

3. 製剤

2%粒剤

(1)急性毒性

2%粒剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1989年12月4日

検体：イミダクロプリド 2%粒剤
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各10匹
試験開始時；雄 7週齢 (200~213g)
雌 7週齢 (145~157g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、乳鉢中で磨砕後、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。
投与前日の夕方より絶食させたラットに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重100g当たり1mLとした。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 5000
LD ₅₀ 値 (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： -
最大無作用量 (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

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。
平均体重の推移において、雌雄共に順調な体重増加を示していた。
観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

2%粒剤のマウスを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1989年12月4日

検体 : イミダクロプリド 2%粒剤
供試動物 : ICR(Crj:CD-1)系マウス、1群雌雄各10匹
試験開始時； 雄 5週齢 (19.5~23.8g)
雌 5週齢 (18.2~21.9g)
観察期間 : 14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、乳鉢中で磨砕後、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。
投与前日の夕方より絶食させたマウスに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重10g当たり0.1mLとした。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄： 2780, 3330, 4000, 4800, 5760 雌： 2780, 3330, 4000, 4800, 5760
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (90%信頼限界)	雄： 4500 (3900~5600) 雌： 4700 (4000~7000)
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 15分~1時間 雌： 6分~50分
症状発現時間及び 消失時間	雄： 2分~4時間 雌： 2分~5時間
最大無作用量 (mg/kg)	雄： <2780 雌： <2780
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 2780 雌： 2780

中毒症状として、呼吸異常、鎮静、振せん、眼球突出が観察された。更に重篤になった例では、痙攣が認められた。また、初期にヒヨコ様鳴声が散発的に聞かれた。体重測定では、雌雄共にその推移に著変はみられなかった。

生存例の剖検では、雌雄共に何ら著変は認められなかった。死亡例の剖検では、胚に赤色斑等が雌雄共に認められた。これら肺の所見は、本検体による急性的な炎症によるものと考えられた。

2%粒剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1989年11月27日

有効成分の含有量：イミダクロプリド 2%粒剤
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各10匹
試験開始時；雄 7週齢 (218~243g)
雌 7週齢 (159~170g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、乳鉢中で磨砕しつつ蒸留水を加えて懸濁液を調製した。投与前日に塗布部位の背中中央を約4×5cmの広さで剪毛したラットに経皮投与を実施した。その後は動物が検体を経口的に摂取することのないように、適用部位をガーゼとスポンジで覆い、外科用絆創膏で固定した。投与容量は、体重100g当たり0.5mLとした。

適用時間は24時間とし、その間動物を個別に収容した。適用時間終了後、検体を微温湯で洗浄して取り除いた。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (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： -
最大無作用量 (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

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。また、投与部位において刺激性を示唆する所見も認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

(2) 急性吸入毒性

2%粒剤のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-4)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(3) 皮膚及び眼に対する刺激性

2%粒剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1990年9月25日

検体 : イミダクロプリド 2%粒剤
供試動物 : ニューゼーランド白色種 (Kb1:NZW) 雌ウサギ,
1群6匹, 試験開始時 ; 2.19~2.57kg
観察期間 : 3日間観察

投与方法：

投与前日に動物の背部から横腹部にかけて刈毛した。適用部位は右腹側部とし、検体、蒸留水及び無処理の3部位を設け、個体ごとにそれぞれの部位を変えた。検体は乳鉢中で磨砕後、0.5gを蒸留水で湿らせたガーゼパッチにのせて貼付した。蒸留水及び無処理部位には、それぞれ蒸留水で湿らせたガーゼパッチ及びガーゼパッチのみを貼付した。これらの被験部は、閉塞性包帯で固定し4時間暴露させた。暴露終了時に、残存した検体は蒸留水を用いて取り除いた。

観察項目：

皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑と浮腫について「毒性に関する試験成績を作成するにあたっての指針、59農産第4200号」の判定基準に従って採点し、その結果を各個体ごとに平均し、これを刺激性指数 (P. I. I.) として求めた。

また、一般症状の観察を1日1回、皮膚の観察時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

刺激性の評価は平均 P. I. I. [(紅斑の点数+浮腫の点数)/12]を用いて行った。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0~0.99	刺激性なし
1.0~1.99	軽度刺激性
2.0~2.99	中程度刺激性
3.0~4.0	重度刺激性

結果：

全例共に一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は見られなかった。

刺激性の結果を表に示す。

刺激性（6匹の平均）

項目	最高 評点	投与後時間				
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
検 体	紅斑／痂皮形成	4	0	0.17	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数 P. I. I.		0	0.08(1)	0	0
無 処 理	紅斑／痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数 P. I. I.		0	0	0	0

()内の値は当該群で最高用量群とを示した動物の評点

表にみられる様に、検体適用部位における1時間、48時間及び72時間判定時の平均P. I. I. は0であった。また、24時間判定時の平均P. I. I. は0.08であった。従って、検体はウサギの皮膚に対して『刺激性なし』と評価した。

2%粒剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-6)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1990年9月25日

検体 : イミダクロプリド 2%粒剤
供試動物 : ニュージーランド白色種 (Kb1 : NZW) 雌ウサギ
非洗眼群 6 匹, 洗眼群 3 匹
試験開始時 ; 11 週齢 2.12~2.52kg
観察期間 : 7 日間観察

投与方法：

9 匹の動物の一侧の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、微粉末に調整した検体 0.1 g をそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約 1 秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの 3 匹の動物を、検体投与 2~3 分後に生理食塩水 50mL で洗眼して洗眼群とし、残りの 6 匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。

いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。

観察項目：

検眼は、投与 1、24、48、72 時間及び 7 日後に角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、「毒性に関する試験成績を作成するにあたっての指針、59 農産第 4200 号」の判定基準に従って採点し、その平均を一次刺激性指数として求めた。

また、一般症状の観察を 1 日 1 回、検眼時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

結果：

全例で一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

検体適用後の眼の反応の結果を表に示した。

眼一次刺激性試験成績

項目		最高 評点	投 与 後 時 間					
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日後	
非洗眼群 (6 匹の 平均)	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
		面 積	4	0	0*	0	0	0
	虹 彩		2	1	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1.83	1.17	0.67	0.17	0
		浮 腫	4	2.17	0.33	0	0	0
		分泌物	3	2	0.67	0.17	0.17	0
洗眼群 (3 匹の 平均)	角膜混濁	程 度	4	0	0	0		
		面 積	4	0	0	0		
	虹 彩		2	0.67	0	0		
	結 膜	発 赤	3	1.67	0.33	0		
		浮 腫	4	0.67	0	0		
		分泌物	3	1	0	0		

個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

*:フルオレセイン染色斑なし

検体は角膜に何ら影響を及ぼさなかった。

非洗眼群では、適用後1時間の観察において、虹彩の充血、結膜の明らかな発赤と浮腫を認め、流涙などの分泌物により、眼瞼周囲は軽度に湿潤していた。

適用後24時間において虹彩の充血は全例消失した。結膜では1例を除き陽性効果を示さない軽度発赤、全例で陽性効果を示さないわずかな浮腫を示した。

適用後48時間には結膜発赤の陽性効果例もなくなった。

適用後7日目には全例対照眼と差が認められなくなった。

また、洗眼群の眼症状は、無洗眼群に比べ、明らかに軽く24時間後には陽性効果なしとなり、洗眼効果が認められた。

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

従って、眼の症状及び回復状況から判断し、本検体はウサギの眼に対して軽度*の一次刺激性を有した。

*軽度刺激性	刺激性指数
角膜混濁	1.00 - 1.99
虹彩の充血、光に対する反応	≥ 0.5
結膜の発赤	1.00 - 2.49
腫脹	1.00 - 1.99

症状は24時間異常に及ぶが、7日以内に回復する。

(4) 皮膚感作性

2%粒剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法)

(毒性資料 No. 製剤-7)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年月日 : 1989年12月19日

検体 : イミダクロプリド 2%粒剤
供試動物 : ハートレイ (Crj:Hartley) 系雌モルモット、1群 20匹
試験開始時 ; 5週齢 (300~350g)
観察期間 : 約3週間

試験方法 : Maximization 法

試験濃度設定の理由

予備試験において、皮内注射では 1.0% が一次刺激性起炎症濃度であり、閉塞貼付では本検体は非炎症物質であった。従って、皮内感作濃度は 1% とし、貼付感作濃度は製剤原末を設定した。惹起濃度は製剤原末から 12.5% までの 4 濃度の閉塞貼付を行った。

1. 皮内感作

投与前日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。注射部位あたりの投与容量は 0.05mL 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)

検体の所定濃度滅菌生理食塩水懸濁液 (W/V%)

第三注射部位 (尾方)

Freund の完全アジュバントと滅菌生理食塩水の 1 : 1 混液に検体を所定濃度に懸濁した混合液

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. 貼付感作 (皮内注射 1 週間後)

皮内注射感作 1 週間後に再び刈毛した皮膚部位に検体約 100mg を 48 時間閉塞貼付し、貼付感作を実施した。

3. 貼付惹起（皮内注射から3週間後）

全動物の腹側部に所定濃度の検体の約20mgまたは0.05mlをパッチ用フィンチャンバーに滴下し、24時間閉塞貼付を実施した。

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。

判定	点数
- = 変化なし	0 = 非炎症
± = うすい紅斑	1.0 = 刺激又はアレルギー反応
+1 = 明らかな紅斑	2.0 = 刺激又はアレルギー反応
+2 = 発赤+浮腫又は強い紅斑	3.0 = 刺激又はアレルギー反応

