

VIII 毒性

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	一群当り 動物数	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)	記載 頁
1 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各10	経口	♂♀ : 260, 360, 500, 700, 980	♂ : 440 ♀ : 410	(1988年)	毒 - 17
2 GLP	急性毒性 (14-15日間 観察)	ラット	♂♀各5	経口	♂ : 50, 100, 250, 315, 400, 450, 500, 1800 ♀ : 100, 250, 315, 400, 450, 475, 500, 1800	♂ : 424 ♀ : 450-475	(1989年)	毒 - 19
3 GLP	急性毒性 (14日間観察)	マウス	♂♀各10	経口	♂ : 46, 60, 78, 100, 130, 170, 220 ♀ : 60, 78, 100, 130, 170	♂ : 100 ♀ : 98	(1987年)	毒 - 21
4 GLP	急性毒性 (14-15日間 観察)	マウス	♂♀各5	経口	♂ : 0, 71, 100, 120, 140, 160 250 ♀ : 10, 100, 120, 140, 160, 250	♂ : 131 ♀ : 168	(1989年)	毒 - 23
5 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各10	経皮	♂♀ : 2000	♂♀ : >2000	(1987年)	毒 - 25
6 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀ : 2000	♂♀ : >5000	(1989年)	毒 - 27
7 GLP	急性毒性 (14-15日間 観察)	ラット	♂♀各5	腹腔 内	♂ : 10, 100, 160, 170, 180, 200, 250, 500 ♀ : 10, 100, 150, 180, 200, 224, 250	♂ : 171 ♀ : 186	(1990年)	毒 - 29

資料 No.	試験の種類 期 間	供試 生物	一群当り 動物数	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)	記載 頁	
8 GLP	急性吸入	ラット	♂♀各 5	流動式 (4 時間)	エーロゾル ♂♀ : 0.69 (mg/m ³) 粉体 ♂♀ : 0, 1220, 2577, 5323	♂♀ : >69 mg/m ³ ♂♀ : >5323 mg/m ³	(1988 年)	毒 - 31	
			♂♀各 10	流動式 (6 時間/ 日×5 日)	粉体 ♂♀ : 0, 20, 109, 505	♂♀ : >505 mg/m ³			
9 GLP	皮膚刺激性	ウサギ	♂ 3	側腹部に 貼付	500mg/パッチ	刺激性なし	(1988 年)	毒 - 37	
10 GLP	眼刺激性	ウサギ	♂又は ♀ 3	眼に 強制投与	約 100μL/眼 (約 60mg)	刺激性なし	(1988 年)	毒 - 38	
11 GLP	皮膚感作性 Maximisa-t ion 法 (原体)	モルモ ット	♂ 20	感作:皮内注射 1.0%液 貼付 25%液 惹起貼付 3 及び 25%液		感作性なし	(1988 年)	毒 - 39	
12 GLP	急性神経 毒性	ラット	♂♀各 12	経 口	♂♀ : 0(担体), 20(雌のみ), 50, 150, 350	♂♀ : 50mg/kg	(2001 年)	毒 - 42	
13 除外	急性遅発性 神経毒性	遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関などからみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験除外							毒 - 48
14 GLP	90 日間反復 経口投与毒 性 (3+1 カ月)	ラット	♂♀各 10	飼料添加	0, 150, 600, 2400ppm ♂ : 14.0, 60.9, 300.2 ♀ : 20.3, 83.3, 422.2 mg/kg 体重/日	♂ : 150ppm 14mg/kg/日 ♀ : 600ppm 83.3mg/kg /日	(1989 年)	毒 - 49	
15 GLP	90 日間反復 経口投与毒 性 (3 カ月)	イヌ	♂♀各 4	飼料添加	0, 200, 600, 1800/1200ppm ♂ : 7.7, 22.0, 45.3 ♀ : 7.9, 24.7, 45.9 mg/kg 体重/日	♂♀ ; 600ppm ♂ : 22.0 ♀ : 24.7 mg/kg/日	(1990 年)	毒 - 57	
16 除外	21 日間反復 経皮投与 毒性	急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮毒性等を有するおそれがないと認められることから試験除外							毒 - 64
17 GLP	3 週間反復 経皮投与 毒性 (週 5 回投与)	ウサギ	♂♀各 5	経 皮	♂♀ : 0(担体), 1000	♂♀ : 1000mg/kg	(1990 年)	毒 - 65	

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

No.	期 間	生物	動物数	(mg/kg)	性量 (mg/kg)	(報告年)	頁	
18 除外	90日間反復吸入毒性					急性吸入毒性に関する試験成績の結果から、強い吸入毒性を有するおそれがないと認められることから試験除外	毒-69	
19 GLP	4週間反復吸入毒性	ラット	♂♀各10	吸入 ダスト 6時間/日 5日/週	♂♀: 0(担体), 5, 30, 180mg/m ³	♂♀: 30mg/m ³ 13.2 mg/kg/日	(1989年)	毒-70
20 GLP	反復経口投与神経毒性 (13週間)	ラット	♂♀各12	経口	0, 150, 1000, 3000ppm ♂: 9.3, 63.3, 196 ♀: 10.5, 69.3, 213 mg/kg 体重/日	♂♀: 150ppm ♂: 9.3 ♀: 10.5 mg/kg/日	(1994年)	毒-77
21 除外	28日間反復投与遅発性神経毒性					遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関などからみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験除外	毒-85	
22 GLP	1年間反復経口投与発がん性併合 (2カ年)	ラット	♂♀各 50+10	飼料添加	0, 100, 300, 900 ppm ♂: 5.7, 16.9, 51.3 ♀: 7.6, 24.9, 73.0 mg/kg 体重/日	♂: 100ppm ♀: 300ppm ♂: 5.7 ♀: 24.9 mg/kg/日 発がん性なし	ライフサイエンスリサーチ (病理)	毒-86
23 GLP	1年間反復経口投与発がん性併合 MDT*試験 (2カ年)	ラット	♂♀各 50+10	飼料添加	0, 1800 ppm ♂: 102.6 ♀: 143.7 mg/kg 体重/日	MTD*量 1800ppm ♂: 102.6 ♀: 143.7 mg/kg/日 発がん性なし	(1991年)	毒-101
24 GLP	1年間反復経口投与毒性 (12カ月)	イヌ	♂♀各4	飼料添加	0, 200, 500, 1250/2500ppm ♂: 5.7, 15.3, 62.5 ♀: 6.4, 14.8, 62.5 mg/kg 体重/日	500ppm ♂: 15.3 ♀: 14.8 mg/kg/日	(1989年)	毒-114
25 GLP	発がん性 (2カ年)	マウス	♂♀各 50+10	飼料添加	0, 100, 330, 1000 ppm ♂: 20.2, 65.6, 208.2 ♀: 30.3, 103.6, 274.4 mg/kg 体重/日	330ppm ♂: 65.6 ♀: 103.6 mg/kg/日	(1991年)	毒-121

MT* ; 最大耐量

No.	試験の種類 期 間	供試生 物	一群当り 動物数	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)	記載 頁
26 GLP	発がん性 MTD*試験 (2カ年)	マウス	♂♀各 50+10	飼料添加	0, 2000ppm ----- ♂ : 413.5 ♀ : 423.9 mg/kg 体重/日	MDT*量 2000ppm ♂ 413.5 ♀ 423.9 mg/kg/日 発がん性なし	(1991年)	毒 -138
27 GLP	繁殖試験 (2世代) 第2産児で 継 代	ラット	各世代とも ♂♀各 26-30	飼料添加	0, 100, 250, 700ppm ----- P♂ 0, 8, 1, 20, 1 56.5 ♀ 0, 8, 8, 22, 1, 62.8 F1 ♂ 0, 8, 0, 20, 6, 59.1 ♀ 0, 9, 0, 23, 6, 63.3	繁殖性♂♀ : 700ppm 児動物♂♀ : 250ppm 親動物♂♀ : 250ppm 250ppm P♂ 20.1 ♀ 22.1 mg/kg/日	(1990年)	毒 -152
28 GLP	催奇形性	ラット	♀ 25	経 口 (妊娠 6 ~15日)	0, 10, 30, 100, mg/kg/日	NEL: 親:10mg/kg/日 胎児:30mg/kg/日 催奇形性作用 なし	(1992年)	毒 -171
29 GLP	催奇形性	ウサギ	♀ 16	経 口 (妊娠 6 ~18日)	0, 8, 24, 72, mg/kg/日	NEL: 親:8mg/kg/日 胎児:24mg/kg/日 催奇形性作用 なし	(1992年)	毒 -177
30 GLP	変異原性 rec-assay (孢子法)	枯草菌; H17株, M45株		<u>in vitro</u>	0, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/ディスク	DNA 損傷性なし	(1990年)	毒 -184
31 GLP	変異原性 体細胞 組換え	酵母; <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7		<u>in vitro</u>	0, 625, 1250, 2500, 5000, 10000 µg/ディスク	変異原性なし	(1988年)	毒 -186
32 GLP	変異原性 復帰突然 変異	カモネ菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537 大腸菌; WP2 uvrA		<u>in vitro</u>	0, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(1991年)	毒 - 189

MTD* ; 最大耐量

資料 No.	試験の種類 期 間	供試生 物	一群当り 動物数	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)	記載 頁
33 GLP	変異原性 復帰突然 変異	カビ初菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537		<u>in vitro</u>	①0, 20, 100, 500, 2500, 12500 ②775, 1550, 3100, 6200, 12400, µg/プレート	変異原性なし	(1989年)	毒 -192
34 GLP	変異原性 前進突然 変異	チャイニーズハム スター卵巣由来培 養細胞 (CHO-K1-BH ₁)		<u>in vitro</u>	代謝非活性化 0, 60, 70, 80, 90, 100, 125 代謝活性化 ① 0, 102, 204, 407, 815, 1222 ②0, 100, 119, 399, 798, 1196 µg/mL	変異原性なし	(1989年)	毒 - 195
35 GLP	変異原性 UDS	ラット肝初代培養 細胞		<u>in vitro</u>	0, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 375, 500, µg/mL	変異原性なし	(1988年)	毒 - 200
36 GLP	染色体異 常	ヒトリンパ球		<u>in vitro</u>	S-9mix ①非存在下 ②存在下 0, 50, 500, 1300, 2600, 5000, 5200 µg/mL	① 500µg/mL 以 上の細胞毒 性量で染色 体異常誘発 性あり。 ② 2600µg/mL 以 上で弱い染 色体異常誘 発性を否定 できず。	(1989年)	毒 - 204
37 GLP	染色体異 常 姉妹染色 体分体交 換	チャイニーズハムスター 卵巣培養細胞 (CHO-WB1)		<u>in vitro</u>	S-9mix ①非存在下 16.7, 50.0, 100, 166.7, 250, 500, 1000 ②存在下 166.7, 500, 1000, 1700, 2000, 3000 µg/mL	染色体異常誘発 作用あり	(1988年)	毒 - 207

資料 No.	試験の種類 期 間	供試 生物	一群当り 動物数	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)	記載 頁
38 GLP	染色体異常 姉妹染色体 分体交換	チャイニーズハムスター 卵巣培養細胞 (CHO—CCL 61)		<u>in vitro</u>	S-9mix ①非存在下 16.7, 50.0, 100, 166.7, 250, 500, 1000 ②存在下 166.7, 500, 1000, 1700, 2000, 3000 µg/mL	染色体異常誘 発作用あり	(1989年)	毒 - 212
39 GLP	染色体異常	チャイニーズハム スター骨髄 細胞	♂♀各 5	経 口 <u>in vivo</u>	0, 2000mg/kg を 1 回投与後 6, 24, 48 時間 後観察	染色体異常誘 発性なし	(1989年)	毒 - 216
40 GLP	染色体異常 姉妹染色体 分体交換	チャイニーズハム スター骨髄 細胞	♂♀各 5	経 口 <u>in vivo</u>	0, 500, 1000, 2000mg/kg を 1 回投与後 24 時間後観察	染色体異常誘 発性なし	(1989年)	毒 - 218
41 GLP	染色体異常	マウス 精粗細 胞	♂各 6	経 口 <u>in vivo</u>	0, 80mg/kg を 1 回投与後 6, 24, 48 時間後 観察	染色体異常誘 発性なし	(1990年)	毒 - 220
42 GLP	小核	マウス 骨髄細 胞	♂♀各 5	経 口 <u>in vivo</u>	0, 80mg/kg を 1 回投与後 24, 48, 72 時間後 観察	変異原性なし	(1988年)	毒 - 222

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁			
43	中枢神経系	一般症状 (Irwin)	マウス	♂:3 ♀:3	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂♀:10	(1991年)	毒-224		
		一般症状 (Irwin)	ウサギ	♂:3	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂:30				
		体温	ウサギ	♂:3	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂:100				
	呼吸循環系	呼吸数	無麻酔ウサギ	♂:3	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂:30				
		心拍数					無作用量 ♂:30				
		呼吸数 血圧 心拍数	麻酔ウサギ	♂:4~5	静脈内	0, 1, 3, 10, 30	無作用量 ♂:3				
	自律神経系	瞳孔径	ウサギ	♂:3	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂:10				
		瞳孔径	ラット	♂:5	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂:30				
	体性神経系	腓腹筋収縮	ラット	♂:3~4	経口	0, 30, 100, 300	無作用量 ♂:>300				
		筋弛緩	ラット	♂:5	経口	0, 30, 100, 300	無作用量 ♂:100				
	消化器系	腸管運動	麻酔ウサギ	♂:4~5	静脈内	0, 1, 3, 10, 30	無作用量 ♂:1				
		炭末輸送能	ラット	♂:5	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂:30				
		胃液分泌	ラット	♂:5	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂:10				
	腎機能	尿量, 尿中電解質, 定性分析	ラット	♂:5	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂:30				
	血液系	溶血作用	ウサギ血液	in vitro		10 ⁻⁵ ~10 ⁻³ M	無作用量 >10 ⁻³ M				
		血液凝固	ラット	♂:5	経口	0, 10, 30, 100	無作用量 ♂:10				
	43-1	神経系への影響-(Irwin)	マウス	♂♀3	経口	0, 30	♂♀:30			(2016年)	毒-230-2
	43-2	神経系への影響-(Irwin)	マウス	♂♀5	経口	0, 20, 30	♂♀:20			(2016年)	毒-230-4

アンダーライン ; 2016年提出

資料 No.	試験の種類 期	供試生物	一群 当り 動物 数	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)	記載 頁
44	解毒および 治療 (各神経作 働薬との前 処理又は後 処理の影 響)	ラット マウス モルモット 摘出回腸 ウシガエル 摘出腹直筋	♂3~5	経口 <u>in vitro</u>	抗コリン作用 ニコチン受容体への関与		(1987年)	毒 -231
45	解毒および 治療 (有機燐剤 との相互作 用)	マウス	♂5	経口	有機燐剤 (EDDP、MPP) との間に 相乗毒性作用なし		(1992年)	毒 -235
46	解毒および治 療 (救命試験)	ラット マウス ウサギ	♂5 ♂5 ♂3	経口	フェノバルビタール又は活性炭単独投 与で救命作用あり 検体が胃の中に滞留している場 合は胃洗浄の効果あり。		(1992年)	毒 -237
47 GLP	発達神経 毒性 (約96日間)	ラット	♂ 5 ♀ 5 各 12	経口	0, 100, 250, 750ppm ♀ : 妊娠期間/ 8.0, 19.4, 54.7, 哺育期間/ 12.8, 30.0, 80.4 mg/kg 体重/日	総合的無影響量 ♀ : 250ppm 30.0 mg/kg 体重/日 発達神経毒性 なし	(2001年)	毒 -241
48 GLP	免疫毒性 (28日間)	ラット	♂10	飼料添加	0, 150, 600, 2400ppm 11.7, 47.1, 186 mg/kg 体重/日	免疫毒性なし	(2001年)	毒 -247 -6

2. 原体中の混在物および代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 期 間	供試 生物	一群当り 動物数	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)	記載 頁
代謝物 1 GLP	急性毒性 M01 脱ニトロ体	ラット	♂♀各5	経口	♂♀: 150, 240, 390, 630, 1000	♂: 300 ♀: 280	(1991年)	毒 -248
代謝物 2 GLP	急性毒性 M03 オレフィン体	ラット	♂♀各5	経口	♂: 440, 660, 990, 1500, 2220, 3300, 5000 ♀: 200, 290, 440, 660, 990, 1500	♂: 3500 ♀: 1100	(1991年)	毒 -250
代謝物 3 GLP	急性毒性 M04 還元体	ラット	♂♀各5	経口	♂♀: 980, 1560, 2500, 4000,	♂: 1980 ♀: 3560	(1991年)	毒 -252
代謝物 4 GLP	急性毒性 M04 還元体	マウス	♂♀各5	経口	♂♀: 100, 200, 300, 450,	♂: 200 ♀: 200	(1988年)	毒 -254
代謝物 5 GLP	急性毒性 M05 環状アブ体	ラット	♂♀各5	経口	♂♀: 990, 1480, 2220, 3330, 5000	♂: 4080 ♀: 1820	(1991年)	毒 -256
代謝物 6 GLP	急性毒性 M06 クロロニコチン酸	ラット	♂♀各5	経口	♂♀: 2500, 5000	♂: >5000 ♀: >5000	(1991年)	毒 -258
代謝物 7 GLP	急性毒性 M18 カトピコリルアルコール	ラット	♂♀各5	経口	♂♀: 1800, 2300, 3000, 3800, 5000	♂: 3800 ♀: 3700	(1991年)	毒 -260
代謝物 8 GLP	90日間反復 経口投与 毒 (12週間) M04 還元体	ラット	♂♀各10	飲水に 混合	♂♀: 0, 100, 300, 1000ppm ♂: 13, 35, 106 ♀: 13, 39 117 mg/kg 体重/日	♂♀: 300ppm ♂: 35 ♀: 39 mg/kg 体重/日	(1992年)	毒 -262
代謝物 9 GLP	変異原性 復帰突然 変異 M01 脱ニトロ体	カモネチ菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537 大腸菌; WP2 uvrA		in vitro	S-9 mix 無添加 0, 156.3, 31.2, 625, 1250, 2500 S-9 mix 添加 0, 78.1, 156.3, 31.2, 625, 1250 µg/プレート	変異原性なし	(1991年)	毒 -271
代謝物 10 GLP	変異原性 復帰突然 変異 M03 オレフィン体	カモネチ菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537 大腸菌; WP2 uvrA		in vitro	0, 312.5, 625, , 1250, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(1991年)	毒 -274

