

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

8) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験

8-1) ピラクロストロピンのラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 24)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度:

試験動物: Wistar 系 (Chbb=THOM (SPF)) ラット, 1 群雄 25 匹, 雌 25 匹, 投与開始時 5 週齢

投与期間: F0 世代: 投与開始から F1 児離乳後の剖検までの約 23 週間

F1 世代: 離乳時から F2 児離乳後の剖検までの約 22 週間

(動物試験期間, 6 月 3 日 ~ 3 月 10 日)

投与方法: 検体を 0, 25, 75 及び 300ppm の濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。尚, 対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与用量設定根拠:

試験方法及び試験項目: 概要を 155 頁の表にまとめた。

親動物:

一般状態及び死亡:

全動物の一般状態と死亡の有無を試験期間中毎日観察した。死亡動物は、発見後できるだけ早く剖検して所見を記録した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

体 重 :

雌雄とも試験開始時と交配前期間中の毎週及び剖検時に測定した。雌については更に妊娠0日、7日、14日、20日と哺育1日、4日、7日、14日、21日、また離乳時から剖検までの期間中も週1回測定した。

体重増加量 :

雄は体重測定の間隔ならびに投与開始時から終了時まで(F0:0~21週, F1:0~20週), 雌は交配前, 妊娠, 哺育及び離乳後の期間中における体重測定の間隔ならびに妊娠0~20日と哺育0~21日について求めた。

摂 餌 量 :

雌雄とも交配前期間中の毎週, 更に雌は妊娠0~7日, 7~14日, 14~20日, 0~20日及び哺育1~4日, 4~7日, 7~14日, 1~14日について算出した。

検体摂取量 :

雌雄とも交配前期間中に, また雌は妊娠及び哺育期間中について, 体重, 摂餌量及び飼料中の設定検体濃度から1日当り, 体重1kg当りの検体摂取量(mg/kg/日)を算出した。

試験の概要

世代	期間(週)	作業手順	試験項目
F0	生育(10)	一般状態及び死亡の有無の観察(投与期間中毎日) 体重及び摂餌量測定(投与期間中原則として毎週)	一般状態, 死亡 体重, 体重増加量, 摂餌量, 検体摂取量 性周期
	交配(1)	性周期観察(交配前少なくとも3週間及び交尾の確認まで)	交尾率
	妊娠(3)	雌雄1対1で1晩同居交配, 翌朝腔垢中の精子で交尾を確認(妊娠0日)	授精率, 妊娠率
	出産 哺育(3)	出産状況の観察(哺育0日) 出産児の生死, 性, 外表所見, 生存(哺育0, 4, 7, 14, 21日)の観察, 体重測定(哺育1, 4, 7, 14, 21日), 死亡児の剖検	出産率, 妊娠期間 児の一般状態, 死亡, 産児数, 生存児出産率, 性 比, 生存率, 体重, 体重増加量, 剖検所見,
F1	離乳	同腹児数調整(哺育4日, 原則として雌雄各4匹) 選抜されなかった哺育4日齢児の剖検 哺育21日 F1親動物の選抜(各腹各性1匹または2匹を選抜) 選抜されなかったF1離乳児の剖検 F0親動物の精子検査, 剖検, 臓器重量測定, 病理組織学的検査(卵胞と黄体の計数を含む)	哺育率 剖検所見, 臓器重量 精子の数, 運動率及び 形態, 着床数, 着床後 胚死亡率, 剖検所見, 臓器重量, 病理組織学的 所見(卵胞数, 黄体数) 性成熟
	生育(10) 交配(2) 妊娠(3)	性成熟(雄, 包皮分離; 雌, 腔開口)の観察 (兄妹交配は避けた)	(F0親動物及びF1児動物に準ずる)
	出産 哺育(3)	(F0親動物及びF1児動物に準ずる)	
離乳			
F2			

交配及び妊娠の確認:

雌を同群の雄と1対1で一晩同居させて交配を行なった。F1動物については、兄妹交配を避けた。同居の翌朝、腔垢中の精子の有無を調べ、精子を認めた場合に交尾が成立したものと判断した。妊娠は、分娩によって、また剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べることによって確認した。

繁殖性に関する指標:

生育、交配、妊娠及び哺育の各期間と剖検時に以下の指標について調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

性成熟：雄の包皮分離と雌の陰開口の日齢(F1動物についてのみ)

性周期：交配前に少なくとも3週間及び交尾が確認されるまで性周期を観察し、
性周期の平均日数を算出

交尾成立までの期間：雌雄を同居後、雌の陰垢中に精子が確認されるまでの日数

交尾率(%) = (交尾を認めた雄(雌)数 / 交配に用いた雄(雌)数) x 100

授精率(%) = (雌を妊娠させた雄数 / 交配に用いた雄数) x 100

精子：運動率(自動性を示す精子の百分率)、形態(正常及び異常形態精子の百分率)及び数(精巣及び精巣上体尾部における精子頭部の数)(形態と数は対照群と高用量群のみ)

妊娠率(%) = (妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数) x 100

出産率(%) = (生存児を出産した雌数 / 妊娠雌数) x 100

妊娠期間：交尾を認めた日(妊娠0日)から分娩完了日(哺育0日)までの日数

着床数：子宮内の着床痕の数

類別卵胞数及び黄体数：対照群と高用量群のF0及びF1雌親動物について、卵巣の連続組織切片を顕微鏡で観察し、原始卵胞、発育卵胞、原始卵胞と発育卵胞の合計、グラフ卵胞及び黄体を計数した。

病理学的検査：

剖検所見：すべてのF0及びF1親動物の外表面及び内臓・組織の肉眼による病理学的変化を記録した。

臓器重量：最終剖検時まで生存したすべてのF0及びF1親動物の脳、下垂体、胸腺、肝臓、脾臓、副腎、腎臓、卵巣、子宮(頸部と卵管を含む)、精巣、精巣上体(全体及び尾部)、精のう(凝固腺と分泌物を含む)及び前立腺の重量を測定した。又、対体重比を算出した。

病理組織学的所見：対照群と高用量群のすべてのF0及びF1親動物ならびに低用量群と中間用量群における児の得られなかった雌雄の生殖器官(卵巣、卵管、子宮、子宮頸、陰または左精巣、左精巣上体、精のう、凝固腺、前立腺)と下垂体、胸腺、肝臓、副腎及び腎臓(全群のF0及びF1親動物)、更に死亡動物の肉眼的異常部位について、それぞれ病理組織学的変化を記録した。

児動物：

一般状態及び死亡：

全動物の一般状態と死亡の有無を哺育期間中毎日観察した。死亡児は、発見後速やかに剖検して所見を記録した。

着床後胚死亡率(%) = (着床数 - 産児数) / 着床数 x 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

産 児 数 :

出産日(哺育0日)における生存児と死亡児の合計

平均産児数 = 総産児数 / 出産母動物数

生存児出産率(%) = (出産時生存児数 / 産児数) x 100

性 比 :

哺育0日と21日における生存児に対する雄または雌の割合(%)

生 存 率 (%) = (哺育4日の哺育児数調整前の生存児数 / 哺育0日の生存児数) x 100

哺 育 率 (%) = (哺育21日の生存児数 / 哺育4日の哺育児数調整後の生存児数) x 100

体 重 :

哺育1日, 4日(数調整前), 7日, 14日及び21日に個体別に測定して雌雄ごとの平均体重を求めた。各腹の雌雄ごとの平均体重を基にして, 各群の雌雄ごとの平均体重を求めた。

体重増加量 :

哺育1~4日, 4~7日, 7~14日, 14~21日及び4~21日について, 雌雄ごとの平均体重増加量を求めた。各腹の雌雄ごとの値を基にして, 各群の雌雄ごとの平均体重増加量を求めた。

剖検所見 :

すべてのF1及びF2児動物の外表及び内臓・組織の肉眼による病理学的変化を記録した。異常所見のある児動物については, 更にWilson法(Wilson, J.G. and Warkany, J., 1965)に従って詳細に検査した。

臓器重量 :

離乳後の剖検時まで生存したF1及びF2児動物の中から, 各腹雌雄それぞれ1または2匹を選抜して脳, 胸腺及び脾臓の重量を測定した。又対体重比(哺育21日の体重に対する比)を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結 果 :

概要を以下の表に示す。

世 代			親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)			0	25	75	300	0	25	75	300	
動 物 数	雄		25	25	25	25	25	25	25	25	
	雌		25	25	25	25	25	25	25	25	
死亡数	雄		0	0	0	0	0	0	0	0	
	雌		0	0	0	1 ¹⁾	0	0	0	0	
一 般 状 態			検体投与に起因する異常は認められなかった								
体 重 (g)	雄	生育時*									
		10 週	416.8	421.1	424.9	402.9	412.4	410.1	↑439.6	↓388.4	
	21(20)週	487.3	505.1	501.4	474.1	499.6	501.4	↑540.7	482.2		
	雌	生育第10週	263.1	263.9	265.0	252.3	250.1	259.9	262.0	246.5	
	妊娠第20日目	396.6	395.8	391.0	↓378.4	381.5	384.6	378.7	373.6		
	哺育第21日目	325.2	321.3	324.5	310.8	322.4	322.6	321.8	315.2		
体 重 増 加 (g)	雄	生育時 ^a	357.7	376.3	372.6	345.3	413.9	409.0	↑451.1	404.1	
	雌	生育時 ^a	144.6	145.0	147.1	134.1	169.2	174.2	179.5	173.1	
		妊娠時	130.6	132.1	125.0	125.9	128.6	122.2	115.0	125.3	
	哺育時	24.3	20.7	21.0	24.1	23.8	20.1	27.7	27.0		
親動物 摂 餌 量 (g)	雄	生育時 ^b	26.0	26.5	26.6	25.3	26.6	26.8	27.9	25.4	
		0-1 週	22.9			↓21.9	19.4			↓17.2	
		1-2 週					23.8			↓22.3	
		2-3 週	27.2			↓26.0	26.7		↑28.1	↓25.2	
		3-4 週	27.1			↓25.8					
		4-5 週					29.0		↑30.9	28.2	
		5-6 週					28.6		↑30.3	27.7	
		6-7 週					27.9		↑29.6	27.4	
		7-8 週	25.9		↑27.2	26.3	27.1		↑28.6	26.1	
		8-9 週					26.9		↑28.4	26.0	
	9-10 週					27.2		↑28.8	26.6		
	雌	生育時 ^b	19.9	19.9	20.0	18.8	20.2	20.6	20.5	19.1	
		0-1 週	19.1			↓17.6	17.0			↓15.4	
		5-6 週	19.9			↓18.8	20.4			↓19.1	
6-7 週						21.0			↓19.7		
7-8 週		20.8			↓19.3						
8-9 週		20.5			↓19.3	21.6			↓20.3		
	9-10 週	20.4			↓18.8	21.5			↓20.4		
	妊娠時 ^c	25.3	25.6	26.0	24.5	25.9	25.8	25.7	24.6		
	7-14 日					26.4			↓24.5		
	14-20 日					27.7			↓26.1		
	哺育時 ^d	46.3	45.6	45.0	45.9	45.2	45.5	42.5	44.5		

*: 生育時 () 内は F1 の週

¹⁾ 哺育第1日に死亡

^a 雄: F0は試験0~21週、F1は試験0~20週、雌: 試験0~10週の体重増加

^b 試験0~10週の平均

^c 妊娠0~20日の平均

^d 哺育1~14日の平均

矢印のない値は有意差なし。なお、空欄には有意差は認められなかった。

Dunnett 検定: 体重, 体重増加, 摂餌量の各時点(週), ↑↓: P≤0.05, ↑↓: P≤0.01

(摂餌量の生育時、妊娠時及び哺育時それぞれの全期間中を通しての平均については統計処理を行っていない。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結 果(続き) :

世 代			親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2					
投与量 (ppm)			0	25	75	300	0	25	75	300		
親 動 物	検 体 摂 取 量 (mg/kg/ 日)	雄	生育時 0-10w	—	2.5	7.4	29.0	—	2.8	8.6	35.0	
		雌	生育時 0-10w	—	2.6	7.8	30.4	—	3.0	9.0	36.0	
			妊娠時 0-20日	—	2.2	6.7	26.3	—	2.2	6.6	26.7	
			哺育時 0-14日	—	3.7	10.8	45.9	—	3.7	10.5	45.3	
	剖 検 所 見			検体投与に起因する異常は認められなかった								
	剖検時体重 (g)		雄	468.6	482.1	475.9	452.1	470.3	471.5	↑510.3	453.2	
			雌	281.2	278.5	282.8	↓266.6	283.8	285.2	284.5	↓268.7	
	臓 器 重 量 a	脳	雄	A (g)	2.121	2.123	2.096	2.069	2.110	2.092	2.149	2.078
				R (%)	0.454	0.443	0.442	0.460	0.452	0.446	↓0.424	0.461
			雌	A (g)	1.975	1.972	1.973	1.961	1.974	2.008	1.984	1.976
				R (%)	0.704	0.713	0.701	0.739	0.698	0.706	0.699	↑0.737
		下 垂 体	雄	A (mg)	12.24	12.08	12.48	14.12	11.36	11.32	12.28	11.56
R (%)				0.003	0.003	0.003	0.003	0.002	0.002	0.002	0.003	
雌			A (mg)	15.48	15.28	14.958	14.542	14.88	14.80	15.60	15.80	
			R (%)	0.006	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	↑0.006	
胸 腺	雄	A (mg)	205.3	224.8	202.8	213.6	245.8	255.2	263.9	236.1		
		R (%)	0.044	0.047	0.043	0.047	0.052	0.054	0.052	0.052		
	雌	A (mg)	251.3	236.8	241.2	250.3	234.9	232.1	230.5	234.0		
		R (%)	0.089	0.085	0.085	0.094	0.083	0.082	0.081	0.087		

a: A, 絶対重量; R, 相対重量(体重比); 平均値

Kruskal-Wallis H検定及びWilcoxon検定: 臓器重量, 剖検時体重

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結 果(続き) :

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2						
投与量 (ppm)		0	25	75	300	0	25	75	300			
親 動物	臓器重量 ^a	肝	雄	A (g)	15.12	15.49	14.93	15.03	14.84	14.76	↑16.09	14.54
				R (%)	3.222	3.212	3.133	3.319	3.156	3.128	3.151	3.207
			雌	A (g)	8.676	8.509	8.616	8.266	8.908	8.812	8.880	8.554
				R (%)	3.090	3.059	3.047	3.102	3.137	3.092	3.120	3.186
		脾	雄	A (g)	0.883	0.912	0.882	0.835	0.886	0.912	0.924	0.837
				R (%)	0.189	0.190	0.186	0.185	0.189	0.193	0.181	0.184
			雌	A (g)	0.660	0.641	0.612	0.658	0.593	0.642	0.618	0.656
				R (%)	0.235	0.231	0.217	0.247	0.209	0.226	0.217	↑0.244
	腎	雄	A (g)	3.097	2.996	2.966	3.154	2.905	2.938	3.075	2.99	
			R (%)	0.662	↓0.623	↓0.624	↑0.699	0.618	0.625	0.604	↑0.661	
		雌	A (g)	1.948	1.959	1.966	1.942	1.965	2.007	2.007	1.983	
			R (%)	0.694	0.706	0.696	0.729	0.693	0.704	0.706	↑0.739	
	副腎	雄	A (mg)	74.08	↑81.48	79.20	72.96	77.84	75.92	78.80	74.64	
			R (%)	0.016	0.017	0.017	0.016	0.017	0.016	0.016	0.016	
		雌	A (mg)	110.5	109.8	109.6	104.5	99.2	102.5	104.2	95.3	
			R (%)	0.039	0.040	0.039	0.039	0.035	0.036	0.037	0.036	

a: A, 絶対重量; R, 相対重量(体重比); 平均値

Kruskal-Wallis H検定及びWilcoxon検定: 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差あり.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結 果(続き) :

世 代			親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)			0	25	75	300	0	25	75	300	
親 動物	精巢	雄	A (g)	3.895	3.911	3.859	3.809	3.822	3.978	3.984	3.867
			R (%)	0.834	0.818	0.814	0.847	0.816	0.845	0.785	0.858
	精巢上体	雄	A (g)	1.383	1.374	1.357	1.358	1.319	1.333	1.364	1.358
			R (%)	0.296	0.287	0.286	0.302	0.282	0.283	↓0.269	↑0.301
	精巢上体尾部	雄	A (g)	0.574	0.574	0.570	0.568	0.533	0.535	0.533	0.552
			R (%)	0.123	0.120	0.120	0.126	0.114	0.114	↓0.105	0.123
	精のう	雄	A (g)	1.423	1.306	1.329	1.345	1.207	1.218	1.230	1.249
			R (%)	0.305	↓0.272	0.280	0.298	0.258	0.259	0.243	0.277
	前立腺	雄	A (g)	1.228	1.286	1.355	1.355	1.158	1.183	1.196	1.223
			R (%)	0.263	0.269	0.286	0.301	0.248	0.252	0.237	0.271
	卵巢	雌	A (mg)	136.6	↓122.6	↓111.6	↓120.3	123.7	126.6	122.00	117.9
			R (%)	0.049	0.044	↓0.040	0.045	0.043	0.044	0.043	0.044
	子宮	雌	A (g)	0.846	0.827	0.844	0.847	0.827	0.910	0.850	0.865
			R (%)	0.302	0.299	0.300	0.317	0.294	0.320	0.298	0.324
原始卵胞 ^b			105	—	—	123	102	—	—	105	
発育卵胞 ^b			45	—	—	50	55	—	—	52	
原始卵胞+ 発育卵胞 ^b			150	—	—	173	157	—	—	157	
グループ卵胞 ^b			2.9	—	—	2.8	2.3	—	—	2.8	
黄 体 ^b			41	—	—	40	37	—	—	37	
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								

a: A, 絶対重量; R, 相対重量(体重比); 平均値, b: 平均数

Kruskal-Wallis H検定及びWilcoxon検定: 臓器重量

Wilcoxon検定: 卵胞及び黄体数

Fisherの直接確率計算法: 病理組織学的所見

↑↓: P≤0.05, ↑↓: P≤0.01で対照群と比較して統計的に有意差あり。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結 果(続き) :

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	25	75	300	0	25	75	300	
親動物	繁殖能力									
	雄	包皮分離 (日齢) ^a	—	—	—	—	43.8	43.4	43.6	43.7
		交尾率	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25
		授精率	25/25	25/25	24/25	25/25	25/25	24/25	24/25	25/25
		精子数 (x10 ⁶) ^{a,b}	105	—	—	108	98	—	—	97
			472	—	—	485	660	—	—	667
		精子運動率 (%) ^a	90	89	90	89	92	89	90	92
		正常形態精子 (%) ^a	98.2	—	—	98.6	98.5	—	—	98.8
	異常形態精子 (%) ^a	1.8	—	—	1.4	1.5	—	—	1.2	
	雌	腔開口 (日齢) ^a	—	—	—	—	31.7	32.1	32.4	↑33.3
		性周期 (日数) ^a	4.0	4.1	4.0	4.0	4.2	4.1	4.0	4.0
		交尾成立までの日数 ^a	2.8	↓2.0	↓2.2	2.5	1.9	2.0	2.0	↑2.8
		交尾率	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25
		妊娠率	25/25	25/25	24/25	25/25	25/25	24/25	24/25	25/25
		出産率	25/25	25/25	24/24	25/25	25/25	23/24	23/24	25/25
		妊娠期間 (日) ^a	21.9	22.0	21.9	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0
		着床数 ^a	16.7	16.2	↓14.5	↓14.4	14.5	14.3	13.8	15.4
		着床後胚死亡率 (%) ^a	13.3	12.6	15.6	9.1	10.1	13.9	14.3	9.0

a: 平均値

b: 上段は精巣 1 g 当りの総精子細胞数, 下段は精巣上体尾部 1 g 当りの総精子数

Dunnett 検定: 包皮分離, 腔開口, 性周期, 交尾成立までの日数, 妊娠期間, 着床数, 着床後胚死亡率

Fisher の直接確率計算法: 交尾率, 授精率, 妊娠率, 出産率

Wilcoxon 検定: 精子数, 精子運動率, 正常形態精子, 異常形態精子

↑↓: P ≤ 0.05, ↑↓: P ≤ 0.01 で対照群と比較して統計学的に有意差あり。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結 果(続き) :

