

3-3 フィプロニルの好氣的畑条件土壤代謝

(資料M24)

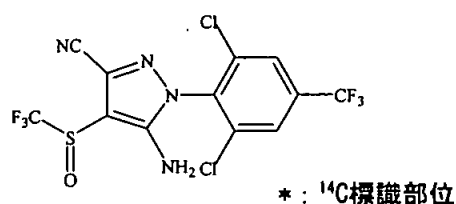
試験機関: ()

[GLP対応]

報告書作成年:

供試標識化合物: (以下¹⁴C-標識体と言う)

構造式:



化学名: (±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α, α, α -トリフルオロ-*p*-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名: フィプロニル

比放射能: $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ (kBq/mg)

放射化学的純度:

供試土壤: 英国Manningtree及びドイツSpeyerで採取した下記土壤を風乾することなく、使用前に2mmの篩を通して試験に供した。

採取場所	Manningtree(英国)	Speyer(ドイツ)
土性(USDA)	砂壤土	砂土
粒径組成%		
砂(>50 μm)	56	88
シルト(2-50 μm)	35	9
粘土(<2 μm)	9	3
pH (KCl)	7.1	5.9
(H ₂ O)	7.8	6.1
圃場容水量(33kPa)(%)	13.8	14.24
有機炭素(%)	1.0	1.9
有機物含量(%)	1.7	3.3
陽イオン置換容量(meq/100g)	6.4	3.3
微生物バイオマス($\mu\text{gC}/\text{g}$ 土壤)*	56.70 (52.86)	414.41 (153.71)
微生物数(コロニー形成単位/g)*	83,000 (6100,000)	63,000 (1,320,000)

*: ()内は試験終了時に測定した無処理区の値

方法:

処理: 乾土換算50gの土壌を各ガラス製結晶皿に分取し、 ^{14}C -標識体0.01mgを525 μl に溶解し、滴下処理した(乾土に対し0.2ppm相当、または20g a. i./10a相当量(実使用量))。また、この10倍量(^{14}C -標識体0.1mgを500 μl に溶解。これは分析しなかった)を滴下処理した。土壌を均一に混合後、水分含量を圃場容水量の約75%に調整した。その他、非標識体0.01mgを同様に別の容器に処理し、試験終了時の微生物バイオマス及び活性の測定に用いた。

インキュベーション: 処理試験容器は、土壌の種類および用量別にガラスチャンパーに入れ、25°Cの培養器(暗所)に静置し、インキュベーションを行った。試験期間中は毎週水分含量を測定し、必要に応じて水を添加し、水分含量が約75%になるように調整した。

試料採取: 処理0、1、3、7、14、30、41、80、149、252および365日後に2反復で採取した。

揮発性物質の捕集: 揮発性物質は および捕集液に順次通気して捕集した。捕集液は毎月あるいは処理0日後を除いた上記の試料採取時に採取し、新しい捕集液に交換した。

土壌の分析: 土壌は を用いソックスレー抽出し、抽出液を濃縮後、薄層クロマトグラフィー(TLC)、高遠液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。また、代謝物はガスクロマトグラフィー/質量分析(GC/MS)で確認した。

放射能の測定: 液体試料はシンチレーションカクテルを添加して直接、抽出残渣土壌は、風乾後燃焼して生成した $^{14}\text{C}\text{O}_2$ を捕集し、液体試料と同様にLSCで放射能を計測した。

結果:

物質収支: 土壌からの放射能の回収結果(処理放射能(AR)に対する割合%)を表1に示す。

各試料の放射能の回収は平均でARの94~103%と良好であり、ARのほとんど(80%以上)がで抽出された。土壌抽出残渣に含まれる放射能は処理後の日時の経過に伴い徐々に増加する傾向にあり、最終336日において砂壤土でARの約15%、砂土でARの約6%を占めた。揮発性物質は、にARの<2%、にARの<3%が回収された。

表1 土壌及び表面水からの放射能の回収結果-ARに対する割合% (2反復の平均)

経過 日数 (日)	Manningtree 砂壤土					Speyer 砂土				
	土壌		揮発性物質捕集液		合計	土壌		揮発性物質捕集液		合計
0	99.59	0.00	NA	NA	99.59	101.06	0.00	NA	NA	101.06
1	95.61	1.27	0.00	0.00	96.88	101.86	1.14	0.00	0.00	103.00
3	91.46	2.25	0.00	0.00	93.70	95.76	2.38	0.00	0.00	98.14
7	95.83	2.16	0.00	0.00	97.99	97.47	2.10	0.00	0.00	99.57
14	94.57	2.95	0.00	0.00	97.52	96.02	3.27	0.00	0.00	99.29
30	92.36	4.08	0.00	0.00	96.44	94.45	4.60	0.00	0.02	99.07
41	92.50	6.49	0.00	0.00	98.98	96.04	3.90	0.00	0.02	99.95
80	90.23	8.06	0.01	0.16	98.45	94.57	4.97	0.01	0.02	99.56
149	88.21	9.99	0.01	0.23	98.44	91.48	6.06	0.01	0.02	97.57
252	86.62	12.31	0.01	0.35	99.29	95.71	5.22	0.11	0.02	101.06
336	82.92	15.10	0.03	2.43	100.48	92.71	6.01	1.18	1.47	101.37

イソゾール捕集液には放射能は捕集されなかった。 NA:分析せず。

代謝物の分析：土壌の抽出液のHPLC分析結果を表2に示す。HPLCによる分析結果とTLCによる分析結果がほぼ同じであったので、HPLCによる分析結果のみを示す。

親化合物(A)は両土壌とも処理後の日時の経過と共に徐々に分解し、処理336日後に砂壤土でARの16%、砂土でARの45%まで減衰した。主要な代謝分解物は(E)および(B)であり、日時の経過と共に増加し、(E)は処理336日後に砂壤土でARの約35%、砂土でARの約26%に達した。同様に(B)は砂壤土でARの約22%、砂土でARの約14%に達した。その他に両土壌から少量の(C)が検出された(ARの<5%)。さらに微量の(F)が両土壌から(ARの<0.5%)、(D)が砂土から(ARの<1%)検出された。各代謝物の存在はGC/MSでも確認された。また、6個の未知代謝分解物が確認されたが、個々の生成量は極めて少なかった。

半減期の推定：親化合物の半減期は、親化合物の総処理放射能に対する割合の対数を取り、それを時間に対して回帰分析することによって推定した。その結果、砂壤土に関してHPLC分析結果に基づく半減期は128日、TLC分析結果に基づく半減期は122日、砂土に関してHPLC分析結果に基づく半減期は308日、TLC分析結果に基づく半減期は342日であった。TLC分析では親化合物(A)及び代謝物Dの分離がよくなかったため、半減期はHPLC分析の結果を採用することとする。

表2-1 Manningtree砂壤土
(2反復の平均)

抽出液のHPLCによる析結果-ARに対する割合%

経過 日数 (日)	化合物名/代謝物略称						特徴付 代謝物	未同定 その他	合計
	A	B	C	D	E	F			
0	99.79						ND	-0.20	99.59
1	95.88						0.7	-1.31	95.61
3	88.66						ND	1.36	91.46
7	93.68						ND	-1.37	95.83
14	89.57						ND	-0.38	94.57
30	81.06						ND	-0.93	92.36
41	73.11						ND	0.73	92.50
80	55.07						0.83	2.55	90.23
149	31.24						1.77	2.92	88.21
252	25.39						4.86	1.44	86.62
336	16.19						3.89	0.43	82.92

ND: 検出限界以下

表2-2 Speyer 砂土
(2反復の平均)

抽出液のHPLCによる析結果-ARに対する割合%

経過 日数 (日)	化合物名/代謝物略称						未同定 代謝物	未同定 その他	合計
	A	B	C	D	E	F			
0	101.76								101.06
1	100.97								101.86
3	94.95								95.76
7	94.48								97.47
14	88.76								96.02
30	74.66								94.45
41	73.72								96.04
80	66.80								94.57
149	59.82								91.48
252	53.84								95.71
336	44.90								95.11

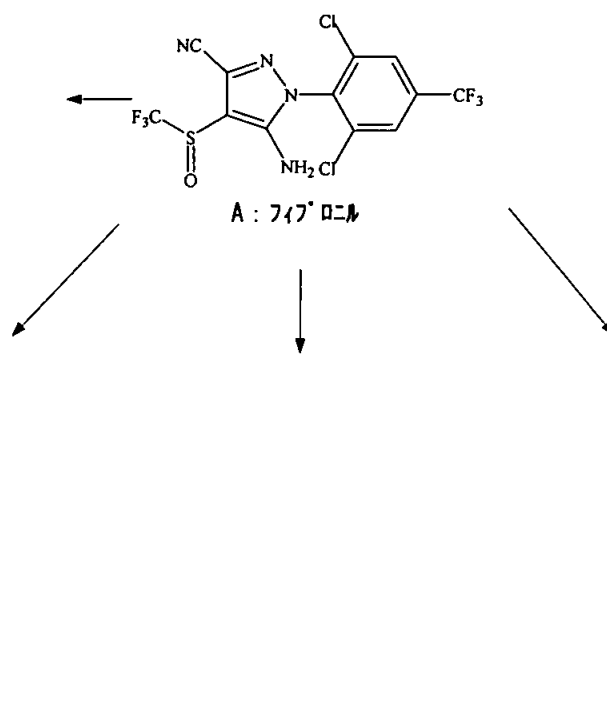
ND: 検出限界以下

以上の結果より、フィプロニル(A)は好氣的畑条件下で徐々に分解し、半減期は砂壤土で128日、砂土で308日であった。主な代謝物として (E)、(B)、(C)が徐々に増加した。微量代謝物として、(D)、(F)が同定された。その他に、微量の未知代謝物が6個検出されたが、個々の生成量は極めて少なかった。

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

Fipronil

推定代謝経路を下記に示す。



4. 水中運命に関する試験

4-1 フィプロニルの加水分解運命試験

(資料M25)

試験機関:

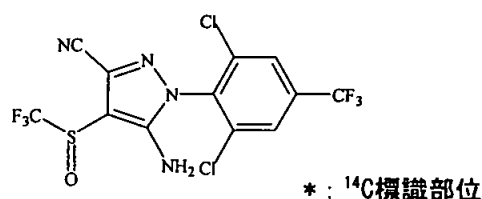
()

[GLP対応]

報告書作成年:

供試標識化合物: (以下¹⁴C-標識体と言う)

構造式:



化学名: (±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α , α , α -トリフルオロ-*p*-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名: フィプロニル

比放射能: M&Bq/mmol (mCi/mmol)

放射化学的純度:

水溶解度: 1.9mg/L

供試緩衝液: 各緩衝液は120°Cで20分間滅菌して用いた。

pH 5: クエン酸 20mmol/L緩衝液

pH 7: イミダゾール 20mmol/L緩衝液

pH 9: 四ホウ酸二ナトリウム 20mmol/L緩衝液

試験方法:

試験溶液: 緩衝液 99 mLに¹⁴C-標識体の 溶液1mL (90 μ g/ 1 mL) を添加して 0.9 μ g/mL (実測値0.89 μ g/mL) 溶液を調製した。試験は2反復で行った。

試験温度: 24.7~25.4°Cに設定した恒温暗室内で試験した。

試験期間: 30日間

採取時期: 処理0、5、9、14、20、26 および 30 日に採取した。処理30 日後の試料については揮発性化合物を捕集するために、試験容器をポンプに繋ぎ、開栓後15分間エチレングリコールモノメチルエーテル と 2 N 水酸化ナトリウム溶液の捕集液に通した。

分析方法:

分解物の抽出、精製: 試料を で 抽出し、有機相と水相に分画し、放射能を液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。有機相は乾固した後、

に再溶解して、薄層クロマトグラフィー (TLC) で標品と共に分析し、さらに高速液体クロマトグラフィー (HPLC) でpH5及び7の処理0及び30日後試料並びにpH9の試料について標品と共に分析し、TLCによる結果を検証した。また、分解物の確認のために pH 9 の30日後の試料については、有機相を乾固し、に再溶解後、¹⁹F-核磁気共鳴 (NMR) 分析を実施した。

半減期の算出；濃度（自然対数）と時間の回帰直線から得られた一次反応曲線より、速度定数 (k) を求めた。半減期 $t_{1/2}$ は式、 $t_{1/2} = \ln 2/k$ により算出した。

試験結果：

物質収支： 抽出による物質収支 (処理放射能に対する割合%) を次表に示した。

表1 物質収支-処理放射能に対する割合% (2反復の平均)

pH*	経過日数 (日)	有機相	水相	揮発性物質	合計
5.07	0	100.33	0.09	ND	100.42
	5	101.29	0.10	ND	101.39
	9	100.22	0.11	ND	100.33
	14	100.90	0.11	ND	101.01
	20	100.63	0.12	ND	100.75
	26	100.26	0.12	ND	100.38
	30	100.43	0.11	ND	100.54
7.09	0	100.69	0.10	ND	100.79
	5	99.74	0.13	ND	99.87
	9	99.95	0.15	ND	100.10
	14	100.13	0.17	ND	100.30
	20	100.35	0.16	ND	100.51
	26	99.77	0.20	ND	99.97
	30	100.25	0.18	ND	100.43
9.04	0	98.28	0.19	ND	98.47
	5	98.26	0.35	ND	98.61
	9	99.24	0.43	ND	99.67
	14	99.03	0.49	ND	99.52
	20	98.93	0.61	ND	99.54
	26	98.43	0.78	ND	99.21
	30	98.85	0.87	ND	99.72

*: 滅菌後の実測pHを示した。 ND : 検出限界以下

2反復の平均回収率は処理放射能の99~101%であった。水槽中の残存放射能は全て処理放射能の1%未満で、ほとんど全ての放射能が で抽出された。

揮発性物質捕集液から放射能は検出されなかった。

分解物の分析：有機相の TLC による分解物の経時的分析結果を表2に示す。

pH5では、処理30日後における親化合物の残存量が処理放射能の約 98% を占め、分解物は極微量検出されたのみであり、安定であることが確認された。

pH7でもpH5同様に安定であったが、微量の加水分解物 (E) が検出された。

pH9では、処理30日後に親化合物の残存量は処理放射能の約 48 % であり、(E) が親化合物の減衰に伴い、ほぼ定量的に生成した。

表2 有機相の TLC による分解物の経時変化 (処理放射能に対する割合%)

pH*	経過 日数 (日)	分解物名/分解物略称				合計
		有機相				
		A	E	未知 物質 ^a	その他 ^b	
5.07	0	98.82				100.33
	5	98.90				101.29
	9	99.28				100.22
	14	98.70				100.90
	20	98.40				100.63
	26	98.35				100.26
	30	98.72				100.43
7.09	0	98.87				100.69
	5	98.64				99.74
	9	98.98				99.95
	14	98.44				100.13
	20	98.56				100.35
	26	97.60				99.77
	30	98.50				100.25
9.04	0	99.07				98.28
	5	87.33				98.26
	9	79.30				99.24
	14	70.25				99.03
	20	61.60				98.93
	26	52.93				98.43
	30	47.54				98.85

*: 滅菌後の実測pHを示した。

空欄: 検出せず

a: 処理放射能の<1%の3~4種の未同定スポットの合計

b: 有機相の処理放射能に対する割合と分離した放射能との差

HPLC による分析結果(処理放射能に対する割合%) (表3)は TLC の結果と良く一致していた。

表3 有機相のHPLCによる分解物の経時的変化-処理放射能に対する割合%
(2反復の平均)

pH*	経過日数 (日)	有機相の分解物名/その略称		
		A	E	未知物質 ^a
9.04	0	99.37		
	5	86.14		
	9	78.01		
	14	70.74		
	20	60.30		
	26	52.12		
	30	47.30		

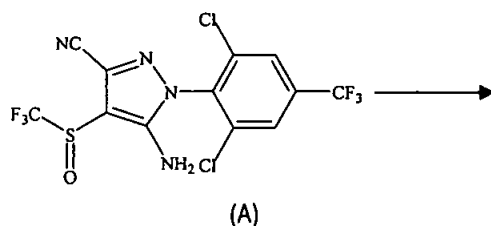
*: 滅菌後の実測pHを示した。 空欄: 検出せず

a: 処理放射能の<2%の1~2種の未同定ピークの合計

加水分解速度: 供試化合物はpH 5 および pH 7 では安定であった。pH9、濃度0.89 μg/mL、25°Cにおける推定半減期 (DT₅₀) は 約 28 日、みかけ上の加水分解一次速度定数はK = -0.0243/ 日であった。

以上より、pH5、7及び9でフィプロニルの加水分解について試験した結果、pH5及び7では安定で、pH9では半減期=28日で分解した。分解物として、ニトリル基がアミドに加水分解された分解物Eが生成し、経時的に増加した。

加水分解経路を下記に示す。



4-2 水中光分解

4-2-1 フィプロニルの緩衝液中における光分解

(資料M26)

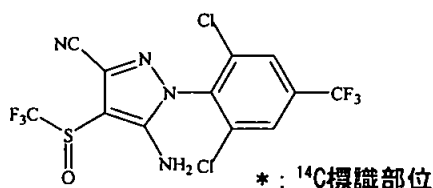
試験機関： ()

[GLP対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：(以下¹⁴C-標識体と言う)

構造式：



化学名：(±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α, α, α -トリフルオロ-*p*-トルイル)-4-トリフル
オロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名：フィプロニル

比放射能： M&Bq/mmol (mCi/mmol)

放射化学的純度：

水溶解度：1.9mg/L

供試水：加水分解しない条件であるpH5クエン酸緩衝液 (120°Cで20分間滅菌)

光源：キセノンアークランプ、<290nm UVカットフィルター使用

光強度：464 W/m² (295~775nm)

試験方法：

試験溶液：¹⁴C-標識体の 溶液を添加して0.9 μ g/mL溶液を調製した(の最終濃度：1%)。試験溶液は内径5.2cmの光化学反応容器に入れ、石英ガラスプレートで密閉した。試験は2反復で行った。また、揮発性物質はエチレングリコールモノメチルエーテル、2 N 水酸化ナトリウムトラップに捕集した。暗所対照区を設定したが、揮発性物質の捕集はしなかった。

試験温度：24.4~25.3°C

試験期間：照射区は照射0、1、2、4および6時間後に、暗所対照区は6時間後のみ採取した。また、同時に揮発性物質の捕集液の採取も行った。

分析方法：試験溶液を で浸透抽出した。抽出液は濃縮乾固し、に再溶解した後、薄層クロマトグラフィー(TLC) および高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で 標品と共に分析した。また、水相についても減圧濃縮し、HPLCで分析した。

代謝物の同定には ^{19}F -NMR または質量分析を行った。

半減期の算出：HPLC及びTLC分析による定量値(2反復の平均値)を用い、時間(t)に対して濃度($\ln C$)をプロットし、一次反応速度式を用いて、速度定数(k)を求めた。半減期は式、 $t_{1/2} = \ln 2/k$ により求めた。

試験結果：

各画分中における放射能の分布及びHPLC分析による代謝物分析結果を表1に示す。HPLC及びTLC分析の結果は同様であったため、HPLC分析の結果のみを示した。

表1 各画分中における放射能の分布-HPLCによる分析結果-処理放射能に対する割合% (2反復の平均)

処理後 経過時間	画分*											
	有機相				水相				捕集液		合計	
	合計	A	F	未知物質-1	未知物質-2	合計	G	未知物質-1	未知物質-2	EGME		NaOH
0	102.9	101.2				0.2						103.0
1(照射)	99.1	84.7				2.5						101.6
2(照射)	95.4	70.0				5.1						100.5
4(照射)	90.8	46.8				10.4						101.2
6(照射)	86.4	33.5				13.3						99.8
6(暗所)	101.3	100.0				0.2						101.4

A: EGME:エチルグリコール モノメチルエーテル F: 空欄は未分析 G: 未知物質-1: >1%のピークの合計 未知物質-2: ≤1%のピークの合計

*: 各相の合計及び捕集液はLSCによる放射能の測定結果、分解物はHPLCによる分析結果である。

物質収支：各分析時間における放射能の回収は良好で、処理放射能に対し100~103%の範囲にあった。いずれの試料からも揮発性物質の生成はきわめて少なかった。また、時間の経過に伴って水相画分の比率が増大した。

分解物：有機相をHPLC および TLC で分析した結果、親化合物 (A)および (F)が同定された。水相からは HPLC により (G)が同定された。その他に両相からそれぞれ数個の分解物が検出されたが、いずれも同定できなかった。

親化合物(A)は照射後、速やかに分解されて、F及びGを生成した。これらの分解物は経時的に漸増した。暗所対照区では分解しなかった。

推定半減期：推定半減期を表2に示した。

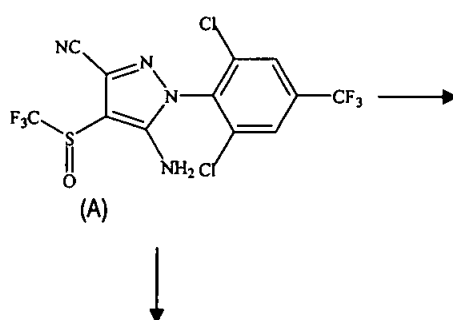
キセノンランプ照射による半減期は3.63時間であった。また、東京春季太陽光におけるDT₅₀は、17.7時間と算出された。

表2 推定半減期

	キセノンランプ照射時間			70 ^o Fの夏における推定値
	TLC	HPLC	平均	日数
DT ₅₀	3.48 hr	3.78 hr	3.63 hr	0.33日
K	-0.199/時間	-0.187/時間	-0.193/時間	0.076 /日

以上より、フィプロニルの光分解は水系環境における分解の主要分解経路と考えられた。半減期はキセノンランプ照射で3.6時間であった。

推定代謝経路は以下のとおりである。



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

Fipronil

4-2-2 ¹⁴C-標識検体の自然水中における光分解運命試験

(資料M27)

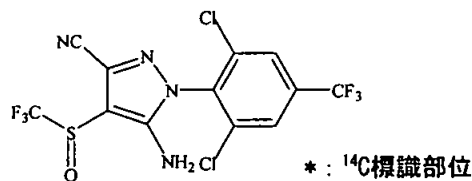
試験機関： ()

[GLP対応]

報告書作成年：

供試化合物：

[U-¹⁴C] の標識体： 5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ-4-トリフルオロメチルフェニル)-4-トリフルオロメタンスルフィニル-1H-ピラゾール-3-カルボニトリル



放射化学的純度：

比放射能： MBq/ mg

標識部位選定理由：標識部位は光分解に対して安定であるため。

供試水：Aldhams Farm, Manningtree, Essex, UKから採取。ろ過滅菌後使用。

pH8.0、総有機炭素含有量29.6mg/L、硝酸態窒素67.8mg/L、電気伝導度562.0μS/cm、溶存酸素量97%、蒸発残留物量3.796%、懸濁物質濃度<0.05mg/L、

光源：キセノン灯、照度約33.1W/m² (測定波長300~400nm)

UVフィルターで<290nmの波長をカット

試験方法：

試験溶液の調製：標識体の 溶液を自然水で希釈し、水溶解度の約1/2の0.95mg/L (濃度0.2%) とした。

処理方法：温度調節した水ジャケット付石英ガラス製蓋付き容器を試験溶液で満たした。CO₂除去湿潤/無菌空気を通気した。検体から発生するCO₂及びその他の揮発性成分は捕集液(エチレングリコール、2M KOH)を入れた3本の捕集瓶で捕集した。

光照射区は30時間連続照射し、温度を25±2°Cに維持した。

暗条件(非照射区)も設定して同様に行った。

試験溶液試料を照射開始0、1、3、7、9、15、18、21及び30時間後に採取し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定し、HPLCのピークの保持時間から標品との比較で特徴付け、LC/MSで同定した。

結果：

回収率：試験溶液の光照射区及び非照射区の投与放射能に対する回収率を表1及び2に示す。

平均回収率は照射区で100.83%、非照射区で102.42%であった。日数の経過とともに水層の放射能が増加し、極めて少量の揮発性物質(処理放射能の<0.1%)が捕集液から回収された。