炎症の点数が1.0以上を炎症陽性として評価した。

感作率は試験例数における炎症例数を百分率で表し、感作群の百分率から無感作群の百分率を引いた値を感作率*とした。

また統計学的処理もおこなった。

5. 一般観察

感作及び惹起後に臨床観察を行った。

体重測定は、感作前日、惹起前日その他は週1回行った。

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		感作陽性率* (%)		
				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								48時間	72時間	48時間	72時間	48時間	72時間	
				0	1	2	3	0	1	2	3							
感作	皮内;1.0貼付;原末	12.5	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		25	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		50	20	19	1	0	0	0	20	0	0	0	0.1	0	1	0	5	0
		原末	20	18	2	0	0	0	20	0	0	0	0.1	0	2	0	5	0
無感作	皮内;1.0貼付;原末	12.5	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		25	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		50	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		原末	20	19	1	0	0	0	20	0	0	0	0.1	0	1	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。

皮膚反応は、感作群では 48、72 時間判定とも、Maximisation grading の評価において 0-5% で感作性を示したが、統計学的評価*では 48、72 時間判定とも、炎症例数及び炎症程度において無感作群と感作群の間に有意差は認められず、感作性なしと評価された。

*統計学的評価：炎症例数； χ^2 検定及び Fischer の直接確率検定、
炎症の程度；Wilcoxon の順位和検定

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB について、別に実施した Maximization 法による試験結果を次に示す。

皮膚反応を示した動物数(1989年8月22日～9月12日)

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		感作陽性率 (%)	
				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	4	5	0	1	2	3	4	5						
感作	皮内:0.01 貼付:0.1	0.01	10	0	0	0	3	5	2	0	0	0	2	6	2	3.9	4.0	10	10	100	100
		0.005	10	0	0	1	8	1	0	0	0	1	3	5	0	3.0	3.3	10	10	100	100
		0.001	10	0	1	8	1	0	0	0	2	3	4	1	0	2.0	2.4	10	10	100	100
無感作	皮内:0.01 貼付:0.1	0.01	10	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		0.005	10	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		0.001	10	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB 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。

1%粒剤

急性経口毒性

急性経皮毒性

皮膚一次刺激性

眼一次刺激性

皮膚感作性

1%粒剤のラットを用いた急性経口毒性試験

1%粒剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

1%粒剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

1%粒剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

1%粒剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 製剤-8)

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。

急性吸入毒性

1%粒剤のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-9)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

0.25%粉剤 DL のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-10)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1992年9月21日

検体度 : イミダクロプリド 0.25%粉剤
供試動物 : 日本白色種 (TAL:JW) 雄ウサギ
検体投与 非洗眼群 6 匹, 検体投与 洗眼群 3 匹,
試験開始時 ; 10 週齢 2.33~2.54kg
観察期間 : 3 日間観察

投与方法：

9 匹の動物の一侧の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体 0.1 g をそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約 1 秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの 3 匹の動物を、検体投与 3 分後に生理食塩水で 1 分間洗眼して洗眼群とし、残りの 6 匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。

いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。

観察項目：

検眼は、投与 1、24、48 及び 72 時間に角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、「毒性に関する試験成績を作成するにあたっての指針、59 農産第 4200 号」の判定基準に従って採点し、その平均を一次刺激性指数として求めた。

また一般症状の観察を 1 日 1 回行った。体重測定は、投与前日及び観察終了時に行った。

結果：

検体に起因する中毒症状は認められず、体重においても順調な増加傾向を示した。

検体適用後の眼の反応の結果を表に示した。

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

項目		最高 評点	投 与 後 時 間				
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非洗眼群	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
(6 匹の 平均)	虹 彩		2	0.17	0	0	0
	結 膜	発赤	3	1.0	0	0	0
		浮腫	4	0.67	0	0	0
		分泌物	3	1.17	0	0	0
非洗眼群	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
(6 匹の 平均)	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0.67	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0

個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

非洗眼群では観察期間を通じて角膜混濁は認められなかった。投与1時間の検査では、虹彩の軽い充血(1/6)、結膜発赤の多少の血管の明らかな充血(6/6)、結膜浮腫の僅かな腫脹(4/6)、軽度の分泌物(5/6)にみられたが、虹彩の所見のほかは軽度であり、陽性効果までには至らなかった。そして、虹彩と結膜の症状とも、24時間後には消失した。

洗眼群の投与1時間の検査では、角膜混濁、虹彩の、結膜浮腫、分泌物は観察されず、結膜発赤の多少の血管の明らかな充血(2/3)のみが認められたが24時間後には正常に回復した。

従って、軽度の眼症状が投与1時間後にしかみられなかったことから、本検体はウサギの眼に対して一次刺激性はないものと判断された。

*軽度刺激性	刺激性指数
角膜混濁	1.00 - 1.99
虹彩の充血、光に対する反応	≥ 0.5
結膜の発赤	1.00 - 2.49
腫脹	1.00 - 1.99

症状は24時間異常に及ぶが、7日以内に回復する。

0. 25%粉剤 DL

急性経口毒性

急性経皮毒性

皮膚一次刺激性

皮膚感作性

0. 25%粉剤 DL のラットを用いた急性経口毒性試験

0. 25%粉剤 DL のラットを用いた急性経皮毒性試験

0. 25%粉剤 DL のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

0. 25%粉剤 DL のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 製剤-11)

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。

急性吸入毒性

0.25%粉剤 DL のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-12)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

10%水和剤

(1)急性毒性

10%水和剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-13)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1990年7月18日

検体：イミダクロプリド 10%水和剤
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 7週齢 (209~225g)
雌 7週齢 (154~168g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日の夕方より絶食させたラットに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重100g当たり1mLとした。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄： >5000 雌： >5000
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 4 時間～ 1 日 雌： 5 時間
症状発現時間及び 消失時間	雄： 30 分～ 2 日 雌： 30 分～ 2 日
最大無作用量 (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： — 雌： —

中毒症状として、頭部のふるえ、呼吸異常、鎮静及び振せんが観察された。体重は生存例では順調な増加が認められたが、死亡例の体重は投与時にくらべて減少していた。

死亡例の雄 1 例の肺に赤色斑が認められたが、臨床観察で呼吸異常が認められたことと考えあわせ、検体に起因する変化であると推察された。

10%水和剤のマウスを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-14)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1990年8月14日

検体：イミダクロプリド10%水和剤
供試動物：ICR(Crj:CD-1)系マウス、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄5週齢(19.3～23.9g)
雌5週齢(16.9～21.8g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日の夕方より絶食させたマウスに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重10g当たり0.1mLとした。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄： 590, 770, 1000, 1300, 1690, 2200 雌： 590, 770, 1000, 1300, 1690, 2200
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (90%信頼限界)	雄： 870 (690~1100) 雌： 980 (830~1200)
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 9分~2時間 雌： 10分~3時間
症状発現時間及び 消失時間	雄： 2分~5時間 雌： 3分~1日
最大無作用量 (mg/kg)	雄： < 590 雌： < 590
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 590 雌： 590

中毒症状として、多数例で呼吸異常、鎮静、その後、振せん、眼球突出が観察された。また、この間にヒヨコ様鳴声が散発的に聞かれた。更に重篤な例では、瘻れん、チアノーゼ、流涙が観察された。体重測定では、雌雄共にその推移に著変はみられなかった。

生存例の剖検では雄の1例の腎にのう胞が認められたほかは、特記すべき所見はなかった。死亡例では、雌雄共に肺に赤色斑等の変化が認められたが、臨床観察において呼吸異常が認められたことと考えあわせ、検体に起因する炎症であると推察された。又、最高投与の雌1例の胃粘膜に暗赤褐色斑が認められた。これは水和剤の胃に対する刺激性であると考えられた。

10%水和剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-15)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1990年5月30日

検体：イミダクロプリド 10%水和剤
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 7週齢 (215~248g)
雌 7週齢 (166~183g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日に塗布部位の背中中央を約4×5cmの広さで剪毛したラットに経皮投与を実施した。その後は動物が検体を経口的に摂取することのないように、適用部位をガーゼとスポンジで覆い、外科用絆創膏で固定した。投与容量は、体重100g当たり0.5mLとした。

適用時間は24時間とし、その間動物を個別に収容した。適用時間終了後、検体を微温湯で洗浄して取り除いた。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (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： -
最大無作用量 (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

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。また、投与部位において刺激性を示唆する所見も認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。観察終了時の剖検において、雄3例の腎にのう胞が認められたが、これは通常、他の試験でも散見されることから検体の投与によるものとは考えなかった。

(2) 急性吸入毒性

10%水和剤のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-16)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(3) 皮膚及び眼に対する刺激性

10%水和剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-17)

試験機関： 日本特殊農薬製造株式会社

[GLP対応]

報告書作成年月日：1990年9月25日

検体： イミダクロプリド10%水和剤
供試動物： ニューゼaland白色種(Kbl: NZW)雌ウサギ, 1群6匹,
試験開始時; 2.12~2.54kg
観察期間： 3日間観察

投与方法：

投与前日に動物の背部から横腹部にかけて刈毛した。適用部位は右腹側部とし、検体、蒸留水及び無処理の3部位を設け、個体ごとにそれぞれの部位を変えた。検体0.5gを蒸留水で湿らせたガーゼパッチにのせて貼付した。蒸留水及び無処理部位には、それぞれ蒸留水で湿らせたガーゼパッチ及びガーゼパッチのみを貼付した。これらの被験部は、閉塞性包帯で固定し4時間暴露させた。暴露終了時に、残存した検体は蒸留水を用いて取り除いた。

観察項目：

皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑と浮腫について「毒性に関する試験成績を作成するにあたっての指針、59農産第4200号」の判定基準に従って採点し、その結果を各個体ごとに平均し、これを刺激性指数(P. I. I.)として求めた。