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	25	75	300	0	25	75	300	
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 ^a	14.5	14.0	12.5	13.1	13.1	13.0	12.5	14.0	
	生存児出産率 (%)	98	96	98	98	98	99	99	99	
	性 比 (%) (雄/生存児数)									
	哺 育 0 日	49.7	47.9	51.9	54.7	49.4	49.8	46.6	53.2	
	哺 育 21 日	48.9	48.6	50.3	51.9	49.2	50.0	50.3	50.3	
	生 存 率 (%)	93	↓87	100	93	97	98	95	96	
	哺 育 率 (%)	96	100	99	99	100	100	↓94	99	
	体 重 (g) ^a									
	雄	哺 育 1 日	6.6	6.5	6.7	6.8	6.6	6.6	6.7	6.5
		哺 育 4 日 (数調整前)	9.5	9.4	9.7	9.7	9.5	9.5	9.3	8.9
		哺 育 7 日	15.2	15.0	15.5	14.9	15.2	14.9	14.7	↓13.5
		哺 育 14 日	31.6	32.5	32.1	30.2	31.6	31.4	31.1	↓28.6
		哺 育 21 日	52.8	53.7	52.8	↓47.4	52.0	52.6	51.4	↓45.0
	雌	哺 育 1 日	6.2	6.2	6.5	6.4	6.2	6.3	6.2	6.2
哺 育 4 日 (数調整前)		8.9	9.0	9.4	9.2	9.0	9.1	8.7	8.5	
哺 育 7 日		14.7	14.5	15.0	14.3	14.5	14.6	14.2	↓13.1	
哺 育 14 日		31.5	31.5	31.1	↓29.3	30.7	30.7	30.7	↓28.0	
哺 育 21 日		51.4	51.3	50.3	↓45.2	49.8	50.2	48.9	↓43.5	

a: 平均値

Dunnnett 検定: 産児数, 体重

Fisher の直接確率計算法: 一般状態, 生存児出産率, 性比, 生存率, 離乳率

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結 果(続き) :

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	25	75	300	0	25	75	300	
児動物	体重増加量 (g) ^a									
	雄	哺 育 1~4日	2.8	2.9	3.0	2.9	2.9	2.9	2.6	2.4
		哺 育 4~7日	5.6	5.6	5.7	5.2	5.6	5.5	5.3	↓4.7
		哺 育 7~14日	16.4	17.5	16.7	15.3	16.4	16.5	16.4	↓15.1
		哺 育 14~21日	21.2	21.3	20.7	↓17.2	20.4	21.2	20.2	↓16.3
		哺 育 4~21日	43.3	44.4	43.1	↓37.7	42.6	43.1	42.0	↓36.1
	雌	哺 育 1~4日	2.7	2.7	2.9	2.8	2.8	2.8	2.6	2.4
		哺 育 4~7日	5.6	5.5	5.5	↓5.0	5.4	5.4	5.2	↓4.5
		哺 育 7~14日	16.8	16.9	16.1	↓15.0	16.1	16.1	16.6	↓14.9
		哺 育 14~21日	19.8	19.8	19.2	↓16.0	19.1	19.6	18.1	↓15.4
哺 育 4~21日		42.3	42.3	40.9	↓36.0	40.8	41.1	40.0	↓34.9	

a: 平均値

Dunnett 検定 : 体重増加量

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

結 果(続き) :

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2						
投与量 (ppm)		0	25	75	300	0	25	75	300			
児動物	臓器重量 ^a	脳	雄	A (g)	1.495	1.505	1.485	1.469	1.501	1.492	1.478	↓1.444
			R (%)	2.725	2.793	↑2.846	↑3.136	2.876	2.842	2.884	↑3.200	
			雌	A (g)	1.435	1.444	1.461	1.420	1.451	1.440	1.425	↓1.389
			R (%)	2.846	2.875	2.869	↑3.142	2.920	2.850	2.911	↑3.258	
		胸腺	雄	A (g)	0.192	0.184	↓0.172	↓0.157	0.174	0.177	0.171	↓0.143
			R (%)	0.346	0.340	0.327	0.332	0.332	0.333	0.331	0.314	
			雌	A (g)	0.193	0.179	0.182	↓0.160	0.176	0.180	0.174	↓0.150
			R (%)	0.378	0.354	0.355	0.352	0.352	0.355	0.354	0.348	
	脾臓	雄	A (g)	0.259	0.257	0.248	↓0.211	0.234	0.243	0.237	0.203	
		R (%)	0.464	0.471	0.469	0.445	0.442	0.454	0.458	0.447		
		雌	A (g)	0.241	0.239	0.243	↓0.210	0.229	0.238	0.229	↓0.183	
		R (%)	0.470	0.470	0.471	0.459	0.457	0.467	0.465	0.425		
	剖検所見 ^b											
	傾きのある切歯		0.3	0.5	1.7↑	2.1	1.0	1.4	1.3	1.9		

a: A, 絶対重量; R, 相対重量(体重比); 平均値±標準偏差

b: 腹当りの所見児動物の発生頻度(%); 平均値±標準偏差

Kruskal-Wallis 検定及び Wilcoxon 検定: 臓器重量

Wilcoxon 検定: 剖検所見

↑↓: P ≤ 0.05, ↑↓: P ≤ 0.01 で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

親動物

300ppm群雄において、F0は生育初期(投与1, 3および4週)に有意な摂餌量の低値が認められ、その後も対照群より低値が継続してみられたが生育期間を通じて体重および体重増加量に有意差は認められなかった。F1もF0と同様に摂餌量の低値が認められたが、体重は離乳時の低体重を反映してほぼ一貫して有意な低値が認められた。

300ppm群雌において、F0の摂餌量は一貫して対照群より低値で、生育初期(投与1週)を含む多くの時期で有意な低値が生育時に認められた。投与1週を含む生育初期においては体重に有意な差はなく、投与1週の体重増加量にごく軽微な抑制が認められたのみで、偶発的なものと考えられた。生育期間を通じた体重増加量、および生育期間を通じた体重には有意差は認められなかったが、一貫して低体重で、対照群との差は経時的に大きくなる傾向に

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

あった。妊娠及び哺育期間とも摂餌量に有意差は認められなかったが、体重は生育時の低体重を反映して、対照群との初期の体重差がそのまま持続していた。F1の生育時の摂餌量は一貫して対照群より低値で、多くの時期で有意な低値が認められた。体重には離乳時の低体重を反映して、生育初期の2週間のみ有意差が認められたが、その後有意差は認められなかった。妊娠2及び3週目に有意な摂餌量の低値が認められた。体重は生育時の低値を反映して、対照群との初期の体重差がそのまま持続していた。哺育時の摂餌量及び体重に有意差はなかったが、出産直後の低体重を反映して、その体重差がそのまま持続していた。300ppm群雌雄とも生育時の摂餌量の減少傾向を伴い、体重の低値が認められることから、生育時の体重は投与による影響と考えられる。しかし、妊娠時及び哺育時には生育時あるいは出産時の低体重がそのまま持続しており、体重は対照群と同様の傾向で増加していることから投与の影響はないものと判断される。

75ppm群ではF0雌雄及びF1雌は摂餌量及び体重ともに生育時から哺育まで対照群と差は認められなかったが、F1雄のみ摂餌量の有意な増加を伴い体重及び体重増加も有意に増加した。しかし、この体重増加には用量に依存した変化がみられなかった。又、F1雌の体重増加は妊娠7～14日に75及び300ppm群ともに有意に低かったが、妊娠期間中の体重には有意差がないこと、1週間ごとの体重増加には一貫した変化も、用量に依存した変化も認められていないことから、これらの変化はいずれも検体の毒性影響とは考えなかった。

25ppm群では対照群との差は全く認められなかった。

臓器重量は、300ppm群においてF1雌の脳、下垂体、脾臓、腎臓(F0及びF1雄も)及びF1雄の精巣上体の相対重量に統計学的に有意な高値が認められた。これら相対重量の変化は、絶対重量に有意差もなく、剖検時体重の有意な低値のためと考えられた。F0雌の25、75及び300ppm群において、卵巣の絶対重量に統計学的に有意な低値がみられ、75ppm群では相対重量も有意な低下を示した。しかし、これらには用量相関性がないこと、F1雌には同様の変化が認められないことより、被検物質投与によるものではなく、毒性学的に意味のない変化であると考えられた。その他、25及び75ppm群で認められた臓器重量(絶対または相対重量)の統計学的に有意な変化は300ppm群では変化がみられなかったり、F0世代だけでの変化であってF1世代では変化がないことから、いずれも毒性学的または生物学的には意味のない偶発的なものと考えられた。

肉眼的及び病理組織学的所見には検体投与に起因する特記すべき異常は認められなかった。

F0及びF1親動物の繁殖能力に関して、殆どの雌雄で妊性が確認された。精子の数、運動率及び形態、性周期、交尾行動、受胎、妊娠、出産及び哺育並びに卵胞数及び黄体数に検体投与群と対照群間に差は認められなかった。

300ppm群のF1雌の腔開口に遅延がみられたが、体重低下の結果であり、身体発育における一般的な遅滞のためと考えられた。交尾成立までの日数は、25及び75ppm群のF0動物(それぞれ2.0及び2.2)で統計学的に有意に短く、300ppm群のF1動物(2.8)で有意に長かった。しかし、対照群(F0: 2.8, F1: 1.9)との差はわずかで、また背景対照データの範囲内(1.8～3.3)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

にあることから、これらの変化は本試験に用いたラットの系統本来の正常な生物学的変動範囲を反映していて、検体投与との関連は考えられなかった。75ppm群と300ppm群のF0雌の平均着床数に軽微ながら統計学的に有意な低値がみられた(それぞれ14.5及び14.4)。しかし着床数は変動が大きく、文献に発表されているデータ(11.4~18.8, Hood R.D., 1997)の範囲内にあった。又、F1雌では平均着床数及び着床後胚死亡データには影響がみられていないこと、さらに、母動物当りの平均F1出産児数に投与の影響がないことから、F0雌の平均着床数の低値は偶発的であると考えられる。

児動物

300ppm群のF1及びF2児雌雄の平均体重及び体重増加量に統計学的に有意な低値がみられ、離乳時点では対照群よりF1児で約10~15%、F2児で約13~15%と有意に減少しており、検体の影響と考えられた。この群においてF1及びF2児の胸腺、脾臓及び脳の絶対重量が有意に減少し、脳の相対重量が有意に増加した。これら臓器重量への影響は、児動物の体重減少と関連していた。75ppm群で雄のF1児に相対脳重量の有意な高値と絶対胸腺重量の有意な低値が、また傾きのある切歯を示すF1児の腹当りの発生率に有意な高値がみられた。しかし、これらの変化はこの群のF2児ではみられていないことから、毒性学的には意味のない偶発的なものと考えられた。又、この群におけるF2児の哺育率(94%)は統計学的に有意に低かったが、300ppm群(99%)では有意差がないこと、背景対照データの範囲(93~99%)内にあることから、この変化も偶発的なものと考えられた。このように、児動物への影響は親動物にも毒性を示す300ppmの用量でのみ認められ、25及び75ppm群では、検体投与によると考えられる発生毒性のいかなる兆候も誘発されなかった。

以上のように、2世代にわたってラットに混餌投与した場合、300ppm投与群でF0及びF1親動物において、特に生育時に摂餌量、体重及び体重増加の減少が認められた。繁殖能力に関しては、いずれの世代においても最高投与量まで検体投与による影響は認められなかった。F1及びF2児動物に体重低下及び体重増加の減少が認められ、低体重に起因する臓器の絶対重量の低値、相対重量の増加、あるいは膈開口の遅延がみられた。

従って、無毒性量は親及び児動物に対して75ppm(F0:雄7.4mg/kg体重/日、雌7.8mg/kg体重/日; F1:8.6mg/kg体重/日、雌9.0mg/kg体重/日)と判断される。繁殖については最高投与量の300ppm(F0:雄29.0mg/kg体重/日、雌30.4mg/kg体重/日; F1:35.0mg/kg体重/日、雌36.0mg/kg体重/日)でも影響がなかった。

申請者注) 単回経口投与等により生じる可能性のある毒性影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

8-2) ピラクロストロビンのラットを用いた催奇形性試験

(資料 25)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度:

試験動物: Wistar 系ラット [Chbb:THOM(SPF)], 1 群当り雌 25 匹
妊娠 0 日; 11~12 週齢, 平均体重 218 g

試験期間: 23 日間(6 月 30 日~ 7 月 22 日)

投与方法: 検体を 0.5% Tylose CB 30.000(再蒸留水中)に懸濁し, 0, 10, 25 及び 50 mg/kg/日の投与量で, 妊娠 6~19 日まで(着床から出産予定日の 1 日前まで)の 14 日間毎日 1 回ほぼ同時刻に, 10mL/kg 体重の容量で強制経口投与した(腔垢中に精子を確認した日を妊娠 0 日とした)。なお, 対照群の動物には媒体のみを同様に投与した。

投与量の選定理由

試験項目:

母動物:

一般状態, 妊娠状態及び生死を毎日観察し, 体重は妊娠 0, 1, 3, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 19 及び 20 日に, 摂餌量は妊娠 0 日を除き体重測定日と同日に測定した。妊娠 20 日に帝王切開して, 妊娠子宮重量を測定し, 黄体数, 着床数, 生存及び死亡・吸収胎児数及び胎盤重量を記録した。

胎児:

性別を判定し, 体重を測定し, 外表異常の観察を行った。

各腹の約半数の胎児について内臓異常を, 残りの胎児については骨格標本を作製して骨格異常の有無について検査した。

試験結果: 概要を「表 1. 母動物」及び「表 2. 胎児」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BASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

母動物

50mg/kg群において、妊娠20日の平均体重は対照群より有意に低く(約5%)、体重増加も全投与期間(妊娠6~19日)を通して有意に減少し(対照群より16%低い)、多くの時期で摂餌量の有意な減少(対照群より約11%)を伴っていた。妊娠子宮重量に有意差はなく、カーカス重量及び補正体重増加も有意に低く(それぞれ対照群より6%及び45%低い)、投与に関連した明らかな母体毒性を示していた。

25mg/kg群でも、50mg/kg群より軽度であるが同様な母体毒性がみられた。すなわち、対照群に比し摂餌量は妊娠6~13日に有意に減少し、全投与期間では有意ではないが約7%少なかった。補正体重増加は明らかに対照群より低かった(約22%低い)。後期胚吸収数(率)に有意な高値が認められたが、50mg/kg群で認められないことから偶発的と考えられた。

10mg/kg群では、検体投与に起因する母体毒性は何ら認められなかった。

胎児

外表、内臓及び骨格奇形ともに散発的で、対照群と投与群の間に有意な差はなかった。

内臓変異として、50及び10mg/kg群において、腎盂拡張及び/または尿管拡張の発生率がそれぞれ有意に高く、その結果、これらの群における内臓変異を有する胎児数/腹数及び腹当たり内臓変異を有する胎児の平均発生率が有意に高くなった。妊娠18~20日におけるラット胎児の腎臓の正常発生には、これら腎盂及び尿管の拡張のような一過性の変動がみられる(Woo及びHoar, 1972)こと、又、これらの投与群における発生率は次表のように背景データの範囲内にあり、本試験の対照群が背景データの発生率より低かった。これらのことから、これらの変化が検体投与に関連しているとは考えられなかった。

申請者注) これらの内臓変異は検体投与の影響ではないとも考えられるが、用量相関的に増加傾向がみられることから検体投与による影響が疑われる。

内臓変異の背景データとの比較

所見	対照群	50ppm	背景データ
内臓変異を有する胎児			
胎児総数に対する発生率	8	31	16.8(9.4~28.8)
腹の発生率	6	15↑	56.2(30.4~79.2)
腹あたり変異を有する胎児の発生率	5.0	19.0↑	17.4(8.9~29.8)
腎盂拡張を有する胎児			
胎児総数に対する発生率	8	31	16.7(8.8~28.8)
腹の発生率	6	15↑	55.9(30.4~79.2)
腹あたり変異を有する胎児の発生率	5.0	19.0↑	17.4(8.3~29.8)
尿管拡張を有する胎児			
胎児総数に対する発生率	0	5	2.4(0.6~6.7)
腹の発生率	0	3	11.3(4.0~25.0)
腹あたり変異を有する胎児の発生率	0.0	3.0↑	2.5(0.5~6.2)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

骨格変異として、10mg/kg群で軟骨には変化のない胸骨分節過剰骨化部と短小第13肋骨、50mg/kg群で軟骨には変化のない胸骨分節骨化不全と軟骨のない頸肋の発生率ならびに腹当り骨格変異を有する胎児の平均発生率にそれぞれ有意な高値がみられた。しかし、これらの変化は用量との明瞭な関連がなく、背景データの範囲内(次表参照)にあることから、偶発的なものと考えられる。

出現頻度と背景対照との対比

変異	腹当りの当該胎児の平均百分率(%)		
	対照群	投与群	背景データ
50mg/kg群：軟骨には変化のない胸骨分節の骨化不全	17.9	32.7	0.0~33.9
10mg/kg群：軟骨には変化のない過剰胸骨分節骨化部	0.0	1.7	0.0~2.1
50mg/kg群：軟骨のない頸肋	1.1	4.4	0.5~26.4
10mg/kg群：軟骨のない短小第13肋骨	10.7	22.8	3.0~26.4

外表、内臓及び骨格の全変異についてみた場合、腹当りの全変異を有する胎児の平均発生率にすべての投与群で統計学的に有意な高値がみられたが、いずれも背景データ(範囲0.0~65.3%、平均47.3%)の範囲内にあることから、本試験の対照群の値(44.9%)が通常より低かったことによる偶発的なものと考えられた。

以上の結果より、本剤をラットの妊娠6~19日に投与したとき、母動物に対し25mg/kg体重/日以上では摂餌量の低下を伴う体重増加の抑制が認められる。胎児動物に対し内臓変異(腎盂拡張)及び骨格変異(軟骨のない頸肋)を有する胎児の発生率の増加傾向がみられるが、いずれも背景データの範囲内にあるので検体投与の影響はないと判断されている。しかし、申請者は胎児の変異の発生率の増加傾向がみられることから、検体投与の影響が疑われるので、無毒性量(NOEL)は母動物に対し10mg/kg体重/日、胎児動物に対し10mg/kg体重/日以下と考える。しかし、催奇形性は試験した最高用量の50mg/kg体重/日でもないものと判断される。

申請者注) 単回経口投与等により生じる可能性のある毒性影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

表 1. 母動物

投与量 (mg/kg/日)	対 照 (0)	10	25	50	
1 群当り雌動物数	25	25	25	25	
死亡雌動物数	0	0	0	0	
一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった				
体 重	—	有意差なし	有意差なし	妊娠 20 日に 有意に減少	
体重増加 ^a (g)					
妊娠 0~6 日	30.7±5.47	29.5±6.58	28.7±3.65	31.9±6.94	
妊娠 6~8 日	8.1±3.02	7.5±4.23	6.3±3.49	2.2±3.36↓	
妊娠 6~19 日	103.7±9.74	107.1±11.32	96.0±13.81	87.6±22.33↓	
妊娠 19~20 日	16.3±3.80	16.8±3.72	13.3±4.69	12.7±6.12↓	
妊娠 0~20 日	150.7±14.26	153.3±14.56	137.9±19.30	132.2±28.59↓	
摂 餌 量 ^a (g)					
妊娠 0~6 日	21.9±2.25	21.4±2.38	21.3±2.38	22.0±2.19	
妊娠 6~8 日	24.6±1.92	23.6±1.74	21.2±1.89↓	17.9±2.32↓	
妊娠 10~13 日	25.2±2.07	25.6±1.61	23.4±2.22↓	23.4±2.69↓	
妊娠 13~15 日	27.1±2.08	26.2±2.70	24.9±3.57	23.4±4.32↓	
妊娠 15~17 日	28.1±2.31	27.2±2.83	26.6±2.34	26.0±2.76↓	
妊娠 6~19 日	26.3±1.86	26.1±1.91	24.5±2.29	23.3±3.06	
妊娠 19~20 日	26.2±2.97	26.1±2.58	24.8±3.31	23.3±4.42↓	
妊娠 0~20 日	25.0±2.76	24.7±2.90	23.6±2.59	22.9±2.58	
剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった				
妊娠子宮重量 ^a (g)	79.4±12.47	83.0±13.45	77.4±17.01	78.0±20.16	
補正体重増加 ^a	40.7±9.30	40.9±10.61	31.9±7.43↓	22.3±11.85↓	
カークス重量 ^a	289.7±18.94	289.8±17.22	277.1±17.11	272.2±19.16↓	
妊娠雌動物数 (%)	22/25 (88)	20/25 (80)	21/25 (84)	25/25 (100)	
着床所見	黄体数 ^a	15.8±1.47	16.1±1.76	16.1±1.34	15.8±2.55
	着床数 ^a	14.9±2.42	15.8±2.79	14.9±3.35	14.5±3.72
	着床前胚損失率 (%) ^b	6.5	3.0	7.5	9.4
	着床後胚損失率 (%) ^b	6.2	7.4	9.3	5.7
	総胚吸収数 (%) ^b	1.0 (6.2)	1.2 (7.4)	1.4 (9.3)	0.8 (5.7)
	早期胚吸収数 (%) ^b	1.0 (6.2)	1.2 (7.4)	1.2 (7.9)	0.8 (5.7)
	後期胚吸収数 (%) ^b	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.2↑ (1.4↑)	0.0 (0.0)
	死亡胎児数	0	0	0	0
	全胚吸収の腹数	0	0	0	0
生存胎児の腹数	22	20	21	25	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

