

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

# 農 薬 抄 録

テブフロキン

(殺菌剤)

(作成年月日)

(改訂年月日)

(改訂年月日)

(改訂年月日)

(改訂年月日) 2014年 5月 20日

(作成会社名) Meiji Seika ファルマ株式会社

(作成責任者名・所属)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

目次	頁
I. 開発の経緯	1
II. 物理的・化学的性状	2
III. 生物活性	21
IV. 適用及び使用上の注意	22
V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係	25
VI. 有用動植物等に及ぼす影響	42
VII. 使用時安全上の注意、解毒法等	67
VIII. 毒性	
毒性試験成績一覧表	69
1. 原体	
1) 急性毒性	73
2) 皮膚および眼に対する刺激性	79
3) 皮膚感作性	82
4) 急性神経毒性 (省略理由)	85
5) 急性遅発性神経毒性 (省略理由)	86
6) 90日間反復経口投与毒性	87
7) 21日間反復経皮投与毒性 (省略理由)	118
8) 90日間反復吸入毒性 (省略理由)	118
9) 反復経口投与神経毒性 (省略理由)	118
10) 28日間反復経口投与遅発性神経毒性 (省略理由)	119
11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性	120
12) 繁殖毒性及び催奇形性	192
13) 変異原性	217
14) 生体機能影響	226
2. 原体混在物及び代謝物	237
3. 製剤	251
IX. 動植物及び土壌等における代謝分解	274
1. 動物代謝に関する試験	
1) ラットにおける代謝 (排泄/バランス及び代謝物同定)	287
2) ラットにおける代謝 (血中キネティクス/組織分布)	294
3) ラットにおける代謝 (胆汁排泄試験)	301
4) ラットにおける代謝 (予備試験)	306
2. 植物代謝に関する試験	
1) 水稲における代謝	315
2) トマトにおける代謝	323
3) ほうれんそうにおける代謝	330

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3. 土壌中動態に関する試験		
1) 好氣的湛水土壌中動態	.....	336
2) 好氣的土壌中動態	.....	347
3) 代謝物M1の嫌氣的土壌中動態	.....	355
4. 水中動態に関する試験		
1) 加水分解動態	.....	363
2) 水中光分解動態 (AF-02)	.....	369
3) 水中光分解動態 (代謝物 M1)	.....	378
5. 土壌吸着性試験		
1) AF-02	.....	382
2) 代謝物 M1	.....	388
6. 生物濃縮性試験	.....	393
代謝分解のまとめ	.....	397

[附] テブフロキンの開発年表

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

## I. 開発の経緯

明治製菓(株)はスクリーニングを実施し、アシルオキシキノリン化合物に農薬としての活性を見出し、この誘導体合成を開始した。 年には殺菌効果を有する化合物、特に稲のいもち病に卓効を有する化合物 (6-*tert*-ブチル-8-フルオロ-2,3-ジメチル-4-キノリル=アセタート : IUPAC 名) を見出し、稲のいもち病防除剤として特許を出願した。社内試験を継続する中で、本化合物は特に優れた治療効果を有することがわかった。

本化合物の合成法については

として特許を出願した。これ以降、周辺技術に関する特許を出願するとともにスケールアップ試作などの工業化検討を鋭意進めた。その結果、工業的な製造法の目処が立ち、 年から農薬登録申請のための各種 GLP 試験を開始した。また同年、単剤であるトライ 2 粉剤 DL の日本植物防疫協会実用化試験を開始した。

引き続き 年には殺虫剤トレボンとの混合剤であるトライ 2 トレボン粉剤 DL、殺虫剤スタークルとの混合剤であるトライ 2 スタークル粉剤 DL を日本植物防疫協会実用化試験に供した。 年以降、殺虫剤キラップとの混合剤トライ 2K 粉剤 DL、殺虫剤ダントツ、殺菌剤バリダマイシンとの混合剤トライ 2 メイジン粉剤 DL、殺虫剤ジョーカーとの混合剤トライ 2 J 粉剤 DL、単剤であるトライ 2 顆粒水和剤を供試し、稲のいもち病に対して安定した高い薬効が認められている。そのほか、フロアブル剤、顆粒水和剤を用いて茶の輪斑病、ネギのさび病、黒斑病、だいずの紫斑病、はくさいの黒斑病、トマトのうどんこ病などを対象に実用化試験を開始した。

本化合物は稲のいもち病に対して高い治療効果を有する。その作用機作は呼吸阻害と考えているが、ストロビルリン系化合物の阻害部位 (ミトコンドリア complex III の Qo I) を阻害しないことがわかっている。

現在のところ海外での開発を行っていない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

## II. 物理的・化学的性状

### 1. 有効成分の名称及び化学構造

#### 1) 有効成分の一般名

和名： テブフロキン

英名： tebufloquin

#### 2) 別名

商品名： トライ

試験名： AF 02 純品

#### 3) 化学名

##### IUPAC

和名： 6-*tert*-ブチル-8-フルオロ-2,3-ジメチル-4-キノリル=アセタート

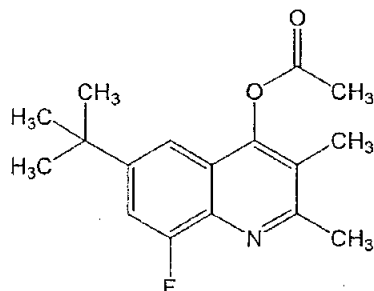
英名： 6-*tert*-butyl-8-fluoro-2,3-dimethyl-4-quinolyl acetate

##### CAS

和名： 6-(1,1-ジメチルエチル)-8-フルオロ-2,3-ジメチル-4-キノリニル  
=アセタート

英名： 6-(1,1-dimethylethyl)-8-fluoro-2,3-dimethyl-4-quinolinyll acetate

#### 4) 構造式



5) 分子式  $C_{17}H_{30}FNO_2$

6) 分子量 289.34

7) CAS No. 376645-78-2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

2-1. 有効成分の物理化学的性状

試験項目		試験結果	試験法	試験機関 (報告年)	資料番号	
色調		白色	JIS Z8723	残農研 (2006/GLP)	物-1	
形状		固体 (粉末)	官能法	残農研 (2006/GLP)	物-2	
臭気		無臭	官能法	残農研 (2006/GLP)	物-3	
密度		1.063 g/cm <sup>3</sup> (20°C)	比重びん法 OECD#109	残農研 (2008/GLP)	物-4	
融点		92.3~93.8°C	示差熱・熱重量分析法 OECD#102	残農研 (2007/GLP)	物-5	
沸点		237.2°C (2.53 kPa)	示差熱・熱重量分析法 OECD#103	残農研 (2007/GLP)	物-6	
蒸気圧		1.5×10 <sup>-4</sup> Pa (20°C) 3.2×10 <sup>-4</sup> Pa (25°C) 6.4×10 <sup>-4</sup> Pa (30°C)	気体流動法 OECD#104	残農研 (2006/GLP)	物-7	
溶解度	水	20.2 ng/L (20°C)	フラスコ法 OECD#105	残農研 (2006/GLP)	物-8	
	有機溶媒	アセトン	500 g/L 以上 (20°C)	目視リミット法	残農研 (2006/GLP)	物-9
		酢酸エチル	500 g/L 以上 (20°C)			
		ジクロロメタン	500 g/L 以上 (20°C)			
		トルエン	500 g/L 以上 (20°C)			
		メタノール	500 g/L 以上 (20°C)			
	n-ヘキサン	28.0 g/L (20°C)	フラスコ法			
解離定数		pKa=3.52 (20°C)	分光光度法 OECD#112	残農研 (2009/GLP)	物-10	
分配係数 (n-オクタノール/水)		log Pow=4.02 (25°C)	フラスコ振とう法 OECD#107	残農研 (2006/GLP)	物-11	
生物濃縮性		BCF <sub>ss</sub> = <3.0 (試験濃度 9.79 μg/L) BCF <sub>ss</sub> = <30 (試験濃度 0.956 μg/L)	OECD#305	化評研 (2008/GLP)	運-14	
土壌吸着係数 (K <sub>oc</sub> <sup>ads</sup> , K <sub>oc</sub> <sup>ncs</sup> ) (25°C)		土壌 I : 682, 28.3 土壌 II : 744, 66.4 土壌 III : 535, 15.3 土壌 IV : 3511, 16.5 土壌 V : 18000, 12.6	ダイレクト法 OECD#106	残農研 (2009/GLP)	運-13	
安定性	熱安定性	240°C以上で分解	示差熱・熱重量分析法 OECD#113	残農研 (2006/GLP)	物-12	
	加水分解性 (25°C) (半減期)	pH 4 : 3.25 日 pH 5 : 21.33 日 pH 7 : 40.58 日 pH 9 : 0.56 日	12 農産第 8147 号	残農研 (2009/GLP)	運-11	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

	水中光分解性(半減期)(25℃) (キセノンランプ, 21.4W/m <sup>2</sup> , 300-400nm)	試験条件 (正味の光分解による)	緩衝液	3.0日	12農産第8147号	残農研(2009/GLP)	運-12
			自然水	3.4日			
		太陽光 (東京、春) (加水分解を加味)	緩衝液	6.7日			
			自然水	1.9日			
スペクトル	UV スペクトル	図 1, 2, 3, 4	OECD#101	残農研(2009/GLP)	物-13		
	IR スペクトル	図 5	KBr 法	残農研(2007/GLP)	物-14		
	MS スペクトル	図 6	ESI (+), ESI (-)	残農研(2006/GLP)	物-15		
	NMR スペクトル	図 7、図 8	測定溶媒: CDCl <sub>3</sub>	Ricerca(2008/GLP)	物-16		

残農研: 財団法人残留農薬研究所

化評研: 財団法人化学物質評価研究機構

Ricerca: Ricerca Biosciences, LLC.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

<UV スペクトル> : 図 1, 2, 3, 4

波長範囲 : 190~800 nm, 光路長 : 10 mm

試験溶液	濃度 (mol/L)	pH	極大吸収波長 (nm)	吸光度	モル吸光係数 (log ε)
水	$1.73 \times 10^{-5}$	6.40	207	0.5536	4.51
			236	1.0106	4.77
酸性条件	$1.73 \times 10^{-5}$	1.33	246	1.1459	4.82
アルカリ性条件	$1.73 \times 10^{-5}$	13.45	240	0.6211	4.56
メタノール	$1.73 \times 10^{-5}$	—	236	1.1888	4.84

酸性及びアルカリ性条件においては、UV スペクトルは被験物質の解離性のほかに加水分解性に由来して変化するものと推測される。

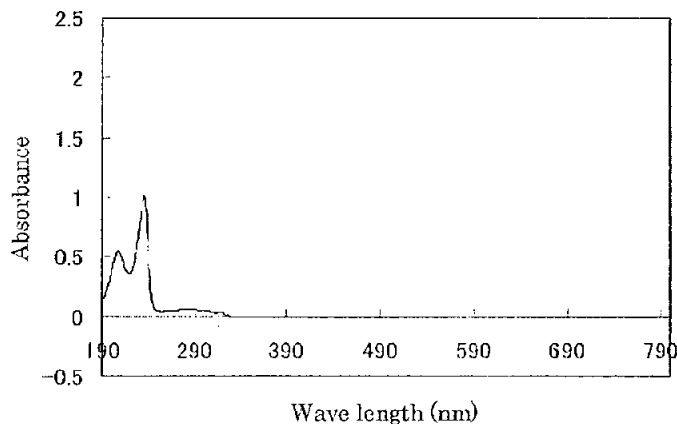


図1 UV スペクトル (水)

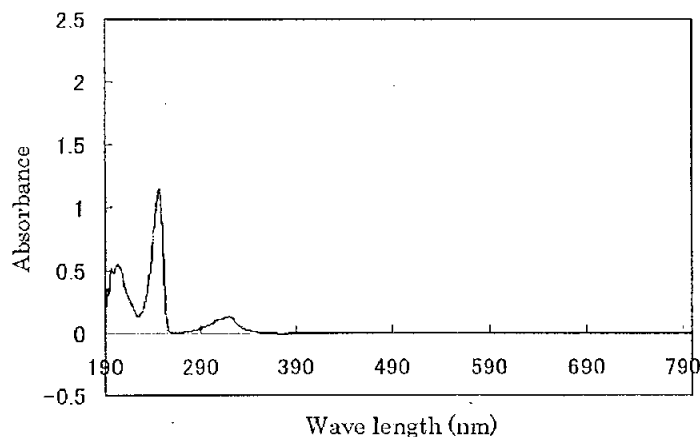


図2 UV スペクトル (酸性)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

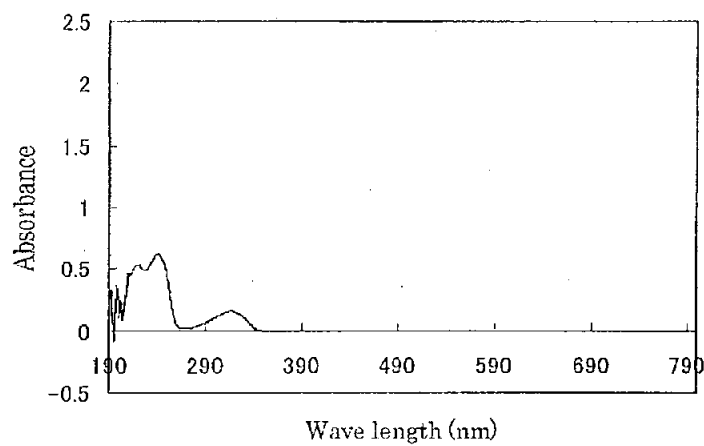


図3 UV スペクトル (アルカリ性)

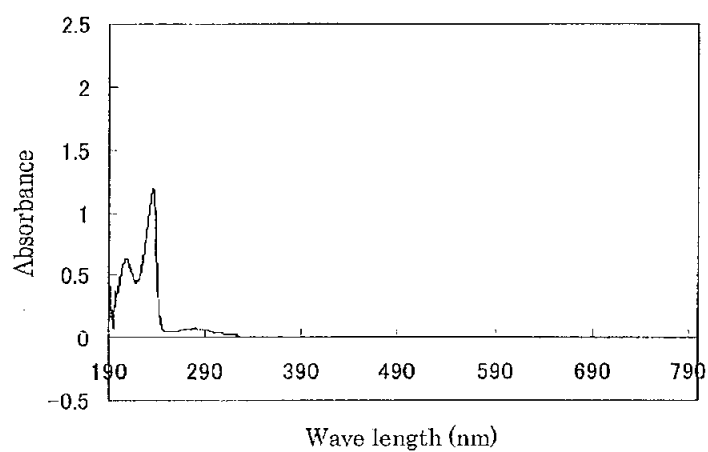


図4 UV スペクトル (メタノール)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

<IR スペクトル> : 図5

IR スペクトルはKBr 法により測定した。

測定モード : 透過率モード(%), 波数範囲 : 4000~400 $\text{cm}^{-1}$ , 積算回数 : 20 回

ピーク番号	位置 ( $\text{cm}^{-1}$ )	強度 (%T)	帰属
6	1188.1	6.669	-C(=O)-O 伸縮振動
7	1207.4	18.952	-CF 伸縮振動
12	1772.5	14.114	-C(=O)- 伸縮振動

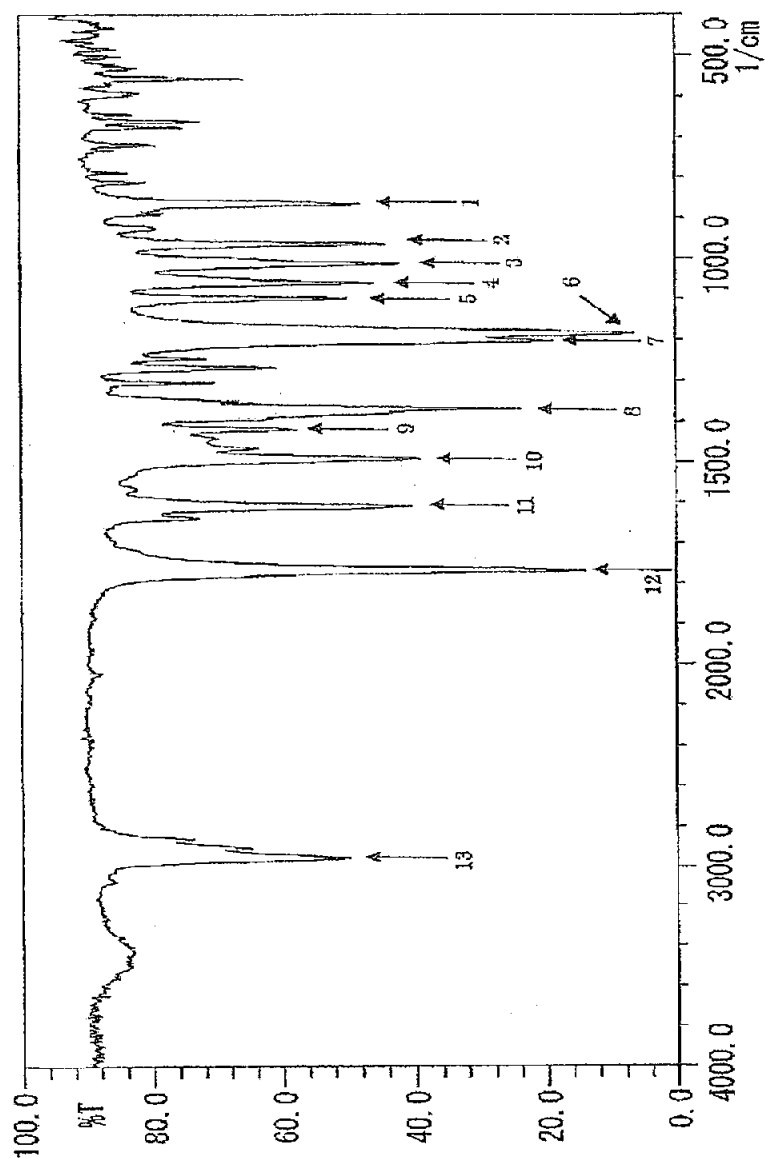


図5 IR スペクトル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

<MS スペクトル> : 図6

MS スペクトルは ESI 法により測定した。負イオンのスペクトルにおいては、デブフロキンの化学構造に由来する有意な質量スペクトル情報は認められなかった。

質量分析計：四重極型質量分析計，イオン化方式：エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)  
測定範囲：70~1000 (m/z)，フラグメンター電圧：50~250 V

フラグメンター電圧 (V)	質量数 (m/z)	相対イオン強度	帰属 (推定)
50	290.20	100.0	[M+H] <sup>+</sup>
50	312.10	8.6	[M+Na] <sup>+</sup>
100	290.20	100.0	[M+H] <sup>+</sup>
100	312.10	8.5	[M+Na] <sup>+</sup>
150	248.20	100.0	[M-CH <sub>3</sub> CO+2H] <sup>+</sup>
150	290.05	77.4	[M+H] <sup>+</sup>
150	312.10	25.6	[M+Na] <sup>+</sup>
200	248.20	100.0	[M-CH <sub>3</sub> CO+2H] <sup>+</sup>
250	248.20	100.0	[M-CH <sub>3</sub> CO+2H] <sup>+</sup>

相対イオン強度：基準イオンピークに対する相対イオン強度

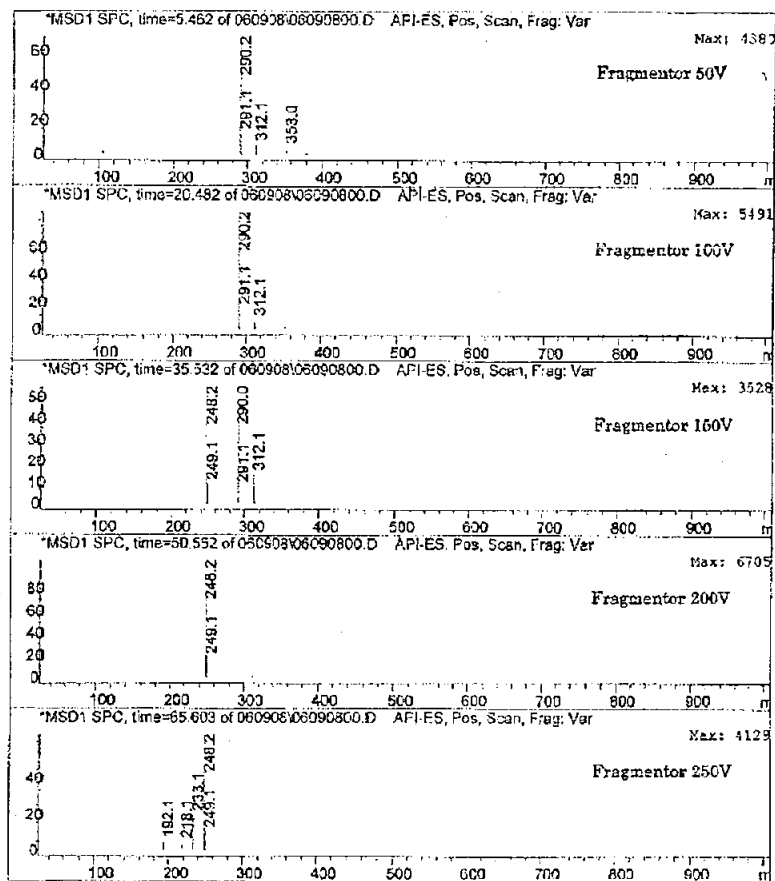


図6 質量スペクトル (ESI 正イオン)

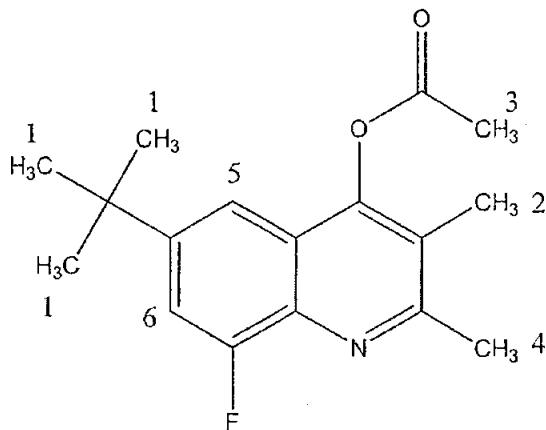
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

