

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(10) 生体機能影響

1) 生体の機能に及ぼす影響に関する試験

(資料T-31)

試験機関 三菱化学安全科学研究所
報告書作成年 1999年

被験物質：

① 中枢神経系に対する作用

一般状態観察

動物：Wistar系雄ラット、5週齢（体重142～155g）、1群3匹

方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、10、50および200mg/kgの投与量で動物に強制経口投与した（投与日を投与後0日とする）。投与後1、3および6時間、以後1日1回7日後まで、Irwinの多次元観察法に準じて観察した。

結果：10および50mg/kg群では、一般状態に影響はみられず、死亡もなかった。200mg/kg群では1例で投与後1時間に意識の低下、運動性の低下、運動協調性の低下、筋緊張度の低下、反射の低下、散瞳、立毛、体温の低下、呼吸抑制が観察され、観察終了後に死亡した。生存した2例にも意識の低下、運動性の低下、振戦、運動協調性の低下、立毛、体温の低下および呼吸抑制が観察された。これらの症状は投与後3時間にもみられ、投与後6時間には1例でさらに症状が悪化し、投与後1日に死亡した。他の1例では投与後6時間には回復し、投与後4日まで症状が観察されなかったが、投与後5日で異常歩行、体温の低下、削瘦がみられ、投与後7日にはそれらの症状が悪化し、最終観察終了後に死亡した。

睡眠時間に対する作用

動物：ICR系雄マウス、5週齢（体重27.1～32.9g）、1群8匹

方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、10、50および150mg/kgの投与量で動物に強制経口投与した。経口投与2時間後にヘキソバルビタール80mg/kgを腹腔内投与し、正向反射消失から回復までの時間を測定し、睡眠時間を調べた。

結果：10mg/kg群では、作用はみられなかった。50mg/kg以上の群では睡眠時間の有意な延長がみられた。なお、150mg/kg群ではヘキソバルビタール投与後に2例死亡した。

自発運動量に対する作用

動物：ICR系雄マウス、5週齢（体重27.9～34.8g）、1群18匹

方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、10、50および150mg/kgの投与量で動物に強制経口投与した。その後、自発運動量測定装置を用いて6時間後まで30分毎の運動量を測定した。

結果：10mg/kg群では、作用はみられなかった。50mg/kg群では投与後0.5時間で有意な低下がみられた。また、150mg/kg群では投与後1時間まで有意な低下がみられ、以降6時間まで運動量はほとんど0を示した。

なお、測定終了後に50mg/kg群では4例、150mg/kg群では17例が死亡し

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

た。

鎮痛作用

動物：Wistar系雄ラット、5週齢（体重140～169g）、1群6匹

方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、10、50および150mg/kgの投与量で動物に強制経口投与した。投与前および投与後2時間にRandall-Selitto法に準じて圧刺激鎮痛効果測定装置により疼痛閾値を測定した。

結果：10および50mg/kg群では、作用はみられなかった。150mg/kg群では疼痛閾値の上昇がみられたが、投与後2時間までに3例が死亡しており、この鎮痛作用の上昇が被験物質の直接作用か、全身状態の悪化に伴う変化なのか明らかではなかった。

正常体温に対する作用

動物：Wistar系雄ラット、5週齢（体重146～175g）、1群6匹

方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、10、50および150mg/kgの投与量で動物に強制経口投与した。投与前および投与後0.5、1、3および6時間に直腸温を測定した。

結果：10mg/kg群では、作用はみられなかった。50mg/kg群では、投与後0.5時間から低下傾向を示し、6時間には有意な低下がみられた。また、150mg/kg群では投与後3時間まで有意な低下がみられた。

なお、150mg/kg群では3例が死亡した。

自発脳波に対する作用

動物：Wistar系雄ラット、12～15週齢（体重370～469g）、1群3匹

方法：動物に麻酔下で前頭葉にネジ電極を置き、海馬に双極電極を刺入し、各電極を頭蓋骨上に固定した。被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、10、50および150mg/kgの投与量で動物に強制経口投与した。脳波は投与前、投与後1、3および6時間に測定した。