表1. 照射試料中における放射能の分布と回収率%

照射後時間	有機層	水層	捕集液	計
0	103.71	0.45	n/a	104.16
1	98.67	3.27	0.00	101.94
3	93.34	9.48	0.00	102.83
7	85.41	14.77	0.00	100.18
9	83.74	19.29	0.00	103.03
15	73.46	26.06	0.00	99.52
18	67.04	30.95	0.00	97.99
21	67.14	32.01	0.01	99.16
30	61.08	37.52	0.04	98.63
平均回収率				100.83

有機層：抽出液

表2. 非照射試料中における放射能の分布と回収率%

照射後時間	有機層	水層	捕集液	計
0	n/a	n/a	n/a	n/a
1	101.99	0.66	0.00	102.65
3	103.19	0.76	0.00	103.95
7	105.02	0.74	0.00	105.76
9	100.03	0.75	0.00	100.77
15	100.42	0.75	0.00	101.17
18	101.14	0.61	0.00	101.75
21	99.13	0.72	0.00	99.85
30	102.70	0.75	0.00	103.45
平均回収率				102.42

有機層：抽出液

分解生成物：試験溶液中の分解生成物の処理放射能に対する割合を表3及び4に示す。

照射試料中の分解生成物(表3)

フィプロニルは速やかに減衰し、30時間照射後、処理放射能の2.42 %となった。

処理放射能の10 %を越える分解物は2個のみで、これらは標品との比較及びLC/MSでそれぞれ (F)及び (G)と同定した。 (F)は除々に増加し、照射21時間後に処理放射能の57.19 %に達した後減少に転じた。(G)は全試験期間中除々に増加し、照射30時間後に処理放射能の12.12 %に達した。

その他に既知分解物 (D)、 (B)及び (J)が検出された。

(D)は全試験期間を通して処理放射能の約2 %生成、(B)は照射15時間後まで除々に増加して処理放射能の3.13 %に達した後減少に転じ、(J)は照射7時間後まで除々に増加して処理放射能の2.08 %に達した後減少に転じ、照射18日後には検出されなかった。

その他に未知分解物7個が検出された。これらの内、最も量の多い未知分解物6は照射30時間後に8.57 %の最大に達した。これは、LC/MSから構造を想定した。その他の未知分解物の最大量は処理放射能の0.77~6.25 %の範囲にあり、多くの場合照射30時間後までにそれらの最大量に到達あるいはより早い時期に最大量に達し照射30時間後には減少に転じていた。

表3. 照射試料中(有機層+水層)における放射能の組成(処理放射能に対する%)

照射 後時 間	UN1	UN2	UN3	UN4	G	UN5	J	UN6 ^{a)}	D	UN7	F	A:717:014	B	計
0												102.80		103.71
1												86.54		101.94
3												61.86		102.83
7												38.69		100.18
9												26.45		103.03
15												16.59		99.52
18												7.80		97.99
21												5.92		99.15
30												2.42		98.59

a) UN6はLC/MSにより暫定的に下記構造式を有すると推定された。以下AMU310と記載する。

非照射実験(表4)

微量分解物4個が検出され、それらの最大量は (D)の0.96 %、 (E)の0.69 %、 (C)の0.56 %及び (B)の0.88 %であった。フィプロニル(A)は全試験期間を通じて試料中に存在する放射能のほとんどを占めており、暗所における自然水中の加水分解に対して安定であった。

表4. 非照射試料中(有機層における放射能の組成(処理放射能に対する%))

照射後時間	D	E	A フィプロニル	C	B	計
1			101.13			101.99
3			102.61			103.19
7			103.42			105.01
9			99.32			100.03
15			99.03			100.42
18			98.90			101.14
21			96.51			99.13
30			100.16			102.70

半減期(DT₅₀)及び90%消失期間(DT₉₀)

自然水中光分解におけるフィプロニルの減衰に関する動態は次表のとおりであった。

	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
照射試験系	0.21	0.68
日本*	0.89	2.89

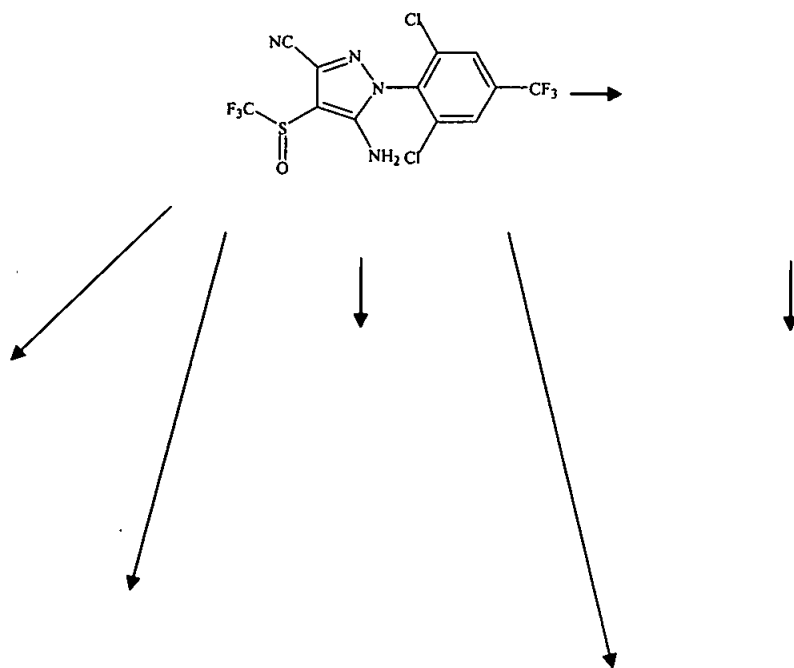
* 照射試験系の1日は東京の春季自然太陽光の4.26日に相当

フィプロニルは水溶液中で速やかに光化学分解し、主に (F)を生成する。
環境中においてフィプロニルが水系に達したとき、光に暴露されれば表層で分解する。

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

Fipronil

想定分解経路



5 土壌吸脱着性試験

5-1 フィプロニルの土壌吸脱着

(資料M29)

試験機関：

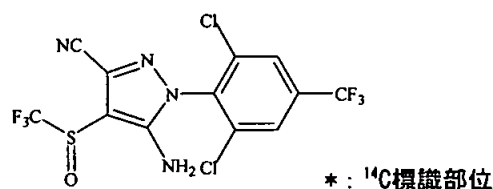
()

[GLP対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：(以下¹⁴C-標識体と言う)

構造式：



化学名：(±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ-α,α,α-トリフルオロ-p-トルイル)-4-トリフル
オロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名：フィプロニル

比放射能： GBq/mmol (mCi/mmol)

放射化学的純度： %

水溶解度：2mg/L

供試土壌：下記の土壌を試験に供試した。

土壌	I	II	III	IV	V
採取地	Speyer, ドイツ	Manningtree 英国	Manningtree 英国	フランス	フランス
OECD No.	5	5	2	3	6
土性(USDA)	壤質砂土	砂壤土	壤土	砂質埴壤土1	砂質埴壤土2
粘土	8	12	25	24	34
シルト	9	11	29	18	19
砂	83	77	46	58	47
有機物含量(%)	5.70	0.57	7.23	1.98	2.71
有機炭素含量(%)	3.35	0.34	4.25	1.16	1.59
陽イオン置換容量 (meq/100g)	10.76	7.15	36.51	12.57	20.41
pH	6.3	6.1	6.9	6.2	6.3
圃場容水量(0.3バール：%)	10.7	9.2	31.3	21.0	23.6
バイオマス(μg/g土壌)	471	58	1420	268	700

試験方法：

供試土壌の調整：各土壌は風乾し、2mmの篩を通して用いた。

試験溶液の調製： ^{14}C 標識体（溶液）を0.005M塩化カルシウムで希釈し、最終濃度0.01、0.05、0.20及び1.00 $\mu\text{g/mL}$ の試験溶液を調製した。

平衡化時間の決定：1.0 $\mu\text{g/mL}$ の試験溶液を用い、下記吸着試験と同様に操作し、3、18、24及び48時間振盪した。さらに、3、18及び24時間振盪試料を用い、下記脱着試験（脱着操作は1回のみ）と同様の操作をし、0.5、1.5及び3時間振盪した。振盪後に得た上清の放射能を測定した。試験容器はアルミホイルで覆い、試料には光が当たらないようにした。

吸着試験：30 mLの共栓付試験管に各土壌 2.5 g（乾土換算）に、試験溶液10mLを加え、約 20 °Cで 24 時間振盪した。遠心分離後、上清液の放射能をLSCで測定した。試験容器はアルミホイルで覆い、試料には光が当たらないようにした。

脱着試験：吸着試験に引き続き、0.005 M の塩化カルシウム溶液10 mLを加えて約 20 °Cで1時間振盪した後、吸着試験と同様に遠心分離した。この操作を計5回繰り返した。上清液の放射能は LSC で測定した。試験容器はアルミホイルで覆い、試料には光が当たらないようにした。

溶媒抽出：脱着終了後の土壌残渣に を加え、15分間遠心分離して抽出し、上清を採り、LSCで放射能を計測した。抽出後の土壌残渣は風乾後、酸化燃焼してLSCで放射能を測定した。

安定性試験：1.0 $\mu\text{g/mL}$ の試料を用い、吸着試験及び脱着試験（脱着操作は1回のみ）後の上清液を用い、薄層クロマトグラフィー（TLC）、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）および 吸着試験後の上清液はさらにGC-MSにより分解の有無を確認した。

結 果：

平衡化時間の決定：1mg/Lの試験溶液での吸着及び1回の脱着における各時間後の上清液中放射能を次表に示した。

土 壌	振盪時間 (h)						
	吸 着				脱 着		
	3	18	24	48	0.5	1.5	3
Speyer 壤質砂土	1231	1036	1044	920	636	671	680
Manningtree 砂壤土	2578	2297	2418	2256	1055	1076	1106
Manningtree 壤土	788	648	704	697	501	515	513
フランス砂質埴壤土 1	2027	1622	1740	1641	948	965.0	950
フランス砂質埴壤土 2	1456	1295	1399	1421	857	876	910

数値は2反復の平均値

この結果から吸着試験の振盪時間は24時間、脱着試験の振盪時間は1時間とした。

物質収支： 抽出液及び土壌残渣中の放射能を合計して得た総回収放射能(処理放射能に対する割合)は次表のとおりである。

供試土壌	添加濃度 ($\mu\text{g/mL}$)				総平均
	0.01	0.05	0.2	1.0	
I Speyer 壤質砂土	93.9	88.8	91.6	99.8	93.5
II Manningtree 砂壤土	92.4	90.4	91.4	93.2	91.9
III Manningtree 壤土	93.7	97.6	100.8	104.8	99.2
IV フランス砂質埴壤土 1	90.8	91.6	92.3	93.5	92.0
V フランス砂質埴壤土 2	91.9	94.9	92.9	96.9	94.1

数値は2反復の平均値

各土壌の各濃度における回収率は90%未満の場合もあったが、各土壌の平均回収率は90%以上で良好であった。

吸着係数：フロインドリッヒの吸着等温式より、各土壌におけるフィプロニルの吸着パラメーター (K_F , K_{Foc} および $1/n$) を算出し、次表に示した。

フィプロニルの土壌吸着定数 K_F は26.2~148.6であり、5土壌の平均は78であった。同様に K_{Foc} は2671~7818の範囲であり、平均値は 4637 であった。

供試土壌	$1/n$	K_F	有機炭素含量 (%)	K_{Foc}
I Speyer 壤質砂土	0.947	89.6	3.35	2671
II Manningtree 砂壤土	0.950	26.2	0.34	7818
III Manningtree 壤土	0.963	148.6	4.25	3493
IV フランス砂質埴壤土 1	0.969	58.1	1.16	4991
V フランス砂質埴壤土 2	0.949	67.2	1.59	4214

脱着係数：フロインドリッヒの吸着等温式より、各土壌における第1回~5回の脱着パラメーター (K_F , K_{Foc} および $1/n$) を算出し、次表に示した。

各土壌における第1回~5回脱着試験の平均土壌脱着定数 K_F 値の平均は 83.4~143.5であった。同様に各土壌における K_{Foc} 値の平均は 3375~27951であった。

供試土壌	脱着回数	1/n	K _F	有機炭素含量(%)	K _{Foc}
I Speyer 壤質砂土	1回目	0.905	83.5	3.35	2491
	2回目	0.931	104.5		3117
	3回目	0.918	129.6		3866
	4回目	0.913	130.8		3903
	5回目	0.925	142.9		4261
	平均	—	118.3		3528
II Manningtree 砂壤土	1回目	0.986	45.4	0.34	13538
	2回目	0.984	58.1		17335
	3回目	1.003	91.7		27360
	4回目	0.997	119.9		35766
	5回目	0.992	153.4		45758
	平均	—	93.7		27951
III Manningtree 壤土	1回目	0.933	153.6	4.25	3612
	2回目	0.876	122		2868
	3回目	0.895	142.9		3361
	4回目	0.898	150.8		3547
	5回目	0.895	148.3		3488
	平均	—	143.5		3375
IV フランス砂質埴壤土 1	1回目	0.96	63.3	1.16	5431
	2回目	0.938	64.7		5553
	3回目	0.95	81.5		6993
	4回目	0.947	87.7		7528
	5回目	0.952	121.4		10423
	平均	—	83.7		7186
V フランス砂質埴壤土 2	1回目	0.948	80.6	1.59	5059
	2回目	0.92	76.8		4816
	3回目	0.928	83.5		5238
	4回目	0.929	94.6		5936
	5回目	0.926	99.8		6261
	平均	—	87.1		5462
総平均			105.3		9500

安定性：吸着及び脱着試験（脱着操作1回）の上清液の主成分は親化合物であることがTLC及びHPLC分析により確認された。また、吸着試験の上清液に関しては、さらにMS分析により確認された。

以上より、フィプロニルの土壌移動性は、土壌の種類によって差はあるものの、移動性は非常に小さいことが示唆された。また、吸着と有機物含量の間に負の相関関係があることが示唆された。

5-2 土壌吸着試験

(資料M30)

試験機関：

報告書作成年：

検体：

供試土壌：以下の土壌を用いて試験を実施した。

項目	I	II	III	IV
土壌群名	細粒強グライ土	沖積固結強グライ土	洪積埴壤土	灰色低地土
採取場所	植調古川試験地	植調新潟試験地	植調牛久試験地	日植防宮崎
土性	Lic	Lic	Lic	SL
砂 %	14.0	24.4	39.8	73.2
シルト%	44.1	44.5	24.0	13.5
粘土%	41.9	31.1	36.2	13.3
有機炭素含有率%	3.18	1.65	2.83	1.56
pH H ₂ O	5.2	5.3	6.4	5.2
KCl	4.9	5.4	5.7	5.5
陽イオン交換容量	27.7	21.5	22.9	8.3
りん酸吸収係数	830	790	920	490
粘土鉱物の種類	カオリン鉱物 モンモリロナイト	カオリン鉱物 モンモリロナイト	クロライト ハロイサイト	カオリン鉱物 パーミキュライト
OECD No.	4	3	4	5

試験方法：

(1) 平衡化試験（吸着試験、平衡化時間の決定）

検体を0.01MのCaCl₂溶液に溶解して1.39ppm溶液を調製する。

あらかじめ遠沈管内に試験土壌（風乾細土）5gを秤り取り、純水5mLを加え、一夜放置する。上記試験溶液20mLを遠沈管内に加えて密栓後、恒温槽内（25±1℃）で4、6、8、16及び24時間振盪し、終了後、恒温槽より試料を取り出し、遠心分離を行う。上清液より適当量を分取し、

抽出後、ガスクロマトグラフィー（NPD）で定量する。

(2) 高次試験（吸着試験）

検体を0.01MのCaCl₂溶液に溶解して0.302、0.755、1.13および1.51ppm溶液を調製する。

以下平衡化試験と同様に実施分析した。

(3) 物質収支

1.51ppmの高次試験試料の土壌を で抽出し、抽出液を で分配後、フ

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

Fipronil

ロリジルカラムクロマトグラフィーで精製、ガスクロマトグラフィー(NPD)で土壌中の検体量を測定し、高次試験で測定した上清中の検体量と合計して物質収支を求めた。

試験結果

吸着定数：フロインドリッヒの吸着等温式により算出した吸着パラメーターを下記に示す。

吸着定数 K_F は9.55~40.2、有機炭素吸着係数 K_{Foc} は548~1720であった。

土壌	1/n	K_F	r	有機炭素含量(%)	K_{Foc}	回収率(%)
I	0.889	40.2	0.998	3.18	1260	106
II	0.903	28.3	0.998	1.65	1720	100
III	0.798	15.5	0.997	2.83	548	100
IV	0.800	9.55	0.994	1.56	612	92.6

物質収支：1.51ppm高次試料の物質収支を下記に示す。各土壌において回収率は92.6%以上と良好であった。

土壌	添加量(μg)	土壌吸着量(μg)	上清液中の量(μg)	回収率(%)
I	30.2	29.21	2.92	106
II	30.2	26.19	4.1	100
III	30.2	28.98	6.31	100
IV	30.2	18.88	9.10	92.6

値は2反復の平均値

6. 生物濃縮に関する試験

6-1 魚類濃縮性試験

(資料M31) (物化性資料14)

試験機関 :

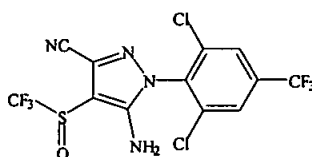
(魚の化学的分析)

[GLP対応]

報告書作成年 :

(魚の化学的分析)

被験物質 : ^{14}C -標識フィプロニル原体



* : ^{14}C 標識部位

比放射能 : $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射化学的純度 :

供試生物 : ブルーギルサンフィッシュ (学名) *Lepomis macrochirus*

試験区158匹、対照区147匹、体長 : 27~35 cm (平均31cm)、体重 : 0.509~1.331g (平均0.817g)

方法 : 暴露条件 : 流水式条件

試験期間 : 取込期間35日、排泄期間14日

試験濃度区 : 0.85 $\mu\text{g}/\text{L}$

試験濃度選定理由 : ブルーギルサンフィッシュに対する96時間 LC_{50} 値 (85 $\mu\text{g}/\text{L}$) の1/100とした。この濃度は水に溶解可能 (被験物質の溶解度3000 $\mu\text{g}/\text{L}$) であり、試験水の固相抽出後、十分検出可能であった。

試験液の調製 : 被験物質の原液は蠕動ポンプを用いて混合タンクに入れ、脱塩素化した水道水で100倍に希釈して、90L容ガラス製水槽に流速455L/水槽/日 (水槽容量の5倍量) で流入させた。流水系内の被験物質を平衡化させるために、魚を放飼3日前から水槽に試験水を流し、濃度を魚の放飼48時間及び24時間前に確認した。

環境条件 : 水槽は、 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ に設定した、光周期を16時間明、8時間暗に管理した実験室に設置した。試験に使用した水中の溶存酸素は飽和濃度の60%以上を維持するように管理した。

観察及び測定：

魚の生死及び症状：疾病、ストレス、刺激性及びその他の影響について毎日観察した。

水質の検査：pH、温度、電気伝導度、溶存酸素濃度について、毎日水槽ごとに測定した。全硬度、アルカリ度、非イオン性アンモニアについては毎週水槽ごとに測定した。

試験期間中の試験区の水質検査結果の範囲は次表のとおりであり、対照区と差はなかった。

	pH	温度(最高-最低)	電気伝導度	溶存酸素
取込期間	7.77~7.27	22.8~21.1°C	0.21~0.16ms	76~62%
排泄期間	7.84~7.38	22.7~20.9°C	0.19~0.24ms	63~85%
	全硬度 (mg CaCO ₃ /L)	アルカリ度 (mg CaCO ₃ /L)	非イオン性アンモニア (μg/L NH ₃)	
取込期間	60~68	46~58	ND~2.3	
排泄期間	74	58	1.5~1.6	

ND：検出限界(1μg/L NH₃)以下

試験水中の総放射能及び親化合物濃度：試験水は各水槽から毎日採取し、シンチラントを加えた後、LSCにより放射能を計測した。さらに、試験開始前の最後の2日、取込期間の0、7、14、21、28及び35日、排泄期間の3、7及び14日に追加の試料を採取し、これらは濾紙で濾過後LSCにより放射能を計測した。同時期にさらに追加の試料を採取し、濃縮のため下記の操作を施した後、逆相HPLCに供することにより親化合物の濃度を測定した。

試験水をC18 セットアップカートリッジに通し、(80：20v/v)で溶離、乾固し、HPLC移動相(50：50v/v)1mLに溶解して、結果として400倍に濃縮し、HPLC分析に供した。

魚体中の総放射能：取込期間の0(魚放飼前)、3、7、14、21、28及び35日、排泄期間の1、3、7、10及び14日の遅くとも給餌4時間後に、各試験区から魚を10匹ずつ無作為に採取し、殺した後、水を吸い取り、体重及び体長を測定した。各5匹は食用部と非食用部(脳、鱧、頭、全ての内臓)に分け、残りの各5匹は全魚体を分析に供した。試料は採取日に処理/細断し、均質化し、セルロース末を加えて混合し、燃焼し放射能を計測した。

濃縮係数(BCF)の算出：BCFは、魚体の各部位及び全魚体における各時点での総放射能を親化合物に換算した濃度ng当量/g湿重を、同時点での試験水中における総放射能を親化合物に換算した濃度ng当量/mLにて除して算出した。また、見かけの定常状態に達した期間のBCF平均値を定常状態における濃縮係数(BCF_{ss})として示した。

魚体内代謝物の分離同定：取込期間の7、14、21、28及び35日、並びに排泄期間の1、3、7、10及び14日の試料を用いて、抽出精製して代謝物の特性を検討した。

抽出精製法：均質化試料を で抽出し、 を添加した後、減圧濃縮し、残渣を (50:50 v/v)に再溶解した後、濃縮してTLCに供した。代謝物のプロフィールを比較し、同じプロフィールを示す試料を取込及び排泄期間ごとに部位別にプールし、GCあるいはGC/MS分析に供した。

結果：

(1) 試験水中の総放射能及び親化合物濃度

表1に、放射能測定による親化合物に換算した試験水中の総放射能及びHPLC分析による試験水中（濾過処理なし）の親化合物濃度を示した。

放射能測定による取込期間中の試験水の総放射能平均濃度は0.90 μg当量/L(0.81~0.99 μg当量/L)であり、濾過により除去された放射能は、10%以下であった。濾過処理なしの水試料を用いてHPLCで測定した親化合物平均濃度は0.765 μg/Lで、設定濃度より10%低いだけであった。

排泄期間の初日の総放射能は0.05 μg当量/Lで設定濃度の6%が含まれ、それ以降は検出限界以下となった。

表1 試験水中における総放射能及び親化合物濃度

	試験日	$\mu\text{g当量/L}^*$				親化合物の濃度 ($\mu\text{g/L}$) ^{**}	
		試験区		対照区		試験区	対照区
		直接測定	濾過後測定	直接測定	濾過後測定		
試験開始前	-2	0.93	0.93	0.00 b	-	0.850	ND
	-1	0.99	0.99	0.00 b	-	0.904	ND
取込期間	0	0.90	0.90	0.00 b	0.00 b	0.656	ND
	3	0.81	0.87	0.00 b	0.00 b	-	
	7	0.90	0.98	0.00 b	0.00 b	0.746	ND
	14	0.96	0.96	0.01 b	0.20 b	0.631	ND
	21	0.83	0.83	0.00 b	0.00 b	0.655	ND
	28	0.93	0.86	0.00 b	0.00 b	1.056	ND
	35	0.83	0.79	0.00 b	0.00 b	0.620	ND
	平均	0.90		0.00 b		0.765	ND
	変動係数	5.5%				20.6%	
排泄期間	1	0.05		0.01 b			
	2	0.01 b		0.00 b			
	3	0.02 b	0.01 b	0.00 b	0.00 b	ND	ND
	4	0.02 b		0.01 b			
	5	0.01 b		0.01 b			
	6	0.02 b		0.01 b			
	7	0.01 b	0.00 b	0.01 b	0.00 b	ND	ND
	8	0.01 b		0.01 b			
	9	0.00 b		0.00 b			
14	0.00 b		0.00 b		ND	ND	

ND: 検出限界以下 (0.065 $\mu\text{g/L}$; 自然放射能より30dpm多い放射能)