<NMR スペクトル> : 図 7、図 8

NMR スペクトルは重クロロホルム(CDCI<sub>3</sub>)を溶媒として測定し、基準物質としてテトラメチルシラン(TMS)を用いた。

<sup>1</sup>H-NMR のスペクトル情報

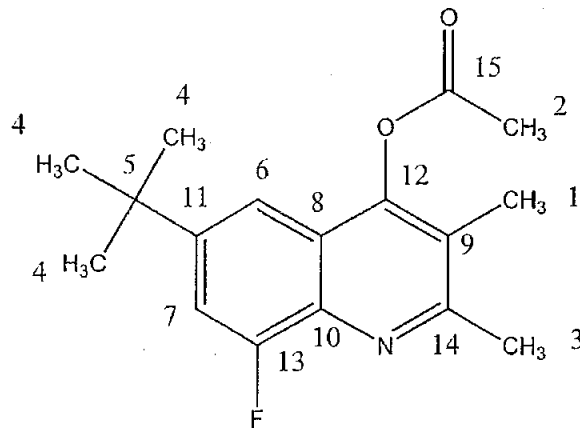
帰属	化学シフト(δ, ppm)	強度	多重度(結合定数 J, Hz)
1	1.38	9	一重線
2	2.26	3	一重線
3	2.52	3	一重線
4	2.76	3	一重線
5	7.37	1	二重二重線 (J=0.78, 1.98)
6	7.43	1	二重二重線 (J=1.96, 12.76)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

$^{13}\text{C}$ -NMR のスペクトル情報

帰属	化学シフト ( $\delta$ , ppm)	多重度 (結合定数 J, Hz)
1	12.84	一重線
2	20.51	一重線
3	24.24	一重線
4	31.00	一重線
5	35.19	一重線
6	111.11	二重線 (J = 3.67)
7	112.11	二重線 (J = 19.06)
8	122.67	一重線
9	122.69	一重線
10	136.02	二重線 (J = 12.48)
11	149.69	二重線 (J = 5.95)
12	151.39	二重線 (J = 5.14)
13	157.46	二重線 (J = 254.62)
14	159.78	一重線
15	167.85	一重線



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

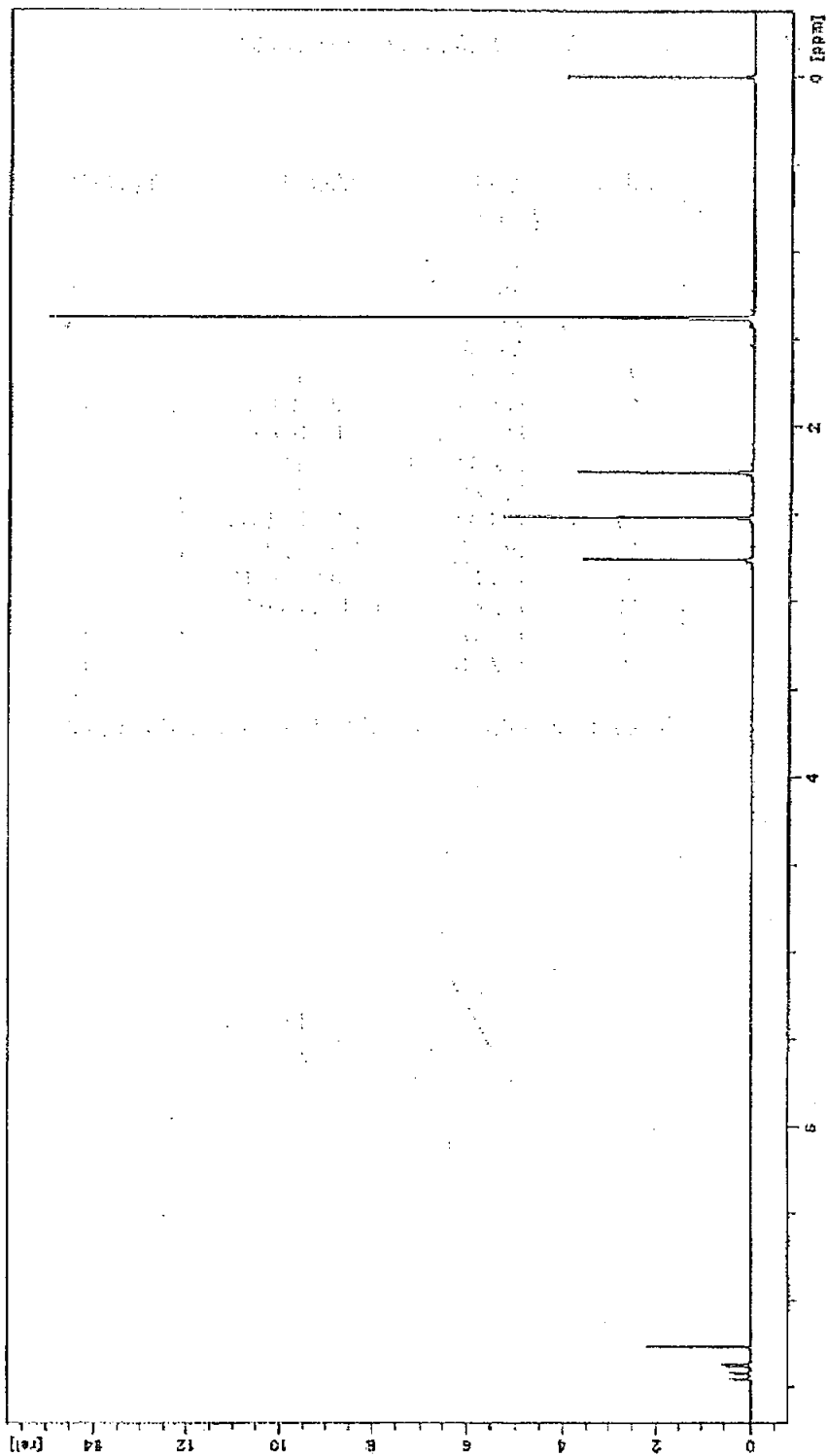


図 7-1 1H-NMR スペクトル

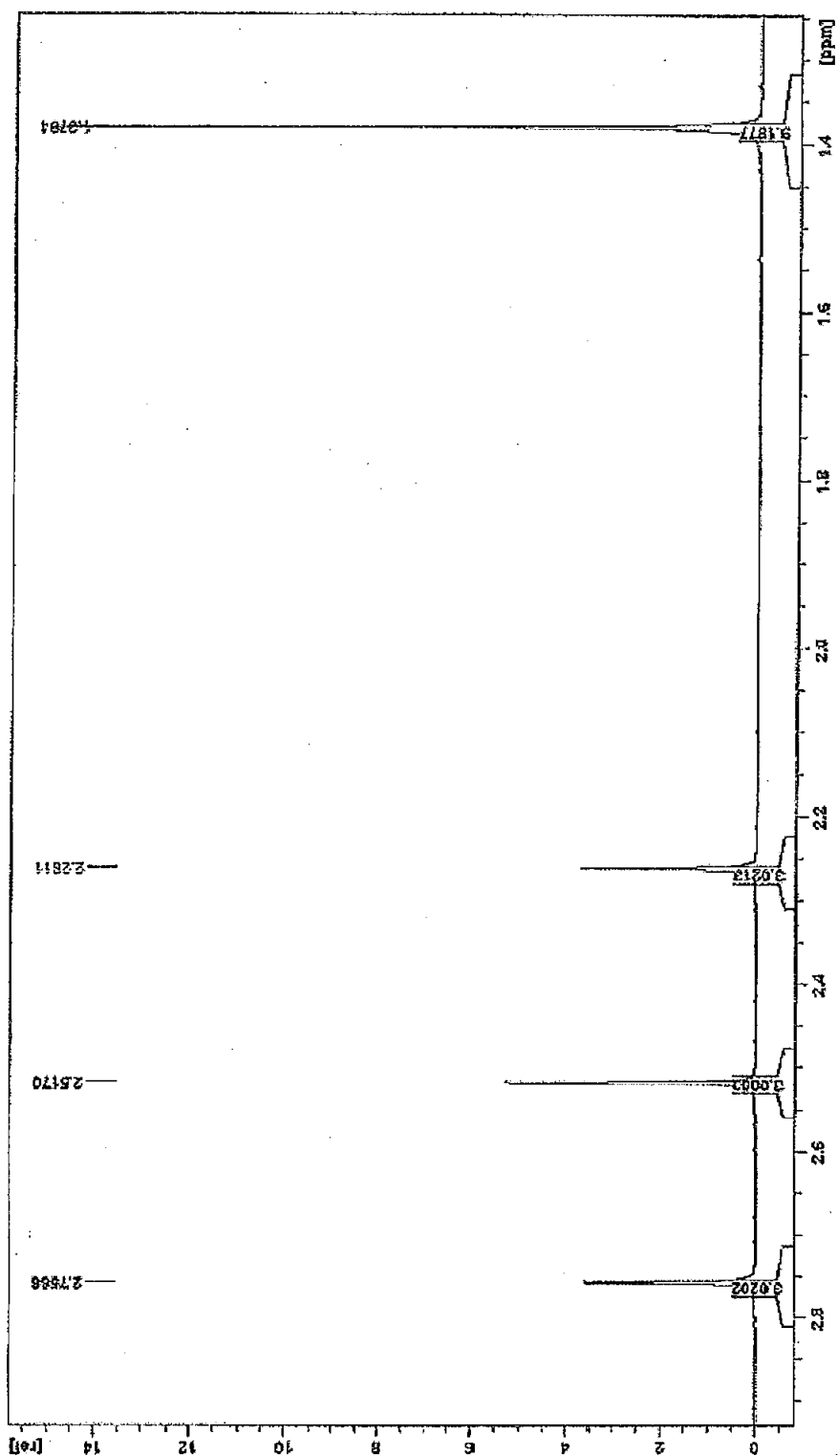


図 7-2 1H-NMR スペクトル (1.35~2.95 ppm の拡大)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

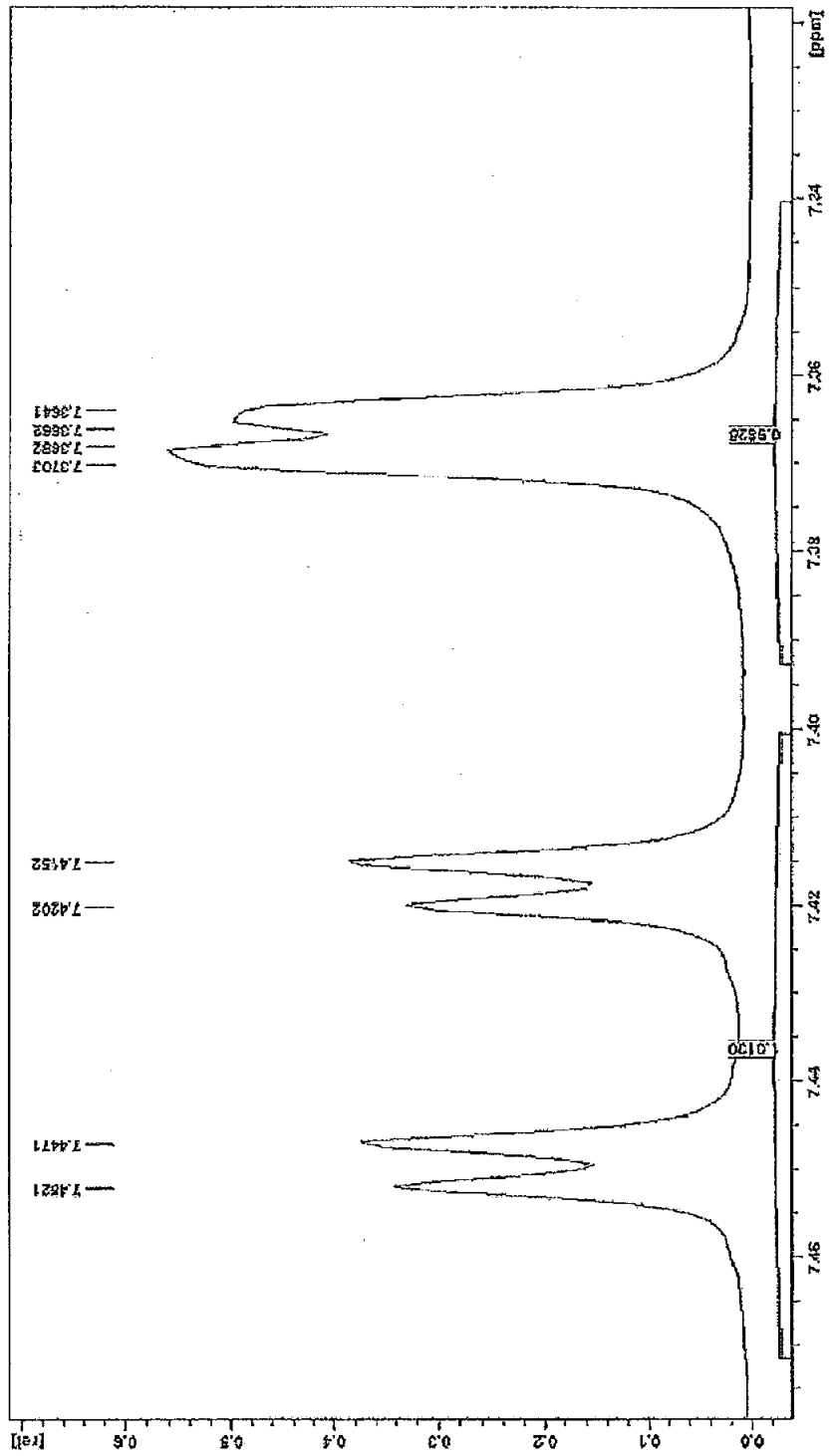


図 7-3 1H-NMR スペクトル (7.30~7.48 ppm の拡大)



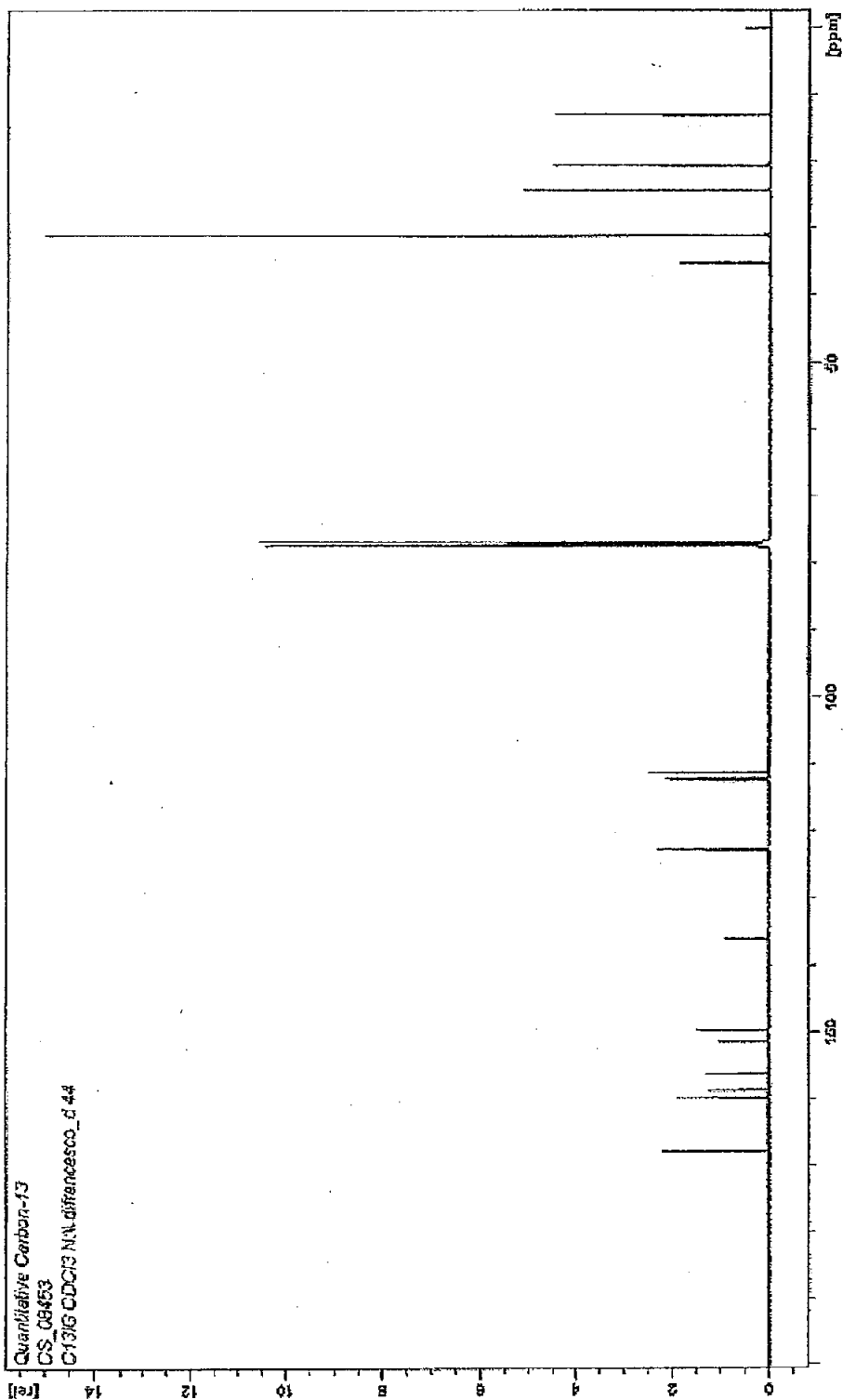


図 8-1  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル

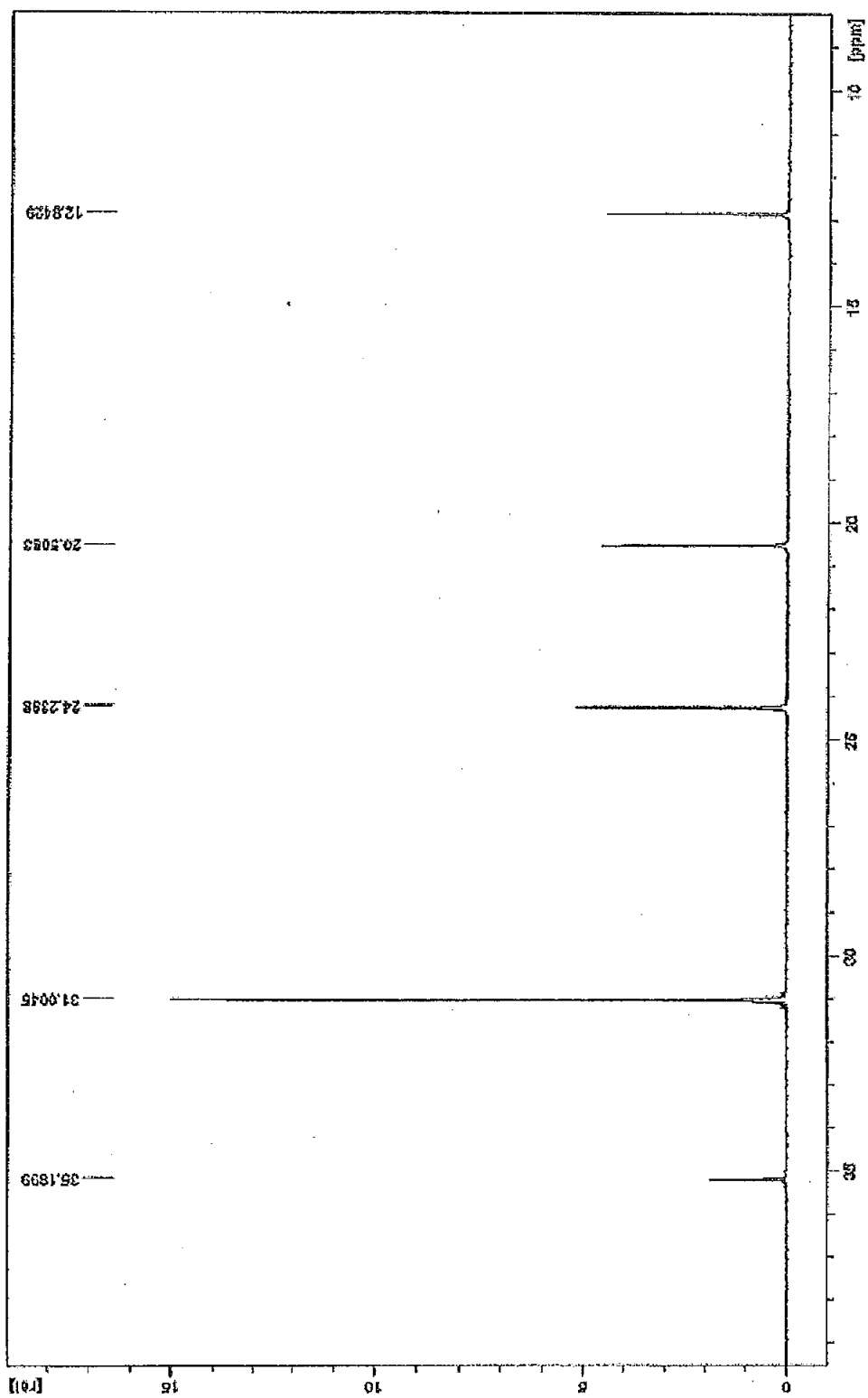


図 8-2  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル (8~40 ppm の拡大)

