれの変化も検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

神経組織学的検査；計画屠殺動物のうち1群雌雄各5匹を対象として麻酔下で4%中性緩衝ホルマリンで灌流固定した。更に、浸漬固定を行った後、脳、脊髄、坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経、視神経を切り出した。脳及び脊髄はパラフィン包埋後、HE染色、ルソーフーストブルー染色及びSevier-Munger 染色により鏡検標本が作製された。末梢神経はプラスチック包埋後、トルジソブルー染色により鏡検標本が作製された。これらの鏡検標本について光学顕微鏡を用いて神経組織学的検査を実施した。

脳、脊髄及び末梢神経において、全ての領域の組織学的変化が正常範囲内であり検体投与に起因する変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上をまとめると、本剤のラットを用いた単回経口投与による神経毒性試験において、180mg/kg群の雌雄で死亡が見られた。また、一般状態の変化として嗜眠状態が、90mg/kg以上の群で見られた。機能観察総合評価法による検査では180mg/kg群で歩行、運動、覚醒に変化が見られたが、同群は死亡が見られる投与量であることから、これらの変化は神経毒性を反映するものではなく、毒性を反映した変化であると考えられた。また、いずれの投与群においても、本剤の投与に起因する神経組織学的変化は見られなかった。従って、本試験において最大無作用量は雌雄とも45mg/kgであり、本剤は急性神経毒性を示さないと判断される*。

*：本剤の急性神経毒性の有無について申請者見解

原報では、致死量（180mg/kg）で見られたFOB検査項目の変化は神経毒性ではなく一般毒性学的変化であると結論している。しかし、他の知見（資料T-1、38、39）も併せて考察し、本試験で見られたFOB項目の変化は本剤の急性神経毒性を示唆する変化であると申請者は考える。尚、非致死量において本剤が急性神経毒性を示さない点に関しては、申請者も同意見である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(5) 90日間反復経口投与毒性

1) ラットにおける亜急性経口毒性試験

(資料T-19)

検体の純度：

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各20匹

投与開始時5週齢（体重 雄122~175g、雌108~146g）

試験期間：投与開始後13週間

試験方法：検体を0、150、300、600、900及び1200ppmの濃度で飼料中に混入し、13週間にわたって随時摂取させた。検体を混入した飼料は2週間に1回調製した。

投与量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

運動失調、鼻周囲の暗褐色物、食欲不振及び活動性低下が1200ppm群の雄に見られ、検体投与に起因する変化と考えられた。投与後1.5カ月の採血時に雌が対照群で1匹、600ppm群で1匹死亡したが、偶発的であり検体投与に起因する死亡とは考えられなかった。他に死亡はなかった。

体重変化； 投与期間を通じて1週間に1回全生存動物の体重を測定した。各群の13週間の投与期間の総体重増加量を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	150	300	600	900	1200
雄	増加量(g)						
	変動率(%)						
雌	増加量(g)						
	変動率(%)						

* : $P < 0.05$ (Dunnettのt検定)

体重及び体重増加量について、雄の600ppm以上の群及び雌の900ppm以上の群では対照群に比べて低かった。雄の150及び300ppm群、雌の600ppm群では、有意差は見られなかったが、対照群に比べて低値であった。

摂餌量； 全動物の摂餌量を毎週測定した。

900及び1200ppm群の雌雄、及び600ppm群の雄で、対照群に比べて有意な低値が見られた。また、150及び600ppm群の雄で有意差は認められなかったが、わずかな低値が認められた。これらの変化は検体投与に起因する変化と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検体摂取量; 摂餌量及び投与濃度から算出した投与期間中の1日あたりの平均検体摂取量を次表に示す。

投与量 (ppm)		150	300	600	900	1200
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	10.9	22.0	44.9	69.5	92.2
	雌	12.5	26.1	51.8	75.4	102.8

血液学的検査; 投与後13週時に各群10匹ずつを対象として、一晚絶食させた動物の心臓より血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数、白血球数、白血球百分比

統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性別	雄					雌				
	150	300	600	900	1200	150	300	600	900	1200
投与量 (ppm)										
赤血球数										
ヘモグロビン濃度										
ヘマトクリット値										
血小板数										

↑ ↓ : P<0.05 (Dunnettのt検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

1200ppm 群の雌雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の有意な低値が見られた。これらの変化は900ppm群の雌でも同様に見られ、さらにヘモグロビン濃度の低値は、600ppm群の雌でも見られた。900及び1200ppm群の雄で血小板数の高値が見られた。これらの変化は全て検体投与に起因する変化と考えられる。

血液生化学検査; 投与後1.5カ月(43~44日)及び投与後13週時に各群雌雄10匹ずつを対象として、一晚絶食させた動物から投与後1.5カ月(眼窩静脈叢より採血)、投与後13週時(心臓採血)に血液を採取し、その血清を用い以下の項目の測定を行った。

GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ (ALP)、γ-GT、尿素窒素、血糖、総蛋白、アルブミン、クレアチニン、総ビリルビン、リン、ナトリウム、カリウム、塩素

統計学的有意差の見られた項目を次表(次頁)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日本農薬株式会社にある。

(血液生化学検査の結果表)

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		150	300	600	900	1200	150	300	600	900	1200
GPT	1.5ヵ月										
ALP	1.5ヵ月										
	3ヵ月										
γ -GT	1.5ヵ月										
尿素窒素	1.5ヵ月										
	3ヵ月										
総蛋白	3ヵ月										
7/7 ^ア ミン	1.5ヵ月										
	3ヵ月										
リン	1.5ヵ月										
	3ヵ月										
塩素	3ヵ月										

↑ ↓ : P<0.05 (Dunnett t 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

1200ppm 群のGPT (雄)、ALP (雌雄)、 γ -GT (雌雄) 及び尿素窒素 (雌雄) について、対照群に比べて有意な高値が見られた。また、ALPの有意な高値が900ppm群 (雌雄) でも見られた。これらの変化は、検体投与に起因するものと考えられた。

一方、以下の変化は検体投与に起因しないものと考えられた。リン濃度の変化については、用量相関性が見られなかったことから、個体変動に起因するものと考えられた。また、1200ppm 群の雄で塩素濃度の高値 (100.7 MEQ/L) が見られたが、正常値 (文献値 : 98.8 ± 5.4 MEQ/L) の範囲内にあるため生物学的意義はないと考えられた。アルブミンの低値が1200ppm 群の雄で見られたが、この群で見られた体重増加抑制及び摂餌量の減少を反映した変化であると考えられた。1200ppm 群 (雌) 及び900ppm群 (雌雄) で総蛋白のわずかな高値が見られた。

尿検査 ; 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を測定した。
外観、色調、比重、pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、真菌、沈渣 (鏡検)

1200ppm 群の雄で対照群に比べて有意な pH の低値が見られ、検体投与に起因する変化と考えられた。その他に検体投与に起因する変化は見られなかった。

眼科学的検査 ; 投与開始前及び投与後13週時に全生存動物を検査した。

投与後13週時の検査で、種々の異常が見られたが、いずれも実験用ラットで見られる自然発生性の異常であり、検体投与に起因する変化ではないと考えられた。

臓器重量 ; 投与終了時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

も算出した。

肝臓、腎臓、心臓、脾臓、脳、副腎、甲状腺、精巣、子宮及び卵巣

統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性別	雄					雌				
	150	300	600	900	1200	150	300	600	900	1200
投与量(ppm)										
体重										
肝臓 重量 対体重比										
腎臓 重量										
心臓 対体重比										
脾臓 重量 対体重比										
脳 対体重比										
副腎 対体重比										
甲状腺 対体重比										
精巣 対体重比										
卵巣と子宮の合計 対体重比										