また、一般症状の観察を1日1回、4日間行った。体重測定は、投与前日及び観察終了日に行った。

刺激性の評価は平均P. I. I. [(紅斑の点数+浮腫の点数)/12]を用いて行った。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0~0.99	刺激性なし
1.0~1.99	軽度刺激性
2.0~2.99	中程度刺激性
3.0~4.0	重度刺激性

結果：

検体に起因する中毒症状は認められず、体重も順調な増加傾向を示した。

刺激性の結果を表に示す。

刺激性（6匹の平均）

項目	最高 評点	投与後時間				
		1時間	24時間	48時間	72時間	
検 体	紅斑／痂皮形成	4	1.67	1.67	0.5	0
	浮腫形成	4	0.33	0.33	0	0
	一次刺激指数 P. I. I.		1.0	1.0	0.25	0
無 処 理	紅斑／痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数 P. I. I.		0	0	0	0

表にみられる様に、検体適用部位における平均 P. I. I. の最高値は 1.0 であり、これは『軽度刺激性』に相当した。従って、検体のウサギの皮膚に対する一次刺激性は軽度と評価された。

10%水和剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-18)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1990年11月19日

検体 : イミダクロプリド10%水和剤
供試動物 : ニュージーランド白色種(Kb1: NZW)雌ウサギ
検体投与 非洗眼群 6匹, 検体投与 洗眼群 3匹,
1000倍希釈液投与 非洗眼群 6匹
試験開始時 ; 11週齢 2.00~2.44kg
観察期間 : 21日間観察

投与方法：

9匹の動物の一侧の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体 0.1g をそのまま、結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約1秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの3匹の動物を、検体投与2~3分後に生理食塩水 50mL で洗眼して洗眼群とし、残りの6匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。また残りの6匹の動物は実用濃度である1000倍希釈液 0.1ml で同様に処理し希釈液群とした。いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。1000倍希釈液投与群については洗眼群を設けなかった。

観察項目：

検眼は、投与1、24、48、72時間及び7日後に角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、「毒性に関する試験成績を作成するにあたっての指針、59農産第4200号」の判定基準に従って採点し、その平均を一次刺激性指数として求めた。
また一般症状の観察を1日1回行った。体重測定は、投与前日及び1週間毎に行った。

結果：

検体に起因する中毒症状は認められず、体重においても順調な増加傾向を示した。

検体適用後の眼の反応の結果を表に示した。

<検体の結果>

項目		最高	投与後時間									
			評点	1時間	24時間	48時間	72時間	7日後	10日後	14日後	17日後	21日後
非洗眼群 (6匹の 平均)	角膜混濁	程度	4	0*	1	0.5	0.33	0.17	0.17	0.17	0	0
		面積	4	0*	2.33	1	0.33	0.17	0.17	0.17	0	0
	虹彩	2	1	1	1	0.5	0.17	0.17	0	0	0	
	結膜	発赤	3	2	2	2	1.67	0.5	0.25	0	0	0
		浮腫	4	3.5	3.33	2.17	1.5	0.33	0.17	0	0	0
		分泌物	3	3	2.67	1.33	1	0	0.17	0	0	0
洗眼群 (3匹の 平均)	角膜混濁	程度	4	0	1	0	0	0	/			
		面積	4	0	1.33	0	0	0				
	虹彩	2	1	0.33	0.33	0	0					
	結膜	発赤	3	2	2	1.67	0.83	0				
		浮腫	4	3	1	1	0	0				
		分泌物	3	3	1	0.33	0.67	0				

個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

眼の症状としては、角膜混濁、虹彩の軽い充血、結膜の発赤、腫脹及び分泌物が認められた。投与後1時間における眼症状は、非洗眼群と洗眼群でほとんど差を認めなかった。

非洗眼群では、6例中1例を除いて7日以内に陽性効果を示さなくなり、14日には対照群と差が認められなくなった。

症状回復が遅延した1例の角膜、虹彩、結膜の症状は、それぞれ10日目以降に回復性を示した。

洗眼群の眼症状は、3例とも72時間で陽性効果を示さなくなり、7日には対照眼と差が認められなくなった。

以上のように、症状の回復及び刺激性指数は無洗眼群と洗眼群との間に明らかな差があり、洗眼効果が認められた。又、6例中1例の角膜混濁の回復遅延例を例外とした場合、検体の一次刺激性は中程度*と評価された。

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。

*中程度刺激性	刺激性指数
角膜混濁	2.00 - 2.99
虹彩の充血、光に対する反応	1.0 - 1.50
結膜の発赤	≥ 2.5
腫脹	≥ 2.0

症状は24時間異常に及び、14日以内に回復する。

<1000倍希釈液の結果>

項目		最高 評点	投与後時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
非洗眼群	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
(6匹の 平均)	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0.67	0.17	0.08	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0

結膜に陽性効果を示さない程度の発赤を1時間判定時に6例中4例、24時間判定時に2例認めただのみで、角膜及び虹彩に対しては何の所見も認められなかった。従って実用濃度での眼に対する刺激性は、軽度以下と評価された。

(4) 皮膚感作性

10%水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法)

(毒性資料 No. 製剤-19)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年月日: 1990年6月8日

検体 : イミダクロプリド10%水和剤
供試動物 : ハートレイ (Crj: Hartley) 系雌モルモット、1群20匹
試験開始時: 5週齢(260~300g)
観察期間 : 約3週間

試験方法: Maximization 法

試験濃度設定の理由

予備試験において、皮内注射では0.1%が一次刺激性起炎症最低濃度であり、閉塞貼付では本検体の50%が一次刺激性起炎症濃度であった。従って、皮内感作濃度は0.1%とし、貼付感作濃度は50%と設定した。惹起濃度は一次刺激性起炎症濃度の条件の10%をもとに0.1%までの3濃度と、更に惹起時の指標として一次刺激性起炎症濃度の50%を設け貼付を行った。

1. 皮内感作

投与前日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。注射部位あたりの投与容量は0.05mL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)

検体の所定濃度滅菌生理食塩水懸濁液 (W/V%)

第三注射部位 (尾方)

Freundの完全アジュバントと滅菌生理食塩水の1:1混液に検体を所定濃度に懸濁した混合液

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. 貼付感作 (皮内注射1週間後)

皮内注射感作1週間後に再び刈毛した皮膚部位に検体を蒸留水に懸濁し、約0.25mLを48時間閉塞貼付し、貼付感作を実施した。

3. 貼付惹起（皮内注射から3週間後）

全動物の腹側部に所定濃度の検体の約 0.05ml をパッチ用フィンチャンバーに滴下し、24 時間閉塞貼付を実施した。

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。

判定	点数
－ = 変化なし	0 = 非炎症
± = うすい紅斑	1.0 = 刺激又はアレルギー反応
+1 = 明らかな紅斑	2.0 = 刺激又はアレルギー反応
+2 = 発赤+浮腫又は強い紅斑	3.0 = 刺激又はアレルギー反応

炎症の点数が 1.0 以上を炎症陽性として評価した。

感作率は試験例数における炎症例数を百分率で表し、感作群の百分率から無感作群の百分率を引いた値を感作率*とした。惹起濃度 50%は一次刺激性起炎症濃度であったので、感作性有無の評価から除いた。

5. 一般観察

感作及び惹起後に臨床観察を行った。

体重測定は、感作前日、惹起前日まで週 1 回行った。

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		感作陽性率* (%)	
				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								48 時間	72 時間	48 時間	72 時間	48 時間	72 時間
				0	1	2	3	0	1	2	3						
感作	皮内;0.1 貼付;50%	10	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0.1	20	19	1	0	0	20	0	0	0	0.1	0	1	0	0	0
無感作	皮内;0 貼付;0	10	20	19	0	0	0	19	1	0	0	0.1	0.1	1	1	/	
		1	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0		
		0.1	20	19	1	0	0	20	0	0	0	0.1	0	1	0		

皮内注射感作後、アジュバントを含有した調製液を注射した第一及び第三部位には皮膚の発赤、腫脹、潰瘍、痂皮を認めたが、感作群と無感作群の動物の一般行動に差はなく、体重推移についても、両群間に差は認められなかった。

感作群の感作率は全ての濃度で0%であった。又、炎症の程度においても感作群と無感作群の間に差は認められず、感作性なしと評価された。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB について、別に実施した Maximization 法による試験結果を次に示す。

皮膚反応を示した動物数(1989年8月22日～9月12日)

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		感作陽性率 (%)	
				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	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5			
感作	皮内;0.01 貼付;0.1	0.01	10	0	0	0	3	5	2	0	0	0	2	6	2	3.9	4.0	10	10	100	100			
		0.005	10	0	0	1	8	1	0	0	0	0	1	3	5	0	3.0	3.3	10	10	100	100		
		0.001	10	0	1	8	1	0	0	0	2	3	4	1	0	0	2.0	2.4	10	10	100	100		
無感作	皮内;0 貼付;0	0.01	10	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
		0.005	10	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
		0.001	10	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB 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。

20%水和剤（フロアブル）

（1）急性毒性

20%水和剤（フロアブル）のラットを用いた急性経口毒性試験

（毒性資料 No. 製剤-20）

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1992年11月2日

検体：イミダクロプリド 20%水和剤（フロアブル）

供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹

試験開始時；雄 7週齢（192～213g）

雌 7週齢（149～170g）

観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日の夕方より絶食させたラットに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重100g当たり1mLとした。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

死亡動物及び観察終了時の生存動物を剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 1540, 2000, 2600, 3380, 4390, 5710*
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 3200 (2700~4100) 雌： 4100 (3500~5000)
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 1時間~4時間 雌： 50分~5時間
症状発現時間及び 消失時間	雄： 15分~6日 雌： 10分~3日
最大無作用量 (mg/kg)	雄： <1540 雌： <1540
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 1540 雌： 2600