資料 No.	試験の種類 期 間	供試 生物	一群当り 動物数	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)	記載 頁
代謝物 11 GLP	変異原性 rec-assay (孢子法) M04 還元体	枯草菌; H17 株, M45 株		<u>in vitro</u>	0, 125, 250, 500, 1000, 2000 µg/ディスク	DNA 損傷性 なし	(1991 年)	毒 -277
代謝物 12 GLP	変異原性 復帰突然 変異 M04 還元体	カビ細菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537 大腸菌; WP2 uvrA		<u>in vitro</u>	0, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(1990 年)	毒 -279
代謝物 13 GLP	変異原性 前進突然 変異 M04 還元体	チャイニーズハム スター卵巣由来培 養細胞 (CHO-K1-BH ₄)		<u>in vitro</u>	代謝非活性化 0, 62.5, 125, 250, 500, 1000, 2000 代謝活性化 0, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 2000 µg/mL	変異原性なし	(1989 年)	毒 -282
代謝物 14 GLP	変異原性 前進突然 変異 M04 還元体	チャイニーズハム スター肺細胞由来 V79 培養細胞		<u>in vitro</u>	代謝非活性化 0, 500, 1000, 1500, 1750, 2000 代謝活性化 0, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 2000	変異原性なし	(1989 年)	毒 -286
代謝物 15 GLP	染色体異常 M04 還元体	チャイニーズハム スター肺細胞由来 V79 培養細胞		<u>in vitro</u>	0, 0.10, 0.30, 1.00 mg/mL	染色体異常誘 発性なし	(1989 年)	毒 -290
代謝物 16 GLP	変異原性 UDS M04 還元体	ラット肝初代培養 細胞		<u>in vitro</u>	0.04, 0.13, 0.44, 1.33, 4.44, 13.33, 44.44, 133.33, 444.44, 1333.33 µg/mL	染色体異常誘 発性なし	(1989 年)	毒 -293
代謝物 17 GLP	小核試験 M04 還元体	マウス	♂♀各 5	経 口	0, 40, 80, 160 mg/kg 30 時間後観察	変異原性なし	(1988 年)	毒 -296
代謝物 18 GLP	小核試験 M04 還元体	マウス	♂♀各 5	経 口	0, 100mg/kg を 1 回投与後 24, 48, 72 時間 後観察	変異原性なし	(1989 年)	毒 -298

資料 No.	試験の種類 期 間	供試生物	一群当り 動物数	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)	記載 頁
代謝物 19	小核試験 M04 還元体	マウス	♂♀各 5	腹腔内	0, 20, 40, 80 mg/kg 30 時間後観察	変異原性なし	(1988 年)	毒 -300
代謝物 20 GLP	小核試験 M04 還元体	マウス	♂♀各 5	腹腔内	0, 50mg/kg を 1 回投与後 24, 48, 72 時間 後観察	変異原性なし	(1989 年)	毒 -302
代謝物 21 GLP	変異原性 復帰突然 変異 M05 環状ウレア体	カビ細菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537 大腸菌; WP2 uvrA		<u>in vitro</u>	0, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(1991 年)	毒 -304
代謝物 22 GLP	変異原性 復帰突然 変異 M06 クロロニコチン酸	カビ細菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537 大腸菌; WP2 uvrA		<u>in vitro</u>	0, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(1991 年)	毒 -307
代謝物 23 GLP	変異原性 復帰突然 変異 M18 ヒ・コリルアルコール	カビ細菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537 大腸菌; WP2 uvrA		<u>in vitro</u>	0, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(1991 年)	毒 -310

3. 製剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 期 間	供試生 物	一群当り 動物数	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)	記載 頁	
1 GLP	急性毒性 (2%粒剤) (14日間観察)	ラット	♂♀各10	経口	♂♀ : 5000	♂♀ : >5000	(1989年)	毒 -313	
2 GLP	急性毒性 (2%粒剤) (14日間観察)	マウス	♂♀各10	経口	♂♀ : 2780, 3330, 4000, 4800, 5760	♂ : 4500 ♀ : 4700	(1989年)	毒 -315	
3 GLP	急性毒性 (2%粒剤) (14日間観察)	ラット	♂♀各10	経皮	♂♀ : 2000	♂♀ : >2000	(1989年)	毒 -317	
4 除外	急性吸入 (2%粒剤) (14日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であることから試験除外							毒 -319
5 GLP	皮膚刺激性 (2%粒剤) (3日間観察)	ウサギ	♀6	側腹部 に貼付	500mg/パッチ	刺激性なし	(1990年)	毒 -320	
6 GLP	眼刺激性 (2%粒剤) (7日間観察)	ウサギ	♀6+3	左眼に 強制投 与	0.1g/眼	軽度刺激性あり 洗眼効果あり	(1990年)	毒 -322	
7 GLP	皮膚感作性 (2%粒剤) Maximisation 法 (3週間観察)	モルモット	♀20	0.1%液 皮内注 射感作 製剤原 末貼付 感作	12.5, 25, 50 及び原末の 貼付惹起	感作性なし	(1989年)	毒 -325	
8 代替	急性経口, 急性経皮, 皮膚刺激性, 眼刺激性, 皮膚感作性(1%粒剤) これらの試験成績を2%粒剤の試験成績(毒性資料 No. 製剤-1, -3, -5, -6, -7 でそれぞれ代替する。							毒 -328	
9 除外	急性吸入 (1%粒剤) (14日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であることから試験除外							毒 -329
10 GLP	眼刺激性 (0.25%粉 剤) (3日間観察)	ウサギ	♀6+3	左眼に 強制投 与	100mg/眼	刺激性なし	(1992年)	毒 -330	
11 代替	急性経口, 急性経皮, 皮膚刺激性, 皮膚感作性(0.25%粉剤) これらの試験成績を2%粒剤の試験成績(毒性資料 No. 製剤-1, -3, -5, -7 でそれぞれ代替する。							毒 -332	
12 除外	急性吸入 (0.25%粉 剤) (14日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であることから試験除外							毒 -333
13 GLP	急性毒性 (10%水和剤) (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経口	♂♀ : 5000	♂ >5000 ♀ >5000	(1990年)	毒 -334	

資料 No.	試験の種類 期 間	供試 生物	一群当り 動物数	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)	記載 頁
14 GLP	急性毒性 (10%水和剤) (14日間観察)	マウス	♂♀各5	経 口	♂♀: 590, 770, 1000, 1300, 1690, 2200	♂ 870 ♀ 980	(1990年)	毒 -336
15 GLP	急性毒性 (10%水和剤) (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経 皮	♂♀: 2000	♂♀: >2000	(1990年)	毒 -338
16 除外	急性毒性 (10%水和剤) (14日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であることから試験除外						毒 -340
17 GLP	皮膚刺激性 (10%水和剤) (3日間観察)	ウサギ	♀6	側腹部に 貼付	0.5g/パッチ	軽度刺激性あり	(1990年)	毒 -341
18 GLP	眼刺激性 (10%水和剤) (21日間観察)	ウサギ	♀6+3	左眼に 強制投与	原末: 0.1g/眼 1000倍希釈液: 0.1ml/眼	原末: 中程度刺激あり 洗眼効果あり 希釈液: 刺激なし	(1990年)	毒 -343
19 GLP	皮膚感作性 (10%水和剤) Maximisation 法(3週間観 察)	モルモッ ト	♀20	0.1%液の 皮内注射 感作 50%液貼 付感作	0.1, 1.0及び 10%液 貼付惹起	感作性なし	(1990年)	毒 -346
20 GLP	急性毒性 (20%フロアブル) (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経 口	♂♀: 1540, 2000, 2600, 3380, 4390, 5710	♂: 3200 ♀: 4100	(1992年)	毒 -349
21 GLP	急性毒性 (20%フロアブル) (14日間観察)	マウス	♂♀各5	経 口	♂♀: 230, 300, 380, 500, 650, 850	♂: 660 ♀: 700	(1992年)	毒 -351
22 GLP	急性毒性 (20%フロアブル) (14日間観察)	ラット	♂♀各10	経 皮	♂♀: 2000	♂♀: >2000	(1992年)	毒 -353
23 除外	急性毒性 (20%フロアブル) (14日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であることから試験除外						毒 -355
24 GLP	皮膚刺激性 (20%フロアブル) (3日間観察)	ウサギ	♀6	側腹部に 貼付	原液及び1000 倍希釈液 0.5mL/パッチ	原液及び1000倍 希釈液とも刺激 性なし	(1992年)	毒 -356
25 GLP	眼刺激性 (20%フロアブル) (3日間観察)	ウサギ	♀6+3	左眼に 強制投与	原液及び1000 倍希釈液 0.1mL/眼	原液及び1000倍 希釈液とも刺激 性なし	(1992年)	毒 -358
26 GLP	皮膚感作性 (20%フロアブル) ヒューレー法 (5週間観察)	モルモッ ト	♀20	製剤原液 貼付感作	0.025, 0.05, 5.0 及び原液の 貼付惹起	感作性なし	(1992年)	毒 -360

資料 No.	試験の種類 期 間	供試生物	一群 当り 動物 数	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)	記載 頁	
27 10 GLP	急性毒性 (0.005%液剤) (14日間観察)	マウス	♂♀ 各5	経 口	♂♀ : 5000	♂♀ : >5000	(1989年)	毒 -362	
28 代替	急性経口, 急性経皮, 皮膚刺激性, 眼刺激性, 皮膚感作性 (0.005%液剤) これらの試験成績を20%フロアブルの試験成績(毒性資料 No. 製剤-20、-22、-24、 -25、-26 でそれぞれ代替する。							毒 -364	
29 除外	急性吸入 (0.005%液剤) (14日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する 農薬以外の農薬であることから試験除外							毒 -365
30 GLP	急性毒性 (50%顆粒水 和剤) (14日間観察)	ラ ッ ト	♂♀ 各5	経 口	♂: 770, 1100, 1500, 2100, 2900, ♀: 550, 770, 1100 1500, 2100	♂ : 1560 ♀ : 1390	(1999年)	毒 -366	
31 GLP	急性毒性 (50%顆粒水 和剤) (14日間観察)	マウス	♂♀ 各5	経 口	♂: 160, 220, 300, 420, 580, 810 ♀: 160, 220, 300, 420, 580,	♂ : 383 ♀ : 354	(1999年)	毒 -368	
32 GLP	急性毒性 (50%顆粒水 和剤) (14日間観察)	ラ ッ ト	♂♀ 各5	経 皮	♂♀ : 2000	♂♀ : >2000	(1999年)	毒 -370	
33 除外	急性吸入 (50%顆粒水 和剤) (14日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する 農薬以外の農薬であることから試験除外							毒 -372
34 GLP	皮膚刺激性 (50%顆粒水 和剤) (3日間観察)	ウ サ ギ	♀ 6	側腹部に 貼付	100% 500mg/パッチ 5000倍希釈液 0.5mL/パッチ	100%; 軽度刺激性 5000倍液; 刺激性なし	(1998年)	毒 -373	
35 GLP	眼刺激性 (50%顆粒水 和剤) (6日間観察)	ウ サ ギ	♀ 6+3+ 3	左眼に 強制投与	製剤 100% 0.1g/眼 5000, 300倍液 0.1mL/眼	製剤; 中等度刺激性 洗眼効果あり 5000, 300倍液; 刺激性なし	(1998年) (2002年)	毒 -375	
36 GLP	皮膚感作性 (50%顆粒水 和剤) ビューラ法 (30日間観察)	モルモット	♀ 20	50%貼付 感作	50%の 貼付惹起	感作性なし	(1998年)	毒 -379	

資料 No.	試験の種類 期 間	供試 生物	一群当り 動物数	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)	記載 頁
37 GLP	急性毒性 (70%粉末) (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経口	♂♀: 0, 250, 350, 500, 710, 1000	♂: 419 ♀: 368	(1997年)	毒 -382
38 GLP	急性毒性 (70%粉末) (14日間観察)	マウス	♂♀各5	経口	♂♀: 0, 50, 80, 110 150, 210, 300	♂: 190 ♀: 167	(1997年)	毒 -384
39 GLP	急性毒性 (70%粉末) (14日間観察)	ラット	♂♀各10	経皮	♂♀: 2000	♂♀: >2000	(1997年)	毒 -386
40 除外	急性吸入 (70%粉末) (14日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であることから試験除外						毒 -388
41 GLP	皮膚刺激性 (70%粉末) (3日間観察)	ウサギ	♀6	側腹部 に貼付	0.5g/パッチ	刺激性なし	(1997年)	毒 -389
42 GLP	眼刺激性 (70%粉末) (3日間観察)	ウサギ	♀6+3	左眼に 強制投 与	0.1g/眼	極く軽度の刺激 性あり 洗眼効果あり	(1997年)	毒 -391
43 GLP	皮膚感作性 (70%粉末) ビューラー法 (5週間観 察)	モルモット	♀20	25%貼 付感作	25%の 貼付惹起	感作性なし	(1997年)	毒 -394
44 GLP	急性毒性 (2%錠剤) (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経口	♂♀: 5000	♂♀: >5000	(1998年)	毒 -397
45 GLP	急性毒性 (2%錠剤) (14日間観察)	マウス	♂♀各5	経口	♂♀: 0, 2500, 3000, 3600, 4200, 5000, 6000	♂: 4134 ♀: 4448	(1998年)	毒 -399
46 GLP	急性毒性 (2%錠剤) (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀: 2000	♂♀: >2000	(1998年)	毒 -401
47 除外	急性吸入 (2%錠剤) (14日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であることから試験除外						毒 -403
48 GLP	皮膚刺激性 (2%錠剤) (3日間観察)	ウサギ	♀6	側腹部 に貼付	500mg/パッチ	刺激性なし	(1998年)	毒 -404
49 GLP	眼刺激性 (2%錠剤) (3日間観察)	ウサギ	♀6+3	左眼に 強制投 与	製剤100% 0.1g/眼	極軽度の刺激 性あり 洗眼効果あり	(1998年)	毒 -406
50 GLP	皮膚感作性 (2%錠剤) ビューラー法 (30日間観 察)	モルモット	♀20	50%貼 付感作	50%の 貼付惹起	感作性なし	(1998年)	毒 -409

資料 No.	試験の種類 期 間	供試 生物	一群当り 動物数	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)	記載 頁
51 GLP	急性毒性 (0.025% エア ゾール) (14 日間観察)	ラット	♂♀各 5	経口	♂♀: 5000	♂♀ : >5000	(1998 年)	毒 -412
52 GLP	急性毒性 (0.025% エア ゾール) (14 日間観察)	マウス	♂♀各 5	経口	♂♀: 0, 2500, 3000, 600 5000, 6000	♂: 4134 ♀: 4448	(1998 年)	毒 -414
53 GLP	急性毒性 (0.025% エア ゾール) (14 日間観察)	ラット	♂♀各 5	経皮	♂♀: 2000	♂♀ : >2000	(1998 年)	毒 -416
54 除外	急性吸入 (0.025% エア ゾール) (14 日間観察)	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する 農薬以外の農薬であることから試験除外						毒 -418
55 GLP	皮膚刺激性 (0.025% エア ゾール) (3 日 間 観 察)	ウサギ	♀ 6	側腹部 に貼付	500mg/パッチ	刺激性なし	(1998 年)	毒 -419
56 GLP	眼 刺 激 性 (0.025% エア ゾール) (4 日 間 観 察)	ウサギ	♀6+3	左眼に 強制投 与	製剤 眼に 1 回噴射	極軽度の刺激性 あり 洗眼効果あり	(1998 年)	毒 -421
57 GLP	皮膚感作性 (0.025% エア ゾール) ビューラー法 (5 週 間 観 察)	モルモ ット	♀ 20	50%貼 付感作	50%の 貼付惹起	感作性なし	(1998 年)	毒 -424

1. 原体

(1) 急性毒性

イミダクロプリドのラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 原体-1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1988年4月7日

検体の純度：

供試動物：SD(Crj:CD)系雌雄ラット，1群雌雄各10匹

試験開始時；雄7週齢(197～230g)

雌7週齢(146～169g)

観察期間：14日間

試験方法：

検体調製

検体を所定量秤量し、少量のジメチルスルホキシド(最終濃度20v/v%)に溶解後、ポリエチレングリコール400を加えて混和した。この調製液を投与検体とした。

投与方法

投与前約18時間絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重100gあたり1mLとした。また、投与約30分経過後に再給餌を行った。

一般症状の観察及び体重の測定

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日2回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後7日及び14日に行った。

剖検

死亡動物についてはその発見時に速やかに剖検した。観察終了時に生存していた動物は全て、ジエチルエーテルの吸入麻醉下で屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：260, 360, 500, 700, 980 * 雌：260, 360, 500, 700, 980 *
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：440 (95%信頼限界;370~530) 雌：410 (95%信頼限界;360~470)
死亡開始時間及び 終了時間	雄：1時間~1日 雌：35分~1日
症状発現時間及び 消失時間	雄：9分~2日 雌：15分~2日
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：- 雌：-
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：260 雌：260

*：700mg/kg で全例の死亡が認められたため、LD₅₀ 値の算出には使用しなかった。

一般症状の観察及び体重の測定

全投与群で検体投与に起因した中毒症状がみられ、これらの主なものは鎮静あるいは振せんであり、重篤例ではさらに呼吸異常、けいれんがみられた。

死亡は、雌雄ともに 360mg/kg 以上で認められた。

また生存例は順調な体重増加を示した。

剖検

剖検において、雌雄共に検体に起因する所見は認められなかった。

イミダクロプリドのラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 原体-2)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年月日: 1989年 12月 15日

検体の純度 :
供試動物 : ウィスター(Bor:WISW)系雌雄ラット, 1群雌雄各5匹
試験開始時; 雄 7~8週齢(167~187g)
雌 10~12週齢(168~194g)

観察期間 : 14~15日間

試験方法:

検体調製

投与直前に検体を乳鉢にとり、2%v/vクレモホアEL水溶液(脱イオン水)を加えてよく混和させた。

投与方法

投与前約17時間絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。投与直前に所定量の検体に、2%v/vクレモホアEL水溶液(脱イオン水)を加えてよく混和させた。投与容量は、体重100gあたり1mLとした。

一般症状の観察、死亡及び体重の測定

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後3日、7日及び14日に行った。

剖検

死亡動物についてはその発見時に速やかに剖検した。観察終了時に生存していた動物は全て、ジエチルエーテルの吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：50, 100, 250, 315, 400, 450, 500, 1800 雌：100, 250, 315, 400, 450, 475, 500, 1800
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：424 雌：450～475
死亡開始時間及び 終了時間	雄：1時間～1日 雌：2時間～1日
症状発現時間及び 消失時間	雄：15分～7日 雌：15分～7日
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：50 雌：100
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：315 雌：315

