

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

農 薬 抄 録

一般名：フルオキサストロビン
「殺菌剤」

(作成年月日)

平成 28年 5月 26日

(作成会社名) アリスタ ライフサイエンス株式会社
(作成責任者・所属)

連絡先 アリスタ ライフサイエンス株式会社

目 次

I. 開発の経緯	1
II. 物理的・化学的性状	3
III. 生物活性	16
IV. 適用及び使用上の注意	19
V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係	21
VI. 有用動植物等に及ぼす影響	23
VII. 使用時安全上の注意、解毒法等	38
VIII. 毒性	39
1. 原体	
(1) 急性毒性	45
(2) 皮膚及び眼に対する刺激性	51
(3) 皮膚感作性	55
(4) 急性神経毒性	62
(5) 急性遅発性神経毒性	66
(6) 90日間反復経口投与毒性	67
(7) 28日間反復経皮投与毒性	108
(8) 90日間反復吸入毒性	113
(9) 90日間反復経口投与神経毒性	114
(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性	118
(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性	119
(12) 繁殖毒性及び催奇形性	180
(13) 変異原性	206
(14) 生体機能影響	226
(15) その他	229
2. 製剤	
(1) フルオキサストロビン 40.3%水和剤	303
(2) テトラコナゾール 12.0%・フルオキサストロビン 20.0%水和剤	313
IX. 動植物及び土壌等における代謝分解	322
フルオキサストロビンの開発年表	470

1. 開発の経緯

1. 開発の経緯

フルオキサストロビン (fluoxastrobin) は、ドイツのバイエル クロップサイエンス社によって 1994 年に創製された新規のストロビルリン系化合物である。フルオキサストロビンの特許は 1996 年にバイエル クロップサイエンス社によって申請され、2005 年にアリスタ ライフサイエンス株式会社が日本、アメリカ及びカナダでの、2012 年にその他の国での種子処理を除く食用、非食用での開発及び販売の権利を取得した。

日本国内では、2006 年より社団法人日本植物防疫協会（現一般社団法人日本植物防疫協会）を通じて圃場における防除効果の確認試験を実施した。その結果、フルオキサストロビン単剤（試験名 ALF-1211 フロアブル、フルオキサストロビン 40.3%）が芝の葉腐病（ラージパッチ）などの主要な糸状菌病害に対して高い防除効果を示すことを確認した。また、EBI 系の殺菌剤であるテトラコナゾールとフルオキサストロビンとの混合剤（試験名 ALF-0614 フロアブル、テトラコナゾール 12.0%+フルオキサストロビン 20.0%）についても芝のダラースポット病などに高い防除効果を示すことを確認した。

2. 海外における登録、開発状況

フルオキサストロビンは現在、米国、メキシコ、EU 諸国で登録が取得されており、米国及び EU における一日許容摂取量 (ADI) (mg/kg/日) は、それぞれ 2005 年及び 2007 年にイヌにおける 1 年間慢性毒性試験の無毒性量 (NOAEL) 1.5 mg/kg/日に基づき、不確実係数 100 を考慮した 0.015 mg/kg/日と設定されている。

急性参照用量 (ARfD) (mg/kg) は、EU において、イヌを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験 2500 ppm で第 1 週に平均体重減少が認められたことから、イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験の 1200 ppm (第 1 週の検体摂取量 30 mg/kg/日) に基づき、不確実係数 100 を考慮した 0.3 mg/kg と設定されている (2007 年)。一方、米国においては、ARfD の設定は必要なしと評価されている (2005 年)。

主要国におけるフルオキサストロビンの主な適用作物は下表の通りである。

国名	適用作物
米国	芝、ばれいしょ、いちご、大豆、とうもろこし
メキシコ	ばれいしょ、なす、かぼちゃ、いちご、とうもろこし、マンゴー
ドイツ	芝、ばれいしょ、大豆、ピーナッツ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

また、米国の要請に基づき、2014年7月にいちご及びばれいしょへのインポートトレランス申請を実施した。それに伴い、食品安全委員会によりフルオキサストロビンに係る食品健康影響評価が実施され、結果として、イヌにおける1年間慢性毒性試験の無毒性量（NOAEL）1.5 mg/kg/日に基づき、不確実係数100を考慮した0.015 mg/kg/日がADI（mg/kg/日）として設定された。なお、ARfDは設定する必要がないと判断された。

この審議結果は、2015年3月24日に厚生労働省に通知され、今後薬事・食品衛生審議会により残留基準の設定について審議される予定である。

II. 物理的・化学的性状

1. 有効成分の名称及び化学構造

1) 一般名

(和名) フルオキサストロビン (英名) fluoxastrobin (ISO 名)

2) 別名

商品名 : ディスアームフロアブル、ビゴールドフロアブル

試験名 : HEC5725、fluoxastrobin、EVITO480SC、フルオキサストロビン原体、
ALF-0614 フロアブル、ALF-1211 フロアブル、HEC5725 480SC

3) 化学名

IUPAC 名

(和名)

(*E*) - {2- [6- (2-クロロフェノキシ) -5-フルオロピリミジン-4-イルオキシ] フェニル} (5,6-ジヒドロ-1,4,2-ジオキサジン-3-イル) メタノン=O-メチルオキシム

(英名)

(*E*)- { 2- [6-(2-chlorophenoxy)-5-fluoropyrimidin-4-yloxy]phenyl} (5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)methanone *O*-methyloxime

CAS 名

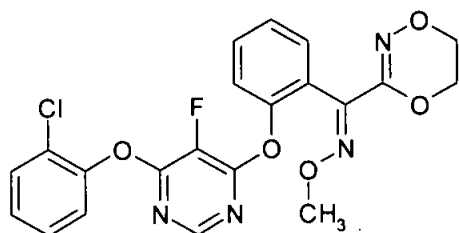
(和名)

(1*E*) - [2- [[6- (2-クロロフェノキシ) -5-フルオロ-4-ピリミジニル] オキシ] フェニル] (5,6-ジヒドロ-1,4,2-ジオキサジン-3-イル) メタノン=O-メチルオキシム

(英名)

(1*E*)-[2-[[6-(2-chlorophenoxy)-5-fluoro-4-pyrimidinyl]oxy]phenyl](5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)methanone *O*-methyloxime

4) 構造式



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

5) 分子式 $C_{21}H_{16}ClFN_4O_5$

6) 分子量 458.83

7) CAS No. 361377-29-9

2. 有効成分の物理的・化学的性状

資料 No.	項目	測定値 (測定条件)	測定方法	試験機関 (報告年)		
1	色調	白色	官能法	(2001、GLP)		
	形状	結晶性固体				
	臭気	かすかな特有の臭気 (室温)				
	密度	1.4216 g/mL (20°C)	OECD 109 (静的平衡法)			
	融点	103.1~107.7°C	OECD 102 (溶融顕微鏡)			
	沸点	測定不能 (230°C付近で分解のため)				
	蒸気圧	5.63×10 ⁻¹⁰ Pa (20°C) 8.72×10 ⁻¹⁰ Pa (25°C)	OECD 104 (気体流動法)			
	解離定数 (pKa)	測定不能 (pH4~9の間で解離しないため)				
	溶解度	水	2.559 mg/L (20°C、非緩衝液)		OECD 105 (ガム飽和法)	
			2.431 mg/L (20°C、pH4)			
			2.292 mg/L (20°C、pH7)			
			2.272 mg/L (20°C、pH9)			
		有機溶媒	n-ヘプタン		0.04 g/L (20°C)	フラスコ法
			キシレン		38.1 g/L (20°C)	
1-オクタノール			1.09 g/L (20°C)			
2-プロパノール			6.7 g/L (20°C)			
酢酸エチル			> 250 g/L (20°C)			
ポリエチレングリコール			118.5 g/L (20°C)			
アセトニトリル	> 250 g/L (20°C)					
アセトン	> 250 g/L (20°C)					
ジメチルスルホキシド	> 250 g/L (20°C)					
ジクロロメタン	> 250 g/L (20°C)					
オクタノール/水分配係数 (log Pow)	log Pow = 2.86 (20°C)	OECD123 (スローステアリング法)				
-	生物濃縮性	log Pow が<3.5 であるため提出除外				
S-1	土壌	砂壤土、シルト、シルト質 埴壤土、壤質砂土	K _F ^{ads} = 3.35~26.26 K _F ^{ads} _{OC} = 424.3~1582.1	OECD 106 (1998、GLP)		
S-2	吸着性	壤土 (火山灰)	K _F ^{ads} = 26.3 K _F ^{ads} _{OC} = 542	OECD 106 (2013、GLP)		
MW-1	加水分解性 (50°C)	推定半減期 pH 4、7、9 : 1年以上	EPA 161-1 (1999、GLP)			
MW-2	水中光分解性 (25°C)	滅菌緩衝液 1017 W/m ² (300~800 nm)	半減期 4.0 日 (本試験条件、pH 7) 40.4 日 (東京北緯 35 度、春)	EPA 161-2 (2001、GLP)		
MW-3	水中光分解性 (25°C)	自然水 59.66 W/m ² (300~400 nm)	半減期 26.0 時間 (本試験条件、pH 8.1) 8.3 日 (東京北緯 35 度、春)	12 農産 8147 号 (2014、GLP)		
2	安定性	対熱 室温で安定 230°C付近で分解	OECD 113 (TG-DTA) (2000、GLP)			
3	スペクトル	IR/ ¹ H-NMR ¹³ C-NMR/MS/UV	次頁以降記載 (1999、GLP)			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

UV、赤外、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR スペクトル

1) UV

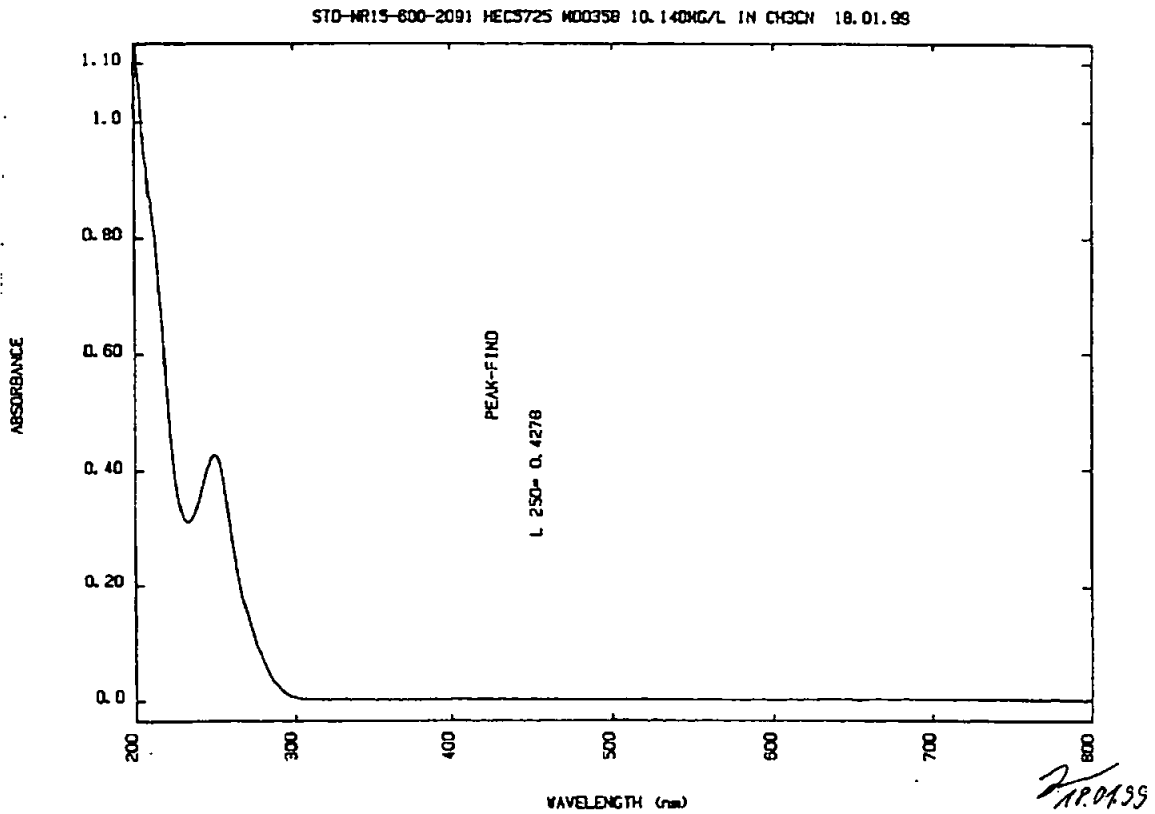


図1 UV スペクトル

最大吸収波長 (nm)	モル吸光係数 (1000cm ² /mol)
250	19358

被験物質純度 :

測定条件 :

使用溶媒 ; アセトニトリル

使用機器 ; UV/VIS 分光光度計 HP8450A (Hewlett -Packard)

測定温度 ; 22°C

測定波長 ; 200~800 nm

被験物質濃度 ; 10.140 mg/L

2) IR

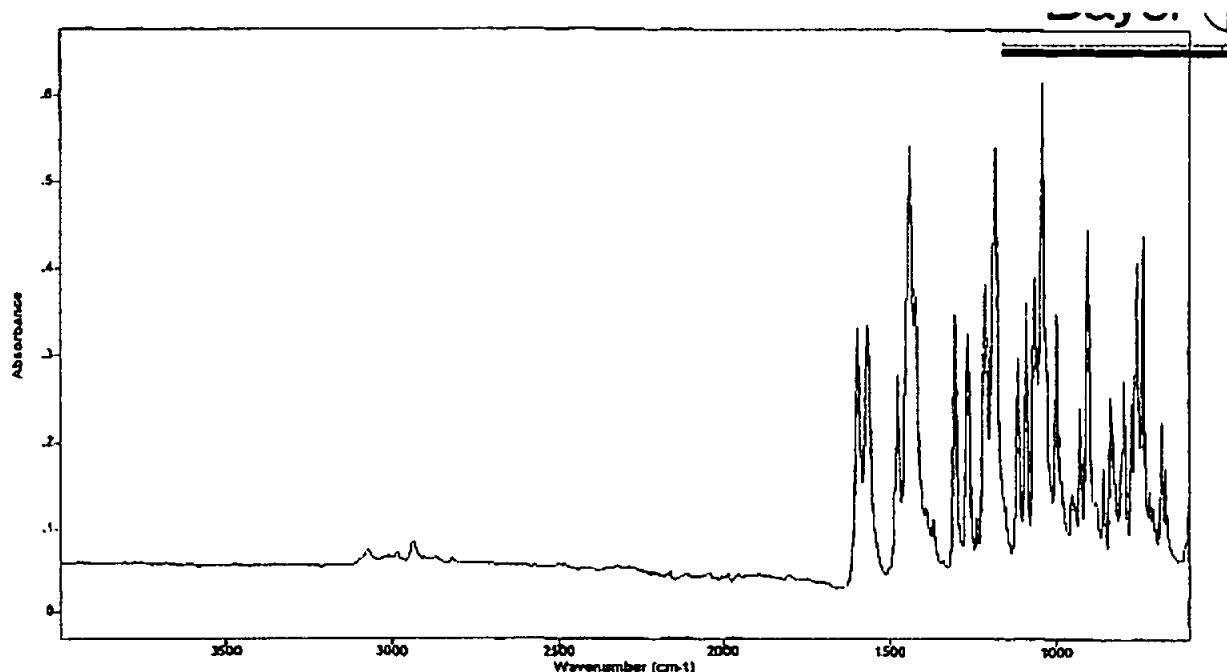


図 2 赤外線吸収スペクトル

波数 (cm ⁻¹)	帰属
1046, 1267, 1306	Ø-O-C
1092, 1117	C-O-C/Ø-O-C
1186	C-F
1443, 1477, 1572, 1600	芳香族, オルト二置換
2935	CH, 脂肪族
3072	CH, 芳香族

Ø: ベンゼン環

被験物質純度 :

測定条件 :

使用機器 ; BIO-RAD フーリエ変換赤外分光光度計 FTS7

測定波数 ; 600~4000 cm⁻¹

測定方法 ; ATR 法 (ダイヤモンド)