結果：いずれの被験物質投与群においても自発脳波に対する作用はみられなかった。

なお、150mg/kg群では測定終了後に1例が死亡した。

血漿コリンエステラーゼに対する作用

動物：Wistar系雄ラット、7週齢（体重267～314g）、1群6匹

方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、10、50および150mg/kgの投与量で動物に強制経口投与した。投与後2時間に動物の後大静脈から採血した。その血漿を用いてコリンエステラーゼおよびアセチルコリンエステラーゼ活性をチオコリンエステルを基質としたDTNB法で測定した。

結果：いずれの被験物質投与群においても作用はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

② 呼吸・循環器系に対する作用

呼吸、血圧、心拍数および心電図に対する作用

動物：日本白色種雄ウサギ、11～14 週齢（体重 2.2～2.8kg）、1 群 4 匹

方法：動物はウレタン麻酔下で気管および大腿動脈内にカニューレを挿入し、それぞれ呼吸流量計および圧トランスデューサーに接続し、呼吸運動および血圧、心拍数を測定した。心電図は、心電図計を用い、四肢第Ⅱ誘導の波形を測定した。被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、0、2、10 および 50mg/kg の投与量で十二指腸内に挿入したカテーテルにより投与した。投与前および投与後 0.5、1、2 および 4 時間にウレタン麻酔下で呼吸、血圧、心拍数および心電図を測定した。

結果：いずれの被験物質投与群においても呼吸数、呼吸換気量、血圧、心拍数および心電図波形に対する作用はみられなかった。

③ 自律神経系に対する作用

瞳孔径に対する作用

動物：Wistar 雄ラット、6 週齢（体重 171～199g）、1 群 6 匹

方法：被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、0、10、50 および 150mg/kg の投与量で動物に強制経口投与した。投与前および投与後 0.5、1、3 および 6 時間に瞳孔径を実体顕微鏡を用いて測定した。

結果：10mg/kg 群では瞳孔径に作用はみられなかった。50mg/kg 群では有意な高値（散瞳）が投与後 1 および 3 時間でみられた。また、150mg/kg 群では投与後 0.5 時間に有意な高値がみられ、以降も対照群に比べて高値傾向を示した。

なお、150mg/kg 群では 4 例が死亡した。

④ 消化器系に対する作用

腸管輸送能に対する作用

動物：ICR 雄マウス、5 週齢（体重 28.3～33.8g）、1 群 8 匹

方法：被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、0、10、50 および 150mg/kg の投与量で一晩絶食した動物に強制経口投与した。投与後 2 時間に炭末懸濁液を経口投与し、その 30 分後に動物を屠殺し、十二指腸起始部から炭末到達先端までの長さを測定し、小腸全長に対する炭末最先端部の移行率を求めた。

結果：10mg/kg 群では腸管輸送能に作用はみられなかった。50 および 150mg/kg 群では動物が全例死亡し、腸管輸送能を測定できなかった。

⑤ 骨格筋に対する作用

懸垂動作試験

動物：ICR 雄マウス、5 週齢（体重 28.7～34.3g）、1 群 8 匹

方法：被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、0、10、50 および 150mg/kg の投与量で動物に強制経口投与した。その後、水平に張り渡した針金に動物の前肢をかけさせ、10 秒以内に後肢を針金にかけられない場合を陽性とし、懸垂動作への作用を検討した。検査は、投与後

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1、3および6時間に行った。

結果：10mg/kg 群では懸垂動作に作用はみられなかった。50mg/kg 群では、いずれの検査時間でも陽性発現率に有意差はみられなかったが、投与後3時間で2例、6時間で1例の陽性例がみられた。150mg/kg 群では投与後1時間で4例、3時間で2例、6時間で2例の陽性例がみられ、陽性発現率に有意差がみられた。