*: 直接放射能を測定。 **: 濾過前の水試料を用いてHPLCで測定した親化合物の濃度

+: 各組織部位の測定放射能の合計

a: 自然放射能より10~30dpm多いデータから算出、b: 自然放射能より<10dpm多いデータから算出

(2) 魚体中の総放射能

表2に魚の各部位及び全魚体中の総放射能を、被験物質に換算した湿重g当たりの濃度及び量で示した。

魚の食用部、非食用部及び全魚体中の総放射能(濃度)は試験水に暴露後14ないし21~35日で最大に達し、取込14日以内に見かけの定常状態に到達した。

食用部及び非食用部において、個体別には取込14日に最大値に達した場合もあったが、取込3、14、21及び28日と35日の間に有意な差は認められなかった。個体別濃度の最大値は食用部で197(取込14日)、非食用部で807(取込21日)ng当量/g湿重であった。取込35日の平均濃度は食用部で132、非食用部で524ng当量/g湿重であった。

全魚体においては、取込35日に最高濃度に達したが、取込7、14、21及び28日と35日の

間に有意な差は認められなかった。各部位の測定放射能の合計では取込7及び35日で有意差(p<0.05)が認められたが、その他に全魚体及び各部位の放射能の合計に明らかな差は認められなかった。個体別濃度の最大値は409 ng当量/g湿重(取込35日)で、取込35日の平均濃度は315 ng当量/g湿重であった。

排泄期間の最初の24時間に、部位別及び魚当たりの総放射能(量)は非常に増加した。これは、放射能(濃度)は減少している結果からも、恐らく取込35日及び排泄1日に採取した魚の平均体重の差(それぞれ1.55g及び2.74g)のためと考えられた。

排泄速度をより把握するため、表3に取込35日の放射能に対する排泄時期別放射能の残存率%を示した。全魚体において、排泄3日で約50%以上が排泄され、10日で90%以上が排泄され、14日の残存率は1%以下であった。

表2 魚の各部位及び全魚体中の総放射能(濃度及び量)

試験日	試験区				対照区				
	食用部	非食用部	合計+	全魚体	食用部	非食用部	合計+	全魚体	
総放射能(濃度) ng当量/g湿重									
取込期間	0	0b	0b	0b	0b	0b	0b	0b	0b
	3	115±18	316±83	203±43	162±34	0b	0b	0b	0b
	7	78±31	163±44	117±20	225±74	0b	0b	0b	0b
	14	149±32	463±168	281±85	267±92	0b	0b	0b	0b
	21	153±25	508±170	314±78	294±56	0b	0b	0b	0b
	28	145±18	534±207	314±96	253±35	0b	0b	0b	0b
	35	132±31	524±129	302±69	315±57	1±1b	1±0b	1±0b	0±0b
排泄期間	1	149±42	434±103	269±63	235±49	0b	0b	0b	0b
	3	71±32	175±98	120±55	135±60	0b	0b	0b	0b
	7	22±13	32±19	38±11	32±27	0b	0b	0b	0b
	10	10±3	38±18	18±4	14±8	0b	0b	0b	0b
	14	4±3b	15±4a	8±8b	1±1b	0b	0b	0b	0b
総放射能(量) ng当量/部位(魚)									
取込期間	0	0b	0b	0b	0b	0b	0b	0b	0b
	3	58±21	157±68	215±89	130±41	0b	0b	0b	0b
	7	44±13	98±35	142±36	241±103	0b	0b	0b	0b
	14	78±25	227±87	305±111	277±146	0b	0b	0b	0b
	21	269±76	463±193	348±153	115±45	0b	0b	0b	0b
	28	73±21	252±122	324±143	326±96	0b	0b	0b	0b
	35	109±24	370±93	479±115	484±161	1±1b	1±0b	2±1b	0±0b
排泄期間	1	216±55	523±150	739±189	640±240	0b	0b	0b	0b
	3	43±18	105±58	148±61	239±143	0b	0b	0b	0b
	7	25±16	32±18	58±13	54±57	0b	0b	0b	0b
	10	8±4	28±13	36±16	25±12	0b	0b	0b	0b
	14	2±2b	11±11b	14±13b	2±2b	0b	0b	0b	0b

+ : 各組織部位の測定放射能の合計

a : 自然放射能より10~30dpm多いデータから算出

b : 自然放射能より<10dpm多いデータから算出

表3 取込35日の放射能に対する排泄時期別放射能の残存率%

	試験日	食用部	非食用部	合計+	全魚体
総放射能(濃度) ng当量/g湿重に基 づいた値	1	113	83	89	75
	3	54	33	40	49
	7	17	6	11	10
	10	10	7	6	4
	14	3	3	3	0.3
総放射能(量)n g当量/部位(魚)に 基づいた値	1	198	141	154	132
	3	39	28	31	49
	7	23	9	12	11
	10	7	8	8	5
	14	2	3	3	0.4

+ : 各組織部位の測定放射能の合計

(3) 濃縮係数

表4に、特定の試験日及び見かけの定常状態における各部位の生物濃縮係数(BCF)を示した。部位別及び全魚体のBCFにおいて、14、21及び28日の値と35日の値の間に有意差は認められなかったため、取込14日に被験物質は見かけの定常状態に到達していると判断した。

見かけの定常状態期間における平均BCF(取込14~35日)は食用部で164、非食用部で575及び全魚体で321であった。

表4 特定の試験日及び見かけの定常状態に達した期間での各部位別BCF

試験日	食用部	非食用部	合計+	全魚体
3	142	390	251	200
7	87	181	130	250
14	155	482	293	278
21	184	612	378	354
28	156	574	338	272
35	159	631	364	380
見かけの定常状態のBCF(BCF _{ss})				
範囲(試験日)	14~35	14~35	14~35	14~35
平均BCF	164	575	343	321
標準偏差	14	66	37	54

(3) 観察

試験期間中に試験区で3/158例、対照区で1/147例が死亡した。異常遊泳、疾病等は認められなかった。

(4) 代謝物の同定

TLC分析の結果、取込及び排泄期間の食用部、非食用部及び全魚体の抽出画分中に同じ代謝物の存在が示唆されたため、取込及び排泄期間別に各画分をプールし、GC及びGC/MS分析に供した。表5に、取込期間試料に関しては見かけの定常状態にある14~35日の試料、排泄期間試料に関しては1日~14日の試料をプールしてGC分析した結果を示す。

GC分析では、
 が最も主要な代謝物で、ついで親化合物である
 及び
 が多く、
 はこれらより少なかった。

MS分析では親化合物
 が確認され、さらに少量の
 の存在も確認された。しかし、
 はMS分析では確認できなかった。

また、光分解物である極性代謝物
 は検出されなかった。

表5 魚体中における想定代謝物の各部位の総残留放射能に対する割合%

想定代謝物	取込期間のプール画分 (定常状態)			排泄期間のプール画分		
	食用部	非食用部	全魚体	食用部	非食用部 ^a	全魚体
親化合物:	17.49	16.34	23.75	10.98	24.50(12.50)	11.35
代謝物B:						
代謝物C:						
代謝物D:						

a: 排泄段階の非食用部は、GC分析で分析した各代謝物の放射能の合計が総残留放射能に対して非常に大きかったので、正規化した値を()内に示した。

まとめ:

設定濃度0.85 µg/Lの¹⁴C-フィプロニルを含有する試験水にブルーギルサンフィッシュを35日間流水条件下で暴露し、その後14日間の排泄期間を設け、フィプロニルの生物濃縮性について試験した。全部位において、取込まれた放射能は取込14日以内に見かけの定常状態に達し、定常状態での平均生物濃縮係数BCF_{ss}は全魚体で321、食用部で164、非食用部で575であった。非食用部における放射能の蓄積は食用部における量より3~4倍多かった。

定常状態における魚について分析した結果、
 が最も主要な代謝物で、ついで親
 化合物
 が多く、
 はこれらより少なかった。少量であるが
 の存在も確認されたが、光分解物である
 は検出されな
 かった。

全魚体において排泄3日で取込放射能の約50%以上が排泄され、10日で90%以上が排泄された。14日後の残存率は1%以下であった。排泄期間中の代謝物も定常状態の代謝物と同じであるが、親化合物の割合が減少し、代謝物の割合に増加が見られ、被験物質は継続的に生体内で分解していることが示唆された。

魚体中における想定代謝経路を図1に示す。

申請者注：

見かけの定常状態(取込期間14~35日)における親化合物に基づくBCFssは下記に従って算出した87.5とする。

全魚体での見かけの定常状態におけるBCF321に相当する全魚体中総放射能273 ng当量/g湿重に見かけの定常状態での親化合物の割合23.75%を乗じ、その値を総放射能水試料中の平均親化合物濃度0.741ng/mLで除した。

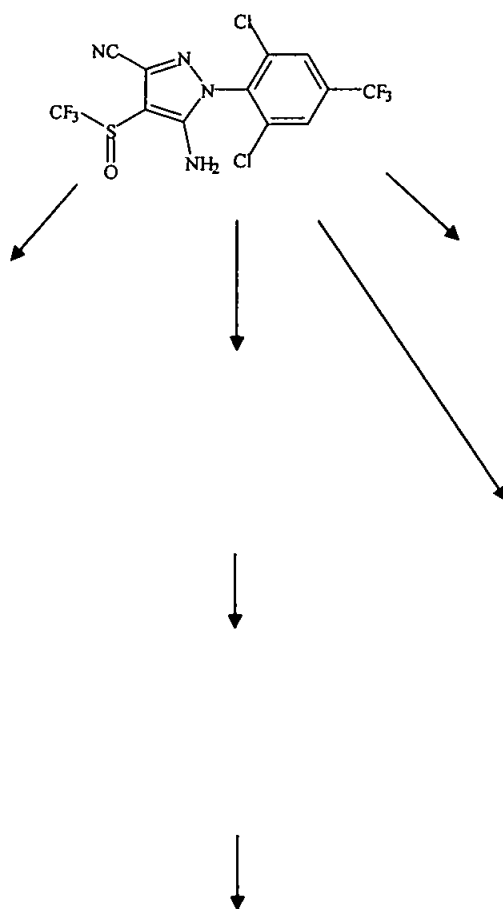


図1 想定代謝経路

代謝のまとめ

(1) 動物代謝

本剤は速やかに且つ吸収が非常によく、多くの組織内に分布し、速く代謝されるが、排泄は緩慢で、主に糞から排泄される。脂肪に蓄積され、また腸肝循環のため半減期が長い。

本剤の基本的な主要代謝経路に種間差(ラット、マウス、ウサギ、ヤギ、鶏)は認められなかった。低用量では吸収、分布、排泄、代謝に顕著な性差は認められなかった。高用量では薬物動態に明瞭な種間差が認められ、血中におけるTmaxはマウスが最も速く到達し、ついでラット、ウサギの順に遅く、消失半減期はウサギが最も長く、ラット及びマウスはほぼ同じで短かった。

代謝物Bの組織内蓄積速度に種差が認められ、最高濃度に達するまでの時間はおおむねラットが最も短く、マウス、ウサギの順に長かった。

投与された放射能の大部分が糞へ直接及び腸肝循環を経て胆汁へ排泄あるいは腸管から腸内へ排泄され、尿からの排泄は少なかった。

吸収されたフィプロニルは急速に代謝されて、第I相代謝物を経て第II相代謝物となる。第I相代謝物はBが主で、親油性が高いために、速やかに組織(主に脂肪)中に分布し貯留される。Bは代謝・抱合されPhase II 代謝物となり尿あるいは胆汁より排泄される。

低用量では組織内濃度が飽和に達しないため、排泄速度が遅く貯留する割合が高いが、高用量あるいは低用量反復投与後では、組織内濃度が飽和に達し組織内の貯留割合が低く、吸収された物質の多くが体循環に移行し、尿及び糞からの排泄率が増加すると考えられる。

投与終了後、組織中のBの濃度は減少し、Bの組織残留性は可逆的であった。

主要な光分解物で、水稻に処理あるいは作物の茎葉に処理した場合に認められる代謝物Fは親化合物より急性毒性が強いため、ラットを用いて1 mg/kg(標識体単回及び非標識体14回投与+標識体単回)及び10mg/kg(標識体単回)で経口投与し、代謝試験を行った。親化合物と同様に尿よりも糞経由の排泄が多く、比較的良好に吸収され、組織中の残留は比較的多く、組織(主に脂肪)中に分布し貯留される。

(1-1) ラット、マウス及びウサギを用いた代謝試験:

フィプロニルの非標識体の低用量(0.4mg/kg)及び高用量(げっ歯類4.0mg/kg、ウサギ1.2mg/kg)を14日間経口投与し、組織中の動態について検討した。さらに、7日間の回復期間を設け残留の消失について検討した。

親化合物Aは、投与初期に各組織で散見され、脂肪では3動物とも、肝臓及び甲状腺ではウサギで投与期間を通して検出された。代謝物Bは全動物とも各組織中に分布・貯留する傾向があった。代謝物Cは、数組織で微量検出された。

低用量ではいずれの動物のいずれの組織とも投与期間の経過に伴い代謝物Bの濃度が上昇した。これに対し、高用量では代謝物Bの組織内蓄積速度に種差が認められ、ウサギで血液、脂肪及び脳が投与終了1日、肝臓及び甲状腺で回復4日に最高濃度に達したが、ラットでは最高濃度に達するまでの時間が大幅に短く、血液では投与後5日、脂肪及び甲状腺では投与後5日に、脳及び肝臓では投与後10日に最高に達し、以降投与期間中漸減した。マウスでは脂肪が投与後10日、甲状腺が投与後10～投与終了1日まで、それ以外(血液、脳及び肝臓)は投与終了1日に最高に達した。

代謝物Bの投与後における消失半減期はウサギの血液及び脂肪はそれぞれ11日及び10日と最も長く、ラット及びマウスでは5あるいは6～7日と差がなかった。脳における半減期はマウスで4日、ウサギで7日、ラットで9日と種差が見られた。その他の組織は3～5日で差がなかった。

(1-2) ラット、マウス及びウサギにおける代謝の比較試験

検体の標識体5mg/kgをウサギ、ラット及びマウスに単回強制経口投与した結果、基本的な主要代謝経路は3動物で共通しているが、ラットの代謝がウサギ及びマウスよりいくらか広範に進行しているようであった。薬物動態に明瞭な種間差があった。

3動物とも排泄は緩慢であり、投与168時間後にウサギでは投与量の80%、マウスでは60%、ラットでは20%が体内に残存していた。3動物とも尿排泄は少なく、糞排泄は尿排泄の約2倍であった。

血中濃度の消失半減期はウサギで約11日、ラット及びマウスで3日であった。Tmaxはウサギが12時間、ラットが9時間、マウスが4時間であった。Cmaxはラット及びマウスはほぼ同じ、ウサギはこれらの約1/2であった。

3動物とも脂肪中の残留が最も高く、マウスは最も少なく、ラットはその約2倍、ウサギは4倍の残留であった。その他の組織においてもウサギは濃度が最も高く、マウスの組織中の濃度は一般に、ラットとほぼ同じかそれよりも低かった。

3動物に共通の尿中の主要代謝物3個(M1、M2、M3)が検出されたが、同定できなかった。この他に、微量の代謝物D()の存在も確認された。

糞から主要代謝物[親化合物A、代謝物B、代謝物C]が同定され、主要代謝物はウサギではC、ラット及びマウスではBであった。

組織中の主要代謝物として代謝物B、微量の親化合物A及び代謝物Cも検出された。ウサギの肝臓では微量の も検出された。

(1-3) 培養肝細胞を用いた代謝試験：

ラット及びウサギの培養肝細胞を用いたフィプロニルの代謝における種差を検討した結果、フィプロニルは容易に酸化され、代謝物Bを生じ、代謝に種差は認められなかったが、代謝速度はラットがやや速かった。

(1-4) ラットを用いた代謝試験：

低用量 (4 mg/kg) 及び高用量 (150mg/kg) の単回経口投与、さらに、低用量の 14 回非標識体の反復経口投与後、1 回標識体を経口投与して、吸収、排泄、組織内分布、血中の動態並びに代謝について検討した。

性差：本剤の吸収、分布、排泄、代謝に顕著な性差は認められなかった。

吸収・排泄：バイオアベイラビリティは用量にほぼ比例し、低用量から高用量に用量が 37 倍増加した時、雌雄の平均で C_{max} は約 31 倍、 AUC_{0-168} は約 28 倍に増加した。

本剤の吸収、排泄は投与量により異なり、低用量では吸収は速いが排泄は遅く ($T_{1/2}$ = 150~200 時間)、尿中排泄 (5%) より糞中への排泄 (45%) が主で、組織内 (主に脂肪組織) に貯留する割合は 45% と高かった。一方、高用量では低用量と逆で吸収は遅く、排泄は速かった ($T_{1/2}$ = 50 時間)。また、尿/糞への排泄率が低用量単回投与に比し多く、組織中の残留が少なく (3~5%)、吸収が飽和されていることを示唆している。低用量反復投与では、単回低及び高用量の中間で、やや高用量に近い傾向であった。

胆汁排泄/再吸収：胆管カニューレ挿入ラットに高用量 (40mg/kg) 及び低用量 (4mg/kg) を単回経口投与した結果、吸収率は高用量群では 75~80%、低用量群では 87~90% で、胆汁への排泄率は高用量で 11~23%、低用量で約 7% であった。

また、胆管カニューレ挿入ラットに用量 4mg/kg で強制経口投与し、投与 72 時間まで尿、糞、胆汁を採取した (群 1)。この採取胆汁を別のラットに胆管カニューレ経由で 24 時間注入投与し、胆汁注入開始 96 時間まで排泄物及び胆汁を採取した (群 2)。

群 1 で吸収率は 75% で、胆汁から 13%、尿から 3%、組織から 59% が回収された。群 2 では吸収率は 83% で、胆汁から約 38%、尿から 9%、組織から約 27% が回収され、腸管循環が相当高いことが確認された。

組織内分布：雌雄ラットに低用量 (4 mg/kg)、高用量 (40 mg/kg) を単回経口投与し、投与後 4 時点 ($1/2T_{max}$ 吸収相、 T_{max} 、 $1/2T_{max}$ 消失相 及び 168 時間後) における放射能の組織内分布を検討した。

薬物動態及び組織内分布に性差は見られなかったが、投与量による差が認められた。低用量群では、放射能の吸収が速やか (雌雄平均 T_{max} 5.5 時間) で、その後の消失は比較的遅かったが、高用量群では、吸収/分布がはるかに遅く (雌雄平均 T_{max} 36 時間)、その後、血中濃度が一時急速に低下した後、ゆっくり消失し、消失半減期は低用量群と差がなかった (雌雄平均：高用量群 153 時間、低用量群は 214 時間)。

組織中の濃度はいずれの組織とも、血中濃度よりも高く、腸管とその内容物を除き、腹部脂肪の濃度が最も高く、ついで副腎、脾臓、甲状腺、皮膚及び被毛、卵巣、子宮、肝臓で、ほとんどの組織で組織中濃度にほとんど性差はなかったが、生殖腺では卵巣が精巣に比べ高濃度であった。胃腸管とその内容物は消失過程における消化管の役割を反映して残留の多い組織の一つであった。投与 168 時間後まで組織に残留した総放射能量は、高用量群では投与量の約 9% で、低用量群の約 55% に比べ、非常に少なかった。

代謝：尿中の代謝物は全て抱合体(主としてN-グロクロニド抱合体)であったが、酵素による脱抱合処理により、多数の成分が分離され、親化合物Aと、代謝物E及びDが主要成分として、微量成分としてCが同定された。更に、ピラゾール環の開裂した2物質が確認された。

糞中代謝物は親化合物A及びB、C、E以外に、多数の極性の高い代謝物が検出された。

胆汁から16種の代謝物が検出され、内4種類(A、B、D、H)が同定された。未同定代謝物の一部はグルクロン酸または硫酸抱合体であると考えられた。

吸収された親化合物Aは、急速に代謝され、Phase I、Phase II代謝物となる。Phase I代謝物は、Bが主代謝物であるが、これは親油性が高いため、速やかに組織(主に脂肪)中に分布し、貯留される。貯留されたBは、徐々に体内循環に放出され、代謝、抱合され、Phase II代謝物となり、尿あるいは胆汁より排泄される。

低用量投与では組織内の分布濃度が飽和しないため、排泄速度が遅く、組織内貯留割合が高いが、一方、高用量あるいは低用量反復投与では、組織内分布濃度が飽和するため、吸収量のかなりの割合が体循環へ移行し、代謝、抱合され、Phase II代謝物となり、尿及び糞からの排泄率が増加するので、組織内に貯留する割合が低下すると考えられる。

(1-5) イヌを用いた代謝試験

吸収・排泄：イヌに低用量(2mg/kg投与)及び高用量(20mg/kg投与)を単回経口投与したときの体内動態を検討した。吸収は速やかで低用量では投与7時間後に、高用量では24時間後に血漿中の最高濃度に達し、消失半減期は低用量では投与120時間後、高用量では124時間で、徐々に減少した。投与168時間後までに投与量の約50%(低用量)及び80%(高用量)が排泄され、そのほとんどが糞中に排泄され、尿中(2~3%)への排泄は非常に少なかった。放射能の血球への移行は少なかった。

胆汁排泄：¹⁴C-標識体(A)を1mg/Kgを静脈内に投与し、血中の動態及び排泄について7日間検討した。また、胆管カニューレ挿入イヌに1mg/kgを静注投与し、胆汁排泄について検討した。

血漿中の放射能の消失半減期は4~6日と長かった。主要排泄経路は糞で、7日間で投与量の46%が排泄され、尿からの排泄は3%未満と少なかった。

投与72時間後までの血漿中の濃度曲線下面積(AUC)を胆管カニューレ未挿入イヌと比較したとき、この比率は1.3であり、腸管循環に入る¹⁴C-標識体Aは少ないことが示唆された。

投与72時間後までの放射能の胆汁排泄は15%、尿中排泄率は3%、糞中排泄も約4%と少なかった。直腸内容物に約5%が存在していたことから、わずかではあるが、代謝物が腸管から排泄されている事が示唆された。

代謝：吸収された親化合物Aは速やかに代謝物Bに代謝され、血液中に存在する主代謝物であった。A及びBは尿中には排泄されず、極性代謝物のみが排泄され、糞中には投与初期にA、B及びほぼ同量の極性代謝物が排泄されたが、投与4~5日後にはAは代謝されほとんどなく、Bがほぼ2倍に増加していた。胆汁中の代謝物は大部分が2種の極性代謝物として排泄された。酵素処理により、少量の未変化体(A)とBを遊離した。

(1-6) 泌乳ヤギを用いた代謝試験：

^{14}C -フィプロニルを0.05、2及び10ppmに相当する量を泌乳ヤギに連続7日間、毎日午前及び午後の給餌前にカプセル投与し、放射能の吸収及び排泄について試験し、排泄物及び特定の組織中の放射性残留の特性について検討した。

大量の放射能が主として糞から排泄された。尿、ミルク及び組織中の放射能から推定した最低吸収率は0.05、2及び10ppmでそれぞれ約19、33及び15%であった。ミルク中の放射能濃度は0.05ppmではほとんど無視できる程度であったが、2及び10ppmでは経時的に増加していた。親化合物及びその代謝物の脂溶性が高いことから、多くの放射能が脂肪中に貯留されており、回収されなかった投与放射能は廃棄した残部体組織中に貯留されているものと推定された。

親化合物Aの他に、主要な代謝物として、
が同定され、さらに1微量代謝物が
と一致していた。

(1-7) 産卵鶏を用いた代謝試験：

0.05、2及び10ppmの用量で28日間、卵及び排泄物採取後の給餌前の朝に反復経口投与した結果、投与放射能の約52~58%が最終投与後23.5時間までに回収され、その多くは排泄物から回収された。放射能の排泄及び組織残留に関して、定常状態には達しなかったが、卵黄及び卵白では定常状態に近いものと推定された。卵黄中の濃度は用量関連性のある増加を示した。組織中の残留は脂肪及び皮膚が多く、代謝物を含め親化合物の脂溶性が高いことを示唆している。全ての用量において、排泄物を含め組織中の主要な代謝物はBであった。