3) MS

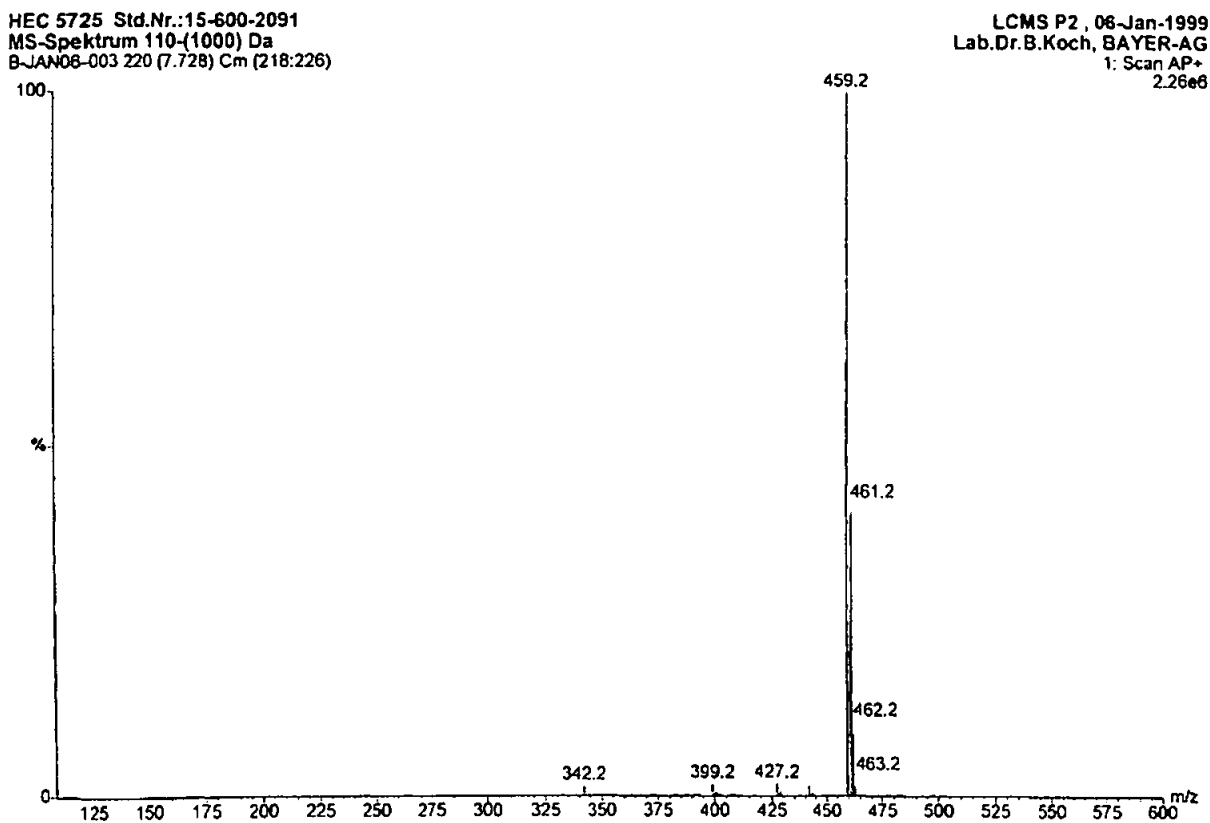


図3 MS スペクトル

m/z	推定構造
459	$[M+H]^+$
427	$[M-MeOH+H]^+$

被験物質純度 :

測定条件 :

使用機器 ; HPLC ; 多波長検出器 (DAD) 付き HP1100

MS ; APCI イオン源付 Micromass Platform II

イオン化法 ; 大気圧化学イオン化法

4-1) ¹H-NMR

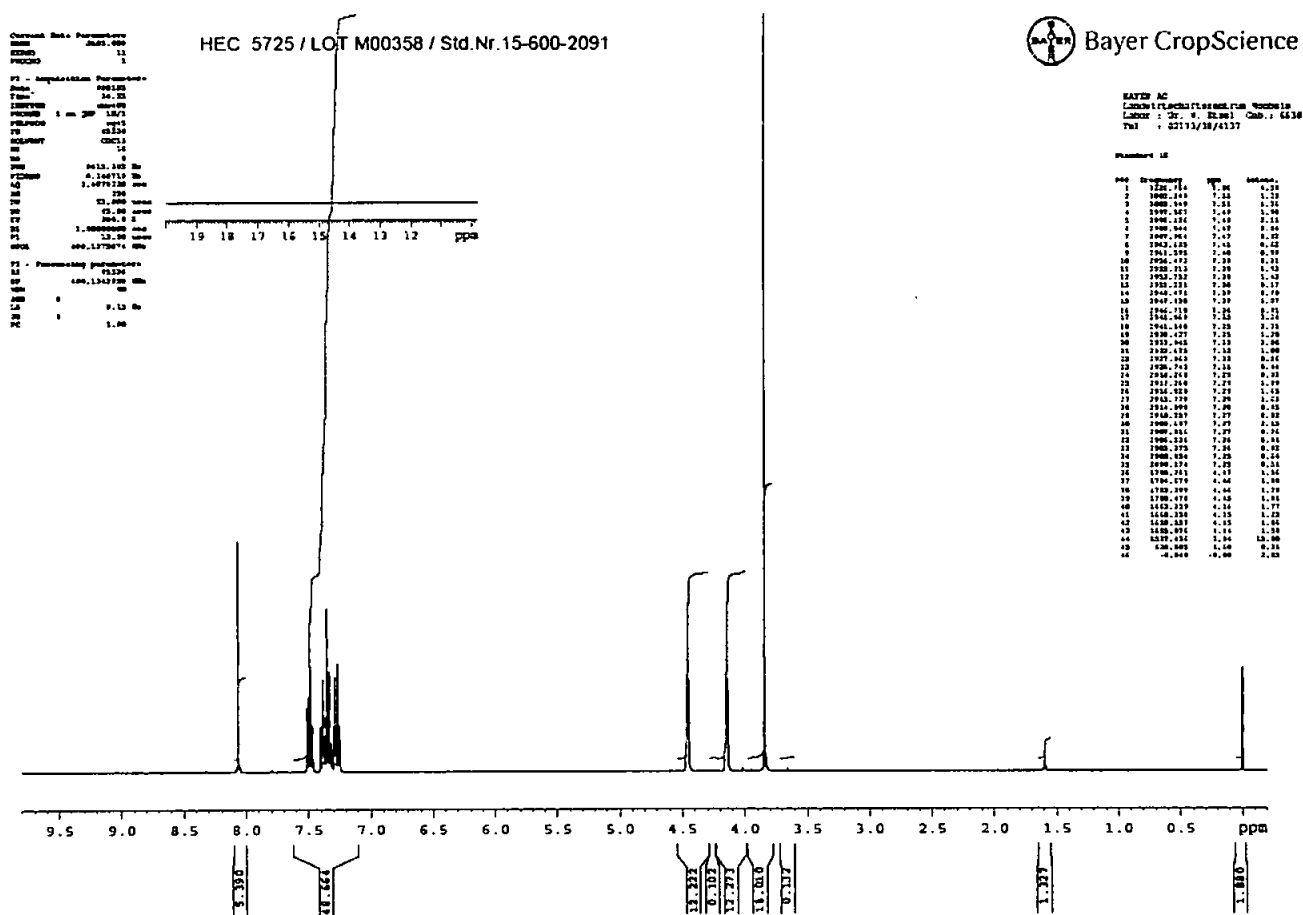


図-4-1 ¹H-NMR スペクトル

解析結果は次頁に示す。

被験物質純度 :

測定条件 :

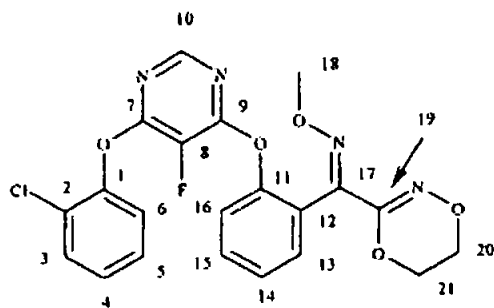
使用機器 ; Bruker AMX-400

測定溶媒 ; CDCl₃

基準物質 ; TMS

発振器周波数 ; 400.13 MHz

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。



帰属	化学シフト (ppm)	プロトン数	多重度
3	7.47-7.51	2	M
4	7.25-7.29	2	M
5	7.31-7.41	4	M
6	7.31-7.41	4	M
10	8.06	1	S
13	7.31-7.41	4	M
14	7.31-7.41	4	M
15	7.47-7.51	2	M
16	7.25-7.29	2	M
18	3.84	3	S
20	4.15	2	M
21	4.46	2	M

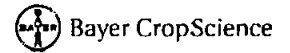
S: 1 重線

M: 多重線

4-2) ¹³C-NMR

Current Data Parameters
 NAME 2695.010
 EXPNO 10
 PROCNO 1
 P2 Acquisition Parameters
 DATE_ 200505
 TIME 14.56
 INSTRUM spect
 PROCESS 5 mhz 150.1
 PULPROG zgpg30
 TD 32768
 SFO 125.761
 AQ 0.02000000
 F2 100.613216
 F1 1.00
 P2 Processing parameters
 SI 32768
 SF 100.613216
 AQ 0.02000000
 F2 100.613216
 F1 1.00

HEC 5725 / LOT M00358 / Std.Nr.15-600-2091



DATE AC
 LANCE / C:\data\15000015\run\2695010
 LANCE / C:\data\15000015\run\2695010
 TID : 02173/26/137

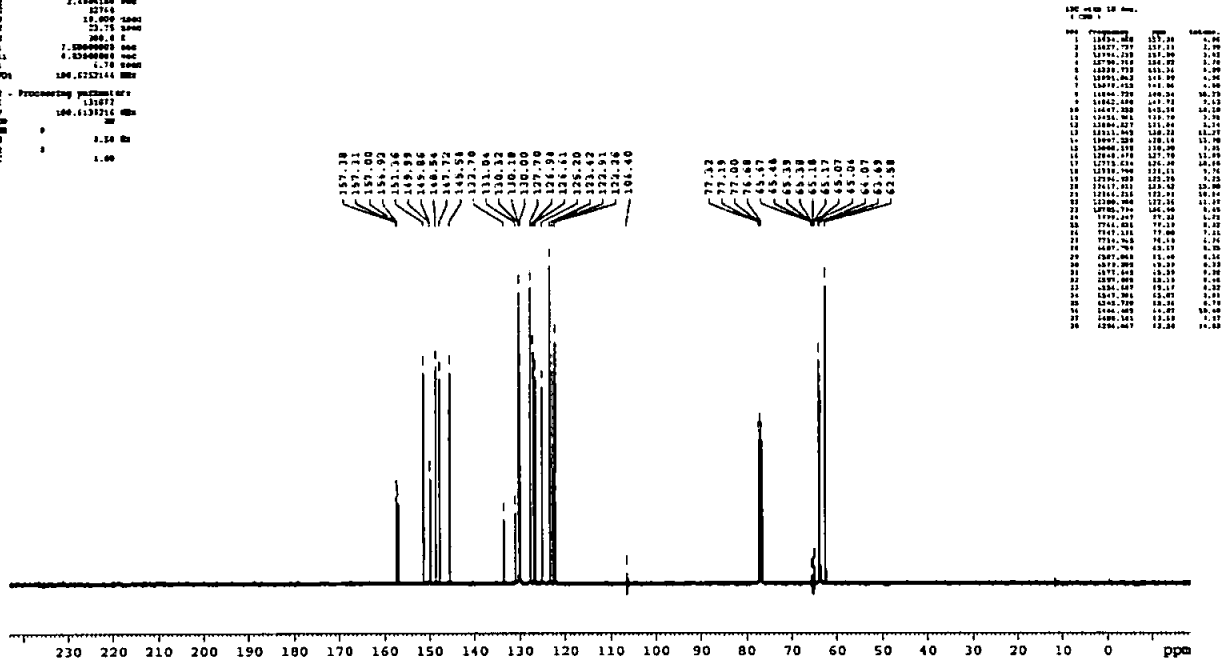


図-4-2 ¹³C-NMR スペクトル

解析結果は次頁に示す。

被験物質純度 :

測定条件 :

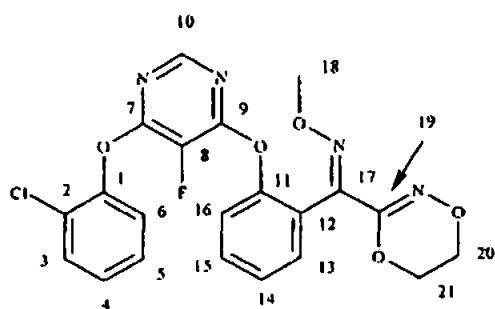
使用機器 ; Bruker AMX-400

測定溶媒 ; CDCl₃

基準物質 ; CDCl₃

発振器周波数 ; 100.61 MHz

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。



帰属	化学シフト (ppm)	カーボン数	多重度
1	147.7	1	S
2	126.6	1	S
3	130.0	1	D
4	127.0	1	D
5	127.7	1	D
6	122.3	1	D
7	157.3	1	D
8	132.4	1	D
9	157.0	1	D
10	149.9	1	DD
11	148.5	1	S
12	122.9	1	S
13	130.3	1	D
14	126.6	1	D
15	130.2	1	D
16	123.4	1	D
17	145.6	1	S
18	62.6	1	Q
19	151.4		
20	63.7	1	T
21	64.1	1	T

S: 1 重線
D: 2 重線
DD: 複合 2 重線
T: 3 重線
Q: 4 重線

3. 原体の成分組成

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量 (%)	
	一般名	化学名				規格値	通常値
有効成分	フルオキサストロビン	(E)- {2-[6-(2-chlorophenoxy)-5-fluoropyrimidin-4-yloxy]phenyl}=(5,6-dihydro-1,4,2-dioxazin-3-yl)methanone O-methyloxime		C ₂₁ H ₁₆ ClFN ₄ O ₅	458.8		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量 (%)	
	一般名	化学名				規格値	通常値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

4. 製剤の組成

(1) 40.3%水和剤 (ディスアームフロアブル)

フルオキサストロビン	40.3%
水、界面活性剤等	59.7%

(2) 20.0%水和剤 (ビゴールドフロアブル)

テトラコナゾール	12.0%
フルオキサストロビン	20.0%
水、界面活性剤等	68.0%

III. 生物活性

(ア) 活性の範囲

フルオキサストロビンの抗菌作用が認められた病原菌を作物別に下表に示した。

作物名	病原菌名	作物名	病原菌名
米	<i>Cercospora kikuchii</i>	らっかせい	<i>Mycosphaerella arachidis</i>
	<i>Pyricularia oryzae</i>		<i>Mycosphaerella berkeleyi</i>
	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Puccinia arachidis</i>
小麦	<i>Erysiphe graminis</i>	コーヒー	<i>Rhizoctonia solani</i>
	<i>Fusarium culmorum</i>		<i>Sclerotium rolfsii</i>
	<i>Fusarium poae</i>		<i>Cercospora coffeicola</i>
	<i>Fusarium graminearum</i>	たまねぎ	<i>Hemileia vastarix</i>
	<i>Puccinia graminis</i>		<i>Alternaria porri</i>
	<i>Puccinia recondita f. sp. tritici</i>	てんさい	<i>Botrytis squamosa</i>
	<i>Puccinia striiformis</i>		<i>Cercospora beticola</i>
	<i>Pyrenophora tritici repentis</i>		<i>Erysiphe betae</i>
	<i>Septoria nodorum</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>
大麦	<i>Septoria tritici</i>	とうもろこし	<i>Uromyces betae</i>
	<i>Pyrenophora teres</i>		<i>Aureobasidium zeae</i>
大豆	<i>Rhynchosporium secalis</i>	とうがらし	<i>Cercospora sorghi</i>
	<i>Alternaria solani</i>		<i>Cochliobolus heterostrophus</i>
	<i>Cercospora oryzae</i>		<i>Colletotricum graminicola</i>
	<i>Colletotrichum truncatum</i>		<i>Puccinia polyspora</i>
	<i>Diaporthe phaseolorum</i>		<i>Puccinia sorghi</i>
	<i>Phakospora pachyrhizi</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>
	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Setosphaeria turcica</i>
	<i>Sclerotium rolfsii</i>		とうがらし
<i>Septoria glycines</i>	<i>Colletotricum capsici</i>		
豆類	<i>Cercospora spp.</i>	トマト	<i>Leveillula taurica</i>
	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>		<i>Sphaerotheca fuliginea</i>
	<i>Erysiphe polygoni</i>		<i>Alternaria solani</i>
	<i>Phaeosariopsis griseola</i>		<i>Corynespora cassiicola</i>
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		<i>Fluvia fulva</i>
	<i>Uromyces appendiculatus</i>		<i>Sclerotium rolfsii</i>
かんきつ	<i>Phytophthora citrophthora</i>	アデイチョク	<i>Leveillula taurica</i>
うり科作物	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	なし	<i>Alternaria kikuchiana</i>
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		
	<i>Sphaerotheca fuliginea</i>		

(バイエル クロップサイエンス及びアリスタ ライフサイエンスまとめ)

(つづき)

