

2. 代謝物を用いた試験成績

(1) 代謝物[IV] (動物・植物・土壌代謝物・加水分解・光・水中光分解) :

急性毒性試験 (経口および経皮)

毒性資料 No. 代謝物-1 (抜粋)

試験機関 :

報告書作成年 : 1981 年

検体の純度 : 98%

供試動物 : Wistar ラット (TNO/W74)、1 群動物数 : 急性経口毒性試験 雌雄各 10 匹 (投与開始時体重 雄-160~185g, 雌-160~180g), 急性経皮毒性試験 雌雄各 5 匹 (投与開始時体重 雄-200~215g, 雌-190~200g)

観察期間 : 14 日間

(1)-1. 急性経口毒性試験

投与方法 : 検体をクレモホア EL 水溶液に懸濁して強制経口投与した (投与容量 10mL/kg)。投与前に一晩絶食した。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与前並びに投与後 7 および 14 日に測定した。死亡動物についてはその発見時に、生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。(投与日を 0 日として起算)

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 : 100, 250, 500, 600, 750, 1000, 1250, 1750, 2500, 3000 雌 : 100, 250, 500, 750, 1000, 1500, 2500, 3000
LD ₅₀ (mg/kg) および 95%信頼限界 [#]	雄 : 1248 (1042 - 1499) 雌 : 1040 (807 - 1311)
死亡開始時間および終了時間	雄 : 投与後 2 時間開始、投与後 3 日終了 雌 : 投与後 2 時間開始、投与後 1 日終了
最小致死用量 (mg/kg)	雄 : 750 雌 : 500
死亡例を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雄 : 600 雌 : 250
毒性徴候を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雄 : 100 雌 : 100

#: プロビット法により算出

投与後 1 時間以内に粗毛や活動低下、不調和な歩行を観察、時として呼吸

困難も現れた。致死用量では腹臥姿勢となり痙縮を認めた。これら症状は投与後最大9日まで観察された。生存動物の体重増加への影響はみられなかった。

死亡動物に対する剖検では肺の拡張、脾臓および腎臓の褪色等を観察したが、投与14日後における生存動物の剖検では特筆すべき肉眼的異常所見は認められなかった。

(1)-2. 急性経皮毒性試験

投与方法：検体にセルロース（粉状）を加えてペースト状にし、これを前日に剪毛した背部皮膚に適用した。投与用量は5000 $\mu\text{L}/\text{kg}$ で適用時間は24時間とし、その後検体を除去した。

観察・検査項目：経口投与と同様に14日間観察し、体重を毎週測定。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮	
投与量 ($\mu\text{L}/\text{kg}$)	雄：5000	雌：5000
LD ₅₀ ($\mu\text{L}/\text{kg}$)	雄：> 5000	雌：> 5000
死亡開始時間および終了時間	-	-
最小致死用量 ($\mu\text{L}/\text{kg}$)	雄：> 5000	雌：> 5000
死亡例を認めなかった最高用量 ($\mu\text{L}/\text{kg}$)	雄：5000	雌：5000
毒性徴候を認めなかった最高用量 ($\mu\text{L}/\text{kg}$)	雄：5000	雌：5000

観察期間を通じて、中毒症状や死亡は観察されなかった。また体重への影響もみられず、投与14日後における生存動物の剖検で特筆すべき肉眼的異常所見は認められなかった。

代謝物[IV] (動物・植物・土壌代謝物・加水分解・光・水中光分解) :
細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

毒性資料 No. 代謝物-2

試験機関 :

報告書作成年 : 1985 年

検体の純度 : 98.7%

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。
検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は 0.1mL/プレートとした。濃度設定試験では 20~12500 μ g/プレートの 5 濃度で実施した。また本試験では濃度設定試験の結果に基づき 25~400 μ g/プレートの 5 濃度で実施した。試験は 4 連制とし 2 回 (濃度設定試験及び本試験) 行った。陽性対照*および溶媒対照 (DMSO) についても同時に実施した。37°C で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。
溶媒対照に比し 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、再現性のある正の濃度反応関係がある場合に変異原性を有すると判定した。

*:陽性対照 ; Endoxan, tryptaflavine、2-amino-anthracene

結 果 : 結果を次表に示した。

この復帰突然変異試験の結果、検体処理群では、S9-mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても再現性のある復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上、代謝物[IV]は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられた。

表 1 復帰突然変異試験成績 (濃度設定試験)

(表中の値は4枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1ml	-	81	14	16	8
検 体	20		79	19	14	7
	100		b70	b19	12	6
	500		b51	b-	b10	b-
	2500		b0	b0	b-	b0
	12500		b0	b0	b-	b0
陽性対照 Endoxan	145 ^{\$}		NT	22	NT	NT
	290 ^{\$\$}		85	NT	NT	NT
T. flavin	50		NT	NT	51	28
2-AA	3		103	14	34	12
溶媒対照 (DMSO)	0.1 ml	+	158	58	89	9
検 体	20		142	58	84	9
	100		b144	b57	73	8
	500		b93	b57	b77	b8
	2500		b-	b-	b-	b-
	12500		b-	b-	b-	b-
陽性対照 Endoxan	145 ^{\$}		NT	133	NT	NT
	290 ^{\$\$}		260	NT	NT	NT
T. flavin	50		NT	NT	1025	129
2-AA	3		1250	208	996	134

\$: cyclophosphamide 100 μg に相当、\$\$: cyclophosphamide 200 μg に相当

T. flavin : tryptaflavine、2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

表 2 復帰突然変異試験成績 (本試験)

(表中の値は4枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1ml	-	67	17	31	9
検 体	25		73	19	36	7
	50		86	25	34	8
	100		90	14	b31	6
	200		b76	b22	b29	b6
	400		b60	b14	b10	b-
陽性対照 Endoxan	145 ^{\$}		NT	23	NT	NT
	290 ^{\$\$}		91	NT	NT	NT
T. flavin	50		NT	NT	67	38
2-AA	3		113	16	52	13
溶媒対照 (DMSO)	0.1 ml	+	110	12	40	8
検 体	25		106	12	47	8
	50		94	9	37	7
	100		88	9	b36	5
	200		b101	b12	b32	b10
	400		b88	b16	b20	b7
陽性対照 Endoxan	145 ^{\$}		NT	190	NT	NT
	290 ^{\$\$}		271	NT	NT	NT
T. flavin	50		NT	NT	1883	501
2-AA	3		1715	362	1208	127

\$: cyclophosphamide 100 μg に相当、\$\$: cyclophosphamide 200 μg に相当

T. flavin : tryptaflavine、2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

(2) 代謝物 [VII] (植物・土壌) :

急性経口毒性試験

毒性資料 No. 代謝物-3

試験機関 :

報告書作成年 : 1986 年

検体の純度 : 98.2% (HPLC), 98.6% (GC)

供試動物 : Wistar ラット (Bor:WISW (SPF-Cpb))、

投与時体重 : 雄-171~183g, 雌-165~178g, 1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 検体をポリエチレングリコール 400 (PEG 400) に溶解して強制経口投与した (投与容量 5mL/kg)。投与前に一晩絶食し、投与後 2 時間で再給餌した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与前並びに投与後 7 及び 14 日に測定した。死亡動物についてはその発見時に、生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。(投与日を 0 日として起算)

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 : 2500, 5000 雌 : 2500, 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 : > 5000 雌 : > 5000
発症開始及び終了時間	雄 : 投与後 1 時間開始、投与後 1 日終了 雌 : 投与後 1 時間開始、投与後 5 日終了
最小致死用量 (mg/kg)	雄 : > 5000 雌 : > 5000
死亡例を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雄 : 5000 雌 : 5000
毒性徴候を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雄 : 2500 雌 : 2500

雌雄共に 5000 mg/kg 群で、投与後 1 時間に粗毛や活動低下、よろめき歩行、腹臥姿勢、反応性の低下がみられ、その後、呼吸困難を呈する動物を散見した。症状は最大で 5 日まで観察されたが、雌雄共に死亡は認められなかった。生存動物の体重増加への影響はみられなかった。投与 14 日後における生存動物の剖検では特筆すべき肉眼的異常所見は認められなかった。

代謝物[VII] (植物・土壌) :

細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

毒性資料 No. 代謝物-4

試験機関 :

報告書作成年 : 1988 年 [GLP 対応]

検体の純度 : 98.8%

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は 0.1mL/プレートとした。濃度設定試験では 20~12500 μ g/プレートの 5 濃度で実施した。また本試験では濃度設定試験の結果に基づき 75~2400 μ g/プレートの 6 濃度で実施した。さらに本試験の S9-mix の存在下については S9 の濃度を 2 段階設けて実施した。試験は 4 連制とし 2 回 (濃度設定試験及び本試験) 行った。陽性対照*および溶媒対照 (DMSO) についても同時に実施した。37°C で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。溶媒対照に比し 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、再現性のある正の濃度反応関係がある場合に変異原性を有すると判定した。

*: 陽性対照

代謝活性化 : NaN_3 , nitrofurantoin, 4-nitro-1,2-phenylenediamine

非代謝活性化 : 2-amino-anthracene

結 果 : 結果を次表に示した。

この復帰突然変異試験の結果、検体処理群では、S9-mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても再現性のある復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上、代謝物[VII]は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられた。

表 1 復帰突然変異試験成績 (濃度設定試験)

(表中の値は4枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	90	14	14	6
検 体	20		90	12	14	7
	100		95	15	19	6
	500		b97	b14	b24	b4
	2500		b-	b-	b-	b-
	12500		p-	p-	p-	p-
陽性対照	NaN ₃ 10		NT	581	NT	NT
	NF 0.2		407	NT	NT	NT
	4-NPDA 10		NT	NT	NT	150
	0.5		NT	NT	111	NT
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	124	23	26	7
検 体	20		109	17	28	6
	100		116	22	23	4
	500		b113	b12	b32	b7
	2500		b-	b-	b-	b-
	12500		p-	p-	p-	p-
陽性対照 2-AA	3	562	160	609	91	

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylenediamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、p : 結晶析出、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

表 2 復帰突然変異試験成績 (本試験)

(表中の値は4枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	98	15	13	6
検 体	75		94	18	11	7
	150		118	17	14	8
	300		b105	b17	15	b8
	600		b65	b11	b11	b6
	1200		b50	b7	b12	b4
	2400		b-	b-	b-	b0
陽性対照						
NaN ₃	10		NT	819	NT	NT
NF	0.2		402	NT	NT	NT
4-NPDA	10	NT	NT	NT	101	
	0.5	NT	NT	128	NT	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+ (30%)	105	15	31	9
検 体	75		104	12	31	7
	150		160	15	29	7
	300		b124	b19	30	b6
	600		b85	b18	b31	b4
	1200		b48	b7	b19	b1
	2400		b-	b-	b-	b-
陽性対照						
2-AA	3		449	190	367	53
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL		+ (10%)	92	13	28
検 体	75	84		8	29	10
	150	85		7	23	7
	300	b69		b12	b21	b4
	600	b86		b13	b23	b6
	1200	b63		b8	b19	b4
	2400	b-		b-	b-	b-
陽性対照						
2-AA	3	1405		310	1725	490

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylenediamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、p : 結晶析出、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

(3) 代謝物[VI](動物・植物・土壌代謝物・光・水中光分解) :
急性経口毒性試験

毒性資料 No. 代謝物-5
試験機関 :
報告書作成年 : 1986 年

検体の純度 : 95.4%

供試動物 : Wistar ラット (Bor:WISW (SPF-Cpb))、
投与時体重 : (投与開始時体重 雄-170~183g, 雌-171~178g)、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 検体をポリエチレングリコール #400 (PEG 400) に溶解して強制経口投与した (投与容量 5mL/kg)。投与前に一晩絶食し、投与後 2 時間で再給餌した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与前並びに投与後 7 及び 14 日に測定した。死亡動物についてはその発見時に、生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。(投与日を 0 日として起算)

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 : 2500, 5000 雌 : 2500, 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 : > 5000 雌 : > 5000
発症開始及び終了時間	雄 : 投与後 1 時間開始、投与後 3 日終了 雌 : 投与後 1 時間開始、投与後 8 日終了
最小致死用量 (mg/kg)	雄 : > 5000 雌 : > 5000
死亡例を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雄 : 5000 雌 : 5000
毒性徴候を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雄 : 2500 雌 : 2500

雌雄共に 5000mg/kg 群で、投与後 1 時間に活動低下がみられ、その後、雌では呼吸困難やよろめき歩行を示す動物を散見した。症状は最大で 8 日まで観察されたが、雌雄共に死亡は認められなかった。生存動物の体重増加への影響はみられなかった。