(1-8) 代謝物F(主要な光分解物で、植物、ヤギの代謝物)のラットにおける代謝試験

雌雄ラットに1mg/kg(標識体単回及び非標識体14回投与+標識体単回)及び10mg/kg(標識体単回)で経口投与した結果、親化合物のフィプロニルと同様の動態を示し、代謝物Fの排泄は尿(約5~11%)より糞(約50~70%)が多く、比較的よく吸収され、組織中の分布は脂肪が最も高く、ついで副腎、肝臓、子宮、卵巣、皮膚+被毛の残留が多かった。低用量では単回投与及び反復投与ともほぼ同じで雄で約35%、雌で約45%前後が、単回高用量では雄で約30%、雌で約40%が吸収された。薬動態力学パラメーターに雌雄間の差はなく、排泄は緩慢で消失半減期は156~220時間と比較的長かった。

代謝物Fは第I相反応(酸化、加水分解)及び第II相反応(硫酸、グルクロン酸およびグルタチオンとの抱合)により広範に代謝された。尿中放射能の約90%(投与量の約7.8%)、また糞中放射能の約92%(投与量の約55%)が同定された。組織(肝臓、脂肪、皮膚及びカーカス)からは未変化の親化合物(代謝物F)のみが検出され、投与量の約22%を占めていた。

申請者注)

代謝物Fは水中光分解試験においてTARの50%以上であり、30時間の試験期間において減衰が見られなかった。キャベツおよび稲の植物代謝でも可食部で微量の検出が見られた(TRRの

5.2% (0.03ppm)以下)が、親化合物の動物代謝では非検出であった。同代謝物の毒性試験を実施したところ、急性経口試験で強い毒性が認められたが、発癌性・遺伝毒性・催奇形性ともに陰性であり、その毒性も親化合物と同等であった。作物残留試験では、稲の可食部では検出されなかった。これらの毒性試験や代謝・作物残留試験の結果より、代謝物Fが食品中から摂取される可能性はほとんどなく、代謝物Fは規制対象外として問題はないと考えられた。

(2) 植物代謝試験

親化合物Aの¹⁴C-標識体を用い、稲、キャベツ、ヒマワリ、てんさい及びとうもろこしで代謝について試験した。

処理方法により代謝物に差があり、茎葉処理及び水面への処理の場合光分解を受けるので、光分解物(F及びG)が植物から検出される。播種溝に処理し覆土するような場合には光分解物はほとんど検出されない。いずれの植物においても、量的に植物間で差があるものの、同定された主要代謝物は親化合物の他に、B、C、Eで、さらに茎葉処理された場合(水田水を含め)光分解物であるF及びGも主要代謝物として同定された。これ以外に微量代謝物(D、H、I)が同定された。

(2-1) 稲における代謝：

¹⁴C-標識体含有製剤を有効成分として5g a. i./10aの散布薬量で水稻の移植20日後に粒剤を1回、区画全面に均一に処理、また、乳剤を移植20日及び50日後の2回、茎葉全面に処理し、田植後51日(粒剤処理後31日、乳剤2回目処理後1日)に緑色植物を収穫し、また田植後92日(粒剤処理後72日、乳剤2回目処理後41日)の収穫時に試料を採取し代謝を検討した。

収穫時の稲では、粒剤処理区及び乳剤茎葉全面処理区ともに残留放射能は枝梗が最も高く、ついで藁、籾殻及び根部で、玄米中の濃度は最も少なかった。白米にも少量の残留が認められた。

乳剤の茎葉全面処理区は粒剤処理区に比し、約1.6倍の処理薬量で、2回目処理後収穫までの期間が41日と短い(粒剤処理区は72日)が、枝梗及び籾殻の残留放射能は粒剤処理区に比較して約7倍、玄米で約4倍、根部及び藁で約2倍高かった。

稲中の主要成分はいずれの部位とも、親化合物Aで、玄米中では茎葉処理区で総残留放射能の52% (12.31 μg/kg)、粒剤処理区で25% (1.30 μg/kg)がAであった。Aは酸化的及び還元的機序で代謝され、B、C、E等を生成した。主要代謝物は玄米及び白米ではEで、それ以外の部位ではC及びF、ついでBであった。Gは微量であるが、玄米及び白米のみから検出された。

(2-2) キャベツにおける代謝：

播種50日苗を結球開始時に20g a. i./10aを茎葉に噴霧処理し、さらに、14日後に同様に2回目の処理をし、処理後収穫(1回目処理後35日)まで経時的に試料を採取して、残留を調べた。残留の主要

成分は親化合物(A)で、総残留(外葉+結球部)の約50%を占めていた。3種の主要代謝物が検出され、うち2種類(F及びG)は葉で生成した光分解物であり、総残留の13及び16%、結球部では5及び14%を占めていた。残りの1種はE()で親化合物の加水分解物であり、総残留の13%及び球の10%を占めていた。

(2-3) ひまわりにおける代謝:

土壤に小穴を開け、処理量20g a. i./10aの¹⁴C-標識体顆粒剤を入れ、その上に直接種子を播き、覆土した。処理1ヵ月後の茎葉には処理量の1.5%以下が吸収されていた。

収穫時(4.5ヵ月後採取)試料では処理放射能の4.8%が吸収され、その大部分は葉(総残留の83%)に含まれ、種子では残留(総残留の3%)は少なかった。茎葉中の主要成分はA、Bで、微量のC、Eも同定された。種子では他部位とは異なる代謝物のパターンで、微量で同定できなかったが、A、Bは検出されなかった。

(2-4) てんさいにおける代謝:

想定通常使用量(20g a. i./10a)及びその10倍量(200g a. i./10a)を播種時に土壤処理し、6ヶ月間栽培した後収穫した。収穫物を葉部と根部に分けて分析した。

吸収された放射能は主に葉部に90%以上存在し、根部には10%以下であった。根部放射能の80~90%が溶媒で抽出され、葉部では85~90%が抽出された。

主要な分解物は根部でB、A及びE、葉部でB、E、I、D及びCで、親化合物(A)は微量検出されたのみであった。

(2-5) とうもろこしにおける代謝:

想定通常使用量の2.5倍の42g a. i./10aを播種時に土壤処理し、青刈り飼料及び成熟茎葉を採取して、代謝について検討した。さらに、この結果を検証するために、14.6g a. i./10aを播種溝に土壤処理後、条播し、播種後35日に青刈り飼料を、106日に成熟とうもろこしを採取した。

残留の大部分が青刈り飼料及び穀粒を除く成熟茎葉中に分布(約93%)し、穀粒中には約7%のみ残留していた。親化合物の他に代謝物としてB、C、E、Jが同定された。

追加試験で、処理量に対する吸収率は0.8%以下であった。青刈り飼料には0.112ppm、成熟茎葉には0.481ppm(残留放射能の95%)、穀粒には0.013ppm(同3%)、穂軸には0.025ppm(同2%)が含まれていた。

代謝物としてE、B、Hが同定された。先の代謝試験と比較したとき、質的に同様の結果が得られたが、先の試験でJと同定された代謝物は、1994年の再分析及び今回の試験で検出できなかった。したがって、前回のJとした同定は明らかな間違いであった。

(3) 土壤代謝試験

フィプロニル(A)の土壤中における半減期は、好氣的湛水条件下(茨城埴壤土)で87日、嫌氣的湛水

条件下(英国砂壤土)では徐々に分解し約123日、好氣的畑条件下でも徐々に分解し、英国砂壤土で128日、ドイツ砂土で308日であった。滅菌土壌中では分解しないことから、この分解は微生物による分解と考えられる。

好氣的湛水条件下ではフィプロニル(A)は水層から土壌に速やかに移動し、そこで

Cに容易に分解され、さらに

Kを生成し

た。また、

B及び

Eは極僅かであった。

嫌氣的湛水条件下ではAの還元体であるC及びEが徐々に増加し、好氣的畑条件下では主な代謝物としてE、B、Cが徐々に増加した。微量代謝物として、D、FおよびBが同定された。

(4) 加水分解

pH5、7及び9でフィプロニルの加水分解について試験した結果、pH5及び7では安定で、pH9では半減期=28日で分解した。分解物として、Eが生成し、経時的に増加した。

(5) 水中光分解

フィプロニルの水中光分解は緩衝液及び自然水中ともに速やかで、水系環境における主要な分解経路と考えられた。主要な分解物としてはF及びGが生成した。

加水分解しない条件であるpH5クエン酸緩衝液において、半減期は3.6時間であった。また、英国で採取したpH8.0の自然水において、半減期は0.21日(自然太陽光換算0.89日)であった。荒川中流で採取したpH 7.8の自然水において、半減期は61分であった。

(6) 土壌吸脱着

フィプロニルの土壌移動性は、土壌の種類によって差はあるものの、移動性は殆どないか非常に小さいと考えられる。また、吸着と有機物含量の間に負の相関関係が示唆された。

ドイツ、英国及びフランスから採取した5土壌を用いた試験で、フロインドリッヒ吸着定数 K_{Fads} は26.2~148.6であり、5土壌の平均は77.9であった。フロインドリッヒ有機炭素吸着定数 K_{Foc} は2671~7818の範囲であり、平均値は4637であった。フロインドリッヒ脱着定数 K_{Fdes} は、45~154の範囲で、各土壌におけるK値の平均は84~144であった。各土壌における K_{oc} 値の平均は3375~27951で、総平均値は9500であった。

日本の4土壌を用いた試験では、有機炭素吸着係数 K_{oc} は548~1720であり、平均値は1035であった。

(7) 魚生物濃縮

設定濃度 $0.85 \mu\text{g/L}$ の ^{14}C -フィプロニルを含有する試験水にブルーギルサンフィッシュを35日間流水条件下で暴露し、その後14日間の排泄期間を設け、フィプロニルの生物濃縮性について試験し

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

Fipronil

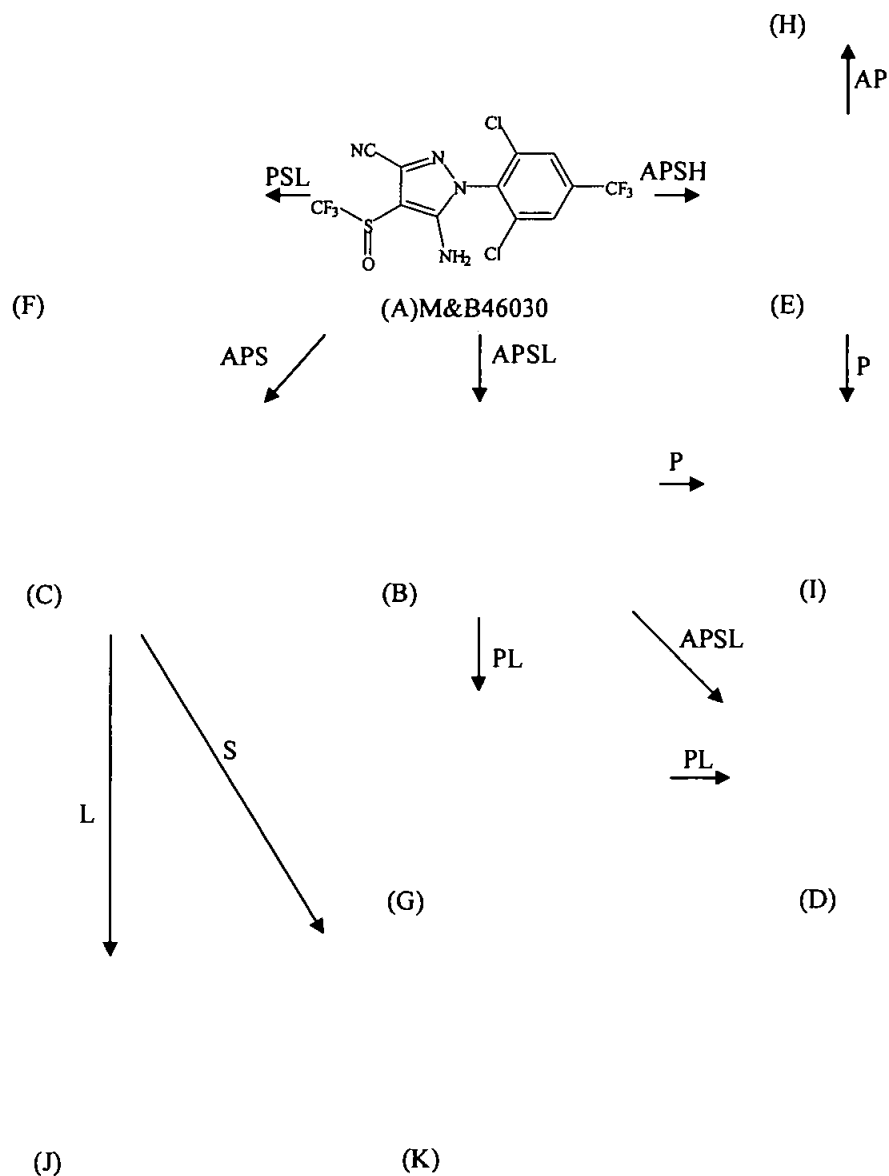
た。全部位において、取込まれた放射能は取込14日以内に定常状態に達し、定常状態での平均生物濃縮係数BCF_{ss}は全魚体で321、食用部で164、非食用部で575であった。非食用部における放射能の蓄積は食用部における量より3~4倍多かった。

定常状態における魚について分析した結果、
が最も主要な代謝物で、ついで親化合物
が多く、
はこれらより少なかった。少量であるが
の存在も
確認されたが、光分解物である
は検出されなかった。

全魚体において排泄3日で取込放射能の約50%以上が排泄され、10日で90%以上が排泄された。14日後の残存率は1%以下であった。排泄期間中の代謝物も定常状態の代謝物と同じであるが、親化合物の割合が減少し、代謝物の割合に増加が見られ、被験物質は継続的に生体内で分解していることが示唆された。

定常状態(取込期間14~35日)における親化合物に基づくBCF_{ss}は定常状態での親化合物の割合23.75%を考慮して算出した87.5と考える。

フィプロニルの動物、植物、土壌における推定代謝経路



A:動物代謝、P:植物代謝、S:土壌代謝、L:光分解、H:加水分解

代謝分解物の概要

種	1静注	雄	胆汁	0~3時間	3.0																
			2経口	雄	胆汁	3~6時間	11.9														
血液	6時間後	48																			
	144時間後	<1																			
	尿	0~8時間			<1																
		24~48時間			21																
	糞	96~120時間			2																
ヤギ	4反復経口	雌	7日後	尿	21.2																
				糞	26.5																
				ミルク	22.2																
				筋肉	6.7																
				腎臓	5.4																
				肝臓	31.2																
				腎脂肪	4.2																
	20反復経口			尿	0.7																
				糞	59.8																
				ミルク	60.8																
				筋肉	3.2																
				腎臓	1.5																
				肝臓	72.7																
				腎脂肪	8.7																
鶏	0.0075反復経口	雌	28日後	排泄物	1.9																
				卵黄	2.5																
				皮膚	26.6																
				脂肪	2.7																
				肝臓	3.8																
				排泄物	1.7																
	0.3反復経口			卵黄	1.0																
				卵白	51.3																
				皮膚	2.6																
				脂肪	94.6																
				肝臓	1.6																
				筋肉	1.9																
	1.5反復経口			排泄物	1.4																
				卵黄																	
				卵白																	
				皮膚																	
				脂肪																	
				肝臓																	

(注) ラット:尿、糞は投与量に対する各代謝物の割合。「非抽出性」には未同定代謝物も含む(回収率と特徴づけ合計との差)。「組織」は抽出液中の各代謝物の割合。「胆汁」は総回収率を100としたときの各代謝物の投与量に対する割合。
 犬、ヤギ、ニワトリ:各試料中の代謝物の割合。

*: 抽出液中の放射能に対する割合。

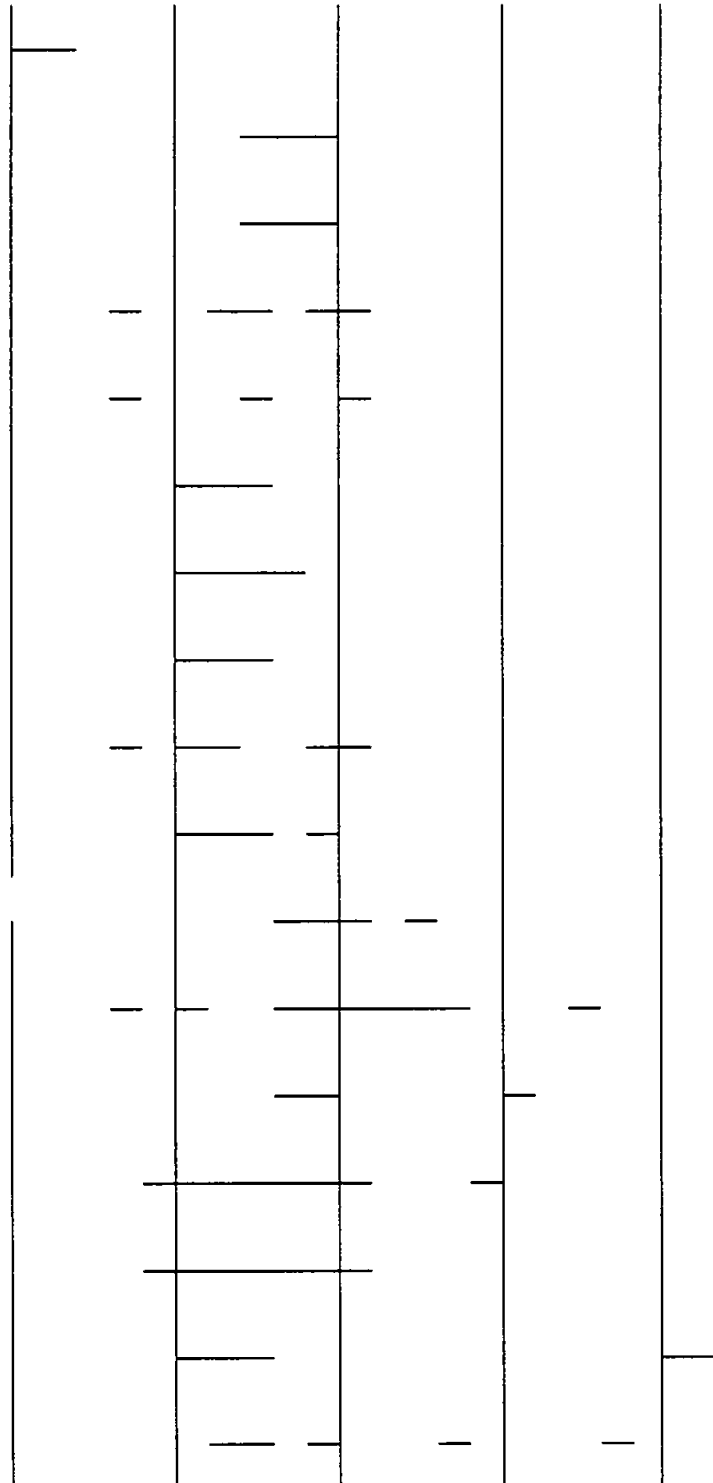
代謝分解物の概要

土壌条件	処理量 (mg/kg)	土壌	試料	分析試料(処理後 日数)	A																	
好氣的湛水 下土壌代謝	10g a. i. / 10a	茨城埴 壤土	水	0日	38.0																	
			土壌計		58.3																	
					96.3																	
			水	7日	1.5																	
			土壌計		66.7																	
					68.2																	
水	30日	0.1																				
土壌計		12.5																				
		12.6																				
水	120日	2.6																				
土壌計		2.6																				
水	181日	1.4																				
土壌計		1.4																				
嫌氣的条件 下土壌代謝	20g a. i. / 10a	英国砂 壤土	水	0日	95.0																	
			土壌計		4.2																	
					99.2																	
			水	7日	61.0																	
			土壌計		27.7																	
					88.7																	
水	59日	38.4																				
土壌計		39.4																				
		77.8																				
水	179日	12.8																				
土壌計		34.1																				
		46.9																				
水	365日	2.0																				
土壌計		8.9																				
		10.9																				
好氣的畑条 件下 土壌代謝	20g a. i. / 10a	英国砂壤土		0日	100																	
				7日	92.8																	
				80日	57.3																	
				149日	32.4																	
				336日	16.2																	
		ドイツ砂土		0日	100																	
				7日	92.2																	
				80日	67.9																	
				149日	62.1																	
				336日	43.9																	

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

Fipronil

フィプロニルの開発年表



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

Fipronil

別冊 代謝物の毒性試験

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

Fipronil

代謝物 F: (植物、土壌中の代謝物、水中光分解物)に関する毒性試験

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	供試数/群	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
44 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 5	経口	3, 10, 20, 30	♂ 18 ♀ 15 ♂♀ 16		別 5
45 GLP				経皮	2000			♂♀ >2000
46 GLP	急性神経毒性/14日間観察	ラット	♂♀ 12	経口	0, 0.5, 2, 12	♂♀ 2		別 8
47 GLP	亜急性	ラット	♂♀ 10	混餌	0, 0.5, 3, 10, 30ppm	♂♀ 3ppm (♂0.18, ♀0.21mg/kg)		別 13
48 GLP	亜急性	マウス	♂♀ 10	混餌	0, 0.5, 2, 10ppm	♂♀ 2ppm (♂0.32, ♀0.43 mg/kg)		別 19
49 GLP	亜急性	イヌ	♂♀ 5	混餌	0, 3, 5, 9, 5, 35ppm	♂ 35ppm (0.95mg/kg) ♀ 9.5ppm (0.29 mg/kg)		別 23
50 GLP	慢性毒性/発がん性	ラット	♂♀ 10 +60	混餌	0, 0.5, 2, 10ppm (♀は 27週より 6ppm)	♂♀ 0.5ppm (♂0.025, ♀0.032mg/kg) 催腫瘍性なし。		別 28
51 GLP	催奇形性	ラット	♀ 25	混餌	0, 0.2, 1, 0, 2, 5	親動物: 0.2mg/kg 児動物: 1.0mg/kg 催奇形性なし		別 53
変異原性								
52 GLP	Ames	S.ミチリス菌			-S9: 0, 10, 25, 50, 100, 250 +S9: 0, 10, 25, 50, 100, 250 μg/プレート	陰性		別 58
53 GLP	前進突然変異	CHO			-S9: 0, 5, 10, 15, 30, 60, 80, 100, 125 μg/mL +S9: 0, 15, 30, 60, 80, 100, 125, 175, 250, 625 μg/mL	陰性		別 60
54 GLP	染色体異常	ヒトリンパ球細胞			試験 1: -/+S9: 0, 5, 15, 30 μg/mL 試験 2: -S9: 5, 10, 15 μg/mL +S9: 15, 30, 40, 60 μg/mL	陰性		別 62
55 GLP	小核	マウス	♂♀ 5	経口	2, 4, 8, 16mg/kg	陰性		別 66

代謝物 F: (植物、土壌、水中光の代謝/分解物)に関する動物代謝試験

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁																							
56	動物代謝	ラット ♂♀ ¹⁴ C- 標識体	単回経口投与: 1.10mg/kg 反復経口投与: 10mg/kg 糞尿排泄: 168 時間後まで採取 組織内分布: 268 時間後	排泄: 尿 (約 5~11%) よりも糞 (約 50~70%) 經由が多く、合計で約 55~78% が排泄。 組織内分布: 残留は比較的多く、単回低用量で 38~44%、反復低用量で 23~32%、単回高用量で 22~30% が残留し、放射能は組織に広範に分布。脂肪が最高、ついで副腎、肝臓、子宮、卵巣、皮膚+被毛に多く分布。		別 69																							
			単回経口投与: 1.10mg/kg 血中動態: 648 時間後まで採取	性差はなく、排泄は緩慢、消失半減期は 156~220 時間																									
			代謝物検索	<table border="1"> <thead> <tr> <th>投与量</th> <th>性別</th> <th>T max (時間)</th> <th>C max (μg/g)</th> <th>T 1/2 (時間)</th> <th>AUC 0-48 (μg·hr/g)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">低用量 1mg/kg</td> <td>雄</td> <td>45.93</td> <td>0.14</td> <td>156.26</td> <td>33.18</td> </tr> <tr> <td>雌</td> <td>60.65</td> <td>0.15</td> <td>209.9</td> <td>49.45</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">高用量 10mg/kg</td> <td>雄</td> <td>72.53</td> <td>2.03</td> <td>170.1</td> <td>503.40</td> </tr> <tr> <td>雌</td> <td>70.52</td> <td>2.31</td> <td>220.6</td> <td>539.86</td> </tr> </tbody> </table> <p>尿中放射能の約 90% (投与量の約 7.8%)、糞中放射能の約 92% (投与量の約 55%) を同定。組織中の唯一の放射性成分は親化合物で、投与量の約 22% を占めていた。</p>			投与量	性別	T max (時間)	C max (μg/g)	T 1/2 (時間)	AUC 0-48 (μg·hr/g)	低用量 1mg/kg	雄	45.93	0.14	156.26	33.18	雌	60.65	0.15	209.9	49.45	高用量 10mg/kg	雄	72.53	2.03	170.1	503.40
投与量	性別	T max (時間)	C max (μg/g)	T 1/2 (時間)	AUC 0-48 (μg·hr/g)																								
低用量 1mg/kg	雄	45.93	0.14	156.26	33.18																								
	雌	60.65	0.15	209.9	49.45																								
高用量 10mg/kg	雄	72.53	2.03	170.1	503.40																								
	雌	70.52	2.31	220.6	539.86																								