表 2. 胎 児

投与量 (mg/kg/日)	対 照 (0)	10	25	50
生存胎児のある腹数	22	20	21	25
生存胎児数^a				
雄雌合計	13.9±2.24	14.6±2.72	13.5±3.20	13.7±3.81
雄	7.4±2.30	6.8±2.01	6.4±2.20	7.2±2.99
雌	6.5±1.63	7.7±2.62	7.0±2.56	6.5±2.60
性 比 (%)				
雄	53.3	47.1	47.7	52.5
雌	46.7	52.9	52.3	47.5
体 重^a (g)				
雄	3.8±0.17	3.8±0.20	3.8±0.27	3.8±0.26
雌	3.6±0.20	3.6±0.15	3.7±0.24	3.6±0.16
胎盤重量 ^a (g)	0.45±0.041	0.46±0.044	0.48±0.049	0.48±0.085
検査胎児(腹)数	306 (22)	291 (20)	283 (21)	343 (25)
外表奇形				
胎児数(腹数)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	2 (2)
腹当り平均発生率 (%)	0.3	0.4	0.0	4.3
外表変異				
胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腹当り平均発生率 (%)	0.0	0.0	0.0	4.0
検査胎児(腹)数	148 (22)	140 (20)	136 (21)	165 (24)
内臓奇形				
胎児数(腹数)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腹当り平均発生率 (%)	1.3	0.0	0.0	0.5
内臓変異				
胎児数(腹数)	8 (6)	18 (12↑)	21 (9)	31 (15↑)
腹当り平均発生率 (%)	5.0	12.1↑	17.9	19.0↑
腎盂拡張				
胎児数(腹数)	8 (6)	16 (10)	20 (9)	31 (15↑)
腹当り平均発生率 (%)	5.0	10.6	17.1	19.0↑
尿管拡張				
胎児数(腹数)	0 (0)	4 (4↑)	1 (1)	5 (3)
腹当り平均発生率 (%)	0.0	2.7↑	0.6	3.0↑
検査胎児(腹)数	158 (22)	151 (20)	147 (21)	178 (25)
骨格奇形				
胎児数(腹数)	4 (3)	2 (2)	0 (0)	4 (3)
腹当り平均発生率 (%)	2.8	1.3	0.0	2.2
骨格変異				
胎児数(腹数)	129 (22)	135 (20)	121 (21)	162 (25)
腹当り平均発生率 (%)	82.0	89.4	81.4	90.8↑

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

(つづき)

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	10	25	50
<u>検査胎児(腹)数</u>	158 (22)	151 (20)	147 (21)	178 (24)
<u>骨格変異</u>				
胸骨分節骨化不全				
胎児数(腹数)	29 (15)	39 (14)	43 (16)	61 (22)
腹当り平均発生率 (%)	17.9	24.4	28.5	32.7↑
過剰胸骨分節骨化部				
胎児数(腹数)	0 (0)	3 (3)	1 (1)	0 (0)
腹当り平均発生率 (%)	0.0	1.7↑	0.6	0.0
短小第 13 肋骨				
胎児数(腹数)	17 (8)	36 (12)	13 (7)	29 (11)
腹当り平均発生率 (%)	10.7	22.8↑	9.0	15.2
軟骨のない頸肋				
胎児数(腹数)	1 (1)	2 (2)	2 (2)	9 (8↑)
腹当り平均発生率 (%)	1.1	1.2	1.3	4.4↑
<u>全奇形</u>				
胎児数(腹数)	6 (4)	2 (2)	0 (0)	6 (5)
腹当り平均発生率 (%)	2.1	0.7	0.0	5.4
<u>全変異</u>				
胎児数(腹数)	137 (22)	153 (20)	142 (21)	193 (25)
腹当り平均発生率 (%)	44.9	52.2↑	51.0↑	57.9↑

▪ 平均±標準偏差

♯ 平均

↑↓↑↓: $p \leq 0.05$ (↑↓), $p \leq 0.01$ (↑↓) で対照群と比較して統計学的に有意差あり

Dunnett 検定: 体重, 体重増加, 摂餌量, 補正体重増加, カーカス重量, 妊娠子宮重量, 黄体数, 着床数, 着床前(後)胚損失率, 胚吸収数(率), 生存胎児数, 胎児体重, 胎盤重量

Fisher の直接確率計算法: 母動物の死亡率, 妊娠率, 胎児所見のある腹数

Wilcoxon 検定: 腹当りの奇形及び(または)変異胎児の発生率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin
(資料 26)

8-3) ピラクロストロピンのウサギを用いた催奇形性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体純度：

試験動物：Himalayan ウサギ[Chbb:HM(異系交配)]， 1群当り雌 25匹
妊娠 0日：24～29週齢， 平均体重 2657g

試験期間：39日間(1月5日～ 2月12日)

投与方法：検体を 0.5% Tylose CB 30.000(再蒸留水中)に懸濁し， 0, 5, 10 及び 20mg/kg/日の投与レベルで， 妊娠 7日から 28日まで(着床から出産予定日の 1日前まで)の 22日間毎日 1回ほぼ同時刻に， 10mL/kg 体重の容量で強制経口投与した(人工授精を行った日を妊娠 0日とした)。なお， 対照群の動物には媒体のみを同様に投与した。

投与量の設定根拠：

試験項目：

母動物：

一般状態， 妊娠状態及び生死を毎日観察し， 体重は妊娠 0, 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16, 19, 21, 23, 25, 28 及び 29日に， 摂餌量は毎日測定した。妊娠 29日に帝王切開して， 妊娠子宮重量を測定し， 黄体数， 着床数， 生存及び死亡・吸収胎児数及び胎盤重量を記録した。

胎児：

性別を判定し， 体重を測定し， 外表異常の観察を行った。
全胎児の内臓異常(頭部は約半数の胎児)について検査し， さらに骨格標本を作製して骨格異常の有無について検査した。

試験結果：概要を「表 1. 母動物」及び「表 2. 胎児」に示す。

母動物

20mg/kg群において4匹の床敷に血液が投与期間中数日観察された(これらの内3匹では早期吸収胚のみであった)。

脱糞量の減少が10匹の妊娠10~14日観察され、これは摂餌量の有意な減少を伴っていた。

投与期間中の平均体重及び体重増加量は対照群より有意に低く、妊娠29日で体重は対照群より7%、体重増加量は対照群より77%低かった。この低下の主因は母体毒性に起因する早期吸収胚の増加を伴う妊娠子宮重量の低下(対照群より41%低下)と考えられた。

3匹で全胚吸収が、7匹では50%以上の早期胚吸収がみられ、着床後胚損失率は有意に増加し、腹あたり生存胎児数の低下をきたした。

10mg/kg群において、20mg/kg群より軽度であるが同様な母体毒性がみられた。脱糞量の減少(1匹)、床敷の血液(2匹)、投与初期(妊娠7~12日)の摂餌量の減少、投与期間中の体重増加量の低下(対照群より39%低下)、統計学的に有意ではないが早期吸収胚のわずかな増加を伴い妊娠子宮重量の低下(対照群より23%低下)が認められた。2匹に全胚吸収があったため、総胚吸収率が軽度に増加し、着床後胚損失率がやや増加したが有意差は認められなかった。

5mg/kg群では、妊娠7~9日の摂餌量及び体重増加量、妊娠16~18日の摂餌量が対照群に比し有意に低下したが、一過性であった。それ以外の期間は対照群と同様に推移し、試験期間中あるいは投与期間中の体重増加量及び摂餌量に有意な差がみられないことから、生物学的変動を反映した偶発的なもので、検体投与による影響とは考えられなかった。

着床所見に検体投与の影響は認められなかった。

申請者注) 以上の変化のうち、10 mg/kg群以上で認められた早期胚吸収ならびに総胚吸収の増加は、単回経口投与によっても起こり得るものと考えられる。

5 mg/kg群以上で認められた妊娠7~8日の摂餌量の減少、ならびに妊娠7~9日の体重増加抑制が単回経口投

与によって起こり得る可能性は否定できないが、少なくとも5 mg/kgについては、本試験と同様の条件で実施したウサギ催奇形性試験(母毒性追加検討)においてNOAELとして担保できており、本試験でも毒性学的意義のない程度の変化と判断できる。

胎児動物

生存胎児数の低下が20mg/kg群でのみみられた。いずれの投与群とも性比、体重及び胎盤重量には検体投与の影響は認められなかった。

10mg/kg群において、中隔欠損を有する胎児数及び腹当たり平均発生率、並びに内臓

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

奇形を有する胎児(腹)数及び腹当たり平均発生率に有意な高値がみられたが、20mg/kg群では対照群と有意な差がないことから偶発的発生と考えられた。

これ以外の個別所見において特記すべき外表、内臓及び骨格異常は認められなかった。

個別の奇形を見た場合、検体投与の影響と考えられるものはみられなかった。しかし、腹あたり骨格奇形を有する胎児及び奇形胎児(全奇形)を見た場合、統計学的有意差はないが、用量関連性のある増加がみられ、20mg/kg群では背景データを若干越えていた(背景データとの比較は次表に示す)。これは、この群におけるきわめて強い母体毒性に起因する早期吸収胚の増加を伴う妊娠子宮重量の低下(対照群より41%低下)及び高い着床後胚損失率に起因する生存胎児数の減少の結果と判断され、真の生物学的影響とは考えられなかった。

奇形を有する胎児の発生率の背景データとの比較

試験群 (mg/kg)	検査胎児数	検査腹数	奇形胎児数(%)		奇形を有する 腹数(%)		奇形胎児 発生率/腹
			数	率	数	率	
本試験	対照	166	7	4.2	7	29	4.3
	5	145	5	3.4	5	21	2.7
	10	123	9	7.3	7	35	8.6
	20	107	10	9.3	8	36	12.6
背景データ*	92~121	14~20	4~10	0.0~8.8	0~7	0~41	0.0~10.0

*背景データ： 実施した7試験の奇形発生率の範囲を示した。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギの妊娠7~28日に投与したときの母動物に対して、10mg/kg/日以上では摂餌量の減少を伴う体重の低下及び妊娠子宮重量の低下が認められることから、無毒性量(NOEL)は親及び胎児ともに5mg/kg/日、催奇形性は20mg/kg/日でもない判断している。

申請者注) 単回経口投与等により生じる可能性のある毒性影響は、雌雄10 mg/kg/日以上で認められた妊娠7~8日の摂餌量の減少、妊娠7~9日の体重増加抑制、早期胚吸収および総胚吸収の増加であり、無毒性量は雌雄5 mg/kg/日であると判断した。

表 1. 母動物

投与量 (mg/kg/日)	対 照 (0)	5	10	20	
1 群当り雌動物数	25	25	25	25	
死亡雌動物数	1 (投与中の 事故死)	1 (投与開始前 の事故死)	1 (投与の誤りに よる事故死)	0	
<u>一般状態</u>					
床敷の血液	0	0	2	4	
糞量の減少	0	0	1	10	
体 重	—	有意差なし	有意差なし	妊娠 9~29 日 に有意に減少	
<u>体重増加</u> * (g)					
妊娠 0~7 日	32.4±49.05	46.0±41.46	47.2±36.88	52.3±44.23	
妊娠 7~9 日	-3.8±24.63	-43.8±33.34↓	-85.5±61.59↓	-146.3±51.49↓	
妊娠 11~14 日	23.4±21.09	15.7±31.11	25.8±25.44	46.8±47.02↑	
妊娠 7~28 日	191.5±87.37	131.7±96.76	116.0±82.83↓	44.1±116.55↓	
妊娠 0~29 日	249.3±113.73	206.2±117.98	185.7±120.24	115.0±139.54↓	
<u>摂餌量</u> * (g)					
妊娠 0~7 日	117.1±5.03	113.6±4.88	118.3±2.67	117.6±3.68	
妊娠 7~8 日	98.1±25.22	35.7±21.09↓	20.4±15.05↓	10.5±5.87↓	
妊娠 8~9 日	101.6±29.21	65.5±19.43↓	37.3±23.04↓	11.2±12.60↓	
妊娠 9~10 日	96.9±32.01	83.6±14.08	57.7±26.01↓	19.1±20.35↓	
妊娠 10~11 日	96.4±31.07	90.4±12.80	74.8±18.60↓	35.1±26.45↓	
妊娠 11~12 日	96.9±25.00	86.6±16.00	79.6±19.87↓	48.6±26.29↓	
妊娠 12~13 日	94.8±24.20	87.4±18.22	83.3±14.69	62.7±24.63↓	
妊娠 13~14 日	90.9±25.51	84.0±21.28	87.6±14.17	73.2±22.13↓	
妊娠 16~17 日	92.6±24.15	77.7±21.23↓	83.3±20.25	81.5±18.45	
妊娠 17~18 日	93.8±23.25	79.5±19.48↓	82.4±19.72	80.8±18.50	
妊娠 7~28 日	89.8±6.31	78.2±11.02	77.5±17.59	67.6±26.06	
妊娠 0~29 日	96.2±13.41	87.1±18.07	87.6±23.14	80.3±30.93	
剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった				
妊娠子宮重量 * (g)	352.6±72.92	302.6±103.11	271.±110.11↓	209.±129.60↓	
補正体重増加 *	-135.7±62.92	-142.4±85.77	-132.9±84.46	-146.8±84.20	
カーカス重量 *	2607.9±196.75	2504.2±169.62	2579.5±225.99	2538.5±187.78	
妊娠雌動物数 (%)	24/25 (96)	24/24 (100)	23/25 (92)	25/25 (100)	
着床 所見	黄体数 *	8.0±1.63	7.9±2.21	7.8±1.51	7.7±1.57
	着床数 *	7.4±1.35	6.6±2.28	6.9±1.72	7.0±1.70
	着床前胚損失率 (%) ^b	7.0	15.7	10.6	10.1
	着床後胚損失率 (%) ^b	6.2	10.2	17.8	38.6↑
	総胚吸収数 (%) ^b	0.5 (6.2)	0.6 (10.2)	1.3 (17.8)	2.7↑ (38.6↑)
	早期胚吸収数 (%) ^b	0.4 (5.5)	0.5 (9.6)	1.2 (15.9)	2.6↑ (37.6↑)
	後期胚吸収数 (%) ^b	0.04 (0.7)	0.04 (0.6)	0.14 (1.9)	0.08 (1.0)
	死亡胎児数	0	0	0	0
	全胚吸収の腹数	0	0	2	3
	生存胎児の腹数	24	24	20	22

表 2. 胎 児

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	5	10	20
生存胎児のある腹数	24	24	20	22
生存胎児数 ^a				
雄雌合計	6.9±1.50	6.0±2.33	6.2±1.79	4.9±2.57↓
雄	3.5±1.50	3.2±1.82	3.3±1.94	2.5±1.90
雌	3.5±1.64	2.8±1.52	2.9±1.29	2.3±1.62↓
性 比 (%)				
雄	50.0	53.1	52.8	52.3
雌	50.0	46.9	47.2	47.7
体 重 ^a (g)				
雄	37.0±3.04	37.7±3.89	35.7±4.37	34.2±4.27
雌	37.0±3.42	36.4±3.27	35.0±3.58	35.7±4.35
胎盤重量 ^a (g)	4.5±0.58	4.3±0.61	4.1±0.51	4.2±0.61
検査胎児(腹)数	166 (24)	145 (24)	123 (20)	107 (22)
外表奇形				
胎児数(腹数)	1 (1)	1 (1)	2 (2)	0 (0)
腹当り平均発生率 (%)	0.8	0.6	2.9	0.0
外表変異				
胎児数(腹数)	1 (1)	1 (1)	2 (2)	0 (0)
腹当り平均発生率 (%)	0.5	0.5	2.9	0.0
内臓奇形				
胎児数(腹数)	1 (1)	3 (3)	6 (6↑)	1 (1)
腹当り平均発生率 (%)	0.4	1.6	6.1↑	0.6
中隔欠損				
胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	3 (3)	0 (0)
腹当り平均発生率 (%)	0.0	0.5	3.6↑	0.0
内臓変異				
胎児数(腹数)	19 (14)	4 (4)	12 (7)	7 (7)
腹当り平均発生率 (%)	11.5	2.5	10.3	9.9
骨格奇形				
胎児数(腹数)	6 (6)	4 (4)	5 (4)	9 (7)
腹当り平均発生率 (%)	3.8	2.2	5.3	12.1
骨格変異				
胎児数(腹数)	107 (24)	90 (23)	82 (20)	71 (21)
腹当り平均発生率 (%)	65.7	63.1	62.4	67.8
全 奇 形				
胎児数(腹数)	7 (7)	5 (5)	9 (7)	10 (8)
腹当り平均発生率 (%)	4.3	2.7	8.6	12.6
全 変 異				
胎児数(腹数)	111 (24)	92 (23)	86 (20)	74 (21)
腹当り平均発生率 (%)	68.2	64.1	66.7	71.1

^a 平均±標準偏差

^b 平 均

↑↓↑↓: p≤0.05 (↑↓), p≤0.01 (↑↓)で対照群と比較して統計学的に有意差あり

Dunnett 検定:

体重, 体重増加, 摂餌量, 補正体重増加, カーカス重量, 妊娠子宮重量, 黄体数, 着床数, 着床前(後)胚損失率, 胚吸収数(率), 生存胎児数, 胎児体重, 胎盤重量

Fisher の直接確率計算法: 母動物の死亡率, 妊娠率, 胎児所見のある腹数,

Wilcoxon 検定:

腹当りの奇形及び(または)変異胎児の発生率

8-4) ピラクロストロビンのウサギを用いた催奇形性試験 (母動物毒性追加検討試験)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

(資料 45)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度:

供試動物: Himalayan種ウサギ (Chbb:HM), 1群25匹, 妊娠0日時21~27週齢,
平均体重約2570g

試験期間: 39日間 (10月8日~ 11月16日)

投与方法: 検体を検体を0.5% Tylose CB 30,000(再蒸留水中)に懸濁し, 0, 1, 3, 5 mg/kg/
日の用量で妊娠7日*)から妊娠28日までの22日間, 毎日1回強制経口投与した. 投
与液量は10 mL/kgとした. なお, 対照群には, 溶媒(0.5% Tylose)のみを同様に投
与した. 投与液は投与開始日に調製し, その後は1~4日の間隔で調製した.

*) : 人工授精日を妊娠0日として起算した.

投与量設定根拠:

観察・検査項目:

母動物: 一般状態および生死を毎日観察し, 摂餌量を毎日測定した. 体重は妊娠0, 2, 4, 7,
9, 11, 14, 16, 19, 21, 23, 25, 28 および29日に測定した. また, 最終体重から
妊娠子宮重量と妊娠7日の体重を差し引いた実質体重変化を算出した. 妊娠29日に
母動物を屠殺して, 肉眼的病理検査を行い, 子宮および卵巣を摘出して, 妊娠子宮重
量, 黄体数, 着床位置と着床数, 生存胎児数, 早期・後期吸収胚数および死亡胎児数
を検査した.

生存胎児: 各胎児の体重および胎盤重量を測定した. その後は, 他の検査をせずに廃棄した.

