

2) ラットにおける催奇形性試験

(資料 No.T-22)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体純度： %

供試動物： SD系 (CrI:COBSCD(SD)BR) 妊娠ラット (14週齢)、1群 25匹、
妊娠0日の体重；229～306g
妊娠0日：雄と同居後、膣栓が認められた日を妊娠0日と起算した。

投与期間： 10日 (妊娠6日～15日)、投与開始時期；1986年2月

投与方法： 検体を0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁し、0、2、20、
100および200 mg/kgの用量を妊娠6日から15日までの10日間、毎日1回
経口投与した。対照群には0.5%CMC水溶液を投与した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態および生死を毎日観察し、妊娠0日および6日以降毎日体重を測定した。摂餌量は妊娠0日から6日目まで通して測定し、その後6日から20日まで毎日測定した。

妊娠20日に帝王切開し、黄体数、着床数、吸収胚数、生存および死亡胎児数を検査した。

生存胎児； 性別、体重および外表異常の観察を行った。

各同腹児の1/2の胎児については骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

結果： 概要を次頁の表に示す。

親動物の試験結果

投与量 (mg/kg/日)		0	2	20	100	200	
1群当り動物数		25	25	25	25	25	
妊娠雌数		25	25	24	23 ^{a)}	24 ^{b)}	
死亡率 (%)		0	0	0	0	0	
一般状態							
流産		0	0	0	14**	19**	
体重 (g)	投与前 ^{d)}	妊娠 0 日	264.1	264.6	265.1	262.7	265.3
		妊娠 6 日	283.7	285.8	283.5	282.2	283.7
	投与期間中 ^{d)}	妊娠 7 日	285.3	288.4	284.7	279.3	278.1
		妊娠 8 日	288.3	290.7	286.8	280.4	274.7↓↓
		妊娠 9 日	292.1	295.0	291.7	283.8	271.8↓↓
		妊娠 10 日	295.9	298.9	295.0	287.5	276.6↓↓
		妊娠 11 日	301.2	303.8	300.0	291.5	283.4↓↓
		妊娠 12 日	304.4	308.0	303.8	295.2	287.7↓↓
		妊娠 13 日	309.3	313.2	308.0	298.9↓	291.5↓↓
		妊娠 14 日	314.5	318.4	313.7	304.8	295.3↓↓
		妊娠 15 日	321.5	325.3	321.2	311.2	300.4↓↓
	投与後 ^{d)}	妊娠 20 日	393.0	398.8	396.8	390.3	378.4
体重増加量 (g)	投与期間中 ^{d)}	妊娠 6~15 日	37.8	39.5	37.7	29.0↓↓	16.7↓↓
	投与後 ^{d)}	妊娠 16~20 日	61.7	63.6	64.5	68.6	70.1
摂餌量 ^{c)}	投与前 ^{d)}	妊娠 0~6 日	21.8	22.5	21.7	21.7	22.1
		妊娠 7 日	22.0	22.1	21.6	18.3↓↓	16.7↓↓
	投与期間中 ^{d)}	妊娠 8 日	21.6	22.0	20.7	17.2↓↓	12.7↓↓
		妊娠 9 日	22.0	22.4	22.6	18.8↓↓	12.3↓↓
		妊娠 10 日	22.5	23.4	22.1	20.2	15.4↓↓
		妊娠 11 日	22.4	23.6	23.2	21.0	19.0
		妊娠 12 日	23.6	24.6	23.4	21.0↓↓	20.5↓
		妊娠 13 日	24.7	26.0	26.0	23.2	22.3↓
		妊娠 14 日	22.4	23.2	23.2	22.4	21.2
		妊娠 15 日	24.3	25.0	23.7	22.6	20.1↓↓
投与後 ^{d)}	妊娠 20 日	22.9	24.2	24.2	23.4	25.9↑↑	
着床所見	黄体数 ^{d)}		16.1	17.4	15.9	17.5	15.6
	着床数 ^{d)}		14.8	14.7	14.7	15.1	14.0
	早期吸収胚数 ^{d)}		0.7	1.1	0.7	1.0	1.7
	後期吸収胚数 ^{d)}		0	0	0	0	0.1
	死亡胎児数 ^{d)}		0	0	0	0	0
	生存胎児数 ^{d)}		14.1	13.6	14.0	14.1	12.2

a) 2例は耳標誤着により定期の屠殺ができなかったため、以下データからは除外

b) 全胚が吸収されていたため、検査から除外した。

c) g/ラット/日として示す。

d) 群平均値

↓↑ : p<0.05、↓↓↑↑ : p<0.01 (ANOVA + Dunnett 検定)

↓↑ : p<0.05、↓↓↑↑ : p<0.01 (ANCOVA + t 検定)

* : p<0.05、** : p<0.01 (二項検定)

胎児動物の試験結果

投与量 (mg/kg/日)		0	2	20	100	200	
体重 (g)		3.39	3.48	3.41	3.38	3.25	
性比 (雄 %)		52.0	49.0	51.5	46.9	46.6	
外表異常	検査胎児数(腹数)	352 (25)	341 (25)	335 (24)	324 (23)	306 (24)	
	左眼球陥凹	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	臍帯ヘルニア	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
内臓異常	検査胎児数(腹数)	170 (25)	165 (25)	163 (24)	156 (23)	146 (24)	
	脳室軽度拡張	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	小眼球症	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	腎盂拡張	0 (0)	1 (1)	4 (2)	1 (1)	1 (1)	
	肺横隔膜葉欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
胎児動物	検査胎児数(%)/腹数(%)	182/25	176/25	172/24	168/23	160/24	
	頸肋	2(1.1)/2(8.0)	0/0	1(0.6)/1(4.2)	1(0.6)/1(4.3)	1(0.6)/1(4.2)	
	肋骨癒合	0/0	0/0	0/0	0/0	1(0.6)/1(4.2)	
	波状肋骨	5(2.7)/3(12.0)	0↓/0	1↓↓(0.6)/1(4.2)	0↓↓/0	0↓↓/0	
	肋骨短小	6(3.3)/3(12.0)	0↓↓/0↓↓	0↓↓/0↓↓	0↓↓/0↓↓	0↓↓/0↓↓	
	胸椎椎体二分	0/0	1(0.6)/1(4.0)	0/0	2(1.2)/2(8.7)	5↑↑(3.1)/4(16.7)	
	第10もしくは第11胸椎椎体二分 ^{a)}	0/0	1(0.6)/1(4.0)	0/0	2(1.2)/2(8.7)	4(2.4)/3(12.5)	
	第10および第12胸椎椎体二分 ^{a)}	0/0	0/0	0/0	0/0	1(0.6)/1(4.2)	
	骨格異常	胸椎椎体片側性化骨	0/0	0/0	0/0	0/0	4↑↑(2.4)/3(12.5)
		第2、第8もしくは第10胸椎椎体片側性化骨 ^{a)}	0/0	0/0	0/0	0/0	3(1.8)/2(8.3)
		第2、第8および第10胸椎椎体片側性化骨 ^{a)}	0/0	0/0	0/0	0/0	1(0.6)/1(4.2)
		第3胸椎椎体未化骨	0/0	0/0	0/0	0/0	1(0.6)/1(4.2)
		腰椎不完全化骨	2(1.1)/2(8.0)	0/0	0/0	0/0	1(0.6)/1(4.2)
		第5もしくは第6胸椎不完全化骨 ^{a)}	1(0.5)/1(4.0)	0/0	0/0	0/0	1(0.6)/1(4.2)
		第5および第6胸椎不完全化骨 ^{a)}	1(0.5)/1(4.0)	0/0	0/0	0/0	0/0
胸骨柄未化骨		0/0	0/0	1(0.6)/1(4.2)	0/0	0/0	
胸骨柄不完全化骨	2(1.1)/2(8.0)	0/0	0/0	0/0	1(0.6)/1(4.2)		

↓↑: p<0.05、↓↓↑↑: p<0.01 (二項検定)

a) 申請者が個別別表より追記した。統計解析は実施していない

胎児動物の試験結果 (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	2	20	100	200	
胎児動物	体重 (g)	3.39	3.48	3.41	3.38	3.25	
	性比 (雄 %)	52.0	49.0	51.5	46.9	46.6	
	骨格異常	検査胎児数(%)/腹数(%)	182 (25)	176 (25)	172 (24)	168 (23)	160 (24)
		胸骨分節未化骨および不完全化骨	10(5.5) /7(28.0)	0↓↓ /0↓↓	4↓(2.3) /2↓↓(8.3)	5(3.0) /3↓(13.0)	10(6.2) /7(29.2)
		第1もしくは第2胸骨分節未化骨 ^{a)}	2(1.1)/2(8.0)	0/0	2(1.1)/2(8.3)	2(1.2)/2(8.7)	5(3.1)/3(12.5)
		第1もしくは第2胸骨分節不完全化骨 ^{a)}	8(4.4)/6(24.0)	0/0	2(1.1)/1(4.2)	3(1.8)/2(8.7)	5(3.1)/5(20.8)
		第1および第2胸骨分節未化骨 ^{a)}	0/0	0/0	1(0.6)/1(4.2)	0/0	0/0
		第1および第2胸骨分節不完全化骨 ^{a)}	3(1.6)/3(12.0)	0/0	0/0	0/0	0/0
		恥骨化骨遅延	8(4.4)/6(24.0)	4(2.3)/3(12.0)	6(3.5)/4(16.7)	1(0.6)/1(4.3)	1(0.6)/1(4.2)
	坐骨化骨遅延	6(3.3)/4(16.0)	0↓/0↓	0↓/0↓	0↓/0↓	0↓/0↓	
	多指症	1(0.5)/1(4.0)	0/0	0/0	0/0	0/0	
化骨数	舌骨	0.70	0.76	0.88	0.90	0.95↑	
	胸椎	13.00	13.02	13.00	13.04	13.24↑↑	
	腰椎	6.00	5.98	5.99	5.96	5.75↓↓	
	尾椎	4.85	4.81	4.88	4.94	4.99	
	肋骨	13.00	13.02	13.00	13.03	13.21↑↑	
	胸骨椎体	3.73	3.73	3.63	3.53	3.40↓	

↓↓ : p < 0.05 ↓↓↓ : p < 0.01 (Dunnettの検定)

↓↑ : p < 0.05, ↓↓↓↑ : p < 0.01 (二項検定)

a) 申請者が個体別表より追記した。統計解析は実施していない

親動物の 100 mg/kg/日以上の投与群において、体重増加量および摂餌量の減少が認められ、一般症状においても流涎が認められた。

[申請者注]:

200 mg/kg/日投与群の胎児動物において、対照群と比較した場合、統計学的有意差はないものの体重の低値が認められた。また、軽度ではあるが統計学的に有意な胎児化骨数の変化が認められた。これらは、いずれも親動物に対する毒性を反映していると思われた。投与に関連したと考えられる胎児の形態異常はいずれの投与群でも認められなかった。

[申請者注]:

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した場合、100 mg/kg/日以上投与群で体重増加量、摂餌量の減少および流産が認められたことから親動物における無毒性量は20 mg/kg/日であり、200 mg/kg/日投与群の胎児で体重の低値および化骨数の変化が認められたため胎児動物における無毒性量は100 mg/kg/日であると考えられた。また、最高投与量の200 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

3) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No.T-23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体純度： %

供試動物： ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ (SPF)、体重 2.94~3.90 kg、
1 群雌 19 匹

投与期間： 投与期間 13 日 (妊娠 7 日~19 日)

妊娠 0 日： 人工授精日を妊娠 0 日と起算した。

投与方法： 検体を 1% Tween80 を含む 3% コーンスターチ溶液に懸濁させ、0、1、25 およ
び 75 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間、毎日 1 回経口投与
した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態、および生死を毎日観察し、妊娠 0、7、10、14、20、24
および 29 日に体重を測定した。摂餌量の測定は妊娠 5 日から 29 日まで毎日
実施した。

妊娠 29 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収杯数を検査
した。

生存胎児； 性別、体重および外表異常の観察を行った。内臓および骨格異常の有無を
検査した。

結 果： 親動物の検査結果を表 1、胎児動物の検査結果を表 2、胎児体重について申請者
が実施した統計解析の結果を表 3 に示す。

75 mg/kg/日投与群 1 例は、摂餌量の減少が継続したのち、妊娠 18 日に死亡が認め
られた。また、同群 2 例に流産 (妊娠 18 日および 24 日) が認められ、最高用量群
でみられたこれらの所見は投与の影響と考えられた。対照群 1 例 (妊娠 15 日) お
よび 1mg/kg/日投与群 1 例 (妊娠 16 日) にも死亡がみられたが、投与過誤による

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

ものであった。

75 および 25 mg/kg/日投与群で糞の変化（減少/軟化/無排糞）の発生頻度が統計学的に有意に増加したが、ウサギを用いた試験では摂餌量の変動による二次的な影響として高頻度で観察される変化であることから、投与による直接的な影響ではないと考えられた。

[申請者注]

75 mg/kg/日投与群で全投与期間を通じて体重及び摂餌量の有意な減少が認められた。摂餌量は、投与終了後徐々に回復した。

なお、25 および 1 mg/kg/日投与群でも摂餌量の有意な減少が投与期間終了後の妊娠後期にみられたが、体重への影響はなく、妊娠末期の摂餌量の低下はしばしば認められることから、投与によるものではないと考えられた。

着床所見において、軽度に増加した項目がみられたが、統計学的に有意な差ではなかった。

投与群の生存胎児体重に有意な低値がみられたが、本試験では対照群で高値がみられていること、1 および 25mg/kg/日投与群の同腹児数が対照群よりも多いこと、さらには平均体重の値はいずれも背景データ(表 4)の範囲内にあることなどから、偶発的な変化と考えられた。

[申請者注]

75 mg/kg/日投与群で内臓奇形（馬蹄腎 1 例、潜在眼球 1 例）が認められたが、これらの奇形は本質的には自然発生するものであり、各 1 例の発生であったことから、投与に関連した影響であるとは考えられなかった。

[申請者注]

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物および胎児動物における無毒性量は 25 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 75 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

表 1. 親動物の検査結果

投与量 (mg/kg/日)		0	1	25	75
1群当りの動物数		19	19	19	19
親動物	妊娠数 (率)	16(84.2)	14(73.7)	16(84.2)	15(78.9)
	検査母動物数	15 ^{a)}	13 ^{b)}	16	12 ^{c)}
	流産数 (率)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2(16.7)
	一般状態 (糞変化)				
	全期間(妊娠 0~29 日)	2/19	3/19	7/19*	12/19*
	投与期間中(妊娠 7~19 日) ^{d)}	0/16	1/14	1/16	9/15
	投与後期間(妊娠 20~29 日) ^{d)}	2/15	2/13	4/16	8/12
	体重増加量 ^{e)}				妊娠 7~10 日 : ↓48% 妊娠 10~14 日 : ↓17% 妊娠 7~20 日 : ↓5% 妊娠 0~29 日 : ↓34%
	摂餌量 ^{e)}		妊娠 23~24 日 : ↓69% 妊娠 26~27 日 : ↓66% 妊娠 19~29 日の 累積 : ↓71%	妊娠 22~27 日 : 最大 ↓64% 妊娠 19~29 日の 累積 : ↓71%	妊娠 7~10 日 : 最大 ↓51% 妊娠 10~14 日 : 最大 ↓50% 妊娠 7~19 日の 累積 : ↓64%
	着床所見	黄体数 着床数 初期吸収胚数 後期吸収胚数 生存胎児数 死亡胎児数	10.1 6.9 0.3 0.2 6.4 0	11.0 8.0 0.4 0.1 7.5 0	10.8 9.0 0.4 0.1 8.5 0