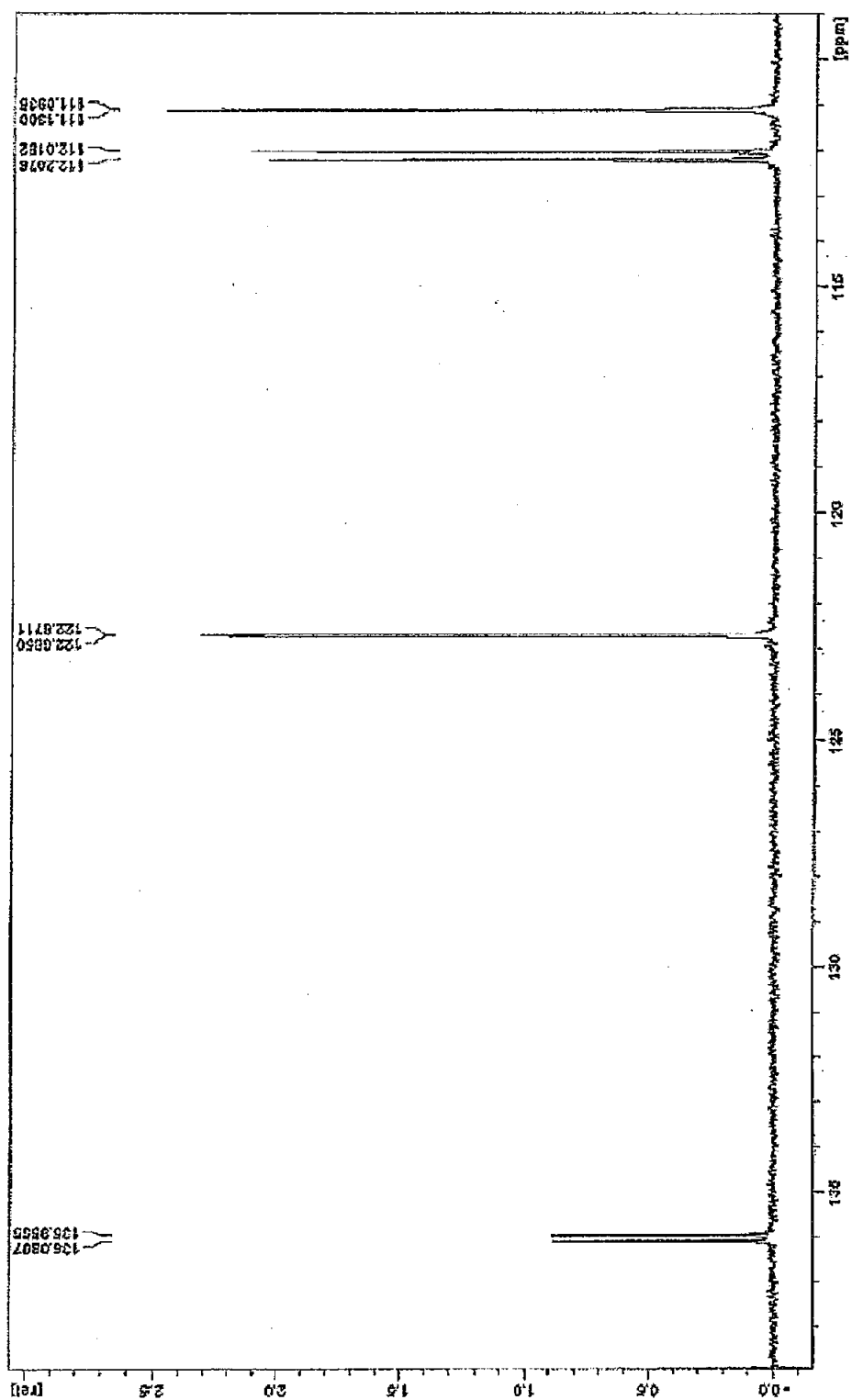


図 8-3  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル (109~139 ppm の拡大)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

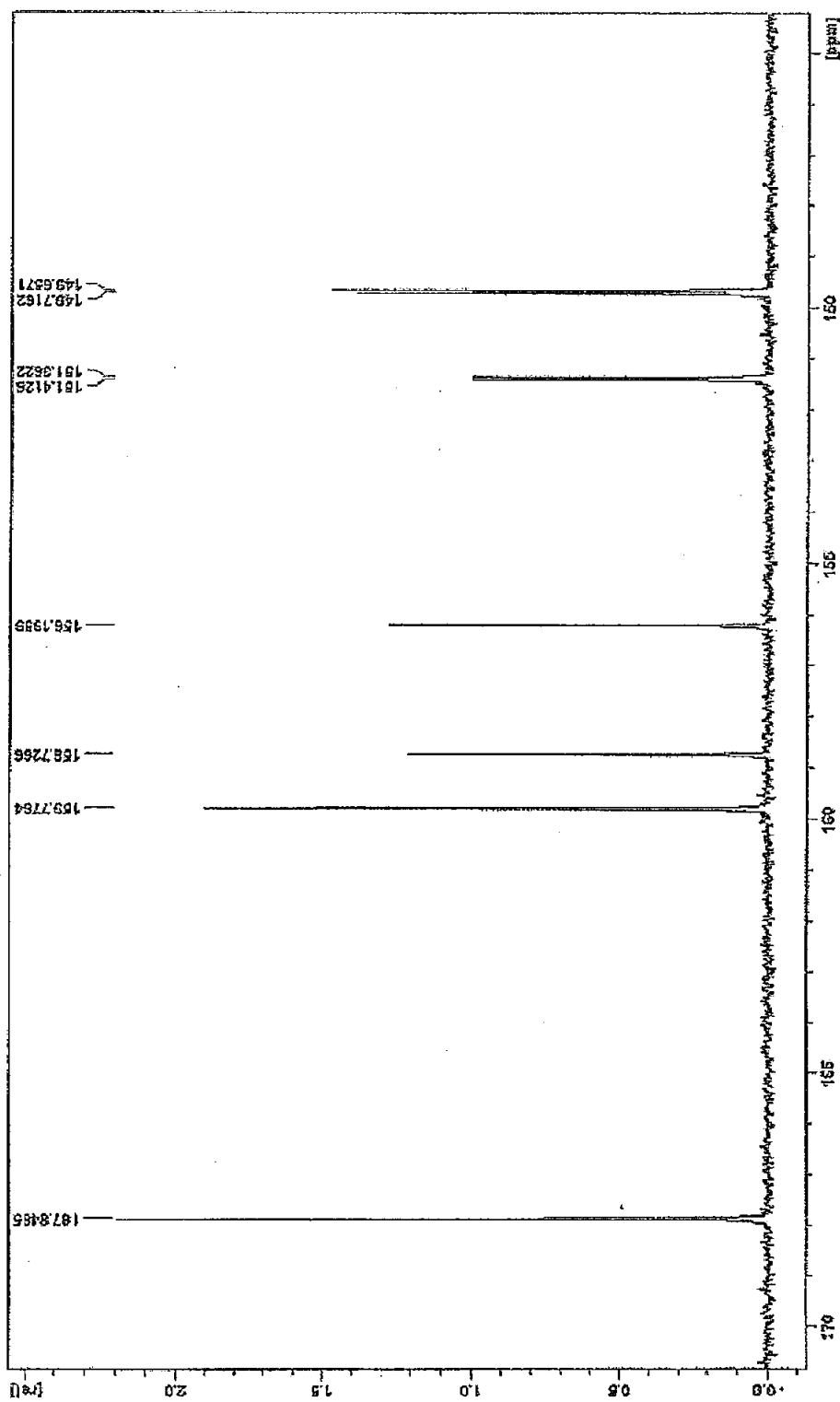


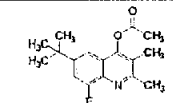
図 8-4  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル (144~171 ppm の拡大)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

## 2-2. 代謝物 M1 の物理化学的性状

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3. 原体の成分組成

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量	
	一般名	化学名				規格値	通常値
有効成分	アフリカチン (AF-02)	6-tert-ブチル-8-フルオロ- 2,3-ジメチル-4-キノリン-7 ヒドレート		C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> FNCl	289.34		
原体混在物							

※：

※※：未知化合物の合計、各未知化合物の含量は0.1%以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

4. 製剤の組成

1) 2.0 %	テブフロキン粉剤		
	テブフロキン	.....	2.0 %
	鋳物質微粉等	.....	98.0 %
2) 20.0 %	テブフロキン水和剤		
	テブフロキン	.....	20.0 %
	鋳物質微粉、界面活性剤等	....	80.0 %
3) 15.0 %	テブフロキン水和剤		
	テブフロキン	.....	15.0 %
	界面活性剤、増量剤等	.....	85.0 %
4) 20.0 %	テブフロキン水和剤		
	テブフロキン	.....	20.0 %
	界面活性剤、増量剤等	.....	80.0 %
5) 10.0 %	テブフロキン水和剤		
	テブフロキン	.....	10.0 %
	鋳物質微粉、界面活性剤等	....	90.0 %

### Ⅲ. 生物活性

#### 1. 活性の範囲

AF-02 は特にイネいもち病菌に高い活性を有し、胞子発芽や菌糸伸長を阻害する。水稻の病原菌ではいもち病以外に穂枯れの原因となるイネごま葉枯病菌や変色米の原因となる *Alternaria* 菌などにも活性が認められる。また野菜などの病原菌である *Cercospora* 属菌や *Oidium* 属菌、*Puccinia* 属菌、*Colletotrichum* 属菌などにも活性を有する。

#### 2. 作用機構

AF-02 はミトコンドリア電子伝達系を阻害することが想定されている。さらにストロビルリン系薬剤に対し感受性が低下したキュウリ褐斑病菌を用いた試験では、交叉耐性を示さないため、本化合物の作用点は QoI 剤とは異なると推定される。

#### 3. 作用特性と防除上の利点など

本化合物は直接抗菌力を有し、特にイネいもち病菌に高い効果を有すが、既存のいもち病防除剤とは交叉耐性を示さない。DL 粉剤や水和剤などの剤型を用いて水稻の茎葉部に散布することにより、付着部位から速やかに作物体内へ浸透し、更に水平方向および垂直方向に移行し防除効果を発揮する。そのため少量散布などの付着ムラが生ずる散布条件下においても有効である。また本化合物は感染阻害以外に病斑形成、病斑進展および病斑上での胞子形成を強く阻害することにより、発病後の二次蔓延を防ぐ治療効果も併せ持つ。

イネいもち病以外の植物病害に関しても同様の作用性を示すことが推測でき、複数の水稻病害、野菜病害において茎葉散布処理により高い実用性を示す。水稻では穂枯れ、変色米などの病害に実用的な効果が認められる。また、野菜病害では輪斑病、紫斑病、うどんこ病、さび病、黒斑病などの病害に実用的な効果が認められる。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

#### IV. 適用及び使用上の注意

##### 1. トライ2粉剤DL (テブフロキン 2.0 %)

###### 1) 適用病害虫の範囲及び使用方法

作物名	適用 病害虫名	使用量	使用時期	本剤の 使用 回数	使用方法	テブフロキンを 含む農薬の 総使用回数
稲	いもち病	3～4 kg/10a	収穫14日前 まで	2回 以内	散布	2回以内
	変色米 (7Mカリ7菌)	4kg/10a				

###### 2) 使用上の注意事項

- (1) 本剤はできるだけ飛散を少なくするように製剤されており、一般の粉剤に比べ、見かけ比重がやや大きく流動性が良いので、散布の際は散粉機の開度を1目盛程度しぼって散布すること。
- (2) 蚕に対して影響があるので、周辺の桑葉にはかからないようにすること。
- (2) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法等を誤らないよう注意し、特に初めて使用する場合には病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

###### 3) 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

水産動植物（魚類）に影響を及ぼすので、養魚田では使用しないこと。

##### 2. トライ2顆粒水和剤 (テブフロキン 20.0 %)

###### 1) 適用病害虫の範囲及び使用方法

作物名	適用 病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の 使用 回数	使用方法	テブフロキンを 含む農薬の 総使用回数
稲	いもち病	1000倍	60～150L /10a	収穫14日前 まで	2回 以内	散布	2回以内

###### 2) 使用上の注意事項

- (1) 蚕に対して影響があるので、周辺の桑葉にはかからないようにすること。
- (2) 散布液調製後はそのまま放置せずできるだけ速やかに散布すること。
- (3) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法等を誤らないよう注意し、特に初めて使用する場合には病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

###### 3) 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

水産動植物（魚類）に影響を及ぼすので、養魚田では使用しないこと。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

### 3. トライフロアブル (テブフロキン 15.0%)

#### 1) 適用病害虫の範囲及び使用方法

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	テブフロキンを含む農薬の総使用回数
稲	いもち病	1000倍	60~150L /10a	収穫14日前 まで	2回 以内	散布	2回以内
		8倍	0.8L/10a			無人ヘリコプター による散布	

#### 2) 使用上の注意事項

(1) 本剤を無人ヘリコプターによる散布に使用する場合には次の注意事項を守ること。

1. 散布液の飛散によって他の動植物等への危被害あるいは自動車の塗装などへ被害を与えるおそれがあるなど、各分野に影響があるので、散布区域内の諸物件に十分留意すること。
  2. 微量散布装置以外の散布器具は使用しないこと。
  3. 各散布機種 of 散布基準に従って実施すること。
  4. 散布中薬液の漏れないように機体の散布用配管その他散布装置の十分な点検を行うこと。
  5. 散布終了後は次の項目を守ること。
    - a) 使用残りの薬液が生じないように調製を行い、使い切ること。
    - b) 機体の散布装置は十分洗浄し、薬剤タンクの洗浄廃液は、河川等に流さないこと。
- (2) 蚕に対して影響があるので、周辺の桑葉にはかからないようにすること。
- (3) 散布液調整後はそのまま放置せずできるだけ速やかに散布すること。
- (4) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法等を誤らないよう注意し、特に初めて使用する場合には病虫害防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

#### 3) 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

水産動植物（魚類）に影響を及ぼすので、養魚田では使用しないこと。

### 4. テブロスフロアブル (テブフロキン 20.0%)

#### 1) 適用病害虫の範囲及び使用方法

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	テブフロキンを含む農薬の総使用回数
茶	輪斑病	1000~ 2000倍	200~400 L/10a	摘採14日前 まで	2回 以内	散布	2回以内

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

2) 使用上の注意事項

- (1) 蚕に対して影響があるので、周辺の桑葉にはかからないようにすること。
- (2) 散布液調整後はそのまま放置せずできるだけ速やかに散布すること。
- (3) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法等を誤らないよう注意し、特に初めて使用する場合には病虫害防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

3) 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

この登録に係る使用方法では該当がない。

5. シヤフト 10 顆粒水和剤 (テブフロキン 10.0 %)

1) 適用病虫害の範囲及び使用方法

作物名	適用病虫害名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	テブフロキンを含む農薬の総使用回数
だいち	紫斑病	500～ 1000 倍	100～300 L/10a	収穫 14 日前 まで	2 回 以内	散布	2 回以内
はくさい	黒斑病						
ねぎ	さび病 黒斑病						
トマト	うどんこ病			収穫前日まで			

2) 使用上の注意事項

- (1) 蚕に対して影響があるので、周辺の桑葉にはかからないようにすること。
- (2) 散布液調整後はそのまま放置せずできるだけ速やかに散布すること。
- (3) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法等を誤らないよう注意し、特に初めて使用する場合には病虫害防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

3) 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

この登録に係る使用方法では該当がない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係

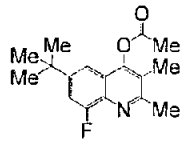
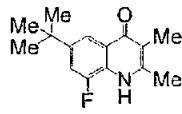
1. 作物残留性試験

1) 分析法の原理と操作概要

AF-02 (親化合物) : 均質化した試料をアセトン抽出後、C<sub>18</sub> ミニカラムで精製して LC-MS/MS で定量する。

代謝物及び抱合体 : 均質化した試料をアセトン抽出後、C<sub>18</sub> ミニカラムで精製する。続いて抱合体を酵素加水分解し、ポリマー系ミニカラム及び陽イオン交換ミニカラムで精製して、LC-MS/MS で定量する。

2) 分析対象の化合物

名称	化学名及び構造式	分子式	分子量	AF-02 への換算係数
AF-02 (親化合物)	6- <i>tert</i> -ブチル-8-フルオロ-2,3-ジメチル-4-キノリル=アセタート 	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> FNO <sub>2</sub>	289.34	—
M1	6- <i>tert</i> -ブチル-8-フルオロ-2,3-ジメチル-4(1 <i>H</i> )-キノリノン 	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> FNO	247.31	1.17

3) 残留試験結果

分析成分：テブフロキン(AF-02)、M1

実施年度：平成20年度、剤型：DL粉剤、有効成分量：2.0%、使用量：4kg/10a、使用方法：散布

分析機関：

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試料調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)			
				AF-02		*AF02-M1	
				最高値	平均値	最高値	平均値
水稻 (露地) (玄米)		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	0.047	0.047
		2	21	<0.01	<0.01	0.047	0.047
		2	28	<0.01	<0.01	0.035	0.029
		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	0.094	0.094
		2	21	<0.01	<0.01	0.023	0.023
		2	27	<0.01	<0.01	0.023	0.023
水稻 (稲わら)		0	—	<0.04	<0.04	<0.047	<0.047
		2	14	<0.04	<0.04	2.41	2.36
		2	21	<0.04	<0.04	2.16	2.14
		2	28	<0.04	<0.04	0.620	0.614
		0	—	<0.04	<0.04	<0.047	<0.047
		2	14	<0.04	<0.04	5.85	5.66
		2	21	<0.04	<0.04	1.84	1.78
		2	27	<0.04	<0.04	2.53	2.48

\*

\*\* 含量値は平均値から算出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

分析機関：

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試料調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)					
				AF-02		*AF02-M1			
				最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
水稻 (露地) (玄米)		0	—	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	14	<0.01	<0.01	0.05	0.04	0.04	0.04
		2	21	<0.01	<0.01	0.04	0.03	0.04	0.03
		2	28	<0.01	<0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
		0	—	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	14	<0.01	<0.01	0.08	0.08	0.08	0.08
		2	21	<0.01	<0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
		2	27	<0.01	<0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
水稻 (稲わら)		0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
		2	14	<0.04	<0.04	2.33	2.30	2.33	2.30
		2	21	<0.04	<0.04	1.93	1.86	1.93	1.86
		2	28	<0.04	<0.04	0.46	0.44	0.46	0.44
		0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
		2	14	<0.04	<0.04	5.32	5.18	5.32	5.18
		2	21	<0.04	<0.04	2.59	2.58	2.59	2.58
		2	27	<0.04	<0.04	2.41	2.38	2.41	2.38

\* 含量値は平均値から算出

実施年度：平成 20 年度、剤型：顆粒水和剤、有効成分量：20.0%、希釈倍率：1,000 倍、使用量：150L/10a、使用方法：散布  
 分析機関：

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試料調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)			
				AF-02		*AF02-M1	
				最高値	平均値	最高値	平均値
水稲 (露地) (玄米)		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	0.059	0.059
		2	21	<0.01	<0.01	0.059	0.059
		2	28	<0.01	<0.01	0.047	0.047
		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	0.105	0.105
		2	21	<0.01	<0.01	0.035	0.035
		2	27	<0.01	<0.01	0.023	0.023
水稲 (稲わら)		0	—	<0.04	<0.04	<0.047	<0.047
		2	14	<0.04	<0.04	2.84	2.80
		2	21	<0.04	<0.04	1.30	1.29
		2	28	<0.04	<0.04	0.655	0.650
		0	—	<0.04	<0.04	<0.047	<0.047
		2	14	<0.04	<0.04	3.28	3.22
		2	21	<0.04	<0.04	1.52	1.48
		2	27	<0.04	<0.04	1.61	1.56

\*

\*\* 合量値は平均値から算出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

分析機関：

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試験調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)					
				AF-02		*AF02-M1			
				最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
水稲 (露地) (玄米)		0	—	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	14	<0.01	<0.01	0.06	0.06	0.06	0.06
		2	21	<0.01	<0.01	0.05	0.04	0.04	0.04
		2	28	<0.01	<0.01	0.04	0.04	0.04	0.04
		0	—	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	14	<0.01	<0.01	0.11	0.10	0.10	0.10
		2	21	<0.01	<0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
		2	27	<0.01	<0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
水稲 (稲わら)		0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
		2	14	<0.04	<0.04	3.14	3.11	3.11	3.11
		2	21	<0.04	<0.04	1.38	1.36	1.36	1.36
		2	28	<0.04	<0.04	0.50	0.49	0.49	0.49
		0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
		2	14	<0.04	<0.04	2.34	2.31	2.31	2.31
		2	21	<0.04	<0.04	1.02	1.00	1.00	1.00
		2	27	<0.04	<0.04	1.12	1.12	1.12	1.12

\* 含量値は平均値から算出  
\*\*



実施年度：平成 23 年度、剤型：フロアブル、有効性分量：15.0%、使用量：1,000 倍 150L/10a、使用方法：散布  
 分析機関：

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試料調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)			
				AF-02		*AF02-M1	
				最高値	平均値	最高値	平均値
水稲 (露地) (玄米)		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	0.094	0.094
		2	21	<0.01	<0.01	0.070	0.070
		2	28	<0.01	<0.01	0.070	0.070
		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	0.117	0.117
		2	21	<0.01	<0.01	0.070	0.070
		2	28	<0.01	<0.01	0.035	0.035
水稲 (稲わら)		0	—	<0.05	<0.05	<0.059	<0.059
		2	14	<0.05	<0.05	3.07	3.04
		2	21	<0.05	<0.05	2.97	2.96
		2	28	<0.05	<0.05	1.67	1.66
		0	—	<0.05	<0.05	<0.059	<0.059
		2	14	<0.05	<0.05	0.573	0.562
		2	21	<0.05	<0.05	0.351	0.339
		2	28	<0.05	<0.05	0.211	0.199
(GLP)							