結 果：概要を表1に示した。

母動物：5 mg/kg/日までの投与量において、臨床所見、体重、子宮重量、実質体重変化および剖検所見から母動物に検体投与に関連した影響は認められなかった。対照群と検体投与群の間で、受胎率、平均黄体数、総着床数、吸収胚数および生存胎児数あるいは着床前および着床後胚損失率に生物学的意義のある差は認められなかった。

摂餌量については、5 mg/kg/日群で妊娠7~17日にかけて有意な低下が認められた。3 mg/kg/日群においても軽度ではあるが、妊娠7~10、12~14及び16~17日にかけて有意な低下が認められた。妊娠ウサギでは一般的に、体重増加量へ影響するかどうかに関係なく、各個体の一日摂餌量には大幅な変動がみられ、またウサギは妊娠中に周期的かつ自発的に摂食を休止し、このため、不規則に体重が減少する*1。このように各個体の摂餌量の変動が大きいため、同じ条件（ウサギの系統、飼料の種類、投与期間、投与経路、使用溶媒）のもと、同研究所で過去数年間に実施した複数の試験の対照群における平均摂餌量の範囲も広い。図1に示すように、本試験の各群の平均摂餌量は、他の試験の対照群の摂餌量範囲と変わらない。

従って、3および5 mg/kg/日群の摂餌量における有意な低下は検体投与による影響ではなく、使用動物種における通常の生物学的変動を反映したものであると考えられる*2。

図1 本試験における摂餌量と背景データ

*1 参考文献：Environmental Protection Agency - Office of Pesticide Programs, Health Effect Division, Standard evaluation procedure "Developmental Toxicity Studies" より。

*2 申請者注) 以下の通り申請者が再度考察した。3 mg/kg群の変化は背景値の範囲内である。5 mg/kg群についても一部の観察期間で背景値（平均値±SD）の下限をごくわずかに下回るのみで体重増加量の変化も伴っていない。従って、少なくとも当該2用量での摂餌量の変化は、毒性学的意義のない変化であると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

平均体重増加量については、すでに投与開始前（妊娠 0～7 日）に、高用量群の値が平均して低かった。投与初期（妊娠 7～9 日）には、5 mg/kg/日群で有意な体重増加抑制が認められたが、図 2 に示す通り投与量との関連はなく、本試験と同じ条件のもと、同研究所で過去数年間に実施した複数の試験の背景データの範囲内であった。また当該用量では、投与開始前から対照群よりも過度な体重減少がみられ、投与直後の一過的な減少の後は順調に推移し、対照群と同等かそれを上回る期間もあったことを勘案すると、検体投与の影響を反映したものではないと考えられた。

3 mg/kg 群では妊娠 11～14 日に有意な抑制が認められたが、偶発的な変動であると考えられた。投与期間全体（妊娠 7～28 日）では、いずれの検体投与群も平均体重増加量における投与の影響はなかった。

図 2 本試験における平均体重増加量と背景データ

胎児動物：胎盤重量および胎児体重に用量相関性のある差または検体投与に関連した差は認められなかった。

以上の結果から、今回の母動物毒性追加試験の試験条件下において、着床から分娩予定日前日まで（妊娠 7～28 日）、Himalayan ウサギに本剤を経口投与した場合、5 mg/kg/日までの投与量において、検体投与に関連した母動物毒性を示す所見あるいは発生毒性を示唆する変化が認められないことを再度確認した。

今回のウサギを用いた母毒性追加検討試験、及び先に実施したウサギを用いた催奇形性試験（資料 26）の結果に基づき、親及び胎児ともに無毒性量（NOAEL）は 5 mg/kg/日と判断された。

申請者注） 単回経口投与等により生じる可能性のある毒性影響は認められなかった。

表 1 結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		対照	1	3	5	背景値* (平均±SD)	
1 群当りの動物数		25	25	25	25	148	
親動物	妊娠動物数 (受胎率 (%))	25 (100)	24 (96)	25 (100)	25 (100)		
	死亡・切迫屠殺数	0	0	0	0		
	流早産	0	0	0	0		
	一般状態	検体投与に起因する異常なし					
	摂餌量 (g/日)	妊娠 0~7 日	123.9	117.4	119.0	114.9	84.4~132.4
		妊娠 7~8 日	113.2	107.8	84.2↓	66.7↓	70.4~118.7
		妊娠 8~9 日	114.7	106.1	92.9↓	80.2↓	68.8~120.8
		妊娠 9~10 日	114.0	104.8	94.6↓	79.4↓	69.8~118.5
		妊娠 10~11 日	113.6	105.9	100.4	85.0↓	67.4~118.3
		妊娠 11~12 日	108.1	97.4	95.7	79.9↓	69.3~115.1
		妊娠 12~13 日	110.1	98.0	91.3↓	83.2↓	66.7~112.4
		妊娠 13~14 日	102.1	93.3	83.1↓	79.0↓	60.4~110.9
		妊娠 14~15 日	95.2	91.0	78.6	72.1↓	48.6~109.3
		妊娠 15~16 日	98.8	87.1	77.3	73.4↓	49.5~108.2
		妊娠 16~17 日	100.6	88.0	78.4↓	74.6↓	55.2~110.9
		妊娠 17~18 日	99.3	90.2	79.4	79.0	57.3~112.6
		妊娠 18~19 日	91.6	87.6	79.8	77.4	56.6~111.9
		妊娠 19~20 日	95.5	89.5	83.7	77.4	52.3~112.6
		妊娠 20~21 日	93.9	92.0	80.0	77.5	55.4~109.1
妊娠 21~22 日	86.7	89.5	79.4	76.7	57.9~104.8		
妊娠 22~23 日	86.9	88.1	79.8	76.5	57.9~101.1		
妊娠 23~24 日	88.9	86.5	78.5	79.2	58.3~102.7		
妊娠 24~25 日	90.3	91.1	79.7	84.1	58.4~103.2		
妊娠 25~26 日	90.9	91.8	81.1	90.4	60.4~105.6		
妊娠 26~27 日	90.0	93.4	81.1	90.8	63.1~105.7		
妊娠 27~28 日	94.7	92.5	85.8	97.9	62.4~108.2		
妊娠 28~29 日	92.1	91.7	87.0	93.5	59.7~110.6		
妊娠 7~29 日	99.0	93.9	84.0	80.0	67.6~103.5		

* 申請者注) 報告書では背景値として同試験施設で過去に実施した数試験を引用しているが、背景値の範囲が数値で示されていないため、当該試験データを申請者が入手し、背景値の範囲を算出した。次頁も同様である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Pyralostrobin

投与量 (mg/kg/日)		対照	1	3	5	背景値* (平均±SD)	
1群当りの動物数		25	25	25	25	148	
平均体重		群間で有意差なし					
体重増加量 (g)	妊娠0~7日	58.0	48.5	40.3	28.0	-1.9~79.6	
	妊娠7~9日	12.8	7.5	-3.8	-14.2↓	-26.2~26.9	
	妊娠9~11日	11.8	4.5	10.5	5.9	-20.4~23.2	
	妊娠11~14日	23.9	16.9	5.2↓	16.9	-6.6~45.8	
	妊娠14~16日	38.9	41.0	43.0	44.5	11.8~67.6	
	妊娠16~19日	2.5	3.2	-4.6	-2.0	-20.6~42.1	
	妊娠19~21日	8.4	8.1	3.0	-2.6	-26.3~17.7	
	妊娠21~23日	13.8	17.5	26.6	25.4	-11.4~55.1	
	妊娠23~25日	51.2	49.5	44.8	59.9	15.4~74.3	
	妊娠25~28日	53.4	41.0	49.7	63.0	13.0~78.2	
	妊娠28~29日	22.3	25.0	22.4	20.6	3.4~42.3	
	妊娠7~29日	216.6	189.1	174.4	196.9	93.2~314.5	
妊娠子宮重量 (g)		321.8	320.5	306.2	354.4		
妊娠7日からの実質体重変化		-82.9	-102.7	-109.4	-136.8		
肉眼的病理所見		検体投与に起因する異常なし					
着床所見	検査母動物数	25	24	25	25		
	全胚吸収母動物数	1	0	0	0		
	平均黄体数	8.8	8.7	8.4	8.8		
	平均着床数	7.6	7.1	6.6	8.0		
	着床前損失率 (%)	15.9	16.8	21.4	9.3		
	着床後損失率 (%)	16.2	13.2	6.8	9.6		
	吸収胚率 (%)	早期	13.4	10.8	6.8	6.3	
		後期	2.8	2.4	0.0	3.3	
死亡胎児数		0	0	0	0		
胎児	平均生存胎児数	6.8	6.2	6.2	7.3		
	胎児体重 (g)	37.2	38.8	36.5	36.4		
	胎盤重量 (g)	4.6	4.6	4.6	4.2		

着床前損失率 (%) = ((黄体数 - 着床数) / 黄体数) × 100

着床後損失率 (%) = ((着床数 - 生存胎児数) / 着床数) × 100

対照群との有意差の検定 (↓↑: p < 0.05, ↓↑: p < 0.01)

Dunnett検定: 摂餌量, 体重, 体重増加量, 実質体重変化, 妊娠子宮重量, 黄体数, 着床数, 着床前損失率, 着床後損失率, 吸収胚率, 生存胎児数, 胎児体重, 胎盤重量

Fisher直接確率検定: 母動物死亡数, 最終屠殺妊娠動物数

9) 変異原性試験

9-1) ピラクロストロビンの細菌を用いた復帰変異試験

(資料 27)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 [Salmonella typhimurium(TA1535, TA100, TA1537, TA98 株)] 及びトリプトファン要求性の大腸菌 [Escherichia coli (WP2 uvrA 株)] を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、標準プレート法及びプレインキュベーション法により Ames らの方法で変異原性を検定した。溶媒として DMSO を用い、試験濃度は「毒性に関する試験成績を作成するに当たっての指針」等に基づき最高 5000 µg/plate とした。

結果：

標準プレート法

[数値は 3 プレートの平均, () 内は S D]

薬物	濃度 (µg/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	32 (2)	19 (2)	113 (7)	11 (4)	22 (1)
検体	20	-	31 (3)	14 (1)	125 (7)	8 (1)	29 (3)
	100	-	31 (3)	21 (8)	133 (9)	8 (1)	25 (4)
	500	-	34 (2)	18 (2)	122 (3)	7 (1)	28 (7)
	2500*1	-	30 (2)	23 (5)	132 (13)	7 (2)	31 (7)
	5000*1	-	33 (1)	20 (4)	108 (4)	9 (1)	25 (3)
対照 (DMSO)		+	44 (4)	21 (3)	128 (3)	13 (1)	39 (4)
検体	20	+	53 (7)	23 (8)	105 (2)	12 (2)	39 (3)
	100	+	51 (2)	19 (6)	114 (12)	13 (0)	47 (7)
	500	+	52 (4)	18 (5)	124 (3)	10 (2)	44 (4)
	2500*1	+	41 (3)	14 (4)	130 (15)	7 (3)	36 (2)
	5000*1	+	45 (1)	9 (1)	121 (7)	8 (1)	36 (6)
陽性対照*2	2-AA 2.5	+		136 (16)	1263 (72)	114 (15)	1050 (32)
	2-AA 60	+	188 (26)				
	AAC 100	-				516 (67)	
	ENNG 10	-	762 (38)				
	MNNG 5.0	-		1207 (161)	1121 (106)		
	NOPD 10	-					1105 (37)

*1. 約 2500 µg/plate 以上で不溶性沈殿物を認める。

*2. 2-AA : 2-aminoanthracene

AAC : 9-aminoacridine chloride monohydrate

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

NOPD : 4-nitro-o-phenylendiamine

プレインキュベーション法

[数値は3プレートの平均、()内はSD]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	29 (1)	20 (2)	132 (15)	12 (2)	28 (2)
検体	20	-	30 (3)	19 (2)	111 (8)	10 (2)	27 (3)
	100	-	30 (2)	19 (1)	119 (3)	10 (1)	27 (3)
	500	-	31 (4)	20 (1)	123 (7)	8 (1)	25 (4)
	2500*1	-	31 (3)	21 (1)	108 (8)	8 (2)	26 (2)
	5000*1	-	30 (3)	20 (2)	107 (5)	9 (2)	25 (5)
対照 (DMSO)		+	38 (3)	20 (3)	128 (2)	11 (2)	39 (2)
検体	20	+	32 (5)	19 (1)	129 (10)	12 (2)	40 (4)
	100	+	30 (3)	19 (2)	137 (9)	11 (2)	37 (3)
	500	+	25 (2)	17 (2)	142 (10)	11 (3)	31 (1)
	2500*1	+	27 (1)	15 (2)	122 (4)	11 (2)	30 (1)
	5000*1	+	26 (1)	14 (0)	107 (15)	12 (2)	27 (5)
陽性対照*2	2-AA 2.5	+		135 (29)	1377 (36)	139 (13)	677 (59)
	2-AA 60	+	210 (14)				
	AAC 100	-				614 (72)	
	ENNG 10	-	523 (17)				
	MNNG 5.0	-		1068 (39)	751 (40)		
	NOPD 10	-					1200 (70)

*1. 約 2500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上で不溶性沈殿物を認める。

*2. 2-AA : 2-aminoanthracene

AAC : 9-aminoacridine chloride monohydrate

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

NOPD : 4-nitro-o-phenylendiamine

検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下の試験において、5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-AA, MNNG, ENNG, AAC 及び NOPD では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は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 BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

9-2) ピラクロストロビンのチャイニーズハムスターV79 細胞を用いた

in vitro 染色体異常誘発性試験 (資料 28)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度:

試験方法:

V79 細胞を用いて、検体の染色体異常誘発性を薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で検索した。検体は水に対する溶解性が低いため、DMSO に溶解した。

検体処理時間及び標本作製時間を変えて 2 回の独立した試験を実施した。

実験 1: 細胞播種約 24~30 時間後に血清の入っていない新しい培地と交換し、S-9 Mix を添加した培地及び添加していない培地に検体を添加し、4 時間処理した。4 時間後に血清を含む新しい培地と交換し、14 時間培養後、細胞を回収して染色体標本作製した。

処理濃度は細胞毒性予備試験の結果に基づいて設定し、S-9 Mix の有無にかかわらず 6.25、12.5 及び 25.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 濃度について染色体観察を行った。

実験 2: S-9 Mix を添加せずに、血清を含む培地中で検体を 18 時間連続処理した後標本作製する方法、及び新しい培地と交換して更に 10 時間培養後に標本作製する方法、S-9 Mix を添加して実験 1 と同様に血清の入っていない培地中で検体を 4 時間処理後、血清を含む培地と交換し、24 時間培養後に染色体標本作製する方法で試験した。

処理濃度は細胞毒性予備試験及び実験 1 の細胞毒性の結果に基づいて設定し、S-9 Mix 無添加、18 時間被験物質処理、標本作製時間(含被験物質処理時間)18 時間の場合は 0.005、0.010 及び 0.050 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 濃度、標本作製時間(含被験物質処理時間)28 時間の場合は 0.100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度について染色体観察を行った。また、S-9 Mix 添加、4 時間被験物質処理、標本作製時間(含被験物質処理時間)28 時間の場合は 3.125、6.25 及び 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 濃度について染色体観察を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

陽性対照として、S-9 Mix を添加しない場合はエチルメタンスルフォネート (EMS) を $350 \mu\text{g/mL}$ の濃度で、S-9 Mix を添加する場合はシクロフォスファミド (CPP) を $0.5 \mu\text{g/mL}$ の濃度で用いた。また、溶媒対照を設け、同様に試験した。

試験はすべて、各濃度あたり 2 系列で実施した。

染色体標本作製後、検体処理群及び溶媒対照群は各培養あたり 100 個、各濃度あたり 200 個、陽性対照群は各培養あたり 50 個、各濃度あたり 100 個のよく広がった中期分裂像を顕微鏡で観察し、構造的染色体異常の各型について分類し、計数した。また、数的染色体異常として、異数体 (染色体本数が増えた場合のみ) 及び倍数性細胞の出現数を計数した。統計学的解析には Bonferroni-Holm 補正後 Fisher's 直接確率計算法 (片側) を用い、溶媒対照群と各用量群の間で検定を行った。染色体異常誘発性の判定は構造的染色体異常と数的異常のそれぞれについて行った。判定は以下の基準で行った。

構造的染色体異常を有する細胞数が用量相関性を伴って有意に増加し、この増加に再現性があり、染色体異常を有する細胞の出現頻度が同時に実施した溶媒対照群の値及び溶媒対照群の背景値の範囲を超えている場合は陽性と判定する。また、溶媒対照群に比べて染色体異常を有する細胞の出現頻度に有意な増加が認められず、溶媒対照の背景値の範囲内である場合は陰性と判定する。

結 果：

結果を表-1 及び-2 に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、異なる被験物質処理時間 (4 時間処理あるいは 18 時間連続処理) 及び標本作製時間 (含被験物質処理時間 ; 18 時間あるいは 28 時間) で実施した独立した 2 回の実験において、生物学的に意味のある構造的染色体異常を有する細胞の増加を誘発しなかった。実験 1 の S-9 Mix 添加、 $6.25 \mu\text{g/mL}$ [被験物質処理 4 時間、標本作製時間 (含被験物質処理時間) 18 時間] の用量及び実験 2 の S-9 Mix 無添加、 $0.1 \mu\text{g/mL}$ [被験物質処理 18 時間、標本作製時間 (含被験物質処理時間) 28 時間] の用量においてギャップを含む染色体異常を有する細胞数に統計学的に有意な増加が認められたが、下記の理由から偶発的な結果であり染色体損傷によるものとは考えられなかった。

- 観察された値は背景対照値の範囲内あるいは近似した値であった。
- 用量相関性が認められなかった。
- ギャップは被験物質の染色体損傷性を評価するにふさわしい基準ではない。

数的異常を有する細胞数の増加も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

陽性対照物質である EMS 及び CPP は何れも、明らかな染色体異常出現頻度の上昇を誘発し、試験方法の感受性及び使用した S-9 Mix の活性が確認された。また、溶媒対照群における異常細胞出現頻度は背景値の管理範囲以内であった。従って、本試験の有効性が確認された。

以上の結果より、本検体は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず、本実験条件下において構造的染色体異常誘発性及び数的染色体異常誘発性を有さないものと結論された。

表-1. 染色体異常試験結果 (実験 1)

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g/ml}$)	処理 時間	標本作 製時間	S9 mix の有無	異数 体細胞	倍 数 体細胞	判 定	各染色体異常出現頻度 (%)							異常細胞の 出現頻度 (%)		判 定	
								染色体分型			染色体型			交 換	そ の 他	+Gap		-Gap
								切 断	断 片	欠 失	切 断	断 片	欠 失					
溶媒対照 (DMSO)		4	18	-	0.0	0.0	/	0.5	0.5	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	6.0	2.0	/
検 体	6.25	4	18	-	0.0	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	8.0	1.5	-
	12.5				0.0	0.0	-	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	10.0	2.0	-
	25.0				0.0	0.0	-	0.5	0.5	0.0	0.5	0.5	0.0	0.5	0.0	10.5	2.0	-
陽性対照 (EMS)	350	4	18	-	0.0	0.0	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	9.0**	ND	16.0*	14.0*	+
溶媒対照 (DMSO)		4	18	+	0.0	0.0	/	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	4.5	1.0	/
検 体	6.25	4	18	+	0.0	0.0	-	0.5	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	2.0	0.0	11.0*	4.0	-
	12.5				0.0	2.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	1.0	0.0	7.0	1.5	-
	25.0				0.0	0.0	-	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	4.5	1.0	-
陽性対照 (CPP)	0.5	4	18	+	0.0	0.0	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	14.0**	ND	19.0**	19.0*	+

検体処理群及び溶媒対照群は各培養当り 100 個、各濃度当り計 200 個、陽性対照群は各培養当り 50 個、各濃度当り計 100 個の細胞を観察

* 標本作製時間は被験物質処理時間を含む

+Gap: ギャップを含める。

-Gap: ギャップを含めない

EMS: エチルメタンスルフォネート

CPP: シクロフォスファミド

溶媒対照群に対し、*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ で有意 (Bonferroni-Holm 補正後 Fisher's 直接確率計算法)

ND: データなし

表-2. 染色体異常試験結果 (実験 2)

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g/ml}$)	処理 時間	標本作 製時間	S-9 Mix の有無	異数 体細胞	倍数 体細胞	判 定	各染色体異常出現頻度 (%)								異常細胞の 出現頻度 (%)		判 定
								染色体分型			染色体型			交換	その他	+Gap	-Gap	
								切 断	断片	欠失	切 断	断片	欠失					
溶媒対照 (DMSO)		18	18	-	0.0	0.0	/	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	5.5	2.0	/
検 体	0.005	18	18	-	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	2.5	0.0	10.5	3.0	-
	0.010				0.0	1.5	-	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	2.0	0.0	6.0	2.0	-
	0.050				0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	4.0	0.5	-
陽性対照 (EMS)	350	18	18	-	0.0	0.0	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	14.0**	1.0 (mA)	18.0*	17.0**	+
溶媒対照 (DMSO)		18	28	-	0.0	0.0	/	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	0.0	4.0	2.5	/	
検 体	0.100	18	28	-	0.0	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.5	0.5	0.0	10.0*	2.5	-
溶媒対照 (DMSO)		4	28	+	0.0	1.0	/	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	6.5	1.5	/
検 体	3.125	4	28	+	0.0	0.5	-	0.0	0.0	0.0	2.0	0.5	0.5	1.0	0.0	6.5	3.5	-
	6.25				0.0	1.0	-	1.0	0.0	0.0	1.0	0.5	0.0	0.5	0.0	4.5	3.0	-
	12.5				0.0	1.5	-	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	1.0	2.0	0.5 (mA)	9.5	5.0	-
陽性対照 (CPP)	0.5	4	28	+	0.0	0.0	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8.0**	1.0 (mA)	19.0**	15.0**	+