↓ $p \leq 0.05$ で統計学的有意差あり (Bartlett の検定)、* $p < 0.05$ で統計学的有意差あり (多重比較検定)

a)、b) 1例が死亡、c) 1例が死亡、2例が流産 d) 非妊娠動物は含まない。

e) 数字 (%) は対照群を 100 とした場合の変動の目安を示す。

表 2. 胎児動物の検査結果

投与量 (mg/kg/日)		0	1	25	75
1群当りの動物数		19	19	19	19
性比 (雄 %)		57.3	53.1	50.0	51.3
同腹児数		6.4	7.5	8.5	6.3
体重 (g)	雄	47.28	42.70	41.33*	41.94*
	雌	45.56	40.96* ^{d)}	39.11*	41.40
外表 ^{e)} 異常	検査例数	96	98	136	76
	腹胸部の隆起褐色部	0	0	1	0
内臓 ^{e)} 異常	検査例数	96	98	136	76
	小頭症	0	0	1	0
	馬蹄腎	0	0	0	1 ^{g)}
	潜在眼球	0	0	0	1 ^{g)}
胎児動物 骨格 ^{e)} 異常	検査例数	95 ^{d)}	98	136	76
	弓状舌骨	1	0	0	1
	舌骨化骨遅延	0	0	3	1
	過剰椎体中心	3	4	2	2
	完全過剰肋骨	50	48	53	49
	短小過剰肋骨	40	21	43	17
	部分的肥厚肋骨	0	1	0	0
	胸骨分節二分骨化	2	2	0	1
	胸骨分節配列異常	2	0	0	0
	胸骨分節化骨遅延	40	26	49	37
	胸骨分節癒合	0	1	0	0
	指節骨化骨遅延	2	2	4	2
	中手骨化骨遅延	1	0	0	3
	膝蓋骨化骨遅延	24	29	55	10
足根骨化骨遅延	0	0	0	1	

* $p \leq 0.05$ で統計学的有意差あり (申請者注 :

d) 胎児 1 例が紛失

e) 観察例数

f) 申請者注 :

g) 異なる母体で各 1 匹の胎児に観察された。

表 4. 本試験で用いた同系統ウサギの胎児体重データ
(1985年～1986年に同研究所で実施された9試験)

	雄胎児体重 (g)	雌胎児体重 (g)
試験 1	43.00±1.21	40.63±1.57
試験 2	41.00±1.71	42.47±1.65
試験 3	44.16±1.42	43.50±1.37
試験 4	39.66±1.23	39.00±1.20
試験 5	44.50±1.48	42.20±1.41
試験 6	44.09±1.19	42.66±1.26
試験 7	42.94±1.58	43.70±1.77
試験 8	45.10±1.13	42.00±1.15
試験 9	45.89±1.49	43.49±1.36

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(13) 変異原性

1) 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 No.T-24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体純度： %

試験方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下でプレート法を用いて変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

用量設定根拠：

試験の有効性：各菌株の溶媒対照の平均コロニー数が下表に示す試験施設の背景データの範囲内にあり、かつ陽性対照の復帰変異体数が溶媒対照の 2 倍を上回った場合に、試験は有効とみなした。

<試験施設の背景データ>

S-9 Mix の有無	WP2 uvrA	TA 100	TA 1535	TA 98	TA 1537
-	19.9 [8~40]	140.3 [80~220]	11.4 [7~30]	17.8 [12~50]	9.3 [3~20]
+	22.0 [8~50]	143.9 [70~220]	12.2 [7~35]	32.3 [20~70]	17.0 [5~30]

表中の数字は平均値 [値の範囲]を示す。

1989 年 6~12 月のデータを示す。

判定方法：次のいずれかの場合に陽性と判定した。

- ①1 つ以上の菌株で復帰変異体数が溶媒対照の 2 倍を上回る増加を示し、再現性が認められた場合。
- ②TA100 株で復帰変異体数が溶媒対照の 1.5 倍を上回る増加を示し、再現性が認められた場合。

なお、上記①、②のいずれにおいても、用量-反応関係の有無を確認する。

試験結果： 結果を次表に示す。(表中の数値は三反復の平均値)

<1回目>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix の 有無	復帰変異体数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 uvrA	TA 100	TA 1535	TA 98	TA 1537	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	21	191	16	15	11	
ジフェノコナゾール	340		20	166	7	9	7	
	681		17	168	10	6	2	
	1362		13	159	4	4	1	
	2723		13	168	3	4	4	
	5447		14	155	1	2	2	
陽性対照	4NQO		1.0	129				
	NaN ₃		2.0		917	806		
	2NF		10.0				1504	
	9AA		150					2773
溶媒対照 (DMSO)	0	+	25	156	11	25	7	
ジフェノコナゾール	340		21	137	16	14	5	
	681		23	150	12	19	3	
	1362		15	143	4	7	4	
	2723		16	145	6	25	4	
	5447		11	136	3	18	1	
陽性対照	2AA		50.0	1311				
	2AA		5.0					205
			2.5		2191		2347	
	CPA		400			196		

4NQO : 4-nitroquinoline-N-oxide
 NaN₃ : Sodium azide
 2NF : 2-nitrofluorene
 9AA : 9-aminoacridine hydrochloride
 2AA : 2-aminoanthracene
 CPA : Cyclophosphamide

<2回目>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異体数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 uvrA	TA 100	TA1535	TA 98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	16	134	7	21	7	
ジフェノコナゾール	340		16	113	8	16	4	
	681		20	50	9	12	4	
	1362		11	18	7	9	4	
	2723		7	22	9	7	1	
	5447		6	17	6	4	0	
陽性対照	4NQO		1.0	836				
	NaN ₃		2.0		630	121		
	2NF		10.0				1119	
	9AA		150					1787
溶媒対照 (DMSO)	0	+	22	116	16	32	10	
ジフェノコナゾール	340		27	107	13	28	9	
	681		17	61	10	19	5	
	1362		14	49	9	14	5	
	2723		9	24	10	17	4	
	5447		7	18	9	8	3	
陽性対照	2AA		50.0	844				
			5.0					365
			2.5					
	CPA		400		1674		1303	
				626				

- 4NQO : 4-nitroquinoline-N-oxide
 NaN₃ : Sodium azide
 2NF : 2-nitrofluorene
 9AA : 9-aminoacridine hydrochloride
 2AA : 2-aminoanthracene
 CPA : Cyclophosphamide

<追加試験>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mixの有 無	復帰変異体数/プレート		
			フレームシフト型		
			TA 98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	23	9	
ジフェノコナゾール	85		17	6	
	170		19	4	
	340		17	6	
	681		19	5	
	1362		16	5	
陽性 対照	2NF		10	620	
	9AA		150		1296
溶媒対照 (DMSO)	0		+	28	7
ジフェノコナゾール	85			32	5
	170	25		7	
	340	35		10	
	681	30		5	
	1362	24		7	
陽性 対照	2AA	5.0			229
	2.5	1844			

2NF : 2-nitrofluorene

2AA : 2-aminoanthracene

9AA : 9-aminoacridine hydrochloride

検体は、S-9 Mixの有無にかかわらず最高濃度 (5447 $\mu\text{g}/\text{プレート}$) においても、いずれの菌株においても復帰変異体数を増加させなかった。全ての菌株の高濃度で生育阻害が認められた。

一方、陽性対照として用いた 4NQO、NaN₃、2NF、9AA、2AA および CPA では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異体数の増加を示した。

以上の結果より、本剤は代謝活性化系を含む本試験条件下で復帰変異性を有さないものと判断される。

2) 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 No.T-50)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体純度： %

試験方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下でプレート法を用いて変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

用量設定根拠：

判定方法： 復帰変異体数が用量に依存して溶媒対照の 2 倍を超えて増加し、かつ再現性が認められる場合に陽性と判定した。

試験結果： 結果を次表に示す。

検体は、S-9 Mix の有無にかかわらず最高濃度においても、いずれの菌株においても復帰変異体数を増加させなかった。TA1535 および TA1537 株の最高濃度 (S-9 Mix 存在下 100 μ g/プレート、S-9 Mix 非存在下 50 μ g/プレート) で生育阻害が認められた。

一方、陽性対照として用いた AF-2 (2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド)、2AA (2-アミノアントラセン)、NaN₃ (アジ化ナトリウム) および ICR-191 (2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl) では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異体数の増加を示した。

以上の結果より、本剤は代謝活性化系を含む本試験条件下で復帰変異性を有さないものと判断される。

<1回目：表中の数値は二反復（溶媒対照は三反復）の平均値>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異体数/ 7° プレート		
			塩基対置換型		フレームシフト型
			WP2 uvrA	TA 100	TA 98
溶媒対照 (DMSO)	0	-	65	104	26
ジフェノコナゾール	156		62	92	23
	313		58	97	15
	625		57	96	22
	1250		63	89	22
	2500		64	67	18
	5000@		67	70	21
陽性対照 (AF-2)	0.01		585	463	
	0.1			447	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	80	115	38
ジフェノコナゾール	156		83	93	26
	313		87	82	30
	625		76	76	26
	1250		83	67	20
	2500@		75	65	18
	5000@		77	52	24
陽性対照 (2AA)	0.5				158
	1.0		613		
	10.0	636			

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

2AA：2-アミノアントラセン

@：被験物質の析出が認められた。

<1回目：表中の数値は二反復（溶媒対照は三反復）の平均値>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異体数/ 7° プレート	
			塩基対置換型	フレームシフト型
			TA1535	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	-	9	10
ジフェノコナゾール	1.56		6	5
	3.13		5	4
	6.25		7	7
	12.5		4	4
	25		7	4
	50		6*	3*
陽性対照	NaN ₃		191	
	ICR-191		1153	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	9	6
ジフェノコナゾール	3.13		3	7
	6.25		7	5
	12.5		8	5
	25		9	7
	50		6	9
	100		8*	7*
陽性対照 (2AA)	2.0		104	71

NaN₃：アジ化ナトリウム

ICR-191：2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2AA：2-アミノアントラセン

*：生育阻害が認められた。

<2回目：表中の数値は二反復（溶媒対照は三反復）の平均値>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異体数/ $\mu\text{プレート}$		
			塩基対置換型		フレームシフト型
			WP2 uvrA	TA 100	TA 98
溶媒対照 (DMSO)	0	-	50	91	17
ジフェノコナゾール	156		60	90	17
	313		56	90	17
	625		51	73	19
	1250		49	69	13
	2500		41	71	13
5000@	52		64	18	
陽性対照 (AF-2)	0.01	+	669	770	
	0.1				393
溶媒対照 (DMSO)	0		73	100	27
ジフェノコナゾール	156		70	85	21
	313		80	90	22
	625		75	84	21
	1250		71	72	14
	2500@		80	67	15
	5000@		69	61	17
陽性対照 (2AA)	0.5				225
	1.0			780	
	10.0		533		

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

2AA：2-アミノアントラセン

@：被験物質の析出が認められた。

<2回目：表中の数値は二反復（溶媒対照は三反復）の平均値>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異体数/ $\mu\text{プレート}$	
			塩基対置換型	フレームシフト型
			TA1535	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	-	9	7
ジフェノコナゾール	1.56		12	12
	3.13		6	14
	6.25		10	7
	12.5		6	12
	25		11	10
	50		9*	7*
陽性対照	NaN ₃	+	224	
	ICR-191			1155
溶媒対照 (DMSO)	0		12	17
ジフェノコナゾール	3.13		9	18
	6.25		12	18
	12.5		11	19
	25		11	16
	50		10	12
	100		9*	12*
陽性対照 (2AA)	2.0		135	250

NaN₃：アジ化ナトリウム

ICR-191：2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2AA：2-アミノアントラセン

*：生育阻害が認められた。

3) マウスのリンパ腫細胞を用いた *in vitro* 突然変異誘発性試験

(資料 No.T-25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986 年

検体純度： %

試験方法： マウスのリンパ腫細胞 (L5178Y/TK⁺) を用いた。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させ、細胞を 4 時間暴露し、発現した TK⁺細胞を計数した。陽性対照として代謝活性化系非存在下でエチルメタンサルホネート (EMS)、存在下でジメチルニトロサミン (DMN) 処理群を、陰性対照として無処理対照群を設けた。

用量設定根拠；

判定基準；生存細胞 10⁶ 個あたりの TK⁺細胞の発現数が溶媒対照群の 2.5 倍以上を陽性と判定した。

試験結果： 結果を下表に示す。

S-9 Mix 非存在下の 1 回目

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S-9 Mix	突然変異 クローン数	生存 クローン数	突然変異細胞 発現頻度 ^{a)} ($\times 10^{-6}$)	評価
溶媒対照 (DMSO)	0	-	24	398	15.1	-
ジフェノコナゾール	8		22	346	15.9	陰性
	16		22	322	17.1	
	32		26	362	18.0	
	48		29	384	18.9	
	64		21	276	19.0	
	72		22	318	17.3	
	80		21	483	10.9	
陰性対照	0		22	396	13.9	-
陽性対照 (EMS)	0.86 $\mu\text{g/mL}$		120	92	326.1	陽性

a)：突然変異細胞発現頻度 = (突然変異クローン数 \times 800 / 生存クローン数) / 3.2

S-9 Mix 非存在下の 2 回目

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S-9 Mix	突然変異 クローン数	生存 クローン数	突然変異細胞 発現頻度 ^{a)} ($\times 10^{-6}$)	評価
溶媒対照 (DMSO)	0	-	20	230	21.7	—
ジフェノコナゾール	15		18	231	19.5	陰性
	30		27	214	31.5	
	60		28	234	29.9	
	90		31	218	35.6	
	120		65	228	71.3	
	150		*	*	*	
陰性対照	0		25	224	27.9	—
陽性対照 (EMS)	0.86 $\mu\text{g/mL}$		145	12	3020.8	陽性

* : 細胞毒性のため測定不能

a) : 突然変異細胞発現頻度 = (突然変異クローン数 \times 800/生存クローン数) / 3.2

S-9 Mix 非存在下の 3 回目

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S-9 Mix	突然変異 クローン数	生存 クローン数	突然変異細胞 発現頻度 ^{a)} ($\times 10^{-6}$)	評価
溶媒対照 (DMSO)	0	-	51	425	30.0	—
ジフェノコナゾール	12		51	372	34.3	陰性
	24		53	393	33.7	
	48		52	366	35.5	
	72		53	372	35.6	
	96		*	*	*	
	108		*	*	*	
120	*		*	*		
陰性対照	0	55	379	36.3	—	
陽性対照 (EMS)	0.86 $\mu\text{g/mL}$		383	169	566.6	陽性