投与 14 日後における生存動物の剖検では特筆すべき肉眼的異常所見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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝物[VI]動物・植物・土壌代謝物・光・水中光分解物：
細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

毒性資料 No. 代謝物-6

試験機関：

報告書作成年：1989 年 [GLP 対応]

検体の純度：99.8%

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 5 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) 及び大腸菌 *Escherichia coli* 1 株 (WP2 uvrA) を用い、phenobarbital 及び benzoflavon で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレインキュベーション法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は 0.1mL/プレートとした。濃度は予備試験において 2500 µg/プレートで抗菌作用がみられなかったことから、最高濃度をガイドラインで定めている 5000µg/プレートとし、以下公比 2 で 312.5~5000µg/プレートの 5 濃度で実施した。なお、プレートに播種する前に 37°C、20 分のプレインキュベーション処理を行った。試験は 2 連制とし 1 回行った。陽性対照*および溶媒対照も同時に実施した。37°C で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。溶媒対照に比し 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、正の濃度反応関係がある場合に変異原性を有すると判定した。

陽性対照

代謝活性化 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide) : AF-2
N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine : ENNG
9-aminoacridine : 9-AA
非代謝活性化 2-amino-anthracene : 2-AA

結 果：結果を次表に示した。

この復帰突然変異試験の結果、検体処理群では、S9-mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても再現性のある復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、代謝物[VI]は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられた。

表 1 復帰突然変異試験成績

(表中の値は2枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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 uvrA	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	70	4	7	14	2	
検 体	312.5		65	6	9	12	8	
	625		81	7	8	9	1	
	1250		84	6	11	12	4	
	2500		63	5	10	b-	b-	
	5000		b-	b-	8	b-	b-	
陽性対照	AF-2		0.1	NT	NT	NT	246	NT
			0.01	300	NT	NT	NT	NT
			0.04	NT	NT	266	NT	NT
	ENNG		5.0	NT	126	NT	NT	NT
	9-AA	80.0	NT	NT	NT	NT	2117	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	58	8	12	24	7	
検 体	312.5		66	3	10	19	8	
	625		59	5	15	20	8	
	1250		65	5	9	21	5	
	2500		43	b-	12	15	1	
	5000		b-	b-	b-	b-	b-	
陽性対照	2-AA		0.5	NT	NT	NT	112	NT
			1.0	325	NT	NT	NT	NT
			2.0	NT	57	NT	NT	37
			20.0	NT	NT	172	NT	NT

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

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9-AA : 9-aminoacridine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

(4) 代謝物[V] (植物) :
急性経口毒性試験

毒性資料 No. 代謝物-7

試験機関 :

報告書作成年 : 1987 年

検体の純度 : 98.3%

供試動物 : Wistar ラット (Bor:WISW (SPF-Cpb))、

投与時体重 : 雄-174~192g, 雌-171~193g, 1 群雌雄各 5 匹、

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 検体をポリエチレングリコール 400 (PEG 400) に溶解して強制経口投与した (投与容量 5mL/kg)。投与前に一晩絶食し、投与後 2 時間で再給餌した。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与前並びに投与後 7 および 14 日に測定した。死亡動物についてはその発見時に、生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 : 500, 1000, 1600, 2000, 2500 雌 : 1000, 1600, 1800, 2000, 2240, 2500
LD ₅₀ (mg/kg) および 95%信頼限界	雄 : 1599 (1280 - 1998) [#] 雌 : 1600 - 1800
死亡開始および終了時間	雄 : 投与後 3 時間開始、投与後 2 日終了 雌 : 投与後 4 時間開始、投与後 2 日終了
発症開始および終了時間	雄 : 投与後 13 分開始、投与後 4 日終了 雌 : 投与後 11 分開始、投与後 4 日終了
最小致死用量 (mg/kg)	雄 : 1000 雌 : 1800
死亡例を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雄 : 500 雌 : 1600
毒性徴候を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雄 : 500 雌 : - (全群で徴候あり)

#: プロビット法により算出

雌雄共に 1000mg/kg 以上の投与群で、よろめき歩行、腹臥、反応性の低下、振せん、呼吸困難等がみられ、症状は最大で 4 日まで観察された。死亡は雄で 1000mg/kg 以上、雌で 1800mg/kg 以上の群でみられ、投与後 3 時間から 2 日にかけて認められた。

生存動物の体重増加への影響はみられなかった。

観察期間中に死亡した動物に対する剖検では、肺の拡張や斑、脾臓の褪色や斑、さらに腸管内暗赤色粘液を観察したが、投与 14 日後における生存動物の剖検では特筆すべき肉眼的異常所見は認められなかった。

代謝物[V] (植物) :

細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

毒性資料 No. 代謝物-8

試験機関 :

報告書作成年 : 1987 年 [GLP 対応]

検体の純度 : 98.3%

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は 0.1mL/プレートとした。濃度設定試験では 20~12500 μ g/プレートの 5 濃度で実施した。また 2 回の本試験を実施し、初回は濃度設定試験の結果に基づき 250~2000 μ g/プレートの 5 濃度で、2 回目は初回の試験結果を考慮し 37.5~520 μ g/プレートの 5 濃度で実施した。試験は 4 連制とし 2 回 (濃度設定試験及び本試験) 行った。陽性対照*および溶媒対照 (DMSO) についても同時に実施した。37 $^{\circ}$ C で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。

溶媒対照に比し 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、再現性のある正の濃度反応関係がある場合に変異原性を有すると判定した。

*陽性対照

代謝活性化 : NaN_3 , nitrofurantoin, 4-nitro-1,2-phenylenediamine

非代謝活性化 : 2-amino-anthracene

結 果 : 結果を次表に示した。

この復帰突然変異試験の結果、検体処理群では、S9-mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても再現性のある復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。なお抗菌作用は 500 μ g/プレート以上で観察された。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、代謝物[V]は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられた。

表 1 復帰突然変異試験成績 (濃度設定試験)

(表中の値は4枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	115	15	12	8
検 体	20		102	20	16	5
	100		92	28	11	6
	500		102	18	18	b6
	2500		b0	b0	b0	b0
	12500		b0	b0	b0	b0
陽性対照						
NaN ₃	10		NT	974	NT	NT
NF	0.2		396	NT	NT	NT
4-NPDA	10		NT	NT	NT	56
	0.5	NT	NT	57	NT	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	166	17	35	12
検 体	20		150	15	27	5
	100		137	20	26	3
	500		133	14	34	b1
	2500		b-	b-	b-	b-
	12500		b0	b0	b0	b0
陽性対照						
2-AA	3	1016	442	406	47	

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylenediamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

表 2 復帰突然変異試験成績 (本試験 / 1 回目)

(表中の値は 4 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	80	12	13	7
検 体	250		72	17	15	6
	500		b72	17	21	b6
	1000		b57	b9	b-	b-
	1500		b0	b-	b0	b0
	2000		b0	b0	b0	b0
陽性対照						
Na ₃	10		NT	856	NT	NT
NF	0.2		232	NT	NT	NT
4-NPDA	10		NT	NT	NT	58
	0.5	NT	NT	56	NT	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	123	14	24	9
検 体	250		107	11	21	3
	500		b87	13	23	b4
	1000		b63	b6	b16	b-
	1500		b-	b-	b-	b0
	2000		b0	b0	b0	b0
陽性対照						
2-AA	3	889	321	1155	39	

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylenediamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

表 3 復帰突然変異試験成績 (本試験 / 2回目)

(表中の値は4枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	98	16	16	7
検 体	37.5		90	12	16	7
	75		106	12	15	5
	130		104	8	16	5
	260		106	8	16	5
	520		b82	8	b13	b4
陽性対照						
NaN ₃	10		NT	866	NT	NT
NF	0.2		313	NT	NT	NT
4-NPDA	10		NT	NT	NT	68
	0.5	NT	NT	77	NT	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	129	16	32	6
検 体	37.5		120	9	32	6
	75		119	13	33	5
	130		126	12	35	7
	260		126	11	30	8
	520		b83	4	b21	b-
陽性対照						
2-AA	3	1732	518	1020	84	

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylenediamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

(5) 代謝物[Ⅲ](植物・土壌)：
急性経口毒性試験

毒性資料 No. 代謝物-9

試験機関：

報告書作成年：1986年

検体の純度：99.1%

供試動物：Wistar ラット(Bor:WISW (SPF-Cpb))、

投与時体重：雄-174~180g, 雌-168~172g, 1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

投与方法：検体をポリエチレングリコール 400 (PEG 400)に溶解して強制経口投与した(投与容量 5~10mL/kg)。投与前に一晩絶食し、投与後2時間で再給餌した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。体重を投与前並びに投与後7および14日に測定した。死亡動物についてはその発見時に、生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：1000, 2500 雌：2500
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：> 2500 雌：> 2500
発症開始および終了時間	雄：投与後3時間開始、投与後7日終了 雌：投与後4時間開始、投与後13日終了
最小致死用量(mg/kg)	♂：> 2500 ♀：> 2500
死亡例を認めなかった最高用量 (mg/kg)	♂：2500 ♀：2500
毒性徴候を認めなかった最高用量(mg/kg)	♂：1000 ♀：- (全群で徴候あり)

雌雄共に 2500mg/kg 以上の投与群で、活動低下、粗毛、下痢等がみられ、症状は投与後3時間からあらわれ最大で13日まで観察された。死亡は雌雄共に2500mg/kgでも認められなかった。

生存動物の体重増加への影響はみられなかった。

投与14日後における生存動物の剖検では特筆すべき肉眼的異常所見は認められなかった。

代謝物[Ⅲ](植物・土壌) :

細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

毒性資料 No. 代謝物-10

試験機関 :

報告書作成年 : 1988 年 [GLP 対応]

検体の純度 : 79.3%

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は 0.1mL/プレートとした。濃度設定試験では 20~12500 μ g/プレートの 5 濃度で実施した。この濃度設定試験の結果に基づき 15~480 μ g/プレートの 6 濃度で 2 回の本試験を実施した。うち 1 回は S9-mix の別の濃度を加えて実施した。試験は 4 連制とし 2 回 (濃度設定試験及び本試験) 行った。陽性対照*および溶媒対照 (DMSO) も同時に実施した。37°C で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。

溶媒対照に比し 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、再現性のある正の濃度反応関係がある場合に変異原性を有すると判定した。

*陽性対照

代謝活性化 : NaN_3 , nitrofurantoin, 4-nitro-1,2-phenylenediamine

非代謝活性化 : 2-amino-anthracene

結 果 : 結果を次表に示した。

この復帰突然変異試験の結果、検体処理群では、S9-mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても再現性のある復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。なお抗菌作用が低濃度からみられたが、500 μ g/プレートまでの濃度では抗菌作用の程度は限定的であり、結果の評価に影響するものではないと判断した。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、代謝物[Ⅲ]は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられた。

表 1 復帰突然変異試験成績（濃度設定試験）

（表中の値は4枚のプレートの平均値）

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	115	13	12	9
検 体	20		b86	b15	b10	b6
	100		b69	b13	b14	b7
	500		b66	b7	b13	b3
	2500		b2	b-	b-	b0
	12500		b0	b0	b0	b0
陽性対照						
NaN ₃	10		NT	1022	NT	NT
NF	0.2		366	NT	NT	NT
4-NPDA	10		NT	NT	NT	84
	0.5	NT	NT	1137	NT	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	144	15	21	8
検 体	20		b115	b18	b22	b6
	100		b97	b17	b18	b6
	500		b55	b9	b18	b4
	2500		b15	b-	b-	b0
	12500	b8	b-	b-	b0	
陽性対照						
2-AA	3	594	277	374	49	

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylenediamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

表 2 復帰突然変異試験成績 (本試験 / 1 回目)

(表中の値は 4 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	103	16	15	7
検 体	15		b80	b16	14	b6
	30		b78	b17	11	b8
	60		b67	b16	b13	b5
	120		b56	b11	b12	b5
	240		b36	b12	b11	b4
480	b-		b6	b8	b-	
陽性対照						
NaN ₃	10	NT	810	NT	NT	
NF	0.2	401	NT	NT	NT	
4-NPDA	10	NT	NT	NT	94	
	0.5	NT	NT	90	NT	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	116	17	29	8
検 体	15		b90	b15	24	b4
	30		b86	b15	17	b6
	60		b84	b17	b25	b5
	120		b84	b14	b11	b6
	240		b77	b12	b16	b3
480	b20		b9	b9	b2	
陽性対照						
2-AA	3	484	b274	b289	34	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	99	14	31	6
検 体	15		b97	13	24	b9
	30		b98	b13	b25	b8
	60		b81	b13	b24	b10
	120		b74	b13	b27	b8
	240		b39	b10	b24	b6
480	b-		b12	b12	b-	
陽性対照						
2-AA	3	1454	b485	980	210	

