

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。

農薬抄録

インダジフラム

(除草剤)

作成：平成23年3月24日

改定：平成24年4月6日

バイエルクロップサイエンス株式会社

(作成責任者・所属) 登録センター部

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

目次

I. 開発の経緯	1
II. 物理的・化学的性状	2
III. 生物活性	26
IV. 適用及び使用上の注意	28
V. 残留性及び水質汚濁性	29
VI. 有用動植物等に及ぼす影響	33
VII. 使用時安全上の注意、解毒法等	42
VIII. 毒性	毒-1
1. 原体	毒-6
(1) 急性毒性	毒-6
(2) 皮膚および眼に対する刺激性	毒-10
(3) 皮膚感作性	毒-14
(4) 急性神経毒性	毒-15
(5) 急性遅発性神経毒性	毒-23
(6) 反復投与毒性	毒-24
(7) 反復経口投与神経毒性	毒-40
(8) 28日間反復投与遅発性神経毒性	毒-47
(9) 1年間反復投与毒性および発がん性	毒-48
(10) 繁殖毒性および催奇形性	毒-100
(11) 変異原性	毒-128
(12) 生体の機能への影響に関する試験	毒-134
2. 原体混在物および代謝物を用いた試験成績	毒-139
3. 製剤を用いた試験成績	毒-143
4. 参考試験	毒-151
IX. 動物及び土壌等における代謝分解	
代謝分解試験一覧表	運命-1
代謝分解物一覧表	運命-9
動物体内運命試験	運命-11
土壌中運命試験	運命-33
水中運命試験	運命-50
土壌吸着試験	運命-61
代謝のまとめ	運命-75
開発年表	付-1

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。

I. 開発の経緯

インダジフラムは、1996年にヘキスト・シェーリング・アグレボ社（現バイエルクロップサイエンス社）で創製された新規のアルキルアジン系化合物で、一年生イネ科雑草および一年生広葉雑草等、広範囲な草種に除草活性を有する土壌処理除草剤である。

我が国では、芝における主要雑草であるスズメノカタビラ、メヒシバ、オヒシバ等の一年生イネ科雑草およびヤハズソウ、コニシキソウ、オランダミミナグサ、オオイヌノフグリ等の一年生広葉雑草に高い除草効果を有することが確認された為、芝用除草剤として開発することとした。

2007年より BEH-507 フロアブルの試験名で芝用除草剤として財団法人日本植物調節剤研究協会の委託試験を開始し、2008年にコウライシバ・ノシバにおいて“実用化可能”の判定を得た。

海外においてはインダジフラムは海外においても食用及び非食用分野で開発されており、アメリカで2010年に非食用作物向け、2011年に食用作物向けの農薬登録を取得した。US EPAはインダジフラムの慢性参照用量(chronic reference dose: cRfD)を以下のとおり設定した：

cRfD : 0.02mg/kg/day

設定根拠資料：イヌを用いた1年間慢性毒性試験

無毒性量：2.0mg/kg/day

安全係数：100

その他、オーストラリア（非食用）等で農薬登録申請中である。

II. 物理的・化学的性状

1. 有効成分の名称及び化学構造

1) 一般名： インダジフラム、indaziflam (ISO 申請中)

2) 別名： 商品名：スペクタクル

試験コード名：BCS-AA10717、AE 1170437/AE 1170438*

* 原体は有効成分として 2 つの光学異性体 AE 1170437
および AE 1170438 を含有する。

3) 化学名

IUPAC

[和名]： N-[(1R,2S)-2,3-ジヒドロ-2,6-ジメチル-1H-インデン-1-イル]-6-
[(1RS)-1-フルオロエチル]-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン

[英名]： N-[(1R,2S)-2,3-dihydro-2,6-dimethyl-1H-inden-1-yl]-6-
[(1RS)-1-fluoroethyl]-1,3,5-triazine-2,4-diamine

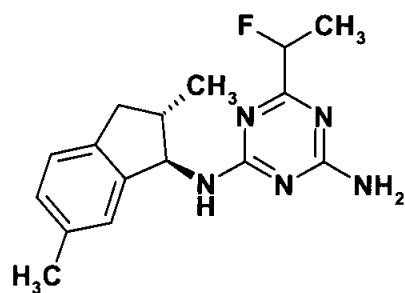
CAS

[和名]： N-[(1R,2S)-2,3-ジヒドロ-2,6-ジメチル-1H-インデン-1-イル]-6-
(1-フルオロエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン

[英名]： N-[(1R,2S)-2,3-dihydro-2,6-dimethyl-1H-inden-1-yl]-6-
(1-fluoroethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine

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。

4) 構造式：



5) 分子式： C₁₆H₂₀FN₅

6) 分子量： 301.37

7) CAS No. : 950782-86-2

(AE 1170437: 730979-19-8, AE 1170438: 730979-32-5)

2. 有効成分の物理的・化学的性状

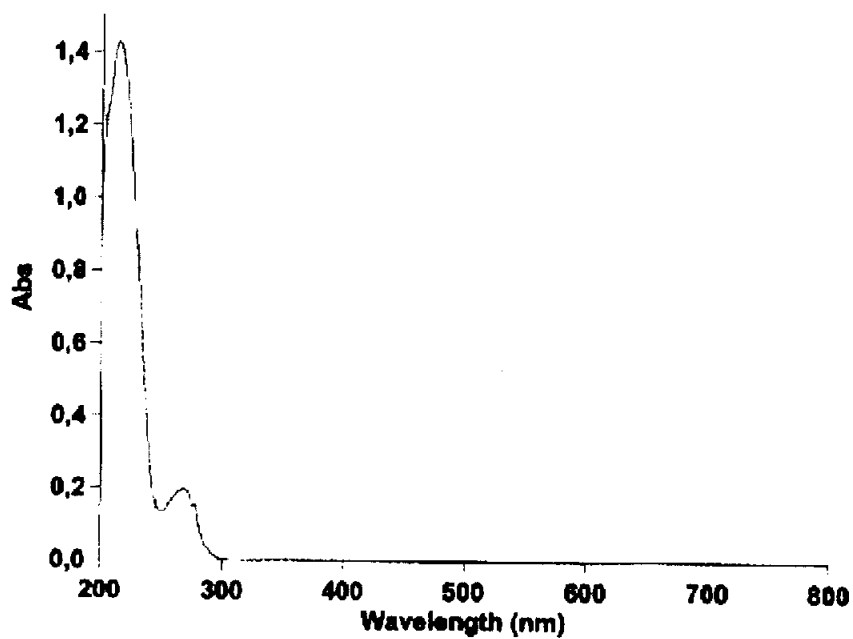
AE 1170437		
外観・臭気	白色粉末、 特徴的な臭気なし	官能法 2007年、GLP ガス比較比重瓶法
密度	1.23 g/cm ³ (20°C)	2007年、GLP
融点	183°C(アルミ製るつぼ) 184°C(ガラス製るつぼ)	示差走査熱分析法
沸点	320°C(アルミ製るつぼ)	2007年、GLP
蒸気圧	2.5 × 10 ⁻¹⁰ hPa (20°C) 6.8 × 10 ⁻¹⁰ hPa (25°C)	蒸気圧天秤法 2006年、GLP
溶解度(20°C)		
水	蒸留水(pH6.6-6.9) : 2.8 mg/L pH 4 : 4.4 mg/L pH 9 : 2.8 mg/L	カラム溶出法 2007年、GLP
ヘプタン	0.032 g/L	
トルエン	4.3 g/L	
ジクロロメタン	150 g/L	フラスコ法 (DMSO は目視)
エタノール	13.0 g/L	
アセトン	55 g/L	
アセトニトリル	7.6 g/L	2008年、GLP
酢酸エチル	47 g/L	
DMSO	> 250 g/L	
解離定数 (pKa)	3.51	OECD112 (分光光度法) 2008年、GLP
分配係数 (LogPow)	pH 2 : 2.0 pH 4 : 2.8 pH 7 : 2.8 pH 9 : 2.8	OECD117 (HPLC 法) 2006年、GLP

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

安定性

熱	325~346°C(アルミ製のつぼ) または 324~356°C(ガラス製のつぼ)で分解	示差熱分析法 2007年、GLP
加水分解性	半減期 (25°C) pH 4 : >1年 pH 7 : >1年 pH 9 : >1年	OECD No.111 2007年、GLP
水中光分解性 緩衝液(pH 7)	実験条件半減期 1.4日 (25°C) 環境中半減期 8.1日 (東京)	EPA §161-1、94/37/EC、95/36/EC 564~573W/m ² (300~800nm) 2006年、GLP
水中光分解性 自然水	実験条件半減期 5.7時間 (25°C) 環境中半減期 2.5日 (東京)	EPA §161-1、94/37/EC、95/36/EC 1044W/m ² (300~800nm) 2008年、GLP
土壌吸着	$K_{F^{ads}OC}=396\sim741$ $K_{F^{ads}}=6.087\sim11.127$ $K_{oc}=502\sim1029$ $K_F=21.571\sim21.613$	91/414/EEC、EPA PAG-N 163-1 2006年、GLP OECD 106 2009年、GLP
生物濃縮性	(LogPow <3.5 のため省略)	
UV、赤外、MS、 ¹ H-NMR、 ¹³ C-NMR 等のスペクトル	図 1-1~1.5	2008年、GLP

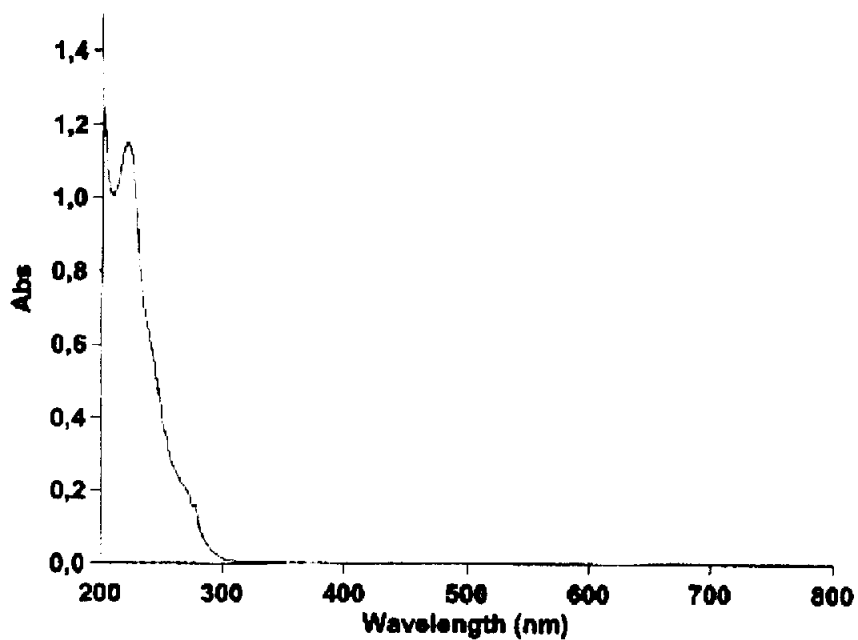
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



測定条件	測定機器： VARIAN CARY 50 測定溶媒：メタノール 測定濃度：10.93 mg/L	
測定結果	波長[nm]	モル吸光係数
	213	40005
	268	5530
	291	521

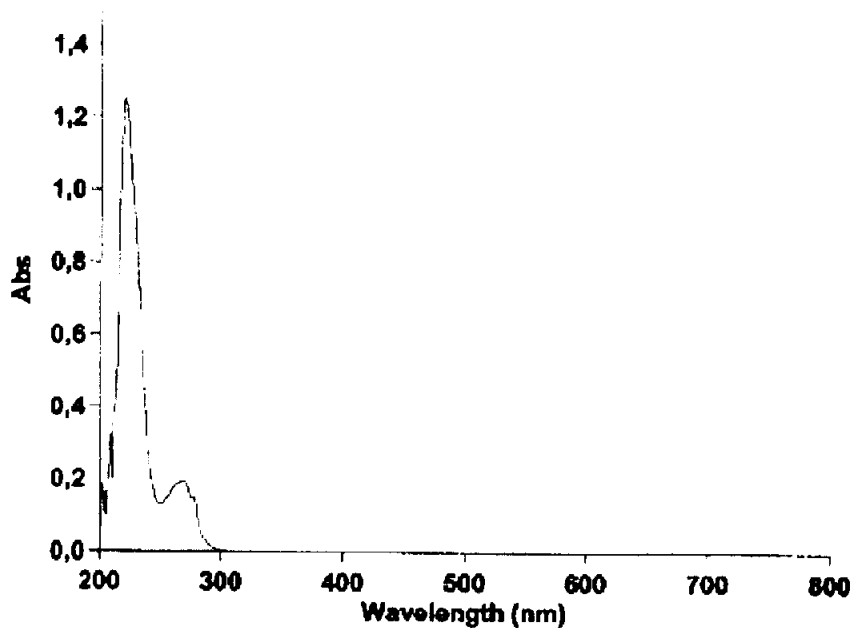
図 1-1. 紫外可視吸収スペクトル(中性溶媒)

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。



測定条件	測定機器：VARIAN CARY 50 測定溶媒：メタノール/0.1M 塩酸(9/1) 測定濃度：10.93 mg/L	
測定結果	波長[nm]	モル吸光係数
	201	34863
	221	32211
	291	1018

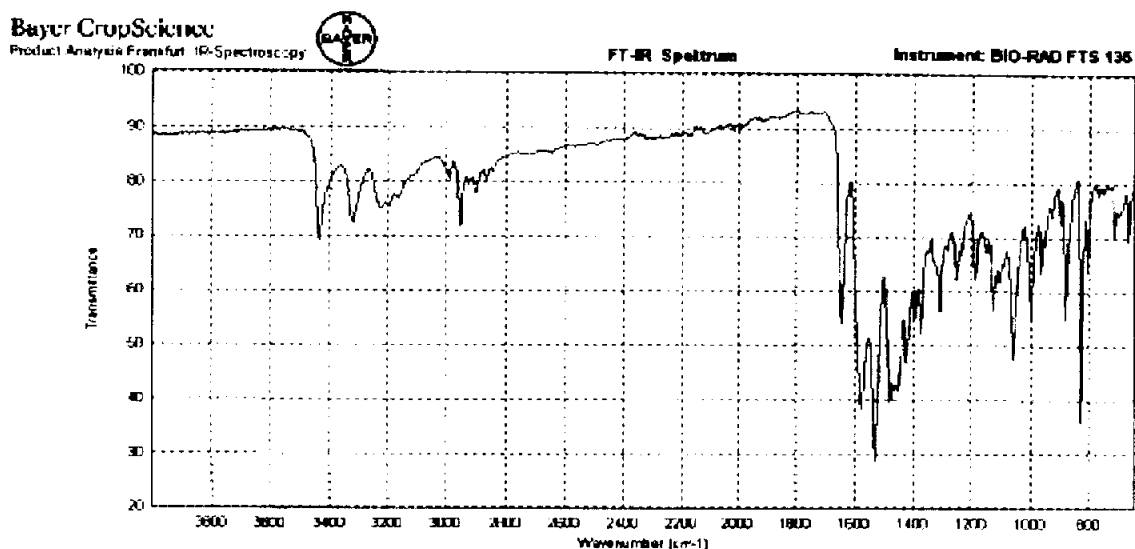
図 1-2. 紫外可視吸収スペクトル(酸性溶媒)



測定条件	測定機器：VARIAN CARY 50	
	測定溶媒：メタノール/0.1M 水酸化ナトリウム(9/1)	
	測定濃度：10.93 mg/L	
測定結果	波長[nm]	モル吸光係数
	220	35092
	268	5448
	291	437

図 1-3. 紫外可視吸収スペクトル(アルカリ性溶媒)

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。



測定条件	測定機器：BIO-RAD FTS 135	
ピークの帰属	吸収波長(cm ⁻¹)	吸収部位
	3435, 3322	-NH ₂ , -NH (アミン)
	2951, 2866	-CH ₃ (アルカン)
	2901	-CH (アルカン)
	1640	-NH ₂ (アミン)
	1475~1375	-CH ₃ , -CH ₂ (アルカン)
	1600~700	芳香族置換基バンド