↑↓: P<0.05 (Dunnett 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

肝臓重量の有意な高値が600ppm群 (雌)、900ppm群 (雌雄) 及び1200ppm群 (雌) で見られ、対体重比の有意な高値が300ppm群 (雄)、600ppm群 (雌雄)、900ppm群 (雌雄) 及び1200ppm群 (雌雄) で見られた。脾臓重量及びその対体重比の有意な高値が900ppm群 (雌雄) 及び1200ppm群 (雌雄) で見られた。これらの変化は検体投与による影響と考えられた。

次の変化は検体投与に起因しない変化と考えられた。

脳重量の対体重比の有意な高値が900ppm群 (雌) 及び1200ppm群 (雌雄) で見られたが、低体重による変化であると考えられた。心臓重量の対体重比の有意な高値が600ppm群 (雌)、900ppm群 (雄) 及び1200ppm群 (雌雄) で見られたが、心臓に病理組織学的変化が見られなかったことから、対体重比の有意な高値は低体重による変化であると考えられた。腎臓重量の低値が900ppm群 (雌雄) 及び1200ppm群 (雌雄) で見られたが、対体重比の低値が見られなかったこと、及び腎臓に病理組織学的変化が見られなかったことから、重量の低値は低体重による変化であると考えられた。副腎、甲状腺及び精巣の対体重比の高値が1200ppm群の雄で、卵巣・子宮合計の対体重比の高値が600ppm群、900ppm群及び1200ppm群で見られたが、これらの臓器には病理組織学的変化が見られなかったことから、対体重比の高値は低体重による変化であると考えられた。

肉眼的病理検査；途中死亡及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

検体投与に起因すると考えられる変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

病理組織学的検査；上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、大動脈（胸部）、膀胱、骨及び骨髄（胸骨及び大腿骨）、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼及び視神経、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺（主気管支を含む）、リンパ節（下顎、腸間膜）、乳腺、骨格筋（大腿）、坐骨神経、卵巣、膵臓、上皮小体、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、精囊、皮膚、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、子宮、膣、肉眼的病変部
 主要な病理組織学的変化の発生頻度を次表に示す。

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		0	150	300	600	900	1200	0	150	300	600	900	1200
肝臓	(検査動物数)												
	肝細胞の肥大												
脳	(検査動物数)												
	白質の海綿状変化												
脊髄 (頸部)	(検査動物数)												
	ミエリンの海綿状変化												
坐骨 神経	(検査動物数)												
	ミエリンの海綿状変化												
視神経	(検査動物数)												
	ミエリンの海綿状変化												
精巣	(検査動物数)												
	精細管の萎縮												

肝細胞の肥大が600ppm以上の群でごく少数例に見られ、検体投与に起因する変化と考えられた。脳白質及び脊髄ミエリン鞘に海綿状変化が600ppm以上の群の雄で見られた。同様に変化は雌には全く見られなかった。海綿状変化が見られた1200ppm 群の雄には、同様の変化が坐骨神経にも見られた例（1例）、及び視神経にも見られた例（1例）があった。これらの神経病変は、検体投与に起因する変化と考えられた。精細管の萎縮が雄の600ppm以上の群の少数例に見られ、検体投与に起因する変化と考えられたが、この変化はこれらの群で見られた体重増加量及び摂餌量の減少と関連している可能性があった。他に、種々の病変が見られたがいずれも検体投与に起因しない変化と考えられた。なお、神経病変については脚注を参照のこと。

以上、本剤のラットに対する混餌法による3カ月間亜急性毒性試験における影響として、雄の体重増加量について150及び300ppm群で低値傾向が見られ、600ppm以上の群で統計学的に有意な低値が見られた。さらに、雄の300ppm以上の群で統計学的に有意な肝臓重量の高値が見られたことをあわせて考慮すると、無毒性量（NOEL）は150ppmであると考えられた。一方、雌では600ppm以上の群で肝臓重量の高値が見られたので最大無作用量は300ppmと考えられ、雌雄をあわせ本試験の無毒性量（NOEL）は150ppm（雄10.9mg/kg/日、雌12.5mg/kg/日）であると判断された。

申請者注：海綿状変化とは原文 Spongiform (encephalo)-myelopathyの和訳である。本剤の反復経口投与により発現する神経病変に関して総括的な申請者考察を141頁に記載する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) マウスにおける亜急性経口毒性試験

(資料T-20)

検体の純度：

試験動物：CD-1系マウス、1群雌雄各20匹

投与開始時6週齢（体重 雄23.6~32.6 g、雌22.0~26.9 g）

試験期間：投与開始後13週間

試験方法：検体を0、40、80、160及び320ppmの濃度で飼料中に混入し、13週間にわたって随時摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠：

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

320ppm群で雄1匹及び雌1匹の死亡が見られ、検体投与に起因する死亡と考えられた。また、対照群で雌1匹の死亡が見られた。

一般状態の変化として、320ppm群で雄1匹で振戦、頻尿及び食欲不振が見られた。

体重変化；投与期間を通じて週1回全生存動物の体重を測定した。

各群の13週間の投与期間の総体重増加量を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	40	80	160	
雄	増加量 (g)					
	変動率 (%)					
雌	増加量 (g)					
	変動率 (%)					

* : $P < 0.05$ (Dunnettの t 検定)

雌雄の320ppm群で有意な低体重及び体重増加抑制が見られ、また雌の160ppm群で体重増加抑制が見られた。これらの変化は検体投与に起因する変化と考えられた。

雄の40ppm群及び80ppm群の体重増加量について、対照群に比べて減少が見られたが、160ppm群の雄で同様の減少が見られなかったことから、検体投与に起因しない変化と考えられた。

雌の40ppm群及び80ppm群の体重増加量は対照群の値と同程度と考えられた。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎週測定した。

全投与群の摂餌量は、対照群と同程度であった。

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した投与期間中の1日あたりの平均検体摂取量を次表（次頁）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日本農薬株式会社にある。

(検体摂取量)

投与量 (ppm)		40	80	160	320
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	7.1	14.8	27.6	62.6
	雌	9.2	19.3	40.0	78.0

血液学的検査；投与後13週時に各群雌雄10匹ずつを対象として、心臓より血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数、白血球数、白血球百分比
統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性別	雄				雌			
	40	80	160	320	40	80	160	320
投与量 (ppm)								
赤血球数								
ヘマトクリット値								
白血球数								
白血球 百分比	リンパ球(%)							
	好中球(%)							

↑↓：P<0.05 (Dunnettの t 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

320 ppm 群の雄で赤血球数及びヘマトクリット値の高値が見られた。また、320 ppm 群の雌で白血球数の高値、80 ppm以上の群の雄でリンパ球の高値及び好中球数の低値が見られた。これらの変化は検体投与に起因する変化と考えられた。

血液生化学検査；投与後13週時に、血液学的検査用の血液を採取した動物とは別の各群雌雄10匹を対象として、心臓より血液を採取し、その血清を用いて以下の項目を測定した。

GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ (ALP)、
γ-GT、尿素窒素、血糖、総蛋白、アルブミン、クレアチニン、
総ビリルビン、リン、ナトリウム、カリウム、塩素
統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性別	雄				雌			
	40	80	160	320	40	80	160	320
投与量 (ppm)								
総蛋白								
アルブミン								
ナトリウム								
カリウム								

↑↓：P<0.05 (Dunnettの t 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

アルブミンの低値が320ppm群の雄及び160ppm群の雌で見られ、また総蛋白の高値が320ppm群の雌で見られた。ナトリウムの高値が320ppm群で雄で、カリウムの高値が同群の雌で見られた。これらの変化は全て検体投与に起因する変化と考えられた。

臓器重量；投与終了時に全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

重比も算出した。

肝臓、腎臓、心臓、脾臓、脳、副腎、精巣、子宮及び卵巣
統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	40	80	160	320	40	80	160	320
体重								
肝臓 対体重比								
脾臓 重量 対体重比								