* : 細胞毒性のため測定不能

a) : 突然変異細胞発現頻度 = (突然変異クローン数 \times 800/生存クローン数) / 3.2

S-9 Mix 存在下の 1 回目

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S-9 Mix	突然変異 クローン数	生存 クローン数	突然変異細胞 発現頻度 ^{a)} ($\times 10^{-6}$)	評価
溶媒対照 (DMSO)	0	+	59	327	45.1	—
ジフェノコナゾール	5		53	321	41.3	陰性
	10		63	282	55.9	
	20		54	300	45.0	
	30		*	*	*	
	40		*	*	*	
	45		*	*	*	
50	*		*	*		
陰性対照	0	58	337	43.0	—	
陽性対照 (DMN)	8.04 $\mu\text{g/mL}$		142	159	223.3	陽性

* : 細胞毒性のため測定不能

a) : 突然変異細胞発現頻度 = (突然変異クローン数 \times 800/生存クローン数) / 3.2

S-9 Mix 存在下の 2 回目

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S-9 Mix	突然変異 クローン数	生存 クローン数	突然変異細胞 発現頻度 ^{a)} ($\times 10^{-6}$)	評価
溶媒対照 (DMSO)	0	+	36	254	35.4	—
ジフェノコナゾール	3		30	264	28.4	陰性
	6		27	260	26.0	
	12		19	267	17.8	
	18		25	282	22.2	
	24		41	270	38.0	
	27		50	272	46.0	
	30		*	*	*	
陰性対照	0		38	252	37.7	—
陽性対照 (DMN)	8.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$		136	25	1360.0	陽性

* : 細胞毒性のため測定不能

a) : 突然変異細胞発現頻度 = (突然変異クローン数 \times 800 / 生存クローン数) / 3.2

S-9 Mix 非存在下の 2 回目の試験において、120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で溶媒対照の 3.28 倍の突然変異細胞の発現がみられた。しかし、本濃度における細胞発育率は極めて低かったため（溶媒対照の 1.6%）、突然変異細胞の発現率は適正な評価ができないものと判断した。そのほかの検体処理群では、突然変異細胞の発現率において溶媒対照群と比較して明らかな差異は認められなかった。

一方、陽性対照に用いた EMS および DMN 処理群のいずれも溶媒対照群と比較して顕著な突然変異細胞発現率の増加がみられた。

以上の結果から、本剤はマウスのリンパ腫細胞に突然変異を誘発しないと判断された。

4) ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No.T-26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1985 年

検体純度： %

試験方法： ヒトリンパ球を用い、代謝活性化系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して用いた。観察は、分裂中期像について行った。陽性対照物質としてマイトマイシン C (MMC) およびシクロホスファミド (CPA) を用いた。

用量設定根拠；細胞毒性試験の結果に基づき、分裂活性を約 50%抑制する濃度である 40.0 µg/mL を最高濃度とし、以下 20.0、10.0、5.0 および 2.5µg/mL を設定した。

試験結果： 結果を次表に示した。

薬物	濃度 (µg/mL)	S-9 Mix の有無	構造異常細胞出現頻度								その他		判定		
			染色体分体切断	同位染色体分体切断	染色体分体交換	多動原体染色体	染色体分体断片	同位染色体分体断片	微小断片	二重微小断片	ギャップ	染色体崩壊			
溶媒対照 (DMSO)	—	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	—	
ジフェノコナゾール	2.5	—	1	0	0	0	0	0	0	1	2	10	0	—	
	5.0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	—	
	10.0		2	0	0	0	0	0	0	1	0	9	0	—	
	20.0*														
	40.0*														
陽性対照 (MMC)	0.8	—	3	4	3	1	2	1	10	4	11	3	+a)		
溶媒対照 (DMSO)	—	+	0	0	0	0	0	0	1	0	3	2	—		
ジフェノコナゾール	2.5	+	0	0	0	0	0	0	0	1	0	5	0	—	
	5.0		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	—	
	10.0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	—	
	20.0*														
	40.0*														
陽性対照 (CPA)	10	+	2	1	3	0	0	0	2	0	11	2	+b)		

*：細胞毒性により分析不能

a)：異常出現率 18% (背景データの範囲は 9~34%) b)：異常出現率 7% (背景データの範囲は 4~48%)
統計解析は実施していない。

S-9 Mix 非存在下の試験において、検体の 2.5、5.0 および 10.0 µg/mL 処理群で染色体分体ギャップが認められたが、用量相関性はみられなかった。

陽性対照物質としたマイトマイシン C およびシクロホスファミドは高い染色体異常出現率を示した。

以上の結果より、本剤は代謝活性化を含む本試験条件下において、ヒトリンパ球に染色体異常を誘発しないと判断される。

5) ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料No.T-27)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体純度: %

試験方法: ヒトリンパ球を用いてラット肝由来の代謝活性化系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で *in vitro* における染色体異常誘発性を検定した。試験は 2 回実施した。検体の処理時間は、試験 1 では S-9 Mix の存在下および非存在下ともに 3 時間、試験 2 では S-9 Mix 存在下で 3 時間、非存在下で 20 時間とした。溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用い、陽性対照物質としてシクロホスファミドおよびマイトマイシン C を用いた。

用量設定根拠: 2 回実施した予備試験において、有糸分裂指数の顕著な低下 (溶媒対照に対して 50% 以上) がみられた濃度を最高濃度とし、計 3 濃度を以下の通り設定した。

試験 1: S-9 Mix 存在下; 62、30 および 5 μ g/mL (3 時間処理)

S-9 Mix 非存在下; 75、30 および 5 μ g/mL (3 時間処理)

試験 2: S-9 Mix 存在下; 50、30 および 5 μ g/mL (3 時間処理)

S-9 Mix 非存在下; 10、5 および 1 μ g/mL (20 時間処理)

試験結果: 結果を表 1 および 2 に示す。

試験 1 の S-9 Mix の存在下および非存在下および試験 2 の S-9 Mix 非存在下では、溶媒対照と比較し、構造異常を持つ細胞の頻度 (%) に有意な増加は認められなかった。

試験 2 の S9-Mix 存在下では、低濃度で統計的に有意な構造異常の頻度 (%) の増加が認められたが、用量依存性はなく、値は背景データの範囲内にあることから、生物学的意義はないと判断した。

本試験系に用いた陽性対照物質のマイトマイシン C およびシクロホスファミドでは、明らかに有意な構造異常の増加がみられた。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において、染色体の構造異常を誘発しないと判断される。

表 1. (試験 1)

検体濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	処理 時間	有糸分 裂指数 (%)	S-9 mix	染色体異常細胞数							キヤップを除 く全ての異 常 (%)
					キヤップ	染色体		染色分体		交換	その他	
						切断	断片/ 欠失	切断	断片/ 欠失			
溶媒 (DMSO)	200	3	16.2	-	0	0	0	0	0	0	0	0
検体 5	200		16.5		0	0	0	0	0	0	0	0
30	200		9.8		1	0	0	0	0	0	0	0
75	200		7.1		0	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照①	25		11.0		0	0	0	10	0	0	0	20**
溶媒 (DMSO)	200	3	13.8	+	0	0	0	0	0	0	0	0
検体 5	200		14.8		0	0	0	1	0	0	0	0.5
30	200		9.5		0	0	0	0	0	0	0	0
62	200		5.3		0	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照②	50		9.9		1	0	3	7	0	1	1	22**

陽性対照①：マイトマイシン C (0.5 $\mu\text{g/mL}$)、②：シクロホスファミド (50 $\mu\text{g/mL}$)

統計解析：Fisher の検定 (** $p < 0.01$)

表 2. (試験 2)

検体濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	処理 時間	有糸分 裂指数 (%)	S-9 mix	染色体異常細胞数							キヤップを除 く全ての異 常 (%)
					キヤップ	染色体		染色分体		交換	その他	
						切断	断片/ 欠失	切断	断片/ 欠失			
溶媒 (DMSO)	200	20	10	-	0	0	1	5	0	0	0	3.0
検体 1	200		7.6		0	0	1	3	0	0	0	2.0
5	200		4.8		1	0	0	6	0	0	0	3.0
10	200		4.7		2	0	1	2	0	0	0	1.5
陽性対照①	25		8.5		0	0	3	6	0	4	1	48.0**
溶媒 (DMSO)	200	3	11.4	+	2	0	1	0	0	0	0	0.5
検体 5	200		13.5		2	0	7	0	1	0	0	4.0*
30	200		7.2		0	0	0	2	0	0	0	1.0
50	200		5.0		3	0	3	1	0	0	0	2.0
陽性対照②	25		6.3		0	0	7	3	0	3	0	40.0**

陽性対照①：マイトマイシン C (0.2 $\mu\text{g/mL}$)、②：シクロホスファミド (50 $\mu\text{g/mL}$)

統計解析：Fisher の検定 (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)

表 3. 背景データ

	キヤップを除く全ての異常 (%) [%範囲]	
	S-9 mix 存在下	S-9 mix 非存在下
溶媒対照 (n=141)	0.9 \pm 0.9 [0.0-4.5]	1.0 \pm 0.9 [0.0-4.0]
陽性対照 (n=141)	25.5 \pm 8.9 [7.0-48.0]	34.8 \pm 11.2 [10.0-64.0]

(資料No.T-28)

6) チャイニーズハムスターの卵巣 (CHO) 培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2001 年

検体純度 : %

試験方法 : チャイニーズハムスターの卵巣細胞 (CHO) を用いた *in vitro* の細胞遺伝学的試験を代謝活性化 (S-9 Mix) の非存在下および存在下で実施した。検体は、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。処理時間は、S-9 Mix の存在下および非存在下ともに 3 時間とし、続いて 17 時間の回復期間を設けた。S-9 Mix の非存在下および存在下における陽性対照として、それぞれ、4-ニトロキノリン 1-オキシド (NQO) およびシクロホスファミド (CPA) を用いた。

1 回目の試験において、観察に供した最高濃度 (S-9 Mix 非存在下 34.36 µg/mL および S-9 Mix 存在下 67.11 µg/mL) で構造異常を有する細胞数が統計的に有意に増加したため、この濃度の標本のみ、再検査を実施した。

用量設定根拠 ;

結果の判定基準 ;

1 回目および 2 回目ともに、1 つ以上の濃度で、以下に示す背景データを上回る構造異常がみられ、かつ、構造異常 (ギャップを除く) を有する細胞数が統計的に有意に増加した場合に、陽性と判定した。

<試験施設の背景データ>

S-9 mix	-				+			
	構造異常 (キ・ヤッフを含む)	構造異常 (キ・ヤッフを除く)	倍数性 細胞	数的異常	構造異常 (キ・ヤッフを含む)	構造異常 (キ・ヤッフを除く)	倍数性 細胞	数的異常
観察 細胞数	10997	10997	11268	11268	11800	11800	12275	12275
100 個当 たりの平均値	1.84	1.15	2.08	2.37	1.98	1.27	2.29	3.79
正常値の 範囲	0~7	0~5	0~7	0~8	0~7	0~5	0~7	0~11

観察結果： 観察結果を表 2 および 3 に示す。

1 回目の試験において、観察に供した最高濃度 (S-9 Mix 非存在下 34.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および S-9 Mix 存在下 67.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$) で構造異常を有する細胞数の統計学的に有意な増加がみられ、再観察後にも S-9 Mix 存在下では有意差がみられた。それ以下の濃度では、構造異常を有する細胞数の増加は認められなかった。

2 回目の試験において、S-9 Mix 非存在下では、いずれの濃度でも構造異常を有する細胞数の増加は認められなかった。S-9 Mix 存在下では、1 回目の試験と同一濃度 (67.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$) およびこれよりも高濃度 (83.89 $\mu\text{g}/\text{mL}$) で処理した細胞を観察したが、67.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では構造異常を有する細胞数は溶媒対照と同程度であった。したがって、1 回目の試験でみられた構造異常を有する細胞数の有意な増加が検体の影響であるか否かは不明であった。

1 回目および 2 回目の試験において、溶媒対照では、構造異常を有する細胞数は背景データの範囲内にあった。陽性対照物質では、構造異常を有する細胞の明確な増加が認められた。

以上の結果から、代謝活性化系を含む本試験条件下において、染色体の構造異常が誘発された。

表 2. 1 回目の試験

検体濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	処理/ 回復 時間	有糸分 裂指数 (%)	S-9 mix	構造異常を有する細胞数							数的異常を有する細胞数					
					キナップ*	染色体		染色体分体		その他	キナップを 含む全ての 異常	キナップを 除く全ての 異常	高二倍性	核内倍加	倍数性	全ての 異常	
						欠失	交換	欠失	交換								
溶媒 (DMSO)	200	3/17	8.3	-	1	0	0	2	0	0	2	1	0	1	5	6	
検体 21.99	200	3/17	7.8		2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	4	6
27.49	200	3/17	7.3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	5
34.36 ¹⁾	200	3/17	4.0		5	7	1	6	1	1	18*	14*	0	2	5	7	
					2	2	0	3	1	0	8	6	0	2	0	2	
陽性対照①	200	3/17			9	5	0	25	24	10	43*	38*	0	0	4	4	
溶媒 (DMSO)	200	3/17	8.9	+	0	2	0	0	0	0	1	1	0	0	3	3	
検体 34.36	200	3/17	9.2		3	0	0	0	0	0	3	0	0	3	1	4	
53.69	200	3/17	6.0		2	2	0	1	0	0	5	3	0	3	2	5	
67.11 ¹⁾	200	3/17	3.7		9	22	0	13	9	0	36*	30*	0	0	1	1	
					6	17	0	15	8	0	46*	40*	1	1	1	3	
陽性対照②	200	3/17			12	18	1	37	61	3	79*	75*	0	0	3	3	

陽性対照①: 4-ニトロキノリン1-オキシド (0.025 $\mu\text{g/mL}$)、②: シクロホスファミド (6.25 $\mu\text{g/mL}$)

統計解析: Fisherの検定 (* $p < 0.001$)

1) 上段に最初の観察結果、下段に再検査の結果を示す。

表 3. 2 回目の試験

検体濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	処理/回 復時間	有糸分 裂指数 (%)	S-9 mix	染色体異常細胞数							数的異常を有する細胞数					
					キヤップ	染色体		染色体分体		その他	キヤップを 含む全ての 異常	キヤップを 除く全ての 異常	高二倍性	核内倍加	倍数性	全ての 異常	
						欠失	交換	欠失	交換								
溶媒 (DMSO)	200	3/17	20.1	-	0	1	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2	
検体 21.99	200	3/17	16.1		1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	3
27.49	200	3/17	13.1		4	3	0	4	0	0	5	3	1	3	3	2	6
34.36	200	3/17	11.0		1	0	0	0	4	0	4	3	1	6	1	8	
陽性対照①	200	3/17			10	4	0	14	22	6	38*	34*	0	1	1	2	
溶媒 (DMSO)	200	3/17	16.4	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	
検体 34.36	200	3/17	21.5		0	3	1	0	0	0	4	4	0	3	1	4	
53.69	200	3/17	10.4		1	1	0	1	2	0	4	3	0	6	1	7	
67.11	200	3/17	9.0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	4	
83.89	200	3/17	7.1		4	8	0	2	0	0	12	8	0	0	4	4	
陽性対照②	200	3/17		12	23	0	38	66	1	72*	70*	0	0	2	2		