中毒症状として、散瞳、呼吸異常、鎮静、歩行異常、振せんなどが観察された。散瞳は発症した全ての動物に、呼吸異常も3例を除き発症した全ての動物に認められた。体重は生存例では順調な増加が認められた。死亡例の雌雄共に肺に赤色斑等が認められた。生存例の剖検では検体投与に関連した所見はなんら認められなかった。

20%水和剤（フロアブル）の Maus を用いた急性経口毒性試験

（毒性資料 No. 製剤-21）

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1992年11月2日

検体：イミダクロプリド 20%水和剤（フロアブル）

供試動物：ICR(Crj:CD-1)系マウス、1群雌雄各5匹

試験開始時；雄 5 週齢（20.6～25.3g）

雌 5 週齢（16.7～21.3g）

観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日の夕方より絶食させたマウスに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重10g当たり0.1mLとした。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

死亡動物及び観察終了時の生存動物を剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄： 230, 300, 380, 500, 650, 850 雌： 230, 300, 380, 500, 650, 850
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (90%信頼限界)	雄： 660 (510~1200) 雌： 700 (510~2000)
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 15分~5時間 雌： 8分~3時間
症状発現時間及び 消失時間	雄： 1分~2日 雌： 1分~2日
最大無作用量 (mg/kg)	雄： <230 雌： <230
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 300 雌： 230

中毒症状として、鎮静、呼吸異常、歩行異常、ヒョコ様鳴声が雌雄共にみられた。生存例の体重は、順調な増加を示した。死亡例では、雌雄共に肺に赤色斑、小腸の内容物黄色調などの変化が散見された。生存例の剖検では検体投与に起因すると思われる所見は雌雄ともにみられなかった。

20%水和剤（フロアブル）のラットを用いた急性経皮毒性試験

（毒性資料 No. 製剤-22）

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1992年9月22日

検体：イミダクロプリド 20%水和剤（フロアブル）

供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹

試験開始時；雄 7週齢（243～267g）

雌 7週齢（166～172g）

観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日に塗布部位の背中中央を約4×5cmの広さで剪毛したラットに経皮投与を実施した。その後は動物が検体を経口的に摂取することのないように、適用部位をガーゼとスポンジで覆い、外科用絆創膏で固定した。投与容量は、体重100g当たり0.5mLとした。

適用時間は24時間とし、その間動物を個別に収容した。適用時間終了後、検体を微温湯で洗浄して取り除いた。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (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： —
最大無作用量 (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

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。また、投与部位において刺激性を示唆する所見も認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。

(2) 急性吸入毒性

20%水和剤（フロアブル）のラットを用いた急性吸入毒性試験

（毒性資料 No. 製剤-23）

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(3) 皮膚及び眼に対する刺激性

20%水和剤（フロアブル）のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

（毒性資料 No. 製剤-24）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1992年9月22日

検体：イミダクロプリド20%水和剤（フロアブル）

供試動物：日本白色種(Kb1: JW)雌ウサギ，1群6匹，
試験開始時；2.10～2.40kg

観察期間：3日間観察

投与方法：

製剤原液はそのまま使用し、また1000倍希釈液は蒸留水を用いて希釈調製した。投与前日に動物の背部から横腹部にかけて刈毛した。検体、1000倍希釈液及び無処理の3部位を設け、個体ごとにそれぞれの部位を変えた。検体0.5mlを約6cm²のガーゼパッチに染ませて貼付した。無処理部位には、ガーゼパッチのみを貼付した。これらの被験部は、閉塞性包帯で固定し4時間暴露させた。暴露終了時に、残存した検体は蒸留水を用いて取り除いた。

観察項目：

皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑と浮腫について「毒性に関する試験成績を作成するにあたっての指針、59農産第4200号」の判定基準に従って採点し、その結果を各個体ごとに平均し、これを刺激性指数(P. I. I.)として求めた。

また、一般症状の観察を1日1回、4日間行った。体重測定は、投与前日及び投与6日目に行った。

刺激性の評価は個体別の平均P. I. I. [(紅斑の点数+浮腫の点数)/2]を用いて行った。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0～0.99	刺激性なし
1.0～1.99	軽度刺激性
2.0～2.99	中程度刺激性
3.0～4.0	重度刺激性

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。

結果：

検体に起因する中毒症状は認められず、体重も順調な増加傾向を示した。

刺激性の結果を表に示す。

表にみられる様に、検体適用部位における平均 P. I. I. の最高値は 0.08 であり、これは『刺激性なし』に相当した。1000 倍希釈液では皮膚の反応は認められなかった。従って、検体及び 1000 倍希釈液はウサギの皮膚に対して刺激性なしと評価された。

刺激性（6 匹の平均）

項目		最高 評点	投与後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
検 体	紅斑／痂皮形成	4	0.17	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数 P. I. I.		0.08	0	0	0
1000 倍 希 釈 液	紅斑／痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数 P. I. I.		0	0	0	0
無 処 理	紅斑／痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数 P. I. I.		0	0	0	0

20%水和剤（フロアブル）のウサギを用いた眼一次刺激性試験

（毒性資料 No. 製剤-25）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1992年11月2日

検体 : イミダクロプリド 20%水和剤（フロアブル）
供試動物 : 日本白色種 (Kb1 : JW) 雌ウサギ
 : 検体投与 非洗眼群 6 匹, 検体投与 洗眼群 3 匹,
 : 1000 倍希釈液投与 非洗眼群 6 匹
 : 試験開始時 ; 10 週齢 2.03~2.30kg
観察期間 : 72 時間観察

投与方法：

9 匹の動物の一侧の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、製剤原液 0.1ml をそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約 1 秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの 3 匹の動物を、検体投与 2~3 分後に生理食塩水 50ml で洗眼して洗眼群とし、残りの 6 匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。また、残りの 6 匹の動物は実用濃度である 1000 倍希釈液で同様に処理した（希釈群）。いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。1000 倍希釈液投与群については洗眼群を設けなかった。

観察項目：

検眼は、投与 1、24、48、72 時間及び 7 日後に角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、「毒性に関する試験成績を作成するにあたっての指針、59 農産第 4200 号」の判定基準に従って採点し、その平均を一次刺激性指数として求めた。また一般症状の観察を 1 日 1 回、投与 6 日目まで行った。体重測定は、投与前日及び投与 6 日目に行った。

結果：

検体に起因する中毒症状は認められず、体重においても順調な増加傾向を示した。

検体適用後の眼の反応の結果を表に示した。

項目		最高 評点	投 与 直 前	投 与 後 時 間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非洗眼群 (6匹の 平均)	角膜	程度	4	0	0	0	0	0
	混濁	面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	1.0	0.08	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0
洗眼群 (3匹の 平均)	角膜	程度	4	0	0	0	0	0
	混濁	面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0.67	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0
希釈群 (6匹の 平均)	角膜	程度	4	0	0	0	0	0
	混濁	面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0.17	0.17	0.17	0.08	0.08
		浮腫	4	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0

個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

眼の症状としては、非洗眼群では、投与 1 時間後に 6 例全例に軽微な結膜の発赤を認めたが、24 時間後にはほとんど消失し、48 時間後には、全例において対照眼と差を認めなくなった。洗眼群についても投与 1 時間後に結膜の軽微な発赤を認めたが、24 時間後には消失した。本試験でみられた結膜の発赤は、いずれも極めて弱いものであり、陽性効果とみなされる所見に至るものではなかった。

一方、1000 倍希釈液では 6 例全例とも、陽性効果とみなされる眼に対する刺激症状は認められなかった。

以上より、本検体及び 1000 倍希釈液はウサギの眼に対して刺激性を有さないと評価された。

(4) 皮膚感作性

20%水和剤（フロアブル）のモルモットを用いた皮膚感作性試験（Buehler 法）

（毒性資料 No. 製剤-26）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1992年 9月 25日

検体：イミダクロプリド 20%水和剤（フロアブル）
供試動物：ハートレー（Crj：Hartley）系雌モルモット、1群 20匹、
試験開始時体重；306～349g（5週齢）
観察期間：約5週間

試験方法：Buehler 法

試験濃度設定の理由

予備試験の結果から、100%の非希釈液を感作濃度に設定した。また、惹起濃度は4濃度、すなわち100, 5.0, 0.05及び0.025%を設定した。

試験試料の調製

検体を、所定濃度に蒸留水で用時希釈した。

感作及び惹起処置

感作開始前日左側胴部を刈毛した。感作試料 0.5mL を6時間ずつ7日間隔で3回閉塞貼付した。最終感作の13日後に全動物の右側胴部を毛刈りした。その翌日（最終感作14日後）、惹起試料 0.5mL をパッチ用フィンチャンバーに滴下し、24時間閉塞貼付した。

観察項目：

紅斑や浮腫などの皮膚反応の観察は、惹起貼付除去後24及び48時間に行い、以下の評価表に従って判定した。

判定	炎症の程度	点数
—	変化なし	0 = 非炎症
±	うすい紅斑	1.0 = 刺激又はアレルギー反応
+1	明らかな紅斑	2.0 = 刺激又はアレルギー反応
+2	発赤+浮腫又は強い紅斑	3.0 = 刺激又はアレルギー反応

炎症の点数が1.0以上を炎症陽性として評価した。

感作率は試験例数における炎症例数を百分率で表し、感作群の百分率から無感作群の百分率を引いた値を感作率とした。

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、感作開始日（0日）から惹起前日まで週1回行った。

結果：

全例共一般状態に異常は観察されず、また体重にも著変は認められなかった。
各観察時間における皮膚反応の判定結果を以下の表に示す。

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		感作陽性率 (%)		
				貼付除去後 24 時間					貼付除去後 48 時間					24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	
				皮膚反応評点																
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4							
感作	100	100	10	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2	0	2	0	0	0
		5.0	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0.05	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0.025	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	0	100	10	6	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0.4	0	4	0			
		5.0	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
		0.05	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
		0.025	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質ジニトロクロロベンゼン DNCB について、別に実施した Buehler 法による試験結果を次に示す。