作物名	病原菌名	作物名	病原菌名
にんにく	<i>Alternaria porri</i>	りんご	<i>Alternaria mali</i>
	<i>Botrytis squamosa</i>		<i>Gleodes pomigena</i>
はくさい	<i>Alternaria brassicae</i>		<i>Mycosphaerella pomi</i>
レタス	<i>Bremia lactucae</i>		<i>Podosphaera leucotrica</i>
	<i>Septoria lactucae</i>		<i>Venturia inaequalis</i>
セルリー	<i>Cercospora apii</i>	マンゴー	<i>Colletotrichum spp.</i>
	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Diplodia spp.</i>
	<i>Septoria apiicola</i>		<i>Glomerella cingulata</i>
なたね	<i>Leptosphaeria maculans</i>	ドリアン	<i>Phytophthora palmivora</i>
芝	<i>Colletotricum graminicola</i>	ばれいしょ	<i>Alternaria solani</i>
	<i>Drechslera poae</i>		<i>Phytophthora infestans</i>
	<i>Erysiphe graminis</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>
	<i>Gaumannomyces graminis</i>	いちご	<i>Botrytis cinerea</i>
	<i>Helminthosporium solani</i>		<i>Colletotricum fragariae</i>
	<i>Laetisaria fuciformis</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>
	<i>Leptosphaeria korrae</i>		<i>Sphaerotheca maculans</i>
	<i>Limonomyces roseipellis</i>	ぶどう	<i>Guignardia aesculi</i>
	<i>Magnaporthe spp.</i>		<i>Plasmopara viticola</i>
	<i>Microdochium nivale</i>		<i>Uncinula necator</i>
	<i>Ophiosphaerella herpotrica</i>	もも	<i>Monilinia fructicola</i>
	<i>Puccinia spp.</i>	おうとう	<i>Monilinia laxa</i>
	<i>Pyricularia grisea</i>	バナナ	<i>Mycosphaerella fijiensis</i>
	<i>Pythium aphanidermatum</i>	花き類	<i>Diplocarpon rosae</i>
	<i>Pythium spp.</i>		<i>Erysiphe cichoracearum</i>
	<i>Rhizoctonia cerealis</i>		<i>Phytophthora citrophthora</i>
	<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Puccinia horiana</i>
	<i>Sclerotinia homeocarpa</i>		<i>Puccinia pelargoni</i>
	<i>Sclerotium rolfsii</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>
	<i>Typhula spp.</i>		<i>Sphaerotheca pannosa</i>
<i>Basidiomycetes</i>			

(バイエル クロップサイエンス及びアリスタ ライフサイエンスまとめ)

(イ) 作用機構

フルオキサストロピンはミトコンドリア内のチトクローム bc1 複合体の Qo 部位に結合することにより電子伝達系を阻害し、結果として菌の呼吸を阻害すると考えられている。

同様な作用機構を持つ代表的な殺菌剤としてはアゾキシストロピンやクレソキシムメチルなどが挙げられ、殺菌剤耐性菌対策委員会の作成した作用機構別分類表 (FRAC コード表) ではこれらの殺菌剤と同じ C3 グループに分類されている。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(ウ) 作用特性と防除上の利点等

本化合物はストロビルリン系の新規殺菌剤であり、子嚢菌類、担子菌類、不完全菌類や卵菌類など広範囲の植物病原菌に対して優れた効果を示す。

本化合物は植物病原因の胞子発芽、植物体への菌糸侵入を阻害することによる予防効果に加え、植物体内での菌糸の伸長を阻害することによる治療効果を有する。

芝用の殺菌剤として本化合物を含む2種類のフロアブル剤を開発しているが、いずれの製剤もこうらいしば、のしば、ペントグラス、ケンタッキーブルーグラスなどに対して薬害が認められていないことより、広い草種に対して安全性が高いと考えられる。

IV. 適用及び使用上の注意

1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

(1) フルオキサストロビン 40.3%水和剤

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	フルオキサストロビンを含む農薬の総使用回数
日本芝 (こうら いしば)	疑似葉腐病 (春はげ症)	4000 倍	0.5 L/m ²	休眠期前	6 回以内	散布	6 回以内
日本芝	立枯病 (ゾイシアデクライン)						
	フェアリーリング病 葉腐病 (ラージパッチ)			発病初期			

(2) テトラコナゾール12.0%・フルオキサストロビン20.0%水和剤

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	テトラコナゾールを含む農薬の総使用回数	フルオキサストロビンを含む農薬の総使用回数
日本芝	フェアリーリング病	2000 倍	0.5 L/m ²	発病初期	6 回以内	散布	6 回以内	6 回以内
日本芝 (こうら いしば)	カーブラリア葉枯病 ダラースポット病							
西洋芝 (ベント グラス)	ダラースポット病 炭疽病							
	フェアリーリング病 葉腐病 (ブラウンパッチ) ピシウム病 赤焼病							
西洋芝 (ブルー グラス)	ダラースポット病 フェアリーリング病							

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2. 使用上の注意事項

(1) フルオキサストロビン 40.3%水和剤

- 1) 使用量に合わせ薬液を調製し、使いきること。
- 2) 使用前に容器をよく振ること。
- 3) 蚕に対して影響があるので、周辺の桑葉にはかからないようにすること。
- 4) 耐性菌の出現を防ぐため、過度の連用を避け、なるべく作用性の異なる薬剤との輪番で使用する。
- 5) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意し、特に初めて使用する場合は、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

(2) テトラコナゾール12.0%・フルオキサストロビン20.0%水和剤

- 1) 使用量に合わせ薬液を調製し、使いきること。
- 2) 使用前に容器をよく振ること。
- 3) 蚕に対して影響があるので、周辺の桑葉にはかからないようにすること。
- 4) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意し、特に初めて使用する場合は、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

3. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

(1) フルオキサストロビン 40.3%水和剤

使用残りの薬液が生じないように調製を行い、使いきること。散布器具及び容器の洗浄水は、河川等に流さないこと。また、空容器等は水産動植物に影響を与えないよう適切に処理すること。

(2) テトラコナゾール12.0%・フルオキサストロビン20.0%水和剤

この登録に係る使用方法では該当がない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係

1. 土壌残留

1) 分析方法の原理と操作概要

分析法 1) フルオキサストロビン [PE]

供試土壌をアセトン抽出、酢酸エチル転溶後、フロリジルカラム及びアルミナカラムクロマトグラフィーで精製し、高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) で定量した。

2) 分析対象の化合物名

① フルオキサストロビン [PE]

化学名 : (E) - {2- [6- (2-クロロフェノキシ) -5-フルオロピリミジン-4-イルオキシ] フェニル} (5,6-ジヒドロ-1,4,2-ジオキサジン-3-イル) メタノン=O-メチルオキシム

分子式 : $C_{21}H_{16}ClFN_4O_5$

分子量 : 458.83

3) 残留試験結果

推定半減期：

：フルオキサストロビン [PE]

軽埴土（火山灰）約 101 日、埴壤土（沖積土）約 17 日

分析機関：

試料調製 及び 採取場所	被験物質の 処理方法		経過 日数	測定値 (mg/kg)						
				フルオキサストロビン [PE]						合計 ²⁾
				最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	
日植防研 (牛久) (火山灰) 軽埴土 平成 18 年度	顆粒 水和剤 (50%) 5000 倍 350L/10a	0	-	<0.005	<0.005					
		2	0	1.00	0.950					
		2	1	0.746	0.713					
		2	3	0.787	0.772					
		2	7	0.797	0.782					
		2	14	0.593	0.590					
		2	28	0.615	0.614					
		2	60	0.472	0.466					
		2	120	0.398	0.397					
		2	182	0.380	0.376					
日植防研 高知 (香南) (沖積土) 埴壤土 平成 18 年度	顆粒 水和剤 (50%) 5000 倍 350L/10a	0	-	<0.005	<0.005					
		2	0	0.564	0.564					
		2	1	0.594	0.587					
		2	3	0.466	0.460					
		2	7	0.361	0.350					
		2	14	0.259	0.255					
		2	28	0.326	0.320					
		2	60	0.217	0.206					
		2	120	0.185	0.183					
		2	180	0.069	0.068					
2	240	0.113	0.108							
2	360	0.170	0.170							

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に対する影響

1) 原体

No.	試験の種類 ・ 被験物質	供試生物	一群 当りの 供試数	試験 方法	試験 水温 (°C)	LC ₅₀ または EC ₅₀ 値 (mg/L) (有効成分換算値)				試験機関 (報告 年)	頁
						24 時間	48 時間	72 時間	96 時間		
F-1 GLP	魚類急性 毒性試験 原体 () (%)	コイ	10	止水式	21.7~ 22.9	1.13 ()	0.94 ()	0.68 ()	0.57 ()	(2000)	24
F-2 GLP	魚類急性 毒性試験 原体 () (%)	ブルーギル	20	止水式	22.5~ 23.4	(1.018 ¹⁾)	(0.951 ¹⁾)	(0.951 ¹⁾)	(0.951 ¹⁾)	(1999)	26
F-3 GLP	魚類急性 毒性試験 原体 () (%)	ニジマス	20	止水式	11.3~ 11.7	(0.500 ¹⁾)	(0.455 ¹⁾)	(0.441 ¹⁾)	(0.426 ¹⁾)	(1999)	28
F-4 GLP	ミジンコ類 急性遊泳 阻害試験 原体 () (%)	オオミジンコ	10× 3 反復	止水式	19.8	(0.58)	(0.47)	—	—	(1999)	30
F-5 GLP	藻類生長 阻害試験 原体 () (%)	淡水緑藻 (<i>Pseudokirch- neriella subcapitata</i>)	初期濃度 1.0×10 ⁴ cells/mL	振とう 培養法	23±2	ErC ₅₀ (0-72h) : (>2.49 ¹⁾) NOErC (0-72h) : (0.074 ¹⁾)				(2000)	31

1) 実測濃度に基づく

2) 製剤

フルオキサストロビン 40.3%水和剤

No.	試験の種類 ・ 被験物質	供試生物	一群 当りの 供試数	試験 方法	試験 水温 (°C)	LC ₅₀ または EC ₅₀ 値 (mg/L)				試験機関 (報告 年)	頁
						24 時間	48 時間	72 時間	96 時間		
FF-1 GLP	魚類急性 毒性試験 水和剤 (40.3%)	ニジマス	7	止水式	13.5~ 14.1	—	—	—	1.48	(2012)	33
FF-2 GLP	ミジンコ類 急性遊泳 阻害試験 水和剤 (40.3%)	オオミジンコ	5× 4 反復	止水式	19.8~ 20.3	0.83	0.63	—	—	(2012)	34
FF-3 GLP	藻類生長 阻害試験 水和剤 (40.3%)	淡水緑藻 (<i>Pseudokirch- neriella subcapitata</i>)	初期濃度 0.5×10 ⁴ cells/mL	振とう 培養法	22.8~ 23.5	ErC ₅₀ (0-72h) : >4.5 NOErC (0-72h) : 0.45				(2012)	35

1) 原体

(1) コイを用いた急性毒性試験

(資料 No.F-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000 年

被験物質：フルオキサストロビン原体（純度 ）

供試生物：コイ (*Cyprinus carpio*)

一群各 10 匹、平均全長；42±3 mm、平均湿体重；1±0.2 g

方 法：

暴露方法：止水式

暴露期間：96 時間

環境条件：

試験容器：32×36×38 cm のガラス製水槽

収容密度：10 匹/40 L

照明：16 時間照明

給餌：なし

希釈水：人工調製水

溶存酸素濃度：飽和溶存酸素濃度の 95%以上

pH：7.1～7.2

助剤使用：100 µL アセトン/L 試験液

試験水温：21.7～22.9℃

結 果：

試験濃度	設定濃度 (mg/L)	0.10、0.20、0.40、0.80、1.60	
	平均実測濃度 (mg a.i./L) ¹⁾	0.09、0.17、0.33、0.68、1.37	
LC ₅₀ (mg/L) ²⁾ (95%信頼限界)	24 時間	1.13 (0.80～1.60)	[]
	48 時間	0.94 (0.40～1.60)	[]
	72 時間	0.68 (0.40～1.60)	[]
	96 時間	0.57 (0.40～0.80)	[]

1) 算術平均。

2) 設定濃度に基づき、Binomial probability により算出。

[] 有効成分換算値

被験物質の平均実測濃度は設定濃度の 88～93%であり、本被験物質は試験期間を通じて設定濃度に維持された。本試験結果は設定濃度に基づく値である。

暴露 96 時間後の累積死亡率は、設定濃度 0.40 mg/L 以下で 0%、0.80 mg/L で 100%であり、1.60 mg/L においては暴露 24 時間後に 100%であった。これらの結果から、設定濃

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

度に基づく LC₅₀ (96 時間) は 0.57 mg/L と算出された。

中毒症状としては、暴露 24 時間後から 0.80 mg/L で不活性化、平衡感覚の喪失及び底での沈静等が見られ、1.60 mg/L では暴露 4 時間後から不活性化及び水面浮上が観察された。

対照区及び溶媒対照区の死亡率は 0%であり、いずれの中毒症状も見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(2) ブルーギルを用いた急性毒性試験

(資料 No.F-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

被験物質：フルオキサストロビン原体（純度 ）

供試生物：ブルーギル (*Lepomis macrochirus*)

一群各 20 匹、平均標準体長；27±4 mm、平均湿体重；0.5±0.2 g

方 法：

暴露方法：止水式

暴露期間：96 時間

環境条件：

試験容器：32×36×38 cm のガラス製水槽

収容密度：20 匹/40 L

照明：16 時間照明

給餌：なし

希釈水：人工調製水

溶存酸素濃度：飽和溶存酸素濃度の 95%以上

pH：7.1～7.4

助剤使用：100 μL アセトン/L 試験液

試験水温：22.5～23.4℃

結 果：

試験濃度	設定濃度 (mg/L)	0.208、0.346、0.576、0.960、1.600	
	平均実測濃度 (mg a.i./L) ¹⁾	0.178、0.307、0.453、0.841、1.450	
LC ₅₀ (mg a.i./L) ²⁾ (95%信頼限界)	24 時間	1.018 (0.841～1.450)	
	48 時間	0.951 (0.453～1.450)	
	72 時間	0.951 (0.453～1.450)	
	96 時間	0.951 (0.453～1.450)	

1) 算術平均。

2) 平均実測濃度に基づき、Binomial probability により算出。

被験物質の平均実測濃度は設定濃度の 84～96%であり、本被験物質は試験期間を通じて設定濃度に維持された。本試験結果は平均実測濃度に基づく値である。

暴露 96 時間後の累積死亡率は、平均実測濃度 0.453 mg a.i./L 以下で 0%、0.841 mg a.i./L で 30%であり、1.450 mg a.i./L においては暴露 24 時間後に 100%であった。これらの結果から、平均実測濃度に基づく LC₅₀ (96 時間) は 0.951 mg a.i./L と算出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

中毒症状としては、0.841 mg a.i./L 以上において主に不活性化が観察された。

対照区及び溶媒対照区の死亡率は0%であり、いずれの中毒症状も見られなかった。

(3) ニジマスを用いた急性毒性試験

(資料 No.F-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

被験物質：フルオキサストロビン原体（純度 ）

供試生物：ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)

一群各 20 匹、平均標準体長；43±3 mm、平均湿体重；1.1±0.3 g

方 法：

暴露方法：止水式

暴露期間：96 時間

環境条件：

試験容器：32×36×38 cm のガラス製水槽

収容密度：20 匹/40 L

照明：16 時間照明

給餌：なし

希釈水：人工調製水

溶存酸素濃度：飽和溶存酸素濃度の 96%以上

pH：7.0～7.2

助剤使用：100 μL アセトン/L 試験液

試験水温：11.3～11.7℃

結 果：

試験濃度	設定濃度 (mg/L)	0.104、0.173、0.288、0.480、0.800	
	平均実測濃度 (mg a.i./L) ¹⁾	0.0950、0.154、0.256、0.426、0.712	
LC ₅₀ (mg a.i./L) ²⁾ (95%信頼限界)	24 時間	0.500 (0.426～0.712)	
	48 時間	0.455 (0.256～0.712)	
	72 時間	0.441 (0.256～0.712)	
	96 時間	0.426 (0.256～0.712)	

1) 算術平均。

2) 平均実測濃度に基づき、Binomial probability により算出。

被験物質の平均実測濃度は設定濃度の 94～97%であり、本被験物質は試験期間を通じて設定濃度に維持された。本試験結果は平均実測濃度に基づく値である。

暴露 96 時間後の累積死亡率は、平均実測濃度 0.256 mg a.i./L 以下で 0%、0.426 mg a.i./L で 50%であり、0.712 mg a.i./L においては暴露 24 時間後に 100%であった。これらの結果から、平均実測濃度に基づく LC₅₀ (96 時間) は 0.426 mg a.i./L と算出された。