\*

\*\* 含量値は平均値から算出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

分析成分：テブプロキン(AF-02)、AF02-M1  
 実施年度：平成24年度、剤型：フロアブル、有効性分量：15.0%、使用量：8倍 0.8L/10a、使用方法：無人へり散布  
 分析機関：

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試料調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)					
				AF-02		*AF02-M1		**合量値	
				最高値	平均値	最高値	平均値		
水稲 (露地) (玄米)		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012	<0.03	
		2	14	<0.01	<0.01	0.035	0.023	0.03	
		2	21	<0.01	<0.01	0.023	0.023	0.03	
		2	28	<0.01	<0.01	0.023	0.023	0.03	
		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012	<0.03	
		2	14	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012	<0.03	
		2	21	<0.01	<0.01	0.012	0.012	0.03	
		2	28	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012	<0.03	
水稲 (稲わら)		0	—	<0.05	<0.05	<0.059	<0.059	<0.2	
		2	14	0.43	0.42	1.35	1.35	1.8	
		2	21	0.18	0.18	0.995	0.983	1.2	
		2	28	0.16	0.16	1.22	1.19	1.4	
		0	—	<0.05	<0.05	<0.059	<0.059	<0.2	
		2	14	<0.05	<0.05	0.421	0.398	0.4	
		2	21	0.07	0.07	0.679	0.679	0.7	
		2	28	<0.05	<0.05	0.117	0.117	0.2	

\* 合量値は平均値から算出

分析成分：テブフロキン(AF-02)、AF02-M1

実施年度：平成23年度、剤型：フロアブル、有効性分量：20.0%、使用量：1,000倍 300L/10a、使用方法：散布

分析機関：

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試料調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)			
				AF-02		*AF02-M1	
				最高値	平均値	最高値	平均値
茶 (露地) (荒茶)		0	—	<0.05	<0.05	<0.059	<0.059
		2	14	<0.05	<0.05	3.26	3.23
		2	21	<0.05	<0.05	1.79	1.78
		2	28	<0.05	<0.05	1.01	1.01
		0	—	<0.05	<0.05	<0.059	<0.059
		2	14	<0.05	<0.05	6.35	6.20
		2	21	<0.05	<0.05	1.66	1.65
		2	28	<0.05	<0.05	0.339	0.339
茶 (浸出液)		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	1.50	1.47
		2	21	<0.01	<0.01	0.854	0.819
		2	28	<0.01	<0.01	0.421	0.351
		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	2.28	2.27
		2	21	<0.01	<0.01	0.515	0.515
		2	28	<0.01	<0.01	0.105	0.105

\*

\*\* 含量値は平均値から算出

実施年度：平成 20 年度、剤型：顆粒水和剤、有効性分量：10.0%、希釈倍率：500 倍、使用量：150～200L/10a、使用方法：散布  
 使用量：3

分析機関

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試料調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)			
				AF-02		*AF02-M1	
				最高値	平均値	最高値	平均値
だいず (露地) (種実)		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	21	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	28	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	21	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	28	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
ねぎ (露地) (茎葉)		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	0.023	0.023
		2	21	<0.01	<0.01	0.012	0.012
		2	28	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	0.023	0.023
		2	21	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	28	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012

\*

\*\* 含量値は平均値から算出

分析機関：

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試料調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)					
				AF-02		*AF02-M1			
				最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
だいず (露地) (種実)		0	—	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	14	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	21	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	28	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		0	—	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	14	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	21	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	28	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
ねぎ (露地) (茎葉)		0	—	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	14	<0.01	<0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
		2	21	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	28	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		0	—	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	14	<0.01	<0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
		2	21	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		2	28	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02

\*\* 合量値は平均値から算出

実施年度：平成 23 年度、剤型：顆粒水和剤、有効性分量：10.0%、希釈倍率：500 倍、使用量：222～300L/10a、使用方法：散布  
 使用量：、

分析機関

作物名 (栽培形態) (分析部位)	試料調製 場所 (品種)	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)			
				AF-02		*AF02-M1	
				最高値	平均値	最高値	平均値
トマト (施設) (果実) (GLP)		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	1	0.12	0.12	0.199	0.187
		2	3	0.07	0.06	0.140	0.140
		2	7	0.03	0.03	0.023	0.023
		2	14	0.02	0.02	0.023	0.023
		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	1	0.19	0.19	0.070	0.070
		2	3	0.24	0.23	0.070	0.070
		2	7	0.13	0.12	0.047	0.047
		2	14	0.10	0.10	0.035	0.035
はくさい (露地) (茎葉) (GLP)		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	21	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	28	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		0	—	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	14	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	21	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012
		2	28	<0.01	<0.01	<0.012	<0.012

\*\* 含量値は平均値から算出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

## 2. 乳汁移行性試験

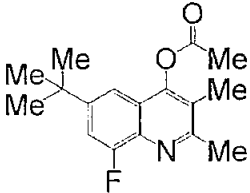
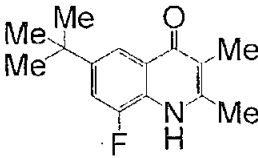
### 1) 試験の概要

ホルスタイン系、雌泌乳牛2頭に、AF-02の代謝物であるAF02-M1 20 mg、カプセルを用いて7日間連続経口投与した。

投与量の設定は、稲わらの最高残留量それぞれ5.0 ppm、1.17 ppm及び1.76 ppmの2倍量を含む稲わら2kgを摂取する場合を想定して行った。

乳汁の分析は投与開始後1、3、7日目、及び投与終了後1、3、5日目の乳を用いた。試料を、エタノールで除タンパクし、アセトニトリルで抽出後、液体クロマトグラフ・質量分析計(LC-MS/MS)で3代謝物を同時に測定した。また、親化合物であるAF-02の生成の有無を確認した。

### 2) 分析対象の化合物

名称	化学名及び構造式	分子式	分子量	AF-02への換算係数
AF-02 (親化合物)	6-tert-ブチル-8-フルオロ-2,3-ジメチル-4-キノリル-アセタート 	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> FNO <sub>2</sub>	289.34	—
M1	6-tert-ブチル-8-フルオロ-2,3-ジメチル-4(1H)-キノリノン 	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> FNO	247.31	1.17

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3) 試験結果

試験機関	財団法人畜産生物科学安全研究所						平成20年度	
結果	経過日数	個体番号 501			個体番号 502			
投与量 (mg/頭/日)		AF02 0 mg	M1 20 mg		AF02 0 mg	M1 20 mg		
分析結果 (ppm)	開始前日	< 0.01	< 0.01		< 0.01	< 0.01		
	投与開始後	1日	< 0.01	< 0.01		< 0.01	< 0.01	
		3日	< 0.01	< 0.01		< 0.01	< 0.01	
		7日	< 0.01	< 0.01		< 0.01	< 0.01	
	投与終了後	1日	< 0.01	< 0.01		< 0.01	< 0.01	
		3日	< 0.01	< 0.01		< 0.01	< 0.01	
		7日	< 0.01	< 0.01		< 0.01	< 0.01	



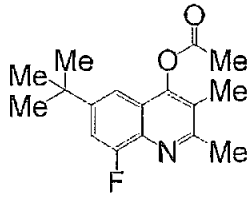
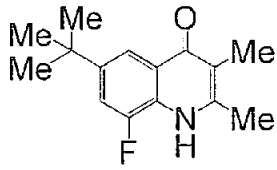
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3. 土壌残留性試験

1) 分析法の原理と操作概要

試料をアセトニトリル及び0.1N-塩酸/アセトニトリル (20/80 v/v) で抽出し、C<sub>18</sub> ミニカラム及び陽イオン交換ミニカラムで精製して、LC-MS/MS で定量する。

2) 分析対象の化合物

名称	化学名及び構造式	分子式	分子量	AF-02 への 換算係数
AF-02 (親化合物)	6- <i>tert</i> -ブチル-5-フルオロ-2,3-ジメチル-4-キノ リル=アセタート  	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> FNO <sub>2</sub>	289.34	—
M1	6- <i>tert</i> -ブチル-3-フルオロ-2,3-ジメチル-4(1 <i>H</i> )- キノリノン  	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> FNO	247.31	1.17

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3) 試験結果

①圃場試験

水田：

推定半減期(AF-02+M1 の含量値から計算)

沖積・軽埴土 約 1.9日

火山灰・埴壤土 約 23.3日

分析機関；

試料調製及び採取場所	供試薬剤の処理方法	散布回数	経過日数	分析値(mg/kg)		AF02-M1 *親換算値
				AF-02	M1	
平成 20 年度	AF-0201	0	—	<0.01	<0.01	<0.012
	顆粒水和剤 (AF-02 20.0%)	2	0	<0.01	0.48	0.562
		2	3	<0.01	0.18	0.211
		2	7	<0.01	0.12	0.140
		2	14	<0.01	0.14	0.164
	375倍希釈 150L/10a 散布 400g(80gai) /10a	2	30	<0.01	0.09	0.105
		2	60	<0.01	0.09	0.105
		2	90	<0.01	0.08	0.094
		2	120	<0.01	0.08	0.094
	2	150	<0.01	0.08	0.094	
2	179	<0.01	0.06	0.070		
平成 20 年度	AF-0201	0	—	<0.01	<0.01	
	顆粒水和剤 (AF-02 20.0%)	2	0	0.03	0.52	
		2	3	<0.01	0.37	
		2	7	<0.01	0.32	
		2	14	<0.01	0.30	
	375倍希釈 150L/10a 散布 400g(80gai) /10a	2	30	<0.01	0.24	
		2	60	<0.01	0.18	
		2	90	<0.01	0.18	
		2	120	<0.01	0.16	
	2	150	<0.01	0.17		
2	180	<0.01	0.11			

\*換算係数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

②圃場試験

畑地：

推定半減期

沖積・埴壌土 約 51.2 日

火山灰・壤土 約 66.1 日

分析機関；

試料調製及び採取場所	供試薬剤の処理方法	散布回数	経過日数	分析値(mg/kg)		AF02 -M1 *親換算値
				AF-02		
(沖積・埴壌土)	AFH-0001	0	—	<0.01		<0.012
	顆粒水和剤 (AF-02 10.0%)  500倍希釈 300L/10a 散布 600g(60gai) /10a  2回施用	2	0	0.14		1.43
		2	3	0.14		1.32
		2	7	0.03		1.36
		2	14	0.14		1.33
		2	30	<0.01		1.09
		2	60	<0.01		0.679
		2	90	<0.01		0.468
		2	120	<0.01		0.281
		2	150	<0.01		0.351
2	180	<0.01		0.293		
2	270	<0.01		0.257		
(火山灰・壤土)	AFH-0001	0	—	<0.01		
	顆粒水和剤 (AF-02 10.0%)  500倍希釈 300L/10a 散布 600g(60gai) /10a  2回施用	2	0	0.04		
		2	3	0.02		
		2	7	<0.01		
		2	14	<0.01		
		2	30	<0.01		
		2	60	<0.01		
		2	90	<0.01		
		2	120	<0.01		
		2	150	<0.01		
2	180	<0.01				
2	270	<0.01				

4. 後作物残留性試験

有効成分の推定半減期が100日を越えないことから試験省略。

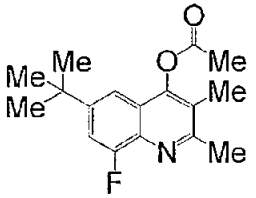
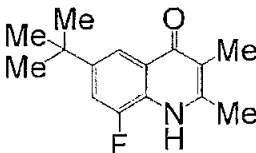
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

5. 環境中予測濃度算定関係  
水質汚濁性

1) 分析法の原理と操作概要

試料に等量のアセトニトリルを加えた後、アセトニトリル/水 (50 : 50) 混液で定容する。前処理フィルターでろ過し、必要に応じて同混液で希釈して、LC-MS/MS で定量する。

2) 分析対象の化合物

名 称	化学名及び構造式	分子式	分子量	AF-02 への 換算係数
AF-02 (親化合物)	6- <i>tert</i> -ブチル-8-フルオロ-2,3-ジメチル -4-キノリル=アセタート 	$C_{17}H_{26}FNO_2$	289.34	—
M1	6- <i>tert</i> -ブチル-8-フルオロ-2,3-ジメチル -4(1 <i>H</i> )-キノリノン 	$C_{15}H_{18}FNO$	247.31	1.17

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3) 試験結果

供試薬剤：AF-0201 粉剤DL、使用量：4kg/10a、1回施用

①田面水

試料調製及び 採取場所	経過日数	分析値(mg/L)	
		AF-02	M1
残留農薬研究所 (灰色低地土 ・軽埴土) 平成 20 年度	処理直前	<0.001	<0.001
	処理直後	0.586	0.220
	1	0.020	0.388
	2	0.002	0.106
	3	0.002	0.117
	5	<0.001	0.045
	7	<0.001	0.023
	10	<0.001	0.011
残留農薬研究所 (多湿黒ボク土 ・埴壤土) 平成 20 年度	処理直前	<0.001	<0.001
	処理直後	0.555	0.203
	1	0.018	0.194
	2	0.004	0.061
	3	0.004	0.044
	5	0.002	0.032
	7	<0.001	0.012
	10	<0.001	0.009
14	<0.001	0.005	

②浸透水

試料調製及び 採取場所	経過日数	分析値(mg/L)	
		AF-02	M1
残留農薬研究所 (灰色低地土 ・軽埴土) 平成 20 年度	処理直前	<0.001	<0.001
	7	<0.001	<0.001
	14	<0.001	<0.001
残留農薬研究所 (多湿黒ボク土 ・埴壤土) 平成 20 年度	処理直前	<0.001	<0.001
	7	<0.001	<0.001
	14	<0.001	<0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

VI. 有用動植物に及ぼす影響

1. 水産動植物への影響

No.	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群当り の供試数	試験方法	試験水温 (℃)	LC50 または EC50 値(mg/L)				試験機関 (報告年)	抄録 頁		
						24h	48h	72h	96h				
有-1 GLP	魚類急性毒性 試験 原体	コイ	7尾	流水式	23.0 ~23.1	24h 4.7*	48h 3.5*	72h 3.0*	96h 2.7*	濃度は実測値に基づく値	44		
有-2 GLP	ミシノコ類急性 遊泳阻害試験 原体	オオミジンコ	20頭	止水式	19.3 ~19.7	24h 0.89*	48h 0.76*					濃度は実測値に基づく値	46
有-3 GLP	藻類生長阻害 試験 原体	<i>Pseudokirch neriella subcapitata</i>	初期 細胞濃度 1.0 x 10 <sup>4</sup> cells/ml	振とう 培養	22.6 ~22.8	ErC50(0-72h) 1.3* NOEC(生長速度0-72h) 0.085*							

\* a. i.

No.	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群当り の供試数	試験方法	試験水温 (℃)	LC50 または EC50 値(mg/L)				試験機関 (報告年)	抄録 頁		
						24h	48h	72h	96h				
有-4 GLP	魚類急性毒性 試験 粉剤 2.0%	コイ	10尾	止水式	22.4 ~23.0	24h 200	48h 190	72h 190	96h 160	濃度は実測値に基づく値	48		
有-5 GLP	ミシノコ類急性遊 泳阻害試験 粉剤 2.0%	オオミジンコ	20頭	止水式	19.9 ~20.2	24h >50	48h 33					濃度は実測値に基づく値	48
有-6 GLP	藻類生長阻害 試験 粉剤 2.0%	<i>Pseudokirch neriella subcapitata</i>	初期 細胞濃度 1.0 x 10 <sup>4</sup> cells/ml	振とう 培養	23.3 ~23.6	ErC50(0-72h) 110 NOECr(生長速度0-72h) 5.0							
有-7 GLP	魚類急性毒性 試験 水和剤 20.0%	コイ	7尾	止水式	22.9 ~23.1	24h 19	48h 16	72h 16	96h 14	濃度は実測値に基づく値	51		
有-8 GLP	ミシノコ類急性遊 泳阻害試験 水和剤 20.0%	オオミジンコ	20頭	止水式	20.1	24h 2.4	48h 2.0					濃度は実測値に基づく値	52
有-9 GLP	藻類生長阻害 試験 水和剤 20.0%	<i>Pseudokirch neriella subcapitata</i>	初期 細胞濃度 1.0 x 10 <sup>4</sup> cells/ml	振とう 培養	23.5 ~23.6	ErC50(0-72h) 14 NOECr(生長速度0-72h) 0.60							

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

No.	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群当り の供試数	試験方法	試験水温 (℃)	LC50またはEC50値(mg/L)				試験機関 (報告年)	抄録 頁
						24h	48h	72h	96h		
有-10 GLP	魚類急性毒性 試験 水和剤 20.0%	コイ	7尾	止水式	22.5 ~23.0	24h 24	48h 24	72h 24	96h 24		54
						濃度は実測値に基づく値					
有-11 GLP	シソノ類急性遊 泳阻害試験 水和剤 20.0%	オオミジンコ	20頭	止水式	20.1 ~20.2	24h 3.4	48h 2.2				55
有-12 GLP	藻類生長阻害 試験 水和剤 20.0%	<i>Pseudokirch neriella subcapitata</i>	初期 細胞濃度 1.0 x 10 <sup>4</sup> cells/ml	旋回振と う培養	21.9 ~22.8	ErC50(0-72h) 16 NOECr(生長速度0-72h) <1.7 濃度は設定濃度に基づく値				56	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

1) 魚類急性毒性試験 (原体)

(資料 有-1)

被験物質：AF-02 (テブフロキン) 原体 純度 %

供試生物：コイ (学名 *Cyprinus carpio* L.)

体長 4.8±0.23 cm, 体重 1.2±0.16 g

方法：

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

暴露方式：流水式 (換水率；約8.6回/日)

暴露時間：96 時間

動物数：7 尾/試験区×1 連

試験水量：10 L

給 餌：無給餌

溶存酸素濃度：8.1~8.6 mg/L (飽和濃度の60 %以上) エアレーションなし

pH：7.6~7.9

照 明：室内光、16 時間明/8 時間暗

試験液の調製方法

試験液の調製は純度 補正して行った。

必要量の供試試料を秤量し、*N,N*-ジメチルホルムアミド(DMF)に溶解させて $6.0 \times 10^4$  mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液をDMFで適宜希釈して各濃度区の $10^4$ 倍の濃度の試験原液を調製した。希釈装置及び定量ポンプにより、試験用水と試験原液あるいは助剤(DMF)を一定の割合で混合し、スターラーで攪拌して連続的に試験液を調製した。

試験水温：23±1 °C

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0、1.2、1.7、2.7、4.0 及び6.0	
	実測濃度 (平均)	0、1.0、1.5、2.4、3.5 及び4.8	
LC50 (mg/L) a.i. (95%信頼限界)	24 h	4.7	
	48 h	3.5 (2.8~4.3)	
	72 h	3.5 (2.4~3.7)	
	96 h	2.7 (2.2~3.3)	
NOEC (mg/L) a.i.	1.0		
死亡例の認められなかつた最高濃度 (mg/L) a.i.	1.5		

濃度は実測値に基づく値

毒性症状：

暴露期間中、対照区との比較において、表層集中、平衡喪失、体色暗化、出血、嗜眠状態及び活動度の低下が見られた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

試験液中の被検物質濃度の測定結果：

測定した試験液中の被検物質濃度は、暴露開始時は設定値に対して83～93%、暴露開始48時間後は76～90%、暴露終了時では83～90 %であり、設定濃度の±20 %を超えていた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験 (原体)

(資料 有-2)

被験物質：AF-02 (テブフロキン) 原体 純度 %  
供試生物：オオミジンコ (学名 *Daphnia magna*)

方 法：

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

暴露方式：止水式

暴露時間：48 時間

生物数：20 頭/試験区 (5 頭/容器×4)

試験水量：400 mL/試験区 (100 mL/試験容器)

給 餌：無給餌

溶存酸素濃度：8.4~8.6 mg/L (暴露終了時 3mg/L以上) エアレーションなし

pH：7.8~7.9

照 明：室内光、16 時間明/8 時間暗

試験液の調製方法

試験液の調製は純度 補正して行った。

必要量の供試試料を秤量し、*N,N*-ジメチルホルムアミド(DMF)に溶解させて $1.2 \times 10^4$ mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液をDMFで適宜希釈して各濃度区の $10^4$ 倍の濃度の試験原液を調製した。調製容器に入れた試験用水を攪拌しながら、必要量の試験原液もしくは助剤を添加して試験液を調製し、各試験容器に分割した。

試験水温：20±1 °C

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0、0.24、0.36、0.53、0.80 及び1.2	
	実測濃度 (平均)	0、0.23、0.34、0.50、0.73 及び1.1	
EC50 (mg/L) (95%信頼限界) a. i.	24 h	0.89	
	48 h	0.76 (0.69~0.85)	
NOEC (mg/L) a. i.	0.24		

濃度は設定濃度に基づく値

毒性症状：

暴露期間中、対照区との比較において、嗜眠状態、遊泳阻害及び活動度の低下が見られた。

試験液中の被検物質濃度の測定結果：

測定した試験液中の被検物質濃度は、暴露開始時は設定値に対して96~101%、暴露終了時では86~91 %であり、設定濃度の±20 %以内に保たれていた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3) 藻類生長阻害試験 (原体)

(資料 有-3)

被験物質: AF-02 (テブフロキン) 原体 純度 %  
供試生物: 藻類 (学名 *Pseudokirchneriella subcapitata*)  
初期濃度  $1.0 \times 10^4$  cell/mL

方 法:

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

培養方式: 無菌、旋回振とう培養 (100 r. p. m.)