陽性対照①: 4-ニトロキノリン 1-オキシド (0.025 $\mu\text{g/mL}$)、②: シクロホスファミド (6.25 $\mu\text{g/mL}$)

統計解析: Fisher の検定 (* $p < 0.001$)

7) チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No.T-29)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体純度： %

試験方法： チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) を用い、ラット肝由来の代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用い、陽性対照としてマイトマイシン C およびシクロホスファミドを使用した。検体の処理時間は、試験 1 では S-9 mix 存在下および非存在下ともに 3 時間、試験 2 では S-9 mix 存在下で 3 時間、S-9 mix 非存在下で 21 時間とした。試験 1 および 2 ともに、染色体の観察を 2 回実施した。

用量設定根拠；

試験結果： 結果を表 1 および 2、背景データを表 3 に示した。

試験 1 において 1 回目の観察で、S-9 mix 存在下および非存在下で、検体の高濃度でギャップおよび染色体欠失の数が増加したが、ギャップを除く全ての異常の発現率 (%) に有意差はなく、この発現率は背景データの範囲内にあった。

試験 2 では、1 回目の観察において、S-9 mix 存在下で検体の高濃度でギャップ、並びに染色分体および染色体欠失の数が増加し、ギャップを除く全ての異常 (%) が有意に増加した (1 回目の観察)。しかし、試験 1 の同一濃度 (17.6 μ g/mL) では同様の増加はみられず、再現性はなかった。

2 回目の観察において、1 回目にギャップまたは欠失とみなした所見の多くは、X 染色体の異染質を示す長腕上の淡染色および非染色部位であり、いずれも X 染色体上の同一部位に発現していることを確認した。このような変化は、ある種の化学物質暴露によりチャイニーズハムスターの X 染色体に発現することが知られており、その発現機序はヌクレオチド・プール攪乱や複製・パッケージング過程の阻害によるものであり、変異原性とは直接関連がないと考えられている。したがって、これらの所見を構造異常から除外した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において、染色体異常を誘発しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

[申請者注]

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において、染色体の構造異常を誘発したと判断される。

表 1 (試験 1)

検体濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察細胞数	S-9 mix	構造異常						10以上の異常を持つ染色体	ギャップを除く全ての異常 (%)	数的異常 (動原体数 >30) (%)
			ギャップ	染色分体型		染色体型					
				欠失	交換	欠失	交換				
溶媒対照(DMSO)	200	-	4	2	0	1	1	0	2.0	2.0	
検体 26.3	200		2	1	0	2	0	0	1.5	1.5	
39.5	200		3	5	0	1 (2) ¹⁾	0	0	3.0	2.5	
59.3	200		2 (10) ¹⁾	3	0	2 (9) ¹⁾	0	0	2.5 (6.0) ¹⁾	0.5	
陽性対照①	50		2	6	11	9	3	0	46.0***	2.5	
溶媒対照(DMSO)	200	+	9	3	1	0	0	0	2.0	0.5	
検体 11.7	200		5	5	2	2	1	0	4.5	0.0	
17.6	200		9	7	3	0	0	0	5.0	3.0	
26.3	200		-2)	-2)	-2)	-2)	-2)	-2)	-2)	-2)	-2)
陽性対照②	50		5	10	13	6	3	0	46.0***	1.0	

陽性対照①：マイトマイシン C (0.2 $\mu\text{g/mL}$)、②：シクロホスファミド (20 $\mu\text{g/mL}$)

統計解析：Fisher の検定 (***) $p < 0.001$

1) 括弧内の数字は 1 回目の観察結果を示す。

1 回目の観察で染色体/染色分体の欠失あるいはギャップとみなした異常のうち、X 染色体の異染質を示す長腕にみられた淡染色および非染色部位は、2 回目の観察時には構造異常に含めなかった。

この変化は、化学物質を *in vitro* で暴露したチャイニーズハムスターの X 染色体の長腕に発現することがあるが、ヌクレオチド・プール攪乱や複製・パッケージング過程の阻害によるものと考えられ、変異原性とは関連のない所見とみなされている (引用文献 1、2、3、4)。

2) 有糸分裂が溶媒対照に対して 73%抑制されたため、評価しなかった。

表 2 (試験 2)

検体濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察細胞数	S-9 mix	構造異常						10以上の異常を持つ染色体	ギャップを除く全ての異常 (%)	数的異常 (動原体数 >30) (%)
			ギャップ	染色分体型		染色体型					
				欠失	交換	欠失	交換				
溶媒対照(DMSO)	200	-	2	2	0	0	1	0	1.5	2.0	
検体 2.3	200		2	0	0	3	1	0	2.0	7.0	
5.2	200		1	2	1	2	0	0	2.5	10.5	
11.7	200		2	1	0	2	1	0	2.0	4.5	
陽性対照①	50		4	13	26	14	1	0	62.0***	4.5	
溶媒対照(DMSO)	200	+	4	2	0	0	0	0	1.0	3.0	
検体 7.8	200		5	1	0	0	0	0	0.5	3.5	
11.7	200		5	1	0	4	0	0	2.5	3.0	
17.6	200		10	10	2	2 (3) ¹⁾	0	0	6.5*** (7.0***) ¹⁾	4.0	
陽性対照②	50		5	13	14	7	2	0	50.0***	5.0	

陽性対照①：マイトマイシン C (0.2 $\mu\text{g/mL}$)、②：シクロホスファミド (20 $\mu\text{g/mL}$)

統計解析：Fisher の検定 (***) $p < 0.001$

1) 括弧内の数字は 1 回目の観察結果を示す。

1 回目の観察で染色体/染色分体の欠失あるいはギャップとみなした異常のうち、X 染色体の異染質を示す長腕にみられた淡染色および非染色部位は、2 回目の観察時には構造異常に含めなかった。

この変化は、化学物質を *in vitro* で暴露したチャイニーズハムスターの X 染色体の長腕に発現することがあるが、ヌクレオチド・プール攪乱や複製・パッケージング過程の阻害によるものと考えられ、変異原性とは関連のない所見とみなされている (引用文献 1、2、3、4)。

表 3. 背景データ

S-9 Mix	溶媒	試験数	観察細胞数	ギャップを除く全ての異常 (%)			
				平均発現率	SD	最小発現率	最大発現率
-	基礎培地	26	5200	1.942	0.931	0.5	4
		11	2200	1.227	0.876	0	3
	DMSO	159	31800	1.651	1.032	0	5
		57	11400	1.509	0.980	0	4.5
	アセトン	14	2800	1.964	0.930	0	3.5
		5	1000	1.000	0.500	0.5	1.5
	エタノール	4	800	1.625	0.946	1	3
		1	200	1.500		1.5	1.5
+	基礎培地	25	5200	1.577	0.796	0.5	3
		11	2200	1.227	1.170	0	3.5
	DMSO	159	31800	2.019	1.109	0	5
		58	11600	1.862	1.131	0	4.5
	アセトン	6	1200	1.667	0.876	1	3
		3	600	1.000	0.500	0.5	1.5
	エタノール	4	800	1.625	0.479	1	2
		1	200	0.000		0	0

8) チャイニーズ・ハムスターを用いた核異常誘発性試験

(資料 No.T-30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986 年

検体純度： %

供試動物： チャイニーズ・ハムスター、体重雄 24~35 g 雌 21~30 g、1 群雌雄各 3 匹

試験期間： 3 日間

試験方法： 検体をゴマ油に懸濁して 250、500 および 1000 mg/kg の用量で 1 日 1 回 2 日連続強制経口投与した。投与終了 24 時間後に動物を屠殺し、両大腿骨から骨髓を採取し、骨髓塗抹標本を作製した。これらの塗抹標本を用い、1 動物当り 1000 個の骨髓細胞中のジョリー小体、赤血球の核片、赤芽球の小核、白血球芽球の小核および倍数体細胞数を調べた。陽性対照として、ゴマ油に懸濁したシクロホスファミドを、陰性対照としてゴマ油を投与した。投与容量はいずれも 10 mL/kg とし、各群雌雄各 3 匹の塗抹標本を調べた。

用量設定根拠；

試験結果： 結果を下表に示す。

薬物	投与量 (mg/kg)	核異常細胞発現率 (%)					総核異常
		ジョリー 小体	赤血球 の核片	赤芽球 の小核	白血球芽球 の小核	倍数体 細胞	
陰性対照 (ゴマ油)	0	0.12	0	0.03	0.02	0	0.07
ジフェノコナゾール	250	0.25	0	0.03	0	0	0.28
	500	0.08	0	0	0	0.02	0.10
	1000	0.12	0	0	0	0	0.12
陽性対照 (シクロホスファミド)	128	6.93	1.07	1.10	0.43	0.05	9.58*

表中の数値は雌雄各 3 匹の平均値

統計解析法：カイ二乗検定 (*p<0.05)

本試験条件下では、核異常細胞発現率に関し、検体投与群と陰性対照群との間に統計学的に有意差は認められなかった。なお、陽性対照群では核異常細胞発現率は上昇し、統計学的に有意差が認められた。

以上の結果から、本剤はチャイニーズ・ハムスターの体細胞に核異常を誘発しないと判断された。

9) マウスの骨髄細胞を用いた小核試験

(資料 No.T-31)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体純度： %

試験動物： Tif:MAGf (SPF) マウス、体重 雄 23～36g 雌 25～40g、1 群雌雄各 8 匹

試験方法： 検体を落花生油に懸濁し、1600 mg/kg の用量で雌雄各 8 匹に単回強制経口投与し、投与 16、24 および 48 時間後に屠殺した（試験 1）。また、400、800 および 1600 mg/kg の用量で雌雄各 8 匹に投与し、24 時間後に屠殺した（試験 2）。いずれも、大腿骨骨髄細胞を採取し塗抹標本を作製した。小核試験の評価には 1 群雌雄各 5 匹を用いた。各動物 1000 個の多染性赤血球について小核の発現頻度を検査し、多染性赤血球と正染色性赤血球の比を算出した。陽性対照としてシクロホスファミドを用いた。

用量設定根拠；

結 果： 骨髄標本の観察結果を次表に示した。

試験 1

投与後 時間 (時間)	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	p/n 比 ^{c)}	MNPCE (%) ^{d)}	PCE/(PCE+NCE) ^{e)}
16	溶媒対照 ^{a)}	—	雄	1.1	0.8	0.532
			雌	1.0	0.2	0.495
	ジフェノコナゾール	1600	雄	1.0	0.2	0.508
			雌	1.0	0.8	0.492
24	溶媒対照 ^{a)}	—	雄	1.0	0.4	0.498
			雌	0.9	0.4	0.464
	ジフェノコナゾール	1600	雄	0.9	0.0	0.473
			雌	0.9	0.4	0.469
	陽性対照 ^{b)}	64	雄	1.1	11.4*	0.516
			雌	0.9	15.4*	0.477
48	溶媒対照 ^{a)}	—	雄	1.0	0.4	0.492
			雌	0.8	0.0	0.429
	ジフェノコナゾール	1600	雄	0.9	0.2	0.460
			雌	0.8	0.2	0.431

a) : 落花生油

b) : シクロホスファミド

c) : p ; 多染性赤血球、n ; 正染性赤血球

d) : 多染性赤血球 1000 個中、小核を有する多染性赤血球数。

e) : PCE ; 多染性赤血球、NCE ; 正染性赤血球

* : カイ二乗検定、p<0.05

試験 2

投与後 時間 (時間)	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	p/n 比 ^{c)}	MNPCE (%) ^{d)}	PCE/(PCE+NCE) ^{e)}
24	溶媒対照 ^{a)}	—	雄	0.9	0.2	0.485
			雌	0.7	0.0	0.395
	ジフェノコナゾール	400	雄	0.9	0.2	0.472
			雌	0.7	0.0	0.398
		800	雄	0.8	0.0	0.434
			雌	0.7	0.2	0.417
	1600	雄	0.9	0.2	0.482	
		雌	0.8	0.2	0.457	
	陽性対照 ^{b)}	64	雄	0.9	7.8*	0.477
			雌	0.8	14.4*	0.457

a) : 落花生油

b) : シクロホスファミド

c) : p ; 多染性赤血球、n ; 正染性赤血球

d) : 多染性赤血球 1000 個中、小核を有する多染性赤血球数。

e) : PCE ; 多染性赤血球、NCE ; 正染性赤血球

* : カイ二乗検定、p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

試験 1 および試験 2 ではともに死亡例はみられなかった。

試験 1 (1600 mg/kg 用量群) では、16、24 および 48 時間のいずれの採取時間においても、小核を有する多染性赤血球数の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

試験 2 (400、800 および 1600 mg/kg 用量群) では、試験 1 において、いずれの採取時間にも小核数に統計学的有意差がみられなかったため、投与後 24 時間に屠殺した。いずれの用量群においても、小核を有する多染性赤血球数の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

陽性対照群であるシクロホスファミドでは、試験 1 および試験 2 ともに小核を有する多染性赤血球数の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において、検体は骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性はないと判断される。

10) ラットの肝細胞を用いた *in vitro* における不定期 DNA 合成試験 (資料 No.T-32)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1985 年

検体純度: %

試験方法: SD 雄ラット (Tif:RAIf) (体重 335 g) から分離した肝細胞を用いてオートラジオグラフ法により試験を実施した。

一夜培養した細胞に検体の DMSO 溶液および ³H-チミジンを添加し、さらに 5 時間培養した。I 群 3 枚のスライドから合計 150 個の細胞を調べ、DNA 損傷による不定期 DNA 合成 (³H-チミジンの取り込み) の誘導を核当りの銀細粒子数で評価した。核当りの平均銀細粒子数が陰性対照の 2 倍以上ある場合に陽性と判定した。陽性対照として、ジメチルニトソアサミン (DMN) 100 mM を用いた。

用量設定根拠:

試験結果: 結果を次表に示した。

薬物	試験濃度 (µg/mL)	平均銀細粒子数/核
陰性対照 (培地)	0	1.81
ジフェノコナゾール	0.25	3.26
	1.25	3.31
	6.25	2.07
	31.25	0.79
陰性対照 (DMSO)	0	3.25
陽性対照 (DMN)	100mM	18.8

検体処理群では最高濃度においても、陰性対照群と比べ核当り平均銀細粒子数の増加は認められなかった。

陽性対照の DMN では平均銀細粒子数の顕著な増加が認められた。

以上の結果より、本剤はラットの肝細胞に DNA 損傷を誘発しないと判断された。

11) ラットの肝細胞を用いた *in vitro* における不定期 DNA 合成試験 (資料 No.T-51)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1992 年