図 2. 赤外吸収スペクトル

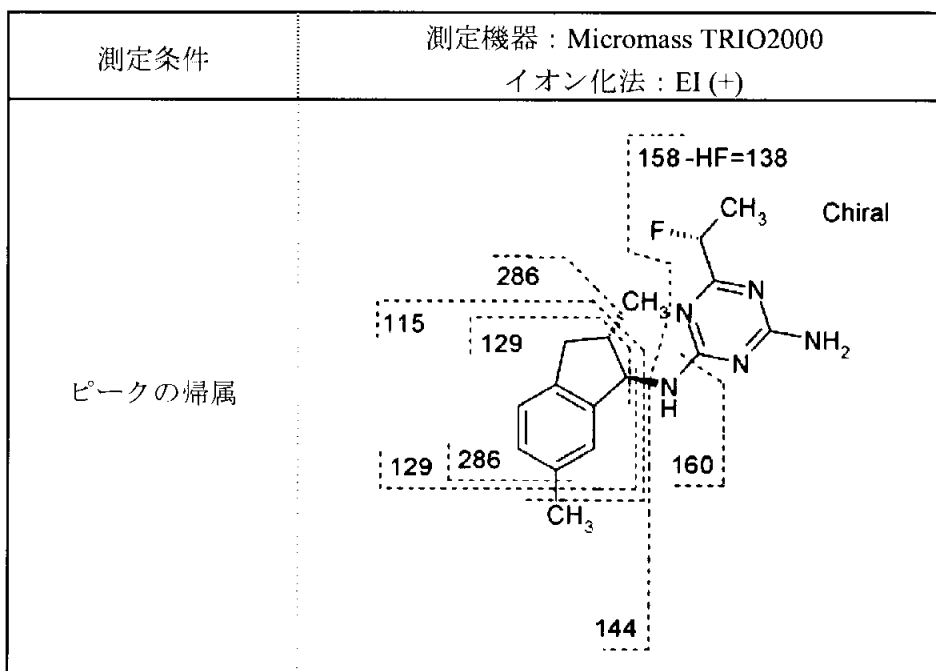
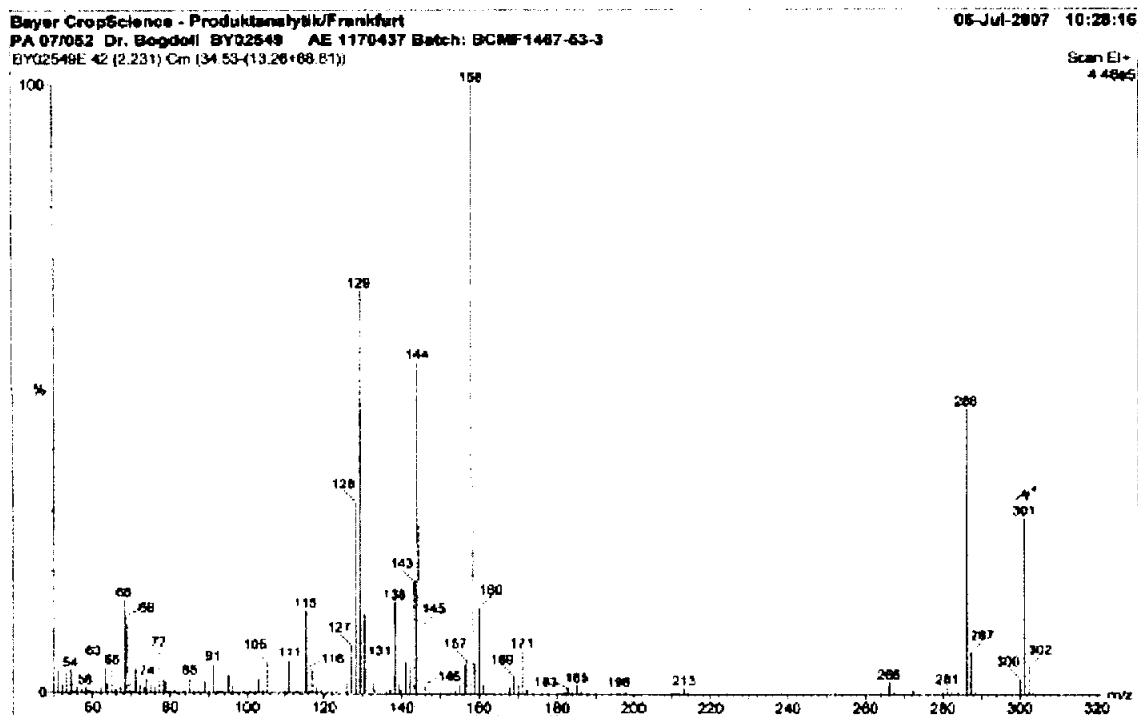
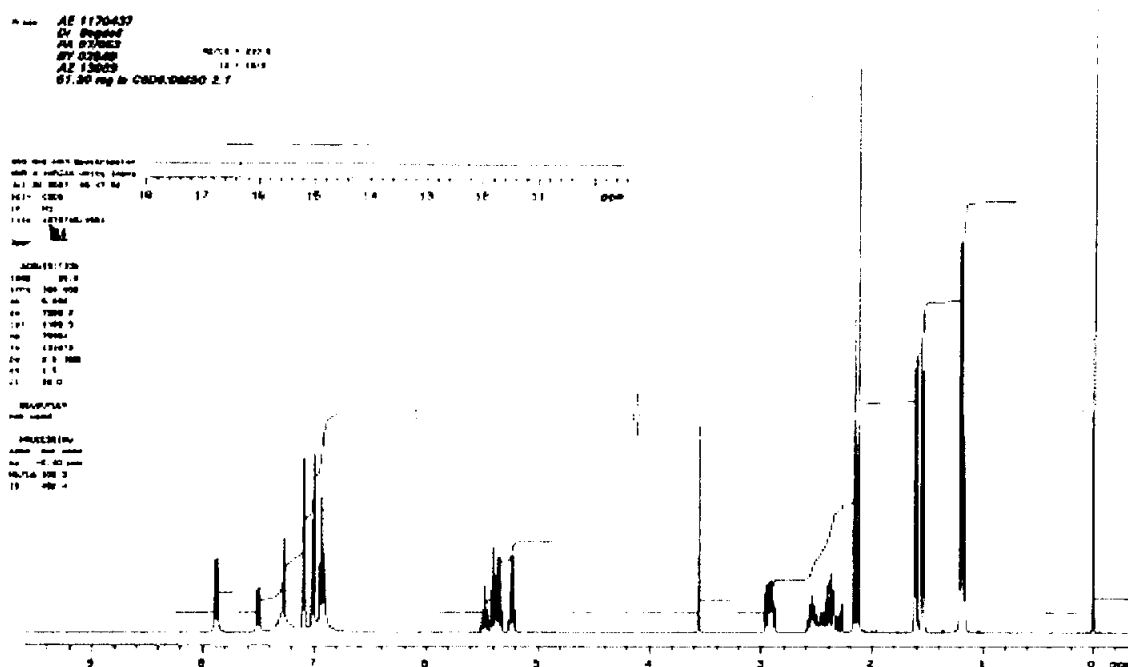
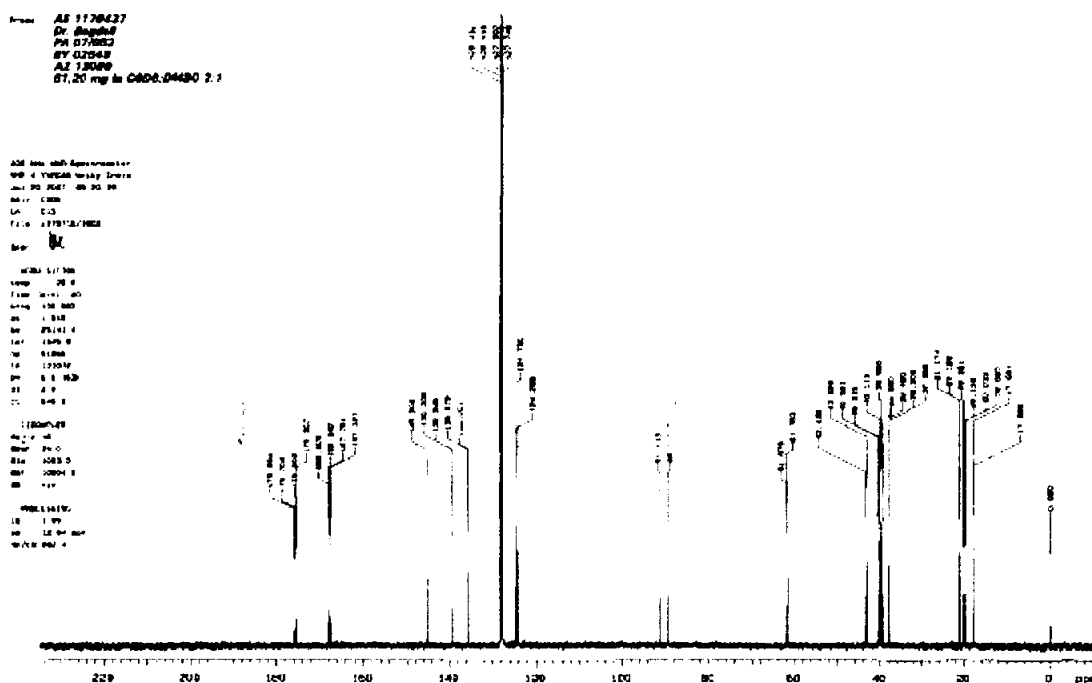


図3. 質量スペクトル



測定条件	測定機器: Varian 400 MHz 周波数: 399.966 MHz 溶媒: C6D6/DMSO-d6 (2/1) 内部標準: テトラメチルシラン (TMS)					
ピーク の帰属						
	帰属	$\delta_{H, J}$ カップリング	1H インテグラル	帰属	$\delta_{H, J}$ カップリング	1H インテグラル
	2	7.27, s 7.09, s	1	NH	7.88, d 8.9 Hz 7.51, d 9.0 Hz	1
	4	7.02-6.80, overlapped	1	NH ₂	7.4 - 7.1, br. 7.1 - 6.7, br.	2
	5	7.02-6.80, overlapped	1	13	5.4 - 5.3, m	1
	7	3.00-2.85, m 2.42-2.30, m	2	14	1.58, dd 24.0 and 6.5 Hz 1.56, dd 23.9 and 6.5 Hz	3
	8	2.61 - 2.42, m	1	15	1.20, d 6.7 Hz 1.17, d 6.5 Hz	3
9	5.48, t 8.9 Hz 5.40, t 8.9 Hz	1	16	2.16, s 2.12, s	3	

図 4-1. 核磁気共鳴スペクトル (1H)



測定条件	測定機器: Varian 400 MHz 周波数: 100.582 MHz 溶媒: C6D6/DMSO-d6 (2/1) 内部標準: テトラメチルシラン (TMS)			
ピーク の帰属				
	帰属	δ_c	帰属	δ_c
	1	145.32 145.30	9	61.88 61.75
	2	124.75 - 124.26	10, 12	168.10 167.78 167.32
	3	135.67 135.62	11	175.42 175.82
	4	128.11	13	90.25
	5	124.75 - 124.26	14	20.01 20.11
	6	139.31 139.25	15	17.95 17.86
	7	38.00 37.96	16	21.17 21.12
	8	43.42 43.02		

図 4-2. 核磁気共鳴スペクトル (^{13}C)

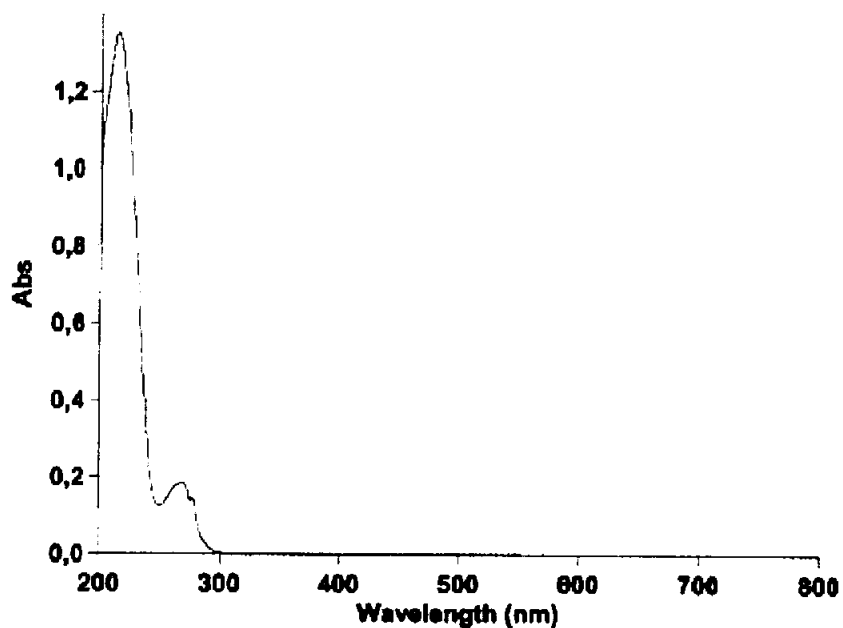
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

AE 1170438		
外観・臭気	白色粉末、 感知できる臭気なし	官能法 2007年、GLP ガス比較比重瓶法
密度	1.28 g/cm ³ (20°C)	2007年、GLP
融点	178°C(アルミ製のつぼ)	示差走査熱分析法
沸点	測定不能(329°Cで分解)	2007年、GLP
蒸気圧	3.7 × 10 ⁻¹¹ hPa (20°C) 1.1 × 10 ⁻¹⁰ hPa (25°C)	蒸気圧天秤法 2007年、GLP
溶解度(20°C)		
水	蒸留水(pH6.3-7.0) : 1.2 mg/L pH 4 : 1.7 mg/L pH 9 : 1.2 mg/L	カラム溶出法 2007年、GLP
ヘプタン	0.019 g/L	
トルエン	1.3 g/L	フラスコ法
ジクロロメタン	28 g/L	
エタノール	5.1 g/L	
アセトン	17 g/L	2008年、GLP
酢酸エチル	15g/L	
解離定数 (pKa)	3.56	OECD112 (分光光度法) 2008年、GLP
分配係数 (LogPow)	pH 2 : 2.1 pH 4 : 2.8 pH 7 : 2.8 pH 9 : 2.8	OECD117 (HPLC 法) 2007年、GLP

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

安定性		
熱	329°Cで分解開始	示差熱分析法
		2007年、GLP
加水分解性	半減期 (25°C) pH 4 : >1年 pH 7 : >1年 pH 9 : >1年	(AE 1170437 の試験成績で代替)
水中光分解性 緩衝液(pH 7)	実験条件半減期 1.4日 (25°C) 環境中半減期 8.1日 (東京)	(AE 1170437 の試験成績で代替)
水中光分解性 自然水	実験条件半減期 5.7時間 (25°C) 環境中半減期 2.5日 (東京)	(AE 1170437 の試験成績で代替)
土壌吸着	KFadsOC=396~741 KFads=6.087~11.127 Koc=502~1029 KF=21.571~21.613	(AE 1170437 の試験成績で代替) (AE 1170437 の試験成績で代替)
生物濃縮性	(logPow<3.5のため省略)	
UV、赤外、MS、 ¹ H-NMR、 ¹³ C-NMR 等のスペクトル	図 5~8 参照	2008年、GLP

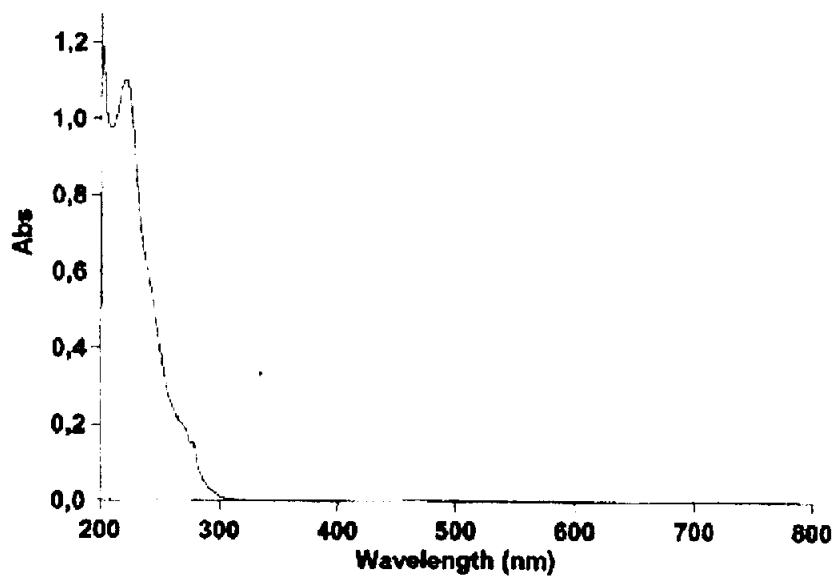
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



測定条件	測定機器： VARIAN CARY 50 測定溶媒：メタノール 測定濃度：10.49 mg/L	
測定結果	波長[nm]	モル吸光係数
	214	39415
	268	5431
	291	464

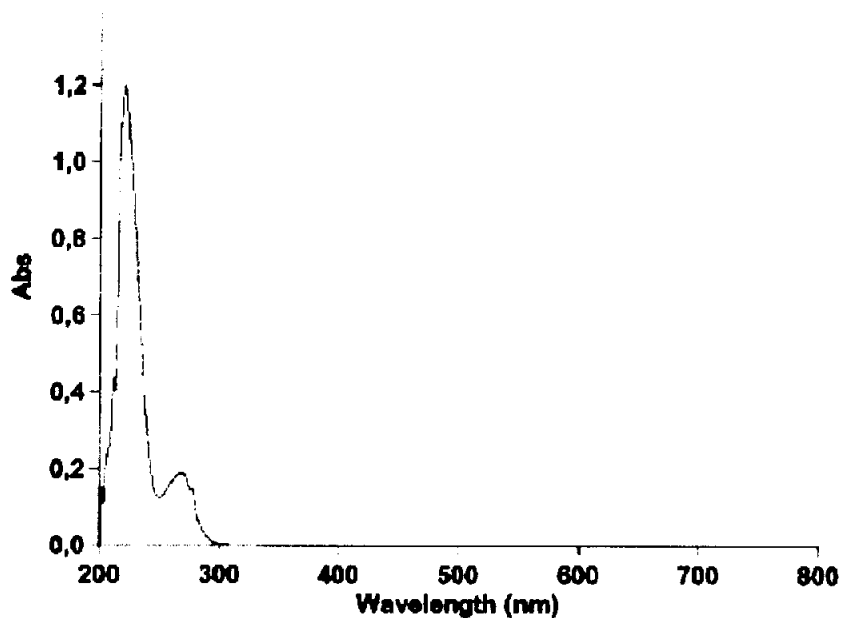
図 5-1. 紫外可視吸収スペクトル(中性溶媒)

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。



測定条件	測定機器： VARIAN CARY 50 測定溶媒：メタノール/0.1M 塩酸(9/1) 測定濃度：10.49 mg/L	
測定結果	波長[nm]	モル吸光係数
	202	34526
	220	32030
	291	979

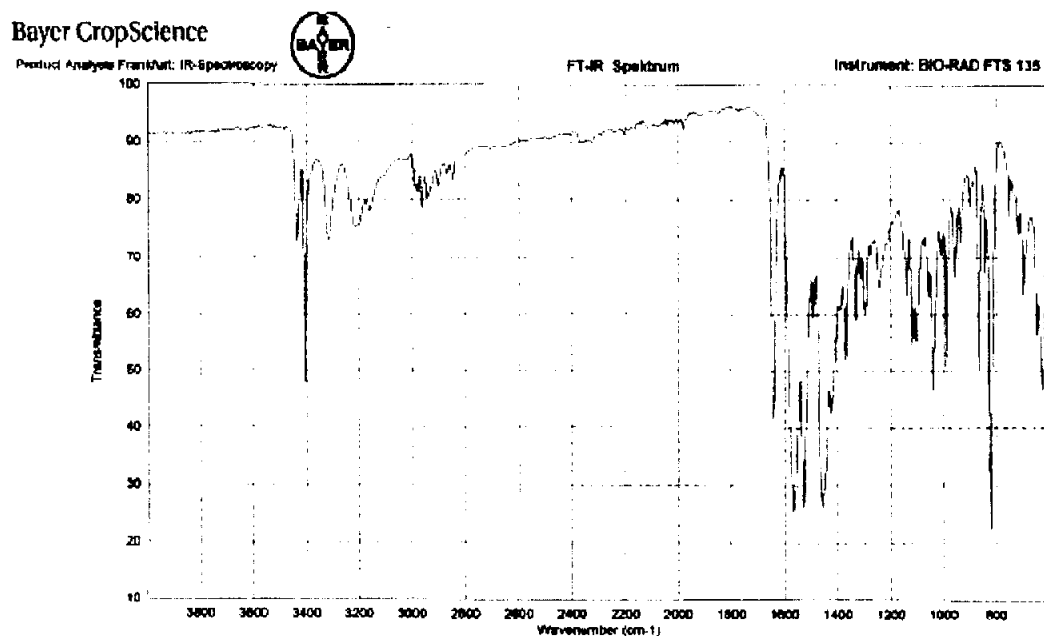
図 5-2. 紫外可視吸収スペクトル(酸性溶媒)