検体処理群及び溶媒対照群は各培養当たり 100 個、各濃度当たり計 200 個、陽性対照群は各培養当たり 50 個、各濃度当たり計 100 個の細胞を観察

† 標本作製時間は被験物質処理時間を含む

+Gap: ギャップを含める、

-Gap: ギャップを含めない

EMS: エチルメタンスルフォネート

CPP: シクロフォスファミド

溶媒対照群に対し、*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ で有意 (Bonferroni-Holm 補正後 Fisher's 直接確率計算法)

mA: ギャップを含まない構造的染色体異常を 5 個以上有する細胞

ND: データなし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

9-3) ピラクロストロピンのマウス骨髄における小核試験

(資料 29)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度:

試験動物: NMRI マウス (平均体重約 27.1g), 1 群雌雄各 5 匹

方法: 投与量を下記の用量設定根拠に基づき 75mg/kg, 150mg/kg, 300mg/kg とし, 試験動物の体重 (kg) 当たりに投与する検体量をオリーブ油に溶解し投与した。陰性対照としてオリーブ油のみを投与し, 陽性対照としては cyclophosphamide 20mg/kg 及び vincristine 0.15mg/kg をそれぞれ純水に溶解して投与した。投与は経口投与とし, 投与容量は 10mL/kg とした。

用量設定根拠:

観察項目:

一般状態: 投与後の毒性症状の有無を検査した。

顕微鏡検査: 投与後所定の時間に屠殺し, 両側の大腿骨から骨髄標本を作製した。

原則として, 全ての試験群の各雌雄動物について 1 動物当たり 2000 個の多染性赤血球について小核の有無を検査し, また正染性赤血球 (正常赤血球) も計数した。以下の項目を記録した。

- ・多染性赤血球の数
- ・小核を有する多染性赤血球の数
- ・正染性赤血球の数
- ・小核を有する正染性赤血球の数
- ・多染性赤血球の正染性赤血球に対する比率
- ・「小さい小核」($d < D/4$) 及び「大きい小核」($d \geq D/4$) の数

[d: 小核の直径, D: 細胞の直径]

結果:

一般状態: 陰性対照群ではいかなる毒性症状も観察されなかった。

検体投与群では全ての用量群に投与 30 分後に「立毛及び蹲り姿勢」が観察されたが, 投与 1 日後には回復し症状は観察されなかった。最高用量 300mg/kg を投与した 48 時間後屠殺群の雄 1 例が投与 2 日後に死亡した。

陽性対照物質を投与したそれぞれの試験群では, 毒性症状は観察されなかった。

顕微鏡検査；以下の表に示すとおり，小核を有する正染性赤血球の数は陰性対照群あるいは検体の各用量群のいずれの屠殺時期においても有意な差は認められなかった。また，検体投与による小核の割合の増加もなく，「小さい小核」あるいは「大きい小核」を有する正染性及び多染性赤血球の数はいずれの屠殺時期においても陰性対照群の値と差がなかった。

一方，陽性対照群においては，染色体異常誘発性に対する陽性物質 cyclo-phosphamide 投与群及び紡錘体毒作用に対する陽性物質 vincristine 投与群いずれにおいても小核を有する多染性赤血球の予期された明らかな増加が認められた。

表 1. 多染性赤血球及び正染性赤血球に関する結果

		処理後 24 時間				処理後 48 時間			
		A	B	C	D	A	B	C	D
陰性対照		20000	7934	1.3	0.9	20000	9948	0.8	0.4
検体	75	20000	7478	0.9	0.7				
	150	20000	7977	1.0	0.6				
	300	20000	9033	0.9	1.3	18000 ¹	9459	1.1	0.3
陽性対照	CPP	10000	3629	14.2**	0.3				
	VCR	10000	4180	63.2**	0.7				

**：p ≤ 0.01；Wilcoxon 検定(片側)，陰性対照に対して検定

注： 1. 雄 1 例が投与 2 日後に死亡

A：検査した多染性赤血球数

B：正染性赤血球数

陰性対照：オリーブ油

C：多染性赤血球 1000 個当りの小核を有するもの(平均)

陽性対照：CPP(Cyclophosphamide)；20mg/kg

D：正染性赤血球 1000 個当りの小核を有するもの(平均)

陽性対照：VCR(Vincristine)；0.15mg/kg

表 2. 多染性赤血球に関する結果；「小さい小核」と「大きい小核」の差

		処理後 24 時間			処理後 48 時間		
		A	B	C	A	B	C
陰性対照		20000	1.3	0.1	20000	0.8	0.0
検体	75	20000	0.9	0.0			
	150	20000	0.9	0.1			
	300	20000	0.8	0.1	18000 ¹	1.1	0.0
陽性対照	CPP	10000	13.3**	0.9			
	VCR	10000	45.4**	17.8**			

**：p ≤ 0.01；Wilcoxon 検定(片側)，陰性対照に対して検定

注： 1. 雄 1 例が投与 2 日後に死亡

A：検査した多染性赤血球数

B：多染性赤血球 1000 個当りの「小さい小核(d < D/4)」

陰性対照：オリーブ油

C：多染性赤血球 1000 個当りの「大きい小核(d ≥ D/4)」

陽性対照：CPP(Cyclophosphamide)；20mg/kg

陽性対照：VCR(Vincristine)；0.15mg/kg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

以上の結果、検体の 3 投与量群 (75, 150, 300mg/kg) 及び各屠殺時期 (24, 48 時間) いずれにおいても陰性対照群との間に小核を有する赤血球の出現頻度に生物学的意義のある差は認められなかった。

従って、検体は染色体異常誘発性はなく、また有糸分裂過程における染色体の分配異常も引き起こさないことが本試験において確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

9-4) ピラクロストロピンのラット初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験
(資料 30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

試験方法：ラット初代培養肝細胞を用いて、不定期 DNA 修復合成(不定期 DNA 合成；UDS)誘発能を同一の方法で 2 回の独立した試験を行い検索した。

検体は DMSO に溶解して用い、検体濃度は下記のように設定した。

1 回目の試験の濃度；用量設定試験

最高用

量を $1.0 \mu\text{g/mL}$ として「0, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, $1.0 \mu\text{g/mL}$ 」とした。

2 回目の試験の濃度；1 回目の試験の結果に基づき、最高用量を $0.5 \mu\text{g/mL}$ とし

「0, 0.004, 0.02, 0.1, $0.5 \mu\text{g/mL}$ 」とした。

試験群当り 2 ないし 3 スライドを顕微鏡で観察し、UDS の定量を行った。各スライド当り 25~50 個の正常な形態を示す細胞を観察し、試験群につき合計 100 個の細胞を観察した。それぞれの細胞について「核グレイン数」及び「細胞質グレイン数」の計数を行い、「各細胞当りの正味の核グレイン数」、「平均核グレイン数」、「平均細胞質グレイン数」、「平均正味の核グレイン数」及び「修復を行っている細胞(正味の核グレイン数が ≥ 5 個の細胞)の百分率」を計算した。また、LDH 及び乳酸濃度を測定し、細胞毒性を検討した。

試験結果：陰性対照(無処理群及び溶媒対照群)の UDS 活性は、ラット初代培養肝細胞の予期された範囲内であった。

陽性対照群(2-アセチルアミノフルオレン：2-AAF)は、平均核数及び正味のグレイン数の明らかな増加を示した。

検体は $0.3 \mu\text{g/mL}$ 以上の濃度で細胞毒性(LDH の増加)を示したが(表 1 及び表 2)、2 回の試験いずれにおいても UDS(不定期 DNA 合成)活性の上昇は認められなかった(表 3 及び 4)。

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

表 1. 細胞毒性：第 1 回目の試験結果

濃 度 ($\mu\text{g/mL}$)	LDH 活性			乳酸濃度		
	平均* ¹	SD* ²	指数* ³	平均* ¹	SD* ²	指数* ³
0	85.0	8.2	-	4.4	0.6	-
DMSO (溶媒対照)	98.3	3.8	100.0	4.0	0.3	100.0
0.001	112.3	4.6	114.2	4.2	0.2	106.3
0.003	115.8	7.7	117.8	4.4	0.2	110.1
0.01	103.8	6.4	105.6	4.1	0.2	102.5* ⁴
0.03	103.5	7.6	105.3	4.3	0.1	107.5
0.1	111.5	15.0	113.5	4.1	0.2	103.1* ⁴
0.3	197.0	10.7	200.5	3.9	0.7	96.9
1.0	339.8	15.3	345.8	2.3	0.2	58.5

表 2. 細胞毒性：第 2 回目の試験結果

濃 度 ($\mu\text{g/mL}$)	LDH 活性			乳酸濃度		
	平均* ¹	SD* ²	指数* ³	平均* ¹	SD* ²	指数* ³
0	197.0	11.7	-	6.0	0.5	-
DMSO (溶媒対照)	233.0	13.0	100.0	5.1	0.1	100.0* ⁴
0.0008	225.3	8.8	96.7	5.2	0.1	102.0* ⁴
0.004	228.5	25.0	98.1	5.2	0.2	102.5* ⁴
0.02	184.8	20.7	79.3	5.2	0.1	102.0* ⁴
0.1	197.7	10.3	84.8	5.4	0.2	105.9
0.5	355.3	22.8	152.5	5.1	0.4	99.0* ⁴

注) *1 4 回測定 of 平均 (単位/L ; LDH 活性, mg/dL ; 乳酸濃度)

*2 標準偏差

*3 溶媒対照の測定値に対する指数

*4 指数の違いは数値を測定値の少数第 1 位で丸めたことによる

表 3. DNA 修復活性 : 1 回目の試験結果

濃 度 ($\mu\text{g/mL}$)	平均* ¹ 核グレイン数 ^A ($\pm\text{SD}$)	平均* ¹ 細胞質 グレイン数 ^B ($\pm\text{SD}$)	平均* ¹ 正味の 核グレイン数 ^C ($\pm\text{SD}$)	修復細胞% ^D (正味の 核グレイン数 ≥ 5)
0	8.81 \pm 3.94	14.16 \pm 4.34	-5.35 \pm 3.71	0
DMSO (溶媒対照)	11.89 \pm 4.65	17.32 \pm 4.52	-5.43 \pm 4.10	0
0.01	12.87 \pm 4.50	17.94 \pm 4.69	-5.07 \pm 3.46	0
0.03	11.60 \pm 4.62	17.35 \pm 4.41	-5.75 \pm 4.57	1
0.1	10.84 \pm 4.55	16.09 \pm 4.57	-5.25 \pm 4.11	0
0.3	12.41 \pm 5.36	17.01 \pm 5.10	-4.60 \pm 3.67	2
1.0* ²	-	-	-	-
4.0 2-AAF* ³ (陽性対照)	34.52 \pm 18.81	20.20 \pm 9.54	14.33 \pm 12.45	83

表 4. DNA 修復活性 : 2 回目の試験結果

濃 度 ($\mu\text{g/mL}$)	平均* ¹ 核グレイン数 ^A ($\pm\text{SD}$)	平均* ¹ 細胞質 グレイン数 ^B ($\pm\text{SD}$)	平均* ¹ 正味の 核グレイン数 ^C ($\pm\text{SD}$)	修復細胞% ^D (正味の 核グレイン数 ≥ 5)
0	10.41 \pm 4.59	15.43 \pm 4.21	-5.02 \pm 4.04	0
DMSO (溶媒対照)	14.52 \pm 5.30	20.56 \pm 4.90	-6.04 \pm 4.29	0
0.004	12.87 \pm 4.89	18.86 \pm 4.98	-5.99 \pm 4.08	0
0.02	11.64 \pm 4.12	18.89 \pm 4.67	-7.25 \pm 4.70	0
0.1	13.47 \pm 5.26	19.15 \pm 5.19	-5.68 \pm 4.57	0
0.5	14.22 \pm 4.65	19.76 \pm 4.75	-5.54 \pm 3.91	0
4.5 2-AAF* ³ (陽性対照)	32.31 \pm 18.35	19.62 \pm 7.49	12.69 \pm 13.82	65

注) SD : 標準偏差

*1 100 個の細胞の平均

*2 細胞毒性が明らか(明瞭な形態異常細胞)であったので測定しなかった

*3 2-アセチルアミノフルオレン

A : 核当りのグレイン(粒子)数

B : 核に近接した部分で、核の広さに相当する範囲の細胞質に認められるグレイン数

C : 核グレイン数から細胞質グレイン数を引いた値

D : 修復を行っている細胞(正味の核グレイン数が 5 個以上)の割合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

9-5) ピラクロストロビンのチャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)を用いた (資料 31)
in vitro 遺伝子突然変異試験 (HPRT 遺伝子突然変異試験)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

被験物質の純度:

方法: チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシルトランスフェラーゼ(HPRT)遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を実施した。試験は Aroclor で誘導したラット肝臓の S-9 Mix の存在下及び非存在下で行い、3回の独立した試験を実施した。

突然変異試験における用量を設定するために、予備試験を実施した。

1 回目の試験における処理濃度を S-9 Mix の有無にかかわらず、20 μ g/mL (= 0.05mM) を最高用量として 0.625, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 及び 20.0 μ g/mL の 6 用量に設定した。また、2 回目の試験は S-9 Mix 非存在下のみで 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 及び 8.0 μ g/mL の 6 用量で、3 回目の試験は S-9 Mix の有無にかかわらず 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 及び 20.0 μ g/mL の 5 用量で実施した。

陽性対照として、S-9 Mix 非存在下ではエチルメタンスルフォネート(EMS)を 300 μ g/mL、S-9 Mix 存在下ではメチルコラントレン(MCA)10 μ g/mL の濃度で用いた。また、無処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

対照及び溶媒対照 (DMSO) を設け、いずれも同様に試験した。

陽性であるとする判定基準は以下のとおりとした。

- ・ 補正突然変異頻度が同時に実施した陰性対照の値あるいは 10^6 個細胞あたり 15 を越えている、突然変異頻度の上昇に用量—反応関係があるのいずれかまたは両方を満たしている
- ・ 突然変異頻度の上昇に再現性がある
- ・ 突然変異頻度が統計学的に有意に上昇し (ただし、明らかに陰性の場合には統計学的解析は行わない)、用量—反応関係がある

結 果：結果を表 1~5 に示した。

本被験物質は独立した 3 回の試験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。1 回目の試験において (表 1)、S-9 Mix 非存在下で陰性対照の背景値の範囲をわずかに越える 17.89 が認められたが、用量—反応関係は認められず、他の 2 回の試験においては突然変異頻度の上昇は認められなかったことから、偶発的な上昇と考えられた。

一方、陽性対照として用いた EMS 及び MCA 処理群では突然変異頻度が上昇し、本試験方法の感受性ならびに使用した S-9 Mix の代謝活性能について確認できた。また、陰性対照群における絶対コロニー形成率は 50% 以上であり、無処理対照群の突然変異頻度は 10^6 個細胞あたり 0~15 の範囲であった。したがって、本試験の有効性が確認された。

以上の結果より、本被験物質は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。したがって、本実験条件下において、本被験物質は CHO 細胞を用いた *in vitro* HPRT 遺伝子突然変異試験において突然変異誘発性を持たないと結論された。

表 1 突然変異頻度 - 1 回目の試験, S-9 Mix 非存在下

試験群用量	細胞毒性 1 ^a		細胞毒性 2 ^b		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)	
	コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		無補正	補正 ^c
	絶対	相対	絶対	相対		
無処理対照	93.38	-	95.38	-	0.00	0.00
溶媒対照 (DMSO)	97.63	100.00	91.75	100.00	1.11	1.22
0.625 µg/mL	84.00	86.04	83.38	90.88	0.00	0.00
1.25 µg/mL	96.38	98.72	105.25	114.71	2.78	2.66
2.5 µg/mL	78.63	80.54	82.63	90.06	1.95	2.28
5.0 µg/mL	68.38	70.04	85.13	92.78	15.28	17.89
10.0 µg/mL	43.38	44.43	83.50	91.01	1.95	2.48
20.0 µg/mL	30.38	31.12	81.38	88.70	2.50	3.18
陽性対照 (EMS) 300.0 µg/mL	56.25	57.62	74.50	81.20	265.28	359.35

^a = 被験物質処理終了後 17-24 時間培養後のコロニー形成率 (被験物質処理後 17-24 時間培養後に各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^b = 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率 (突然変異体の選択と平行して, 各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^c = 突然変異発現時間終了時の絶対コロニー形成率 (細胞毒性 2) を基に補正

表 2 突然変異頻度 - 1 回目の試験, S-9 Mix 存在下

試験群用量	細胞毒性 1 ^a		細胞毒性 2 ^b		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)	
	コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		無補正	補正 ^c
	絶対	相対	絶対	相対		
無処理対照	71.50	-	82.50	-	0.00	0.00
溶媒対照 (DMSO)	78.00	100.00	86.75	100.00	2.23	2.54
0.625 µg/mL	67.50	86.54	91.88	105.91	2.78	2.99
1.25 µg/mL	79.63	102.09	87.75	101.15	3.06	3.40
2.5 µg/mL	72.25	92.63	90.38	104.18	1.67	1.68
5.0 µg/mL	73.00	93.59	81.38	93.81	3.61	4.48
10.0 µg/mL	65.38	83.82	78.13	90.06	2.78	3.50
20.0 µg/mL	70.25	90.06	87.00	100.29	0.56	0.62
陽性対照 (MCA) 10.0 µg/mL	47.38	60.74	74.00	85.30	366.39	501.89

^a = 被験物質処理終了後 17-24 時間培養後のコロニー形成率 (被験物質処理後 17-24 時間培養後に各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^b = 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率 (突然変異体の選択と平行して, 各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^c = 突然変異発現時間終了時の絶対コロニー形成率 (細胞毒性 2) を基に補正

表 3 突然変異頻度 - 2 回目の試験, S-9 Mix 非存在下

試験群用量	細胞毒性 1 ^a		細胞毒性 2 ^b		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)	
	コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		無補正	補正 ^c
	絶対	相対	絶対	相対		
無処理対照	106.50	-	99.13	-	0.00	0.00
溶媒対照 (DMSO)	96.63	100.00	89.25	100.00	0.00	0.00
3.0 µg/mL	86.25	89.26	91.88	102.95	0.00	0.00
4.0 µg/mL	72.50	75.03	120.63	135.16	0.56	0.45
5.0 µg/mL	72.25	74.77	97.50	109.24	4.17	4.27
6.0 µg/mL	68.38	70.76	96.88	108.55	5.28	5.30
7.0 µg/mL	70.75	73.22	91.38	102.39	7.50	8.37
8.0 µg/mL	58.38	60.42	97.25	108.96	5.00	5.13
陽性対照 (EMS) 300.0 µg/mL	62.00	64.16	84.75	94.96	262.50	309.45

^a = 同上

^b = 同上

^c = 同上

表 4 突然変異頻度 - 3回目の試験, S-9 Mix 非存在下

試験群用量	細胞毒性 1 ^a		細胞毒性 2 ^b		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)	
	コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		無補正	補正 ^c
	絶対	相対	絶対	相対		
無処理対照	92.38	-	93.38	-	0.56	0.72
溶媒対照 (DMSO)	75.13	100.00	91.38	100.00	1.11	1.22
1.25 µg/mL	74.75	99.49	88.38	96.72	4.72	5.15
2.5 µg/mL	65.38	87.02	91.50	100.13	1.67	1.88
5.0 µg/mL	77.88	103.66	98.13	107.39	1.11	1.52
10.0 µg/mL	69.38	92.35	96.38	105.47	1.39	1.43
20.0 µg/mL	66.13	88.02	100.50	109.98	2.22	2.72
陽性対照 (EMS) 300.0 µg/mL	72.00	95.83	90.63	99.18	182.50	201.73

^a = 被験物質処理終了後 17-24 時間培養後のコロニー形成率 (被験物質処理後 17-24 時間培養後に各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^b = 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率 (突然変異体の選択と平行して, 各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^c = 突然変異発現時間終了時の絶対コロニー形成率 (細胞毒性 2) を基に補正

表 5 突然変異頻度 - 3回目の試験, S-9 Mix 存在下

試験群用量	細胞毒性 1 ^a		細胞毒性 2 ^b		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)	
	コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		無補正	補正 ^c
	絶対	相対	絶対	相対		
無処理対照	89.88	-	98.00	-	1.95	1.92
溶媒対照 (DMSO)	78.50	100.00	91.50	100.00	3.89	3.98
1.25 µg/mL	84.63	107.81	98.50	107.65	0.00	0.00
2.5 µg/mL	76.50	97.45	89.75	98.09	1.67	1.85
5.0 µg/mL	79.88	101.76	95.75	104.64	0.56	0.48
10.0 µg/mL	76.50	97.45	82.38	90.03	7.50	8.93
20.0 µg/mL	73.25	93.31	88.13	96.32	0.84	0.87
陽性対照 (MCA) 10.0 µg/mL	59.00	75.16	65.88	72.00	417.78	645.37