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	供試数/群	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
代謝物 B: (動植物、土壌、水中光の代謝/分解物) に関する毒性試験								
57 GLP	急性毒性 14 日間観察	ラット	♂♀ 5	経口	64, 100, 160, 250, 400, 640	♂ 184 ♀ 257 ♂♀ 218		別 81
58 GLP		ラット	♂♀ 5	経皮	2000	♂♀ >2000		別 82
59	変異原性 Ames	S. typhimurium			-S9: 0, 0.32, 1.6, 8, 40, 200 +S9: 0, 0.8, 4, 20, 100, 500 μg/プレート	陰性		別 83
60	染色体異常	ヒトリンパ球細胞			0, 75, 150, 300 μg/mL	陰性		別 85

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

Fipronil

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	供試数/群	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
代謝物 C: (動物、土壌中の代謝物、水中光分解物)								
61	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 5	経口	176, 299, 506, 865, 1471, 2500	♂464 ♀732 ♂♀580		別 87
62 GLP		ラット	♂♀ 5	経口	0, 65, 90, 120	♂ 69 ♀100 ♂♀ 83		別 88
63		ラット	♂♀ 5	経皮	250, 500, 4000	♂♀ 4000> >500		別 89
64 GLP	亜急性/ 13週間	ラット	♂♀ 5	経口	10, 25, 50, 300ppm	10ppm (♂0.69, ♀0.8169mg/kg)		別 90
65 GLP	亜急性/4 週間	マウス	♂♀ 2	経口 カブセル	0, 1, 5, 15	1mg/kg		別 97
66	変異原性 Ames	ネisseria			0, 1, 6, 8, 40, 200, 1000 μg/プレート	陰性		別 101
67 GLP	変異原性 Ames	ネisseria			0, 10, 25, 50, 100, 250 μg/プレート	陰性		別 103
68	染色体 異常	ヒトリンパ球細胞			0, 25, 50, 100 μg/mL	陰性		別 105
代謝物 E: (動物、土壌中の代謝物、加水分解物)								
69 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 5	経口	2000	♂♀ >2000		別 107
70 GLP	亜急性/4 週間	ラット	♂♀ 10	経口	0, 50, 500, 5000, 15000ppm	50ppm (♂3.80, ♀4.44 mg/kg)		別 108
71 GLP	変異原性 Ames	ネisseria			0, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500(+S9のみ) μg/プレート	陰性		別 115
72 GLP	染色体 異常	ヒトリンパ球細胞			-S9: 0, 31, 25, 62, 5, 125, 200, 300, 400 μg/mL +S9: 156, 25, 312, 5, 6, 800 μg/mL	-S9: 陰性 +S9: 陽性(細胞毒性のある濃度で)		別 117
73 GLP	小核	マウス	♂♀ 5	経口	0, 500, 1000, 2000mg/kg	陰性		別 121
代謝物 G: (植物中の代謝物、水中光分解物)								
74 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 5	経口	2000	♂♀ >2000		別 123
75 GLP	亜急性/4 週間	ラット	♂♀ 10	経口	0, 50, 5000, 10000ppm	500ppm (♂45.7, ♀50.4 mg/kg)		別 124
76 GLP	変異原性 Ames	ネisseria			0, 250, 500, 1000, 2500, 5000 μg/プレート	陰性		別 129
77 GLP	染色体 異常	ヒトリンパ球細胞			-S9: 625, 1250, 2500 +S9: 1250, 2500, 5000 μg/mL	陰性		別 131

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

Fipronil

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	供試数/群	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
代謝物 D: (動植物、土壌中の代謝物、水中光分解物)								
78	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 5	経口	2000	♂♀ >2000		別 134
代謝物 H: (動植物中の代謝物)								
79 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 5	経口	2000	♂♀ >2000		別 135
80 GLP	変異原性 Ames	ネズミチヌ菌			-S9: 0, 250, 500, 1000, 250, 5000 +S9: 0, 100, 250, 500, 1000, 2500, 5000 µg/プレート	陰性		別 136
代謝物 I: (植物中の代謝物)								
81 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 5	経口	2000	♂♀ >2000		別 138

2. 原体中混在物及び代謝物を用いた試験成績

10-1. 代謝物 F: (植物、土壤中の代謝物、水中光分解物)の毒性及び動物代謝試験

10-1-1. 急性毒性試験

(1) ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 44)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作製年:

検体純度: (代謝物 F)

試験動物: SPRAGUE DAWLEY 系ラット、9 週齢、雄 305~382g、雌 204~267g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体をコーンオイル中に懸濁し、10mL/kg の容量で、単回強制経口投与した。

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

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄雌 3、10、20、30
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄 18、雌 15、雄雌 16
死亡開始時期及び終了時期	投与後 2 日目から投与後 4 日目
症状発現時期及び消失時期	投与当日から投与 5 日目
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌 10

中毒症状として、痙攣、音に対する過剰反応、自発運動量の減少、呼吸困難、緩徐呼吸、流涎過多が認められた。

剖検では、30 mg/kg 投与により、顕著な肝小葉変性を伴う肝肥大が雄 2 例に、また同群雌 2 例では肝変色が認められた。

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

Fipronil

(2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 45)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作製年:

検体純度: (代謝物 F)

試験動物: SPRAGUE DAWLEY 系ラット、8~10 週齢、体重: 雄 233~249g、雌 242~250g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 投与前日に背部及び腹側部被毛を刈った。検体は 0.1mL の生理食塩水で湿らせたガーゼを用いて、用量 2000mg/kg を 24 時間閉塞貼付した。被覆除去後、処置部位の検体を除去した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。また 7 日目に死亡した雌の肝臓については顕微鏡検査を実施した。

試験結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄雌 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌 2000 以上
死亡開始時期 及び終了時期	投与 1 日後から発現 7 日に終了
症状発現時期 及び消失時期	雄 投与当日から投与 10 日 雌 投与当日から投与 4 日

中毒症状として、紅涙、立毛、頻呼吸、自発運動の欠如、鎮静行動、振戦等が認められ、雄より雌のほうが重篤であった。

雌 2 例が死亡したが、投与翌日の死亡例は被覆が強すぎたためと考えられ、他の 1 例は投与の影響と考えられた。

生存動物の剖検では特記すべき異常は認められなかった。投与 7 日後死亡例の肝臓の顕微鏡検査で、出血及び初期線維症を伴う限局性壊死及び炎症細胞浸潤がみられた。

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

Fipronil

さらに、軽度の多病巣性肝細胞巨大空胞形成がみられた。しかし、これらの所見と投与との関連は明らかでなかった。

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

Fipronil

10-1-2. ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 46)

試験機関:

(英国)

[GLP 対応]

報告書作製年:

検体純度: (代謝物 F)

試験動物: CrI:CD BR 系ラット、48 日齢、体重: 雄 187~238g、雌 144~185g、1 群雌雄各 12 匹

試験期間: 投与後 14 日観察

投与方法: 検体をコーンオイルに懸濁して、容量 10 mL/kg で設定用量を投与できるように濃度を調製し、0、0.5、2 及び 12 mg/kg の用量で一晩絶食させた動物に単回強制経口投与した。投与は雌雄別に 1 日に群当り 4 匹ずつ、連続 3 日間に亘り行った。

用量設定根拠: 予備試験で 0.5、2、10 および 13.5mg/kg を単回経口投与後、投与前、投与 2、4、6 および 24 時間後に FOB 検査を行った結果、10mg/kg で立毛、初期体重抑制(雌)、覚醒低下、活動性低下、自発運動のパターンの変化が認められ、さらに、13.5mg/kg で流涎、姿勢変化、体温低下、初期体重抑制(雌雄)、間代性痙攣、眼瞼閉鎖等が認められた。作用の最大発現時期は投与 4~6 時間であった。これらの結果から、12mg/kg を高用量として選定し、投与後の初回の検査は 6 時間以内にとすることとした。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 中毒症状及び生死を毎日観察した。

死亡は認められなかった。

投与当日にのみ軟便がみられ、その結果、被毛の汚染が認められた。対照群にも同様の症状が認められることから、コーンオイルを使用したため、投与に対する影響とは考えられなかった。

体重変化: 群に割付時、投与日、以降 1 週間ごと、また神経行動検査日に体重を測定した。

対照群に比し有意差の認められた体重を表 2 に示す。

表 2 有意差の認められた体重の変化

性別	雄			雌			
	用量 (mg/kg)	0.5	2	12	0.5	2	12
0~1 週				78 _‡			76 _‡
1~2 週				130 _†			

統計学的手法：Student t-検定 †； $p \leq 0.05$ ‡； $0 \leq p \leq 0.01$

表中の数値は、変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した。

体重には群間に統計学的有意差は認められなかったが、第 1 週の体重増加のみ 12mg/kg 群雌雄で有意に抑制された。同群の雄では第 2 週の体重増加が有意に増加した。

摂餌量及び食餌効率；投与開始 1 週間前から週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

対照群に比し有意差の認められた摂餌量を表 3 に示す。

表 3 有意差の認められた摂餌量

性別	雄			雌			
	用量 (mg/kg)	0.5	2	12	0.5	2	12
1 週				87 _‡			81 _‡
2 週							

統計学的手法：Student t-検定 ‡； $0 \leq p \leq 0.01$

表中の数値は、変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した。

摂餌量は 12mg/kg 群雌雄とも第 1 週に有意に減少したが、2 週は対照群と同等であった。

食餌効率は対照群と同等であった。

神経毒性のスクリーニング：機能観察総合検査及び自発運動量は全動物を対象にして、投与開始前、投与約 6 時間後の最大作用時、投与 7 及び 14 日後に行なった。機能観察総合検査はホームケージ内、取扱い時及びオープンフィールドの標準観察台の観察ならびに器具等を用いた検査を以下に記載の項目について行なった。

ホームケージ内の観察；姿勢、痙攣、振戦、攣縮、発声、眼瞼閉鎖

取扱い時の観察；ケージからの取り出し易さ、ハンドリングの容易さ、流涎、流涙、眼瞼閉鎖、眼球突出、立毛、ハンドリング時の発声

オープンフィールドの標準観察台の観察；痙攣、振戦、攣縮、運動レベル、覚醒レベル、立ち上がり回数、身繕い、歩行、脱糞、排尿

器具等を用いた検査；接近反応、接触反応、驚愕反応、立ち直り反射、痛覚反応、瞳孔反応、握力(前肢及び後肢)、後肢着地開脚幅、体温、体重

自発運動量については無行動時間、運動時間及び非運動時間について、2 分ごとに 1 時間にわたり測定し 10 分ごとのセッションとしてまとめ運動時間のみ報告した。

統計学的有意差のある、あるいは投与の影響が疑われる所見について表 3 及び 4 に示す。

鈍い立ち直り反射が対照群を含む全ての群の雄の数例にみられた。影響の個体別一貫性を比較したとき、12mg/kg 群において、特に投与 7 及び 14 日で反応が鈍い割合が高かった。さらに、12mg/kg 群の雄 1 例は投与 14 日に非常に反応が遅く、投与 7 日に異常な立ち直り反応を示した。さらに別の雄 1 例も投与 14 日に異常な立ち直り反応を示した。これらの点から、投与との関連が疑われる。

表 3 立ち直り反応 (各群各 12 例中の直ちに反応した例数)

性別 用量 (mg/kg)	雄				雌			
	0	0.5	2	12	0	0.5	2	12
投与前	10	10	11	8	12	11	9	11
投与 6 時間後	9	9	11	8	11	11	10	10
投与 7 日後	7	10	7	5	9	10	11	10
投与 14 日後	9	11	10	5↓	9	11	9	9

統計学的手法 : Jonckheer-Terpstra-検定 ↓; $p \leq 0.01$
空欄は所見なし。

体温及び後肢着地開脚幅において、12mg/kg 群で雌雄とも有意な低下が認められ、投与の影響と考えられた。12mg/kg 群雄における前肢握力の低下は投与 7 日にのみ認められ、偶発的と考えられた(表 4)。

自発運動量において、12mg/kg 群雌雄の投与 6 時間後の検査で投与後最初の 30 分間の運動量は有意に少なく、また測定した 1 時間の運動量は雌のみ有意に少なく、検体投与の影響と考えられた。2 及び 12mg/kg 群雌で投与 7 あるいは 14 日に運動数あるいは立ち上がり回数が増加がみられたが、総運動量に影響がないので投与に関連がないと考えられた(表 4)。

表 4 握力、体温、開脚幅及び運動量

項目	検査時期 (投与後)	投与量 (mg/kg)							
		雄				雌			
		0	0.5	2	12	0	0.5	2	12
前肢握力	6 時間					-			117↑
	7 日				77↓				
体温 (°C)	投与前					38.2	38.6	38.5	38.7↑
	6 時間	38.5	38.5	38.7	38.1↓	38.7	38.7	38.5	37.9↓
着地開脚幅	6 時間				83↓				80↓
自発運動量 (運動数)	7 日							154↑	154↑
	14 日								144↑
(立ち上がり回数)	投与前								150↑
	14 日								144↑
(30 分間の大運動量)	6 時間				46↓				43↓
					64				47↓

統計学的手法: Williams 検定 ↑: $p \leq 0.05$ ↓: $p \leq 0.01$ 矢印のない数値は有意差なし。
 表中の数値は、変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した。ただし、温度は絶対値。
 空欄は所見なし。

病理学的検査: 投与後 15 日に全動物を灌流固定し、下記の臓器/組織を摘出したが、神経病理学的検査は対照群と高用量群の雌雄各 5 匹についてのみ行なった。なお、病理組織学的検査の結果、腰部背根線維/坐骨神経に軽微ないし軽度の軸索変性が認められたので、残りの供試各 7 例の同じ切片についても同様に検査した。

脳の形態測定: 大脳半球の吻側部分から最も尾方部の長さ及び大脳半球の最も広い部分の幅を測定した。

脳の重量及び形態測定に有意な影響は認められなかった。

病理組織学的検査: 脳、脊髄、神経節、背側及び腹側脊髄神経線維はパラフィン包埋切片をヘマトキシリン・エオジン染色した。末梢神経はエポン包埋切片をトルイジン青で染色した。¹は横断切片、²は横断及び縦断切片、³は縦断切片を作製し、検査した。

パラフィン包埋/ヘマトキシリン・エオジン染色組織:

- 脳¹: 前脳(3 レベル)、中脳、小脳及び橋、延髄の合計 6 切片
- 脊髄²: 頸部(C3~C6)及び腰部(L1~L4)膨大部
- ガッセル神経節
- 背根神経節(頸部 C3~C6 及び腰部 L1~L4 から各 1 レベル)
- 背側神経線維³(頸部 C3~C6 及び腰部 L1~L4 から各 1 レベル)
- 腹側神経線維³(頸部 C3~C6 及び腰部 L1~L4 から各 1 レベル)

エポン包埋/トルイジン膏：

坐骨神経² (坐骨切痕及び中腿)

腓腹神経² (膝下部)、

脛骨神経² (膝下部)

検体の投与に起因すると考えられる神経病理組織学的所見は認められなかった。

検体の投与に関連のない偶発的な軽微ないし軽度の軸策変性が以下の表のように認められたが、統計学的有意差 (Fisher 直接確率検定) は認められなかった。

性別		雄		雌	
用量 (mg/kg)		0	12	0	12
検査例数		12	12	5	5
軸策変性の認められた動物数		4	6	1	2
腰部背根神経線維：軸策変性	合計	1	4	0	0
	軽微	1	3	0	0
	軽度	0	1	0	0
坐骨神経(坐骨切痕)：軸策変性	合計	1	3	1	2
	軽微	1	3	1	2
坐骨神経(中腿)：軸策変性	合計	3	5	0	0

本剤を 0.5、2 及び 12 mg/kg の用量で単回強制経口投与したラットの急性神経毒性試験において、神経行動学的影響は 12mg/kg 群雌雄で投与 6 時間後のみに限られ、後肢開脚幅の縮小、直腸温の低下、自発運動量の減少が認められた。また、雄で投与 14 日に立ち直り反射の鈍化が認められた。雌雄で摂餌量の低下を伴う体重の抑制も認められた。

2mg/kg 群では投与に関連のある影響は全く認められなかったので、神経毒性に対する無毒性量は 2mg/kg と判断される。

最も頻繁に観察された症状は 10 及び 30ppm 群において攻撃性、接触興奮性、自発運動の亢進、取り扱い時屈曲位で、主に投与 3~5 週にみられたが、数例の動物では全試験期間中、散見された。3ppm 群の雄で 1 例に投与に関連があると考えられる攻撃性 (3 回)、接触興奮性 (1 回)、過度の発声 (1 回) が投与 41~84 日の間に認められたが、申請者はこの程度の発生は背景データ (次表参照) でも認められるので、この例は投与に関連がないと判断した。

申請者注) 投与 1 週においていずれの投与群でも異常は認められなかった。

攻撃性、接触興奮性の背景データにおける発生頻度 (に実施)

系統	動物の供給者	接触興奮性		攻撃性	
		雄	雌	雄	雌
CrI:CD (SD)BR ^a	Charles River	4/50	4/50	0/50	2/50
Ico:OFA:SD ^b	Iffa-Credo	4/70	3/70	1/70	0/70
合計		8/120	7/120	1/120	2/120

^a : GLP で実施した、本試験と同一の系統及び供給業者から得た動物を用いた 5 試験の発生頻度。5 試験のうち 1 試験でのみ症状がみられた。

^b : 同じ SD 系の動物で得られた 7 試験の発生頻度。7 試験のうち 3 試験で症状がみられた。

体重変化 : 毎週 1 回、全ての動物の体重を測定した。

体重を次表に示す。

投与後	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0.5	3	10	30	0.5	3	10	30
8 日 (1 週)				88↓				89↓
29 日 (4 週)			95	90↓			95	91↓
36 日 (5 週)			94	89↓			97	92↓
57 日 (8 週)			93↓	92↓			97	95
71 日 (10 週)			92↓	91↓			97	95
78 日 (11 週)			92↓	92			99	98
90 日 (13 週)			92	93			98	98

統計学的方法 : Dunnett または Mann-Whitney 検定 ↓ : $p < 0.05$ ↓↓ : $p < 0.01$

矢印のない数値は有意差なし。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

10 及び 30ppm 群の体重は対照群より一貫して低く、30ppm 群の雄では投与開始後 10 週間、雌では投与開始後 5 週間有意に抑制された。10ppm 群の雄は投与 8 から 11 週まで有意に抑制された。また、30ppm 群では雌雄とも投与初期 (1 ないし 2 週) に体重増加の抑制がみられた。

摂餌量及び食餌効率 : 全動物の摂餌量を週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

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

Fipronil

30ppm 群の雌雄の摂餌量が対照群に比べて最初の 2 週間有意に低下ないし低下傾向にあったが、その後の摂餌量に対照群との差はみられなかった。10ppm 群の雄で 7 及び 9 週に有意に低下したが、用量関連性もなく、生物学的変動の範囲内と考えられた。

食餌効率も同様に対照群に比べて低下したが、3 週以降、対照群との顕著な差はみられなかった。

	投与後	性別/投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0.5	3	10	30	0.5	3	10	30
摂餌量	8 日 (1 週)				72↓				69↓
	15 日 (2 週)				80↓				89
	50 日 (7 週)			91↓					
	64 日 (9 週)			91↓					
食餌効率	8 日 (1 週)			89	45			92	14
	15 日 (2 週)			83	77			83	72
	全期間平均			90	86			102	117

統計学的方法：Dunnett または Mann-Whitney 検定 ↓: p<0.05 ↓↓: p<0.01 食餌効率は未実施。

矢印のない数値は有意差なし。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

検体摂餌量：投与期間中の 1 日当たり平均検体摂取量は以下のとおりである。

投与量 (ppm)	0.5		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
摂取量 (mg/kg)	0.029	0.035	0.177	0.210	0.594	0.709	1.772	2.101

血液学的検査：投与 12 週に全生存動物を対象として 3 日間にわたり、各群から毎日同数ずつ眼窩後静脈叢から一晩絶食後に採血し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、白血球数、血液塗抹 (検査しなかった)、血液像、血小板数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、プロトロンビン時間

全ての投与群で、いずれの検査項目にも、対照群に比し有意な変化はみられなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査と同じ時に採血した血液から得られた血漿を用いて、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、総蛋白、アルブミン、グルコース、ビリルビン、尿素窒素、総コレステロール、トリグリセライド、クレアチニン、電解質 (ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン)

対照群に比し有意な変化を次表に示す。

検査項目	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0.5	3	10	30	0.5	3	10	30
総ビリルビン								57↓
総コレステロール								76↓
トリグリセライド								75↓

統計学的手法： Bartlett または Dunnett 検定 ↓: p<0.05 ↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

30ppm 群雌で総ビリルビン、総コレステロール及びトリグリセライドの有意な減少が認められ、検体の投与に起因すると考えられるが、全ての各検査項目の個体別値範囲（対照群/雌 30ppm 群；総ビリルビン：1.3-2.4/0.7-1.4；総コレステロール：0.8-1.23/0.56-0.93；総トリグリセライド：0.33-0.78/0.31-0.54）に大きな変動はなく、毒性学的意義はないものと考えられる。

甲状腺ホルモンの分析：投与 2 及び 10 週に全群の全動物を対象として、非絶食下で眼窩後静脈叢から採取した血液の血漿を用いてトリヨウドチロニン (T3)、チロキシン (T4) 及び甲状腺刺激ホルモン (TSH) の測定を行った。

対照群に比し有意な変化を次表に示す。

30ppm 群において、T3 が雄でのみ投与 10 週に有意に低下し、また T4 が雄で投与 2 週に有意に低下し、雌雄で投与 10 週に有意ではないが低下した。TSH に変化はみられなかった。変化の程度は時間依存性のない軽微なものであり、関連する組織学的変化もないことから、甲状腺ホルモンの変化は毒性学的あるいは生物学的に意義はないものと考えられた。

項目	検査時期	性別/投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0.5	3	10	30	0.5	3	10	30
T3	2 週								
	10 週				71↓				
T4	2 週				52↓				
	10 週				75				71

統計学的手法： Dunnett 検定 ↓: p<0.05 ↓: p<0.01 矢印のない数値は有意差なし。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

尿検査：投与終了後の屠殺前に絶食及び無給水下で一夜尿を全群の全生存動物から採取し、以下の項目を検査した。採尿は 4 日間にわたり、各群から毎日同数ずつ採取した。

尿量、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣

いずれの検査項目においても投与関連性の変化は認められなかった。

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

Fipronil

眼科学的検査；投与開始前は全動物、投与 12 週時は対照群及び 30ppm 群の全生存動物を対象として検査した。

検体投与に関連のある異常は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、脾臓、心臓、脳、甲状腺及び上皮小体、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、胸腺、下垂体、

下表に対照群と比べて統計学的に有意差の認められた項目を示す。

臓器重量		性別/投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0.5	3	10	30	0.5	3	10	30
脳	重量 対体重比			109↑	112↑				
肝臓	重量 対体重比							111↑	
心臓	重量 対体重比		115↑						