↑↓: P<0.05 (Dunnettの t 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

肝臓の対体重比の高値が320ppm群の雌雄及び160ppmの雄で見られた。
脾臓重量の高値が160ppm群の雄で見られ、対体重比の高値が320ppm
群及び160ppmの雄で見られた。これらの変化は検体投与による影響で
あると考えられた。

肉眼的病理検査; 途中死亡及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。
いずれの動物にも検体投与に起因したと考えられる変化は見られな
かった。

病理組織学的検査; 上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として以下の組
織について病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、大動脈(胸部)、膀胱、骨及び骨髄(胸骨及び大腿骨)、
脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼及び視神経、
心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓及び胆嚢、肺(主気管支を含む)、
リンパ節(下顎、腸間膜)、乳腺、骨格筋(大腿)、坐骨神経、
卵巣、膵臓、上皮小体、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、精嚢、
皮膚、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、子宮、膣、
肉眼的病変部

主要な病理組織学的変化の発生頻度を次表に示す。

性別	雄					雌				
投与量 (ppm)	0	40	80	160	320	0	40	80	160	320
肝臓	(検査動物数)									
	肝細胞の肥大									
脳	(検査動物数)									
	白質の海綿状変化									
脊髄 (頸部)	(検査動物数)									
	ミエリンの海綿状変化									

(統計処理は非実施)

肝細胞の肥大が160ppm以上の群の雌雄、及び80ppm 群の雄に見られ、
検体投与に起因する変化と考えられた。

40ppm 群の雄にも1例のみで同病変が見られたが、変化の程度は軽度
であり、この群では肝臓の重量変化が見られなかったことから、この
1例の発生は検体投与に起因する変化であるとは考えられなかった。
脳及び脊髄の髄鞘の海綿状変化が、320ppm群の雌雄で高頻度に見られ
た。また、160ppm群の雄でも脊髄に同病変が1例見られた。これらの

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

病変は、検体投与に起因する変化と考えられた。なお、これらの神経病変は軽度又は中程度であり、運動失調又は活動性低下との相関性も見られなかった。

他に、種々の病変が見られたがいずれも検体投与に起因しない変化であると考えられた。なお、神経病変については脚注を参照のこと。

以上の結果から、本剤のマウスに対する混餌法による3カ月亜急性毒性試験における影響として、肝細胞の肥大が80ppm以上の群で見られたので、最大無作用量は40ppm（雄7.1 mg/kg/日、雌9.2 mg/kg/日）であると判断された。

申請者注：海綿状変化とは原文 Spongiform (encephalo)-myelopathyの和訳である。本剤の反復経口投与により発現する神経病変に関して総括的な申請者考察を141頁に記載する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) イヌにおける亜急性経口毒性試験

(資料T-21)

検体の純度：

試験動物：純血種ビーグル犬、1群雌雄各4匹

投与開始時6ヵ月齢（体重 雄9.1～11.4kg、雌8.2～10.2kg）

試験期間：投与開始後13週間

試験方法：検体を0、60（低投与量）及び120（中投与量）の濃度で飼料に混入し、13週間にわたって摂取させた。高投与量は次表の通り、動物に著しい毒性変化が見られたため、投与量を段階的に減少させた。

投与濃度 (ppm)	投与開始 後日数	毒性所見及び投与量変更の理由
300	1～14日	嘔吐、消瘦、体重減少、摂餌量の著しい減少
240	15～25日	消瘦、体重減少、摂餌量の減少
200	26～93日	症状発現なし

検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。また、全動物の直腸温を投与開始より3日間測定した。

投与期間中に、死亡はいずれの投与群にも見られなかった。

検体投与に起因する変化として消瘦及び嘔吐が高投与（300/240/200 ppm）群で見られた。消瘦は雄では投与開始後2週から5週にかけて、雌では4週から8週にかけて見られた。また、嘔吐は投与開始後1週に雌で見られた。60ppm及び120ppm群では投与に起因する症状は見られなかった。直腸温について検体投与による影響は見られなかった。

体重変化；投与期間を通じて、全動物の体重を週1回測定した。各群の1週毎の平均体重増加量を次表（次頁）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日本農薬株式会社にある。

(週毎の群平均体重増加量、kg)

性別	雄				雌			
	0	60	120	300/ 240/ 200	0	60	120	300/ 240/ 200
0週								
1週								
2週								
3週#								
4週##								
5週								
6週								
7週								
8週								
9週								
10週								
11週								
12週								
13週								
0～14週								

*: P<0.05 (Dunnett 検定)

#: 高投与量を300ppmから240ppmへ変更

##: 高投与量を240ppmから200ppmへ変更

高投与群では投与開始後2週間で体重が著しく減少した。投与開始後3週に高投与量を300ppmから240ppmへ減量したが、引き続き体重減少が見られる個体があった。投与開始後4週に投与量を再び240ppmから200ppmに減量した結果、その後の体重推移は対照群と同程度であった。60ppm及び120ppm群の体重推移は対照群と同程度であった。

摂餌量及び食餌効率；投与期間を通じて全動物の摂餌量を毎日測定、食餌効率も算出した。

各群の1週毎の平均摂餌量 (g/kg/日) を次表 (次頁) 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日本農薬株式会社にある。

(週毎の群平均摂餌量、g/kg体重/日)

性別	雄				雌			
	0	60	120	300/ 240/ 200	0	60	120	300/ 240/ 200
0週								
1週								
2週								
3週#								
4週##1)								
4週##2)								
5週								
6週								
7週								
8週								
9週								
10週								
11週								
12週								
13週								

*: P<0.05、** : P<0.01 (Dunnett 検定)

: 高投与量を300ppmから240ppmへ変更

##1) : 4週目の1～4日目の平均 (高投与量 : 240ppm)

##2) : 4週目の5～7日目の平均 (高投与量 : 200ppm)

高投与群では、投与開始の2週間に著しい摂餌量の減少が見られ、投与量を300ppmから240ppmへ減量したが引き続き摂餌量の減少が見られた。投与開始後26日に再び投与量を240ppmから200ppmへ減量した後もわずかな摂餌量の減少が見られたため、高投与群も含め全群の給餌時間を6時間から22時間に延長した。投与開始後6週以降の高投与群の摂餌量は、対照群と同程度であった。60ppm及び120ppm群の摂餌量の推移は対照群と同程度であった。

食餌効率の著しい低下が300ppm投与時の高投与群の雌雄、及び240ppm投与時の高投与群の雌で見られた。60ppm及び120ppm群、並びに200ppmの高投与群の食餌効率は対照群と同程度であった。

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算定した投与期間中の1日あたりの平均検体摂取量を次表に示す。

投与量 (ppm)		低投与量	中投与量	高投与量		
		60	120	300	240	200
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.1	3.9	4.4	6.0	7.3
	雌	2.2	4.5	6.0	5.8	7.1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液学的検査；投与開始前、投与開始後1.5カ月及び13週間の投与終了時に全動物を対象として、一晚絶食させた動物の頸静脈より血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数、白血球数、白血球百分比及び赤血球の形態（鏡検）

いずれの検査時期、いずれの投与群においても検体投与に起因する影響は見られなかった。

血液生化学検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ（ALP）、乳酸脱水素酵素、γ-GT、尿素窒素、血糖、総蛋白、アルブミン、グロブリン（計算値）、クレアチニン、クレアチンキナーゼ、コレステロール、総ビリルビン、直接ビリルビン、リン、カルシウム、ナトリウム、カリウム、塩素

投与終了時に高投与群の雄でカリウム濃度の高値（5.3 mEq/dl）が見られたが、背景データ（平均 4.8、範囲 3.7～6.9 mEq/dl）の範囲内の変化であり、検体の影響とは考えられなかった。

その他、検体投与に起因する影響はいかなる投与群にも見られなかった。

尿検査；血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

外観、量（16時間蓄尿）、比重、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、浸透圧、沈渣（鏡検）

いずれの検査時期、いずれの投与群においても検体投与に起因する影響は見られなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び投与終了時に全動物を対象として検査した。

