

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(繁殖毒性)

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

① ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. R-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体純度： %

試験動物： SD 系ラット、投与開始 6 週齢

F₀ 世代；一群雌雄各 28 匹（但し、F₁ 世代；一群雌雄各 24 匹）

試験期間： F₀ 世代；投与開始から F_{1b} 児離乳時までの 27 週間

F₁ 世代；離乳後から F_{2a} 児離乳時までの 20 週間

(1989 年 3 月 23 日～1990 年 1 月 12 日)

試験方法： 検体をアセトンに溶解して無添加基礎飼料と均一に混合した後、加温しながらアセトンを除去して一定濃度のプレミックス飼料を調製した。このプレミックス飼料に更に無添加基礎飼料を添加して、投与濃度 0、10、70 及び 490 ppm の飼料を毎週調製した。

投与量設定根拠；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次表にまとめた。

一般状態及び死亡率；試験期間を通じて全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；交配期間中は、雌雄を 1：1 で同居させ、毎日膣栓又は膣垢中の精子の有無を調べることにより交尾の有無を判定した。交配期間は最長 20 日とし、交尾が確認された日を妊娠 0 日とした。

(繁殖毒性)

表.

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F ₀ 世代	生育 (10週間) 交配 (20日間)	雌雄1対1で交配。 交配は精子、膣栓で確認 (妊娠0日)。	体重、飼料摂取量を週1回測定。 交配状況の確認。
	妊娠 (3週間)		妊娠0、7、14、17及び20日体重測定。
	出産 (F _{1a})	出生後21日にF ₁ 継代用に各同腹児から雌雄各1匹を選抜し、各群雌雄各24匹とした。	出産状況の観察。新生児数、死産児数、外表異常、性別、同腹児数、生存児体重の測定。
	哺育 (3週間)		母動物の出産後0、7、14及び21日に母動物の体重を測定し飼料摂取量を3週間にわたり週毎に測定。生後4日に1腹当たり雌雄各4匹を無作為に選抜し、標準化した。同腹児数及びその体重を分娩後8、12及び21日に測定。
	離乳		
	交配 (20日間)	雌雄1対1で交配。 交配は精子、膣栓で確認 (妊娠0日)。	継代用以外の残余児動物は全て屠殺し、肉眼的病理検査を実施。なお、各同腹児雌雄各1匹の肝臓及び腎臓の重量を測定。
	妊娠 (3週間)		交配状況の観察。 妊娠0、7、14、17及び20日体重測定。 出産状況の観測 (F _{1a} に準じる)。
	出産 (F _{1b})		離乳後直ちに屠殺し、肉眼的病理検査を実施。なお、各同腹児雌雄各1匹の肝臓及び腎臓の重量を測定。
	哺育 (3週間)		全親動物を屠殺し、指定された臓器の重量を測定。肝臓、腎臓及び繁殖に関連する臓器/組織の病理組織学的検査を実施。
	F ₁ 世代	生育 (12週間) 交配 (20日間) 妊娠 (3週間) 出産 (F _{2a})	
哺育 (3週間)		F _{1b} に準じる。	

(繁殖毒性)

繁殖性に関する指標；交配、妊娠及び哺育期間の観察に基づき、以下を算出した。

交尾所用日数（日）＝ 同居から交尾確認までに要した日数

妊娠期間（日）＝ 交尾確認から出産確認までの日数

次いで発育段階を検討するために次の項目を調べた。

- 1) 表面正向反射（交尾確認日から100%獲得までの日数）
- 2) 驚愕反応（交尾確認日から100%獲得までの日数）
- 3) 空中正向反射（交尾確認日から100%獲得までの日数）
- 4) 瞳孔反射（生後20日）

臓器重量；各世代の試験終了時に親動物及び各世代、各交配の児動物を屠殺し、下記の臓器の重量を測定した。

親動物：脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、胸腺、卵巣、精巣、前立腺

児動物：肝臓、腎臓

病理組織学的検査；各世代の親動物については、下記の臓器/組織を採取した。

# 副腎 (F ₀ 世代)	空腸	精囊 (及び凝固腺)
大動脈	# 腎臓	坐骨神経
骨 (大腿骨)	# 肝臓	骨格筋
骨髄 (胸骨)	肺	皮膚
脳	リンパ節 (頸部/腸管膜)	脊柱 (腰椎)
頭蓋 (涙腺、歯、鼻、 甲介、内耳のため)	乳腺	脾臓
肉眼的異常組織	胃	盲腸
食道	* 精巣 (及び精巣上体、両側)	結腸
* 卵巣	胸腺 (存在する場合)	
十二指腸	膵臓	甲状腺
眼球	* 下垂体	舌
心臓	* 前立腺	気管 (並びに喉頭及び咽頭)
回腸	直腸	膀胱
唾液腺	* 子宮 (及び頸管)	* 膣

#：組織学的検査が実施された組織 - 標的臓器

*：組織学的検査が実施された組織 (生殖器官及び下垂体)

各世代の対照群及び490 ppm 投与群親動物について、生殖器官及び下垂体の病理組織学的検査を実施した。また、10 及び70 ppm 投与群の外見的に不妊であった親動物について病理組織学的検査を実施した。この他にF₀世代の対照群及び490 ppm 投与群親動物の副腎及びF₁世代全群親動物の肝臓について病理組織学的検査を実施した。

(繁殖毒性)

結果：概要を次表に示す

世代		親：F ₀		児：F _{1a}	
投与量 (ppm)		0	10	70	490
動物数	雄	28	28	28	28
	雌	28	28	28	28
一般状態		検体投与による影響なし			分娩時間の延長
死亡率 (%)	雄	0	0	0	0
	雌	3.6 (1/28)	0	0	10.7 (3/28)
体重変化 (g) (生育期：0~10週)	雄	315	311	330	312
	雌	148	144	152	122**
体重変化 (g)	妊娠期間 (妊娠20日)	132.8	132.5	129.6	127.2
	哺育期間 (分娩後21日)	12.6	11.6	8.7	27.1*
飼料摂取量 (g/ラット、合計) (生育期：1~10週)	雄	1,991	2,028	2,010	2,009
	雌	1,523	1,464	1,505	1,390**
飲水量 (g/ラット、合計) (生育期：1~2週)	雄	420	420	414	409
	雌	379	380	390	383
飲水量 (g/ラット、合計) (生育期：9~10週)	雄	494	449*	456*	455*
	雌	395	407	413	424
交尾所用日数 (日)		3.0	3.0	2.0	3.0
交尾率 (%)					
妊娠率 (%)		96.4 (27/28)	89.3 (25/28)	92.9 (26/28)	89.3 (25/28)
妊娠期間 (日)		21.9	22.2	22.3 [#]	22.4 ^{##}
出産児数/腹		14.5	14.4	13.3	12.5**
生存出産児数/腹		14.1	13.7	13.2	11.9**
性比 (雄%)		52.1	49.7	53.2	51.5
新生児死亡率 (%)		2.7	5.2	0.9	5.1
生後4日児動物数/腹		13.8	13.0	13.0	11.4**
生後4日児動物死亡率 (%)		4.3	9.5	3.0	8.7
哺育児体重 (g)	出生時	6.1	6.0	6.4	6.5
	生後4日	9.4	10.2	10.2	10.1
	生後12日	29.1	30.3	29.5	25.9*
	生後21日	58.0	60.1	58.6	52.2*
表面正向反射 (日・交尾後)		24.4	24.4	24.2	24.4
驚愕反射 (日・交尾後)		34.3	34.4	34.3	34.8
空中正向反射 (日・交尾後)		37.2	37.2	37.2	37.6
瞳孔反射 (%、成功率)		100	100	100	100
肉眼的病理検査		検体投与による影響なし			
臓器重量		検体投与による影響なし			腎 (対体重比) 雄 87.8% 肝 (対体重比) 雄 120.0% 雌 123.2%

* : p < 0.05、** : p < 0.01 (親動物 : Williams' test、児動物 : Kruskal-Wallis and Jonckheere test)

: p < 0.05、## : p < 0.01 (Kruskal-Wallis test)

||| : p < 0.01 (Williams' test)

表中の交尾率は申請者が計算した

(繁殖毒性)

世代		親 : F ₀		児 : F _{1b}	
投与量 (ppm)		0	10	70	490
動物数	雄	28	28	28	28
	雌	27	28	28	25
一般状態		検体投与による影響なし			分娩時間の延長
死亡率 (%)	雄	3.6 (1/28)	3.6 (1/28)	0	0
	雌	0	3.6 (1/28)	3.6 (1/28)	12.0 (3/25)
体重変化 (g)	妊娠期間 (妊娠20日)	144.0	142.2	140.9	135.3
	哺育期間 (分娩後21日)	3.2	0.2	5.6	26.7**
肉眼的病理検査		検体投与による影響なし			
臓器重量		検体投与による影響なし	副腎 (重量) 雄 ; 88.9%	副腎 (重量) 雄 ; 89.9%	肝 (重量) 雄 ; 118.5% 雌 ; 114.7% 肝 (対体重比) 雄 ; 117.2% 雌 ; 128.3% 腎 (重量) 雌 ; 109.3% 腎 (対体重比) 雌 ; 122.6% 副腎 (重量) 雄 ; 85.0% 副腎 (対体重比) 雄 ; 87.5% 肺 (重量) 雌 ; ↓93.5% 脳 (対体重比) 雌 ; 111.5% 心 (対体重比) 雌 ; ↑108.6% 卵巢 (対体重比) 雌 ; 124.1%
				副腎 (対体重比) 雄 ; 87.5%	
病理組織学的検査		検体投与による影響なし			雌雄に小葉中心性肝細胞肥大 (軽微) 発生頻度増加
交尾所用日数 (日)		3.0	3.0	3.0	3.0
交尾率 (%)					
妊娠率 (%)		81.5 (22/27)	82.1 (23/28)	92.9 (26/28)	88.0 (22/25)
妊娠期間 (日)		22.2	22.5	22.3	22.4

* ↑↓ : p < 0.05、** |||| : p < 0.01 (Williams' test、但し、卵巢 (対体重比) 重量はShirley's test)

表中の交尾率は申請者が計算した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(繁殖毒性)

世代		親 : F ₀		児 : F _{1b}		
投与量 (ppm)		0	10	70	490	
児 動物	出産児数/腹	14.1	14.6	14.3	13.7	
	生存出産児数/腹	14.0	14.6	14.2	13.3	
	性比 (雄%)	53.1	55.4	51.0	49.2	
	新生児死亡率 (%)	1.0	0.3	1.1	2.6	
	生後4日児動物数/腹	13.7	14.1	13.8	13.1	
	生後4日児動物死亡率 (%)	3.3	2.9	3.6	4.4	
	哺育児体重 (g)	出生時	6.5	6.7	6.5	6.5
		生後4日	11.1	11.0	10.7	10.3
		生後12日	32.3	32.0	32.0	28.1***
		生後21日	64.8	64.3	63.7	56.3***
	表面正向反射 (日・交尾後)	24.2	24.4	24.2	24.3	
	驚愕反射 (日・交尾後)	33.9	34.3	34.3	34.5*	
	空中正向反射 (日・交尾後)	37.0	37.5*	37.2	37.6**	
	瞳孔反射 (%、成功率)	100	100	100	100	
肉眼的病理検査	検体投与による影響なし					
臓器重量	検体投与による影響なし		肝 (対体重比) 雌 105.7%	腎 (重量) 雄 89.4% 雌 86.6% 肝 (対体重比) 雄 120.5% 雌 119.2%		

* : p < 0.05、** : p < 0.01、*** : p < 0.01 (Kruskal-Wallis and Jonckheere test)

||| : p < 0.01 (Williams' test)

(繁殖毒性)

世代		親：F ₁		児：F _{2a}	
投与量 (ppm)		0	10	70	490
動物数	雄	24	24	24	24
	雌	24	24	24	24
一般状態		検体投与による影響なし			分娩時間の延長
死亡率 (%)	雄	0	0	0	0
	雌	0	0	0	8.6 (2/24)
体重変化 (g) (生育期4~16週)	雄	460	445	459	418*
	雌	223	207	217	191**
体重変化 (g)	妊娠期間 (妊娠20日)	129.4	119.4	115.4	127.1
	哺育期間 (分娩後21日)	15.3	12.9	19.2	35.6*
飼料摂取量 (g/ラット、合計) (生育期：4~16週)	雄	2,453	2,434	2,409	2,285*
	雌	1,786	1,724	1,726	1,631**
肉眼的病理検査		検体投与による影響なし			
臓器重量	検体投与による影響なし	胸腺 (重量) 雄↓ 78.6%	胸腺 (重量) 雄↓ 89.3%	胸腺 (重量) 雄↓ 89.3%	胸腺 (重量) 雄↓ 82.1%
			肝 (対体重比) 雌 109.7%	肝 (対体重比) 雄 107.7%	胸腺 (対体重比) 雌↑ 120.0%
				肝 (重量) 雌 112.3%	腎 (対体重比) 雄 114.5%
				腎 (対体重比) 雌 123.7%	心 (対体重比) 雄 107.7%
				心 (対体重比) 雌 109.4%	脳 (対体重比) 雌 117.3%
				脳 (対体重比) 雌 117.3%	肺 (対体重比) 雌 115.8%
				肺 (対体重比) 雌 115.8%	精囊/前立腺 (対体重比) 雄 114.6%
				精囊/前立腺 (対体重比) 雄 114.6%	卵巢 (重量) 雌 120.3%
				卵巢 (重量) 雌 120.3%	卵巢 (対体重比) 雌 145.8%
				卵巢 (対体重比) 雌 145.8%	
病理組織学的検査		検体投与による影響なし			雌雄に小葉中心性肝細胞肥大 (軽微) 発生頻度増加
交尾所用日数 (日)		3.5	3.0	3.5	4.0
交尾率 (%)					
妊娠率 (%)		70.8 (17/24)	87.5 (21/24)	87.5 (21/24)	87.5 (21/24)
妊娠期間 (日)		21.9	22.1	22.3	22.2

* ↓ : p < 0.05、** ||| : p < 0.01 (Williams' test)

表中の交尾率は申請者が計算した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(繁殖毒性)

世代		親：F ₁		児：F _{2a}		
投与量 (ppm)		0	10	70	490	
児動物	出産児数/腹	14.0	12.8	13.4	12.9	
	生存出産児数/腹	13.8	12.3	12.8	12.2	
	性比 (雄%)	48.4	46.2	45.6	40.3	
	新生児死亡率 (%)	1.7	4.2	3.7	6.8	
	生後4日児動物数/腹	12.5	11.7	12.7	10.9	
	生後4日児動物死亡率 (%)	9.3	7.7	5.0	18.2	
	哺育児体重 (g)	出生時	6.1	6.2	6.2	6.0
		生後4日	9.5	9.4	9.7	8.9
		生後12日	28.6	28.1	28.6	24.3***
		生後21日	56.0	55.6	56.4	49.3**
	表面正向反射 (日・交尾後)	25.1	24.9	24.6	24.1*	
	驚愕反射 (日・交尾後)	34.2	34.4	34.4	34.4	
	空中正向反射 (日・交尾後)	37.5	37.4	37.5	37.9*	
	瞳孔反射 (%、成功率)	100	100	100	100	
	肉眼的病理検査		検体投与による影響なし			
臓器重量		検体投与による影響なし		肝 (対体重比) 雌 109.0%	腎 (重量) 雄 80.2% 雌 87.5% 肝 (対体重比) 雄 123.4% 雌 126.9%	

* : p < 0.05, ** : p < 0.01, *** : p < 0.01 (Kruskal-Wallis and Jonckheere test)

|||| : p < 0.01 (Williams' test)

(繁殖毒性)

親動物に対する影響：

一般状態；試験期間にわたる全死亡数は、合計13例（雄2例及び雌11例）であった。雌11例のうち、8例は490 ppm投与群で、その死亡時期は分娩時あるいは分娩前後であった。490 ppm投与群におけるこれらの死亡例は、妊娠期間の延長が認められたことと関連し、投与と関連するものと考えられた。

10 ppm投与群で2例（雌雄各1例）及び70 ppm投与群で雌1例に死亡が認められ、死亡時期が490 ppm投与群と同様、分娩期であったが、投与との関連は明らかでなかった。また、対照群で認められた雌雄各1例の死亡は、偶発的と考えられた。

投与に関連があると考えられる臨床症状は、490 ppm投与群の母動物数例に認められた蒼白化及び立毛であった。

飲水量、摂餌量及び飼料効率；飲水量は、各世代の生育期間の開始時2週間及び交配前2週間時に毎日測定した。摂餌量は雌の場合、生育期間及び哺育期間、また雄の場合、交配期間を除いた生育期間及び交配後期間中に毎週測定した。生育期間における飼料効率及び同期間の検体摂取量を算出した。

飲水量に検体投与による影響は認められなかった。

[申請者註：

]

摂餌量は、490 ppm投与群のF₀世代雌で生育初期に対照群に比べ僅かながら減少し、F₁世代では雌雄とも試験期間の大部分にわたり明らかに減少した。

一方、F₀世代における哺育期間の母動物の摂餌量は、70及び490 ppm投与群で哺育後期に両交配時共に減少した。F₁世代では、490 ppm投与群で明らかな摂餌量の減少が認められた。10 ppm投与群の場合、いずれの世代においても何らの影響も認められなかった。

育成期間における検体摂取量（平均）は次表の通りであった。

投与量 (ppm)		10		70		490	
世代		F ₀	F ₁	F ₀	F ₁	F ₀	F ₁
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.7	0.8	4.9	5.3	35.5	39.6
	雌	0.8	0.9	5.9	5.9	40.6	44.2