中毒症状としては、0.256 mg a.i./L 以上において、不活性化、黒色化、底面での沈静及

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

び平衡感覚の喪失が観察された。

対照区及び溶媒対照区の死亡率は 0%であり、いずれの中毒症状も見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(4) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No.F-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

被験物質：フルオキサストロビン原体（純度 ）

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)

生後 24 時間以内、一群各 10 頭×3 反復

方 法：

暴露方法：止水式

暴露時間：48 時間

環境条件：

試験容器：100 mL ガラス製ビーカー

収容密度：10 頭/50 mL

照明：16 時間照明（光強度；平均 700 Lux）

給餌：なし

希釈水：M7（M4 と同じもの）

溶存酸素濃度：8.2～8.7 mg/L（飽和溶存酸素濃度の 93%以上）

pH：7.9～8.1

助剤使用：0.1 mL ジメチルホルムアミド/1L 試験液

試験水温：19.8°C（試験終了時の対照区の温度）

結 果：

試験濃度 (mg a.i./L)	設定濃度	0.010、0.031、0.098、0.176、0.314、0.549、0.98、1.76
	平均実測濃度 ¹⁾	0.011、0.034、0.101、0.182、0.310、0.553、0.978、1.71
EC ₅₀ (mg a.i./L) ²⁾ (95%信頼限界)	24 時間	0.58 (0.51～0.66)
	48 時間	0.47 (0.41～0.53)

1) 申請者により算出。算術平均。

2) 設定濃度に基づき、プロビット法を用いて算出。

被験物質の平均実測濃度は設定濃度の 96%～109%であり、本被験物質は試験期間を通じて設定濃度に維持された。本試験結果は設定濃度に基づく値である。

暴露 48 時間後における遊泳阻害率は、設定濃度 0.098 mg a.i./L 以下で 0%、0.176、0.314 及び 0.549 mg a.i./L でそれぞれ 3、13 及び 60%、0.98 mg a.i./L 以上で 100%であり、設定濃度に基づく EC₅₀（48 時間）は 0.47 mg a.i./L と算出された。

中毒症状としては、0.549 mg a.i./L 以上で着底及び静止が観察された。

また、対照区では死亡、遊泳異常のいずれも観察されなかった。

(5) 藻類生長阻害試験

(資料 No. F-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000 年

被験物質：フルオキサストロビン原体（純度 ）

供試生物：緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata* SAG 61.81 株)

初期細胞濃度： 1×10^4 cells/mL、反復：3 反復（対照区及び試験濃度区は 6 反復）

方 法：

暴露方法：振とう培養法

暴露時間：96 時間

環境条件：

試験容器：300 mL 三角フラスコ

試験水量：150 mL

照明：約 8000 Lux で連続照射

培地：栄養培地 No.2

pH：6.93～10.02

助剤使用：ジメチルホルムアミド

試験水温：23 ± 2°C

結 果：

試験濃度	設定濃度 (mg/L)	0.10、0.20、0.40、0.80、1.60、3.20
	平均実測濃度 (mg a.i./L) ¹⁾	0.074、0.150、0.306、0.611、1.22、2.49
ErC ₅₀ (mg/L) 72 時間 ²⁾		2.67 []
NOEC _r (mg/L) 72 時間 ³⁾		0.10 []

1) 算術平均。

2) 設定濃度に基づき、プロビット法を用いて算出。

3) 設定濃度に基づき、Dunnnett 法を用いて算出。

[] 有効成分換算値

被験物質の平均実測濃度は設定濃度の 79%～83%であった。設定濃度に基づく値を下記に記載する。

設定濃度に基づく ErC₅₀ (72 時間) は 2.67 mg/L、NOEC_r (72 時間) は 0.10 mg/L と算出された。

[申請者註]

本試験成績においては、無処理対照区及び助剤対照区の平均値との比較に基づき毒性値が算出されていた。したがって、助剤対照区との比較に基づき 0～72 時間における生長阻害率、ErC₅₀ 及び NOEC_r の再計算を平均実測濃度（算術平均）に基づいて実施した。結果は以下のとおり。

なお、試験終了時の実測濃度は、試験開始時の実測濃度の 98%～103%であり、実測濃度は試験期間を通じて一定に維持されていたため、実測濃度の平均値として算術平均を用いることは妥当であると考ええる。

ErC ₅₀ (mg a.i./L) 72 時間 ¹⁾	>2.49
NOEC _r (mg a.i./L) 72 時間 ²⁾	0.074

- 1) 最高濃度における生長阻害率が 50%未満。
- 2) 平均実測濃度に基づき Dunnett 法を用いて算出。

2) 製剤

(1) ニジマスを用いた急性毒性試験

(資料 No. FF-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質：フルオキサストロピン 40.3%水和剤

供試生物：ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)

一群各 7 尾、平均全長；49 mm (46~52 mm)、平均湿体重；0.9 g (0.7~1.1 g)

方 法：

暴露方法：止水式

暴露期間：96 時間

環境条件：

試験容器：30×20×21 cm

試験水量：10 L

照明：16 時間照明

給餌：なし

希釈水：活性炭濾過鑿井水

溶存酸素濃度：81.2~97.6%

pH：7.23~8.33

試験水温：13.5~14.1°C

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.1、0.22、0.45、1.0、2.2、4.5
LC ₅₀ (mg/L) ¹⁾	96 時間	1.48 (1.10~2.00)

値は製剤濃度として記載

1) binominal 法を使用

() 内は 95%信頼限界

暴露 96 時間後における累積死亡率は、1.0 mg/L 以下で 0%、2.2 mg/L 以上で 100%であり、LC₅₀ (96 時間) は 1.48 mg/L と算出された。

1.0 mg/L 以下では、いずれの中毒症状も観察されなかった。

(2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No. FF-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質：フルオキサストロビン 40.3%水和剤

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)

一群各 5 頭×4 (生後 24 時間以内の個体)

方 法：

暴露方法：止水式

暴露時間：48 時間

環境条件：

試験容器：250 mL ガラスビーカー

試験水量：200 mL

照明：16 時間照明

給餌：なし

希釈水：Elendt M4 培地

溶存酸素濃度：11.01～11.24 mg/L

pH：7.10～7.31

試験水温：19.8～20.3℃

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.1、0.22、0.45、1.0、2.2
EC ₅₀ (mg/L) ¹⁾	24 時間	0.83 (0.65～1.06)
	48 時間	0.63 (0.50～0.78)

値は製剤濃度として記載

1) Spearman-Kärber 法を使用

() 内は 95%信頼限界

暴露 48 時間後における累積遊泳阻害率は、0.1、0.22、0.45、1.0 及び 2.2 mg/L でそれぞれ 0、15、15、80 及び 100%であり、EC₅₀ (48 時間) は 0.63 mg/L と算出された。

症状としては、1.0 mg/L において運動量の減少が観察された。

(3) 藻類生長阻害試験

(資料 No. FF-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質：フルオキサストロビン 40.3%水和剤

供試生物：淡水緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata* CCAP 278/4 株)

初期濃度： 0.5×10^4 cells/mL、3 連 (対照区 6 連)

方 法：

暴露方法：振とう培養法 (100 rpm)

暴露時間：96 時間

環境条件：

照明：73.1～93.6 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ (連続照明)

pH：7.05～8.39

培地：AAP 培地

試験液の調製方法：所定量の被験物質を AAP 培地に溶解して 100 mg/mL の原液を作製した後、100mL の AAP 培地及び所定量の原液から試験水を調製した。

試験温度：22.8～23.5°C

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.1、0.22、0.45、1.0、2.2、4.5
ErC ₅₀ (mg/L) ¹⁾	0～72 時間	>4.5
NOErC (mg/L)	0～72 時間	0.45

値は製剤濃度として記載

1) 線形補間法を使用

暴露開始時～暴露開始72時間後における成長速度に基づく藻類生長阻害率は、0.1、0.22、0.45、1.0、2.2 及び 4.5 mg/L 濃度区でそれぞれ 1、1、13、19、25 及び 40%であり、ErC₅₀ (0～72 時間) は >4.5 mg/L、NOErC (0～72 時間) は 0.45 mg/L と算定された。

2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

(1) 蚕

資料 No.	試験名称及び被験物質	供試生物	一群当りの供試虫数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験機関 (報告年)
E-2	蚕急性毒性試験 原体 (%)	蚕 春嶺×鐘月 (4 齢起蚕)	10頭×5連 2反復	経口毒性： 13.3 mg/飼料 100g 混餌投与 (40.3%水和剤 4000 倍希 积液 120 ppm 相当)	死虫率 対照区 12 日後：0% 1 日後：13% 3 日後：33% 5 日後：60% 7 日後：86% 9 日後：94% 12 日後：100%	(2013)

(2) ミツバチ

資料 No.	試験名称及び被験物質	供試生物	一群当りの供試虫数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験機関 (報告年)
E-1 GLP	ミツバチ急性 経口接触毒性 試験 原体 (%)	セイヨウミツバチ (<i>Apis mellifera L.</i>) 成虫	10頭 3反復	経口毒性：1628 µg/頭 (実質摂餌量；843.3 µg/頭) 混餌投与 接触毒性：200µg/頭 胸部に処理	48時間経口LD ₅₀ ： > 843.3 µg/頭 48時間接触LD ₅₀ ： >200 µg/頭	(2000)

(3) 天敵

資料 No.	試験名称及び被験物質	供試生物	一群当りの供試虫数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験機関 (報告年)
E-3	ナミントウ急性接 触毒性試験 原体 (%)	ナミントウ (<i>Harmonia axyridis</i>) 3 齢幼虫	4頭 8反復	間接接触暴露試験：0.24 µg/cm ² を試験容器表面に 滴下拡散し、容器内に供 試虫を放飼。 (40.3%水和剤 4000 倍希 积液 120 ppm の 2 倍濃度 相当)	死虫率 対照区 72 時間後：3.1% 24 時間後：0% 48 時間後：0% 72 時間後：3.1%	(2013)
E-4	シヨカブ'リタ'ニ急 性接触毒性 試験 原体 (%)	シヨカブ'リタ'ニ (<i>Amblyseius californicus</i>) 若虫	8頭 4反復	間接接触暴露試験：0.24 µg/cm ² を試験容器表面に 滴下拡散し、容器内に供 試虫を放飼。 (40.3%水和剤 4000 倍希 积液 120 ppm の 2 倍濃度 相当)	死虫率 対照区 72 時間後：0% 24 時間後：3.3% 48 時間後：3.3% 72 時間後：6.7%	(2013)
E-5	キイロタマゴ'ハチ急 性接触毒性 試験 原体 (%)	キイロタマゴ'ハチ (<i>Trichogramma dendrolimi</i>) 雌成虫	15頭 3反復	間接接触暴露試験：0.24 µg/cm ² を試験容器表面に 滴下拡散し、容器内に供 試虫を放飼。 (40.3%水和剤 4000 倍希 积液 120 ppm の 2 倍濃度 相当)	死虫率 対照区 72 時間後：2.1% 24 時間後：0% 48 時間後：0% 72 時間後：0%	(2013)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(4) 鳥類

資料 No.	試験の種類 ・被験物質	供試 生物	一群 当りの供試 数	試験方法 (投与方法、投与量、試 験条件等)	試験結果	試験機関 (報告年)
B-1 GLP	経口投与 毒性試験 原体 (%)	コリン ウズラ (<i>Colinus virginianus</i>)	雌雄各5羽	500、1000、2000mg a.i./kg ゼラチンカプセルを単回 経口投与 14日間観察	LD ₅₀ : >2000mg a.i./kg NOAEL : >2000mg a.i./kg	(2000)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

Ⅶ. 使用時安全上の注意、解毒法等

1. 使用時安全上の注意事項

(1) フルオキサストロビン 40.3%水和剤

- 1) 本剤は皮膚に対して弱い刺激性があるので皮膚に付着しないよう注意すること。
付着した場合には直ちに石けんでよく洗い落とすこと。
- 2) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。
作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをする。
- 3) 公園等で使用する場合は、散布中および散布後（少なくとも散布当日）に小児や関係のない者が散布区域に立ち入らないように縄囲いや立て札を立てるなど配慮し、人畜等に被害を及ぼさないよう注意を払うこと。

(2) テトラコナゾール 12.0%・フルオキサストロビン 20.0%水和剤

- 1) 誤飲などのないよう注意すること。
誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。
本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。
- 2) 本剤は眼に対して弱い刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに十分に水洗いし、眼科医の手当を受けること。
- 3) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。
作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに洗眼すること。
- 4) 公園等で使用する場合は、散布中および散布後（少なくとも散布当日）に小児や関係のない者が散布区域に立ち入らないように縄囲いや立て札を立てるなど配慮し、人畜等に被害を及ぼさないよう注意を払うこと。

2. 解毒法及び治療法

特定の解毒法はなく、本剤を体外に排除し対症治療法による治療を行う。

3. 製造時、使用時等における事故例

製造時及び散布時における中毒症例はない。

VIII. 毒性

(毒性一覧表)

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試生物	1群当りの動物数	投与方法	投与量 (mg/kgまたは mg/kg/日)	LD ₅₀ または無毒性量 (mg/kgまたは mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-1 (GLP)	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各3	経口	♂♀: 100, 2000	♂♀>2500	(1996)	45
T-2 (GLP)	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各3	経口	♂♀: 2000	♂♀>2500	(1998)	47
T-3 (GLP)	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀: 2000	♂♀>2000	(1998)	48
T-4 (GLP)	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各5	吸入 (ダスト)	♂♀: 0, 4998 mg/m ³ (4時間、鼻部暴露)	♂♀>4998 mg/m ³	(1999)	49
T-5 (GLP)	皮膚刺激性 (72時間観察)	ウサギ	♂3	塗布	500 mg	刺激性なし	(1999)	51
T-6 (GLP)	眼刺激性 (4日間観察)	ウサギ	♂3	点眼	100 mg	軽度の刺激性あり	(1999)	53
T-7 (GLP)	皮膚感作性 (72時間観察)	モルモット	検体 ♀10 対照 ♀5	Maximization 法 感作: 5% (皮内) 50% (経皮) 惹起: 40% (経皮)		感作性なし	(1996)	55
T-8 (GLP)	皮膚感作性 (72時間観察)	モルモット	検体 ♂20 対照 ♂10	Maximization 法 感作: 5% (皮内) 50% (経皮) 惹起: 50% (経皮)		感作性なし	(2003)	57
T-9 (GLP)	皮膚感作性 (72時間観察)	モルモット	検体 ♀20 対照 ♀10	Maximization 法 感作: 5% (皮内) 62.5% (経皮) 惹起: 62.5% (経皮)		感作性なし	(2006)	59
T-10 (GLP)	急性神経毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各12	経口	♂♀: 0, 200, 500, 2000	神経毒性 ♂♀2000 神経毒性なし	(2001)	62
	急性遅発性神経毒性	する。					試験を除外	66
T-11 (GLP)	13週間反復経口投与毒性 (免疫毒性試験群; 5週間、回復群; 4週間)	ラット	主試験群、回復群 ♂♀各10 免疫群: 各5	飼料中混入	♂: 0, 8.7, 70.4, 580.0 ♀: 0, 21.5, 162.9, 1416.1 ♂: 0, 125, 1000, 8000 ppm ♀: 0, 250, 2000, 16000 ppm 下線: 回復群もあり	♂8.7 (125 ppm) ♀21.5 (250 ppm) 免疫毒性なし	(1998)	67
T-12 (GLP)	13週間反復経口投与毒性	マウス	♂♀各10	飼料中混入	♂: 0, 81, 313, 1304 ♀: 0, 135, 539, 2257 0, 450, 1800, 7000 ppm	♂81 ♀135 (450 ppm)	(1998)	83
T-13 (GLP)	90日間反復経口投与毒性 (高用量)	イヌ	♂♀各4	飼料中混入	♂: 0, 3.0, 24.8, 76.0 ♀: 0, 3.0, 24.2, 75.0 0, 100, 800, 2500 ppm	♂♀3.0 (100 ppm)	(2001)	88
T-14 (GLP)	90日間反復経口投与毒性 (低用量)	イヌ	♂♀各4	飼料中混入	♂: 0, 0.7, 1.4 ♀: 0, 0.7, 1.5 0, 25, 50 ppm	♂1.4 ♀1.5 (50 ppm)	(2001)	101