いずれの検査時期、いずれの投与群においても検体投与に起因する影響は見られなかった。

臓器重量；投与終了時の全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比及び対脳重量比も算出した。

肝臓、腎臓、心臓、脾臓、脳、副腎、甲状腺と上皮小体

腎臓重量の高値が120ppm群及び高投与群で見られたが、対体重比及び対脳重量比に同様の変化が見られず、腎臓に病理組織学的変化も見られなかった。従って、この変化に毒性学的意義はないと考えられた。他の臓器の重量については、いずれの投与群も対照群と同程度であった。

肉眼的病理検査；投与終了時に全動物について剖検を行った。

種々の病変が対照群を含め各群に見られたが、いずれも検体投与に起因した変化とは考えられなかった。

病理組織学的検査；上記の肉眼病理検査を実施した動物を対象として以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

副腎、大動脈（胸部）、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼、大腿骨、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（下顎、腸間膜）、乳腺、卵巣、卵管、脾臓、上皮小体、末梢神経、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、筋肉（大腿）、皮膚、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胸骨と骨髓、胃、精巣、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

胸腺、甲状腺、気管、膀胱、子宮、膣、肉眼的病変部
 主要な病理組織学的変化の発生頻度を次表に示す。

性別	雄				雌			
	0	60	120	300/ 240/ 200	0	60	120	300/ 240/ 200
投与量 (ppm)								
上皮小体 (検査動物数) 嚢胞								

片側性の上皮小体の嚢胞が、雌で対照群1例に対し高投与群で3例見られた。しかし、この所見はビーグル犬では一般的に見られる変化であることから、検体投与に起因する変化であるとは考えられなかった。その他、種々の病変が見られたが、いずれも検体投与による変化ではないと考えられた。

以上の結果から、本剤のイヌに対する混餌法による3カ月間亜急性毒性試験における影響として、240ppm及び300ppmを投与した高投与群で嘔吐、消瘦、体重及び摂餌量の減少が見られた。従って、本試験において最大無作用量は雌雄とも120ppm (雄3.9 mg/kg/日、雌4.5 mg/kg/日) であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(6) 21日間反復経皮投与毒性

1) ウサギにおける亜急性経皮毒性試験

(資料T-22)

検体の純度：

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、1群雌雄各6匹

投与開始時3.5カ月齢（体重；雄 2.0~2.5kg、雌 2.0~2.5kg）

試験期間：投与開始後28日間

試験方法：投与約24時間前及び投与開始後は毎週に動物の背部及び側胴部を刈毛した（体表面積の約10~15%に相当）。検体をガーゼに塗布し生理食塩水で湿らせた後、毎日6時間、4週間（週6回、延べ24回）にわたり刈毛部に反復して塗布した。用量は、0、100、400及び1000mg/kgに設定した。

投与量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に起因した症状及び皮膚の変化は見られなかった。投与後9日に1000mg/kg 群の雌1例の死亡が見られた。死因は偶発的な外傷であると考えられ、検体投与に起因した死亡ではないと考えられた。

体重変化；投与期間を通じて毎週1回測定した。

1000mg/kg 群の雌について、投与後3週間にわたって体重増加が見られず、投与後3週の体重増加量は対照群に比べて有意な低値を示した。しかし、投与後4週の体重増加量は対照群と同等であることから、投与後3週間の低体重は毒性学的意義のない変化であると考えられた。他の投与群の体重は、対照群の値と同程度であった。

摂餌量；投与期間を通じて毎週1回測定した。

全投与群の摂餌量は対照群の値と同等であった。

血液学的検査；投与開始前及び投与後4週に全動物を対象として、一晚絶食させた動物の耳介動脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数、白血球数、白血球百分比、赤血球の形態

投与終了後の検査において、1000mg/kg 群の雌で対照群に比べて赤血球数の有意な低値 ($5.91 \times 10^6 / \mu\text{L}$) が見られた。しかし、この低値は背景データ（平均5.21、範囲5.21~ $6.64 \times 10^6 / \mu\text{L}$ ）の範囲内にあることから、毒性学的意義がないものと考えられた。

他に対照群に比べ全投与群で統計学的に有意な変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ、乳酸脱水素酵素、クレアチンキナーゼ、 γ -G T、尿素窒素、血糖、コレステロール、総蛋白、アルブミン、クレアチニン、総ビリルビン、直接ビリルビン、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン

投与終了時の検査において、統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性 別	雄			雌		
	100	400	1000	100	400	1000
投与量 (mg/kg)						
GPT						
血糖						
コレステロール						

↑↓ : $P \leq 0.05$, ↑↑, ↓↓ : $P \leq 0.01$ (Dunnett 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

400 及び1000mg/kg 群の雌雄で、対照群に比べて有意なコレステロールの高値が見られた。また、1000mg/kg 群の雌で、対照群に比べて有意なGPTの高値が見られた。これらは、検体投与に起因する変化と考えられた。

他に、400mg/kg群の雄の血糖について、有意な低値が見られたが用量相関性がないため、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

尿検査；血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

外観、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーケン、沈渣 (鏡検)

投与群のいずれの検査値も対照群と同等であり、検体投与に起因する変化は見られなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び投与後4週に全動物を対象として検査した。

いずれの投与群においても検体投与に起因した変化は見られなかった。

臓器重量；投与終了時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

副腎、腎臓、肝臓、精巣

統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性 別	雄			雌		
	100	400	1000	100	400	1000
投与量 (mg/kg)						
体 重						
肝 臓						
重 量 対体重比						

↑↓ : $P \leq 0.05$, ↑↑, ↓↓ : $P \leq 0.01$ (Dunnett 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

400 及び1000mg/kg 群の雌雄で、対照群に比べて有意な肝臓重量の高値が認められ、検体投与に起因する変化と考えられた。
それ以外、検体投与に起因した変化は見られなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡、投与終了時の全生存動物について剖検を行った。
肝臓の退色が400mg/kg群の雌で6例中1例、1000mg/kg 群の雌で6例中3例に見られ、検体投与に起因した変化と考えられた。
その他の変化はいずれも散発的又は対照群でも見られた変化であり、検体投与に起因した変化とは考えられなかった。

病理組織学的検査；肉眼病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

腎臓、肝臓、肺、皮膚（投与及び非投与部位）、肉眼的病変部
肝臓病変の発生状況を次表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	100	400	1000	0	100	400	1000
肝臓	(検査動物数) 細胞質の空胞化								

肝細胞の細胞質の空胞化が400 及び1000mg/kg 群の雌雄で見られ、検体投与に起因する変化と考えられた。

他に種々の病変が見られたが、いずれの病変も投与群と対照群の発生頻度が同等か、又は散発的に発生した変化であり、検体投与に起因した変化とは考えられなかった。

以上の結果より、本剤のウサギの28日間亜急性経皮毒性試験において、400 mg/kg以上の群の雌雄で血清コレステロール及び肝臓重量の高値が見られ、肝細胞の細胞質の空胞化が見られたので、最大無作用量は雌雄とも 100mg/kg/日であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(7) 反復経口投与神経毒性

1) ラットにおける混餌法による1年間神経毒性試験

(資料T-26)

検体の純度：

試験動物：SD系ラット

投与開始時8週齢（体重 雄 195~275 g、雌 128~184 g）

試験期間及び群構成：

	1群当り動物数		投与開始及び終了日
	雄	雌	
合計	25	25	
投与後13週時 中間屠殺対象動物	5	5	
投与後52週時 最終屠殺対象動物	10 (5)*1	10 (5)*1	
16週間回復後 屠殺対象動物	10 (5)*2	10 (5)*2	

*1：低及び中用量については雌雄各5匹を屠殺した。

*2：低用量については雌雄各5匹を屠殺した。

試験方法：検体を0、60、300及び600ppmの濃度で飼料中に混入し、52週間にわたって連続的に摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠：American Cyanamid社において0、150、300、600、900及び1200ppmの投与量で実施された同系統のラットにおける混餌法による13週間亜急性毒性試験（資料T-19）の結果、次の変化が見られたので上記の投与量を設定した。