数値はF₀世代雌雄では投与開始から10週間及びF₁世代雌雄では離乳から12週間、育成期間における値。

体重変化；生育期間中はF₀及びF₁世代共に雌雄各々を毎週測定した。交配期間中、全ての雌は分娩するまで毎日測定した。妊娠期間中は妊娠0、7、14、17及び20日に測定し、分娩後は0、7、14及び21日に測定した。体重変化としては、生育期間でF₀世代の490 ppm投与群雌、及びF₁世代の490 ppm投与群雌雄に有意な低下が認められた。いずれの世代の妊娠期間においても体重変化の相違は認められなかったが、哺育期間ではF₀及びF₁世代のいずれの場合も490 ppm投与群では有意に増加した。

(繁殖毒性)

繁殖成績；F₀及びF₁世代における交配では、各投与群において交配前期間、交尾率及び妊娠率は対照群と同等であった。しかし、F₀世代の1回目の繁殖における妊娠期間は、70及び490 ppm投与群で対照群に比べて延長傾向がみられた。70 ppm及び490 ppm投与群の5及び2匹で全同腹児死亡が認められ、490 ppm投与群では分娩の異常（分娩時間の延長）に起因して死亡する母動物数が増加した。

F₁世代においても同様な傾向がみられた。

臓器重量；F₀及びF₁親動物について下記臓器の重量を測定した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、胸腺、精巣、卵巣及び前立腺

投与に関連した変化として、490 ppm投与群のF₀及びF₁世代雌雄において肝臓の重量及び対体重比の有意な増加がみられた。また、490 ppm投与群のF₀世代雌に腎臓の重量及び対体重比の有意な増加がみられ、更にF₁世代雌雄において腎臓の対体重比の有意な増加がみられた。

F₀世代雄において全ての投与群で副腎重量の低下が認められたが、関連する病理組織学的変化が認められなかったことから、投与に関連した変化とは考えられなかった。

その他に認められた変化に投与との関連はないと考えられた。

肉眼的病理検査；F₀世代親動物はF_{1b}児離乳後、F₁世代ではF_{2a}児離乳後に屠殺し、肉眼的病理検査に供した。

F₀及びF₁親動物において投与に関連する変化はみられなかった。

病理組織学的検査；F₀及びF₁親動物の場合、下記臓器について検査を実施した。

副腎、腎臓、肝臓、卵巣、精巣、前立腺、精囊、子宮、膈及び下垂体

F₀及びF₁両世代における490 ppm投与群雌雄の肝臓において軽度の小葉中心性細胞肥大の発生頻度増加が認められた。臓器重量において有意差がみられた490 ppm投与群の腎臓には、何らの病理組織学的変化も認められなかった。また、交尾が成立しなかった動物を含めて生殖系臓器及び組織に何らの病理組織学的変化も認められなかった。

児動物に対する影響：

哺育児の生存率、体重及び生存発達；F₀世代F_{1a}児では490 ppm投与群において出産児数及び生存出産児数が対照群に比べ減少した。生後4日の児動物数も同様に減少した。哺育児体重は出生時では全投与群とも対照群に比べ有意差は認められなかったが、生後12及び21日では490 ppm投与群の哺育児体重が有意に低下した。更にF_{1b}児でも生後12及び21日における哺育児体重が490 ppm投与群で有意に低下した。F_{2a}児では490 ppm投与群の哺育児体重がF_{1a}及びF_{2b}児と同様に有意に低下した。これらを除き、投与に関連する変化は認められなかった。哺育児の生後発達については、各世代、各交配の児動物に投与による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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(繁殖毒性)

臓器重量；選択したF1a、F1b及びF2a児（各離乳児）について肝臓及び腎臓の重量を測定した。

490 ppm投与群のF1a、F1b及びF2a児の肝臓の対体重比が有意に増加した。70 ppm投与群ではF1b及びF2a児においても同様に増加した。

肉眼的病理検査；F1a、F1b及びF2a児について、臓器重量の測定に供した動物を検査した。

F1a及びF2a児動物において投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、2世代にわたってテトラコナゾールを飼料中に混入して投与した場合、親動物では、490 ppm投与群において死亡数の増加（分娩時あるいは分娩前後）、体重増加抑制、摂餌量の減少、肝臓及び腎臓の重量及び対体重比増加並びに肝臓の小葉中心性細胞肥大の発生頻度が増加し、70及び490 ppm投与群では妊娠期間の延長及び全同腹児の死亡が認められた。

児動物においては、490 ppm投与群で出産児数及び生存出産児数の減少、哺育児体重の低下、また、70及び490 ppm投与群において肝臓の対体重比重量の増加が認められた。

従って、本試験における無影響量及び無毒性量は、親動物及び児動物共に10 ppm（F₀世代雄；0.7 mg/kg/日、雌；0.8 mg/kg/日及びF₁世代雄；0.8 mg/kg/日、雌；0.9 mg/kg/日）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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(催奇形性)

② ラットを用いた催奇形性試験

(資料 No. R-2)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1990年

検体純度： %

試験動物： SD系ラット、8～10週齢、体重範囲 163～224 g、一群30匹

試験期間： 妊娠期間10日間（妊娠6～15日、1988年10月18日～1988年11月2日）

投与方法： 検体を1%メチルセルロース溶液に懸濁し、0、5、22.5及び100 mg/kg/日の投与量で妊娠6～15日までの10日間、毎日1回強制経口投与した（但し、交尾確認日を妊娠0日とした）。

なお、対照群には1%メチルセルロース溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠；

試験項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠2、4、6、8、10、12、14、16、18及び20日に体重を測定した。摂餌量を各体重測定時に測定した。飲水量を妊娠3日から試験終了時まで測定した。妊娠20日目に屠殺し、親動物の肉眼的病理検査を行った後、肝臓及び腎臓の重量を測定した。続いて、帝王切開して卵巣及び子宮について次の項目を検査した。

黄体数、胎児数（生存及び死亡）及び着床部位

生存胎児；胎児の性別、体重及び外表異常を検査した。

各腹の約半数の胎児をブアン固定した後、内臓異常の有無を検査した。また、残りの胎児は内臓を除去してエタノールで固定後、骨格検査のため透明化処理及び染色（Dawsonの変法）を行い、骨格異常の有無を検査した。

(催奇形性)

試験結果：結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		0	5	22.5	100		
一群当たり雌動物数		30	30	30	30		
親動物	一般状態	検体投与による影響なし			流涎、 鼻先端の茶褐色	流涎、 鼻先端の茶褐色	
	死亡数	0	0	0	0		
	妊娠動物数	25	24	25	24		
	全胎児吸収の動物数	0	0	1	0		
	非妊娠/流産動物数	5	6	5	6		
	妊娠21日生存数	25	24	24	24		
	飲水量 (g/匹/日)	妊娠3～5日	31	30	29	30	
		妊娠6～7日	33	31	31	36	
		妊娠8～9日	33	31	32	38	
		妊娠10～13日	37	35	36	36	
		妊娠14～15日	40	38	38	39	
		妊娠16～19日	45	42	43	45	
	摂餌量 (g/匹/日)	妊娠6～7日	26	24	22	20	
		妊娠8～9日	25	26	24	19	
		妊娠10～13日	26	27	26	25	
		妊娠14～15日	27	26	26	23	
	体重増加量 (g)	妊娠6～8日	9.9	9.1	4.7**	1.2**	
		妊娠6～10日	26.0	24.4	21.8*	12.5**	
		妊娠6～12日	39.7	39.7	37.3	27.3**	
		妊娠6～14日	55.8	54.6	53.3	43.2**	
		妊娠6～16日	73.2	70.7	71.9	57.2**	
		妊娠6～18日	102.7	98.8	102.8	88.7**	
	肉眼的病理検査		検体投与による影響なし				
	臓器重量	肝	重量 (g)	16.7	16.6	17.6	18.4**
			対体重比 (g/100g体重)	4.78	4.79	4.94	5.45**
腎		対体重比 (g/100g体重)	0.65	0.64	0.68	0.70**	
着床所見	検査親動物数	25	24	24	24		
	黄体数	13.1	13.7	13.4	14.5		
	着床数	11.9	12.2	12.4	12.9		
	生存胎児数	11.4	11.3	11.8	12.1		
	初期胚死亡数	0.5	0.7	0.5	0.4		
	後期胚死亡数	0	0.1	0	0.4		

* : p < 0.05, ** : p < 0.01 (Williams' test)

着床所見についてKruskal-Wallis test、Jonckheere testあるいはMantel testを用いて適宜統計検査を行った (有意差なし)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(催奇形性)

投与量 (mg/kg/日)		0	5	22.5	100	
検査親動物数		25	24	24	24	
胎児動物	体重 (g)	3.39	3.30	3.38	3.33	
	性比 (雄%)	49.1	50.3	50.2	50.8	
	外表異常	検査胎児数 (腹数)	285 (25)	272 (24)	283 (24)	290 (24)
		体型小型 (腹数) #	4 (4)	2 (2)	7 (4)	26 (13) +
		体型大型 (腹数) #	2 (1)	0 (0)	14 (4)	16 (7) +
	内臓異常	検査胎児数 (腹数)	141 (25)	138 (24)	143 (24)	145 (24)
		水腎症 (腹数)	0 (0)	8 (6)	6 (5)	17 (12) +
		水尿管 (腹数)	33 (18)	43 (20)	47 (19)	79 (23) +
	骨格異常	検査胎児数 (腹数)	144 (25)	134 (24)	140 (24)	145 (24)
		過剰肋骨 (腹数)	0 (0)	2 (2)	4 (3)	41 (18) +
指節骨の骨化開始 (腹数)		1 (1)	0 (0)	1 (1)	12 (6) +	

体重及び性比についてKruskal-Wallis test, Jonckheere testあるいはMantel testを用いて適宜統計検査を行った (有意差なし)

体型小型: 2.50 g未満の胎児、体型大型: 4.00 g以上の胎児

+ : 異常 (外表、内臓及び骨格) の発生頻度が100 mg/kg/日投与群では対照群に比べて増加した (統計検定未実施)。

申請者註:

(参考) HRCより入手した背景データを次表に示す。

1984年～1987年にわたって実施された試験の対照群に認められた発生頻度

実施年	1984年					1985年		1986年				1987年	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
試験番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
検査腹数	20	18	18	21	18	22	17	22	20	19	22	22	19
検査胎児数	205	183	175	265	226	271	195	259	223	233	250	247	235
体型小型 (腹数)	0 (0)	2 (1)	2 (1)	3 (3)	4 (2)	7 (4)	2 (2)	1 (1)	3 (3)	5 (5)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
体型大型 (腹数)	18 (7)	21 (6)	10 (5)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	4 (3)	13 (5)	7 (5)	5 (3)	9 (5)	2 (2)	0 (0)
検査胎児数	103	91	87	131	114	134	99	130	112	117	125	124	118
水腎症 (腹数)	2 (2)	1 (1)	3 (2)	3 (3)	2 (2)	2 (2)	3 (2)	2 (2)	1 (1)	3 (2)	1 (1)	4 (3)	2 (2)
水尿管症 (腹数)	21 (13)	21 (10)	17 (11)	11 (8)	4 (4)	15 (10)	2 (2)	30 (15)	12 (9)	11 (5)	21 (9)	13 (9)	31 (14)
検査胎児数	102	92	89	134	112	137	96	129	111	116	125	123	117
余剰肋骨 (腹数)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	2 (2)	2 (2)	1 (1)	3 (2)	2 (2)	0 (0)	1 (1)	2 (2)
指節骨の骨化開始 (腹数)	#	#	#	0 (0)	#	1 (1)	3 (3)	6 (2)	4 (3)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	2 (2)

当該試験の場合においては記録されなかった。

(催奇形性)

- 親動物； 臨床症状として、流涎及び鼻先端部の茶褐色の汚れが22.5及び100 mg/kg/日投与群にみられた。試験期間中で死亡例はなかった。
- 投与期間中に100 mg/kg/日投与群で飲水量の増加がみられ、同期間中に摂餌量の減少もみられた。また摂餌量の軽微な減少が22.5 mg/kg/日投与群にも認められた。
- 体重増加抑制が22.5及び100 mg/kg/日投与群で投与開始後、最初の4日間にみられた。肝臓の重量及び対体重比の有意な増加が100 mg/kg/日投与群にみられ、同投与群の腎臓の対体重比が有意に増加した。
- 着床所見としての黄体数、生存胎児数、初期及び後期胚死亡に投与による影響は認められなかった。
- 胎児動物； 胎児における体重及び性比に影響は認められなかった。肉眼的異常として100 mg/kg/日投与群に体型小型及び体型大型の発生頻度増加が認められたが、胎児の平均体重は対照群と同等であった。この体型小型及び大型の出現は化骨程度の変動に関与していると考えられた。
- 内臓異常として100 mg/kg/日投与群に水腎症及び水尿管の発生頻度が増加した。しかし、5及び22.5 mg/kg/日投与群における発生頻度は背景データの範囲内であった。骨格異常は認められなかったが、100 mg/kg/日投与群で過剰肋骨及び指節骨の骨化開始が認められた。

以上の結果から、テトラコナゾールを妊娠6～15日に投与した場合、本試験における親動物及び胎児動物の無毒性量は、5 mg/kg/日と判断された。

また、最高投与量の100 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと考えられる。

[申請者註]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

③ ウサギを用いた催奇形性試験 (催奇形性)
(資料No. R-3)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1990年

検体純度： %

試験動物： New Zealand白色ウサギ、16～24週齢、体重範囲 3.5～4.0 kg、一群16匹

試験方法： 妊娠期間13日間（妊娠6～18日、1989年9月4日～1989年9月16日）

投与方法： 検体を1%メチルセルローズ溶液に懸濁し、0、7.5、15及び30 mg/kg/日の投与量で妊娠6～18日までの13日間、毎日1回強制経口投与した（交尾確認日を妊娠0日とした）。

なお、対照群には1%メチルセルローズ溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠；

試験項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠1、6、8、10、14、19、23及び29日に体重を測定した。摂餌量を各体重測定日に測定した。妊娠29日に屠殺し、肉眼的病理検査後、肝臓及び腎臓の重量を測定した。肉眼的異常組織を保存した。続いて、卵巣及び子宮について次の項目を検査した。

黄体数、生存胎児数及び着床部位、胚/胎児死亡数及び着床部位

生存胎児；性別、体重、外表及び内臓異常を検査した。また、内臓を除去し、メタノールで固定後、透明化处理及び染色（Dawsonの変法）を行い、骨格異常の有無を検査した。

(催奇形性)

試験結果： 結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		0	7.5	15	30	
一群当たり雌動物数		16	16	16	16	
一般症状		検体投与による影響なし				
死亡数		0	1 ^a	1 ^a	1 ^a	
妊娠動物数		13	15	16	15	
流産した動物数		0	0	1	0	
妊娠29日生存数		13	14	14	14	
親動物	摂餌量 (g/匹/日)	妊娠1~5日	164	160	160	174
		妊娠6~7日	145	151	142	138
		妊娠8~9日	150	148	153	138
		妊娠10~13日	146	148	154	144
		妊娠14~18日	143	146	149	137
		妊娠19~22日	153	156	144	158
		妊娠23~28日	132	139	151	154
体重増加量 (g) ¹⁾	妊娠6~14日	93	111	103	76	
	妊娠6~19日	158	151	150	106	
肉眼的病理検査		検体投与による影響なし				
臓器重量		検体投与による影響なし				
着床所見	検査親動物数		13	14	14	14
	黄体数		11.3	11.4	10.3	11.6
	着床数		9.2	10.0	8.6	9.2
	生存胎児数		8.2	8.2	7.4	8.4
	初期胚死亡数		0.7	0.8	0.7	0.5
	後期胚死亡数		0.4	1.0	0.5	0.4
胎児動物	体重 (g)		44.7	44.3	46.1	44.8
	性比 (雄%)	腹 ²⁾	39.0	48.0	47.5	46.6
		群 ³⁾	42.5	47.6	47.1	47.0
	検査胎児数		106	115	104	117
	奇形発生率 (%) +		3.7	3.9	3.6	2.7
			心室中隔欠損、胸腰部側彎症、頭蓋披裂症、短尾、上行大動脈・動脈弓弛緩、左後肢指欠損、食道後右鎖骨下動脈異常等			
	検査胎児数		103	110	100	114
	肉眼的異常、内臓異常 (%) +		10.9	9.5	3.9	2.7
			卵巣嚢胞、大動脈弓からの動脈起始部の変動、肝分葉異常、肝嚢胞、腰椎/仙椎部の背面、虹彩出血、無気肺等			
	検査胎児数		103	110	100	114
骨格異常 (%) +		19.0	13.5	31.0	15.2	
		縫合骨、椎骨の椎体/椎弓の不完全骨化、片側/両側頬骨の上顎骨への接合、胸骨分節癒合、頭頂骨形態異常、頭頂間骨二分骨化、頸肋、肋骨分岐、肋骨形態異常等				

a: 投与ミスによる死亡

1) Williams' test (P > 0.05) で有意差なし、2) 腹毎における雄比の平均、3) 群全体における雄比 [申請者による計算]

着床所見、胎児動物の体重及び性比は、Kruskal-Wallis test又はJonckheere testを用いて統計検査を行った (有意差なし)。

+ : 対照群に比べ全投与群共に発生頻度が低いか、あるいは投与量との間に一貫性がないことから投与による影響は明らかではないと判断された。

(催奇形性)

親動物； 臨床症状において投与に関連があると考えられる徴候は認められなかった。試験期間中、死亡が各群に1例ずつ認められたが、いずれの場合も投与ミスによる死亡と判断された。