試験実施日 (2000年5月9日~6月16日)

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		感作陽性率 (%)	
				惹起後 24 時間					惹起後 48 時間					24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
				皮膚反応評点															
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4						
感作	0.1	0.01	10	5	1	4	0	0	5	1	3	1	0	0.9	1	5	5	50	50
		0.005	10	6	2	2	0	0	8	1	0	1	0	0.6	0.4	4	2	30	20
		0.001	10	8	1	1	0	0	9	0	0	1	0	0.3	0.3	2	1	20	10
無感作	0	0.01	10	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0		
		0.005	10	9	1	0	0	0	10	0	0	0	0	0.1	0	1	0		
		0.001	10	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0		

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB 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及び試験方法の信頼性が確認された。

0.005%液剤

(1)急性毒性

0.005%液剤のマウスを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-27)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1989年12月4日

検体：イミダクロプリド 0.005%液剤
供試動物：ICR(Crj:CD-1)系マウス、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 5週齢 (25.6~28.8g)
雌 5週齢 (21.0~24.2g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて調製した。

投与前日の夕方より絶食させたマウスに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重10g当たり0.1mLとした。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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及び14日に行った。

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 5000
LD ₅₀ 値 (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： —
最大無作用量 (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

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。

観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

0.005%液剤

急性経口毒性

急性経皮毒性

皮膚一次刺激性

眼一次刺激性

皮膚感作性

0.005%液剤 のラットを用いた急性経口毒性試験

0.005%液剤 のラットを用いた急性経皮毒性試験

0.005%液剤 のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

0.005%液剤 のウサギを用いた眼一次刺激性試験

0.005%液剤 のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 製剤-28)

これらの試験成績を 20%水和剤 (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。

急性吸入毒性

0.005%液剤のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-29)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

50%顆粒水和剤

(1)急性毒性

50%顆粒水和剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1999年3月18日

検体：イミダクロプリド 50%顆粒水和剤
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 7週齢 (220~242g)
雌 7週齢 (154~169g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、乳鉢で摩砕した後蒸留水を加えて懸濁液を調製した。
投与前約16時間絶食させたラットに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重100g当たり1mLとした。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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1、3、7、10及び14日に行った。

観察終了時の全生存動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄： 770, 1100, 1500, 2100, 2900 雌： 550, 770, 1100, 1500, 2100
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 1560 (1180~2090) 雌： 1390 (1080~1910)
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 2時間~1日 雌： 2時間~5時間
症状発現時間及び 消失時間	雄： 10分~8日 雌： 25分~2日
最大無作用量 (mg/kg)	雄： - 雌： -
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 770 雌： 770

中毒症状は投与後10分から認められ、投与後1時間までに雌雄全例に認められた。認められた症状は、呼吸異常、鎮静、ふるえが多く、また苦悶状態、チアノーゼ、粗毛や下痢も散見された。投与後5時間までに症状はやや強くみられたが、その後生存した動物は徐々に回復傾向を示し、それらの多くに投与後2日までに症状の消失がみられた。

死亡動物は1100mg/kg以上の雌雄群でみられ、投与後5時間以内にそれらの多くが死亡した。

体重の推移において、雄2100mg/kg以上、雌1500mg/kg以上の群で体重の減少あるいは増加の抑制傾向が、投与後3日まで認められたが、その後順調な体重増加を示した。

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。

50%顆粒水和剤のマウスを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-31)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1999年3月18日

検体：イミダクロプリド 50%顆粒水和剤
供試動物：ICR(Crj:CD-1)系マウス、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 5週齢 (23.0～28.9g)
雌 5週齢 (17.0～22.0g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、乳鉢で摩砕した後蒸留水を加えて懸濁液を調製した。
投与前約16時間絶食させたマウスに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重10g当たり0.1mLとした。

観察・検査項目：

検体投与後6時間までは頻繁に、翌日からは毎日1回、14日間にわたって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1、3、7、10及び14日に行った。

観察終了時の全生存動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄： 160, 220, 300, 420, 580, 810 雌： 160, 220, 300, 420, 580
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (90%信頼限界)	雄： 383 (258~606) 雌： 354 (276~474)
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 10分~3時間 雌： 15分~5時間
症状発現時間及び 消失時間	雄： 1分~5日 雌： 1分~2日
最大無作用量 (mg/kg)	雄： — 雌： —
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 160 雌： 160

中毒症状は投与後1分から認められ、投与後10分までに雌雄の多くの例に認められた。認められた症状は、呼吸異常、鎮静、ふるえが全例に、よろめき歩行が雌の160mg/kg群を除き多くの動物で認められた。またヒヨコ様鳴声、苦悶状態、チアノーゼ、粗毛も散見された。投与後2時間までに症状はやや強くみられたが、その後生存した動物は徐々に回復傾向を示し、それらの多くは投与翌日までに症状の消失がみられた。

死亡動物は220mg/kg以上の雌雄群でみられ、投与後1時間以内にそれらの多くが死亡した。

体重の推移において、雌雄共に後順調な体重増加を示した。

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。

50%顆粒水和剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-32)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1999年3月18日

検体：イミダクロプリド 50%顆粒水和剤
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 7週齢 (253~273g)
雌 7週齢 (178~196g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて乳鉢で摩砕し、さらに蒸留水を加えて500mg/mlの懸濁液を調製した。

投与前日に剪毛した背中中央の皮膚(約4×5cm)に直接貼付し経皮投与を実施した。その後は動物が検体を経口的に摂取することのないように、適用部位をガーゼとスポンジで覆い、外科用絆創膏で固定した。投与容量は、体重100g当たり0.4mLとした。

適用時間は24時間とし、その間動物を個別に収容した。適用時間終了後、検体をガーゼを用いて清拭した。

観察・検査項目：

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって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1、3、7、10及び14日に行った。

観察終了時の全生存動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (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： -
最大無作用量 (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

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。また、投与部位において刺激性を示唆する所見も認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。

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。

(2) 急性吸入毒性

50%顆粒水和剤のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-33)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

50%顆粒水和剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-34)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年10月28日

検体 : イミダクロプリド 50%顆粒水和剤
供試動物 : 日本白色種雌ウサギ, 1群6匹, 試験開始時; 2.67~2.93kg
観察期間 : 3日間観察

【試験方法】

投与1日前に動物の背部を刈毛した。刈毛した背部を4つの部分にわけ、細かく粉碎した検体500mgを2.5×2.5cmのリント布をのせ、0.5mlの注射用水で湿らせてから、また、希釈液適用部位には動物サイズのリント布に希釈液(5000倍液)0.5mlを均一に塗布してから、それぞれ油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。無処理部位にはリント布を貼布し、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。暴露時間は4時間とした。暴露後はリント布を取り除き、注射用水で湿らせた脱脂綿で適用部位を清拭した。

【観察項目】

皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑と浮腫について行い、皮膚の反応の評価法(Draize法)に従って採点し記録した。

また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、皮膚の観察時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

【評価】

刺激性の評価は皮膚一次刺激指数を算出して行った。皮膚一次刺激指数は、検体除去後1、24、48及び72時間における紅斑及び浮腫の評点の合計を4で割り、個体別の値を求め、更に供試したウサギの6匹の値を平均して算出した。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0	無刺激物
0より大きく2未満	軽度刺激物
2以上5未満	中等度刺激物
5以上	強度刺激物

【結果】

[一般観察]

全例共に一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は見られなかった。

[刺激性]

表にみられる様に、紅斑（評点 1）が検体除去 1 時間後に前れでみられたが、24 時か儀には消失した。皮膚一次刺激指数は 0.3 であった。

5000 倍希釈液ではいずれの観察においても、全例に皮膚反応はみられず、皮膚一次刺激指数は 0 であった。

無処置部位にも皮膚反応はみられなかった。

刺激性（6 匹の平均）

項目		最高 評点	Draize による評価点（平均値）			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
検 体	紅斑／痂皮形成	4	1.0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0.3			
希 釈 液	紅斑／痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			
無 処 理	紅斑／痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			

以上のことから、検体を「軽度の刺激性あり」と評価した。しかし、その 5000 倍希釈液は「刺激性なし」と評価した。

50%顆粒水和剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-35)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年10月28日

(製剤及び5000倍希釈液)

報告書作成年月日：2002年1月31日

(300倍希釈液)

- 検体：イミダクロプリド50%顆粒水和剤
- 供試動物：日本白色種雌ウサギ
- 製剤 非洗眼群6匹，製剤 洗眼群3匹，5000倍希釈液非洗眼群6匹
- 試験開始時；2.39～3.04kg
- 300倍希釈液非洗眼群3匹
- 試験開始時；2.36～2.52kg
- 観察期間：6日間観察

【試験方法】

9匹の動物の左側の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体0.1gをそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約1秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの3匹の動物を、検体投与2～3分後に微温湯で洗眼して洗眼群とし、残りの6匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。

また6匹の動物に検体(5000倍希釈液)0.1mlを同様に投与し、非洗眼群とした。

さらに別の3匹の動物に検体(300倍希釈液)0.1mlを同様に投与し非洗眼群とした。

いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。

【観察項目】

検眼は、投与1、24、48及び72時間、その後は5日まで1日1回、角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、Draize法に従って採点した。また適用後24時間には2%フルオレセインナトリウム水溶液を1滴点眼し、速やかに注射用水で洗眼した後、角膜の損傷により生じる染色斑の有無を観察した。

また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、検眼時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

【結果】

[一般観察]