なお、50mg/kg 群で1例、150mg/kg 群で6例が死亡した。

⑥ 腎機能に対する作用

尿量および尿中電解質に及ぼす作用

動物：Wistar 雄ラット、7週齢（体重141～172g）、1群6匹

方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、10、50および150mg/kgの投与量で一晩絶食させた動物に強制経口投与した。その直後、生理食塩水を経口投与し、個別採尿ケージで被験物質の投与後6時間まで採尿し、1時間毎の尿量を測定した。また、6時間分の蓄尿を用いてNa、KおよびClイオン、pH、浸透圧を測定した。

結果：尿量について、10mg/kg 群では作用がみられなかったが、50mg/kg 群では投与後1および3時間に有意な低下がみられた。しかし、150mg/kg では有意な変化はみられなかった。

電解質について、Naイオンには有意ではないものの150mg/kg 群で対照群の5.4倍の排泄量がみられた。Kイオンでは50mg/kg 群で有意な増加がみられたが、150mg/kg 群では影響がなかった。Clイオンでは、10mg/kg 群で有意な低下が、150mg/kg 群で増加傾向がみられた。

浸透圧は、50および150mg/kg 群で有意な高値を示した。

pHは、影響がみられなかった。

なお、150mg/kg 群で1例が死亡した。

PSP排泄能に対する作用

動物：Wistar 雄ラット、6週齢（体重202～231g）、1群6匹

方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、10、50および150mg/kgの投与量で動物に強制経口投与した。その2時間後にフェノールスルホンフタリン(PSP)を静脈内投与し、30分後に後大静脈より採血した。得られた血液から血漿を分離し、分光光度計を用いてその吸光度を測定した。

結果：いずれの被験物質投与群でもPSP排泄能に対する作用はみられなかった。

<腎機能への作用に関するまとめ>

尿電解質の有意な変化が各被験物質投与群でみられたが、各群で変化のみられる電解質は異なっており、また、被験物質の投与量に相関した変化ではなかった。したがって、これらの変化は被験物質に起因するものではないと考えられた。また、尿浸透圧が50mg/kg以上の群で増加を示したが、この増加は尿電解質の濃度に依存した変化であり正常な反応と考えられ、尿濃縮能には影響がないと考えられた。また、尿量、pH、PSP排泄能にも作用がみられなかったことから、被験物質は腎機能に対して作

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

用しないと考えられた。

⑦ 血液に対する作用

血液凝固に対する作用

動物：Wistar 雄ラット、7週齢（体重 249～283g）、1群6匹

方法：被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、0、10、50 および 150mg/kg の投与量で動物に強制経口投与した。その2時間後、後大静脈より採血し、得られた血液からクエン酸血漿を調製し、プロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

結果：10mg/kg 群では血液凝固作用について作用はみられなかった。50mg/kg 以上の群で PT の延長がみられたが、この延長は対照群と比較して1秒以内と短いことから明らかな作用とは考えられなかった。

なお、150mg/kg 群で1例が死亡した。

溶血作用

動物：Wistar 雄ラット、7週齢（体重 251～283g）、1群6匹

方法：被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、0、10、50 および 150mg/kg の投与量で動物に強制経口投与した。その2時間後、後大静脈より採血し、得られた血液から血漿を分離し、分光光度計を用いてその吸光度 (540nm) を測定した。

結果：いずれの被験物質投与群においても溶血作用はみられなかった。

なお、150mg/kg 群で5例が死亡した。

⑧ 肝機能に対する作用

ICG代謝能に対する作用

動物：Wistar 雄ラット、7週齢（体重 245～287g）、1群6匹

方法：被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、0、10、50 および 150mg/kg の投与量で動物に強制経口投与した。その2時間後にインドシアニングリーン (ICG) を尾静脈投与し、15分後、後大静脈より採血した。得られた血液から血漿を分離し、血漿中 ICG 濃度を分光光度計で測定し、血中停滞率 (ICG 代謝能) を求めた。