測定条件	測定機器： VARIAN CARY 50	
	測定溶媒：メタノール/0.1M 水酸化ナトリウム(9/1)	
	測定濃度：10.49 mg/L	
測定結果	波長[nm]	モル吸光係数
	220	34960
	268	5506
	291	459

図 5-3. 紫外可視吸収スペクトル(アルカリ性溶媒)

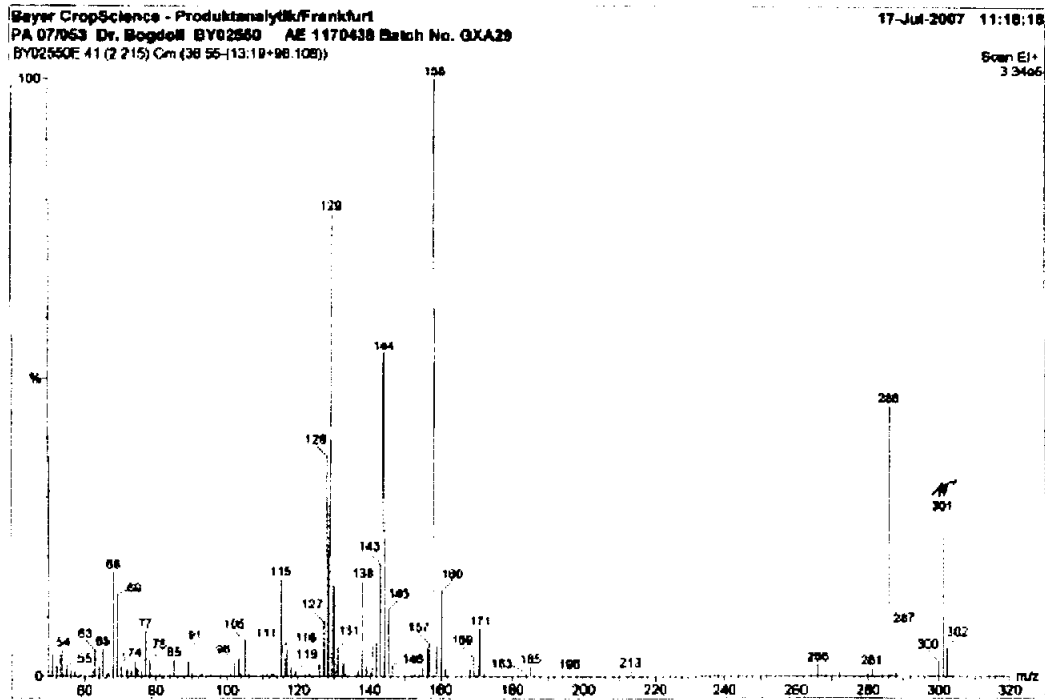
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



測定条件	測定機器：BIO-RAD FTS 135	
ピークの帰属	吸収波長(cm ⁻¹)	吸収部位
	3435, 3407, 3317	-NH ₂ , -NH (アミン)
	2962, 2869	-CH ₃ (アルカン)
	2901	-CH (アルカン)
	1643	-NH ₂ (アミン)
	1475~1375	-CH ₃ , -CH ₂ (アルカン)
	1600~700	芳香族置換基バンド

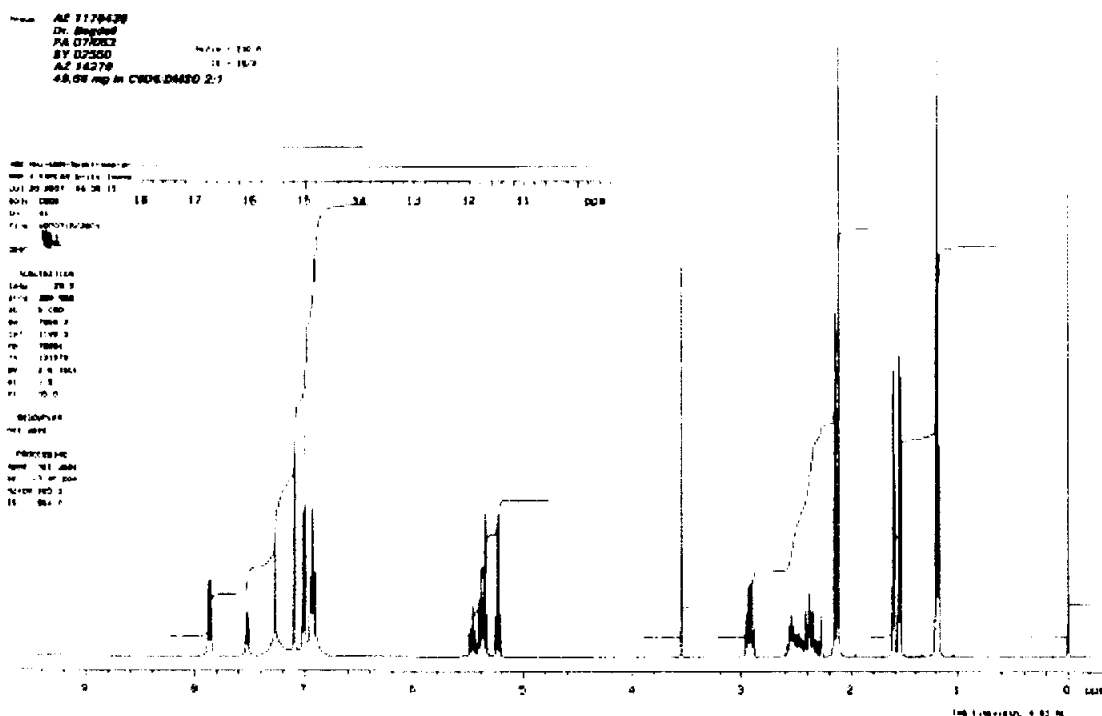
図 6. 赤外吸収スペクトル

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。



測定条件	測定機器 : Micromass TRIO2000 イオン化法 : EI (+)
ピークの帰属	<p>158 -HF=138</p> <p>Chiral</p> <p>286</p> <p>115</p> <p>129</p> <p>160</p> <p>144</p> <p>286</p> <p>129</p> <p>286</p> <p>160</p> <p>144</p>

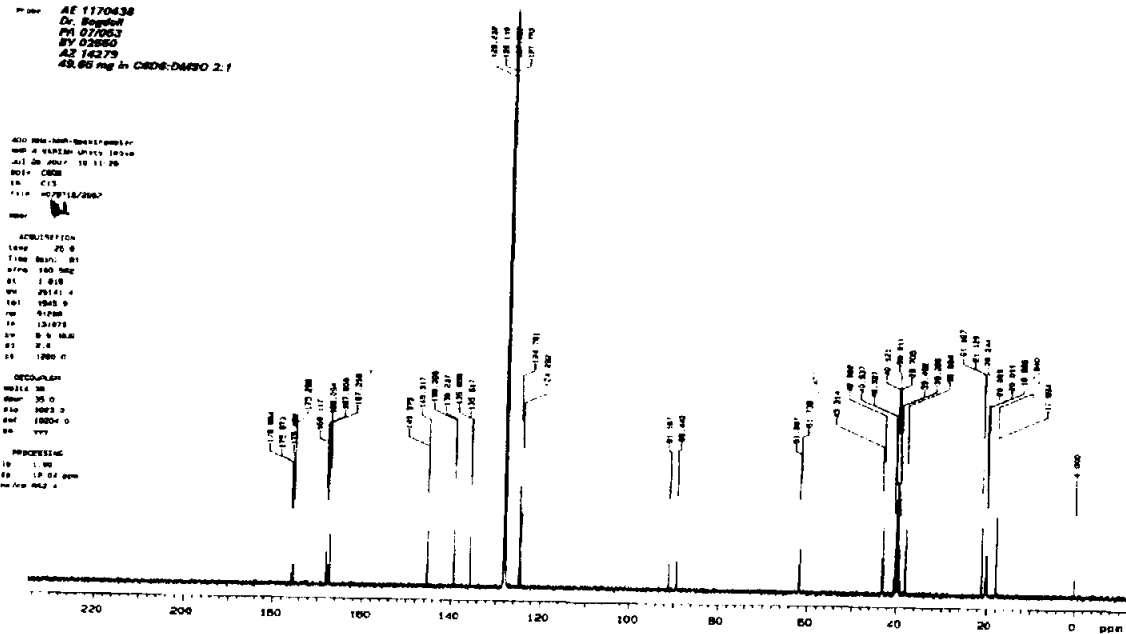
図 7. 質量スペクトル



測定条件	測定機器: Varian 400 MHz 周波数: 399.966 MHz 溶媒: C6D6/DMSO-d6 (2/1) 内部標準: テトラメチルシラン (TMS)					
ピーク の帰属						
	帰属	δ_H, μ カップリング	1H インテグラル	帰属	δ_H, μ カップリング	1H インテグラル
	2	7.27, s 7.09, s	1	NH	7.87, d 8.9 Hz 7.52, d 8.9 Hz	1
	4	7.02-6.90, overlapped	1	NH ₂	7.4 - 7.1, br. 7.1 - 6.7, br.	2
	5	7.02-6.90, overlapped	1	13	5.30, dq 48.8 and 5.6 Hz	1
	7	2.98-2.88, m 2.43-2.30, m	2	14	1.58, dd 24.0 and 7.5 Hz 1.582, dd 23.9 and 7.5 Hz	3
	8	2.61 - 2.42, m	1	15	1.23 - 1.17, m	3
	9	5.47, t 8.8 Hz 5.39, t 9.0 Hz	1	16	2.16, s 2.12, s	3

図 8-1. 核磁気共鳴スペクトル (1H)

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。

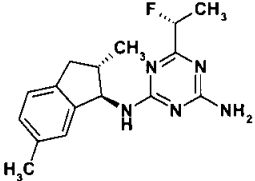
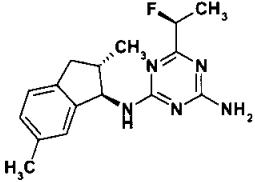


測定条件	測定機器: Varian 400 MHz 周波数: 100.582 MHz 溶媒: C6D6/DMSO-d6 (2/1) 内部標準: テトラメチルシラン (TMS)			
ピークの 帰属				
	帰属	δ_c	帰属	δ_c
	1	145.38 145.32	9	61.89 61.73
	2	124.76 - 124.26	10, 12	168.12 168.09
	3	135.66 135.62		167.81 167.36
	4	128.11	11	175.78 175.40
	5	124.76 - 124.26	13	90.31
	6	139.30 139.24	14	20.12 19.98
	7	38.00	15	17.94 17.89
	8	43.31 42.98	16	21.17 21.13

図 8-2. 核磁気共鳴スペクトル (¹³C)

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。

3. 原体の成分組成

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量(%)	
	一般名	化学名				規格値	通常値
有効成分	AE 1170437	<i>N</i> -[(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2,3-ジヒドロ-2,6-ジメチル-1 <i>H</i> -インデン-1-イル]-6-[(1 <i>R</i>)-1-フルオロエチル]-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン		C ₁₆ H ₂₀ F N ₅	301.4		
	AE 1170438	<i>N</i> -[(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2,3-ジヒドロ-2,6-ジメチル-1 <i>H</i> -インデン-1-イル]-6-[(1 <i>S</i>)-1-フルオロエチル]-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン		C ₁₆ H ₂₀ F N ₅	301.4		
原体混在物							

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。

3. 原体の成分組成(続き)

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

3. 原体の成分組成(続き)

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

4. 製剤の組成

19.1%水和剤 (スペクタクルフロアブル)

インダジフラム	19.1 %
界面活性剤、水等	80.9 %

Ⅲ． 生物活性

1. 生物活性の範囲

本剤の殺草スペクトラムを温室内のポット試験、圃場試験等の生物試験を実施して調べた結果、イネ科、キク科、マメ科、タデ科、ナデシコ科、トウダイグサ科、アブラナ科、ゴマノハグサ科、シソ科などの一年生イネ科および広葉雑草に対し雑草の発生前の処理で高い活性を示すことが判った(表1)。これらの雑草の中には芝地内で旺盛な生育を示し、芝に大きな影響を与えるものが多い。

日本芝(こうらいしば、のしば、ひめこうらいしば)に対しては高い選択性を示し日本芝の休眠期から生育期まで本剤の使用が可能である。今までの試験で得られた本剤の主な草種に対する活性は次頁表1のとおりである。

2. 作用機構

本剤は、植物の細胞壁を構成する不溶性セルロースの生合成を阻害すると推定される。この結果、植物の生長に不可欠な細胞壁の生成、細胞分裂、細胞伸長ができなくなり枯死に至る。

本剤は茎頂部、根端部等の細胞分裂・細胞伸長・セルロース生合成の盛んな部位にのみ阻害活性を示し、既に組織の完成している部位ではセルロースの生合成が不要の為阻害活性を示さない。そのため、発生後生育が進んだ雑草には活性が低い。

3. 作用特性と防除上の利点

本剤は日本芝に対する選択性が高いので芝の休眠期、生育期を問わず安心して使用できる。また本剤は、防除困難なスズメノカタビラ、メヒシバ、オヒシバ等の一年生イネ科雑草およびヤハズソウ、コニシキソウ、オランダミミナグサ、オオイヌノフグリ等の一年生広葉雑草に対し除草効果が高く有効成分量として40-60g/haの使用量で防除できる。さらに、近年問題になっているジニトロアニリン系薬剤またはスルホニルウレア系薬剤に低感受性の雑草に対しても、作用機作が異なることにより安定した除草効果を示す。

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

表1. インダジフラムの主な草種に対する活性（雑草発生前処理）

草 種		除草効果*
学 名	和 名	
<i>Poa annua</i>	スズメノカタビラ	+++
<i>Diditaria ciliaris</i>	メヒシバ	+++
<i>Diditaria violascence</i>	アキメヒシバ	+++
<i>Setaria viridis</i>	エノコログサ	+++
<i>Conyza bonariensis</i>	アレチノギク	+++
<i>Gnaphalium spicatum</i>	ウラジロチチコグサ	+++
<i>Conza sumatrensis</i>	オオアレチノギク	+++
<i>Erigeron canadensis</i>	ヒメムカシヨモギ	+++
<i>Stenactis annuus</i>	ヒメジョオン	+++
<i>Erigeron philadelphicus</i>	ハルジオン	+++
<i>Senecio vulgaris</i>	ノボロギク	+++
<i>Galinsoga quadriradiata</i>	ハキダメギク	+++
<i>Centipeda minima</i>	トキンソウ	+++
<i>Kummerowia striata</i>	ヤハズソウ	+++
<i>Vicia angustifolia</i>	カラスノエンドウ	+++
<i>Vicia hirsuta</i>	スズメノエンドウ	+++
<i>Persicaria longiseta</i>	イヌタデ	+++
<i>Cerastium glomeratum</i>	オランダミミナグサ	+++
<i>Stellaria media</i>	ハコベ	+++
<i>Sagina japonica</i>	ツメクサ	+++
<i>Euphorbia supina</i>	コニシキソウ	+++
<i>Cardamine flexuosa</i>	タネツケバナ	+++
<i>Veronica persica</i>	オオイヌノフグリ	+++
<i>Lamium purpureum</i>	ヒメオドリコソウ	+++
<i>Lamium amplexicaule</i>	ホトケノザ	+++
<i>Fatoua Villosa</i>	クワクサ	+++

*除草効果； +++ 効果極大、++ 大、+ 小、— 無

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。

IV. 適用及び使用上の注意

1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

スペクトラルフロアブル (インダジフラム 19.1%水和剤)

作物名	適用雑草名	使用時期	散布量	散布水量	本剤の使用回数	使用方法
日本芝	一年生雑草	雑草発生前	20-30 ml/10a	200-300 L/10a	2回以内	全面 土壌散布

インダジフラムを含む農薬の総使用回数
2回以内

2. 使用上の注意事項

- (1) 本剤は貯蔵中に分離することがあるので、使用に際しては容器をよく振ること。
- (2) 本剤は一年生雑草の発生前に有効なので、時期を失しないように均一に散布すること。
- (3) 十分に活着した日本芝に使用すること。
- (4) 寒冷地型芝には薬害を生じるので使用しないこと。
- (5) 本剤の使用に当っては、使用量、使用時期、使用方法などを誤らないよう注意し、特に初めて使用する場合は、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

3. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

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

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。

V. 残留性

1. 土壌残留

(1) 分析法の原理と操作概念

① インダジフラム

試料を水-アセトニトリルで抽出後、C₁₈ミニカラムで精製する。

液体クロマトグラム・質量分析計(LC/MS)を用いてインダジフラムを定量する。

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

(2) 分析対象の化合物

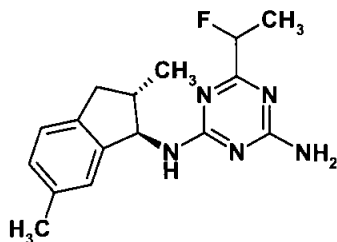
① 親化合物；インダジフラム

[化学名] *N*-[(1*R*,2*S*)-2,6-ジメチル-2,3-ジヒドロ-1*H*-インデン-1-イル]-6-[(*RS*)-1-フルオロ
エチル]-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン

[分子式] $C_{16}H_{20}FN_6$

[分子量] 301.4g/mol

[構造式]



② 代謝物

③ 代謝物

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。

④ 代謝物

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。

(3) 残留試験結果

畑地圃場試験

推定半減期

親化合物： 火山灰土；約31日、洪積土；約8日

親化合物+代謝物： 火山灰土；約66日、洪積土；約12日

試料調製 及び 採取場所	被験物質 の濃度 (薬量)	使用 回数	経過 日数	分析値 (mg/kg)									
				インダジフラム									
				最高値	平均値								
日植調 研究所 (火山灰) 土性： 軽植土 平成20年度 (2008年)	19.1% 7077 ^g /L 0.1L/10a 2回散布	0	-	<0.005	<0.005								
		2	0	0.420	0.402								
		2	1	0.499	0.498								
		2	7	0.346	0.344								
		2	14	0.327	0.326								
		2	30	0.222	0.216								
		2	60	0.152	0.150								
		2	120	0.109	0.106								
		2	180	0.095	0.094								
		2	243	0.131	0.128								
2	367	0.062	0.062										
新中国グリー ン研究所 (洪積土) 土性： 植壤土 平成20年度 (2008年)	19.1% 7077 ^g /L 0.1L/10a 2回散布	0	-	<0.005	<0.005								
		2	0	0.129	0.129								
		2	1	0.144	0.144								
		2	7	0.067	0.066								
		2	14	0.049	0.048								
		2	30	0.034	0.034								
		2	61	0.027	0.027								
		2	121	0.009	0.009								
2	181	0.006	0.006										