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試生物	1群当りの動物数	投与方法	投与量 (mg/kg または mg/kg/日)	LD ₅₀ または無毒性量 (mg/kg または mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-15 (GLP)	28 日間反復経皮投与毒性	ラット	♂♀各 10	経皮	♂♀ : 0、100、300、1000	♂1000 ♀1000	(2000)	108
	90 日間反復吸入毒性	試験を除外する。						113
T-16 (GLP)	13 週間反復神経毒性	ラット	♂♀各 12	飼料中混入	♂ : 0、12.7、59.5、473.9 ♀ : 0、15.1、71.7、582.4 0、200、1000、7500 ppm	♂59.5 ♀71.7 (1000 ppm) 神経毒性 ♂474 ♀582 (7500 ppm) 神経毒性なし	(2002)	114
	28 日間反復遅発性神経毒性	試験を除外する。						118
T-17 (GLP)	1 年間反復経口投与毒性 (1 年間)	イヌ	♂♀各 4	飼料中混入	♂ : 0、0.8、1.7、8.1、34.9 ♀ : 0、0.7、1.5、7.7、37.4 0、25、50、250、1200 ppm	♂1.7 ♀1.5 (50 ppm)	(2002)	119
T-18 (GLP)	2 年間反復経口投与毒性/発がん性 (24 ヶ月間)	ラット	♂♀各 60	飼料中混入	♂ : 0、2.1、5.2、53.0、271.9 ♀ : 0、6.9、35.2、181.3、1083.2 ♂ : 0、40、100、1000、5000 ppm ♀ : 0、100、500、2500、12500 ppm	♂53.0 (1000 ppm) ♀35.2 (500 ppm) 発がん性なし	(2001)	131
T-19 (GLP)	発がん性 (18 ヶ月間)	マウス	♂♀各 50	飼料中混入	♂ : 0、18.5、135.4、775.6 ♀ : 0、29.5、204.0、1265.1 0、100、700、4200 ppm	♂18.5 ♀29.5 (100 ppm) 発がん性なし	(2001)	167
T-20 (GLP)	繁殖毒性 (2 世代、P 世代 : 交配 70 日前~F1 離乳時、F1 世代 : 離乳時~F2 離乳時)	ラット	♂♀各 30	飼料中混入	P 世代 ♂ : 0、6.8、73.7、763.6 ♀ : 0、8.1、86.7、871.3 妊娠期間 : ♀ : 0、7.0、75.3、741.6 哺育期間 : ♀ : 0、15.8、170.6、1624.6 0、100、1000、10000 ppm	親、児動物 : ♂73.7 ♀86.7 (1000 ppm) 繁殖性 : ♂763.6 ♀806.5 (10000 ppm)	(2001)	180
T-21 (GLP)	催奇形性 (妊娠 6~20 日、15 日間)	ラット	♀25	経口	0、100、300、1000	母動物 300 胎児 1000 催奇形性なし	(1997)	189
T-22 (GLP)	催奇形性 (妊娠 6~28 日、23 日間)	ウサギ	♀22	経口	0、25、100、400	母動物 25 胎児 100 催奇形性なし	(1999)	195

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試生物	1群当りの動物数	投与方法	投与量 (mg/kg または mg/kg/日)	LD ₅₀ または無毒性量 (mg/kg または mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-23 (GLP)	変異原性 復帰変異性	ネズミチフス菌 TA1535、TA1537、 TA98、TA100、 TA102		<i>in vitro</i>	プレート法： 0、16、50、158、500、 1581、5000 µg/プレート プレインキュベーション法： 0、10、32、100、316、 1000、3162 µg/試験管	陰性	(1996)	206
T-24 (GLP)	変異原性 復帰変異性	ネズミチフス菌 TA1535、TA1537、 TA98、TA100、 TA102		<i>in vitro</i>	プレート法： 0、16、50、158、500、 1581、5000 µg/プレート プレインキュベーション法： 0、16、50、158、500、 1581、5000 µg/試験管	陰性	(1998)	209
T-25 (GLP)	変異原性 染色体異常	チャイニーズハム スターV79 細胞		<i>in vitro</i>	18 時間後作製：0、20、 40、80 µg/mL 30 時間後作製：0、80 µg/mL	陰性	(1996)	212
T-26 (GLP)	変異原性 遺伝子突然変異 (HPRT アッセイ)	チャイニーズハム スターV79 細胞		<i>in vitro</i>	-S9：0、1、5、25、50、 100、200 µg/mL +S9：0、1、5、25、50、 75、100、200 µg/mL	陰性	(1997)	215
T-27 (GLP)	変異原性 遺伝子突然変異 (HPRT アッセイ)	チャイニーズハム スターV79 細胞		<i>in vitro</i>	第1回 -S9：0、20、30、40、60、 80、120、160 µg/mL +S9：0、20、30、40、 60、80、120、160 µg/mL 第2回 -S9：0、8、16、24、32、 40、48、56 µg/mL +S9：0、20、30、40、 50、60、70、80 µg/mL 第3回 -S9：0、8、16、24、32、 40、48 µg/mL	陰性	(2003)	219
T-28 (GLP)	変異原性 小核試験	マウス	♂5	腹腔内 24h×2	0、75、150、300	陰性	(1999)	224

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 (期間)		供試 生物	1群 当りの 動物数	投与 方法	投与量 (mg/kg または mg/kg/日)	LD ₅₀ または無毒 性量 (mg/kg ま たは mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-29 (GLP)	生体 機能 への 影響	症状観察 (Irwin 変法)	ラット	♂5	強制 単回 経口	0、200、600、2000	♂>2000	(2013)	226
		呼吸数 1 回換気量					♂>2000		
		血圧、心拍数 (Tail-cuff 法)					♂>2000		
T-30								229	
T-31								234	
T-32								245	
T-33								254	
T-34								266	
T-35								270	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試 生物	1群 当りの 動物数	投与 方法	投与量 (mg/kg または mg/kg/日)	LD ₅₀ または無毒 性量 (mg/kg ま たは mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-36								290
T-37								295
T-38								298

2. 製剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試 生物	1群 当りの 動物数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ または無 毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
FT-1 (GLP)	急性毒性 水和剤 (40.3%) (14日間観察)	ラット	♀3	経口	5000	♀>5000	(2003)	303
FT-2 (GLP)	急性毒性 水和剤 (40.3%) (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	5000	♂♀>5000		304
FT-3 (GLP)	急性毒性 水和剤 (40.3%) (14日間観察)	ラット	♂♀各5	吸入 (エアゾール)	♂♀ : 2170mg/m ³ (4時間、鼻部暴露)	♂♀>2170 mg/m ³	(2003)	305
FT-4 (GLP)	皮膚刺激性 水和剤 (40.3%) (10日間観察)	ウサギ	♂2♀1	貼付	0.5 mL/匹	軽度の刺激性	(2003)	307
FT-5 (GLP)	眼刺激性 水和剤 (40.3%) (3日間観察)	ウサギ	♂2♀1	点眼	0.1 mL/眼	刺激性なし		309
FT-6 (GLP)	皮膚感作性 水和剤 (40.3%) (48時間観察)	モルモット	検体 ♂20 対照 ♂10	経皮	Buehler 法 感作; 100% 惹起; 100%	感作性なし	(2013)	311
FT-7 (GLP)	急性毒性 水和剤 (20.0%) * (14日間観察)	ラット	♀3	経口	300, 2000	♀ 300 < LD ₅₀ ≤ 2000	(2013)	313
FT-8 (GLP)	急性毒性 水和剤 (20.0%) * (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	2000	♂♀>2000		315
FT-9 (GLP)	皮膚刺激性 水和剤 (20.0%) * (3日間観察)	ウサギ	♀3	貼付	0.5 mL/匹	刺激性なし		316
FT-10 (GLP)	眼刺激性 水和剤 (20.0%) * (3日間観察)	ウサギ	非洗眼 ♀3 洗眼 ♀3	点眼	0.1 mL/眼	軽度の刺激性 洗眼効果あり		318
FT-11 (GLP)	皮膚感作性 水和剤 (20.0%) * (48時間観察)	モルモット	検体 ♀20 対照 ♀10	経皮	Buehler 法 感作; 100% 惹起; 100%	感作性なし		320

* テトラコナゾール 12.0%・フルオキサストロビン 20.0%水和剤

1. 原体を用いた試験成績

(1) 急性毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. T-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

検体の純度： %

供試動物：Wistar 系ラット (Hsd.Cpb:WU)、雄約 8 週齢、雌約 10～11 週齢、
体重 (雄) 178～184 g、(雌) 169～184 g、一群雌雄各 3 匹

観察期間：14 日間

試験方法：1995 年 4 月 28 日付け OECD 化学物質試験ガイドライン案“急性毒性:急性毒性分類法”
に従った。

投与方法：検体を 2% (v/v) クレモホール EL を含む脱イオン水溶液で所定濃度 (雄雌 2 濃度) に懸濁調製し、100 及び 2000 mg/kg を単回強制経口投与した。なお、投与液量は 10 mL/kg とした。投与前は一晚 (約 17 時間) 絶食させた。

観察・検査項目：毒性徴候及び生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。観察期間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。
LD₅₀ 値は OECD 化学物質の試験ガイドライン案の結果の解釈に基づいて求めた。

結果：(設定投与量に基づき評価した。)

投与方法	経口
設定投与量 (mg/kg)	雌雄 100、2000
実測投与量 (mg/kg)	雌雄 112、1856
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >2500
死亡開始時間及び終了時間	雌雄 死亡動物なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄 症状発現動物なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

検体投与に起因する中毒症状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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

体重及び剖検では、検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

1-2) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. T-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体の純度： %

供試動物：Wistar 系ラット (Hsd.Cpb:WU)、雄約 6 週齢、雌約 8 週齢、
体重 (雄) 165~166 g、(雌) 169~171 g、一群雌雄各 3 匹

観察期間：14 日間

試験方法：1996 年 3 月 22 日に採用された OECD 化学物質試験ガイドライン 423 “急性経口毒性:急性毒性分類法” に従った。

投与方法：検体を 2% (v/v) クレモホール EL を含む脱イオン水溶液で所定濃度 (雄雌 1 濃度) に懸濁調製し、2000 mg/kg を単回強制経口投与した。なお、投与液量は 10 mL/kg とした。投与前は一晚 (約 17 時間) 絶食させた。

観察・検査項目：毒性徴候及び生死を投与後 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：(設定投与量に基づき評価した。)

投与方法	経口
設定投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >2500
死亡開始時間及び終了時間	雌雄 死亡動物なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄 症状発現動物なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

検体投与に起因する中毒症状は認められなかった。

体重及び剖検では、検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. T-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体の純度： %

供試動物：Wistar 系ラット (Hsd.Cpb:WU)、雄約 7 週齢、雌約 14 週齢、
体重 (雄) 221~231 g、(雌) 235~248 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：1987 年 2 月 24 日付け OECD 化学物質試験ガイドライン 402 “急性経皮毒性” に従った。

投与方法：Leukoflex[®]で裏張りした Cutiplast の湿ったガーゼに広げた検体 (約 20 cm²) を水道水で湿らせた後、ガーゼを剪毛した背部皮膚に貼付して伸縮性テープで閉塞した。さらに、ラットジャケットを着せて運動を抑制した。貼付約 24 時間後、テープ及びガーゼを除去し、貼付部位を石鹼と水道水で洗浄した。

観察・検査項目：毒性徴候及び生死を投与後 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >2000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄 死亡動物なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄 症状発現動物なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

検体投与に起因する中毒症状は認められなかった。

体重及び剖検では、検体投与による影響は認められなかった。

3) ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No. T-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度： %

供試動物：Wistar 系ラット (Hsd.Cpb:WU)、2~3 ヶ月齢、体重 (雄) 181~210 g、(雌) 165~182 g、
一群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

曝露方法：ダスト発生装置 (EXACTOMAT 4200) を用いて検体のダストを発生させ、粒子の大きなダストを vertical elutriator で分離した後に、チャンバー内に噴射し、4 時間鼻部曝露した。

対照群は、同様の手順で導入した室内の空気に曝露した。グラスファイバーフィルターを用いて曝露空気を捕集し、重量測定法により実測濃度を求めた。

曝露条件：

設定濃度 (mg/m ³)	0	5000
実測濃度 (mg/m ³)	—	4998
粒子径分布 (%) ¹⁾		
< 1.10 μm		4.39
1.10~2.10 μm		11.39
2.10~3.30 μm	—	20.09
3.30~4.70 μm		25.21
4.70~5.80 μm		11.98
5.80~9.00 μm		15.16
9.00 μm <		11.81
空気力学的質量中位径 (μm)	—	3.74
呼吸可能な粒子 (<3 μm) 径分布 (重量比%)	—	35.9
チャンバー容積 (L)	3.8	
チャンバー内通気量 (L/分) ²⁾	14	26
曝露条件	ダスト 4 時間 鼻部曝露	

1) ANDERSEN 型カスケードインパクターにより 2 回測定した平均

2) 流入及び排気流量の平均で示した。

3) —：該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

観察・検査項目：毒性徴候及び生死を暴露当日は数回、暴露後は毎日少なくとも1回（週末は朝1回）14日間観察した。又、Irwinの方法に従い反射反応を調べた。体重は暴露直前、暴露後3、7及び14日に測定した。暴露終了後30分以内に直腸温度を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について臓器の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	吸入	
	雄	雌
暴露濃度（実測濃度（mg/m ³ ））	0、4998	
LC ₅₀ （mg/m ³ ）	> 4998	> 4998
死亡開始及び終了時間	暴露期間中に発現・消失*	死亡例なし
症状発現及び消失時間	暴露当日に発現* 暴露終了後3日に消失	暴露当日に発現* 暴露終了後3日に消失
死亡例の認められなかった最高暴露濃度（mg/m ³ ）	—	4998

* 暴露中の観察は実施していない。

—：該当なし

暴露期間中に雄1例が死亡した。毒性徴候として、雌雄ともに、立毛、被毛粗剛、呼吸緩徐、呼吸困難、鼻排出物（漿液性）、自発運動減少及び跛行が認められた。反射反応への影響は認められなかった。

雌雄ともに、投与2日後に体重及び体重増加量に一過性の有意な減少が認められた。又、雌雄ともに、直腸温度に軽度であるが有意な直腸温度の低下が認められた。

試験期間中の死亡動物の剖検所見として、鼻腔及び気管に白色の粘液性内容物が、腸に赤色の内容物が認められたが、生存動物には検体投与に起因する変化は認められなかった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. T-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度： %

供試動物：ヒマラヤ種ウサギ、約 5 ヶ月齢、体重 2.0～2.2 kg、一群雄 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：検体 2000 mg に水 2 mL を加えよく混合しペースト状にした。このペースト 500 mg を刈毛した動物の背中の皮膚（約 6 cm²）に塗布し、上にガーゼパッチを当て、暴露期間中半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とした。

観察項目：暴露開始直前、暴露終了後 60 分、24、48、72 時間に投与部分の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無を下記の評点表に従って採点した。各動物の 60 分、24、48 及び 72 時間後の紅斑及び浮腫の評点を合計して 4 で割り、個体別刺激率を求め、これらを平均して皮膚一次刺激率を求めた。その他の病変及び毒性徴候についても観察した。

紅斑・痂皮

評点	判定基準
0	紅斑なし
1	ごく軽度の紅斑（かろうじて識別できる）
2	はっきりと識別できる紅斑
3	中等度から重度の紅斑
4	重度の紅斑（深紅色）から軽度の痂皮形成（深部の傷害）、紅斑の判定不能

浮腫

評点	判定基準
0	浮腫なし
1	ごく軽度の浮腫（かろうじて識別可能）
2	軽度な浮腫（明瞭な膨隆により縁が識別可能）
3	中等度の浮腫（約 1 mm の膨隆）
4	重度の膨隆（1 mm 以上の膨隆及び暴露範囲を超えた拡がり）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結果：観察した刺激性変化の採点は下表のとおりである。

動物 番号	項目	最高 採点 [※]	除去後時間			
			60分	24時間	48時間	72時間
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

※ 判定基準の最高採点

いずれの動物でも、刺激性（紅斑及び浮腫）の徴候は認められなかった。その結果、一次刺激率は0.0であった。その他の病変及び毒性徴候も認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性を有しないと判定された。

2) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No. T-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体純度： %

供試動物：ヒマラヤ種ウサギ、約 5 ヶ月齢、体重 2.3~2.6 kg、一群雄 3 匹

観察期間：4 日間

投与方法：検体 100 mg を右眼の結膜嚢に適用し、眼瞼を閉じて約 1 秒間保持した。左眼は無処置対照とした。適用後、肢で眼をこすこと、糞と尿による刺激性を防ぐため、動物は個別に頭のみを自由に動かすことができる保定器に保定した。

観察項目：適用前、適用 1、24、48、72 時間及び 4 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、OECD ガイドライン 405 (1987 年) に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次表のとおりである。