顕著な体重増加抑制：900ppm以上の群の雌雄

体重増加抑制：600ppm群（対照群に対する抑制率；雄14%、雌7%）

150ppm群（対照群に対する抑制率；雄8%）

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡；一般状態及び生死を毎日観察した。また、投与第1週には毎日体温を測定した。

各群の投与及び回復期間別の累積死亡数（匹）を次表に示す。

性別	雄				雌			
	0	60	300	600	0	60	300	600
投与量の(ppm)								
投与期間の切迫・死亡数								
回復期間の切迫・死亡数								

雌雄の各群に検体投与に起因すると考えられる一般状態及び死亡の変化は見られなかった。た、投与第1週の体温測定において、検体投与による体温の変動は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

体重変化；全動物の体重を週1回、測定した。

各群の経時的な体重推移及び体重増加量を次表に示す。

性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	60	300	600	0	60	300	600
体重 (g)								
13週時								
26週時								
52週時								
回復16週時								
体重増加量 (g)								
1 - 52 週増加量								
対照群比 (%)								
回復期間増加量								
対照群比 (%)								

a: P<0.05, b: P<0.01(多重比較検定)

雌雄の300及び600ppm群の体重増加量が、対照群に比べて低く、検体投与に起因する変化と考えられた。しかし、回復期間では検体投与群の体重増加は、対照群を上回り、回復傾向が見られた。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を週1回測定し、体重増加量から食餌効率を算出した。

各群の期間別の平均摂餌量及び食餌効率を次表に示す。

性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	60	300	600	0	60	300	600
投与期間	平均摂餌量 (g/日)							
	(g/kg/日)							
	食餌効率 (%)							
回復期間	平均摂餌量 (g/日)							
	(g/kg/日)							
	食餌効率 (%)							

a: P<0.05, b: P<0.01(多重比較検定)

投与期間では、雌雄の300及び600ppm群の摂餌量が対照群に比べ多く、食餌効率の低下が見られ、検体投与の影響と考えられた。これらの変化は、回復期間には見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

飲水量； 全動物の飲水量を投与開始から4週間、毎日測定した。
雌雄の各検体投与群の飲水量は、対照群と同等であり、検体投与の影響は見られなかった。

検体摂取量； 検体投与濃度、摂餌量及び体重から、各検体投与群の全試験期間における1日あたりの平均検体摂取量を算出し、次表に示す。

性別	雄			雌		
	60	300	600	60	300	600
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	2.6	13.6	28.2	3.4	18.0	37.4

機能観察総合評価法（FOB）による検査及び自発運動量の測定；試験期間中、FOB検査及び自発運動量の測定を以下の計8回実施した。

- 第1回 投与開始1週間前： 全動物
- 第2回 同上 4週間後： 10匹 /群/性
- 第3回 同上 8週間後： 10匹 /群/性
- 第4回 同上 13週間後： 24匹は25匹/群/性
- 第5回 同上 26週間後： 18～20匹/群/性
- 第6回 同上 39週間後： 18匹は20匹/群/性
- 第7回 同上 52週間後： 17～20匹/群/性
- 第8回 回復 13週間後： 全生存動物

機能検査の評価項目は、以下のとおりである。

- 自律神経系機能：流涙、流涎、眼瞼閉鎖、眼球突出、光に対する瞳孔反射、立毛、呼吸、排尿及び排糞
- 反応性及び感受性：視覚、聴覚、触覚及び痛覚刺激
- 興奮性：取扱いへの反応及びオープン・フィールド内での行動
- 歩行及び協調運動：歩行の程度、オープン・フィールド内での歩行パターン、歩行異常の重症度、空中正向反射、視覚定位反応及び着地姿勢
- 握力：前肢及び後肢
- 異常な一般状態の変化：痙攣、振戦、異常行動、緊張低下/緊張亢進、散瞳/縮瞳、眼・鼻・口周囲への付着物

自発運動量は、赤外線センサーを設置したケージを用い、一定時間あたりの運動数とその所要時間を評価した。

計8回のFOB検査及び自発運動量測定において、検体投与に関連すると考えられる神経機能の異常あるいは自発運動量の変化は見られなかった。

病理検査； 各群の病理検査対象動物は、麻酔下で10%中性緩衝ホルマリンで灌流固定した。さらに、浸漬固定を行った後、脳、三叉神経節、脊髄（頸部、胸部及び腰部）と付属神経根及び背根神経節、ならびに坐骨、脛骨、腓腹神経枝を切り出した。中枢神経はパラフィン包埋、末梢神経はメタクリル酸グリコール包埋後、HE染色あるいはルカーファーストブルー・クリスタルバイオレット染色により病理標本を作製し、神経組織学的検査を行った。神経病変は、その程度により6段階（正常、微小、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

軽度、中等度、高度、重度) に分類した。

神経組織学的検査は、まず対照群と600ppm群について実施し、600ppm群に検体投与の影響が見られた場合、60及び300ppm群についても追加検索した。したがって、13週屠殺動物の雄の脊髄、同神経根及び背根神経節以外の部位、13及び52週屠殺動物の雌の60及び300ppm群についての神経組織学的検査は行わなかった。また、52週屠殺動物で神経組織学的影響が見られず、F O B検査および自発運動量にも異常のなかった雌では、16週回復動物についての神経組織学的評価は行わなかった。

13週屠殺動物（雌雄）、52週屠殺動物（雌雄）及び52週投与後16週回復動物（雄のみ）の全ての神経組織所見を表に示す。

なお、神経組織所見として以下に記述した髄鞘の腫脹、髄鞘の空胞状変化、空胞化は、同質の病変である。用語の定義は、以下のとおりである。

髄鞘の腫脹	髄鞘における空胞形成により、髄鞘が腫脹した状態。脊髄神経根、末梢神経などに用いられた。
髄鞘の空胞状変化	脳・脊髄の白質において、髄鞘の腫脹がより広範かつ重篤な場合に用いられた。
空胞化	病変の存在部位が、神経網のように髄鞘形成が未発達な部分における空胞形成について用いられた。

13週屠殺動物… 雌雄の600ppm群の脳、脊髄、三叉及び背根神経節、末梢神経の各部位に組織変化は見られなかった。

しかし、雄の600ppm群において、脊髄神経根内の神経線維の髄鞘の軽度な腫脹が観察された。この変化は、対照群に背景的に見られる変化（標本作製上の人工物の可能性もある）の程度を越えていたことから、検体投与に起因した変化と考えられた。しかし、髄鞘のミエリンには変性は見られず、また、軸索にも異常は観察されなかった。

雌の600ppm群、雄の60及び300ppm群の脊髄神経根には、検体投与に起因した病理変化は見られなかった。

52週屠殺動物… 雄の600ppm群では、髄鞘の空胞状変化が脳の各部位、視神経や脊髄の白質に観察された。また、小脳白質などいくつかの部位では、雄の300ppmにも髄鞘の空胞状変化が、海馬、脳弓などの部位では空胞化が見られた。さらに、雄の300及び600ppm群において、13週屠殺動物の場合と同様の脊髄神経根内の神経線維の髄鞘の軽度な腫脹が見られた。これらの変化は、対照群に背景的に見られる変化の頻度あるいは程度を越えていたことから、検体投与に起因した変化と考えられた。

なお、13週屠殺動物と同様に、これらの病変部の髄鞘のミエリンには変性は見られず、また、軸索にも異常は観察されなかった。

雄の60ppm群及び雌の600ppm群では、これらの神経病変は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