^a = 同上

^b = 同上

^c = 同上

10) 生体機能影響試験

ピラクロストロビンの生体機能影響試験

(資料 32)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

1) マウス及びラットの中樞神経系に対する作用

① 雌雄マウスの症状及び体重

供試動物：ICR系マウス，6週齢，体重：雄 29.9～36.2g，雌 22.3～25.6g，
一群雌雄各 3 匹

方 法：検体を溶媒の 1% ツィーン 80 水溶液に懸濁し，0 (溶媒のみ)，320，800，2000
及び 5000mg/kg の用量で経口投与した。行動を投与直前，投与後 1 及び 6 時
間と 1，2，3 及び 7 日目に Irwin の方法に従って多元観察した。体重は，投
与直前と投与後 1，2，3 及び 7 日目に測定した。

結 果：5000mg/kg まで明確な異常症状は認められなかったが，5000mg/kg 投与群の雄
で投与 1 時間に自発運動の低下，握力の低下，下痢の発現が，雌では投与 1
日から 3 日にかけて躯体筋緊張の低下が疑われた。5000mg/kg 投与群の雌 1
例が投与 1 日に死亡した。

体重には雌雄とも検体投与によると思われる変化は認められなかった。

② 雄ラットの症状及び体重

供試動物：Sprague-Dawley 系雄ラット，6週齢，体重：230～258g，一群 5 匹

方 法：検体を溶媒の 1% ツィーン 80 水溶液に懸濁し，0 (溶媒のみ)，320，800，2000
及び 5000mg/kg の用量で経口投与した。急性毒性症状の有無を投与 1 日前，
投与後 1 及び 6 時間と 1，2，3，5 及び 7 日目にケージサイドから観察した。
体重は，投与直前と投与後 1，2，3，5 及び 7 日目に測定した。

結 果：5000mg/kg で流涎，下痢，よろめき歩行を発現した個体がみられた。流涎は
投与 1 時間，下痢及びよろめき歩行は投与 3 日から 5 日にかけて認められた。
これらの症状は投与 7 日には消失した。2000mg/kg 以下では検体投与による
と思われる異常症状は認められなかった。

体重は 2000mg/kg 以上で有意に減少した。この減少は投与 1 日以降に認められ，

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

投与 7 日には回復の傾向を示した。800mg/kg 以下では検体投与によると思われる体重の変化は認められなかった。

③ 雄マウスのヘキソバルピタール睡眠に対する作用

供試動物：ICR 系雄マウス，6 週齢，体重；28.2～38.5g，一群 8 匹

方 法：検体を溶媒の 1% ツィーン 80 水溶液に懸濁し，0 (溶媒のみ)，128，320，800，2000 及び 5000mg/kg の用量で経口投与した。睡眠時間は，検体投与 1 時間後にヘキソバルピタールを 100mg/kg の用量で皮下投与し，正向反射の消失から回復までの時間を測定した。

結 果：2000mg/kg 以上で，軽度であるが有意な睡眠時間の延長が認められた ($p \leq 0.05$, Dunnett の多重比較検定，5000mg/kg 群で対照群の約 1.4 倍)。800mg/kg 以下では検体投与によると思われる有意な変化は認められなかった。

④ 雄ラットの体温に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley 系雄ラット，6 週齢，体重；230～258g，一群 5 匹

方 法：「② 雄ラットの症状及び体重」の動物を用いて，投与 1 日前，投与後 1 及び 6 時間と 1，2，3，5 及び 7 日目に症状を調べた後，Digital laboratory thermometer を用いて肛門内約 4cm の直腸温を測定した。

結 果：5000mg/kg まで検体投与によると思われる変化は認められなかった。

2) ラットの循環器に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley 系雄ラット，6 週齢，体重；242～284g，一群 5 匹

方 法：検体を溶媒の 1% ツィーン 80 水溶液に懸濁し，0 (溶媒のみ)，800，2000 及び 5000mg/kg の用量で経口投与した。投与 1 日前，投与後 1 及び 6 時間と 1，2，3 及び 7 日目に動物を保定箱に收容し，約 32℃ で約 15 分間保温した後，尾部に加圧カフを装着し，非観血式血圧測定装置を用いて安静時の最高血圧と心拍数を測定した。

結 果：2000mg/kg で 1 例と 5000mg/kg で 2 例が投与 3 日から 7 日にかけて死亡した。しかし，最高血圧及び心拍数に検体投与によると思われる変化は認められなかった。

3) ラットの自律神経系に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley 系雄ラット，6 週齢，体重：230～258g，一群 5 匹

方 法：「② 雄ラットの症状及び体重」の動物を用いて，投与 1 日前，投与後 1 及び 6 時間と 1，2，3，5 及び 7 日目に症状と体温を調べた後，ルーペを用いて瞳孔径を測定した。

結 果：5000mg/kg まで検体投与によると思われる変化は認められなかった。

4) マウスの消化器に対する作用

供試動物：ICR 系雄マウス，6 週齢，体重：25.9～36.0g，一群 8 匹

方 法：検体を溶媒の 1% ツィーン 80 水溶液に懸濁し，0(溶媒のみ)，20.5，51.2，128，320，800，2000 及び 5000mg/kg [試験 I] または 0(溶媒のみ)，51.2，128，320，800，2000 及び 5000mg/kg [試験 II] の用量で経口投与した。検体投与 1 時間後に炭末懸濁液(10% アラビアゴム水溶液中 10% の濃度)を 10ml/kg の容量で経口投与した。検体投与前に一晚(約 16～18 時間) [試験 I] または約 2 時間 [試験 II] 動物を絶食させたが，水は自由に摂取させた。炭末投与 30 分後に動物をエーテルで屠殺して小腸を摘出した。小腸開始部から炭末先端までの長さを測り，全小腸の長さに対する炭末移動距離の比率(%)を求めた。

結 果：試験 I(一晚絶食群)では，320mg/kg 投与群の 3 例，800mg/kg 投与群の 7 例，2000mg/kg 投与群の 5 例，5000mg/kg 投与群の 4 例が炭末投与前に死亡した。炭末輸送能は 128 及び 320mg/kg で統計学的に有意な促進を示したが，より低用量(20.5 及び 51.2mg/kg)ならびに高用量(2000 及び 5000mg/kg)の群の生存例に明確な変化はみられなかった。

試験 II(約 2 時間絶食群)では，800mg/kg 投与群の 1 例，2000mg/kg 投与群の 2 例，5000mg/kg 投与群の 1 例が炭末投与前に死亡した。炭末輸送能は 5000mg/kg まで明確な変化を示さなかった。

これらの結果から，絶食時間が長くなると検体による急性致死作用が増強されること，試験 I の 128 及び 320mg/kg でみられた促進は検体投与による変化ではなく，偶発的な結果であると考えられた。

5) ラットの骨格筋に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley 系雄ラット，6 週齢，体重：230～258g，一群 5 匹

方 法：「② 雄ラットの症状及び体重」の動物を用いて、投与1日前、投与後1及び6時間と1, 2, 3, 5及び7日目に症状、体温及び瞳孔径を調べた後、握力測定装置のグリッドに四肢を掴ませ、保定した尾を後方に引き、グリッドから四肢が離れた時(最大)の握力を測定した。

結 果：5000mg/kg まで検体投与によると思われる変化は認められなかった。

6) ラットの腎機能に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley 系雄ラット、 6 週齢、体重：186~208g、一群 5 匹
7 週齢、体重：286~354g、一群 5 匹

方 法：検体を溶媒の1%ツィーン 80 水溶液に懸濁し、0(溶媒のみ)、51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000mg/kg の用量で経口投与した。投与3日後に、生理食塩液を25ml/kg の容量で30分おきに2回経口投与し、2回目の生理食塩液投与後直ちに動物を採尿ケージに入れて3時間の尿を採取した。

検査項目	検査機器及び試薬
尿 量	メスシリンダー
Na, K, Cl 濃度及び排泄量	全自動電解質分析装置(EA06T)
浸透圧	浸透圧計(Micro osmometer)
pH, 潜血, 蛋白質, ケトン体, グルコース量	試験紙(ウロラプスティック)

結 果：5000mg/kg で3例が採尿時(投与3日目)までに死亡した。800mg/kg 以上で尿量、尿中 Na, K, Cl 排泄量が用量に依存して減少した。尿中 Na, K, Cl 濃度には5000mg/kg まで明確な変化はみられなかった。このことは、電解質排泄量の減少は尿量減少に起因することを示唆していた。320mg/kg 以下では尿量、尿中 Na, K, Cl 排泄量の明確な変化は認められなかった。浸透圧、pH、潜血、蛋白質、ケトン体、グルコース量には5000mg/kg まで検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上のことより、本剤をマウスに経口投与すると、5000mg/kg の用量まで症状、体重及び小腸炭末輸送能に明確な異常は認められなかった。ヘキソバルビタール睡眠時間は2000mg/kg 以上で軽度延長された。ラットに経口投与すると、2000mg/kg 以上で体重減少、5000mg/kg で流涎、下痢、よるめき歩行などの症状が認められた。800mg/kg 以上で尿量及び尿中電解質排泄量の減少がみられたが、5000mg/kg まで体温、血圧・心拍数、瞳孔径、握力に明確な変化は認められなかった。マウス及びラットとも2000mg/kg 以上で死亡がみられたが、マウスでは絶食時間を長くすることによってより低用量から死亡した(約2時間絶食では800mg/kg 以上、一晚絶食では320mg/kg 以上)。本試験ならびに急性毒性試験の結果から、原体は経口及び経皮経路で低毒性を示すのに対して比較的強い吸入毒性を示すが、本剤を含む製剤(20%ドライフロアブル)は経口、経皮経路とともに吸入経路でも低毒性を示すことが示唆された。20%ドライフロアブル製剤が散布作業に伴なって摂取されたり、誤って摂取された場合に急性中毒を生ずる可能性は低いと予想される。

「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 (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
中枢神経系 症状 [Irwin法] (雌雄マウス)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0, 320, 800, 2000, 5000	雌雄各 3	5000	2000	検体投与によると思われる明確な異常は認められなかった。 死亡： 1例(雌, 5000mg/kg)
症状 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0, 320, 800, 2000, 5000	5	2000	800	流涎, 下痢, よろめき 歩行, 体重減少が観察 された。
ヘキサバルビタル 睡眠 (雄マウス)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0, 128, 320, 800, 2000, 5000	8	2000	800	睡眠時間の延長が観察 された。
体温 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0, 320, 800, 2000, 5000	5	—	5000	検体投与によると思われる変化は認められなかった。
循環器系 血圧, 心拍数 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0, 800, 2000, 5000	5	—	5000	検体投与によると思われる変化は認められなかった。 死亡： 1例(2000mg/kg), 1例(5000mg/kg)
自律神経系 瞳孔径 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0, 320, 800, 2000, 5000	5	—	5000	検体投与によると思われる変化は認められなかった。
消化器 炭末輸送 (雄マウス)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000, 5000	8	—	5000	検体投与によると思われる変化は認められなかった。 死亡*： 320mg/kg: 3例 800mg/kg: 7例(1例) 2000mg/kg: 5例(2例) 5000mg/kg: 4例(1例)
骨格筋 握力 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0, 320, 800, 2000, 5000	5	—	5000	検体投与によると思われる変化は認められなかった。
腎機能 尿量, 尿中電 解質(Na, K, Cl)濃度及び 排泄量, 浸透 圧, pH, 潜血, 蛋白質, ケトン 体, グルコース量 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0, 51.2, 128, 320, 800, 2000, 5000	5	800	320	尿量と尿中電解質排泄 量の減少が認められ た。 死亡： 3例(5000mg/kg)

* 一晚絶食群(約2時間絶食群)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclastrobin

11) その他

11-1) ラットにおけるメカニズム試験 (血清及び尿中铁分析)

(資料 38)

試験機関 :

報告書作成年 :

検体純度 :

供試動物 : Wistar CriGlxBriHan:WI ラット, 1 群雌雄各 10 匹, 開始 9 週齢

試験開始時体重範囲 (雄 : 220.6-249.6g, 雌 : 157.2-179.9g)

試験目的 : ラットの 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 16) において, 高用量投与の雌雄で十二指腸粘膜の壁肥厚が観察された。鉄は主として十二指腸から吸収されるが, 検体投与により血中から鉄が失われることで十二指腸における鉄吸収要求が高まり, その結果十二指腸に前記変化が生じたものと推察した。本試験はその推察を検証する目的で, 検体投与後の血清及び尿中铁濃度と, 血清におけるトランスフェリン濃度を測定したものである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

以上の成績より、血清中鉄濃度の減少に関する無影響量は 50ppm (雄 : 3.8 mg/kg/day, 雌 : 4.1 mg/kg/day) であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

11-2) ラットにおけるメカニズム試験 (酸化ストレス的影響)

(資料 39)

試験機関:

報告書作成年:

検体純度:

供試動物: Wistar CrIGIxBrIHan:WI ラット,

試験目的: ラットの 24 ヶ月間経口発がん性試験 (資料 22) において, 高用量投与の雄で肝細胞の壊死および腺腫が観察された。本試験はそれら所見の関連性の有無および頻度増加について肝臓に酸化ストレス的影響があるかどうかを検証する目的で, 実施したものである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

以上より、検体投与により過酸化脂質は減少しており、肝臓に対して酸化ストレス的影響は及ぼさないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclastrobin

11-3) *in vitro* 溶血試験 (スクリーニング試験)

(資料 40)

試験機関 :

報告書作成年 :

検体純度 :

試験の目的 : ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 16) でみられた貧血は、その臨床所見より当初溶血性貧血と診断した。その後の検討で溶血性貧血ではなく、低血色素性貧血と判断されたことより、本薬に直接的溶血作用がないことを確認するため、*in vitro* での試験を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結 論： は *in vitro* の溶血試験において、比較的高い濃度 (0.1% w/v) と赤血球懸濁液を 2 時間攪拌した後も溶血を起こさなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

表 1. 結 果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclastrobin

11-4) ラットに対する

混餌投与及びビタミン B₁₂ 同時皮下投与試験

(資料 41)

試験機関:

報告書作成年:

検体純度:

ビタミン B₁₂: シアノコバラミン 100 μ g 溶液

供試動物: Wistar 系ラット [CrIGlxBrIHan:WI],

投与期間:

試験目的: 本試験の目的は、検体の経口投与により誘発された影響 (貧血、血清鉄濃度の低下及び十二指腸肥厚) がビタミン B₁₂ の同時投与で抑制されるか検討する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

ビタミン B₁₂ を毎日皮下投与する群を設け、検体の経口投与により誘発された影響（貧血、血清鉄濃度低下及び十二指腸肥厚）がビタミン B₁₂ の同時皮下投与で抑制されるか検討した。その結果、ビタミン B₁₂ 投与の有無に係らず検体投与群で体重及び摂餌量の低下、鉄欠乏性貧血（貧血及び血清鉄濃度の低下）並びに十二指腸重量の増加が認められ、検体に起因する貧血、血清鉄濃度低下及び十二指腸重量増加は、ビタミン B₁₂ を同時投与しても抑制できなかった。また、前胃及び腺胃の pH に検体投与の影響はなかった。

以上の結果から、検体の投与による血清鉄濃度の低下が貧血及び十二指腸肥厚の原因であることが明らかになった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

2. (原体中混在物及び)代謝物を用いた試験

1) 代謝・分解物の変異原性試験

1-1) 代謝物 () の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 33)

試験機関:

報告書作成年:

由来:

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 [Salmonella typhimurium(TA1535, TA100, TA1537, TA98 株)] 及びトリプトファン要求性の大腸菌 [Escherichia coli (WP2 uvrA 株)] を用い, ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下での及び非存在下での標準プレート法, 及びハムスターの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下でのプレインキュベーション改変法*により Ames らの方法で変異原性を検定した. 溶媒として DMSO を用い, 最高試験濃度は標準プレート法で 5000 μ g/plate, プレインキュベーション改変法では 2500 μ g/plate とした.

(*フラビノヌクレオチド (FMN), 非誘導ハムスター-肝細胞 S-9Mix 及びプレインキュベーションにより 7 β 還元化並びに生成する変異原性芳香族アミンの検出を向上させる試験法)

結 果 :

標準プレート法

[数値は3プレートの平均, ()内はSD]

薬 物	濃 度 (μ g/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	30 (3)	18 (2)	109 (6)	8 (2)	23 (2)
検 体	20	-	34 (5)	17 (1)	105 (2)	8 (2)	22 (2)
	100* ¹	-	31 (2)	17 (1)	103 (8)	8 (1)	21 (3)
	500* ¹	-	31 (2)	18 (1)	107 (2)	8 (0)	22 (2)
	2500* ¹	-	20 (2)	11 (4)	61 (4)	4 (1)	18 (1)
	5000* ¹	-	25 (3)	8 (3)* ³	24 (1)* ³	2 (1)* ³	8 (2)* ³
対照 (DMSO)		+	39 (1)	21 (2)	108 (7)	12 (2)	36 (5)
検 体	20	+	42 (3)	18 (1)	103 (5)	11 (2)	37 (2)
	100* ¹	+	37 (5)	17 (1)	121 (25)	11 (2)	37 (3)
	500* ¹	+	34 (5)	17 (1)	116 (8)	13 (2)	35 (6)
	2500* ¹	+	30 (4)	10 (2)	109 (2)	9 (1)	32 (3)
	5000* ¹	+	32 (3)	12 (1)	99 (3)	4 (1)	34 (6)
陽性対照* ²	2-AA 2.5	+		443 (78)	1205 (66)	116 (12)	1149 (52)
	2-AA 60	+	274 (22)				
	AAC 100	-				1189 (102)	
	MNNG 5	-		1614 (170)	1088 (88)		
	NOPD 10	-					858 (105)
	4-NQO	-	1225 (75)				

*1. 約 100 μ g/plate 以上で不溶性沈殿物を認める。

*2. 2-AA : 2-aminoanthracene

AAC : 9-aminoacridine

4-NQO : 4-nitroquinoline-N-oxide

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

NOPD : 4-nitro-o-phenylenediamine

*3. 背景値の減少

プレインキュベーション改変法

[数値は3プレートの平均, ()内はSD]

薬 物	濃 度 (μ g/plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		+	18 (1)	107 (3)	9 (2)	45 (2)
検 体	4	+	15 (2)	108 (8)	12 (2)	40 (9)
	20	+	14 (3)	114 (9)	9 (2)	29 (7)
	100* ¹	+	13 (3)	108 (9)	9 (2)	26 (4)
	500* ¹	+	9 (1)	104 (11)	8 (4)	21 (2)
	2500* ¹	+	9 (2)	105 (10)	6 (2)	23 (3)
陽性対照* ²	2-AA 10	+	187 (12)	583 (89)	108 (22)	568 (56)
	CONGOR. 210	+				212 (40)
	BENZID. 55	+				724 (32)

*1. 約 100 μ g/plate 以上で不溶性沈殿物を認める。

*2. 2-AA : 2-aminoanthracene

CONGOR. : Congo red

BENZID. : Benzidine

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下での標準プレート法(最高試験濃度: 5000 μ g/plate)及び代謝活性化系の存在下のみでのプレインキュベーション改変法(最高試験濃度: 2500 μ g/plate)の各試験いずれにおいても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-AA, AAC, 4-NQO, MNNG, NOPD, CONGOR., BENZID. では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

1-2) 代謝物 () の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 34)

試験機関:

報告書作成年:

由来:

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 [Salmonella typhimurium (TA1535, TA100, TA1537, TA98 株)] 及びトリプトファン要求性の大腸菌 [Escherichia coli (WP2 uvrA 株)] を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下での及び非存在下での標準プレート法、及びハムスターの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下でのプレインキュベーション改変法*により Ames らの方法で変異原性を検定した。溶媒として DMSO を用い、最高試験濃度は標準プレート法で 5000 μ g/plate、プレインキュベーション改変法では 2500 μ g/plate とした。

(*フラビンモノヌクレオチド (FMN)、非誘導ハムスター肝細胞 S-9 Mix 及びプレインキュベーションにより 7 β -還元化並びに生成する変異原性芳香族アミンの検出を向上させる試験法)

結 果 :

標準プレート法

[数値は3プレートの平均, ()内はSD]