全例で一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[刺激性]

検体適用後の眼の反応の結果を表1～表2に示した。

非洗眼群では、適用後1時間の観察において、全例に角膜混濁（程度：評点1、面積：評点2または3）、結膜発赤（評点1）、浮腫（評点1または2）及び眼脂分泌物（評点2）が認められ、MTSは24.7であった。適用後24時間では適用後1時間値とほぼ同程度の刺激が観察され、虹彩の異常（評点1）もみられ、MTSは21.2となった。これらの反応は適用48時間以降軽減し、MTSが0となったのは適用後5日であった。MMTSは適用後1時間の24.7であった。

眼のその他の変化として、全例で適用直後から適用後6時間の間に閉眼が観察された。

検体洗眼群では、適用後1時間の観察時期において、全例に角膜混濁（程度：評点1、面積：評点2）、結膜発赤（評点1）、浮腫（評点1または2）及び眼脂分泌物（評点1または2）、2/3例に、虹彩の異常（評点1）が認められ、MTSは21.3であった。適用24時間後の観察では2/3例に角膜混濁（程度：評点1または2、面積：評点1または2）、全例に結膜発赤（評点1）が認められ、MTSは12.0であった。適用48時間後の観察ではMTSは3.7となり、刺激反応は軽減した。MTSが0となったのは適用3日後であった。従ってMMTSは適用後1時間の21.3であった。

眼のその他の変化として、全例で適用直後から適用後6時間の間に閉眼が観察された。

5000倍及び300倍希釈液非洗眼群では、観察期間を通じていずれの動物にも刺激反応は認められず、評点はすべて0であった。また、眼のその他の変化も観察されなかった。

各群共に対照眼の評点は全て0であり、観察期間を通じて変化はなんら認められなかった。

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

表 1. 眼一次刺激性試験成績

項目			最高	投与後時間					
			評点	1時間	24時間	48時間	72時間	4日	5日
非洗眼群 (6匹の平均)	角膜混濁	程度	4	1.0	1.3	0.5	0.33	0.17	0
		面積	4	2.3	1.7	0.7	0.33	0.17	0
	虹彩		2	0.7	0.5	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	0
		浮腫	4	1.8	1.0	0	0	0	0
		分泌物	3	2.0	0.7	0.2	0	0	0
	合計(MTS) [#]		110	24.7	21.2	5.7	3.7	1.8	0
洗眼群 (3匹の平均)	角膜混濁	程度	4	1.0	1.0	0.33	0	0	0
		面積	4	2.0	1.0	0.33	0	0	0
	虹彩		2	0.7	0.33	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	1.0	1.0	0	0	0
		浮腫	4	1.3	0	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0	0	0
	合計(MTS) [#]		110	21.3	12.0	3.7	0	0	0
希釈液 非洗眼群 (5000倍) (6匹の平均)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0
	合計(MTS) [#]		110	0	0	0	0	0	0
希釈液 非洗眼群 (300倍) (3匹の平均)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0
	合計(MTS) [#]		110	0	0	0	0	0	0

#: Draize 法による評価点 (最高 110 点), 個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

表 2. MTS : 適用眼

観察期間 (適用後)	MTS			
	製剤非洗眼群	製剤洗眼群	5000倍希釈液群	300倍希釈液群
1時間	22.5*	6.0*	0	0
24時間	21.2	3.7	0	0
48時間	12.5	2.0	0	0
72時間	4.3	0.7	0	0
4日	1.5	0	0	0
5日	0.7	0	0	0
6日	0	0	0	0

*: MMTS

従って、MTS は適用 1 時間後における 13.0 であり、適用 24 時間後に MTS が 0 になったことから、本剤の刺激性を Kay and Calandra らの刺激性の評価分類表で評価すると、暫定評価は「極く軽度の刺激性あり」であった。しかし、MTS が 0 となったのは適用後 5 日であったことから、最終評価は「中等度の刺激性あり」となった。

一方、洗眼群では、非洗眼群と同様の波能がみられたが、その程度は非洗眼群に比べて軽度であり、MTS は 21.3 であり、また反応の消失は適用後 72 時間であったことから、洗眼効果がみられた。

また、5000 倍及び 300 倍希釈液非洗眼群では、観察期間を通じて刺激反応は認められず、眼のその他の変化も観察されなかった。

(4) 皮膚感作性

50%顆粒水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(毒性資料 No. 製剤-36)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年10月28日

検体：イミダクロプリド50%顆粒水和剤
供試動物：ハートレー系雌モルモット、1群20匹、
試験開始時体重；324～390g
観察期間：30日間

試験方法：Buehler 法

試験試料の調製

検体を、所定濃度に注射用水で用時希釈した。無感作群には注射用水を感作用試料として用いた。

感作及び惹起処置

左横腹部を刈毛し、感作試料0.2mLを6時間ずつ7日間隔で3回閉塞貼付した。最終感作の2週間後に全動物の右横腹部を毛刈りし、惹起試料0.2mLを6時間貼付後取り除き、注射用水で投与部位を清拭した。

【観察項目】

紅斑や浮腫などの皮膚反応の観察は、惹起貼付除去後24及び48時間に行い、以下の評価表に従って判定した。

皮膚反応の評価法

紅斑及び痂皮

紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑 (beet redness) からわずかな痂皮の形成 (深部損傷) まで	4

浮腫の形成

浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした浮腫 (はっきりとした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度浮腫 (約1mmの膨隆)	3
高度浮腫 (1mmの膨隆と暴露範囲を越えた広がり)	4

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、感作開始日（0日）、感作終了日（14日）、惹起日（28日）及び惹起後2日（30日）に全動物について行った。

【評価】

皮膚反応の程度を個体別に点数化し、観察時間ごとに各試験群の平均評点を算出すると共に陽性率を求め、感作群と非感作群の反応の程度を比較して感作性を評価した。

【結果】

[一般観察]

全例共一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[感作性]

各観察時間における皮膚反応の判定結果を以下の表に示す。

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		感作陽性率 (%)	
				貼付除去後 24 時間				貼付除去後 48 時間				24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
				皮膚反応評点													
				0	1	2	3	0	1	2	3						
感作	25	25	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	0	25	10	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表に示した様に、検体 25%で惹起したとき、感作群、無感作群ともに皮膚反応は全く認められず、陽性率は0%であった。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB について、別の実施した Buehler 法による試験結果を次に示す。

試験実施日 (1998年8月7日～9月6日)

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)	
					貼付除去後 24時間					貼付除去後 48時間					24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間
					皮膚反応評点															
					0	1	2	3	4	0	1	2	3	4						
感作	0.5	0.25	10	①	0	3	5	2	0	0	3	5	2	0	2.3	2.3	10	10	100	100
				②	3	7	0	0	0	6	4	0	0	0						
無感作	0	0.25	10	①	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				②	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0						

① ; 紅斑及び痂皮形成(最高点 4) ② ; 浮腫の形成 (最高点 4)

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB 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及び試験方法の信頼性が確認された。

70%粉末

(1)急性毒性

70%粉末のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-37)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997年11月21日

検体：イミダクロプリド 70%粉末
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 7週齢 (209~240g)
雌 7週齢 (146~166g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日の夕方より絶食させたラットに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重100g当たり2mLとした。

観察・検査項目：

観察期間は14日間とし、検体投与6時間後までは頻繁に、その後からは毎日1回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1、2、3、7、10及び14日に行った。

死亡動物は速やかに、観察終了時の生存動物はエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 0, 250, 350, 500, 710, 1000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 419 (320-547) 雌： 368 (279-474)
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 4時間～1日 雌： 4時間～1日
症状発現時間及び 消失時間	雄： 15分～1日 雌： 15分～1日
最大無作用量 (mg/kg)	雄： — 雌： —
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 250 雌： 250

投与後15分から全投与群の雌雄で散瞳が観察された。その後350mg/kg以上の群の雌雄で投与1時間後から自発運動の減少が、投与2時間後から振せんがみられ、さらに500mg/kg以上の群の雌雄で伏臥も認められた。

死亡動物は投与4時間後～投与翌日にかけて認められた。一方、生存動物は投与2日後までに回復し、その後異常は観察されなかった。

体重の減少または増加抑制が、250及び350mg/kg群の雌雄で投与翌日に、500mg/kgの雄で投与後2日まで、雌で投与後3日までみられた。しかし、その後はほぼ順調に体重は増加した。

剖検において、死亡動物及び生存動物の雌雄共に検体に起因する所見は認められなかった。

70%粉末のマウスを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-38)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997年11月21日

検体：イミダクロプリド 70%粉末
供試動物：ICR(Crj:CD-1)系マウス、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 5週齢 (27.9~34.7g)
雌 5週齢 (27.1~27.8g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日の夕方より絶食させたマウスに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重10g当たり0.2mLとした。

観察・検査項目：

観察期間は14日間とし、検体投与6時間後までは頻繁に、その後からは毎日1回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1、2、3、7、10及び14日に行った。

死亡動物は速やかに、観察終了時の生存動物はエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 0, 50, 80, 110, 150, 210, 300
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (90%信頼限界)	雄： 190 (152~240) 雌： 167 (129~227)
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 15分~2時間 雌： 15分~2時間
症状発現時間及び 消失時間	雄： 5分~6時間 雌： 5分~6時間
最大無作用量 (mg/kg)	雄： 50 雌： 50
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 110 雌： 80

80mg/kg以上の群の雌雄で投与後5分ないし30分から自発運動の減少がみられ、さらに150mg/kg以上の群の雄と110mg/kg以上の群の雌で間代性痙れんも認められた。

軽度な体重の増加抑制が、80mg/kg群の雌雄で投与翌日にみられた。しかし、その後はほぼ順調に体重は増加した。

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。

70%粉末のラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-39)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997年11月21日