投与期間中の摂餌量は、対照群と比べると30 mg/kg/日投与群でやや減少したが、投与前後では、対照群よりやや増加した。7.5及び15 mg/kg/日投与群では投与による影響は認められなかった。

30 mg/kg/日投与群において、投与終了時に軽微な体重増加抑制がみられた。

肉眼的病理検査及び臓器重量では、投与による影響は認められなかった。

着床所見としての黄体数、生存胎児数、初期及び後期吸収胚数に有意な差は認められず、投与による影響はないものと考えられた。

胎児動物； 胎児体重及び性比は全群で同等であった。

奇形の発生率及び種類において投与の影響と考えられる所見は認められなかった。自然発生的に認められた奇形は、心室中隔欠損、胸腰部側彎症、頭蓋披裂症及び短尾等であった。

肉眼的異常及び内臓異常として、卵巣嚢胞、肝嚢胞及び無気肺等がみられたが、各投与群における個々の変異の出現率と投与量との間に一定の関係が認められないことから、いずれも偶発的な所見と考えられた。

骨格変異としては、椎骨の椎体/椎弓の不完全骨化、肋骨形態異常、頭頂骨形態異常、頸肋、肋骨分岐及び縫合骨等がみられたが、各投与群における個々の変異の出現率と投与量との間に一定の関係が認められないことから、いずれも偶発的な所見と考えられた。

以上の結果から、テトラコナゾールを妊娠6～18日に投与した場合、30 mg/kg/日投与群の親動物において摂餌量の減少及び体重増加抑制がみられたことから無影響量は、15 mg/kg/日であった。胎児における無影響量は30 mg/kg/日と判断された。また、最高投与量である30mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性はないと考えられる。

(変異原性)

(13) 変異原性

① 遺伝子突然変異原性

細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No. MU-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体純度： %

試験方法： ヒスチジン要求株のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535 及び TA1537) 及びトリプトファン要求株の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 uvrA を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の非存在下及び存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検討した。

検体を DMSO に溶解し、S9 mix 非存在下及び存在下いずれの場合も、25、50、100、200、400 及び 800 μ g/プレートの濃度で処理した。また両試験共、第 2 回目の試験で 18.8、37.5、75、150、300 及び 600 μ g/プレートの濃度で処理した。なお、試験は 3 連制で行った。

用量設定試験：

結 果： 結果を次表に示す。

第 1 回試験では S9 mix の非存在下及び存在下に関わらず、陰性対照群で得られた数値に比較してほぼ同等であり、変異原性を示す証拠は認められなかった。400 μ g/プレート以上の濃度では、いずれの菌株においても生育抑制がみられた。

高濃度で生育抑制が認められたため、より低濃度での変異原性を確かめるため第 2 回試験を実施した。第 1 回試験の場合と同様、S9 mix の存在下及び非存在下に関わらず、陰性対照群で得られた数値に比較してほぼ同等であり、変異原性を示す証拠は認められなかった。

一方、陽性対照群では S9 mix の非存在下及び存在下いずれの場合も、陰性対照群に比べ著しく復帰変異コロニー数/プレートが増加した。

以上の結果から、本試験条件下におけるテトラコナゾールは、変異原性を有さ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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

1) 第1回試験

(数値はn=3 平均値)

被験物質	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537	
陰性対照 (DMSO)	(100 μL)	—	87	14	12	18	15	
検体	25	—	100	10	8	22	10	
	50	—	99	12	5	17	12	
	100	—	83	9	8	21	7	
	200	—	88	7	9	19	3	
	400	—	103	10	8	22	2	
	800	—	54	9	10	0	0	
陽性対照	MMS	200	—	326				
	ENNG	5	—		834			
	ENNG	2	—			247		
	2-NF	1	—				165	
	9-AA	80	—					805
陰性対照 (DMSO)	(100 μL)	+	109	11	11	34	11	
検体	25	+	117	12	12	33	16	
	50	+	113	6	20	28	17	
	100	+	114	11	16	32	14	
	200	+	107	7	10	24	16	
	400	+	87	5	10	35	13	
	800	+	94	8	9	31	6	
陽性対照	2AAN	0.5	+	756				
		2	+		140			
		20	+			459		
		0.5	+				358	
		2	+					74

MMS : メタンサルホン酸メチル、ENNG : N-エチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン
 2-NF : 2-ニトロフルオレン、9-AA : 9-アミノアクリジン、2AAN : 2-アミノアントラセン
 空欄 : 試験を実施せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

2) 第2回試験

(数値はn=3 平均値)

被験物質	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA 100	TA1535	WP2 uvrA	TA 98	TA1537	
陰性対照 (DMSO)	(100 μL)	—	72	14	9	20	17	
検 体	18.8	—	84	13	14	23	12	
	37.5	—	81	19	10	20	13	
	75	—	88	17	11	19	13	
	150	—	78	13	11	20	12	
	300	—	78	10	10	19	2	
	600	—	77	9	9	25	0	
陽性対照	MMS	200	—	262				
	ENNG	5	—		429			
	ENNG	2	—			177		
	2-NF	1	—				144	
	9-AA	80	—					712
陰性対照 (DMSO)	(100 μL)	+	97	16	14	43	18	
検 体	18.8	+	109	18	17	43	20	
	37.5	+	100	18	15	39	16	
	75	+	96	12	17	41	12	
	150	+	109	15	13	40	20	
	300	+	98	15	16	37	23	
	600	+	91	17	15	34	9	
陽性対照	2AAN	0.5	+	210				
		2	+		87			
		20	+			493		
		0.5	+				285	
		2	+					96

MMS : メタンサルホン酸メチル、ENNG : N-エチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン
 2-NF : 2-ニトロフルオレン、9-AA : 9-アミノアクリジン、2AAN : 2-アミノアントラセン
 空欄 : 試験を実施せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

② DNA 損傷誘発性

細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No. MU-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体純度： %

試験方法： 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復能保持株 (H-17、 rec^+) 及び欠損株 (M-45、 rec^-) を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝系 (S9 mix) の非存在下及び存在下における DNA 損傷の誘発性を調べた。

検体を DMSO に溶解し、S9 mix 非存在下の場合には 31.3、62.5、125、250、500 及び 1,000 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ 、S9 mix 存在下の場合では 125、250、500、1,000、2,000 及び 4,000 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ の濃度で暴露した。試験は 2 連制で実施した。

なお、回帰分析により最小生育阻止濃度 (MIC_{rec^+} 及び MIC_{rec^-}) を求め、DNA 障害度 (MIC_{rec^+}/MIC_{rec^-}) を算出し、DNA 障害度が 2 以上の場合に陽性と判断した。

用量設定試験；

結 果： 結果を次表に示した。

S9 mix 非存在下及び存在下いずれの場合も、両菌株に対して生育阻害が認められたが、DNA 障害度は 2 未満であった。

溶媒対照の DMSO はいずれの菌株においても生育阻害を示さず、陰性対照物質のカナマイシンは両菌株で同程度の生育阻害を示した。

また、陽性対照物質の AF-2 及び 2-AA は、M-45 株に対してのみ生育阻害を示した。

以上から、本条件において本剤は DNA 損傷を誘発しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

被験物質	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	S9 mixの 有無	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)	0	—	0	0	0
検体	31.3	—	0	0	0
	62.5	—	0	0	0
	125	—	0.5	0.5	0
	250	—	1.25	1.0	0.25
	500	—	1.5	1.5	0
	1,000	—	1.5	1.5	0
陰性対照 (KM)	10	—	5.0	5.0	0
陽性対照 (AF-2)	0.001	—	3.0	0	3.0
溶媒対照 (DMSO)	0	+	0	0	0
検体	125	+	0	0	0
	250	+	0.5	0.25	0.25
	500	+	1.0	1.0	0
	1,000	+	1.5	1.0	0.5
	2,000	+	1.5	1.0	0.5
	4,000	+	1.5	1.25	0.25
陽性対照 (2-AA)	5	+	4.0	0	4.0

KM : カナマイシン硫酸塩

AF-2 : 2- (2-フリル) -3- (5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド

2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

③ 染色体異常誘発性

チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験

(資料 No. MU-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1989年

検体純度： %

試験方法： チャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞 (CHO) を用いて、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の非存在下及び存在下において、染色体異常誘発性を検討した。

S9 mix 非存在下における濃度を次の通り。

(1) 6時間処理；15.6、31.3 及び 62.5 µg/mL

(2) 24時間処理；7.8、15.6 及び 31.3 µg/mL

(3) 48時間処理；5、10 及び 15 µg/mL

S9 mix 存在下における濃度を次の通り。

(1) 6時間処理；3.9、7.8 及び 15.6 µg/mL

各試験は2連で行い、1濃度当たり200個の分裂中期像について観察した(但し、溶媒対照の場合は400個とした)。なお同様にして倍数性細胞についても観察した。

用量設定試験；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

結 果： 結果を次表に示す。

S9 mix 非存在下の場合には、培養後 6 時間の検体濃度 31.3 µg/mL において染色体異常細胞数が有意に増加した。しかしその他の群においては染色体異常細胞数の増加はみられず濃度との相関はなかった。倍数性細胞出現に有意な増加は認められなかった。

S9 mix 存在下の場合には、検体各濃度において染色体異常及び倍数性細胞出現ともに有意な増加は認められなかった。

各陽性対照群では染色体異常を有する細胞数あるいは倍数性細胞出現の有意な増加が認められた。

以上の結果から、テトラコナゾールは *in vitro* において染色体異常誘発能はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

検体	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理後時間	観察細胞数	S9 mixの有無	染色体異常発生頻度										染色体異常を有する細胞数			倍数性細胞出現			
					BWF	BF	I	SM	R	A	GT	P	ISO	CHR	ギャップを除く	平均(%)	ギャップを含む	平均(%)	細胞数	出現率(%)	
溶媒対照 (DMSO)	10 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	6	400	+	4		6	3	2	8				1	5	15	3.75	15	3.75	4	1.0
検体 (テトラコナゾール)	3.9	6	200	+	1		2	5		1						8	4.0	8	4.0	3	1.5
	7.8	6	200	+	3		2	1								3	1.5	3	1.5	5	2.5
	15.6	6	200	+			1									1	0.5	1	0.5	2	1.5
陽性対照 (シクロホスファミド)	20	6	76	+	4		1	12	5	20	5	5			26	34.2***	26	34.2***			
溶媒対照 (DMSO)	10 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	6	400	-				2		4				1	6	1.5	7	1.75	19	4.75	
検体 (テトラコナゾール)	15.6	6	200	-	2			3		2					5	2.5	5	2.5	12	6.0	
	31.3	6	200	-	2			2		4			2	7	3.5	9	4.5*	8	4.0		
	62.5	6	200	-	1									1	0.5	3	1.5	5	2.5		
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.4	6	200	-	75	1	34	26	4	41	10	1		7	111	55.5***	111	55.5***	43*	21.5*** ^a	
溶媒対照 (DMSO)	10 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	24	400	-	1			2	1	2				1	6	1.5	7	1.75	8	2.0	
検体 (テトラコナゾール)	7.8	24	200	-											0	0.0	0	0.0	2	1.0	
	15.6	24	200	-			1	3	1						5	2.5	5	2.5	7	3.5	
	31.3	24	200	-			1							1	0.5	1	0.5	5	2.5		
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.4	24	200	-	33		13	22	1	35	3			4	44	22.0***	44	22.0***	157 ^b	78.5*** ^b	
溶媒対照 (DMSO)	10 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	48	400	-	1				1	5				2	7	1.75	8	2.0	5	1.25	
検体 (テトラコナゾール)	5	48	200	-						3					2	1.0	2	1.0	0	0.0	
	10	48	200	-				1		1				3	2	1.0	5	2.5	3	1.5	
	15	48	200	-	2					1				3	3	1.5	6	3.0	1	0.5	
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.1	48	200	-	34	1	29	14	4	59	14	3		3	70	35.0***	70	35.0***	179 ^b	89.5*** ^b	

注 a: 陽性対照としてカルベンダジム 12.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$

b: 陽性対照としてカルベンダジム 6.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$

* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ (Fisher's test)

BWF: 染色体体切断 (断片を有する)

I: 内部交換

R: 環状化

GT: 10以上の異常を有する染色体

ISO: 同位染色体型ギャップ

BF: 染色体体切断 (断片なし)

SM: 微小染色体断片

A: 無動原体染色体断片

P: 細粉化

CHR: 染色体型ギャップ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

④ マウスを用いた小核試験

(資料 No. MU-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体純度： %

試験動物： CD-1 系マウス、約 5 週齢、体重範囲 22～24 g
一群雌雄各 15 匹（陽性対照群では雌雄各 5 匹）

試験方法： 1%メチルセルロースに検体を溶解し、185、370 及び 740 mg/kg を強制経口投与した。また溶媒対照群及び陽性対照群（マイトマイシン C、12 mg/kg）を設けた。溶媒対照群及び検体投与群の雌雄各 5 匹を投与後 24、48 及び 72 時間に屠殺した。なお、陽性対照群の場合は投与後 24 時間に屠殺した。各動物を屠殺後、大腿骨を摘出して周囲の組織を除去し、骨端を切断し塗沫標本を作製した。ギムザ染色後、鏡検して多染性赤血球 1,000 個当たりの小核を有する細胞の出現頻度を求めた。

投与量設定根拠：

結 果： 結果を次表に示す。

いずれの骨髄採取時期においても、検体投与群では小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加は認められなかった。48 及び 72 時間の骨髄採取時期での正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合が、投与量の増加に伴って低下した。

陽性対照であるマイトマイシン C は、小核を有する多染性赤血球の出現頻度を有意に増加させ、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合を有意に減少させた。

以上より、テトラコナゾールはマウスを用いた小核試験において変異原性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

被験物質	骨髓採取時期	投与量 (mg/kg)	正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合	小核を有する多染性赤血球の発生頻度 (個)	小核を有する正染性赤血球の発生頻度 (個)
溶媒対照	24時間	0	0.880	0.6	0.0
検 体		185	1.002	0.8	0.2
		370	0.869	0.6	0.2
		740	0.912	0.7	0.4
陽性対照 (マイトマイシン)		12	0.462*	51.8***	0.3
溶媒対照	48時間	0	1.286	1.0	0.2
検 体		185	0.994	1.3	0.0
		370	0.705	0.4	0.6
		740	0.639	0.9	0.3
溶媒対照		72時間	0	1.276	0.9
検 体	185		1.213	1.1	0.8
	370		1.091	0.9	0.2
	740		0.703	0.9	0.2

* : $p < 0.05$ 、*** : $p < 0.001$ (Wilcoxon's sum of ranks test)

小核を有する正染性及び多染性赤血球の発生頻度は、各赤血球 1,000 個当たりを示す。

(変異原性)

⑤ ヒト培養細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (資料 No. MU-5)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1989 年

検体純度 : %

試験方法 : ヒト子宮頸癌由来の類上皮細胞 (HeLa S3 細胞) を用い、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、以下の通り独立した 2 回の試験を行った。

各試験群について、Martin らの方法により 2 mL の細胞培養液を調製した。カバースリップに付着させた細胞は、正常な複製 DNA 合成を抑制するためアルギニン欠乏培地中で 37°C、72 時間培養後、(³H)-チミジン (³HTdR) を添加した。その後代謝活性化系を要する試験群にはラット肝から調製した S9 mix を添加し、最後に DMSO に溶解した検体を暴露して 37°C で 3 時間培養した。培養後、細胞を洗浄してエタノール/酢酸 (3/1, v/v) で固定し、放射能標識した HeLa S3 細胞のオートラジオグラフを作製した。

評価は 1 培養当たり S 期以外の 100 個の細胞を観察し、それぞれの細胞について核内銀粒子数、細胞質内銀粒子数を計測し、正味銀粒子数 (核内銀粒子数 - 細胞質内銀粒子数) を算出した。更に、3 個以上の正味銀粒子数を示す細胞の割合を算出し、パーセントで表示した。

陽性対照群には、S9 mix の非存在下では 0.02~0.32 µg/mL の範囲で 5 濃度の 4-ニトロキノリン-1-オキシド (4NQO)、S9 mix の存在下では 2.5~40 µg/mL の範囲で 5 濃度の 2-アミノアントラセン (2AAN) を DMSO に溶解して用いた。

検体投与群で、対照群と比較して正味銀粒子数に濃度に関連した増加が認められ、かつ再現性が認められる場合に陽性と判断した。

用量設定根拠 :

結 果 : オートラジオグラフ標本の観察結果を表 1 及び 2 に示した。

最高用量から 3 ないし 4 濃度の範囲で細胞毒性が認められ、細胞はカバースリップから剥離し、S 期合成による ³HTdR の取込みが阻害された。重度に阻害された S 期細胞は修復細胞と類似する可能性があるため、不定期 DNA 合成についての評価は行わなかった。

1 回目の試験において、S9 mix 非存在下の最低用量 (0.25 µg/mL) で、溶媒対照と比較し僅かではあるが、統計学的に有意な核内銀粒子数及び正味銀粒子数の増加が認められた。しかしながら、その他の濃度の試験群では、溶媒対照と比較して核内銀粒子数及び正味銀粒子数に有意な増加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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(変異原性)

また、2回目の試験では、S9 mix 非存在下の 32 µg/mL で正味銀粒子数に孤立した非常に僅かな統計学的有意性が認められたが、いずれも再現性はなく、偶発的な変数と考えられた。S9 mix の存在下では、いずれの濃度においても核内銀粒子数及び正味銀粒子数に有意な増加は認められなかった。4NQO 及び 2AAN を用いた陽性対照群ではいずれの試験においても、溶媒対照と比較して核内総銀粒子数及び正味銀粒子数に顕著な増加がみられた。