一般症状の観察及び体重の測定

主な症状所見は、無関心、一過性の努力呼吸、一過性の頻呼吸、運動性の低下、一過性のよろめき歩行、瞼裂縮小、一過性の振せんやけいれんであり、雄では100mg/kg以上で、雌では250mg/kg以上でみられた。

死亡は、雌雄共に400mg/kg以上でみられた。

また生存例では雌雄共に順調な体重増加がみられた。

剖検

途中死亡例の剖検では、用量に関係なく以下の所見が認められた：

肝臓；暗色化，脾臓；退色化，1例わずかに暗色化，肺；暗色化，斑点、拡張，
腺胃部粘膜；わずかに発赤

最終屠殺例の剖検では、変化を認めなかった。

イミダクロプリドのマウスを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 原体-3)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1987年12月7日

検体の純度：

供試動物：ICR(Crj:CD-1)系雌雄マウス，1群雌雄各10匹

試験開始時；雄5週齢(20.4~26.1g)

雌5週齢(16.8~20.9g)

観察期間：14日間

試験方法：

検体調製

検体を所定量秤量し、少量のジメチルスルホキシド(最終濃度20v/v%)に溶解後、ポリエチレングリコール400を加えて混和した。この調製液を投与検体とした。

投与方法

投与前約18時間絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重10gあたり0.1mLとした。また、投与約30分経過後に再給餌を行った。

一般症状の観察及び体重の測定

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日2回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後7日及び14日に行った。

剖検

死亡動物についてはその発見時に速やかに剖検した。観察終了時に生存していた動物は全て、ジエチルエーテルの吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：46, 60, 78, 100, 130, 170, 220 雌：60, 78, 100, 130, 170
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：100 (95%信頼限界:89~120) 雌：98 (95%信頼限界:88~110)
死亡開始時間及び 終了時間	雄：6分~5時間 雌：7分~6時間
症状発現時間及び 消失時間	雄：2分~1日 雌：2分~1日
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：- 雌：-
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：46 雌：60

一般症状の観察及び体重の測定

全投与群で検体投与に起因した中毒症状がみられ、まず鎮静を示した。その後振せんおよび呼吸異常が観察されたが、更に重篤な例ではけいれんを起こし、死亡する例が多くみられた。挙尾を示す例も散見された。また、投与後数分からしばらくの間ヒョコに似た鳴声も散発的に聞こえた。

死亡は、雄で60mg/kg以上、雌で78mg/kg以上の群で認められた。

また生存例は順調な体重増加を示した。

剖検

剖検において、雌雄共に特記すべき異常所見は何ら認められなかった。

イミダクロプリドのマウスを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 原体-4)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年月日: 1989年 12月 15日

検体の純度 :
供試動物 : NMRI (Bor:NMRI (Han)系雌雄マウス, 1群雌雄各5匹
試験開始時; 雄 4週齢(21~25g)
雌 4~5週齢(20~24g)

観察期間 : 14~15日間

試験方法:

検体調製

投与直前に検体を乳鉢にとり、2%v/v クレモホア EL 水溶液(脱イオン水)を加えてよく混和させた。

投与方法

投与前約 17 時間絶食させたマウスに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 10g あたり 0.1mL とした。絶食していた動物には投与 2 時間経過後に給餌した。

一般症状の観察、死亡及び体重の測定

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 3 日、7 日及び 14 日に行った。

剖検

死亡動物についてはその発見時に速やかに剖検した。観察終了時に生存していた動物は全て、ジエチルエーテルの吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：10, 71, 100, 120, 140, 160, 250 雌：10, 100, 120, 140, 160, 250
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：131 (95%信頼限界;112~156) 雌：168 (95%信頼限界;142~200)
死亡開始時間及び 終了時間	雄：10分~1時間 雌：15分~45分
症状発現時間及び 消失時間	雄：5分~8時間 雌：5分~8時間
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：10 雌：10
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：71 雌：100

一般症状の観察及び体重の測定

主な症状所見は、無関心、努力呼吸(一過性)、運動性の低下、一過性のよろめき歩行、一過性の振せんやけいれんであった。

順調な体重増加が雌雄共にみられた。

剖検

途中死亡例の剖検では、用量に関係なく以下の所見が認められた：

肝臓；退色，時に暗色化，脾臓；退色化，時に暗色化，肺；暗色化，斑点、膨張
最終屠殺例の剖検では、変化を認めなかった。

イミダクロプリドのラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 原体-5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1987年12月11日

検体の純度：
供試動物：SD(Crj:CD)系雌雄ラット，1群雌雄各10匹
試験開始時；雄7週齢(219～231g)
雌7週齢(160～172g)

観察期間：14日間

試験方法：

検体調製

検体を所定量秤量し、ポリエチレングリコール400で懸濁し、この調製液を投与検体とした。

投与方法

塗布部位は動物の背部中央とし、投与前日に約4×7cmの広さに剪毛した。その部分に検体を塗布し、塗布面は動物が検体を経口的に摂取することのないようにガーゼとスポンジで覆い、非刺激性テープで固定し個別に飼育を行った。塗布時間は24時間とし、塗布時間経過後は、直ちに塗布面を微温湯で十分に洗い、検体を除去した。

投与容量は体重100g当たり0.5mLとした。

一般症状の観察及び体重の測定

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後7日及び14日に行った。

剖検

観察終了時の全生存動物をジエチルエーテル吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄雌：2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：>2000 雌：>2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄：－ 雌：－
症状発現時間及び 消失時間	雄：－ 雌：－
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000

一般症状の観察及び体重の測定

中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。また塗布部位に発赤等の刺激作用も認められなかった。

順調な体重増加が雌雄共にみられた。

剖検

観察終了時の剖検において、雌雄共に著変は何ら認められなかった。

イミダクロプリドのラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 原体-6)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年月日: 1989年 11月 15日

検体の純度 :

供試動物 : ウィスター (Bor:WISW) 系雌雄ラット, 1群雌雄各5匹

試験開始時: 9~14週齢

雄: 207~234g, 雌: 204~214g

観察期間 : 14日間

試験方法:

投与方法

検体の所定量をアルミニウムホイル (6.5×6.5cm²) に秤りとり、0.9%滅菌生理食塩水でペースト状になるように混ぜ合わせた (0.9%生理食塩水 1.5mL/検体 1g)。投与前日に動物の配布皮膚を剃毛し、剃毛部にアルミホイルにのせた検体を塗布した。塗布域は 6.0×6.0cm² とし、従って、5000mg/kg 群の検体の平均投与量は投与域 (cm²) あたり雄ラットで 30.5 (28.5~32.5)mg、雌ラットで 29.0 (28.3~29.7)mg であった。塗布面は閉塞性包帯でしっかりと覆い固定させた。塗布時間は 24 時間とし、塗布時間経過後は、直ちに塗布面を石鹸と水で十分に洗い、検体を除去した。

一般症状の観察及び体重の測定

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 3 日、7 日及び 14 日に行った。

剖検

観察終了時の全生存動物をジエチルエーテル吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄雌：5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：>5000 雌：>5000
死亡開始時間及び 終了時間	雄：－ 雌：－
症状発現時間及び 消失時間	雄：－ 雌：－
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：5000 雌：5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：5000 雌：5000

一般症状の観察及び体重の測定

中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。また塗布部位に発赤等の刺激作用も認められなかった。

雌雄共に検体投与に起因した体重への影響は認められなかった。

剖検

観察終了時の剖検において、雌雄共に著変は何ら認められなかった。

イミダクロプリドのラットを用いた急性腹腔内毒性試験

(毒性資料 No. 原体-7)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年月日: 1990年 7月 19日

検体の純度 :

供試動物 : ウィスター (Bor:WISW) 系雌雄ラット, 1群雌雄各5匹
試験開始時; 雄 8週齢(172~189g)
雌 10週齢(169~186g)

観察期間 : 14~15日間

試験方法:

検体調製

投与直前に所定量の検体に 2%v/v クレモホア EL 水溶液 (0.9%滅菌生理食塩水) を加えてよく混和させた。

投与方法

ラットに強制的に検体を単回腹腔内投与した。

投与容量は、体重 100g あたり 1 mL とした。

一般症状の観察、死亡及び体重の測定

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 3 日、7 日及び 14 日に行った。

剖検

死亡動物についてはその発見時に速やかに剖検した。観察終了時に生存していた動物は全て、ジエチルエーテルの吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	腹腔内
投与量 (mg/kg)	雄：10, 100, 160, 170, 180, 200, 250, 500 雌：10, 100, 150, 180, 200, 224, 250
LD ₅₀ (mg/kg) *	雄：171 (95%信頼限界;132~188) 雌：186 (95%信頼限界;149~227)
死亡開始時間及び 終了時間	雄：22分~2時間30分 雌：50分~5時間
症状発現時間及び 消失時間	雄：2分~5日 雌：2分~4日
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：10 雌：10
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：160 雌：100

*申請者により算出(プロビット法)

一般症状の観察及び体重の測定

主な症状所見は、無関心、努力呼吸、頻呼吸、けいれん、周期的な振せんや攣縮であった。

死亡は、雄では170mg/kg以上、雌では150mg/kg以上でみられた。また投与後22分から5時間の間に死亡した。

体重増加量は、雄では170mg/kg以上、雌では180mg/kg以上で一時的にわずかな抑制傾向がみられた。

剖検

途中死亡例の剖検では、以下の所見が認められた：

肺；斑点，脾臓；退色化，肝臓，腸管；沈着物，腹腔内赤色液貯留

最終屠殺例の剖検では、検体に関連したと考えられる変化は認められなかった。

イミダクロプリドのラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 原体-8)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1988年6月6日

検体の純度：
供試動物：ウイスター(Bor:WISW:Cpb)系ラット、
1群雌雄各：5匹(4時間曝露)または10匹(6時間×5日間曝露)
試験開始時；雌雄8～12週齢(雄；170～210g, 雌；173～200g)
観察期間：4時間曝露：14日間
6時間×5日間曝露：曝露開始7日後および最終曝露後14日間
(1987年10月18日～1987年11月9日)

1. 曝露方法及びその選択理由

粉体曝露：

検体を粉塵発生装置を用いて粉体化し、流動式吸入装置によりラットの鼻部に4時間1回あるいは1日6時間の5日間曝露した。

曝露空気をセルロース-アセテートフィルターを用いて採捕し、重量測定法により実測濃度を求めた。

エアロゾル曝露：

検体をネブライザーを用いてエアロゾル化し、流動式吸入装置によりラットの鼻部に4時間1回曝露した。

曝露空気をフロリジルカラムで採捕してHPLCを用いて分析し、実測濃度を求めた。

曝露方法の選択理由：

本試験は、検体の吸入毒性を評価するために検体を粉体化して鼻部曝露をするように計画した。しかし、後述するように、Dust Generatorを用いた粉体化では適切な粒子径の粉体を十分な濃度で得ることが出来なかった。そこで検体をエアロゾル化し、適切な粒子径の調製を試みた。その結果、粒子径は満足するものであったが、大型粒子を除去したため、吸入装置中の実測濃度は極めて低い結果であった。また、この濃度が技術的に調製可能な最高濃度であった。

これらの結果に基づき、粉体発生装置の機種を交換し再度粉体曝露を試みた。この試験は将来の4週間亜急性吸入毒性試験における用量設定のための情報を得るために1日6時間の5日間曝露とした。その結果、試験濃度及び粒子径は概ね満足できるものであり、検体の急性吸入毒性の評価が可能となった。

下記に曝露条件を示す。

曝露条件（4時間曝露）；

	1群	2群	3群	4群	5群	6群
目標濃度 (mg/m ³)	0	/*	/	/	0	500
実際濃度 (重量分析値) (mg/m ³)	空気対照	1220	2577	5323	担体対照**	69***
発生装置	-	Dust Generator			ネブライザー	
給気流量 (L/分)	10	35			10	
排気流量 (L/分)	6~8	7			6~8	
空気力学的質量中位径 (μm)	-	10.6	14.2	20.0	-	1.61
呼吸可能な粒子の割合 (<5μm)%	-	11	6	4	-	100
チャンバー容積 (L)	20 L					
曝露条件	粉体4時間鼻部曝露				エーロゾル 4時間鼻部曝露	

*： 検体自体の重量が大きいため設定できず

**： ポリエチレングリコール 400

***： 技術的に可能な最高濃度

このように、粉体曝露条件の空気力学的質量中位径は大きく、また吸入可能な粒子の割合は少なかった。一方、エーロゾル曝露条件では吸入可能な粒子の割合は十分に得られたものの、実測値濃度は設定濃度からは大きく隔たった。

曝露条件（6時間×5日間曝露）；

	1群	2群	3群	4群
目標濃度 (mg/m ³)	0	20	100	500
実際濃度 (重量分析値) (mg/m ³)	空気対照	20	109	505
発生装置	-	Bush Generator/Wright Dust Feeder		
給気流量 (L/分)	10	35		
排気流量 (L/分)	6~8	7		
空気力学的質量中位径 (μm)	-	4.97	4.48	8.21
呼吸可能な粒子の割合 (<5μm)%	-	50.7	56.0	18.3
チャンバー容積 (L)	20 L			
曝露条件	ダスト6時間鼻部曝露×5日間			

このように、粉体曝露条件の空気力学的質量中位径及び吸入可能な粒子の割合は概ね満足できるものであり、検体の吸入毒性の評価が可能なものと考えられた。

2. 観察・検査項目及び結果：

1. 4時間曝露試験

1) 一般症状及び死亡率

観察期間は14日間とし、検体曝露日は数回、その後は少なくとも1日1回注意深く臨床観察を行った。また死亡例も確認した。

観察項目は、眼球及び気道系の粘膜、鼻口部の皮膚及び耳介、被毛と毛繕い、呼吸、循環器機能（観察可能な場合）、自律神経及び中枢神経系、運動性並びに行動パターンの変化（振せん、瘻れん、流涎、下痢、嗜眠、傾眠及び衰弱等）とした。

4時間曝露群の結果の概要を以下に示す。

投与方法	粉体曝露		エアロゾル曝露	
	雄	雌	雄	雌
曝露濃度（実測濃度；mg/m ³ ）	1220～5323		69	
LC ₅₀ （mg/m ³ ）	>5323		>69	
死亡開始時間及び終了時間	—		—	
症状発現時間及び消失時間	4～7時間		—	
毒性徴候の認められなかった最高曝露濃度（mg/m ³ ）	1220		69	
死亡例の認められなかった最高曝露濃度（mg/m ³ ）	5323		69	

このように、検体を粉体及びエアロゾルで4時間曝露した例には死亡は認められなかった。一方、粉体を2577及び5323mg/m³で曝露した例には曝露後4～6時間に呼吸困難、活動性の低下、立毛及び軽微な振せんが認められた。一方、粉体の1220mg/m³及びエアロゾルの69mg/m³を曝露した雌雄群では何ら臨床症状は認められなかった。これらの結果に基づき、急性曝露によるLC₅₀値は雌雄とも>5323mg/m³と判断された。

2) 体重の測定

体重は、曝露開始前、曝露後3日、7日及び14日に測定した。

その結果、雄では5323mg/m³でわずかに、雌では2577mg/m³でわずかに、また5323mg/m³では統計学的有意に増体重が抑制された。

3) 剖検

観察終了時の全生存動物をペントバルビタールナトリウムで麻酔後屠殺し剖検した。

その結果、いずれの群にも特記すべき病変は認められなかった。

2. 6時間×5日間曝露試験

1) 一般症状及び死亡率

観察期間は7(1群5例)および21日間(1群5例)とし、検体曝露日は数回、その後は少なくとも1日1回注意深く臨床観察を行った。また死亡例も確認した。

観察項目は、眼球及び気道系の粘膜、鼻口部の皮膚及び耳介、被毛と毛繕い、呼吸、循環器機能(観察可能な場合)、自律及び中枢神経系、体性運動性並びに行動パターンの変化(振せん、痙攣、流涎、下痢、嗜眠、傾眠及び衰弱等)とした。

1日6時間の5日間粉体曝露した結果の概要を以下に示す。

曝露濃度(実測濃度; mg/m ³)	20~505	
性別	雄	雌
LC ₅₀ (mg/m ³)	>505	
死亡開始時間及び終了時間	—	
症状発現時間及び消失時間	—	
毒性徴候の認められなかった最高曝露濃度(mg/m ³)	505	
死亡例の認められなかった最高曝露濃度(mg/m ³)	505	

このように、検体を20、109及び505 mg/m³の濃度で粉体曝露した結果、いずれの群にも臨床症状や死亡例は認められず、従って、本曝露条件下でのLC₅₀は>505 mg/m³と判断された。

2) 体重の測定

体重は、曝露開始前、曝露後3日、7日及び14日、21日に測定した。

その結果、雌雄曝露群に体重への影響は認められなかった。

3) 血液学的検査及び生化学的検査

各群雌雄それぞれ5匹を最終曝露後1日に中間屠殺し、血液を採取後、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、白血球数、MVH、MCV、MCHC、血液凝固時間、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ(GLDH)

統計学的に有意差の見られた検査結果を次表に示す。

血液学的検査および生化学検査（有意差の認められた項目）

検査項目	性 群 mg/m ³	雄			雌		
		20	109	505	20	109	505
血液学的検査	ヘモグロビン					▲105	
	MCMH			↑103		▲102	
	血液凝固時間			▲118		▲111	
生化学検査	ALAT						↓84

↑ ↓ : p<0.05, ▲ : p<0.01 (U-test, Mann & Whitney),
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、

このように、検査結果に毒性学的に意味の有る変動は認められなかった。

4) 肝薬物代謝酵素とトリグリセリド

各群雌雄それぞれ 5 匹を最終曝露後 1 日に中間屠殺し、肝組織を用いて以下の薬物代謝酵素とトリグリセリドを測定した。

チトクローム P-450、N-ジメチラーゼ、O-ジメチラーゼ、トリグリセリド。

統計学的に有意差の見られた検査結果を次表に示す。

検査項目/性 /群 mg/m ³	雄			雌		
	20	109	505	20	109	505
N-DEM		▲129	—		▲242	—
O-DEM			—		▲135	—
トリグリセリド						↓83

— : 操作ミスのため測定せず。

↓ : p<0.05, ▲ : p<0.01 (U-test, Mann & Whitney),
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、

このように、検体の 109 mg/m³ 群では N-ジメチラーゼ（雌雄）及び O-ジメチラーゼが高値を示した。操作ミスのため 505 mg/m³ の測定結果が得られず、用量相関性は判定できなかったが、検体の肝薬物代謝酵素の誘導が示唆された。しかし、後述のように肝重量や肝の病理組織学的検査に何らの異常も見られていないことから、これらの誘導は異物に対する適応反応であると考えられた。