回復後屠殺動物… 16週間の回復期間終了後、雄の対照群と600ppm群について病理組織検査を実施した。

神経組織には、微小な標本作製上のアーティファクト以外に、加齢性変化と考えられる諸病変が見られた。しかし、52週屠殺動物の雄の300及び600ppm群の脳・脊髄の白質、脊髄神経根および視神経に見られた髄鞘の空胞状変化や腫脹などの神経病変は、回復後屠殺動物の600ppm群には全く見られないか、対照群と同様の発生頻度及び程度であった。このことから、52週間投与で惹起された髄鞘の空胞状変化、腫脹及び空胞化は、可逆性の変化であると考えられた。

以上の結果から、本剤のラットの1年間飼料混入投与による神経毒性試験において、雌雄の300及び600ppm群に体重増加抑制及び食餌効率の低下が、雄の同群に検体投与に起因する神経病変が見られた。雌の600ppm群には神経病変は観察されなかった。16週間の回復期間において、体重及び摂餌量への検体投与の影響は順調に回復し、回復期間後の病理検査では検体投与に起因する神経病変は観察されず、同病変の回復性が示された。また、投与及び回復期間における機能観察総合評価法（FOB）による検査や自発運動量には検体投与の影響は見られず、神経病変は神経機能に影響を与えないものと考えられた*。本試験の最大無作用量は、雌雄とも60ppm（雄 2.6mg/kg/日、雌 3.4mg/kg/日）と判断された。

*申請者注：本剤の反復経口投与により発現する神経病変に関して総括的な申請者考察を141頁に記載する。

表： 投与13、52週時及び休薬16週時屠殺動物における神経組織変化（つづき）

臓器	性	雄												雌											
		13週屠殺				52週屠殺				休薬16週屠殺				13週屠殺				52週屠殺				休薬16週屠殺			
		0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600
淡蒼球	屠殺時期																								
	用量 (ppm)																								
	検査動物数																								
	異常なし																								
扁桃	総数																								
	中等度 高度																								
	空胞状変化																								
	ミネラル 沈着																								
星状膠細胞腫	総数																								
	微小																								
	総数																								
	総数																								
扁桃体	検査動物数																								
	異常なし																								
	検査動物数																								
	異常なし																								
海馬	検査動物数																								
	異常なし																								
	検査動物数																								
	異常なし																								
海馬采	空胞化																								
	総数																								
	微小 軽度 中等度																								
	検査動物数																								
海馬采	検査動物数																								
	異常なし																								
	総数																								
	空胞状変化																								
海馬采	総数																								
	微小 軽度 中等度 重度																								
	検査動物数																								
	異常なし																								

a- P<0.05; b- P<0.01 (Fisher直接確率法).

表： 投与13、52週時及び休薬16週時屠殺動物における神経組織変化（つづき）

臓器	性	雄												雌											
		13週屠殺				52週屠殺				休薬16週屠殺				13週屠殺				52週屠殺				休薬16週屠殺			
		0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600
視床	所見																								
	用量 (ppm)																								
	検査動物数 異常なし 総数 中等度																								
視床下部	所見																								
	用量 (ppm)																								
	検査動物数 異常なし 総数 軽度																								
中脳	所見																								
	用量 (ppm)																								
	検査動物数 異常なし 総数 軽度																								
黒質	所見																								
	用量 (ppm)																								
	検査動物数 異常なし 総数 軽度																								

(次頁へつづく)

表： 投薬13、52週時及び休薬16週時屠殺動物における神経組織変化（つづき）

臓器	性	雄												雌											
		13週屠殺				52週屠殺				休薬16週屠殺				13週屠殺				52週屠殺				休薬16週屠殺			
		0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600
大脳脚	屠殺時期																								
	用量 (ppm)																								
	検査動物数 異常なし																								
空胞化	総数																								
	微小 軽度																								
	総数																								
髄鞘の 空胞状変化	軽度 中等度 高度 重度																								
	検査動物数																								
	異常なし																								
小脳核	検査動物数																								
	異常なし																								
	検査動物数																								
前庭 神経核	検査動物数																								
	異常なし																								
	検査動物数																								

b- P<0.01 (Fisher 直接確率法).

(次頁へつづく)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表： 投薬13、52週時及び休薬16週時屠殺動物における神経組織変化（つづき）

臓器	性	雄												雌											
		13週屠殺				52週屠殺				休薬16週屠殺				13週屠殺				52週屠殺				休薬16週屠殺			
		0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600
脳	屠殺時期																								
	用薬 (ppm)																								
	検査動物数																								
	異常なし																								
	総数																								
空胞化	微小軽度																								
	総数																								
髄鞘の腫脹	総数																								
	微小軽度																								
髄鞘の空胞状変化	総数																								
	軽度中等度																								
ミエリンの変性	総数																								
	微小																								
延髄	検査動物数																								
	異常なし																								
神経網の空胞化	総数																								
	微小軽度																								
嗅球	検査動物数																								
	異常なし																								
髄鞘の空胞状変化	総数																								
	微小軽度高度																								

b- P<0.01 (Fisher 直接確率法).

(次頁へつづく)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表：投薬13、52週時及び休業16週時屠殺動物における神経組織変化（つづき）

臓器	性	雄												雌											
		13週屠殺				52週屠殺				休業16週屠殺				13週屠殺				52週屠殺				休業16週屠殺			
		0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600	0	60	300	600
嗅索	屠殺時期																								
	所見																								
	用量 (ppm)																								
	検査動物数																								
	異常なし																								
	総数																								
	中等度																								
	総数																								
	軽度																								
	総数																								
視神経 視交叉	検査動物数																								
	異常なし																								
	総数																								
	軽度																								
三叉 神経路	検査動物数																								
	異常なし																								
	総数																								
	軽度																								

a- P<0.05; b- P<0.01 (Fisher直接確率法).

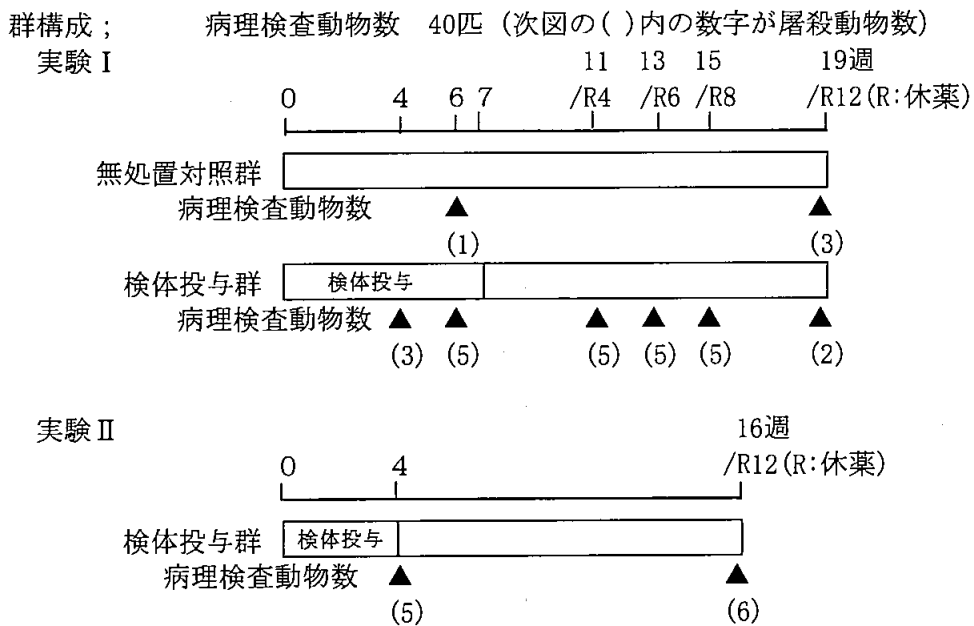
(次頁へつづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) マウスにおける混餌法による神経毒性試験

(資料 T-27)