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylenediamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

表 3 復帰突然変異試験成績 (本試験 / 2 回目)

(表中の値は 4 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	116	24	15	9
検 体	15		b106	b23	b15	9
	30		b80	b20	b15	b10
	60		b83	b21	b13	b7
	120		b63	b17	b10	b7
	240		b-	b15	b12	b5
480	b-		b10	b9	b1	
陽性対照						
NaN ₃	10		NT	1084	NT	NT
NF	0.2		437	NT	NT	NT
4-NPDA	10	NT	NT	NT	122	
	0.5	NT	NT	128	NT	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+ (30%)	148	12	20	9
検 体	15		b142	b14	b20	8
	30		b131	b14	b12	b7
	60		b126	b12	b12	b8
	120		b105	b12	b25	b5
	240		b67	b13	b22	b7
480	b-		b11	b11	b5	
陽性対照						
2-AA	3	384	b210	329	b62	

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylenediamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

(6) 代謝物[VIII] (産卵鶏) :
急性経口毒性試験

毒性資料 No. 代謝物-11

試験機関 :

報告書作成年 : 1987 年

検体の純度 : 98%

供試動物 : Wistar ラット (Bor:WISW (SPF-Cpb))、

投与時体重 : 雄-166~178g, 雌-175~180g, 1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 検体をポリエチレングリコール 400 に懸濁して強制経口投与した (投与容量 5mL/kg)。投与前に一晩絶食し、投与後 2 時間で再給餌した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与前並びに投与後 7 及び 14 日に測定した。死亡動物についてはその発見時に、生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 : 1000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 : >1000
発症開始及び終了時間	症状なし
最小致死用量 (mg/kg)	雌雄 : >1000
死亡例を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雌雄 : 1000
毒性徴候を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雌雄 : 1000

雌雄共に中毒症状及び死亡は認められなかった。また体重増加への影響もみられなかった。

投与 14 日後における生存動物の剖検では特筆すべき肉眼的異常所見は認められなかった。

代謝物[VIII] (産卵鶏) :

細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

毒性資料 No. 代謝物-12

試験機関 :

報告書作成年 : 1987 年

検体の純度 : 98%

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。S9-mix 中の S9 濃度は 1 回目および 2 回目試験では 30%、3 回目試験では 10%とした。検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は 0.1mL/プレートとした。1 回目の試験では 20~12500 μ g/プレートの 5 濃度で実施した。2 回目の試験は 1 回目の試験結果に基づき 300~9600 μ g/プレートの 6 濃度で実施した。1 回目の試験の S9-mix 非存在下において、TA100 株で 500 μ g/プレートの濃度で溶媒対照の約 1.7 倍の復帰変異コロニー数の増加が見られたため、3 回目の試験では、S9-mix 非存在下については TA100 株のみを用いて 100~700 μ g/プレートで 2 回実施し、S9-mix 存在下については S9 濃度を下げて 2 回目試験と同濃度で実施した。試験は 4 連制で行った。陽性対照*および溶媒対照 (DMSO) についても同時に実施した。37°C で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。溶媒対照に比し約 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、再現性のある正の濃度反応関係がある場合に変異原性を有すると判定した。

*陽性対照

代謝活性化 : NaN_3 , nitrofurantoin, 4-nitro-1,2-phenylene diamine

非代謝活性化 : 2-amino-anthracene

結 果 : 結果を次表に示した。

この復帰突然変異試験の結果、検体処理群では、S9-mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても再現性のある復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。なお抗菌作用は 200 μ g/プレート以上で観察された。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、代謝物[VIII]は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられた。

表 1 復帰突然変異試験成績 (1回目)

(表中の値は4枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1mL	-	103	17	16	6
検 体	20		117	17	18	7
	100		137	16	18	7
	500		b170	b23	b20	b7
	2500		b74	b12	b13	b5
	12500		b-	b-	b-	b-
陽性対照						
NaN ₃	10		NT	1067	NT	NT
NF	0.2		382	NT	NT	NT
4-NPDA	10		NT	NT	NT	136
	0.5	NT	NT	213	NT	
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	135	17	32	8
検 体	20		141	14	30	8
	100		140	17	32	7
	500		b146	b21	b32	b7
	2500		b114	b15	b16	b5
	12500		b24	b-	b-	b-
陽性対照						
2-AA	3	1657	493	734	58	

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylene diamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

表 2 復帰突然変異試験成績 (2回目)

(表中の値は4枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	87	15	16	7
検 体	300		b84	15	17	8
	600		b89	b10	b12	5
	1200		b89	b12	b14	b7
	2400		b78	b8	b11	b6
	4800		b74	b8	b5	b6
9600	b41		b-	b-	b-	
陽性対照						
NaN ₃	10		NT	944	NT	NT
NF	0.2		358	NT	NT	NT
4-NPDA	10		NT	NT	NT	81
	0.5		NT	NT	94	NT
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+ (30%)	133	15	28	8
検 体	300		b120	15	30	4
	600		b126	b14	b25	9
	1200		b112	b13	b18	b8
	2400		b119	b11	b16	b6
	4800		b93	b6	b10	b4
9600	b31		b-	b-	b-	
陽性対照						
2-AA	3		1286	434	641	35

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylene diamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

表 3 復帰突然変異試験成績 (3 回目)

(表中の値は 4 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9-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	TA100	TA1535	TA98	TA1537			
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	-	113	94	/	/	/			
検 体	100		91	110						
	200		b89	111						
	300		b85	b96						
	400		b99	b102						
	500		b92	b100						
	600		b82	b106						
	700		b92	b99						
陽性対照										
NaN ₃	10		NT	NT						
NF	0.2	278	319							
4-NPDA	10	NT	NT							
	0.5	NT	NT							
溶媒対照 (DMSO)	0.1 mL	+	127	/	11	27	8			
検 体	300		b134		b11	25	7			
	600		b113		b14	b25	b7			
	1200		b100		b14	b23	b9			
	2400		b93		b8	b16	b9			
	4800		b94		b10	b8	b2			
	9600		b32		b-	b-	b-			
陽性対照										
2-AA	3	2682	432	1685	408					

NF : nitrofurantoin、4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylene diamine

2-AA : 2-amino-anthracene

b : 抗菌作用あり、NT : 未実施、- : 背景細菌叢存在

3. 製剤を用いた試験成績

(1) 5%シフルトリン乳剤

/ ラットに対する急性毒性試験（経口、経皮）

毒性資料 No. 製剤-1

試験機関：

報告書作成年：1983年

組成：シフルトリン 5.0%
有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物：Sprague-Dawley ラット (Crj:CD)、7 週齢（投与時体重：雄 200～220g、雌 150～170g）、1 群雌雄各 10 匹

観察期間：14 日間

急性経口毒性試験

投与方法：検体に蒸留水を加えて懸濁し、強制経口投与した（投与容量：10mL/kg）。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与前、投与後 7 および 14 日に測定した。死亡動物は発見時に、生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：1820、2370、3080、4000 雌：1400、1820、2370、3080、4000、5200
LD ₅₀ (mg/kg) および 95%信頼限界	雄：2630 雌：2710 (2260～3270) (2350～3120)
死亡開始時間 および終了時間	雄：投与後 2 時間開始、投与後 2 日終了 雌：投与後 2 時間開始、投与後 2 日終了
症状発現時間 および消失時間	雄：投与後 10 分開始、投与後 5 日消失 雌：投与後 5 分開始、投与後 7 日消失
最小致死用量 (mg/kg)	雄：2370 雌：1820
死亡例を認めなかった最高 用量 (mg/kg)	雄：1820 雌：1400
毒性徴候を認めなかった 最高用量 (mg/kg)	雌雄：－（全群で徴候あり）

投与後 20 分以内に、全動物によるめき歩行と流涎が認められ、投与後数時間から 1 日までに四肢の緩徐な不随意運動、音・触刺激に対する反応の昂揚や挙尾等がみられた。これらの症状は大多数例で投与後 5 日には回復

し、7日には完全に消失した。動物の死亡は投与後2時間から2日までに生じた。体重増加への影響は認められなかった。

死亡した動物の剖検では、高用量群に肺のうっ血が散見された。また、3080mg/kgの雄1例と4000mg/kgの雌1例の胃粘膜部に出血斑がみられた。生存動物の剖検では特記すべき肉眼的異常所見はみられなかった。

急性経皮毒性試験

投与方法：検体に蒸留水を加えて懸濁し、これを前日に剪毛した背部皮膚に24時間塗布した（投与容量：5mL/kg）。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。体重を投与前、投与後7および14日に測定した。死亡動物は発見時に、生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮	
投与量 (mg/kg)	雄：5000	雌：5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：> 5000	雌：> 5000
最小致死用量(mg/kg)	雄：> 5000	雌：> 5000
死亡例を認めなかった最高用量 (mg/kg)	雄：5000	雌：5000
毒性徴候を認めなかった最高用量(mg/kg)	雄：5000	雌：5000

観察期間を通じて中毒症状は認められず、体重増加への影響もみられなかった。また塗布部位に発赤等の刺激性変化は認められなかった。経皮投与した動物の観察終了時の剖検では著変はみられなかった。

5%シフルトリン乳剤

/ マウスに対する急性経口毒性試験

毒性資料 No. 製剤-2

試験機関：

報告書作成年：1986年[GLP対応]

組成：シフルトリン 5.0%
有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物：ICR マウス(Crj:CD-1)、5週齢(投与時体重：雄 20~30 g、雌 17~22 g)、
1群雌雄各 10匹(雄の一部は 20匹)

観察期間：14日間

投与方法：検体に蒸留水を加えて懸濁し、強制経口投与した(投与容量：10mL/kg)。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14日間観察した。体重を投与前、投与後 7および 14日に測定した。死亡動物は発見時に、生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：410、540、700、910、1180、1540 雌：410、540、700、910、1180、1540
LD ₅₀ (mg/kg) および 95%信頼限界	雄：670 (610~740) 雌：780 (650~920)
死亡開始時間 および終了時間	雄：投与後 1時間開始、投与後 6時間終了 雌：投与後 50分開始、投与後 1日終了
症状発現時間 および消失時間	雄：投与後 2分開始、投与後 1日消失 雌：投与後 2分開始、投与後 1日消失
最小致死用量(mg/kg)	雄：540 雌：540
死亡例を認めなかった最高 用量 (mg/kg)	雄：410 雌：410
毒性徴候を認めなかった 最高用量(mg/kg)	雌雄：- (全群で徴候あり)

投与後数分から雌雄の動物に流涎と鎮静がみられはじめ、約 1 時間後に流涎、四肢の緩徐な不随意運動、よろめき歩行、鎮静、挙尾等の症状がピークとなった。生存例の症状は雌雄とも約 2 時間後から回復しはじめ、1 日以内に完全に消失した。中毒症状の重篤な動物は投与後約 1 時間~5 時間で死亡した。

生存動物の体重の推移は観察期間中各投与群とも同等の傾向を示し、明らかな体重増加への影響は認められなかった。

雌雄の死亡例に腸管の出血様変化、気管内の分泌物貯留が認められた。また、雌でのみ腺胃部の出血斑がみられ、いずれも検体に起因するものと考えられた。生存例では雌雄とも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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

**5%シフルトリン乳剤
/ 急性吸入毒性試験**

毒性資料 No. 製剤-3

組成：シフルトリン	5.0%
有機溶剤, 界面活性剤等	95.0%

試験成績の提出除外

本剤についての吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第4 試験成績の提出の除外について」(2)③のイの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬である。

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

5%シフルトリン乳剤

/ ウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (原液)

毒性資料 No. 製剤-4-1

試験機関:

報告書作成年: 1984年

組成: シフルトリン 5.0%
有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物: 日本白色種 雌ウサギ、適用時体重: 2.50~2.78kg、6匹

観察期間: 3日間

試験方法: 試験前日に左右側腹部を剪毛し、皮膚を粘着テープで角質層を除去した損傷皮膚および無損傷皮膚を各2区設けた。ガーゼ(2.5cm角)に試験試料0.5mLを滴下し、被験動物の側腹部無損傷皮膚と損傷皮膚各1区に貼付した。残りの無損傷皮膚と損傷皮膚各1区は対照区とし蒸留水のみを適用した。貼付後24時間にチャンバーを除去し、皮膚反応を Draize の評価表をもとにして貼付24時間(除去直後)および72時間後に炎症程度を観察し一次刺激値を求めた。

結果:

背部の皮膚適用後の結果を次表に示した。

表1. ウサギの皮膚に対する刺激性

区	動物 番号	無損傷皮膚				損傷皮膚				一次 刺激 値 [#]
		24時間		72時間		24時間		72時間		
		発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	
		4 [@]	4	4	4	4	4	4	4	8
検 体 処 理 区	1	2	1	1	1	3	3	4	3	4.50
	2	3	2	3	2	2	2	3	2	4.75
	3	2	1	2	2	2	1	3	2	3.75
	4	3	2	3	3	3	3	3	3	5.75
	5	2	2	2	2	2	2	2	1	3.75
	6	2	2	0	0	3	1	2	1	2.75
	平均	2.3	1.7	1.8	1.7	2.5	2.0	2.8	2.0	4.21*
対 照 区	1	0	0	0	0	2	0	1	0	0.75
	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0.25
	3	0	0	0	0	2	1	2	1	1.50
	4	1	0	0	0	2	1	1	0	1.25
	5	0	0	0	0	2	0	1	0	0.75
	6	0	0	0	0	2	0	2	0	1.25
	平均	0.2	0	0	0	2.0	0.3	1.2	0.2	0.96

@: 最高評点, *: P<0.05 (Student t検定、対照区との比較)

#: 一次刺激値=無損傷皮膚と損傷皮膚の24時間後と72時間後における反応の合計点を、24時間後と72時間後における反応項目である4で除したもの。

検体処理区では、72時間での無損傷皮膚における1例を除いて発赤と浮腫を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

全例に観察した。また貼布後 24 時間と 72 時間で炎症程度に差はみられず、明らかな回復はみられなかった。本試験の結果、検体処理区での平均一次刺激値は 4.21 であり、中程度の刺激性を示した。

以上、シフルトリン乳剤はウサギの皮膚に対し中等度の一次刺激性を有すると考えられた。

5%シフルトリン乳剤

/ ウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (1000倍希釈液)

毒性資料 No. 製剤-4-2

試験機関:

報告書作成年: 1984年

組成: シフルトリン 5.0%
有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物: 日本白色種 雄ウサギ、約5ヶ月齢(適用時体重: 3.04~3.17kg)、6匹

観察期間: 7日間

試験方法: 試験前日に被験動物の左右側腹部を剪毛し、皮膚角質層に滅菌針を用いて#状に傷つけた損傷皮膚、および無損傷皮膚を各2区設けた。リント布(2.5cm角)に蒸留水で1000倍希釈した被験液0.5mLを滴下し、被験動物の側腹部無損傷皮膚と損傷皮膚各1区に貼付した。残りの各1区は対照区とし蒸留水のみを適用した。貼付後24時間にチャンバーを除去し、皮膚反応をDraizeの評価表をもとにして貼付24、48、72、168時間後に観察。貼付後24時間(除去直後)および72時間の結果から一次刺激値を求め、刺激性を評価した。

結果:

背部の皮膚適用後の結果を次表に示した。

表1. ウサギの皮膚に対する刺激性 -1000倍希釈液-

区	動物番号	無損傷皮膚				損傷皮膚				一次刺激値 [#]
		24時間		72時間		24時間		72時間		
		発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	
		4 [@]	4	4	4	4	4	4	4	8
検体処理区	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	平均	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
対照区	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	平均	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0

@: 最高評点 (48および168時間の結果は炎症がみられなかったことから割愛。)

#: 一次刺激値=無損傷皮膚と損傷皮膚の24時間後と72時間後における反応の合計点を、24時間後と72時間後における反応項目である4で除したもの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

全動物の損傷部位と無損傷部位共に観察期間を通じ刺激反応はみられなかった。

以上、シフルトリン乳剤の 1000 倍希釈液はウサギの皮膚に対し一次刺激性を有さないと考えられた。

5%シフルトリン乳剤

/ ウサギにおける眼一次刺激性試験 (原液)

毒性資料 No. 製剤-5-1

試験機関:

報告書作成年: 1984 年

組成: シフルトリン 5.0%
有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物: 日本白色種 雌ウサギ、適用時体重: 2.32~2.65 kg)、
14 匹 (非洗眼群: 6 匹、洗眼群: 8 匹)

観察期間: 28 日間

試験方法:

無洗眼群 6 匹および洗眼群 8 匹の左眼に 0.1 mL を眼瞼結膜嚢に投与し、投与後 30 秒間、検体を結膜や角膜に接触させた。洗眼群についてはその後、300mL の微温湯で洗眼した。無洗眼群の右眼は無処理対照眼、洗眼群の右眼は洗眼対照眼とした (洗眼のみ)。

角膜、虹彩、結膜に対する症状の観察および判定は Draize の評価表に従って適用後 1、24、48 および 72 時間、7、14、21 および 28 日に行った。

Draize の評価結果から、J. H. Kay 等の方法に従って刺激性の評価を行った。

結 果:

無洗眼群の結果を表 1 に、洗眼群の結果を表 2 に示した。

無洗眼群では、角膜の混濁が適用後 1 時間で 1 例に、24 時間から 72 時間では全例に認められ、7 日以降から回復傾向がみられ、14 日ではほぼ回復し、28 日後に全例回復した。しかし適用 7 日後に全例で血管の増生がみられ、28 日後でも消失することはなかった。

虹彩の紋理に軽度の充血が適用 1 時間後から全例で観察されたが、適用後 7 日後にはすべて正常に回復した。

結膜は、適用 1 時間後から中程度から重度の発赤、腫張、分泌物が全例に認められ、72 時間後まで続いてみられた。その後は徐々に回復を示したが、28 日後でも完全な回復はみられなかった。

洗眼群においては無洗眼群とほぼ同様の結果がみられた。適用 28 日後において無洗眼群では完全な回復例をみなかったが、洗眼群で 2 例に炎症反応の消失をみた。

以上、シフルトリン乳剤の眼粘膜に対する刺激性は、J. H. Kay 等の判定方法では重度刺激性であった。また明らかな洗眼効果は認められなかった。

表1. ウサギの眼に対する刺激性—無洗眼群—

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間							
			1	24	48	72	7日	14日	21日	28日
1	角 膜	80	1.25	40	40	40	0++	0+	0+	0+
	虹 彩	10	5	5	5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	20	15	14	10	6	4	5
	合計	110	24.25	65	60	59	10	6	4	5
3	角 膜	80	0	20	20	20	40+	0++	0++	0++
	虹 彩	10	5	5	5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	16	12	12	16	12	11	6	8
	合計	110	21	37	37	41	52	11	6	8
4	角 膜	80	0	20	40	40	20+	0++	0++	0++
	虹 彩	10	5	5	5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	14	18	17	12	8	7	8
	合計	110	23	39	63	62	32	8	7	8
5	角 膜	80	0	20	20	20	20+	5	5	0++
	虹 彩	10	5	5	2.5	2.5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	14	14	14	7	8	8	6
	合計	110	23	39	36.5	36.5	27	13	13	6
6	角 膜	80	0	20	40	20	20+	0++	0++	0++
	虹 彩	10	5	2.5	5	2.5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	18	18	20	12	15	11	12
	合計	110	23	40.5	63	42.5	32	15	11	12
8	角 膜	80	0	40	40	40	20+	0++	0++	0++
	虹 彩	10	5	5	5	2.5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	16	16	15	12	12	11	11
	合計	110	23	61	61	57.5	32	12	11	11
平均	角 膜	80	0.2	27	33	30	23	0.8	0.8	0
	虹 彩	10	5	4.6	4.6	3.8	0	0	0	0
	結 膜	20	18	16	16	16	11	10	7.8	8.3
	合計	110	23.2	47.6	53.6	49.8	34	10.8	8.6	8.3

評点 角膜：程度(最高4)×面積(最高4)×5、虹彩：程度(最高2)×5

結膜：(発赤(最高3)+浮腫(最高4)+分泌物(最高3))×2

+：血管増生あり

++：血管増生+混濁(フルオレセイン陰性、外観的な混濁認む)

表2. ウサギの眼に対する刺激性—洗眼群—

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間							
			1	24	48	72	7日	14日	21日	28日
7	角 膜	80	0	40	40	40	10+	0++	0+	0+
	虹 彩	10	2.5	5	5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	20	19	17	20	6	2	3
	合計	110	20.5	65	64	62	30	6	2	3
9	角 膜	80	0	20	20	20	15+	0+	0+	0+
	虹 彩	10	5	2.5	2.5	2.5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	15	14	18	10	7	5	4
	合計	110	23	37.5	36.5	40.5	25	7	5	4
10	角 膜	80	0	40	40	40	0++	0+	0+	0
	虹 彩	10	5	5	5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	15	17	16	6	2	1	0
	合計	110	23	60	62	61	6	2	1	0
11	角 膜	80	5	40	20	20	5+	0+	0+	0+
	虹 彩	10	5	5	5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	17	16	15	8	2	2	5
	合計	110	28	62	41	40	13	2	2	5
13	角 膜	80	0	20	20	20	20+	5	0++	0++
	虹 彩	10	5	5	2.5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	18	14	12	13	9	6	6	4
	合計	110	23	39	34.5	38	29	11	6	4
16	角 膜	80	5	40	20	20	0+	0+	0	0
	虹 彩	10	5	5	5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	16	12	13	14	6	1	2	0
	合計	110	26	57	38	39	6	1	2	0
18	角 膜	80	0	40	20	40	5+	0++	0++	0+
	虹 彩	10	5	5	5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	16	16	18	18	13	6	6	2
	合計	110	21	61	43	63	18	6	6	2
19	角 膜	80	5	40	40	40	40+	0++	0++	0++
	虹 彩	10	5	5	5	5	0	0	0	0
	結 膜	20	16	12	13	14	9	6	4	6
	合計	110	26	57	58	59	49	6	4	6
平均	角 膜	80	1.9	35	33	30	12	0.6	0	0
	虹 彩	10	4.8	4.8	4.4	4.8	0	0	0	0
	結 膜	20	17	15	15	16	10	4.5	3.5	3
	合計	110	23.7	54.8	52.4	50.8	22	5.1	3.5	3

評点 角膜：程度(最高4)×面積(最高4)×5、虹彩：程度(最高2)×5

結膜：(発赤(最高3)+浮腫(最高4)+分泌物(最高3))×2

+：血管増生あり

++：血管増生+混濁(フルオレセイン陰性、外観的な混濁認む)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

5%シフルトリン乳剤

/ ウサギにおける眼一次刺激性試験 (1000 倍希釈液)

毒性資料 No. 製剤-5-2

試験機関：

報告書作成年：1984 年

組成： シフルトリン 5.0%
有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物：日本白色種 雄ウサギ、約 4 ヶ月齢(適用時体重：2.80~3.37kg)、
9 匹 (無洗眼群：6 匹、洗眼群：3 匹)

観察期間：7 日間

投与方法：蒸留水で 1000 倍に希釈した被験液 0.1mL をウサギの結膜嚢内に適用、液の漏出を防ぐために上下眼瞼を 1 秒間軽く閉ざした。洗眼群については適用 20~30 秒後に微温湯で 1 分間洗浄した。無洗眼群の右眼は無処理対照眼、洗眼群の右眼は洗眼対照眼とした (洗眼のみ)。

観察項目：適用 24、48、72、96 および 168 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を Draize の方法に従って採点した。なお適用 24 時間後にはフルオレセイン染色により角膜損傷の有無を観察した。

結 果：

観察した刺激性変化の採点は表 1 および 2 のとおりであった。

無洗眼群および洗眼群のいずれの動物においても、角膜、虹彩、結膜に観察期間を通じ刺激反応は全くみられなかった。

以上の結果から、シフルトリン乳剤の 1000 倍希釈液はウサギの眼に対し眼刺激性を有さないと考えられた。

表 1. ウサギの眼に対する刺激性 -1000 倍希釈液、無洗眼群-

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間					
			24	48	72	96	168	
1	角 膜 (程度) (面積)	4	0	0	0	0	0	
		4	0	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
2	角 膜 (程度) (面積)	4	0	0	0	0	0	
		4	0	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
3	角 膜 (程度) (面積)	4	0	0	0	0	0	
		4	0	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
4	角 膜 (程度) (面積)	4	0	0	0	0	0	
		4	0	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
5	角 膜 (程度) (面積)	4	0	0	0	0	0	
		4	0	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
6	角 膜 (程度) (面積)	4	0	0	0	0	0	
		4	0	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	

5%シフルトリン乳剤

/ ウサギにおける眼一次刺激性試験 (500倍希釈液)

毒性資料 No. 製剤-5-3

試験機関:

報告書作成年: 2010年 [GLP 対応]

組成: シフルトリン 5.0%
有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ (Yac: NZW (KBL)), 17 週齢 (適用時体重: 2.97~3.12 kg)、雄 3 匹