以上の結果から本試験条件下において、テトラコナゾールは不定期 DNA 合成を誘発しないと結論される。

(変異原性)

表 1. 不定期 DNA 合成試験結果 (1 回目試験)

S-9 mix の有無	薬物	濃度 (µg/mL)	核内銀粒子数 /100 細胞			細胞質内銀粒子数 /100 細胞		正味銀粒子数 /100 細胞			核内正味銀粒子数 >3 個の細胞の割合 (%)			
			X ¹	X ²	平均	X ¹	X ²	X ¹	X ²	平均	X ¹	X ²	平均	
(一)	陰性対照 (DMSO)	0	129	118	145	140	108	-11	10	-5	1	0	1.3	
			129	161		149	171	-20	-10		1	1		
			147	98		156	126	-9	-28		2	0		
			177	186		147	197	30	-11		3	0		
			174	159		188	164	-14	-5		3	2		
			139	124		127	132	12	-8		0	2		
	検体	0.25	257	165	211**	204	173	53	-8	23*	8	1	4.5	
		0.5	154	145	150	208	155	-54	-10	-32	1	0	0.5	
		1	129	175	152	129	184	0	-9	-4	2	1	1.5	
		2	116	112	114	156	125	-40	-13	-26	0	1	0.5	
		4	135	150	143	139	172	-4	-22	-13	0	2	1	
		8	126	109	118	132	82	-6	27	11	1	0	0.5	
		16	127	135	131	111	121	16	14	15	2	0	1	
		32	99	65c	82	69	94	30	-29	1	0	0	0	
		64	b	68c	68	—	94	—	-26	-26	—	0	0	0
		128	b	a,d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		256	a,d	a,d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		512	a,d	a,d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	陽性対照 (4NQO)	0.02	2352	2683	2518***	80	113	2272	2570	2421***	100	100	100	
		0.04	3430	4026	3728***	130	101	3300	3925	3613***	100	100	100	
0.08		4981	6361	5671***	139	260	4843	6101	5472***	100	100	100		
0.16		3474	4035	3755***	70	96	3404	3939	3672***	100	100	100		
0.32		3304	1822	2563***	135	65	3169	1757	2463***	100	100	100		
(二)	陰性対照 (DMSO)	0	144	110	116	159	96	-15	14	-16	4	1	1.4	
			95	87		119	98	-24	-11		0	0		
			80	157		103	138	-23	19		0	0		
			100	86		120	120	-20	-34		0	2		
			137	164		149	200	-12	-36		1	6		
			118	117		152	130	-34	-13		2	1		
	検体	0.25	155	111	133	156	128	-1	-17	-9	0	1	0.5	
		0.5	86	106	96	80	128	6	-22	-8	0	0	0	
		1	107	109	108	112	128	-5	-19	-12	0	1	0.5	
		2	98	153	126	129	146	-31	7	-12	0	0	0	
		4	50	84	67	71	105	-21	-21	-21	0	0	0	
		8	99	80	90	84	106	15	-26	-5	1	0	0.5	
		16	101	48	75	92	100	9	-52	-21	0	0	0	
		32	61	92	77	99	88	-38	4	-17	0	1	0.5	
		64	52c	66c	59	42	58	10	8	9	0	0	0	
		128	d	d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		256	b	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		512	a,d	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	陽性対照 (2AAN)	2.5	89	127	108	121	121	-32	6	-13	0	2	1	
		5	213	137	175*	143	86	70	51	61***	9	0	4.5	
10		186	310	248***	96	196	90	114	102***	6	10	8		
20		245	231	238***	124	93	121	138	130***	17	8	12.5		
40		185	309	247***	99	130	86	179	133***	8	12	10		

一元配置分散分析 ***p < 0.001, **p < 0.01, *p < 0.05

4NQO : 4-ニトロキノリン-1-オキシド

2AAN : 2-アミノアントラセン

a : 多数の細胞がカバースリップから剥離

b : ほぼ全ての細胞がカバースリップから剥離

c : 顕著な S 期 ³HTdR の取込み阻害

d : 重度の S 期 ³HTdR の取込み阻害

(変異原性)

表 2. DNA 修復合成試験結果 (2 回目試験)

S-9 mix の有無	薬物	濃度 (µg/mL)	核内銀粒子数 /100 細胞			細胞質内銀粒子数 /100 細胞		正味銀粒子数 /100 細胞			核内正味銀粒子数>3 個の細胞の割合(%)		
			X ¹	X ²	平均	X ¹	X ²	X ¹	X ²	平均	X ¹	X ²	平均
(-)	陰性対照 (DMSO)	0	161	129	148	183	110	-22	19	-7	1	0	1.2
			195	119		180	115	15	4		2	3	
			113	134		134	131	-21	3		1	0	
			148	FUSD		179	—	-31	—		1	—	
			154	158		162	177	-8	-19		2	0	
			185	127		212	118	-27	9		2	1	
	検体	0.25	109	109	109	125	110	-16	-1	-8	0	1	0.5
		0.5	91	117	104	108	121	-17	-4	-10	0	0	0
		1	129	99	114	154	111	-25	-12	-18	0	1	0.5
		2	84	FUSD	84	103	—	-19	—	-19	0	—	0
		4	195	99	147	168	114	27	-15	6	2	0	1
		8	101	hbg	101	100	—	1	—	1	0	—	0
		16	106	80	93	109	62	-3	18	8	0	1	0.5
		32	134	91	113	102	77	32	14	23*	1	0	0.5
		64	35c	68c	52	45	78	-10	-10	-10	0	0	0
		128	b	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		256	a,d	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		512	a,d	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	陽性対照 (4NQO)	0.02	705	874	790***	169	138	536	736	636***	79	74	76.5
		0.04	1841	1675	1758***	141	146	1700	1529	1615***	95	96	95.5
0.08		2196	2729	2463***	174	152	2022	2577	2300***	100	100	100	
0.16		3322	3774	3548***	78	178	3244	3596	3420***	100	100	100	
0.32		4070	3924	3997***	148	117	3922	3807	3865***	100	100	100	
(+)	陰性対照 (DMSO)	0	163	139	145	146	107	17	32	-1	0	2	0.8
			103	149		125	152	-22	-3		0	1	
			98	203		70	211	28	-8		0	0	
			151	163		181	168	-30	-8		1	1	
			172	158		196	119	-24	39		0	4	
			125	116		143	129	-18	-13		0	1	
	検体	0.25	130	138	134	91	142	39	-4	18	0	1	0.5
		0.5	132	159	146	140	188	-8	-29	-18	1	0	0.5
		1	166	103	135	143	98	23	5	14	3	1	2
		2	185	181	183	161	204	24	-23	1	2	1	1.5
		4	109	122	116	139	115	-30	7	-11	0	1	0.5
		8	186	163	175	164	191	22	-28	-3	0	0	0
		16	154	116	135	167	106	-13	10	-1	0	2	1
		32	77	159	118	96	147	-19	12	-3	0	1	0.5
		64	110	99c	105	102	120	8	-21	-6	0	0	0
		128	84c	47c	66	105	51	-21	-4	-12	0	0	0
		256	b	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		512	a,d	b	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	陽性対照 (2AAN)	2.5	369	454	412***	152	243	217	211	214***	13	14	13.5
		5	575	471	523***	200	176	375	295	335***	39	27	33
10		431	440	436***	155	126	276	314	295***	28	30	29	
20		462	383	423***	92	137	370	246	308***	21	20	20.5	
40		d	488	488***	—	211	—	277	277***	—	19	19	

一元配置分散分析 ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05
 4NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド、2AAN: 2-アミノアントラセン
 a: 多数の細胞がカバースリップから剥離
 b: ほぼ全ての細胞がカバースリップから剥離
 c: 顕著な S 期 ³HTdR の取込み阻害
 d: 重度の S 期 ³HTdR の取込み阻害
 hbg: 高い背景銀粒子数により計測不能
 FUSD: オートラジオグラフの技術ミスにより計測不能

(生態機能影響)

(14) 生体の機能に及ぼす影響

① テトラコナゾールにおける薬理試験

(資料 No. PH-1)

試験機関：

報告書作成年：1994年

検体純度： %

1) マウスにおける中枢神経系に及ぼす影響

1-1) 一般症状に及ぼす影響

試験動物： ICR系マウス、5週齢、体重雄 26.7～31.2 g、一群雄3匹

試験方法： 検体を0.5%トラガカント水溶液で調製して、0、100、300、1,000及び3,000 mg/kgで強制経口投与した。

投与0.5、1、2、4、6、8、10及び24時間にIrwinの多次元観察法に準じて観察した。また投与後2、3、4及び7日に一般症状及び死亡の有無を観察した。

試験結果： 3,000 mg/kg投与群では、認知力、運動性、運動協調性及び筋緊張の低下、散瞳、体温低下、同側屈筋反射の低下が投与後30分～1時間にみられ、投与後2時間から横臥、投与後4時間から眼瞼裂の狭小化がみられた。これらの症状は投与後2～4時間にほぼピークに達し、投与後1日に2例死亡し、投与後2日に残る1例が死亡した。

1,000 mg/kg投与群では、3,000 mg/kg投与群でみられた症状が投与後1時間からみられ、4時間後にピークに達した。投与後2日に1例が死亡したが、生存した2例では投与後2日に全ての症状が回復した。

300 mg/kg投与群では投与後2～4時間に軽度の自発運動の低下がみられたが、投与後6時間には回復した。

100 mg/kg投与群には投与によるものと考えられる異常は認められなかった。

1-2) 睡眠時間に及ぼす影響

試験動物： ICR系マウス、5週齢、体重雄 26.0～31.5 g、一群雄8匹

試験方法： 検体を0.5%トラガカント水溶液で調製し、0、100、300及び1,000 mg/kgで強制経口投与した。なお、追加試験として同様に0、3、10及び30 mg/kgを同様に投与した。

検体投与後4時間にヘキサバルビタール80 mg/kgを腹腔内投与し、正向反射消失から回復までの時間を睡眠時間として測定した。

(生態機能影響)

試験結果： 10 mg/kg 投与群以上では投与量に依存して有意な睡眠時間の延長がみられた。特に 1,000 mg/kg 投与群ではヘキサバルビタール投与後 2 時間でも 8 例中 7 例で正向反射が回復しなかった。3 mg/kg 投与群では睡眠時間に及ぼす影響は認められなかった。

1-3) 痙攣誘発作用

試験動物： ICR 系マウス、5 週齢、体重 雄 26.0～31.5 g、一群雄 10 匹

試験方法： 検体を 0.5%トラガカント水溶液で調製し、0、3、30 及び 300 mg/kg で強制経口投与した。

検体投与後 4 時間に電撃痙攣装置を用いて、角膜に痙攣誘発閾値よりやや低い電気刺激を与え、強直性屈曲、強直性進展及び間代性の各痙攣並びに昏睡の発現有無を観察した。

陽性対照群には、電気刺激を与える 15 分前にペンチレンテトラゾール 40 mg/kg を皮下投与した。

試験結果： 検体のいずれの投与量においても、電気刺激による痙攣を誘発しなかった。一方、陽性対照群では強直性屈曲、強直性進展及び間代性の各痙攣並びに昏睡が発現し、痙攣誘発作用が認められた。

1-4) 体温に及ぼす影響

試験動物： Wistar 系ラット、5 週齢、体重 141～167 g、一群雄 6 匹

試験方法： 検体を 0.5%トラガカント水溶液で調製し、0、30 及び 300 mg/kg で強制経口投与した。体温測定は検体投与前及び投与後 0.5、1、2、4、6 及び 24 時間に直腸温を測定した。

試験結果： いずれの投与量においても体温に対する影響は認められなかった。

2) 循環系に及ぼす影響

無麻酔ラットの血圧及び心拍数に及ぼす影響

試験動物： Wistar 系ラット、7 週齢、体重 211～235 g、一群雄 6 匹

試験方法： 検体を 0.5%トラガカント水溶液で調製し、0、3、30 及び 300 mg/kg で強制経口投与した。

検体投与前及び投与後 1、2、4、6、24 及び 48 時間に無麻酔状態で収縮期血圧及び心拍数を測定した。

試験結果： 血圧に対して検体投与における影響は認められなかった。

心拍数に 300 mg/kg 投与群で投与後 4、6 及び 24 時間に各々 8、5 及び 7% の減少がみられ、投与後 4 及び 24 時間では有意であった。しかし 30 mg/kg 以下の投与群では影響は認められなかった。

(生態機能影響)

3) 自律神経系に及ぼす影響

3-1) 摘出輸精管に及ぼす影響

試験動物： Wistar 系ラット、8 週齢、体重 278～290 g、一群雄 4 匹

試験方法： 検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、所定濃度の溶液を調製した。検体を 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mL の 4 濃度を低濃度溶液から累積的に処理した。ラットを放血致死させ、輸精管を摘出して通気したマグナス装置に懸垂した。収縮張力として一定の静止張力を負荷した。経壁電気刺激により収縮させた。収縮反応が安定した後、検体を処理して収縮反応に及ぼす影響を検討した。

試験結果： 10^{-5} g/mL を処理した場合、収縮反応を軽度に増強した。 10^{-4} g/mL の場合には収縮反応を一過性に抑制したが、その後増強した。

10^{-6} g/mL 以下の濃度を処理した場合には影響は認められなかった。

3-2) 摘出回腸に及ぼす影響

試験動物： Hartley 系モルモット、10 週齢、体重 538～672 g、一群雄 4 匹

試験方法： 検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、所定濃度の溶液を調製した。検体を 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mL の 4 濃度を各収縮薬処理前約 5 分に処理した。低濃度溶液から累積的に処理した。モルモットを放血致死させ、回腸を摘出し通気下マグナス槽に懸垂した。収縮張力として一定の静止張力を負荷した。

収縮薬としてアセチルコリン (Ach)、ヒスタミン (His) 及び塩化バリウム (BaCl_2) を用いた。

試験結果： 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mL を処理した場合、各収縮薬による反応を有意に抑制し、特に Ach、His 及び BaCl_2 による収縮反応に対して検体 10^{-4} g/mL においてそれらの抑制率は、各々 55.6、76.8 及び 60.3%と顕著であった。

10^{-6} g/mL 以下の濃度を処理した場合にはいずれの場合に対しても影響は認められなかった。

(生態機能影響)

4) 消化器系に及ぼす影響

腸管輸送能に及ぼす影響

試験動物： ICR 系マウス、5 週齢、体重 22.7~28.9 g、一群雄 8 匹

試験方法： 検体を 0.5%トラガント水溶液に懸濁し、0、3、30 及び 300 mg/kg を強制経口投与した。

一晩絶食したマウスを用い、検体投与後 4 時間に 5%アラビアゴム水溶液に懸濁させた 5%活性炭末を 0.2 mL/匹を経口投与し、その 30 分後に頸椎脱臼により致死させて消化管を摘出した。十二指腸起始部から炭末到達先端での長さを測定し、消長全長に対する末端最先端部の移行率 (%) を腸管輸送能とした。

試験結果： いずれの投与群においても腸管輸送能に対する影響は認められなかった。

5) 骨格筋に及ぼす影響

横隔膜神経筋標本に及ぼす影響

試験動物： Wistar 系ラット、7~9 週齢、体重 237~305 g、一群雄 4 匹

試験方法： 検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、所定濃度の溶液を調製した。検体を 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mL の 4 濃度を低濃度溶液から累積的に処理した。Buelbring の方法に準じて横隔膜神経筋を摘出し、マグナス装置に懸垂した。収縮張力として一定の静止張力を負荷した。電気刺激装置を用いて神経及び筋肉を交互に収縮させた。張力が安定した後、神経及び筋の電気刺激による収縮に対する影響を検討した。

試験結果： 10^{-4} g/mL を処理した場合、神経刺激による収縮がほぼ完全に抑制された。筋直接刺激による収縮も半分程度抑制された。 10^{-5} g/mL 以下の処理では神経及び筋直接刺激による収縮に対する影響は認められなかった。

(生態機能影響)

6) 血液に及ぼす影響

6-1) 血液凝固に及ぼす影響

試験動物： Wistar 系ラット、5 週齢、体重 130～155 g、一群雄 6 匹

試験方法： 検体を 0.5%トラガント水溶液に懸濁し、0、3、30 及び 300 mg/kg を強制経口投与した。

投与後 4 時間にペントバルビタール麻酔下で後大静脈から採血した。凝固剤としてクエン酸を用いた。血液を遠沈して血漿を分離し、これにトロンボプラスチン C を添加してプロトロンビン時間 (PT) を測定した。パトロンチン及び塩化カルシウムを添加して活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定した。

試験結果： いずれの投与群においても PT 及び APTT に対する影響は認められなかった。

6-2) 溶血作用

試験動物： 日本白色種ウサギ、12 週齢、体重 2.60～2.75 g、一群雄 4 匹

試験方法： ウサギから採血後、ヘパリンを加えて遠沈して赤血球を分離した。リン酸緩衝生理食塩水溶液 (pH 7.4) で洗浄後、同生理食塩水溶液で赤血球浮遊液を調製した。

赤血球浮遊液 1 容及びリン酸緩衝生理食塩液 9 容として、更にリン酸緩衝生理食塩水溶液で調製した検体溶液を加えて 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mL の濃度となるように調製した。これを 37°C でインキュベートした。遠沈後、上清を採取して吸光度を測定した。