検体の純度 :
試験動物 : ICR系マウス、雄
投与開始時5週齢 (体重 23.3 ~ 32.4 g)
試験期間 : 投与開始~最終屠殺日 ;
試験の概要 : 2回に分けて実験を行った。
実験 I では、検体を4あるいは6週間投与し神経病変を惹起させ、光顕及び電顕的に観察した。
さらに、検体投与7週間後より休薬させ、4、6、8及び12週後に経時的に屠殺し、神経病変の回復性を光顕及び電顕的に観察した。
実験 II では、Iの結果を参考に、さらに症例数を得るため、検体を4週間投与し、その後12週間休薬する動物を追加し、光学及び電子顕微鏡的観察を行った。



上記の他に、計30匹の無処置対照動物と計19匹の4週間検体投与後、12週間休薬させた動物を同時期に飼育し、一般状態の観察及び体重測定を行った。

試験方法 : 検体を500ppmの濃度で飼料中に混入し、4あるいは6~7週間にわたって連続的に摂取させた。その後、休薬させ、経時的に屠殺し神経病変の回復性について検討した。
検体を混入した飼料は2週に1回調製した。

投与量設定根拠 ;

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡；一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与群において、投与1週間以内に計5匹が死亡した。

その後の検体投与期間及び回復期間では、検体投与に起因すると考えられる一般状態及び死亡の変化は見られなかった。

体重変化； 全動物の体重を週1回測定した。

実験I及びIIにおける体重の推移は、同様の傾向を示した。実験Iの各群の経時的な体重推移を次表に示す。

投与量 (ppm)	実験期間 (週, R : 休薬)						
	0	2	4	7	11 /R4	15 /R8	19 /R12
対照群							
500							

単位：g、b- P<0.01, c- P<0.001 (Student t検定)

検体投与群の体重は、対照群に比べて低く、検体投与に起因する変化と考えられた。回復期間では検体投与群の体重増加の程度は、対照群と同等であった。

病理検査； エーテル麻酔下でリン酸緩衝2%パラホルムアルデヒド・2.5%グルタルアルデヒド溶液で灌流固定した。脳及び視神経を摘出後、同溶液でさらに浸漬固定を行った。光学顕微鏡検査のために、パラフィン包埋後、HE染色を実施した。電子顕微鏡検査のために、1%リン酸緩衝四酸化オスミウムで後固定を実施し、エポキシ樹脂包埋後、超薄切片を作製しウラン-鉛二重染色を実施した。

神経病変は、光顕検査ではその程度により4段階（正常、軽度、中等度、重度）に分類した。同一の休薬期間ごとに、実験I及びIIを集計した検査結果を次表（次頁）に示す。

検体を4ないし6週間投与した動物の脳白質及び視神経において、光学顕微鏡検査において、中等度ないし高度の空胞化が見られた。同病変の見られた全ての部位において、脱髄、軸索及び神経細胞体の変性は認められなかった。また、休薬後の回復期間における経時的検索では、同病変はその発生頻度、程度ともに漸減し、12週間休薬後には1/8例の脳白質に、軽度に見られたのみであった。この脳白質及び視神経の空胞化は、電子顕微鏡的にはミエリン鞘のIntra-period lineの解離による空隙形成であった。同変化を示す神経線維では、電子顕微鏡的にも髄鞘及び軸索に変性性の変化は見られなかった。また、検体を4ないし7週間投与した後、12週間休薬した動物では、電子顕微鏡的には同病変は見られなかった。

以上の結果から、マウスの神経毒性試験において、500ppm群に体重増加抑制と神

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

経病変が見られた。しかし、12週間の回復期間において、病理組織学的に同病変が回復することが示された。また、電子顕微鏡検査においても、本病変周囲の髄鞘や軸索には何ら影響がないことが示された。検体投与及び休薬期間において、一般状態観察では神経症状などの症状変化は見られず、神経病変は神経機能に影響を与えないものと考えられた。なお、本剤の反復経口投与により発現する神経病変に関して総合的な申請者考察を次頁に記載する。

		対照群	500ppm群： 休薬期間（週）				
			0	4	6	8	12
光学顕微鏡検査	大脳白質／空胞化 検査動物数						
	正常						
	軽度						
	中等度 重度						
視神経	／空胞化 検査動物数						
	正常						
	軽度						
	中等度 重度						

		対照群	500ppm群： 休薬期間（週）				
			0	4	6	8	12
電子顕微鏡検査	ミエリン鞘／空隙形成 検査動物数						
	正常						
	変化あり						
	視神経／空隙形成 検査動物数						
	正常						
	変化あり						

NE： 検査せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

クロルフェナピルの反復経口投与によって発現する神経病変に関する総括的な申請者考察

ラット及びマウスの亜急性経口毒性試験（資料T-19、T-20）、マウス発がん性試験（資料T-25）、ラット1年間神経毒性試験（資料T-26）並びにマウス神経毒性試験（資料T-27）において、体重への影響などが認められる用量域でクロルフェナピルの投与に起因する神経病変が認められた。本病変は脳や脊髄の白質、一部の試験では視神経、坐骨神経や脊髄神経根に発現し、試験あるいは発症部位毎に「白質の海綿状変化」、「ミエリン鞘の海綿状変化」、「ミエリン鞘の腫脹」、「髄鞘の空胞状変化」又は「空胞化」という所見名で報告されているが、すべて同質の病変である。

クロルフェナピルの一連の毒性試験及び文献調査により、ラット及びマウスに惹起された神経病変に関しては次のようにまとめることが可能である。

- (1) 混餌法によってクロルフェナピルを投与した場合、本神経病変はラットで60ppm、マウスで20ppmでは認められず、その発現に閾値がある。
- (2) ラットとマウスに発現した本病変の光顕像は同一と考えられる。
- (3) ラットのルクソブルー/クレシルバイオレット染色標本の光顕観察により病変の本体は髄鞘内の空隙形成であり、軸索には変性などの異常が観察されないことが確認されている。
- (4) マウスによる電顕観察により本病変は、髄鞘内の周期内線の解離による髄鞘内の空隙形成であることが判明した。この所見は、ラットの光顕観察における「髄鞘内の空隙形成」という所見と矛盾しない。
- (5) 文献的にもいくつかの化学物質で同様の病変が惹起されるとの報告があり¹⁻³⁾、病変は可逆的な変化であると言われている^{2,3,4)}。
- (6) ラットでは、16週間の休薬により光顕的に病変の回復性が確認されている。
- (7) マウスでは、12週間の休薬により光顕及び電顕的に病変の回復性が確認されている。
- (8) ラット及びマウスの一般状態観察、ならびにラットにおける機能観察総合評価法(FOB)による検査及び自発運動量の検査の結果、本神経病変の発生に関連すると考えられる影響は認められなかった。従って、本神経病変は神経機能へ影響を与えていないと考えられる。

以上のことから、申請者はラット及びマウスで発現した神経病変がクロルフェナピルの安全性評価において問題ないとする。

引用文献：

- 1) Powell, H. C. *et al.* Edema in neurotoxic injury. *In* Experimental and clinical neurotoxicology. Ed. Spencer, P. S. and Schaumburg, H. H., William and Wilkins, Baltimore, 1980.
- 2) 飯島宗一ら編「現代病理学体系」, 23A[神経系]神経疾患 I (1985), pp.185-187.
- 3) 伊東信行編著「最新毒性病理学」(1994), pp.252-253.
- 4) Kennedy, G. L. *et al.* Effect of hexachlorophene in the rat and their reversibility, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 35 (1976), pp.137-145.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(8) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

1) イヌにおける混餌法による慢性毒性試験

(資料T-23)

検体の純度 :
 試験動物 : 純血種ビーグル犬、1群雌雄各5又は6匹(高投与群のみ)
 投与開始時5~6カ月齢(体重 雄8.7~10.8kg, 雌6.2~8.2kg)
 試験期間 : 投与開始後12カ月間
 試験方法 : 検体を0、60、120及び240 ppmの濃度で飼料に混入し、12カ月間
 にわたって随時摂取させた。
 検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。
 投与量設定根拠 ;

