

(12). 繁殖毒性および催奇形性

1) ラットを用いた3世代繁殖毒性試験

(資料 T-35)

検体の純度:

供試動物: Wistar系ラット、4週齢、体重 雄 51~82g 雌 55~77g、1群雌雄各25匹

投与期間: P世代; 投与開始からF1b児離乳時までの約19週間

F1世代; 離乳時からF2b児離乳時までの約19週間

F2世代; 離乳時からF3b児離乳時までの約19週間

投与方法: 検体を0、30、300および3000ppmの濃度で飼料に混入し、各世代にわたって自由に摂食させた。

交配・調整・選抜および観察・検査項目を次々頁の表にまとめた。

一般状態および死亡率; 雄親動物に交配前の90日間の生育期間中週1回、雌親動物は生育および哺育期間中は週1回、妊娠期間中は毎日、体重を測定した。

摂餌量; 雄親動物は生育期間中、雌親動物は生育および妊娠期間中の摂餌量を測定した。

検体摂取量; 摂餌量および飼料中の設定検体濃度から、生育期間中のラット1匹当たりの1日検体摂取量(mg/1匹/日)を算出した。申請者は上記摂取量を用いて、生育期間の開始時体重および交配前の体重より、平均値体重を求め、ラット体重1kg当たりの検体摂取量(mg/kg/日)を概算した。

交配および妊娠の確認; 交配は雌雄1対1で終夜同居させ、翌朝膣栓の有無で交尾を確認した(妊娠0日)。

繁殖性に関する検査; 第1産児出産時には各世代とも全雌親動物、第2産児出産時にはPおよびF1世代とも各群5匹、ならびにF2世代では各群10匹の雌親動物について、出産児数、生存児数、死産児数、性比および生存児体重を測定した。児動物は離乳時まで観察し、生後1、2および3週目の体重を測定し、生後4日目の生存児数および離乳児数を調べた。第2産児は哺育期間中、身体発育分化(耳介の開展、下腹部発毛、歯芽の萌出、眼瞼の開裂)を観察し、離乳時に屠殺して骨格検査を実施した。雌親動物は第2産児の離乳時に屠殺して内臓を観察し、着床数を調べた。

上記の観察にもとづき、次の各指標を算出した(交尾率および出産率は申請者が算出)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

$$\text{交尾率(\%)} = \frac{\text{交尾が確認された雌動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率(\%)} = \frac{\text{妊娠雌動物数}}{\text{交尾が確認された雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出産率(\%)} = \frac{\text{生存児を出産した雌動物数}}{\text{妊娠雌動物数}} \times 100$$

$$\text{性 比} = \frac{\text{生存雄児数}}{\text{生存雌児数}}$$

$$\text{4日間生存率(\%)} = \frac{\text{生後4日目の生存児数}}{\text{生後出産児数}} \times 100$$

$$\text{離乳時生存率(\%)} = \frac{\text{離乳児数}}{\text{生後4日目の選抜後の児数}} \times 100$$

催奇形性に関する検査：PおよびF1世代において第2産児の妊娠20日目に、各群10匹の雌親動物について、黄体数、着床数、生存・死亡胎児数および性比を検査した。胎児動物は外表検査後、体重を測定した。各群5匹の雌親動物の胎児動物については骨格検査を、残りの5匹の雌親動物の胎児動物については内臓検査を実施した。検査の結果から以下の指標を算出した。

$$\text{着床率(\%)} = \frac{\text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

$$\text{性 比} = \frac{\text{生存雄胎児数}}{\text{生存雌胎児数}}$$

亜急性毒性試験：F2b児動物の離乳時に各群雌雄各10匹を選抜し、繁殖毒性試験と同じ検体濃度の餌を、3ヵ月間にわたり随時摂食させ、以下の検査を実施した。
血液学的検査(赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球百分比、血漿タンパク)、血液生化学的検査(ALP、GOT、GPT、総タンパク、アルブミン、A/G比)、尿検査(pH、タンパク、糖、ケトン体、潜血)、臓器重量(肺、心臓、脾臓、胸腺、肝臓、甲状腺、副腎、腎臓、精巣、卵巣)、病理組織学的検査(脳、肺、心臓、脾臓、胸腺、肝臓、甲状腺、副腎、腎臓、精巣、卵巣、子宮、膀胱、下垂体、リンパ節、前立腺、唾液腺)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

| 世代 | 期間(日間) | 交配・調整・選抜 | 観察・検査項目 | |
|-----|---------|--|--|---|
| P | 生育(90日) | | 体重を週1回測定。 | |
| | 交配 | 雌雄1対1で交配。交配は膣栓の有無で確認(妊娠0日) | 交配状況の観察。 | |
| | 妊娠(21日) | | 母動物の体重、摂餌量を毎日測定。 | |
| | 出産 | | 新生児数、死産児数、性別、生存児体重の測定。 | |
| | F1a | 哺育(21日) | 出産後4日目各同腹児数を雄5匹雌5匹に調整 | 母動物体重を出産後0、1、2および3週目に測定。 生存児数を4日目に、児動物体重を1、2および3週目に測定。 |
| | | 離乳 | | 離乳児数の調査後、屠殺。 |
| | | 休養(10日) | | |
| F1b | 交配 | 1回目の交配に準ずる | 1回目の交配に準ずる。 | |
| | 妊娠(21日) | | 母動物の体重を毎日測定。妊娠20日目に各群10匹の母動物を開腹し、催奇形性に関する検査。 | |
| | 出産 | | 残りの母動物を自然分娩させ、出産状況の観察 各群5匹の母動物を選抜し、新生児数、死産児数、性別、生存児体重の測定。 | |
| | 哺育(21日) | 第1産児に準じる | 第1産児に準じる。 | |
| | 離乳 | 出産時の選抜で残った各群10匹の母動物から各群雌雄各25匹の児動物を継代用に無作為に選抜 | 出産時に選抜した各群5匹の母動物を屠殺し、 内臓を観察後、着床数の調査。これらの母動物からの離乳児数および発育状態を観察後屠殺し、骨格検査の検査。 | |
| | 生育(90日) | (P世代に準ずる) | (P世代に準ずる) | |
| | 交配 | (P世代に準ずる) | (P世代に準ずる) | |
| F2a | 妊娠(21日) | (P世代に準ずる) | (P世代に準ずる) | |
| | 出産 | | (P世代に準ずる) | |
| | 哺育(21日) | (P世代に準ずる) | (P世代に準ずる) | |
| | 離乳 | | (P世代に準ずる) | |
| | 休養(10日) | | | |
| F2b | 交配 | (P世代に準ずる) | | |
| | 妊娠(21日) | | (P世代に準じる) | |
| | 出産 | | (P世代に準じる) | |
| | 哺育(21日) | | (P世代に準じる) | |
| | 離乳 | 出産時の選抜で残った各群10匹の母動物から各群雌雄各15匹の児動物を継代用に、また各群雌雄各10匹を3ヵ月亜急性毒性試験用に無作為に選抜 | (P世代に準じる) | |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 世代 | 期間(日間) | 交配・調整・選抜 | 観察・検査項目 |
|-----|---------------|-----------|---|
| F2b | 生育(90日) | | (P世代に準じる) 亜急性毒性試験用の児動物に、検体を混入した飼料を3カ月間随時摂食させた。 |
| | 交配 | (P世代に準ずる) | (P世代に準ずる) |
| F3a | 妊娠(21日) | | (P世代に準ずる) |
| | 出産 | | |
| | 哺乳(21日) 離乳 | | |
| F3b | 休養(10日) | | |
| | 交配 | (P世代に準ずる) | |
| | 妊娠(21日) | | 母動物の体重を毎日測定。 |
| | 出産 | | 出産状況の観察。 |
| | 哺乳(21日) 離乳 | (P世代に準じる) | 各群10匹の母動物の、新生児数、死産児数、性別、生存児体重の測定。 (P世代に準じる) |
| | | | 出産時に選抜した母動物を屠殺し、内臓観察および着床数の調査。これら母動物の離乳児の発育状況を観察。 |

結果： 概要を繁殖毒性(p.168)、催奇形性(p.170)および亜急性毒性(p.171)の順に表に示した。

親動物に対する影響； 3000ppm 群雌雄親動物のいずれの世代においても、生育および妊娠期間の体重増加量が、対照群に比べ統計学的に有意に減少した。30 および 300ppm 群雌のP世代の生育期間中にも、体重増加量の有意な減少が認められたが、F1 および F2 世代、ならびに亜急性毒性ではこれら投与群では減少は認められず、明らかな検体投与による影響とは判断できなかった。摂餌量には有意な変化はみられなかった。

繁殖性に関する検査； 交尾率、受胎率等の親動物の交配成績には検体投与の影響は認められなかった。児動物の出産時体重に変化はみられなかったが、3000ppm 群のF2aとF2b 雌児動物およびF3aとF3b 雌雄児動物の離乳時体重は、対照群に比べ統計学的に有意に減少した。産児数、生存児数、性比、生存率および身体発育分化に、検体投与の影響は認められなかった。

催奇形性に関する検査； 着床数、生存および死亡胎児数等の着床所見に、検体投与の影響

は認められなかった。胎児動物の骨格検査で腰椎弓の分裂・分岐・欠損、胸骨核の化骨不全等の骨格変異が観察された。しかし、発生頻度は対照群と差はなく、その他の項目にも検体投与の影響は認められなかった。

亜急性毒性試験；血液学的検査において、30ppm 以上の群の雄で赤血球数およびヘモグロビン量の減少、300ppm 以上の群の雌でヘモグロビン量および雄で白血球数が対照群と比較して統計学的に有意に減少した。血液生化学的検査において、300ppm 群雄および 3000ppm 群雌雄で A/G 比が有意に増加した。尿検査に変化はなかった。臓器重量において、300 あるいは 3000ppm 群雌雄で肝臓、腎臓、副腎、甲状腺等の絶対重量あるいは対体重比の有意な変化がみられたが、投与量との関連は乏しかった。

病理組織学的検査では、肝臓にクッパー細胞移動および肝細胞大小不同、腎臓に管腔の拡張およびうっ血、肺に気管支炎および気管支周囲リンパ組織増生等の所見が対照群を含む全群で散見されが、検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果より、3 世代にわたって検体を 0、30、300 および 3000ppm の濃度で混餌投与した場合、3000ppm 群で体重増加量の減少が P、F1 および F2 雌雄に認められた。また、3000ppm 群では F2a および F2b 雌児動物、F3a および F3b 雌雄児動物に体重増加の減少が認められた。繁殖能力に対しては、いずれの世代においても検体投与による影響は認められなかった。したがって、無毒性量は親および児動物に対して 300ppm (P: 雄 19.2mg/kg/日、雌 16.1mg/kg/日、F1: 雄 24.5mg/kg/日、雌 25.6mg/kg/日、F2: 雄 23.5mg/kg/日、雌 27.1mg/kg/日) と判断される。

繁殖能については最高投与量の 3000ppm でも影響がなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果の概要(繁殖毒性)

| 世代 | | 親: P、児: F1a F1b | | | | 親: F1、児: F2a F2b | | | | 親: F2、児: F3a F3b | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|-------------------------------|----------------------|-----------------------------|-----|------|------------------|----|-----|------|------------------|----|-----|------|---|---|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 30 | 300 | 3000 | 0 | 30 | 300 | 3000 | 0 | 30 | 300 | 3000 | | | | | | | | | | | | | | |
| 親動物 | 動物数 | 雄 | | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | | | |
| | | 生育期間 | 雄 | | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | | |
| | 体重増加量 (g) | 妊娠期間 | a | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | | |
| | | 生育期間 | 雄 | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | | | |
| | 摂餌量 (mg/匹/日) | 生育期間 | 雄 | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | | | |
| | | 検体摂取量 (mg/匹/日) | 生育期間 | 雄 | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | | | |
| | 検体摂取量 (mg/kg/日) ¹⁾ | 生育期間 | 雄 | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | | | |
| | | 交配に用いた雌動物数 | a | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | | |
| | 交配成績 | 交尾率(%) ¹⁾ | a | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | | |
| | | | a | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | | 受胎率(%) | a | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | |
| | 出産率(%) ¹⁾ | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | 児動物 | 親動物数 | a | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | |
| | | 産児数 | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | |
| | | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | |
| 生存児数 | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| 死産児数 | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| 性比(雄/雌) | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| 4日目生存率(%) | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| 離乳時生存率(%) | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| | | a | | | | | | | | | | | | | b | | | | | | | | | | | | |
| 生存児体重 ²⁾ (生後3週目) | | a | 雄 | | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | | |
| | | | 雄 | | | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | |
| | | b | 雄 | | | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | |
| | | | 雄 | | | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | |
| 身体発育分化 | | b | 検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 骨格検査 | 検査胎児数 | b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 異常 | b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 変異 (13肋骨短小) | b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

* (↓): p<0.05 ** : p<0.01、検定法: 体重および児数はt検定、性比および異常は順位和検定。

1): 申請者がデータをもとに算出した。 2): グラフ表示のみで数値の記載はない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

結果の概要(催奇形性)

| 世代 | | 親: P、児: F1a F1b | | | | 親: F1、児: F2a F2b | | | | 親: F2、児: F3a F3b | | | | | |
|---------------|------|-----------------|--------------|-----------------------------|------|------------------|----|-----|------|------------------|----|-----|------|--|--|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 30 | 300 | 3000 | 0 | 30 | 300 | 3000 | 0 | 30 | 300 | 3000 | | |
| 催奇形性に関する検査(b) | 着床所見 | 検査親動物数 | | | | | | | | | | | | | |
| | | 黄体数 | | | | | | | | | | | | | |
| | | 着床数 | | | | | | | | | | | | | |
| | | 着床率(%) | | | | | | | | | | | | | |
| | | 生存胎児数 | | | | | | | | | | | | | |
| | | 死亡胎児数 | | | | | | | | | | | | | |
| | 胎児動物 | 性比(雄/雌) | | | | | | | | | | | | | |
| | | 体重 (g) | 雄 | | | | | | | | | | | | |
| | | | 雌 | | | | | | | | | | | | |
| | | 検査胎児数 | | | | | | | | | | | | | |
| | | 異常 | | | | | | | | | | | | | |
| | | 変異 | 腰椎弓の分裂・分岐・欠損 | | | | | | | | | | | | |
| | | | 胸骨核化骨不全 | | | | | | | | | | | | |
| | | | 腰肋(14 肋骨) | | | | | | | | | | | | |
| | | 化骨遅延 | | 検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。 | | | | | | | | | | | |
| | | 内臓検査 | 検査胎児数 | | | | | | | | | | | | |
| | | | 腎水腫 | | | | | | | | | | | | |

検定法:着床所見は t 検定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果の概要(亜急性毒性)

| 検査項目 | 投与量(ppm) | | | | | | | | | |
|----------|----------|--------------|-----|------|---|----|-----|------|--|--|
| | 雄 | | | | 雌 | | | | | |
| | 0 | 30 | 300 | 3000 | 0 | 30 | 300 | 3000 | | |
| 血液学的検査 | 赤血球 | | | | | | | | | |
| | ヘモグロビン量 | | | | | | | | | |
| | ヘマトクリット値 | | | | | | | | | |
| | 白血球数 | | | | | | | | | |
| | 分節核好中球 | | | | | | | | | |
| | リンパ球 | | | | | | | | | |
| | 血漿タンパク | | | | | | | | | |
| 血液生化学的検査 | GOT | | | | | | | | | |
| | GPT | | | | | | | | | |
| | 総タンパク | | | | | | | | | |
| | A/G | | | | | | | | | |
| | アルブミン | | | | | | | | | |
| 体重 | | | | | | | | | | |
| 臓器重量 | 心臓 | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| | 肺 | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| | 肝臓 | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| | 脾臓 | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| | 腎臓(右) | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| | 腎臓(左) | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| | 副腎(右) | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| | 副腎(左) | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| | 精巣、卵巣(右) | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| | 精巣、卵巣(左) | 絶対重量 | | | | | | | | |
| | | 対体重比 | | | | | | | | |
| 胸腺 | 絶対重量 | | | | | | | | | |
| 甲状腺 | 絶対重量 | | | | | | | | | |
| | 対体重比 | | | | | | | | | |
| 病理組織学的検査 | 所見\検査動物数 | | | | | | | | | |
| | 肝臓 | クッパー細胞移動 | | | | | | | | |
| | | 肝細胞大小不同 | | | | | | | | |
| | 肺 | 気管支炎 | | | | | | | | |
| | | 気管支周囲リンパ組織増生 | | | | | | | | |
| | 腎臓 | 管腔の拡張 | | | | | | | | |
| うっ血 | | | | | | | | | | |

3
カ
月
亜
急
性
毒
性

↑↓:p<0.05 ♂♀:p<0.01、検定法:t検定。
表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) ラットを用いた2世代繁殖毒性試験

(資料 T-68)

検体の純度:

供試動物: Sprague Dawley 系 Cri: CD (SD) ラット、投与開始時5週齢、1群雌雄各24匹

投与期間: P世代;投与開始から雄は15週間、雌はF1児離乳時まで17週間

F1世代;離乳時から雄は15週間、雌はF2児離乳時まで17週間

(P親の投与開始:2006年7月27日、F1親の剖検開始:2007年3月6日)

投与方法: 検体を0、30、300、3000 ppm含有した飼料を自由摂取させた。

投与量設定根拠:

試験項目および方法: 概要を表にまとめた。

親動物

一般状態および死亡: 全動物について毎日2回以上、一般状態および生死を観察した。

体重: 雄は週1回、および剖検日に、雌は育成および交配期間中は週1回、交尾確認後は妊娠0、7、14、20日ならびに哺育0、4、7、14、21日(剖検日)に測定した。各段階での体重増加量を計算した。

摂餌量: 雄は交配期間中を除き週1回、雌は育成期間中は週1回、妊娠、哺育期間中は哺育4日を除く体重測定日に測定した。

交配および妊娠の確認: 雌雄を1対1で最大14日間同居させた。毎朝、膣栓および膣垢中の精子の有無を調べ、いずれかが認められた場合に交尾が成立したと判断してその日を妊娠0日とした。14日間で交尾が成立しない雌は既に交尾の成立した同じ群の雄と追加交配した。妊娠は、分娩の有無および剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べることにより確認した。

分娩の確認: 分娩観察を妊娠21日から25日まで行った。午後1時の観察で分娩終了が確認された場合を哺育0日とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