統計学的手法：Bartlett または Dunnett 検定 ↑↓：p<0.05 ↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

10 及び 30ppm 群の脳重量の対体重比の有意な増加は体重が低かったことによる影響で、毒性学的意義はないと考えられた。

その他の肝臓及び心臓の対体重比が有意に高かったが、用量依存性もなく、病理組織学的変化も認められないので毒性学的意義はないと考えられた。

肉眼的病理検査；投与終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として剖検を行った。

途中死亡動物(雄 1 例、雌 3 例)の全例に副腎の腫大がみられた。肝臓に壊死域が雌 2 例、限局性胃潰瘍/糜爛が雌雄各 1 例に認められた。これらの変化は全て、投与に直接起因するものではなく、ストレスによるものと思われる。

計画殺動物には投与に起因すると考えられる病理学的変化は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について、包埋し、対照群及び 30ppm 群の全動物、並びに 0.5、3、及び 10ppm 群の全動物の腎臓、肝臓、肺及び肉眼的病変部について、ヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本作製し、検鏡した。なお、大腿骨骨髓の塗抹標本はメイ-グリュンワルド-ギムザ染色したが、検査しなかった。

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

Fipronil

乳腺、リンパ節(下顎、腸間膜)、大動脈、唾液腺、関節表面、胸骨及び骨髄、胸腺、気管、肺、心臓、甲状腺、上皮小体、食道、舌、胃、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、大腸(盲腸、結腸、直腸、肛門)、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精囊、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、膣、脳、下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髄(頸部)、眼球(視神経を含む)、ハーダー腺(涙腺)、皮膚、全ての肉眼的病変部

投与に起因すると考えられる病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、フィプロニルの代謝物 F() のラットに対する 13 週間飼料混入投与による亜急性毒性試験における影響として、10ppm 以上の群で攻撃性、接触興奮性、自発運動の亢進、取り扱い時屈曲位が認められ、また、一貫した体重の抑制も認められ、30ppm 群では投与後最初の 2 週間摂餌量の減少がみられた。また、3ppm 群の雄 1 例で攻撃性、接触興奮性が認められた。その他に投与に起因する変化は認められなかった。

従って、無毒性量 (NOAEL) は雄 0.5ppm (0.029mg/kg/日)、雌 3ppm (0.210mg/kg/日) と判断される。

しかし、申請者は攻撃性、接触興奮性の低頻度の発生頻度は背景データの範囲内であることから無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 3ppm (雄 0.18mg/kg/日、雌 0.21mg/kg/日) と判断する。

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

Fipronil

(2) 代謝物 F : のマウスを用いた亜急性毒性試験 (資料 48)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作製年:

検体純度: (代謝物 F)

試験動物: OF1 マウス、6~7 週齢、体重: 雄 28.2~32.6g; 雌 22.2~24.8g、1 群雌雄各 10 匹

試験期間: 13 週間(3 月 23 日~ 7 月 22 日)

投与方法: 検体をアセトンに溶解し、20ppm のプレミックスを調製し、これを希釈して 0、0.5、2 及び 10ppm の混餌を調製し、13 週間にわたって投与した。混餌は試験期間中 2 回調製した。

投与量設定根拠: 同試験機関において、同系統のマウスを用い 0、0.5、3、30 及び 60ppm の用量で実施した 4 週間反復経口投与予備毒性試験の結果、30 及び 60ppm 群の主要な臨床症状として自発運動の亢進、過度の跳び上り、接触興奮性及び強迫的刺咬が認められた。

60ppm 群において、雄では投与 1 週の摂餌量は対照群の 50% に減少し、体重も減少がみられ、投与 14 日以内に全例が死亡した。雌では 1 週に軽度の摂餌量の減少(対照比 78%) を伴い軽度の体重の抑制が認められ、雌 6 例が投与 16 日以内に死亡した。

30ppm 群において、雄では最初の 2 週間摂餌量が減少し、体重の減少が投与 1 週に認められ、その後、生存動物では体重は安定したが、対照群より低いままであった。雄 7 例が死亡した。雌では摂餌量が 3 週に僅かに減少したのみであったが、2 例が死亡した。

組織学的検査で、30 及び 60ppm の雌雄で肝臓に軽微な小葉中心性肥大が認められた(30ppm 群の雄の死亡例で 3/7 例、生存例で 2/3 例、合計 5/10 例、雌の生存例で 1/8 例、合計 1/10 例; 60ppm 群の雄の死亡例で 2/10 例、雌の死亡例で 1/6 例、合計 1/10 例)。

3ppm 以下の群では投与に起因する影響が認められなかったため、亜急性毒性試験における用量として最高用量を 10ppm とし、さらに 2 及び 0.5ppm を選定し試験した。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日観察した。

10ppm 群の雄で 9 例、雌で 1 例の死亡が認められた。雄の生存 1 例は投与 84 日に屠殺した。死亡前に、雄 2 例で過度の跳び上り、雄 1 例で接触興奮性あるいは攻撃性がみられた以外にほとんど臨床症状は認められなかった。

認められた主要な臨床所見を次表に示す(死亡動物を含む各群 10 例中の発生動物数)。

臨床所見	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	0.5	2.0	10.0	0	0.5	2.0	10.0
自発運動の亢進			1	1				
攻撃性		1	2	1		1		
接触興奮性			2	1				
過度の跳び上り				2				

空欄は発生なし。

上表のように用量関連性はないが、攻撃性、接触興奮性、自発運動の亢進等が投与群で時々認められた。

申請者注) 投与 1 週においてはいずれの投与群でも異常は認められなかった。

体重変化；毎週 1 回、全ての動物の体重を測定した。

投与に起因する影響は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

投与に起因する影響は認められなかった。

検体摂餌量；投与期間中の 1 日当たり平均検体摂取量は以下のとおりである。

投与量 (ppm)	0.5		2.0		10.0	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
摂取量 (mg/kg)	0.08	0.11	0.32	0.43	1.74	2.15

血液生化学的検査；投与終了時の剖検前に全生存動物を対象として 3 日間にわたり、各群から毎日同数ずつ眼窩後静脈叢から一晩絶食後に採血し、得られた血漿を用いて、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、総蛋白、アルブミン、ビリルビン、尿素窒素、総コレステロール

対照群に比し有意な変化を次表に示す。

検査項目	性別/投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	0.5	2	10	0.5	2	10
アルカリホスファターゼ						161↑

統計学的手法：Dunnett または Mann-Whitney 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

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

Fipronil

アルカリホスファターゼ活性の亢進が 10ppm 群雌で認められたが、この群の 1 例が極めて高く、また対照群の 1 例が非常に低かったことに起因するもので、偶発的变化と考えられた。

眼科学的検査：投与開始前は全動物を対象として検査したが、過失で試験終了時に再検査しなかった。しかし、試験終了時の病理組織学的検査で投与関連性の変化がみられなかったため、試験結果に影響は及ぼさなかったと判断する。

臓器重量：試験終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、脾臓、心臓、脳、精巣

雄で 2ppm 及び雌で 10ppm まで、検査した臓器重量に有意な変化は認められなかった（雄 10ppm 群は全例途中死亡あるいは途中屠殺）。

肉眼的病理検査：投与終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として剖検を行った。

途中死亡動物（10ppm 群の雄 10 例、雌 1 例）において、雄の 3/10 例に肝臓の腫大、4/10 例に小型胸腺がみられた。雌の 1 例に肉眼的異常はみられなかった。

計画殺動物には投与に起因すると考えられる肉眼的変化は認められなかった。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について、包埋し、対照群、2 及び 10ppm 群の全動物、並びに 0.5ppm 群の全動物の腎臓、肝臓、肺及び肉眼的病変部について、ヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本作製し、検鏡した。なお、大腿骨骨髓の塗抹標本はメイ-グリュンワルド-ギムザ染色したが、検査しなかった。

乳腺、リンパ節（下顎、腸間膜）、大動脈、唾液腺、関節表面（大腿脛骨）、胸骨及び骨髓、胸腺、気管、肺、心臓、甲状腺、上皮小体、食道、舌、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓、胆嚢、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、陰、脳、下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髓（頸部、胸部、腰部）、眼球（視神経を含む）、ハーダー腺（涙腺）、皮膚、全ての肉眼的病変部

途中死亡動物（10ppm 群の雄 10 例、雌 1 例）において、雄の 6/10 例に肝臓に軽度の小葉中心性肥大がみられ、1 例では肝細胞の分裂像がみられた。雌の 1 例は顕著な自己融解のために詳細に観察できなかった。

計画殺動物では雄で 2ppm 及び雌で 10ppm まで、投与に起因すると考えられる病理組織学的変化は認められなかった。

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

Fipronil

以上の結果から、フィプロニルの代謝物 F()のマウスに対する 13 週間飼料混入投与による影響として、10ppm 群では雄で全例が死亡/切迫殺、雌で 1 例が死亡したが、過度の跳び上り、接触興奮性あるいは攻撃性が 1 ないし 2 例にみられた以外にほとんど臨床症状は認められなかった。10ppm 群雄で肝臓に軽度の小葉中心性肥大がみられた。

従って、無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 2ppm (雄 0.32mg/kg/日、雌 0.43mg/kg/日) と判断される。

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

Fipronil

(3) 代謝物 F : のイヌを用いた亜急性毒性試験 (資料 49)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作製年:

検体純度: (代謝物 F)

試験動物: 純系ビーグル犬、35 週齢、体重: 雄 9.1~12.3kg; 雌 6.7~9.6kg、1 群雌雄各 5 頭

試験期間: 13 週間(8 月 25 日 ~ 11 月 25 日)

投与方法: 粉碎した検体を直接飼料に混合し、0、3.5、9.5 及び 35ppm の濃度の飼料を調製し、
13 週間にわたって混餌投与した。混餌は試験中 7 回調製した。

投与量設定根拠: 同試験機関において、同系統のイヌを用い、0、27、80 及び 270ppm の用量で、雌雄各 2 頭を用い実施した 4 週間反復経口投与予備毒性試験の結果、270ppm では摂餌量は投与 2 日から減少し、特に投与 6 日から摂餌がなく、脱糞もほとんどなく、消瘦、体重の減少がみられ 10 日に屠殺した。病理検査はしなかった。

80ppm 群では、摂餌量は投与 4 ないし 6 日から減少し、体重も減少した。臨床症状として、自発運動量の低下、失調性歩行、刺激興奮性、流涎の増加、脱糞の減少、消瘦がみられ、雌雄各 1 例を投与 10 日に、残りを投与 15 日に切迫殺した。病理学的に肝臓の瀰漫性類洞内白血球増多症及び小葉中心性肝細胞肥大が全 4 例に、多巣性水腫変性及び門脈周囲線維化を伴う慢性肝炎が雌雄各 1 例に認められた。また、顕著な胸腺の萎縮もみられた。

27ppm 群では雄 1 例が試験最終日に間代性痙攣を示した。雄において胸腺重量の低下がみられ、また雌 1 例で肝臓の蒼白がみられたが、組織学的に投与に起因する変化はみられなかった。

以上の結果から、予備試験では無作用量は求められなかったが、亜急性毒性試験における用量として最高用量を 35ppm とし、さらに 9.5 及び 3.5ppm を選定し、試験した。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日観察した。また詳細な身体検査として、投与 2 週間前および投与期間中は毎週 1 回、特に被毛、皮膚、眼、耳、歯、歯肉、粘膜、直腸温、歩行、姿勢、一般行動、心拍数および呼吸数を含む胸部、腹部触診、外生殖器および乳腺に注意して検査を行った。

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

Fipronil

さらに脳神経反射（瞳孔反射、共感性対光反射、眼瞼反射、角膜反射）、分節反射（交叉性伸筋反射を含む撤去屈筋反射）、姿勢反応（置き直し、視覚および触覚性反応）について検査した。

35ppm 群の雌 1 例で、投与 28 日に流涎増加、疲弊および振戦などの中枢性神経毒性が認められたため、切迫屠殺した。しかしながら、病理学的検査では中枢・末梢神経に異常は認められなかった。さらに同群では、別の個体が投与 84 日に、流涎増加、興奮性及び振戦などの中枢性神経毒性が認められた。これらの神経毒性は、検体投与に起因する毒性であると考えられる。

体重変化：毎週 1 回、全ての動物の体重を給餌前に測定した。

雌雄いずれにも投与による影響は認められなかった。

摂餌量：全動物の摂餌量は毎日飼料残量を測定して算出した。

投与による摂餌量への影響は認められなかった。

検体摂餌量：投与期間中の 1 日当たり平均検体摂取量は以下のとおりである。

投与量 (ppm)	3.5		9.5		35	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
摂取量 (mg/kg)	0.10	0.10	0.27	0.29	0.95	1.05

血液学的検査：投与前、投与 6 及び 13 週後に、動物の頸静脈から採取した血液を用いて、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球色素量、平均赤血球色素濃度、白血球数、血液塗抹、血液像、血小板数、網状赤血球数 (RBC に有意な変化がなかったため、検査しなかった)、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間

全ての投与群で、いずれの検査項目にも、対照群に比し毒性学的に有意な変化はみられなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査と同じ時に採血した血液から得られた血漿を用いて、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、総蛋白、アルブミン、グルコース、ビリルビン、尿素窒素、総コレステロール、トリグリセライド、クレアチニン、電解質 (ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン)

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

Fipronil

次表のように、9.5ppm 群の雄 1 例（動物番号：FT3M2550）で、アラニンアミノトランスフェラーゼ及びアルカリホスファターゼ活性が高かったが、同様の変化が 35ppm 群で認められなかったため、この変化は投与に関連がないと考えられた。

検査項目(単位 IU/L)	投与後 41 日		投与後 86 日	
	対照	9.5ppm	対照	9.5ppm
アラニンアミノトランスフェラーゼ*	28.2	55	70.8	178
アルカリホスファターゼ*	70.8	113	52.0	374

対照群は平均値、9.5ppm 群は異常値を示した 1 例の値。

尿検査：投与開始 8 日前、投与 6 及び 13 週時に給水制限をせず一夜尿を全群の全生存動物から採取し、以下の項目を検査した。

pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣、

投与後 13 週において、35ppm 群雄の pH が有意に高かった(対照群の 6.30 に対し、7.10: Dunnett' s test; $p \leq 0.01$)。その他の検査項目においては投与関連性の変化は認められなかった。

眼科学的検査：投与開始前、投与 6 及び 13 週時に全生存動物を対象として検査した。

検体投与に関連のある異常は認められなかった。

臓器重量：試験終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、脾臓、心臓、脳、甲状腺及び上皮小体、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、胸腺、下垂体

検体投与に関連のある有意な変化は認められなかった。

肉眼的病理検査：投与終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として剖検を行った。

切迫殺動物 1 例及び計画殺動物とも、投与に起因すると考えられる病理学的変化は認められなかった。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について、ヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本作製し、対照群及び高用量群について検鏡した。さらに、中及び低用量群の腎臓、肝臓、肺、心臓及び胆嚢についても検査した。骨髄の塗抹標本はメイ-グリュンワルド-ギムザ染色して病理標本作製したが、有意な血液学的変化が認められなかったため検査しなかった。

乳腺、リンパ節(咽頭後、腸間膜)、大動脈、唾液腺(顎下腺)、関節表面、大腿骨、胸骨及び骨髄、胸腺、気管、肺、心臓、甲状腺、上皮小体、食道、舌、胃、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、大腸(盲腸、結腸、直腸、肛門)、肝臓、胆嚢、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、卵管、子宮、陰、脳、

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

Fipronil

下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髄(頸部、胸部、腰部)、眼球(視神経を合む)、皮膚、
全ての肉眼的病変部

切迫殺動物(35ppm 群雌 1 例)では、動脈炎、心筋炎および心筋細胞壊死が認められており、心筋梗塞の発症が疑われる。しかしながら、心臓での動脈炎は対照群の雌 2 例でも認められていることから、動脈炎およびこれに関連すると考えられる心筋梗塞は検体投与に関連しないものと考えられる。

計画殺動物には投与に起因すると考えられる病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、フィプロニルの代謝物 F()をイヌに 35ppm まで投与した 13 週間混餌亜急性毒性試験における影響として、35ppm 群の雌 1 例で、投与関連性が考えられる過度の犬吠及び攻撃性、流涎増加、興奮性及び振戦が認められたことから、無毒性量 (NOAEL) は、9.5ppm(雄 0.27 mg/kg/日、雌 0.29 mg/kg/日)と判断される。

申請者注

無毒性量について

報告書では無毒性量は上記のように 35ppm 群の雌 1 例における投与関連性が考えられる一般状態の変化から 9.5ppm とされている。しかし、雄において、35ppm 群では尿の pH が対照群の 6.30 に対し、7.10 で有意であったのみであり、これに関連のある変化が臨床検査及び病理学的検査でも認められていないため、無毒性量は雄で 35ppm(0.95mg/kg/日)、雌で 9.5ppm(0.29mg/kg/日)と判断する。

血液学的検査および生化学的検査の統計検定について

本報告書では投与前の値と投与後の検査日の値との差について統計学的検討を実施している。有意差の認められた項目は次頁の表のとおりである。

報告書において、これらの項目の投与前からの変動の有意差については言及していないことから、毒性影響としていないと考えられる。

実測値をみると、

- 1) 好中球およびリンパ球の有意差は比率のみで白血球数に有意な変動はない、
- 2) プロトロンビン時間および塩素は用量関連性がみられない、
- 3) グルコースの 35ppm 群の高値は投与前の 3.5ppm 群の値より低い、

など、申請者としても有意差な変動のみられたこれらの項目は、実測値の投与前/投与後、対照群との比較および用量関連性を考慮し、毒性学的意義はないものとする。

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

Fipronil

血液学的検査：

雄					
項目	検査時期	対照	3.5ppm	9.5ppm	35ppm
プロトン ピン時間 (秒)	投与前	6.82	6.93	6.94	7.12
	第6週	7.12	6.98	6.96	7.00
	(投与前との差)	0.30	0.07	0.02	-0.12 ↓
雌					
項目	検査時期	対照	3.5ppm	9.5ppm	35ppm
好中球 (%)	投与前	66.0	61.4	68.8	66.0
	第6週	58.8	65.6	62.5	70.8
	(投与前との差)	-7.20	4.20 ↑	-8.00	5.50 ↑
リンパ球 (%)	投与前	30.0	34.2	27.0	30.2
	第6週	36.4	29.8	31.8	25.5
	(投与前との差)	6.4	-4.4 ↓	6.7	-5.2 ↓

表中の値は群平均値。

Dunnett 検定または Mann-Whitney 検定： ↓ ↑ ; $\alpha=0.05$

生化学的検査：

雄					
項目	検査時期	対照	3.5ppm	9.5ppm	35ppm
塩素 (nmol/L)	投与前	109.2	109.2	109.8	111.4
	12週	112.2	110.6	111.8	111.6
	(投与前との差)	3.0	1.4	2.0	0.2 ↓
雌					
項目	検査時期	対照	3.5ppm	9.5ppm	35ppm
グルコース (nmol/L)	投与前	6.678	7.146	6.564	6.356
	12週	4.984	5.328	5.74	6.633
	(投与前との差)	-1.694	-1.818	-0.820	0.405 ↑

表中の値は群平均値。

Dunnett 検定または Mann-Whitney 検定： ↓ ↑ ; $\alpha=0.05$, ↑ ; $\alpha=0.01$

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

Fipronil

10-1-4. 慢性毒性/発がん性併合試験

代謝物 F: のラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験 (資料 50)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作製年:

検体純度: (代謝物 F)

試験動物: Sprague-Dawley 系ラット Ico:OFA SD (IOPS Caw)、6~7 週齢、体重: 雄 184~238g ;
雌 136~184g、1 群雌雄各 10 匹(慢性毒性群)及び 60 匹(発がん性試験群)

試験期間: 発がん性群: 104 週間(6 月 8 日~ 6 月 15 日)
慢性毒性群: 53 週間(6 月 8 日~ 6 月 17 日)

投与方法: 検体を微粉碎して 130ppm のプレミックスを調製後、基礎飼料で希釈して 0、0.5、2
及び 10ppm の濃度の混餌を調製し 104 週間にわたって混餌投与した。なお、10ppm
群の雌は死亡率の増加のために、27 週から用量を 6ppm に減じた。
混餌は当初 2 及び 3 週間分調製したが、その後は 4 週毎に調製した。

群の構成は以下のとおりとした。

群	用量 (ppm)	供試動物数	
		中間屠殺 (1)	最終屠殺 (2)
1	0	10	60
2	0.5	10	60
3	2	10	60
4	10*	10	60

*: 雌は死亡率の増加のために、27 週から用量を 6ppm に減じた

(1): 慢性毒性に供試、54 週で屠殺した。

(2): 発がん性試験に供試、105 及び 106 週に屠殺した。

投与量設定根拠: 同試験機関において、Sprague-Dawley 系ラットを用い 0、0.5、3、10 及
び 30ppm の用量で実施した 13 週間反復経口投与毒性試験の結果(資料 47)に基づい
て設定した。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日観察した。

死亡率及び試験開始 26 週間の平均検体摂取量を次表に示した。

10ppm 群の雌で雄よりも高い死亡率が認められ、検体摂取量が雌は雄よりも多かつ
たので、残りの投与期間の検体摂取量が雌雄で同じになるようにするために、雌の
み用量を 6ppm に試験 183 日から減じた。

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

Fipronil

	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6*
1-26 週の死亡率	1/70	0/70	1/70	3/70	1/70	0/70	0/70	7/70
26 週間の平均検体 摂取量 (mg/kg/日)	0	0.032	0.127	0.644	0	0.041	0.165	0.853
54 週時中間屠殺数	9	9	10	8	10	10	8	7
1-104 週の死亡数	28	40↑	37	40↑	28	32	37	41↑
最終屠殺数	33	21	23	22	32	28	25	22

*: 雌は死亡率の増加のために、27 週から用量を 6ppm に減じた。

統計学的手法: Cox 検定 ↑↓: p<0.05

死亡率は雄の 0.5 及び 10ppm 群及び雌の 10/6ppm 群は対照群に比し、有意に増加した。

しかし、これらの生存率は大部分が背景データ (次表参照) の範囲にあり、用量関連性もないことから、死亡率に及ぼす投与の影響はないと考えられる。

生存率の最近の背景データとの比較

用量 ppm/ 背景データ	試験群				背景データ			
	0	0.5	2	10	試験 47	試験 96	試験 56	試験 83
雄 補正生存率 a	53.6	33.4	38.7	35.9	38.3	58.8	48.3	50.2
CI95%b	40.9-66.4	21.2-45.6	26.4-51.1	23.9-47.9	26.1-50.6	46.2-71.4	35.7-61.0	37.6-62.9
雌 補正生存率 a	54.0	46.8	40.6	35.4	61.7	43.6	56.9	61.8
CI95%b	41.4-66.6	34.2-59.4	28.3-52.8	23.6-47.3	49.4-74.0	31.4-55.9	44.4-69.4	49.5-74.1

a: 途中屠殺動物について補正後の試験終了時の Kaplan-Meier 推定生存率%

b: 推定分散に関する Greenwood 式を用いた信頼区間

主要な死因はこの系統のラットの加齢に伴い発生する進行性慢性腎症とその二次的変化、大きな下垂体腫瘍及び乳腺の潰瘍を生じた大きな線維腺腫であった。

認められた主要な臨床所見を次表に示す (各群 70 例中の発生動物数)。

臨床所見	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6
接触興奮性	3	3	8	10	0	4	0	25
攻撃性	2	0	4	9	0	2	1	20
痙攣 (合計数)	7	2	9	10	5	8	13↑	20↑
強直性痙攣	2	1	6	3	2	5	9	11
間代性痙攣	7	2	9	9	5	8	13	16

統計学的手法: Fisher 直接確率検定 ↑: p<0.05 ↑↑: p<0.01

攻撃性、接触興奮性を示す動物数が 10ppm 群雄及び 10/6ppm 群雌で増加、2ppm 群雄では増加傾向にあったが、試験期間中に 2 ないし 3 回以上これらの症状を示す動物はいなかった。全群の動物に痙攣が認められたが、2 及び 10/6ppm 群の雌のみ統計学的に有意な発生頻度の増加がみられた。少数の動物で試験期間中に数回痙攣がみられ、雌