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。

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に対する影響

No.	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群当り の供試数	試験 方法	試験水 温(°C)	LC50 又は EC50 値 (mg/L)				(報告年)	備 考 ・ 頁
						24 h	48 h	72 h	96 h		
1 GLP	魚類急性 毒性試験 原体	コイ	10	半止水式	20.6 ~23.1	0.754	0.754	0.714	0.714	(2009年)	34
2 GLP	ミジンコ類急性 遊泳阻害試験 原体	オオミジ ンコ	20	止水式	19.9 ~20.1	>9.88	>9.88	---	---	(2006年)	35
3 GLP	藻類生長 阻害試験 原体	<i>Pseudokirch -neriella subcapitata</i>	初期濃度 10 ⁴ cells/mL	振とう 培養法	24.0 ~24.4	ErC50 (0-72h) : 0.118 NOEC(0-72h) : 0.0242				(2008年)	36
4 GLP	魚類急性 毒性試験 フロアブル	コイ	10	止水式	22.1 ~22.6	5.02	5.02	5.02	4.74	(2009年)	37
5 GLP	ミジンコ類急性 遊泳阻害試験 フロアブル	オオミジ ンコ	30	止水式	20.3 ~20.8	287	149	---	---	(2009年)	38
6 GLP	藻類生長 阻害試験 フロアブル	<i>Pseudokirch -neriella subcapitata</i>	初期濃度 10000 cells/mL	振とう 培養法	21.3 ~22.0	ErC50 (0h-72h) : 0.750 NOECr : 0.0916					39

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。

1) コイを用いた急性毒性試験

(資料No. 1)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2009 年

被験物質 : インダジフラム原体

供試生物 : コイ (*Cyprinus carpio*)

1 群各 10 匹、平均全長 : 5.1cm (4.5~5.6cm)、平均体重 : 1.7g (1.2~2.3g)

方 法 : 半止水式 (48 時間目に換水)、暴露時間 : 96 時間、試験液量 : 50L/試験区、
照光時間 : 16 時間/日。

各試験区ごとに所定量の被験物質を秤量 (有効成分純度で補正) し HCO-40
を 10%含む DMSO 5g に溶解した後、試験用水 (脱塩素水道水) 50L を入れた水
槽に添加、攪拌し所定濃度の試験水を調製した。全試験群とも溶媒使用濃度
は 100mg/L であった。

本試験の濃度は、予備試験の結果 (LC₅₀(96h)=0.73mg/L、0%死亡最高濃度
0.54mg/L)、100%死亡最低濃度 1.00mg/L、NOEC=0.54mg/l) に基づき、最低
濃度を 0.3mg/L、最高濃度を 1.00mg/L とし公比 1.35 で 5 濃度を設定した。

試験条件 : 温度 ; 20.6~23.1°C、pH ; 7.6~8.0、溶存酸素濃度 ; 88~100% (対飽和濃度)

結 果 :

試験設定濃度 (mg/L)	0 (対照)、0 助剤対照、 0.30、0.41、0.55、0.74、1.00	
LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]*	24 h	0.754 [0.662-0.868]
	48 h	0.754 [0.662-0.868]
	72 h	0.714 [0.628-0.816]
	96 h	0.714 [0.628-0.816]
NOEC (mg/L)*	0.41	

* 設定濃度 (有効成分換算値) に基づく。

暴露期間中、全ての試験区において、試験水中の被験物質濃度の変動は設定濃度の±20%
未満であった。

0.55mg/L 以上の試験区で死亡が認められ、1.00mg/L では 100%死亡した。

毒性症状として、0.55mg/L 区で平衡失調が、0.55mg/L 以上の試験区で反転、反応過敏およ
び死亡が、1.00mg/L 区で自発運動量減少、横転および体色黒化が認められたが、生存魚の
毒性症状は暴露 24 時間後までに全て回復した。0.74mg/L 区では暴露 72 時間後 (換水 24
時間後) に再度反転および反応過敏が観察されたが、いずれも 96 時間後までに回復した。
0.41mg/L 以下の試験区および対照区ならびに助剤対照区では一般状態に異常は見られな
かった。

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

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料No. 2)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

被験物質：インダジフラム原体

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
1群各20頭 (生後24時間以内の個体：5頭/200ml/容器、4容器/群)

方法：止水式、暴露時間：48時間

被験物質をアセトンに溶解し所定濃度のストック溶液を調整したのち希釈水で希釈し最終濃度の試験液を得た。アセトンの最終使用濃度はいずれの試験区とも0.5ml/Lとした。0.5ml/L未満の溶媒量では最高濃度の試験水を得ることが出来なかった。(申請者注：助剤の最終濃度はガイドラインで定める0.1ml/Lを上回るものの、助剤対照区で毒性兆候が認められなかったことから、試験の有効性に影響はなかったものと考えられる。)

試験濃度および助剤は被験物質の希釈水に対する溶解性に基いて決定した。希釈水に対する被験物質の溶解性を検討した結果、アセトン0.5ml/Lを助剤として使用した場合に被験物質は最大10mg/L溶解した。これより低い濃度の助剤の使用では被験物質は溶解しなかった。これより、本試験における最高濃度を10mg/Lとし、以下公比2で5濃度設定した。

試験条件：温度；19.9～20.1℃、pH；8.1～8.4、溶存酸素濃度；87～92% (対飽和濃度)
照明；16時間/日 (約430-750lux)

結果：

試験設定濃度 (mg/L)	0 (対照)、0 (助剤対照)、 0.63、1.25、2.5、5.0、10	
平均実測濃度 (mg/L)	<0.06 (対照)、<0.06 (助剤対照)、 0.62、1.23、2.54、4.86、9.88	
EC ₅₀ (mg/L)*	24 h	> 9.88
	48 h	> 9.88
NOEC (mg/L)*	4.86	

*平均実測濃度に基づく。

10mg/L区においてに遊泳阻害及び毒性兆候が認められた。5.0mg/L以下の試験区では遊泳阻害および毒性兆候は認められなかった。

各試験液中の有効成分濃度(対設定値)は、暴露開始時96～102%、暴露終了時98～101%で、全期間平均は97～101%であった。

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

3) 藻類生長阻害試験

(資料No. 3)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2008 年

被験物質 : インダジフラム原体

供試生物 : 緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*, 1973 株)

初期濃度 約 10^4 cells/mL

方 法 : 振とう培養法、暴露時間 : 96 時間

3 連/試験区、100mL/容器

照度 : 約 4280~4730 lux、培地 : 1xAAP 培地

4.0g/Lの被験物質アセトン溶液0.1mlを培地で希釈して1Lとし最高濃度の試験液を調製した。200 μ g/L以下の試験区は一段階上の濃度区の試験液を培地で希釈し、適量のアセトンを添加して調整した。アセトンの最終使用濃度はいずれの試験区とも0.1ml/Lとした。

試験濃度は、0.4、4、40、400 および 4000 μ g/L の濃度で実施した予備試験結果に基づいた。予備試験において 40 μ g/L 以下の濃度では影響は認められず、一方 400 μ g/L 以上の濃度では顕著な生長阻害が見られた。

試験水温 : 24.0~24.4 $^{\circ}$ C、pH ; 7.4~9.8

結果 :

試験設定濃度 (mg/L)	0 (対照)、0 (助剤対照)、 0.025、0.05、0.1、0.2、0.4
平均実測濃度 (mg/L)	<LOQ (対照)、<LOQ (助剤対照)、 0.0242、0.0511、0.102、0.196、0.403
ErC50 (mg/L) * [95%信頼限界]	0-72h : 0.118 [0.114~0.123] 0-96h : 0.134 [0.127~0.142]
NOECr (mg/L) *	0-72h : 0.0242 0-96h : 0.0511

* 平均実測濃度に基づく、LOQ : 定量限界(0.00292mg/L)

試験液中の有効成分濃度(対設定値)は、暴露開始時で 93~103%、96 時間暴露終了時で 97~102%、全期間平均では 97~102%であった。

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

4) スペクタクルフロアブルのコイを用いた急性毒性試験

(資料No. 4)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2009 年

被験物質 : スペクタクルフロアブル
検体組成 : インダジフラム 200g/L

供試生物 : コイ (*Cyprinus carpio*)
1 群 各 10 匹
全長 : 3.77 ± 0.22 cm (平均±標準偏差)、
体重 : 0.55 ± 0.14 g (平均±標準偏差)

方 法 : 止水式、暴露時間 : 96 時間
被験物質の所定量を、試験用水 (希釈水) に直接添加し、所定濃度試験溶液 (30L) を調製した。対照群には被験物質を加えない試験用水 (希釈水) のみを用いた。

試験水温 : $22.1 \sim 22.6$ °C

結 果 :

試験設定濃度 (mg/L)	0(対照群)、1、1.8、3.2、5.6、10	
LC ₅₀ (mg/L)	24 h	5.02 (4.26~5.92)
	48 h	5.02 (4.26~5.92)
	72 h	5.02 (4.26~5.92)
	96 h	4.74 (4.11~5.48)
NOEC (mg/L)	3.2	
死亡例の認められなかった最高濃度 (mg/L)	3.2	

() : 95%信頼限界

5.6mg/L および 10mg/L の試験区では平衡失調および横転が認められた。

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。

5) スペクタクルフロアブルのミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料No. 5)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2009 年

被験物質 : スペクタクルフロアブル
検体組成 : インダジフラム 197.5g/L (分析値)

供試生物 : オオミジンコ (*Daphnia magna*)
1 群 各 30 頭 (6 頭/容器、5 容器/群)

方 法 : 止水式、暴露時間 : 48 時間
所定量の被験物質を直接希釈水に添加し、所定濃度の試験水を調製した。

試験水温 : 20.3~20.8°C

結 果 :

試験設定濃度 (mg/L)	0(対照群)、20、40、80、160、320	
EC ₅₀ (mg/L)	24 h	287 (199~414)
	48 h	149 (60~371)

() : 95%信頼限界

40mg/L 以上の濃度区にて検体による試験水の混濁および検体の沈殿が認められた。

40mg/L 以上の濃度区にて遊泳阻害が認められた。

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。

6) スペクタクルフロアブルの藻類生長阻害試験

(資料No. 6)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2009 年

被験物質 : スペクタクルフロアブル

検体組成 : インダジフラム 197.5g/L (分析値)

供試生物 : 緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*/SAG61.81 株)

初期生物量 10000 cells/mL

方 法 : 振とう培養法、暴露時間 : 72 時間

3 連/試験区 (6 連/対照区)、150mL/容器

照度 ; 4,440~8880 lux

試験直前に被験物質 29.5mg を培地 100g に添加し、十分攪拌しストック溶液を調製した。このストック溶液の所定量を培地で希釈し、各所定濃度の試験液を調製した。

試験水温 : 21.3~22.0℃

結 果 :

試験設定濃度 (mg/L)	0(対照群), 0.0286, 0.0916, 0.293, 0.938, 3.00
ErC ₅₀ (0~72 h)	0.750 mg/L (0.143 ~5.87 mg/L)
NOECr (0~72 h)	0.0916 mg/L

() : 95%信頼限界

2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

2-1 蚕、ミツバチおよび天敵昆虫に対する影響

資料番号	試験名称および検体	供試生物	一区当り供試数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	(実施年)
7	蚕に対する影響試験 原体	蚕 品種： 錦秋×鐘和 4 齢起蚕	60頭 (20頭容器) (3 連制)	人工飼料 1g 当り 被験物質 33.3μg(原体量)を 混合し給餌した。	影響を認めな かった	(2008)
8 GLP	ミツバチに対する 急性経口毒性 原体	ミツバチ (洋種) <i>Apis mellifera L.</i> (2~4 週齢)	60 頭 (10 頭×6 反復)	経口投与 132.8μg/頭 OECD がトライ No.213,214	LD50 24時間、 48時間： >132.8μg/頭**	(2008)
	胸部に塗布 110.7μg/頭 OECD がトライ No.213,214			LD50 24時間、 48時間： >110.7μg/頭**		
9	天敵昆虫に対する 急性接触毒性 原体	コレマンアブ ラバチ (<i>Aphidius colemani</i>) 成虫	10頭 (3 連制)	濾紙接触法 6g a.i./10a 相当	影響を認めな かった	(2008)
10		タイリクヒメ ハナカメムシ (<i>Orius strigicollis</i>) 成虫	5頭 (6 連制)	ドライフィルム法 6g a.i./10a 相当	72 時間後 死亡率 93.07%	
11		ナミテントウ (<i>Harmonia axyridis</i>) 1 齢幼虫	15頭 (2 連制)	ガラス板接触法 6g a.i./10a 相当	影響を認めな かった	

**：原体量に基づく。(報告書には有効成分量 AE1170437 の量に基づき経口投与：>120μg/頭 (24、48 時間)、接触投与：
>100μg/頭 (24、48 時間) と記載)

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。

2-2 鳥類に対する影響

No.	試験の種類・ 被験物質	供試 生物	1群当り の供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値及び 無影響量	観察され た影響	(報告年)
12 GLP	急性経口 毒性試験 原体	コウリン ウズラ	雌雄 各 5 羽	強制 経口 投与	500、 1000、 2000	>2000mg/kg	なし	(2008)

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。

Ⅶ. 使用時安全上の注意事項

1. 使用時安全上の注意事項

- (1) 誤飲などのないよう注意すること。
- (2) 本剤は眼に対して弱い刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- (3) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。
作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、洗眼・うがいをする。
- (4) 公園等で使用する場合は、散布中及び散布後（少なくとも散布当日）に小児や散布に関係のない者が散布区域に立ち入らないよう縄囲いや立て札を立てるなど配慮し、人畜等に被害を及ぼさないよう注意を払うこと。

2. 解毒法及び治療法

本剤での解毒法及び治療法は見出されていない。

3. 製造時、使用時等における事故例

製造時、試験散布及び委託試験での散布時等において、本薬剤による中毒症例は報告されていない。

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

VIII 毒性

<毒性試験一覧表>

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	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)	(報告年)	記載頁
1 (GLP)	急性経口毒性 (14日間観察)	ラット	♀3	経口	2000	♀: ≥5000	(2006)	5
								6
2 (GLP)	急性経皮毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	2000	♂♀:>2000	(2006)	7
3 (GLP)	急性吸入毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各5	吸入	0, 2300(mg/m ³)	♂♀:>2300(mg/m ³)	(2007)	8
4 (GLP)	皮膚刺激性	ウサギ	♀3	塗布	0.5g/匹	刺激性なし (67/548/EEC 分類基準に基づく)	(2006)	10
5 (GLP)	眼刺激性	ウサギ	♀3	点眼	0.5g/匹	刺激性なし (67/548/EEC 分類基準に基づく)	(2006)	12
6 (GLP)	皮膚感作性 LLNA 法 (3日間)	マウス	♀5	局所施用	0, 10, 25, 50, 100(%)	陰性	(2006)	14
7 (GLP)	急性神経毒性	ラット	♂♀各12	経口	♂: 0, 97, 501, 2020 ♀: 0, 24, 47, 97, 501	♂:97, ♀47	(2008)	15
8 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ことから試験省略。						23
9 (GLP)	90日間反復経口投与毒性	ラット	♂♀各10	経口	0, 200, 5000, 10000(ppm) ♂0, 14, 338, 689 ♀0, 16, 410, 806	♂: 200(ppm) ♀: 5000(ppm) ♂: 14, ♀: 410	(2005)	24
10 (GLP)	90日間反復経口投与毒性	イヌ	♂♀各4	経口	0, 7.5, 15, 30	♂♀: 7.5	(2008)	34
11 (GLP)	反復経口投与神経毒性 (90日間)	ラット	♂♀各12	経口	♂0, 200, 4000, 10000(ppm) ♀0, 200, 4000, 8000(ppm) ♂0, 12.2, 244, 586 ♀0, 15.1, 306, 581	神経毒性 ♂♀4000ppm ♂: 244, ♀: 151 一般毒性 ♂4000ppm ♀200ppm ♂:244 ♀:15.1	(2008)	40

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。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	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)	(報告年)	記載頁
12 除外	28日間反復経口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ことから試験省略。						47
13 (GLP)	1年間反復経口投与毒性/発がん性併合 (2年)	ラット	♂♀各 70	経口	♂: 0, 300, 3000, 10000(ppm) ♀: 0, 300, 3000, 10000/6000 (ppm) ♂:0, 12, 118, 414 ♀:0, 17, 167, 452	300ppm ♂:12, ♀:17 催腫瘍性なし	(2009)	48
14 (GLP)	発がん性 (80週)	マウス	♂♀各 60	経口	0, 50, 250, 1000 (ppm) ♂:0, 6.8, 34, 142 ♀:0, 8.4, 42, 168	250(ppm) ♂: 34, ♀: 42 催腫瘍性なし	(2008)	78
15 (GLP)	1年間反復経口投与毒性	イヌ	♂♀各 4	経口	0, 60, 225, 450 (ppm) ♂:0, 2, 6, 12 ♀:0, 2, 7, 11	60(ppm) ♂♀: 2	(2008)	92
16 (GLP)	2世代繁殖毒性	ラット	♂♀各 30	経口	0, 150, 1000, 8000/4000(ppm) P♂: 0, 10.2, 68.9, 560 P♀: 0, 12.6, 83.2, 652 F1♂: 0, 10.6, 69.6, 318 F1♀: 0, 13.1, 87.2, 356	親世代 P♂: 10.2(150ppm) P♀: 12.6(150ppm) F1♂: 69.6(1000ppm) F1♀: 13.1(150ppm) 児世代 F1♂: 68.9(1000ppm) F1♀: 83.2(1000ppm) F2♂: 10.6(150ppm) F2♀: 13.1(150ppm) F1親世代 8000/4000 ppm で繁殖性に対する影響が認められた。	(2008)	100
17 (GLP)	催奇形性 (15日)	ラット	♀23	経口	0, 10, 25, 200	母動物、胎児とも 25 催奇形性なし	(2006)	116
18 (GLP)	催奇形性 (23日)	ウサギ	♀23	経口	0, 10, 25, 60	母動物 25 胎児 60 催奇形性なし	(2008)	122