薬 物	濃 度 (μ g/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	30 (3)	18 (2)	109 (6)	8 (2)	23 (2)
検 体	20	-	32 (5)	17 (1)	108 (5)	9 (3)	25 (2)
	100* ¹	-	26 (2)	18 (2)	99 (9)	8 (2)	21 (2)
	500* ¹	-	26 (3)	18 (1)	111 (9)	7 (1)	19 (2)
	2500* ¹	-	26 (4)	17 (0)	105 (6)	5 (1)	19 (2)
	5000* ¹	-	25 (2)	15 (3)	96 (5)	6 (2)	19 (2)
対照 (DMSO)		+	39 (1)	21 (2)	108 (7)	12 (2)	36 (5)
検 体	20	+	36 (4)	19 (3)	114 (8)	10 (2)	44 (2)
	100* ¹	+	34 (1)	18 (1)	114 (7)	11 (4)	40 (3)
	500* ¹	+	31 (3)	17 (1)	103 (8)	7 (1)	37 (6)
	2500* ¹	+	27 (5)	17 (2)	94 (10)	3 (1)	31 (2)
	5000* ¹	+	26 (4)	17 (3)	96 (5)	6 (1)	31 (2)
陽性対照* ²	2-AA 2.5	+		443 (78)	1205 (66)	116 (12)	1149 (52)
	2-AA 60	+	274 (22)				
	AAC 100	-				1189 (102)	
	MNNG 5	-		1614 (170)	1088 (88)		
	NOPD 10	-					858 (105)
	4-NQO	-		1225 (75)			

*1. 約 100 μ g/plate 以上で不溶性沈殿物を認める。

*2. 2-AA : 2-aminoanthracene

AAC : 9-aminoacridine

4-NQO : 4-nitroquinoline-N-oxide

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

NOPD : 4-nitro-o-phenylenediamine

プレインキュベーション改変法

[数値は3プレートの平均, ()内はSD]

薬 物	濃 度 (μ g/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		+	18 (1)	107 (3)	9 (2)	45 (2)
検 体	4	+	14 (3)	114 (15)	10 (2)	38 (6)
	20	+	16 (1)	112 (5)	9 (2)	35 (7)
	100* ¹	+	13 (1)	103 (8)	6 (2)	37 (6)
	500* ¹	+	11 (1)	108 (6)	7 (1)	29 (6)
	2500* ¹	+	6 (1)	109 (9)	4 (0)	25 (3)
陽性対照* ²	2-AA 10	+	187 (12)	583 (89)	108 (22)	568 (56)
	CONGOR. 210	+				212 (40)
	BENZID. 55	+				724 (32)

*1. 約 100 μ g/plate 以上で不溶性沈殿物を認める。

*2. 2-AA : 2-aminoanthracene

CONGOR. : Congo red

BENZID. : Benzidine

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下での標準プレート法(最高試験濃度: 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$)及び代謝活性化系の存在下のみでのプレインキュベーション改変法(最高試験濃度: 2500 $\mu\text{g}/\text{plate}$)の各試験いずれにおいても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-AA, AAC, 4-NQO, MNNG, NOPD, CONGOR., BENZID. では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

1-3) 代謝物 () の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 35)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

由来:

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 [Salmonella typhimurium (TA1535, TA100, TA1537, TA98 株)] 及びトリプトファン要求性の大腸菌 [Escherichia coli (WP2 uvrA 株)] を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下での標準プレート法及びプレインキュベーション法により Ames らの方法で変異原性を検定した。溶媒として DMSO を用い、最高試験濃度は標準プレート法及びプレインキュベーション法でそれぞれ 5000 µg/plate とした。

結果:

標準プレート法

[数値は3プレートの平均, ()内はSD]

薬物	濃度 (µg/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	41 (3)	19 (2)	112 (3)	10 (3)	25 (2)
検体	20	-	35 (5)	16 (2)	104 (5)	7 (2)	25 (5)
	100	-	33 (4)	20 (4)	111 (13)	8 (2)	25 (2)
	500	-	31 (6)	17 (1)	110 (10)	6 (1)	19 (3)
	2500	-	35 (4)	17 (2)	82 (5)	5 (1)	16 (3)
	5000	-	35 (4)	16 (4)	66 (10)	3 (1)	14 (3)
対照 (DMSO)		+	42 (8)	18 (3)	116 (10)	12 (1)	37 (4)
検体	20	+	37 (4)	16 (2)	134 (7)	9 (3)	30 (4)
	100	+	36 (5)	16 (1)	118 (24)	9 (2)	24 (2)
	500	+	34 (2)	14 (1)	85 (7)	10 (2)	32 (3)
	2500	+	42 (5)	11 (2)	104 (12)	7 (1)	27 (5)
	5000	+	37 (3)	9 (2)	91 (2)	4 (2)	17 (3)
陽性対照*1	2-AA 2.5	+		125 (6)	918 (141)	101 (6)	859 (51)
	2-AA 60	+	225 (13)				
	AAC 100	-				633 (34)	
	MNNG 5.0	-		633 (9)	719 (116)		
	NOPD 10	-					767 (57)
	4-NQO 5.0	-	810 (18)				

*1. 2-AA: 2-aminoanthracene

MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

AAC: 9-aminoacridine

NOPD: 4-nitro-o-phenyldiamine

4-NQO: 4-nitroquinoline-N-oxide

プレインキュベーション法

[数値は3プレートの平均, ()内はSD]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	34 (3)	20 (3)	121 (12)	9 (2)	23 (2)
検体	20	-	35 (1)	18 (4)	101 (8)	7 (2)	23 (4)
	100	-	33 (3)	15 (4)	85 (8)	6 (1)	20 (1)
	500	-	26 (3)	16 (3)	86 (4)	6 (1)	17 (1)
	2500	-	30 (7)	15 (1)	88 (9)	6 (2)	20 (5)
	5000	-	29 (7)	13 (2)	71 (5)	4 (2)	17 (3)
対照 (DMSO)		+	34 (4)	19 (2)	121 (15)	9 (1)	34 (5)
検体	20	+	27 (6)	17 (1)	108 (8)	8 (1)	29 (8)
	100	+	24 (2)	14 (3)	102 (12)	9 (1)	26 (5)
	500	+	20 (2)	13 (2)	108 (17)	6 (1)	25 (4)
	2500	+	21 (4)	13 (1)	82 (8)	7 (1)	33 (8)
	5000	+	19 (2)	10 (1)	56 (5)	4 (2)	24 (4)
陽性対照*	2-AA 2.5	+		134 (22)	558 (49)	104 (10)	566 (58)
	2-AA 60	+	225 (13)				
	AAC 100	-				387 (61)	
	MNNG 5.0	-		955 (24)	856 (50)		
	NOPD 10	-					1054 (44)
	4-NQO 5.0	-	621 (37)				

*1. 2-AA : 2-aminoanthracene

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

AAC : 9-aminoacridine

NOPD : 4-nitro-o-phenylendiamine

4-NQO : 4-nitroquinoline-N-oxide

検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下での標準プレート法及びプレインキュベーション法による最高試験濃度 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の各試験いずれにおいても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-AA, AAC, 4-NQO, MNNG, NOPD では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

1-4) 代謝物 () の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 36)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

由来:

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 [Salmonella typhimurium (TA1535, TA100, TA1537, TA98 株)] 及びトリプトファン要求性の大腸菌 [Escherichia coli (WP2 uvrA 株)] を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下での標準プレート法及びプレインキュベーション法により Ames らの方法で変異原性を検定した。溶媒として DMSO を用い、最高試験濃度は標準プレート法で 5000 µg/plate、プレインキュベーション法では 2500 µg/plate とした。

結果:

標準プレート法

[数値は3プレートの平均, ()内はSD]

薬物	濃度 (µg/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	41 (3)	19 (2)	112 (3)	10 (3)	25 (2)
検体	20	-	28 (7)	19 (4)	106 (13)	9 (2)	23 (3)
	100	-	33 (7)	21 (2)	92 (4)	8 (1)	22 (1)
	500	-	36 (2)	22 (3)	89 (7)	6 (3)	22 (5)
	2500	-	27 (4)	15 (3)	58 (2)	5 (3)	13 (2)
	5000	-	18 (10)	13 (4)	31 (4)	3 (1)	8 (2)
対照 (DMSO)		+	42 (8)	18 (3)	116 (10)	12 (1)	37 (4)
検体	20	+	46 (10)	17 (2)	103 (2)	8 (1)	23 (4)
	100	+	60 (3)	18 (2)	131 (9)	9 (1)	27 (4)
	500	+	53 (4)	15 (1)	120 (3)	7 (2)	24 (3)
	2500	+	63 (7)	16 (3)	105 (13)	6 (3)	23 (7)
	5000	+	51 (6)	11 (1)	37 (4)	1 (1)	13 (2)
陽性対照*1	2-AA 2.5	+		125 (6)	918 (141)	101 (6)	859 (51)
	2-AA 60	+	225 (13)				
	AAC 100	-				633 (34)	
	MNNG 5.0	-		633 (9)	719 (116)		
	NOPD 10	-					767 (57)
	4-NQO 5.0	-	810 (18)				

*1. 2-AA: 2-aminoanthracene

MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

AAC: 9-aminoacridine

NOPD: 4-nitro-o-phenyldiamine

4-NQO: 4-nitroquinoline-N-oxide

プレインキュベーション法

[数値は3プレートの平均, ()内はSD]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	34 (3)	20 (3)	121 (12)	9 (2)	23 (2)
検体	4	-	32 (1)	17 (4)	94 (2)	9 (2)	21 (3)
	20	-	33 (4)	15 (3)	97 (6)	6 (3)	19 (3)
	100	-	32 (3)	16 (3)	93 (10)	7 (2)	18 (1)
	500	-	34 (3)	18 (2)	97 (7)	6 (2)	17 (5)
	2500	-	23 (3)	8 (3)	31 (2)	4 (1)	9 (4)
対照 (DMSO)		+	34 (4)	19 (2)	121 (15)	9 (1)	34 (5)
検体	4	+	26 (4)	15 (2)	95 (11)	8 (2)	27 (4)
	20	+	22 (4)	14 (2)	103 (7)	6 (1)	26 (5)
	100	+	20 (4)	16 (3)	102 (3)	7 (1)	25 (2)
	500	+	24 (3)	14 (2)	106 (4)	6 (0)	21 (4)
	2500	+	14 (4)	9 (1)	54 (3)	5 (1)	12 (1)
陽性対照*	2-AA 2.5	+		134 (22)	558 (49)	104 (10)	566 (58)
	2-AA 60	+	219 (11)				
	AAC 100	-				387 (61)	
	MNNG 5.0	-		955 (24)	856 (50)		
	NOPD 10	-					1054 (44)
	4-NQO 5.0	-	621 (37)				

*1. 2-AA: 2-aminoanthracene

MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

AAC: 9-aminoacridine

NOPD: 4-nitro-o-phenyldiamine

4-NQO: 4-nitroquinoline-N-oxide

検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下での標準プレート法(最高試験濃度: 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$)及びプレインキュベーション法(最高試験濃度 2500 $\mu\text{g}/\text{plate}$)の各試験いづれにおいても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-AA, AAC, 4-NQO, MNNG, NOPD では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

1-5) 代謝物 () の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 37)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

由来:

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 [Salmonella typhimurium (TA1535, TA100, TA1537, TA98 株)] 及びトリプトファン要求性の大腸菌 [Escherichia coli (WP2 uvrA 株)] を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下での標準プレート法及びプレインキュベーション法により Ames らの方法で変異原性を検定した。溶媒として DMSO を用い、最高試験濃度は標準プレート法及びプレインキュベーション法でそれぞれ 5500 µg/plate とした。

結果:

標準プレート法

[数値は 3 プレートの平均, () 内は S D]

薬物	濃度 (µg/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	34 (2)	18 (1)	105 (10)	9 (2)	26 (3)
検体	22	-	31 (4)	17 (3)	116 (8)	8 (2)	24 (3)
	110	-	34 (3)	15 (1)	112 (13)	7 (1)	23 (4)
	550	-	32 (6)	14 (3)	111 (5)	5 (1)	20 (4)
	2750	-	29 (2)	13 (1)	94 (11)	3 (3)	24 (6)
	5500	-	27 (6)	11 (2)	89 (7)	4 (0)	12 (3)
対照 (DMSO)		+	37 (4)	18 (2)	109 (3)	9 (2)	27 (5)
検体	22	+	29 (6)	19 (2)	100 (14)	7 (1)	36 (5)
	110	+	36 (9)	14 (1)	111 (3)	7 (1)	41 (6)
	550	+	33 (4)	17 (4)	115 (16)	6 (2)	44 (3)
	2750	+	33 (8)	13 (2)	109 (8)	5 (2)	20 (5)
	5500	+	36 (5)	13 (2)	92 (11)	3 (1)	14 (2)
陽性対照*1	2-AA 2.5	+		109 (5)	569 (71)	100 (2)	608 (29)
	2-AA 60	+	211 (15)				
	AAC 100	-				554 (53)	
	MNNG 5.0	-		561 (46)	666 (81)		
	NOPD 10	-					870 (48)
	4-NQO 5.0	-	1108 (104)				

*1. 2-AA: 2-aminoanthracene

MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

AAC: 9-aminoacridine

NOPD: 4-nitro-o-phenylenediamine

4-NQO: 4-nitroquinoline-N-oxide

プレインキュベーション法

〔数値は3プレートの平均、()内はSD〕

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	32 (3)	19 (1)	104 (4)	10 (1)	24 (4)
検体	22	-	33 (3)	17 (1)	106 (18)	8 (1)	25 (4)
	110	-	30 (2)	17 (2)	96 (9)	10 (2)	19 (2)
	550	-	27 (2)	15 (3)	100 (1)	8 (2)	20 (4)
	2750	-	29 (2)	14 (1)	93 (3)	8 (1)	18 (4)
	5500	-	12 (4)	*1	*1	5 (1)	14 (3)
対照 (DMSO)		+	33 (3)	17 (2)	108 (7)	10 (1)	31 (2)
検体	22	+	32 (4)	15 (1)	100 (19)	8 (1)	22 (3)
	110	+	26 (3)	15 (1)	109 (8)	8 (2)	16 (5)
	550	+	28 (4)	14 (5)	93 (7)	7 (2)	14 (4)
	2750	+	23 (3)	12 (2)	114 (10)	7 (2)	12 (3)
	5500	+	11 (2)	6 (2)	93 (21)	*1	5 (1)
陽性対照*2	2-AA 2.5	+		121 (13)	636 (27)	101 (8)	829 (60)
	2-AA 60	+	224 (18)				
	AAC 100	-				676 (55)	
	MNNG 5.0	-		877 (93)	1025 (97)		
	NOPD 10	-					590 (27)
	4-NQO 5.0	-	627 (25)				

*1. 背景成長の減少

*2. 2-AA : 2-aminoanthracene

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

AAC : 9-aminoacridine

NOPD : 4-nitro-o-phenylenediamine

4-NQO : 4-nitroquinoline-N-oxide

検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下での標準プレート法及びプレインキュベーション法で最高試験濃度 $5500 \mu\text{g}/\text{plate}$ における各試験いずれにおいても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-AA, AAC, 4-NQO, MNNG, NOPD では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

1-6) 代謝物 () の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験 (資料 43)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年 :

由来 :

検体の純度 :

方法 : チャイニーズハムスター由来培養細胞 (V79 細胞) を用い、ラット肝臓より調整した薬物代謝系酵素 (S9 mix) 存在および非存在下での染色体異常試験を実施した。

用量設定試験 :

表 1. 試験系

細胞処理	処理時間		S9 mix	処理濃度	評価細胞数
	暴露	採取時期			
1 回目実験					
溶媒対照	4 時間	18 時間	-	DMSO	200
検体	4 時間	18 時間	-	125 μ g/mL	200
	4 時間	18 時間	-	250 μ g/mL	200
	4 時間	18 時間	-	500 μ g/mL	*100
	4 時間	18 時間	-	EMS 350 μ g/mL	*100
陽性対照	4 時間	18 時間	-	EMS 350 μ g/mL	*100
溶媒対照	4 時間	18 時間	+	DMSO	200
検体	4 時間	18 時間	+	125 μ g/mL	200
	4 時間	18 時間	+	250 μ g/mL	200
	4 時間	18 時間	+	500 μ g/mL	200
	4 時間	18 時間	+	CPP 0.5 μ g/mL	*100
陽性対照	4 時間	18 時間	+	CPP 0.5 μ g/mL	*100
2 回目実験					
溶媒対照	4 時間	18 時間	-	DMSO	200
検体	4 時間	18 時間	-	300 μ g/mL	200
	4 時間	18 時間	-	400 μ g/mL	200
	4 時間	18 時間	-	500 μ g/mL	*100
	4 時間	18 時間	-	EMS 350 μ g/mL	*100
陽性対照	4 時間	18 時間	-	EMS 350 μ g/mL	*100

*染色体異常細胞の明らかな増加により 200 から 100 へ変更

本試験では、溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用い、S9 mix 非存在

下での陽性対照としてメタンスルホン酸エチル (EMS) および S9 mix 存在下での陽性対照としてシクロフォスファミド (CPP) を用いた。

各群 2 枚のチャンパーを用い、同用量で試験を 2 回実施した。

結果：試験成績の概要を表 2 に示す

S9 mix の非存在下で認められた染色体異常では、染色体交換の発生頻度の割合が高く、染色体構造異常を有する細胞数が用量依存的に増加していた。また、同条件下では、染色体数異常 (倍数性や核内倍加など) を有する細胞数が増加していた。

表 2. 染色体異常出現頻度 (%)

処理 μg/mL	S9 mix	染色体異常出現頻度 (%)							
		ギャップ 含	ギャップ 不含	交換	複合異常	異数性	倍数性	核内倍加	
第 1 回目									
溶媒対照	-	2.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.5	0.5	
検 体	125	-	4.5	4.0	2.0	0.0	0.5	0.9	5.1
	250	-	6.5 ↑	6.0	3.5	0.5	0.0	0.9	11.4
	500	-	25.0 ↑ ↑	25.0 ↑ ↑	19.0 ↑ ↑	3.0	0.0	0.0	1.0
EMS 350	-	16.0 ↑ ↑	16.0 ↑ ↑	7.0 ↑ ↑	0.0	0.0	0.0	0.0	
溶媒対照	+	1.5	1.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	
検 体	125	+	3.5	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	250	+	4.0	2.5	0.5	0.0	0.5	0.5	1.0
	500	+	5.5	5.0	3.5	0.0	0.0	0.5	2.4
CPP 0.5	+	17.0 ↑ ↑	17.0 ↑ ↑	8.0 ↑ ↑	0.0	0.0	0.0	0.0	
第 2 回目実験									
溶媒対照	-	3.5	1.0	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	
検 体	300	-	8.5 ↑	6.0 ↑ ↑	3.0 ↑	0.0	0.0	2.7	8.4
	400	-	14.0 ↑ ↑	11.5 ↑ ↑	10.5 ↑ ↑	1.0	0.0	4.4	7.9
	500	-	25.0 ↑ ↑	24.0 ↑ ↑	19.0 ↑ ↑	4.0 ↑	1.0	0.0	3.8
EMS 350	-	25.0 ↑ ↑	25.0 ↑ ↑	20.0 ↑ ↑	0.0	0.0	0.0	0.0	

Fisher 検定 (片側)、↑ ↓ : $p \leq 0.05$ 、↑ ↑ ↓ ↓ : $p \leq 0.01$

以上の結果より、本検体は V79 細胞に対し染色体異常誘発性および倍数性誘発能を有すると判断する。

1-7 代謝物 () のチャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)を用いた
in vitro 遺伝子突然変異試験 (HPRT 遺伝子突然変異試験) (資料 44)

試験実施機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

由 来 :

検体の純度 :

方法 : チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞 : K1 種) を用い、ヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシル・トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子の突然変異誘発性を指標とし、ラット肝臓より調整した S9 mix 存在および非存在下で、検体処理を行った。検体の溶解は、水への溶解性が極めて低いため DMSO を使用した。

用量設定試験 :

表 1. 試験系

試験群	処理時間	S9 mix	濃度 (μg/mL)	処理時間	S9 mix	濃度 (μg/mL)
実験 1						
溶媒対照	4	-	DMSO	4	+	DMSO
検体	4	-	12.5	4	+	62.5
	4	-	25.0	4	+	125.0
	4	-	50.0	4	+	250.0
	4	-	100.0	4	+	500.0
	4	-	200.0	4	+	750.0
	4	-	400.0	4	+	1000.0
	陽性対照	4	-	EMS 300.0	4	+
実験 2						
溶媒対照	4	-	DMSO	4	+	DMSO
検体	4	-	9.38	4	+	62.5
	4	-	18.75	4	+	125.0
	4	-	37.5	4	+	250.0
	4	-	75.0	4	+	500.0
	4	-	150.0	4	+	750.0
	4	-	300.0	4	+	1000.0
	陽性対照	4	-	EMS 300.0	4	+