検体純度 : %

試験方法 : SD 雄ラット (Tif:RAIf) (体重 172~230g) から分離した肝細胞を用いてオートラジオグラフィ法により試験を実施した。

コラゲナーゼ灌流により分離した肝細胞をカバーガラスに接着させ、4~5 時間培養した後に検体の DMSO 溶液および ^3H -チミジンを添加し、16~18 時間培養した。1 群 3 枚のスライドから合計 150 個の細胞を調べ、DNA 損傷による不定期 DNA 合成 (^3H -チミジンの取り込み) の誘導を核当りの銀細粒子数で評価した。

以下のいずれかの条件を満たした場合に、陽性と判定した :

- ① 溶媒対照に対して検体のいずれかの用量において、核当りの平均銀細粒子数および正味の平均銀粒子数に統計学的に有意な増加がみられ、かつ正味の平均銀粒子数が 2.0 以上である。
- ② 溶媒対照に対して検体のいずれかの用量において、DNA 損傷細胞の割合 (%) が、核に銀粒子を有する細胞の割合 (%) および核に正味の銀粒子を有する細胞の割合 (%) とともに、統計学的に有意に増加した場合。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次表に示した。

1 回目の試験では、12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度で DNA 損傷細胞の割合 (%) が核に銀粒子を有する細胞の割合 (%) および核に正味の銀粒子を有する細胞の割合 (%) とともに有意に増加した。

2 回目の試験では、4.17 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度で核当りの平均銀粒子数および正味の平均銀粒子数に有意な増加がみられたが、正味の平均銀粒子数は 1.08 であり、判定基準の 2.0 未満であった。12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度では、核当りの平均銀粒子数のみに有意な増加がみられた。

1 回目および 2 回目にみられた統計学的有意差は、いずれも溶媒対照の値が比較的小さいことと、各群の値のバラツキが少ないことから生じたものであり、より高濃度では変化がないことから、生物学的意義のないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

陽性対照の 2-アセチルアミノフルオレン (2-AAF) では、平均銀細粒子数の顕著な増加が認められた。

以上の結果より、本剤はラットの肝細胞に DNA 損傷を誘発しないと判断された。

<1 回目の試験結果>

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	平均銀粒子数			DNA損傷細胞率(%)	
		核当り	細胞質当り	正味の核当り	核に銀粒子を有する細胞の割合	核に正味の銀粒子を有する細胞の割合
溶媒対照 (DMSO)	0	2.05 \pm 1.15	1.36 \pm 0.76	0.69 \pm 1.27	0.0933	0.0667
検体	0.46	2.45 \pm 1.35	1.76 \pm 0.89	0.69 \pm 1.58	0.2400	0.1133
	1.39	2.49 \pm 1.27	1.42 \pm 0.86	1.07 \pm 1.45	0.2267	0.1667
	4.17	2.62 \pm 1.44	1.68 \pm 1.02	0.94 \pm 1.67	0.2467	0.1467
	12.5	2.76 \pm 1.41	1.55 \pm 0.86	1.21 \pm 1.73	0.2800**	0.2267**
	25 ¹⁾	2.44 \pm 1.32	1.43 \pm 0.98	1.01 \pm 1.49	0.1867	0.1400
	50 ²⁾	1.96 \pm 1.02	1.12 \pm 0.80	0.84 \pm 1.35	0.0133	0.0467
陽性対照 (2-AAF)	45 μM	11.47 \pm 3.36	2.30 \pm 1.49	9.17 \pm 3.36		
背景データ ³⁾		1.54~3.45		-0.27~0.52		

統計解析法：Dunnett の t 検定 (**p<0.01、陽性対照は解析せず)

1)：軽度の細胞毒性が認められた。

2)：強い細胞毒性により、評価した細胞数は 3 枚合計で 45 個。

3)：1990 年 1 月~1991 年 12 月に実施した 13 試験の溶媒対照群 (1 回目) の値の範囲。

<2 回目の試験結果>

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	平均銀粒子数			DNA損傷細胞率(%)	
		核当り	細胞質当り	正味の核当り	核に銀粒子を有する細胞の割合	核に正味の銀粒子を有する細胞の割合
溶媒対照 (DMSO)	0	1.92 \pm 1.27	1.52 \pm 0.86	0.40 \pm 1.48	0.0333	0.0600
検体	0.46	2.71 \pm 1.64	1.79 \pm 1.00	0.92 \pm 1.68	0.1067	0.1333
	1.39	2.53 \pm 1.43	1.90 \pm 0.92	0.63 \pm 1.65	0.1000	0.0933
	4.17	2.91 \pm 1.55**	1.83 \pm 0.94	1.08 \pm 1.75**	0.1733	0.1733
	12.5	2.49 \pm 1.32	1.33 \pm 0.81	1.17 \pm 1.47**	0.0467	0.1200
	25 ^{1)#}	2.23 \pm 1.18	1.58 \pm 0.89	0.65 \pm 1.32	0.0400	0.0533
	50 ^{2)#}	1.95 \pm 1.20	1.25 \pm 1.00	0.70 \pm 0.81	0.0000	0.0067
陽性対照 (2-AAF)	45 μM	12.49 \pm 3.69	3.24 \pm 1.94	9.26 \pm 4.08		
背景データ ³⁾		1.55~2.74		-0.36~0.61		

統計解析法：Dunnett の t 検定 (**p<0.01、陽性対照は解析せず)

#：培地に析出が認められた。

1)：軽度の細胞毒性が認められた。

2)：強い細胞毒性により、評価した細胞数は 3 枚合計で 21 個。

3)：1990 年 1 月~1991 年 12 月に実施した 13 試験の溶媒対照群 (2 回目) の値の範囲。

12) ヒト線維芽細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験

(資料 No. T-33)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1985 年

検体純度： %

試験方法： ヒト線維芽細胞 (CRL 1121 ; The American Type Culture Collection) を用い、オートラジオグラフ法により試験を実施した。

一夜培養した細胞に検体の DMSO 溶液および ³H-チミジンを添加し、さらに 5 時間培養した。1 群 4 枚のスライドから合計 200 個の細胞を調べ、DNA 損傷による不定期 DNA 合成 (³H-チミジンの取り込み) の誘導を核当りの銀細粒子数で評価した。

核当りの平均銀細粒子数が陰性対照の 2 倍以上あり、用量相関性がある場合を陽性と判定した。陽性対照として、4-ニトロキノリン-N-オキシド (4NQO) 5 μM を用いた。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

薬物	濃度 (μg/mL)	平均銀細粒子数/核
陰性対照 (培地)	—	1.08
ジフェノコナゾール	0.08	1.38
	0.4	1.27
	2	1.09
	10	1.36
陰性対照 (DMSO)	—	0.83
陽性対照 (4NQO)	5μM	38.9

検体処理群では最高濃度においても、陰性対照群と比べ、核当り平均銀細粒子数の増加は認められなかった。

陽性対照の 4-NQO では、核当り平均銀細粒子数の顕著な増加が認められた。

以上の結果より、本剤はヒト線維芽細胞に DNA 損傷を誘発しないと判断された。

(14) 生体の機能に及ぼす影響

1) 一般薬理試験

(資料No.T-34)

試験機関：

報告書作成年：1991年

検体の純度： %

1) マウスおよびラットの中樞神経系に対する作用

試験動物： ICR雌雄マウス (Slc:ICR)、5~7週齢、1群8~12匹

Wistar雄ラット (Slc:Wistar/KY)、7週齢、1群8匹

投与方法： 検体を0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁し、いずれの実験でも20mL/kgの液量で経口投与した。

試験方法：

一般状態； 先に実施した急性経口毒性試験 (資料No.T-02) で、雌雄マウスに0、400、600、890、1340および2000 mg/kgを投与し、急性経口LD₅₀値および一般状態を調べた。

運動協調性および筋弛緩性； 雄マウスに0、100、300および1000 mg/kgを投与し、30、60、120、180、240および300分後にロータ・ロッド法 (14回転/分の直径3 cmの回転棒上から1分以内に落下する動物数を調べる) および斜板法 (30度に傾斜したすりガラス板上から10秒以内に落下する動物数を調べる) に基づいて観察を行った。陽性対照群にはジアゼパム10 mg/kgを投与した。

ヘキソバルビタール睡眠に及ぼす影響； 検体を雄マウスに0、0.3、1、3および10 mg/kgの用量で投与した。60分後にヘキソバルビタール75 mg/kgを腹腔内投与し、正向反射の消失から回復までの時間を調べた。陽性対照群にはクロルプロマ

ジン 10 mg/kgを経口投与した。

また、検体を雄マウスに0、1および10 mg/kgの用量で投与した。1、6および24時間ごとにヘキソバルビタール75 mg/kgを腹腔内投与して正向反射の消失から回復までの時間を測定した。

正常体温に及ぼす影響； 検体を雄ラットに0、100、300および1000 mg/kgの用量で投与し、30、60、120、180、240および300分後に直腸体温を測定した。陽性対照群にはアミノピリン100 mg/kgを経口投与した。

結 果：

試験項目	投与量 (mg/kg)	結 果
一般状態	400	20分後から自発運動の低下が全例にみられ、その後歩行異常に移行し、雄は24時間内に、雌は2日以内に回復した。
	600	400 mg/kg群と同様の症状に加え、4時間以後、鎮静、腹臥、横臥が散見されたが、雄1例が3日目に死亡した以外は4日以内に回復した。
	890	600 mg/kg群と同様の症状に加え、雄1例に消瘦がみられたが、数例が3～5日後に死亡した以外は5日以内に回復した
	1340	600 mg/kg群と同様の症状が多数みられ、雄は4日以内、雌では12日以内に回復した。数例が3～4日後に死亡した。
	2000	1340 mg/kg群と同様に各症状が多数例みられ、雄7例、雌9例が2～4日後に死亡した。生存例の回復は7日後であり、その後も雄では尾部のよごれおよび欠損がみられた。
ロータ・ロッド法\$	100	落下例なし。
	300	落下例なし。
	1000	60分後から落下例の有意な増加。
斜板法\$	100	落下例なし。
	300	落下例なし。
	1000	60分後から落下例の有意な増加。
ヘキソバルビタール睡眠#	0.3	影響なし。
	1	対照群と比較して1.5倍の有意な延長。
	3	対照群と比較して1.4倍の延長傾向。
	10	対照群と比較して2.3倍の有意な延長。
	[1時間後]*	
	1	睡眠時間の延長
	10	睡眠時間の延長
	[6時間後]*	
	1	睡眠時間の延長
	10	睡眠時間の延長
[24時間後]*		
1	影響なし	
10	睡眠時間の短縮	
正常体温#	100	影響なし。
	300	影響なし。
	1000	120分後から体温の有意な下降。

*：検体投与からヘキソバルビタール腹腔内投与までの時間

各陽性対照群では投与後直ちに明らかな影響が認められた。

#：分散分析後、分散が等しい場合はStudentのt検定、等しくない場合はWelchの検定を実施。

\$：Fisherの直接確率検定を実施。

2) イヌの呼吸・循環器系に対する作用

試験動物： 雄ビーグル犬、体重7～10kg、1群3匹

投与方法： 検体をコーンオイルに懸濁し、20mL/kgの液量で腹腔内投与した。

試験方法： 0、1000 mg/kgを投与し、ペントバルビタール麻酔下で投与180分後まで呼吸、血圧、心拍数、心電図および血流量を測定した。

結 果：

試験項目	投与量 (mg/kg)	結果
呼吸	1000	15～120分後に呼吸数および呼吸振幅の減少経過。
血圧		60～120分後に下降傾向。
心拍数		30分後より減少傾向。120分後には投与前値と比較し、31%の有意な減少。
心電図		影響なし。
血流量		30分後より減少傾向。120分後には投与前値と比較し、50%の有意な減少。

Studentのt検定かWelchの検定を実施した。

その他に、チアノーゼが認められ、3例中2例が各々125分および140分後に死亡した。

3) モルモットおよびラットの自律神経系に対する作用

試験動物： Hartley系雄モルモット、7週齢、1群4匹

Wistar雌ラット (Slc:Wistar/KY)、9~10週齢、1群5匹

適用方法： 検体をTween 80を用いて乳化し、標本を懸垂したマグナス槽内に添加した。

試験方法： モルモットから回腸を、ラットから子宮を摘出し、栄養液を満たしたマグナス槽内に懸垂した。検体を適用最終濃度で $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/mLとなる様に添加し、各々の臓器に対する直接作用を検討した。

また、検体の $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-4}$ g/mLの適用5分後に、回腸では $3 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-4}$ MのAchおよびヒスタミン (His) を、子宮では 1×10^{-3} U/mLのオキシトシンを作用させ、各々のアゴニストの作用に対する影響を調べた。

結 果：

試験項目		結果
回腸	直接作用	$1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/mLで作用なし
	Ach の収縮作用への影響	1×10^{-5} g/mLでAch 3×10^{-5} Mの収縮作用を約15 %抑制し、 1×10^{-4} g/mLではAchの 1×10^{-5} M以上の濃度における作用を69~77 %抑制。
	His の収縮作用への影響	1×10^{-5} および 1×10^{-4} g/mLでHisの 1×10^{-6} M以上の収縮作用を各々23~35 %および72~95 %抑制。
子宮	直接作用	$1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/mLで作用なし
	オキシトシンの収縮作用への影響	1×10^{-3} U/mLのオキシトシンの収縮 1×10^{-5} および 1×10^{-4} g/mLで各々16および70 %抑制した。

Studentのt検定かWelchの検定を実施した。

4) マウスの消化器系に対する作用

試験動物： ICR雄マウス (Slc:ICR) (6~7週齢)、1群12匹

投与方法： 検体を0.5 %CMC水溶液に懸濁し、経口投与した。

試験方法： 0、100、300および1000 mg/kgを投与し、60分後に10 %アラビアゴム液に懸濁させた5 %炭素末懸濁液を1匹あたり0.2 mL経口投与した。炭素末投与の20分後に動物を屠殺し、小腸全長に対する炭素末の移動率を調べた。また、陽性対照群にはアトロピン 100 mg/kgを投与した。

結 果： いずれの投与群においても腸管輸送能に影響は認められなかった。
一方、陽性対照群では対照群に比して66 %の有意な抑制が認められた。

5) ラットの血液凝固系に対する作用

試験動物： Wistar雄ラット (Slc:Wistar/KY) (7週齢)、1群9~10匹

投与方法： 検体を0.5 %CMC水溶液に懸濁し、経口投与した。

試験方法： 0、100、300および1000 mg/kgを投与し、60分後に採血を行い、その血漿を用いてプロトロンビン時間、活性部分トロンボプラスチン時間およびフィブリノーゲン量を策定した。