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。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	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)	(報告年)	記載頁	
19 (GLP)	復帰突然変異	サルモネラ菌	3 連	<i>in vitro</i>	± S9 0、16、158、500、1581、5000 (µg/plate)	陰性	(2006)	128	
20 (GLP)	染色体異常	チャイニーズハムスター V79 細胞	2 連	<i>in vitro</i>	-S9: 1 回目試験 0、15、30、60 2 回目試験 0、60 3 回目試験 0、8、16、20 +S9: 1 回目試験 0、50、100、160 2 回目試験 0、160 (µg/ml)	陰性	(2006)	130	
21 (GLP)	小核試験	マウス	♂5	経口	0、10、20、40	陰性	(2006)	132	
22 (GLP)	生体機能影響	一般状態 [Irwin 法]	ラット	♂5	経口	0、200、600、2000	200	(2009)	134
		自発運動量	マウス	♂6	経口	0、2、6、20、60	6		
		痙攣誘発作用	マウス	♂6	経口	0、2、6、20、60	60		
		正常体温	ラット	♂5	経口	0、200、600、2000	600		
		血圧・心拍数 [Tail-cuff 法]	ラット	♂5	経口	0、200、600、2000	2000		
		腎機能 尿量・電解質・浸透圧	ラット	♂5	経口	0、200、600、2000	600		
		自律神経系 瞳孔径	ラット	♂5	経口	0、200、600、2000	<200		

2. 原体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	供試動物	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)	(報告年)	記載頁
								139
								141

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。

3. 製剤を用いた試験成績（インダジフラム 19.1%フロアブル）

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	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)	(報告年)	記載頁
製剤 1 (GLP)	急性経口毒性 (14 日間観察)	ラット	♀ 3	経口	2000	♀ ≥ 5000	(2009)	143
製剤 2 (GLP)	急性経皮毒性 (14 日間観察)	ラット	♂ ♀ 各 5	経皮	2000	♂ ♀ > 2000	(2009)	144
製剤 3 (GLP)	皮膚刺激性 (72 時間)	ウサギ	♀ 3	塗布	0.5ml/匹	刺激性なし	(2009)	145
製剤 4 (GLP)	眼刺激性 (72 時間)	ウサギ	♀ 3	点眼	0.1ml/匹	刺激性なし (440/2008/EEC 分類基準に基づく)	(2009)	147
製剤 5 (GLP)	皮膚感作性 [Buehler 法] (48 時間観察)	モルモット	♀ 20	塗布	感作 100% 惹起 100%	感作性なし	(2009)	149

4. 参考試験

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	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)	(報告年)	記載頁
								151
								161
								165

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。

(1) 急性毒性

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 1)

試験実施機関：Bayer HealthCare AG(ドイツ)

[GLP]

報告書作成年：2006 年

検体純度：93.1% (AE1170437 90.3%+AE1170438 2.8%)

(報告書には全立体異性体含量の 94.5%が記載)

供試動物：Hsd Cpb: WU 系 Wistar ラット 各段階 1 群雌 3 匹

投与開始時約 10~12 週齢、体重 169~194g

観察期間：14 日間

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体を Cremophor EL 2%水溶液に懸濁し、10ml/kg の投与容量で、単回強制経口投与した。動物は投与 16~24 時間前から投与 2~4 時間後まで絶食させた。

観察・検査項目：投与当日は数回、以降毎日 1 回以上一般症状を観察し、生死を確認した。投与直前および投与後 7、14 日目に体重を測定した。全動物について剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD50 (mg/kg)	≥5000*
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	毒性症状なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

*OECD ガイドライン 423 の分類に基づく (GHS の区分 5/未分類に該当)。

投与の影響は認められなかった。

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

(資料 参考 4)

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。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 2)

[GLP]

報告書作成年：2006 年

検体純度：

供試動物：Hsd Cpb: WU 系 Wistar ラット 1 群雌雄各 5 匹

投与開始時約 9～13 週齢、体重 雄：236～247 g、雌：210～229 g

観察期間：14 日間

投与方法：検体をガーゼパッド (6.0 cm×5.0 cm=30 cm²) に塗布し、刈毛したラットの背部に固定した。24 時間後、ガーゼパッドを取り除き、石けんを使用して暴露部位をぬるま湯で洗浄した。

観察・検査項目：投与当日は数回、以降毎日 1 回以上一般症状を観察し、生死を確認した。
投与直前および投与後 7、14 日目に体重を測定した。全動物について剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄；2000
LD50 (mg/kg)	雌雄；>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	毒性症状なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

投与の影響は認められなかった。

雄 1 例で増体重の僅かな低下、雌 1 例で体重の僅かな減少が認められたが、投与処置のストレス、個体間差による変動と考えられた。

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。

ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 3)

試験実施機関：Bayer HealthCare AG(ドイツ)

[GLP]

報告書作成年：2007 年

検体純度：93.1% (AE1170437 90.3%+AE1170438 2.8%)

供試動物：Hsd Cpb: WU (SPF)系 Wistar ラット 1 群雌雄各 5 匹

投与開始時 2~3 ヶ月齢、体重 雄 184~210g、雌 176~194g

観察期間：14 日間

暴露方法：ラットをプレキシガラス製暴露チューブに固定し、微粉碎しエアロゾル化した検体に 4 時間鼻部暴露させた。

暴露条件：

目標濃度(mg/m ³)	2000
実際濃度(mg/m ³)*	2300
粒子径分布(%)**	
9.00-30.0(μ m)	4.77
5.80-9.00	13.81
4.70-5.80	12.23
3.30-4.70	29.61
2.10-3.30	22.18
1.10-2.10	12.89
0.70-1.10	2.99
0.40-0.70	1.09
0.01-0.40	0.45
空気力学的質量中位径 (MMAD: μ m)**	3.35
呼吸可能な粒子(<3 μ m)の割合 (%)**	43.5
暴露室容積(L)	3.8
暴露室内通気量(L/分)	24
暴露条件	ダスト 4 時間 鼻部暴露

*: 4 測定値の平均、

** : 2 測定値の平均 (ANDERSEN cascade impactor を用いて測定)

観察・検査項目：暴露当日から 14 日後まで毎日一般症状及び生死を観察した。暴露翌日には Irwin 法に基づき一連の反射反応を検査した。暴露直後に直腸体温を測定

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。

した。体重は暴露直前及び暴露後 1、3、7 および 14 日目に測定した。観察終了後全動物について剖検を実施した。

結果：

投与方法	吸入
暴露濃度(mg/m ³)	雌雄；0、2300
LC50(mg/m ³)	雄雌；>2300
死亡開始時間及び終了時間	—
症状発現及び消失時間	発現：暴露当日 消失：暴露 5 日後
死亡例が認められなかった 最高暴露濃度(mg/m ³)	2300

一般状態の変化として、雌雄で一時的な立毛、毛づくろいの欠如、散瞳、赤色涙、緩徐呼吸、努力性呼吸パターン、不規則な呼吸（雌のみ）、運動量の減少、跛行、振戦、腰高歩行、よろめき歩行(雄のみ)、間代性痙攣、咀嚼運動、不特定の行動変化、嘔吐（雌のみ）が見られたが暴露 5 日後以降消失した。暴露翌日に実施した反射測定では全例に光反射で散瞳が認められ、雌 2 例に角膜反射の低下、雄 1 例に驚愕反射の後行動異常および凶暴化が認められた。対照群に比べ体重の減少、直腸体温が低下が認められた。剖検では投与の影響は認められなかった。

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

(2) 皮膚および眼に対する刺激性
ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 4)

[GLP]

報告書作成年：2006 年

検体純度：

供試動物：CrI:KBL(NZW)系アルビノウサギ 1 群雌 3 匹
投与開始時体重 2.5 kg～2.7kg

観察期間：72 時間

投与方法：微粉碎した検体 0.5g を水で湿らせ刈毛した背部の皮膚（約 2.5cm×2.5cm）に半閉塞で貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は水を用いて洗浄した。1 匹目の動物に対しては 3 段階（暴露時間 3 分、1 時間および 4 時間）で処理し 4 時間の暴露時間が動物愛護の観点から許容されることを確認した。

観察項目：暴露終了 1 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間後に適用部位の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無を観察し、以下の Draize の評価基準に従って評価した。

紅斑および痂皮形成：

・ 紅斑なし	0
・ 極軽度の紅斑（辛うじて識別される）	1
・ 明確な紅斑	2
・ 中等度から重度の紅斑	3
・ 重度の紅斑から軽度の痂皮形成（深部を傷害）	4

浮腫形成：

・ 浮腫なし	0
・ 極軽度の浮腫（辛うじて識別される）	1
・ 軽度の浮腫（輪郭が明瞭に隆起し、明確に識別される）	2
・ 中等度の浮腫（約 1mm 隆起）	3
・ 重度の浮腫（1mm 以上隆起し暴露部位より広がっている）	4

結 果：結果を次頁の表に示す。

1/3 動物で 1 および 24 時間後に評点 1 の紅斑が認められたが、48 時間後には消失した。

EEC 理事会指令 67/548/EEC の分類基準により、本試験条件下において、検体は非刺激性と分類された。

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。

動物	項目	最高 評点	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	1	1	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.3	0.3	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0.3	0.3	0	0

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料5)

[GLP]

報告書作成年：2006年

検体純度：

供試動物：CrI:KBL(NZW)BR系アルビノウサギ 1群雌3匹

投与開始時体重 2.4 kg～2.5 kg

観察期間：72時間

投与方法：片眼の下眼瞼を緩やかにつまみ眼球から離し微粉碎した検体0.1gを結膜嚢に適用した。約1秒間、上下の眼瞼を合わせ検体の漏逸を防いだ。反対の眼は対照として扱った。検体の施用後に洗眼は実施しなかった。

観察項目：適用後1時間、24時間、48時間及び72時間に結膜、虹彩、角膜の刺激性変化を観察し、以下のDeaizeの評価基準に従って採点した。

結膜病変及び分泌物

浮腫(眼瞼結膜及び瞬膜)

- ・ 腫脹なし……………0
- ・ 正常を越える腫脹(瞬膜を含む)……………1
- ・ 眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹……………2
- ・ 眼瞼の1/2未満の閉鎖を伴った腫脹……………3
- ・ 眼瞼の1/2以上の閉鎖を伴った腫脹……………4

発赤(眼瞼及び眼球結膜、角膜、虹彩)

- ・ 血管正常……………0
- ・ 一部の血管が明らかに充血……………1
- ・ びまん性の深紅色、個々の血管は容易に見分けられない……………2
- ・ びまん性の牛肉様赤色……………3

虹彩

- ・ 正常……………0
- ・ 明瞭なひだ、充血、腫脹、中等度の角膜周囲の充血、これらのいずれか又は組み合わせ、虹彩はまだ光に反応する(反応は遅く鈍い)……………1
- ・ 対光反応消失、出血、著しい組織崩壊……………2

角膜混濁

混濁の程度(最も濃い部分で判定する)

- ・ 潰瘍又は混濁を認めない……………0
- ・ 散在性又はびまん性の混濁(通常の光沢を持った軽度の曇りとは異なる。)、虹彩の細部は明瞭に透視可能……………1
- ・ 透明な部分は残っているが、虹彩の全体がやや不明瞭……………2
- ・ 真珠様光沢部位があり、虹彩の細胞は不明で瞳孔の大きさが辛うじて見分けられる……………3
- ・ 角膜不透明、混濁部を通して虹彩は見分けられない……………4

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。

混濁の範囲

- ・ 0より多く1/4以下.....1
- ・ 1/4より多く1/2以下.....2
- ・ 1/2より多く3/4以下.....3
- ・ 3/4より多く全体以下.....4

結 果：

項 目		最高 評点	適用後時間						
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	Mi*		
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	程度	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	2	1	0	0	0.3
			浮 腫	4	0	0	0	0	0
		動物 番号 2	角膜混濁	程 度	4	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	2	0	0	0	0
			浮 腫	4	1	0	0	0	0
	動物 番号 3		角膜混濁	程 度	4	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	0	0	0	0	
		浮 腫	4	0	0	0	0	0	
合 計**			330	12	2	0	0	—	
平 均**			110	4	0.6	0	0	—	

* 24～72 時間目の平均スコア

** 角膜混濁評点 (程度×面積) ×5 + 虹彩評点×5 + 結膜評点 (発赤 + 浮腫 + 分泌物) ×2、分泌物は評点0として申請者が算出した。

適用後 1 時間目において評点1から2の結膜発赤が全例で認められた。適用後 24 時間においては評点 1 の結膜発赤が 1 例のみで認められたが、適用 48 時間後には消失した。他に、刺激性変化は認められなかった。全身毒性は認められなかった。

EEC 理事会指令 67/548/EEC の分類基準により、本試験条件下において、検体は非刺激性と分類された。

(3) 皮膚感作性

マウスを用いた局所リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay: LLNA)

(資料 5)

[GLP]

報告書作成年：2006 年

検体純度：

供試動物：CBA/J 系マウス 1 群雌 5 匹 投与開始時 8 週齢以上

投与期間：3 日間

試験方法：[LLNA 法]

検体を 10、25、50 および 100%の濃度でジメチルホルムアミド (DMF) に溶解し、各群 5 匹の雌マウスの両耳介外表面に 25 μ L ずつ 3 日間 (0 日目から 2 日目) 毎日処理した。DMF のみおよび 25%の濃度で DMF に溶解した α -ヘキシル桂皮アルデヒド (HCA) をそれぞれ別の群に処理し、陰性対照および陽性対照群とした。処理部位の局所刺激反応の有無および動物の生死、一般状態について毎日観察し、体重を記録した。

試験 5 日目に、20 μ Ci の 3 H-メチルチミジン (TdR) を含有する 0.9%食塩水 250 μ L を各動物の尾部より静注し、5 時間後に屠殺し両耳介リンパ節を採取した。各試料について DPM を測定し、取込 TdR を測定した。以下の式より各試験群の刺激指数 (SI) を求めた。

$$SI = \frac{\text{試験群の DPM}}{\text{陰性対照群の DPM}}$$

いずれかの投与群で処理部の局所刺激がなく SI が 3 以上かつ用量相関性が認められた場合、被験物質の感作性を疑った。

結果：

死亡および臨床症状：試験期間中動物の死亡および臨床症状の変化は認められなかった。

陰性対照物質および検体処理部位に皮膚反応は見られなかった。

体重：試験期間中、投与による体重への影響はみられなかった。

増殖評価：各群の増殖活性 (DPM/リンパ節) および刺激指数は下表の通りであった。

群番号	薬剤	濃度 (%)	DPM/リンパ節	SI
1	陰性対照 (DMF)	0	459.8	--
2	検体	10	480.9	1.05
3		25	538.2	1.17
4		50	533.4	1.16
5		100	660.9	1.44
6	陽性対照 (HCA)	25	1773.9	3.86

検体による刺激指数は何れも濃度においても 3 未満であった。

一方、陽性対照の HCA では刺激指数は 3 以上であり、感作性を示した。

以上の結果、本試験において検体は非感作性物質と判断された。

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。

(4) 急性神経毒性

ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 7)

[GLP 対応]

報告書作成年：2008年

検体純度：

供試動物：Wistar HAN CRL:WI (HAN)系ラット、1群雌雄各12匹

投与開始時 約9週齢、体重；雄247.9~319.4g、雌162.2~216.2g

(追加試験) 1群雌12匹、投与開始時 約9週齢、体重；雌168.0~203.8g

観察期間：14日間

(追加試験動物は、投与1~2日に屠殺しそれ以降の調査、観察は行わなかった。)

投与方法：検体を0(溶媒のみ)、100、500および2000mg/kgの設定用量(稀釈液の化学分析に基づく実際用量：雌雄とも97、501および2020mg/kg)で0.5%メチルセルロース水溶液に稀釈して10ml/kgの容量で単回強制経口投与した。投与前に動物の絶食は行わなかった。投与は各群雌雄それぞれ6匹のサブグループに分け、日をずらして投与した。

2000mg/kg群雌は投与当日から死亡例および強度の振戦等が高頻度に認められたため試験を中止した。

また100mg/kg群雌で0日目の自発運動量の検査において投与に関連した影響が認められたため、当該検査項目に関するNOAELを確定するために雌のみ0、25および50mg/kgの設定用量(実際用量：24および47mg/kg)で追加試験を行った。追加試験群については投与1~2日目に試験を終了した。

用量設定根拠；初回試験の用量はWistar雌ラットを用いた急性経口毒性試験(資料1)の結果に基づいた。この試験ではラットに限界用量2000mg/kgを単回経口投与した結果、投与後14日間の観察で死亡及び毒性症状は認められなかった。これより最高用量を2000mg/kgとした。

最大効果時間(peak time of effect)の推定；FOBおよび自発運動量の測定時期はADME試験(代謝運命資料2)より推定した最大血中濃度到達時間を参考に決定した。この試験では標識した検体14mg/kgをWistarラット(1群雌雄各4匹)に投与した結果、血漿におけるTmaxは雌雄とも40~60分であった。この結果より、投与後50分にFOBを開始し、投与4時間後に自発運動量の測定を終了した。

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；初回試験については投与後 14 日間、追加試験については投与後 1 または 2 日間、全動物について毎日一般状態及び生死を観察した。また、詳細な身体検査も毎日実施し記録した。

初回試験の 2000mg/kg 群雌のサブグループ(6 匹)中 3 匹が投与翌日に死亡し、別の 1 匹で中から強度の振戦、反応性の増加等が認められた。このため雌の 2000mg/kg 群については試験を中止した。

2000mg/kg 群雄では尿および口部ならびに肛門周囲の着色が投与 0 日から認められ、5 日までに完全に消失した。500mg/kg 群では雄で着色尿 (3 例、投与 0 日目のみ)、口部着色 (1 例、投与 2 日目のみ)、雌で反応性の増大、活動性の低下および振戦 (1 例、投与 1 日目) が認められた。(さらに投与 0 日目のケージ移動中に雌 2 例で振戦が認められた。この結果は通常の観察時間には認められなかったので表には加えられていない。)

その他、瘡蓋、脱毛および着色涙が対照群を含む動物に散見されたが用量との関連性がなく単発的であり投与の影響とは考えられなかった。

初回試験において認められた一般症状

性	雄				雌				
	用量 (mg/kg)	0	100	500	2000	0	100	500	2000
検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	6	
死亡	0	0	0	0	0	0	0	3	
振戦	0	0	0	0	0	0	1	2	
反応性の増加	0	0	0	0	0	0	1	2	
活動低下	0	0	0	0	0	0	1	1	
着色尿	0	0	3	7	0	0	0	2	
着色涙	0	0	0	0	1	0	0	0	
口部着色	0	0	1	8	0	0	0	0	
肛門周囲着色	0	0	0	3	0	0	0	0	
瘡蓋 (右肩部)	0	0	1	0	0	0	0	0	
脱毛 (腹部)	0	0	0	0	0	0	1	0	
脱毛 (前肢、両側)	0	0	0	1	1	0	1	0	