繁殖性に関する指標： 交配、妊娠、分娩および哺育の各期間と剖検時の観察に基づき、以下の指標を算出した。

雄の交尾率(%)=(交尾成立雄数/交配に用いた雄数)×100

雌の交尾率(%)=(交尾成立雌数/交配に用いた雌数)×100

雄の受胎率(%)=(雌を妊娠させた雄数/交尾成立雄数)×100

雌の受胎率(%)=(妊娠雌数/交尾成立雌数)×100

出産率(%)=(生存児出産雌数/妊娠雌数)×100

分娩率(%)=(産児数/着床数)×100

性成熟：雄の包皮分離と雌の膣開口完了日の日齢および完了日の体重 (F1 動物のみ)

発情期間隔；交配前 2 週間と交尾成立までの交配期間中の膣垢観察により算出

精子検査；精巣の精子頭部数、精巣上体の精子数、運動能および形態

肉眼的病理検査：すべての動物について剖検を行い、主要臓器を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。ただし精巣および精巣上体はブアン液で固定した後 70%エタノールに保存した。

臓器重量： 脳、下垂体、胸腺、甲状腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣および子宮の重量を測定した。さらに剖検時の体重に対する相対重量を算出した。

病理組織学的検査： 胸腺、肝臓、脾臓、卵巣、子宮は全例を検査した。精巣、精巣上体、精囊、凝固腺、前立腺および膣は対照群と高用量群の全例、低用量および中間用量群で性周期の異常が認められた雌および交尾または妊娠の証拠が得られなかった雌雄および妊娠したが分娩しなかった雌について検査した。肉眼的異常の認められた臓器または組織についても検査した。精巣については精子形成の異常の有無を詳細に観察した。卵巣については、原始卵胞の有無を観察し、F1 雌の対照群および高用量群の各 10 例の原始卵胞数を数えた。

児動物

一般状態および死亡： 全動物について 1 日 1 回、一般状態および生死を観察した。以下の式から生存率および離乳率を算出した。

生後 0 日の生存率(%)=(生後 0 日の生存児数/産児数)×100

生後 4 日の生存率(%)=(生後 4 日の生存児数/生後 0 日の生存児数)×100

生後 7 日の生存率(%)=(生後 7 日の生存児数/生後 4 日に選抜した児数)×100

生後 14 日の生存率(%)=(生後 14 日の生存児数/生後 7 日の生存児数)×100

生後 21 日の生存率(%)=(生後 21 日の生存児数/生後 14 日の生存児数)×100

離乳率(%)=(生後 21 日の生存児数/生後 4 日に選抜した児数)×100

産児数： 生後 0 日に、正常に出産した腹毎に生存児数と死亡児数を数え、それらの合計を産児数とした。それらの値から各群の 1 腹あたりの平均産児数を求めた。

性比： 生後 0 日に、児動物の性を肛門と生殖突起の間の長さで判定し、次の式から群毎に性比を求めた。

性比=総雄産児数/総産児数

体重： 全動物を生後 0、4、7、14、21 日に、加えて臓器重量を測定する離乳児は剖検日(生後 26 日)に測定した。離乳日までの体重については雌雄毎に腹あたりの平均体重を求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

発育分化： 全動物について、耳介開展、切歯萌出および眼瞼開裂を、それぞれ生後 3 日、11 日および 14 日に観察し、雌雄毎に腹の完成率を算出した。

肛門生殖突起間距離(AGD)： 全動物について、生後 4 日に測定した。雌雄毎に腹あたりの平均値を求め、さらに腹毎の平均体重の三乗根で除した値を求めた。(F2 動物のみ)

反射反応性検査： 各腹雌雄各 1 匹について、正向反射、背地走性および空中正向反射を、それぞれ生後 5 日、8 日および 18 日に検査した。

肉眼的病理検査： 生後 4 日に選ばれなかった児動物、次世代用に選抜されなかった離乳児および死亡児について剖検を行い、各腹から選択した雌雄各 1 例について、親と同じ臓器を同様の方法で固定・保存した。

臓器重量： 各腹から選択した雌雄各 1 匹について脳、胸腺、脾臓および子宮を測定した。さらに剖検時の体重に対する相対重量を算出した。

病理組織学的検査： 臓器重量を測定した動物のうち肝臓、卵巣および子宮は全例、胸腺および脾臓は対照群と高用量群の全例を検査した。

試験の概要

| 世代 | 期間(週間) | 交配・調整・選抜 | 観察・検査項目 |
|----|------------------------|---|--|
| P | 育成(10週) | 5週齢より投与開始 | 一般状態、生死の観察を毎日2回 体重、餌を週1回測定 交配2週前から性周期を検査 |
| | 交配(2週) 追加交配 (1週) | 雌雄1対1で交配、交尾不成立の雌 はすでに交尾成立した雄と追加交配 交尾は膣栓または膣垢中の精子で確 認(妊娠0日) | 体重を週1回測定 交配状況の観察 |
| | 妊娠(3週) 出産 | | 体重、餌を妊娠0、7、14、20日に測定 出産状況の観察 生存児数、死亡児数、外表異常、性別 および同腹生存児体重測定 母動物の体重を哺育0、4、7、14、21日に、 餌を哺育0、7、14、21日に測定 交配相手雌動物出産終了後に雄動物剖検 精子検査、臓器重量測定、病理組織学的検査 |
| | 哺育(3週) | 同腹児数調整 (生後4日、原則として雌雄各4匹) | 児動物の体重を生後4、7、14、21日に測定 途中死亡児、生後4日屠殺児の剖検 発育分化の観察 反射反応性検査 |
| F1 | 離乳 | 継代用の各群雌雄24匹ずつを選抜 | 母動物の剖検、着床痕数の計数、臓器重量測定 病理組織学的検査 選抜されなかった離乳児の剖検(生後26日) 各腹雌雄1匹ずつ体重測定、臓器重量測定 病理組織学的検査 性成熟の観察 |
| F2 | 育成(10週) | 3週齢より投与開始 | (P親動物に準ずる) |
| | 交配(2週) | (P親動物に準ずる) | (P親動物に準ずる) |
| | 妊娠(3週) 出産 | (P親動物に準ずる) | (P親動物およびF1児動物に準ずる) |
| F2 | 哺育(3週) | (F1児動物に準ずる) | (P親動物およびF1児動物に準ずる) 生後4日に肛門生殖突起間距離の測定 |
| | 離乳 | | (P親動物およびF1児動物に準ずる) |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果:概要を以下の表に示した。

結果の概要-1

| 世代 | | | 親:P 児:F1 | | | | 親:F1 児:F2 | | | | |
|--------------------|---------------|---|----------------------|----|-----|------|-----------|----|-----|------|--|
| 投与量(ppm) | | | 0 | 30 | 300 | 3000 | 0 | 30 | 300 | 3000 | |
| 動物数 | | 雄 | | | | | | | | | |
| | | 雌 | | | | | | | | | |
| 親動物 | 一般状態 | | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | | | | |
| | 死亡数 (安楽死含) | | 雄 | | | | | | | | |
| | | | 雌 | | | | | | | | |
| | 体重 (最終) | 雄 | 交配前 | | | | | | | | |
| | | | 交配前 | | | | | | | | |
| | | 雌 | 妊娠期間 | | | | | | | | |
| | | | 哺育期間 | | | | | | | | |
| | 体重 増加量 | 雄 | 交配前 (4週) | | | | | | | | |
| | | | 交配前 (最終) | | | | | | | | |
| | | 雌 | 交配前 (最終) | | | | | | | | |
| | | | 妊娠期間 | | | | | | | | |
| | | | 哺育期間 (2週) | | | | | | | | |
| | | | 哺育期間 (最終)g | | | | | | | | |
| | | | 全期間 | | | | | | | | |
| | 摂餌量 | 雄 | 交配前 (4週) | | | | | | | | |
| | | | 交配前 (最終) | | | | | | | | |
| | | 雌 | 交配前 (4週) | | | | | | | | |
| | | | 交配前 (最終) | | | | | | | | |
| | | | 妊娠期間 | | | | | | | | |
| | | | 哺育期間 | | | | | | | | |
| 検体摂取量 (mg/kg/日) | | | 雄 | | | | | | | | |
| | 雌 | | | | | | | | | | |

—: 対照群、体重、体重増加量、摂餌量の数値は、対照群を100とした時の相対値。

*: 対照群がマイナスとなったため実測値を表示

Dunnettの検定法またはMann-Whitneyの検定法: 体重、体重増加量、摂餌量

↑ ↓: $p \leq 0.05$, ↑ ↓: $p \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意な高値または低値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果の概要-2

| 世代 | | | 親:P 児:F1 | | | 親:F1 児:F2 | | |
|----------|---------|--------|----------|-----|------|-----------|-----|------|
| 投与量(ppm) | | | 30 | 300 | 3000 | 30 | 300 | 3000 |
| 親動物 | 臓器重量 | 雄 | 最終体重 | | | | | |
| | | 脳(A) | | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| | | 下垂体(A) | | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| | | 甲状腺(A) | | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| | | 胸腺(A) | | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| | | 肝臓(A) | | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| | | 腎臓(A) | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 脾臓(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 副腎(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 精巣(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 精巣上体(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 精囊(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 前立腺(A) | | | | | | | |
| (B) | | | | | | | | |
| 雌 | 最終体重 | | | | | | | |
| | 脳(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 下垂体(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 甲状腺(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 胸腺(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 肝臓(A) | | | | | | | |
| | (B) | | | | | | | |
| | 腎臓(A) | | | | | | | |
| (B) | | | | | | | | |
| 脾臓(A) | | | | | | | | |
| (B) | | | | | | | | |
| 副腎(A) | | | | | | | | |
| (B) | | | | | | | | |
| 卵巣(A) | | | | | | | | |
| (B) | | | | | | | | |
| 子宮(A) | | | | | | | | |
| (B) | | | | | | | | |

臓器重量: (A)絶対重量、(B)相対重量、数値は対照群を100とした時の相対値。

Dunnnettの検定法またはMann-WhitneyのU検定法: 臓器重量

↑ ↓: $p \leq 0.05$, ↑ ↓: $p \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意な高値または低値。

結果の概要-3

| 世代 | | 親:P 児:F1 | | | | 親:F1 児:F2 | | | | |
|------------|----------------|---------------------------------------|-------|-----|------|-----------|----|-----|------|--|
| 投与量(ppm) | | 0 | 30 | 300 | 3000 | 0 | 30 | 300 | 3000 | |
| 親動物 | 繁殖能力 | | | | | | | | | |
| | 雄 | 包皮分離 | 日齢(日) | | | | | | | |
| | | | 体重(g) | | | | | | | |
| | 交尾率(%) | | | | | | | | | |
| | 受胎率(%) | | | | | | | | | |
| | 精子検査 | 精子頭部数(x10 ⁶) ^a | | | | | | | | |
| | | 精子数(x10 ⁶) ^b | | | | | | | | |
| | | 精子運動率(%) | | | | | | | | |
| | | 良好精子率(%) | | | | | | | | |
| | | ALH ^c | | | | | | | | |
| | | BCF ^c | | | | | | | | |
| | | 異常形態精子(%) | | | | | | | | |
| | | Tailless精子(%) | | | | | | | | |
| | 雌 | 膣開口 | 日齢(日) | | | | | | | |
| | | | 体重(g) | | | | | | | |
| | | 発情期間隔(日) | | | | | | | | |
| | | 正常性周期率(%) | | | | | | | | |
| | | 交尾率(%) | | | | | | | | |
| | | 受胎率(%) | | | | | | | | |
| | | 出産率(%) | | | | | | | | |
| 妊娠期間(日) | | | | | | | | | | |
| 着床数 | | | | | | | | | | |
| 分娩率(%) | | | | | | | | | | |
| 原始卵胞数 | | | | | | | | | | |
| 雄 | | | | | | | | | | |
| 雌 | 胸腺:萎縮 | | | | | | | | | |
| | 脾臓:肥大 | | | | | | | | | |
| 雄 | | | | | | | | | | |
| 雌 | 肝臓:小葉中心性肝細胞肥大 | | | | | | | | | |
| | 胸腺:皮質の萎縮 | | | | | | | | | |
| | 卵巣:萎縮 | | | | | | | | | |
| | 子宮:内膜・筋層の萎縮 | | | | | | | | | |
| | 脾臓:ヘモジデリン沈着の増加 | | | | | | | | | |
| 脾臓:髓外造血の亢進 | | | | | | | | | | |

- a: 上段は精巢当りの精子頭部数、下段は精巢1g当りの精子頭部数を示す。
 b: 上段は精巢上体尾部当りの精子数、下段は精巢上体尾部1g当りの精子数を示す。
 c: 精子運動能に関する指標(ALH;精子頭部の振幅、BCF;精子頭部の横切り回数)を示す。
 d: 検体投与に関連すると考えられる所見のみ記載している。

斜線:未測定/該当なし

Dunnettの検定法またはMann-WhitneyのU検定法:包皮分離、精子検査項目、膣開口、発情期間隔、妊娠期間、着床数、分娩率

Fisherの正確確率検定法:正常性周期率、交尾率、受胎率、出産率、剖検所見、病理組織学的所見

Studentの検定:原始卵胞数

↑ ↓: p ≤ 0.05, ↑ ↓: p ≤ 0.01で対照群と比較して統計学的に有意な高値または低値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果の概要-4

| 世代 | | 親:P 児:F1 | | | | 親:F1 児:F2 | | | | |
|----------|------------------------------|---------------------|----------------------|-----|------|-----------|----|-----|------|--|
| 投与量(ppm) | | 0 | 30 | 300 | 3000 | 0 | 30 | 300 | 3000 | |
| 児動物 | 一般状態 | | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | | | |
| | 産児数 | | | | | | | | | |
| | 性比 | | | | | | | | | |
| | 生存率(%) | 生後 0日 | | | | | | | | |
| | | 生後 4日 | | | | | | | | |
| | | 生後 7日 | | | | | | | | |
| | | 生後14日 | | | | | | | | |
| | | 生後21日 | | | | | | | | |
| | 離乳率(%) | | | | | | | | | |
| | 体重(g) | 雄 | 生後 0日 | | | | | | | |
| | | | 生後 4日 | | | | | | | |
| | | | 生後 7日 | | | | | | | |
| | | | 生後14日 | | | | | | | |
| | | | 生後21日 | | | | | | | |
| | | 雌 | 生後 0日 | | | | | | | |
| | | | 生後 4日 | | | | | | | |
| | | | 生後 7日 | | | | | | | |
| | | | 生後14日 | | | | | | | |
| | | | 生後21日 | | | | | | | |
| | 肛門生殖突起間距離(生後4日) ^a | | 雄 | | | | | | | |
| 雌 | | | | | | | | | | |
| 発育分化(%) | 雄 | 耳介開展 | | | | | | | | |
| | | 切歯萌出 | | | | | | | | |
| | | 眼瞼開裂 | | | | | | | | |
| | 雌 | 耳介開展 | | | | | | | | |
| | | 切歯萌出 | | | | | | | | |
| | | 眼瞼開裂 | | | | | | | | |
| 反射反能性 | 雄 | 正向反射 ^b | | | | | | | | |
| | | 背地走性 ^b | | | | | | | | |
| | | 空中正向反射 ^c | | | | | | | | |
| | 雌 | 正向反射 ^b | | | | | | | | |
| | | 背地走性 ^b | | | | | | | | |
| | | 空中正向反射 ^c | | | | | | | | |

- a: 雌雄それぞれ上段は絶対値(mm)、下段は平均体重の三乗根で除した値を示す。
 b: 正向反射および背地走性の上段は成功率(%)または達成率(%)、下段は反応時間(秒)を示す。
 c: 成功率(%)を示す。
 斜線:未測定/該当なし
 Dunnettの検定法またはMann-WhitneyのU検定法:産児数、生存率、体重、肛門生殖突起間距離、
 反射反能性検査の反応時間
 Wilcoxonの順位和検定法:発育分化の完成率、正向反射および空中正向反射の成功率
 Fisherの正確確率検定法:性比、背地走性の達成率
 ↑ ↓: p ≤ 0.05、↑ ↓: p ≤ 0.01で対照群と比較して統計学的に有意な高値または低値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果の概要-5

| 世代 | | | 親:P 児:F1 | | | 親:F1 児:F2 | | |
|----------|-------------|-------|----------------------|-----|------|-----------|-----|------|
| 投与量(ppm) | | | 30 | 300 | 3000 | 30 | 300 | 3000 |
| 児動物 | 臓器重量(生後26日) | 雄 | 最終体重 | | | | | |
| | | | 脳(A) | | | | | |
| | | | (B) | | | | | |
| | | | 胸腺(A) | | | | | |
| | | | (B) | | | | | |
| | | | 脾臓(A) | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| | | 雌 | 最終体重 | | | | | |
| | | 脳(A) | | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| | | 胸腺(A) | | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| | | 脾臓(A) | | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| | | 子宮(A) | | | | | | |
| | | (B) | | | | | | |
| 剖検所見 | | | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | |
| 病理組織学的所見 | | | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | |

臓器重量: (A)絶対重量、(B)相対重量、数値は対照群を100とした時の相対値。

Dunnettの検定法またはMann-Whitneyの検定法:臓器重量

↑ ↓: $p \leq 0.05$ 、↑↓: $p \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意な高値または低値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

親動物

一般毒性影響に関して、P および F1 世代の雌雄の親動物の一般状態では、検体投与によると考えられる変化はいずれの群においても観察されず、死亡例も認められなかった。なお、3000 ppm 群の P 世代の雌 1 例を安楽死させたが、検体投与と関係のないケージ内事故により一般状態が悪化したためであった。

体重、体重増加量および摂餌量では、3000 ppm 群の P および F1 世代の雌雄ともに対照群に比べ有意な減少がみられた。30 および 300 ppm 群では、雌に一過性的変動が散見されたが偶発的なものと考えられ、検体投与の影響は認められなかった。

病理学的検査では、3000 ppm 群において、剖検所見として P および F1 世代とも雌の胸腺の萎縮が半数例近くにみられ、F1 世代の雌で脾臓の肥大が 4 例みられた。臓器重量では、P および F1 世代の雌雄の肝臓、P および F1 世代の雄の脾臓および F1 世代の雌の脾臓に有意な高値、ならびに P および F1 世代の雌の胸腺、卵巣および子宮に有意な低値がみられた。これらの臓器の病理組織学的検査では、雌の P および F1 世代とも小葉中心性肝細胞肥大、胸腺の皮質の萎縮、卵巣の萎縮ならびに子宮の内膜および筋層の萎縮がみられた。また、雌の P および F1 世代で脾臓のヘモジデリン沈着の増加、F1 世代で髄外造血の亢進の発生頻度に増加が認められ、検体投与の影響と考えられた。3000 ppm 群でみられたその他の臓器重量の変化は、剖検時の体重が有意な低値であったことに起因する変化と考えられた。300 ppm 群では、P 世代の雌で胸腺の萎縮が 1 例みられたが、発生頻度が低いことから検体投与との関連性は否定された。臓器重量では P および F1 世代の雌に肝臓重量の有意な高値がみられたが、組織学的な変化を伴っていないことから毒性学的な意味はないと考えられた。なお、F1 世代の雄で 30 ppm 群の前立腺および 300 ppm 群の腎臓および精囊の相対重量に有意な低値がみられたが、より高い用量群で同様の変化がみられないことから偶発的な変動と考えられた。30 ppm 群では検体投与に関連すると考えられる剖検所見および病理組織学的所見はみられなかった。