5) 剖検

観察終了時の全生存動物をペントバルビタールナトリウムで麻酔後屠殺し剖検した。

雌雄曝露群に何らの病変も認められなかった。

6) 臓器重量及び病理組織学的検査

各群雌雄それぞれ5匹を最終曝露後1日に中間屠殺し、肝臓及び肺の重量を測定した。また、肝臓、肺、喉頭、気管を病理組織学的に検査した。

その結果、雌雄曝露群の肝臓及び肺の重量は対照群との差は見られなかった。また、肝臓、肺、喉頭、気管の病理組織学的検査の結果にも検体曝露に関連すると考えられる変化は認められなかった。

以上、雌雄ラットに検体の粉体あるいはエアロゾルを吸入曝露の結果、LC₅₀は以下のとおりであった。

	粉体 4 時間曝露	エアロゾル 4 時間曝露	粉体 1 日 6 時間の 5 日間曝露
LC ₅₀	雌雄 5323 mg/m ³ 以上	雌雄 69 mg/m ³ 以上	雌雄 505 mg/m ³ 以上

これらの試験における曝露気体中の空気力学的質量中位径及び吸入可能な粒子の割合を考慮すると、検体の急性吸入毒性は LC₅₀ として 505 mg/m³ 以上であるものと考えられた。この値は同群に何らの症状も見られていないことから妥当なものと考えられた。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

イミダクロプリドのウサギの皮膚に対する一次刺激性試験

(毒性資料 No. 原体-9)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1988年2月25日

検体の純度：

試験動物：白色ウサギ(HC:NZW系) 1群雄3匹

試験開始時(体重2.8~3.4kg)

試験期間：4時間適用後14日間観察

試験方法：試験法はOECDの化学品検査法No.404に準拠した。すなわち検体500mgを水でペースト状にし、投与前日に剪毛したウサギ3匹の腹側部片側の皮膚(約6×6cm)にガーゼパッチを用いて皮膚に適用した。更に対側の剪毛部には水で湿らせたガーゼパッチを置き、対照皮膚とした。いずれも弾力のある粘着テープを用い半閉塞条件下で固定した。暴露時間は4時間とした。暴露時間終了後、直ちに皮膚に残った検体を水で拭き取り除去した。

観察項目：Draize法の判定基準に従って、暴露終了後1時間、24時間、48時間、72時間、7日に適用部分の刺激性変化(紅斑/痂皮、浮腫)を観察し評点を求めた。刺激性の程度は、24時間、48時間、72時間後の評点の平均値をもとに判定した。

結果：下記の表に示すとおり、皮膚症状は、暴露終了後1時間に1例でみられた軽度な紅斑のみであった。その他、いずれの観察時間においてもまたいずれの動物においても皮膚症状は認められなかった。

皮膚刺激性

動物番号	1時間		24時間		48時間		72時間		7日		刺激性の程度	
	E	O	E	O	E	O	E	O	E	O	E	O
W1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
W13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
W25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0

E：紅斑と痂皮に形成

O：浮腫形成

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと判定した。

イミダクロプリドのウサギの眼に対する一次刺激性試験

(毒性資料 No. 原体-10)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1988年2月25日

検体の純度：

試験動物：白色ウサギ(HC:NZW系) 1群雄3匹
試験開始時(体重3.1~3.3kg)

試験期間：21日間観察

試験方法：試験法はOECDの化学品検査法No.405に準拠した。すなわち検体100 μ Lを(約60mg)をそれぞれ3匹のウサギの一侧の結膜囊内に投与し、眼瞼を約1秒間閉じ合わせ検体を保持した。もう一侧の眼は未処理の対照眼とした。投与された眼は、24時間後生理食塩水で洗浄した。

観察項目：暴露終了後、角膜(混濁と広さ)、虹彩(充血、光反応)及び結膜(紅斑、結膜浮腫)の所見を1時間、24時間、48時間、72時間及び7日後にDRAIZEの評価法に従って記録した。刺激性の程度は、24、48及び72時間後の評点を平均して判定した。

結果：以下に示すように、投与1時間後に結膜の発赤、浮腫が認められたが、これらは検体の刺激性に起因するものではなく、投与による機械的な作用によるものと考えられた。結膜の反応は24時間後には消失した。

検査部位	項目	最高 評点	評価点(3匹の平均値)				
			1時間	24時間	48時間	72時間	7日
角膜	混濁	4	0	0	0	0	0
	面積	4	0	0	0	0	0
虹彩		2	0	0	0	0	0
結膜	発赤	3	1.3	0	0	0	0
	浮腫	4	0.3	0	0	0	0
	流涙	3	0	0	0	0	0

以上の結果から、本剤はウサギの眼粘膜に対して刺激性がないものと判定した。

(3) 皮膚感作性

イミダクロプリドのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法)

(毒性資料 No. 原体-11)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年月日: 1988年3月15日

検体の純度 :

供試動物 : DHPW 系雄モルモット、1群 20匹 (対照群 10匹)

試験開始時; 5~8週齢 (309~403g)

観察期間 : 約4週間

試験方法 :

Maximization 法により行った。

試験濃度設定の根拠

予備試験において、1匹のモルモットに検体 0、1、2.5 及び 5%液の皮内注射を行ったとき、わずかな発赤が 5%で認められた。また、別の 4匹のモルモットに 3、6、12 及び 25%を貼布および貼布惹起したとき、皮膚反応は認められなかった。これらの試験結果から、感作濃度は皮内注射が 1%、貼布が 25%、惹起濃度は 3%と 25%とした。

1. 皮内感作

投与前 24 時間に刈毛した試験動物の背頸部の各長軸方向に、平行に 3ヶ所皮内注射を行った。各注射部位の間隔は約 1~2cm とした。注射部位あたりの投与容量は 0.1mL とした。

a) 感作群 (検体群)

第一注射部位 (頭方)

Freund の完全アジュバントと滅菌生理食塩水の 1 : 1 混液

第二注射部位 (中央)

2% (v/v) クレモホア EL 滅菌生理食塩水に懸濁させた検体の 1%液

第三注射部位 (尾方)

2% (v/v) クレモホア EL 滅菌生理食塩水と Freund の完全アジュバントとの等量混合液で検体を 1%を含む

b) 無感作群 (対照群)

対照群の動物は、検体群と同様に処理したが、第二と第三注射部位の調製液には検体が含まれていなかった。

2. 貼布感作（皮内注射 1 週間後）

貼布部には貼布感作 24 時間前に刈毛し、10%ラウリル硫酸ナトリウム含有パラフィンオイルを塗布し前刺激した。貼布感作日に低アレルギー性のパッチ(2×4 cm)を注射部位間及びその部位上に貼布し、アルミホイルで覆い、Fermoflex の粘着性テープで皮膚に 48 時間固定した。

低アレルギー性のパッチは次のように処理した。

a) 感作群：25%検体 2%(v/v)クレモホア EL 滅菌生理食塩水, 0.5mL

b) 無感作群：2%(v/v)クレモホア EL 滅菌生理食塩水, 0.5mL

48 時間の閉塞貼付後、塗布部位に残った検体を滅菌生理食塩水で取り除いた。

3. 貼布惹起（皮内注射から 3 週間後）

惹起操作 24 時間前に動物の背部と腹側部を刈毛した。惹起時に感作群と無感作群の左腹側部(頭、尾)に 2%(v/v)クレモホア EL 滅菌生理食塩水で調製した検体の 3%および 25%液を湿らせた低アレルギー性のパッチを貼布し、皮膚に閉塞条件下で固定した。個体ごとに、各濃度の貼布位置(頭、尾)を変えた。また右腹側部(頭、尾)には検体を含まない調製媒体のみで湿らせた低アレルギー性のパッチを貼布した。尚、貼布時間は 24 時間とし、投与容量はそれぞれ 0.5mL とした。

4. 反応の評価

惹起開始後 48 時間と 72 時間の皮膚反応を、肉眼的に下記の基準に従って評価した。

0 = 反応なし

1 = 軽度の部分的な紅斑

2 = 中程度の融合性の紅斑

3 = 強い紅斑及び浮腫

5. 一般観察

全試験期間を通じて 1 日少なくとも 2 回臨床観察(週末、祝日は 1 日に 1 回)を行った。体重測定は、投与開始前とその後各週、そして 24 日目に行った。

試験結果：

結果の要約は以下の通りである。

皮膚反応を示した動物数

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数		陽性率 (%)	
				惹起後 48 時間				惹起後 72 時間				48 時間	72 時間	48 時間	72 時間	48 時間	72 時間
				皮膚反応評点													
				0	1	2	3	0	1	2	3						
感作	皮内:1 貼布:25	3 25	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	皮内:0 貼布:0	3 25	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0

一般観察及び体重増加において、感作群と対照群との差は認められなかった。感作群、無感作群ともに皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から本検体の皮膚感作性は陰性であると判断した。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質ホルムアルデヒドについて、別に実施した Maximization 法による試験結果(1985年2月)を次に示す。

第1回惹起(2%液使用)陽性反応動物数

試験群(20匹)		対照群(10匹)	
検体処理部	担体処理部	検体処理部	担体処理部
15	8	0	0

第2回惹起(0.5%液使用)陽性反応動物数

試験群(20匹)		対照群(10匹)	
検体処理部	担体処理部	検体処理部	担体処理部
16	9	3	4

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質ホルムアルデヒドには明らかな感作性が認められ、動物の感作性物質に対する感受性が確認された。

(4) 急性神経毒性

イミダクロプリドのラットを用いた急性神経毒性

(毒性資料 No. 原体-12)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年月日 : 1994年 2月16日 (本試験)

1994年 6月 7日 (追加試験)

検体の純度 :

試験動物 : SD (Sas:CD(SD)BR)系雌雄ラット

主群各 12 匹

衛星群各 6 匹 (雌の 20mg/kg 群及びその対照群については設定せず)

試験開始時 ; 雌雄 9 週齢 (平均体重 : 雄 261g, 雌 168g)

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 :

検体調製

検体を所定量秤量し、0.5%メチルセルロース及び0.4%Tween80を含有する脱イオン水中に懸濁させた。

投与方法

投与前一晚絶食させた雌雄ラットに、0(担体)、50、150及び350mg/kgの用量で強制的に単回経口投与した。

ただし、雌については50mg/kgで8字型迷路で僅かな運動能の低下が認められたため、総合的な無作用量(NOEL)を求めるため、更に0(担体)、20mg/kgの用量を設定し追加試験を行った*(後述の運動能試験に追記)。

投与容量は、いずれも体重100gあたり1mLとした。

[用量設定の根拠]

試験項目及び結果：

1)臨床症状の観察及び体重の測定

ケージサイド観察は少なくとも1日2回（休日及び週末は1日1回）行った。体重は、機能観察検査(FOB)の一環として週1回測定した。

雄では150mg/kg以上の群、雌では350mg/kg群で、検体がニコチン様のアセチルコリンレセプターのアゴニストであることに関連する影響が認められた。それらの臨床症状は、振せん、反応性の増加、鼻の周りの汚れ、歩行失調、活動性の低下、尿の着色及び触った時の冷感の発生頻度及び程度の増加が投与用量に関連して認められた。これらの毒性症状は、概ね投与日に認められ、350mg/kg群の雄4例(主群2例及び衛星群2例)及び同群雌の10例(主群8例及び衛星群2例)が、投与日あるいは投与翌日以内に死亡した。これらの例以外に死亡例はみられず、投与後1日から5日以内に回復した。これらの結果から、臨床症状における無影響量(NOEL)は、雄では50mg/kg、雌では150mg/kgであった。体重では雌雄の生存例において投与による影響は認められなかった。

2)機能観察検査(FOB)及び運動能試験

本試験に割り当てられた動物は、全て4回（被験物質投与1週間前、投与90分、7日及び14日後）FOB及び運動能試験を行った。

FOBは、握力及び開脚着地の測定など、Moser*(V. C. Moser, "Screening Approaches to Neurotoxicity: A Functional Observational Battery", J. Am. Coll. Toxicol., 1989, 8, pp. 85-93.)により記載された一連の試験法に準拠した。

運動能試験は、8の字型迷路法を用いた自動活動性測定装置で行い、運動能と移動運動能について検査した。運動能及び移動運動能は、各々10分間隔で90分間の試験を行った。運動能は、試験時間中に赤外線ビームを遮断する回数を計測して測定した。移動運動能は、ラットが迷路中で新しい場所に移動し、別のビー

ムの一つを遮断する回数を計測して測定した。90 分間のセッション間の経時的な活動性の減少を順応性として評価した。

機能観察検査 (FOB) では、投与に関連した影響は投与日に認められた。150mg/kg では雄はケージ内ですわっているか横になっており、振せんや鼻の周りの汚れがみられ、雌では振せんがみられた。350mg/kg を投与された雌雄においては、投与に関連した多数の影響が明らかであり、この用量では投与後 24 時間以内に死亡が認められた。生存例では、全ての毒性徴候は、次の観察期間である投与後 7 日には回復していた。これらの結果をもとに FOB に関する NOEL は雌雄ともに 50mg/kg であった。

8 字型迷路の運動能及び移動運動能の低下が、中毒症状のみられた 0 日において雄 150 あるいは 350mg/kg 群と雌の 50、150 そして 350mg/kg 群で観察された。また、雌では低用量の 50mg/kg* と雄の 150mg/kg 群では統計学的に有意ではないもののわずかな低下がみられた。次回の測定時期である投与 7 日後には運動能における全ての影響が回復していた。尚、追加に設定した雌の 20mg/kg 群では、8 字型迷路における運動能及び移動運動能に投与による影響は認められなかった。順応性については、検体の何れの用量においても投与による影響は認められなかった。これらの結果に基づいて、運動能の測定の影響に対する NOEL は雄で 50mg/kg、雌で 20mg/kg であった。

*申請者注) 雌の 50mg/kg 群でのわずかな運動能の低下を試験責任者は影響ととり、雌の無影響量 (NOEL) を 20mg/kg とした。しかし、JMPR (2001 年) ではこの 50mg/kg 群でのわずかな低下を毒性影響と捉えず、また EFSA Draft Assessment Report (rapporteur member state ドイツ国、2006) では、投与に起因した影響とは考えなかった。

その理由は以下のとおりである。

JMPR (2001 年) での評価

対照群に対する 50mg/kg の運動の低下の割合は、以下に示すとおり 0 日目、試験開始前値および何ら影響のみられていない 14 日後でほぼ同じである。

運動能: 投与前-79%, 0 日-73%, 14 日-69%

移動運動能: 投与前-87%, 0 日-75%, 14 日-79%

EFSA Draft Assessment Report での評価

1. 運動能は変動幅が大きい。この事は、対照群について個体毎に運動能について投与日の測定値を試験前値の測定値に対する割合で示すと雄では 34%~84%、雌では 5%~96% の変動幅がみられたことからもうかがえる。

2. 以下の表に投与日の雌の運動能および移動運動能の平均値を示した。

		0mg/kg	50mg/kg	150mg/kg	350mg/kg
運動能	a	504	366	↓263	↓96
	b	50.0	47.9	31.5	10.3
移動運動能	a	166	124	89	18
	b	42.5	36.4	28.5	5.7

a;実測値, b;投与前の測定値を100%とした場合の%

↓; P<0.05 (Anova)

上記に示すように、統計学的有意差は運動能の150mg/kg以上でのみしか認められないことから、個体差が大きいことがうかがえる。これに比べ、投与開始前の測定値に対する投与日の割合は運動能、移動運動能ともに50mg/kgと対照群はほぼ同等であった。

申請者は、JMPR および EFSA Draft Assessment Report での評価は妥当なものと考え、雌の50mg/kgでは運動能の軽度な低下以外に全く影響がみられていないこと、また統計学的な有意差の有無を考え合わせ、雌でみられたこの50mg/kgでの影響を投与による影響とはとらえなかった。

従って雌雄ともに運動能における無影響量は50mg/kgであると判断した。

3)臨床検査

投与後24時間に衛星群の6匹の動物について、非絶食下で眼窩静脈叢から血液サンプルを採取した。以下の項目について検査した。

尚、追加設定した20mg/kg及びその対照群については、主試験でNOELが設定されているため検査を行わなかった。

3-1)臨床生化学検査

ナトリウム、カリウム、塩素、尿素窒素、グルコース、クレアチニン、尿酸、トリグリセリド、コレステロール、クレアチンキナーゼ、乳酸脱水素酵素、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ、アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、リン、カルシウム、グロブリン

検体の影響と考えられる影響は、150mg/kg以上の雌雄で認められた血清中のトリグリセリドの減少のみであった。

トリグリセリド	150mg/kg	350mg/kg
雄	↓64	↓38
雌	↓44	↓27

↓; P<0.05 (Dunnet/Anova)

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

3-2) 血液一般検査

血小板、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、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、白血球百分率、赤血球形態

350mg/kg 群の雌において、ヘモグロビン濃度の増加、ヘマトクリットの増加がみられた。これらは亜致死量であることによるストレスや脱水症状の可能性が示唆された。また更に、白血球数には変化は認められていないが、リンパ球の減少、好中球の増加がみられた。

以上、投与後 24 時間で行った臨床生化学検査、血液一般検査の結果から、NOEL は雌雄共に 50mg/kg であった。

4) 剖検及び脳重量

衛星群を除き、投与後15日目までの生存動物全例を剖検した。剖検では全臓器、体腔、剖面、天然孔及び外表面の検査を行った。全ての肉眼的異常所見を記録した。各用量雌雄各 6 例(最高用量群雌については途中死亡のため4例)については灌流し、組織を採取した。これらの動物についてはペントバルビタールの腹腔内投与(50mg/kg)によって深麻酔条件にした後、亜硝酸ナトリウム(リン酸緩衝液に溶解)を用いて左心室より灌流し、その後磷酸緩衝Universal 固定液(4%(w/v))グルタルアルデヒド及び4%(w/v)のEMグレードのホルムアルデヒドにより *in situ* で固定した。脳及び脊髄、両眼(視神経を含む)及び所定の(両側の)末梢神経(坐骨、脛骨及び腓腹神経)、ガッセル神経節、腓腹筋及び身体識別部を各動物から摘出し、10%緩衝ホルマリン溶液で再度固定した。脳はホルマリンによる固定前に頭蓋骨から切り離して重量を測定し、体重比重量を求めた。