追加試験において認められた一般症状

性	雌		
用量 (mg/kg)	0	25	50
検査動物数	12	12	12
脱毛 (前肢、両側)	1	0	0
脱毛 (臀部、左側)	1	0	0

体重；全動物の体重は FOB の一部として毎週測定した。初回試験については最終屠殺前にも測定した。追加試験については投与 0 日目のみ体重測定を実施した。投与の影響は認められなかった。投与 7 日目の検査で 100mg/kg 群雄の体重が対照群に比べ統計学的有意に増加したが (+5%、 $p < 0.05$ (Dunnnett's test))、同様の差は投与前から認められており投与の影響とは考えられなかった。

摂餌量；本試験では摂餌量の測定は行わなかった。

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。

FOB ; 全生存動物について、初回試験については投与 1 週間前、投与日（投与約 50 分後に開始）、投与後 7 および 14 日目の 4 回、追加試験については投与 1 週間前および投与日（投与約 50 分後に開始）の 2 回実施した。FOB 検査室にて、以下の項目を検査した。

ホームケージでの観察

姿勢、立毛、不随意運動、歩行異常、発声、運動量低下、反復的頭部上下動(repetitive head bobbing)、反応亢進

ハンドリング間の観察

取りだし時の難易、ハンドリングに対する反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、鼻汁、着色（涙、鼻、肛門周囲、尿、口）、脱毛、痩せ、噛み跡、眼球突出、歯の破折／不正咬合、爪欠損、脱水、体温（触診による）

オープンフィールド観察

立ち上がり回数、立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動、常同行動、異常行動、歩行異常、発声、覚醒レベル、排泄量

反射／生理的観察／測定

接近反応、接触反応、聴覚反応、テイルピンチ、通常照明下での瞳孔サイズ、瞳孔反射、正向反射、握力、体重、体温、着地開脚幅

投与の影響として、投与 0 日目に 500 および 2000mg/kg 群雄で着色尿が認められ、投与の影響と考えられた。

その他、100mg/kg 群雄の 7 日目の体重が対照群に比べ増加したが、投与前から同様の変動が認められており投与の影響とは考えられなかった。また、脱毛、瘡蓋およびまたは口部着色等が認められたが、何れも少数例であり、用量との関連が認められず、場合により投与前でも認められたため投与の影響とは考えられなかった。

影響の認められた項目（初回試験）

		雄			
用量 (mg/kg)		対照	100	500	2000
検査動物数		12	12	12	12
投与前週	ハンドリングーその他：脱毛	0	0	0	1
	ハンドリングーその他：瘡蓋	0	0	1	0
0日目	ハンドリングー着色：尿（黄色）	0	0	1	5*
	ハンドリングーその他：脱毛	0	0	0	1
	ハンドリングーその他：瘡蓋	0	0	1	0
7日目	ハンドリングー着色：口部（赤）	0	1	0	0
	ハンドリングーその他：脱毛	0	0	0	1
	ハンドリングーその他：瘡蓋	0	0	1	0
	体重(g)	294	310*	299	293
14日目	ハンドリングーその他：脱毛	0	0	0	1
	ハンドリングーその他：瘡蓋	0	0	1	0
		雌			
用量 (mg/kg)		対照	100	500	2000
検査動物数		12	12	12	
投与前週	所見なし	—	—	—	試験中止
0日目	ハンドリングーその他： 脱毛	1	0	1	
7日目	ハンドリングーその他： 脱毛	1	0	2	
14日目	ハンドリングーその他： 脱毛	1	0	2	

*p<0.05 (Dunnett's test)

影響の認められた項目（追加試験）

用量 (mg/kg)		対照	25	50
検査動物数		12	12	12
投与前週	ハンドリングーその他： 脱毛	1	0	0
0日目	ハンドリングーその他： 脱毛	2	0	0

自発運動量； FOB 検査と同日に FOB 検査終了後、全動物について自発運動量（motor activity：ビームを横切った回数として記録）および移動運動量（locomotor activity：ビームを横切った回数から連続して同一のビームを横切った回数を減じた回数として記録）を測定した。測定は8の字迷路を用いて10分/インターバル、6インターバル/セッションで実施した。

初回試験では、投与0日目に雄では2000mg/kg群、雌では100および500mg/kg群の総自発運動量および総移動運動量が対照群に比べ統計学的または生物学的（通常の変動幅と考えられる±20%以上）に有意に減少し、さらに各インターバル毎の運動量も減少した。

初回試験の100および500mg/kg群雄および追加試験では投与の影響は認められなかった。

環境への慣れ（habituation）に関しては投与の影響は認められなかった。

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

セッション当り自発運動量および移動運動量

試験日	初回試験					追加試験	
	雄			雌		雌	
自発運動量							
用量 (mg/kg)	100	500	2000	100	500	25	50
投与前	89	118	98	92	96	86	103
0日目	95	101	60*	86	70	97	104
7日目	96	110	95	96	91	—	—
14日目	104	114	104	92	92	—	—
移動運動量							
投与前	88	119	101	88	102	79	110
0日目	95	98	54*	79	69	86	103
7日目	99	110	105	97	93	—	—
14日目	105	108	98	91	108	—	—

表中の数値は対照群を100とした場合の値、—：該当なし

*:p≤0.05 (Dunnett)

各インターバル自発運動量および移動運動量 (初回試験、投与0日目)

性	雄				雌		
	用量(mg/kg)	対照	100	500	2000	対照	100
自発運動量							
インターバル1	109	100	97	74	127	128	96
インターバル2	96	83	84	45*	98	92	68
インターバル3	88	73	72	39*	90	72	55
インターバル4	58	61	58	37	68	47	48
インターバル5	34	46	57	33	52	44	40
インターバル6	24	28	49	20	43	27	29
移動運動量							
インターバル1	82	75	74	52*	96	91	73
インターバル2	69	57	57	27*	71	62	48
インターバル3	55	49	47	22*	61	46	37
インターバル4	36	40	36	23	49	26	31
インターバル5	18	27	31	16	31	26	25
インターバル6	13	12	21	9	28	14	17

*:p≤0.05 (Dunnett)。

剖検、組織採取および脳重量： 初回試験について投与14～15日に全生存動物について剖検し、全臓器、体腔、切断面、開口部および外表の検査を実施した。各群雌雄各6匹ずつを、ペントバルビタールの腹腔内投与(50mg/kg)による深麻酔下、左心室から(リン酸緩衝液中)亜硝酸ナトリウムを流した後、リン酸緩衝液中Universal固定液(1%グルタルアルデヒドおよび4%EM級ホルムアルデヒド)で灌流した。各動物から脳および脊髄全体、両眼(視神経含む)、末梢神経(坐骨、脛骨、腓腹)、ガッセル神経節、腓腹筋、両前肢、神経組織または骨格筋の肉眼的病変部を採取し、10%緩衝ホルマリンに後固定した。脳はホルマリン固定前に重量を測定した。灌流に用いなかった生存動物はCO₂窒息により屠殺した。追加試験動物については剖検を実施しなかった。

剖検時において、投与の影響として、2000mg/kg 群雌の4例に流涎が、死亡した3例に腹部の濡れ/着色が認められた。剖検において他に投与の影響は認められなかった。

最終体重および脳重量に投与の影響は認められなかった。100 および 2000mg/kg 群雄で脳比重量が対照群に比べ統計学的有意に減少したが、用量との関連性がなく、雌で同様の変化が認められないため、投与の影響ではなくおそらく対照群における低体重（統計学的有意差はなし）の影響した可能性が考えられた。

脳重量（初回試験）

試験日	用量 (mg/kg)		
	100	500	2000
	雄		
最終体重	(107)	(104)	(104)
脳 比重量	84*		89*

表中の数値は対照群を100とした場合の値

*: $p \leq 0.05$ (Dunnett)。

神経病理学的検査；対照群雌雄および 2000mg/kg 群雄ならびに 500mg/kg 群雌の灌流動物の以下の組織について顕微鏡的病理検査を実施した。

- ・ 脳（8 冠状断面）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、馬尾、眼、視神経、腓腹筋；パラフィンに包埋しヘマトキシリン&エオシン染色
- ・ 背根神経節（頸膨大および腰膨大、背後根線維および腹根線維を含む）、ガッセル神経節、末梢神経組織（坐骨、脛骨、腓腹神経）；メタクリル酸グリコール(GMA)に包埋し、2~3 μ m に細切後 Lee 染色変法により染色

2000mg/kg 群雄でガッセル神経節および各末梢神経の神経線維変性の頻度が増加し、投与の影響と考えられた。これらの組織について 500mg/kg 群雄についても検査を実施したが、投与の影響は認められなかったため、100mg/kg 群については検査しなかった。他に、網膜形成異常および後根神経節の空胞変性が対照群で認められた。

神経病理学的検査結果

試験日	用量 (mg/kg)		
	対照群	500	2000
雄			
後根神経節	6	6	6
空胞変性	1 (3.0)	0	0
ガッセル神経節	6	6	6
神経線維変性	0	0	4* (1.3)
腓腹神経(左)	6	6	6
神経線維変性	0	0	1(2.0)
腓腹神経(右)	6	6	6
神経線維変性	0	1(1.0)	1(1.0)
坐骨神経(左)	6	6	6
神経線維変性	0	0	3(1.3)
坐骨神経(右)	6	6	6
神経線維変性	0	0	5*(1.2)
脛骨神経(左)	6	6	6
神経線維変性	0	0	4*(1.3)
脛骨神経(右)	6	6	6
神経線維変性	1(2.0)	0	3(1.0)
脊髄神経根	6	6	6
神経線維変性	2(2.0)	2(1.0)	4(1.3)
雌			
眼	6	6	X
網膜形成異常	2(2.0)	0	
坐骨神経(右)	6	6	
神経線維変性	1(2.0)	2(1.0)	
脊髄神経根	6	6	
神経線維変性	2(1.5)	3(1.3)	

*:p≤0.05 (Fisher's Exact test)

()内の数値は変化の程度の平均 (1:軽微~5:強度) を示す。

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

本試験の結果、投与による毒性影響として認められた所見を下表に要約する。

投与群		雄	雌
初回 試験	2020mg/kg (設定用量 2000mg/kg)	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肛門周囲着色 ・ 投与 0 日目の自発運動量、移動運動量減少 ・ ガッセル神経節および各末梢神経の神経線維変性 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 死亡、強度振戦 ・ 着色尿 ・ 流涎、腹部の濡れ/着色
	501mg/kg 以上 (設定用量 500mg/kg)	<ul style="list-style-type: none"> ・ 着色尿、口部着色 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 振戦、反応性増加、活動性低下
	97mg/kg 以上 (設定用量 100mg/kg)	<ul style="list-style-type: none"> ・ 97mg/kg では所見なし 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 投与 0 日目の自発運動量、移動運動量減少
追加 試験	47mg/kg (設定用量 50mg/kg)	—	<ul style="list-style-type: none"> ・ 毒性所見なし
	24mg/kg (設定用量 25mg/kg)	—	<ul style="list-style-type: none"> ・ 毒性所見なし

— : 該当なし

以上より、本試験における無毒性量は雄については 97mg/kg、雌では 47mg/kg と判断された。

2020mg/kg 群雄で神経線維変性が認められた。

申請者注: 神経毒性に関する無毒性量は雄では 501mg/kg、雌では 47mg/kg 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。

(5) 急性遅発性神経毒性

(資料 8)

12 生産第 3986 号「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 4.試験成績の除外について」（2）⑧のイおよびイの規定に基づき下記の理由により試験を省略した。

- ・有効成分が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。

(6) 90日間反復経口投与毒性

ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験 (資料9)

[GLP 対応]

報告書作成年：2005年

検体純度：

供試動物：Wistar Rj: WI(IOPS HAN)系ラット

投与群：1群雌雄各10匹

回復群：雌雄各10匹(対照群および高用量群のみ)

投与開始時 約6週齢、体重；雄191～217g、雌151～177g

投与期間：90日間

投与方法：検体を0(対照群)、200、5000および10000ppmの濃度で飼料に混入し最低90日間にわたり随時摂食させた。回復群は0および10000ppmの用量で90日間混餌投与後、28日間検体を含まない飼料を投与した。

用量設定根拠；本試験の用量は1群雌雄各5匹のラットに検体を0、500、2000および7000ppmの濃度で28日間混餌投与した用量設定試験の結果に基づいた。この試験では2000ppm以上でプロトロンビン時間の延長、血漿中の総コレステロールの上昇、肝臓ならびに甲状腺重量の上昇、肝腫大の増加、甲状腺濾胞細胞肥大の増加およびP-450のBROD活性の上昇、7000ppmで増体重ならびに摂餌量の低下、ヘモグロビンならびにヘマトクリット値の低下、総P-450の増加ならびにPROD活性の上昇が認められ、無毒性量は500ppmと判断された。

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；全動物について毎日2回(週末および休日は1回)、死亡および瀕死状態について確認し、一般状態については少なくとも毎日1回記録した。触診を含む詳細な身体検査は少なくとも週1回実施した。

10000ppm群雌1匹(動物番号OT4F2268,回復群)を投与20日目に切迫屠殺した。この動物は、立毛、円背、痩身、呼吸速度の増加、活動性の低下を示し、投与1および2週目には体重が減少し(それぞれ4.2g/日および0.9g/日)、摂餌量の低下(それぞれ対照群の55および43%低下)が認められた。剖検では胃の赤色病巣が認められ、病理組織学的検査では明確な死因は特定できなかったものの、おそらく投与に関連した一般状態の悪化によると考えられた。

対照群の雄1匹(OT1M2152)を投与85日に切迫屠殺した。剖検では、腸の

ガス膨満および胃の黒色病巣が認められ、病理組織学的検査の結果急性腹膜炎による死亡と診断された。対照群の他の雄 1 匹 (OT1M2153) が投与 16 日目に途中死亡した。死亡前の一般状態の異常および剖検ならびに病理組織学的異常は認められず、おそらく当日に実施した採血のための麻酔によるものと考えられた。

生存動物の一般状態の変化として、10000ppm 群雌 3 匹で呼吸音(noisy respiration)が 11 から 12 週目に時折認められた。10000ppm 群の雌 2 匹 (内 1 匹は呼吸音のみられた動物) で投与 11 から 12 週目に衰弱が認められた。回復期間 1 日目でも同群雌の 1 匹に衰弱が認められた。

5000 および 200ppm 群では雌雄とも投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

主な一般状態の変化

性	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	200	5000	10000	0	200	5000	10000
投与期間								
検査動物数	20	10	10	20	20	10	10	20
呼吸 呼吸音					0	0	0	3
外観 衰弱					0	0	0	2
回復期間								
検査動物数	10	0	0	10	10	0	0	9
外観 衰弱					0	0	0	1

神経毒性評価；回復群を除く全動物について投与 11～12 週に以下の神経毒性評価を実施した。

自発運動量 (90 分間/セッション、15 分/インターバル)

感覚反応：瞳孔反射、表面立ち直り反射、角膜反射、屈筋反射、聴覚性驚愕反射、テイルピンチ

握力 (前、後肢)

投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

10000ppm 群雌雄でテイルピンチに対する反応に僅かな変化が認められたが、個体間変動を反映したものであり投与の影響とは考えなかった。また、10000ppm 群雌の後肢握力が対照群に比べ僅かに減少傾向を示したが (-16%、統計学的有意差なし)、この変化は投与の直接的影響というよりも同群における低体重を反映した変化と考えられた。

神経学的評価結果

性	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	200	5000	10000	0	200	5000	10000
検査動物数	9	10	10	10	10	10	10	10
テイルピンチ								
通常の反応	5	8	10	8	10	8	7	7
弱い反応				2		1	1	
過剰反応	3	2				1	2	3
無反応	1							
後肢握力 (対照群比;%)					(100)			(84)

握力；統計学的有意差なし（ ）

体重；全動物の体重を投与前、投与開始日および投与期間中週 1 回測定した。最終屠殺時にも前夜絶食させた動物の体重を測定し最終体重とした。

10000ppm 群雌雄で投与期間を通じて対照群に比べ体重減少または減少傾向（雄；対照群比 3~6%減少、雌；対照群比 4~8%減少）を示した。同群における体重への影響は雄では主に投与 1~4 週の増体重の減少（対照群比 5~13%減少）、雌では投与 1~2 週の増体重の減少（対照群比 49~24%減少）によるものであった。

同群の体重は雌では回復期間 2 週目以降対照群と同等に回復したが、雄では回復期間を通じて対照群より低値を示した。

5000 および 200ppm 群雌雄では投与による体重への影響は認められなかった。200ppm 群雄でわずかに低体重の傾向がみられたが 5000ppm 群で変化が見られなかったことから投与の影響とは考えられなかった。

体重；統計学的有意差のみられた週

性	雄			雌		
用量(ppm)	200	5000	10000	200	5000	10000
投与期間	1 週					↓93
	2 週					↓92
	3 週					↓92
	4 週	↓96		↓96		↓94
	9 週			↓95		
	13 週	(96)	(98)	(94)	(96)	(95)
回復期間	0 週		↓92			↓92
	1 週		↓93			↓93
	2 週		↓92			
	3 週		↓91			
	4 週		↓92			

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

↓:p<0.05、↓:p<0.01

(投与期間については Dunnett's test、回復期間については t-test)

摂餌量；全動物の摂餌量を毎週測定した。

10000ppm 群雌で投与 1 週の摂餌量が対照群に比べ減少し（対照群比 20%減

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。

少)、その後投与 2~7 週にかけて減少傾向 (5~14%減少) を示した。

その他の投与群では摂餌量に投与影響は認められなかった。全投与群雄の 12-13 週の摂餌量が対照群に比べ減少または減少傾向を示した(対照群比 7~14%減少)が、明確な用量との関連がなく投与の影響とは考えられなかった。

(申請者による考察;回復期間 1 週目に 10000ppm 群雌の摂餌量が対照群に比べ統計学的有意に増加したが、投与期間中にみられた摂餌量抑制による二次的影響と考えられた。)

摂餌量: 統計学的有意差のみられた週

性	用量(ppm)	雄			雌		
		200	5000	10000	200	5000	10000
投与期間	0-1 週						↓ 80
	1-2 週						(86)
	2-3 週						(90)
	3-4 週						↓ 86
	4-5 週						(91)
	5-6 週						(95)
	6-7 週						(90)
	12-13 週	↓86	↓ 86	(93)			
回復期間	0-1 週						↑ 105

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値、()は参考値

↑ ↓ :p<0.05、◆ :p<0.01

(投与期間については Dunnett's test、回復期間については t-test)

検体摂取量;投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量(ppm)		200	5000	10000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	14	338	689
	雌	16	410	806