試験結果： いずれの処理濃度における吸光度も対照群と同様であり、検体による溶血作用は認められなかった。

以上の結果から、テトラコナゾールの経口投与における薬理作用発現量は、睡眠延長に及ぼす影響では 10 mg/kg であったが、その他の試験では 300 mg/kg であった。in vitro 試験での作用発現濃度は 10^{-5} g/mL であった。

(生態機能影響)

テトラコナゾールの「生体機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 供試動物	投与経路/ 処理方法	投与量 (mg/kg)	一 群 あ た り の 供 試 動 物 数	無 作 用 量 (mg/kg)	作 用 量 (mg/kg)	結 果 概 要	
中枢神経系	一般症状 (Irwin法) マウス	経口 (0.5%トラカ [®] カト水 溶液で調製)	0, 100, 300, 1,000, 3,000	雄3匹	100	≥300	300 mg/kg ; 自発運動低下。 ≥1,000 mg/kg ; 認知力、運 動性、運動協調性及び筋緊 張の低下、散瞳、眼瞼裂狭 小、体温低下。 死亡は、1,000 mg/kgで1例 及び3,000 mg/kgでは全例 (投与2日以内)に認めら れた。
	睡眠延長 作用 マウス	経口 (0.5%トラカ [®] カト水 溶液で調製)	0, 3, 10, 30, 100, 300, 1,000	雄8匹	3	≥10	睡眠時間延長
	痙攣誘発 作用電撃 マウス	経口 (0.5%トラカ [®] カト水 溶液で調製)	0, 3, 30, 300	雄10匹	—	—	影響なし
	正常体温 ラット	経口 (0.5%トラカ [®] カト水 溶液で調製)	0, 3, 30, 300	雄6匹	—	—	影響なし
循環系	血圧、 心拍数、 ラット	経口 (0.5%トラカ [®] カト水 溶液で調製)	0, 3, 30, 300	雄6匹	30	300	血圧影響なし 心拍数減少
自律神経系	摘出 輸精管 ラット	<i>in vitro</i> (DMSOで調製)	10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ (g/mL)	雄4匹	10 ⁻⁶ (g/mL)	≥10 ⁻⁴ (g/mL)	10 ⁻⁵ g/mL収縮を増強 10 ⁻⁴ g/mL一過性の軽度抑 制後増強
	摘出回腸 モルモット Ach, Ba ²⁺ Hist	<i>in vitro</i> (DMSOで調製)	10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ (g/mL)	雄4匹	Ach: 10 ⁻⁶ Ba ²⁺ : 10 ⁻⁶ Hist: 10 ⁻⁶ (g/mL)	≥10 ⁻⁴ ≥10 ⁻⁴ ≥10 ⁻⁴ (g/mL)	収縮を抑制 収縮を抑制 収縮を抑制
消化器	腸管 輸送能 マウス	経口 (0.5%トラカ [®] カト水 溶液で調製)	0, 3, 30, 300	雄8匹	—	—	影響なし
骨格筋	横隔膜 神経筋 ラット	<i>in vitro</i> (DMSOで調製)	10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ (g/mL)	雄4匹	10 ⁻⁵ (g/mL)	10 ⁻⁴ (g/mL)	神経刺激による収縮を完 全に抑制、筋直接刺激によ る収縮を約半分程度抑制
血液系	血液凝固 PT、APTT ラット	経口 (0.5%トラカ [®] カト水 溶液で調製)	0, 3, 30, 300	雄6匹	—	—	影響なし
	溶血性 ウサギ	<i>in vitro</i> (リン酸緩衝生理 食塩水で調製)	10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ (g/mL)	雄4匹	—	—	影響なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(解毒)

(15) 解毒及び治療

① 解毒剤の検討

(資料 No. PH-2)

試験機関：

報告書作成年：1995年

検体純度： %

試験動物： ICR系マウス、5週齢、体重範囲 24.6～31 g、一群雄 10匹

試験方法： 一般薬理試験（資料 PH-1）において、モルモットの摘出回腸平滑筋への直接的な抑制及びラットの横隔膜神経筋接合部における節遮断作用並びに筋への直接的な抑制が認められたため、これらに薬理的拮抗作用を有するとされているネオスチグミンについて予備検討を行ったが、解毒効果が得られなかったことから、本試験においては薬理的な拮抗作用を目的とした試験を実施せず、被験物質の消化官からの吸収阻害を目的としたヒマシ油及びケイキサレート（ポリスチレンスルホン酸ナトリウム）、並びに一般的な解毒剤として肝臓の代謝機能促進作用を有するグルタチオンを用いた。

検体を 0.5%トラガント水溶液に懸濁・調製し、投与群には 2,000 mg/kg を強制経口投与した。解毒剤としてのヒマシ油、ケイキサレート及びグルタチオンは、各々 20 mL/kg、2,000 mg/kg 及び 100 mg/kg とした。

ヒマシ油及びケイキサレート投与群では検体投与直後に経口投与し、30分後瀉下薬として硫酸ナトリウム（1,000 mg/kg）を経口投与した。

グルタチオン投与群では検体投与後 1、8時間、更に 1及び 2日に皮下投与した。なお、検体投与前 4時間絶食した。

投与後 1、2、4、6及び 8時間、更に 1、2、3、4及び 7日に検体投与に関連して現れる症状（自発運動の減少、腹這い、横たわり及びうずくまり）及び死亡を観察し、各解毒剤の効果を検討した。

用量設定根拠：

(解毒)

試験結果： 死亡率の推移を次表に示す。

解毒剤	累積的死亡数				
	1日	2日	3日	4日	7日
対照群*	0	1	1	6	7
ヒマシ油	0	3	9	10	10
ケイキサレート	0	3	6	7	10
グルタチオン	0	2	3	4	6

*：テトラコナゾール単独

対照群における死亡は投与後2日に1例観察され、4日では6例及び7日では7例が死亡した。検体の消化管からの吸収阻害及び早期排出を目的としたヒマシ油群では瀉下薬として硫酸ナトリウムをその後投与したが、死亡数をみると投与後2日で3例となり、7日では全例死亡し、対照群に比べ死亡数が増加した。これは期待された瀉下効果が発現されなかったことによると考えられる。また検体を吸着して吸収を阻害、かつ硫酸ナトリウムによる早期排出を目的としたケイキサレート投与群でもヒマシ油投与群と同様期待された効果の発現はみられなかった。肝代謝機能促進作用を有する一般的な解毒剤であるグルタチオン投与群においても対照群と変わらず、解毒効果はみられなかった。

次いで、各群における特徴的臨床症状（自発運動の減少）を示した動物数及び症状の程度の推移を次表に示す。

h：時間、d：日

解毒剤	症状/程度	経時的発現頻度数									
		1h	2h	4h	6h	8h	1d	2d	3d	4d	7d
対照群	(+)	7	6	5	4	5	1	0	0	0	0
	(++)	2	2	1	2	0	1	0	0	0	0
	(+++)	0	1	4	4	5	6	6	6	1	0
	生存数	10	10	10	10	10	10	9	9	4	3
ヒマシ油	(+)	9	6	0	0	0	0	0	0	0	—
	(++)	0	2	3	1	1	0	0	0	0	—
	(+++)	1	2	7	9	9	10	7	1	0	—
	生存数	10	10	10	10	10	10	7	1	0	—
ケイキサレート	(+)	6	3	1	1	0	0	0	0	0	0
	(++)	4	4	4	2	1	0	0	0	0	0
	(+++)	0	3	5	7	9	10	7	4	3	0
	生存数	10	10	10	10	10	10	7	4	3	0
グルタチオン	(+)	7	7	6	4	4	2	0	0	0	0
	(++)	2	2	2	2	3	1	0	0	0	0
	(+++)	0	2	3	4	3	6	4	3	2	0
	生存数	10	10	10	10	10	10	8	7	6	4

(+)：軽度、(++)：中等度、(+++)：重度

(解毒)

臨床症状として自発運動の減少、腹這い、横たわり及びうずくまりが観察された。上表では自発運動の減少を示した動物数及びその症状の程度の経時的推移を示した。

対照群では投与後1時間で症状が発現し、時間と共に症状発現動物数が増加し、その症状の程度が進行した。ヒマシ油及びケイキサレート投与群でも同様に発現し、その程度は対照群に比べ重度の症状を示す動物数が増加した。グルタチオン投与群では症状が発現した動物数及び症状の程度の進行状況は対照群と同様であった。

以上の結果から、選定した解毒剤であるヒマシ油、ケイキサレート及びグルタチオンはテトラコナゾールによって生じる臨床症状及び死亡状況を改善するには至らなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

(16) その他

(資料 No. C-1a)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)
(資料 No. C-1b)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

(資料 No. C-2a)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

(資料 No. C-2b)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)
(資料 No. C-2c)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)
(資料 No. R-1a)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)
(資料 No. R-1b)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

(資料No. R-1c)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

⑦ ラットを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与免疫毒性試験

(資料 No. IM-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2011 年

検体純度： %

供試動物：SD ラット (CrI:CD (SD))、AFC (Splenic Antibody-Forming Cell Assay) 試験群、NK (Natural Killer Cell Function Assay) 試験群ともに一群雄 10 匹

投与開始時週齢：7~8 週齢

投与開始時体重：AFC 試験群 210-259 g、NK 試験群 224-305 g

投与期間：28 日間 (AFC 試験群 2010 年 8 月 16 日~2010 年 9 月 13 日、NK 試験群 2010 年 8 月 18 日~2010 年 9 月 15 日)

投与方法：検体を 0、20、125 及び 1000 ppm の濃度で飼料に混入し、28 日間にわたって随時摂食させた。週 1 回飼料調製を行った。

AFC 試験群の陽性対照群には基礎飼料を給餌し、投与 24~27 日に 1 日 1 回 4 日間にわたり陽性対照物質 (CPS, シクロホスファミド) 50 mg/kg/日を 10 mL/kg 容量にて腹腔内投与した。

NK 試験群の陽性対照群には基礎飼料を給餌し、投与 27 日、剖検の約 24 時間前に NK 細胞活性を阻害する目的で抗アシアロ GM1 を 1.0 mL/匹、尾静脈内投与した。

用量設定根拠；

感 作：投与 24 日に投与の約 96 時間前に AFC 試験群及びその陽性対照群を対象として、0.5 mL の HEPES 含有 Earle's Balanced Salt Solution 中に懸濁した 2.0×10^8 個のヒツジ赤血球 (sheep red blood cell, sRBC) を尾静脈内投与した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態は 1 日 1 回、生死及び瀕死状態は午前と午後に各 1 回観察した。さらに、詳細な身体検査を週 1 回行った。

検体投与に関連した死亡又は症状はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(その他)

体重変化；全生存動物の体重を週 2 回測定し、各期間の平均体重及び体重増加量を算出した。
対照群と比較して統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

体重 (g) : AFC 試験群

検査時期	20 ppm	125 ppm	1000 ppm	陽性対照群
28 日			(97)	↓88

体重 (g) : NK 試験群

検査時期	20 ppm	125 ppm	1000 ppm	陽性対照群
28 日			(95)	

体重増加量 (g) : AFC 試験群

検査時期	20 ppm	125 ppm	1000 ppm	陽性対照群
0-3 日			↓50	
0-7 日			↓78	
0-28 日				↓71
24-28 日				↓571

体重増加量 (g) : NK 試験群

検査時期	20 ppm	125 ppm	1000 ppm	陽性対照群
0-3 日			↓45	
0-7 日			↓74	
0-10 日			↓75	
0-14 日			↓81	
0-17 日			↓81	
0-21 日			↓81	
0-24 日			↓80	
0-28 日			↓80	
24-28 日				↓47

Dunnett 検定：↑↓ p<0.05、↑↑ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。
括弧内の数値は参考値。

AFC 及び NK 試験群の 1000 ppm 投与群において、投与 0-3 日の体重増加量が有意に減少し、さらに累積体重増加量が投与期間中低値を示し、特に NK 群で顕著であったが、最終体重値には対照群との間に差はみられなかった。陽性対照群では、AFC 試験群の CPS 投与群の投与 24-28 日の体重増加量及び最終体重ならびに NK 試験群の投与 24-28 日の体重増加量が有意に減少した。

(その他)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

摂餌量；全生存動物の摂餌量を毎週測定した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

摂餌量 (g)：AFC 試験群

検査時期	20 ppm	125 ppm	1000 ppm	陽性対照群
21-28 日				↓78

摂餌量 (g)：NK 試験群

検査時期	20 ppm	125 ppm	1000 ppm	陽性対照群
0-7 日			↓88	
14-21 日			↓86	
21-28 日			↓83	

Dunnnett 検定：↑↓ p<0.05、↑↑ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

AFC 試験群の陽性対照群において、投与 21-28 日の摂餌量が有意に減少した。

NK 試験群の 1000 ppm 投与群において、投与 0-7、14-21 及び 21-28 日の摂餌量が有意に減少した。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

検体投与群 (ppm)	検体摂取量 (mg/kg/日)	
	AFC 試験群	NK 試験群
20	2	2
125	10	10
1000	82	77

飲水量；全生存動物の飲水量を毎週測定した。

検体投与による影響はなかった。

剖検；投与終了後の全生存動物を二酸化炭素吸入麻醉下で採血し、剖検した。また、肝臓、脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節及びパイエル板を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。

検体投与に関連した肉眼的変化はなかった。

陽性対照物質 (CPS) 投与に起因すると考えられる所見を次表に示す。

(その他)

所見 検査動物数	検体投与群 (ppm)				AFC 試験群
	0	20	125	1000	陽性対照群
検査動物数	10	10	10	10	10
胸腺：小型化	0	0	0	0	↑6

Fisher の直接確率計算法：↑↓ p<0.05、↑↓ p<0.01 (申請者実施)

<申請者注：

>

臓器重量；投与終了後に以下の臓器重量を測定し比体重値を算出した。

肝臓及び胸腺：NK 試験群のみ。 脾臓：AFC 及びNK 試験群。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた臓器を下表に示す。

臓器	検体投与群 (ppm)			AFC 試験群	NK 試験群
	20	125	1000	陽性対照群	陽性対照群
脾臓 (絶対重量)				↓47	
肝臓 (絶対重量)			↑117		
肝臓 (比体重値)			↑129		

Dunnett 検定：↑↓ p<0.05、↑↓ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

AFC 試験群の陽性対照群において、脾臓重量が有意に減少した。

NK 試験群の 1000 ppm 投与群において、肝臓重量が絶対及び比体重値ともに有意に増加した。

脾臓抗体産生細胞活性の測定；投与終了後に AFC 試験群の全生存動物から採血後、脾臓を採取し、Jerne プラーク法りの変法によりヒツジ赤血球 (sRBC) 特異的 IgM 抗体産生細胞 (antibody-forming cell, AFC) 数を測定した。測定結果は脾臓細胞数、特異活性 (脾臓細胞当たりの IgM AFC 数；IgM AFC 数/脾臓細胞 10⁶ 個) 及び総脾臓活性 (脾臓当たりの IgM AFC 数；IgM AFC 数/脾臓) として求めた。対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

脾臓細胞数及び IgM AFC 数：AFC 試験群

検査項目	20 ppm	125 ppm	1000 ppm	陽性対照群
脾臓細胞数				↓12
IgMAFC 数 (/脾臓細胞 10 ⁶ 個)				↓1.6
IgMAFC 数 (/脾臓)				↓0.2

試験群；Dunnett 検定：↑↓ p<0.05、↑↓ p<0.01、陽性対照群；Student の t 検定：↑↓ p<0.05、↑↓ p<0.01
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

(その他)

T 細胞依存性抗原の sRBC に対する IgM AFC 反応について、脾臓細胞数、特異活性又は総脾臓活性のいずれについても、検体投与による影響は認められなかった。陽性対照群で、脾臓細胞数、特異活性及び総脾臓活性が有意に低下した。

ナチュラルキラー (NK) 細胞活性の測定；投与終了後に NK 試験群の全生存動物から脾臓を採取し、⁵¹Cr 標識した YAC-1 細胞 (マウスリンパ腫) に対する NK 細胞活性 (%細胞障害性) を測定した²⁾。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

NK 細胞活性 (%細胞障害性) : NK 試験群

NK 細胞数 / YAC-1 細胞数	20 ppm	125 ppm	1000 ppm	陽性対照群
200/1				↓26
100/1				↓27
50/1				↓48
25/1				↓71

試験群 ; Dunnett 検定 : ↓ p<0.05, ↓↓ p<0.01, 陽性対照群 ; Student の t 検定 : ↓ p<0.05, ↓↓ p<0.01
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

YAC-1 細胞に対する NK 細胞活性には検体投与の影響は認められなかった。陽性対照群では、NK 細胞活性が有意に低下した。

AFC 試験群及び NK 試験群の各陽性対照群に認められた変化は免疫抑制剤投与により予想される免疫学的影響であり、本試験で実施した試験方法の信頼性を保証する結果であった。

以上の結果、本検体のラットを用いた飼料混入投与による 28 日間反復投与免疫毒性試験においては、いずれの投与群でも免疫毒性影響が認められなかったことから、免疫機能に関する無影響量 (NOEL) は 1000 ppm と判断され、これは AFC 試験群及び NK 試験群においてそれぞれ 82 mg/kg/日及び 77 mg/kg/日に相当した。一般毒性影響として 1000 ppm 投与群において、体重増加抑制、摂餌量減少及び肝臓重量増加が観察された (申請者註 : 一般毒性に対する無毒性量は 125 ppm (AFC 試験群及び NK 試験群ともに 10 mg/kg/日) と判断する)。

参考文献

- 1) Jerne, N.K.; Nordin, A.A.; Henry, C. The agar Plaque Technique for Recognizing Antibody-Producing Cell. In *Cell Bound Antibodies*, Amos, B., Koprowski, H., Eds.; Wistar Institute Press: Philadelphia, PA, 1963.
- 2) Djeu, J.Y. Natural Killer Activity. In *Methods in Immunotoxicology*, Volume 1; Burlinson, G.R., Dean,