他の生存例については、CO₂により窒息死させ、剖検のみ実施し、灌流固定あるいは組織を取り出さなかった。

尚、追加設定した20mg/kg及びその対照群については、主試験でNOELが設定されているため検査を行わなかった。

投与に関連した肉眼的病変は認められなかった。

最終体重あるいは脳重量では、投与に関連した影響は認められなかった。

5) 病理組織学的検査

高用量群(350mg/kg)の雌雄動物の組織を、対照群動物の組織と比較検討した。検体に起因した病変は明白ではなかったため、中、低用量群の動物、また追加設定した20mg/kg及びその対照群の動物については、検査を行わなかった。尚、病理組織学的検査を行った臓器は脳、脊髄、背根神経節、馬尾、眼球、視神経、ガッセル神経節、腓腹筋及び末梢神経(坐骨、脛骨、腓腹神経)であった。

骨格筋及び神経組織において350mg/kgの動物では、検体投与に起因した病理学的病変は認められなかった。

以上のように、本試験の結果では、雄では150mg/kg以上の群、雌では350mg/kg群で、検体がニコチン様のアセチルコリンレセプターのアゴニストであることに関連した臨床症状(振せん、歩行失調など)が投与用量に関連して概ね投与日に認められた。死亡は雌雄共に350mg/kg群でのみみられ、投与日あるいは投与翌日以内に確認された。他の例は、投与後1日から5日以内に回復した。FOB、血液学的検査、血液生化学検査の無影響量は雌雄共に50mg/kgであった。運動能については低下がみられ、その無影響量は雄では50mg/kg、雌では20mg/kgであった。病理組織学的検査では350mg/kgを含む全ての用量群で雌雄共に骨格筋及び神経組織に影響は認められなかった。従って、認められた臨床症状および神経行動学的影響は神経毒性それ自体を示すものではないと考えられた。

これらの結果から、本試験における総体的な無影響量*は雄では50mg/kg、雌では20mg/kgであり、神経毒性における無影響量**は、350mg/kg(本試験における最高用量)と判断した。

[申請者註]* **

運動能の項目でも示したとおり、申請者は雌の50mg/kgで認められた統計学的に有意ではない運動能の低下は検体投与に関連した影響ではないものと判断した。なお、150mg/kg以上の雌雄でみられた振せんやなどの臨床症状が本検体のニコチン様アセチルコリンレセプターのアゴニストとしての作用と関連しているものと考えられるため、病理組織学的な変化は認められないものの、神経系への作用を否定できないものとも考えた。

従って、申請者は本試験条件下において総体的な無影響量*及び神経毒性における無影響量**はいずれも雌雄共に50mg/kgと考える。

なお、JMPR(2001年)は急性参照量を本試験の結果をもとに0.4mg/kgと設定している。これは50mg/kgの分析値が42mg/kgであることから、この数値をもとに安全係数を100として、0.4mg/kgとしたものである。

参考として設定値および分析値を以下に示す。

設定用量	20mg/kg	50mg/kg	150mg/kg	350mg/kg
分析値	20mg/kg	42mg/kg	151mg/kg	307mg/kg

(5) 急性遅発性神経毒性

イミダクロプリドの急性遅発性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-13)

試験成績の提出除外

本薬についての急性遅発性神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) の⑧のイの試験成績の提出の除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、リン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。したがって、本農薬原体は遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため、本急性遅発性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

(6)90日間反復経口投与毒性

イミダクロプリドのラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-14)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1989年7月14日

検体の純度：

試験動物：ウィスター系(WISW Cpb)SPF ラット、

主群；1群雌雄各10匹

回復群(投与終了後4週間観察)；0ppm, 2400ppm;1群雌雄各10匹

試験開始時 約5~6週齢(体重雄64~102g、雌63~91g)

試験期間： 投与期間96日間、観察期間を含めると123日間

試験方法：

検体を0(対照群)、150、600及び2400ppmとなるように粉末飼料に添加し、ラットに96日間投与した。ほかに回復群として0ppmと2400ppm群は、投与終了後、通常の飼料にもどし4週間観察し回復性を調べた。

試験項目及び試験結果：

1) 臨床症状、死亡率

動物は毎日、最低2回(週末と休日は1回)臨床症状と行動の異常を記録した。個体毎の詳細な検査は週に1回実施した。

その結果、検体に起因する所見はどの群でも認められなかった。試験中の動物の死亡も認められなかった。

2) 体重(図1~3)

動物の体重は毎週1回測定した。

600ppm投与群の雄の体重は統計的に有意差はないが8%程増体重が抑制された。2400ppm群雌雄では明らかな増体重の抑制(14~16%)がみられ、この影響は回復期間の終了時まで持続した。150ppm投与群の雄及び600ppm以下投与群の雌の体重は対照群と同様であった。

図 1. 体重 主群-雄

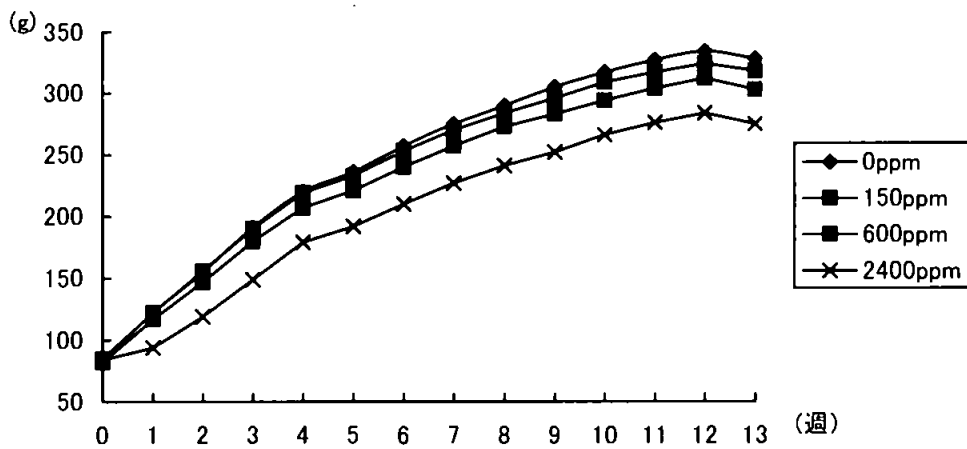


図 2. 体重 主群-雌

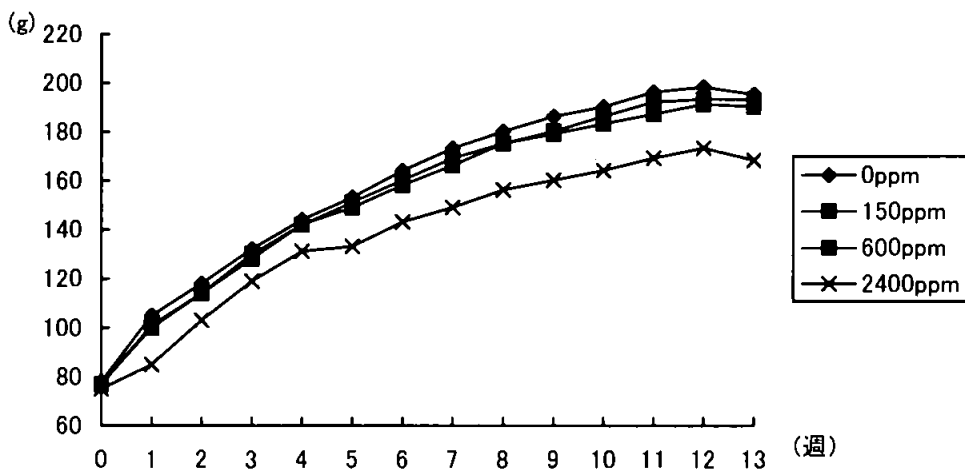
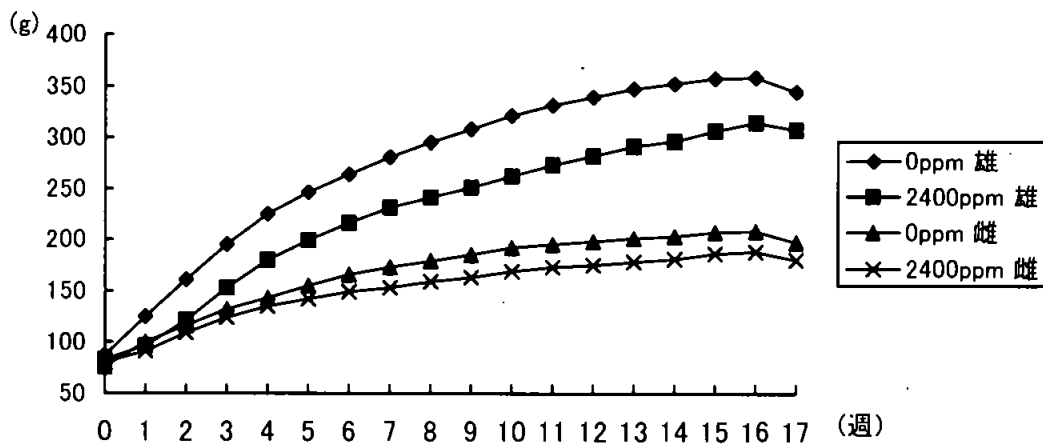


図 3. 体重 回復群-雌雄



3) 摂餌量及び検体摂取量 (表 1)

毎週 1 回摂餌量を測定した。

2400ppm 群では、投与期間中 (雄 33%、雌 42%の増加) も回復期間中も対照群に比較して体重 kg あたりの摂餌量が増加した。600ppm 以下の投与量では摂餌量に有意な変化を認めなかった。

検体摂取量 (mg/kg 体重/日) は以下のとおりであった。

表 1. 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)	雄	雌
0	—	—
150	14.0	20.3
600	60.9	83.3
2400	300.2	422.2

4) 飲水量

毎週 1 回飲水量を測定した。

飲水量は投与期間、回復期間にかかわらず、各群間に差を認めなかった。

5) 血液検査 (表 2)

試験開始 5、14 週目及び回復群の 17 週目に全動物の後眼窩静脈叢より採血し、白血球分画、赤血球形態、赤血球数、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、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)、血小板数、トロンボプラスチン時間 (TPT, 14 週目と 17 週目のみ)、網状赤血球数を測定した。

各測定項目に有意差が散見されるが、検体に起因すると思われる造血系への影響は 2400ppm 群まで認められなかった。血液凝固系では、2400ppm 群においてトロンボプラスチン時間のわずかな延長が雌雄 14 週と雄の回復期間終了時に認められた。

白血球数は雌で有意な変動を示しているが、個体値は比較的広い範囲で変動する背景データ内にあり、また予備試験 (毒性資料 No. 原体-22 に添付) では 3000ppm においてもこのような変化は認められていないことから、検体に起因する変化とは考えられなかった。白血球分画のわずかな変動は、白血球数の軽度の減少に関連しているものと考えられた。2400ppm 群の回復群の雄でリンパ球が減少したため、やや高率の分葉核白血球の増加が認められたが、これは 1 匹の動物が許容範囲をはずれた値を示したためで、検体投与によるものではないものと考えられた。

表 2 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

用量 (ppm)	150			600			2400		
	投与		回復	投与		回復	投与		回復
	5 週	14 週	17 週	5 週	14 週	17 週	5 週	14 週	17 週
雄									
赤血球	↓95		/			/			
Hb	↓97		/			/			
HCT	↓95		/	↓96	↓91	/			
MCH			/			/		↑105	
MCHC	↑102	↑105	/	↑102	↑108	/		↑107	
MCV		↓96		↓97	↓95				
TPT								↑110	
網状赤血球									↑163
分葉核球			/			/			↑167
リンパ球			/			/			↓95
単球			/			/		↓46	
雌									
Hb			/		↓97	/			
TPT			/			/		↑106	↑107
血小板			/			/	↓92		
TPT			/			/		↑106	↑107
白血球	↓86	↓84	/	↓82	↓76	/	↓82	↓69	↓81
分葉核球			/	↑132	↑194	/			
リンパ球		↓96	/	↓98	↓93	/			
単球		↑195	/			/			

↑ ↓ : p<0.05 , ↑↓ : p<0.01 (U-test)

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、/ : 群設定なし

6) 血液生化学的検査 (表 3)

試験開始 5、14 週目及び回復群の 17 週目に全動物の後眼窩静脈叢より採血しアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、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 (ASAT)、乳酸脱水酵素 (LDH)、クレアチンキナーゼ (CK)、グルコース (尾静脈より採血)、アルブミン、ビリルビン、コレステロール (CHOL)、クレアチニン (CREA)、総蛋白、尿素、トリグリセリド (TG) を測定した。また 14 週目と 17 週目には無機リン (P)、カルシウム (Ca)、カリウム (K)、ナトリウム (Na)、塩素 (CL) を測定した。

2400ppm 群雄では 5 週目の検査で一過性の ALP の増加及び TG の低下を認め、14 週目で ALAT 活性の増加を認めた。また他に蛋白、アルブミン及びコレステロールの低下が同群雌雄で認められた。雌でのこれらの変化は後述する病理組織学的検査において、何ら肝臓に異常所見を伴っていなかった。600ppm 以下の雌雄群では検体の影響は認められなかった。

表3 血液生化学的検査（有意差の認められた項目）

用量(ppm)	150			600			2400		
	投与		回復	投与		回復	投与		回復
	5週	14週	17週	5週	14週	17週	5週	14週	17週
雄									
ALAT			/			/		↑125	
ALP			/		↓90	/	↑115		
LDH			/	↓55		/			
CK			/			/	↑139		
CHOL			/			/	↓81	↓81	
TG			/			/	↓48		
総蛋白		↓96	/	↓94	↓95	/	↓95	↓92	↓96
アルブミン			/			/	↓97		
尿素	↑114		/			/	↑121		
CREA			/	↓89		/	↑111		
CL		↑102	/		↑102	/	↑102		
Ca			/		↓98	/	↓97		
Na			/			/	↓99		
K			/			/			↑107
雌									
ALAT			/	↓83		/			
ALP			/			/			↑115
LDH			/		↓65	/	↓53		
CK			/			/			↓78
CHOL			/			/			↓81
ビリルビン			/			/	↓79		
TG		↑130	/			/			
総蛋白			/			/	↓92	↓95	
アルブミン			/			/	↓94		
CREA			/	↑126		/	↑135		
グルコース	↑109		/		↑108	/			
Ca			/		↓96	/	↓96	↓98	
Na			/		↓99	/	↓99		
P		↓90	/		↓82	/			↓88

↑↓ : p<0.05 , ↑↓ : p<0.01 (U-test)

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、/ : 群設定なし

7) コリンエステラーゼ (ChE) 活性

試験開始5, 14及び17週後(回復群)に全動物の血漿と赤血球のChE活性を、又剖検時の14及び18週(回復群)に雌雄各5匹の脳ChE活性を測定した。

測定結果、2400ppmを含む全ての検体投与群において、血漿、赤血球、脳のChE阻害は認められなかった。

8) 尿検査 (表 4)

尿は 13 週目と 17 週目に 16 時間かけて全動物より採取した。尿採取期間中に飼料と水は与えなかった。

半定量検査

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

定量検査

クレアチニン (CREA)*, 比重, 蛋白 (PROT)*, 尿素 (UREA)*, 尿量 (VOL), 蛋白/クレアチニン比 (PROT/CREA) *尿総排泄量としても示す (濃度 × VOL)

いくつかの項目で統計学的な有意差が認められたが、用量依存的な変化がみられず、背景データ範囲内

にあることから、検体に起因すると考えられる所見は認められなかった。

表 4 尿検査 (有意差の認められた項目)

投与量 (ppm)	150		600		2400	
測定週	13 週	17 週	13 週	17 週	13 週	17 週
雄						
PROT	↑ 125					
PROT × VOL					↑ 136	
CREA					↓ 84	
PROT/CREA					↑ 148	
雌						
CREA × VOL						↓ 80

↑ ↓ : p < 0.05, ↑ : p < 0.01 (U-test)

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

9) 眼検査

試験開始時、剖検前に全ラットの眼検査を行った。

検体投与による異常所見は認められなかった。

10) 剖検

主群では 13 週の投与後、回復群では 17 週後の観察終了時に全動物を屠殺し剖検した。

剖検によって、検体投与による異常所見は認められなかった。

11) 臓器重量 (表 5)

剖検時に脳、精巣、肝臓、脾臓、腎臓及び副腎の実重量と相対重量を測定した。

2400ppm 群の雌雄で認められた臓器重量の変化は、体重の低下に起因したもので検体投与による変化とは考えられなかった。

表 5 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		150	600	2400	150	600	2400
検査時期		投与終了時					
体重				↓85			↓87
脳	対体重比			↑113			↑112
肝臓	実重量			↓88			↓92
脾臓	対体重比						↑113
腎臓	実重量			↓86			↓91
副腎	実重量						↓84
精巣	対体重比			↓88	/	/	/
検査時期		回復期間終了時					
体重				↓90			↓93
脳	対体重比	-	-	↑108	-	-	↑109
腎臓	実重量	-	-	↓85	-	-	
	対体重比	-	-		-	-	↑105

↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01 (U-test), (); 統計学的に有意差なし
 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もの。

12) 病理組織学的検査 (表 6、7)

投与期間終了時と回復期間終了時に各群の全動物を屠殺し、以下の組織検査を行った。大動脈、眼 (視神経を含む)、眼瞼、腸、涙腺、大腿骨 (骨髄を含む)、脳、ハーダー氏腺、膀胱、尿管、尿道、皮膚 (乳腺を含む)、心臓、精巣、下垂体、喉頭、頭部、肝臓、リンパ節 (顎下及び腸間膜)、胃、脾臓、骨格筋、精巣上体、副腎、坐骨神経、腎臓、食道、入墨した耳介、卵巣 (卵管を含む)、脾臓、前立腺、脊髄 (頸部、胸部、腰部)、精囊、上皮小体を含む甲状腺、胸骨 (骨髄を含む)、胸腺、気管、子宮、膈、舌及び異常部位。

その結果、2400ppm 群雄の肝臓に検体起因の変化が認められた。すなわち肝臓で単細胞壊死、限局性壊死、円形細胞浸潤が肝障害の徴候として認められ、また細胞質変化*がみられ、多くの例では核の肥大を伴った。600ppm 群雄では肝細胞質変化が 3 匹に認められた。回復群の雌雄ではこれらの所見の発生頻度に、対照群と 2400ppm 群との間で差は認められなかった。

*;細胞質は好塩基性を示し、核周辺部が淡明化した変化

表 6. 主群の肝臓での組織変化

性別	雄				雌			
	0	150	600	2400	0	150	600	2400
投与量 (ppm)	0	150	600	2400	0	150	600	2400
【検査動物数】	10	10	10	10	10	10	10	10
円形細胞浸潤	1 ⁺⁺	3	3	10 ^{**}	1	2	1	2
単細胞壊死	2	0	2	8 [*]	2	0	1	2
炎症性浸潤	0	0	0	2	0	0	0	0
単核細胞浸潤巣	3	5	3	5	10	10	9	10
限局性壊死	2	0	1	4	0	0	0	1
細胞質変化 [#]	0 ⁺⁺	0	3	9 ^{**}	0	0	0	0
核の肥大	0 ⁺⁺	0	0	9 ^{**}	0	0	0	0

⁺⁺ p < 0.01, ⁺ p < 0.05 (Cochran-Amitage の傾向検定, 申請者により実施)

^{**}; p < 0.01, ^{*}; p < 0.05 ; Fisher 検定/片側, 申請者により実施)

[#]; 細胞質は好塩基性を示し、核周辺部が淡明化した変化

表 7. 回復群の肝臓の組織変化

性別	雄		雌	
	0	2400	0	2400
投与量 (ppm)	0	2400	0	2400
【検査動物数】	10	10	10	10
円形細胞浸潤	0	2	2	3
単細胞壊死	1	0	1	1
単核細胞浸潤巣	0	2	3	2

Fisher 検定/片側, 申請者により実施

以上のように 2400ppm 群雌雄では増体重抑制が認められ、トロンボプラスチン時間の延長、蛋白、アルブミンの軽度の減少も認められた。更に同群雄では肝臓の組織学的変化やそれに伴う軽度の ALP、ALAT の増加がみられた。600ppm 群の雄では、増体重抑制や肝に組織学的変化がみられた。

従って、本剤の無毒性量は、雄で 150ppm (14.0mg/kg/日)、雌で 600ppm (83.3mg/kg/日) であった。

1.