試験項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日観察した。

死亡はいずれの群にも見られなかった。

240ppm群の雄1匹で投与開始後1週から4週にかけて流涎が見られ、
 検体投与に起因する変化であると考えられた。

その他に検体投与に起因する一般状態の変化は投与期間を通じて見
 られなかった。

体重変化 ; 投与期間を通じて、全動物の体重を週1回測定した。

各群の投与初期の1週間毎の累積体重増加量及び52週間の累積総体
 重増加量を次表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	60	120	240	0	60	120	240
週累 毎積 の増 加 量 (kg)	1週								
	2週								
	3週								
	4週								
	5週								
	6週								
	7週								
	8週								
総累積増加量 (kg): 0~52週									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

雌雄の240ppm群の体重及び体重増加量は、全投与期間を通じて対照群の値に比べて低く、低下の程度は雌でより顕著であった。
60及び120ppm群の体重推移は、対照群と同程度であった。

摂餌量及び食餌効率；投与期間を通じて、全動物の摂餌量を毎日測定した。また、食餌効率を毎週算出した。
投与開始後1及び2週において、対照群の値に比べて240ppm群の雌雄で摂餌量の低値が見られた。この低値は検体投与に起因する変化と考えられた。
その後の摂餌量については240ppm群と対照群で同程度であった。全投与期間を通じて、60及び120ppm群の摂餌量は対照群の値と同程度であった。
食餌効率については、対照群と検体投与群の値は同程度であった。

検体摂取量； 摂餌量及び投与濃度から算出した投与期間中の1日あたりの平均検体摂取量を次表に示す。

投与量 (ppm)		60	120	240
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.1	4.0	8.7
	雌	2.3	4.5	10.1

血液学的検査；投与開始前、投与開始後3及び6カ月時、ならびに12カ月時の投与終了時に全動物を対象として、一晚絶食させた動物の頸静脈より血液を採取し、以下の項目を測定した。
赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数、白血球数、白血球百分比及び赤血球の形態（鏡検）
統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性別	雄			雌		
	60	120	240	60	120	240
赤血球数 3 ヵ月						
白血球数 12ヵ月						

↑↓：P ≤ 0.05 (Dunnett 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

投与開始3カ月時に対照群に比べて240ppm群の雌で赤血球数の有意低値 ($6.68 \times 10^6 / \mu\text{L}$) が見られた。しかし、この低値は背景データ (平均 6.68 、範囲 $5.26 \sim 8.30 \times 10^6 / \mu\text{L}$) の範囲内の軽度の変化であり、同様の変化が他のいずれの検査時期にも見られなかったことから、検体投与に起因しないものと考えられた。投与終了時に120ppm群の雄で白血球数の有意な高値が見られたが、240ppm群で同様の変化が見られなかったことから、検体投与に起因しない変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液生化学検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ（ALP）、乳酸脱水素酵素（LDH）、 γ -GT、血糖、総蛋白、アルブミン、グロブリン（計算値）、クレアチニン、クレアチンキナーゼ、総コレステロール、総ビリルビン、直接ビリルビン、リン、カルシウム、ナトリウム、カリウム及び塩素

統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	60	120	240	60	120	240
クレアチニン	6カ月					
	12カ月					
血糖	12カ月					
グロブリン	12カ月					

↑↓：P ≤ 0.05 (Dunnett 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

投与開始6カ月時及び投与終了時に120及び240ppm群の雄で見られたクレアチニンの高値（いずれも0.9 mg/dL）は、背景データの範囲内（平均 0.7、範囲 0.4~1.0 mg/dL）の軽度の変化であり、検体投与に起因しない変化であると考えられた。

その他、中投与群の血糖及びグロブリンに有意な変化が見られたが、いずれの変化も用量相関性がなく、検体投与に起因しない変化であると考えられた。

尿検査；血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。
外観、量（16時間蓄尿）、比重、pH、蛋白、糖、ケトン体、総ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、浸透圧、沈渣（鏡検）
いずれの検査時期においても、検体投与に起因する変化は見られなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び投与終了時に全動物を対象として検査した。
いずれの検査時期においても、雌雄全群の動物に眼の異常は見られなかった。

臓器重量；投与終了時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比及び対脳重量比も算出した。

副腎、脳、腎臓、肝臓、精巣、甲状腺及び上皮小体
統計学的有意差の見られた項目を次表（次頁）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日本農薬株式会社にある。

(臓器重量の結果表)

性別	雄			雌		
	60	120	240	60	120	240
投与量 (ppm)						
体重						
副腎 対体重比						
脳 対体重比						
肝臓 対体重比						

↑↓ : P < 0.05 (Dunnett 検定)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

検体投与群に見られたいずれの変化も、対照群の値とほぼ同程度であり、検体投与に起因しない変化であると考えられた。

肉眼的病理検査；投与終了時の全動物について剖検を行った。

肺に見られた病変の発生頻度を次表に示す。

性別	雄				雌			
	0	60	120	240	0	60	120	240
肺 (検査動物数)								
退色領域								
退色巣								
結節/腫瘍								

肺の病変については、次の病理組織学的検査の項で述べる。

種々の病変が見られたが、いずれも検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

病理組織学的検査；肉眼病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、大動脈（胸部）、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼、大腿骨、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（下顎、腸間膜）、乳腺、卵巣、卵管、膵臓、上皮小体、末梢神経（坐骨）、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、筋肉（大腿）、皮膚、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、骨髓（胸骨）、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、膾、子宮、肉眼的病変部

主要な病理組織学的変化の発生頻度を次表（次頁）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日本農薬株式会社にある。

(病理組織学的変化の発生頻度表)

性別	雄				雌			
	0	60	120	240	0	60	120	240
肺： 間質性肺炎（非特異的） 間質性／胸膜下線維化 異物肉芽腫／肺炎	(検査動物数)							
胃： リンパ系細胞 胚中心を有するリンパ 濾胞、粘膜固有層のリン パ系細胞の浸潤、粘 膜リンパ系細胞集合を 含む	(検査動物数)							
	グレード 1							
	主検査 // 2							
	// 3							
	// 4							
	(検査動物数)							
	グレード 1							
	追加検査 // 2							
	// 3							
	// 4							
小腸： パイエル板の腫大／ 過形成を含むリンパ 系細胞	(検査動物数)							
	グレード 1							
	// 2							
	// 3							
	// 4							
大腸： リンパ系細胞 粘膜／粘膜下リンパ濾 胞の腫大／過形成・粘 膜固有層のリンパ系細 胞の浸潤	(検査動物数)							
	グレード 1							
	// 2							
	// 3							
	// 4							
腸間膜リンパ節： リンパ系細胞 胚中心を有するリン パ濾胞の腫大／過形成	(検査動物数)							
	グレード 1							
	// 2							
	// 3							
	// 4							

[グレード] 1：軽微、2：軽度、3：中等度、4：重度

剖検の結果、対照群の動物を含め数匹の肺において、限局性又は多発性の退色部位が見られた。病理組織学的には間質性肺炎、胸膜下の線維化又は異物肉芽腫と診断された。これらの肺の病変はその発生頻度が、対照群と投与群で同程度であり、検体投与に起因する変化であるとは考えられなかった。胃、小腸、大腸の腸管付属リンパ組織、腸間膜リンパ節について、120ppm及び240ppm群でリンパ系細胞の増加が見られた。胃について追加の病理標本を作製し、検査しても同様の結果が得られた。しかし、見られたいずれの変化も生理学的変動の範囲内であることから、毒性学的意義はないと考えられた。

以上の結果から、本剤のイヌに対する混餌法による12カ月間投与による慢性毒性試験における影響として、240ppm群に一般状態の変化として雄で流涎が見られ、雌雄で体重、体重増加量及び摂餌量の低値が見られたので最大無作用量は雌雄とも120ppm（雄 4.0 mg/kg/日、雌 4.5 mg/kg/日）と判断された。