繁殖成績では、3000 ppm 群において P 世代の妊娠期間に有意な延長がみられた。しかし、F1 世代では対照群との間に有意な差はみられず、また性周期、交尾率、受胎率、出産率、着床数および分娩率のいずれにも変化がみられず、延長幅もわずかであることから検体投与と関連しない変化と考えられた。30 および 300 ppm 群では検体投与の影響は認められなかった。

精子数および精子運動能の検査では、30 ppm 群の P 世代で精子運動率および良好精子率、300 ppm 群の F1 世代で精巣の精子頭部数の有意な高値がみられたが、より高い用量群では同様の変化はみられなかった。3000 ppm 群の P 世代で、精子運動能に関する指標のうち BCF (精子頭部の横切り回数) に有意な高値、F1 世代で ALH (精子頭部の振幅) に有意な低値がみられたが、雄の交尾率、受胎率ならびに精巣、精巣上体、精囊および前立腺の重量、剖検および病理組織学的検査結果に検体投与の影響が認められないことと、世代間の一貫性がみられないことから検体投与と関連しない変化と考えられた。

精子形態検査において、F1 世代の全ての検体群の異常形態精子出現率および Tailless 精子出現率の有意な高値がみられた。しかし、300 および 3000 ppm 群の値 (異常形態精子出現率 300 ppm 群; 1.5%、3000 ppm 群; 1.8%、Tailless 精子出現率 300 ppm 群; 1.4%、3000 ppm 群; 1.7%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

は試験施設の背景データ（異常形態精子出現率；範囲 0.6～1.9%、平均 1.2%、Tailless 精子出現率；範囲 0.6～1.7%、平均 1.1%）の範囲内にあり、P 世代の対照群を含めた値と差がないことから自然発生の範囲内の変化と考えられた。また、30 ppm 群では異常形態精子出現率が 6.2% および Tailless 精子出現率が 3.5% と高値であったが、1 例の動物に偏在した変化が平均値を上昇させたためであり、検体投与に関連する変化ではないと考えられた。

F1 世代の性成熟検査では、3000 ppm 群において、雄の包皮分離完了および雌の膈開口完了の日齢に有意な遅延がみられたが、完了日の体重には対照群と比べ有意な差はみられず、この遅延は、同群の性成熟の時期に当たる投与第 0～3 週の体重の増加抑制に起因する変化と考えられた。

児動物

30 および 300 ppm 群では、一般状態、体重、産児数、性比、生存率、離乳率、発育分化、反射反応性検査、剖検所見、臓器重量および病理組織学的所見のいずれにも検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

3000 ppm 群では、哺育期間中の体重に F1 および F2 世代の雌雄とも生後 7 日以降 21 日まで有意な低値がみられ、発育分化において F2 世代で雌雄とも眼瞼開裂完成率に有意な低値がみられた。離乳児の臓器重量では、F1 および F2 世代とも雌の子宮重量に有意な低値がみられた。3000 ppm 群の雌雄ともにみられた脳、胸腺、脾臓の重量変化は、剖検時の体重が有意に低かったことに起因する変化と考えられた。その他の指標には検体投与に関連すると考えられる変化はみられなかった。

なお、30 ppm 群の F2 雄ならびに 300 ppm 群の F1 および F2 雄の反射反応性検査結果に有意な変動がみられ、臓器重量で 30 ppm 群の F1 雌の脳ならびに F2 雌の子宮に有意な高値がみられたが、より高い用量群で同様の変化はみられなかった。300 ppm 群では、F1 雌の子宮の絶対および相対重量に有意な低値がみられ、3000 ppm 群と同様に検体投与に関連した変化の可能性が考えられたが、その値（絶対重量；65.2 mg、相対重量；0.0779%）は試験施設の背景データ（絶対重量；範囲 57.0～78.0 mg、平均 62.9 mg、相対重量；範囲 0.0679～0.0954%、平均 0.0773%）の範囲内にあり、また F2 雌では対照群とほぼ同じ値であったこと、ならびに病理組織学的変化がみられなかったことから、毒性学的に意味のない変化であると考えられた。

以上の結果から、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、3000 ppm 群で親動物に対して雌雄の体重増加抑制および摂餌量の抑制、肝臓および脾臓重量の増加、雌の胸腺、卵巣および子宮重量の低下、雌の胸腺、肝臓、脾臓、卵巣および子宮の病理組織学的変化、児動物に対して体重増加の抑制とこれに伴う発育分化および性成熟の完成日齢の遅延ならびに子宮重量の低下がみられた。繁殖能については 3000 ppm 群でも影響はみられなかった。したがって、親動物および児動物とも一般毒性影響に関する無毒性量は 300 ppm（P 雄；19.7、P 雌；25.0、F1 雄；22.3 mg/kg/日、F1 雌；27.6 mg/kg/日）と判断される。親動物の繁殖能への影響は最高投与量の 3000 ppm（P 雄；196、P 雌；242、F1 雄；235、F1 雌；276 mg/kg/日）でも認められなかった。

3)ラットを用いた催奇形性試験

(資料T-67)

検体の純度 :

供試動物 : Sprague-Dawley 系[CrI:CD(SD)]交尾確認雌ラット、1 群 24 匹、開始時 10~11 週齢

投与期間 : 妊娠 6 日から 19 日の 14 日間 (投与開始日 2006 年 9 月 18 日~2006 年 9 月 23 日、投与終了日 2006 年 10 月 1 日~2006 年 10 月 6 日)

投与方法 : 被験物質を 5%(w/v)アラビアゴム水溶液に懸濁させ、0、12、50 および 200 mg/kg/日の投与量で妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には、5%(w/v)アラビアゴム水溶液を同様に投与した。交尾確認日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠 :

観察・検査項目 :

親動物 : 一般状態、妊娠状態および生死を毎日観察し、妊娠 0 日、妊娠 3 日および妊娠 6 日から 20 日までの間は毎日、体重を測定した。また、妊娠期間中の摂餌量を測定した。妊娠 20 日に帝王切開し、妊娠子宮重量を測定するとともに、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚・胎児数を調べた。黄体数と着床数から着床率を、着床数と生存胎児数から胎児生存率を、着床数および死亡胚・胎児数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

から胚・胎児死亡率を求めた。妊娠 20 日の体重から妊娠子宮重量を減じた補正体重を求めた。また、剖検を実施した。

生存胎児 ; 全生存胎児につき性別、体重、胎盤重量および外表の観察を行った。各同腹児群の約 1/2 の胎児については内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果 : 概要を次々頁の表に示した。

母動物に関して 200mg/kg/日群では投与開始以降、体重、体重増加量および摂餌量の低値がみられ、補正体重にも低値が認められた。一般状態の観察で、投与期間後半に流涎および外尿道口周囲被毛汚染がみられ被験物質投与の影響と考えられた。被験物質投与全群で各 1 例ずつ脱毛がみられたが、単一の発生であり被験物質投与の影響とは考えられなかった。200mg/kg/日群の母動物の剖検において、脾臓および胸腺の萎縮、副腎の肥大が認められ、被験物質投与の影響と考えられた。着床所見には、被験物質投与の影響は認められなかった。一方、12 および 50mg/kg/日群の母動物については、いずれの検査項目でも被験物質投与に関連した変化はみられなかった。

胚・胎児に関して、200mg/kg/日群では雌雄の胎児体重および胎盤重量の低値がみられ、被験物質投与に関連する変化と考えられた。これに関連して、母動物の妊娠子宮重量にも低値傾向がみられた。胎児の性比には、対照群と差はみられなかった。12 および 50mg/kg/日群では、胎児体重、胎盤重量および胎児の性比に被験物質投与に関連した変化はみられなかった。

生存胎児の外表検査では、200mg/kg/日群で矮小体がみられた。この変化は、統計学的に有意な差はみられなかったが、胎児体重の低値に一致する内容であると考えられた。これらの胎児に形態的な外表異常はみられなかった。同群では、鎖肛を伴う痕跡尾が 1 例にみられたが、単一の発生であることおよびこの系統のラットに自然発生することが知られていることから被験物質投与と関連のない変化と考えられた。12 および 50mg/kg/日群では、被験物質投与に関連した変化はみられなかった。

内臓および骨格の奇形学的検査において、被験物質投与に関連すると考えられる内臓奇形および骨格奇形の発生はみられなかった。被験物質の各投与群で、骨格奇形のみられる胎児が 1 または 2 例認められたが、これらの奇形はこの系統のラットで自然発生することが知られており、頻度が低いことから被験物質投与の影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

内臓変異に関して、200mg/kg/日群で変異胎児の出現頻度の低値がみられたが、発生頻度の低下であることから毒性学的に意味のない変化であると考えられた。

骨格変異に関して、50 および 200mg/kg/日群で胸椎椎体の未化骨の出現頻度が増加した。この変化は形態的な変異というよりも化骨の遅延を現すものと考えられた。化骨進行度に関しては、200mg/kg/日群で頸椎椎体、胸椎椎体、仙尾椎椎体、総椎体、胸骨分節および中手骨の化骨数の低値がみられ、胸椎椎体の未化骨の胎児の増加と胎児体重の低値とともに、被験物質の胎児に対する成長抑制を示すものと考えられた。50mg/kg/日群で頸椎椎体と総椎体の化骨数の低値がみられた。この変化は胸椎椎体の未化骨を示した胎児の増加とともに化骨の遅延を示唆するものの、胎児体重の低値はみられていないことより軽微な変化と考えられた。12mg/kg/日群では、被験物質投与に関連した変化はみられなかった。

以上の結果から、イソプロチオラン原体を妊娠ラットに投与したとき、検体投与に関連した変化として200mg/kg/日投与で母動物の体重増加抑制が認められた。胎児に対しては50mg/kg/日以上投与で胸椎などの軽微な化骨遅延が認められた。したがって、母動物における無毒性量は50mg/kg/日であり、胎児における無毒性量は12mg/kg/日であると判断された。また、最高投与量の200mg/kg/日でも検体の胎児に対する催奇形性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ラット催奇形性試験の結果表

| 投与量 (mg/kg/日) | | 0 | 12 | 50 | 200 | |
|---------------|-------------|-------------|----|----|-----|--|
| 1 群当たり交尾確認雌数 | | | | | | |
| 親動物 | 一般状態 | 異常なし | | | | |
| | | 脱毛 | | | | |
| | | 流涎 | | | | |
| | | 外尿道口周囲被毛汚染 | | | | |
| | 死亡数 | | | | | |
| | 妊娠数 | | | | | |
| | 生存胎児の得られた雌数 | | | | | |
| | 体重(g) | 妊娠 6 日 | | | | |
| | | 妊娠 8 日 | | | | |
| | | 妊娠 9 日 | | | | |
| | | 妊娠 12 日 | | | | |
| | | 妊娠 15 日 | | | | |
| | | 妊娠 18 日 | | | | |
| | | 妊娠 20 日 | | | | |
| | 体重増加量(g) | (妊娠 0-7 日) | | | | |
| | | (妊娠 0-20 日) | | | | |
| | | (妊娠 6-20 日) | | | | |
| | 妊娠子宮重量 (g) | | | | | |
| | 補正体重 (g) | | | | | |
| | 摂餌量 (g/日) | 妊娠 6-9 日 | | | | |
| | | 妊娠 9-12 日 | | | | |
| | | 妊娠 12-15 日 | | | | |
| | | 妊娠 15-18 日 | | | | |
| 妊娠 18-20 日 | | | | | | |
| 剖検所見 | 異常なし | | | | | |
| | 脱毛 | | | | | |
| | 脾臓の萎縮 | | | | | |
| | 胸腺の萎縮 | | | | | |
| | 副腎の肥大 | | | | | |
| | 腎盂拡張 | | | | | |

対照群と投与群間の有意差検定: *, $p \leq 0.05$, **, $p \leq 0.01$ (Dunnett 多重比較法)。\$\$, $p \leq 0.01$ (Mann-Whitney の U 検定)

Dunnett 多重比較法または Mann-Whitney の U 検定: 母動物の体重、体重増加量、妊娠子宮重量、補正体重、摂餌量。

体重、体重増加量、妊娠子宮重量、補正体重および摂餌量は平均値を記載。

ラット催奇形性試験の結果表(続き)

| 投与量(mg/kg/日) | | 0 | 12 | 50 | 200 | |
|-----------------------|-------------------|------------|------------------------|----|-----|--|
| 1 群当たり交尾確認雌数 | | | | | | |
| 親動物 | 着床所見 | 黄体数 | | | | |
| | | 着床数 | | | | |
| | | 着床率(%) | | | | |
| | | 生存胎児数 | | | | |
| | | 胎児生存率(%) | | | | |
| | | 死亡胚・胎児数 | | | | |
| | | 胚・胎児死亡率(%) | | | | |
| 胎児 | 生存胎児体重(g) | 雄 | | | | |
| | | 雌 | | | | |
| | 胎盤重量(g) | | | | | |
| | 性比(生存雄胎児数/全生存胎児数) | | | | | |
| | 検査腹数 | | | | | |
| | 外表所見 | 検査胎児数 | 異常胎児の認められた母動物の頻度 | | | |
| | | | 異常胎児数(%) ^a | | | |
| | | 異常 | 矮小体(%) ^b | | | |
| | | | 局所性浮腫(%) ^b | | | |
| | | | 臍帯ヘルニア(%) ^b | | | |
| | | | 鎖肛(%) ^b | | | |
| | | | 痕跡尾(%) ^b | | | |
| | 内臓所見 | 検査胎児数 | | | | |
| | | 奇形 | 奇形胎児の認められた母動物の頻度 | | | |
| | | | 奇形胎児数(%) | | | |
| | | 変異 | 変異胎児の認められた母動物の頻度 | | | |
| | | | 変異胎児数(%) ^c | | | |
| | | | 胸腺頸部残留(%) ^d | | | |
| | | | 腎盂拡張(%) ^d | | | |
| | | | 尿管拡張(%) ^d | | | |
| 左側臍動脈(%) ^d | | | | | | |

対照群と投与群間の有意差検定: ^{SS}, $p \leq 0.01$ (Mann-Whitney の U 検定)。#, $p \leq 0.05$ (Wilcoxon の順位和検定法)。

Dunnett 多重比較法または Mann-Whitney の U 検定: 黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚・胎児数、生存胎児体重、胎盤重量。

Wilcoxon の順位和検定法: 着床率、胎児生存率、胚・胎児死亡率、生存胎児の性比、異常または変異を認めた胎児の出現率。

Fisher の正確確率検定法: 異常、奇形または変異のみられた胎児を持つ母動物の頻度。

着床所見、生存胎児体重および胎盤重量は、平均値を記載。

a: 腹毎の外表面異常胎児総出現率の群平均、b: 腹毎の外表面異常胎児出現率の群平均。

c: 腹毎の内臓変異胎児総出現率の群平均、d: 腹毎の内臓変異胎児出現率の群平均。

ラット催奇形性試験の結果表(続き)

| 投与量(mg/kg/日) | | 0 | 12 | 50 | 200 | | |
|--------------|----------------------------|-------|--------------------------------------|----|-----|--|--|
| 1 群当たり交尾確認雌数 | | | | | | | |
| 胎児 | 骨格所見 | 検査胎児数 | | | | | |
| | | 奇形 | 奇形胎児の認められた母動物の頻度 | | | | |
| | | | 奇形胎児数(%) ^a | | | | |
| | | | 頸椎横突起癒合および椎弓癒合(%) ^b | | | | |
| | | | 胸椎椎体軟骨分離(%) ^b | | | | |
| | | | 頸椎、胸椎および腰椎椎体軟骨癒合(%) ^b | | | | |
| | | | 胸椎椎弓癒合(%) ^b | | | | |
| | | | 胸肋関節の偏位を伴う肋骨の癒合および欠損(%) ^b | | | | |
| | | 変異 | 変異胎児の認められた母動物の頻度 | | | | |
| | | | 変異胎児数(%) ^c | | | | |
| | | | 胸椎椎体化骨核分離(%) ^d | | | | |
| | | | 胸椎椎体化骨核垂鈴型(%) ^d | | | | |
| | | | 胸椎椎体化骨核一側性形成(%) ^d | | | | |
| | 胸椎椎体の未化骨(%) ^d | | | | | | |
| | 腰椎椎体化骨核垂鈴型(%) ^d | | | | | | |
| | 腰椎椎体の未化骨(%) ^d | | | | | | |
| | 7 腰椎(%) ^d | | | | | | |
| | 腰肋(%) ^d | | | | | | |
| | 第 14 肋骨(%) ^d | | | | | | |
| | 仙椎の腰椎化(%) ^d | | | | | | |
| | 胸骨分節の分離(%) ^d | | | | | | |
| | 化骨数 | 頸椎椎体 | | | | | |
| | | 胸椎椎体 | | | | | |
| | | 腰椎椎体 | | | | | |
| | | 仙尾椎椎体 | | | | | |
| | | 総椎体 | | | | | |
| | | 胸骨分節 | | | | | |
| | | 中手骨 | | | | | |
| | | 中足骨 | | | | | |

対照群と投与群間の有意差検定: **, $p \leq 0.01$ (Dunnnett 多重比較法)。\$, $p \leq 0.05$, \$\$, $P \leq 0.01$ (Mann-Whitney の U 検定)。#, $p \leq 0.05$, ##, $p \leq 0.01$ (Wilcoxon の順位和検定法)。

Dunnnett 多重比較法または Mann-Whitney の U 検定: 化骨数。

Wilcoxon の順位和検定法: 奇形または変異を認めた胎児の出現率。

Fisher の正確確率検定法: 奇形または変異のみられた胎児を持つ母動物の頻度。

化骨数は、平均値を記載。

a: 腹毎の骨格奇形胎児総出現率の群平均、b: 腹毎の骨格奇形胎児出現率の群平均。

c: 腹毎の骨格変異胎児総出現率の群平均、d: 腹毎の骨格変異胎児出現率の群平均。

4)ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 T-36)

検体の純度:

供試動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ、5~6ヵ月齢、体重:雌 2.96~3.60kg、
1群交尾雌 18匹

投与期間: 妊娠6日~妊娠18日までの13日間(1986年4月16日~1986年5月29日)
(自然交配により膈垢中に精子を確認した日を妊娠0日として起算)

投与方法: 検体をアラビアゴム水溶液に懸濁し、0、15、80および400mg/kgの投与量で、1日1回
経口投与した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目:

母動物: 一般状態、生死および体重は妊娠0日から、ならびに摂餌量は妊娠1日から、妊娠29
日まで毎日観察・測定した。妊娠29日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存および死
亡・吸収胎児数を調べた後、剖検した。

生存胎児: 性別、体重、胎盤重量および外表異常を観察・測定した。次いで内臓異常を観察し、内
臓を摘出した。骨格標本を作製し、骨格の異常および化骨進行度を検査した。

結果: 母動物および胎児動物の結果概要を次々頁からの表に示した。

母動物: 400mg/kg/日群で1匹が死亡した。しかし、この動物は、投与開始前から摂餌量減
少や体重増加抑制および血尿の症状を示しており、おそらく偶発的な健康障害によ
る死亡ではないかと考えられる。また、投与ミスによる死亡が対照群で2例あった。
体重増加量は400mg/kg/日群で統計学的には有意ではないが、投与開始直後の妊
娠初期から体重増加抑制がみられた。400mg/kg/日群では摂餌量が投与開始直後
から投与終了時まで、統計学的に有意に減少し、80mg/kg/日では一過性の減少が
みられた。着床所見の黄体数、着床数、生存・死亡胎児数のいずれにも検体投与の
影響は認められなかった。

胎児動物: 外表異常として、15mg/kg/日群に左右前肢の屈曲拘縮および短尾が各1匹に、内臓

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

異常として腸の囊腫様重複が 400mg/kg/日群の 1 匹にみられた。骨格検査では、奇形として 15mg/kg/日群に胸骨癒合、尾椎椎体癒合が、80mg/kg/日群に胸骨の分離が認められた。また、骨格変異として腰椎椎弓分離および腰肋等が対照群を含め各群に散見された。外表、内臓および骨格異常所見のいずれにも、投与量との関連は認められなかった。400mg/kg/日群で尾椎椎弓の化骨(右 8.9、左 8.9)が統計学的に有意に遅延したが、明確な投与量との関連は認められず、実施機関の背景データ(右 8.9 ± 0.67 、左 8.6 ± 0.66)とほぼ同等の値であることから、検体投与の影響とは考えなかった。

以上の結果より、妊娠ウサギに検体を 0、15、80 および 400mg/kg/日の投与量で経口投与したとき、母動物で 400mg/kg/日群に体重増加の抑制傾向および摂餌量の減少が認められた。胎児に対しては 400mg/kg/日でも投与による明確な影響は認められなかった。したがって、無毒性量は母動物で 80mg/kg/日および胎児動物で 400mg/kg/日であった。

また、最高投与量の 400mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果の概要(母動物)

| 投与量 (mg/kg/日) | | 0 | 15 | 80 | 400 | |
|---------------|-----------------|-----------|----|----|-----|--|
| 1 群当たりの動物数 | | | | | | |
| 母動物 | 妊娠動物数 | | | | | |
| | 流産動物数 | | | | | |
| | 早産動物数 | | | | | |
| | 死亡動物数 | | | | | |
| | 一般状態 | | | | | |
| | 体重増加量 (kg) | 妊娠 6~18 日 | | | | |
| | | 妊娠 0~29 日 | | | | |
| | 摂餌量 (g/匹/日) | 妊娠 14 日 | | | | |
| | | 妊娠 19 日 | | | | |
| | | 妊娠 6~18 日 | | | | |
| | | 妊娠 0~29 日 | | | | |
| | 剖検所見 | | | | | |
| | 検査母動物数 | | | | | |
| | 着床所見 (一腹当たり) | 黄体数 | | | | |
| 着床数 | | | | | | |
| 生存胎児数 | | | | | | |
| 死亡胎児数 | | 初期吸収胚数 | | | | |
| | | 後期吸収胚数 | | | | |
| | | 死亡胎児数 | | | | |
| 計 (%) | | | | | | |

1): 投与ミスによる死亡

↓: p<0.05, ↓↓: p<0.01

統計的検定法: 平均値は F 検定の後、t 検定もしくは Cochran.cox 検定、出現率は性比を除き Mann-Whitney の U 検定、性比はカイニ乗検定で行った。t 検定、Cochran.cox 検定および Mann-Whitney の U 検定は両側検定とし、胎児に関する項目はすべて 1 腹を標本単位として処理した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

結果の概要(胎児動物)

| 投与量(mg/kg/日) | | 0 | 15 | 80 | 400 | |
|------------------|------------------|---------|----|----|-----|--|
| 胎 児 動 物 | 体重(g) | 雄 | | | | |
| | | 雌 | | | | |
| | 胎盤重量(g) | 雄 | | | | |
| | | 雌 | | | | |
| | 性比(雄/雌) | | | | | |
| | 外 表 所 見 | 検査胎児数 | | | | |
| | | 異常胎児数 | | | | |
| | | 前肢屈曲拘縮 | | | | |
| | | 短尾 | | | | |
| | 内 臓 所 見 | 検査胎児数 | | | | |
| | | 異常胎児数 | | | | |
| | | 腸の囊腫様重複 | | | | |
| | 骨 格 所 見 | 検査胎児数 | | | | |
| | | 奇形胎児数 | | | | |
| | | 胸骨分離 | | | | |
| | | 胸骨癒合 | | | | |
| 尾椎椎体癒合 | | | | | | |
| 変異胎児数 | | | | | | |
| 頸椎椎体分葉化 | | | | | | |
| 頸肋 | | | | | | |
| 腰椎椎弓分離 | | | | | | |
| 前仙椎骨増加 | | | | | | |
| 腰肋 | | | | | | |
| 化骨進行度 | | | | | | |
| 平均尾椎椎弓数(右側) | | | | | | |
| 平均尾椎椎弓数(左側) | | | | | | |

↓ : p<0.05、検定法:Mann-Whitney のU検定。

(13). 変異原性

1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 T-37)

検体の純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *hcr*)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検討した。検体は DMSO に溶解し、1~5000 μ g/プレート の範囲の 7 濃度で実施した。試験は 2 連制として、1 回行った。

結果: 結果を次頁の表に示した。

検体は S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide(AF-2)、 β -propiolactone(β -PL)、9-aminoacridine(9-AA)および 2-nitrofluorene(2-NF)では S-9Mix の非存在下で、また 2-aminoanthracene(2-AA)は S-9Mix の存在下で明らかに復帰変異コロニー数を増加させた。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$) | S-9Mix の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | | |
|----------------|--------------------------------------|---------------|-----------------------------|--------|--------|----------|--------|-------|
| | | | 塩基置換型 | | | フレームシフト型 | | |
| | | | WP2 <i>hcr</i> ⁻ | TA1535 | TA 100 | TA 1537 | TA1538 | TA 98 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | | | | | | |
| 検体 | 1 | | | | | | | |
| | 10 | | | | | | | |
| | 50 | | | | | | | |
| | 100 | | | | | | | |
| | 500 | | | | | | | |
| | 1000 | | | | | | | |
| 5000 | | | | | | | | |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | | | | | | |
| 検体 | 1 | | | | | | | |
| | 10 | | | | | | | |
| | 50 | | | | | | | |
| | 100 | | | | | | | |
| | 500 | | | | | | | |
| | 1000 | | | | | | | |
| 5000 | | | | | | | | |
| 陽性 対照 | AF-2 | 0.1 | | | | | | |
| | β -PL | 50 | | | | | | |
| | 9-AA | 100 | | | | | | |
| | 2-NF | 50 | | | | | | |
| | 2-AA | 20 | + | | | | | |

値は2連の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 T-37-2)

検体の純度:

試験方法: ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538) およびトリプトファン要求性の *Escherichia coli* (WP2uvrAp)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異誘発性を検討した。検体は DMSO に溶解し、代謝活性化系非存在下の場合は 1.6 ~1000 μ g/プレート、存在下の場合には 8~5000 μ g/プレートで実施した。試験は 3 連制とし、2 回行った。

用量設定根拠:

結果: 結果を次頁および次々頁の表に示した。

2 回の試験において、検体は S-9mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた sodium azide(SA)、9-aminoacridine(9-AA)、

2-nitrofluorene(2-NF)および N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoquandine(MNNG)は S-9mix 非存在下で、また 2-aminoanthracene(2-AA)は S-9mix 存在下で、明らかに復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

1回目試験

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$) | S-9Mix の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | | |
|----------------|--------------------------------------|---------------|----------------|--------|----------|----------|---------|-------|
| | | | 塩基置換型 | | | フレームシフト型 | | |
| | | | TA 1535 | TA 100 | WP2uvrAp | TA 1537 | TA 1538 | TA 98 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | | | | | | |
| 検体 | 1.6 | | | | | | | |
| | 8 | | | | | | | |
| | 40 | | | | | | | |
| | 200 | | | | | | | |
| | 1000 | | | | | | | |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | | | | | | |
| 検体 | 8 | | | | | | | |
| | 40 | | | | | | | |
| | 200 | | | | | | | |
| | 1000 | | | | | | | |
| | 5000 | | | | | | | |
| 陽性対照 | SA | 1 | | | | | | |
| | 9-AA | 50 | | | | | | |
| | 2-NF | 0.5 | | | | | | |
| | MNNG | 5 | | | | | | |
| | 2-AA | 2 | + | | | | | |

値は3連の平均値

*: 菌の生育阻害を認める

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2回目試験

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$) | S-9Mix の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | | |
|----------------|--------------------------------------|---------------|----------------|--------|----------|----------|---------|-------|
| | | | 塩基置換型 | | | フレームシフト型 | | |
| | | | TA 1535 | TA 100 | WP2uvrAp | TA 1537 | TA 1538 | TA 98 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | | | | | | |
| 検体 | 1.6 | | | | | | | |
| | 8 | | | | | | | |
| | 40 | | | | | | | |
| | 200 | | | | | | | |
| | 1000 | | | | | | | |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | | | | | | |
| 検体 | 8 | | | | | | | |
| | 40 | | | | | | | |
| | 200 | | | | | | | |
| | 1000 | | | | | | | |
| | 5000 | | | | | | | |
| 陽性対照 | SA | 1 | | | | | | |
| | 9-AA | 50 | | | | | | |
| | 2-NF | 0.5 | | | | | | |
| | MNNG | 5 | | | | | | |
| | 2-AA | 2 | + | | | | | |

値は3連の平均値
*: 菌の生育阻害を認める

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) 細菌を用いた復帰突然変異試験(宿主経由)

(資料 T-38)

検体の純度:

供試動物: ICR系マウス、7週齢、平均体重;33.0g、1群雄6匹

試験方法: 5%アラビアゴム水溶液に懸濁し、24時間間隔で検体を各々100あるいは200mg/kgを2回強制経口投与した。一方、陽性対照として dimethylnitrosamine 50mg/kgを1回強制経口投与した。2回目(陽性対照は1回目)の投与直後、*Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求性株 G46 (4.7×10^8 個/mL) の懸濁液 2mL を腹腔内投与した。3時間後マウスを屠殺し、リン酸緩衝液を腹腔内に注入して菌液を回収した。この菌液を各3枚の寒天培地に添加して2日間培養し、生存菌数および復帰変異菌数を数えた。また、G46菌株を用いて *in vitro* 復帰突然変異性を検体 1~5000 μ g/plate の7濃度および陽性対照 β -propiolactone を用いて確認した。

投与量設定根拠:

結果: 結果を下表に示した。

| 薬物 | 投与量(mg/kg) | 復帰変異菌数/mL | 生存菌数/mL | 生存菌数 10^8 個当たりの復帰変異菌数 |
|---------------------|-------------|-----------|---------|-------------------------|
| 溶媒対照 (5%アラビアゴム水) | - | | | |
| 検体 | 200(100×2回) | | | |
| | 600(300×2回) | | | |
| 陽性対照 (DMN) | 50(1回) | | | |

値は6匹の平均値。

***: $p < 0.001$ (検定法は記載なし)

検体は G46 株に対して復帰変異菌数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いた dimethylnitrosamine(DMN)は、復帰変異菌数を有意に増加させた。また、*in vitro* 試験でも検体は G46 株に対して復帰変異菌数を増加させなかった。

以上の結果から、検体は宿主経由試験において、復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) ヒトのリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 T-40)

検体の純度:

試験方法: 2名の健康な供血者から採取した血液を用いて、代謝活性化酵素系の存在下および非存在下で、染色体異常誘発を検定した。検体および陽性対照物質は DMSO に溶解して用いた。観察は 1 濃度当たり 100 個の分裂中期像について行った。陽性対照については、観察は 1 濃度当たり 25 個で行った。試験は 2 連制で実施した。

用量設定根拠:

結果: 結果を次頁の表に示した。

検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの濃度でも染色体異常を有する分裂期細胞数を増加させなかった。また特定のタイプの染色体異常を増加させる傾向も認められなかった。

一方、陽性対照の methyl methane sulphonate(MMS) および cyclophosphamide(CPA) は、染色体異常を有する細胞数を統計学的に有意に増加させた。

以上の結果から、検体は代謝活性化系を含む本試験条件下において、染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

試験結果

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | S-9 mix の有無 | 処理 時間 | 標本 作製 時間 | 染色体異常数(細胞 100 個あたり) | | | | | | | 異常細胞数 | | 倍 数 体 | そ の 他 の 異 常 | 判 定 | | | |
|-----------------|-----------------------------------|-------------------|----------|----------------|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------------------|------------------|-------------|----------------------------|--------|--------|--|---|
| | | | | | ギ ャ ッ プ | 染色分体型 | | | 染色体型 | | | 重 複 断 片 化 | ギ ャ ッ プ | | | | | | |
| | | | | | | 切 断 | 欠 失 | 交 換 | 切 断 | 欠 失 | 交 換 | | 含 む | | | | 除 く | | |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | 3hr | 24hr | | | | | | | | | | | | - | | | |
| 検体 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | - |
| | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | - |
| | 40 | | | | | | | | | | | | | | | | | | - |
| 陰性対照 (-DMSO) | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | - |
| 陽性対照 (MMS) | 25 | | | | | | | | | | | | | | | | | | + |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | | | | + | 3hr | 24hr | | | | | | | | | | | | |
| 検体 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | - |
| | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | - |
| | 40 | | | | | | | | | | | | | | | | | | - |
| 陰性対照 (-DMSO) | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | - |
| 陽性対照 (CPA) | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | + |

値は 2 連の平均値

***: $p < 0.001$ 、検定法: カイ二乗。

5) マウスを用いた小核試験

(資料 T-62)

検体の純度

供試動物: ddY系マウス、7週齢、体重 雄 31.7~37.1g、1群6匹

試験方法: 検体をオリーブ油に懸濁し、150、300 および 600mg/kg の投与量で、単回腹腔内投与した。なお、陰性対照群にはオリーブ油のみを、陽性対照群には蒸留水に溶解したマイトマイシン C を投与量 2mg/kg で同様に投与した。投与 24 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上に載せメタノール固定後、ギムザ染色液で染色し、骨髓標本作製した。

各個体の標本について細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。また、1000 個の多染性赤血球を観察して小核を有する多染性赤血球を計測した。

投与量設定根拠:

結果: 結果を次頁の表に示した。

全投与群において、死亡はみられなかった。検体投与群においては、溶媒対照群と比較して小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、統計学的に有意な増加は認められなかった。多染性赤血球の全赤血球に対する割合は、600mg/kg 群で有意な減少がみられ、骨髓毒性が示唆された。一方、陽性対照であるマイトマイシン C 投与群では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

観察結果

| 採取時間 | 薬物 | 投与量 (mg/kg) | 性別 | 観察動物数 | MNPCE % (平均値±SD) | PCE/ (PCE+NCE) % (平均値±SD) | 判定 |
|------|-----------------|-------------|----|-------|------------------|---------------------------|----|
| 24hr | 溶媒対照 (オリーブ油) | - | 雄 | 6 | | | - |
| | 検体 | 150 | | 6 | | | - |
| | | 300 | | 6 | | | - |
| | | 600 | | 6 | | | - |
| | 陽性対照 (マイトマイシンC) | 2 | | 6 | | | + |

値は6匹の平均値

#:p<0.01 検定法:Kastenbaum & Bowmanの検定。*:p<0.01 検定法:t検定

PCE:多染性赤血球数

NCE:正染性赤血球数

MNPCE:多染性赤血球1000個のうち小核を有す多染性赤血球の割合

以上の結果から、本試験条件下において、検体はマウス骨髄赤血球に対し小核赤血球を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

6) 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 T-39)

検体の純度

試験方法: 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用いて、DNA 損傷誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し、20~2000 μg /ディスクの範囲で6濃度で実施した。陰性対照としてカナマイシン、陽性対照としてマイトマイシン C を用いた。

結果: 結果を下表に示した。

| 薬物 | 濃度 (μg /ディスク) | 阻止帯の径 (mm) | | 差 (mm) |
|---------------------|------------------------------|------------|------|-----------|
| | | M-45 | H-17 | |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | | | |
| 検体 | 20 | | | |
| | 100 | | | |
| | 200 | | | |
| | 500 | | | |
| | 1000 | | | |
| | 2000 | | | |
| 陰性対照 (カナマイシン) | 10 | | | |
| 陽性対照 (マイトマイシン C) | 0.1 | | | |

検体は最高用量においても両菌株に生育阻止帯を示さなかった。一方、陰性対照のカナマイシンは、両菌株に同程度の生育阻止帯を示し、陽性対照のマイトマイシン C は両菌株の間に明らかな生育阻止帯の差を生じた。

以上の結果から、検体は本試験条件下において DNA 損傷誘発性を有しないものと判断される。

(14). 生体機能影響

イソプロチオランにおける薬理試験

(資料T-41)

検体の純度:

マウスおよびカエルにおける一般状態

供 試 動 物: ddN系マウス、体重約 20g、1 群雄 10 匹
カエル、体重 15g、4 匹

投 与 方 法: マウスには検体をオリーブ油に溶解し、50、100、200、400 および 800mg/kg を経口投与した。カエルには検体を 5%アルコール水溶液に懸濁し、0.5mg/匹 (33.3mg/kg) を胸リンパ腔に投与した。投与後 24 時間まで一般症状を観察した。

結 果:

マウス: 400mg/kg 以上の群では投与後 10~20 分から、自発運動の低下もしくは停止、敏捷性の低下、刺激に対する反応性の低下、四肢の位置異常がみられ、正向反射の消失をきたす個体が観察された。100~400mg/kg 群ではこれらの症状は軽減された。50mg/kg 群ではほとんど症状は認められず、自発運動がわずかに抑制される個体があったが、非常に軽度であった。

カエル: いずれの個体も投与後 20 分から刺激に対する反射運動の低下、背位に横たえた場合の起き上がり能力の低下、呼吸運動の抑制が観察された。また反射運動の消失、呼吸運動の停止が認められた個体もあった。

マウスにおける睡眠延長作用

供 試 動 物: ddN系マウス、体重約 20g、1 群雄 8 匹

投 与 方 法: 検体をオリーブ油に溶かし、0、50 および 100mg/kg を経口投与した。検体投与 2、6、24、48、72 および 96 時間後にヘキサバルビタール Na 塩 100mg/kg を腹腔内投与し、検体のヘキサバルビタール Na 塩による睡眠時間への影響を調べた。

結 果: 結果を次頁の表に示した。

検体の 100mg/kg を投与して 2 および 6 時間後にヘキサバルビタール Na 塩を投与した場合、対照群に比べ睡眠時間を延長し、24 時間後に投与した場合には睡眠時間を短

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

縮し、48 時間後の投与では有意な影響は認められなかった。一方、検体 50mg/kg の投与では、ヘキソバルピタール Na 塩による睡眠時間に影響を及ぼさなかった。

| 投与量 (mg/kg) | | 0 | 50 | 100 |
|--------------------|--------|----------|----|-----|
| ヘキソバルピタール Na 塩投与時間 | | 睡眠時間 (分) | | |
| 検体投与から | 2 時間後 | | | |
| | 6 時間後 | | | |
| | 24 時間後 | | | |
| | 48 時間後 | | | |
| | 72 時間後 | | | |
| | 96 時間後 | | | |

*: p<0.05 検定法: 記載なし

マウスの体温に及ぼす影響

供 試 動 物: ddN 系マウス、体重: 約 20g、1 群雄 5 匹

投 与 方 法: 検体をオリーブ油に溶解し、200 および 400mg/kg を経口投与した。検体投与 30、60、90、120 および 180 分後に直腸体温を測定した。検体投与前の直腸体温との差を求めた。

結 果: 結果を下表に示した。

| 投与量 (mg/kg) | | 200 | 400 |
|-------------|-------|-----------------|-----|
| | | 投与前後の直腸体温差 (°C) | |
| 投与後 | 30 分 | | |
| | 60 分 | | |
| | 90 分 | | |
| | 120 分 | | |
| | 180 分 | | |

*: p<0.05 検定法: 記載なし

400mg/kg 群では、投与 60 分後から体温が顕著に低下した。200mg/kg 群では変化はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

マウスにおける鎮痛作用

供試動物: ddN系マウス、体重;約 20g、1群雄 5、10 あるいは 20 匹

試験方法: 1)熱板法

検体をオリーブ油に溶解し、1群 20 匹のマウスに 0、100、200mg/kg を経口投与した。投与 2 時間後に 60°Cに保った水浴上の熱板上にマウスを乗せ、跳びあがるまでの時間を計った。測定は 30 分の間隔をおいて 2 度実施した。

2)ライジング法

検体をオリーブ油に溶解し、1群 5 あるいは 10 匹のマウスに 0、100、200mg/kg を経口投与した。2 時間後に 0.7%酢酸水溶液 0.2mL/体重 20g を腹腔内投与し、その 5 分後から 10 分間にわたって症状(Writhing 数)を観察した。

結果: 1)熱板法

結果を下表に示した。

| 投与群(mg/kg) | 0 | 100 | 200 |
|------------|-------------------|-----|-----|
| | 熱板から跳びあがるまでの時間(秒) | | |
| 1 回目 | | | |
| 2 回目 | | | |
| 平均 | | | |

熱板法では、対照群と差はみられなかった。

2)Writhing Test

結果を下表に示した。

| 投与群(mg/kg) | 0 | 100 | 200 |
|--------------------|---|-----|-----|
| Writhing 回数(10 分間) | | | |

*:p<0.05 検定法:記載なし。

200mg/kg 群に対照群と比較して有意な writhing 数の減少がみられ、鎮痛効果が認められた。100mg/kg 群では変化がなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

マウスにおける抗痙攣作用

供試動物: ddN系マウス、体重;約 20g、1群雄 11匹

試験方法: 検体をオリーブ油に溶解し、マウスに 0、200mg/kgを経口投与した。2 時間後にストリキニン 2mg/kg を皮下投与して、痙攣の発現を観察しながら死亡までの時間を測定して、検体のストリキニンによる死亡時間への影響を調べた。

結果: 死亡までの時間を個体毎に次頁の表に示した。

| 投与群(mg/kg) | 0 | 200 |
|------------------|------------|-----|
| | 死亡までの時間(分) | |
| 個体別値 | | |
| 平均 ¹⁾ | | |

¹⁾: 200mg/kg の>60 分は 60 分として計算した。

200mg/kg 群は対照群に比較し、ストリキニンによる死亡までの時間を遅らせる傾向にあった。

マウスの正向反射に及ぼす影響

供試動物: ddN系雄マウス、体重;約 20g

供試動物: 検体をオリーブ油に溶解してマウスに経口投与した。2 時間後に宙返り法により、正向反射の消失の有無を観察し、ED₅₀値を求めた。

結果: 検体は正向反射を消失させた。その ED₅₀ 値は 800mg/kg 以上であった。

マウスにおける筋弛緩作用

供試動物: ddN系雄マウス、体重;約 20g

試験方法: 1)懸垂法

検体をオリーブ油に溶解してマウスに経口投与した。2 時間後に高さ 30cm の水平に張った直径 1mm の針金に両前肢で把握懸垂させ、10 秒以内に後肢を針金にかけることができなければ作用あり、それ以外は作用なしとしてED₅₀値を求めた。

2)斜面法

検体をオリーブ油に溶解してマウスに経口投与した。2 時間後に 45 度の傾斜をもつ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

金網上に乗せ落下するかどうかにより作用の有無を判定し、ED₅₀値を求めた。

結果：結果を下表に示した。

| 試験方法 | ED ₅₀ (mg/kg)(95%信頼限界) |
|------|-----------------------------------|
| 懸垂法 | |
| 斜面法 | |

懸垂法および斜面法での検体の ED₅₀ 値は、それぞれ 352 および 407mg/kg であった。

モルモットおよびラットの平滑筋に及ぼす影響

供試動物：雄性モルモット(体重:約 400g)、雌性ラット(体重:約 300g)

試験方法：1)モルモット摘出腸管に対する作用

モルモット摘出腸管を用い、 10^{-6} および 10^{-5} g/mL の検体濃度で、37°C の Tyrode 液中で腸管の自動運動能に及ぼす影響を Magnus 法で行った。また、腸管運動に影響を及ぼした 10^{-5} g/mL の検体濃度において、アセチルコリン(5×10^{-6} g/mL)、ヒスタミン(10^{-7} g/mL)、セロトニン(5×10^{-6} g/mL)、ニコチン(10^{-5} g/mL)および KCl(30mM)の各薬物による収縮に及ぼす影響について調べた。

2)ラット摘出子宮に対する作用

ラット摘出子宮を用い、上記の方法に準じて検体の自動運動に及ぼす影響、セロトニン収縮(10^{-7} g/mL)に及ぼす影響を検討した。検体濃度は 10^{-5} g/mL とした。

3)モルモット摘出輸精管に対する作用

モルモット摘出輸精管を用い、上記の方法に準じ、抗アドレナリン作用(5×10^{-6} g/mL)を検討した。検体濃度は 10^{-5} g/mL とした。

結果：1)モルモット摘出腸管；検体はモルモット摘出腸管に対して 10^{-5} g/mL で自動運動を抑制し、筋の弛緩をもたらした。しかし、この影響は栄養液を洗い流すことによって直ちに回復した。 10^{-6} g/mL の濃度では小腸の自動運動能に殆ど影響を及ぼさなかった。また、検体(10^{-5} g/mL)はアセチルコリン、ヒスタミン、セロトニン、ニコチンおよび KClの各種薬剤による収縮をいずれも抑制した。

2)ラット摘出子宮；検体はラット摘出子宮に対しては、 10^{-5} g/mL で自動運動を抑制し、セロトニン(5×10^{-6} g/mL)による運動の亢進を抑制した。

3)モルモット摘出輸精管；検体はモルモット摘出輸精管に対して、 10^{-5} g/mL でアドレナリン(5×10^{-6} g/mL)による輸精管収縮を抑制した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ウサギの呼吸、血圧に対する作用

供試動物： 雄性ウサギ(体重:約 3kg)

試験方法： ウサギをウレタン麻酔し頸部を切開し、総頸動脈にカニューレを挿入し、その圧を水銀マンノメーターに導いてキモグラフィオンに記録した。同時に気管にカニューレを挿入し、タンブールに連結し、呼吸曲線をキモグラフィオンに記録した。検体は 30%オリーブ油+エタノール溶液として 0.3mL(a.i.90mg/3kg 相当)を耳静脈より注射した。約 1 時間後に同量の検体を再度静注した。

結果： 検体は 30mg/kg の静注で、血圧および呼吸に殆ど影響を及ぼさなかった。

カエルの心臓運動に対する作用

供試動物： カエル(体重:約 15g)

試験方法： 露出させたカエル心臓にセルフィンをかけセルフィンに結びつけた糸で心臓をつり上げヘーベルに連結してキモグラフィオンのスス紙上に描記させた(Engelmann 法)。還流液の検体濃度は 0.1%.(水:エタノール=95:5 に溶解)とした。

結果： 検体 0.1%溶液の還流による影響は認められなかった。

ウサギの角膜反射に対する作用

供試動物： 雄性ウサギ(体重:約 3kg)、3 匹

試験方法： 検体 10mg/眼をウサギ右眼に点眼し、20~30 秒間閉眼させた。ウサギの毛を用いて 30 分間隔で 3 時間後まで、瞬目反射を対照(左眼)と比較して調べた。

結果： 検体の 10mg/眼を点眼しても、角膜反射に対する影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ラット肝薬物代謝酵素に対する作用

供 試 動 物: ラット

試 験 方 法: 検体 250mg/kg を経口投与し、投与後 2、6、15、24、48 および 72 時間後に頸動脈を切断して、放血死させ、肝を摘出した。肝はリン酸緩衝液を用いて磨碎し、20%肝磨碎液あるいは 1000g 上清画分を用いて、パラニトロアニソールの脱メチル化(NADM)活性を Kinoshita の方法およびアニリンを基質とした環の水酸化(AH)活性を Imai の方法で測定した。

結 果: NADM および AH 活性とも投与 2 時間後より 15 時間後までは阻害された。しかし、その後回復し、24 時間以降では逆に誘導がみられた。投与 72 時間後には回復傾向にあり、両酵素活性の検体による変動はほぼ同じ推移を示した。この作用は他の多くの誘導剤と同様で、特異的なものとは思われない。

以上のことより、検体をマウスに経口投与すると、200mg/kg 以上の投与で自発運動の低下などが認められ、100~400mg/kg 投与でヘキソバルビタール睡眠時間延長、体温低下、鎮痛、抗ストリキニン作用、懸垂法および斜面法における筋の弛緩や虚脱状態等の軽度な中枢抑制的症状を呈した。これらの作用も 50mg/kg 以下の投与量では殆ど認められなかった。摘出平滑筋臓器に対しては 10^{-5} g/mL の濃度で自動運動の抑制および筋の弛緩を認めたが、これ以下の濃度では殆ど認められなかった。

本試験の結果から、散布作業に伴ってヒトに摂取された場合あるいは誤って摂取された場合、急性中毒が発現する可能性は低いと推測された。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

| 試験項目 (試験動物) | 投与経路 (投与溶媒) | 投与量 (mg/kg) | 動物 数/群 | 作用量 (mg/kg) | 無作用量 (mg/kg) | 結果の概要 | |
|----------------------------|---|--|-----------|----------------------------|-----------------------|--|--|
| 一般症状 [Irwin法] (マウス) | 経口 (オリーブ油) | 0, 50, 100, 200, 400, 800 | ♂10 | 100 | 50 | 自発運動の低下、敏捷性の低下、刺激に対する反応性が低下した。 | |
| 一般症状 (カエル) | 胸リンパ腔 (エタノール-水) | 0, 5mg/匹 | 4 | 33.3 | <33.3 | 刺激に対する反応性の低下、起き上がり能力低下、呼吸抑制、反射運動が消失した。 | |
| ヘキソバルビタール睡眠 (マウス) | 経口 (オリーブ油) | 0, 50, 100 | ♂8 | 100 | 50 | 投与後2~6時間に睡眠時間が延長し、24時間以降は短縮した。 | |
| 体温 (マウス) | | 0, 200, 400 | ♂5 | 400 | 200 | 体温が低下した。 | |
| 鎮痛作用 | | | | | | | |
| 鎮痛 [熱板法] (マウス) | 経口 (オリーブ油) | 0, 100, 200 | ♂20 | - | >200 | 影響なし。 | |
| [Writhing test] (マウス) | | 0, 100, 200 | ♂ 5~10 | 200 | 100 | 鎮痛作用が認められた。 | |
| 抗痙攣作用 [ストリキニン] (マウス) | 経口 (オリーブ油) | 0, 200 | ♂11 | 200 | <200 | 弱い作用が認められた。 | |
| 筋弛緩作用 | | | | | | | |
| 筋弛緩 [懸垂法] (マウス) | 経口 (オリーブ油) | - | - | ED ₅₀ :352 | - | ED ₅₀ は352mg/kgであった。 | |
| [斜面法] (マウス) | | - | - | ED ₅₀ :407 | - | ED ₅₀ は407mg/kgであった。 | |
| [正向反射] (マウス) | | - | - | ED ₅₀ : >800 | - | ED ₅₀ は>800mg/kgであった。 | |
| 摘出腸管 (モルモット) | <i>in vitro</i> (Magnus- Tyrode液) | 0, 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ g/mL | 1 | 10 ⁻⁵ g/mL | 10 ⁻⁶ g/mL | 自動運動を抑制し、アセチルコリン、ヒスタミン、セロトニン、ニコチンおよびKClによる収縮を抑制した。 | |
| 摘出子宮 (ラット) | | 0, 10 ⁻⁵ g/mL | 1 | 10 ⁻⁵ g/mL | - | | |
| 摘出輸精管 (モルモット) | | | 1 | 10 ⁻⁵ g/ml | - | | |
| 循環器系 | 血圧・呼吸 (ウサギ) | 静脈内 (エタノール-水) | 0, 30 | 1 | - | 30 | 影響なし。 |
| | 心臓運動 [Engel-mann法] (カエル) | <i>in vitro</i> (還流) | 0, 0.1% | 1 | - | 0.1% | 影響なし。 |
| 知覚神経 | 角膜反射 (ウサギ) | 点眼 | 10mg/眼 | ♂3 | - | 10mg/眼 | 影響なし。 |
| 薬物代謝 | 肝薬物代謝 酵素活性 (ラット) | 経口 (オリーブ油) | 0, 250 | - | 250 | - | NADMおよびAH活性が投与2~15時間後までは阻害されたが、24時間以降は誘導された。 |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2. 製剤

(1) イソプロチオラン 40.0%乳剤

1) ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-15)

検体の純度: 40.0%乳剤

供試動物: SD系ラット、5週齢、体重;雄 113~133g 雌 89~105g、
1群雌雄各 10匹

観察期間: 14日間

投与方法: 検体を蒸留水で希釈して経口投与した。投与前に一晚絶食し、投与 4 時間後より給餌した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 3、7、10 および 14 日後に測定した。死亡動物は死亡発見直後、生存動物は試験終了時に全例の組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 性別 | 経口 | |
|---------------------------------------|---|---------------------|
| | 雄 | 雌 |
| 投与量 (mg/kg) | 970, 1260, 1639, 2130, 2769, 3600, 4680 | |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 2429 (2253~2619) | 2698 (2513~2896) |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 投与後 1 日から開始 投与後 5 日に終了 | |
| 症状発現時間 および消失時間 | 投与後 10 分から発現 投与後 5 日に消失 | |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 970 | 1260 |

中毒症状として、自発運動量の低下、眼瞼下垂、腹臥、呼吸緩徐および流涙が、少数例に流涎、赤色流涙およびラッセル音が認められた。体重は高用量群で減少/増加抑制がみられたが、投与 7 日後から回復した。死亡例の剖検で、肝、腎および脾の萎縮、胃および腸内に黒色あるいはタール様内容物の貯留が、少数例に肺の鬱血や暗赤色化、胃粘膜のカタル、胃の膨満、十二指腸内の黄色粘液や血様腹水の貯留、膀胱内

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

の血様尿がみられた。生存例に異常はなかった。死亡動物(2769mg/kg 群雄)で行った病理組織学検査で、胃底部に黄褐色の色素付着が、肝に小葉中心性の空胞変性、脾にリンパ球の減少が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) マウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-43)

検体の純度: 40.0%乳剤

供試動物: ICR系マウス、6週齢、体重;雄 26.8~30.7g 雌 20.7~24.5g、
1群雌雄各 10匹

観察期間: 14日間

投与方法: 検体を精製水に懸濁して経口投与した。投与前に約 17 時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与前、投与後 0、3、7、10 および 14 日目に測定した。途中死亡動物は発見時に体重を測定し、剖検した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 性別 | 経口 | |
|---------------------------------------|---------------------------------|---------------------|
| | 雄 | 雌 |
| 投与量 (mg/kg) | 0, 1000, 1300, 1700, 2300, 3000 | |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 2297 (2056~2572) | 1979 (1742~2266) |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 投与後 24 時間から開始 投与後 2 日に終了 | |
| 症状発現時間 および消失時間 | 投与後 10 分から発現 投与後 3 日に消失 | |
| 死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg) | 1300 | |

中毒症状として、殆どの群の雌雄で、自発運動の低下、腹ばい歩行、よろめき歩行、腹臥、横臥および鎮静が観察された。体重は、試験期間を通じて各群雌雄とも順調に推移した。剖検所見として、死亡例の雌雄で腺胃の出血および穿孔、生存例の雌雄で前胃の肥厚が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 T-16)

検体の純度: 40.0%乳剤

供試動物: SD系ラット、雄 7 週齢 雌 8 週齢、
体重;雄 266~299g 雌 202~230g、1 群雌雄各 10 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 刈毛した背部皮膚に検体を塗布し、24 時間ガーゼで覆った。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 3、7 および 14 日後に測定した。試験終了時に全例の適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 | 経皮 | |
|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | 雄 | 雌 |
| 性別 | | |
| 投与量 (mg/kg) | 2000 | |
| LD ₅₀ (mg/kg) | >2000 | |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例なし | |
| 症状発現時間 および消失時間 | 投与後 10 分から発現 投与後 3 日に消失 | 投与後 3 時間から発現 投与後 5 日に消失 |
| 死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg) | 2000 | |