検体：イミダクロプリド 70%粉末
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 7週齢 (267~289g)
雌 7週齢 (174~201g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を乳鉢ですりつぶし、粉末の状態で使用した。

投与前日に剪毛した背部皮膚(約4×5cm)に所定量の検体をリント布に乗せ蒸留水で湿らせて経皮投与した。適用部位をサージカルテープを用いて固定した。暴露時間は24時間とし、除去後ガーゼを用いて適用部位を清拭した。

観察・検査項目：

観察期間は14日間とし、検体投与6時間後までは頻繁に、その後からは毎日1回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1、2、3、7、10及び14日に行った。

観察終了時の生存動物はエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (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： -
最大無作用量 (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

中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。

投与群の雌雄で投与後翌日に体重減少が認められた。この減少は外科用絆創膏による動物の拘束によるものと考えられた。しかしその後増加に転じ、体重はほぼ順調に推移した。

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。。

(2) 急性吸入毒性

70%粉末のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-40)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(3) 皮膚及び眼に対する刺激性

70%粉末のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-41)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年12月2日

検体 : イミダクロプリド70%粉末
供試動物 : 日本白色種雌ウサギ, 1群6匹, 試験開始時; 2.45~2.75kg
観察期間 : 3日間観察

【試験方法】

投与1日前に動物の背部を刈毛した。刈毛した背部を2つの部分にわけ、検体適用部位(左側)には検体0.5gを2.5×2.5cmのリント布をのせ、0.5mlの注射用水で湿らせてから、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。右側は無処理部位とし、リント布を貼布し、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。暴露時間は4時間とした。暴露後はリント布を取り除き、注射用水で湿らせた脱脂綿で適用部位を清拭した。

【観察項目】

皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑と浮腫について行い、皮膚の反応の評価法(Draize法)に従って採点し記録した。

また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、皮膚の観察時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

【評価】

刺激性の評価は皮膚一次刺激指数を算出して行った。皮膚一次刺激指数は、検体除去後1、24、48及び72時間における紅斑及び浮腫の評点の合計を4で割り、個別別の値を求め、更に供試したウサギの6匹の値を平均して算出した。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0	無刺激物
0より大きく2未満	軽度刺激物
2以上5未満	中等度刺激物
5以上	強度刺激物

【結果】

[一般観察]

全例共に一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は見られなかった。

[刺激性]

検体除去後いずれの観察においても、全例に皮膚反応はみられず、皮膚一次刺激指数は0であり、「無刺激物」と評価された。

刺激性（6匹の平均）

項目	最高 評点	Draize による評価点 (平均値)				
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
検 体	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			
無 処 理	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			

以上のことから、検体を「刺激性なし」と評価した。

70%粉末のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-42)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年12月2日

検体 : イミダクロプリド70%粉末
供試動物 : 日本白色種雌ウサギ
非洗眼群6匹, 洗眼群3匹
試験開始時 ; 2.69~3.09kg
観察期間 : 3日間観察

【試験方法】

9匹の動物の左側の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体0.1gをそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約1秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの3匹の動物を、検体投与2~3分後に微温湯で洗眼して洗眼群とし、残りの6匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。

いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。

【観察項目】

検眼は、投与1、24、48及び72時間に角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、Draize法に従って採点した。また適用後24時間には2%フルオレセインナトリウム水溶液を1滴点眼し、速やかに注射用水で洗眼した後、角膜の損傷により生じる染色斑の有無を観察した。

また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、検眼時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

【結果】

[一般観察]

全例で一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[刺激性]

検体適用後の眼の反応の結果を表1～表2に示した。

非洗眼群では、適用後1時間の観察において、全例に角膜混濁（混濁度：評点1、広さ：評点1）、結膜発赤（評点1）、浮腫（評点1）及び眼脂分泌物（評点2）が認められ、MTSは13.0であった。適用後24時間では2例に結膜発赤（評点1）のみが認められ、MTSは0.7であった。

眼のその他の変化として、全例で適用直後から適用後1時間の間に閉眼が観察された。

検体洗眼群では、適用後1時間の観察時期において、全例に結膜発赤（評点1）、浮腫（評点1）及び眼脂分泌物（評点1）が認められ、MTSは6.0であったが、適用後24時間に消失した。MTSは適用後1時間の6.0であった。

表1. 眼一次刺激性試験成績

項目			最高	投与後時間			
			評点	1時間	24時間	48時間	72時間
非洗眼群 (6匹の平均)	角膜混濁	程度	4	1.0	0	0	0
		面積	4	1.0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	0.3	0	0
		浮腫	4	1.0	0	0	0
		分泌物	3	2.0	0	0	0
	合計(MTS)*		110	13.0	0.7	0	0
洗眼群 (3匹の平均)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	0	0	0
		浮腫	4	1.0	0	0	0
		分泌物	3	1.0	0	0	0
	合計(MTS)*		110	6.0	0	0	0

#: Draize 法による評価点 (最高 110 点), 個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

表2. MTS : 適用眼

観察期間 (適用後)	MTS	
	検体非洗眼群	検体洗眼群
1時間	13.0*	6.0*
24時間	0.7	0
48時間	0	0
72時間	0	0

*: MMTS

従って、MTS は適用 1 時間後における 13.0 であり、適用 24 時間後に MTS が 0 になったことから、本剤の刺激性を Kay and Calandra らの刺激性の評価分類表で評価すると、暫定評価及び最終評価ともに「極く軽度の刺激性あり」であった。

一方、洗眼群では、結膜発赤と浮腫のみで角膜混濁はみられず、MTS は適用 1 時間後における 6.0 であり、洗眼効果がみられた。

(4) 皮膚感作性

70%粉末のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(毒性資料 No. 製剤-43)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年月日: 1997年12月2日

検体 : イミダクロプリド70%粉末
試験動物 : ハートレー系雌モルモット、1群20匹、
試験開始時体重; 294~390g(6週齢)
試験期間 : 約5週間

試験方法: Buehler 法

試験濃度設定の理由

予備試験において、4匹のモルモットに検体を注射用水に2.5, 5, 10及び25%の濃度で希釈し、モルモットに6時間閉塞貼付したとき、各濃度共に皮膚反応は認められなかったことから、感作濃度及び惹起濃度は25%とした。

試験試料の調製

検体を、所定濃度に注射用水で用時希釈した。無感作群には注射用水を感作用試料として用いた。

感作及び惹起処置

左横腹部を刈毛し、感作試料0.2mLを6時間ずつ7日間隔で3回閉塞貼付した。最終感作の2週間後に全動物の右横腹部を毛刈りし、惹起試料0.2mLを6時間貼付後取り除き、注射用水で投与部位を清拭した。

【観察項目】

紅斑や浮腫などの皮膚反応の観察は、惹起貼付除去後24及び48時間に行い、以下の評価表に従って判定した。

皮膚反応の評価法

紅斑及び痂皮

紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑 (beet redness) からわずかな痂皮の形成 (深部損傷) まで	4

浮腫の形成

浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした浮腫 (はっきりとした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度浮腫 (約1mmの膨隆)	3
高度浮腫 (1mmの膨隆と暴露範囲を越えた広がり)	4

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、感作開始日（0日）、感作終了日（14日）、惹起日（28日）及び惹起後2日（30日）に全動物について行った。

【評価】

皮膚反応の程度を個体別に点数化し、観察時間ごとに各試験群の平均評点を算出すると共に陽性率を求め、感作群と非感作群の反応の程度を比較して感作性を評価した。

【結果】

[一般観察]

全例共一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[感作性]

各観察時間における皮膚反応の判定結果を以下の表に示す。

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		感作陽性率 (%)	
				貼付除去後 24 時間					貼付除去後 48 時間					24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
				皮膚反応評点															
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	時間	時間	時間	時間	時間	時間
感作	25	25	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	0	25	10	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表に示した様に、検体 25%で惹起したとき、感作群、無感作群ともに皮膚反応は全く認められず、陽性率は0%であった。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB について、別に実施した Buehler 法による試験結果を次に示す。

試験実施日 (1997年6月12日～7月12日)

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)		
					惹起後 24 時間					惹起後 48 時間					24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	
					皮膚反応評点																
					0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	
感作	0.5	0.25	10	①	0	3	7	0	0	0	0	2	8	0	0	2.4	1.9	10	10	100	100
				②	3	7	0	0	0	9	1	0	0	0							
非感作	0	0.25	10	①	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				②	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0							

① ; 紅斑及び痂皮形成(最高点4), ② ; 浮腫の形成(最高点4)

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB 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及び試験方法の信頼性が確認された。

2%錠剤

(1)急性毒性

2%錠剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-44)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1998年10月9日

検体：イミダクロプリド 2%錠剤
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 7週齢 (223~233g)
雌 7週齢 (166~181g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日の夕方より絶食させたラットに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重100g当たり2mLとした。

観察・検査項目：

観察期間は14日間とし、検体投与6時間後までは頻繁に、その後からは毎日1回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1、2、3、7、10及び14日に行った。

観察終了時の全生存動物はエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 0, 5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	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： -
最大無作用量 (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

中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。

検体投与後群の体重は、観察期間を通じて、雌雄共対照群とほぼ同様な推移を示した。

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。

2%錠剤のマウスを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-45)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1998年10月9日

検体：イミダクロプリド 2%錠剤
供試動物：ICR(Crj:CD-1)系マウス、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 7週齢 (27.9~31.3g)
雌 7週齢 (20.8~24.3g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

投与前日の夕方より絶食させたマウスに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重10g当たり0.2mLとした。

観察・検査項目：

観察期間は14日間とし、検体投与6時間後までは頻繁に、その後からは毎日1回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1、2、3、7、10及び14日に行った。