結 果： いずれの投与群においても血液凝固能に変化はみられなかった。

6) 「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験名 (動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果	
中枢神経系	一般状態** (マウス)	経口 (CMC水溶液)	0, 400, 600, 890, 1340, 2000	♂ 10 ♀ 10	— (100*)	400 (300*)	低用量で自発運動の低下および歩行異常、高用量でさらに腹臥、横臥、鎮静、削瘦。死亡数は、600 mg/kg 投与群♂で1/10、890 mg/kg 投与群♂で2/10、♀で4/10、1340 mg/kg 投与群♂で5/10、♀で8/10、2000 mg/kg 投与群♂で7/10、♀で9/10であった。
	運動協調性・筋弛緩性ロータ・ロッド法斜板法 (マウス)	経口 (CMC水溶液)	0, 100, 300, 1000	♂ 12	300	1000	高用量でのみ、ほぼ全例が回転棒あるいは斜板から落下。
	ヘキソバルビタール睡眠 (マウス)	経口 (CMC水溶液)	0, 0.3, 1, 3, 10	♂ 8 ~10	0.3	1	10 mg/kgで明らかに有意な延長。24時間後に影響は消失。
	体温 (ラット)	経口 (CMC水溶液)	0, 100, 300, 1000	♂ 8	300	1000	高用量で明らかな下降。
呼吸・循環器系麻酔下 (イヌ)	腹腔内 (コーンオイル)	0, 1000	♂ 3	— (10*)	1000 (100*)	呼吸数、呼吸振幅、血流量および心拍数の減少、血圧下降。2/3が死亡。	
自律神経系	摘出回腸 (モルモット)	<i>In vitro</i> (Tween 80)	1×10 ⁻⁷ , 1×10 ⁻⁶ , 1×10 ⁻⁵ , 1×10 ⁻⁴ , 1×10 ⁻³ , (g/mL)	♂ 4	1×10 ⁻⁶ g/mL	1×10 ⁻⁵ g/mL	直接作用なし。高濃度でAchおよびHisの収縮作用を抑制。
	摘出子宮 (ラット)	<i>In vitro</i> (Tween 80)	1×10 ⁻⁷ , 1×10 ⁻⁶ , 1×10 ⁻⁵ , 1×10 ⁻⁴ , 1×10 ⁻³ , (g/mL)	♀ 5	1×10 ⁻⁶ g/mL	1×10 ⁻⁵ g/mL	直接作用なし。高濃度でオキシトシンの収縮作用を抑制。
消化器系 (マウス)	経口 (CMC水溶液)	0, 100, 300, 1000	♂ 12	1000	>1000	腸管輸送能への影響なし。	
血液凝固系 (ラット)	経口 (CMC水溶液)	0, 100, 300, 1000	♂ 9 ~10	1000	>1000	血液凝固系へ影響なし。	

* : 予備試験の結果からの引用。

** : 資料No.T-02からの引用

本剤の一般薬理試験の結果、中枢抑制に起因すると考えられるヘキソバルビタール睡眠の延長、体温下降および呼吸抑制が認められた。また、自発運動の低下あるいは歩行異常等の一般状態および回転棒または斜板からの落下がみられ、検体の影響と考えられ、その他、呼吸循環器系の抑制および平滑筋へのアゴニストの作用が認められた。ヘキソバルビタール睡眠において、24時間後に検体投与による影響が消失した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(15) その他の試験

- 1) イヌを用いた飼料混入投与による白内障確認試験

(資料No. T-35)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(資料 No.T-36)

2) 若齢ニワトリを用いた 56 日間飼料混入投与による白内障誘発性確認試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

3) 肝における酵素誘導試験

(資料 No.T-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シンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

4) マウス 28 日間経口 (混餌) 投与免疫毒性試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

2. 原体混在物及び代謝物を用いた試験成績

(1) 原体組成物

化合物名	分子式	分子量

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(2) 代謝物

化合物名	分子式	分子量

2. 原体混在物および代謝物

(1) マウスにおける急性経口毒性試験 (資料No.T-38)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1992年

検体純度：

供試動物：ICRマウス (Slc:ICR)、6週齢、体重24.4～30.4 g、1群雌5匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を0.5 %CMC-Na水溶液に懸濁し経口投与した。投与前に約3時間絶食した。

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

結 果：

投与方法	経口
性 別	雌
投与量 (mg/kg)	670、804、965、1157、 1389、1667
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95 %信頼限界)	985 (756～1283)
死亡開始時間および終了時間	投与後2日から開始 投与後5日に終了
症状発現時間および消失時間	投与後1時間から発現 投与後7日消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	670

中毒症状として、接触に対する反射亢進、よろめき歩行、自発運動量亢進、自発運動低下、横転、側臥位、腹臥位、間代性痙攣、体温低下、流涎、流涙、鼻分泌物、眼瞼下垂及び立毛がみられた。

剖検所見では、死亡動物で胃の膨満、胃の赤褐色あるいは黒褐色内容物、腺胃の黒色斑及び小腸の黒褐色内容物が認められ、生存動物では腎のう胞及び褪色が認められた。

(2)

マウスにおける急性経口毒性試験 (資料No.T-39)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1991年

検体純度:

供試動物: ICRマウス (Slc:ICR)、6週齢、体重23.8~29.6 g、1群雌5匹

観察期間: 14日間

投与方法: 検体を0.5 %CMC-Na水溶液に懸濁し経口投与した。投与前に約3時間絶食した。

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

結 果:

投与方法	経口
性 別	雌
投与量 (mg/kg)	804、965、1157、1389、 1667、2000、2400
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95 %信頼限界)	1660 (1288~2140)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後2日から開始 投与後6日に終了
症状発現時間 及び消失時間	投与後1時間から発現 投与後5日消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	804

中毒症状として、よろめき歩行、自発運動亢進、自発運動低下、旋回運動、横転、側臥位、腹臥位、間代性痙攣、体温低下、流涎、流涙、鼻分泌物、眼瞼下垂がみられた。

剖検所見として、死亡動物で胃の膨満、胃の赤褐色あるいは黒色内容物、前胃に赤色点、腺胃の赤色点、黒色点あるいは赤色斑、小腸の黒褐色、黒緑色あるいは赤色内容物、盲腸に赤褐色内容物、大腸に黒緑色内容物が認められた。

生存動物では異常所見はみられなかった。

(3)原体混在物 () のラットを用いた急性経口毒性試験 (資料No.T-40)

試験機関 :

報告書作成年 : 1988 年

検体の純度 :

試験動物 : SD ラット(Tif: RAI f)、2000mg/kg 用量 ; 雌雄各 5 匹、500mg/kg 用量 ; 雌 5 匹
開始時 7~8 週齢、体重範囲 ; 170~214g

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 検体をピーナツ油に懸濁し、10mL/kg の液量で 1 回強制経口投与した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察し、投与前ならびに投与後 7 および 14 日に体重を測定した。途中死亡動物およ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。

結果 : 結果を下表に示す。

投 与 方 法	経 口	
	雄	雌
投与量(mg/kg)	2000	500、2000
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>2000	>500、<2000
死亡開始時間および終了時間	投与後 2 日に開始 投与後 2 日に終了	投与後 1 日に開始 投与後 1 日に終了
症状発現時期および消失時期	投与後 1 時間に発現 投与後 9 日に消失	投与後 1 時間に発現 投与後 11 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	なし	なし
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	なし	500

中毒症状として、2000mg/kg 投与群の雌雄で粗毛、呼吸困難、うずくまり、横臥、腹臥、活動性低下が認められ、雄のみで眼球突出がみられた。500mg/kg 投与群の雌で粗毛、呼吸困難、うずくまり及び眼球突出が認められた。体重変化では、生存例で観察終了時に投与前値と比較して増加がみられた。肉眼的病理所見では、2000mg/kg 投与群の雄 1 例で胸腺及び肝臓の斑 (変色斑)、並びに胸腔内の液体貯留がみられた。

(4) マウスにおける急性経口毒性試験 (資料No.T-41)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体純度：

供試動物： ICR マウス (Slc:ICR)、6 週齢、体重 雄 31.0～33.7 g 雌 24.9～36.7 g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法： 検体を 0.5 %CMC-Na 水溶液に懸濁し経口投与した。投与前、約 3 時間絶食した。

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

結 果：

投与方法	経口
性 別	雌雄
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄 死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	雌雄 中毒症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

雌雄とも一般状態、体重の推移及び剖検所見に異常は認められず、死亡例も認められなかった。

(5) マウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No.T-42)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体純度：

供試動物： ICR マウス (Slc:ICR)、6 週齢、体重 30.8～37.2 g、1 群雄 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法： 検体を 0.5 %CMC-Na 水溶液に懸濁し経口投与した。投与前、約 3 時間絶食した。

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

結 果：

投与方法	経 口
性 別	雄
投与量 (mg/kg)	0、1000、1300、1600、 2000、2500
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95 %信頼限界)	2309 (1911～4118)
死亡開始時間および終了時間	投与後1日から開始 投与後4日に終了
症状発現時間および消失時間	投与後20分から発現 投与後6日消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1600

中毒症状としては、自発運動の低下、よろめき歩行、腹這い歩行、腹臥、横臥が認められた。体重推移において、投与3日後に体重増加抑制が認められたが、10日後には回復した。

剖検では、死亡例に腺胃の出血がみられ、生存例には前胃の肥胃が認められた。

(6) 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No.T-43)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S-9 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定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、1用量当たりプレート2枚を使用した。

用量設定根拠：

判定方法；復帰突然変異コロニー数が溶媒対照の2倍以上に増加し、かつ、再現性あるいは用量依存性が認められた場合に陽性と判定した。

試験結果： 結果を表2に示す

検体は、S-9 Mixの有無にかかわらず菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート) においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた2(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、1-ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (ENNG)、9-aminoacridine (ACR) および2-aminoanthracene (2-AA) では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化系を含む本試験条件下で復帰変異性を有さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

表2. 本試験の結果

薬物	濃度 (μg /プレート)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数 (コロニー数/プレート)					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 uvrA	TA100	TA1535	TA 98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)		-	18	157	14	15	9	
検体			156	20	152	13	20	9
			313	18+	179+	11+	18+	8+
			625	14+	137+	12+	22+	4+
			1250	15+	120+	10+	13+	8+
			2000	12+	113+	11+	16+	5+
			5000	14+	118+	9+	16+	8+
陽性 対照	AF-2		0.01	295	608			
			0.1				437	
	ENNG		5			366		
	ACR		80					391
溶媒対照 (DMSO)			+	22	126	11	25	12
検体				156	14	107	13	26
		313		31+	93+	10+	26+	10+
		625		22+	103+	12+	20+	15+
		1250		18+	91+	11+	23+	14+
		2000		22+	88+	8+	20+	8+
		5000		18+	84+	12+	24+	6*+
陽性 対照	2-AA	0.5					333	
		1			427			
		2				175		99
		10		635				

*生育阻害がみられた。

+検体の析出がみられた。

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

ENNG : 1-ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine

ACR : 9-aminoacridine

2AA : 2-aminoanthracene

(7) の細菌を用いる復帰突然変異性試験 (資料 No.T-44)
試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年 : 1991年

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S-9 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定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

用量設定根拠 :

判定方法 ; 復帰突然変異コロニー数が溶媒対照の2倍以上に増加し、かつ、再現性あるいは用量依存性が認められた場合に陽性と判定した。

試験結果 : 成績を次表に示す。

検体は、S-9 Mixの有無にかかわらず菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (3600 µg/プレート) においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照群として用いた 2(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、1-ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (ENNG)、9-aminoacridine (ACR) および 2-aminoanthracene (2-AA) では、それぞれの検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を認めた。

以上の結果より、

は、代謝活性化系を含む本試験条件下で、復

帰変異性を有さないものと判断された。

薬 物	濃度 (μg /プレート)	S-9Mixの 有無	復帰変異コロニー数 (コロニー数/プレート)					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 uvrA	TA100	TA1535	TA 98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)		-	17	144	11	21	8	
検 体			2.5	152	12	23	7	
			5.0	12	152	9	20	8
			10.0	16	127	12	25	8
			20.0	21	123	12	21	7
			40.0	13	104*	13	12	4
			80.0	19	84*	8*	17*	8*
			160.0	19*				
陽性 対照	AF-2		0.01	109	500			
			0.01			462		
	ENNG		5			242		
	ACR		80				610	
溶媒対照 (DMSO)			+	18	107	13	31	16
検 体				2.5			27	
		5.0			116	14	31	
		10.0		20	115	15	30	13
		20.0		15	105	17	31	11
		40.0		15	113	9	25*	9
		80.0		16	96*	15	32*	14
		160.0		19	64*	8*		10*
360.0	17*					7*		
陽性 対照	2AA	1			380			
		2				148		
	AF-2	0.5				284		
		10		502				
	ACR	2					89	

*生育阻害がみられた。

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

ENNG : 1-ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine

ACR : 9-aminoacridine

2AA : 2-aminoanthracene

(8) の細菌を用いる復帰突然変異性試験 (資料 T-45)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S-9 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定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

用量設定根拠：

判定方法； 復帰突然変異コロニー数が溶媒対照の2倍以上に増加し、かつ、再現性あるいは用量依存性が認められた場合に陽性と判定した。

試験結果： 結果を次表に示す

検体は、S-9 Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート) においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた2(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、1-ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (ENNG)、9-aminoacridine (ACR) および2-aminoanthracene (2-AA) では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化系を含む本試験条件下で復帰変異性を有さないものと判断される。

薬物	濃度 (μ g/プレート)	S-9Mixの有無	復帰変異コロニー数 (コロニー数/プレート)					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 uvrA	TA 100	TA1535	TA 98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)			17	141	17	21	9	
検体	31.3	-		147			6	
	62.5		16	123	9	16	5	
	125		16	126	6	14	7	
	250		17	147	11	14	8	
	500		17	111*	11	15	5	
	1,000		13	91*	7*	12*	5*	
	2,000		22*		2*	7*		
陽性対照	AF-2		0.01	113	741			
			0.1				463	
	ENNG		5			295	0.1	
	ACR		80					518
溶媒対照 (DMSO)				17	134	17	28	9
検体	31.3		+		135	14	24	11
	62.5			21	126	15	25	14
	125	22		113	12	25	11	
	250	19		124	9	25	8	
	500	22		100*	9*	16	9*	
	1,000	16		89*	9*	29*	6*	
	2,000	14*#						
陽性対照	2AA	0.5					237	
		1			563			
		2				180		86
		10		473		180		

* : 生育阻害がみられた。

: 検体の析出がみられた。

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

ENNG : 1-ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine

ACR : 9-aminoacridine

2AA : 2-aminoanthracene

3. 製剤毒性

3-1. 10%水和剤

(1) 急性経口毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No.F-01)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990年

検 体: 10%水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体; 10%
鉱物質微粉・界面活性剤等; 90%

供試動物: Wistar ラット (Slc:Wistar /KY)、7週齢、体重: 雄 157~162g 雌 128~134g
1群雌雄各 10匹

観察期間: 14日間

投与方法: 検体を精製水に懸濁し、経口投与した。投与前に約 17時間絶食した。

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

結 果:

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 > 5000
死亡開始時間および終了時間	雌雄 死亡例なし
症状発現時間および消失時間	雌雄 投与後 10分から発現 投与後 2日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

死亡例は認められなかった。

中毒症状として、5000 mg/kg投与群雌雄で、流涎、自発運動の低下、失調性歩行、腹臥あるいは横臥が認められた。

部検所見では、異常は認められなかった。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No.F-02)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1990年

検 体: 10%水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体; 10%
鉱物質微粉・界面活性剤等; 90%

供試動物: ICR マウス (Slc:ICR)、6週齢、体重: 雄 26.7~31.0 g 雌 21.1~25.4 g、
1群雌雄各10匹

投与期間: 14日間

投与方法: 検体を精製水に懸濁し、経口投与した。投与前に約17時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の
全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果:

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄 0、3000、3600、4200、5000、6000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >6000 雌 5635 (5093~7128)
死亡開始時間および終了時間	雄 死亡例なし 雌 投与後2日から発現 投与後5日に消失
症状発現時間および消失時間	雄 投与後20分から発現 投与後3日に消失 雌 投与後20分から発現 投与後5日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 6000 雌 3600

中毒症状として、雌雄ともに自発運動の低下、失調性歩行、腹臥および横臥が認められた。

剖検所見では雌の死亡例に肺のうっ血、前胃と腺胃の出血が認められた。雌の生存例では前胃の軽度な肥厚が認められた。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.F-03)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検 体: 10%水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体; 10%
鉱物質微粉・界面活性剤等; 90%

供試動物: Wistar ラット (Slc:Wistar /KY)、7~10 週齢、
体重: 雄 213~230 g 雌 205~221 g、1 群雌雄各 10 匹

投与期間: 14 日間

投与方法: 検体を精製水で湿らせたリント布 (4×5cm) に塗布し、剃毛した背部皮膚に 24 時間貼付した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 > 2000
死亡開始時間および終了時間	雌雄 死亡例なし
症状発現時期および消失時期	雌雄 中毒症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

死亡例は認められなかった。中毒症状も認められなかった。
部検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

(2) 皮膚およ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 No.F-04)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検 体: 10%水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体; 10%
鉱物質微粉・界面活性剤等; 90%

供試動物: 日本白色種ウサギ、約 12~13 週齢、体重: 2.17~2.37 kg、1 群雄 6 匹

観察期間: 3 日間

投与方法: 検体 0.5g を蒸留水で湿らせ、剃毛した動物の背中 of 皮膚に適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は精製水を用いて拭き取った。

観察項目: 検体除去後 1、24、48 および 72 時間目に適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無などを観察し、農水省ガイドライン(59 農蚕第 4200 号)に従って採点した。

結 果: 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高 評点	暴露後時間 (時間)			
			1	24	48	72
11	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
12	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
13	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
14	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
15	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
16	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

観察期間中、いずれの動物においても、検体によると思われる刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、ジフェノコナゾール 10%水和剤は、ウサギの皮膚に対して刺激性がないと判断される。

2) ウサギにおける眼刺激性試験

(資料 No.F-05)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1990年

検 体: 10%水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体; 10%
鉍物質微粉・界面活性剤等; 90%

供試動物: 日本白色種ウサギ、約12~13週齢、体重2.20~2.50kg、非洗眼群雄6匹 洗眼群雄3匹

観察期間: 8日間

投与方法: 検体0.1gを右眼に適用し、3匹は2分後に洗浄した。6匹については洗眼しなかった。

観察項目: 適用後1、24、48、72時間目に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドライン(59農蚕第4200号)にしたがって採点した。

結果: 観察された刺激性変化の評点は次頁の表のとおりである。

非洗眼群; 検体適用後24時間目に、角膜混濁、虹彩の充血、結膜発赤および結膜浮腫が認められた。これらの刺激性変化は漸次回復に向かい、検体適用後8日目には全て消失した。動物番号5および6では、それぞれ適用72時間後および7日後に刺激性変化が回復したため、それ以上の観察は行わなかった。

洗眼群; 観察期間中、いずれの動物においても、検体によると思われる刺激性変化は認められなかったため、観察は72時間で終了した。

以上の結果から、ジフェノコナゾール10%水和剤はウサギの眼に対して軽度の刺激性があると判断され、洗眼の効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

項目		最高 評点	適用後時間										
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4日	5日	6日	7日	8日		
非洗眼群	動物 番号 1	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	1	0	
		虹彩	2	0	1	1	1	1	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	2	2	2	2	1	1	1	0
			浮腫	4	0	2	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	1	0	
		虹彩	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	2	2	2	1	1	1	1	0
			浮腫	4	0	2	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 3	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	1	0	
		虹彩	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	2	2	2	2	2	1	1	0
			浮腫	4	0	2	1	1	1	1	0	0	0
	動物 番号 4	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	1	0	
		虹彩	2	0	0	0	1	1	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	1	1	1	2	1	1	0	0
			浮腫	4	0	2	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 5	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	1	1	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 6	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	0	0	
		虹彩	2	0	1	1	1	1	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	2	1	1	1	1	1	0	0
			浮腫	4	0	2	1	0	0	0	0	0	0
合計	角膜	24	0	5	5	5	5	5	5	4	0		
	虹彩	12	0	4	2	3	3	0	0	0	0		
	結膜	発赤	18	0	10	9	8	8	6	5	3	0	
		浮腫	24	0	11	6	1	1	1	0	0	0	
平均	角膜	4	0.0	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.0		
	虹彩	2	0.0	0.7	0.3	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0		
	結膜	発赤	3	0.0	1.7	1.5	1.3	1.3	1.0	0.8	0.5	0.0	
		浮腫	4	0.0	1.8	1.0	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	
洗眼群 (3匹の 平均)	角膜	4	0.0	0.0	0.0	0.0							
	虹彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0							
	結膜	発赤	3	0.0	0.0	0.0	0.0						
		浮腫	4	0.0	0.0	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シンジェンタジャパン株式会社にある。

2) ウサギにおける眼刺激性試験

(資料 No.F-06)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検 体：10%水和剤（800 倍希釈液）

[組成] ジフェノコナゾール原体； 10%
鋳物質微粉・界面活性剤等； 90%

供試動物：日本白色種ウサギ、11 週齢、体重 2.3～2.5 kg、1 群雄 6 匹、

観察期間：72 時間

投与方法：検体 0.1 mL を右眼に適用した。適用後洗眼はしなかった。

観察・検査項目：検体適用後 1、24、48、72 時間目に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法にしたがって採点した。また、適用 24、48、72 時間後にフルオレスセイン染色法で角膜の変化を観察した。

結 果：観察された刺激性変化の評点は次頁の表のとおりである。
角膜、虹彩および結膜の刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、ジフェノコナゾール 10%水和剤の 800 倍希釈液はウサギの眼に対して刺激性がないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

観察項目				最高 評点	適用後時間（時間）				
					1	24	48	72	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			範囲	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	
	動物 番号 2	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			範囲	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	
	動物 番号 3	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			範囲	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	
	動物 番号 4	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			範囲	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	
動物 番号 5	角膜	混濁	4	0	0	0	0		
		範囲	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		
動物 番号 6	角膜	混濁	4	0	0	0	0		
		範囲	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	角膜	混濁	24	0	0	0	0		
		範囲	24	0	0	0	0		
	虹彩			12	0	0	0	0	
	結膜	発赤	18	0	0	0	0		
		浮腫	24	0	0	0	0		
		分泌物	18	0	0	0	0		
平均	角膜	混濁	4	0	0	0	0		
		範囲	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		

(3) 皮膚感作性

1) モルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料 No.F-07)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検 体： 10%水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体； 10%
鋳物質微粉・界面活性剤等； 90%

供試動物： Hartley 系モルモット、7~8 週齢、体重 320~416 g
1 群雄 15 匹 陽性対照群 1 群雄 10 匹

観察期間： 48 時間

試験投与方法： Buehler 法

投与量設定根拠：

感作；左腹側部を剃毛し、検体の 25%精製水懸濁液 0.5 mL を塗布したリント布 (2×2cm) を 6 時間閉塞貼付した。7 および 14 日後にも同様の処理を行い、計 3 回感作した。
陽性対照として、2, 4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) を用いて同様に処理した。

惹起；最終感作の 2 週間後、剃毛した右腹側部に検体の 10%精製水懸濁液 0.5 mL を塗布したリント布 (2×2cm) を 6 時間閉塞貼付した。陽性対照群には DNCB の 1%白色ワセリン、0.5g を同様に処理した。

観察項目：貼付除去後 24 および 48 時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

結 果： 結果を次頁の表に示す。

検体適用群および刺激性対照群では、いずれの動物においても適用部位に紅斑、浮腫等の異常は認められず、陽性率は 0%であった。

陽性対照群では軽度から強度の紅斑が全例に認められ、陽性率は 100%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シンジェンタジャパン株式会社にある。

以上の結果、本試験条件下において、ジフェノコナゾール 10%水和剤はモルモットに対し皮膚感作性を有しないと判断する。

	群		供試 動物数	感作動物数										感作率 (%)
	感作	惹起		24 時間後の評点 ¹⁾				計	48 時間後の評点 ¹⁾				計	
				0	1	2	3		0	1	2	3		
陰性対照	—	10%検体	15	15	0	0	0	15	15	0	0	0	15	0
	精製水	10%検体	15	15	0	0	0	15	15	0	0	0	15	0
検 体	25%検体	10%検体	15	15	0	0	0	15	15	0	0	0	15	0
陰性対照	白色ワセリン	0.1% DNCB	10	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10	0
陽性対照	1% DNCB	0.1% DNCB	10	0	1	3	6	10	0	1	6	3	10	100

¹⁾ 0：肉眼的変化なし、1：軽度の散在性の紅斑、2：中等度のび漫性の紅斑、3：強度の紅斑と浮腫

3-2. 25%乳剤

(1) 急性経口毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.F-01)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990年

検 体：25%乳剤

[組成] ジフェノコナゾール原体； 25%
有機溶剤、界面活性剤等； 75%

供試動物：Wistar ラット (Slc:Wistar /KY)、6週齢、体重：雄 150～168g 雌 118～135g、
1群雌雄各10匹

投与期間：14日間

投与方法：検体を精製水に懸濁し、経口投与した。投与前に約17時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、1000、1400、2000、2800、4000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1931 (1657～2241) 雌 1561 (1371～1786)
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与後24時間から発現、投与後3日に終了 雌 投与後24時間から発現、投与後2日に終了
症状発現時期及び消失時期	雄 投与後10分から発現、投与後7日に消失 雌 投与後10分から発現、投与後5日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 1000

中毒症状として、雌雄とも流涎、自発運動の低下、失調性歩行、腹臥、横臥、下痢および被毛の汚れが認められた。

剖検では、死亡動物の雌雄で胸腺の点状出血、肺のうっ血、腺胃の点状出血、膀胱内に尿の貯留および血尿が認められ、前胃の出血、十二指腸あるいは小腸の出血、膀胱の出血も認められた。生存動物では、雄の1例に胃と横隔膜および肝臓と脾の癒着が認められた。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No.F-02)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検 体：25%乳剤

[組成] ジフェノコナゾール原体； 25%
有機溶剤、界面活性剤等； 75%

供試動物：ICR マウス (Slc:ICR)、7 週齢、体重：雄 27.8～32.5 g 雌 21.1～25.3 g、
1 群雌雄各 10 匹

投与期間：14 日間

投与方法：検体を精製水に懸濁し、経口投与した。投与前に約 17 時間絶食した。

・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、1100、1600、2200、3100、4300
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 2626 (2238～3105) 雌 1988 (1680～2341)
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与後 24 時間から発現、投与後 2 日に終了 雌 投与後 4 時間から発現、投与後 6 日に終了
症状発現時期及び消失時期	雄 投与後 10 分から発現、投与後 3 日に消失 雌 投与後 10 分から発現、投与後 6 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 1100

中毒として、雌雄とも自発運動の低下、失調性歩行、腹臥および横臥が認められた。剖検では、死亡動物で雌雄とも肺の斑状出血あるいはうっ血、前胃と腺胃の糜爛、腺胃と小腸の出血および膀胱内に尿の貯留と血尿が認められた。生存動物では、雌雄に前胃の軽度な肥厚が認められた。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.F-03)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検 体：25%乳剤

[組成] ジフェノコナゾール原体； 25%
有機溶剤、界面活性剤等； 75%

供試動物：Wistar ラット (Slc:Wistar /KY)、7~10 週齢、体重：雄 223~235 g 雌 205~225 g、
1 群雌雄各 10 匹

投与期間：14 日間

投与方法：検体を精製水で湿らせたリント布に塗布し、剃毛した背部皮膚に 24 時間貼付した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 >2000
死亡開始時間および終了時間	雌雄 死亡例なし
症状発現時期および消失時期	雌雄 中毒症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

死亡例は認められなかった。中毒症状も認められなかった。

部検所見では、組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

(2) 皮膚および眼に対する刺激性

1) ウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 No.F-04)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検 体：25%乳剤

[組成] ジフェノコナゾール原体； 25%
有機溶剤、界面活性剤等； 75%

供試動物：日本白色種ウサギ、約 12～13 週齢、体重 2.14～2.48 kg、1 群雄 6 匹

観察期間：9 日間

投与方法：検体 0.5mL をリント布に塗布して剃毛したウサギの背中の皮膚に適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は脱脂綿と精製水を用いて拭き取った。

観察項目：暴露終了後 1、24、48 および 72 時間目に適用部位の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無等を観察し、農水省ガイドライン（59 農蚕第 4200 号）に従って採点した。適用後 72 時間目においても、刺激性変化が消失しない動物については、刺激性変化が消失するまで観察を行った。

結 果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

暴露終了後 1 時間目から浮腫が認められ、24 時間目から全例に紅斑がみられた。紅斑は暴露終了後 5 日目に最高値を示し、その後痂皮が認められた。いずれの刺激性変化も 9 日目には全て消失した。

以上の結果から、ジフェノコナゾール 25%乳剤はウサギの皮膚に対して中等度の刺激性があるものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

動物 番号	観察項目	最高 評点	暴露後時間									
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4日	5日	6日	7日	8日	9日
11	紅斑・痂皮	4	0	1	2	2	2	4	4	4	1	0
	浮腫	4	0	2	2	2	1	0	0	0	0	0
12	紅斑・痂皮	4	0	1	1	1	2	1	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	紅斑・痂皮	4	0	2	2	3	3	4	4	4	4	0
	浮腫	4	1	2	2	2	1	0	0	0	0	0
14	紅斑・痂皮	4	0	2	2	3	3	4	4	1	0	0
	浮腫	4	1	2	2	2	1	0	0	0	0	0
15	紅斑・痂皮	4	0	1	1	2	2	4	4	1	0	0
	浮腫	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
16	紅斑・痂皮	4	0	2	2	2	3	4	4	1	1	0
	浮腫	4	1	2	2	3	3	3	2	1	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	9	10	13	15	21	21	12	6	0
	浮腫	24	4	9	9	10	6	3	2	1	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.0	1.5	1.7	2.2	2.5	3.5	3.5	2.0	1.0	0.0
	浮腫	4	0.7	1.5	1.5	1.7	1.0	0.5	0.3	0.2	0.0	0.0