イミダクロプリドのイヌを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-15)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年 2 月 2 日

- 検体の純度：
試験動物：ビーグル犬(Bor:Beag Strain)雌雄、1 群雌雄各 4 匹
(試験開始時;19~21 週齢(平均体重;雄 7.34kg, 雌 6.72kg)
試験期間：13 週間 (1987 年 10 月~1988 年 1 月)
試験方法：
検体を 0 (対照群)、200、600 及び 1800/1200ppm (1800ppm では摂餌量が低下したので、4 週目から 1200ppm に変更) となるように均質に飼料に添加した。飼料は毎日一定量 (1~6 週は 300g、7~13 週は 350g) を与え 13 週間飼育した。

試験項目及び試験結果：

1) 臨床所見

全動物の外観と行動を毎日数回観察した。

600 及び 1800/1200ppm 群の雌雄では痩せた栄養状態を示したが、これは飼料に対する忌避作用によるものと考えられた。一方、剖検時には両群ともに正常の栄養状態を示した。200ppm 群では雌雄共に栄養状態は対照群と同様であった。また 600 及び 1800/1200ppm 群の雌雄では投与第 5 週までに身震いが散見され(申請者注:投与後毎日認められてはいない。)、検体を含む餌を与えてから身震いの認められるまでの時間に一貫性がみられなかった。前述したとおり、これらの濃度では餌に対する忌避がみられ、栄養状態が良好ではない状態でこの身震いは認められたものであった。一方、検体を 1200ppm で 14 日間投与した試験^(次頁記載)や 2500ppm までの用量で実施した 1 年間反復経口投与毒性試験(毒性資料 No. 原体-24)では身震いは認められなかったことから、この身震いと本検体とに直接的な関連性はないものと考えられた^{** (次頁記載)}。

*申請者注) 非 GLP 下において雌雄各 2 例で構成される 2 群について、検体を含む飼料として 2 種類の形態(乾燥したペレットまたは水を含むペースト状(mash food))でそれぞれ与えた。この試験結果は本試験成績に収載されている。この試験の目的は、本 90 日反復投与経口試験で認められた身震いがその他のイヌを用いた反復経口投与毒性試験において認められなかった理由として、検体を含む飼料の形態の違いによる摂餌量の低下が関連しているのではないかという仮説を明確にすることであった。なお、飼料の成分は両形態とも同等であった。

この結果、ペレットを与えた群は明らかな忌避作用を示さず、摂餌は良好であった。

**申請者注)

14 日間反復経口投与毒性試験(本試験成績に収載) 飼料の形態; ペレット状

28 日間反復経口投与毒性試験(用量設定試験) 飼料の形態; ペレット状

90 日間反復経口投与毒性試験 飼料の形態; ペースト状(mash/水を含む飼料)

1 年間反復経口投与毒性試験(毒性資料 No. 原体-24) 飼料の形態; ペレット状

90 日間反復経口投与を除き、体重に影響がみられるような摂餌量の低下は認められず、栄養状態もよく、90 日間反復経口投与試験で初期に認められた身震いは、他のいずれの試験でも認められなかった。以上のことから、90 日間反復経口投与試験のみに初期にみられた身震いは、検体投与に関連した変化というよりはむしろ餌に対する忌避作用が関連した変化と考えられた。

2) 反射、脈拍、体温測定

試験開始前(-1 週)、投与開始後第 3 週目、第 7 週目、第 13 週目に反射機能(瞳孔反射、角膜反射、膝蓋腱反射、屈伸反射、正向反射)、脈拍、体温を測定した。

反射機能、脈拍、体温の観察では毒性的に検体投与に関連性のある所見は認められなかった。

3) 死亡率

13 週間の投与期間中全ての動物が生存した。

4) 摂餌量、飲水量及び検体摂取量

毎日摂餌量を観察した。飲水量は、給水皿に水を満たす必要が生じた場合の頻度から判断した。

200ppm 群での摂餌量は、対照群に比較して投与に起因する変化を認めなかった。600ppm 以上で摂餌量の減少がみられた。特に 600ppm 群の雌 2 匹は試験の前半にくり返し飼料を残した。1800ppm 群の全ての動物では特に試験開始の第 3 週に摂餌量の減少がみられ、数例ではかなりの減少が認められた。1800ppm から 1200ppm に投与量を減じても、雄 2 匹、雌 1 匹の動物ではくり返し飼料を残した。600ppm 群と 1800/1200ppm 群の摂餌量の減少は、飼料に対する忌避作用によるものと判断された。

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

飲水量については、検体投与群と対照群との間に異常は認められなかった。

図1. 摂餌量(1週間の累積量) 雄

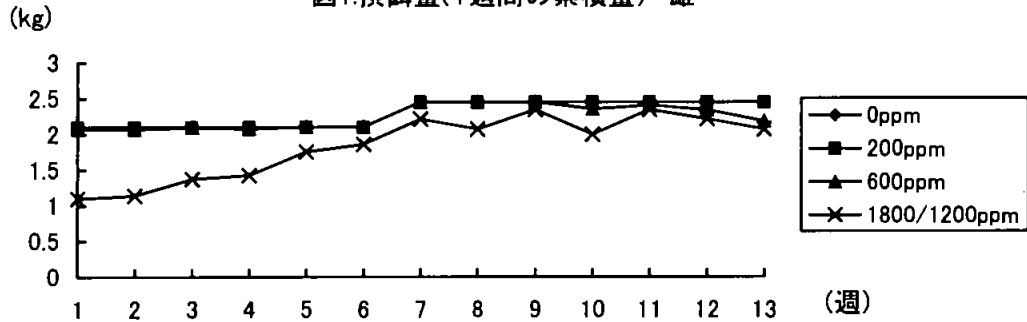
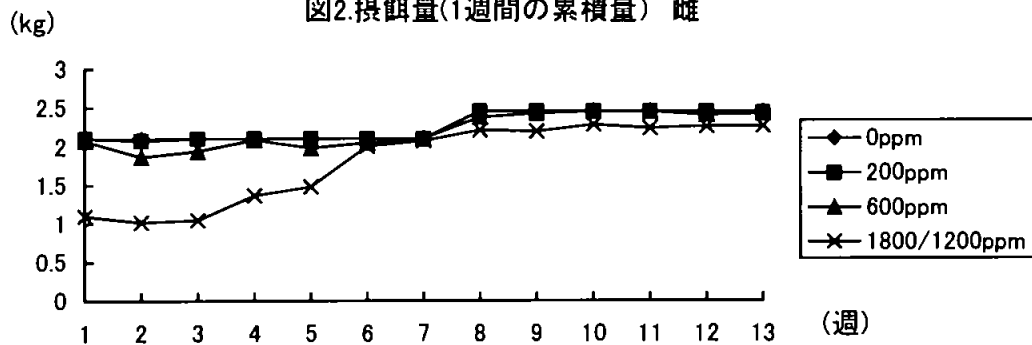


図2. 摂餌量(1週間の累積量) 雌



(給餌量; 1~6週は 300g/日、7~13週は 350g/日)

各投与群の試験期間中の検体摂取量を下記に示した。

表 1. 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)	雄	雌
200	7.7	7.9
600	22.0	24.7
1800/1200	45.3	45.9

申請者により算出

5) 体重

週に1回体重を測定した。

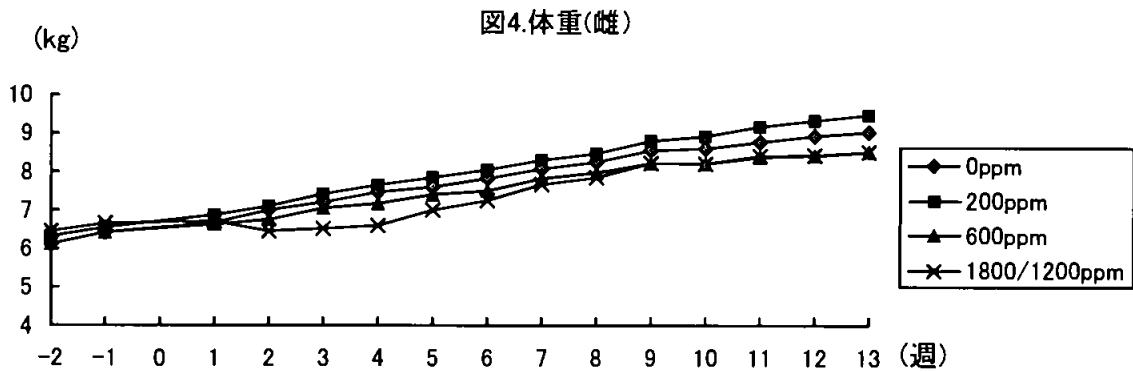
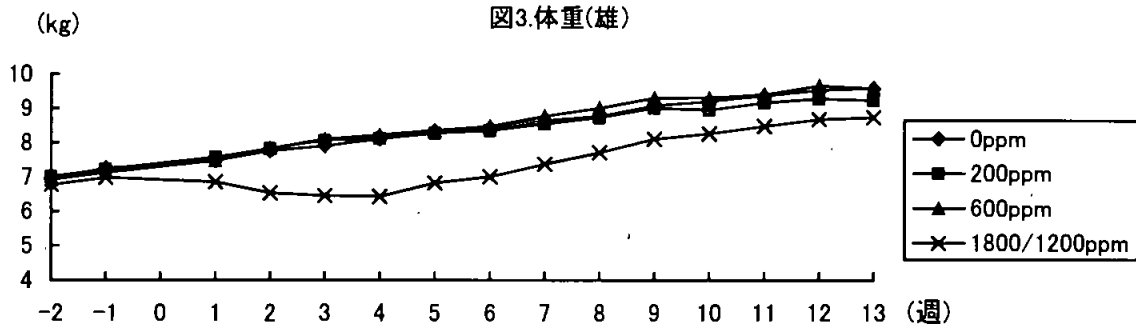
1800ppm 群雌雄では、試験の3~6週目に体重が減少した(摂餌量の低下による)。4週目から1800ppmの投与量を1200ppmに減らした後は、対照群に比較して体重増加量に差は認められなかった。

投与最終時での体重増加量は、対照群と200ppm群、600ppm群との間で差を認めなかった。

申請者註 統計学的検査の結果(申請者により実施)、Bartlett+Dunnett 多重比較検定で、最高用量群の雄の体重で第4、5、6週に統計学的に有意な減少(p<0.05)がみられた。

表 2. 体重増加量 (kg) [-1 週~13 週]

投与量 (ppm)	0	200	600	1200/1800
雄	2.3	2.0	2.5	1.7
雌	2.6	2.9	2.1	1.8



6) 眼検査所見

試験開始前、開始後 7、13 週に眼検査を行った。

眼検査では検体に起因する所見は認められなかった。

7) 血液学的検査

試験開始前 (-3 週)、投与開始後第 3 週目、第 7 週目、第 13 週目に頸静脈から採血し、ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、白血球数、MCV、MCH、MCHC、血小板数、網状赤血球数、部分トロンボプラスチン時間 (PTT)、トロンボプラスチン時間、血液沈降速度、メトヘモグロビン、白血球分画を測定した。

その結果、統計学的に有意な差は散見されたが、用量に関連した変化がみられず、検体による血液毒性の徴候や造血器系への影響はないものと考えられた。

表 3. 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

投与量	200ppm				600ppm				1200/1800ppm			
検査週	-3	3	7	13	-3	3	7	13	-3	3	7	13
雄												
PTT				↓90								↓89
リンパ球												↓63
雌												
白血球												↓68
MCHC				↓98								↓97
PTT				↓92				↓92				↓91
リンパ球				↓60								
分葉核球				↑133								

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。

↓ : $p < 0.05$, ↑↓ : $p < 0.01$ (Bartlett+Dunnette の多重比較 : 申請者により実施)

8) 血液生化学的検査

試験開始前 (-3 週)、投与開始後第 3 週目、第 7 週目、第 13 週目に頸静脈から採血し血糖、尿素、クレアチニン、総蛋白質、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、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 (ASAT)、アルカリホスファターゼ (Aph)、グルタミン酸脱水素酵素 (GLDH)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンキナーゼ (CK)、トリヨードチロニン (T3)、テトラヨードチロニン (T4)、血清チロキシン結合能 (TBK)、ビリルビン (Bi1)、コレステロール (CHOL)、トリグリセリド (TG)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、塩素 (CL)、無機リン (P)、マグネシウム (Mg) を測定した。血清の蛋白電気泳動を行った。さらに屠殺時に肝臓のチトクロム P-450、N-デメチラーゼ (基質/アミノピリン)、トリグリセリドを測定した。

対照群と投与群間で統計学的な有意差が散見されたが、いずれも用量に関連した変化ではなかったり、また時間的な関連性がないことから、毒性学的変化とはみなさなかった。

表 4. 血液生化学的検査（有意差の認められた項目）

投与量 検査週	200ppm				600ppm				1200/1800ppm			
	-3	3	7	13	-3	3	7	13	-3	3	7	13
雄												
ASAT										↓ 77		
CK										↓ 54		
TG										↓ 68		
K			↑ 109									
P										↓ 85		
Mg										↑ 138		
T4							↑ 150					
α 1-GLOB			↑ 121									
雌												
ASAT										↓ 58		
CK											↑ 172	
CREA											↑ 123	
CL		↓ 95				↓ 96						
P								↓ 79				
Mg			↓ 88			↑ 113				↑ 126		

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。

↑ ↓ : p<0.05, ▲ ▼ : p<0.01 (Bartlett+Dunnette の多重比較 : 申請者により実施)

↑ : p<0.05 (Bartlett+ノンパラメトリック型 Dunnette の多重比較 : 申請者により実施)

9) 尿検査

試験開始前 (-1 週)、投与開始後第 3 週目、第 7 週目、第 13 週目に 6 時間の蓄尿を用いて検査した。

半定量検査 : 潜血, ビリルビン, グルコース, ケトン体, pH, 蛋白質, ウロビリノーゲン, 沈渣

定量検査 : 比重, 尿素

尿検査ではいずれの項目でも検体に起因する影響は認められなかった。

表 5. 尿検査（有意差の認められた項目）

投与量 検査週	200ppm				600ppm				1200/1800ppm			
	-1	3	7	13	-3	3	7	13	-1	3	7	13
雄												
尿量											↓ 56	
雌												
尿量										↓ 60		
比重											↑ 100	
pH*										↑ 7.0		↑ 7.4

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。pH については実測値を記載。

[↑ ↓ : p<0.05 (Bartlett+Dunnette の多重比較), ↑ : p<0.05 (Bartlett+ノンパラメトリック型 Dunnette の多重比較) 申請者により実施]

10) 剖検及び臓器重量

投与終了時に全動物について剖検を行い、脳、下垂体、心臓、肝臓、肺、脾臓、副腎、腎臓、膵臓、甲状腺、精巣、前立腺及び卵巣の重量を測定した。

剖検では、検体に起因する病的変化を認めなかった。

臓器重量では、統計学的に有意な差が散見されたが、各値共に背景対照データの 2S の範囲にあり、後述の病理組織学的検査でも全ての例で毒性学的に相関する病変は認められなかった。従って、臓器重量に検体に起因する変化は認められなかった。

表 6 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		200	600	1200/1800	200	600	1200/1800
膵臓	実重量			↓ 65			
	対体重比	↑ 109		↓ 71			
腎臓	対体重比			↑ 113			

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。

↑ ↓ : $p < 0.05$ (Bartlett+Dunnett の多重比較 : 申請者により実施)

11) 病理組織学的所見

投与終了時に各群の全動物について以下の臓器を組織学的に検査した。

副腎、大動脈、骨髄 (大腿骨)、骨 (大腿骨、胸骨)、精巣上体、食道、眼、胆嚢、心臓 (乳頭筋付き左心室)、腸 (十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、腎臓、肝臓、肺臓、乳房、腸間膜リンパ節、視神経、卵巣、膵臓、上皮小体、耳下腺、下垂体、前立腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脾臓、胃 (底、幽門部)、精巣、胸腺、甲状腺、舌、扁桃腺、気管、膀胱、子宮、脳 (大脳、小脳、脳幹)、脊髄 (頸部、胸部、腰部) 及び変性を認めた他の臓器。

検体に起因する変化は認められず、全ての変化が自然発生的なものであった。

*Cochran-Amitage の傾向検定及び Fisher 検定/片側で有意差なし; 申請者により実施)

以上の結果から、検体投与に起因した毒性所見は、1800/1200ppm まで認められなかった。従って無毒性量は雌雄ともに 1800/1200ppm (雄 ; 45.3mg/kg/日, 雌 ; 45.9mg/mg/日) と判断した。

申請者注 : 身震い、摂餌量の減少およびそれに伴う低体重は前述したように検体を含む餌に対する忌避作用と考えられた。しかし、申請者は 1800/1200ppm では低体重を伴う摂餌量の低下がみられ、身震いについては程度の強い身震いが認められたことから、この最高投与用量を毒性量と判断したほうがよいものと考えた。従って、無毒性量は雌雄ともに 600ppm (雄 ; 22.0mg/kg/日, 雌 ; 24.7mg/kg/日) と判断した。

(7)21 日間反復経皮投与毒性

イミダクロプリドの 21 日間反復経皮投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-16)