雄各 1 例は痙攣を示した後死亡発見された。雌において、痙攣発現初日の平均値及び痙攣発現日の中央値は次表のとおりで統計学的に有意差でなかったため、投与関連性の影響は 2 及び 10/6ppm 群における痙攣を示した動物数のみに認められた。

慢性毒性及び発がん性群の雌に認められた痙攣(強直性+間代性)の発現時期

	雌(投与量 ppm)			
	0	0.5	2	10/6
痙攣発現初日の平均(日)*	393.8	358.8	344.2	301.2
痙攣発現の中央値(日)**	412	370	308	254.5

注：*は Mann-Whitney-Wilcoxon(片側)、**は Fisher 直接確率検定で有意差なし。

体重変化：投与開始から 13 週間は毎週、その後は 4 週ごとに、全ての生存動物の体重を測定した。

対照群に比し体重に有意な変化が認められた時期について次表に示す。

軽度体重の増加が試験 10~53 週まで 10/6ppm 群雌で認められたが、その後は対照群に比し有意差は認められなかった。また、2ppm 群雌でも軽度の増加が散見された。雄では体重への影響はほとんど認められなかった。

測定時期ごとの体重増加については各群で有意な増加あるいは減少が散見された。

測定時期(週)	性別/投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	0.5	2	10	0.5	2	10/6
1						96↓
4					93↓	100
7					104↑	104↑
10	105↑		104↑		104↑	107↑
13			103	104↑	105↑	110↑
25			102			108↑
29					105↑	110↑
33			106↑			
37			106↑			108↑
45				109↑	111↑	112↑
49			103		107↑	108↑
53			100	105↑	108↑	110↑
65			102			107
69	108↑	110↑	108↑			
77			103			101
89			102			99
101	96	98	91	102	100	93

統計学的手法：Dunnett または Mann-Whitney 検定 ↑: p<0.05 ↓: p<0.01

矢印のない数値は有意差なし。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

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

Fipronil

摂餌量及び食餌効率：投与開始から 13 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回全ての生存動物の摂餌量を測定し、食餌効率も算出した。

対照群に比し摂餌量に有意な変化が認められた時期のみ次表に示す。

摂餌量は投与群雌雄共、有意な変化（投与初期に減少、多くは増加）が散見され、特に 10/6ppm 群雌で試験 10～37 週に増加が続いた。

測定時期(週)	性別/投与量(ppm)					
	雄			雌		
	0.5	2	10	0.5	2	10/6
1				87↓		93↓
2			95↓	110↑		
4			108↑			
6			105↑			
7		91↓			111↑	124↑
10			114↑	109↑		123↑
11					108↑	111↑
12		106↑				
13						119↑
17				116↑	112↑	119↑
21						115↑
25						110↑
29	104↑		104↑		106↑	114↑
37						110↑
45				149↑	161↑	158↑
69	114↑	113↑	114↑			
73					107↑	
77			87↓			
85		106↑				
101			113↑			

統計学的手法：Dunnett または Mann-Whitney 検定 ↑↓: p<0.05 ↑↓: p<0.01
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

検体摂餌量：投与期間中の 1 日当たり平均検体摂取量 (mg/kg/日) は以下のとおりである。

投与量 (ppm)	0.5		2		10	10/6
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
試験 1-53 週	0.028	0.039	0.113	0.143	0.563	0.733
試験 1-101 週	0.025	0.032	0.098	0.127	0.497	0.546

血液学的検査：慢性毒性群の動物については投与 26 及び 52 週に全生存動物を対象として、発がん性試験群の動物については、各群雌雄の動物番号の小さいものから順にそれぞれ生存 10 例を対象として、投与 26、52、78 及び 104 週に眼窩後静脈叢から採取し、以下の項目の測定を行った。採血は一晩絶食後に行った。

赤血球数、白血球数、血液塗抹(検査せず)、血液像、血小板数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、網状赤血球数(赤血球に影響ないため検査せず)、プロトロンビン時間

対照群に比し有意な変化を次表に示す。

検査時期/項目	性別/投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	0.5	2	10	0.5	2	10/6
52 週 好中球%				125↑		
78 週 好中球%				137↑		
リンパ球%				81↓		
104 週 赤血球		125↑				
好中球%			141↑			
リンパ球%			75↓			

統計学的手法： Dunnett または Mann-Whitney 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

2ppm 群雄において、赤血球数の有意な上昇が、104 週に認められた。しかしながらこの反応は、用量依存性の無い単発的なものであるため、毒性学的意義はないと考えられる。10ppm 群雄において、好中球及びリンパ球比率に有意な変化が認められたが、これらの絶対数に有意な変化がなく、またこれらの変化は数例の動物における偶発的な炎症及び/又は腫瘍の発生のためと考えられ、投与に関連のない変化と考えられた。その他の有意な変化も用量関連性もなく偶発的な変化であった。

血液生化学的検査：血液学的検査と同時に採血した血液から得られた血漿を用いて、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、総蛋白、アルブミン、グルコース、ビリルビン、尿素窒素、総コレステロール、トリグリセライド、クレアチニン、電解質(ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン)

対照群に比し有意な変化を次表に示す。

検査時期/項目	性別/投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	0.5	2	10	0.5	2	10/6
26 週 尿素	118↑					
総蛋白		97↓				
総ビリルビン						80↓
グルコース				109↑		120↑
トリグリセライド						56↓
塩素					101↑	
52 週 ASAT				70↓		
ALAT				72↓	74↓	
AP				137↑	126↑	
78 週 ALAT				136↑		
104 週 無機リン						118↑

統計学的手法： Dunnett または Mann-Whitney 検定 ↑↓: p<0.05 ↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

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

Fipronil

10/6ppm 群雌で 26 週にグルコースの有意な増加、総ビリルビン及びトリグリセライドの有意な減少が認められた。104 週に無機リンの有意な増加が認められたが、数例の個体別値が併設対照群の値を超えたのみであった。したがって、これらの変化は投与関連があると判断できなかった。そのほかの有意な変化は用量関連性もないので投与に関連があるとは考えられなかった。

尿検査：慢性毒性群の動物については投与 25 及び 51 週に全生存動物を対象として、発がん性試験群の動物については、各群雌雄の動物番号の小さいものから順にそれぞれ生存 10 例を対象として、投与 25、51、77 及び 103 週に絶食及び無給水で一夜尿(約 16 時間)を採血した同じ動物から採取し、以下の項目について検査した。

尿量、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣

対照群に比し有意な変化を次表に示す。

検査項目	検査時期	性別/投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	0.5	2	10	0	0.5	2	10
pH	25 週	6.97	7.15	7.00	7.11	5.88	6.18	6.08	6.50↑
	51 週	6.85	6.95	7.00	6.72	6.28	6.20	6.41	6.23
	77 週	6.65	7.30	7.22	7.15	6.35	6.39	6.75	6.50
	103 週	6.15	6.95↑	6.25	6.56	6.50	6.50	6.25	6.05

統計学的手法：Dunnett または Mann-Whitney 検定 ↑↓: $p < 0.05$ ↑↓: $p < 0.01$

pH の有意な高値が 10/6ppm 群雌で試験 25 週に認められたが、試験期間中対照群雌の 25 週のみ値が低く、投与群ではほとんど変動がないことから、偶発的変化と考えられた。また、0.5ppm 群雄で 103 週に高値が認められたが、用量関連性もなく、偶発的と考えられた。その他のいずれの検査項目においても投与関連性の変化は認められなかった。

眼科学的検査：投与開始前は全動物、投与 53 及び 104 週時は全生存動物を対象として検査した。

検体投与に関連のある異常は認められなかった。

臓器重量：試験終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、脾臓、心臓、脳、甲状腺及び上皮小体、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、胸腺、下垂体

下表に対照群と比べて統計学的に有意差の認められた項目を示す。

検査時期/臓器重量		性別/投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		0.5	2	10	0.5	2	10/6
53 週	最終体重						
	子宮重量						144↑
104 週	最終体重		111↑				
	前立腺重量			133↑			
	副腎対体重比						126↑

統計学的手法：Dunnett または Mann-Whitney 検定 ↑: $p < 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

上記のような臓器重量の増加が認められたが、いずれも、絶対重量のみ、あるいは対体重比のみの変化であり、且ついずれの臓器にも投与に起因する組織学的変化が認められないので、投与に関連がないと考えられた。

肉眼的病理検査：投与終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として剖検を行った。

53 週中間屠殺動物(慢性毒性)、途中死亡動物及び最終屠殺動物(発がん性)のいずれにも投与に起因する肉眼的所見は認められなかった。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について、包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。

中間屠殺群(慢性毒性)の生存動物については対照群及び高用量群の動物の全例並びに低及び中用量群の動物全例の肝臓、腎臓、肺及び脾臓並びに全例の全ての肉眼的病変部について検鏡した。

死亡/切迫殺及び最終屠殺動物(発がん性試験)については、全動物の全ての組織について検鏡した。

骨髄の塗抹標本(有意な血液学的変化が認められなかったので検査しなかった)はメイグリュンワルド-ギムザ染色して病理標本を作製し保存した。

乳腺、リンパ節(下顎、腸間膜)、大動脈、唾液腺、関節表面(大腿脛骨)、胸骨及び骨髄、胸腺、気管、肺、心臓、甲状腺、上皮小体、食道、舌、喉頭、胃、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、大腸(盲腸、結腸、直腸)、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精囊、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、膣、脳、下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髄(頸部、胸部、腰部)、眼球(視神経を含む)、ハーダー腺(涙腺)、皮膚、全ての肉眼的病変部

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

Fipronil

非腫瘍性病変：主要な非腫瘍性病変を表 1(53 週中間屠殺動物)及び表 2(死亡/切迫殺動物及び最終屠殺動物)に示す

53 週中間屠殺動物(慢性毒性試験群)及び発がん性試験群の非腫瘍性病変に投与関連性の病理組織学的変化は認められなかった。

最終屠殺において、10ppm 群雄で肝臓の海綿状変性の発生頻度が最終屠殺動物で高かったが、有意な変動ではなかった(Fischer's exact test を申請者が実施)。また、この病変は加齢ラットの肝臓に自然発生することが知られており、同時期に本試験機関で実施した別の試験の対照群で 7/70 例の発生がみられていることから、本試験の 10ppm 群の 8/70 例(試験に使用した全動物)は投与に起因する影響とは考えられなかった。また、軽度ないし中度の瀰漫性肝細胞肥大が投与群雌で対照群より発生が多かったが、用量関連性もなく、死亡切迫殺動物の発生頻度と大差がないことから投与に起因する影響とは考えられなかった。

腫瘍性病変：全ての腫瘍性病変を表 3 に示す

供試全動物における下垂体前葉腺腫の発生頻度が 0.5 及び 10ppm 群の雄で高値を示した(それぞれ 45.8%及び 44.3%)。この差は年齢調整解析で 10ppm 群の雄のみで有意であったが、傾向検定では有意差がなく、雌雄同一性も用量関連性も認められなかった。下垂体前葉は、副腎(副腎皮質刺激ホルモン)や甲状腺(甲状腺刺激ホルモン)に作用するホルモンを合成・分泌する器官であるが、本試験ではこれらの臓器に対照群と比較して明らかな病理組織学的異常は認められなかった。したがって、本試験で認められた下垂体腫瘍発生の有意な増加には、毒性学的意義はないと考えられる。

その他の腫瘍性病変に投与関連性の変化は認められなかった。

以上の結果から、フィプロニルの代謝物 F()のラットに対する 53 及び 104 週間飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験において、高用量群雌は 10ppm を 26 週間投与後、死亡率の増加のために、投与量を 6ppm に低減した。その結果、全ての群で死亡率に及ぼす投与の影響は認められなかった。投与による影響として、攻撃性、接触興奮性を示す動物数が 10ppm 群雄及び 10/6ppm 群雌で増加、2ppm 群雌では増加傾向にあり、また痙攣発生動物数の増加が 2 及び 10/6ppm 群の雌のみ統計学的に有意であった。また、10/6ppm 群雌で 26 週にグルコースの有意な増加、総ビリルビン及びトリグリセライドの有意な減少が認められたのみであった。

従って、無毒性量(NOEL)は 0.5ppm(雄 0.025mg/kg/日、雌 0.032mg/kg/日)と判断される。試験した最高用量で催腫瘍性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 BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

表 1 53 週中間層殺動物における主要な非腫瘍性病変

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10	
肝臓	検査動物数	9	9	10	8	10	10	8	7
	変異細胞巣-好酸性	1	2		4				
	肝細胞空胞化-瀰漫性	3	7	5	6	5	7	4	6
	実質炎症性細胞巣	3	2	4	6	5	2	2	4
	間質浸潤-主に単核細胞性	8	9	10	7	10	10	8	7
腎臓	検査動物数	9	9	10	8	10	10	8	7
	慢性進行性腎症	8	8	10	7	6	6	4	2
	腎盂移行上皮過形成	3	2	3	2	4	4	4	3
	腎盂鉍質沈着	5	2	4	7	5	4	5	3
精巣 上体	検査動物数	9	0	0	8				
	間質浸潤/精巣上体炎	7			5				
前立腺	検査動物数	9	0	0	8				
	前立腺炎	2			1				
	好塩基性結石の増加				1				
子宮	検査動物数					10	1	0	7
	腔拡張					2	1		2
	腺様拡張					6			2
卵巣	検査動物数					10	1	0	7
	限局性過形成-性索間質/sertoliform細胞								1
心臓	検査動物数	9	0	0	8	10	0	0	7
	心筋症	8			8	6			5
肺	検査動物数	9	9	10	8	10	10	8	7
	肺胞マクロファージ	6	5	5	2	4	3	5	2
	間質浸潤-主に単核細胞性	2	4	6	2	3	3	4	
胸腺	検査動物数	8	0	1	8	10	0	1	7
	萎縮	7			8	10		1	7
脾臓	検査動物数	9	0	0	8	10	0	0	7
	萎縮	6			1	3			3
	間質浸潤-主に単核細胞性	4			6	4			5
胃	検査動物数	9	1	0	8	10	1	0	7
	胃低腺拡張	1	1		1	1			
下垂体	検査動物数	9	0	1	8	10	3	2	7
	限局性過形成-前葉	2			1	3		1	1
副腎	検査動物数	9	1	0	8	10	0	1	7
	皮質限局性過形成	5			6	5			2
	皮質限局性変性/肥大	5	1		7	10			6
	空胞化-束状帯細胞	9	1		8	9		1	7
	空胞化-球状帯細胞	5			7	7		1	3
甲状腺	検査動物数	9	0	0	8	10	1	1	7
	限局性 C-細胞過形成	2			3	1			2
	瀰漫性 C-細胞過形成								2
ハタゲ腺	検査動物数	9	0	0	8	10	0	0	7
	腺炎/炎症細胞浸潤	5			8	9			3

空欄は発生なし

表 2 死亡/切迫殺動物及び最終屠殺動物における主要な非腫瘍性病変

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10	
死亡/切迫殺動物									
肝臓	検査動物数	27	39	36	40	28	32	37	41
	海綿状変性		1		1				1
	変異細胞巣-好酸性	3		2	1	4	3	5	8
	変異細胞巣-好塩基性	6	6	6	5	6	8	8	7
	変異細胞巣-明細胞	3	4	3	3	1	3	5	3
	肝細胞肥大-瀰漫性	2		1	3	4	4		4
	肝細胞肥大-門脈周囲	1	2	1	4	5	6	2	5
	肝細胞空胞化-瀰漫性	2	6	12	9	9	5	7	11
	瀰漫性過形成-胆管	9	13	5	8	9	7	6	9
	実質炎症性細胞巣	6	11	7	16	3	8	3	15
	間質浸潤-主に単核細胞性	22	27	30	29	16	19	19	26
	類洞拡張/鬱血	23	33	29	28	16	15	21	19
	腎臓	検査動物数	28	39	34	39	28	32	37
尿細管細胞過形成-異型性		10	12	16	16	2	1	5	1
尿細管細胞過形成-単純性		12	11	7	11	4	7	8	10
慢性進行性腎症		27	38	31	37	20	23	29	28
尿細管好酸性円柱		11	9	15	14				1
腎盂移行上皮過形成		13	25	16	21	22	24	30	21
腎盂鉍質沈着		14	20	19	25	25	29	31	32
精巣		検査動物数	28	39	34	40			
	尿細管萎縮	20	20	20	25				
	動脈炎/動脈周囲炎	14	10	13	11				
精巣 上体	検査動物数	28	39	36	40				
	間質浸潤/精巣上体炎	13	10	9	7				
	腔内精子残屑	13	15	16	21				
	精液過少	8	10	7	10				
前立腺	検査動物数	28	38	34	40				
	前立腺炎	8	8	8	14				
	好塩基性結石の増加	7	11	10	16				
子宮	検査動物数					27	32	37	40
	腔拡張					1	3	2	7
	腺様拡張					6	9	13	13
卵巣	検査動物数					27	32	37	40
	限局性過形成-乳頭/嚢胞状					7	10	13	8
	限局性過形成-性索間質/sertoli form 細胞					12	10	16	18
	萎縮					4	8	13	13
脳	検査動物数	27	39	35	40	27	32	37	41
	脳室拡張	1	6	6	5	5	11	7	8
脊髄	検査動物数	28	38	36	40	28	32	37	41
	神経根障害	3	4	5	6	4	2	3	6

空欄は発生なし

表 2 死亡/切迫殺動物及び最終屠殺動物における主要な非腫瘍性病変(つづき)

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10	
死亡/切迫殺動物(つづき)									
心臓	検査動物数	28	39	36	40	28	32	37	41
	心筋症	27	39	36	37	25	30	32	31
肺	検査動物数	28	39	36	40	28	32	37	41
	肺胞マクロファージ	15	30	24	25	18	16	18	21
	間質浸潤-主に単核細胞性	8	18	13	10	13	11	12	10
	鬱血/出血	19	30	32	25	7	9	13	18
脾臓	検査動物数	28	38	35	38	28	32	35	39
	髄外造血	14	12	8	12	24	26	25	27
	鬱血	14	22	21	21	5	8	10	13
胸腺	検査動物数	24	35	27	32	19	30	30	34
	萎縮	23	34	26	29	17	30	28	29
膵臓	検査動物数	24	37	34	37	27	32	35	38
	萎縮	7	10	13	11	2	5	9	3
	間質浸潤-主に単核細胞性	9	16	12	10	8	12	12	16
下顎リンパ節	検査動物数	26	38	33	39	23	30	37	38
	リンパ球増生	3	3	5	5	2	2	9	6
	形質細胞増加	8	10	12	11	14	14	21	16
腸間膜リンパ節	検査動物数	24	36	33	39	26	31	34	40
	類道内血液	4	10	9	11	2	7	2	8
乳腺	検査動物数	22	34	34	38	28	32	37	41
	葉性/瀰漫性過形成	5	10	7	5	19	27	27	29
	乳分泌	7	20	18	12	24	27	25	28
胃	検査動物数	28	37	34	38	28	32	36	40
	扁平細胞過形成	10	10	8	15	7	11	7	11
	胃低腺拡張	4	8	7	10	7	10	8	6
	上皮下浸潤-混合細胞	6	9	9	14	5	9	8	9
下垂体	検査動物数	27	38	34	40	27	32	37	40
	限局性過形成-前葉	10	11	12	13	7	7	6	8
副腎	検査動物数	27	37	32	39	28	31	34	39
	皮質限局性過形成	22	26	22	27	14	23	18	19
	髄質限局性過形成	8	16	8	12	6	2	6	4
	皮質限局性変性/肥大	20	28	23	22	24	28	24	29
	空胞化-束状帯細胞	5	35	29	34	19	18	20	21
	空胞化-球状帯細胞	4	11	8	11	4	7	2	11
	鬱血	8	13	15	12	5	4	15	13
甲状腺	検査動物数	27	35	33	37	26	32	35	35
	限局性 C-細胞過形成	4	10	5	4	4	4	5	7
	瀰漫性 C-細胞過形成	2	2		6	5	6	8	5
骨格筋	検査動物数	28	39	36	40	27	32	37	40
	筋変性/萎縮	8	8	12	14	8	3	8	6

空欄は発生なし

表2 死亡/切迫殺動物及び最終屠殺動物における主要な非腫瘍性病変(つづき)

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10	
死亡/切迫殺動物(つづき)									
ハタゲ-腺	検査動物数	26	39	34	38	26	32	37	40
	限局性過形成	3	8	8	7	4	3	4	2
	腺炎/炎症細胞浸潤	11	14	11	15	8	10	12	9
胸骨	検査動物数	28	39	34	40	28	32	36	40
骨髄	骨髄増生	3	3	0	4	10	5	6	16
最終屠殺									
肝臓	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	海綿状変性	2	1	5	7			1	2
	変異細胞巣-好酸性	17	14	9	8	15	12	11	10
	変異細胞巣-好塩基性	6	8	14	6	18	19	20	15
	変異細胞巣-明細胞	17	6	5	10	14	7	8	6
	肝細胞肥大-瀰漫性		3	4	1	1	6	6	4
	肝細胞肥大-門脈周囲	3		3	1	5	3	4	6
	肝細胞空胞化-瀰漫性	3	3	4	1	1	6	6	4
	瀰漫性過形成-胆管	19	5	13	14	14	7	6	11
	実質炎症性細胞巣	13	12	6	6	5	2	2	4
	間質浸潤-主に単核細胞性	32	18	23	20	24	27	21	16
	類洞拡張/鬱血	14	14	12	11	21	18	16	14
腎臓	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	尿細管細胞過形成-異型性	18	14	13	13	4	7	6	6
	尿細管細胞過形成-単純性	21	11	9	14	17	18	18	15
	慢性進行性腎症	33	21	23	22	32	28	24	22
	尿細管好酸性円柱	12	5	8	9	1			
	腎盂移行上皮過形成	23	12	17	19	22	18	24	18
	腎盂鉍質沈着	21	16	16	17	30	26	22	18
精巣	検査動物数	33	21	23	22				
	尿細管萎縮	17	11	13	15				
	動脈炎/動脈周囲炎	8	12	10	15				
精巣 上体	検査動物数	33	21	23	22				
	間質浸潤/精巣上体炎	9	12	7	9				
	腔内精子残屑	8	6	6	7				
	精液過少	4	3	3	2				
前立腺	検査動物数	33	21	23	22				
	前立腺炎	11	8	13	8				
	好塩基性結石の増加	11	5	6	7				
子宮	検査動物数					32	28	25	22
	腔拡張					7	5	9	9
	腺様拡張					24	19	18	16

空欄は発生なし

表2 死亡/切迫殺動物及び最終屠殺動物における主要な非腫瘍性病変(つづき)

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10	
最終屠殺(つづき)									
卵巣	検査動物数				32	28	24	22	
	限局性過形成-乳頭/嚢胞状				10	15	11	11	
	限局性過形成-性索間質/sertoli form細胞				24	22	16	15	
	萎縮				3	4	5	5	
脳	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	脳室拡張	1	3		1	1	3	2	5
脊髄	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	神経根障害	22	13	12	13	14	13	7	9
心臓	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	心筋症	32	21	23	22	31	26	23	22
肺	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	肺胞マクロファージ	17	10	14	13	7	14	6	9
	間質浸潤-主に単核細胞性	25	17	21	18	22	22	19	20
	鬱血/出血	5		1	2		1		
脾臓	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	髓外造血	20	16	14	18	32	27	25	22
	鬱血	24	17	20	18	29	24	24	18
胸腺	検査動物数	26	18	17	20	31	23	21	19
	萎縮	26	18	17	20	31	23	21	19
膵臓	検査動物数	32	21	23	22	32	28	25	22
	萎縮	11	7	8	10	6	8	4	7
	間質浸潤-主に単核細胞性	13	12	14	12	17	11	13	15
下顎リンパ節	検査動物数	33	21	22	20	32	27	24	22
	リンパ球増生	15	5	5	6	12	9	13	8
	形質細胞増加	16	9	10	9	17	23	18	21
腸間膜リンパ節	検査動物数	33	20	23	22	32	28	25	22
	類道内血液	9	5	6	10	3	7	4	8
乳腺	検査動物数	26	13	14	17	32	28	25	22
	葉性/瀰漫性過形成	7	1	1	6	31	26	20	19
	乳分泌	16	7	4	13	30	23	19	17
胃	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	扁平細胞過形成	4	3	3	6	4	5	3	4
	胃底腺拡張	11	8	10	7	20	15	10	13
	上皮下浸潤-混合細胞	3	4	2	4	2	3	3	4
下垂体	検査動物数	32	21	23	22	32	28	25	22
	限局性過形成-前葉	16	7	13	10	8	8	7	7