観察期間: 3 日間

試験方法: 注射用水で 500 倍に希釈した被験液 0.1mL を 3 匹の左眼の結膜嚢内に適用した。その後検体の流出を防ぐために上下の眼瞼を約 1 秒間緩やかにあわせ、保持した。左眼は無処置対照眼とした。

観察項目: 投与 1、24、48 および 72 時間後に角膜、虹彩および結膜に対する刺激性変化を Draize 法に従って採点した。ならびに投与後 24 時間にフルオレセイン染色による角膜異常の有無について観察した。刺激の評価は、Kay and Calandra の方法を参考にしてその程度を区分した。また、一般症状の観察は投与終了日まで毎日 1 回観察した。体重は投与日 (投与 0 日) および観察終了日 (投与 3 日) に測定した。

試験結果: 投与後 1、24、48 および 72 時間において、全例の角膜、虹彩および結膜等に眼刺激性は認められなかった。また全例の角膜はフルオレセインで染色されなかった。したがって各観察時期における平均合計評点の最大値 (MMTS) は 0 であり、暫定評価および最終評価ともに刺激性なしと評価された。

一般状態および体重にいずれの動物において異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下においてシフルトリン乳剤の 500 倍希釈液は、ウサギの眼に対して「刺激性なし」と結論された。

表 1. ウサギの眼に対する刺激性 -500 倍希釈液-

動物 番号			最高 評点	投 与 後 時 間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1101	角膜混濁	程度	4	0	0*	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合 計**		110	0	0	0	0
1102	角膜混濁	程度	4	0	0*	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合 計**		110	0	0	0	0
1103	角膜混濁	程度	4	0	0*	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合 計**		110	0	0	0	0
総 計		330	0	0	0	0	
平 均 (MTS)		110	0	0	0	0	

*:フルオレセイン染色

** : Draize 法による評価点合計=角膜 (程度×面積×5) + 虹彩×5 + 結膜 (発赤+浮腫+分泌物) ×2

5%シフルトリン乳剤

/ モルモットを用いた皮膚感作性試験

毒性資料 No. 製剤-6

試験機関：

報告書作成年：1983年

シフルトリン乳剤の組成：

シフルトリン	5.0%
有機溶剤, 界面活性剤等	95.0%

供試動物：Hartley モルモット、体重 300～460g、1 群雌 10 匹（無感作、200 倍希釈液および 1000 倍希釈液感作群、各々につき皮内惹起と貼布惹起のため計 6 群）

観察期間：約 3 週間（感作性評価；惹起貼付後 2 日間）

試験方法：

試験試料の調製

感作試料は検体 1mL に乳化剤 (Emulgator-W) 1 滴を加えた生理食塩水乳濁液をつくり、アジュバントを等量加えて所定感作濃度液を乳鉢内で乳白色になるまで混和した。

惹起試料は供試検体に乳化剤を混和したものに、貼付用試料として蒸留水を加えて、また皮内注射用試料として生理食塩水を加えて所定濃度の試験液を調製した。濃度は希釈倍数で示した。

感作：注射感作は所定濃度の薬液を各被験動物に対し、0.1mL を 1 日 1 ヲ所背部皮下、左右後肢の筋肉内に順次 3 回注射を行った。無感作群に対しては無処置とした。感作濃度は 200 倍および 1000 倍とした。

惹起：注射感作 2 週間後に被験動物を 2 群に分け、接触皮膚アレルギー反応をみる目的の貼付惹起と遅延型アレルギー反応をみる目的の皮内注射惹起とを行った。貼付惹起は背部剪毛部の左側を損傷皮膚、右側を正常皮膚とし、所定惹起濃度薬液 0.05 mL をパッチ用フィンチャンバーに滴下し、24 時間閉塞貼付した。貼付惹起の濃度は 100 倍、200 倍、1000 倍および 2000 倍とした。皮内注射惹起は所定濃度 0.05 mL を側腹部に投与濃度ごとに部位をかえながら実施した。皮内注射惹起の濃度は 200 倍、1000 倍、2000 倍、10000 倍、20000 倍、100000 倍とした。皮内注射惹起、貼付惹起共に無感作群に対して感作群と同様の惹起処理を行った。

観察項目：一般状態は毎日観察した。体重は感作開始時および惹起時に測定した。

皮膚の観察に関し、貼付惹起した動物は貼付 24、48 時間後に肉眼判定を行った。そして無感作群の動物は 24 時間後の結果、感作群の動物は 48 時間後の

結果から反応の程度を点数としてあらわし、0.5以下を陰性と判定した。
 皮内惹起した無感作群の動物は24時間後に、感作群の動物は48時間後に屠殺後、皮膚を剥離し、照明拡大鏡で皮膚片を透視して紅斑径を測定した。紅斑径2.5mm以下を陰性と判定した。

結 果：

1) 一般観察

試験期間中、検体に起因すると考えられる症状は何ら認められなかった。また体重増加への影響も認められなかった。

2) 貼付惹起

24時間閉塞貼付後の結果を表1に示した。

表 1. 貼付惹起（肉眼的判定結果）

惹起濃度	感作濃度	非損傷皮膚			損傷皮膚		
		例数		炎症の程度(点)	例数		炎症の程度(点)
(希釈倍数)		非炎症	炎症		非炎症	炎症	
×100	×200	8	2	0.2	5	5	1.3
	×1000	10	0	0.1	4	6	1.4
	無感作	9	1	0.3	2	8	1.6
×200	×200	8	2	0.2	4	6	1.6
	×1000	10	0	0.1	6	4	1.0
	無感作	10	0	0.1	2	8	1.4
×1000	×200	9	1	0.1	7	3	0.6
	×1000	10	0	0	5	5	1.1
	無感作	9	1	0.3	1	9	1.5
×2000	×200	10	0	0	7	3	0.6
	×1000	10	0	0	9	1	0.3
	無感作	9	1	0.3	3	7	1.2

判定時間：無感作群 / 貼付後24時間、感作群 / 貼付後48時間

統計解析：炎症例数 / カイ2乗検定、炎症程度 / Wilcoxon順位和検定

炎症陽性：炎症程度 >0.5

炎症例数および炎症の程度において、非損傷皮膚では無感作群と感作群で明らかな差は認められなかった。また平均の炎症程度も0.5点未満であった。損傷皮膚においては両パラメーター共に無感作群と感作群で統計学的有意な差は認められず、むしろ感作群よりも無感作群で炎症例数および炎症の程度が高い傾向がみられた。

3) 皮内注射惹起

皮内注射惹起の結果を表 2 に示した。

表 2. 皮内注射惹起 (透視判定結果)

惹起濃度 (稀釈倍数)	感作濃度	例数		紅斑径 (平均値) mm
		非炎症	炎症	
×200	×200	0	10	8.4
	×1000	0	10	9.2
	無感作	0	10	9.2
×1000	×200	7	3	2.4
	×1000	9	1	1.4
	無感作	8	2	1.6
×2000	×200	10	0	1.3
	×1000	10	0	1.4
	無感作	10	0	0.5
×10000	×200	10	0	1.4
	×1000	9	1	1.2
	無感作	8	2	1.5
×20000	×200	9	1	1.2
	×1000	8	2	1.0
	無感作	8	2	1.7
×100000	×200	9	1	1.3
	×1000	10	0	0.0
	無感作	8	2	1.9

判定時間：無感作群 / 注射後 24 時間、感作群 / 注射後 48 時間

統計解析：炎症例数 / カイ 2 乗検定、紅斑径 / Wilcoxon 順位和検定

炎症陽性：紅斑径 >2.5mm

炎症例数および紅斑径 (mm) において感作群と無感作群との間に明らかな差は認められなかった。

以上、シフルトリン乳剤の 200 倍液 (一次刺激性確実起炎症濃度) による注射感作によっても接触皮膚炎型アレルギー反応およびツベルクリン型アレルギー反応とも認められず、モルモットに対する皮膚感作性は陰性と考えられた。

(2) 5%シフルトリン乳剤(シフルトリンEW)
/ ラットに対する急性経口毒性試験

毒性資料 No. 製剤-7

試験機関：

報告書作成年：1987年[GLP 対応]

組成： シフルトリン 5.0%
水, 有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物：Sprague-Dawley ラット(Crj:CD)、7 週齢 (投与時体重：雄 188~208g、
雌 145~156g)、1 群雌雄各 10 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体に蒸留水を加えて懸濁し、強制経口投与した(投与容量:10 mL/kg)。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与前、投与後
7 および 14 日に測定した。死亡動物は発見時に、生存動物については観察
期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：2960、3850、5000 雌：5000
LD ₅₀ (mg/kg) および 95%信頼限界	雄：4900 雌：> 5000 (4300~8000)
死亡開始時間 および終了時間	雄：投与後 3 時間開始、投与後 1 日終了 雌：-
症状発現時間 および消失時間	雄：投与後 25 分開始、投与後 4 日消失 雌：投与後 55 分開始、投与後 2 日消失
最小致死用量(mg/kg)	雄 3850 雌：> 5000
死亡例を認めなかった最高 用量 (mg/kg)	雄：2960 雌：5000
毒性徴候を認めなかった 最高用量(mg/kg)	雌雄：- (全群で徴候あり)

投与後 25 分から流涎に始まり、その後よろめき歩行と四肢の緩徐な不随
意動作がみられた。これらの症状は投与後 3 日までにほぼ回復し、4 日
には完全に消失した。動物の死亡は投与後 1 日以内にみられた。

体重は雄の 5000 mg/kg 群で投与 7 日後に他群に比べて抑制傾向がみられ
たが、それ以降は順調な増加を示した。

死亡した雄動物の剖検では、気管内の分泌物貯留が認められた。生存した
動物の観察終了時の剖検では著変はみられなかった。

5%シフルトリン乳剤（シフルトリンEW）

/ マウスに対する急性経口毒性試験

毒性資料 No. 製剤-8

試験機関：

報告書作成年：1987年 [GLP 対応]

組成： シフルトリン 5.0%
水, 有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物：ICR マウス (Crj:CD-1)、5 週齢 (投与時体重：雄 21~25g、雌 17~22g)、
1 群雌雄各 10 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体に蒸留水を加えて懸濁し、強制経口投与した (投与容量：10mL/kg)。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与前、投与後
7 および 14 日に測定した。死亡動物は発見時に、生存動物については観察
期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：590, 770, 1000, 1300, 1700 雌：770, 1000, 1300, 1700
LD ₅₀ (mg/kg) および 95%信頼限界	雄：1000 雌：1000 (930~1200) (980~1200)
死亡開始時間 および終了時間	雄：投与後 2 時間開始、投与後 5 時間終了 雌：投与後 2 時間開始、投与後 3 時間終了
症状発現時間 および消失時間	雄：投与後 30 分開始、投与後 1 日消失 雌：投与後 15 分開始、投与後 1 日消失
最小致死用量 (mg/kg)	雄：770 雌：1000
死亡例を認めなかった最高 用量 (mg/kg)	雄：590 雌：770
毒性徴候を認めなかった 最高用量 (mg/kg)	雌雄： - (全群で徴候あり)

投与後 15~30 分から雌雄の動物に流涎がみられ、その後に四肢の緩徐な不随意運動、よろめき歩行が認められた。生存例の症状は雌雄とも数時間後から消失しはじめ、翌日にはみられなくなった。中毒症状の重篤な動物は投与後 2~5 時間で死亡した。

生存動物の体重の推移は観察期間中各投与群とも同等の傾向を示した。雌雄の死亡例に腸管の出血様変化、気管内の分泌物貯留が認められた。また、雌でのみ腺胃部の出血斑がみられ、いずれも検体に起因するものと考えられた。生存例では雌雄共に著変は認められなかった。

5%シフルトリン乳剤（シフルトリンEW）
/ ラットに対する急性経皮毒性試験

毒性資料 No. 製剤-9

試験機関：

報告書作成年：1986年[GLP対応]

組成： シフルトリン 5.0%
水, 有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物：Sprague-Dawley ラット(Crj:CD)、7週齢（投与時体重：雄 232~241 g、
雌 150~164 g）、1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体をそのまま、前日に剪毛した背部皮膚に塗布した。塗布量は 2 mL/kg
とし、塗布時間は 24 時間とした。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与前、投与後
7 および 14 日に測定した。死亡動物は発見時に、生存動物については観察
期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮	
投与量 (mL/kg)	雄：2	雌：2
LD ₅₀ (mL/kg)	雄：> 2	雌：> 2
最小致死用量(mg/kg)	雄：> 2	雌：> 2
死亡例を認めなかった最高 用量 (mL/kg)	雄：2	雌：2
毒性徴候を認めなかった 最高用量(mL/kg)	雄：2	雌：2