試験成績の提出除外

本薬についての 21 日間反復経皮投与毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) ⑩イの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体の急性経皮毒性試験の結果から、限界最高用量である 2000mg/kg で、何ら本原体の影響は認められなかった。このように経皮毒性が低く、したがって、他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い経皮毒性は認められていない。

このようなことから、21 日間反復経皮投与毒性試験の提出は不要であると判断した。

イミダクロプリドのウサギを用いた3週間(週5回投与)反復経皮投与毒性試験
(毒性資料No.原体-17)

試験機関:

報告書作成年月日: 1990年6月11日

検体の純度 :

試験動物 : ニュージーランド・ホワイト(HC: NZW)系ウサギ

雌雄各5匹

試験開始時; 雄約10~13週齢(平均体重3.00kg、2.93~3.09kg)

雌約10~13週齢(平均体重2.92kg、2.65~3.43kg)

投与期間 : 21日間(1988年6月29日~1988年7月22日); 但し週5回投与

投与方法:

検体を2%(v/v)クレモホアEL生理食塩水を用いてペースト状に調製し、体重あたり1.5mlの容量を0(溶媒対照)及び1000mg/kgの用量で21日間(1日6時間の曝露、週5日投与)、ウサギの背部から側腹部にかけての部分(11×12cm)に経皮投与した。

観察・検査項目及び結果:

1. 一般症状及び死亡率

臨床症状及び生死を少なくとも1日1回観察した。

その結果、用量群の雌雄ウサギに特記すべき所見は認められなかった。また、投与期間中に死亡例は認められなかった。

2. 体重

各動物の体重は、初回投与前(0日)に測定し、その後は7、14、22日に測定した。

その結果、いずれの投与群の体重にも対照群との差異は認められなかった。

3. 摂餌量

摂餌量を週1回(7、14、22または23日)に個体毎に測定した。

その結果、雌雄検体投与群における平均1日摂餌量に対照群との差は認められなかった。

4. 皮膚の観察

皮膚の観察は投与直前ならびに試験期間中毎日実施した。発赤の評価法はDraizeによった。また、腫脹に関しては皮下脂肪計測器を用いて測定した投与部位皮膚の厚さで評価した。

その結果、試験期間中発赤や皮膚反応は観察されなかった。また、皮膚の厚さにも有意な差は認められなかった。

5. 臨床検査

血液学的検査及び血液生化学検査は、投与開始前及び試験終了時に耳静脈より採取した血液を用いて実施した。

5-1. 血液学的検査

以下の項目について測定又は算定した。

赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(HCT)、血小板数、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)、白血球分画

その結果、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、赤血球恒数、血小板及び白血球分画に関して、統計学的に有意な変動は認められなかった(両側U検定)。

5-2. 血液生化学的検査

以下の項目について測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、
尿素窒素(UREA)、グルコース(GLUC)、クレアチニン(CREA)、ビリルビン(BIL)、
総蛋白(PROT)、コレステロール(CHOL)、
クロリド(Cl)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、カリウム(K)、ナトリウム(Na)

その結果、いずれの項目にも統計学的に有意な変動は認められなかった(両側U検定)。

5-3. 肝臓組織中の肝薬物代謝酵素及び中性脂肪

剖検時に肝組織の一部を採取し、薬物代謝酵素(N-ジメチラーゼ[基質/アミノピリン]、O-ジメチラーゼ[基質/4-ニトロアニソール]、チトクローム P-450)を測定した。また、肝臓組織中の中性脂肪量を測定した。

その結果、いずれの項目にも統計学的に有意な変動は認められなかった(両側U検定)。

6. 剖検

投与終了時にすべての動物をバルビツール系麻酔薬 (Evipan) の深麻酔下で放血致死させた。動物を解剖し、臓器・組織の詳細な病理解剖学的検査を実施した。変化が認められた場合には、その位置、大きさ、色及び硬さについて記録した。

その結果、いずれの臓器・組織にも特記すべき所見は認められなかった。

7. 臓器重量

下記の臓器重量を測定した。

脳、甲状腺、心臓、肺、肝臓、腎臓(両側)、副腎(両側)、脾臓、卵巣(両側)、精巣(両側)について臓器重量を測定し、それらの対体重比も算出した。

表 1 に統計学的に有意差の認められた項目を示した。表 1 に示すように、臓器重量に検体投与の影響は認められなかった。

表 1 臓器重量

臓器/容量・性	臓器実重量		対体重比重量	
	1000mg/kg		1000mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
脳	↑ 107		▲ 110	
卵巣		↓ 65		

↑ ↓ : p<0.05, ▲ : p<0.01 (両側 U 検定),

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、/: 群設定なし

8. 病理組織学的検査

以下の臓器についてブアン溶液で固定した。(肝臓及び腎臓は 10%ホルマリン)。副腎、精巣上体、心臓、肝臓、腎臓、肺、卵巣、脾臓、胸骨、精巣、甲状腺、子宮及び皮膚(投与部位及び非投与部位)

上記組織から約 5µm の厚さの切片を作製し、ヘマトキシリン及びエオジン(H&E)で染色した。また腎については PAS 染色を、さらに肝臓・腎臓の凍結切片はオイルレッド O (ORO) で染色した。

主要な病理組織学的所見は表 2 に示した。表 2 に示すように、検体投与に起因すると考えられる病変は何ら認められなかった。

表 2 病理組織学的検査

組織・所見/性	雄		雌	
	0	1000	0	1000
用量 (mg/kg)	0	1000	0	1000
腎臓 検査動物数	5	5	5	5
上皮脂肪滴	1	2	1	5
慢性炎症	2	2	2	5
尿細管拡張	1	0	0	4
肝臓 検査動物数	5	5	5	5
肝細胞壊死	0	1	0	0
慢性炎症	2	2	2	4
肺 検査動物数	5	5	5	5
気管支周囲リンパ過形成	4	1	3	1
血管周囲リンパ球浸潤	3	0	2	1
精巣 検査動物数	5	5	-	-
低形成	1	0	-	-
甲状腺 検査動物数	5	5	5	5
甲状舌管遺残	0	1	0	1
精巣上体 検査動物数	5	5	-	-
無精子	1	0	-	-
皮膚/投与部位 検査動物数	5	5	5	5
慢性炎症	0	1	0	0
痂皮形成	1	0	0	0
子宮 検査動物数	-	-	5	5
内空拡張	-	-	0	1

以上、本検体の雌雄ウサギを用いた 21 日間経皮投与(週 5 回投与)試験の結果、雌雄 1000mg/kg 投与群に検体投与の影響と考えられる異常は何ら認められなかった。従って、本試験の無毒性量は雌雄とも 1000mg/kg であると考えられた。

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

(8)90日間反復吸入毒性

イミダクロプリドの90日間反復吸入毒性試験

(毒性資料 No. 原体-18)

試験成績の提出除外

本薬についての90日間反復吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第4 試験成績の提出の除外について」(2)⑪イの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体の急性吸入毒性試験の結果から、他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い吸入毒性は認められていない。

このようなことから、90日間反復吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

イミダクロプリドのラットを用いた反復吸入毒性試験

(毒性資料 No. 原体-19)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1989年7月18日

検体の純度：

供試動物：ウイスター(Bor:WISW)系 SPF ラット、1群雌雄各10匹
試験開始時；雌雄2～3ヵ月齢(雄；182～188g, 雌；164～168g)

観察期間：4週間(1988年2月1日～1988年3月4日)

暴露方法：

検体をダスト化し、流動式吸入装置によりラットの鼻部に1日6時間、1週間に5日間で4週間暴露した。暴露濃度は検体の急性吸入毒性試験及び本試験の一部として実施した5日間の吸入予備試験の結果に基づいた。即ち、急性吸入毒性試験ではLC₅₀は5323mg/m³以上、無毒性量は1220mg/m³であった。また予備試験ではLC₅₀は505mg/m³以上、109mg/m³以上で増体重のわずかな抑制がみられたが、その他の異常は認められなかった。無毒性量は20mg/m³であった。これらの結果に基づき本試験の用量を0-5-30-180mg/m³とした。試験の暴露空気をガラスファイバーフィルターを用いて捕集し、重量測定法により実測濃度を求めた。

暴露条件；

	1群	2群	3群	4群
動物数(雌雄各)	10			
目標濃度(mg/m ³)	0	5	30	180
実際濃度(重量分析値)(mg/m ³)	空気対照	5.5	30.5	191.2
発生装置*	-	WDF	WDF	RBG/Exact
通気流量(L/分)	10			25
空気力学的質量中位径(μm)	-	2.37	4.77	5.70
呼吸可能な粒子の割合(<5μm)%	-	95	53	43
チャンバー容積(L)	20			
暴露条件	ダスト1日6時間鼻部暴露			

WDF; Wright-Dust-Feeder

RBG/Exact; RBG solid-type generator+ brush-type device又はExactomat 4200

毎日の暴露時間終了後動物は各性毎に5匹ずつケージに収容し、飼料と水を任意に摂取させた。

結果：

1. 一般症状及び死亡率

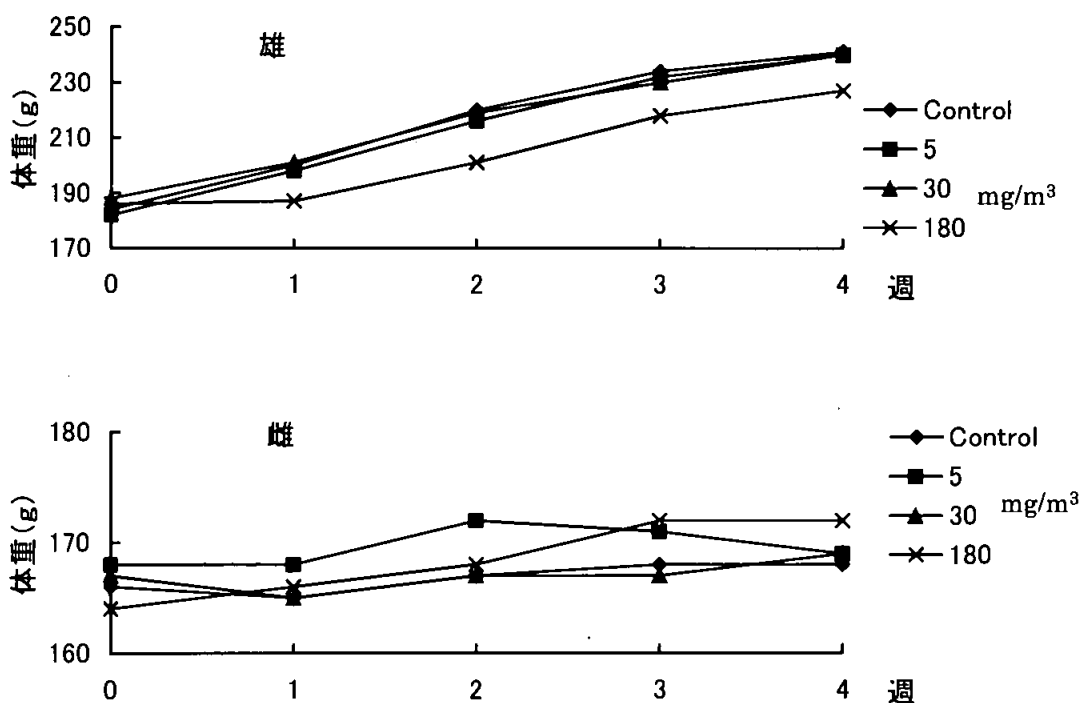
曝露前及び曝露後に動物の外観と行動を観察した。特に曝露後には以下の項目について注意深く観察を行った。

眼球及び気道粘膜の症状、鼻口部や耳介の皮膚及び被毛と毛繕行動、呼吸、血行（可能であれば）、自律及び中枢神経系、体性運動性並びに行動パターンの変化（振戦、痙攣、流涎、下痢、嗜眠、傾眠及び衰弱等）及び反射

その結果、いずれの用量群にも一般症状の変化は認められなかった。また、反射試験の結果に神経系への作用の無いことが示された。雌雄ラットに死亡例は認められなかった。

2. 体重

体重測定は、曝露開始前及びその後毎週1回測定した。



このように、雄 180mg/m³群の増体重は試験期間中統計学的 (Mann & Whitney) 有意に減少した。

3. 臨床検査

剖検時に動物をジエチルエーテルで麻酔し、心穿刺によって血液を採取した。また、血糖測定用には試験の最終週に絶食下・無麻酔の動物の尾静脈より血液サンプルを採取した。また、同時に尿検査用のサンプルも採取した。

3-1. 血液学的検査

以下の項目を測定した。

ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、白血球数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球血色素量 (MCH)、血小板数、白血球分画、網状赤血球数、ハインツ小体、メトヘモグロビン、血液凝固時間

統計学的有意差のみられた検査結果を表 1 に示す。

表 1. 血液学的検査(有意差の認められた項目)

項目/性・用量 (mg/m ³)	雄			雌		
	5	30	180	5	30	180
赤血球数	▲105					
ヘモグロビン	▲104					
MCH			↑103			
MCHC			▲103			
血小板数			▼85			
血液凝固時間						▲110
白血球分画						
分葉核				▼54		

↑ : p<0.05 , ▲▼ : p<0.01 (U-test)

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

このように、雌 180mg/m³において血液凝固時間の延長がみられ、後述のように同群でみられた肝機能への影響に関連した可能性があるものと考えられた。その他にみられた統計学的変動には曝露の影響は考えられなかった。

3-2. 血液生化学的検査

以下の項目を測定した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT), グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (GLDH), 乳酸脱水素酵素 (LDH), アルカリホスファターゼ (ALP), ChE (血漿), ソルビタールデヒドロゲナーゼ (IDH), アルブミン, 血糖, 尿素窒素 (UREA), ビリルビン (BIL), クレアチニン (CREA), 総蛋白 (PROT), トリグリセリド (TRIG), コレステロール (CHOL), T3, T4, TBC, Na, K, Ca, Mg, P, Cl

統計学的有意差のみられた検査結果を表2に示す。

表2. 血液生化学的検査(有意差の認められた項目)

項目/性 用量(mg/m ³)	雄			雌		
	5	30	180	5	30	180
ALAT					▲125	▲170
ALP					↑120	▲146
GLDH			↑333			▲732
TRIG			↓51			▼27
CREA	▼82	▼77				
BIL						▲133
PROT		↓97	▼96			
Ca						↓98
Mg		▼84				
P	↓90	▼88		↑117	▲142	▲137
UREA		▼86		↓87	↓89	
T3				▲133		
T4					↑128	

↑ ↓ : p<0.05 , ▲ ▼ : p<0.01 (U-test)

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

このように、雄 180 mg/m³ 群の GLDH、さらには雌 180mg/m³ の ALAT、ALP、GLDH、ビリルビン値に統計学的有意な増加が認められ、肝機能への影響が明らかであった。雌 30mg/m³ の ALAT 及び ALP の増加は毒性学的に意味のない変動と考えられた^(註)。

その他に見られた統計学的有意差は偶発的な変化と考えられた。

申請者註) : 雌 30mg/m³ で変動のみられた ALAT と ALP 値は背景データ範囲(ALAT; 34.6~73.8 U/L, ALP; 109~265 U/L) にあり、検体による毒性作用ではないものと考えた。

3-3. 肝臓組織中の肝薬物代謝酵素活性およびトリグリセリド

屠殺時に肝臓組織の一部を採取し、肝薬物代謝酵素 (O-ジメチラーゼ、N-ジメチラーゼ、チトクローム P-450) と肝臓組織中のトリグリセリドの量を測定した。

統計学的有意差のみられた検査結果を表3に示す。

表3 肝臓組織中の肝薬物代謝酵素(有意差の認められた項目)

項目/性・用量 (mg/m ³)	雄			雌		
	5	30	180	5	30	180
O-DEM [※]			▲183			↑121
N-DEM ^{※※}			▲151		↑127	▲177
P-450			▲134			▲732

↑ : p<0.05 , ▲ : p<0.01 (U-test) ※ : 基質/4-ニトロアニソール ※※ : 基質/アミノピリン
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

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

このように、雌 30 mg/m³ 群及び雌雄 180 mg/m³ 群において肝薬物代謝酵素の誘導が認められた。

申請者注)：雌 30mg/m³ でみられた N-DEM は背景データ範囲にあり、さらに臓重量や肝臓の形態にも変化の無いことから、この群での誘導は適応反応と考えた。

3-4. 血清蛋白電気泳動

血清を用い、電気泳動法で蛋白の分布を検査した。

統計学的有意差のみられた検査結果を表 4 に示す。

表 4 血清蛋白電気泳動(有意差の認められた項目)

項目/性 用量 (mg/m ³)	雄			雌		
	5	30	180	5	30	180
アルブミン				↓95		
α1-グロブリン		↓93	↓88		↓93	↓92
β-グロブリン					↑123	

↑ ↓ : p<0.05, ↓ : p<0.01 (U-test)

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

その結果、雌雄 30 及び 180mg/m³ 群で α1-グロブリンが統計学的有意に減少したが、その変動はわずかであり、また血液中の総蛋白量やアルブミン量に著変が見られていないことから、この減少は曝露には起因したものではないと考えられた。

3-5. 尿検査

試験の最終週に採取した尿を用い、蛋白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン、ケトン体について半定量的に測定した。また、pH 及び尿沈渣も判定した。

その結果、雌 180mg/m³ 群で pH に上昇 (>0.01) が見られたが、血液生化学検査や腎の病理組織学的検査の結果に腎障害の兆候はみられていないことから、この変動は偶発性のものと考えられた。

4. 眼科学的検査

1 群 5 例の動物について、曝露開始前及び曝露終了前日に眼科学的検査を実施した。

その結果、検体曝露に起因した変化は認められなかった。

5. 剖検

曝露期間終了後、エーテル麻酔条件下で全動物を心穿刺により放血致死させ、剖検した。

その結果、いずれの臓器・組織にも検体曝露に起因した病変は認められなかった。

6. 臓器重量

以下の臓器の重量を測定し、さらにその対体重比を算出した。

脳、心臓、精巣、肝臓、肺、脾臓、副腎、腎臓、卵巣、膵臓、甲状腺、胸腺

その結果、雌 180mg/m³ 群で肝臓の対体重比が増加し、胸腺の対体重が減少した。その他に見られた変動は曝露に関連しないものと考えられた。

表5 臓器重量(有意差の認められた項目)

項目/性 用量(mg/m ³)	雄			雌		
	5	30	180	5	30	180
実重量						
脳			↓93			
対体重比						
肝臓						↑112
胸腺						↓76
心臓	↓93	↓93				↓95