本試験における陽性対照として、エチルメタンスルフォネート (EMS : S9 mix 非存在下) およびメチルコラントレン (MCA : S9 mix 存在下) 10 μg/mL 濃度を用いた。

また、本試験では溶媒対照を陰性対照とした。

(試験系の許容基準)

- 1) 陰性対照の絶対コロニー形成率は 50%未満であってはならない。
- 2) 陰性対照の突然変異出現頻度は、 10^6 のコロニー形成可能細胞当たり 0~15 個の範囲内にある。
- 3) 陽性対照は、突然変異体頻度の有意な増加を誘発する。
- 4) 毒性のある濃度まで、もしくは培養条件下での溶解性の限界を超える範囲を含む、少なくとも 4 用量を試験する。溶解し、明らかに毒性のない物質は、5 mg/mL 又は 10 mM より高濃度では試験しない。

(陽性の判定基準)

- 1) 陰性対照値および当該研究所の陰性対照データ（ヒストリカル・データ）の範囲をともに上回る補正突然変異出現頻度の増加。
- 2) 突然変異出現頻度に再現性が認められること。
- 3) 突然変異出現頻度の統計学的に有意な増加及び用量反応関連性が認められること。

(陰性の判定基準)

- 1) 用量群の補正突然変異出現頻度が、陰性対照を統計学的に有意に上回って増加せず、当該研究所の陰性対照データ（ヒストリカル・データ）の範囲内にある。

結果： 試験結果の概要を表 2 に示す。

本試験では、検体処理群において、S9 mix の有無に関わらず、いずれの用量においても突然変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。これに対し、陽性対照群では、有意なコロニー数の増加が認められたことから、試験系の妥当性は確保されている。

以上の結果より、本検体はいずれの実験条件・用量においても、突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。したがって、本検体は、突然変異誘発性を有しないと判断する。

表 2. 試験結果の概要

実験 1								
試験群 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 mix	細胞毒性 CE1 (%)		細胞毒性 CE2 (%)		突然変異頻度 ($/10^6$ 細胞)		
		絶対値	相対値	絶対値	相対値	無補正值	補正值	
溶媒対照	-	93.7	100.0	86.9	100.0	1.39	1.62	
検体	12.5	-	96.8	103.3	86.7	99.8	2.78	3.24
	25.0	-	94.7	101.1	84.8	97.6	3.06	3.63
	50.0	-	99.0	105.7	93.5	107.6	5.83	6.27
	100.0	-	93.4	99.7	87.5	100.7	5.00	5.65
	200.0	-	68.3	72.9	80.7	92.9	2.78	3.41
	400.0	-	0.0	0.0				
陽性対照	-	76.7	81.9	88.2	101.5	225.56	253.11	
溶媒対照	+	97.1	100.0	95.6	100.0	1.11	1.20	
検体	62.5	+	93.8	96.6	96.8	101.3	0.56	0.54
	125.0	+	98.9	101.9	87.4	91.4	6.11	7.12
	250.0	+	98.9	101.9	93.2	87.0	1.11	1.28
	500.0	+	90.9	93.6	93.4	97.7	1.39	1.55
	750.0	+	59.0	60.8	92.8	97.1	2.22	2.36
	1000.0	+	5.3	5.5	88.1	92.2	5.84	6.72
陽性対照	+	85.9	88.5	77.9	81.5	171.95	223.63	
実験 2								
溶媒対照	-	98.4	100.0	90.6	100.0	3.06	3.38	
検体	9.38	-	95.4	97.0	81.3	89.7	2.78	3.33
	18.75	-	98.2	99.8	90.9	100.3	2.78	3.09
	37.5	-	102.4	104.1	86.0	94.9	1.12	1.33
	75.0	-	96.8	98.4	82.7	91.3	0.00	0.00
	150.0	-	98.8	100.4	88.9	98.1	0.56	0.63
	300.0	-	0.5	0.5				
陽性対照	-	98.1	99.7	73.9	81.6	211.67	286.23	
溶媒対照	+	98.6	100.0	85.4	100.0	3.61	4.16	
検体	62.5	+	102.3	103.8	87.9	102.9	0.56	0.62
	125.0	+	99.5	100.9	77.5	90.7	0.00	0.00
	250.0	+	97.7	99.1	77.8	91.1	0.84	1.06
	500.0	+	87.4	88.6	79.2	92.7	0.28	0.37
	750.0	+	80.7	81.8	80.9	94.7	3.34	4.23
	1000.0	+	1.6	1.6	74.3	87.0	0.84	1.13
陽性対照	+	96.8	98.2	75.8	88.8	71.95	94.92	

表中の数値：2 連の平均値 表中の空欄は：細胞毒性が高く実験を中止

CE1：検体処理後 24 時間培養後のコロニー形成率

CE2：突然変異発現時間終了時のコロニー形成率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

3. 製剤を用いた毒性試験

1-1) ピラクロストロビン水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度: 20.0%水和剤〔組成〕有効成分;
界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: ウィスター系ラット, 7~9 週齢, 体重: 雄 166~181g, 雌 167~174g,
1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 500mg/kg 投与群: 14 日間観察
2000mg/kg 投与群: 14 日間観察

方法: 検体を蒸留水に懸濁し, 1 回強制経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

試験項目: 中毒症状及び生死を各投与群について 14 日間観察した。体重は投与直前(0 日), その後は 7 及び 13 日後に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について, 肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口	
投与量 (mg/kg)	500	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし	投与 3 日以内に 雌雄各 1 例
症状発現及び消失時間	雄: 投与 3 時間後	雄: 投与直後 ~ 投与 8 日後
	雌: 投与 3 時間後	雌: 投与直後 ~ 投与 8 日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	500	

観察された中毒症状は以下のとおりであった。

500mg/kg 投与群の雌雄: 下痢
2000mg/kg 投与群の雄: 一般状態の悪化, 不活発, 呼吸困難, 鎮静, 立毛, 下痢
2000mg/kg 投与群の雌: 一般状態の悪化, 不活発, 呼吸困難, 鎮静, よろめき歩行, 立毛, 下痢, 流涎, 振戦

500mg/kg 及び 2000mg/kg 投与群の途中死亡動物を含めた全動物に体重及び剖検所見における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BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

1-2) ピラクロストロピン水和剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 4)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度: 20.0%水和剤〔組成〕有効成分:

界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: ICR系マウス, 5週齢, 体重: 雄 29.2~35.6g, 雌 22.5~28.7g,
1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

方法: 検体を脱イオン水に懸濁し, 1回強制経口投与した。投与前2~3時間及び投与後3時間絶食した。

試験項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。体重は投与直前(0日), その後は7及び14日後に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について, 肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	3200, 4000, 5000, 6250, 7813
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄: >7813
死亡開始時間及び終了時間	雄: 投与30分後2例 (4000及び6250ppm), 同1時間後2例 (6250及び7813ppm) 雌: 投与30分後2例 (3200及び5000ppm), 同1日後1例 (6250ppm)
症状発現及び消失時間	雄: 投与30分後~投与6日後 雌: 投与30分後~投与2日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄: 3200 雌: -

中毒症状は, 横臥位, 昏睡, 傾眠, 自発運動低下あるいは消失, 痙攣, 呼吸緩徐, 眼瞼下垂, 鼻吻及び肛門周囲部被毛の汚れ, 軟便が雌雄動物に観察され, 加えて雄動物に腹臥位及び拳尾, 雌動物に鎮静が観察された。

体重は, 投与7日及び14日後共に全例で増加した。

剖検では, 途中死亡例の雌雄動物に肺の赤色あるいは黒色斑散在, 気管内泡沫液, 腺胃部の赤色化, 小腸の赤色化及び水腫, 鼻吻部被毛の汚れ, 同雄動物に小腸の赤色あるいは黒色内容物が認められ, 生存例には雌雄ともに脾臓の腫大が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

1-3) ピラクロストロピン水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 6)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度: 20.0%水和剤〔組成〕有効成分;
界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: ウィスター系ラット, 8~10 週齢, 体重: 雄 250~268g, 雌 226~234g,
1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

方法: 検体を蒸留水に懸濁し, 刈毛した胴体の背部/背側部の皮膚に適用し, 半閉鎖性の包帯で覆った. 適用 24 時間後に適用部位を温水で洗浄した.

試験項目: 中毒症状, 適用部位の異常及び生死を 14 日間観察した. 体重は試験開始時, 投与 7 及び 13 日後に測定した. 死亡動物及び試験終了時の全生存動物について, 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)	>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	適用 1 日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

臨床症状では, 雌雄全例に異常は認められなかった. 局所所見として, 雄動物でごく軽度な紅斑が 4 例, 雌動物でごく軽度な紅斑が 3 例と明瞭な紅斑が 1 例に観察された.

全動物に体重及び剖検所見における異常は認められなかった.

1-4) ピラクロストロピン水和剤のラットにおける粉塵ダストによる急性吸入毒性試験

(資料 8)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度: 20.0%水和剤〔組成〕有効成分:

界面活性剤、賦物質微粉等;

試験動物: Wistar系ラット (SPF Wistar Rj: WI (SPF Han)), 1群当り雌雄各5匹,

試験開始時約8~9週齢, 雄体重 306.8~322.7g, 雌体重 203.0~229.2g

試験期間: 14日間観察

試験方法: 試験は OECD Guidelines, method 403, EU Commission Directives 92/69 EEC 及び EPA Guidelines に基づいて実施した。検体に Aerosil 0.5% (w/w) を添加してミキサーで粉砕し, 検体のダストを発生させ, 4時間鼻部暴露させた。

暴露空気をガラス繊維捕集板を用いて捕集し, 重量測定法により実測濃度を求めた。

実測濃度 (mg/L)	1.00	2.79	5.3	
名目濃度 (mg/L)	12.4	38.5	85.6	
粒子径分布 (%) ; 29.5 (μm)*	8.692	8.754	5.429	6.895
18.2	2.503	5.476	2.616	1.935
8.5	6.546	5.529	6.283	5.005
5.5	11.444	12.61	11.368	11.919
2.8	24.581	27.492	27.707	29.056
1.2	31.602	25.909	27.998	25.518
<1.2	14.632	14.230	18.600	19.672
空気力学的質量粒子径 (μm)	3.5	3.9	3.0	3.0
呼吸可能な粒子 (<3 μm) の割合	46	42	50	50
チャンバー容積 (L)	55			
チャンパー内通気量 (L/分)	1.5			
暴露条件	ダスト4時間鼻部暴露			

*空気力学的有効切断等価径 (EACD, μm)

試験項目: 暴露中及び暴露後14日間, 臨床症状及び生死について観察し, 体重測定を行った。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果: 試験の結果を次頁の表にまとめた。

臨床症状として, 雌雄共, 呼吸亢進, 呼吸異常音, 鼻部痂皮形成, 眼瞼閉鎖,

逃避, うずくまり姿勢, 立毛, 被毛汚れ, 自発運動の低下が観察された。肉眼的病理検査では, 死亡動物に肺の全葉暗赤色変色, 多巣性全葉暗赤色変色及び全葉浮腫が認められ, 生存動物には肺の多巣性全葉暗赤色変色及び灰色巣が認められた。尚, 病理組織学的検査の結果, 5.3mg/L 群の生存動物の雄1例の肺に中等度の血管周囲性リンパ組織球浸潤及び軽度の多巣性肺胞組織球症が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	1.00, 2.79, 5.3
LC ₅₀ (mg/L) (99%信頼限界)	雄 : 4.5 mg/L 雌 : 4.3 mg/L 雌雄計 : 4.7 mg/L
死亡開始及び終了時間	死亡開始 : 暴露終了後 死亡終了 : 暴露後 1 日 (最高濃度 5.3mg/L 群)
症状発現及び消失時間	症状発現 : 暴露 1 時間後 症状消失 : 暴露後 12 日
死亡の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄とも 2.79

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

1-5) ピラクロストロビン水和剤のラットにおける
ダストエアゾールによる急性吸入毒性試験

(資料 8-2)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度: 20.0%水和剤

[組成] 有効成分;
界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: Wistar 系ラット (CrI GlxHan:WI), 1 群当り雌雄各 5 匹,
試験開始時雄約 8~12 週齢, 雌約 14~18 週齢; 雄体重 260.6~278.5g, 雌体重 221.5~232.8g

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 試験は OECD ガイドライン 方法 403, EU 委員会指令 92/69 EEC 及び EPA ガイドラインに基づいて実施した。検体は粉塵発生装置を用いてダストを暴露装置内へ発生させ、4 時間鼻部暴露させた。

名目濃度: 対照(0), 75.7 mg/L

実測濃度: 対照(0), 5.0 mg/L

ダストの実測濃度 (mg/L) は、予め秤量したフィルター重量と試料採取後のフィルター重量の差から計算した。

暴露条件:	名目濃度 (mg/L)	75.7	
	実測濃度 (mg/L)	5.0	
粒子径分布 (%) : 29.5 (μm)*		1.2	0.5
	18.2	2.3	2.3
	8.5	5.3	6.8
	5.5	28.0	21.9
	2.8	46.3	30.4
	1.2	15.5	26.3
	<1.2	1.5	11.8
空気力学的質量粒子径 (μm)		4.9	3.4
呼吸可能な粒子 (<3 μm) の割合 (%)		24.3	44.5
チャンバー容積 (L)		55	
チャンバー内通気量 (L/分)		約 25	
暴露条件		ダスト 4 時間鼻部暴露	

*空気力学的有効切断等価径 (EACD, μm), 2 回測定した。ダスト発生チャンパーでは粒子は非凝集であるが、吸入チャンパーでは凝集がみられ、これ以上粒子を細かくできなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

試験項目：暴露中及び暴露後 14 日間、臨床症状及び生死について観察し、体重測定を行った。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：試験の結果を下表にまとめた。

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	5.0
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄合計の LC ₅₀ : >5.0
死亡開始及び終了時間	暴露後暴露当日死亡
症状発現及び消失時間	症状発現：暴露直後 症状消失：暴露後 1 日
死亡の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌：<5.0 雄： 5.0

中毒症状として、雌雄に関係なく呼吸亢進、眼瞼閉鎖、うずくまり姿勢、逃避行動、被毛の汚染が認められた。

死亡例は雌で 1 例のみ認められた。

肉眼的病理検査では、死亡動物及び生存動物ともに何ら特記すべき変化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BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

1-6) ピラクロストロビン水和剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 (資料 10)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度: 20.0%水和剤〔組成〕 有効成分;
界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ, 6ヵ月齢, 体重: 雄 2.33~2.68kg,
雄 6匹

試験期間: 7日間観察

方法: 検体 0.5g を刈毛した動物の脇腹の上部 3分の1 の皮膚(約 2.5cm 四方)に 4 時間,
半閉鎖貼付した。貼付終了後, 皮膚に残った検体は Lutrol 及び Lutrol/水(1:1)
で洗浄した。

試験項目: 試験パッチ除去 1, 24, 48, 72 時間及び 7 日後に貼付部位の刺激性変化(紅斑, 痂皮
形成及び浮腫)の有無等を観察し, OECD ガイドライン 404 及び EEC directive 92/69,
L 383A, B. 4 に従って採点した。なお, 刺激性変化の採点基準は以下のとおりである。

紅斑及び痂皮形成:

- 0: 紅斑なし
- 1: 非常に軽度な紅斑(かろうじて識別できる)
- 2: はっきりした紅斑
- 3: 中等度~重度な紅斑
- 4: 重度の紅斑(ビート赤色)で軽い痂皮形成(深部にわたる傷害)を伴う

浮腫形成:

- 0: 浮腫なし
- 1: 非常に軽度な浮腫(かろうじて識別できる)
- 2: 軽度の浮腫(腫張の輪郭がはっきりしている)
- 3: 中等度の浮腫(約 1mm の高さ腫張している)
- 4: 重度の浮腫(1mm 以上腫張し, 適用部位以外に及んでいる)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結果：観察した刺激性変化の採点は以下のとおりであった。なお、6匹の平均値の計算は1993年4月27日の93/21/EECの基準に従い、平均値は24、48、72時間の採点に基づき算出した。

変 化	最高 評点	貼付開始後時間						採点の最高値
		1時間	24時間	48時間	72時間	7日	総平均	
紅 斑	4	1.5	1.7	1.3	0.7	0.0	1.2	2 (1~48時間後)
浮 腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
合 計	8	1.5	1.7	1.3	0.7	0.0	1.2	
症 状		10	10	10	10			

10：被験物質の固着による物理的な皮膚障害

24~72時間における紅斑の平均値は1.2、浮腫については平均0.0であった。観察された皮膚反応は、2匹の試験動物においてパッチ除去7日には観察されなかった。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対し刺激性はないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

1-7) ピラクロストロビン水和剤のウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験 (資料 12)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: 20.0% [組成] 有効成分:

界面活性剤、銜物質微粉等:

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ, 3ヵ月齢, 体重; 雄 2.47~2.66kg, 雌 2.67~2.68kg,
雄 4匹, 雌 2匹

試験期間: 7日間観察

方法: 検体 0.1mL (約 40mg) を右眼瞼の結膜のうに 1回適用し, 左眼を無処理対照とした。適用した検体は適用 24 時間後 (読み取り 24 時間前) に水で洗い落とした。

試験項目: 投与 1, 24, 48, 72 時間及び 7 日後に角膜, 結膜及び虹彩の刺激性変化を観察し, OECD ガイドライン 405 及び EEC L 383A, B.5 に従って採点した。なお, 眼病変の採点基準は以下のとおりである。

角 膜

不透明度—混濁度 (最も混濁した領域を読み取る)

0: 混濁なし

1: 虹彩を明視できる程度の, 散在~び慢性の不透明化 (正常な光沢がやや鈍くなることは含まず)

2: 半透明な部位が容易に識別でき, 虹彩の細部がわずかにぼやけて見える

3: 虹彩の細部不明, 瞳孔の大きさがかろうじて識別できる

4: 角膜不透明, 虹彩が透視できない

角膜損傷域

1: $>0 \sim \leq 1/4$

2: $>1/4 \sim <1/2$

3: $>1/2 \sim <3/4$

4: $>3/4$

結 膜

発 赤 (眼瞼結膜, 角膜及び虹彩について観察)

0: 血管正常

1: 充血亢進

2: 広範囲且つ深紅色となり, 血管の識別困難

3: 全域の深紅色化

分泌物

- 0 ; 分泌物認めず
- 1 ; 常量以上 (正常動物の内糞に見られる少量は含まない)
- 2 ; 眼瞼及び眼瞼に接する被毛を湿潤
- 3 ; 眼瞼及び眼瞼の周囲を相当範囲湿潤

結膜浮腫

- 0 ; 結膜浮腫認めず
- 1 ; 浮腫亢進 (瞬膜を含む)
- 2 ; 眼瞼の部分的反外を伴う腫張
- 3 ; 腫張を伴う眼瞼閉鎖 (約 1/2)
- 4 ; 腫張を伴う眼瞼閉鎖 (約 1/2 ~ 全面)

虹 彩

- 0 ; 虹彩正常
- 1 ; 皺壁形成亢進, 充血, 腫張, 角膜周囲の充血 (いずれか一つ, あるいは全て, もしくは, これらの組み合わせ) が見られるが, 対光反射は健在 (緩徐反応陽性)
- 2 ; 対光反射消失, 出血, 広範囲の破壊 (いずれか一つ, あるいはこれらの全て)

結果 : 観察した刺激性変化の採点は以下のとおりであった。なお, 6 匹の平均値の計算は 1993 年 4 月 27 日の EEC の基準 93/21 に従い, 平均値は 24, 48, 72 時間の採点に基づき算出した。

項目	最高 評点	適用後経過時間						採点の最高値	
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	総平均		
角膜混濁 程 度 面 積	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
虹 彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
結 膜	発 赤	3	2.0	2.0	1.8	1.0	0.0	1.6	2 (1~72 時間後)
	浮 腫	4	1.3	1.3	0.2	0.2	0.0	0.6	2 (1~24 時間後)
	分泌物	3	1.2	0.0	0.2	0.0	0.0	<0.1	2 (1 時間後)
合 計	110	9.0	6.7	4.3	2.3	0.0			
症 状		認めず							

24~72 時間における角膜及び虹彩についての平均はいずれも 0.0 で, 結膜の発赤については 1.6, 同浮腫については 0.6, 同分泌物では <0.1 あったが, 反応は全動物において 7 日には認められなかった。

以上の結果から, 検体はウサギの眼粘膜に対して刺激性はないものと判断された。