中毒症状として、雌雄に感応性の亢進、雄に赤色流涙痕が観察され、塗布部位では雌雄に紅斑、雌に鱗屑が認められた。体重減少が投与後 3 日に雌雄にみられたが、その後回復した。剖検においては、雌雄とも異常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日本農薬株式会社にある。

4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 T-24)

検体の純度: 40.0%乳剤

供試動物: 日本在来種白色ウサギ、12~16週齢、体重;2.4~3.1kg、雄6匹

観察期間: 6日間

投与方法: 検体 0.5mL をガーゼに滴下し、刈毛した背部に貼付して、被覆固定した。4時間後、適用部位を水で浸した脱脂綿で清拭した。

観察項目: 検体を除去 1、24、48、72 時間および 6 日後に適用部位の刺激性変化(紅斑、浮腫)の有無等を観察し、OECD化学薬品テストガイドライン(1981年)に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点を次頁の表に示した。
軽度の紅斑および浮腫が全例で認められたが、6日後までに回復した。鱗屑が6日後に全例で認められた。

以上の結果から、イソプロチオラン 40.0%乳剤はウサギの皮膚に対して、軽度の刺激性があるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 動物 番号 | 項目 | * 最高 評点 | 適用後時間 | | | | |
|----------|------------------|---------------|---------|----------|----------|----------|--------|
| | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 6 日 |
| 1 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| 2 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 3 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 4 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 3 | 2 | 1 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 6 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 合計 | 紅斑・痂皮 | 24 | 5 | 12 | 10 | 7 | 0 |
| | 浮腫 | 24 | 0 | 7 | 5 | 1 | 0 |
| | 合計 | 48 | 5 | 19 | 15 | 8 | 0 |
| 平均 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0.8 | 2.0 | 1.7 | 1.2 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 1.2 | 0.8 | 0.2 | 0 |
| | 合計 ²⁾ | 8 | 0.8 | 3.2 | 2.5 | 1.4 | 0 |

*: 判定基準の最高評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 T-23)

検体の純度: 40.0%乳剤

供試動物: 日本在来種白色ウサギ、9~12週齢、体重:1.9~2.7kg、
非洗眼群雄6匹、洗眼群Ⅰ雄3匹、洗眼群Ⅱ雄3匹

観察期間: 10日間

投与方法: 検体0.1mLを片側の眼に適用し、6匹(非洗眼群)は適用24時間後、3匹(洗眼群)は適用4秒後、残りの3匹(洗眼群)は適用30秒後に5分間洗眼した。

観察項目: 適用1、24、48および72時間後に、その後も影響が残っている動物については96時間、6、7および10日後まで、角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、OECD化学品テストガイドライン(1981年)に準拠して採点した。

結果: 観察した刺激性の採点は次(非洗眼群)および次々頁(洗眼群)の表に示した。
非洗眼群において、角膜の混濁、結膜の発赤および浮腫が全例で、虹彩の充血が3例で認められたが、これらの症状は適用10日後には消失した。また、角膜にパンヌスの形成が適用6および7日後に1例で認められた。一方、適用後4秒あるいは30秒後に洗眼した群においては、角膜の混濁、虹彩の充血、結膜の発赤および浮腫が散見されたが、これらの症状はいずれも適用6日後に消失した。

以上の結果から、イソプロチオラン40.0%乳剤はウサギの眼に対して、軽度の刺激性があるものと思われる。洗眼により症状の軽減および回復時間の短縮が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 群 | 動物 番号 | 項目 | ** 最高 評点 | 適用後時間 | | | | | | | | |
|------------------|----------|----------|----------------|---------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|---|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 96 時間 | 6 日間 | 7 日間 | 10 日間 | |
| 非 洗 眼 群 | 1 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | - | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 3 | 2 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 面積 | 4 | - | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 3 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 分泌物 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 3 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | |
| | | | 面積 | 4 | - | 4 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 分泌物 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 4 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | |
| | | | 面積 | 4 | - | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 分泌物 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 5 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 面積 | 4 | - | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 | |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 0 | |
| | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 分泌物 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 6 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | |
| | | 面積 | 4 | - | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | | |
| | 虹彩 | | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | | |
| | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 分泌物 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 合計 | | | 660 | - | 238 | 156 | 141 | 65 | 14 | 9 | 0 | |
| 平均* | | | 110 | - | 39.7 | 26 | 23.5 | 10.8 | 2.3 | 1.5 | 0 | |

-:角膜混濁の面積が不明瞭のため採点できず

*: Draize 法による評価点(最高 110 点)

** : 判定基準の最高評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 群 | 項目 | | 最高 評点 ¹⁾ | 適用後時間 | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|-----|------------------------|---------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 96 時間 | 6 日間 | 7 日間 |
| 洗眼群 (4秒後) (3匹平均) | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0.7 | 0.7 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 面積 | 4 | 1.3 | 1.0 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1.3 | 2.7 | 2.0 | 1.7 | 1.3 | 0.0 | 0.0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1.0 | 1.0 | 0.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 分泌物 | 3 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 合計平均 ²⁾ | | 110 | 14.7 | 10.9 | 5.9 | 3.4 | 2.6 | 0.0 | 0.0 |
| 洗眼群 (30秒後) (3匹平均) | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0.7 | 0.7 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 面積 | 4 | 1.7 | 1.0 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2.0 | 3.0 | 2.0 | 2.0 | 1.7 | 0.0 | 0.0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1.0 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 分泌物 | 3 | 0.7 | 0.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 合計平均 ²⁾ | | 110 | 14.9 | 12.9 | 4.5 | 4.0 | 3.4 | 0.0 | 0.0 |

¹⁾: 判定基準の最高評点

²⁾: Draize 法による評価点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-28)

検体の純度: 40.0%乳剤

供試動物: ハートレー系モルモット、体重: 328~376g、
1群雄 20 匹、陽性対照群雄 10 匹、刺激性対照群雄 10 匹

観察期間: 48 時間

試験操作: [Maximization 法]

投与量設定根拠:

感作: 肩部を刈毛し、注射用蒸留水および Freund's Complete Adjuvant (FCA) で調製した検体の 2.5%懸濁液 0.1mL を皮内注射した。1 週間後、2.5%懸濁液 0.5mL を 48 時間閉塞貼付した。その 24 時間前に感作増強剤として 10%ラウリル硫酸ナトリウムを塗布した。一方、陽性対照群には、DNCB の 0.05%トリ-n-カプリン/Adjuvant/注射用蒸留水 0.05mL を皮内注射し、その 1 週間後、0.05%トリ-n-カプリン溶液を 48 時間閉塞貼付した。

惹起: 最終感作の 2 週間後に刈毛した腹側部を除毛し、2.5%検体懸濁液をパッチに滴下し、24 時間閉塞貼付した。また、貼付除去 3 日後に、右側腹部を用い、1.0%の検体懸濁液を同様の方法で再惹起した。陽性対照群には 2.5%DNCB を用いて同様に処理した(但し、2 回目の惹起処理は行わなかった。)

観察項目: 惹起 24 時間および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。皮膚反応を下表に従って採点し、評点 1 以上の陽性とした。

| 皮膚反応 | 評点 |
|------------|----|
| 紅斑なし | 0 |
| 弱い散在性紅斑 | 1 |
| 中等度のびまん性紅斑 | 2 |
| 強度の紅斑および浮腫 | 3 |

結果: 各観察時間における感作性変化が認められた動物数を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| | | 群 | | 供試動物数 | 感作反応動物数 | | | | | | 陽性率* | | | | | |
|-------------------|--------------|---------------|---------------|-------|-------------------|---|---|-------------------|-------|------|-------|-------|---|-------|------|-----|
| | | | | | 24 時間後 | | | 48 時間後 | | | (%) | | | | | |
| | | 感 作 | 惹 起 | | 皮膚反応評点 0 1 2 3 | | 計 | 皮膚反応評点 0 1 2 3 | | 計 | 24 時間 | 48 時間 | | | | |
| 惹起 1 回 目 | 検体 | 2.5% 検体 | 2.5% 検体 | 20 | 9 | 9 | 0 | 2 | 11/20 | 12 | 7 | 0 | 1 | 8/20 | 55 | 40 |
| | | 溶媒 | 2.5% 検体 | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 0 |
| | 陽性 対 照 | 0.05% DNCB | 0.05% DNCB | 10 | 0 | 2 | 0 | 8 | 10/10 | 0 | 3 | 0 | 7 | 10/10 | 100 | 100 |
| | | 溶媒 | 0.05% DNCB | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 0 |
| 惹起 2 回 目 | 検体 | 2.5% 検体 | 1.0% 検体 | 20 | 14 | 6 | 0 | 0 | 6/20 | 15 | 5 | 0 | 0 | 5/20 | 30 | 25 |
| | | 溶媒 | 1.0% 検体 | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 0 |

*陽性率(%)=皮膚反応評点が1以上の動物数/供試動物数

検体は1および2回目の惹起において軽度から中等度の皮膚感作性を示した。陽性対照群では、極度の皮膚感作性が認められた。刺激性対照群には皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、イソプロチオラン 40.0%乳剤はモルモットの皮膚に対して、中等度の感作性があるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) イソプロチオラン 40.0%水和剤

1) ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-12)

検体の純度: 40.0%水和剤

供試動物: Wistar/KY 系ラット、6 週齢、平均体重; 雄 177.3g 雌 139.1g、
1 群雌雄各 10 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁して強制経口投与した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 3、7、10 および 14 日後に測定した。死亡動物は死亡発見直後、全生存動物は試験終了時に全例の組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 性別 | 経口 | |
|---------------------------------------|--|------------------------------|
| | 雄 | 雌 |
| 投与量 (mg/kg) | 0, 2276, 2959, 3846, 5000, 6500, 8450, 10985 | |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 6591 (5612.5~7970.0) | 5013 (4393.8~5716.7) |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 投与後 24 時間から開始 投与後 9 日に終了 | 投与後 24 時間から開始 投与後 10 日に終了 |
| 症状発現時間 および消失時期 | 投与後 10 分から発現 投与後 11 日に消失 | 投与後 10 分から発現 投与後 10 日に消失 |
| 毒性徴候の認められなかつた最高投与量 (mg/kg) | 2276 | 2276 |
| 死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg) | 2276 | 2959 |

中毒症状として、2959mg/kg 以上の群の雌雄で自発運動の低下、鎮静、流涎および衰弱が観察された。観察期間中、雌雄の全投与群で 3 ないし 7 日後まで体重減少および増加抑制がみられたが、以後回復に向かった。死亡例の剖検では、肺の鬱血または出血、胃粘膜出血、前胃の潰瘍、十二指腸の出血および潰瘍と小腸粘膜の出血が認めら

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

れ、5000mg/kg 群の雌 1 例に腸重積がみられた。試験終了時における剖検では、胸腹腔内の各臓器に異常は認められなかった。

2) マウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-13)

検体の純度: 40.0%水和剤

供試動物: ICR系マウス、6週齢、平均体重;雄 32.4g 雌 26.1g、
1群雌雄各 10匹

観察期間: 14日間

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁して経口投与した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 3、7、10 および 14 日後に測定した。死亡動物は死亡発見直後、生存動物は試験終了時に全例の組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 性別 | 経口 | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------|
| | 雄 | 雌 |
| 投与量 (mg/kg) | 0, 2276, 2959, 3846, 5000, 6500, 8450 | |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 5723 (5006.5~6655.3) | 5463 (4720.7~6486.4) |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 投与後 24 時間から開始 投与後 4 日に終了 | |
| 症状発現時間 および消失時期 | 投与後 10 分から発現 投与後 4 日に消失 | |
| 死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2959 | 2276 |

中毒症状として、全投与量群の雌雄で自発運動の低下、鎮静および呼吸困難が観察された。観察期間中、雌雄とも対照群と投与群の間に体重変化の差は認められなかった。死亡例の剖検では、肺の出血または、鬱血、腺胃粘膜の出血および小腸粘膜の出血が認められた。生存例の剖検では、胸腹腔内の各臓器に異常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日本農薬株式会社にある。

3) ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 T-14)

検体の純度: 40.0%水和剤

供試動物: Wistar/KY系ラット、7週齢、平均体重;雄 206.4g 雌 154.9g、1群雌雄各 10匹

観察期間: 14日間

投与方法: 蒸留水で湿らせた検体を綿布に塗布し、前日に剪毛した背部皮膚に適用して絆創膏で固定した。適用 24 時間後、微温水で洗浄した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 3、7、10 および 14 日後に測定した。試験終了時に全例の組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 性別 | 経皮 | |
|---------------------------------------|---------|---|
| | 雄 | 雌 |
| 投与量 (mg/kg) | 0, 2000 | |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | >2000 | |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例なし | |
| 症状発現時間 および消失時期 | 中毒症状なし | |
| 毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 | |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 | |

死亡例はなく、中毒症状および体重変化には対照群との間に差異が認められなかった。剖検においても、適用部位の皮膚および胸腹腔内の各臓器に異常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日本農薬株式会社にある。

4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 T-22)

検体の純度: 40.0%水和剤

供試動物: 日本在来種白色ウサギ、12~15週齢、体重: 2.4~3.0kg、1群雄6匹

観察期間: 72時間

投与方法: 検体 0.5g を蒸留水で調製してガーゼに塗布し、前日に刈毛した背部に貼付して、被覆固定した。4時間後、適用部位を水で浸した脱脂綿で清拭した。

観察項目: 検体除去 1、24、48 および 72 時間後に適用部位の刺激性変化(紅斑、浮腫)の有無等を観察し、OECD化学品テストガイドライン(1981年)に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。
いずれの動物においても、検体によると思われる刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、イソプロチオランの 40.0%水和剤はウサギの皮膚に対して、刺激性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 動物 番号 | 項目 | 最高 評点 1) | 適用後時間 | | | |
|----------|-------|----------------|---------|----------|----------|----------|
| | | | 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 |
| 2 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合計 | 紅斑・痂皮 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 合計 | 48 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 平均 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 合計 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 |

注) 表の点数は 1 匹ごとの数値

1): 判定基準の最高評点、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 T-21)

検体の純度: 40.0%水和剤

供試動物: 日本在来種白色ウサギ、10~11週齢、体重;2.1~2.5kg、非洗眼群6匹、洗眼群6匹

観察期間: 10日間

投与方法: 検体0.1gをウサギの片側の眼に適用した。うち6匹(非洗眼群)は適用24時間後、他の3匹は適用4秒後、残りの3匹は適用30秒後に5分間洗眼した。

観察項目: 適用1、24、48、72、96時間後、6、7および10日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、OECD化学品テストガイドライン(1981年)に従って採点した。

結果: 観察した非洗眼群および洗眼群の刺激性変化の採点は、次頁(非洗眼群)および次々頁(洗眼群)の表のとおりである。

[非洗眼群]: 角膜の混濁、虹彩の充血、結膜の発赤および浮腫が全例で認められたが、これらの症状は適用10日後には消失した。また、角膜にパンヌスの形成が適用6および7日後に2例で認められた。

[洗眼群]: 角膜の混濁、結膜の発赤および浮腫が全例で認められたが、これらの症状はいずれも適用72時間後には消失した。

以上の結果から、イソプロチオランの40.0%水和剤はウサギの眼に対して刺激性を示した。洗眼により症状の軽減および回復時間の短縮が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 群 | 動物番号 | 項目 | ** 最高 評点 | 暴露後時間 | | | | | | | | |
|------------------|----------|----------|----------------|---------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|---|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 96 時間 | 6 日間 | 7 日間 | 10 日間 | |
| 非 洗 眼 群 | 1 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 3 | 2 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | |
| | | | 面積 | 4 | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 3 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 面積 | 4 | 4 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 分泌物 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 4 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| | | | 面積 | 4 | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 5 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 浮腫 | | | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 分泌物 | | | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 6 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | | |
| | | 面積 | 4 | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | | |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 0 | 0 | | |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 分泌物 | 3 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 合計 | | | 660 | 154 | 297 | 230 | 121 | 68 | 12 | 17 | 0 | |
| 平均* | | | 110* | 25.7 | 49.5 | 38.3 | 20.2 | 11.3 | 2.0 | 2.8 | 0 | |

*: Draize 法による評価点(最高 110 点)

** : 判定基準の最高評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 群 | 項目 | | ** 最高 評点 | 暴露後時間 | | | | |
|-------------------------|----------|-----|----------------|---------|----------|----------|----------|----------|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 96 時間 |
| 4 秒後 洗眼群 (3 匹平均) | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1.0 | 0.3 | 0 | 0 | 0 |
| | | 面積 | 4 | 1.0 | 0.3 | 0 | 0 | 0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2.0 | 1.3 | 1.0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1.0 | 0.3 | 0 | 0 | 0 |
| | | 分泌物 | 3 | 0.7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 平均* | | 110 | 12.3 | 3.7 | 2.0 | 0 | 0 |
| 30 秒後 洗眼群 (3 匹平均) | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1.0 | 0.7 | 0.3 | 0 | 0 |
| | | 面積 | 4 | 1.3 | 0.7 | 0.3 | 0 | 0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2.0 | 2.0 | 1.0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1.0 | 0.3 | 0 | 0 | 0 |
| | | 分泌物 | 3 | 0 | 0.3 | 0 | 0 | 0 |
| | 平均* | | 110 | 12.5 | 7.7 | 2.5 | 0.0 | 0.0 |

*: Draize 法による評価点 (最高 110 点)

** : 判定基準の最高評点

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-27)

検体の純度: 40.0%水和剤

供試動物: ハートレー系モルモット、5~6週齢、体重;330~485g、1群雄10匹、
刺激性対照群雄6匹

観察期間: 48時間

試験操作: [Maximization法の改良法]
投与量設定根拠:

感作 I ; 肩甲部を刈毛し、感作部位とした。検体は皮内注射が不可能だったため、感作 I は以下の通りに実施した。感作部位に Freund's Complete Adjuvant (FCA) を皮内注射し、この部位の皮膚に擦過傷をつけた。蒸留水で浸した検体 0.1mL を局所適用し、24 時間貼付した。この操作を計 3 回繰り返した。

感作 II ; 感作 I 終了から6日後、生理食塩水で湿した検体をパッチに塗布し、感作部位に 48 時間閉塞貼付した。なお感作 II の処理 24 時間前に感作増強剤として 10%ラウリル硫酸ナトリウムを感作部位に塗布した。