2) ウサギにおける眼刺激性試験

(資料 No.F-05)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検 体：25%乳剤

[組成] ジフェノコナゾール原体； 25%
有機溶剤、界面活性剤等； 75%

供試動物：日本白色種ウサギ、12～13 週齢、体重 2.12～2.51 kg、非洗眼群雄 6 匹 洗眼群雄 3 匹

観察期間：21 日間

投与方法：検体 0.1 mL を右眼に適用し、3 匹は 2 分後に洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。

観察項目：適用後 1、24、48、72 時間に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドライン（59 農蚕第 4200 号）にしたがって採点した。適用後 72 時間目においても、刺激性変化が消失しない動物は、21 日目まで観察を行った。

結 果：観察した刺激性変化の採点を次頁の表に示す。

非洗眼群；適用後 1 時間目に、結膜の腫脹が全例で、虹彩の充血が 1 例で認められた。また 24 時間目に角膜混濁および結膜発赤が全例で認められた。これらの刺激性変化は 7 日目から回復に向かい、検体適用後 21 日目には全て消失した。

洗眼群；適用後 1 時間目から結膜の腫脹が全例で認められ、24 時間目から角膜混濁、結膜発赤および虹彩の充血が認められた。これらの刺激性変化は、6 日目から回復に向かい、検体適用後 15 日目には全て消失した。

以上の結果から、ジフェノコナゾール 25% 乳剤は、ウサギの眼に対して、中等度の刺激性があるものと判断され、洗眼効果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シンジェンタジャパン株式会社にある。

項目		最高 評点	適用後時間													
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日	13日	14日	15日	19日	20日	21日	
非洗 眼群	動物 番号 1	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	3	0	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0
			浮腫	4	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	3	0	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0
			浮腫	4	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 3	角膜	4	0	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	0
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	3	0	2	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
			浮腫	4	2	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	動物 番号 4	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	3	0	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0
			浮腫	4	2	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	動物 番号 5	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		虹彩	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	3	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 6	角膜	4	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	3	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	角膜	24	0	6	6	6	6	6	6	3	3	3	1	1	0	
	虹彩	12	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
	結 膜	発赤	18	0	10	9	6	6	6	5	1	0	0	0	0	
		浮腫	24	12	11	6	4	3	3	2	0	0	0	0	0	
平均	角膜	4	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	0.5	0.5	0.2	0.2	0.0	
	虹彩	2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	結 膜	発赤	3	0.0	1.7	1.5	1.0	1.0	1.0	0.8	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	
		浮腫	4	2.0	1.8	1.0	0.7	0.5	0.5	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
洗眼群 (平均)	角膜	4	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.7	0.3	0.3	0.0	0	0	0	
	虹彩	2	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	0.0	1.7	1.0	1.3	1.0	1.0	0.7	0.3	0.3	0	0	0	
		浮腫	4	2.3	2.3	1.3	0.7	0.3	0.3	0.0	0.0	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シンジェンタジャパン株式会社にある。

3) ウサギにおける眼刺激性試験

(資料 No.F-06)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992 年

検 体: 25%乳剤 (2000 倍希釈液 (使用時最高濃度))

[組成] ジフェノコナゾール原体; 25%
有機溶剤、界面活性剤等; 75%

供試動物: 日本白色種ウサギ、10 週齢、体重 2.0~2.3 kg、非洗眼群雄 6 匹 洗眼群雄 3 匹

観察期間: 72 時間

投与方法: 検体 0.1 mL を右眼に適用し、3 匹は 2 分後に洗眼し 6 匹については洗眼しなかった。

観察項目: 適用後 1、24、48、72 時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。

結 果: 観察した刺激性変化の評点を次頁の表に示す。

観察期間中、いずれの動物においても、刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、ジフェノコナゾール25%乳剤の2000倍希釈液は、ウサギの眼に対して刺激性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

観察項目				最高評点	適用後時間 (時間)				
					1	24	48	72	
非洗眼群	動物番号 1	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			範囲	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	
	動物番号 2	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			範囲	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	
	動物番号 3	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			範囲	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	
	動物番号 4	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			範囲	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		
動物番号 5	角膜	混濁	4	0	0	0	0		
		範囲	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		
動物番号 6	角膜	混濁	4	0	0	0	0		
		範囲	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	角膜	混濁	24	0	0	0	0		
		範囲	24	0	0	0	0		
	虹彩			12	0	0	0	0	
	結膜	発赤	18	0	0	0	0		
		浮腫	24	0	0	0	0		
		分泌物	18	0	0	0	0		
平均	角膜	混濁	4	0	0	0	0		
		範囲	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		
洗眼群 平均	角膜	混濁	4	0	0	0	0		
		範囲	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		

(3) 皮膚感作性

1) モルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料 No.F-07)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1990 年

検 体 : 25 %乳剤

[組成] ジフェノコナゾール原体 ; 25%
有機溶剤、界面活性剤等 ; 75%

供試動物 : Hartley 系モルモット、5~6 週齢、体重 310~380 g、1 群雄 15 匹
陽性対照群 1 群雄 10 匹

投与期間 : 48 時間

投与方法 : Buehler 法

投与量設定根拠 ;

感作 ; 左腹側部を剃毛し、検体の原液 (100%) 0.5 mL を塗布したリント布 (2×2cm) を 6 時間閉塞貼付した。7 および 14 日後にも同様の処理を行い、計 3 回感作した。
陽性対照として、2, 4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) の 1% 白色ワセリン混合液を用いて同様に処理した。

惹起 ; 最終感作の 2 週間後、剃毛した右腹側部に検体の 2 % 精製水希釈液 0.5 mL を塗布したリント布 (2×2cm) を 6 時間閉塞貼付した。陽性対照には DNCB の 0.1 % 白色ワセリン混合液 0.5 mL を同様に処理した。

観察項目 : 惹起のための閉塞貼付除去 24 および 48 時間後に、適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。また、毎週 2 回体重を測定した。

結 果 : 結果を次頁の表に示す。

検体適用群および刺激性対照群では、いずれの動物においても適用部位に紅斑、浮腫等の異常は認められなかった。陽性対照群では軽度から強度の紅斑が全例に認められた。

一般状態及び体重推移には異常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シンジェンタジャパン株式会社にある。

群	感作	惹起	供試 動物数	感作動物数										感作率 (%)
				24 時間後の評点 ¹⁾				計	48 時間後の評点 ¹⁾				計	
				0	1	2	3		0	1	2	3		
陰性対照	—	2%検体	15	15	0	0	0	15	15	0	0	0	15	0
	精製水	2%検体	15	15	0	0	0	15	15	0	0	0	15	0
検 体	100%検体	2%検体	15	15	0	0	0	15	15	0	0	0	15	0
陰性対照	白色ワセリン	0.1% DNCB	10	8	1	0	1	10	8	1	0	1	10	20
陽性対照	1% DNCB	0.1% DNCB	10	0	0	3	7	10	0	5	5	0	10	100

¹⁾ 0：肉眼的変化なし、1：軽度の散在性の紅斑、2：中等度のび漫性の紅斑、3：強度の紅斑と浮腫

以上の結果、本試験条件下でジフェノコナゾール 25%乳剤は、モルモットに対して皮膚感作性がないと判断される。

3-3. 10%顆粒水和剤

(1) 急性経口毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.F-01)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検 体： 10%顆粒水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体； 10%
鋳物質微粉・界面活性剤等； 90%

供試動物： SD ラット [Crj;CD(SD)IGS]、8 週齢、体重；雌 185～196 g、1 群雌 3 匹

観察期間： 14 日間

試験方法： 限界試験 (12 農産第 8147 号)

投与方法： 検体を蒸留水に懸濁させ、経口投与した。投与前に約 16 時間絶食した。

観察・検査項目： 中毒症状および生死を 14 日間観察した。1 回目に 2000mg/kg を投与した 3 匹で死亡が発現しなかったことから、2 回目にも 2000mg/kg を投与した。試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
性 別	雌
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時期および消失時期	症状発現なし
死亡例のみられなかった 最高用量 (mg/kg)	2000

死亡例は認められなかった。

中毒症状は認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.F-02)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検 体：10%顆粒水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体； 10%
鋳物質微粉・界面活性剤等； 90%

供試動物：SD ラット [Crj;CD(SD)IGS]、8 週齢、体重；雄 282～291 g、
雌 200～208 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を精製水で湿らせたリント布に塗布し、剃毛した背部皮膚に 24 時間貼付した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄> 2000
死亡開始時間および終了時間	雌雄 死亡例なし
症状発現時期および消失時期	雌雄 症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

死亡例は認められなかった。中毒症状も認められなかった。
部検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

(2) 皮膚および眼に対する刺激性

1) ウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 No.F-03)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2003 年

検 体 : 10%顆粒水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体 ; 10%
鋳物質微粉・界面活性剤等 ; 90%

供試動物 : 日本白色種ウサギ、18 週齢、体重 3.19~3.39 kg、雌 3 匹

観察期間 : 3 日間

投与方法 : 検体 0.5 g を蒸留水で湿らせ、剃毛した動物の背中 of 皮膚に適用し、半閉塞貼付した。
暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は清拭した。

観察項目 : 検体除去後 1、24、48 および 72 時間後に適用部位の刺激性変化 (紅斑痂皮および浮腫) の有無を観察し、Draize の基準に従って採点し、皮膚一次刺激性指数 (Primary Irritation Index; P.P.I.) を算出して評価した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高 採点	暴露後時間 (時間)			
			1	24	48	72
1101	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1102	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1103	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

観察期間中、いずれの動物においても、刺激性変化は認められなかった。P.P.I.は 0 であった。

以上の結果から、ジフェノコナゾール 10%顆粒水和剤は、ウサギの皮膚に対して刺激性がないと判断される。

2) ウサギにおける眼刺激性試験

(資料 No.F-04)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検 体：10%顆粒水和剤

[組成] ジフェノコナゾール原体； 10%
鉍物質微粉・界面活性剤等； 90%

供試動物：日本白色種ウサギ、15 週齢、体重 2.49～2.76 kg、非洗眼群雌 3 匹、洗眼群雌 3 匹

観察期間：5 日間

投与方法：検体 0.1 g を左眼に適用した。3 匹は 30 秒後に洗眼し、3 匹については洗眼しなかった。

観察項目：適用後 1、24、48 および 72 時間後に、その後は投与 5 日後まで毎日角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。投与 24 時間後には 2%フルオレセインナトリウム水溶液を用いて角膜の染色斑の有無を観察した。刺激性の評価は Kay and Calandra の方法に従って行った。

結 果：結果を次頁の表に示す。

非洗眼群では、適用 1 時間後以降、角膜混濁、虹彩の異常、結膜発赤、結膜浮腫および分泌物が認められたが 5 日後には全て消失した。適用 24 時間後に全例で角膜のフルオレセインナトリウムの染色斑が認められた。その他の変化として閉眼が適用直後から適用 6 時間後までは全例に、適用 24 時間後には 2/3 例に認められた。各観察時期における平均総合評点の最大値 (MMTS) は適用 24 時間後の 19.7 であるが、適用 96 時間後の平均総合評点 (MTS) が 2.3 であった。

洗眼群では適用 1 時間後以降、角膜混濁、結膜発赤、結膜浮腫および分泌物が認められたが、適用 72 時間後にはすべて消失した。適用 24 時間後に角膜混濁が認められた動物の 2/3 例に角膜のフルオレセインナトリウムの染色斑が認められた。その他の変化として閉眼が適用直後に 1/3 例に認められ、適用 3～24 時間後にも 1/3 例または 2/3 例に認められた。洗眼群における平均総合評点の最大値 (MMTS) は適用 24 時間後の 8.0 であった。

洗眼群と非洗眼群の眼刺激性変化を比較すると、非洗眼群では適用 1 および 24 時間後の平均総合評点 (MTS) の低下がみられていることから、洗眼効果が認められた。

以上の結果から、ジフェノコナゾール 10%顆粒水和剤はウサギの眼に対して中等度の刺激性があると判断され、洗眼効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

動物番号	項目		最高 評点	評点：適用後時間						
				1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	5日	
非洗眼群	動物 番号 1101	角膜 混濁	程度	4	1	1 ^{a)}	1	0	0	0
			範囲	4	2	1	1	0	0	0
		虹彩		2	0	1	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	0	0	0
			浮腫	4	2	1	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	0	0	0	0
		合計*		110	20	16	7	0	0	0
	動物 番号 1102	角膜 混濁	程度	4	1	1 ^{a)}	1	0	0	0
			範囲	4	1	1	1	0	0	0
		虹彩		2	0	1	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	0
			浮腫	4	2	1	0	0	0	0
			分泌物	3	1	1	1	0	0	0
		合計*		110	13	18	9	2	2	0
	動物 番号 1103	角膜 混濁	程度	4	1	1 ^{a)}	1	1	1	0
範囲			4	2	2	1	1	1	0	
虹彩		2	0	1	0	0	0	0		
結膜		発赤	3	1	2	1	0	0	0	
		浮腫	4	2	1	0	0	0	0	
		分泌物	3	2	2	0	0	0	0	
合計*		110	20	25	7	5	5	0		
合計	角膜 混濁	程度	24	3	3	3	3	1	1	
		範囲	24	5	5	4	3	1	1	
	虹彩		12	3	3	0	3	0	0	
	結膜	発赤	18	5	3	5	3	1	1	
		浮腫	24	6	6	3	0	0	0	
		分泌物	18	7	5	5	1	0	0	
	合計*		660	53	59	23	7	7	0	
平均	角膜 混濁	程度	4	1.0	1.0	1.0	1.0	0.3	0.3	
		範囲	4	1.7	1.7	1.3	1.0	0.3	0.3	
	虹彩		2	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	1.7	1.0	1.7	1.0	0.3	0.3	
		浮腫	4	2.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	
		分泌物	3	2.3	1.7	1.7	0.3	0.0	0.0	
	合計*		110	17.7	19.7	7.7	2.3	2.3	0.0	
洗眼群 平均	角膜 混濁	程度	4	0.0	0.7 ^{b)}	0.7	0.0	0.0	0.0	
		範囲	4	0.0	0.7	0.7	0.0	0.0	0.0	
	虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	1.0	1.0	0.7	0.0	0.0	0.0	
		浮腫	4	1.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	
		分泌物	3	1.7	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	合計*		110	7.3	8.0	4.7	0.0	0.0	0.0	

*合計 = [(混濁程度×混濁範囲) × 5] + (虹彩×5) + [(発赤+浮腫+分泌物) × 2]

a) : フルオレセインの染色斑を認めた。

b) : 洗眼群 2 匹でフルオレセインの染色斑がみられ、1 匹ではみられなかった。