中毒症状および死亡例は認められなかった。また、塗布部位に発赤等の刺
激作用は認められなかった。

生存した動物の観察終了時の剖検では著変はみられなかった。

5%シフルトリン乳剤（シフルトリン EW）

/ 急性吸入毒性試験

毒性資料 No. 製剤-10

組成： シフルトリン 5.0%
水, 有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

試験成績の提出除外

本剤についての吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第4 試験成績の提出の除外について」(2)③のイの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬である。

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

5%シフルトリン乳剤（シフルトリン EW）
/ ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

毒性資料 No. 製剤-11

試験機関：

報告書作成年：1987年[GLP 対応]

組成： シフルトリン 5.0%
水, 有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物：日本白色種 雌ウサギ、4~5ヶ月齢（適用時体重：3.66~4.37 kg）、6匹

観察期間：14日間

投与方法：検体および1000倍希釈液の0.5mLを外科用リント布に塗布し、検体は正中線の左側、希釈液は右側の背部皮膚に適用した後、半閉塞貼付した。暴露時間は4時間とし、適用後は水で適用部位を清拭した。

観察項目：一般状態は毎日観察した。皮膚観察については貼付除去後1、24、48および72時間に適用部位の刺激性変化（紅斑・痂皮、浮腫）の有無等をDraizeの方法に従って採点した。但し72時間後でも刺激性変化がみられたことから、貼付除去後5、7、10および14日にも観察を行った。

また、1、24、48時間後の紅斑と浮腫の合計評点を総適用区画数で除し、皮膚一次刺激性インデックス（Primary Cutaneous irritation index, PCI）を算出した。そしてAfnorの基準にしたがって刺激性を評価した。

結果：

一般観察

観察期間を通じて、すべてのウサギで毒性徴候は認められなかった。

皮膚刺激性の観察

観察した刺激性変化の採点は表1のとおりであった。

検体適用では貼付除去後1時間で全例に軽度な紅斑と浮腫がみられ、24時間から48時間にかけて増強したが、7日迄に症状は消失した。なお、5日目以降に落屑をみたが、これは回復の結果として捉えられた。

1000倍希釈液の適用ではいずれにおいても刺激性変化は観察されなかった。

検体適用における1、24、48時間後の評点によるPCIは3.3であり、Afnorの基準によると、中等度の刺激性に相当した。

以上、シフルトリンEWのウサギの皮膚に対し中等度の一次刺激性を有すると考えられた。一方、1000倍希釈液では皮膚に対する刺激性はみられなかった。

表 1. ウサギの皮膚に対する刺激性

適用	動物 番号	項目	最高 評点	暴露終了後時間								
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	5 日	7 日	10 日	14 日	
検 体	1	紅斑・痂皮	4	1	2	3	1	R	R	R	R	
		浮腫	4	1	1	0	0					
	2	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2	R	R	0	0	
		浮腫	4	2	1	1	0			0	0	
	3	紅斑・痂皮	4	1	2	3	3	R	R	0	0	
		浮腫	4	3	2	1	1			0	0	
	4	紅斑・痂皮	4	1	3	3	3	1	0	0	0	
		浮腫	4	2	1	1	0	0	0	0	0	
	5	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0	0	0	0	
		浮腫	4	2	1	1	0	0	0	0	0	
	6	紅斑・痂皮	4	1	3	3	3	1	R	0	0	
		浮腫	4	2	2	1	1	0		0	0	
	合計			48	18	21	20	15	2	0	0	0
	平均評点			8.0	3.0	3.5	3.3	2.5	0.7	0.0	0.0	0.0
希 積 液	1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
	4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
	5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
	合計			48	0	0	0	0	0	0	0	0
	平均評点			8.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

R : 落屑

5%シフルトリン乳剤（シフルトリン EW）
/ ウサギにおける眼一次刺激性試験

毒性資料 No. 製剤-12

試験機関：

報告書作成年：1987年[GLP 対応]

組成： シフルトリン 5.0%
水, 有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物：日本白色種 雌ウサギ、3~4ヶ月齢（適用時体重：2.47~3.06 kg）、
15匹（製剤および希釈液・無洗眼群：各6匹、製剤・洗眼群：3匹）

観察期間：7日間

投与方法：ウサギの結膜嚢内に検体もしくは1000倍希釈液0.1mLを適用、液の漏出を防ぐために上下眼瞼を1秒間軽く閉ざした。製剤・洗眼群については適用2分後に蒸留水で1分間洗浄した。右眼はすべて無処理対照とした。

観察項目：毎日一般観察を行った。そして適用1、24、48、72、96時間後、および7日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化をDraizeの方法に従って採点した。なお適用24時間後にはフルオレセイン染色により角膜損傷の有無を観察した。また、この結果からAFNORの基準（1982）にしたがって刺激性の程度を評価した。

結果：

一般観察

観察期間を通じて、すべてのウサギで毒性徴候は認められなかった。

眼刺激性の観察

観察した刺激性変化の採点は表1~3のとおりであった。

製剤・無洗眼群において、角膜の混濁は適用後24時間では6例中5例に認められ、48時間から7日にかけて回復した。虹彩では適用24時間後に1例に充血がみられた。結膜浮腫は1時間後から全例にわずかな腫張から眼瞼の半分程度の閉鎖を伴う腫張がみられたが、48時間から96時間後にかけて消失した。

製剤・洗眼群では製剤・無洗眼群に比べて刺激性変化が弱く洗眼による刺激性の軽減効果がみられた。

1000倍液希釈群では刺激反応は全く認められなかった。

表4にDraizeの方法による眼一次刺激性評点結果を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

眼一次刺激性評点は製剤・無洗眼群、製剤・洗眼群共に適用 24 時間後に最高を示し、各々11.8、9.7であった。また、製剤・無非洗眼群の結果から Afnor の分類基準に従うと検体の刺激性は中等度に相当した。

以上の結果から、シフルトリン EW はウサギの眼に対して中程度の刺激性を有すると考えられた。また洗眼効果がみられた。一方、1000 倍希釈液では眼に対する刺激性はみられなかった。

表1. ウサギの眼に対する刺激性 — 製剤・無洗眼群 —

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間						
			1	24	48	72	96	7日	
1	角膜 (程度)	4	0	1	2	1	0	0	
		(面積)	4	0	1	1	1	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	2	1	1	1	0
		浮腫	4	2	1	0	0	0	0
分泌物		3	1	0	0	0	0	0	
2	角膜 (程度)	4	0	1	1	1	1	0	
		(面積)	4	0	2	2	1	1	0
	虹彩	2	0	1	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	2	1	1	1	0
		浮腫	4	2	0	0	0	0	0
分泌物		3	1	2	0	0	0	0	
3	角膜 (程度)	4	0	1	1	1	0	0	
		(面積)	4	0	1	1	1	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	2	0	0	0	0	0
分泌物		3	1	2	0	0	0	0	
4	角膜 (程度)	4	0	1	1	1	0	0	
		(面積)	4	0	1	1	1	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	1	1	1	1	0
		浮腫	4	3	1	0	0	0	0
分泌物		3	1	0	0	0	0	0	
5	角膜 (程度)	4	0	1	0	0	0	0	
		(面積)	4	0	1	0	0	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	1	1	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
分泌物		3	1	1	0	0	0	0	
6	角膜 (程度)	4	0	0	0	0	0	0	
		(面積)	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	2	1	1	1	0
		浮腫	4	3	1	1	1	0	0
分泌物		3	1	2	0	0	0	0	

表 2. ウサギの眼に対する刺激性 -1000 倍希釈液・無洗眼群-

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間					
			1	24	48	72	96	7日
7	角 膜 (程度)	4	0	0	0	0	0	0
		(面積)	4	0	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
8	角 膜 (程度)	4	0	0	0	0	0	0
		(面積)	4	0	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
9	角 膜 (程度)	4	0	0	0	0	0	0
		(面積)	4	0	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
10	角 膜 (程度)	4	0	0	0	0	0	0
		(面積)	4	0	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
11	角 膜 (程度)	4	0	0	0	0	0	0
		(面積)	4	0	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	
12	角 膜 (程度)	4	0	0	0	0	0	0
		(面積)	4	0	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3. ウサギの眼に対する刺激性 - 製剤・洗眼群 -

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間						
			1	24	48	72	96	7日	
13	角 膜 (程度)	4	0	1	0	0	0	0	
	(面積)	4	0	1	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	1	1	0	0	0
		浮 腫	4	1	1	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	0	0	
14	角 膜 (程度)	4	0	1	0	0	0	0	
	(面積)	4	0	1	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	1	1	1	0	0
		浮 腫	4	1	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	2	0	0	0	0	
15	角 膜 (程度)	4	0	1	0	0	0	0	
	(面積)	4	0	1	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	1	1	1	0	0
		浮 腫	4	1	0	0	0	0	0
分泌物		3	0	1	0	0	0	0	

表 4. 眼一次刺激性評点結果

群	動物 No.	観察時間					
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	7 日
製 剤 無 洗 眼 群	1	6	11	12	7	2	0
	2	6	23	12	7	7	0
	3	6	9	5	5	0	0
	4	8	9	7	7	2	0
	5	4	9	2	0	0	0
	6	8	10	4	4	2	0
	平均	6.3	11.8	7.0	5.0	2.2	0
製 剤 洗 眼 群	13	2	9	2	0	0	0
	14	2	11	2	2	0	0
	15	2	9	2	2	0	0
	平均	2.0	9.7	2.0	1.3	0	0

評点 = (角膜混濁程度 × 面積 × 5) + (虹彩所見 × 5) + (結膜発赤 + 浮腫 + 分泌物) × 2
 最高評点 = 110 (角膜 80 + 虹彩 10 + 結膜 20)

5%シフルトリン乳剤（シフルトリンEW）

/ モルモットを用いた皮膚感作性試験

毒性資料 No. 製剤-13

試験機関：

報告書作成年：1987年[GLP対応]

組成： シフルトリン 5.0%
水, 有機溶剤, 界面活性剤等 95.0%

供試動物：Hartley モルモット、6週齢（感作時体重310～410g、1群雌20匹（無感作群、2感作群(0.1または1.0%皮内感作+5%貼布感作)の計3群）

観察期間：約3週間（感作性評価；惹起貼付後3日間）

試験方法：Maximization法（いずれも有効成分%で表示）

適用濃度の設定根拠：

予備試験の結果から、皮内注射では0.1%が低起炎症濃度、1%が一次刺激性確実起炎症濃度、また閉塞貼布では5%が一次刺激性確実起炎症濃度であることを確認し、2感作群(0.1または1.0%皮内感作+5%貼布感作)を設けた。惹起濃度は一次刺激性確実起炎症濃度である5%とその10倍希釈の0.5%とした（いずれも有効成分%で表示）。

感作（皮内注射）：背部および側腹部を剪毛・剃毛し、下記の3種の調製液について左右3対に皮内注射（0.1mL/部位）を行った。

- 感作群
- 1) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水の50:50の混合液（前背部両側）
 - 2) 検体の0.1%または1.0%液（生理食塩水で調製した懸濁液）（中背部両側）
 - 3) 検体の0.1%または1.0%液（Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水の50:50の混合液で調製した懸濁液）（後背部両側）
- 無感作群
- 1) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水の50:50の混合液（前背部両側）
 - 2) 生理食塩水（中背部両側）
 - 3) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水の50:50の混合物（後背部両側）

感作（局所適用）：皮内注射1週後に再度剪毛し、以下の試料0.1mLを48時間にわたり背部皮膚に閉塞貼布した。

- a) 感作群
検体そのまま(5%)
- b) 無感作群
蒸留水

惹起：最終感作の2週間後（皮内注射3週後）、惹起前日に左側腹部を剪毛し貼付部は10%ラウリル硫酸ナトリウム軟膏で脱毛した。そして検体そのまま(5%)および10倍希釈液(0.5%)の各0.05 mLをパッチ用フィンチャンバーに滴下し24時間閉塞貼布した。

観察項目：惹起開始から48および72時間（除去後から24および48時間）に適用部位を肉眼的に観察し、紅斑・腫脹について判定基準に準じて採点した。試験開始時（皮内注射を行った日）から毎週体重を測定した。