生存動物は観察終了時にエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 0, 2500, 3000, 3600, 4200, 5000, 6000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (90%信頼限界)	雄： 4134 (3544~4890) 雌： 4448 (3869~5199)
死亡開始時間及び 終了時間	雄： 15分~1時間 雌： 15分~1時間
症状発現時間及び 消失時間	雄： 5分~4時間 雌： 5分~4時間
最大無作用量 (mg/kg)	雄： - 雌： -
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 2500 雌： 3000

全投与後群の雌雄で自発運動の減少が散見され、3000mg/kg以上の雄と3600mg/kg以上の雌では腹臥、間代性痙攣及びチアノーゼも認められた。

3000mg/kg以上の投与群の雄で投与翌日に体重の増加抑制が認められたが、その後はほぼ順調に体重は増加した。

剖検において、雌雄共に死亡及び生存動物で検体に起因する所見は認められなかった。

2%錠剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-46)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1998年10月9日

検体：イミダクロプリド 2%錠剤
供試動物：SD(Crj:CD)系ラット、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄 7週齢 (264~285g)
雌 7週齢 (176~207g)
観察期間：14日間

投与方法：

投与日に検体を乳鉢ですりつぶして粉末とした後、個体毎に所定量秤量し、一匹あたり0.5mlの蒸留水で湿らせた。

リント布 (約4×5cm=20cm²) に調製した検体を均一に塗布し、投与前日に剪毛した背部皮膚に (約5×6cm=30cm²) に直接貼付した。さらにサージカルテープを用いて固定した。暴露時間は24時間とし、貼付除去後ガーゼを用いて適用部位を清拭した。

観察・検査項目：

観察期間は14日間とし、検体投与6時間後までは頻繁に、その後からは毎日1回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1、2、3、7、10及び14日に行った。

観察終了時の全生存動物はエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 0, 2000
LD ₅₀ 値 (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： -
最大無作用量 (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

中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。

適用部位においても、発赤などの皮膚刺激所見は認められなかった。

体重において、検体投与後の影響はみられなかった。

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。。

(2) 急性吸入毒性

2%錠剤のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-47)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(3) 皮膚及び眼に対する刺激性

2%錠剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-48)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年10月28日

検体 : イミダクロプリド2%錠剤
供試動物 : 日本白色種雌ウサギ, 1群6匹, 試験開始時; 2.52~2.95kg
観察期間 : 3日間観察

【試験方法】

投与1日前に動物の背部を刈毛した。刈毛した背部を正中線に沿って左右にわけ、検体適用部位には細かく粉碎した検体500mgを2.5×2.5cmのリント布をのせ、0.5mlの注射用水で湿らせてから貼付し、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。無処理部位には、リント布を貼布し、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。暴露時間は4時間とした。暴露後はリント布を取り除き、注射用水で湿らせた脱脂綿で適用部位を清拭した。

【観察項目】

皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑と浮腫について行い、皮膚の反応の評価法(Draize法)に従って採点し記録した。

また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、皮膚の観察時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

【評価】

刺激性の評価は皮膚一次刺激指数を算出して行った。皮膚一次刺激指数は、検体除去後1、24、48及び72時間における紅斑及び浮腫の評点の合計を4で割り、個体別の値を求め、更に供試したウサギの6匹の値を平均して算出した。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0	無刺激物
0より大きく2未満	軽度刺激物
2以上5未満	中等度刺激物
5以上	強度刺激物

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。

【結果】

[一般観察]

全例共に一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は見られなかった。

[刺激性]

検体除去後いずれの観察においても、全例に皮膚反応はみられず、皮膚一次刺激指数は0であり、「無刺激物」と評価された。

刺激性（6匹の平均）

項目		最高 評点	Draizeによる評価点（平均値）			
			1時間	24時間	48時間	72時間
検 体	紅斑／痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			
無 処 理	紅斑／痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			

以上のことから、検体を「刺激性なし」と評価した。

2%錠剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-49)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年10月28日

検体 : イミダクロプリド2%錠剤
供試動物 : 日本白色種雌ウサギ
非洗眼群6匹, 洗眼群3匹
試験開始時 ; 2.40~2.95kg
観察期間 : 3日間観察

【試験方法】

9匹の動物の左側の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体0.1gをそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約1秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの3匹の動物を、検体投与2~3分後に微温湯で洗眼して洗眼群とし、残りの6匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。

いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。

【観察項目】

検眼は、投与1、24、48及び72時間に角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、Draize法に従って採点した。また適用後24時間には2%フルオレセインナトリウム水溶液を1滴点眼し、速やかに注射用水で洗眼した後、角膜の損傷により生じる染色斑の有無を観察した。

また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、検眼時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

【結果】

[一般観察]

全例で一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[刺激性]

検体適用後の眼の反応の結果を表1～表2に示した。

非洗眼群では、適用後1時間の観察において、全例に結膜発赤(評点1)及び浮腫(評点1)、眼脂分泌物(評点2)が認められ、MTSは8.0であった。適用後24時間では6例中1例に結膜発赤(評点1)がみられたにすぎず、MTSは0.3となり、適用後48時間には消失した。MTTSは適用1時間後における8.0であった。眼のその他の変化として、全例で閉眼が観察された。

検体洗眼群では、適用後1時間の観察時期において、全例に結膜浮腫(評点1)及び眼脂分泌物(評点1)、3例中2例に結膜発赤(評点1)が認められ、MTSは5.3であったが、適用後24時間にはこれらの変化は消失した。従って、MMTSは適用後1時間の5.3であった。眼のその他の変化は認められなかった。

各群共に、対照眼の評点は全て0であり、観察期間を通じて変化は何ら認められなかった。

従って本剤の刺激性をKay and Calandraらの刺激性の評価分類表で評価すると、MTTSは適用1時間後における8.0であり、適用後48時間にMTTSは0になったことから、暫定評価及び最終評価ともに「極く軽度の刺激性あり」であった。

った

一方、洗眼群では、洗眼群と同様の反応がみられたが、その程度は非洗眼群に比べて弱く、またその他の変化も観察されなかったことから、洗眼効果を示すものと考えられた。

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

表 1. 眼一次刺激性試験成績

項目			最高	投 与 後 時 間			
			評点	1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非洗眼群 (6 匹の 平均)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	1	0.17	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0
		分泌物	3	2	0	0	0
	合 計 (MTS) [#]		110	8.0	0.3	0	0
洗眼群 (3 匹の 平均)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0.67	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
	合 計 (MTS) [#]		110	5.3	0	0	0

#: Draize 法による評価点 (最高 110 点), 個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

表 2. MTS : 適用眼

観察期間 (適用後)	M T S	
	検体非洗眼群	検体洗眼群
1 時間	8.0*	5.3*
2 4 時間	0.3	0
4 8 時間	0	0
7 2 時間	0	0

*: MMTS

(4) 皮膚感作性

2%錠剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(毒性資料 No. 製剤-50)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年10月28日

検体：イミダクロプリド2%錠剤
供試動物：ハートレー系雌モルモット、1群20匹、
試験開始時体重；364～430g
試験期間：30日間

試験方法：Buehler 法

試験濃度設定の理由

予備試験において、4匹のモルモットに検体を注射用水に5, 10, 25及び50%の濃度で希釈し、モルモットに6時間閉塞貼付したとき、各濃度共に皮膚反応は認められなかったことから、感作濃度及び惹起濃度は50%とした。

試験試料の調製

検体を、所定濃度に注射用水で用時希釈した。無感作群には注射用水を感作用試料として用いた。

感作及び惹起処置

左横腹部を刈毛し、感作試料0.2mLを6時間ずつ7日間隔で3回閉塞貼付した。最終感作の2週間後に全動物の右横腹部を毛刈りし、惹起試料0.2mLを6時間貼付後取り除き、注射用水で投与部位を清拭した。

【観察項目】

紅斑や浮腫などの皮膚反応の観察は、惹起貼付除去後24及び48時間に行い、以下の評価表に従って判定した。

皮膚反応の評価法

紅斑及び痂皮

紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑 (beet redness) からわずかな痂皮の形成 (深部損傷) まで	4

浮腫の形成

浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした浮腫 (はっきりとした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度浮腫 (約1mmの膨隆)	3
高度浮腫 (1mmの膨隆と暴露範囲を越えた広がり)	4

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、感作開始日（0日）、感作終了日（14日）、惹起日（28日）及び惹起後2日（30日）に全動物について行った。

【評価】

皮膚反応の程度を個体別に点数化し、観察時間ごとに各試験群の平均評点を算出すると共に陽性率を求め、感作群と非感作群の反応の程度を比較して感作性を評価した。

【結果】

[一般観察]

全例共一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[感作性]

各観察時間における皮膚反応の判定結果を以下の表に示す。

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		感作陽性率 (%)	
				貼付除去後 24時間					貼付除去後 48時間					24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間
				皮膚反応評点															
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4						
感作	25	25	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	0	25	10	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表に示した様に、検体 25%で惹起したとき、感作群、無感作群ともに皮膚反応は全く認められず、陽性率は0%であった。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB について、別の実施した Buehler 法による試験結果を次に示す。

試験実施日 (1998年8月7日～9月6日)

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)	
					貼付除去後 24 時間					貼付除去後 48 時間					24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
					皮膚反応評点															
					0	1	2	3	4	0	1	2	3	4						
感作	0.5	0.25	10	①	0	3	5	2	0	0	3	5	2	0	2.6	2.3	10	10	100	100
				②	3	7	0	0	0	6	4	0	0	0						
無感作	0	0.25	10	①	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				②	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0						

① ; 紅斑及び痂皮形成(最高点 4), ② ; 浮腫の形成(最高点 4)

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB 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及び試験方法の信頼性が確認された。