暴露時間: 72 時間

試験水量: 100 mL/試験容器 × 3 連

pH : 7.8~8.0

照 明: 94~100  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  (連続照明)

試験液の調製方法

試験液の調製は純度 補正して行った。

必要量の供試試料を秤量し、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)に溶解させて $1.0 \times 10^5$ mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液をDMFで適宜希釈して各濃度区の $10^4$ 倍の濃度の試験原液を調製した。調製容器に必要な量の試験原液もしくは助剤と培地を混合し、攪拌して試験液を調製し、各試験容器に分割した。

培養温度:  $23 \pm 2^\circ\text{C}$

結 果:

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0, 0.10, 0.32, 1.0, 3.2 及び 10
	実測濃度	0, 0.085, 0.27, 0.84, 2.6 及び 8.0
ErC50 0~72h (95%信頼限界) a.i.		1.8 (算出不可)
NOECr(mg/L) 0~72h a.i.		0.085

濃度は実測値に基づく値

試験液中の被検物質濃度の測定結果:

測定した試験液中の被検物質濃度は、暴露開始時では設定値に対して92~100%、暴露終了時は69~74%であり、設定濃度の $\pm 20\%$ を超えていた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

4) 魚類急性毒性試験 (製剤)

(資料 有-4)

被験物質 : AF-0201 粉剤 DL

有効成分 2.0%

供試生物 : コイ (学名 *Cyprinus carpio L.*)

一群各10匹, 体長 : 5.6±0.20 cm, 体重 : 2.1±0.24 g

方法 :

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

暴露方式 : 止水式

暴露時間 : 96 時間

動物数 : 10 尾/試験区×1連

試験水量 : 50 L

給 餌 : 無給餌

溶存酸素濃度 : 7.1~8.9 mg/L (飽和濃度の60 %以上) エアレーションあり

pH : 7.5~7.9

照 明 : 室内光、16 時間明/8 時間暗

試験液の調製方法

必要量の被験物質と試験用水を試験容器で混合、攪拌して調製した。

試験水温 : 23±1°C

結果 :

試験濃度 (mg/L)	0、79、120、180、270、400	
LC50 (mg/L)	24 h	19
	48 h	190
	72 h	190
	96 h	160
NOEC (mg/L)	79	
死亡例の認められなかった最高濃度 (mg/L)	120	

濃度は設定濃度に基づく値

毒性症状 : 毒性症状は平衡喪失、出血、嗜眠状態及び活動度低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

5) ミジンコ類急性遊泳阻害試験 (製剤)

(資料 有-5)

被験物質：AF-0201 粉剤 DL 有効成分 2.0%

供試生物：オオミジンコ (学名 *Daphnia magna*)

方 法：

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

暴露方式：止水式

暴露時間：48 時間

生物数：20 頭/試験区 (5 頭/容器×4)

試験水量：400 mL/試験区 (100 mL/試験容器)

給 餌：無給餌

溶存酸素濃度：8.3~8.5 mg/L (暴露終了時 3mg/L以上) エアレーションなし

pH：7.7~7.9

照 明：室内光、16 時間明/8 時間暗

試験液の調製方法

必要量の被検物質と試験用水を試験容器で混合、攪拌して調製した。

試験水温：20±1°C

結 果：

試験濃度 (mg/L)	0、13、18、26、36、50	
EC50 (mg/L)	24 h	> 50
	48 h	33
NOEC (mg/L)	18	

濃度は設定濃度に基づく値

毒性症状： 毒性症状は嗜眠状態、遊泳阻害及び活動度低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

6) 藻類生長阻害試験 (製剤)

(資料 有-6)

被験物質 : AF-0201 粉剤 DL 有効成分 2.0%

供試生物 : 藻類 (学名 *Pseudokirchneriella subcapitata*)  
初期濃度  $1.0 \times 10^4$  cell/mL

方 法 :

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

培養方式 : 無菌、振とう培養 (100 r. p. m.)

暴露時間 : 72 時間

試験水量 : 100 mL/試験容器 × 3 連

pH : 無調整 7.7~8.1

照 明 : 94~96  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 液面 (連続照明)

試験液の調製方法

必要量の被験物質と培地を混合、攪拌して調製した。

培養温度 :  $23 \pm 2^\circ\text{C}$

結 果 :

試験濃度 (mg/L)	0, 5.0, 16, 50, 160, 500
ErC50 0~72h (95 %信頼限界)	110 (42~310)
NOECr 0~72h	5.0

濃度は設定濃度に基づく値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

7) 魚類急性毒性試験 (製剤)

(資料 有-7)

被験物質：AF-0201 顆粒水和剤

有効成分 20.0%

供試生物：コイ (学名 *Cyprinus carpio* L.)

一群7匹, 体長: 5.5±0.33 cm, 体重: 1.9±0.35 g

方法:

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

暴露方式: 止水式

暴露時間: 96 時間

動物数: 7尾/試験区×1連

試験水量: 50 L

給餌: 無給餌

溶存酸素濃度: 8.0~8.4 mg/L (飽和濃度の60%以上) エアレーションあり

pH: 7.6~7.9

照明: 室内光, 16 時間明/8 時間暗

試験液の調製方法

必要量の被検物質と試験用水を試験容器で混合、攪拌して調製した。

試験水温: 23±1°C

結果:

試験濃度 (mg/L)	0, 9.9, 15, 22, 33, 50	
LC <sub>50</sub> (mg/L)	24 h	19 (15 ~ 25)
	48 h	16
	72 h	16
	96 h	14
NOEC (mg/L)	9.9	
死亡例の認められなかった最高濃度 (mg/L)	9.9	

濃度は実測値に基づく値

毒性症状: 毒性症状は平衡喪失、体幹の湾曲、出血、嗜眠状態及び活動度の低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

8) ミジンコ類急性遊泳阻害試験 (製剤)

(資料 有-8)

被験物質：AF-0201 顆粒水和剤

有効成分 20.0%

供試生物：オオミジンコ (学名 *Daphnia magna*)

方 法：

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

暴露方式：止水式

暴露時間：48 時間

生物数：20 頭/試験区 (5 頭/容器×4)

試験水量：400 mL/試験区 (100 mL/試験容器)

給 餌：無給餌

溶存酸素濃度：8.6~8.8 mg/L (暴露終了時 3mg/L以上) エアレーションなし

pH：7.6~7.8

照 明：室内光、16 時間明/8 時間暗

試験液の調製方法

必要量の被験物質と試験用水を試験容器で混合、攪拌して調製した。

試験水温：20±1℃

結 果：

試験濃度 (mg/L)	0, 0.79, 1.2, 1.8, 2.7, 4.0	
EC <sub>50</sub> (mg/L)	24 h	2.4
	48 h	2.0
NOEC (mg/L)	1.2	

濃度は設定濃度に基づく値

毒性症状： 毒性症状は嗜眠状態、遊泳阻害及び活動度低下が認められた。



9) 藻類生長阻害試験 (製剤)

(資料 有-9)

被験物質 : AF-0201 顆粒水和剤 有効成分 20.0%

供試生物 : 藻類 (学名 *Pseudokirchneriella subcapitata*)  
初期濃度  $1.0 \times 10^4$  cell/mL

方 法 :

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

培養方式 : 無菌、振とう培養 (100 r. p. m.)

暴露時間 : 72 時間

試験水量 : 100 mL/試験容器 × 3 連

pH : 無調整 7.9~8.1

照 明 : 98~99  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  (連続照明)

試験液の調製方法

必要量の被験物質と培地を混合、攪拌して調製した。

培養温度 :  $23 \pm 2^\circ\text{C}$

結 果 :

試験濃度 (mg/L)	0、0.60、1.9、6.0、19、60
ErC50 0~72h (95 %信頼限界)	14 (算出不可)
NOECr 0~72h	0.60

濃度は実測値に基づく値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

10) 魚類急性毒性試験 (製剤)

(資料 有-10)

被験物質：AF-0201 フロアブル 20

有効成分：テブフロキン 20.0%

供試生物：コイ (学名 *Cyprinus carpio L.*)

一群各7尾, 全長: 4.9±0.2 cm, 体重: 1.3±0.2 g

方法:

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

暴露方式: 止水式

暴露時間: 96 時間

動物数: 7 尾/試験区×1 連

試験水量: 50 L

給 餌: 無給餌

溶存酸素濃度: 7.1~8.3 mg/L (飽和濃度の60 %以上) エレクションあり

pH: 7.4~7.8

照 明: 室内灯, 16 時間明/8 時間暗

試験液の調製方法

必要量の被検物質と試験用水を試験容器で混合、攪拌して調製した。

試験水温: 22.5~23.0°C

結果:

試験濃度 (mg/L)	6.0、10、17、29、50	
LC50 (mg/L)	24 h	24
	48 h	24
	72 h	24
	96 h	22
NOEC (mg/L)	17	
死亡例の認められなかつた最高濃度 (mg/L)	17	

濃度は設定濃度に基づく値

毒性症状: 毒性症状は、完全平衡喪失、体色暗化、狂奔、眼球突出、出血、嗜眠状態、筋肉痙攣、軽度平衡喪失及び活動度の低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

11) ミジンコ類急性遊泳阻害試験 (製剤)

(資料 有-11)

被験物質：AF-0201 フロアブル 20

有効成分：テブフロキン 20.0%

供試生物：オオミジンコ (学名 *Daphnia magna*)

方 法：

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

暴露方式：止水式

暴露時間：48 時間

生物数：20 頭/試験区 (5頭/容器×4)

試験水量：400 mL/試験区 (100 mL/試験容器)

給 餌：無給餌

溶存酸素濃度：8.9~9.0 mg/L (暴露終了時 3mg/L以上) エンションなし

pH：8.0~8.2

照 明：室内灯、16 時間明/8 時間暗

試験液の調製方法

必要量の被験物質と試験用水を試験容器で混合、攪拌して調製した。

試験水温：20.1~20.2

結 果：

試験濃度 (mg/L)	0.79、1.2、1.8、2.7、4.0	
EC50 (mg/L)	24 h	3.4
	48 h	2.2
NOEC (mg/L)	1.2	

濃度は設定濃度に基づく値

毒性症状： 毒性症状は嗜眠状態、遊泳阻害及び活動度低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

12) 藻類生長阻害試験 (製剤)

(資料 右-12)

被験物質：AF-0201 フロアブル 20

有効成分：テブフロキン 20.0%

供試生物：藻類 (学名 *Pseudokirchneriella subcapitata*)  
初期濃度  $1.0 \times 10^4$  cell/mL

方 法：

試験条件 (暴露条件及び環境条件)

培養方式：旋回振とう培養 (約100回/分)

暴露時間：72 時間

試験水量：100 mL/対照区 (100mL/試験容器) × 6連

100 mL/試験濃度区 (100mL/試験容器) × 3連

pH : 無調整 7.9~8.2

照 明：89~93  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 液面 (連続照明)

試験液の調製方法

必要量の被検物質と培地を混合、撪拌して調製した。

試験水温：21.9~22.8°C

結 果：

試験濃度 (mg/L)	1.7、3.8、8.3、18、40
$E_{rC_{50}}$ 0~72h (95 %信頼限界)	16 (15~17)
NOEC 0~72h	<1.7

濃度は設定濃度に基づく値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

## 2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

### 1) 蚕

No.	供試生物 (齢期)	1群あたり 供試虫 数	被験物質	処理量/試験方法	結 果	試験機関 (報告年)	抄録 頁
有   13	蚕 朝日×東海 4 齢起蚕	20 頭/群 3 反復	原体	原体を 150 倍希 釈し人工飼料に 混入して投与	4 日後死亡率 100%		59
有   14	蚕 ぐんま× 200 4 齢起蚕	50 頭/群 2 反復	製剤 (20% 顆粒 水和剤)	製剤の 300 倍希 釈液を添食開始 日の 1~21 日前 に散布。4 齢期間 中に連続投与	影響 散布 3 日後:あり 散布 7 日後:なし		60

### 2) ミツバチ

No.	供試生物 (齢期)	1群あたり 供試虫 数	被験物質	処理量/試験方法	結 果	試験機関 (報告年)	抄録 頁
有   15	ミツバチ (羽化後 2~5 週齢)	10 頭/群 3 反復	原体	15 $\mu$ g、150 $\mu$ g/頭 を経口投与	LD <sub>50</sub> ( $\mu$ g/頭) 24 時間: >100 48 時間: >100		61

### 3) 天敵

No.	供試生物 (齢期)	1群あたり 供試虫 数	被験物質	処理量/試験方法	結 果	試験機関 (報告年)	抄録 頁
有   16	コマン アブラバチ (成虫)	11~15 頭 /群 3 反復	原体	原体を 121.58 倍 に希釈し、 1 $\mu$ l/cm <sup>2</sup> 滴下 (ドライフィルム法)	48 時間後 死亡率 100%		63
有   17	ウツキモリクモ (2 齢幼体)	10 頭/群 3 反復	原体	原体を 750 倍に 希釈し、6 $\mu$ l/cm <sup>2</sup> 散布 (石英砂上法)	48 時間後 死亡率 0%		64
有   18	ヒメササゲロウ (若齢幼虫)	30 頭/30 穴/容器 反復なし	原体	原体を 122 倍に 希釈し、1 $\mu$ l/cm <sup>2</sup> 滴下 (ドライフィルム法)	48 時間後 死亡率 0%		65

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

4) 鳥類

No.	供試生物 (齢期)	1群あ たり供 試数	被験物質	処理量/試験方法	結 果	試験機関 (報告年)	抄録 頁
有   19	ニホンウズラ (25 及び 26 日 齢、性別 区別なし)	10 羽 6 群	原体	260, 430, 720, 1200, 2000mg/kg 単回経口投与	LD <sub>50</sub> (mg/kg) >2,000		66

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

1) -① カイコに対する影響試験

(資料 有-13)

試験実施期間：2007年9月3日～2007年10月4日

供試生物：カイコ (*Bombyx mori*)  
系統 朝日×東海、  
4齢幼虫、1区20頭、3反復

供試薬剤：AF-02 (テブフロキン) 原体 純度 %

試験方法：本試験の処理区は、AF-02の実用最高処理量である、2%製剤4kg/10a処理での投下成分量80gが、散布剤の桑樹への通常の処理量である120L/10aに含まれる場合を想定し、その10倍高い濃度に相当する150倍希釈の水溶液を人工飼料に重量比5%混入し、処理量が実際の桑葉への散布による付着量を下回らないようにした。  
対照物質 MEP 標準品は、2000倍希釈液を人工飼料に重量比5%混入した。  
各区20頭3反復で、4齢起蚕幼虫を供試した。

結 果：

表-1 死虫率・摂食量・成育速度

被験物質	混入量 (mg/飼料50g)	処理4日後 累積死虫率(%)	開始時 虫重(mg/頭)	4日間増加量 (mg/頭)	4日間摂食量 (乾重g/反復)	7日後5齢 脱皮虫率 (%)
AF-02 原体	16.7	100	167.3	-	0.0	-
MEP 標準品	1.25	100	174.3	-	0.0	-
無処理	0	0	175.5	593.0	8.5	98.3

考 察：対照物質 MEP 処理区では、給与開始直後より首を振る個体が認められ、1日後には全ての個体が苦悶もしくは死亡の状態となり、処理2日後までに全ての供試虫が死亡した。  
AF-02 処理区は、給与約2時間後には体の弾力を失い転倒しているのが確認された。1日後に全ての個体が苦悶もしくは死亡の状態となった。処理4日後までに全ての供試虫が死亡し、本試験条件では強い影響が認められた。

1) -② カイコに対する残毒性検定試験 (製剤)

(資料 有-14)

試験実施期間：2009年6月2日～2009年7月14日

供試生物：カイコ (*Bombyx mori*)

系統 ぐんま×200、

4齢幼虫、1区50頭、2反復

桑

品種 一の瀬

供試薬剤：AF-0201 顆粒水和剤 含有量 20.0 %

試験方法：本試験の処理区は、AF-02の実用最高処理量である、2%製剤4kg/10a処理での投下成分量80gが、散布剤の桑樹への通常の処理量である120L/10aに含まれる場合を想定し、その濃度に相当する300倍希釈の水溶液を4齢添食開始日の1、3、7、14、21日前に肩掛型噴霧器を用いて散布した。添食開始日に採取した薬剤汚染桑は、ビニール袋に入れ密封・5℃保存をし、4齢期間中連続給与した。5齢起蚕から上蔭までは、全ての試験区に同一の非汚染桑を給与した。

1区50頭2反復で、4齢起蚕幼虫を供試した。

結果：

表-1 死虫率、4～5齢経過日数、結繭蚕数、化蛹歩合、発育の斉一度、中毒症状

供試薬剤	散布後 の日数	死亡率 (4～5齢)	4～5齢 経過日数	化蛹歩合 (%)	発育の 斉一度	中毒症状
AF-0201 顆 粒水和剤	1	4	12	93	斉一	あり(軟化伸長・致死)
	3	6	12	93	斉一	あり(軟化伸長・致死)
	7	1	12	99	斉一	なし
	14	3	12	97	斉一	なし
	21	1	12	94	斉一	なし
無処理	-	0	12	98	斉一	なし

考察：散布後1、3日区で中毒症状により致死する個体が見られた。その症状は、添食直後には食桑行動等に異常はなかったが、添食翌日に数頭が軟化伸長し致死した。致死した数頭以外の個体にはその後も目立った中毒症状はなく、無処理区と同様な飼育経過で生育し飼育成績も良好であった。一方、散布7、14、21日区の個体には中毒症状はなく、本剤に起因する飼育成績への悪影響はなく、無処理区と遜色ない飼育成績であった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

2) -① ミツバチに対する急性経口毒性試験

(資料 有-15)

試験実施期間：2007年6月6日～2007年6月8日

供試生物：セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*)

羽化後およそ2週間から5週間経過した働き蜂、1区10頭、3反復

供試薬剤：AF-02 (テブフロキン) 原体 純度 %

試験方法：OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALS PROPOSAL FOR A NEW GUIDELINE 213 Honeybees, Acute Oral Toxicity Test (ENV/EPOC (98)9) に準拠して行った。

しよ糖液と代用花粉を適宜与えながら管理しているセイヨウミツバチを供試した。AF-02 (テブフロキン) 原体と対照物質ジメトエート標準品を、50%しよ糖液を用いて各割合に希釈し、10頭当たり200 $\mu$ l投与した。約4時間投与した後に、試験物質のついていない50%しよ糖液に交換した。10頭当たりの試験物質溶液摂取量と溶液の比重から実質摂取量を求めた。投与開始から4時間後、24時間後ならびに48時間後に、生存、死亡及び異常の各個体数を調査した。

結 果：

表-1 各投与区における死亡率(%)

試験物質	投与量( $\mu$ g/頭)	実質摂取量( $\mu$ g/頭)	死亡率(%)*		
			給与4時間後	24時間後	48時間後
AF-02 原体	150	132.3000	0	6.7	6.7
	15	14.2650	0	3.3	3.3
ジメトエート 標準品	0.2	0.1856	0	73.3	80.0
	0.15	0.1264	0	26.7	40.0
	0.1125	0.1113	0	3.3	3.3
	0.0844	0.0790	3.3	6.7	6.7
対照区	—	—	0	0	0

\*：異常個体も死亡とみなし算出した。

表-2 ジメトエート標準品の24時間後及び48時間後のLD<sub>50</sub>値、95%信頼限界

	LD <sub>50</sub> 値(／頭)	95%信頼限界(／頭)
24時間後	0.1501 $\mu$ g a. i.	0.1324～0.1701 $\mu$ g a. i.
48時間後	0.1353 $\mu$ g a. i.	0.1081～0.1529 $\mu$ g a. i.