眼科学的検査;順化期間中には全動物について、投与期間中は投与 13 週目に対照群および高用量群の全生存動物について眼科学的検査を実施した。

10000ppm 群雄 2 例および雌 1 例で色素涙が認められた。この変化は検体による直接的毒性影響というよりもストレスに関連した変化と考えられた。他に変化は認められなかった。

血液検査;投与群動物および回復群動物の計画屠殺前に、全生存動物について一晩絶食の後、後眼窩静脈叢より採血し以下の血液学的検査および血液生化学検査を実施した。

血液学的検査;赤血球数(RBC)、血色素量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、網状赤血球数(RET)、白血球総数(WBC)ならびに白血球百分比(Differential.C)、血小板数(PLT)、プロトロンビン時間(PT)

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた変化を次表に示す。

投与期間終了時の検査では投与に関連した影響は認められなかった。

回復群では 10000ppm 群雌の白血球総数およびリンパ球数(LYM)が対照群に比べ統計学的有意に増加したが、軽度であり偶発的変動と考えられた。

血液学的検査結果

性	雄			雌		
用量 (ppm)	200	5000	10000	200	5000	10000
回復期間終了時						
WBC						↑134
LYM						↑139

↑ ; p<0.01 (t-test)

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

生化学的検査 ; 性状、総ビリルビン(TBIL)、グルコース(GLUC)、尿素(UREA)、クレアチニン(CREA)、総コレステロール(CHOL)、トリグリセライド(TRIG)、塩素(CL)、ナトリウム(NA)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)および無機リン(PHOS)濃度、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)、アルカリホスファターゼ(AP)、およびγ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)活性、総蛋白(TPRO)、アルブミン(ALB)、グロブリン(GLOB)、アルブミン/グロブリン比(A/G)

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた変化を次表に示す。

10000ppm 群雌で総ビリルビン濃度の低値 (対照群比-29%) および総コレステロール濃度の高値 (対照群比+25%) が認められた。この変化は回復期間終了時には認められなかった。

同群雌では他にナトリウム濃度、カルシウム濃度およびグロブリン濃度の上昇 (それぞれ対照群比+1%、+4%および+17%)、A/G 比の低下 (対照群比-16%) が、5000ppm 群雌でカルシウム濃度およびグロブリン濃度の上昇 (それぞれ対照群比+3%および+9%)、A/G 比の低下 (対照群比-9%) が認められたが、変動の程度は僅かであり毒性学的に意義の低い変化と考えられた。

5000ppm 群雄で総ビリルビンおよび総コレステロール濃度が変動したが (それぞれ対照群比-18%および+20%)、用量との関連性がなく偶発的変化と考えられた。

回復期間中に幾つかの項目で変動が認められたが、投与期間中に認められていないことから投与の影響とは考えられなかった。

生化学的検査結果

性	雄			雌		
用量 (ppm)	200	5000	10000	200	5000	10000
投与期間終了時						
TBIL		↓ 82				↓ 71
CHOL		↑ 120				↑ 125
GLOB					↑ 109	↑ 117
A/G					(91)	↓ 84
NA						↑ 101
CA					↑ 103	↑ 104
回復期間終了時						
AP						↑ 119
UREA						↑ 116

↑ ↓ ; p<0.05、◆◆ ; p<0.01 (Dunnett's test または Dunn's Rank Sum test)
 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値、()内は参考値。

尿検査 ; 投与群動物については投与 86~87 日目、回復群動物については回復期間 29 日目に前夜の尿を全生存動物から採取し、以下の項目について検査した。尿採取中は給餌および給水は中断した。

性状、尿量、pH、屈折率、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣 (赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶)

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた変化を次表に示す。

10000ppm 群雌の投与期間終了時の尿量が対照群に比べ統計学的有意に増加した(対照群比+117%)。この変化は回復期間終了時には認められなかった。

他に、投与の影響は認められなかった。回復期間終了時の検査で 10000ppm 群雄の尿量が対照群に比べ僅かに減少したが (対照群比-42%)、投与期間中に同様の変化が認められていないことから偶発的変動と考えられた。(申請者による考察 ; 回復期間終了時の検査で 10000ppm 群雄の屈折率が対照群に比べ増加したが、その程度は僅かであり、投与期間中に同様の変化が認められていないことから偶発的変動と考えられた。)

尿検査結果

性	雄			雌		
用量 (ppm)	200	5000	10000	200	5000	10000
投与期間終了時						
尿量						↑ 217
回復期間終了時						
尿量			◆ 58			
屈折率			↑ 100			

↑ ↓ ; p<0.05、◆◆ ; p<0.01 (Dunnett's test または Dunn's Rank Sum test)
 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

ホルモン測定 ; 投与群動物について投与 3 および 13 週目に全生存動物について一晚絶

食の後、後眼窩静脈叢より採血し、血漿中の T3、T4 および TSH 濃度を測定した。

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた変化を次表に示す。

投与 3 週目の検査において 10000 および 5000ppm 群雄の TSH レベルが対照群に比べ増加した（それぞれ+43%および+34%）。

投与 3 週時 200ppm 群雌の T3 レベルが対照群に比べ増加した（+31%）が、用量との関連性がなく偶発的变化と考えられた。13 週時の検査では投与による変化は見られなかった。

ホルモン濃度測定結果

性	雄			雌		
用量 (ppm)	200	5000	10000	200	5000	10000
3 週目検査						
TSH		↑ 134	↑ 143			
T3				↑ 131		

↑ ↓ ; p<0.05、◆ ◆ ; p<0.01 (Dunnett's test)

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

剖検； 投与群動物については投与 91～93 日に、回復群動物については回復期間 31～32 日目に全生存動物を屠殺し剖検した。動物は屠殺前一晩絶食させた。途中死亡動物はすべて剖検し主要臓器/組織について肉眼的病理検査を実施し、顕微鏡的病理検査を実施した。

臓器重量；最終計画殺に供された全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、相対重量（対体重比及び対脳重比）も算出した。

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

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた変化を次表に示す。

5000 および 10000ppm 群雌雄で肝重量（実重量および/または比重量）が対照群に比べ増加した。

（申請者による考察；10000ppm 群雌雄の腎臓の対体重比が対照群に比べ統計学的有意に増加したが、実重量および対脳重量比に変動は見られず投与の影響とは判断されなかった。）

回復期間終了時、10000ppm 群雄の最終体重が対照群に比べ統計学的有意に減少（対照群比-9%）し、同群雌で減少傾向（対照群比-5%）を示した。他の統計学的有意な変動は個体間変動または最終体重の減少による変動と考えられた。

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。

臓器重量

性		雄			雌		
用量(ppm)		200	5000	10000	200	5000	10000
最終体重		(100)	(102)	(97)	(98)	(96)	(96)
肝臓	絶対重量		↑ 114	(110)		(110)	↑ 113
	対体重比		↑ 111	▲ 114		▲ 115	▲ 117
	対脳重比		↑ 115	(111)		(111)	↑ 114
腎臓	対体重比			▲ 108			↑ 110

↑ ↓ ; p<0.05、▲ ▼ ; p<0.01 (Dunnett's test または Dunn's Rank Sum test)
 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値、() 内は参考値

臓器重量 (回復群)

性		雄	雌
用量(ppm)		10000	10000
最終体重		▼ 91	(95)
脳	対体重比	▲ 109	
心臓	絶対重量	↓ 91	
	対脳重比	↓ 90	
脾臓	絶対重量	↓ 86	
	対脳重比	↓ 86	
腎臓	対体重比	↑ 109	
精巣上体	対脳重比	↓ 92	

↑ ↓ ; p<0.05、▲ ▼ ; p<0.01 (t-test) ;
 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

肉眼的病理検査 ; 計画屠殺動物について以下の変化が認められた。

5000ppm 以上の投与群雌雄で肝臓腫大が認められた。

10000ppm 群雌雄で腎臓の腫大の発生頻度が対照群に比べ増加傾向を示した。この変化は投与に関連したものである可能性があるが、病理組織学的に関連する変化がなく、対象群でも少数例認められたことから毒性学的意義は低いものと考えられた。

肉眼的病理検査結果

性	雄				雌			
	0	200	5000	10000	0	200	5000	10000
用量 (ppm)								
検査動物数	8	10	10	10	10	10	10	10
肝臓								
明らかな腫大	0	0	4	5*	1	3	8**	8**
腎臓								
明らかな腫大	2	0	2	7	2	5	3	6

*:p<0.05, **:p<0.01 (Fisher, 申請者実施)

病理組織学的検査 ; 途中死亡及び計画屠殺したすべての動物について、以下の組織を採取した。

副腎、大動脈、関節面 (大腿骨-脛骨)、骨 (胸骨)、骨髓 (胸骨)、脳、精巣上体、食道、前眼窩外涙腺、眼及び視神経、ハーダー腺、心臓、腸 (十二

指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、腎臓、咽頭/喉頭、肝臓、肺、リンパ節(顎下、腸間膜)、乳腺、鼻腔、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胃、顎下腺(唾液腺)、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、舌、気管、膀胱、子宮(子宮頸管を含む)、膺、肉眼的異常部位

投与群動物の肝臓、腎臓、肺および甲状腺については全群、その他の臓器(前眼窩外涙腺、喉頭/咽喉および鼻腔を除く)については対照群ならびに高用量群について病理組織学的検査を実施した。回復群動物については、肝臓および甲状腺のみ検査した。

投与群動物：対照群に比べ統計学的有意差(申請者実施)がみられた変化を次表に示す。

5000 および 10000ppm 群雄の甲状腺で濾胞上皮細胞肥大の発生頻度が対照群に比べ増加した。

(申請者による考察; 5000ppm 以上の投与群雄の腎臓において間質性単細胞浸潤の発生頻度が増加した。5000ppm 群雄で腎臓の好塩基性尿細管の発生頻度が対照群に比べ有意に増加したが、明確な用量との関連性がみられず、また、途中死亡動物をあわせた対照群における発生頻度は 4/10 例であり、投与群と有意差が認められないことから投与の影響とは判断しない。)

回復群動物：投与に関連した変化は認められず、投与期間終了時に認められた病理組織学的所見はいずれも回復性が認められた。

病理組織学的検査結果(最終屠殺動物)

性		雄				雌			
		0	200	5000	10000	0	200	5000	10000
腎臓	検査動物数	8	10	10	10	10	10	10	10
	好塩基性尿細管	2	3	8*	5	1	2	4	1
	間質性単細胞浸潤	1	2	7*	7*	1	3	3	3
甲状腺	検査動物数	8	10	10	10	10	10	10	10
	濾胞細胞肥大								
	軽微	0	0	5	4	0	0	0	0
	軽度	0	0	0	4	0	0	0	0
	中等度	0	0	0	1	0	0	0	0
	計	0	0	5*	9**	0	0	0	0

*:p<0.05, **:p<0.01 (Fisher, 申請者実施)

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。

本試験で投与に関連すると考えられた所見を以下に要約する。

用量	雄	雌
10000ppm	<ul style="list-style-type: none">・ 体重低下、増体重抑制	<ul style="list-style-type: none">・ 呼吸音、衰弱・ 切迫殺 1 例（投与 20 日）・ 体重低下、増体重抑制、摂餌量減少・ TBIL 減少、CHOL 増加・ 尿量増加
5000ppm 以上	<ul style="list-style-type: none">・ TSH 増加（3 週時のみ）・ （肝臓腫大*）・ （肝重量増加*）・ 甲状腺濾胞細胞肥大・ 腎臓間質性単細胞浸潤	<ul style="list-style-type: none">・ （肝臓腫大*）・ （肝重量増加*）
200ppm	<ul style="list-style-type: none">・ なし	<ul style="list-style-type: none">・ なし

*（申請者による考察：5000ppm 以上の投与群雌雄で認められた肝臓腫大および肝重量の増加は病理組織学的に関連する変化が認められなかったため、毒性学的意義は低いと考えられる。）

以上より、本試験における無毒性量は雄では 200ppm（14mg/kg/day）、雌では 5000ppm（410mg/kg/day）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。

イヌを用いた経口投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 10)

[GLP 対応]

報告書作成年： 2008 年

検体純度：

供試動物：ビーグル犬 1 群雌雄各 4 匹

投与開始時 約 6-7 ヶ月齢、体重；雄 6.6~8.6kg、雌 5.4~7.2kg

投与期間：91~92 日間

投与方法：検体を 0 (対照群)、7.5、15 および 30mg/kg の用量で 0.5%メチルセルロース水溶液を担体として 91~92 日間毎日強制経口投与した。高用量群については投与 23~24 日の間投与を中止し 25 日目以降 15mg/kg を毎日 2 回 (7~8 時間の間隔で) 投与したが、投与 35 日目に再び投与を中止し、36 日目に生存動物を屠殺した。

用量設定根拠；投与用量は同試験機関において用量設定のために実施した 90 日間経口投与試験に基づいた。この試験では 50mg/kg の用量で雌雄に痙攣発作が観察された。

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；全動物について毎日 2 回 (週末および休日は 1 回) 一般状態及び生死を観察した。また、詳細な身体検査を毎週行った。

30mg/kg/day 群雄の 1 例が投与 15 日目に痙攣発作(seizures)を示した。雌の 1 例が投与 22 日に攻撃性、振戦、運動失調、努力性呼吸、光に対する瞳孔反射の低下または消失、痙攣発作および発作に伴う苦痛症状を示し、他の雌 1 例で投与 35 日に攻撃性、振戦、運動失調、活動性の低下、回転行動、瞳孔反射の低下および痙攣発作が認められた。痙攣発作が認められた動物はその日に切迫屠殺し、同群の他の動物も投与 35 日で投与を中止し 36 日目に屠殺した。

15mg/kg/day 以下の投与群では影響は認められなかった。

体 重；毎週および最終屠殺前に全動物の体重を測定した。

投与の影響は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。

投与の影響は認められなかった。

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

眼科学的検査；投与開始前および投与終了時に全生存動物について眼科学的検査を実施した。

投与の影響は認められなかった。

血液検査；投与前および投与 5、9 ならびに 13 週に全生存動物について頸静脈より採血し、以下の血液学的検査および生化学検査を実施した。投与前夜は絶食させた。

血液学的検査；ヘマトクリット値 (Ht)、血色素量 (Hb)、白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、血小板数(PLT)、プロトロンビン時間(PT)、活性化トロンボプラスチン時間(APTT)、白血球百分比 (Differential.C)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、網状赤血球数(RET)、血球形態、赤血球分布幅 (RDW)、血色素分布幅 (HDW)

投与による影響は認められなかった。

統計学的有意な変化が散見されたが、投与前の変動を反映したものである、および/または用量との関連が認められないことから投与の影響とは考えられなかった。

血液学的検査結果 (統計学的有意差の認められた所見)

性		雄			雌		
用量(mg/kg/day)		7.5	15	30	7.5	15	30
Hb	投与前				(103)	(104)	(99)
	56 日				↑ 109	↑ 109	
PT	投与前		(110)				
	28 日		↑ 112				
APTT	投与前				(120)		
	28 日				↑ 121		
	56 日				↑ 125	106	
Ht	投与前				(102)	(102)	(99)
	28 日				↑ 107	↑ 106	↑ 109
HDW	投与前						↓ 91
リンパ球数	投与前				(96)	↑ 129	
	56 日				↓ 87		
単球数	89 日					↑ 142	

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値、かっこ内の数値は参考値

↑ ↓ ; p<0.05 (t-test)

生化学的検査；カルシウム(CA)、塩素(CL)、無機リン(PHOS)、カリウム(K)、ナトリウム(NA)、アルカリホスファターゼ(AP)、クレアチンホスフォキナーゼ(CK)、乳酸脱水素酵素 (LD)、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)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、アルブミン(ALB)、クレアチニン(CREA)、尿素(UREA)、総コレステロール(CHOL)、グロブリン(GLOB)、グルコース(GLUC)、総ビリルビン

(TBIL)、総蛋白(TPRO)、トリグリセライド(TRIG)、尿酸 (Uric-A)、アルブミン/グロブリン比(A/G)

投与による影響は認められなかった。

統計学的有意な変化が散見されたが、投与前の変動を反映したものである、および/または用量との関連が認められないことから投与の影響とは考えられなかった。

生化学的検査結果 (統計学的有意差の認められた所見)

性		雄			雌		
用量(mg/kg/day)		7.5	15	30	7.5	15	30
Na	投与前				↑ 101		
K	投与前	↑ 108					
GLUC	投与前						↓ 88
CHOL	投与前				(129)		
	28日				↑ 132		
LD	投与前					(64)	(48)
	28日					↓ 56	↓ 52
ALB	投与前				(106)	(106)	
	28日				↑ 113	↑ 110	
GLOB	投与前	(108)					
	28日	↑ 113					
A/G	投与前					↑ 114	
	28日	↓ 86					

表中の数値対照群を 100 とした場合の値、かっこ内の数値は参考値

↑ ↓ ; p<0.05 (t-test)

尿検査 ; 投与前および投与 5、9 ならびに 13 週に全生存動物から尿を採取し、以下の項目について検査した。

性状、尿量、屈折率、pH、沈渣、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、窒素、ウロビリノーゲン、白血球

投与の影響は認められなかった。

55 日目の尿量が全投与群雄で対処群に比べ統計学的有意に増加したが同様の傾向は投与前にも認められていたため投与の影響とは判断されなかった。全投与群雌で 27 日目の蛋白濃度が対照群に比べ統計学的有意に増加したが、この変化は試験を通じた変化ではなく、個体変動の範囲内であり、測定値は背景対照値(0~100mg/dL)の範囲内であったため投与の影響とは判断されなかった。

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。

尿検査結果（統計学的有意差の認められた所見）

項目	調査時期	用量(mg/kg/day)				背景対照データ
		0	7.5	15	30	
雄						
尿量(ml)	投与前	184	249	570	173	—
	27日	237	183	405	181	—
	55日	98	198*	280*	-	—
	85日	104	137	255	-	—
雌						
蛋白(mg/dL)	投与前	0	4	11	4	0-100
	27日	0	15*	19*	25*	0-100

*:p<0.05 (t-test)

臓器重量；投与終了時または投与期間中に発作を示した動物は安楽死させ、剖検を実施した。計画殺動物について以下の臓器重量を測定した。

肝臓、肺、心臓、脾臓、胸腺、精巣上体、腎臓、卵巣、前立腺、精巣、子宮、副腎、甲状腺（及び上皮小体）、脳、下垂体
投与の影響は認められなかった。

7.5mg/kg/day 群雄の前立腺および精巣上体の絶対重量が対照群に比べ統計学的有意に増加したが、15mg/kg/day 群では同様の変化は認められず、病理組織学的検査においても関連する所見が認められなかったため性成熟の個体間差による変動と判断された。7.5および15mg/kg/day 群雄の肝臓絶対重量が対照群に比べ増加したが、比重量に変化はなく関連する病理組織学的所見もなかったため投与による毒性影響とは判断されなかった。