動物 番号	項目	最高 評点*	適用後時間						
			適用前	1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	
1	角膜混濁	4	0	0	1	1	1	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	1	1	0	0
		腫脹	4	0	0	1	1	0	0
2	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0
		腫脹	4	0	0	0	0	0	0
3	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0
		腫脹	4	0	0	0	0	0	0
合計*		39	0	0	3	3	1	0	
平均*		13	0	0	1	1	0.3	0	

※ 判定基準の最高評点

* 申請者により計算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

角膜混濁（評点 1）が、検体適用後 24～72 時間に 1/3 の動物に認められ、24 時間後のフルオレセイン染色で角膜上皮の 3/4 に影響が確認された。

虹彩には影響は認められなかった。

結膜には、発赤（評点 1）及び浮腫（評点 1）が 24～48 時間に 1/3 の動物に認められた。

全ての刺激性変化は適用後 4 日以内に消失した。

なお、全身的な影響は認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの眼粘膜に対して、軽度の刺激性を有すると判定された。

(3) 皮膚感作性

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. T-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

検体純度： %

供試動物：Dunkin-Hartley 系 (Hsd Poc:DH) SPF-モルモット、約 5~6 週齢、体重 256~343 g、
検体処理群；一群雌各 10 匹、対照群；一群雌各 5 匹

観察期間：感作開始後 31 日間（惹起処理終了後 3 日間）

試験操作：[Maximization 法 (Magnusson 及び Kligman の方法)]

感作及び惹起処理液は検体を 2% Cremophor EL® 含有生理食塩液に懸濁して適用した。なお、対照群には 2% Cremophor EL® 含有生理食塩液のみを適用した。

用量設定根拠；

感作（皮内投与）；適用 1 日前に、動物の背部皮膚を剪毛し、上頸背部から脊柱の左右に一列に 3 ヶ所投与した。投与容量は 1 カ所につき 0.1 mL とした。頭部側左右にフロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水（1：1）液を、中央左右に 5% 検体懸濁液を、尾部側左右にフロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水（1：1）で調製した 5% 検体懸濁液を投与した。

感作（経皮投与）；皮内投与 1 週間後に経皮投与を行った。経皮投与前日に、動物の背部皮膚を剪毛し、50% 検体懸濁液 0.5 mL を低刺激性パッチ（2×4 cm）に塗布して、48 時間閉塞貼付し、暴露終了時に残存物質を滅菌生理食塩水で取り除いた。

惹起；皮内投与の 3 週間後に行った。惹起前日に動物の背部及び腹部を剪毛した。惹起では、40% 検体懸濁液 0.5 mL を塗布した低刺激性のパッチを、検体投与群及び対照群の動物の左側腹部（尾部側）に貼付し、24 時間閉塞貼付した。暴露期間終了時に、残存被験物質を生理食塩水で取り除き、4 時間後に惹起部位を剪毛した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

観察項目：惹起適用後、48 及び 72 時間後に適用部位の紅斑の有無等を肉眼的に観察し、以下の基準に従って採点した。

評点	判定基準
0	肉眼的に変化なし
1	軽度の散在性の紅斑
2	中等度のびまん性の紅斑
3	強い紅斑と浮腫

結果：惹起後の各観察時間における感作反応動物数、評点及び陽性率を下表に示す。

群		供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)		
			48 時間後					計	72 時間後					48 時間	72 時間
感作	惹起	皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計				
		0	1	2	3		0	1	2	3					
皮内 5%検体 経皮 50%検体	40%検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0
媒体	40%検体	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0	0

40%検体懸濁液を用いた惹起では、投与群 10 匹及び対照群 5 匹の動物に皮膚反応はなかった。

なお、当該試験では陽性対照群を設定しなかったが、別途、2-メルカプトベンゾチアゾールを用いて実施した感受性試験（試験成績報告年 1996 年 1 月 8 日）の結果、雄動物に皮内投与に 2.5%を、経皮投与に 40%の投与液を用いたところ、40%の投与液で惹起後、供試動物の 67%が皮膚反応を示した。当該試験方法の感度、信頼性及び妥当性が確認された。

又、他の毒性病変あるいは影響も観察されなかった。

以上の結果から、検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. T-8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検体純度： %

供試動物：Hartley 系 (CrI : HA) SPF-モルモット、約 3~4 週齢、体重 302~380 g、

検体処理群；一群雄各 20 匹、対照群；一群雄各 10 匹

観察期間：感作開始後 31 日間（惹起処理終了後 3 日間）

試験操作：[Maximization 法 (Magnusson 及び Kligman の方法)]

感作及び惹起処理液は検体を 2% Cremophor EL® 含有生理食塩液に懸濁して適用した。

なお、対照群には 2% Cremophor EL® 含有生理食塩液のみを適用した。

用量設定根拠；

感作（皮内投与）；適用 1 日前に、動物の背部皮膚を剪毛し、上頸背部から脊柱の左右に一行に 3ヶ所投与した。第一及び第二投与部位は隣接させ、第三投与部位は第二投与部位から 2 cm 離れた。投与容量は 1カ所につき 0.1 mL とした。頭部側左右にフロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水（1：1）液を、中央左右に 5% 検体懸濁液を、尾部側左右にフロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水（1：1）で調製した 5% 検体懸濁液を投与した。投与部位は、投与 2 及び 7 日に肉眼的に評価した。

感作（経皮投与）；皮内投与 1 週間後に経皮投与を行った。経皮投与前日に、動物の背部皮膚を剪毛し、50% 検体懸濁液 0.5 mL を低刺激性パッチ（2×4 cm）に塗布した。48 時間閉塞貼付し、暴露終了時に残存物質を滅菌生理食塩水で取り除いた。

惹起；皮内投与の 3 週間後に行った。惹起前日に動物の背部及び腹部を剪毛した。惹起では、50% 検体懸濁液を 0.5 mL 塗布した低刺激性のパッチを、検体投与群及び対照群の動物の左側横腹部（尾部側）に貼付し、24 時間閉塞貼付した。暴露期間終了時に、残存物質を生理食塩水で取り除き、21 時間後に惹起部位を剪毛した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

観察項目：惹起適用後、48 及び 72 時間後に適用部位の紅斑の有無等を肉眼的に観察し、以下の基準に従って採点した。

評点	判定基準
0	肉眼的に変化なし
1	軽度の散在性の紅斑
2	中等度のびまん性の紅斑
3	強い紅斑と浮腫

結果：惹起後の各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群		供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)		
			48 時間後					72 時間後					48 時間	72 時間	合計
感作	惹起	皮膚反応 評点				計	皮膚反応 評点				計				
		0	1	2	3		0	1	2	3					
皮内 5%検体	50%検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
経皮 50%検体			10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
媒体	50%検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0

皮内投与 48 時間後に、対照群で投与部位に赤斑が、7 日後に赤斑及び斑点が認められた。

50%検体懸濁液を用いた惹起では、投与群 20 匹及び対照群 10 匹の動物に皮膚反応はなかった。

なお、当該試験では陽性対照群を設定しなかったが、別途、滅菌生理食塩液に懸濁した α -ヘキシルジムトアルデヒドを用いて実施した感受性試験（試験成績報告年 2003 年 5 月 2 日）の結果、雌動物に皮内投与に 5%を、経皮投与に 25%の投与液を用い、12 及び 6%の検体投与液で惹起したところ、12%液では 100%、6%液では 70%の供試動物が皮膚反応を示した。当該試験方法の感度、信頼性及び妥当性が確認された。

又、体重変化に検体投与に関連した影響は認められず、他の毒性病変あるいは影響も観察されなかった。

以上の結果から、検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

3) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. T-9)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2006 年

検体純度: %

供試動物: Hartley 系 (CrI: HA) SPF-モルモット、約 5~6 週齢、体重 342~403 g

検体処理群: 一群雌各 20 匹、対照群: 一群雌各 10 匹

観察期間: 感作開始後 31 日間 (惹起処理終了後 3 日間)

試験操作: [Maximization 法 (Magnusson 及び Kligman の方法)]

感作及び惹起処理液は検体を 2% Cremophor EL® 含有生理食塩液に懸濁して適用した。

なお、対照群には 2% Cremophor EL® 含有生理食塩液のみを適用した。

用量設定根拠:

感作 (皮内投与); 適用 1 日前に、動物の背部皮膚を剪毛し、上頸背部から脊柱の左右に一列に 3ヶ所投与した。第一及び第二適投与部位は隣接させ、第三投与部位は第二投与部位から 2 cm 離れた。投与容量は 1カ所につき 0.1 mL とした。頭部側左右にフロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水 (1:1) 液を、中央左右に 5% 検体懸濁液を、尾部側左右にフロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水 (1:1) で調製した 5% 検体懸濁液を投与した。投与部位は、投与 2 及び 7 日に肉眼的に評価した。

感作 (経皮投与); 皮内投与 1 週間後に経皮投与を行った。経皮投与前日に、動物の背部皮膚を剪毛し、62.5% 検体懸濁液 0.3 mL を低刺激性パッチ (2×4 cm) に塗布した。48 時間閉塞貼付し、暴露終了時に残存物質を滅菌生理食塩水で取り除いた。

惹起; 皮内投与の 3 週間後に行った。惹起前日に動物の背部及び腹部を剪毛した。惹起では、62.5% 検体懸濁液 0.5 mL を塗布した低刺激性のパッチを、検体投与群及び対照群の動物の左側横腹部 (尾部側) に貼付し、24 時間閉塞貼付した。対照 (非感作) 群として媒体のみを左側横腹部 (頭部側) に貼付した。暴露期間終了時に、残存物質を生理食塩水で

取り除き、21 時間後に惹起部位を剪毛した。

観察項目：惹起適用後、48 及び 72 時間後に適用部位の紅斑の有無等を肉眼的に観察し、以下の基準にしたがって採点した。

評点	判定基準
0	肉眼的に変化なし
1	軽度の散在性の紅斑
2	中等度のびまん性の紅斑
3	強い紅斑と浮腫

結果：惹起後の各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群		供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)		
			48 時間後					72 時間後					48 時間	72 時間	合計
感作	惹起	皮膚反応 評点				計	皮膚反応 評点				計				
		0	1	2	3		0	1	2	3					
皮内 5%検体 経皮 62.5%検体	62.5%検体	19	19	0	0	0	0/19	19	0	0	0	0/19	0	0	0
媒体	62.5%検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0

皮内投与 48 時間後に、対照群及び検体処理群ともに投与部位に赤斑が認められた。対照群の投与部位には 7 日後に赤斑及び痂皮が認められた。

62.5%検体懸濁液を用いた惹起では、投与群 19 匹及び対照群 10 匹の動物に皮膚反応はなかった。

なお、当該試験では陽性対照群を設定しなかったが、別途、ポリエチレングリコール 400 に懸濁した α -ヘキシルシンナムアルデヒドを用いて実施した感受性試験（試験成績報告年 2006 年 3 月 29 日）の結果、雌動物に皮内投与に 5%を、経皮投与に 25%の投与液を用い、12 及び 6%の検体投与液で惹起したところ、12%液では 100%、6%液では 60%の供試動物が、対照群では 40%の供試動物が皮膚反応を示した。当該試験方法の感度、信頼性及び妥当性が確認された。

検体処理群の 1 匹（動物番号 30）が試験 12 日目に死亡した^{申請者註}。その他の動物は、外観及び行動ともに対照群と差がなかった。又、体重変化に検体投与に関連した影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

以上の結果から、検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(4) 急性神経毒性

1) ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 No.T-10)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体純度： %
%

供試動物：Wistar 系 (CrI : WI [G1x/BRL/Han] IGS BR) ラット、9 週齢、一群雌雄各 12 匹

観察期間：15 日間 (1999 年 2 月 22 日～1999 年 3 月 11 日)

投与方法：検体を 0.5%メチルセルロース-0.4%Tween 80 水溶液に懸濁して、雌雄に 0、200、500 及び 2000 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。投与前に絶食し、投与容量は 10 mL/kg とした。対照群には、0.5%メチルセルロース-0.4%Tween 80 水溶液のみを投与した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；全ての動物について少なくとも 1 日 1 回、死亡又は瀕死状態の有無をチェックした。全ての動物について 1 日 1 回、臨床観察を行った。

最終屠殺時まで死亡は認められなかった。又、いずれの投与群においても、検体投与に関連していると考えられる症状は認められなかった。

体重変化；全ての動物の体重を週 1 回測定した。

いずれの投与群においても、検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

詳細な状態の観察；投与開始前、投与日（投与0日）の最大影響発現時点（投与後約3時間）、投与7日及び14日に全動物を対象として、以下の項目について観察した。

ホームケージ内観察；姿勢、立毛、歩行異常、不随意運動（間代性、強直性）、発声

取扱い時の観察；ケージからの取り出し易さ、取り扱い易さ、筋緊張、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、鼻汁、汚れ

オープンフィールド観察；立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動（間代性、強直性）、常同行動、異様な行動、歩行異常、発声、覚醒状態、立ち上がり、排糞、排尿

いずれの投与群においても、検体投与による影響は認められなかった。

機能検査；投与開始前、投与日（投与0日）の最大影響発現時点（投与後約3時間）、投与7日及び14日に全動物を対象として、以下の項目の測定を行った。

接近反応、接触反応、聴覚反応、痛覚反応（テイルピンチ）、正向反射、瞳孔サイズ、瞳孔反応、体温、体重、前肢及び後肢握力、着地開脚幅、移動運動量及び自発運動量（8字型迷路）

自発運動量は、90分間のセッション全体及び10分間の各インターバルについて光線遮断回数として測定した。移動運動量は、同様にセッション全体及び各インターバルについてある光線を遮断した後移動をし、別の光線を遮断した場合にはじめて1回と計数して測定した。

機能検査結果の概要を次表に示す。

検査 時期	性別	雄				雌			
	投与量 (mg/kg)	0	200	500	2000	0	200	500	2000
	検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
移動運動量									
	投与前	422	443	401	461	655	666	767	661
	投与 0 日	225	209	215	169	358	374	362	388
	投与 7 日	628	↓470	539	↓456	667	719	632	652
	投与 14 日	534	406	432	414	601	693	635	600
自発運動量									
	投与前	280	277	257	294	420	428	447	411
	投与 0 日	145	105	124	94	192	198	204	199
	投与 7 日	413	292	337	295	431	453	406	387
	投与 14 日	332	254	263	247	358	438	397	347

Dunnett 検定: ↑↓ P ≤ 0.05, ↑↓ P ≤ 0.01

表中の数値は実測値を示す。

対照群を含む全投与群の雌雄は、投与 0 日の移動運動量 (motor activity) 及び自発運動量 (locomotor Activity) がその他全ての検査日に対して、かなり低値を示した。この時点 (すなわち、初回投与当日) における対照群の運動量の減少は、急性経口毒性試験と一致する所見で、投与前に実施した一晩の絶食に起因すると考えられる。

投与 7 日の移動運動量において、雄の 200 及び 2000 mg/kg 群で統計学的な有意差を認めしたが、用量依存性あるいは検査時期との対応が認められなかったことから、検体投与に関連した影響ではないと判断された。

上記以外には、対照群と投与群間には明らかな差はなかったことから、いずれの投与群においても投与の影響は認められなかった。

臓器重量; 後固定前に灌流固定した各群雌雄各 6 匹を対象に脳重量を測定し、対体重比を算出した。

いずれの投与群においても、脳重量は大差なく、検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査; 試験終了時に全生存動物を対象に検査した。

いずれの投与用量にも、検体投与に関連した明らかな肉眼的病変はなかった。

病理組織学的検査; 試験終了時に各群雌雄各 6 匹を対象に、ペントバルビタールの腹腔内投与で深麻酔し、亜硝酸ナトリウム溶液を用いて灌流した。次いで、10%緩衝ホルマリン液を用いて灌流固定し、更に、10%緩衝ホルマリン液で後固定した。対照群及び高用量群の以下の組織について病理標本を作製し鏡検した。