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

J.H., Munson, A.E. Eds.; Wiley-Liss: New York, NY, 1995, pp 437-449.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

2. 原体混在物及び代謝物の毒性

(資料 No. SU-1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

(資料 No. SU-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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(混在物)

(資料 No. SU-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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(混在物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)
(資料 No. SU-4)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

(資料 No. SU-5)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

(資料 No. SU-6)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(代謝物)

(資料 No. SU-7)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(資料 No. SU-8)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

3. 製剤

(1) 15%乳剤

① ラットにおける 15%乳剤の急性経口毒性試験

(資料 No. A-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度： テトラコナゾール 15%乳剤

【組成】テトラコナゾール原体：15.0%

有機溶媒、界面活性剤等：85.0%

供試動物： SD 系ラット、6～8 週齢、体重：雄 145～196 g、雌 122～153 g

一群雌雄 各 5 匹

観察期間： 14 日間観察

投与方法： 検体をトウモロコシ油で調製し、1,000、2,000、3,000、4,000 及び 5,000 mg/kg で強制経口投与した。投与前一晚及び投与後 3 時間絶食した。

用量設定根拠；

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び終了時生存動物について肉眼的病理学検査を行った。体重を投与直前、投与後 7 日及び終了時、並びに死亡発見時に測定した。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	1,000、2,000、3,000、4,000、5,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 3,205 (2,199～4,041) 雌 2,432 (1,590～3,179)
死亡開始及び終了時間	投与後 1 日～5 日
症状発現及び消失時間	投与後 30 分～14 日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2,000 雌 1,000

(急性毒性/製剤)

中毒症状としては、運動機能低下、後彎姿勢、虚脱、立毛、汚毛、運動失調、呼吸困難、振戦、閉眼、行動抑制、体温低下、鼻部赤色着色及び眼分泌物及び陰部周辺湿潤が投与後 30 分から認められ、投与後 14 日まで継続した。

死亡は投与後 1～5 日にみられた。

肉眼的病理学検査では脱毛、会陰部周辺褐色着色、拡張胃、両眼周囲赤色状痂皮、鼻部赤色着色及び膀胱拡張がみられた。

体重に投与による影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

② マウスにおける 15%乳剤の急性経口毒性試験

(資料 No. A-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度： テトラコナゾール 15%乳剤

【組成】テトラコナゾール原体 : 15.0%

有機溶媒、界面活性剤等 : 85.0%

供試動物： CD-1 系マウス、5~7 週齢、体重：雄 27~35 g、雌 19~27 g

一群雌雄 各 5 匹

観察期間： 14 日間観察

投与方法： 検体をトウモロコシ油で調製し、1,000、2,000、3,000、4,000 及び 5,000 mg/kg で強制経口投与した。投与前及び後各 3 時間絶食した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び終了時生存動物について肉眼的病理学検査を行った。体重を投与直前、投与後 7 日及び終了時、並びに死亡時に測定した。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	1,000、2,000、3,000、4,000、5,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄 4,123 雌 4,229
死亡開始及び終了時間	投与後 4 時間~4 日
症状発現及び消失時間	投与後 1 時間~14 日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2,000 雌 3,000

中毒症状としては、後彎姿勢、虚脱、立毛、汚毛、運動失調、呼吸困難、振戦、行動抑制、体温低下及び腹部膨満が投与後 1 時間から認められ、投与後 14 日まで継続した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

死亡は投与後 4 時間から 4 日にみられた。

肉眼的病理学検査では小腸及び肺の暗色化、膀胱拡張及び拡張胃がみられた。

体重に投与による影響はみられなかった。

(急性毒性/製剤)

③ ラットにおける 15%乳剤の急性経皮毒性試験

(資料 No. A-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度： テトラコナゾール 15%乳剤

【組成】 テトラコナゾール原体 : 15.0%

有機溶媒、界面活性剤等 : 85.0%

供試動物： SD 系ラット、8～10 週齢、体重：雄 215～273 g、雌 180～201 g
一群雌雄 各 5 匹

観察期間： 14 日間観察

投与方法： 背部を剃毛し、検体をそのまま処理部位に塗布した。塗布 24 時間後、検体を除去し洗浄した。投与量は、2,000 mg/kg とした。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び終了時生存動物について肉眼的病理学検査を行った。体重を投与直前、投与後 7 日及び終了時、並びに死亡発見時に測定した。

結 果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	2,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄共 > 2,000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	鼻部赤色分泌；投与後 2～4 時間 痂皮；投与後 6～14 日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2,000

中毒症状として、鼻部赤色分泌物及び塗布部位の痂皮形成がみられた。
肉眼的病理学検査では肺暗色（全葉）が雌 1 例みられた。
体重に投与による影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

④ ラットにおける 15%乳剤の急性吸入毒性試験

(資料 No. A-11)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度： テトラコナゾール 15%乳剤

【組成】 テトラコナゾール原体 : 15.0%

有機溶媒、界面活性剤等 : 85.0%

供試動物： SD 系ラット、5~6 週齢、体重：雄 290~383 g、雌：223~279 g
一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

暴露方法： 検体をそのままエアロゾルとして 3.11 及び 5.61 mg/L 実際濃度でラットに 4 時間
鼻部暴露した。なお、5.61 mg/L は実施可能最高濃度であった。
粒径分布の測定結果から、3.5 μm 以下の粒子が 3.11 mg/L 群では 77.5%及び 5.61
mg/L 群では 72.2%であった。

暴露条件：

設定濃度 (mg/L)	6.91	11.77
実際濃度 (mg/L)	3.11	5.61
粒子径分布 [#] (%)		
> 10 μm	0	4.6
6	0	23.3
3.5	22.6	0
2.0	58.2	45.5
0.9	18.7	19.9
0.5	0.6	6.9
0.25	0	0
空気力学的質量中位径 (μm)	2.69	3.04
チャンバー容積 (L)	約 45.0	
チャンパー内通気量 (L/分)	24	
暴露条件	エアロゾル 4 時間 鼻部暴露	

: Marple cascade impactor を用いて 2 回測定した平均値

観察・検査項目：動物を暴露直後及び暴露後最初の 1~2 時間観察し、暴露後 14 日まで通常 1
日 2 回、中毒症状及び生死を観察した。体重は暴露直前及び暴露後 2、3、4、7、
10 及び 14 日に測定した。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。各動物の肺を取り出し、重量を測定してその対体重比を計算
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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

結 果：

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	実際濃度 3.11、5.61
	設定濃度 6.91、11.77
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄 > 5.61
死亡開始及び終了時間	なし
症状発現及び消失時間	暴露直後から発現、暴露後 11 日に消失
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	5.61

中毒症状として、浅迫呼吸、抑制行動、後彎姿勢、よろめき歩行及び粗野姿勢が暴露直後から認められ、暴露後 11 日までに消失した。

体重増加抑制が認められたが、暴露後 10 日には回復した。

これらを除いて投与によると考えられる変化はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑤ ウサギを用いた 15%乳剤の皮膚一次刺激性試験

(資料 No. I-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度： テトラコナゾール 15%乳剤

【組成】 テトラコナゾール原体 : 15.0%

有機溶媒、界面活性剤等 : 85.0%

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、体重範囲 1.85~2.69 kg、一群雄 6 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 塗布 24 時間前に背部を刈毛後、検体 0.5 mL を塗布し、4 時間包帯で閉塞した。
なお塗布部位は非擦過とした。

観察項目： 塗布除去後 1 時間及び 1、2、3、4、6、8、10、13 及び 14 日に皮膚の刺激性変化
(発赤、痂皮及び浮腫) の有無を観察し、EPA 推奨の方法によって評価した。

結果： 各観察時期における皮膚刺激性を次表に示す。

所見	最高 評点	経過時間				
		1時間	1日	2日	3日	4日
発赤痂皮	4	1.00 (1, 6/6)	1.33 (2, 6/6)	2.17 (3, 6/6)	2.50 (3, 6/6)	2.17 ^a (3, 6/6)
浮腫	4	0	0.17 (1, 1/6)	0.83 (1, 5/6)	1.00 (1, 6/6)	0

所見	最高 評点	経過時間				
		6日	8日	10日	13日	14日
発赤痂皮	4	2.00 (2, 6/6)	0 ^b	0 ^b	1.67 ^c (3, 5/6)	1.67 (3, 5/6)
浮腫	4	0	0	0	0	0

括弧内数値は最大値及び陽性反応動物数を示す。

a: 肥厚、b: 落屑 (塗布部位の肥厚及び剥離皮膚による)

c: 発赤後、肥厚し皮膚が剥離した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

塗布除去後 1 時間に軽微な発赤が全動物にみられた。24 及び 48 時間には軽微から重篤の発赤がみられた。塗布除去後 8 及び 10 日には皮膚が肥厚して剥離した。塗布除去後 14 日にもみられた。塗布除去後 24～72 時間の間で軽微な浮腫がみられた。

以上の結果から、本試験条件においてテトラコナゾール 15%乳剤はウサギ皮膚に対し刺激性を有すると結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑥ ウサギを用いた 15%乳剤の 1,000 倍希釈液の皮膚刺激性試験

(資料 No. I-8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度： テトラコナゾール 15%乳剤の 1,000 倍希釈液

【組成】 テトラコナゾール原体 : 15.0%

有機溶媒、界面活性剤等 : 85.0%

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、体重範囲 2.84~3.15 kg、一群雄 6 匹

観察期間： 3 日間

投与方法： 検体塗布 24 時間前に背部を刈毛して、検体 0.5 mL を塗布し、4 時間包帯で閉塞した。なお、塗布部位は非擦過とした。

観察項目： 塗布除去後 1、24、48 及び 72 時間に皮膚の刺激性変化（発赤及び浮腫）の有無を観察し、EPA 推進の方法によって評価した。

結果： 各観察時期における皮膚刺激性を次表に示す。

所見	最高 評点	経過時間（時間）			
		1	24	48	72
発赤 痂皮	4	0.50 (1, 3/6)	0.17 (1, 1/6)	0	0
浮腫	4	0	0	0	0

括弧内数値は最大値及び陽性反応動物数を示す。

軽微な発赤が塗布除去後 1 時間で 3 例みられ、更に 24 時間でも 1 例みられた。塗布除去後 48 時間には回復した。なお、観察期間を通して浮腫は認められなかった。

以上の結果から、テトラコナゾール 15%乳剤の 1,000 倍希釈液にはウサギ皮膚に対して軽微な刺激性が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

- ⑦ ウサギにおける 15%乳剤の眼一次刺激性試験 (急性毒性/製剤)
(資料 No. I-2)
試験機関: [GLP 対応]
報告書作成年: 1994 年

検体純度: テトラコナゾール 15%乳剤

【組成】テトラコナゾール原体 : 15.0%
有機溶媒、界面活性剤等 : 85.0%

供試動物: ニュージーランド白色ウサギ、11 週齢、体重範囲 2.265~2.535 kg
非洗眼群 雌 6 匹、洗眼群 雌 3 匹

観察期間: 21 日間観察

投与方法: 検体 0.1 mL を左眼に点眼した。なお、右眼を無処置対照とした。洗眼群の場合には点眼後 2~3 分に微温湯を用いて、30~60 秒間洗眼した。

観察項目: 点眼後 1、24、48、72 時間、及び 4、7、10、13、16、19、21 日間に角膜、虹彩及び結膜について Draize 法及び農林水産省指針に基づいて観察・評価した。

結果: 各観察時期における眼の刺激性変化を次表に示す。
角膜では点眼後 24 時間で非洗眼群及び洗眼群の全例に重度の混濁がみられた。点眼後 21 日に混濁が消失したのは非洗眼群の 2 例であった。点眼後 7 日には非洗眼群の 5 例及び洗眼群の全例に角膜の血管新生が観察された。洗眼群 2 例で角膜の 1/2 以上から全域の血管新生がみられたが、非洗眼群では角膜の 1/2 以下に留まった。点眼後 21 日に血管新生が消失したのは非洗眼群の 1 例であった。虹彩には非洗眼群及び洗眼群いずれにも刺激性変化は認められなかった。角膜では点眼後 1 時間に非洗眼群及び洗眼群の全例に充血を伴う発赤及び僅かな腫脹がみられた。これらは更に重度の発赤あるいは眼瞼の約 1/2 の閉鎖を伴った腫脹へ進行する例が認められた。また点眼後 1 時間から眼瞼及び眼瞼周囲の被毛を浸潤する分泌がみられたが、非洗眼群では点眼後 16 日、洗眼群では点眼後 21 日までに消失した。

以上の結果から、本剤は眼粘膜に対し、重度の刺激性を有すると判断された。また洗眼効果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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

群	部 位	最高 評点	処理後時間							
			1時間	24時間	48時間	72時間	4日	10日	16日	21日
非洗 眼群	角 膜	80	3.3 (20)	20.0 (20)	23.3 (40)	26.7 (40)	23.3 (40)	20.0 (40)	9.2 (20)	8.3 (20)
	混 濁	4	0.2 (1)	1.0 (1)	1.2 (2)	1.3 (2)	1.2 (2)	1.3 (2)	0.7 (1)	0.7 (1)
	新 生	4	0.7 (4)	4.0 (4)	4.0 (4)	4.0 (4)	4.0 (4)	2.5 (4)	1.8 (4)	1.7 (4)
	虹 彩	10	0	0	0	0	0	0	0	0
	結 膜	20	8.7 (10)	8.0 (8)	8.0 (14)	6.7 (10)	4.0 (6)	1.7 (4)	1.0 (4)	0.7 (2)
	発 赤	3	1.0 (1)	1.0 (1)	1.2 (2)	1.0 (1)	1.0 (1)	0.5 (1)	0.3 (1)	0.3 (1)
	浮 腫	4	1.0 (1)	1.0 (1)	1.3 (3)	1.3 (2)	0.8 (1)	0.2 (1)	0.2 (1)	0
分泌物	3	2.3 (3)	2.0 (2)	1.5 (2)	1.0 (2)	0.2 (1)	0.2 (1)	0	0	
洗 眼群	角 膜	80	0	20.0 (20)	25.0 (40)	25.0 (40)	25.0 (40)	43.3 (60)	33.3 (60)	26.7 (45)
	混 濁	4	0	1.0 (1)	1.3 (2)	1.3 (2)	1.3 (2)	2.3 (3)	2.0 (3)	2.0 (3)
	新 生	4	0	4.0 (4)	4.0 (4)	4.0 (4)	4.0 (4)	3.3 (4)	3.0 (4)	2.3 (3)
	虹 彩	10	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	20	8.0 (8)	6.7 (8)	8.0 (12)	7.3 (8)	7.3 (10)	8.0 (12)	4.7 (6)	1.3 (2)
	発 赤	3	1.0 (1)	1.0 (1)	1.3 (2)	1.0 (1)	1.3 (2)	1.3 (2)	1.0 (1)	0.3 (1)
	浮 腫	4	1.0 (1)	1.0 (1)	1.3 (2)	1.7 (2)	1.3 (2)	1.3 (2)	0.7 (1)	0.3 (1)
分泌物	3	2.0 (2)	1.3 (2)	1.3 (2)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.3 (2)	0.7 (1)	0	

(注) 角膜、虹彩、結膜の評点は Draize 法に従い算出し、上段は平均値、下段は評点の最大値を示す。
 角膜混濁、血管新生、結膜発赤、浮腫及び分泌物は、農林水産省指針に基づく評点であり、上段は平均値、下段は評点の最大値を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑧ ウサギを用いた 15%乳剤 1,000 倍希釈液の眼一次刺激性試験 (資料 No. I-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度： テトラコナゾール 15%乳剤の 1,000 倍希釈液

【組成】 テトラコナゾール原体 : 15.0%

有機溶媒、界面活性剤等 : 85.0%

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、体重範囲 1.86～2.38 kg、一群雄 6 匹

観察期間： 72 時間観察

投与方法： 検体 0.1 mL を右眼に点眼した。検体は 15%乳剤を脱塩水で 1,000 倍に希釈し調製した。なお、対照眼は無処理の左眼とした。

観察項目： 点眼後 1、24、48 及び 72 時間に角膜、虹彩及び結膜について、農林水産省指針に準じた米国 EPA の評価法を用いて検査した。

最高評点は、角膜/4、虹彩/4 及び結膜の場合、発赤/3、浮腫/3 及び分泌物/3 である。

結果： 15%乳剤の使用時における 1,000 倍希釈液を点眼して、眼の刺激性を検討したところ、いずれの検査時期及びいずれの観察項目においても、何らの刺激性の変化は認められなかった。

以上の結果から、15%乳剤を実用散布濃度の 1,000 倍に希釈した場合には、ウサギの眼に対する刺激性はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑨ ウサギを用いた 15%乳剤 24 倍及び 450 倍希釈液の眼刺激性試験 (資料 No.I-17)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体純度： テトラコナゾール 15%乳剤の 24 倍希釈液 (実験 I) 及び 450 倍希釈液 (実験 II)

【組成】テトラコナゾール原体 : 15.0%

有機溶媒、界面活性剤等 : 85.0%

供試動物： 日本白色種ウサギ

実験 I ; 15 週齢 (検疫順化開始時)、雄 ; 3.14~3.21 kg (群分け時)

実験 II ; 13 週齢 (検疫順化開始時)、雄 ; 2.67~2.83 kg (群分け時)