惹起 ; 感作 II の 2 週間後、側腹部を刈毛し、生理食塩水で浸した検体をパッチに塗布して 2 時間閉塞貼付した。陽性対照群として 0.1%DNCB を用い、感作 I において DNCB-FCA 懸濁液 0.1mL を 1 回皮内注射した以外は同様に処理した。またそれぞれの刺激性対照として、惹起時のみ同様に検体または陽性対照物質をパッチに塗布し、貼付した群を設けた。なお惹起に対して一部の動物が反応したことから、惹起 7 日後に同様の方法で再惹起した。

観察項目: 惹起および再惹起の閉塞貼付除去 24 および 48 時間後に、適用部位の反応の有無を肉眼的に観察し、次頁の表の基準に従い採点した。評点±以上の皮膚反応を感作性変化とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 皮膚反応 | 評点 |
|------------------|----|
| 変化なし | 0 |
| 極軽度な紅斑、融合なし | ± |
| 軽度な紅斑、しばしば融合している | 1 |
| 中等度の紅斑 | 2 |
| 重度の紅斑、浮腫を伴うこともある | 3 |

結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

| | 群 | 感作 | 惹起 | 供試動物数 | 感作反応動物数 | | | | | | 陽性率 (%) | | | | | | | |
|-----|------|-----------|-----------|-------|---------|---|---|---|---|--------|---------|---|---|---|-------|-------|-----|-----|
| | | | | | 24 時間後 | | | | | 48 時間後 | | | | | 24 時間 | 48 時間 | | |
| | | | | | 0 | ± | 1 | 2 | 3 | 計 | 0 | ± | 1 | 2 | | | 3 | 計 |
| 惹起 | 検体 | 100% 検体 | 100% 検体 | 10 | 7 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3/10 | 7 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3/10 | 30 | 30 |
| | | 溶媒 | 100% 検体 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/6 | / | | | | | 0 | / |
| | 陽性対照 | 0.1% DNCB | 0.1% DNCB | 10 | 0 | 0 | 3 | 2 | 5 | 10/10 | 0 | 0 | 1 | 2 | 7 | 10/10 | 100 | 100 |
| | | 溶媒 | 0.1% DNCB | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | / | | | | | 0 | / |
| 再惹起 | 検体 | - | 100% 検体 | 10 | 7 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3/10 | 7 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3/10 | 30 | 30 |
| | | - | 100% 検体 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | / | | | | | 0 | / |

検体は1回目惹起において、10匹中3匹が疑陽性～程度1の弱い感作性を示した。しかし1および2回目の惹起に共通して反応した動物は、1回目の惹起で程度1に判定された1匹のみであった。陽性対照群では、極度の感作性が認められた。

以上の結果から、イソプロチオランの40.0%水和剤はモルモットの皮膚に対して、軽度の感作性を示すものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(3) イソプロチオラン 36.0%粒剤

1) ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-56)

検体の純度: 36.0%粒剤

供試動物: CD(SD)系ラット、週齢;雄 8 雌 10~12、体重;雄 255~276g 雌 207~228g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 乳鉢で粉碎した検体を脱イオン水に懸濁して経口投与した。投与前 1 晩絶食させた。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 7 および 14 日後に測定した。試験終了時に肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 | 経口 |
|---------------------------|----------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 5000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雄 >5000 雌 >5000 |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例はなかった |
| 症状発現時間 および消失時期 | 投与後 0 日から発現 投与後 11 日で消失 |
| 死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg) | 5000 |

死亡は認められず、体重推移に検体投与によると思われる影響はみられなかった。主な症状として、着色便および着色尿、粗毛、脱水症状、粘着便がみられた。剖検所見に異常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日本農薬株式会社にある。

2) マウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-57)

検体の純度: 36.0%粒剤

供試動物: CD-1(ICR)系マウス、週齢;雄 5 雌 6、体重;雄 24.9~26.9g 雌 21.3~24.3、
1群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 乳鉢で粉碎した検体を脱イオン水に懸濁して経口投与した。投与前 4~5 時間絶食させた。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 7 および 14 日後に測定した。試験終了時に肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 | 経口 |
|-------------------------------|-------------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 5000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雄 >5000 雌 >5000 |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例はなかった |
| 症状発現時間 および消失時期 | 投与後 0 日から発現 投与後 14 日まで消失せず |
| 死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg) | 5000 |

死亡は認められず、体重推移に検体投与によると思われる影響はみられなかった。主な症状として、自発運動の減少および鎮静が観察された。剖検所見に異常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日本農薬株式会社にある。

3) ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 T-58)

検体の純度: 36.0%粒剤

供試動物: CD(SD)系ラット、週齢;雄 8 雌 11、体重;雄 235~255g 雌 228~262、
1 群雌雄各 5 匹

供試動物: 14 日間

投与方法: 粉碎した検体を蒸留水で湿らせて剪毛した背部皮膚(2×3 インチ)に 24 時間貼付した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 3、7、10、14 日後に測定した。試験終了時に全例について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 | 経皮 |
|-------------------------------|---------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雄 >2000 雌 >2000 |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例はなかった |
| 症状発現時間 および消失時期 | 投与後 0 日から発現 投与後 2 日に消失 |
| 死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg) | 2000 |

死亡は認められず、体重推移に検体投与によると思われる影響はみられなかった。主な症状として、眼および鼻周囲の暗色物、着色尿、眼漏が観察された。また、投与部位皮膚に紅斑がみられた。剖検所見に異常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日本農薬株式会社にある。

4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 T-60)

検体の純度: 36.0%粒剤

供試動物: ニュージーランド白色種ウサギ、8~12週齢、体重;2.35~2.60kg、1群雄6匹

観察期間: 7日間

投与方法: 乳鉢で粉碎した検体 0.5g を蒸留水で湿らせてガーゼ(1×1インチ;6.5cm²)に塗布し、剃毛した背部皮膚に適用し、半閉塞貼付した。適用時間は4時間とし、皮膚に残った検体は脱イオン水で湿らせたガーゼで拭き取った。

観察項目: 暴露終了後、24、48、72時間および7日後に適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮形成、浮腫)の有無等を観察し、Draize法に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。
暴露1時間後に、全例に紅斑(評点1あるいは2)および浮腫(評点1)が認められたが、72~7日後には全て消失した。

以上の結果から、イソプロチオラン 36.0%粒剤はウサギの皮膚に対して、軽度の刺激性があるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 動物 番号 | 項 目 | * 最高 評点 | 適 用 後 時 間 | | | | |
|-----------------|-------|---------------|---------------|----------|----------|----------|---------|
| | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 7 日間 |
| 1 | 紅斑・痂皮 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | - |
| | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | - |
| 2 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | - |
| | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | - |
| 3 | 紅斑・痂皮 | 4 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | - |
| | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | - |
| 5 | 紅斑・痂皮 | 4 | 2 | 2 | 1 | 0 | - |
| | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | - |
| 6 | 紅斑・痂皮 | 4 | 2 | 2 | 1 | 0 | - |
| | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | - |
| 合計 | 紅斑・痂皮 | 24 | 10 | 9 | 6 | 1 | 0 |
| | 浮腫 | 24 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 合計 | 48 | 16 | 9 | 6 | 1 | 0 |
| 平均 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1.7 | 1.5 | 1.0 | 0.17 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 1.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| P.I.I. (EPA) ** | | | 1.33 = 軽度の刺激性 | | | | |

*: 判定基準の最高評点

** P.I.I.: Primary Irritation Index

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 T-59)

検体の純度: 36.0%粒剤

供試動物: ニュージーランド白色種ウサギ、12週齢、体重;2.5~2.8kg、
非洗眼群雌6匹、洗眼群雌3匹

観察期間: 14日間観察

投与方法: 乳鉢で粉碎した検体0.075g(0.1mL相当)を右眼に適用し、3匹は2~3分後に洗眼した。
6匹は洗眼しなかった。

観察項目: 適用後1、24、48、72時間、4、7、10および14日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を
観察し、Draize法に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

[非洗眼群] ; 適用後1時間後、5例に角膜の混濁、虹彩の炎症、全例に結膜の発赤、浮腫および
分泌物が認められた。これらの症状は72時間~14日後に消失した。

[洗眼群] ; 適用後1時間後、全例に結膜の発赤、浮腫および分泌物が認められた。これらの
症状は48時間~7日後に消失した。

以上の結果から、イソプロチオラン36.0%粒剤はウサギの眼に対して、中等度の刺激性があるものと思
われる。洗眼によって刺激性は軽減されるものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 群 | 動物 番号 | 項目 | | ** 最高 評点 | 暴露後時間 | | | | | | |
|------------------|----------|----------|-----|----------------|---------|----------|----------|----------|---------|----------|----------|
| | | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 7 日間 | 10 日間 | 14 日間 |
| 非 洗 眼 群 | 1 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | - | - | - |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | - | - | - |
| | | 虹彩 | | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | - | - |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | - | - | - |
| | | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | - | - | - |
| | | | 分泌物 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | - | - | - |
| | 2 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 2 | 2 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | - |
| | | | 面積 | 4 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | - |
| | | 虹彩 | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | - |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | - |
| | | | 浮腫 | 4 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | - |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| | 4 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | - |
| | | | 面積 | 4 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | - | - |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | - | - |
| | | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | - | - |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - |
| 5 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | - | - | |
| | | 面積 | 4 | 4 | 3 | 2 | 2 | 0 | - | - | |
| | 虹彩 | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | - | - | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | - | - | |
| | | 浮腫 | 4 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | - | - | |
| | | 分泌物 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | - | |
| 6 | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 2 | 2 | 3 | 2 | 0 | - | - | |
| | | 面積 | 4 | 4 | 4 | 4 | 2 | 0 | - | - | |
| | 虹彩 | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | - | - | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 0 | - | - | |
| | | 浮腫 | 4 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | - | - | |
| | | 分泌物 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | - | - | |
| 合計 | | | | 660 | 225 | 225 | 193 | 129 | 11 | 4 | 0 |
| 平均* | | | | 110 | 37.50 | 37.50 | 32.17 | 21.50 | 1.83 | 0.67 | 0.00 |
| 洗眼群 (3匹平均) | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 1.3 | 1 | 0.7 | 0 | | | |
| | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 0.3 | 0 | 0 | | | |
| | | 分泌物 | 3 | 1 | 0.3 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | 平均* | | | | 110 | 10.00 | 5.33 | 2.67 | | | |

*: Draize 法による評価点(最高 110 点)

** : 判定基準の最高評点

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-61)

検体の純度: 36.0%粒剤

供試動物: Hartley系モルモット、5~6週齢、体重;雄 387~459g 雌 332~394g、
検体群;雌雄各 10 匹、対照群;雌雄各 5 匹

観察期間: 48 時間

試験方法: [Buehler 法]

投与量設定根拠;

感作; 検体を脱イオン水で湿らせた 100%検体を、前日刈毛した左側胸部に 6 時間閉塞貼付した。一方、陽性対照群は、DNCB の 0.1%アセトン/エタノール溶液 0.3mL で、同様に感作を行った。感作は 0 日、7 日、14 日目の合計 3 回、同様の手順で行った。

惹起; 最終感作の 14 日後に刈毛した右側胸部に 100%検体を 6 時間閉塞貼付した。陽性対照群は 0.1 および 0.05% DNCB 溶液で同様に惹起した。

再惹起; DNCB の惹起対照群に皮膚の一次刺激性が観察されたため、惹起の 7 日後に 0.03% DNCB 溶液で再び惹起した。検体処置群も同様に 100%濃度の検体にて再惹起を行った。

観察項目: 異常所見や死亡状況を 1 日 2 回観察した。また、感作、惹起および再惹起の前日に各動物の体重を測定した。なお、検体対照群で 1 例の死亡があったので剖検を行った。惹起 24 および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無を肉眼的に観察し、次頁の基準に従い採点した。評点 1 以上の皮膚反応を感作性反応とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 皮膚反応 | 評点 |
|-----------------|----|
| 反応なし | 0 |
| 軽度の紅斑 | ± |
| 軽度で融合性ないし中等度の紅斑 | 1 |
| 中等度で融合性の紅斑 | 2 |
| 浮腫を伴うか伴わない重度の紅斑 | 3 |
| 明らかな皮膚障害 | M3 |

結

果： 各観察時間に、感作変化が認められた動物数を次頁の表に示す。

検体処置群では、対照群を含めすべての動物が惹起後の評点で 0～±を示し、感作性の陰性を示すものであった。再惹起も同様であった。一方、惹起後および再惹起後の DNCB 処置群では、DNCB 対照群より明らかに強い皮膚反応を示した。

再惹起の対照群の動物が試験 34 日目に死亡した。この動物には検体を処置していないことから、検体の毒性に関連したものではなかった。この動物の剖検では、肺の斑点と肝の黄褐色部位が観察された。

以上の結果から、イソプロチオラン 36.0%粒剤はモルモットの皮膚に対して、感作性を示さないものと思われる。

| | 群 | | 供試動物数 | 感作反応動物数 | | | | | | | | 陽性率 (%) | | | | | | |
|-----|------|-----------|------------|---------|----|------|---|---|--------|-------|------|---------|-------|-------|---|-------|-----|-----|
| | 感作 | 惹起 | | 24 時間後 | | | | 計 | 48 時間後 | | | | 24 時間 | 48 時間 | | | | |
| | | | | 皮膚反応評点 | | | | | 皮膚反応評点 | | | | | | | | | |
| | | 0 | ± | 1 | 2 | 3/M3 | | | 0 | ± | 1 | 2 | 3/M3 | | | | | |
| 惹起 | 検体 | 100% 検体 | 100% 検体 | 20 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 溶媒 | 100% 検体 | 10 | 9 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 陽性対照 | 0.1% DNCB | 0.05% DNCB | 10 | 0 | 3 | 5 | 2 | 0 | 7/10 | 0 | 6 | 3 | 1 | 0 | 4/10 | 70 | 40 |
| | | 溶媒 | 0.05% DNCB | 10 | 0 | 9 | 1 | 0 | 0 | 1/10 | 1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 10 | 0 |
| | | 0.1% DNCB | 0.1% DNCB | 10 | 0 | 0 | 3 | 6 | 1 | 10/10 | 0 | 0 | 3 | 6 | 1 | 10/10 | 100 | 100 |
| | | 溶媒 | 0.1% DNCB | 10 | 0 | 0 | 9 | 1 | 0 | 10/10 | 0 | 7 | 3 | 0 | 0 | 3/10 | 100 | 30 |
| 再惹起 | 検体 | 100% 検体 | 100% 検体 | 20 | 18 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | 19 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0/20 | 0 | 0 |
| | | 溶媒 | 100% 検体 | 10 | 7 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0/9* | 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0/9 | 0 | 0 |
| | 陽性対照 | 0.1% DNCB | 0.03% DNCB | 10 | 0 | 4 | 4 | 1 | 1 | 6/10 | 2 | 7 | 0 | 0 | 1 | 1/10 | 60 | 10 |
| | | 溶媒 | 0.03% DNCB | 10 | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 0 | 0 |

*試験 34 日目に死亡(検体を処置していない)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(4) イソプロチオラン 12.0%粒剤

1) ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-9)

検体の純度: 12.0%粒剤

供試動物: Wistar/KY系ラット、6週齢、平均体重;雄 178.7g 雌 137.8g、1群雌雄各 10匹

観察期間: 14日間

投与方法: 乳鉢で粉碎した検体を 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁して、経口投与した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 3、7、10 および 14 日後に測定した。死亡動物は死亡発見直後、生存動物は試験終了時に全例の組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 性別 | 経口 | |
|---------------------------|----------------------------|--|
| | 雄 | 雌 |
| 投与量 (mg/kg) | 0, 5000 | 0, 3846, 5000, 6500, 8450, 10985 追加投与: 7500 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | >5000 | >5000 |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例なし | 投与後 2 日から開始 投与後 4 日に終了 |
| 症状発現時間 および消失時期 | 投与後 30 分から発現 投与後 8 日に消失 | 投与後 10 分から発現 投与後 5 日に消失 |
| 死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg) | 5000 | 3846 |

雄では死亡例が認められなかった。しかし、雌で 5000mg/kg 群に 1 匹の死亡がみられたので、7500mg/kg を追加投与すると 4 匹の死亡が認められた。中毒症状として雄では自発運動の低下、流涎および流涙が認められ、雌では 5000mg/kg 以上の群に自発運動の低下、鎮静、流涎および流涙が観察された。雌雄の全投与群において 3 日後に体重減少または増加抑制が認められたが、以後回復した。追加投与の 7500mg/kg 群雌の死亡例の培検において、全例に胃粘膜の出血が認められたが、5000mg/kg 群の雌

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

の死亡例は、死後変化のため剖検できなかった。その他の試験終了時の剖検では、胸腹腔内の各臓器に異常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日本農薬株式会社にある。

2) マウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-10)

検体の純度: 12.0%粒剤

供試動物: ICR系マウス、6週齢、平均体重;雄 32.2g 雌 25.8g、1群雌雄各 10匹

観察期間: 14日間

投与方法: 乳鉢で粉碎した検体を 0.5%CMC-Na 溶液に懸濁して経口投与した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 3、7、10 および 14 日後に測定した。試験終了時に全例について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 性別 | 経口 | |
|-------------------------------|------------------------------|---|
| | 雄 | 雌 |
| 投与量 (mg/kg) | 0, 5000 | |
| LD ₅₀ (mg/kg) | >5000 | |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例なし | |
| 症状発現時間 および消失時期 | 投与後 10 分から発現 投与後 24 時間に消失 | |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 5000 | |

中毒症状として雌雄で自発運動の低下および鎮静が観察された。死亡例はなく、体重変化には対照群との間に差異が認められなかった。剖検においても、胸腹腔内の各臓器に異常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日本農薬株式会社にある。

3) ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 T-11)

検体の純度: 12.0%粒剤

供試動物: Wistar/KY系ラット、7週齢、平均体重;雄 206.0g 雌 153.7g、1群雌雄各 10匹

観察期間: 14日間

投与方法: 乳鉢で粉碎した検体を蒸留水で湿らせた綿布(4×5cm)に塗布し、前日に剪毛した背部皮膚に適用して絆創膏で固定した。適用 24 時間後、微温水で洗浄した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与 3、7、10 および 14 日後に測定した。試験終了時には全動物について、適用部位の皮膚および胸腹腔内臓器の肉眼的病理検査を行った。

結果:

| 投与方法 性別 | 経口 | |
|--------------------------------|---------|---|
| | 雄 | 雌 |
| 投与量(mg/kg) | 0, 2000 | |
| LD ₅₀ (mg/kg) | >2000 | |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例なし | |
| 症状発現時間 および消失時期 | 中毒症状なし | |
| 毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 | |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 | |