対照物質ジメトエート標準品の給与24時間後のLD<sub>50</sub>値は0.1501 $\mu$ g a. i./頭で、OECD GUIDELINEにおいて試験が妥当とみなされる範囲内(0.10～0.35 $\mu$ g a. i./頭)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Meiji Seikaファルマ株式会社にある。

AF-02 (テブフロキン) 原体では、最も処理量の多い 150  $\mu$ g/頭処理区においても、給与 48 時間後までの死亡率は 6.7%であり、24 時間後および 48 時間後の LD<sub>50</sub> 値は、準拠した OECD GUIDELINE において低毒性の基準となる 100  $\mu$ g/頭を上回る事が明らかであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3) -① コレマンアブラバチに対する影響試験

(資料 有-16)

試験実施期間：2007年9月10日～2007年9月12日

供試生物：コレマンアブラバチ (*Aphidius colemani*) 成虫  
1区11～15頭、3反復

供試薬剤：AF-02 (テブフロキン) 原体 純度 %

試験方法：ドライフィルム法による間接暴露試験により実施した。本試験の処理区は、AF-02の  
实用最高処理量である2%製剤の4kg/10a(成分80g)に相当する、 $8.225 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ の処理量  
となるよう、121.58倍希釈のアセトン溶液を $1 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ の割合で滴下しガラス板に均一  
になるように塗り拡げた。

対照物質ジメトエート標準品は、登録濃度である430ppm希釈液を $2 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ 量散布す  
る場合に相当する量(成分 $0.86 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ )を処理量とし、1140倍希釈アセトン溶液を  
 $1 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ の割合でAF-02と同様に散布した。

乾燥後散布面が内壁となるように試験容器を組み立て、給餌した供試虫を炭酸ガス麻  
酔して容器に移した。

結 果：

表-1 間接接触試験法によるコレマンアブラバチ成虫への影響

試験物質	処理量 希釈倍数	死亡率(%)*		
		処理6時間後	処理24時間後	処理48時間後
AF-02 原体	$8.225 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 121.58倍	84.2	100	100
ジメトエート 標準品	$0.86 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 1140倍	100	100	
無処理 (水処理)	—	0	0	2.8

\*：死亡率は供試虫数に対する死亡虫と苦悶虫の割合。

対照物質のジメトエート標準品処理区では、処理6時間後までに全ての供試虫が死亡した。  
AF-02 原体処理区は、処理6時間後までに半数以上の供試虫が死亡し、24時間後までに全ての供  
試虫が死亡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3) -② ウズキコモリグモに対する影響試験

(資料 有-17)

試験実施期間：2007年7月3日～2007年7月5日

供試生物：ウズキコモリグモ (*Pardosa astrigera*) 2 齢幼体  
1 区 10 頭、3 反復

供試薬剤：AF-02 (テブフロキン) 原体 純度 %

試験方法：石英砂上法により実施した。本試験の処理区は、AF-02 の実用最高処理量 80 g a. i. / 10a に相当する、750 倍希釈の水溶液 (1% tween20) を  $6 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  の割合で、容器内の石英砂上に均一に散布した。風乾後、ウズキコモリグモ 2 齢幼体を放飼し蓋をし、恒温室 ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ) 内で管理した。

対照物質はジメトエート 43% 乳剤の登録濃度である 1000 倍液とし、AF-02 と同様に散布した。

結 果：

表 ウズキコモリグモ幼体に対する影響

試験物質	処理量 希釈倍数	死亡率 (%)	
		放飼 24 時間後	放飼 48 時間後
AF-02 原体	80g a. i. / 10a 750 倍	0	0
ジメトエート 乳剤	1000 倍	90.0	100
対照 (水処理)	—	0	0

AF-02 原体処理区は、放飼 48 時間後まで死亡は認められなかった。  
対照のジメトエート乳剤は、放飼 48 時間後の死亡率が 100% となった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3) -③ ヒメクサカゲロウに対する影響試験

(資料 有-18)

試験実施期間：2007年6月15日～2007年6月17日

供試生物：ヒメクサカゲロウ (*Chrysoperla carnea*) 若齢幼虫  
1容器30穴30頭、反復なし

供試薬剤：AF-02 (テブフロキン) 原体 純度 %

試験方法：ドライフィルム法による間接暴露試験により実施した。本試験の処理区は、AF-02の  
实用最高処理量 80 g a. i. /10a に相当する、 $7.78 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  の処理量となるよう、122 倍  
希釈の水溶液を  $1 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  の割合で滴下し、ガラス板に均一になるよう塗り広げた。

対照のジメトエート標準品は、登録濃度の 430ppm(43%乳剤の 1000 倍希釈)希釈液を  
 $2 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  量散布する場合に相当する量(成分  $0.86 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ )を処理量とし、1140 倍希釈  
アセトン溶液を  $1 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  の割合で AF-02 と同様に散布した。

乾燥後、ガラス板と同一大で 30 穴(直径 5cm)を開けたアクリル板と重ね合わせ、アクリル  
製リングを各穴に差し込み、クリップで固定することにより試験容器を組み立て、  
供試虫 30 頭を容器に移した (1 頭/穴)。

放飼 2 時間後、24 時間後および 48 時間後に生存、苦悶、死亡虫数を調査した。正常  
歩行できない個体は苦悶とみなした。苦悶は死亡として扱った。

結果：

試験物質	処理量 希釈倍率	死亡率(%)		
		処理 2 時間後	処理 24 時間後	処理 48 時間後
AF-02 原体	$7.78 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 122 倍希釈	0	0	0
ジメトエート 乳剤	$0.86 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 1140 倍希釈	40.0	100	100
対照 (水処理)	—	0	3.3	3.3

AF-02 原体処理区は、処理 48 時間後までに死亡個体ならびに苦悶個体は全く 確認されなかった。

対照のジメトエート乳剤処理は、処理 48 時間後までに全ての個体が死亡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

4) -① AF-02 (テブフロキン) 原体のウズラを用いた急性経口毒性試験

(資料 有-19)

試験実施期間：2008年1月9日～2008年3月14日

供試動物：ニホンウズラ 25 および 26 日齢 (性別区別なし)  
各群 10 羽 (1 ケージあたり 2 羽ずつ収容)

被験物質：AF-02 原体 (テブフロキン原体) 純度 %

試験方法:AF-02 原体を 25 および 26 日齢ニホンウズラ (性別区別なし) に単回強制経口投与した。用量群は 0, 260, 430, 720, 1200 および 2000mg/kg の 6 群とし、5ml/kg の投与容量で被験物質を注射用水 (0.5%CMC) に懸濁して投与した。

個々の動物について、投与当日は投与直後から 2 時間後までは詳細に観察し、さらに 3, 4 および 6 時間後に観察した。投与翌日は午前、午後の各 1 回、その後は 1 日 1 回 14 日後まで臨床症状を観察した。観察終了時の累積死亡率に基づいて LD<sub>50</sub> 値をプロビット法により算出した。

結 果：

表 死亡数、平均体重および摂餌量

投与量 (mg/kg)	累積死亡数			平均体重 (g)				飼料摂取量 (g/羽)				
	0-3 時間後	3時間後 -2日目	2-14 日後	処理前	3日目	7日目	14日目	1日目	2日目	3日目	7日目	14日目
0	0/10	0/10	0/10	73	83	96	105	13.0	17.1	14.3	15.8	15.6
260	0/10	0/10	0/10	72	80	92	104	9.7	16.6	14.2	15.8	15.1
430	0/10	0/10	0/10	74	82	97	108	8.4	17.2	15.3	16.2	15.4
720	0/10	0/10	0/10	72	78	94	106	4.6	16.3	15.4	16.7	14.6
1200	1/10	1/10	1/10	73	73	91	105	4.5	10.2	15.2	16.6	15.7
2000	1/10	1/10	1/10	74	61	79	102	2.7	2.9	9.8	17.1	15.6

2000mg/kg 群で投与 2 時間以内に 1 例が、1200mg/kg 群で投与 3 時間に 1 例が死亡した。その他の用量群では死亡例は認められなかった。投与後 14 日間の累積死亡率から、プロビット法により LD<sub>50</sub> 値は 2000mg/kg よりも高容量と結論された。

試験 3 日において 2000mg/kg 群および 1200mg/kg 群で体重は有意な低値を、試験 7 日において 2000mg/kg 群で体重は有意な低値を示したが、その後はそれぞれ増加に転じた。720 mg/kg 以下の投与群ではすべての測定時に体重は増加を示し、対照群と比較して有意差はなかった。

試験 1 日において 260mg/kg 以上のすべての投与群の摂餌量が、試験 2 日において 2000mg/kg 群および 1200mg/kg 群の摂餌量が対照群と比べて優位な低値を示したが、その後はそれぞれ増加に転じた。平均摂餌量ではいずれの投与群においても対照群に比較して有意差はなかった。

剖検ではすべての計画殺動物に異常な知見はなかった。

これらの結果から、AF-02 原体の日本ウズラにおける経口毒性は、LD<sub>50</sub> 値が 2000mg/kg よりも高容量であり、全般的な毒性影響は軽度で一過性であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

## VII. 使用時安全上の注意、解毒方法等

トライ 2 粉剤 DL	(テブフロキン 2.0 %)
トライ 2 顆粒水和剤	(テブフロキン 20.0 %)
トライフロアブル	(テブフロキン 15.0 %)
テブロスフロアブル	(テブフロキン 20.0 %)
シヤフト 10 顆粒水和剤	(テブフロキン 10.0 %)

### 1. 使用時安全上の注意事項

#### トライ 2 粉剤 DL

- (1) 誤食などのないよう注意すること。
- (2) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。  
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- (3) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。  
作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、洗眼・うがいをするとともに衣服を交換すること。
- (4) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。
- (5) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

#### トライ顆粒水和剤

- (1) 誤食などのないよう注意すること。
- (2) 本剤は眼に対して弱い刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。  
眼に入った場合には直ちに水洗すること。
- (3) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。  
作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに衣服を交換すること。
- (4) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。
- (5) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

#### トライフロアブル

- (1) 誤飲などのないよう注意すること。誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。
- (2) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。  
作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに衣服を交換すること。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

- (3) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。
- (4) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

#### テプロスフロアブル

- (1) 誤飲などのないよう注意すること。誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。
- (2) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
- (3) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに衣服を交換すること。
- (4) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。
- (5) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

#### シャフト10 顆粒水和剤

- (1) 誤食などのないよう注意すること。
- (2) 本剤は眼に対して弱い刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。眼に入った場合には直ちに水洗すること。
- (3) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに衣服を交換すること。
- (4) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。
- (5) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

## 2. 解毒法及び治療法

その該当がない

## 3. 製造時、使用時等における事故例

その該当がない



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

VIII. 毒性

<毒性試験一覧表>

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	抄録頁	
毒-1 (GLP)	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♀ 3	強荷経口	♀ 500, 2000	300 < LD <sub>50</sub> ≤ 2000		73	
毒-2 (GLP)	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂, ♀ 2000	♂, ♀ >2000		75	
毒-3 (GLP)	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂ 5 ♀ 5	吸入	♂ 2.54, 3.46, 5.24 mg/L ♀ 2.54, 3.46, 5.24 mg/L	♂, ♀ >5.24 mg/L (LC50)		76	
毒-4 (GLP)	皮膚刺激性 (3日間観察)	ウサギ	♀ 3	背高貼付	0.5 g/部位	無刺激性		79	
毒-5 (GLP)	眼刺激性 (3日間観察)	ウサギ	♀ 3	結膜嚢内	非洗眼群 0.1 g/眼 洗眼群 0.1 g/眼	無刺激性		80	
毒-6 (GLP)	皮膚感作性 Maximization 法 (発起後 48 時間観察)	モルモット	♀ 20	感作:皮内及び塗布 惹起:塗布	感作皮内: 2.5%溶液 0.1 mL 感作経皮: 50%溶液 0.4 mL 惹起 : 50%溶液 0.2 mL	極度の感作性		82	
省略	急性神経毒性試験	急性毒性成績等の結果から神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験省略							85
省略	急性遅発性神経毒性試験	遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関性からみて、遅発神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験省略							
毒-7 (GLP)	90日間反復経口投与毒性	ラット	♂ 10 ♀ 10	飼料混入	♂, ♀ 0, 100, 300, 1000, 2000 ppm ♂ 0, 5.72, 17.3, 57.7, 122 ♀ 0, 6.74, 20.3, 66.9, 134	♂ 100, ♀ 300 ppm ♂ 5.72 ♀ 20.3		87	
毒-8 (GLP)	90日間反復経口投与毒性	マウス	♂ 10 ♀ 10	飼料混入	♂, ♀ 0, 50, 300, 2000 ppm ♂ 0, 6.71, 40.4, 270 ♀ 0, 7.92, 47.7, 318	♂ 300, ♀ 50 ppm ♂ 40.4 ♀ 7.92		100	
毒-9 (GLP)	90日間反復経口投与毒性	イヌ	♂ 4 ♀ 4	カプセル封入	♂ 0, 2, 12, 70 ♀ 0, 2, 12, 70/50 注1	♂ 12 ♀ 12		103	
省略	21日間反復経皮投与毒性	急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮毒性等を有するおそれがないと認められることから試験省略							
省略	90日間反復吸入毒性	急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性等を有するおそれがないと認められることから試験省略							
省略	反復経口投与神経毒性 (90日間投与)	90日間反復経口投与毒性試験等の結果から、神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験省略							113
省略	28日間反復経口投与遅発性神経毒性試験	遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関性からみて、遅発神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験省略							
毒-10 (GLP)	1年間反復経口投与毒性	ラット	♂ 20 ♀ 20	飼料混入	♂, ♀ 0, 50, 150, 500, 1500 ppm ♂ 0, 2.05, 6.15, 20.4, 62.6 ♀ 0, 2.62, 7.74, 26.1, 79.1	♂, ♀ 150 ppm ♂ 6.15 ♀ 7.74		120	
毒-11 (GLP)	1年間反復経口投与毒性	イヌ	♂ 4 ♀ 4	カプセル封入	♂, ♀ 0, 2, 10, 50	♂, ♀ 10		136	
毒-12 (GLP)	発がん性 (104週間投与)	ラット	♂ 50 ♀ 50	飼料混入	♂, ♀ 0, 150, 500, 1500 ppm ♂ 0, 5.33, 18.3, 55.1 ♀ 0, 6.92, 23.3, 72.4	♂, ♀ 150 ppm ♂ 5.33 ♀ 6.92 発がん性なし		145	
毒-13 (GLP)	発がん性 (78週間投与)	マウス	♂ 52 ♀ 52	飼料混入	♂ ♀ 0, 50, 250, 1250 ppm ♂ 0, 5.4, 26.6, 141 ♀ 0, 5.3, 26.6, 148	♂, ♀ 250 ppm ♂, ♀ 26.6 発がん性なし		172	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	抄録頁
毒-14 (GLP)	繁殖毒性 2世代	ラット	♂ 24 ♀ 24	飼料混入	♂, ♀ 0, 50, 250, 1000 ppm P♂ 0, 3.02, 12.0, 61.5 (0, 3.43, 13.7, 69.2) 注2 P♀ 0, 4.61, 18.4, 92.5 (0, 3.94, 15.9, 78.3) F1♂ 0, 3.18, 12.5, 66.8 (0, 3.75, 14.8, 73.2) F1♀ 0, 4.54, 18.7, 93.9 (0, 4.13, 16.9, 85.7)	親・児動物 200 ppm 繁殖能 1000 ppm 親・児動物 注2 P♂ 12.0 (13.7) P♀ 18.4 (15.9) F1♂ 12.5 (14.8) F1♀ 18.7 (16.9) 繁殖能に影響なし		192
毒-15 (GLP)	催奇形性 (14日間投与)	ラット	♀ 24	強制経口	0, 5, 20, 80	母動物: 5 胎児: 20 催奇形性なし		205
毒-16 (GLP)	催奇形性 (22日間投与)	ウサギ	♀ 25	強制経口	0, 5, 25, 150	母動物: 5 胎児: 25 催奇形性なし		211
毒-17 (GLP)	変異原性 復帰突然変異	ネズミチフス菌 TA1535, TA1537, TA98 TA100 大腸菌 WP2 <i>uvrA</i>			非代謝活性化、代謝活性化ともに 試験 I : (μg/プレート) 0, 0.76, 2.3, 6.9, 20.6, 61.7, 185, 556 試験 II : 0, 4.9, 9.8, 19.5, 39.1, 78.1, 156, 313 非代謝活性化 試験 I : 0, 6.9, 20.6, 61.7, 185, 556, 1667, 5000 試験 II : 0, 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 代謝活性化 試験 I : 0, 2.3, 6.9, 20.6, 61.7, 185, 556, 1667 試験 II : 0, 19.5, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 非代謝活性化、代謝活性化ともに 試験 I : 0, 6.9, 20.6, 61.7, 185, 556, 1667, 5000 試験 II : 0, 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000	陰性		217
毒-18 (GLP)	変異原性 染色体異常	CHL細胞			短時間処理法(処理6時間、回復18時間) 非代謝活性化 0, 59.0, 73.7, 92.1, 115, 144(μg/mL) 代謝活性化 0, 73.7, 92.1, 115, 144, 180(μg/mL) 連続処理法 非代謝活性化 24時間: 0, 11.3, 22.5, 45, 90(μg/mL) 48時間: 0, 5.6, 11.3, 22.5, 45(μg/mL)	陰性		220
毒-19 (GLP)	変異原性 小核	マウス	♂ 5	強制経口	0, 125, 250, 500	陰性		224
毒-20 (GLP)	一般状態	Irwin	マウス	♂ 3 ♀ 3	強制経口	0, 200, 600, 2000	200	226
		FOB	ラット	♂ 5	強制経口	0, 80, 240, 800	80	
	中枢神経	自発運動量	ラット	♂ 5	強制経口	0, 8, 24, 80, 240, 800	24	
		電撃痙攣	マウス	♂ 8	強制経口	0, 200, 600, 2000	200	
	循環器	無麻酔 血圧、心拍数	ラット	♂ 5	強制経口	0, 8, 24, 80, 240, 800	8	
	腎機能	尿基・電解質・浸透圧	ラット	♂ 5	強制経口	0, 80, 240, 800	80	
	血液系	血液学的検査	3時間採血	ラット	♂ 5	強制経口	0, 8, 24, 80, 240, 800	
24時間採血			ラット	♂ 5	強制経口	0, 8, 24, 80	80	

注1: 最高投与群の投与量は、雄で投与4週から終了時まで50 mg/kg/dayとした。

注2: 括弧内の検体採取量は生育期間の平均値を用いて算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

2. 原体中の混在物及び代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載 頁
毒-21 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 混在物	マウス	♀ 3	強制経口	300, 2000	300 < LD <sub>50</sub> ≤ 2000		234
毒-22 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 混在物	マウス	♀ 3	強制経口	300, 2000	300 < LD <sub>50</sub> ≤ 2000		236
毒-23 (GLP)	変異原性 復帰突然変異 混在物	ネズミチフス菌 TA1535, TA1537,  TA100, TA98,  大腸菌 WP2 <i>uvrA</i>		非代謝活性化(μg/プレート) 0, 9.8, 19.5, 39.1, 78.1, 156, 313 代謝活性化 0, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 非代謝活性化、代謝活性化とも 0, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 非代謝活性化、代謝活性化とも 0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000		陰性		238
毒-24 (GLP)	復帰突然変異 混在物	ネズミチフス菌 TA1535, TA1537 TA98  TA100  大腸菌 WP2 <i>uvrA</i>		非代謝活性化、代謝活性化とも(μg/プレート) 0, 9.8, 19.5, 39.1, 78.1, 156, 313 非代謝活性化 0, 9.8, 19.5, 39.1, 78.1, 156, 313 代謝活性化 0, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 非代謝活性化、代謝活性化とも 0, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 非代謝活性化、代謝活性化とも 0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000		陰性		240
毒-25 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 代謝物	マウス	♀ 3	強制経口	300, 2000	300 < LD <sub>50</sub> ≤ 2000		242
毒-26 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 代謝物	マウス	♀ 3	強制経口	300, 2000	> 2000		244
毒-27 (GLP)	変異原性 復帰突然変異 代謝物	ネズミチフス菌 TA100, TA1535, 及 びTA98  TA1537  大腸菌 WP2 <i>uvrA</i>		非代謝活性化(μg/プレート) 0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 代謝活性化 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 非代謝活性化 0, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 代謝活性化 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 非代謝活性化 0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 代謝活性化 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000		陰性		246
毒-28 (GLP)	変異原性 復帰突然変異 代謝物	ネズミチフス菌 TA1535, TA1537  TA98  TA100 大腸菌 WP2 <i>uvrA</i>		非代謝活性化(μg/プレート) 0, 2.4, 4.9, 9.8, 19.5, 39.1, 78.1 代謝活性化 0, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 非代謝活性化 0, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 代謝活性化 0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 非代謝活性化、代謝活性化ともに 0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000		陰性		248

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

3. 製剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒-29 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 2% 粉剤 (AF-0201 粉剤DL)	ラット	♀ 3	強制経口	2000	> 2000		251
毒-30 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 2% 粉剤	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	2000	> 2000		252
毒-31 (GLP)	皮膚刺激性 (3日間観察) 2% 粉剤	ウサギ	♂ 3	背部貼付	0.5 g/ 部位	無刺激性		253
毒-32 (GLP)	眼刺激性 (7日間観察) 2% 粉剤	ウサギ	非洗眼群♀3 洗眼群 ♀3	結膜囊内	0.1 g/ 眼	最小の刺激性 洗眼効果あり		254
毒-33 (GLP)	皮膚感作性 Buehler 法 (惹起後 48 時間観察) 2% 粉剤	モルモット	♀ 20	感作: 塗布 惹起: 塗布	感作: 50% (W/W) 0.2 mL 惹起: 50% (W/W) 0.2 mL	陰性		257
毒-34 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 20% 水和剤 (AF-0201 顆粒水和剤)	ラット	♀ 3	強制経口	2000	> 2000		259
毒-35 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 20% 水和剤	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	2000	> 2000		260
毒-36 (GLP)	皮膚刺激性 (3日間観察) 20% 水和剤	ウサギ	♂ 3	背部貼付	0.5 g/ 部位	無刺激性		261
毒-37 (GLP)	眼刺激性 (7日間観察) 20% 水和剤	ウサギ	非洗眼群♀3 洗眼群 ♀3	結膜囊内	0.1 g/ 眼	極軽度の刺激性 洗眼効果あり		262
毒-38 (GLP)	皮膚感作性 Buehler 法 (惹起後 48 時間観察) 20% 水和剤	モルモット	♀ 20	感作: 塗布 惹起: 塗布	感作: 50% (W/W) 0.2 mL 惹起: 50% (W/W) 0.2 mL	陰性		264
毒-39 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 20% 水和剤 (AF-0201 7077% 20)	ラット	♀ 3	強制経口	2000, 300	300 < LD <sub>50</sub> ≤ 2000		266
毒-40 (GLP)	急性毒性 (14日間観察) 20% 水和剤	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	2000	> 2000		267
毒-41 (GLP)	皮膚刺激性 (3日間観察) 20% 水和剤	ウサギ	♀ 3	背部貼付	0.5 g/ 部位	無刺激性		268
毒-42 (GLP)	眼刺激性 (7日間観察) 20% 水和剤	ウサギ	非洗眼群♀3 洗眼群 ♀3	結膜囊内	0.1 g/ 眼	刺激性なし		270
毒-43 (GLP)	皮膚感作性 Buehler 法 (惹起後 48 時間観察) 20% 水和剤	モルモット	♀ 20	感作: 塗布 惹起: 塗布	感作: 50, 25, 10% (W/W) 0.2 mL 惹起: 50, 25, 10% (W/W) 0.2 mL	陰性		272

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

1. 原体を用いた試験

1) 急性毒性

(1) AF-02 原体のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 毒-1)

検体純度：

供試動物：Wistar 系 SPF ラット[Jcl:Wistar]、雌、投与時 8 週齢、  
投与時体重 150~169 g、一群各 3 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して、一晚絶食させたラットに 10 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。

観察・検査項目：一般状態および死亡の有無を投与当日は投与 30 分、2 時間および 4 時間後に、1 日後から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、14 日あるいは死亡発見時に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物を剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年、14 生産第 7269 号、2-1-1、2002 年；OECD Guideline No. 423、2001 年）により評価した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	300, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	300 < LD <sub>50</sub> ≤ 2000 (GHS カテゴリー 4)
死亡開始時間および終了時間	2000 mg/kg：投与後 4 時間から発現 投与後 1 日までに全例死亡 300 mg/kg：死亡なし
症状発現時間および消失時間	2000 mg/kg：投与後 2 時間から発現 投与後 1 日までに全例死亡 300 mg/kg：異常なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