非洗眼群 ; 一群雄 3 匹、洗眼群 ; 一群雄 3 匹

観察期間： 実験 I ; 12 日間観察、実験 II ; 72 時間観察

投与方法： 点眼前に検体の調製液を十分に攪拌後、0.1 mL を右眼の結膜嚢に点眼し、1 秒間両眼瞼を穏やかに合わせ閉じた。左眼は無処置対照とした。なお、洗浄群においては、非洗浄群と同様に点眼し、点眼 30 秒後に約 100 mL の生理食塩液 (微温湯) で眼を 30 秒間洗浄した。

試験項目： 検疫順化終了日、点眼直前、点眼後 1、24、48 及び 72 時間、6、9 及び 12 日に両眼について、肉眼及びスリットランプを用い、角膜、虹彩、結膜の刺激性反応を観察し、農水省ガイドライン (12 農産第 8147 号通知) に準じた方法で採点した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点を次表に示す。

実験 I (24 倍希釈液)

項目		最高 得点	投与後時間 (hrs)								
			0	1	12	48	72	144	216	288	
非洗眼群 3 匹合計	角膜混濁	4	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	
	虹彩	2	0.0	0.3	0.7	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	0.0	2.0	2.3	2.3	1.3	1.0	0.3	0.0
		浮腫	4	0.0	2.0	2.7	1.3	0.7	0.7	0.3	0.0
	合計	13	0.0	4.3	5.7	4.9	2.0	1.7	0.6	0.0	
洗眼群 3 匹合計	角膜混濁	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	虹彩	2	0.0	0.0	0.7	0.7	0.3	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	0.0	2.0	2.0	1.7	1.3	0.3	0.0	0.0
		浮腫	4	0.0	1.7	2.0	1.0	0.7	0.0	0.0	0.0
	合計	13	0.0	3.7	4.7	3.4	2.3	0.3	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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

対照眼（左眼）では、洗浄後1時間において、結膜発赤（採点：1）が1匹にみられた以外は、試験期間を通じて眼刺激性は認められなかった。

実験Ⅱ（450倍希釈液）

項目		最高 得点	投与後時間 (hrs)				
			0	1	12	48	72
非洗眼群 3匹合計	角膜混濁	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜 発赤	3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計	13	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

対照眼（左眼）についても試験期間を通じて刺激性が全く認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において、テトラコナゾール 15%乳剤の 24 倍希釈液はウサギの眼に対して刺激性が認められるが、その変化は可逆的であり、洗眼によって眼の回復は早くなると考えられた。

また、テトラコナゾール 15%乳剤の 450 倍希釈は、ウサギの眼に対して刺激性がないと判断された。

(急性毒性/製剤)

⑩ モルモットを用いた 15%乳剤の皮膚感作性試験

(資料 No. SE-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度： テトラコナゾール 15%乳剤

【組成】 テトラコナゾール原体 : 15.0%

有機溶媒、界面活性剤等 : 85.0%

供試動物： ダンキンハートレイ種モルモット、1 年齢未満

開始時体重 雌 343~418 g、一群雌 20 匹

観察期間： 48 時間

試験操作： [Buchler 法]

〈感作〉各動物の腹側部を剃毛し、検体（第 1 及び 2 回感作時では検体を直接用いたが、第 3 回感作時ではトウモロコシ油に 75%に溶解して用いた）0.5 mL を塗布し、6 時間包帯で閉塞した。これを 1 週間間隔で 3 週間にわたり行った。

なお、陽性対照群には 2-Mercaptobenzo- thiazole (MBT) をトウモロコシ油に 75%の濃度に溶解して塗布した。陰性対照群にはトウモロコシ油を塗布した。

〈惹起〉最終感作終了 2 週後に、検体（トウモロコシ油に 75%に溶解した）、トウモロコシ油及び MBT を各動物に感作の場合と同様に 6 時間塗布した。

なお、惹起塗布前日に腹側部を剃毛した。

惹起後 24 及び 48 時間に皮膚感作性を評価した。なお、評価前 3 時間に惹起塗布部位を剃毛した。

用量設定根拠；

観察項目： 塗布後 24 時間に各々の刺激性を観察した。

(急性毒性/製剤)

結果： 各観察時期における皮膚感作性を次表に示す。

群	感作	惹起	供試 動物数	感作反応動物数									
				24時間					48時間				
				皮膚反応評点				合計	皮膚反応評点				合計
				0	1	2	3		0	1	2	3	
検体	100%*検体	100% 検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20
	トウモロコシ油	75% 検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20
陽性 対照	75%MBT	75% MBT	20	11	7	2	0	9/20	15	5	0	0	5/20
	トウモロコシ油	75% MBT	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20

*：第1及び2回感作時には100%検体を用い、第3回感作時にはトウモロコシ油に75%を溶解して用いた。

MBT：2-mercaptobenzothiazole

感作時での刺激反応は、試験群では第1回感作時に3/20例（最大値1）、第2及び3回感作時（最大値はいずれも3）に全例に発赤がみられた。陰性対照群では、何等の刺激反応も認められなかった。陽性対照群では第2回感作時に3/20例、第3回感作時には6/20例に軽度な刺激性が認められた。

惹起後では試験群及び陰性対照群共に何らの反応も認められなかった。

陽性対照群の場合には45%の動物に発赤がみられ、陽性反応が認められた。

以上の結果から、テトラコナゾール15%乳剤には皮膚感作性はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

(2) 25%乳剤

① ラットにおける 25%乳剤の急性経口毒性試験

(資料 No. A-16)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

検体純度: テトラコナゾール 25%乳剤

【組成】 テトラコナゾール原体 : 25.0%

有機溶剤、界面活性剤等 : 75.0%

供試動物: SD 系雌ラット、8~12 週齢、体重: 雌 150~162 g、一群雌 3 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を調製用の水で調製し、300 又は 2,000 mg/kg を単回胃内強制投与した。動物は投与前に一夜絶食させた。試験方法は毒性等級法を用い、2 群に 300 mg/kg を投与したところ、急性致死用量は 300 mg/kg 以上であることが明らかとなったため、更に 1 群に 2,000 mg/kg を同様に投与した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を試験 1 日 (投与前)、8 及び 15 日に記録した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行なった。

結 果:

投与方法	胃内強制
性別	雌
投与量 (mg/kg)	300、2,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	300 < LD ₅₀ < 2,000
死亡開始時間及び終了時間	2,000 mg/kg 投与群の全動物を投与 2 日目に切迫屠殺した
症状発現時間及び消失時間	投与後 4 時間から発現 3 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300

投与後 2 日に 2,000 mg/kg 投与群の全動物を切迫屠殺した。

顕著な中毒症状としては、300 mg/kg 投与群の動物に体重増加抑制及び立毛がみられ、2,000 mg/kg 投与群の動物に体温低下、立毛、自発運動の低下、虚脱、浅呼吸、呼吸数の減少及び流涎が観察された。

剖検では、切迫屠殺動物に脳うっ血、肝の蒼白化、胃のガスによる膨満が認められ、試験終了時まで生存し、剖検した動物のうち 1 例に脾臓の腫大がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

② ラットにおける 25%乳剤の急性経皮毒性試験

(資料 No. A-17)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

検体純度： テトラコナゾール 25%乳剤

【組成】テトラコナゾール原体 : 25.0%

有機溶剤、界面活性剤等 : 75.0%

供試動物： SD 系ラット、8~12 週齢、体重 雄 214~231 g、雌 173~181 g
一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： ラットの腰背部を剪毛し、検体を 2,000 mg/kg の用量で皮膚に 24 時間適用した。適用部位をガーゼで被覆して非刺激性包帯で固定し、さらに耐水性包帯を胸部に巻いて被覆した。暴露後 24 時間に包帯及びガーゼを除去し、適用部位を温水で洗浄後、吸湿紙で水分を拭き取った。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、8 及び 15 日に測定した。試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理学的検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮
性別	雌
投与量 (mg/kg)	2,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 2,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現及び消失時間	投与後 2 日から発現 投与後 3 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2,000

中毒症状及び死亡はみられなかった。

雌 1 例に体重増加抑制がみられた。

剖検では、主要な臓器器官に特記すべき変化はみられなかった。また、雌雄各 3 例の投与部位の皮膚に非常に軽微な紅斑が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

③ ウサギを用いた 25%乳剤の皮膚刺激性試験

(資料 No. I-16)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

検体純度: テトラコナゾール 25%乳剤

【組成】テトラコナゾール原体 : 25.0%

有機溶剤、界面活性剤等 : 75.0%

供試動物: ニュージーランドホワイトウサギ、25 週齢、体重 3.45~3.99 kg、一群雄 2 匹

観察期間: 15 日間

投与方法: 刈毛した腰背部の皮膚に検体 0.5 mL を適用し、ガーゼパッチで覆い、更にガーゼパッチの上部をサージカルテープで被覆して半閉塞貼付した。暴露時間は 3 分間、1 及び 4 時間とし、暴露後皮膚に残った検体は温水を用いて洗い流した。

観察項目: 被覆物の除去時及びその後約 1、24、48 及び 72 時間に適用部位の皮膚の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無を観察し、ECETOC 法に従って採点した。試験 8 及び 15 日に持続性の影響についても観察した。

結果: 4 時間暴露観察した刺激性変化の採点は下表の通りである。

項目	最高 評点*	暴露後時間					
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	8 日	15 日
紅斑	4×2	1	4	4	4	3	3
浮腫	4×2	0	2	4	4	1	0
合計	16	1	6	8	8	4	3

注) 表の点数は 2 匹の合計点である。

*: 判定基準の最高評点 (2 匹の合計点)

$$\begin{aligned} \text{一次刺激性指数} &= \frac{(24,48,72\text{時間の紅斑評点}) + (24,48,72\text{時間の浮腫評点})}{3 \times \text{動物数}} \\ &= \frac{(12) + (10)}{3 \times 2} = 3.7 \quad [\text{中等度の刺激性}] \end{aligned}$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

暴露後 4 時間に軽度～はっきりとした紅斑が試験期間を通して認められた。非常に軽微又は中等度の浮腫がみられたが、15 日には消失した。その他に皮膚の褐色変化、接触に対する過敏、弾力性、柔軟性の喪失、痂皮形成、痂皮の脱落又は剥離が認められた。

以上の結果から、テトラコナゾール 25%乳剤はウサギの皮膚に対して、中等度の刺激性があるものと考えられた。

(急性毒性/製剤)

④ ウサギを用いた 25%乳剤の眼刺激性試験

(資料 No. I-14)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度： テトラコナゾール 25%乳剤

【組成】テトラコナゾール原体 : 25.0%

有機溶剤、界面活性剤等 : 75.0%

供試動物： ニューゼーランドホワイトウサギ、雄 15~16 週齢

体重：2.87~3.21 kg、非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹

観察期間： 21 日間

投与方法： 検体 0.1 mL を左眼に適用し、3 匹は 30 秒後に洗眼した。3 匹については洗眼しなかった。なお、右眼は無処置対照とした。

観察項目： 適用後 1、24、48、72 時間、4、7、10、14、18 及び 21 日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドライン、Kay and Calandra (角膜混濁部の面積及び結膜分泌部) 及び McDonald & Shaddock 法 (角膜上皮染色性) に従って採点した (Initial test で用いた動物のみ適用後 18 日までの観察とした)。

結果： 観察した刺激性変化の採点は下表の通りである。

項目	最高 評点**	投与後時間											
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	7 日	10 日	14 日	18 日	21 日		
非洗眼群 (3 匹平均)	角膜混濁	程度	4	1.0	1.7	2.0	2.0	2.3	2.0	1.3	1.0	1.0	1.5
		面積	4	1.0	3.3	3.7	4.0	3.7	2.3	1.7	1.3	1.3	2
	虹彩	2	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.7	0.3	0.3	0.3	0.3	
	結膜	発赤	3	1.3	1.7	2.0	2.0	2.0	1.7	1.3	1.3	1.3	0.6
		浮腫	4	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0	2.3	1.7	1.3	1.3	0.6
		分泌物	3	1.7	3.0	2.3	2.0	1.7	1.0	1.0	1.0	1.0	0.6
	合計***	110	20.0	48.1	56.3	59.0	61.1	36.7	20.8	15.7	13.0	23.5	
洗眼群 (3 匹平均)	角膜混濁	程度	4	0.0	0.3	0.3	0.3	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4	0.0	0.7	0.3	0.3	0.3	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	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	1.0	2.0	1.3	1.3	1.0	1.0	0.7	0.0	0.0	0.0
		浮腫	4	1.7	3.0	2.0	2.0	1.3	0.7	0.3	0.0	0.0	0.0
		分泌物	3	1.0	3.0	1.3	1.0	1.0	0.7	0.3	0.0	0.0	0.0
	合計***	110	7.3	17.1	9.9	9.2	7.2	4.7	2.7	0.0	0.0	0.0	

* : 21 日のみ 2 匹の平均、** : 判定基準の最高評点

*** : 刺激性変化判定 : 角膜混濁の程度 × 角膜混濁部の面積 × 5 + 虹彩 × 5 + (結膜発赤 + 結膜浮腫 + 結膜の分泌物) × 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

非洗眼群では、適用後 24 時間に角膜混濁及び虹彩の充血、結膜の充血又は発赤、結膜腫脹及び分泌物が全例で認められ、3 例中 1 例ではこれらの反応が適用後 21 日においても認められたが、3 例中 2 例の動物では適用後 18 日までに全ての反応が消失した。

洗眼群では、適用後 24 時間に 3 例中 2 例で結膜発赤、結膜腫脹及び分泌物が認められ、3 例中 1 例ではこれらの反応に加えて角膜混濁が認められたが、これらの反応は適用後 10 又は 14 日までに全て消失した。

以上の結果から、テトラコナゾール 25%乳剤はウサギの眼粘膜に対して非常に強い刺激性を示したが、その刺激性は洗眼により軽減された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑤ ウサギを用いた 25%乳剤の 400 倍希釈液の眼刺激性試験

(資料 No. I-15)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度： テトラコナゾール 25%乳剤 400 倍希釈液

【組成】テトラコナゾール原体：25.0%

有機溶剤、界面活性剤等：75.0%

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、17 週齢雄、体重範囲 2.93~3.25 kg

非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： 検体 0.1 mL を左眼に適用し、3 匹は 30 秒後に洗眼した。3 匹については洗眼しなかった。なお、右眼は無処置対照とした。

観察項目： 適用後 1、24、48、72 時間に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドライン、Kay and Calandra (角膜混濁部の面積及び結膜分泌部) 及び McDonald & Shadduck 法 (角膜上皮染色性) に従って採点した (Initial test で用いた動物のみ適用後 18 日までの観察とした)。

結果： 観察した刺激性変化の採点は下表の通りである。

項目			最高評点**	投与後時間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非洗眼群 (3 匹平均)	角膜混濁	程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3	0.7	0.0	0.0	0.0
		浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	3	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計***			110	0.7	0.0	0.0
洗眼群 (3 匹平均)	角膜混濁	程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3	0.0	0.0	0.0	0.0
		浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	3	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計***			110	0.0	0.0	0.0

*：21 日のみ 2 匹の平均、**：判定基準の最高評点

***刺激性変化判定：角膜混濁の程度×角膜混濁部の面積×5+虹彩×5+(結膜発赤+結膜浮腫+結膜の分泌物)×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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

非洗眼群では適用後 1 時間に結膜の一部の血管の明らかな充血が認められたが、適用後 24 時間までに全て消失した。洗眼群の動物では角膜、虹彩及び結膜に刺激性反応は認められなかった。非洗眼群及び洗眼群のいずれの動物にも角膜上皮の損傷は認められなかった。

以上の結果から、テトラコナゾール 25%乳剤の 400 倍希釈液はウサギの眼粘膜に対して無刺激物と評価された。洗眼群については、非洗眼群と同様に無刺激物と評価されたが、評点は非洗眼を下回り、眼洗浄には症状の軽減効果があるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑥モルモットを用いた 25%乳剤の皮膚感作性試験

(資料 No. SE-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

検体純度： テトラコナゾール 25%乳剤

【組成】テトラコナゾール原体 : 25.0%

有機溶剤、界面活性剤等 : 75.0%

供試動物： ハートレー系モルモット、雌 4~5 週齢、体重 ; 295~355 g

検体投与群 ; 20 匹、対照群及び陽性対照群 ; 10 匹

観察期間： 30 日間

試験操作： [Buehler 法]

用量設定根拠；

感作； 肩部を刈毛し、検体の 50%アセトン溶液を 0.5 mL 含ませたリント布を置き、その上をゴム製シートで覆い、デュラポアを体幹部に巻きつけて 6 時間閉塞貼付した。感作処置は 7 日おきに計 3 回行った。

一方、陽性対照群には 1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン (DNCB) の 0.5%エチルアルコール溶液を検体投与群と同様に貼付した。また対照群には溶媒のみを検体投与群と同様に適用した。

惹起； 最終感作後 2 週間に刈毛した腹側部に検体の 25 及び 2.5%アセトン溶液を、陽性対照群には DNCB の 0.5%エチルアルコール溶液を 6 時間閉塞貼付した。

観察項目： 惹起後 24 及び 48 時間に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。紅斑及び浮腫の判定基準は以下の通りである。

皮膚反応の判定基準

皮膚反応の程度	評点
反応なし	0
散在性軽度の紅斑	1
びまん性中等度の紅斑	2
強度紅斑と浮腫	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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

平均評点 = (合計評点) ÷ (全動物数)