臓器重量（統計学的有意差の認められた所見）

性		雄		雌	
用量 (mg/kg/day)		7.5	15	7.5	15
最終体重		(109)	(109)		
肝臓	絶対重量	↑ 120	↑ 129		
精巣上体	絶対重量	↑ 116			
前立腺	絶対重量	↑ 150			

表中の数値は対照群を100とした場合の値、()内は参考値

↑ ↓ :p≤0.05 (t-test)

肉眼的病理検査；

投与に関連した変化は認められなかった。

30mg/kg/day 群雄で認められた前立腺等の小型化は屠殺時期の違いによる影響と考えられた。その他、下垂体嚢胞や脾臓の変色域が単発的に認められたが偶発的变化と考えられた。

肉眼的病理検査結果（所見の認められた項目）

性		雄				雌			
用量 (mg/kg/day)		0	7.5	15	30	0	7.5	15	30
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
下垂体	嚢胞	0	0	1	0	0	0	0	1
甲状腺	小型	0	0	0	1				
胸腺	小型	0	0	0	1				
前立腺	小型	0	0	0	2				
脾臓	変色域					0	0	0	1

病理組織学的検査；対照群ならびに 15 および 30mg/kg/day 群の全動物について、以下の組織について病理組織学的検査を実施した。

盲腸、結腸、十二指腸、食道、胆嚢、回腸、空腸、肝臓、すい臓、直腸、唾腺、胃、喉頭、肺、鼻咽頭、気管、大動脈、骨髄、心臓、リンパ腺（腸間膜、咽後）、脾臓、胸腺、子宮頸部、精巣上体、卵管、腎臓、乳腺、卵巣、前立腺、尿管、膀胱、子宮、副腎、甲状腺（上皮小体を含む）、脳（小脳、大脳および中脳、延髄/橋）、眼、視神経、坐骨神経、下垂体、脊髄（頸部、胸部、腰部）、肋骨、胸骨、肉眼的異常部位、筋肉、皮膚

肉眼的異常部位、雄の前立腺および肝臓、雌雄の脳、脊髄および坐骨神経については 7.5mg/kg/day 群についても検査を実施した。

認められた主な所見を次表に示す。

中用量および高用量群雌雄で主に脊髄後索の軸索変性が認められた。脳（雌のみ）および坐骨神経でも軸索変性が認められたが、その程度は脊髄における変化に比べ軽微であった。

神経組織では他に、個々の単一神経線維における変性、軸索の好酸性腫脹、神経膠症および炎症が認められたが、その頻度および程度は低く、対照群でも認められている、または用量との関連性が無いことから投与の影響とはみなさなかつた。その他、腎臓の嚢胞または炎症、前立腺の成熟不全、肝臓および肺の血管周囲性浸潤が認められたが、いずれも、対照群でも認められている、用量との関連性がない、早期の死亡によるものである等の理由で投与の直接的影響とは考えられなかつた。

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。

病理組織学的検査結果

性		雄				雌			
用量(mg/kg/day)		0	7.5	15	30	0	7.5	15	30
脳	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	軸索腫脹	0	1	0	1	0	1	3	1
	軸索変性	0	0	0	0	0	0	1	2
	神経線維変性	0	0	0	0	0	1	0	0
	リンパ球性炎症	0	0	0	0	0	1	1	0
	神経膠症	0	0	0	0	0	0	1	0
腎臓	検査動物数	4	0	4	4	4	0	4	4
	嚢胞	1	0	0	0	0	0	1	0
	リンパ球性炎症	0	0	0	1	0	0	0	0
肝臓	検査動物数	4	4	4	4	4	0	4	4
	血管周囲性浸潤	0	0	1	0	1	0	0	0
肺	検査動物数	4	0	4	4	4	0	4	4
	血管周囲性浸潤	2	0	1	4	3	0	2	4
坐骨神経	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	軸索変性	0	0	1	1	0	0	2	2
前立腺	検査動物数	4	4	4	4				
	未成熟	0	0	0	3				
脊髄	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	軸索腫脹	0	1	2	0	0	0	0	0
	軸索変性	0	0	1	4*	0	0	2	4*
	神経線維変性	2	3	2	0	0	2	3	0

* p ≤ 0.05 (Fisher 直接確立法)

本試験において認められた毒性影響を以下に要約する。

用量	雄	雌
30mg/kg/day*	・痙攣発作および関連する一般状態の変化	・痙攣発作および関連する一般状態の変化
15mg/kg/day 以上	・脊髄後索、坐骨神経 神経軸索変性	・脊髄後索、脳、坐骨神経 神経軸索変性
7.5mg/kg/day	・所見なし	・所見なし

*投与 36 日目に終了

以上より、本試験における無毒性量は雌雄とも 7.5mg/kg/day 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。

(7) 反復経口投与神経毒性

ラットを用いた 90 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 11)

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

検体純度：

供試動物：Wistar Han Crl:WI (HAN)系ラット、1 群雌雄各 12 匹

投与開始時 約 8 週齢、体重；雄 232.0～302.4g、雌 146.9～195.4g

投与期間：90 日間

投与方法：検体を雄については 0、200、4000 および 10000ppm、雌については 0、200、4000 および 8000ppm の濃度で飼料に混和し最低 90 日間混餌投与した。

用量設定根拠；本試験の用量は主に Wistar ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験（1 群雌雄各 10 匹、混餌投与；濃度 0、200、5000 および 10000ppm、資料 9）の結果に基づき決定した。また、ラットを用いた慢性毒性試験の中間結果およびラットを用いた繁殖試験のための用量設定試験の中間結果も考慮した。これらの試験結果に基づき、最大耐性用量（MTD）として雄では 10000ppm、雌では 8000ppm を、無毒性量が期待できる用量として雌雄とも 200ppm を、さらに中間用量として 4000ppm を選択した。

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；全動物について毎日 2 回（週末および休日は 1 回）一般状態及び生死を観察した。また、詳細な身体検査は毎週実施し記録した。

投与に関連する死亡は認められなかった。投与前の FOB 検査後、対照群雌 1 匹および 4000ppm 雌 2 匹が死亡した。剖検の結果、直腸体温測定時の誤操作による直腸の損傷が死因と特定された。

10000ppm 群雄では振戦および反復咀嚼行動が 1 動物で、肛門周囲の着色が 9 動物で、赤色涙による汚れおよび鼻部の着色がそれぞれ 2 および 3 動物で見られ、8000ppm 群雌では振戦が 5 動物で、肛門周囲の着色および尿による着色がそれぞれ 1 動物で見られ、いずれも投与に関連する変化と考えられた。

その他、対照群を含む 4000ppm 以下の用量で一時的な鼻部や肛門周囲の着色、歯列不整および脱毛が少数の動物に認められたが、いずれも、その程度がわずかであり単発的である、ないし対照群にも認められていることから投与の影響とは考えられなかった。

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。

認められた主な一般症状

性	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	200	4000	10000	0	200	4000
検査動物数	12	12	12	12	11	12	10	12
脱毛 (肩部、左側)	1	0	0	0				
脱毛 (前肢、両側)					1	0	0	0
脱毛 (前肢、左側)	1	0	0	0				
脱毛 (前肢、右側)					0	0	0	1
脱毛 (前足、両側)					1	0	0	0
涙着色による汚れ	0	0	0	2				
鼻部着色、赤	1	0	1	3				
肛門周囲着色	0	0	1	9	0	0	0	1
咀嚼行動の反復	0	0	0	1				
振戦	0	0	0	1	0	0	0	5
歯列不整					0	1	0	0
尿による汚れ					0	0	0	1

体重；全動物の体重を毎週測定した。最終屠殺日にも体重を測定し最終体重とした。10000ppm 群雄の体重が投与4週以降投与期間を通じて対照群に比べ減少傾向を示した（対照群比・8~10%）。8000ppm 群雌の体重は対照群に対し投与期間を通じて統計学的有意に減少し（対照群比・9~12%）、4000ppm 群雌でも減少傾向（対照群比・3~6%）を示した。投与期間を通じた増体重は 10000ppm 群雄で対照群に対し 20%、8000ppm 群雌で 30%、4000ppm 群雌で 14%減少した。

4000ppm 以下の投与群雄および 200ppm 群雌では影響は認められなかった。体重（統計学的有意差の認められた週）

性	雄			雌		
	用量 (ppm)	200	4000	10000	200	4000
1週					(96)	↓91
2週					(97)	↓88
3週					(96)	↓90
4週				(91)	(94)	↓88
5週				(91)	(95)	↓89
6週				(92)	(96)	↓90
7週				(92)	(95)	↓90
8週				(92)	(95)	↓89
9週				(90)	(96)	↓89
10週				(91)	(96)	↓89
11週				(91)	(95)	↓89
12週				(91)	(95)	↓90
13週				(92)	(95)	↓89
総増体重(0-13週)				(80)	(86)	↓70

↓ p ≤ 0.05 (Dunnett)

摂餌量； 摂餌量は毎週測定した。

10000ppm 群雄の摂餌量が投与期間の大部分で対照群に比べ減少傾向を示し、1、4 および 5 週目には統計学的有意差が認められた。8000ppm 群雌の摂餌量が投与期間を通じて対照群に比べ減少し、4 週以降統計学的有意差が認められた。

4000ppm 以下の投与群雌雄では摂餌量に投与の影響は認められなかった。

摂餌量（統計学的有意差の認められた週）

性 用量 (ppm)	雄			雌		
	200	4000	10000	200	4000	8000
1週			↓ 82			(89)
4週			↓ 88			↓ 86
5週			↓ 88			↓ 85
6週			(91)			↓ 82
7週			(94)			↓ 83
8週			(91)			↓ 84
9週			(92)			↓ 84
10週			(94)			↓ 87
13週						↓ 81

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

↓ ;p≤0.05 (Dunnett)

検体摂取量； 全投与期間にわたる平均検体摂取量は以下のとおりであった。

用量 (ppm)		200	4000	8000	10000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	12.2	243.6	-	585.7
	雌	15.1	306.9	580.9	-

FOB； 全生存動物について、投与前週と投与 2、4、8 および 13 週目日の 5 回実施した。FOB 検査室にて、以下の項目を検査した。

ホームケージでの観察

姿勢、立毛、不随意運動、歩行異常、発声、運動量低下、反復的頭部上下動(repetitive head bobbing)、反応亢進

ハンドリング間の観察

取りだし時の難易、ハンドリングに対する反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、鼻汁、着色（涙、鼻、肛門周囲、尿、口）、脱毛、痩せ、噛み跡、眼球突出、歯の破折／不正咬合、爪欠損、脱水、体温（触診による）

オープンフィールド観察

立ち上がり回数、立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動、常同行動、異常行動、歩行異常、発声、覚醒レベル、排泄量

反射／生理的観察／測定

接近反応、接触反応、聴覚反応、テイルピンチ、通常照明下での瞳孔径、瞳孔反射、正向反射、握力、体重、体温、着地開脚幅

投与の影響として、10000ppm 群雄および 8000ppm 群雌で振戦、咀嚼行動の反復、肛門周囲の着色、下痢、尿着色ないし着色涙が認められた。これらの群

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。

では同時に対照群に比した体重の減少または減少傾向が認められた。

その他、対照群を含め、鼻部の着色、脱毛、歯の破損ならびに不整が認められたが、頻度が低い、1 時点では認められない、用量との関連がない、ないし対照群にも見られる等の理由で投与の影響とは考えられなかった。

FOB 結果

雄					
用量 (ppm)		対照	200	4000	10000
検査動物数		12	12	12	12
投与前	所見なし				
2週目	ハンドリングー着色： 鼻部赤色	1	0	0	0
	ハンドリングー着色： 肛門周囲褐色	0	0	0	1
	体重(g)	293	288	291	277
4週目	ハンドリングー着色： 鼻部赤色	1	0	0	1
	ハンドリングー着色： 肛門周囲褐色	0	0	0	6*
	ハンドリングー脱毛： 有	1	0	0	0
	オープンフィールドー下痢： 有	0	0	0	1
	体重(g)	342	337	335	321
8週目	ハンドリングー着色： 赤色涙	0	0	0	2
	ハンドリングー着色： 肛門周囲褐色	0	0	0	4*
	ハンドリングー脱毛： 有	1	0	0	0
	オープンフィールド： 間代性振戦	0	0	0	2
	体重(g)	407	399	397	373
13週	ハンドリングー着色： 赤色涙	0	1	0	1
	ハンドリングー着色： 鼻部赤色	0	1	0	0
	ハンドリングー着色： 肛門周囲褐色	0	0	0	3*
	ハンドリングー脱毛： 有	1	0	0	0
	ホームケージ： 歯の破損/不整	0	0	0	2
	オープンフィールド： 咀嚼反復	0	0	0	2
	体重(g)	450	446	425	414
雌					
用量 (ppm)		対照	200	4000	8000
検査動物数		11-12 ^a	12	10-12 ^b	12
投与前週	所見なし	12	12	12	12
2週目	体重(g)	186	185	181	164*
4週目	ハンドリングー着色： 鼻部赤色	0	0	0	1
	ハンドリングー着色： 肛門周囲褐色	0	0	0	1
	ハンドリングー着色： 尿黄色	0	0	0	1
	オープンフィールド： 間代性振戦	0	0	0	1
	体重(g)	209	208	199	182*
8週目	ハンドリングー脱毛： 有	1	0	0	0
	体重(g)	230	231	220	206*
13週目	ハンドリングー脱毛： 有	2	0	0	2
	体重(g)	246	264	231	220*

a: 2 週目以降の検査動物数は 11、 b: 2 週目以降の検査動物数は 10

*p<0.05 (Dunnett's test)

自発運動量； FOB 検査と同日に FOB 検査終了後、全動物について自発運動量 (motor activity：ビームを横切った回数として記録) および移動運動量 (locomotor activity：ビームを横切った回数から連続して同一のビームを横切った回数を減じた回数として記録) を測定した。測定は 8 の字迷路を用いて 10 分/インターバル、6 インターバル/セッションで実施した。対照群に比べ通常の変動幅と考えられる±20%を超える変動が認められた場合に投与の影響を疑った。

8000ppm 群雌で投与 2 および 4 週の自発運動量ならびに投与 2、4 および 8 週の移動運動量が対照群に比べ 20%以上低下し、投与の影響による変化と考えられた。同群ではインターバル毎の自発運動量および移動運動量も対照群に比べ減少傾向を示した。他の群では投与の影響は認められなかった。習慣作用 (habituation) に影響は認められなかった。

セッション当りの自発運動量

性	雄			雌			
	用量(mg/kg/day)	200	4000	10000	200	4000	8000
投与前		94	87	82	94	94	105
2 週		92	105	92	105	99	66*
4 週		98	108	102	113	104	73
8 週		91	103	115	107	107	81
13 週		96	107	114	105	90	92

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

↓: p ≤ 0.05 (ANOVA)

セッション当りの移動運動量

性	雄			雌			
	用量(mg/kg/day)	200	4000	10000	200	4000	8000
投与前		98	88	85	97	88	108
2 週		92	102	90	109	96	58*
4 週		93	107	107	109	92	57*
8 週		90	105	116	103	97	73
13 週		97	110	105	116	91	85

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

↓: p ≤ 0.05 (ANOVA)

眼科学的検査；投与前および投与 12 週目に全生存動物について眼科学的検査を実施した。

投与に関連する変化は認められなかった。

剖検、組織採取および脳重量； 投与終了後全生存動物について剖検し、全臓器、体腔、切断面、開口部および外表の検査を実施した。各群雌雄各 6 匹ずつを、ペントバルビタールの腹腔内投与 (50mg/kg) による深麻酔下、左心室からリン酸緩衝液中亜硝酸ナトリウムを流した後、リン酸緩衝液中 Universal 固定液 (1%

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。

グルタルアルデヒドおよび4%EM級ホルムアルデヒド)で灌流した。各動物から脳および脊髄全体、両眼(視神経含む)、末梢神経(坐骨、脛骨、腓腹)、ガッセル神経節、腓腹筋、両前肢、神経組織または骨格筋の肉眼的病変部を採取し、10%緩衝ホルマリンに後固定した。脳はホルマリン固定前に重量を測定した。灌流に用いなかった生存動物はCO₂窒息により屠殺した。

10000ppm 群雄で腹部/肛門周囲の濡れ/着色および流涙が少数例に認められた以外、投与に関連すると思われる剖検所見はなかった。

肉眼的病理検査結果(所見の認められた項目)

性		雄			
用量(ppm)		0	200	4000	10000
検査動物数		12	12	12	12
外表	流涙	0	0	0	3
	腹部濡れ/着色	0	0	0	1

最終体重が10000ppm 群雄で対照群に比べ減少傾向を示し、8000ppm 群雌では統計学的有意に減少した。脳重量に対する影響は認められなかった。

神経病理学的検査;高用量群雌雄の灌流動物の以下の組織について顕微鏡的病理検査を実施した。

- ・脳(8冠状断面)、脊髄(頸部、胸部、腰部)、馬尾、眼、視神経、腓腹筋;パラフィンに包埋しヘマトキシリン&エオシン染色
- ・背根神経節(頸膨大および腰膨大、背後根線維および腹根線維を含む)、ガッセル神経節、末梢神経組織(坐骨、脛骨、腓腹神経);メタクリル酸グリコール(GMA)に包埋し、2~3 μ mに細切後Lee染色変法により染色

投与に関連する所見は認められなかった。

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

本試験の結果、投与による毒性影響として認められた所見を下表に要約する。

用量 (ppm)	雄	雌
10000	<ul style="list-style-type: none">着色涙による汚れ、鼻部着色、肛門周囲着色、反復性咀嚼行動、振戦、下痢体重低下、増体重抑制摂餌量減少	—
8000	—	<ul style="list-style-type: none">肛門周囲着色、振戦、着色尿摂餌量減少自発運動量、移動運動量減少
4000 以上	<ul style="list-style-type: none">4000ppm では所見なし	<ul style="list-style-type: none">体重低下、増体重抑制
200	<ul style="list-style-type: none">所見なし	<ul style="list-style-type: none">所見なし

—：該当なし

以上より、本試験における神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも 4000ppm (雄 243.6mg/kg/day、雌 306.9mg/kg/day) と判断された。

申請者注：一般毒性に関する無毒性量は雄では 4000ppm (243.6mg/kg/day)、雌では 200ppm (15.1mg/kg/day) と判断される。

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

(8) 28日間反復投与遅発性神経毒性

(資料 12)

12生産第3986号「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4.試験成績の除外について(2)⑧のアおよびイの規定に基づき下記の理由により試験を省略した。

- ・有効成分が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。