一般状態の観察において、300 mg/kg 用量では異常は認められなかったが、2000 mg/kg 用量では円背位、起立不能、昏迷、鎮静、自発運動低下、よろめき歩行、筋力低下および呼吸緩徐が観察された。

300 mg/kg 用量の生存例では、体重が投与後 7 および 14 日ともに全例で投与前の値と比べ増加した。

剖検所見においては、300 mg/kg 用量では異常は認められなかったが、2000 mg/kg 用量の死亡例では、腺胃部の赤色あるいは黒色斑散在、胃のガス貯留、小腸の赤色化および口周囲部被毛の汚れが認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

(資料 毒-2)

(2) AF-02 原体のラットにおける急性経皮毒性試験

検体純度：

供試動物：Wistar系 SPF ラット[Jcl:Wistar]、雌雄、投与時9週齢、  
投与時体重 雄 265～290 g、雌 179～194 g、一群雌雄各5匹

観察期間：14日間

投与方法：2000 mg/kgの検体を脱イオン水0.5 mLで湿らせた4×5 cmのパッドの上に均一に載せ、前日剪毛したラットの背部中央に当ててサージカルテープで固定し閉塞貼付にて24時間投与した。投与終了後、残存する検体を微温湯で除去した。

観察・検査項目：一般状態および死亡の有無を投与当日は投与1および4時間後に、1日後から14日後（試験終了日）までは少なくとも1日1回観察した。体重は投与直前、投与後7日、14日に測定した。試験終了時に全生存動物を剖検した。

結果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
性		
投与量 (mg/kg)	2000	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現および消失時間	一般状態の変化なし	一般状態の変化なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000	2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

雌雄ともに死亡は認められず、毒性を示す臨床症状も認められなかった。体重は7、14日とも投与前の値と比べて増加していた。剖検においては、雌雄とも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Meiji Seikaファルマ株式会社にある。

(資料 毒-3)

(3) AF-02 原体のラットにおける急性吸入毒性試験

検体純度：

供試動物：Wistar系SPFラット[Jcl:Wistar]、雌雄、曝露時週齢 雌雄とも8週齢、  
曝露時体重 雄：233～302g、雌：155～195g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

曝露方法：鼻部曝露型吸入チャンバーを用い、粉碎処理した検体（AF-02とホワイトカーボンを8対2（W/W）の割合で混合・粉碎）をラットに4時間連続鼻部曝露させた。検体発生には、コンプレッサーからの圧縮空気が供給されるターンテーブル型ダストフィーダーを用いた。曝露空気を積算流量計付き吸引ポンプで吸引し、ガラス繊維ろ紙にダストを捕集した。このろ紙から検体を抽出後、HPLCで定量して実測検体濃度を求めた。

曝露条件：

曝露群	AF-02 原体曝露群			担体対照群
設定濃度 (mg/L)	2.54	3.46	5.24	-
実測濃度 (mg/L) <sup>1)</sup>	2.54	3.46	5.24	1.10
粒子径分布 (μm) <sup>2)</sup>	(%)	(%)	(%)	(%)
>7.07	34.7	33.8	34.9	4.6
3.85-7.07	31.1	33.6	32.7	12.3
2.15-3.85	18.8	17.7	19.2	18.4
1.17-2.15	7.2	7.7	7.1	7.0
0.61-1.17	1.8	2.0	0.8	10.4
<0.61	6.3	5.2	5.3	47.2
空気力学的質量中位径 (μm) <sup>2)</sup>	5.2	5.1	5.3	0.75
呼吸可能な粒子 (<4 μm) の割合	37-41%	37-40%	34-40%	79-81%
チャンバー容積 (L)	31.2			
チャンバー内通気量 (L/分)	20			
曝露条件	ダスト 4時間 鼻部曝露			

<sup>1)</sup> 3回測定の平均値

<sup>2)</sup> Cascade Impactorを用いた3回測定 of 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Meiji Seikaファルマ株式会社にある。

観察・検査項目：曝露当日は曝露開始2時間後と曝露終了後は直後、2時間後および4時間後に、その後曝露後14日まで1日1回臨床症状および生死を観察した。曝露開始直前および曝露終了後から観察期間終了時までは1週間ごとに個体別に体重を測定した。死亡動物はその発見時に体重測定を行い、剖検した。生存例は観察期間終了時にエーテル麻酔で安楽死させた後に剖検を行った。

結果： 吸入曝露中のチャンバー内温度および湿度はそれぞれ 21-22℃および 39-51%の範囲にあった。

投与方法	吸入
曝露濃度(mg/L)	2.54、3.46、5.24
LC <sub>50</sub> (mg/L)	雄 >5.24 雌 >5.24
死亡開始時間および終了時間	曝露開始後1時間10分から開始 曝露終了後1日に終了
症状発現および消失時間	曝露終了直後から開始 曝露後6日に終了
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/L)	なし
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/L)	なし

各曝露群において雄にのみ死亡が認められ、5.24、3.46 および 2.54 mg/L 群でそれぞれ 2/5 (死亡率; 40%)、1/5、1/5 例であった。雄の 5.24 mg/L 群でも死亡率は 40%であったことおよび雌では死亡がみられなかったことから LC<sub>50</sub> 値は雄で 5.24 mg/L 以上と推定され、雌で 5.24 mg/L 以上であった。

臨床観察では主な症状として呼吸緩徐、呼吸異常音および自発運動の低下が全曝露群の雌雄において多数例に観察されたが、何れの症状も雄では曝露終了後4日まで、雌では1日までに消失した。また眼周囲および鼻周囲部への赤色物付着が全曝露群の雌雄に観察され、5.24 mg/L 群の雌雄ではさらに口周囲への赤色物付着が少数例に認められた。これらの症状は雄では曝露終了後6日まで、雌では3日までに消失した。その他の症状として眼瞼閉鎖が 3.46 mg/L 群の雌1例に、白色粉末の鼻周囲部への付着が全曝露群の雌雄全例に認められたがいずれも曝露終了後2時間には消失した。

体重は、曝露後1週に 3.46 mg/L 群の雌雄各1例および 2.54 mg/L 群の雄1例に減少が認められたが、曝露後2週では全曝露群の雌雄全例で増加が認められた。死亡例の剖検では主な所見として肝臓の暗調化、肺の赤色あるいは黒色斑、肺の白色斑、気管の泡沫液あるいは粘稠液、口周囲、鼻周囲、鼻孔、舌あるいは口蓋への白色粉末の付着が認められた。曝露群の生存例の剖検では、雌雄いずれにおいても異常は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

担体対照群においても、暴露終了直後の観察では雄において呼吸緩徐、呼吸異常音、自発運動低下、眼周囲および鼻周囲部への赤色物付着が、雌では呼吸緩徐、眼周囲および鼻周囲部への赤色物付着が観察された。これらの症状は雌雄ともに暴露後2日までに消失した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

2) 皮膚および眼に対する刺激性

(資料 毒-4)

(1) AF-02 原体のウサギにおける皮膚刺激性試験

検体純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種 SPF ウサギ[Kbl:NZW]、雌、投与時 11 週齢、  
投与時体重 2092～2199 g、一群各 3 匹

観察期間：3 日間

投与方法：検体 0.5 g を刈毛した動物の背側部の皮膚（2.54 cm 四方）に処理し、脱イオン水（0.5 ml）で溼らせた 2.5×2.5 cm のガーゼで覆った。さらに、その上をリント布およびサージカルテープを用いて半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は脱イオン水を用いて洗い流した。

観察項目：暴露終了後、1, 24, 48 および 72 時間後に適用部分の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無などを観察し、毒性試験指針（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-4、2000 年）に従って採点した。

結果：いずれの観察においても、紅斑、痂皮、浮腫およびその他の刺激性変化は認められなかった。

観察した刺激性変化の採点を次表に示す。

項目	最高評点	暴露後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0

注) 数値は 3 匹の平均値

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して無刺激性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

(2) AF-02 原体のウサギにおける眼刺激性試験

(資料 毒-5)

検体純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種 SPF ウサギ[Kbl:NZW]、雌、投与時 11 週齢、  
投与時体重 2198 g～2452 g、一群各 3 匹

観察期間：3 日間

投与方法：検体 0.1 g を左眼に適用し、洗眼群 3 匹は 30 秒後に微温湯で 30 秒間洗眼した。  
非洗眼群 3 匹については洗眼しなかった。右眼は無処理対照とした。

観察項目：適用後、1 時間、24、48 および 72 時間後に、角膜、虹彩、結膜を観察し、その  
刺激性変化を毒性試験指針（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-5、2000 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表に示す。

項 目			最高 評点	適用後時間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非洗眼群	動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
		動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	0	0
	面積			4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜		発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
	動物 番号 3		角膜 混濁	程度	4	0	0	0
		面積		4	0	0	0	0
虹彩		2	0	0	0	0		
結膜		発赤	3	1	0	0	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	
合計			51	6	0	0	0	
平均*			17	2.0	0	0	0	
MTS**			110	4.0	0	0	0	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

項 目			最高 評点	適用後時間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
洗眼群 (3 匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	0	0	0
		浮腫	4	1.0	0	0	0
	合計		51	6	0	0	0
	平均*		17	2	0	0	0
	MTS**		110	4.0	0	0	0

\* 農林水産省の毒性試験指針による評価点 (最高 17 点)

\*\* Draize 法による Mean Total Score(MTS), 申請者が個別別の評価点表より算出した(分泌物は認められないことから点数 0 として算出した)。非洗眼群および洗眼群とも MTS の最大値は適用後 1 時間の 4.0 であり、同法の刺激性分類では最小の刺激性の範囲内であった。

洗眼群、非洗眼群ともに、結膜にのみ刺激性変化が認められ、適用後 1 時間後に軽度の発赤（発赤評点 1）と浮腫（結膜浮腫評点 1）が認められた。これら刺激性変化は投与後 24 時間までにすべて消失した。非洗眼群及び洗眼群とも刺激性反応が弱いため投与 30 秒後の洗眼による効果は明確にはわからなかった。眼刺激性の評価の判断基準では、結膜における陽性の刺激性変化は発赤と結膜浮腫の評点が 2 以上であることから、これらの被験物質の反応は無刺激性と判定した。

以上のことから、本被験物質のウサギにおける眼刺激性は無刺激性の範囲であると判定した。

申請者註) Draize 法による Mean Total Score(MTS)では、結膜に最小の刺激性が認められたことから、AF-02 原体はウサギの眼粘膜に対して、最小の刺激性があるものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

### 3) 皮膚感作性

(資料 毒-6)

AF-02 原体のモルモットを用いた皮膚感作性試験

検体の純度：

供試動物： ハートレイ系 SPFモルモット[Slc:Hartley]、雌、  
感作皮内投与時 7 週齢、感作皮内投与時体重 376～454 g、  
試験群 20 匹、試験群の溶媒対照群 10 匹、陽性対照群 10 匹、陽性対照群の溶  
媒対照群 5 匹

観察期間： 蒸起経皮貼付除去後 48 時間（感作皮内投与後 24 日間）

試験操作： [Maximization 法]

投与量設定根拠：

感作皮内投与： 肩部を剪毛し、前方、中間、後方に以下の溶液をそれぞれ左右 2ヶ所  
に皮内投与（各 0.1 mL）した。

- [1] フロイントアジュバンド/滅菌生理的食塩水の 1:1 (v/v) 乳化液
- [2] 検体の流動パラフィン懸濁液、陽性対照群では DNCB の流動パラ  
フィン懸濁液
- [3] 検体のフロイントアジュバンド懸濁液と滅菌生理的食塩水との  
1:1 (v/v) 乳化液、陽性対照群ではフロイントアジュバンドに懸濁  
させた DNCB 液と滅菌生理的食塩水との 1:1(v/v)乳化液

感作経皮投与： 感作皮内投与の 7 日後に、前日剪毛した感作皮内投与部位（剪毛後、  
10%ラウリル硫酸ナトリウム/白色ワセリン 0.5 mL を開放塗布）に 50%  
検体溶液（アセトンに溶解）0.4 mL を滴下したリント布を貼付塗布し、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

48 時間閉塞貼付した。陽性対照群では DNCB と白色ワセリン混合物 0.4 g を塗布したリント布を 48 時間閉塞貼付した。

惹起： 感作経皮投与の 14 日後に、前日剪毛した側腹部左側に 50%検体溶液（アセトンに溶解）0.2 ml. を塗布し、24 時間閉塞貼付した。右側には対照としてアセトンを塗布した。陽性対照群では DNCB と白色ワセリン混合物 0.2 g を左側に 24 時間閉塞貼付した。右側には白色ワセリンのみを貼付した。

観察項目： 惹起経皮貼付除去後 24、48 時間に、適月部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。紅斑、浮腫等の判定は農林水産省毒性試験ガイドラインの基準に従った。また感作性の評価は次表に示す Magnusson, B. and Kligman, A. M. (1969) の基準に従った。

感作率 (%)	区分	程度
0 - 8	I	微弱
9 - 28	II	軽度
29 - 64	III	中等度
65 - 80	IV	重度
81 - 100	V	極度

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次表に示す。

群	感作皮内投与	感作経皮投与	惹起	供試動物数	感作反応動物数										感作陽性率(%)	
					24 時間後					48 時間後					24 時間	48 時間
					皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計		
					0	1	2	3		0	1	2	3			
検体	2.5% 検体	50% 検体	50% 検体	20	0	0	19	1	20/20	0	1	18	1	20/20	100	100
	溶媒	アセトン	50% 検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
陽性対照	0.1% DNCB	1% DNCB	0.2% DNCB	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100
	溶媒	白色ワセリン	0.2% DNCB	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0

DNCB: 2,4-dinitrochlorobenzene.

溶媒：滅菌生理的食塩水、フロイントアジュバンド、流動パラフィン。

検体処理群において、惹起投与で 20 例中 19 例が評点 2（中等度びまん性の紅斑）、1 例が評点 3（強い紅斑と浮腫）であったが、非処理群では 10 例全例と

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

も評点 0 (肉眼的に変化なし) であった。従って検体の皮膚感作陽性率は 100% であり、感作性評価区分は V (極度) に分類された。

一方、陽性対照群における皮膚感作陽性率は 100% であった。

以上の結果から、本検体は Maximization 法による評価において極度の皮膚感作性があると判定された。



#### 4) 急性神経毒性試験 (試験省略理由)

AF-02のラットにおける急性経口毒性試験および90日間反復経口投与毒性試験で神経毒性に関連する検査を実施した。その結果、致死量以下の用量で特異な神経毒性は観察されず、かつ、既知神経毒性物質と化学的構造相関がないことから、急性神経毒性試験は実施しなかった。

##### (1) ラットにおける急性経口毒性試験 (抄録 毒-1, 2007年)からの考察(抄録記載: 58頁、報告書記載: 11頁)

臨床症状の観察において、2000 mg/kg 群では、投与後1日までに全例が死亡し、円背位、起立不能、昏迷、鎮静、自発運動低下、よろめき歩行、筋力低下、呼吸緩徐が観察されたが、300 mg/kg 用量では異常は認められなかった。2000 mg/kg 群での症状は、死亡が発現している用量でみられたものであることから全身状態の悪化による非特異的な反応と考えられる。

##### (2) ラットの90日間反復経口毒性試験 (抄録 毒-7, 2007年)からの考察

ラットにおける90日間反復経口毒性試験において、以下の通り、致死量以下の用量で特異な神経毒性を示唆する所見はない。

###### ① 詳細な状態の観察 (抄録記載: 88頁、報告書記載: 27頁)

投与開始前および投与期間中は週1回、全動物を対象として以下の項目を観察、測定した。

ホームケージ: 興奮、鎮静、異常姿勢 (腹臥、横臥など)、異常行動 (後ずさり、常同行動、自傷行動など)

ハンドリング: 取り扱い難さ、筋緊張の変化 (亢進、低下)、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化 (散瞳、縮瞳)、流涎、流涙、分泌物 (鼻孔、耳孔、膈などからの分泌物)、眼球突出、体温の変化 (上昇、下降)、呼吸異常音、被毛の変化 (外陰部湿潤)、皮膚および可視粘膜の変化 (充血)

オープンフィールド: 跳躍、旋回、痙攣、歩様異常 (運動協調性を含む、よろめき歩行、ひきずり歩行、後肢麻痺など)、自発運動 (亢進、低下)、身づくろい動作 (頻度)、立ち上がり姿勢 (頻度)、呼吸 (促迫、緩徐)、発声、立毛、排尿 (回数)、排便 (回数)、異常姿勢 (腹臥、横臥など)、異常行動 (後ずさり、常同行動、自傷行動など)

詳細な状態の観察では検体投与に関連する神経毒性は認められなかった。

###### ② 機能検査項目 (抄録記載: 88頁、報告書記載: 27頁)

試験11週時に、全動物を対象として以下の項目を検査した。

自発運動量，感覚運動反応（位置視覚，接近反応，聴覚反応，触覚反応，痛覚反応，空中立ち直り反射）

握力検査において、2000 ppm 群の雄に前・後肢の握力低下が認められた。しかし、いずれの動物にも脳，脊髄，坐骨神経および下腿筋などの病理組織学的検査では異常は観察されなかった。また、雌では握力の低下はみられなかった。さらに最近の5試験における握力の背景データと比較すると、当該試験の動物の握力は対照群のみならず2000 ppm 群もすべて背景データの範囲内にあった。これらの点を考慮すると、2000 ppm 群の雄でみられた前・後肢の握力低下の毒性学的意義は乏しいと考えられた。

③病理組織学的検査（抄録記載 97 頁、報告書記載：34 頁）

脳（大脳，小脳，橋および延髄），脊髄（頸部，胸部および腰部），坐骨神経，骨格筋（下腿三頭筋），眼球（網膜および視神経を含む）について病理組織学的検査を実施したが、これらの組織に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はみられなかった。

④その他の検査項目

①脳重量（抄録記載：95 頁、報告書記載：32 頁）

2000 ppm 群雌雄で脳の重量の変動が見られたが、低体重に伴う変動であり、さらに、病理組織学的検査ではこれら脳に異常はみとめられなかった。したがって、脳重量では検体投与に関連する特異的な神経毒性を示唆する変化はみられなかった。

②眼科学的検査（抄録記載：91 頁、報告書記載：28 頁）

投与 13 週時に対照群および 2000 ppm 群の全動物について、眼科学的検査の結果、特異的な神経毒性を示唆する所見はみられなかった。

(3) 既知神経毒性物質との化学構造の相関

現在の科学的知見において、AF-02 原体は既知神経毒性物質との化学的構造相関はない。

以上の理由から、AF-02 原体の急性神経毒性試験の提出は除外します。

5) 急性遅発性神経毒性試験（試験省略理由）

急性毒性試験等の他の試験成績から、当該農薬の有効成分がコリンエステラーゼ阻害性を有さないと認められるため、試験成績提出の除外に該当する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

6) 90日間反復経口投与毒性試験

(資料 毒-7)

(1) AF-02原体のラットにおける90日間反復経口投与毒性試験

検体純度：

供試動物：Fischer系SPFラット(F344/DuCrIj)、雌雄、投与開始時5週齢  
投与開始時体重 雄；102～117g、雌；82～94g、1群雌雄各10匹

投与期間：13週間（雄：2005年12月20日～2006年3月21日、  
雌：2005年12月27日～2006年3月29日）

投与方法：検体を0、100、300、1000および2000ppmの濃度で飼料に混入し、13週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前に1回、投与期間中は4週に1回調製した。

投与量設定根拠：

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

投与期間中、死亡例はみられず、一般状態の観察で認められた各症状の発生頻度には雌雄ともいずれの検体投与群にも対照群と比較して有意な差はみられなかったが、2000ppm群の雄では投与期間中、ケージの下に敷いてあるトレーの一部に赤色尿が観察された。異常を示した動物を特定することはできなかった

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

が、この赤色尿は投与1週時には5ケージ中2ケージで、投与13週時には5ケージ中1ケージで観察された。本変化については、同群の雄では尿検査において全例で赤血球が認められ、病理組織学的にも膀胱病変が観察されていることから、この赤色尿は検体投与に起因する変化と考えられた。

詳細な状態の観察；投与開始前および投与期間中は週1回、全動物を対象として以下の項目を観察、測定した。

ケージ内：興奮、鎮静、異常姿勢（腹臥、横臥など）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）

ハンドリング：取り扱い難さ、筋緊張の変化（亢進、低下）、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化（散瞳、縮瞳）、流涎、流涙、分泌物（鼻孔、耳孔、膣などからの分泌物）、眼球突出、体温の変化（上昇、下降）、呼吸異常音、被毛の変化（外陰部湿潤）、皮膚および可視粘膜の変化（充血）

オープンフィールド：跳躍、旋回、痙攣、歩様異常（運動協調性を含む、よろめき歩行、ひきずり歩行、後肢麻痺など）、自発運動（亢進、低下）、身づくろい動作（頻度）、立ち上がり姿勢（頻度）、呼吸（促迫、緩徐）、発声、立毛、排尿（回数）、排便（回数）、異常姿勢（腹臥、横臥など）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

症状	検査週	性別および投与量 (ppm)				
		雄				
		0	100	300	1000	2000
立ち上がり姿勢	10		↑			
排尿	4		↑			

Dunnettの多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

100 ppm群の雄において4週時の排尿のスコア増加と10週時の立ち上がり姿勢のスコア増加があったが、投与用量との関連がない変動であることから検体投与との影響ではないと判断された。

機能検査；試験11週時に、全動物を対象として以下の項目を検査した。

自発運動量、握力（前肢、後肢）、感覚運動反応（位置視覚、接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応、空中立ち直り反射）

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

項目	性別および投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
前肢握力				↓87				
後肢握力				↓91				