陽性率 (%) = (陽性動物数) ÷ (全動物数) × 100

評価基準

陽性率 (%)	段階	区分
0~8%	1	軽微
9~28%	2	軽度
29~64%	3	中等度
65~80%	4	強度
81~100%	5	非常に強度

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下表に示す。

群			供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)		
				24 時間後					48 時間後							
				皮膚反応評点		平均	皮膚反応評点		平均	時間						
												0	1	2	3	0
検体	50% 検体	25%検体	20	20	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
		2.5%検体	20	20	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
	溶媒*	25%検体	10	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
		2.5%検体	10	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
陽性対照	0.5% DNCB	0.5% DNCB	10	0	0	4	6	2.6	10	1	6	3	2.2	100	100	

*: アセトン

検体投与群及び対照群の動物において、皮膚反応は認められなかった。

陽性対照群においては、全動物に明瞭な紅斑及び浮腫が認められた。

以上の結果から、テトラコナゾール 25%乳剤の皮膚感作性は陰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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

(3) 11.6%液剤

① ラットにおける 11.6%液剤の急性経口毒性試験 (資料 No. A-12)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 : テトラコナゾール 11.6%液剤 (ME)

【組成】 テトラコナゾール原体 : 11.6%

界面活性剤、水等 : 88.4%

供試動物 : CrI : CD (SD) 系ラット、8~12 週齢

体重 雄 201~229 g、雌 201~221 g、一群雌雄 各 5 匹

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 検体をそのまま 5,000 mg/kg を単回経口投与した。投与前一晚及び投与後約 2 時間絶食した。

用量設定根拠 ;

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時生存動物について肉眼的病理検査を行った。体重を投与直前、投与後 8 及び 14 日に測定した。

結 果 :

投与方法	経口
性別	雌雄
投与量 (mg/kg)	5,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 5,000
死亡開始時間及び終了時間	(死亡例なし)
症状発現時間及び消失時間	0.5 時間~5 日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5,000

円背位が投与直後から投与後 5 日まで認められた。呼吸数減少及び呼吸困難、爪先歩行、嗜眠、運動失調及び口吻周辺部の赤色/褐色着色化が主に雌にみられた。これらの症状は投与後 2~6 日には消失した。

体重は予想された増加がみられた。

投与終了時の剖検では何らの病理学的所見はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

② マウスにおける 11.6%液剤の急性経口毒性試験 (急性毒性/製剤)
(資料 No. A-13)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： テトラコナゾール 11.6%液剤 (ME)
【組成】テトラコナゾール原体：11.6%
界面活性剤、水等：88.4%

供試動物： CrI：CD-1™ (ICR) BR 系マウス、6～8 週齢
体重 雄 20～23 g、雌 22～25 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体をそのまま 5,000 mg/kg を単回経口投与した。投与前 3～4 時間及び投与後 3～4 時間絶食した。

用量設定根拠；

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時生存動物について肉眼的病理検査を行った。体重を投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。

結 果：

投与方法	経口
性別	雌雄
投与量 (mg/kg)	5,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 5,000
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与後 3 日 雌 認められなかった
症状発現時間及び消失時間	雄 投与後 0.5 時間～2 日 雌 投与後 0.5 時間～4 時間
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 求められなかった 雌 5,000

臨床症状として、運動失調、円背位、嗜眠、呼吸数減少及び困難、正向反射の消失及び開脚歩行が雌雄にみられた。これらの症状は投与後 2 日までには消失した。死亡 (雄 1 例) は投与後 3 日にみられた。体重は予想された増加がみられた。剖検所見として、死亡動物では肺出血、肝臓及び腎臓の暗色化及び胃粘膜の淡色化が認められた。投与終了時の剖検では何らの病理学的所見はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

③ ラットにおける 11.6%液剤の急性経皮毒性試験

(資料 No. A-14)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： テトラコナゾール 11.6%液剤 (ME)

【組成】 テトラコナゾール原体：11.6%

界面活性剤、水等 : 88.4%

供試動物： Crl : CD (SD) 系ラット、8~12 週齢

体重 雄 200~219 g、雌 209~217 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 動物の背部及び腹側部を適用前日に動物用バリカンで剪毛し、その剪毛部位に検体をそのまま 2,000 mg/kg を単回経皮投与し、24 時間半閉塞状態とした。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び終了時生存動物について肉眼的病理検査を行った。体重を投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。なお、皮膚への刺激性を Draize の方法に準拠して評価した。

結果： 結果を下表に示す。

投与方法	経口
性別	雌雄
投与量 (mg/kg)	2,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 2,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状及び皮膚刺激性は認められなかった。
最大無作用量 (mg/kg)	2,000

雌雄共に経皮投与に伴う臨床症状及び皮膚刺激性はみられなかった。

試験期間中の体重は、予想された範囲内の増加がみられた。

投与終了時の剖検では何らの病理学的所見は認められなかった。

(急性毒性/製剤)

④ ラットにおける 11.6%液剤の急性吸入毒性試験

(資料 No. A-15)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： テトラコナゾール 11.6%液剤 (ME)

【組成】 テトラコナゾール原体：11.6%

界面活性剤、水等 : 88.4%

供試動物： Cri : CD (SD) 系ラット、8~10 週齢

体重 雄 333~341 g、雌 242~252 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体をそのまま 5.08 mg/L の気中濃度 (実測濃度) で 4 時間鼻部暴露した。実験条件は以下の通りである。

気中濃度 (実測濃度)	mg/L	5.08	
粒子径 分布 (%)	> 10	µm	7.09
	10~6	µm	13.96
	6~3.5	µm	17.03
	3.5~1.6	µm	17.32
	1.6~0.9	µm	36.94
	0.9~< 0.5	µm	7.66
空気力学的質量中位径	µm	1.6	
チャンバー容積	L	約 30	
チャンパー内通気量	L/分	20	
暴露条件	エアロゾル、4 時間、鼻部暴露		

試験項目： 暴露中及び暴露後の中毒症状及び生死を観察した。死亡動物及び終了時生存動物について肉眼的病理検査を行った。体重を暴露直前及び暴露後 7 及び 14 日に測定した。

結果： 結果を下表に示す。

投与方法	吸入
気中濃度 (実測濃度)	5.08 mg/L
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	暴露後 1 時間~暴露後 4 日
死亡例の認められなかった 最高暴露量	5.08 mg/L

(急性毒性/製剤)

暴露期間中、被毛の湿潤、呼吸数の減少及び頭部周辺の赤色/褐色着色が散見あるいは単発的に認められた。チャンバーから回収後、円背位、立毛がみられた。暴露後1時間に努力呼吸及び呼吸音の増大の症状は増加した。暴露後1日では、円背位及び散発的な呼吸数の減少がみられ、暴露後3及び4日に、雄1例に呼吸音の増大及び/又はくしゃみが認められたが、その後は全ての動物が回復し、何らの症状もみられなかった。

体重は雌雄各1例が試験1週に体重増加抑制を示した以外、正常な体重増加が認められた。

肉眼的病理検査では、3例の動物が肺に暗色巣を示したことを除いて、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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑤ ウサギを用いた 11.6%液剤の皮膚刺激性試験 (資料 No. I-13)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： テトラコナゾール 11.6%液剤 (ME)

【組成】 テトラコナゾール : 11.6%

界面活性剤、水等 : 88.4%

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、12～16 週齢

体重 2.39～2.95 kg、一群雄 6 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： 動物の腰部背側を適用前日に動物用バリカンで剪毛し、その剪毛部位に検体 0.5 mL をそのままガーゼパッチに含ませて 4 時間適用した。パッチ除去後 1、24、48 及び 72 時間に適用部位における一次刺激性の有無を観察した。なお、供試した 1 例には適用部位 3 ヲ所を設定し、各部位に 0.5 mL を含ませたパッチを適用した。適用後 3 分、1 及び 4 時間の各時点でパッチを除去した。

観察項目： パッチ除去後 1、24、48 及び 72 時間に皮膚の刺激性変化（発赤、痂皮及び浮腫）の有無を Draize の方法に準拠して評価した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は下表の通りである。

所見	最高 評点	経過時間			
		1	24	48	72
発赤 痂皮	4	0.50 (1)	0.83 (1)	0.50 (1)	0
浮腫	4	0.17 (1)	0.17 (1)	0	0

() 内の数値は各評価時点における評点の最高値を示す。

半閉塞状態で 4 時間適用した場合には、6 例中 5 例に軽度の発赤が認められた。また、軽度の浮腫が 2 例に認められた。これらの症状は 72 時間には消失した。なお、3 分及び 1 時間の半閉塞状態で適用した場合は、刺激性は認められなかった。

以上のことから、本試験条件下において本剤はウサギ皮膚に対して軽度の刺激性を有すると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑥ ウサギを用いた 11.6%液剤の眼刺激性試験

(資料 No.1-11)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： テトラコナゾール 11.6%液剤 (ME)

【組成】テトラコナゾール原体 : 11.6%

界面活性剤、水等 : 88.4%

供試動物： ニュージーランド白色雄ウサギ、12～16 週齢

体重 2.58～3.34 kg、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間： 21 日間

投与方法： 検体 0.1 mL を右眼に点眼した。なお、左眼を無処置対照とした。洗眼群の場合には点眼 2～3 分後に微温湯 100 mL を用いて洗眼した。なお、点眼 1～2 分前に検体による疼痛を緩和するため局所麻酔薬を 1 滴点眼した。

観察項目： 点眼後 1、24、48 及び 72 時間、並びに 14 及び 21 日に、角膜、虹彩及び結膜について、Draize の方法に準拠して眼一次刺激性を評価した。

結果： 各観察時期における眼の刺激性変化を次表に示す。

群	部位及び症状		最高 評点	処理後時間						
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	14 日	21 日
非 洗 眼 群	角 膜	光沢消失								
		混濁								
	虹 彩	炎症								
		発赤								
		浮腫								
洗 眼 群	角 膜	光沢消失								
		混濁								
	虹 彩	炎症								
		発赤								
		浮腫								
結 膜	分泌物									

(本表は申請者作成)

数値は評点の平均値

d: 明らかではないが影響がみられる程度、 V: 血管新生

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

非洗眼群の全例に角膜混濁及びび慢性混濁がみられ、角膜混濁は点眼後 1 時間後にはみられ、6 例中 3 例のび慢性混濁は点眼後 7 日、1 例は点眼後 14 日までみられた。虹彩の炎症は点眼 1 及び 24 時間後には全例にみられ、5 例は 48 時間まで持続し、更にその内 3 例は 72 時間まで持続した。この他の虹彩への影響はみられなかった。中等度の結膜刺激性が 72 時間まで全例にみられ、軽度の刺激性が 7 日まで 4 例にみられた。血管新生が 1 例にみられ、21 日まで観察された。

洗眼群でも、非洗眼群の場合と同様、全例に角膜混濁及びび慢性混濁がみられ、3 例中 1 例は 7 日までみられた。虹彩の炎症が全例に 72 時間までみられた。この他の虹彩への影響はみられなかった。中等度の結膜刺激性が 72 時間まで全例にみられ、軽度の刺激性が 7 日まで 2 例にみられた。血管新生が 1 例にみられ、21 日まで観察された。

以上の結果から、本剤は眼粘膜に対し強い刺激性を有すると考えられた。また、洗眼効果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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑦ ウサギを用いた 11.6%液剤 2,000 倍希釈液の眼刺激性試験 (資料 No. 1-12)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： テトラコナゾール 11.6%液剤 (ME) 2,000 倍希釈液

【組成】 テトラコナゾール原体 : 11.6%

界面活性剤、水等 : 88.4%

供試動物： ニュージーランド白色雄ウサギ、12~16 週齢

体重 2.67~3.50 kg、非洗眼群 6 匹

観察期間： 3 日間

投与方法： 検体 0.1 mL を右眼に点眼した。なお、左眼を無処置対照とした。

観察項目： 点眼後 1、24、48 及び 72 時間に角膜、虹彩及び結膜について、Draize の方法に準拠して眼一次刺激性を評価した。

結 果： 各観察時期における眼の刺激性変化を下表に示す。

部位及び症状		最高 評点	適用後時間			
			1	24	48	72
角 膜	混 濁	4				
虹 彩		2				
結 膜	発 赤	3				
	浮 腫	4				
	分泌物	3				

(本表は申請者作成)

角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化は、いずれの観察時間においても認められなかった。

以上の結果から、本剤の 2000 倍希釈液は、ウサギの眼粘膜に対して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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

⑧ モルモットを用いた 11.6%液剤の皮膚感作性試験

(資料 No. SE-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： テトラコナゾール 11.6%液剤 (ME)

【組成】 テトラコナゾール : 11.6%
界面活性剤、水等 : 88.4%

供試動物： Dunkin-Hartley 系雌モルモット、8~12 週齢

体重：309~408 g、一群 20 匹、但し陰性及び陽性対照群では一群各 10 匹

観察期間： 48 時間

試験操作： [Maximization 法]

〈感作 1〉各動物の肩甲部を剪毛し、下記の試料各 0.1 mL を正中線の左右 3 ヶ所に 1 列で皮内投与した。

- a) FCA + 水 (1:1) 溶液
- b) 1% (w/v) 検体溶液
- c) 1% (w/v) 検体の FCA + 水 (1:1) 溶液

陰性対照群の場合には、以下の処理を同一手順で行った。

- a) FCA + 水 (1:1) 溶液
- b) 水
- c) 50%FCA + 水 (1:1) 溶液

陽性対照群の場合には、以下の処理を同一手順で行った。

- a) FCA + 水 (1:1) 溶液
- b) 0.1% (w/v) DNCB の落花生油液
- c) 0.1% (w/v) DNCB の FCA + 落花生油 BP (1:1) 溶液 (DNCB: 2,4-ジニトロクロロベンゼン、FCA: フロイントの完全アジュバント)

〈感作 2〉第 1 回感作後 1 週間に、各動物の同一肩甲部を再度剪毛し、未希釈の検体を十分にろ紙パッチに含ませ局所に塗布した。粘着テープ及び伸縮性粘着絆創膏で固定し、48 時間保持した。

陰性対照群の場合には、無処理ろ紙を検体処理群と同一手順で処理し、陽性対照群の場合には、0.75% (w/v) DNCB の 80%エタノール液を十分にろ紙パッチに含ませ、局所に塗布した。その後は検体処理群と同様に行った。

(急性毒性/製剤)

〈惹起〉 感作後 21 日に、各動物の同一の肩甲部を再度剪毛し、未希釈の検体を十分にろ紙パッチに含ませ、右腹側部に塗布した。また、左腹側部の別の部位に最大非刺激濃度による皮膚反応を確認するため、75%水溶液を同様に処理した。惹起後 24 時間に皮膚を傷つけないように注意してろ紙パッチを除去し、脱脂綿で清拭した。なお、観察 24 時間前に剪毛した。

陽性対照群は、検体処理群と同様に剪毛し、0.25% (w/v) DNCB の 80%エタノール液を十分にろ紙パッチに含ませ、右腹側部に塗布した。また、左腹側部の別の部位に最大非刺激濃度による皮膚反応を確認するため、0.1% (w/v) の 80%エタノール液を同様に塗布した。なお、本試験における適用濃度を設定するため予備試験を行った。

〈感作のための皮内投与濃度の選択〉

2 例を用いて、検体 1 及び 5%水溶液 0.1 mL を 4 ヶ所に皮内投与し、局所の皮膚反応（壊死、潰瘍形成）あるいは中毒症状を観察した。その結果、1%水溶液が選択された。

〈感作のための局所適用濃度の選択〉

予め 16 日間前に FCA を皮内投与した 2 例に検体 25、50 及び 75% (v/v) 水溶液、並びに未希釈検体を剪毛した腹側部に 48 時間閉塞適用した。その結果、軽度～中等度の皮膚刺激性を生ずる最大濃度として未希釈液が選択された。

〈惹起のための局所適用濃度の選択〉

2 例に検体 25、50 及び 75% (v/v) 水溶液、並びに未希釈検体を剪毛した腹側部に 24 時間閉塞適用した。その結果、最大非刺激性濃度として未希釈液及び 75%水溶液が選択された。

観察項目： 惹起後の包帯除去後 24 及び 48 時間に発赤及び浮腫の皮膚反応を評価した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(急性毒性/製剤)

結果： 各観察時間における皮膚感作性を下表に示す。

試験群	惹起時処理	反応の種類	最大 評点	供試 動物数	感作性反応程度*/反応動物数	
					24 時間	48 時間
検体処理群	75% 水溶液	発赤/痂皮	4	20		
		浮腫	4			
検体無処理群		発赤/痂皮	4	10		
		浮腫	4			
検体処理群	100% (未希釈液)	発赤/痂皮	4	20		
		浮腫	4			
検体無処理群		発赤/痂皮	4	10		
		浮腫	4			
陽性対照群 (DNCB)	0.1% DNCB エタノール溶液	発赤/痂皮	4	10		
		浮腫	4			
陽性対照無処 理群		発赤/痂皮	4	10		
		浮腫	4			
陽性対照群 (DNCB)	0.25% DNCB エタノール溶液	発赤/痂皮	4	10		
		浮腫	4			
陽性対照無処 理群		発赤/痂皮	4	10		
		浮腫	4			

(本表は申請者作成)

*：各群における評点の平均値

検体処理群における惹起後 24 及び 48 時間の観察では、75%水溶液及び 100% (未希釈) 液のいずれの場合においても、処理部位に皮膚反応は認められなかった。一方、陽性対照群では 0.1 及び 0.25%DNCB のエタノール溶液処理群のいずれの場合も陽性の皮膚反応 (軽微な浮腫～軽度の浮腫を伴う、あるいは伴わない発赤) が惹起後 24 及び 48 時間に認められた。これに加えて、散在性痂皮及び暗褐色/黒色痂皮が 1 例みられ、また黄色化が全例にみられた。

以上の結果から、本剤に皮膚感作性はないものと判断された。