↑ ↓ : p<0.05 , ↓ : p<0.01 (ANOVA)

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

7. 病理組織学的検査

剖検時に下記の臓器・組織を 10%ホルマリン液に固定し、病理組織学的に検索した。

大動脈、眼球、精巣上体、脳、皮膚、ハーダー氏腺、膀胱、心臓、精巣、下垂体、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、大腿骨、骨髄(大腿骨、胸骨)、凝固腺、頭部(鼻咽頭、中咽頭、鼻腔及び副鼻腔)、喉頭、肝臓、肺、リンパ節(縦隔、顎下、腸間膜)、乳腺、脾臓、骨格筋(大腿)、上皮小体、副腎、坐骨神経、腎臓、食道、卵巣、膵臓、前立腺、脊髄(頸髄、胸髄、腰髄)、精囊、唾液腺、胸骨、気管、外涙腺、甲状腺、胸腺、子宮、膣、舌

雄 180mg/m³ 群の肝臓に周辺性円形細胞浸潤を示す例が統計学的有意にみとめられたが、この病変は本系統のラットに通常見られる変化であり、統計学的有意差は偶発性のものと考えられた。結果として、検体曝露に起因したと考えられる病変は認められなかった。

表6 病理組織学的検査結果

組織・所見/性	雄				雌				
	用量(mg/m ³)	0	5	30	180	0	5	30	180
肝臓		10	10	10	10	10	10	10	10
充血		4	4	4	3	4	4	6	1
周辺性円形細胞浸潤		0	2	0	5*	1	3	0	4
脂肪(陽性)		0	0	0	1	3	4	0	0
グリコーゲン(陽性)		10	10	10	10	10	10	10	10

* : p<0.05 , ** : p<0.01 (Fisher 検定)

8. 骨髄塗抹標本検査

骨髄の塗抹標本を作製し、細胞群の分布を検査した。

表7に示す様に、いくつかの項目に変動が認められたが、いずれも用量相関性はなく、従って骨髄細胞の分布に検体曝露の影響は認められなかった。

表7 骨髄塗抹標本検査結果(統計学的に有意差の認められた項目)

組織・所見/性	雄			雌			
	用量(mg/m ³)	5	30	180	5	30	180
骨髄芽球					↑155	▲169	
前骨髄球			▲165	↑152			
幼若好中球					▼73		
杆状核好中球		↓85			↓84		
分葉核好中球		▼35	▼41	▼37	↓51	▼38	▼53
好塩基球					↑260		
前赤芽球		▲184	▲264	▲226			
大赤芽球			↓71				
細網細胞						▲215	
リンパ球							↓74
形質細胞					▼52	▼51	▼46

↑ ↓ : p<0.05 , ▲ ▼ : p<0.01 (U-test)

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

以上のように、検体を4週間(週5日暴露)雌雄ラットに0、5、30及び180mg/m³の濃度で吸入曝露した結果、雄180mg/m³では増体重の抑制、GLDHの増加と肝薬物代謝酵素の誘導が認められ、さらに雌180mg/m³では血液凝固時間の延長、ASAT、ALP、GLDH及びビリルビンの増加、肝薬物代謝酵素の誘導、肝臓対体重比の増加が認められ、検体の肝臓に対する作用が窺われた。

この結果、本試験の無毒性量は雌雄共に30mg/m³* (13.2mg/kg/日)であると判断した。

*申請者註: 試験責任者は雌で認められた30mg/m³でのN-DEMの誘導を毒性影響としてとらえ、無毒性量を5mg/m³としているが、雌30mg/m³でみられたN-DEMは背景データ範囲にあり、さらに肝臓重量や肝臓の形態にも変化の無いことから、申請者はこの群での誘導は適応反応と考え、有害作用とはみなさなかった。

(9) 反復経口投与神経毒性

イミダクロプリドのラットにおける反復経口投与神経毒性試験(13週間混餌投与)

(毒性資料 No. 原体-20)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年月日: 1994年 6月 13日

検体の純度 :

試験動物 : Fisher 344(CDF(F-344)/BR系ラット、1群雌雄各18匹[6匹(衛星群)は臨床検査に使用]

試験開始時; 雌雄8週齢(平均体重 雄 155g, 雌 117g)

投与期間 : 13週間(1993年1月~4月)

投与方法:

検体を0(対照群)、150、1000及び3000ppmの濃度[分析値(昇順); 0, 140, 963及び3027ppm]で飼料に混入し、13週間にわたって投与した。

試験項目及び結果:

1) 臨床観察及び死亡

ケージサイド観察は少なくとも1日2回(休日及び週末は1日1回)行い、死亡又は瀕死の臨床症状について観察を行った。詳細な身体的観察は1週間に1回行った。

試験期間を通じて死亡例は認められなかった。

雌雄共に全用量群で検体に関連した臨床症状は認められなかった。

2) 体重

毎週、個体毎に体重の測定を行った。屠殺日にも体重を測定した。

体重は雌雄共に1000ppmあるいは3000ppm群では有意に減少した。投与期間中のほとんどを通じて、1000ppm群では、雄で平均8%、雌で平均4%、3000ppm群では、雄で平均15%、雌で平均7%とそれぞれ減少した。150ppm群では雌雄ともに体重に差は認められなかった。

3) 摂餌量及び検体摂取量

個体毎の摂餌量の測定を週1回行った。

摂餌量への影響として、1000ppmあるいは3000ppm群雌雄でほとんどの暴露期間に減少が認められ、体重への影響と一致していた。摂餌量は対照群に比べ、雄では1000ppm群で平均8%、3000ppm群では平均16%の減少が、雌では1000ppm群で平均6%、3000ppm群では平均11%の減少が認められた。試験期間を通しての体重1kgあたりの毎日の摂餌量は、1000ppmあるいは3000ppm群であまり減少しなかった。これは、摂餌量の減少に伴って体重増加も抑制されたことに基づいていると考えられた。150ppm群では、雌雄ともに摂餌量に影響はみられなかった。

雌雄における検体の平均1日摂取量は、それぞれ、飼料を分析して得た実測濃度0、140、963、3027ppmから計算すると、表1の通りであった。

表1. 検体摂取量(mg/kg/日)

用量	150ppm	1000ppm	3000ppm
雄	9.3	63.3	196
雌	10.5	69.3	213

4) 機能観察試験 (FOB)

投与前1週、投与4、8及び13週の4回、主群の全動物についてFOBを行った。

このFOBは、Moser¹⁾により記述された一連の試験に準拠した。なお、着地開脚幅及び握力の測定には、確立されている方法²⁾を用いた。

雄では最高用量の3000ppm群のみで投与に関連した影響がみられた。その影響のひとつは8週での前肢の握力の有意な低下であった。一方後肢の握力には影響は認められなかった。この3000ppm群雄でみられた前肢の握力の低下は、体重の減少を伴っており、関連性があるものと考えられた(表2)。この関連性は、同群雄の8週時の体重(217g)とほぼ同程度の体重を示した対照群雄の第4週時の体重(214g)の前肢の握力の値が同値(0.72kg)であったということからも支持されるものと考えられる。これらの比較から、前肢の握力の低下は、検体に起因した体重減少に伴った二次的作用であることが示唆された。いずれにしても、握力のこのわずかな差は一過性で、投与終了時には有意な差は認められないことから、神経毒性を示すものではないと考えられた。

またもうひとつの影響としては、13週の正向反射にわずかな乱れを示した動物数に統計学的に有意な増加であった(表3)。しかしながらこの所見は、その程度がかりうじて認識できる程度のわずかなもので、正常として容認できる程度であり、検体の作用によるというよりはむしろ、偶発的なものと考えられた。これは、病理組織学的検査結果においても、神経系に影響が認められていないことから支持されるものとする。なお、雌においては、13週において全検体投与群でこの所見の有意な増加が認められているが、用量相関性もなく、また程度がきわめて弱いことから検体の投与とはみなさなかつた。以上のように、雌ではいずれの投与用量においても投与の影響は否定できるものと考えられた。

表2. 3000ppm群雄における体重と前肢握力(対照群からの変動率)¹

	投与前	第4週	第8週	第13週
体重	+1	-12*	-17*	-15*
握力	+10	-13	-23*	-9

¹対照群より大きい%(+), 対照群より小さい%(-)

* p<0.05 (ANOVA)

表3. 正向反射のわずかな乱れを示した動物数(各群12例中)

用量 (ppm)	雄				雌			
	投与前	第4週	第8週	第13週	投与前	第4週	第8週	第13週
0	0	0	4	1	0	1	3	0
150	0	0	4	2	0	0	2	4*
1000	0	0	2	3	0	0	2	6*
3000	0	0	4	7*	0	0	4	5*

* p<0.05 (ANOVA)

他に検体投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

5) 運動能及び移動運動能試験

投与前1週、投与4、8及び13週の4回、全動物について行った。

運動能及び移動運動能は、8の字型迷路を用い、90分間のセッション及び各々10分間のインターバルで自動化運動能測定装置によって測定して評価した。90分間のセッション間の経時的な活動性の減少を順応性として評価した。

全セッション間において、運動能(17-26%)及び移動運動能(23-33%)に軽度な上昇が3000ppm雄群で見られ、同群雌では運動能(1-11%)及び移動運動能(9-21%)でわずかな低下が見られた。これらの差は本試験の対照群の値の平均幅を20%(正常変動範囲内の尺度及び生物学的有意性の基準)以上越えているが、統計学的な有意差がなく、また雄では対照群より高値、雌では対照群より低値という様に、相反する性質のものであった。従って、全セッション間における運動能及び移動運動能は雌雄共、全用量群で投与の影響を受けているものではなく、いずれも偶発的なものと考えられた。150ppm群では、投与に関連した影響は全く認められなかった。

インターバルの運動能、移動運動能において投与群及び対照群の間の最も大きな差は、第4週のみにおける雄の3000ppm群のわずかな測定値の増加及び第8週のみにおける雌の3000ppm群におけるわずかな測定値の低下であった。このようにパターンに一貫性のないこと、統計学的有意差がないこと及び雌雄でまったく反対の影響が見られたことから、これらの所見は偶発的で検体投与に関連していないと考えられた。従って、雌雄共にいずれの用量でも投与に関連した影響は認められないと判断した。また順応性についてはいずれの用量においても検体投与による影響は認められなかった。

表 3. 運動能(MA)及び移動運動能(LA) (対照群からの差異%)¹

		雄							
用量 (ppm)	投与前		第4週		第8週		第13週		
	MA	LA	MA	LA	MA	LA	MA	LA	
140	-11	0	-15	-5	+1	+1	-7	+1	
963	-2	+12	+3	+12	+2	+12	+10	+17	
3027	-15	-9	+26	+33	+17	+33	+19	+23	
		雌							
用量 (ppm)	投与前		第4週		第8週		第13週		
	MA	LA	MA	LA	MA	LA	MA	LA	
140	+24	+11	-2	-5	0	-9	+10	+2	
963	+18	+11	-3	-1	-2	-9	+5	+3	
3027	+10	0	-1	-9	-11	-21	-7	-18	

¹対照群より大きい%(+), 対照群より小さい%(-)

6) 眼科学的検査

投与前及び投与終了前（第 12 週）に供試動物の眼科学的検査を半暗室内で行った。ペンライトあるいは透光計を用いて瞳孔反射を検査し、ついで散瞳剤を各々の眼に点眼し瞳孔を散大させた。散瞳後、結膜、角膜及びレンズをスリットランプ顕微鏡を用いて検査し、眼房水、ガラス体液、網膜、脈絡膜及び視神経円板については間接検眼鏡及び集光レンズを用い検査した。試験結果の解釈に支障をもたらす可能性のあるような眼科的に欠陥の動物は本検査に割り当てなかった。

観察された眼科学的所見は、全て偶発的なものと考えられ、検体の投与に関連するものではなかった。

7) 臨床検査

投与 4 週及び 13 週に衛星群の 6 匹の動物について、非絶食下で眼窩静脈叢から血液サンプルを採取した。以下の項目について検査した。

7-1) 血液学的検査・血液スメア

血液学的検査

血小板、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、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

血液スメア

白血球百分率、赤血球形態

血液一般検査において、投与に関連した影響はいずれの項目にも認められなかった。いくつか認められた統計学的な有意差は検体投与に関連するものとは考えられなかった。これらの変化には、1000ppm の雄群で認められたヘモグロビンの増加(4 週)、1000ppm の雄群で認められた平均赤血球容積(MCV)の低下(13 週)、3000ppm 群の雄で認められた平均赤血球血色素量(MCH)の増加(13 週)、1000ppm 及び 3000ppm 雄群で認められた平均赤血球血色素濃度(MCHC)の増加(13 週)、150ppm 雌群で認められた赤血球数の増加(13 週)、雌全用量群で認められた MCH の低下(13 週)が含まれる。これらの変化は何れも投与に関連しているものとはみなされなかった。投与群の値は当該対照群の値と比べわずかな差が見られたのみで、そのいくつかは用量関連性がなく、その大部分は背景データ範囲内にあった。更に、算出項目(MCV, MCH, MCHC)の変動は、いずれも根本をなす赤血球数、ヘモグロビン量あるいはヘマトクリット値に毒性学的に意味のある変化を伴っていなかった。

検体を暴露した結果、白血球百分率及び赤血球形態に投与に関連した影響は認められなかった。

7-2) 臨床生化学的検査

ナトリウム、カリウム、塩素、尿素窒素、グルコース、クレアチニン、尿酸、トリグリセリド、コレステロール、クレアチンキナーゼ、乳酸脱水素酵素、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、リン、カルシウム、グロブリン

表4に示すように、いくつかの項目で対照群に比べ投与群で有意な変化がみられた。

これらで認められた全ての変化は、測定時期、用量関連性、変化の増減の表現型を考えた時、毒性学的に意義のある項目は認められなかった。

表4. 有意差のみられた項目

性別	雄						雌					
	150		1000		3000		150		1000		3000	
用量 (ppm)	4週	13週	4週	13週	4週	13週	4週	13週	4週	13週	4週	13週
LDH						↓49				↓42		↓33
TRIG					↓64	↓74					↓59	↓65
CK	↑255		↑245	↓49	↑309	↓18				↓53		↓57
TP											↓95	↓97
ALB											↓94	↓92
CL				↑102								↑102
Glu								↑110		↑115		↑112
P					↓92	↓91						↓91
K		↑110										
Crea		↑133										
Na					↑101							
CHOL					↑123							
ALP	↑127											
ALT									↑138		↑153	
Ca	↑103				↓98					↑103		

↑ ↓ : $p < 0.05$ [CK: Kruskal-Wallis+Mann Whitney U-test, その他: ANOVA+Dunnetts]

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

8) 剖検

主群の各性各群から最初の6匹を剖検に供し、全臓器、体腔、剖面、外部開口部及び体表を検査し組織を採取した。まず、これらの動物を、ペントバルビターナトリウム (約50mg/kg) の腹腔内注射で深部麻酔を行い左心室を通して亜硝酸ソーダ (リン酸緩衝液) で短時間灌流を行い、安楽死させた。ついでリン酸緩衝 Universal 固定液 (4% (w/v) グルタルアルデヒド及び4% (w/v) のEMグレードのホルムアルデヒド) により *in situ* で固定した。

全脳及び脊髄、両眼(視神経共)、選択した(左右)末梢神経(坐骨、脛骨、腓腹神経)、ガッセル神経節、腓腹筋及び身体識別部(尾)を各動物から摘出し、10%緩衝ホルマリン溶液で再度固定した。動物を全ての肉眼的異常所見を記録した。

他の生存例については、灌流固定、剖検あるいは組織を取り出すことなく、CO₂により窒息死させた。

雌雄共、最終屠殺において観察された肉眼病変には検体関連のものはなかった。

9) 最終体重及び脳重量の測定

脳は前項に示した様に、6例の動物についてホルマリンによる後固定前の頭蓋骨から切り離れた後に重量を測定し、対体重比を求めた。尚、屠殺前に動物の最終体重を測定した。

最終体重は、灌流した雄の1000ppm及び3000ppmでそれぞれ対照群に比べ8%及び14%まで有意な低値を示した。灌流した雌では最終時に3000ppmで9%まで有意な低下を示した。

試験終了時において、脳実重量では、対照群と投与ラットとの間に雌雄共に有意差は認められなかった。一方、脳対体重比は1000ppmと3000ppm群の灌流した雄で、それぞれ10%及び15%まで有意に増加した。脳対体重比の増加は最終体重の減少に起因しており、検体の投与の影響とは考えられなかった。

表4. 最終体重及び脳の重量(有意差に認められた項目)

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		150	1000	3000	150	1000	3000
体重			↓92	↓86			↓91
脳	実重量						
	対体重比		↑110	↑115			

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Dunnett の検定), 表中の数値は、対照群に対する変動率(%)

10) 病理組織学的検査

灌流固定した対照群と最高投与群の雌雄より採取した組織を、以下のように病理組織検査をするため更に処理を行った。

脳の6段階の冠状切片(嗅球部、前脳、中脳、橋、延髄、小脳)及び脊髄の3部位(頸部、胸部及び腰部)の横断面及び縦断面切片)をパラフィン中に包埋し、ヘマトキシリン及びエオジン(H&E)で染色後、検査を行った。後根神経節(背部及び腹部線維を含む)、馬尾、ガッセル神経節、眼、視神経、腓腹筋、海馬、小脳皮質をグリコールメタアクリレート(GMA)中に包埋した。GMA中に包埋した組織

は、2-3 μ m厚に薄切し、改良Lee染色液で染色した。末梢神経組織は、エポキシ樹脂中に包埋し、1 μ m厚に薄切し、トルイジンブルーで染色した。脳及び脊髄の各部位から別に切片を作製し、ルクソールファーストブルー/クレジルバイオレット及びセビアームンガー (Sevier-Munger) 染色液で染色した。

3000ppmの動物では、検体投与に関連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。なお、1000ppm群については、3000ppm群に検体投与に起因した病変が見られなかったことから評価しなかった。

以上、1000及び3000ppmの用量では雌雄共に、体重及び摂餌量の増加抑制など、明らかな毒性作用を示した。FOBにおいて雄の3000ppmで前肢握力の低下がみられたが、これは体重低下に関連しており、神経毒性作用とはみなさなかった。神経組織及び骨格筋の組織においては、病理組織学的所見は認められなかった。

以上のことから、150ppm(雄：9.3mg/kg, 雌：10.5mg/kg)が雌雄共に総体的な無毒性量であった。

(10) 28 日間反復投与遅発性神経毒性

イミダクロプリドの 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-21)

試験成績の提出除外

本薬についての 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) ⑬の規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、リン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。したがって、本農薬原体は遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため、28 日間反復投与遅発性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。