以下の組織はパラフィンに包埋し、ヘマトキシリン及びエオジン (H&E)、ルクソール・

ファスト・ブルー/クレシール・バイオレット及び Bielschowsky の銀染色液で染色した。

脳、脊髄（頸部、胸部、腰部、馬尾）

以下の組織はメタクリル酸グリコール（GMA）に包埋し、H&E 染色した。

頸髄及び腰髄膨大部後根神経節（後根及び前根線維を含む）、ガッセル神経節、眼球、視神経、腓腹筋、坐骨神経（縦断面／横断面）、脛骨神経（縦断面）、腓腹神経（縦断面）

結果を以下に示す。

性別		雄		雌	
投与量 (mg/kg)		0	2000	0	2000
臓器	所見\検査動物数	6	6	6	6
右腰背腹側根	神経線維変性	1 ^H	0 ^H	0 ^H	0 ^H
脊髄、馬尾	脊髄神経線維変性	1 ^{H, B, L}	2 ^{H, L} 1 ^B	0 ^{H, B, L}	0 ^{H, B, L}
	白質、神経線維変性	0 ^{H, L}	0 ^{H, L}	1 ^{H, L}	1 ^H 0 ^L
脊髄、頸部 縦断面	白質、神経線維変性	1 ^{H, B} 0 ^L	1 ^L 0 ^{H, B}	2 ^H 1 ^B 0 ^L	1 ^B 0 ^{H, L}
脊髄、腰部 縦断面	白質、神経線維変性	0 ^{H, B, L}	1 ^{H, B} 0 ^L	1 ^{B, L} 0 ^H	0 ^{H, B, L}
脊髄、胸部 縦断面	白質、神経線維変性	3 ^H 0 ^{B, L}	2 ^H 0 ^{B, L}	2 ^B 1 ^{H, L}	2 ^L 1 ^B 0 ^H

Fisher の正確検定：↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

H：H&E 染色、B：Bielschowsky 染色、L：ルクソールファスト・ブルー/クレシール・バイオレット染色

2000 mg/kg 群の雌雄に検体投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。したがって、中及び低用量を投与した動物の組織は検査しなかった。

以上の結果から、本検体のラットに対する単回強制経口投与による急性神経毒性試験における影響がいずれの投与量においても、いずれの検査項目についても認められなかった。

したがって、雌雄とも無毒性量（NOAEL）は 2000 mg/kg であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

急性遅発性神経毒性試験提出の除外に関する考察

急性遅発性神経毒性試験報告書提出を除外することが可能と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(6) 90 日間反復経口投与毒性

1) ラットを用いた飼料混入投与による 13 週間反復経口投与毒性試験

(資料 No.T-11)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： %

供試動物：Wistar 系 (Hsd Cpb:WU) SPF-ラット、開始時 5~6 週齢、
開始時体重 (雄) 110~147 g、(雌) 99~125 g

群構成を以下に示す。

群	投与量 (ppm)	動物数
主群	雄：0、125、1000、8000 雌：0、250、2000、16000	1 群雌雄各 10 匹
回復群	雄：0、8000 雌：0、16000	1 群雌雄各 10 匹
免疫毒性学検査群	雄：0、125、1000、8000 雌：0、250、2000、16000	1 群雌雄各 5 匹

投与期間：主群及び回復群；13 週間 (1997 年 5 月 22 日~8 月 21 日)、
免疫毒性学検査群；5 週間 (投与開始日 1997 年 5 月 22 日)

回復期間：回復群；4 週間 (1997 年 8 月 21 日~9 月 19 日)

投与方法：検体を、0、125、250、1000、2000、8000 又は 16000 ppm の濃度で飼料に混合し、約 13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混合した飼料は週 1 回調製し、10 日以内 (給餌期間は 7 日間) に投与を終えた。なお、検体混合飼料には、落花生油 (1 w/w%) を添加した。又、対照飼料は、検体を除いた以外は、投与飼料と同様に調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；1日2回（週末及び祝日には1回）、全ての動物について、臨床症状に関する観察並びに瀕死及び死亡の有無について観察を実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

主群において、0 ppm 雄1例、125 ppm 雄1例、250 ppm 雌1例に途中死亡が認められたが、いずれも血液採取が原因であった。

雌雄ともに、それぞれ投与群と対照群の死亡率はほぼ同等であったことから、検体投与による生存率に対する影響は認められなかった。

体重変化；全ての動物について毎週1回、体重を測定した。

主群及び回復群の体重を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		125	1000	8000	8000 ^a	250	2000	16000	16000 ^a
体重 (g)	開始時	(102)	(96)	(100)	(99)	(99)	(102)	(98)	(100)
	投与1週			↓90	↓90				
	投与2週			↓87	↓88				
	投与3週			↓88	↓86				↓91
	投与4週			↓82	↓85				↓91
	投与5週		↓93	↓81	↓86				↓91
	投与6週			↓80	↓86				↓91
	投与7週			↓80	↓86				↓92
	投与8週			↓83	↓88				
	投与9週			↓83	↓88				
	投与10週			↓83	↓88				
	投与11週			↓83	↓88				
	投与12週			↓86	↓88				
	投与13週			↓84	↓89				
	回復1週	—	—	—	↓89	—	—	—	
	回復2週	—	—	—	↓90	—	—	—	
	回復3週	—	—	—	↓90	—	—	—	
回復4週	—	—	—	↓91	—	—	—		

a：回復群

Dunnett 検定：↑↓ P≤0.05、↑↑ P≤0.01

表中の数値は変動の目安として対応する対照群を100とした場合の値を表したもの。括弧内は参考値。

—：測定せず。

主群では、雄 8000 ppm 群で投与期間を通じて対照群に比べて有意な低値を示した。
1000 ppm 群では軽度な体重抑制傾向を示した。

雌の 16000 ppm までの投与群では、体重に影響は認められなかった。

回復群では、雄 8000 ppm 群で投与期間、回復期間を通じて有意な体重の低値が認められた。雌の 16000 ppm では、投与 3~7 週に有意な体重の低値が認められ、投与期間、回復期間を通じて軽度な体重抑制傾向を示した。

しかし、雄 125 ppm 及び雌 2000 ppm 以下の投与群では、体重に検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を週 1 回測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査週を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		125	1000	8000	8000 ^a	250	2000	16000	16000 ^a
平均 摂餌量 (g/匹/日)	投与 2 週			↓76					
	投与 3 週			↓87	↓92				
	投与 4 週		↓87	↓77	↓89				
	投与 5 週			↓81					
	投与 6 週			↓77					
	投与 7 週			↓86					
	投与 12 週				↓92				
	投与 13 週	↓88		↓84					

a：回復群

Kruskal-Wallis 検定及び Steel の検定：↑↓ $P \leq 0.05$ 、↑↓ $P \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対応する対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

主群では、雄の 8000 ppm で投与 2~7 及び 13 週に、摂餌量の有意な低値が認められ、投与期間を通じて低値傾向を示した。1000 ppm の投与 4 週及び 125 ppm の投与 13 週に有意な低値を認めたが、一時的であり、軽度であることから毒性学的な意義は乏しいと判断した。

回復群では、雄の 8000 ppm で投与 3、4 及び 12 週に有意な低値を認めたが、ごく軽度であることから毒性学的な意義は乏しいと判断した。

雌の主群及び回復群では、いずれの用量においても摂餌量に検体投与の影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

性		雄			雌		
投与量 (ppm)		125	1000	8000	250	2000	16000
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	主群	8.7	70.4	580.0	21.5	162.9	1416.1
	回復群	-	-	599.1	-	-	1507.9

-：測定せず。

摂水量；全動物の摂水量を週1回測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査週を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		125	1000	8000	8000 ^a	250	2000	16000	16000 ^a
平均摂水量 (g/匹/日)	投与2週								↓86
	投与4週			↓80	↓90				

a：回復群

Kruskal-Wallis 検定及び Steel の検定：↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として対応する対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

雄の主群及び回復群では、8000 ppm で摂水量の軽微な低下が投与期間の前半に認められたが、それ以外には摂水量に顕著な検体投与の影響は認められなかった。
雌の主群及び回復群では、いずれの用量においても摂水量に検体投与の影響は認められなかった。^{申請者註1}

血液学的検査；投与4ないし5週（主群のみ）、投与13週（主群のみ）及び回復4週（回復群のみ）に、生存動物を対象として、ジエチルエーテル麻酔下で眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目について測定を行った。

白血球分画、赤血球形態、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値 (Ht)、白血球数、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、網赤血球数、血小板数、トロンボプラスチン時間 (HQUICK)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		125	1000	8000	8000 ^a	250	2000	16000	16000 ^a
赤血球数 ^d	投与 4/5 週	100	100	102	—	96	97	↓92	—
	投与終了時	100	101	101	—	97	97	↓94	—
	回復終了時	—	—	—	98	—	—	—	97
血色素量 ^d	投与 4/5 週	101	99	98	—	↓96	↓96	↓93	—
	投与終了時	101	101	101	—	97	97	97	—
	回復終了時	—	—	—	99	—	—	—	97
Ht ^d	投与 4/5 週	100	99	98	—	97	96	↓94	—
	投与終了時	100	102	102	—	97	96	97	—
	回復終了時	—	—	—	100	—	—	—	98
MCV ^d	投与 4/5 週	101	99	↓97	—	101	100	102	—
	投与終了時	101	100	100	—	100	99	102	—
	回復終了時	—	—	—	102	—	—	—	101
MCH ^d	投与 4/5 週	101	99	↓97	—	101	99	101	—
	投与終了時	101	99	100	—	100	101	102	—
	回復終了時	—	—	—	101	—	—	—	101
網赤血球数 ^u	投与 4/5 週	89	↓78	↓62	—	111	94	100	—
	投与終了時	88	125	100	—	—	—	—	—
	回復終了時	—	—	—	108	—	—	—	79
HQUICK ^u	投与 4/5 週	101	102	↑109	—	102	100	102	—
	投与終了時	98	100	97	—	97	98	97	—
	回復終了時	—	—	—	100	—	—	—	103

a : 回復群

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

u : Kruskal-Wallis 分散分析及び Mann-Whitney の U 検定 : ↑↓ $P \leq 0.05$, ↑↓ $P \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対応する対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

— : 測定せず。

主群の雌 16000 ppm では、赤血球数、血色素量及び Ht が投与 4/5 週に低値を示した。又、赤血球数については、投与終了時にも低値を示した。これらは、血液生化学検査、病理組織学的検査等で認められた諸変化に伴う二次的な変化と考えられた。

主群及び回復群の雄では、いずれの投与群においても各検査項目に検体投与の影響は認められなかった。申請者註 2

血液生化学検査 ; 投与 4 ないし 5 週 (主群のみ) 、投与 13 週 (主群のみ) 及び回復 4 週 (回復群のみ) の尿採取直後にグルコース測定用の全血試料を、絶食させた無麻酔動物の尾静脈から採取した。以下の検査項目については、投与 4 週 (主群のみ) 、投与 12 週

いし 13 週（主群のみ）及び回復 4/5 週（回復群のみ）に、絶食させていない生存動物を対象として、ジエチルエーテル麻酔下で眼窩静脈叢から血液を採取し、その血漿を用いて測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルブミン、総ビリルビン (T.Bil)、コレステロール (Chol)、総蛋白質、トリグリセリド (TG)、尿素、クレアチニン (Cre)

また、血清を用いて以下の項目の測定を行った。

塩素、カルシウム、無機リン、カリウム、ナトリウム

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		125	1000	8000	8000 ^a	250	2000	16000	16000 ^a
TG ^d	投与 4 週	81	↓62	↓45	—	102	104	↓64	—
	投与終了時	86	91	↓63	—	90	88	92	—
	回復終了時	—	—	—	91	—	—	—	↓69
Cre ^d	投与 4 週	88	↓84	↓82	—	98	98	105	—
	投与終了時	100	94	96	—	98	96	94	—
	回復終了時	—	—	—	100	—	—	—	100
T.Bil ^u	投与 4 週	108	100	92	—	92	85	92	—
	投与終了時	88	106	↓76	—	106	88	88	—
	回復終了時	—	—	—	↓80	—	—	—	92
総蛋白質 ^d	投与 4 週	98	99	100	—	97	102	98	—
	投与終了時	100	101	99	—	99	102	102	—
	回復終了時	—	—	—	↓96	—	—	—	↓94
アルブミン ^d	投与 4 週	101	105	104	—	100	106	104	—
	投与終了時	100	102	↑106	—	99	105	106	—
	回復終了時	—	—	—	97	—	—	—	↓94
A/G 比 ¹⁾	投与 4 週	104	↑112	↑109	—	105	107	113	—
	投与終了時	98.9	101	↑115	—	99	105	109	—
	回復終了時	—	—	—	103	—	—	—	100

a : 回復群

d : Dunnett 検定 : ↑↓ P ≤ 0.05, ↑↑ ↓↓ P ≤ 0.01

u : Kruskal-Wallis 分散分析及び Mann-Whitney の U 検定 : ↑↓ P ≤ 0.05, ↑↑ ↓↓ P ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として対応する対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

1) 申請者により算出

投与 4 週及び投与終了時は Dunnett 検定 : ↑↓ P ≤ 0.05, ↑↑ ↓↓ P ≤ 0.01

回復終了時は Student の t 検定 : ↑↓ P ≤ 0.05, ↑↑ ↓↓ P ≤ 0.01

— : 測定せず。

(つづき)

項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		125	1000	8000	8000 ^a	250	2000	16000	16000 ^a
AST ^w	投与4週	101	↓88	↓84	—	↓92	↓84	↓74	—
	投与終了時	89	103	↓75	—	97	↓88	↓85	—
	回復終了時	—	—	—	95	—	—	—	93
ALT ^w	投与4週	102	↓76	↓48	—	95	↓70	↓48	—
	投与終了時	96	108	↓58	—	94	↓78	↓60	—
	回復終了時	—	—	—	92	—	—	—	90
ALP ^w	投与4週	101	103	88	—	98	100	↓82	—
	投与終了時	94	100	90	—	103	100	↓81	—
	回復終了時	—	—	—	100	—	—	—	↑126
ナトリウム ^w	投与4週	101	100	100	—	100	99	↓99	—
	投与終了時	100	100	100	—	99	99	99	—
	回復終了時	—	—	—	100	—	—	—	100
カリウム ^w	投与4週	95	97	102	—	102	104	106	—
	投与終了時	95	98	100	—	↑108	↑110	↑110	—
	回復終了時	—	—	—	104	—	—	—	↑110
カルシウム ^w	投与4週	101	↑104	↑106	—	98	100	↑105	—
	投与終了時	99	↑103	↑109	—	99	↑103	↑106	—
	回復終了時	—	—	—	100	—	—	—	99
無機リン ^w	投与4週	107	102	↓87	—	92	90	89	—
	投与終了時	112	103	95	—	80	98	109	—
	回復終了時	—	—	—	98	—	—	—	92

a : 回復群

w : Welch の検定 : ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として対応する対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

— : 測定せず。

AST 及び ALT 活性の有意かつ用量依存的な減少が、主群の雄の 1000 ppm 以上、雌の 2000 ppm 以上の投与群において認められた。この影響は、雄の 1000 ppm では投与 4 週のみ認められたが、他の群では投与 4 週及び投与終了時ともに影響が認められた。ALP 活性の有意な低値が、雌の 16000 ppm において投与 4 週及び投与終了時ともに認められた。一方、回復期間終了時には雌の ALP 活性は主群よりも有意に高値を示した。血漿 TG 濃度の減少が、1000 ppm (投与 4 週) 及び 8000 ppm (投与 4 週及び投与終了時) の雄並びに 16000 ppm の雌 (投与 4 週) にみられた。AST、ALT、ALP 及び TG にみられたこれらの変化は後述する肝薬物代謝酵素活性測定および肝重量の増加に関連する肝臓への影響を示していると判断された。

カリウム濃度の有意な増加が、雌の全投与群の投与期間終了時及び 16000 ppm の回復期間終了時に認められたが、この変化については毒性学的に意義がなく、かつ雄には

異常がなかったことから、偶発性変化であると判断された。

カルシウム濃度の有意かつ用量依存的な増加が、雄では 1000 及び 8000 ppm で投与 4 週及び投与終了時に、雌では 2000 ppm（投与 13 週）及び 16000 ppm（投与 4 週及び投与 13 週）に認められたが、回復期間終了時のカルシウム濃度は対照群と同程度であった。これらの変動はカルシウム恒常性の障害に伴う二次的変化に関連していると考えられた。

クレアチニン、ビリルビン、総蛋白質及びアルブミンにおいて統計学的に有意な差が認められたが、対照群との間の差がわずかであったこと、あるいは投与用量や投与期間との対応がみられないことから、投与との関連性はないと判断された。

ナトリウムおよび無機リンにおいて統計学的に有意な差が認められたが、いずれも軽度な変化であり、毒性学的な意義のない変化あるいは偶発性変化であると判断された。

申請者註 3

尿検査；投与 3 ないし 4 週（主群のみ）、投与 12 ないし 13 週（主群のみ）及び回復 4 週（回復群のみ）に、生存動物を対象として絶食下で 16 時間尿を採取し、以下の項目について測定を行った。

半定量的項目：潜血、尿ビリルビン (Bil)、尿糖、ケトン体、pH、

ウロビリノーゲン (Urob) 及び尿沈渣の顕微鏡的観察

定量的項目：比重、尿蛋白 (PROT)、尿量 (VOL)、蛋白総排泄量 (PROT*VOL)