結果：

体重：試験開始時、および終了時に測定したが、感作群動物は無感作群動物と同様の体重増加を示した。

皮膚観察：惹起開始後の各観察時間における皮膚変化が認められた動物数を下表に示す。

表1. 皮膚感作試験結果

惹起濃度 (貼布)	試験群	皮膚反応動物数											
		惹起開始 48 時間					惹起開始 72 時間						
		炎症程度#				平均 スコア	陽性 率	炎症程度#				平均 スコア	陽性 率
		0	1	2	3			0	1	2	3		
5%	無感作	10	7	2	1	0.7	50%	17	2	1	0.3	15%	
	1.0%皮内感作 ¹⁾	3	3	13	1	▲1.6	↑85%	7	8	4	1	▲1.0	↑65%
	0.1%皮内感作 ²⁾⁺	8	4	4	3	1.2	58%	10	5	3	1	0.8	47%
0.5%	無感作	20				0.0	0%	20			0.0	0%	
	1.0%皮内感作 ¹⁾	15	1	4		0.5	25%	17	2	1	0.2	15%	
	0.1%皮内感作 ²⁾⁺	17	1	1		0.2	11%	16	3		0.2	16%	

#：0 = 反応なし、1 = 軽度発赤、2 = 中等度発赤、3 = 重度発赤と腫脹

↓↑：p<0.05、▼▲：p<0.01（平均スコア：Wilcoxon順位和検定、陽性率：Fisher検定）

1)：感作群：皮内注射感作濃度；1.0%、48時間閉塞貼付感作濃度；5%

2)：感作群：皮内注射感作濃度；0.1%、48時間閉塞貼付感作濃度；5%

+：パッチはがれのため評価から1例を除外

5%で貼布惹起した場合、両感作群で惹起開始48および72時間の判定で炎症の平均スコアと陽性率の増加がみられ、72時間では両パラメーターで統計学的有意な増加がみられた。0.5%で惹起した場合、無感作群で炎症反応をみなかったものの、両感作群で軽度ながら炎症反応を観察した。平均スコアおよび陽性率も無感作群に比べて増加したが統計学的には有意ではなかった。

なお、陽性対照（2,4-Dinitrochlorobenzene: DNCB）を用いての感受性の確認は同試験条件で定期的に行われており、直近の試験の結果、表2に示したように0.01%皮内感作と0.05%貼付感作後（皮内感作3週後）の貼付惹起により

明らかな陽性率の増加がみられた。

表 2. DNCB の皮膚感作性試験結果

群	供試動物数	惹起濃度 (%)	皮膚反応動物数								陽性動物数	陽性率 (%)
			48 時間				72 時間					
			皮膚反応評点 [#]				皮膚反応評点 [#]					
			0	1	2	≥3	0	1	2	≥3		
感作	10	0.001*	5	3	0	1	6	1	2	0	4	44
		0.005	2	2	2	4	2	2	3	3	8	80
		0.01	1	0	3	6	1	0	6	3	9	90
		0.05	0	1	0	9	1	0	1	8	10	100
無感作	10	0.001*	9	0	0	0	9	0	0	0	0	0
		0.005	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
		0.01	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
		0.05	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0

: 0 = 反応なし、1 = 軽度発赤、2 = 中等度発赤、3 = 重度発赤と腫脹

感作群：皮内注射感作濃度；0.01%、48 時間閉塞貼付感作濃度；0.05%

* : パッチはがれ 1 例判定不能

以上の結果から、シフルトリン EW のモルモットに対する皮膚感作性は陽性と考えられた。

参考

ラットを用いた急性毒性試験 —各種調製助剤の比較—

毒性資料 No. 参考-1

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体の純度：95%

供試動物：Wistar ラット (WISW, CPB)、搬入時体重：160～200g

観察期間：14日間

試験方法：経口投与についてはクレモホア EL+蒸留水(5滴/10mL)、アセトン+オイル(1:10)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、N-メチルピロリドンで各々調製し、16時間絶食した雄ラットに単回投与した(1群5～20匹)。

経皮投与についてはクレモホア EL+蒸留水(5滴/10mL)、0.9%食塩水、ポリエチレングリコール400で検体を各々ペースト状にし、これを前日に剪毛しておいたラットの背部皮膚に24時間塗布した(1群5～10匹)。

腹腔投与についてはクレモホア EL+蒸留水(5滴/10mL)、ポリエチレングリコール#400 (PEG 400)で各々調製し、雌雄ラットに単回投与した(1群10～20匹)。

いずれも投与後14日間にわたり、死亡および中毒症状の有無および程度等を観察した。LD₅₀の算出はプロビット法に従った。

結果及び考察：

各表にみられるように、経口投与において、用いた助剤により明らかな急性毒性の差が認められた。とくにクレモホア EL+蒸留水の調製で強い急性毒性が観察された。一方、経皮投与及び腹腔内投与においては調製方法の違いに起因した明らかな差は認められなかった。

このように経口投与と腹腔内投与で調製方法により異なる毒性発現がみられたことから、その要因として極性の違いによる検体の吸収の程度差の可能性が考えられた。このことは、クレモホア EL+蒸留水で調製した検体とPEG 400で調製した検体をそれぞれラットに経口投与し、経時的に血中及び胃内濃度を測定した試験(1982年)からも確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

経口投与

動物	Wistar ラット雄		
投与方法	経口 (絶食)		
調製方法	クレモホア EL+蒸留水	アセトン+オイル	DMSO
投与量 (mg/kg)	13、15、17.5、20	200、250、300、350、500	125、150、200、350、500、750、1000
LD ₅₀ (mg/kg)	16.2	254	396
95%信頼限界	13.5 ~ 19.5	220 ~ 294	317 ~ 494
死亡開始時間及び終了時間	投与後約 2 時間開始 投与後約 3 時間終了	投与日開始 投与後 1 日終了	投与後 5 時間開始 投与後 4 日終了
最小致死用量 (mg/kg)	13	200	150
死亡例を認めなかった最高用量 (mg/kg)	-(全群で死亡例あり)	-(全群で死亡例あり)	125

症状発現および消失時間の情報なし

経口投与 (続き)

動物種	Wistar ラット雄	
投与方法	経口 (絶食)	
調製方法	N-メチルピロリドン	\$ PEG #400
投与量 (mg/kg)	100、250、500、1000	10、50、100、250、300、350、500、750、1000、2500
LD ₅₀ (mg/kg)	500 ~ 1000	590
95%信頼限界	-	509 ~ 695
死亡開始時間及び終了時間	投与日開始 投与後 1 日終了	投与後 4 時間開始 投与後 10 日終了
最小致死用量 (mg/kg)	500	350
死亡例を認めなかった最高用量 (mg/kg)	250	300

症状発現および消失時間の情報なし

\$: 参考として毒性資料 No. 原体-4 の結果から引用。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

経皮投与

動物種	Wistar ラット		
投与方法	経皮 (24 時間暴露)		
調製方法	クレモホア EL+蒸留水	0.9%食塩水	\$ PEG #400
投与量 (mg/kg)	雄: 2500、5000 雌: 2500、5000	雄: 2500、5000 雌: 2500、5000	雄: 2500、5000 雌: 2500、5000
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	雄: >5000 雌: >5000	雄: >5000 雌: >5000	雄: >5000 雌: >5000
死亡開始時間 及び終了時間	雄: 投与後 4 日開始 投与後 5 日終了	雄: 投与後 1 日開始 投与後 6 日終了	雌: 投与後 4 日
最小致死用量 (mg/kg)	雄: 5000 雌: > 5000	雄: 5000 雌: > 5000	雄: >5000 雌: 5000
死亡例を認め なかった最高 用量 (mg/kg)	雄: 2500 雌: 5000	雄: 2500 雌: 5000	雄: 5000 雌: 2500

症状発現および消失時間の情報なし

\$: 参考として毒性資料 No. 原体-4 の結果から引用。

腹腔内投与

動物種	Wistar ラット	
投与方法	腹腔内	
調製方法	クレモホア EL+蒸留水	PEG #400
投与量 (mg/kg)	雄: 12.5、15、17.5、20、25、50 雌: 15、20、25、35、50	雄: 25、30、35、40、50 雌: 50、75、100、200
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	雄: 20 雌: 24 17 ~ 22 21 ~ 28	雄: 34 雌: 94 30 ~ 37 68 ~ 131
死亡開始時間 及び終了時間	雄: 投与後 1 時間開始、3 時間終了 雌: 投与後 1 時間開始、3 時間終了	雄: 投与後 3 時間開始、5 時間終了 雌: 投与後 3 時間開始、24 時間終了
最小致死用量 (mg/kg)	雄: 15 雌: 20	雄: 25 雌: 50
死亡例を認め なかった最高 用量 (mg/kg)	雄: 12.5 雌: 15	雌雄: - (全群で死亡例あり)

症状発現および消失時間の情報なし

単回経口投与による特殊試験（傾斜板試験 Slip angle test）

毒性資料 No. 参考-2

試験機関：

報告書作成年：1999 年

試験目的：シフルトリンの急性神経毒性影響の薬理的な無影響量を確認するためラットにおける傾斜板試験を実施した。

（本試験報告書は試験番号 T-0068835 と T-1068953 の 2 本の試験結果をまとめて作成したものである。）

検体の純度：96.1%

供試動物：Wistar ラット (Hsd Cpb:WU)、雌 7 週齢以上相当 (投与開始時体重：162-212g)

観察期間：T-1068953：7 日間 T-0068835：14 日間

投与方法：検体を 2% (v/v) クレモホア EL+蒸留水で調製し、投与容量 5 mL/kg で動物に強制経口投与した。T-1068953 のグループ 2 のみミルクで検体を調製した。

T-1068953:投与約 17 時間前から投与 2 時間後まで絶食, T-0068835:絶食せず。

表 1 投与量および試験項目

試験番号	試験グループ	投与量 (mg/kg)	動物数	試験項目		
				一般症状	体重(測定日)	傾斜板テスト
T-1068953	1*	0	5	-	-	-
		0.1				
		0.5				
		2.5				
	2**	0	5	-	○ (1日)	○
		1				
		2.5				
	3	0	5	-	○ (1日)	○
		1				
		2.5				
		7.5				
	4	0	5	-	○ (1および8日)	○
		0.015				
		0.05				
		0.15				
		0.45				
	5	0	5	○	○ (1日)	○
		0.3				
		1				
		3				
9						
T-0068835		0	10	○	○ (1, 8および15日)	○
		1				
		2.5				
		7.5				

*：各検査は実施せず。

**：溶媒としてミルクを使用。（試験責任者はヒトの食事、暴露の可能性を想定するため、溶媒としてミルクを設定した。）
投与日を試験 1 日とした。

用量設定の根拠：水溶性の溶媒クレモホア EL を用いたときの LD₅₀ は 16.2mg/kg (参考-1) との知見があり、さらに一般症状は約 3mg/kg から認められるとの知見があった。これらをもとに投与用量 0.015、0.05、0.1、0.15、0.3、0.45、0.5、1、2.5、3、7.5 および 9mg/kg を選択した。

観察・検査項目及び結果：

一般症状：外観および行動について、T-1068953 のグループ 5 および T-0068835 の全動物を対象に投与日は複数回、その後は少なくとも 1 日 1 回記録した。症状がみられた場合、その種類、発症期間および程度を個別に判定した。観察期間中、以下の臓器、部位および生理学的機能に注意して観察した。認められた影響を表 2 に示した。

外観：被毛、皮膚の色、浮腫、眼、落涙、鼻汁、流涎等。

行動：毛繕い、異常発声、興奮、攻撃性、穴掘り運動、洗顔運動、共食い等。

神経系：無関心、運動能、反射、歩行、麻痺、けいれん、振せん等

呼吸：評価できる場合、頻度など。

心血管系：評価できる場合、心拍数、蒼白など。

姿勢：腹臥位、横臥位等。

胃腸機能：糞の状態等。

9mg/kg 群の全例において、投与後 1 時間頃から、運動能の低下、努力性呼吸、流涎の増加、不調和な歩行、腹臥位、反転、半閉眼、穴掘りおよび洗顔運動、下痢、異常発声および一過性の身震いが認められた。これらの一般症状の変化は運動能の低下を除いて約 6 時間後には消失した。また、投与 6 時間後 1 匹の動物に後肢の麻痺が認められ、その後一般状態が悪化したので 24 時間の測定後に屠殺した。

7.5mg/kg 群では半数の動物に一過性の穴掘りおよび洗顔運動が認められた。3 および 2.5mg/kg 群では短時間に極少数の動物に一過性の身震い（それぞれ 2/5、1/10）あるいは穴掘りおよび洗顔運動（3mg/kg 群で 1/5）が認められたにすぎなかった。0.3mg/kg 群、1mg/kg 群および対照群においては症状を示した動物は 1 例も認められなかった。