死亡例はなく、症状および体重変化には対照群との間に差異が認められなかった。剖検においても、適用部位の皮膚及び胸腹腔内の各臓器に異常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日本農薬株式会社にある。

4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 T-20)

検体の純度: 12.0%粒剤

供試動物: 日本白色種ウサギ、体重; 2.54~2.85kg、1 群雄 6 匹

観察期間: 72 時間

投与方法: 乳鉢で粉碎した検体 0.5g を蒸留水で湿らせてガーゼ(2 x 3 cm)に塗布し、前日に剃毛した背部の右側に貼付した。4 時間後、適用部位に付着した被験物質を除去した。

観察項目: 検体除去 1、24、48 および 72 時間後に適用部位の刺激性変化(紅斑、浮腫、痂皮形成等)の有無を観察し、農林水産省ガイドライン(1985 年)に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。
いずれの動物においても検体によると思われる刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、イソプロチオラン 12.0%粒剤はウサギの皮膚に対して、刺激性を示さないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 動物 番号 | 項 目 | * 最高 評点 | 適 用 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 |
| 2 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合計 | 紅斑・痂皮 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 合計 | 48 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 平均 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 合計 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*: 判定基準の最高評点

5) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 T-19)

検体の純度: 12.0%粒剤

供試動物: 日本白色種ウサギ、体重; 2.5~2.8kg、非洗眼群雄 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間: 4 日間観察

投与方法: 乳鉢で粉碎した検体 0.1g を 9 匹のウサギの右眼に適用した。うち 6 匹(非洗眼群)は適用 24 時間後、他の 3 匹(洗眼群)は適用 2 分後に洗眼した。

観察項目: 適用後 1、24、48 および 72 時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。その後も影響が残っている動物については刺激性が消失するまで観察した。刺激性変化は農林水産省ガイドライン(1985 年)に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

[非洗眼群]: 結膜において多少の血管の充血が 5 例、びまん性の深紅色を呈する発赤が 1 例、またわずかな腫脹が 6 例全例に認められたが、これらの症状は適用 4 日後には消失した。

[洗眼群]: 結膜において多少の血管の充血が 2 例、びまん性の深紅色を呈する発赤が 1 例、またわずかな腫脹が 3 例全例に認められたが、適用 72 時間後には消失した。

以上の結果から、イソプロチオラン 12.0%粒剤はウサギの眼に対して、軽微な刺激性があるものと思われる。洗眼によっても刺激性はほとんど軽減されないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 群 | 動物 番号 | 項目 | ** 最高 評点 | 適用後時間 | | | | | |
|------------------|----------|----|----------------|---------|----------|----------|----------|---------|---|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 4 日間 | |
| 非 洗 眼 群 | 1 | 角膜 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 角膜 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 3 | 角膜 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 4 | 角膜 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 5 | 角膜 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 6 | 角膜 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 合計 | | | 78 | 11 | 13 | 6 | 1 | 0 | |
| 平均* | | | 13 | 1.8 | 2.2 | 1.0 | 0.2 | 0.0 | |
| 洗眼群 (3匹平均) | 角膜 | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1.0 | 1.3 | 1.0 | 0 | | |
| | | 浮腫 | 4 | 1.0 | 1.0 | 0.7 | 0 | | |
| | 平均* | | | 13 | 2.0 | 2.3 | 1.7 | | 0 |

*: Draize 法による平均評価点(評点の単純平均)

** : 判定基準の最高評点

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-26)

検体の純度: 12.0%粒剤

供試動物: ハートレー系モルモット、5~6週齢、体重 330~485g、
1群雄 10匹、刺激性対照群雄 6匹

観察期間: 48時間

試験方法: [Maximization法]

投与量設定根拠:

感作 I ; 肩甲骨間を刈毛し、脱イオン水および Freund's Complete Adjuvant (FCA) で調製した 5%検体懸濁液 0.1mL を皮内注射した。

感作 II ; 1週間後、生理食塩水で浸した検体をパッチに塗布し、注射部位に 48 時間閉塞貼付した。なお感作 II の処理 24 時間前に感作増強剤として、10%ラウリル硫酸ナトリウムを注射部位に塗布した。陽性対照群には、0.1%DNCB を用いて感作 I および II とも同様に処理した。

惹起 ; 感作 II の 2 週間後、側腹部を刈毛し、生理食塩水で浸した検体をパッチに塗布して 24 時間閉塞貼付した。陽性対照群には、0.1%DNCB を用いて同様に処理した。

またそれぞれの刺激性対照として、惹起時のみ同様に検体または陽性対照物質をパッチに塗布し、貼付した群を設けた。

なお惹起に対して一部の動物が反応したことから、惹起 7 日後に同様の方法で再惹起した。

観察項目: 惹起および再惹起の 24 および 48 時間後に適用部位の紅斑、浮腫の有無を肉眼的に観察し、次頁の基準に従い採点した。評点 ± 以上の皮膚反応を感作性変化とした。

| 皮膚反応 | 評点 |
|------------------|----|
| 変化なし | 0 |
| 極軽度な紅斑、融合なし | ± |
| 軽度な紅斑、しばしば融合している | 1 |
| 中等度の紅斑 | 2 |
| 重度の紅斑、浮腫を伴うこともある | 3 |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果： 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

| 群 | | 感作 | 惹起 | 供試動物数 | 感作反応動物数 | | | | | | 陽性率 (%) | | | | | | | |
|-----------|------|-----------|-----------|-------|---------|-----------|---|--------|---|-------|---------|-------|---|---|---|-------|-----|-----|
| | | | | | 24 時間後 | | | 48 時間後 | | | 24 時間 | 48 時間 | | | | | | |
| | | | | | 皮膚反応評点 | | | 皮膚反応評点 | | | | | | | | | | |
| 0 ± 1 2 3 | | | 計 | | | 0 ± 1 2 3 | | | 計 | | | | | | | | | |
| 惹起 | 検体 | 5% 検体 | 100% 検体 | 10 | 6 | 0 | 4 | 0 | 0 | 4/10 | 6 | 1 | 3 | 0 | 0 | 4/10 | 40 | 40 |
| | | 溶媒 | 100% 検体 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | / | | | | | 0 | / | |
| | 陽性対照 | 0.1% DNCB | 0.1% DNCB | 10 | 0 | 0 | 3 | 2 | 5 | 10/10 | 0 | 0 | 1 | 2 | 7 | 10/10 | 100 | 100 |
| | | 溶媒 | 0.1% DNCB | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | / | | | | | 0 | / | |
| 再惹起 | 検体 | - | 100% 検体 | 10 | 7 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3/10 | 7 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3/10 | 30 | 30 |
| | | - | 溶媒 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | / | | | | | 0 | / | |


検体は1回目惹起において、4匹が程度1の弱い感作性を示した。さらに再惹起では、1回目惹起で反応が認められた4匹中3匹に同様に弱い感作性が認められた。

以上の結果から、イソプロチオラン 12.0%粒剤はモルモットの皮膚に対して、中等度の感作性を示すものと思われる。


IX. 動植物および土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

| 資料 No. | 試験の種類 | 試験動植物等 | 試験項目・試験方法等 | 試験結果の概要 | 試験機関 (報告年) | 掲載頁 |
|------------|------------|---------------------|-------------------|---|------------|-----|
| M-6 GLP | 動物体内における代謝 | ラット雌雄 | 単回経口 5 mg/kg | <p><u>血液中濃度推移:</u> T_{max}: ♂6 時間, ♀6 時間 $T_{1/2}(T_{max}-48hr)$: ♂1.36 日、♀1.28 日 $T_{1/2}(48-168hr)$: ♂5.27 日、♀4.47 日 C_{max}: ♂2.120 $\mu\text{g eq./mL}$ ♀2.149 $\mu\text{g eq./mL}$ AUC: ♂137.60 hr $\mu\text{g eq./mL}$ ♀131.09 hr $\mu\text{g eq./mL}$</p> <p><u>体内分布 (168 時間、$\mu\text{g eq./g}$):</u> 肝: ♂1.780、♀1.526 腎: ♂0.663、♀0.593 皮膚: ♂1.164、♀0.635 毛: ♂2.380、♀0.311 骨: ♂0.921、♀0.965</p> <p><u>代謝(72 時間):</u> 尿: 糞: A(♂4.79%、♀6.42%)</p> <p><u>排泄 (168 時間):</u> 尿: ♂34.27%、♀23.71% 糞: ♂13.11%、♀23.09% 呼気: ♂31.40%、♀30.41%</p> | | 294 |
| | | ^{14}C 標識体 | 単回経口 500 mg/kg | <p><u>血液中濃度推移:</u> T_{max}: ♂12 時間, ♀12 時間 $T_{1/2}(T_{max}-48hr)$: ♂1.47 日、♀1.64 日 $T_{1/2}(48-168hr)$: ♂4.17 日、♀3.24 日 C_{max}: ♂133.1 $\mu\text{g eq./mL}$ ♀161.3 $\mu\text{g eq./mL}$ AUC: ♂8356.0 hr $\mu\text{g eq./mL}$ ♀10940.0 hr $\mu\text{g eq./mL}$</p> <p><u>体内分布 (168 時間、$\mu\text{g eq./g}$):</u> 肝: ♂114.2、♀128.5 腎: ♂44.2、♀41.5 皮膚: ♂56.8、♀35.4 毛: ♂121.6、♀14.1 骨: ♂55.3、♀58.2</p> <p><u>代謝(72 時間):</u> 尿: 糞: A(♂0.09%、♀0.06%)</p> <p><u>排泄 (168 時間):</u> 尿: ♂53.29%、♀45.67% 糞: ♂6.63%、♀10.28% 呼気: ♂29.22%、♀33.36%</p> | | |


 : 食品安全委員会農薬専門調査会で評価済の資料

| 資料 No. | 試験の種類 | 試験動植物等 | 試験項目・試験方法等 | 試験結果の概要 | 試験機関 (報告年) | 掲載頁 |
|----------------|------------|--|---|---|------------|-----|
| M-1-1 [参考1] | 動物体内における代謝 | ラット雌雄 マウス雄 ¹⁴ C 標識体 | 単回経口 ラット 50mg/kg マウス 4.7, 50mg/kg | <p>血液中濃度推移(ラット):</p> <p>T_{max}: ♂4 時間, ♀8 時間 T_{1/2}: 24~32 時間 C_{max}: ♂3.30 µg eq./mL ♀3.95 µg eq./mL</p> <p>血液中濃度推移(マウス):</p> <p>T_{max}: 4.7mg 群: 0.5 時間 50mg 群: 2 時間 T_{1/2}: 数時間 C_{max}: 4.7mg 群: 3.69 µg eq./mL 50mg 群: 37.2 µg eq./mL</p> <p>体内残留(ラット、5 日、µg eq./g):</p> <p>脳: ♂0.22, ♀1.10 肝: ♂1.32, ♀0.37 脂肪: ♂1.64, ♀1.28 皮膚: ♂0.73, ♀2.00 骨: ♂1.57, ♀1.24</p> <p>体内残留(マウス、50mg/kg、8 日、µg eq./g):</p> <p>肝: ♂3.75, ♀5.39</p> <p>排泄(ラット、50mg/kg、96 時間):</p> <p>尿: ♂57.3%, ♀53.6% 糞: ♂10.5%, ♀10.8% 呼気: ♂25.1%, ♀25.3%</p> <p>排泄(マウス、50mg/kg、72 時間):</p> <p>尿: ♂66.7%, ♀57.3% 糞: ♂10.4%, ♀12.2% 呼気: ♂20.5%, ♀14.0%</p> | | 309 |
| M-1-2 [参考2] | 動物体内における代謝 | マウス雄 ¹⁴ C 標識体 | 単回経口 17.6mg/kg 全身オートラジオ グラフィ | <p>体内濃度の推移:</p> <p>4 時間後:</p> <p>肝: 10.3 µg eq./mL 腎: 6.88 µg eq./mL</p> <p>72 時間後:</p> <p>肝: 1.30 µg eq./mL 腎: 1.31 µg eq./mL</p> | | 315 |
| M-1-3 [参考3] | 動物体内における代謝 | マウス雄 ¹⁴ C 標識体 | 単回経口 50mg/kg | 代謝(24 時間、投与量に対する割合%): 尿: A, | | 317 |
| M-1-4 [参考4] | 動物体内における代謝 | ラット雄 原体 | 10 日間 反復経口 50,200,800ppm 1 年間 反復経口 100,1000ppm | 体内蓄積性は認められない | | 321 |

 : 食品安全委員会農薬専門調査会で評価済の資料


本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

| 資料 No. | 試験の種類 | 試験動植物等 | 試験項目・試験方法等 | 試験結果の概要 | 試験機関 (報告年) | 掲載頁 |
|--------------|------------|------------------------------|----------------------------|--|------------|-----|
| M-2-2 GLP | 植物体内における代謝 | 水稻 ¹⁴ C 標識体 | 散布処理 60g a.i./10a 相当 | <p>総残留放射(28日後):</p> <p>玄米; 0.20 µg eq./g 籾殻; 4.05 µg eq./g 茎葉; 1.36 µg eq./g 根; 0.02 µg eq./g</p> <p>代謝物(28日後):</p> <p>玄米; A: 0.06 µg eq./g 籾殻; A: 2.50 µg eq./g</p> <p>茎葉; A: 0.36 µg eq./g</p> <p>根; A: <0.01µg eq./g</p> | | 324 |
| M-2-3 GLP | 植物体内における代謝 | ひめりんご ¹⁴ C 標識体 | 土壌処理 360g a.i./樹 相当 | <p>総残留放射(61日後):</p> <p>果実; <0.01 µg eq./g 葉; 0.36 µg eq./g</p> <p>葉中代謝物(61日後):</p> | | 329 |
| M-2-4 | 植物体内における代謝 | ひめりんご ¹⁴ C 標識体 | 果実、葉への 塗布処理 | <p>代謝物(14日後):</p> <p>果実; A: 0.20 µg eq./g</p> <p>葉; A: 2.09 µg eq./g</p> | | 332 |

 : 食品安全委員会農業専門調査会で評価済の資料


本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 資料 No. | 試験の種類 | 試験動植物等 | 試験項目・試験方法等 | 試験結果の概要 | 試験機関 (報告年) | 掲載頁 |
|---------------|------------|------------------------------------|--|--|------------|-----|
| M-2-5 GLP | 植物体内における代謝 | ばれいしょ ¹⁴ C 標識体 | 土壌処理 22.6mg/個体 720g a.i./10a 相当 | 総残留放射(31日後): 塊茎: 0.15 µg eq./g 葉: 2.72 µg eq./g 茎: 0.72 µg eq./g 代謝物(31日後): 塊茎: A: 0.02 µg eq./g 葉: A: 1.18 µg eq./g 茎: A: 0.30 µg eq./g | | 336 |
| M-2-1 【参考】 | 植物体内における代謝 | イネ ¹⁴ C 標識体 | 水面処理 500g a.i./10a 水耕液処理 2, 20ppm | 水面処理により、放射能は葉身に最も高く、次いで葉鞘、穂、稈、根の順に分布した。 | | 341 |
| M-4-4 GLP | 土壌中運命 | 好氣的 湛水状態 ¹⁴ C 標識体 | 添加 6 mg/kg 600g a.i./10a 相当 | 土壌中濃度: DT ₅₀ (25°C); 326 日 土壌中代謝物(180日後): 揮発性代謝物(180日後): CO ₂ 0.6% 非抽出性放射能(180日後): 31.8% | | 349 |
| M-4-5 GLP | 土壌中運命 | 好氣的状態 ¹⁴ C 標識体 | 添加 5mg a.i./kg 土壌 混和処理相当 | 土壌中濃度: DT ₅₀ (25°C); 82 日 土壌中代謝物(180日後): D(2.4%), E(0.3%) 揮発性代謝物(180日後): CO ₂ 10.9% 非抽出性放射能(180日後): 38.0% | | 353 |
| 省略 | 土壌中運命 | 嫌氣的状態 | | | | 357 |
| M-4-1 【参考】 | 土壌中運命 | 洪積土 (水田) ¹⁴ C 標識体 | 水面処理 400g a.i./10a | 土壌中濃度(1年3ヶ月後): A: 1.4 ppm | | 358 |

 : 食品安全委員会農薬専門調査会で評価済の資料

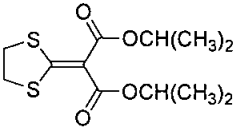
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 資料 No. | 試験の種類 | 試験動植物等 | 試験項目・試験方法等 | 試験結果の概要 | 試験機関 (報告年) | 掲載頁 |
|----------------|---------|-----------------------------------|---|---|------------|-----|
| M-4-2 [参考2] | 土壤中運命 | 洪積土 (水田、畑) 12%粒剤 原体 | 水面処理 (水田) 3, 4kg/10a 土壌処理(畑) 10kg/10a | 水田圃場(290日後): A: 2.4 ppm D: 0.4 ppm 畑地圃場(1年9ヶ月後): A: 6.9~12.5 ppm D: 1.4~2.0 ppm 水田圃場において6年間の連用による蓄積性は認められない | | 360 |
| M-4-3 [参考3] | 土壤中運命 | 微生物 ¹⁴ C 標識体 | 水溶液 | 微生物分解(10日間振とう培養): IおよびJが認められた | | 362 |
| (省略) | 加水分解運命 | | | | | 364 |
| M-5 GLP | 水中光分解運命 | 蒸留水 自然水 ¹⁴ C 標識体 | 24.25 mg/L 光強度 322.02 MJ/m ² (300-800 nm) | 被験物質の明らかな減衰は認められなかった。 | | 365 |
| M-4-3 [参考1] | 水中光分解運命 | 光 ¹⁴ C 標識体 | 水溶液 | 光分解(太陽光、2ppm): 半減期: 4日 | | 368 |
| M-7 | 土壌吸着 | 純品 | 濃度 0.232~5.96ppm 25°C | K' oc=196~2300、K=3.44~28.3 | | 369 |
| M-4-3 [参考1] | 土壌吸着 | 埴壤土 12%粒剤 | 土壌溶脱 | イソプロチオランは下方への土壌移行性が認められたが顕著ではなかった。 | | 371 |

 : 食品安全委員会農薬専門調査会で評価済の資料

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

| 記号 | 由来 | 名称(略称) | 化学名 | 構造式 |
|----|------|----------|-------------------------------|---|
| A | 親化合物 | イソプロチオラン | ジイソプロピル 1,3-ジオチラン-2-イリデンマロネート |  |