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

2000 ppm 群の雄でみられた前・後肢の握力低下については最高用量群で、かつ、前・後肢揃ってみられたことから検体投与に起因した変化である可能性が高いと考えられた。しかし、脳、脊髄、坐骨神経および下腿筋などの病理組織学的検査では異常は観察されなかった。また、雌では握力の低下はみられなかった。さらに最近の 5 試験における握力の背景データ（以下の本文表 10 参照）と比較すると、当該試験の動物の握力は対照群のみならず 2000 ppm 群もすべて背景データの範囲内にあった。これらの点を考慮すると、2000 ppm 群の雄でみられた前・後肢の握力低下の毒性学的意義は乏しいと考えられた。1000 ppm 以下の群では雌雄ともいずれの項目にも異常はみられなかった。

Fischer 系雄ラット（約 16 週齢）の握力背景データ

(単位：g)

試験の識別 (検査実施年月)	前肢握力		後肢握力	
	平均±S.D.	最小値～最大値	平均±S.D.	最小値～最大値
試験 A (2003 年 5 月)	1226±63	1136～1336	534±68	425～643
試験 B (2003 年 11 月)	1221±95	1150～1464	569±67	492～692
試験 C (2004 年 3 月)	1152±126	1012～1403	396±59	330～513
試験 D (2005 年 8 月)	917±67	811～1024	446±50	401～574
試験 E (2006 年 1 月)	1079±114	862～1188	456±47	381～497
当該試験 (2006 年 3 月) *				
0 ppm	1088±100	858～1215	616±34	555～658
2000 ppm	↓948±98	822～1124	↓562±42	513～666

\* Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

体重変化；投与期間中全動物の体重を毎週測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与週を次表に示す。

投与週	性別および投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
1				↓86			↓94	↓88
2			↓95	↓83			↓95	↓87
3			↓95	↓83			↓95	↓88
4				↓85				↓89
5				↓85			↓93	↓87
6				↓86			↓93	↓87
7				↓85				↓87
8				↓85				↓88
9				↓85			↓93	↓87
10				↓85				↓88
11				↓86				↓88
12				↓86				↓89
13				↓86				↓89

Dunnett の多重比較検定： ↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

2000 および 1000 ppm 群の雌雄では体重増加抑制あるいは抑制傾向がみられた。さらに次表に示すように 13 週間の体重増加量において 2000 群の雌雄および 1000 ppm 群の雌が対照群に比べ 10%以上の抑制がみられたことから、検体投与の影響が推察された。

300 および 100 ppm 群の雌雄の体重は対照群と同様であった。

#### 13 週間の体重増加量

項目	用量群 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
13 週間の体重増加量	102	97	95	79	97	95	89	77

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

摂餌量；毎週 2 回、3 日あるいは 4 日間の各ケージ毎 (2 匹/ケージ) の摂餌量を測定し、1 匹あたりの摂餌量を算定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

投与週	性別および投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
1			↓91	↓71			↓85	↓63
2				↓91				
3								↓91
4								↓91
5				↓90			↓86	↓83
6							↓92	↓91
7				↓94				↓90
8				↓92				
9				↓93			↓87	
10								↓87
12								↓89

Dunnettの多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

2000 および 1000 ppm 群の雌雄の摂餌量は投与 1 週時に明らかな低値を示し、その後も投与期間を通じて対照群に比べ低い値で推移した。投与 1 週時に特に明らかな減少がみられたことから、これらの摂餌量の減少は検体混合飼料に対する摂食忌避が背景にあるものと推察された。しかし、その後も投与期間を通じて持続的あるいは断続的に低値を示したため、検体の影響も否定できなかった。300 および 100 ppm 群の雌雄の摂餌量は対照群と同様であった。2000 ppm 群の雌雄および 1000 ppm 群の雌では投与 1 週時に食餌効率の低下も認められた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次表の通りであった。

投与量 (ppm)		100	300	1000	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	5.72	17.3	57.7	122
	雌	6.74	20.3	66.9	134

眼科学的検査；投与前（検疫・馴化期間）は入荷全動物について、試験 13 週は対照群と 2000ppm 群の全動物について下記の部位を検査した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体／硝子体、眼底

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

検査対象のすべての動物において異常所見は観察されなかった。従って、試験13週では他の投与群の動物の検査は実施しなかった。

尿検査；試験13週に全動物を対象として以下の項目を検査した。

尿比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、蛋白質、ウロビリノーゲン、尿色、尿量、尿沈渣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	性別および投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
比重	↓98		↓99	↓97			↓98	↓98
ケトン体			↓	↓			↓	↓
潜血				↑				
蛋白質				↑				
ウロビリノーゲン				↓				
尿沈渣：赤血球			(1/10)	↑				↑
尿沈渣：白血球				↑				(1/10)

比重については Dunnett 多重比較検定、その他の項目では Dunnett 型の多重比較検定：↑↓、 $p \leq 0.05$  ↑↓、 $p \leq 0.01$  表中の数値は対照群に対する割合 (%)

( ) 内は異常の見られた動物数/検査例数

尿検査では 2000 ppm 群の雌雄とも尿沈渣中に赤血球の増加が認められたのに加え、雄では白血球、潜血および蛋白質の増加も観察された。これらは検体投与に起因した膀胱病変によるものと考えられた。尿沈渣において、1000 ppm 群の雄 1 匹に赤血球が、2000 ppm 群の雌 1 匹に白血球が観察され、わずかながら被験物質投与の影響が示唆された。2000 および 1000 ppm 群の雌雄では尿比重が低下したが、尿濃縮の異常を示唆する尿量の増加や腎機能障害を示す血液生化学的変化あるいは腎臓や（抗利尿ホルモンを分泌する）下垂体の形態学的変化は認められなかったため、その発現機序および検体投与との関連性は不明であった。尿比重の低下は 100 ppm 群の雄でも認められたが、用量との関連性がなかったため、偶発的な変化と考えられた。2000 および 1000 ppm 群の雌雄のケトン体の減少、2000 ppm 群の雄のウロビリノーゲンの減少については、毒性学的に意味のある変化ではなかった。

血液学的検査；13週間投与終了後、全生存動物を一晚絶食させた後エーテル麻酔下で開腹し、後大静脈より採血して以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、血色素量、メトヘモグロビン量、赤血球数、平均赤血球



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、網赤血球数、  
 ハイツ小体、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、  
 白血球数、白血球のディファレンシャルカウント  
 対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	性別および投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
ヘマトクリット値		↓97	↓96	↓93			↓96	↓92
血色素量		↓97	↓96	↓91			↓97	↓91
赤血球数			↓96	↓89			↓96	↓87
平均赤血球容積		↓98		↑104				↑105
平均赤血球血色素量		↓99		↑103			↑101	↑104
平均赤血球血色素濃度				↓99			↑101	
血小板数			↑116	↑120			↑108	
網赤血球数			↑142	↑235			↑150	↑321
プロトロンビン時間				↓91				↑104
活性化部分トロンボプラスチン時間							↑110	
白血球数								↑124
リンパ球数								↑131
骨髓有核細胞数			↑118	↑137			↑140	↑178

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

血液学的検査では 2000 および 1000 ppm 群の雌雄で貧血（ヘマトクリット値、血色素量および赤血球数の減少）が観察された。また、300 ppm 群の雄でもヘマトクリット値および血色素量の減少が認められた。これらは雌雄に共通し、かつ、用量との関連性も認められることから、検体投与による変化であると判断された。また、2000 および 1000 ppm 群の雌雄では網赤血球数および骨髓有核細胞数の増加が認められ、さらに 2000 ppm 群の雌雄では平均赤血球容積も高値を示したことから、貧血に対して反応性の造血が起きていることが示唆された。2000 ppm 群の雌雄では赤血球関連値の変動に伴って平均赤血球血色素量の増加も認められた。赤血球関連以外の血液学的検査項目では、2000 および 1000 ppm 群の雄で血小板数が増加し、2000 ppm 群の雌ではリンパ球数とそれに伴う白血球数の増加が認められた。これらは高用量群でみられていることから検体投与に起因した変化であると考えられたが、その毒性学的意義や変動機序は不明であった。血液凝固検査ではプロトロンビン時間が 2000 ppm 群の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

雄で短縮し、雌で延長したが、雌雄で変化の方向が逆であったため、偶発的変化と考えられた。

上記以外にも、いくつかの統計学的に有意な変化が観察されたが、いずれも用量との関連性のない変化、あるいは対照群の値に比して軽微な変化、偶発性変化であったことから、検体投与とは関係性はないと判断された。

血液生化学的検査；血液学的検査時に採取した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、直接ビリルビン、間接ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	性別および投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ							↑109	↑119
アラニンアミノトランスフェラーゼ		↓83	↓79	↓79				↑127
γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ								↑200
尿素窒素							↑114	110
総蛋白								↓96
アルブミン								↓93
アルブミン/グロブリン比								↓92
血糖				↓90				↓90
総コレステロール		↓92	↓88	↓84			↓84	↓73
トリグリセライド			↓55	↓29			↓73	↓45
総ビリルビン		↑120	↑140	↑180			↑117	↑200
直接ビリルビン	0.00 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>	↑0.01 <sup>a</sup>	↑0.02 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>	↑0.01 <sup>a</sup>	↑0.03 <sup>a</sup>
間接ビリルビン			↑120	↑140	↓83			↑150
無機リン			↑115	↑126				
カリウム			↑106	↑110				↑110
塩素				↓98				↓98

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表中の数値は対照群に対する割合 (%)。ただし、a は実測値 (mg/dL ; 対照群の値は雌雄とも 0.00 mg/dL)。

血液生化学的検査のうち肝機能関連酵素については、2000 ppm 群の雌でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼおよびγ-グルタミルトランスペプチダーゼの増加が認められた。AST は 1000 ppm 群の雌においても増加した。これらは雄ではみられていないが、同じ項目の変化が先に行なわれた 28 日間反復経口投与毒性試験 (以下、28 日間試験) でも 3000 ppm 群の雌雄で観察されており、かつ、当該試験の高用量 2 群では肝臓重量も増加していることから、検体は肝臓に対して影響を与えることが示唆された。糖および蛋白については 2000 ppm 群の雌雄で血糖、雌で総蛋白、アルブミンおよびアルブミン/グロブリン比の減少が認められた。これらについては体重増加抑制および摂餌量の減少と検体の肝臓に対する影響の双方が原因として考えられた。脂質関連項目では、2000 および 1000 ppm 群の雌雄で総コレステロールおよびトリグリセライドが減少した。さらに雄では 300 ppm 群においても総コレステロールの減少がみられ、検体による脂質代謝への影響の可能性が推察された。2000 および 1000 ppm 群の雌雄ならびに 300 ppm 群の雄では総ビリルビンが増加した。また、2000 および 1000 ppm 群の雌雄では直接 (抱合型) ビリルビンが、両群の雄および 2000 ppm 群の雌では間接 (非抱合型) ビリルビンが増加した。これらのビリルビン、とくに間接ビリルビンの増加は血液学的検査でみられた貧血が溶血によるものか、あるいは検体の肝臓に対する影響を反映している可能性とを示唆していた。電解質に関しては 2000 ppm 群の雌雄および 1000 ppm 群の雄でカリウムの増加が認められ、溶血による可能性が高いと考えられた。また、2000 および 1000 ppm 群の雄で無機リンが増加し、2000 ppm 群の雌雄では塩素が減少した。これらは高用量 2 群あるいは雌雄に共通してみられていることから検体投与の影響と判断されたが、その発現機序は不明であった。上記以外にも、いくつかの統計学的に有意な変化が観察されたが、いずれも用量との関連性のない変化、あるいは毒性学的意義のない変化であった。

**臓器重量** ; 試験終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量 (絶対重量) を測定し、対体重比 (相対重量) も算出した。

心臓、脾臓、胸腺、肝臓、腎臓 (両側)、精巣 (両側)、精巣上体 (両側)、  
卵巣 (両側)、子宮、脳、副腎 (両側)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。左右のある臓器は合計について記載する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

項目	性別および投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
体重				↓86				↓89
脳	絶対重量			↓98				↓97
	相対重量			↑115			↑107	↑109
心臓	絶対重量			↓91			↓91	↓89
胸腺	絶対重量			↓81			98	88
肝臓	絶対重量						↑108	↑112
	相対重量			↑109	↑126	↑106	↑116	↑126
腎臓	絶対重量						↓93	↓89
	相対重量		↑103	↑103	↑110			
脾臓	絶対重量			↑117	↑123		↑111	↑127
	相対重量			↑120	↑140		↑117	↑142
副腎	相対重量			↑115				
精巣	相対重量			↑119				
精巣上体	相対重量			↑114				

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

脾臓については、2000 および 1000 ppm 群の雌雄で絶対および相対重量の増加が認められ、前述したように溶血性貧血に伴う変化と考えられた。肝臓に関しては、2000 および 1000 ppm 群の雌雄で相対重量の、さらに両群の雌では絶対重量の増加が認められ、検体の同臓器に対する影響が示唆された。なお、雄の腎臓の相対重量は低体重がみられた 2000 ppm 群に加え、明らかな体重変化がみられなかった 1000 および 300 ppm 群でも増加したが、この両群における増加はともにごく軽度であり、また、両群間で用量に伴う程度の増強もなかったことからこれらの腎臓重量の増加は毒性とは考えなかった。上記以外にも統計学的に有意な変化が観察されたが、これらは低体重による二次的な変化あるいは用量との関連性のない変化であった。

肉眼的病理検査；13 週間投与終了後に全ての動物について剖検を行った。

検体投与群で対照群と比較して発生頻度に統計学的に有意な差が認められた病変を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

部位および病変	性別および投与量 (ppm)										
	雄					雌					
	0	100	300	1000	2000	0	100	300	1000	2000	
脾臓： 暗調化	[N=]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]
		1	0	0	↑10	↑10	0	0	0	↑8	↑10

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

[N=]：検査動物数、表中の数値は所見発生数

2000 および 1000 ppm 群では雌雄ほぼ全例に脾臓の暗調化が観察され、同病変の発生頻度は対照群に比して有意に増加し、かつ本変化は前述したように溶血性貧血を裏付ける変化と考えられた。300 および 100 ppm 群では雌雄ともいずれの病変の発生頻度にも対照群に比して差はみられなかった。

病理組織学的検査；肉眼的に病理検査した動物のうち、対照群および 2000 ppm 群の全動物を対象として、以下の組織について、また、100、300 および 1000 ppm 群の全動物から採取した脾臓、骨髓(胸骨および片側大腿骨)、膀胱および肉眼的異常部位について、ヘマトキシリン・エオジン染色の標本作製し、鏡検した。

心臓、大動脈、脾臓、胸腺、骨・骨髓(胸骨、右大腿骨+膝関節)、頸部(顎下)リンパ節、腸間膜リンパ節、鼻腔、咽喉頭、気管、肺(含気管支)、唾液腺(顎下腺および舌下腺)、食道、胃(前胃・腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、脾臓、腎臓(両側)、膀胱、精巢(両側)、精巣上体(両側)、精囊・凝固腺(両側)、前立腺、卵巣(両側)、子宮(角部および頸部)、腔、脳(大脳、小脳、橋および延髄)、脊髓・椎骨(頸部・胸部・腰部)、坐骨神経(片側)、眼球(両側)、ハーダー腺(両側)、下垂体、甲状腺(含上皮小体)(両側)、副腎(両側)、骨格筋、皮膚、乳腺、肉眼的病変部

対照群と比較べ発生頻度に統計学的有意差の認められた病変を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

部位および病変	性別および投与量 (ppm)									
	雄					雌				
	0	100	300	1000	2000	0	100	300	1000	2000
骨髓(胸骨): [N=]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]
造血亢進	0	0	0	↑5	↑10	0	0	0	↑5	↑10
骨髓(大腿骨): [N=]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]
造血亢進	0	0	0	↑5	↑10	0	0	0	↑5	↑10
脾臓: [N=]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]
うっ血/充血	0	0	0	↑6	↑10	0	0	0	↑7	↑10
褐色色素沈着	0	0	0	↑5	↑10	0	0	0	↑8	↑10
髄外造血亢進	0	0	0	↑4	↑10	0	0	0	2	↑10
膀胱: [N=]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]	[10]
粘膜上皮過形成	0	0	0	2	↑10	0	0	0	1	↑8
-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	2	0	0	0	0	1	6
++	0	0	0	0	10	0	0	0	0	2
出血(+)	0	0	0	0	↑5	0	0	0	0	3
粘膜上皮アポトーシス(+)	0	0	0	0	↑8	0	0	0	0	↑4
粘膜上皮変性(+)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
好中球浸潤(+)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
粘膜固有層単核細胞浸潤(+)	1	1	0	1	3	0	0	2	1	3

Fisher の直接確率計算法: ↑↓、 $p \leq 0.05$     ↑↓、 $p \leq 0.01$

程度: - 異常なし、+ 軽度、++ 中等度

[N=]: 検査動物数、表中の数値は所見発生数

2000 および 1000 ppm 群の雄あるいは雌脾臓においてうっ血あるいは充血、褐色色素沈着および髄外造血亢進の発生頻度の有意な増加が観察された。褐色色素の一部はヘモジデリンであり、うっ血あるいは充血および髄外造血亢進とともに上に述べた溶血性貧血を裏付ける変化と考えられた。褐色色素中にはリポフスチンも観察されたが、同色素は一般に持続性の組織障害に伴って認められることが知られており、溶血やうっ血あるいは充血などに伴って生じた非特異的反応と考えられた。

脾臓における髄外造血亢進とともに、両群の雌雄では骨髓(胸骨および大腿骨)の造血亢進も認められ、貧血に対する反応性造血が起きていることが確認された。なお、1000 ppm 群の雌における脾臓の髄外造血亢進は2例で認められたのみであるが、同群では2000 ppm 群と同様に溶血性貧血がみられており、かつ、これらの動物では骨髓の造血亢進も観察されたことから、この2例の変化も検体投与によるものと判断された。

膀胱については、2000 ppm 群の雌雄ほぼ全例に粘膜上皮過形成が観察された。さらに膀胱粘膜上皮過形成に加え、出血(粘膜上皮内/粘膜下)、粘膜上皮アポトーシス、粘膜上皮変性、好中球浸潤、粘膜固有層単核細胞浸潤(リンパ球やマクロファージ)も観察された。このうち、粘膜固有層の単核細胞浸潤以外の病変は対照群ではみられない変化であることから投与の影響と考えられた。粘

膜固有層の単核細胞浸潤については、対照群を含む他の用量群に1ないし2匹の頻度で発生がみられており、2000 ppm 群ではごく軽度とその発生頻度を増加させていると考えられた。かつ、尿検査では尿沈渣中に赤血球や白血球も観察されたことから、検体投与の影響により膀胱粘膜に損傷が起きていたと推察され、この過形成病変はその修復像と考えられた。同様の粘膜上皮過形成は1000 ppm 群の雄2例、雌1例でも認められた一方、対照群および300 ppm 以下の群では認められなかった。このため、1000 ppm 群におけるこれらの変化は上述の尿沈渣への軽度の影響とも関連し、検体投与に起因するものと判断された。

以上の結果から、2000 ppm 群では一般状態の観察において雌雄とも体重増加抑制および摂餌量の減少が認められ、食餌効率も低値を示した。尿性状の変化として、雌雄に尿比重の低下と尿沈渣中の赤血球の増加が、さらに雄では白血球、潜血および蛋白質の増加が認められた。血液学的検査では雌雄にヘマトクリット値、血色素量および赤血球数の減少と平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、網赤血球数および骨髓有核細胞数の増加が、さらに雄では血小板数の、雌ではリンパ球数と白血球数の増加が認められた。血液生化学的検査では雌雄において総ビリルビン、直接・間接ビリルビンおよびカリウムの増加と血糖、総コレステロール、トリグリセライドおよび塩素の減少が、さらに雄では無機リンの増加が、雌ではアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼおよび $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼの増加と総蛋白、アルブミンおよびアルブミン/グロブリン比の減少が認められた。剖検では雌雄に脾臓の暗調化が観察された。臓器重量では雌雄において脾臓の絶対・相対重量および肝臓の相対重量が増加し、雌では肝臓の絶対重量も増加した。病理組織学的検査では雌雄に骨髓（胸骨および大腿骨）の造血充進、脾臓のうっ血/充血、褐色色素沈着および髓外造血充進ならびに膀胱の粘膜上皮過形成、出血、粘膜上皮アポトーシス、粘膜上皮変性、好中球浸潤および粘膜固有層単核細胞浸潤が観察された。

1000 ppm 群では雌雄とも体重増加抑制および摂餌量の減少が認められ、雌では投与1週時の食餌効率も低値を示した。また、尿比重の低下、ヘマトクリット値、血色素量および赤血球数の減少と網赤血球数および骨髓有核細胞数の増加、総ビリルビンおよび直接ビリルビンの増加と総コレステロールおよびトリグリセライドの減少、脾臓の暗調化の発生頻度の増加、脾臓の絶対・相対重量および肝臓の相対重量の増加、ならびに骨髓の造血充進と脾臓のうっ血/充血および褐色色素沈着の発生頻度の増加が雌雄ともに認められ、さらに雄では血小板数、間接ビリルビン、無機リン、カリウムおよび脾臓の髓外造血充進の発生頻度の増加が、雌ではASTおよび肝臓の絶対重量の増加が認められた。また、脾臓の髓外造血充進が雌にも観察され、さらに、膀胱の粘膜上皮過形成が認められた。

300 ppm 群では雄のヘマトクリット値、血色素量および総コレステロールが減少し、総ビリルビンが増加した。300 ppm 群の雄および100 ppm 群の雌雄では検体投与に関連づけられる変化はなかった。

これらの結果に基づき、Fischer系 (F344/DuCrIj) SPFラットにおけるAF-02原体の無毒性量 (NOAEL) は、本試験条件下では雄100 ppm (5.72 mg/kg/日)、雌300 ppm (20.3 mg/kg/日) と判断された。