影響がピークに達した時点は投与後約 2 時間であった。

申請者註：3 および 2.5mg/kg 群で認められた一過性の身震いは発生数が少数で対照群と比較して統計学的有意差が認められなかったことと上位の 7.5mg/kg 群では認められなかったことから投与による変化とはみなさなかった。3mg/kg 群の穴掘りおよび洗顔運動も発生数が 1 例で統計学的な有意差はなく、一時点のみで観察されていることから投与による変化とはみなさなかった。

表2：主な臨床症状

投与後時間 (分)	50-58	59-67	79-87	95-106	120-129	148-156	307-313
投与量 (mg/kg)	9						
検査動物数	5	5	5	5	5	5	5
運動能の低下	5**	5**	5**	5**	5**	5**	5**
穴掘り・洗顔運動	5**	5**	5**	5**	5**	0	0
努力性呼吸	5**	5**	5**	5**	5**	5**	0
流涎の増加	5**	5**	5**	5**	5**	5**	0
不調和な歩行	5**	5**	5**	5**	5**	0	0
半閉眼	5**	5**	5**	5**	0	0	0
一過性の身震い	5**	5**	5**	5**	5**	0	0
反転	0	5**	5**	5**	5**	0	0
下痢	0	0	0	5**	5**	5**	0
腹臥位	0	0	0	0	5**	5**	0
異常発声	0	0	2	0	0	0	0
横臥位	0	1	0	1	0	0	0
後肢麻痺	0	0	0	0	0	0	1
投与量 (mg/kg)	7.5						
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10
穴掘り・洗顔運動	0	0	0	5*	1	0	0
投与量 (mg/kg)	3						
検査動物数	5	5	5	5	5	5	5
一過性の身震い	0	0	2	0	0	0	0
穴掘り・洗顔運動	0	0	1	0	0	0	0
投与量 (mg/kg)	2.5						
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10
一過性の身震い	0	0	0	1	0	0	0

* : P<0.05 ** : P<0.01 (Fisher 検定、申請者が実施)

傾斜板試験：文献¹に従って、ラットを金属板の上に頭を上にして腹臥位に置き、ラットが滑り始めるまで板を傾け、滑り始めた時の角度を記録した。各測定時間において動物一匹あたり3回連続して測定し、その平均を求めた。測定時間は、T-1068953のグループ2及び3の全動物を対象に投与24時間前、投与後0.5、1.5、2.5及び24時間、グループ4及び5の全動物を対象に投与前(0時)、投与後1、2、6及び24時間に、T-0068835の全動物を対象に投与前(0時)、投与後0.5、1.5、2.5及び24

¹ Tomos, E., A. Romero A. Sacristan & J.A. Ortiz, Vergleich der therapeutischen irksamkeit von Keltcan® und einem Polyvitaminpräparat, Research Center of Ferrer International, Barcelona, 1980

時間後とした。

投与による影響を表 3～6 および図 1～4 に示した。

1) 図 1 および表 3 にみられるように、最高投与用量である 9mg/kg 群 (T-1068953 のグループ 5) において、投与直前と比較して投与 2 時間後に明らかな減少が認められた。一方、投与 1 時間および 6 時間以降は投与による変化は認められなかった。3mg/kg 以下ではいずれの測定時間においても投与による影響は認められなかった。また、0.015mg/kg～0.45mg/kg の用量範囲 (T-1068953 のグループ 4) では、投与 0 時間、1 時間、2 時間、6 時間及び 24 時間ともに投与による影響は全ての用量で認められなかった。

図 1 T-1068953 のグループ 5 (3 回測定した平均値)

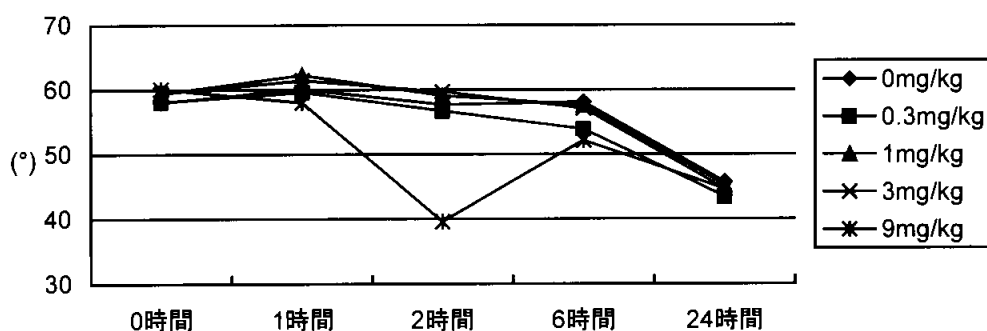


表 3 T-1068953 のグループ 5 (3 回測定した平均値)

用量 (mg/kg)	投与1時間	投与2時間	投与6時間	投与24時間
0	104	99	100	79
0.3	103	98	93	75
1	105	99	97	76
3	103	101	96	75
9	97	66	87	74

表中の数値は変動の目安として投与前を 100 とした場合の値を示したもの。

2) 図 2 及び表 4 にみられるように、0～7.5mg/kg まで投与した動物 (T-0068835) では 7.5mg/kg 群において投与 1.5 時間に減少傾向がみられたが、その差はきわめて軽度 (投与前値 55.5° に対して 54° (97%)) であった。

申請者註: 1.5 時間の対照群の値の幅は、T-1068953 グループ 3 で 46°～59°、T0068835 で 51°～61° であり、7.5mg/kg 群では 1 例が 44～45° を示し低値であったが、対照群値の下限值に極めて近く、その他の動物および平均値はその幅に入っていることから、投与の影響とは考えなかった。

図2 T-0068835 (3回測定した平均値)

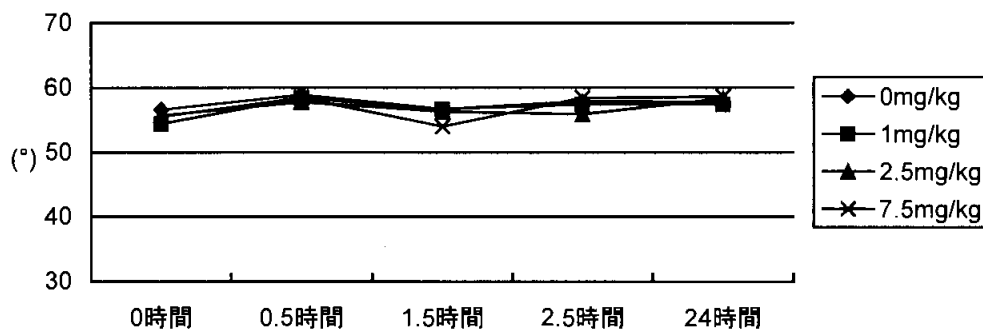


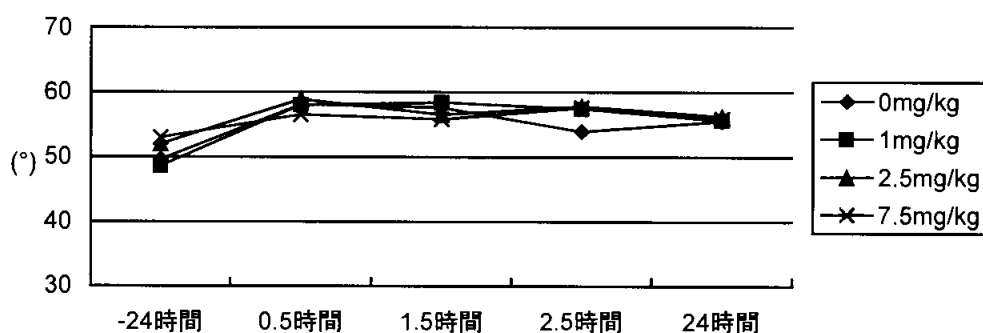
表4 T-1068953 のグループ5 (3回測定した平均値)

用量(mg/kg)	投与0.5時間	投与1.5時間	投与2.5時間	投与24時間
0	104	100	102	102
1	107	104	106	106
2.5	104	101	100	105
7.5	105	97	105	106

表中の数値は変動の目安として投与前を100とした場合の値を示したものの。

3) 調製溶媒としてミルクを用いた検体液を投与した動物(T-0068835 グループ2)と2% (v/v) Cremophor EL 水溶液を用いた検体液を投与した動物(T-1068953 のグループ3)の結果を比較した結果、最高用量の7.5mg/kg 群においても溶媒をミルクにすることによって影響を増大させることはなかった。

図3 T-1068953 のグループ2 溶媒ミルク群 (3回測定した平均値)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図4 T-1068953 のグループ3 溶媒：2%クレモホア水溶性 (3回測定した平均値)

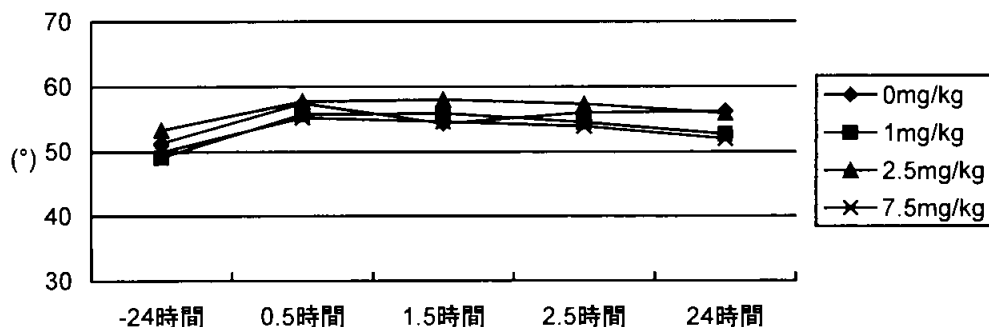


表5 T-1068953 のグループ2 溶媒ミルク群 (3回測定した平均値)

用量 (mg/kg)	投与0.5時間	投与1.5時間	投与2.5時間	投与24時間
0	117	116	109	112
1	119	120	118	114
2.5	113	109	111	108
7.5	107	105	109	105

表中の数値は変動の目安として投与前を100とした場合の値を示したもの。

表6 T-1068953 のグループ3 溶媒：2%クレモホア水溶性 (3回測定した平均値)

用量 (mg/kg)	投与0.5時間	投与1.5時間	投与2.5時間	投与24時間
0	112	106	109	110
1	113	114	111	107
2.5	108	109	108	105
7.5	110	109	108	104

表中の数値は変動の目安として投与前を100とした場合の値を示したもの。

体重：試験1日、試験8日、試験15日に測定したT1068953のグループ4について、いずれの投与群においても、投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査：それぞれの試験の観察期間終了時(T1068953グループ4のみ2週間後、他のグループは1週間後)にジエチルエーテル吸入で麻酔後、屠殺した。

T-0068835の動物についてのみ肉眼的病理検査を行った。

剖検の結果、検体投与に起因すると考えられる肉眼的異常所見は認められなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雌
9 mg/kg	・ 運動能の低下、努力性呼吸、流涎、異常歩行、腹臥位、反転、半閉眼、下痢、異常発声、一過性の身震い ・ 傾斜板試験で傾斜板角度の低下
7.5mg/kg 以上	・ 穴掘りおよび洗顔運動の亢進
0.015~3mg/kg	検体による影響なし

以上、シフルトリンのラット雌に対する急性経口投与試験において、9mg/kg 群で一般症状の変化、傾斜板試験での傾斜板角度の低下が認められた。7.5mg/kg 群では一般状態の変化(穴掘りおよび洗顔運動の亢進)が認められた。しかし、体重および肉眼的病理検査に対して検体投与の影響はいずれの群においてもみられなかった。従って傾斜板角度の観点からの無毒性量は 7.5mg/kg であった。また、総合的な無毒性量は 3mg/kg と考えられた。

申請者註：試験責任者は傾斜板角度の観点から無影響量を 3mg/kg、また、2.5mg/kg 群で認められた一般症状から、総合的な無影響量を 1mg/kg と判断していた。しかし、以下の理由から、申請者は、傾斜板角度の観点からの無毒性量は 7.5mg/kg、また、総合的な無毒性量は 3mg/kg と考えた。

- 1) 傾斜板角度については 7.5mg/kg でみられたわずかな変化は対照群に比べ 97% と軽度であり、1例のみ対照群からはずれていたが、その値は対照群の下限値に極めて近く、7.5mg/kg 群のその他の動物および平均値は対照群の範囲の幅に入っていた。
- 2) 3 および 2.5mg/kg 群で認められた一過性の身震いは発生数が少数で対照群と比較して統計学的有意差が認められなかったこと、またより高用量の 7.5mg/kg 群では認められなかったことから投与による変化とはみなさなかった。また 3mg/kg 群の穴掘りおよび洗顔運動も発生数が 1例で統計学的な有意差はなく、観察されたのは一時点のみであることから検体投与による変化とはみなさなかった。