空欄は発生なし

表 2 死亡/切迫殺動物及び最終屠殺動物における主要な非腫瘍性病変(つづき)

所見	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10
最終屠殺(つづき)								
副腎 検査動物数	32	21	23	22	32	28	25	22
皮質限局性過形成	27	17	20	19	21	17	22	14
髄質限局性過形成	9	10	5	8	9	7	12	10
皮質限局性変性/肥大	30	21	21	19	31	26	23	20
空胞化-束状帯細胞	33	20	22	21	32	24	23	13
空胞化-球状帯細胞	2	1	1	2	3	1		
鬱血	2		1	3	4	2	8	2
甲状腺 検査動物数	32	21	23	22	32	28	25	22
限局性 C-細胞過形成	9	10	12	9	14	10	7	7
瀰漫性 C-細胞過形成	8	5	5	9	12	17	15	10
骨格筋 検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
筋変性/萎縮	14	9	8	9	5	8	5	5
ハ-ダ-腺 検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
限局性過形成	6	9	8	11	2	8	5	2
腺炎/炎症細胞浸潤	15	9	12	13	16	13	6	8
胸骨 検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
骨髓 骨髓増生	7	2	1	4		4		3
合計(死亡切迫殺+最終屠殺)								
肝臓 検査動物数	60	60	59	62	60	60	62	63
海綿状変性	2	2	5	7			1	3
変異細胞巣-好酸性	20	14	11	9	19	15	16	18
変異細胞巣-好塩基性	12	14	20	11	24	17	28	22
変異細胞巣-明細胞	20	10	8	13	14	10	13	9
肝細胞肥大-瀰漫性	2	3	5	4	5	10	6	8
肝細胞肥大-門脈周囲	4	2	4	5	10	9	6	11
肝細胞空胞化-瀰漫性	5	9	16	10	10	11	13	15
瀰漫性過形成-胆管	28	18	18	22	23	14	12	20
実質炎症性細胞巣	19	23	13	22	8	10	5	19
間質浸潤-主に単核細胞性	54	45	53	49	40	46	40	42
類洞拡張/鬱血	37	47	41	39	37	33	37	33
腎臓 検査動物数	61	60	57	61	60	60	62	62
尿細管細胞過形成-異型性	28	26	29	29	6	8	11	7
尿細管細胞過形成-単純性	33	22	16	25	21	25	26	25
慢性進行性腎症	60	59	54	59	52	51	53	50
尿細管好酸性円柱	23	14	23	23	1	0	0	1
腎盂移行上皮過形成	36	37	33	40	44	42	54	39
腎盂鉍質沈着	35	36	35	42	55	55	53	50
精巣 検査動物数	61	60	57	62				
尿細管萎縮	37	31	33	40				
動脈炎/動脈周囲炎	22	22	23	26				

空欄は発生なし

表2 死亡/切迫殺動物及び最終屠殺動物における主要な非腫瘍性病変(つづき)

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10	
合計(死亡切迫殺+最終屠殺)(つづき)									
精巣	検査動物数	61	60	59	62				
上体	間質浸潤/精巣上体炎	21	22	16	16				
	腔内精子残屑	21	21	22	28				
	精液過少	12	13	10	12				
前立腺	検査動物数	61	59	57	62				
	前立腺炎	19	16	21	22				
	好塩基性結石の増加	7	11	10	16				
子宮	検査動物数					60	60	62	62
	腔拡張					8	8	11	16
	腺様拡張					30	28	31	29
卵巣	検査動物数					59	60	61	62
	限局性過形成-乳頭/嚢胞状					17	25	24	19
	限局性過形成-性索間質/sertoliform細胞					36	32	32	33
	萎縮					7	12	18	18
脳	検査動物数	60	60	58	62	59	60	62	63
	脳室拡張	2	9	6	6	6	14	9	13
脊髄	検査動物数	61	59	59	62	60	60	62	63
	神経根障害	25	17	17	19	18	15	10	15
心臓	検査動物数	61	60	59	62	60	60	62	63
	心筋症	59	60	59	59	56	56	55	53
肺	検査動物数	61	60	59	62	60	60	62	63
	肺胞マクロファージ	32	40	38	38	25	30	24	30
	間質浸潤-主に単核細胞性	33	35	34	28	35	33	31	30
	鬱血/出血	24	30	33	27	7	10	13	18
脾臓	検査動物数	61	59	58	60	60	60	60	61
	髄外造血	34	28	22	30	56	53	50	49
	鬱血	38	39	41	39	34	32	34	31
胸腺	検査動物数	50	53	54	52	50	53	51	53
	萎縮	49	52	43	49	48	53	49	48
膵臓	検査動物数	56	58	57	59	59	60	60	60
	萎縮	18	17	21	21	8	13	13	10
	間質浸潤-主に単核細胞性	22	28	26	22	25	23	25	31
下顎リンパ節	検査動物数	59	59	55	59	55	57	61	60
	リンパ球増生	18	8	10	11	14	11	22	14
	形質細胞増加	24	19	22	20	31	37	39	37
腸間膜リンパ節	検査動物数	57	56	56	61	58	59	59	62
	類道内血液	13	15	15	21	5	14	6	16
乳腺	検査動物数	48	47	48	55	60	60	62	63
	葉性/瀰漫性過形成	12	11	8	11	50	53	47	48
	乳分泌	23	27	22	25	54	50	44	45

空欄は発生なし

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

Fipronil

表2 死亡/切迫殺動物及び最終屠殺動物における主要な非腫瘍性病変(つづき)

所見	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10
合計(死亡切迫殺+最終屠殺)(つづき)								
胃	検査動物数	61	58	57	60	60	61	62
	扁平細胞過形成	14	13	11	21	11	16	15
	胃低腺拡張	15	8	7	10	7	10	6
	上皮浸潤-混合細胞	9	13	11	18	7	12	13
下垂体	検査動物数	59	59	57	62	60	62	62
	限局性過形成-前葉	26	18	25	23	15	13	15
副腎	検査動物数	59	58	55	61	60	59	61
	皮質限局性過形成	49	43	42	46	35	40	33
	髄質限局性過形成	17	26	13	20	15	9	14
	皮質限局性変性/肥大	50	49	44	41	55	54	49
	空胞化-束状帯細胞	38	55	51	55	51	42	34
	空胞化-球状帯細胞	6	12	9	13	7	8	11
	鬱血	10	13	16	15	9	6	15
甲状腺	検査動物数	59	56	56	59	58	60	57
	限局性C-細胞過形成	13	20	17	13	18	14	14
	瀰漫性C-細胞過形成	10	7	5	15	17	23	15
骨格筋	検査動物数	61	60	59	62	59	62	62
	筋変性/萎縮	22	17	20	23	13	13	11
心臓	検査動物数	59	60	57	60	58	62	62
	限局性過形成	9	17	16	18	6	11	4
	腺炎/炎症細胞浸潤	26	23	23	28	24	23	17
胸骨	検査動物数	61	60	57	62	60	61	62
	骨髄増生	10	5	1	8	10	6	19

空欄は発生なし

表 3 全ての腫瘍性病変

所見	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6
53 週中間層殺動物 (慢性毒性群)	9	9	10	8	10	10	8	7
乳腺 検査動物数	9	0	0	8	9	2	2	6
線維腺腫 B					2	2	1	
下垂体 検査動物数	9	0	1	8	10	3	2	7
前葉腺腫 B				1	2			
副腎 検査動物数	9	0	1	8	10	0	1	7
皮質腺腫 B	1	1			1			
甲状腺 検査動物数	9	0	0	8	10	1	1	7
C-細胞腺腫 B	1			1				1
C-細胞癌 M							1	
死亡/切迫殺動物	28	40	37	40	28	32	37	41
肝臓 検査動物数	27	39	36	40	28	32	37	41
肝細胞腺腫 B	1	1		1		1		1
胆管腫 B						1	1	1
腎臓 検査動物数	28	39	34	39	28	32	37	40
腎芽腫 M					1			
前立腺 検査動物数	28	38	34	40				
腺腫 B		1	1					
精囊 検査動物数	28	38	34	39				
腺癌 M			1					
子宮 検査動物数					27	32	37	40
内膜間質性ホリフ B					3	4	4	3
平滑筋腫 B							1	
内膜間質性肉腫 M					1			
腺癌 M						1		
悪性シツク翰腫 M								1
卵巣 検査動物数					28	32	37	40
良性セルリ細胞腫 B					1			
良性顆粒膜細胞腫 B					1			
性索間質腫瘍 B								1
平滑筋腫 B								1
膣 検査動物数					28	31	36	39
悪性シツク翰腫 M							1	
脳 検査動物数	27	39	35	40	27	32	37	41
良性顆粒膜細胞腫 B		1	1					1
良性脈絡叢間質腫瘍 B			1					
悪性星状膠細胞腫 M		1	1					2
心臓 検査動物数	70	60	59	70	70	60	62	70
悪性心内膜シツク翰腫 M				1				

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

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

Fipronil

所見	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6
死亡/切迫殺動物(続き)	28	40	37	40	28	32	37	41
食道 検査動物数	70	69	59	70	70	60	62	70
横紋筋腫 B					1			
脾臓 検査動物数	28	38	35	38	28	32	35	39
血管腫 B	1				1			1
胸腺 検査動物数	24	35	27	32	19	30	30	34
胸腺腫 B				1				
膵臓 検査動物数	24	37	34	37	27	32	35	38
島細胞腺腫 B	1	4	2	1		1	1	
島腺癌 M		1		1			1	1
腸間膜 検査動物数	24	36	33	39	26	31	34	40
リンパ節 血管腫 B		1				1		
耳下腺 検査動物数	1	6	4	0	7	0	1	6
悪性シュワン鞘腫 M			1					
舌下腺 検査動物数	0	0	0	2	3	0	1	1
腺腫 B							1	
皮膚 検査動物数	70	60	59	70	69	58	61	68
皮脂腺腺腫 B	1							
扁平細胞乳頭腫 B		1						
良性毛包腫瘍 B	1	1						
扁平細胞癌 M	2	1						
シロカシ腺癌						1		
乳腺 検査動物数	22	34	34	38	28	32	37	41
線維腺腫 B		2	1	1	16	24	24	22
腺腫 B								2
腺癌 M		1			3	6	2	3
直腸 検査動物数	27	35	34	37	26	32	37	40
脂肪肉腫 M								
下垂体 検査動物数	27	38	34	40	27	32	37	40
前葉腺腫 B	10	17	11	14	9	11	19	16
シロカシ腺腫 B								1
前葉腺癌 M		1	1		2	4	2	2
副腎 検査動物数	27	37	32	39	28	31	34	39
皮質腺腫 B	0	1	1	1	5	4	3	2
良性髓質腫瘍 B	3	1	1	1	1		1	1
皮質腺癌 M				1				
甲状腺 検査動物数	27	35	33	37	26	32	35	35
濾胞細胞腺腫 B				1	1			
C-細胞腺腫 B	5	10	10	8	6	10	10	6
C-細胞癌 M	2	1		2		1		1

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

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

Fipronil

所見	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6
死亡/切迫殺動物(続き)	28	40	37	40	28	32	37	41
上皮 検査動物数	28	39	32	37	27	30	36	39
小体 腺腫 B			1	3	2		2	2
骨格筋 検査動物数	28	39	36	40	27	32	37	40
血管腫 B		1						
組織球肉腫 M		1						
眼/視 検査動物数	27	38	34	40	25	32	36	36
神経 フトウ膜平滑筋腫 B	1							
関節面 検査動物数	28	38	36	39	28	32	37	41
血管肉腫 M						1		
皮下 検査動物数	9	14	5	10	17	14	12	16
組織 線維腫 B	1	2		4	2	1		3
脂肪線維腫 B		1						
脂肪腫 B	1					1		
血管腫 B	1							
神経内分泌腫瘍 B				1				
線維肉腫 M				1				
脂肪肉腫 M							1	
骨肉腫 M		1						
悪性シュワン鞘腫 M	1							
悪性血管肉腫 M		1	1		1			
組織球肉腫 M	1				1			
軟骨肉腫 M					1			
肉腫 M		1		1		1		
造血 検査動物数	1	0	1	1	0	0	0	0
組織 白血病 M			1	1				
腸間膜 検査動物数	5	7	3	6	2	1	2	1
血管肉腫 M						1		
骨 検査動物数	0	0	0	1	1	0	0	1
骨肉腫 M				1	1			
歯 検査動物数	0	0	0	0	1	0	0	0
歯牙腫 B					1			
尿管 検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
移行細胞癌 M				1				

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

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

Fipronil

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6	
最終屠殺動物	33	21	23	22	32	28	25	22	
肝臓	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	肝細胞腺腫 B	1	1	1			1	1	
腎臓	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	血管肉腫 M					1			
	腎間葉腫瘍 M						1		
	尿細管癌 M			1					
精巣	検査動物数	33	21	23	22				
	腺腫-ライシ化細胞 B	1	1		2				
	悪性中脾腫 M		1						
前立腺	検査動物数	33	21	23	22				
	腺腫 B	1	1	2	1				
子宮	検査動物数					32	28	25	22
	内膜間質性ホリフ B					6	3	6	8
	内膜間質性肉腫 M							1	
卵巣	検査動物数					32	28	24	22
	良性セルリ細胞腫 B					2		2	
	性索間質腫瘍 B					1			
	悪性セルリ細胞腫 M					1			
	悪性卵胞膜腫 M						1		
脳	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	良性顆粒膜細胞腫 B						1		
	良性上衣腫 B					1			
	血管腫 B		1						
	悪性星状膠細胞腫 M	1		1					
	悪性細網腫 M			1					
脊髄	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	良性星状膠細胞腫 B								1
心臓	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	良性心内膜シワ翰腫 B								1
肺	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	細気管支肺胞腺腫 B					1			
脾臓	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	血管腫 B	1		1					
胸腺	検査動物数	58	53	45	60	60	53	52	60
	胸腺腫 B		1		1				
膵臓	検査動物数	65	58	57	7	69	60	60	67
	島細胞腺腫 B	3	3	2	6	3	2		
	腺房細胞腺腫 B							1	
	島腺癌 M	1	1	1	1		2	1	

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

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

Fipronil

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6	
最終屠殺動物(続き)		33	21	23	22	32	28	25	22
皮膚	検査動物数	33	21	23	22	32	28	24	21
	角化棘細胞腫 B	1	1						
	良性基底細胞腫瘍 B	1							
	良性毛包腫瘍 B	1							
	基底細胞癌 M				1				
乳腺	検査動物数	26	13	14	17	32	28	25	22
	線維腺腫 B	1			1	24	21	20	16
	腺腫 B					1		2	
	良性混合腫瘍 B					1		2	
	腺癌 M			1	1	1	4	3	4
	肉腫 M						1		
胃	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	扁平細胞乳頭腫 B	1							
	平滑筋肉腫 M	1							
直腸	検査動物数	33	20	23	22	32	28	25	22
	脂肪肉腫 M	1							
下垂体	検査動物数	32	21	23	22	32	28	25	22
	前葉腺腫 B	14	10	9	17	19	20	15	13
	中間部腺腫 B				1				1
	頭蓋咽頭腫 B				1				
	前葉腺癌 M					2	1	1	2
副腎	検査動物数	32	21	23	22	32	28	25	22
	皮質腺腫 B	2		1		1	4	3	4
	良性髓質腫瘍 B	2	3	1	3	2		1	1
	悪性髓質腺癌 M			1					
甲状腺	検査動物数	32	21	23	22	32	28	25	22
	濾胞細胞腺腫 B	1	1	3			1		
	C-細胞腺腫 B	15	12	7	8	16	8	9	7
	濾胞細胞癌 M							1	
	C-細胞癌 M	5	2	2	5	5	3	3	4
上皮小体	検査動物数	32	21	22	21	30	27	24	20
	腺腫 B	1	2	1		1		1	
骨格筋	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	良性顆粒膜細胞腫 B			1					
眼/視神経	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	ブドウ膜平滑筋腫 B	1							
	悪性ブドウ膜メラノマ M				1				
胸骨	検査動物数	33	21	23	22	32	28	25	22
	骨腫 B	1			1				

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

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

Fipronil

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6	
最終屠殺動物(続き)		33	21	23	22	32	28	25	22
皮下 組織	検査動物数	10	10	5	10	26	23	22	17
	線維腫 B	1	2	3	3	2		1	
	脂肪線維腫 B	1			1				
	脂肪腫 B		2			1		1	
	良性線維性組織球腫 B					1			
	線維肉腫 M								1
	悪性シツク翰腫 M	1							
	悪性血管肉腫 M				1				
肉腫 M	1								
造血 組織	検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0
	悪性リンパ腫 M	1							
骨	検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
	骨肉腫 M				1				
全動物		70	70	70	70	70	70	70	70
肝臓	検査動物数	69	69	69	70	70	70	70	70
	肝細胞腺腫 B	2	2	1	1	0	2	1	1
	胆管腫 B					1	1	1	1
腎臓	検査動物数	70	69	67	69	70	70	70	69
	血管肉腫 M					1			
	腎間葉腫瘍 M						1		
	尿細管癌 M			1					
	腎芽腫 M					1			
精巣	検査動物数	70	60	57	70				
	腺腫-ライシ化細胞 B	1	1		2				
	悪性中脾腫 M		1						
前立腺	検査動物数	70	59	57	70				
	腺腫 B	1	2	3	1				
精囊	検査動物数	69	59	57	69				
	腺癌 M			1					
子宮	検査動物数					69	60	62	69
	内膜間質性*リーフ* B					9	7	10	11
	平滑筋腫 B							1	
	内膜間質性肉腫 M					1		1	
	腺癌 M						1		
	悪性シツク翰腫 M								1

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

統計学的手法: Logistic 有病率検定: 全動物の腫瘍発生について有意差なし

所見	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6
全動物(続き)	70	70	70	70	70	70	70	70
卵巣	検査動物数				70	61	61	69
	良性マトリ細胞腫 B				3		2	
	良性顆粒膜細胞腫 B				1			
	性索間質腫瘍 B				1			1
	平滑筋腫 B							1
	悪性マトリ細胞腫 M				1			
	悪性卵胞膜腫 M					1		
膣	検査動物数				69	59	61	68
	悪性シワノ鞘腫 M						1	
脳	検査動物数	69	60	58	70	69	60	70
	良性顆粒膜細胞腫 B		1	1			1	1
	両性上衣腫 B				1			
	血管腫 B		1					
	良性脈絡叢間質腫瘍 B			1				
	悪性星状膠細胞腫 M	1	1	2				2
	悪性細網腫 M			1				
脊髄	検査動物数	70	59	59	70	70	60	70
	良性星状膠細胞腫 B							1
心臓	検査動物数	70	60	59	70	70	60	70
	良性心内膜シワノ鞘腫 B							1
	悪性心内膜シワノ鞘腫 M				1			
食道	検査動物数	70	69	59	70	70	60	70
	横紋筋腫 B				1			
肺	検査動物数	70	69	69	70	70	70	70
	細気管支肺胞腺腫 B				1			
脾臓	検査動物数	70	69	59	70	70	60	70
	血管腫 B	1		1		1		1
胸腺	検査動物数	58	53	45	60	60	53	60
	胸腺腫 B		1		2	1		
膵臓	検査動物数	65	58	57	67	69	60	67
	島細胞腺腫 B	4	7	4	7	3	3	1
	腺房細胞腺腫 B							1
	島腺癌 M	1	2	1	2	2	2	1
腸間膜リンパ節	検査動物数	66	56	56	69	68	59	69
	血管腫 B		1			1		
耳下腺	検査動物数	1	6	4	0	7	0	6
	悪性シワノ鞘腫 M			1			1	
舌下腺	検査動物数	0	0	0	2	3	0	1
	腺腫 B						1	

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

統計学的手法: Logistic 有病率検定: 全動物の腫瘍発生について有意差なし

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

Fipronil

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6	
全動物(続き)	70	70	70	70	70	70	70	70	
皮膚	検査動物数	70	60	59	70	69	58	61	68
	皮脂腺腫 B	1							
	角化棘細胞腫 B	1	1						
	良性基底細胞腫瘍 B	1							
	扁平細胞乳頭腫 B		1						
	良性毛包腫瘍 B	1	1						
	扁平細胞癌 M	2	1						
	基底細胞癌 M				1				
	ジンパル腺癌					1			
乳腺	検査動物数	57	47	48	63	69	62	64	69
	線維腺腫 B	1	2	1	2	42	47	45	38
	腺腫 B					1		2	2
	良性混合腫瘍 B					1		2	
	腺癌 M		1	1	1	4	10	5	7
	肉腫 M						1		
胃	検査動物数	70	59	57	68	70	61	61	69
	扁平細胞乳頭腫 B	1							
	平滑筋肉腫 M	1							
直腸	検査動物数	69	55	57	67	68	60	62	69
	脂肪肉腫 M	1							
下垂体	検査動物数	68	59	58	70	69	63	64	69
	前葉腺腫 B	24	27	20	31↑	30	31	34	29
	中間部腺腫 B				1				1
	頭蓋咽頭腫 B				1				
	下垂体腺腫 B								1
	前葉腺癌 M		1	1		4	5	3	4
副腎	検査動物数	69	59	55	69	70	59	60	68
	皮質腺腫 B	3	2	3	1	7	8	6	6
	良性髓質腫瘍 B	5	4	2	4	3		2	2
	皮質腺癌 M				1				
	悪性髓質腺癌 M			1					
甲状腺	検査動物数	69	56	56	67	68	61	61	64
	濾胞細胞腺腫 B	1	1	3	1	1	1		
	C-細胞腺腫 B	21	22	17	17	22	18	19	14
	濾胞細胞癌 M							1	
	C-細胞癌 M	7	3	2	7	5	4	4	5
上皮小体	検査動物数	69	60	54	66	67	57	61	64
	腺腫 B	1	2	2	3	3		3	2

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

統計学的手法: Logistic 有病率検定: 全動物の腫瘍発生について有意差なし

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

Fipronil

所見	性別/投与量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10/6	
全動物(続き)	70	70	70	70	70	70	70	70	
骨格筋	検査動物数	70	69	59	70	69	60	62	69
	良性顆粒膜細胞腫 B			1					
	血管腫 B		1						
	組織球肉腫 M		1						
眼/視 神経	検査動物数	69	59	57	70	67	60	61	65
	ブドウ膜平滑筋腫 B	2							
	悪性ブドウ膜メラノーマ M				1				
胸骨	検査動物数	70	60	58	70	70	60	62	70
	骨腫 B	1			1				
関節面	検査動物数	68	59	57	69	70	60	62	69
	血管肉腫 M						1		
皮下 組織	検査動物数	20	24	10	21	43	37	34	34
	線維腫 B	2	4	3	7	4	1	1	4
	脂肪線維腫 B	1	1		1				
	脂肪腫 B	1	2			1	1	1	
	良性線維性組織球腫 B					1			
	血管腫 B	1							
	神経内分泌腫瘍 B				1				
	線維肉腫 M				1				1
	脂肪肉腫 M							1	
	骨肉腫 M		1						
	悪性シウワ鞘腫 M	2							
	悪性血管肉腫 M		1	1	1	1			
	組織球肉腫 M					1			
	軟骨肉腫 M					1			
肉腫 M	1	1		1		1			
造血 組織	検査動物数	2	0	1	1	0	0	0	0
	悪性リンパ腫 M	1							
	白血病 M			1	1				
腸間膜	検査動物数	6	9	8	8	3	2	2	3
	血管肉腫 M						1		
骨	検査動物数	0	0	0	2	1	0	0	1
	骨肉腫 M				2	1			
歯	検査動物数	0	0	0	0	1	0	0	0
	歯牙腫 B					1			
尿管	検査動物数				1				
	移行細胞癌 M				1				

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

統計学的手法: Logistic 有病率検定: 全動物の腫瘍発生について有意差なし