定量的項目のうち、対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		125	1000	8000	8000 ^a	250	2000	16000	16000 ^a
蛋白総排泄量 (PROT×VOL)	投与 3/4 週	78	83	↓64	—	79	107	86	—
	投与終了時	99	97	103	—	113	120	153	—
	回復終了時	—	—	—	80	—	—	—	93

a：回復群

Welch の検定：↑↓ P ≤ 0.05、↑↑↓ P ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として対応する対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

—：測定せず。

(つづき)

項目	検査時期	投与量 (ppm)									
		雄					雌				
		0	125	1000	8000	8000 ^a	0	250	2000	16000	16000 ^a
潜血反応	投与 3/4 週	1	0	1	1	—	0	1	0	0	—
	投与終了時	2	0	0	2	—	1	0	0	0	—
	回復終了時	0	—	—	—	2	1	—	—	—	3
赤血球数	投与 3/4 週	1	0	0	0	0	0	0	0	0	—
	投与終了時	1	1	1	3	—	2	0	0	1	—
	回復終了時	0	—	—	—	2	0	—	—	—	2
シュウ酸カルシウム結晶	投与 3/4 週	5	4	7	8	—	1	2	1	4	—
	投与終了時	1	4	↑6	↑9	—	1	1	1	1	—
	回復終了時	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

a : 回復群

Fisher 直接確率計算法 : ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01 (申請者実施)

表中の数字は所見を有する動物数を示す。

— : 測定せず。

主群の 8000 ppm 雄で潜血反応と赤血球数の発生数あるいは程度の増加が認められた。回復群では、8000 ppm で潜血反応と赤血球数の増加が認められ、16000 ppm の雌では潜血反応及び赤血球数の増加が認められた。上述の変化は、カルシウム恒常性の障害に伴う二次的变化と考えられた。申請者註 4、申請者註 5

肝酵素分析 ; 投与期間終了時 (主群)、回復期間終了時 (回復群) の剖検時に、全動物から肝臓の一部を採取し、凍結保管した。次いで、主群及び回復群の雌雄各 5 匹/用量の肝臓サンプルをホモジナイズし、以下の基質を用いてチトクローム P450 モノオキシゲナーゼ (第 1 相酵素) 及び第 2 相酵素の活性測定を行った。

第 1 相酵素 : 7-エトキシマリン-ジエチラーゼ (ECOD)、7-エトキシレゾルフィン-ジエチラーゼ (EROD)、アルドリンエポキシダーゼ (ALD)

第 2 相酵素 : エポキシド加水分解酵素 (EH)、グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST)、UDP-グルクロン酸転移酵素 (GLU-T)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		125	1000	8000	8000 ^a	250	2000	16000	16000 ^a
ECOD	投与終了時	114	111	86	—	↓72	↓64	↓70	—
	回復終了時	—	—	—	116	—	—	—	92
EROD	投与終了時	102	122	62	—	71	↓53	↓55	—
	回復終了時	—	—	—	103	—	—	—	90
ALD	投与終了時	↓80	78	↓39	—	↓71	↓59	↓54	—
	回復終了時	—	—	—	119	—	—	—	97
EH	投与終了時	95	117	↑164	—	74	102	↑200	—
	回復終了時	—	—	—	114	—	—	—	89
GST	投与終了時	95	112	98	—	105	↑129	↑145	—
	回復終了時	—	—	—	↑138	—	—	—	↓78
GLU-T	投与終了時	91	115	↑143	—	65	95	132	—
	回復終了時	—	—	—	101	—	—	—	82

a : 回復群

Student の t 検定 : ↑↓ P ≤ 0.05, ↑↑ ↓↓ P ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として対応する対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

— : 測定せず。

主群の雄では、全用量で ALD 活性が低下し、特に 8000 ppm で顕著 (対照群の約 40%) あった。さらに、8000 ppm で投与終了時に ECOD 及び EROD 活性が軽度に低下し、EH 及び GLU-T 活性が有意に上昇した。一方、雌でも、全用量で ALD 活性が有意に低下し、その変化は特に 2000 及び 16000 ppm で顕著であった (対照群の約 59 及び 54%)。ECOD 及び EROD 活性も低下し、特に 2000 及び 16000 ppm での変化は顕著であった (ECOD : 対照群の約 64 及び 70%、EROD : 対照群の約 53 及び 55%)。又、EH 活性が 16000 ppm で、GST 活性が 2000 及び 16000 ppm で有意に上昇した。さらに、GLU-T 活性も 16000 ppm で僅かに上昇した。

回復群の雌雄では、検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。GST 活性が 8000 ppm の雄で有意な高値を、16000 ppm 雌で有意な低値を示したが、変化に一貫性がなく、毒性学的な意義は乏しいと考えられた。

上述の薬物代謝酵素活性の変化のうち、雄の 8000 ppm における ALD と ECOD 及び EROD 活性の低下並びに雄の 8000 ppm の EH と GLU-T 活性及び雌の 16000 ppm の EH と GLU-T 活性の上昇は検体投与による肝臓機能の軽度な影響を示唆するものと考えられた。申請者註 6

眼科学的検査 ; 投与開始前、投与 13 週 (対照群、雄の 8000 ppm、雌の 16000 ppm) 及び回復 4 週に、眼科学的検査を行った。検査では、最初に両眼の瞳孔反射を確認した後、散瞳剤で散瞳させた後、倒像検眼鏡を用いて眼球及び眼底の屈折を検査した。細隙灯を

用いた検査も行った。

いずれの用量においても、検体投与による眼科学的毒性の徴候は雌雄ともに認められなかった。

免疫毒性学的検査;免疫毒性学検査群の全動物を用いて、投与5週から羊赤血球で4日間免疫し、プラーク形成法(PCFA)を行った。また、投与期間終了時に解剖した動物のうち6匹/群の脾臓あるいは血清を用いて、以下の測定/解析を行った。

脾臓における細胞数測定、脾臓細胞の population 解析(フローサイトメトリー)、脾臓におけるマクロファージの活性測定、血清中のIgG、IgM、IgAの抗体力価測定(サンドウィッチELISA法)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		125	1000	8000	250	2000	16000
IgG	回復終了時		↓56	↓45			

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とした場合の値を表したもの

雄の1000及び8000ppmで、有意かつ用量依存的なIgG抗体力価の低下が認められた。これは、血液生化学検査、病理組織学的検査等で認められた諸変化の間接的な影響と考えられた。その他の項目には、特筆すべき変化は認められなかった(プラーク形成を含む)。

臓器重量;投与期間終了時及び回復期間終了時に、全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、副腎、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、精巣、卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)								
		雄				雌				
		125	1000	8000	8000 ^a	250	2000	16000	16000 ^a	
体重 (g)	投与終了時	97	95	↓84	↓89	99	103	102	94	
	回復期間 終了時	—	—	—	↓91	—	—	—	96	
脳	重量 (mg)	投与終了時	97	96	95	—	98	100	101	—
	対体重比		100	101	↑114	—	99	98	99	—
	重量 (mg)	回復期間 終了時	—	—	—	100	—	—	—	99
	対体重比		—	—	—	↑112	—	—	—	103
心臓	重量 (mg)	投与終了時	93	94	92	—	105	109	↑112	—
	対体重比		96	99	↑109	—	108	107	110	—
	重量 (mg)	回復期間 終了時	—	—	—	95	—	—	—	93
	対体重比		—	—	—	106	—	—	—	96
肝臓	重量 (mg)	投与終了時	↓83	95	89	—	101	109	↑120	—
	対体重比		↓86	101	107	—	103	107	↑118	—
	重量 (mg)	回復期間 終了時	—	—	—	↓91	—	—	—	92
	対体重比		—	—	—	101	—	—	—	95
脾臓	重量 (mg)	投与終了時	95	86	↓77	—	92	101	102	—
	対体重比		98	91	92	—	94	99	100	—
	重量 (mg)	回復期間 終了時	—	—	—	94	—	—	—	93
	対体重比		—	—	—	105	—	—	—	96
腎臓	重量 (mg)	投与終了時	95	96	90	—	100	99	98	—
	対体重比		98	101	108	—	102	97	97	—
	重量 (mg)	回復期間 終了時	—	—	—	98	—	—	—	96
	対体重比		—	—	—	↑109	—	—	—	100
精巣	重量 (mg)	投与終了時	99	102	96	—	—	—	—	—
	対体重比		102	108	↑115	—	—	—	—	—
	重量 (mg)	回復期間 終了時	—	—	—	100	—	—	—	—
	対体重比		—	—	—	111	—	—	—	—

a : 回復群

Dunnett の検定 : ↑↓ P ≤ 0.05, ↑↑ P ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として対応する対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

— : 測定せず。

対体重比 : mg/100g 体重

雄では、各臓器の絶対/相対重量に統計学的有意差が散見されたが、投与期間終了時、回復期間終了時ともに 8000 ppm の体重値が対照群に比べ顕著な低値を示したことに起因する変化と判断された。雌では、投与期間終了時の 16000 ppm で肝臓の絶対/相対重量が有意に増加し、検体投与の影響と判断された。回復試験終了時には、いずれの臓器においても特筆すべき変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡動物並びに投与期間終了時及び回復期間終了時の全生存動物について剖検を行った。

血液採取のミスにより途中死亡した対照群の雄 1 例、125 ppm の雄 1 例、250 ppm の雌 1 例では、肺の暗赤色化が認められた。

主群（投与期間終了時）では、膀胱壁の肥厚と直径 3 mm 以下の結節が、8000 ppm 雄の 2 例に認められた。

回復群（回復期間終了時）では、特筆すべき変化はいずれの臓器にも認められなかった。

病理組織学的検査；主群では、途中死亡動物及び対照群及び雄 8000 ppm、雌 16000 ppm について、以下の臓器／組織から病理標本を作製し、H&E 染色を施した後、検鏡した。又、最終解剖動物の肝臓については、オイル赤 O（ORO）染色を施した。雄の 125 及び 1000 ppm、雌の 250 及び 2000 ppm については、肺、膀胱、尿道（雄のみ）、肝臓、腎臓、副腎及び肉眼的異常部位を検査した。

回復群では、全例について腎臓、膀胱、尿道を含む前立腺、副腎及び肉眼的異常部位を検査した。

副腎、大動脈、脳（大脳、小脳、橋、髄）盲腸、結腸、十二指腸、精巣上部、食道、眼（眼瞼含む）、外涙腺、大腿骨（骨髄及び膝関節含む）、ハーダー腺、頭部－鼻部－咽頭部、心臓、回腸、空腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、視神経、卵巣（卵管含む）、膵臓、個体識別票（耳介の入墨部分）、下垂体、前立腺、直腸、腸残存部、唾液腺、坐骨神経、精囊（凝固腺含む）、骨格筋、皮膚（乳房部）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胸骨（骨髄含む）、胃（前胃及び腺胃）、精巣、胸腺（ある場合）、甲状腺（上皮小体含む）、舌、気管、尿管、尿道、膀胱、子宮（頸部含む）、膣、ジンバル腺、肉眼的異常部位

認められた主要な病理組織学的所見を次表に示す。

	臓器	所見	投与量 (ppm)							
			雄				雌			
			0	125	1000	8000	0	250	2000	16000
主群	腎臓	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
		好塩基性尿細管	3	4	5	1	0	0	0	0
		硝子滴沈着・封入体	5	3	1	5	0	0	0	0
		単核細胞浸潤	0	0	0	1	3	2	0	1
		腎盂拡張	0	0	0	1	0	1	0	0
		尿細管腔拡張	0	0	0	0	1	0	0	0
		結石	0	0	0	1	0	0	0	0
		嚢胞/単一	0	0	0	0	0	0	0	1
		移行上皮細胞過形成	0	0	0	1	0	1	0	0
		初期自己融解	1	1	0	0	0	1	0	0
	膀胱	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
		移行上皮細胞過形成	0	0	0	2	0	0	0	0
		炎症	0	0	0	2	0	0	0	0
		単核細胞浸潤	0	0	1	0	1	0	0	0
	尿道	所見\検査動物数	8	10	7	8	0	0	0	0
		移行上皮細胞過形成	0	0	0	1	0	0	0	0
		結石	0	0	0	1	0	0	0	0
	副腎	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
		小空胞化/皮質	2	1	1	6	0	0	0	0
		混在性空胞化/皮質	3	2	1	1	0	0	0	0
回復群	腎臓	所見\検査動物数	10	-	-	10	10	-	-	10
		好塩基性尿細管	4	-	-	5	1	-	-	2
		線維化	0	-	-	2	0	-	-	0
		硝子滴沈着・封入体	4	-	-	3	0	-	-	0
		単核細胞浸潤	0	-	-	1	0	-	-	2
		腎盂拡張	0	-	-	0	0	-	-	1
		結石	0	-	-	1	0	-	-	1
		嚢胞/単一	0	-	-	0	0	-	-	1
		移行上皮細胞過形成	0	-	-	1	0	-	-	1

表中の数字は所見を有する動物数を示す。

申請者で Fisher 直接確率計算法を実施したが、統計学的有意差（両側検定、 $P \leq 0.05$ ）は認められなかった。

- : 検査せず。

(つづき)

	臓器	所見	投与量 (ppm)							
			雄				雌			
			0	125	1000	8000	0	250	2000	16000
回復群	膀胱	所見\検査動物数	10	—	—	10	10	—	—	10
		移行上皮細胞過形成	0	—	—	1	0	—	—	0
		炎症細胞浸潤	0	—	—	1	0	—	—	0
	副腎	所見\検査動物数	10	—	—	10	10	—	—	10
		小空胞化/皮質	0	—	—	1	0	—	—	0
		混在性空胞化/皮質	6	—	—	4	0	—	—	0
		脂肪化/限局性	0	—	—	1	0	—	—	0
		肥大/限局性	0	—	—	1	0	—	—	0
		褐色色素沈着	0	—	—	0	0	—	—	1
		副副腎	1	—	—	0	0	—	—	0

表中の数字は所見を有する動物数を示す。

申請者で Fisher 直接確率計算法を実施したが、統計学的有意差 (両側検定、 $P \leq 0.05$) は認められなかった。

— : 検査せず。

検体投与に関連したと考えられる病理組織学的病変は、腎臓・膀胱・尿道及び副腎に認められた。以下に、腎臓・膀胱・尿道及び副腎に認められた病理学的変化の特徴を示す。

腎臓・膀胱・尿道：主群では、膀胱の炎症、結石の形成 (腎盂、尿道) 及び移行上皮過形成 (腎盂、膀胱、尿道；中～重度) が、8000 ppm の雄に認められた。これらの病変は雌には認められなかった。

回復群では、上述の諸病変が 8000 ppm の雄及び 16000 ppm の雌に認められた。上述の変化は、カルシウム恒常性の障害に伴う二次的变化と考えられた。

副腎：主群では、雄 8000 ppm で細胞質の小型の空胞化が副腎皮質に均一に高頻度に認められた。

回復群の雄並びに主群及び回復群の雌では、同病変は認められなかった。

なお、肝臓には、検体投与の影響と考えられる病変は認められなかった。

以上の結果から検体のラットに対する飼料混入投与による 13 週間反復経口投与毒性試験における影響は、肝臓機能、腎臓、膀胱、尿道及び副腎に認められた。すなわち、体重増加抑制 (雄：1000 ppm 及び 8000 ppm、雌：16000 ppm)、摂餌量の低値 (雄：1000 及び 8000 ppm)、AST 及び ALT 活性の低下 (雄：1000 及び 8000 ppm、雌：2000 及び 16000 ppm)、ALP 活性の低下 (雌：16000 ppm)、血中トリグリセリド濃度の低下 (雄：1000 及び 8000 ppm、雌：16000 ppm)、血清カルシウム濃度の上昇 (雄：1000 及び 8000 ppm、雌：2000 及び 16000 ppm)、肝チトクローム P450 活性の顕著な減少 (雄：8000 ppm、雌：2000 及び 16000 ppm)、肝第 2 相薬物代謝酵素活性の顕著な上昇 (雄：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

8000 ppm、雌：16000 ppm）、尿潜血反応と尿中赤血球数の増加（雄：8000 ppm、雌：16000 ppm）、尿のシュウ酸カルシウム結晶（雄：1000 及び 8000 ppm）並びに膀胱の炎症、腎臓・尿道の結石及び腎臓～膀胱～尿道の移行上皮過形成（雄：8000 ppm、雌：16000 ppm）、副腎皮質の空胞化（雄：8000 ppm）が認められたことから、無毒性量は、雄で 125 ppm（8.7 mg/kg/日）、雌で 250 ppm（21.5 mg/kg/日）と判断された。なお、8000 ppm の雄 2 例にみられた尿道の組織学的変化以外は、観察された変化は可逆的であった。^{申請者註 7}