結果：いずれの被験物質投与群においても ICG 代謝能に作用はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 雄ラットにおける腸管輸送能試験

(資料T-32)

試験機関 大塚化学

報告書作成年 1999年

背景：先にマウスを用いて実施された腸管輸送能に対する作用検討試験(資料T-31)の(4)、投与量0、10、50、150 mg/kg)では、10mg/kg 群では作用がみられなかったものの、50mg/kg 以上の群では全例が死亡したため検査が実施できなかった。そこで、この試験ではラットを用いて被験物質の腸管輸送能に対する作用の有無を追加検討した。

被験物質：

動物：Wistar 系雄ラット、5 週齢(体重 102.8~132.7g)、1 群 10 匹

方法：被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、0、10、50 および 150mg/kg の投与量で一晩絶食した動物に単回強制経口投与した。投与後 2 時間に炭末懸濁液を経口投与し、その 30 分後に動物を屠殺し、十二指腸起始部から炭末到達先端までの長さを測定し、小腸全長に対する炭末最先進部の移行率を求めた。なお、硫酸アトロピンを経口投与(100 mg/kg)する陽性対照群も設けた。

結果：溶媒対照群にくらべ、いずれの被験物質投与群においても統計学的に有意な炭末移行率の差はみられなかった。一方、陽性対照群では炭末移行率の有意な低下がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) 動物細胞ミトコンドリア系を用いた *in vitro* 呼吸阻害 (資料T-33)

試験機関

報告書作成年

背景：トルフェンピラドの哺乳動物に対する毒性を考察するため、殺虫機序の検討の過程で得られた動物細胞のミトコンドリア系の呼吸阻害成績をまとめた。検討①は
で実施され、検討②は
で委託実施された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の検討①および②から、トルフェンピラドは動物細胞由来のミトコンドリア電子伝達系の呼吸を強く阻害した。その作用点は Complex I と考えられた。一方、代謝物 PT-CA の同作用は弱かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) ラットの肝ミトコンドリア系を用いた呼吸阻害 (資料T-34)

- *in vivo* 下における定性的検討

試験機関

報告書作成年

背景および目的: トルフェンピラドの残留農薬安全性評価委員会から出された要望事項に対処するため、本試験を実施した。

検討①は、*in vitro* ミトコンドリア呼吸系 (資料 T-33) で阻害が認められている親化合物のラット経口投与後における検出・定量を目的として、
で実施した。

検討②は、経口投与後のラット肝臓から調製したミトコンドリア系に関して、阻害の有無を検索する目的で
において実施した。

検討① トルフェンピラドのラットを用いた単回経口投与後の肝臓および全血中の親化合物濃度の測定 (投与後短時間の測定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上のことから、本検討の条件下において、ラット *in vivo* においてもミトコンドリア呼吸障害作用が発現すると推察された。

検討② トルフェンピラド投与ラットの肝臓ミトコンドリア呼吸系に対する作用 (*ex vivo* および *in vitro* 下での検討)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上のことから、本検討の条件下において、ラット *in vivo* においてミトコンドリア呼吸阻害作用が発現していることが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

検査項目 (試験動物)		投与経路 (溶媒: 0.5% カルボキシメチル セルロース-Na 水溶液)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
資料 T 31	中枢神経系	単回経口 投与	0 10 50 200	♂3	200	50	症状: 意識の低下、運動性の低下、 運動協調性の低下等 (中枢神経の抑制) 死亡: ≤50 mg/kg 0/3 200mg/kg 3/3
			0 10 50 150	♂8	≥50	10	睡眠時間の延長作用あり 死亡: 150mg/kg 2/8
			0 10 50 150	♂18	≥50	10	自発運動量の低下あり 死亡: 50 mg/kg 4/18 150mg/kg 17/18
			0 10 50 150	♂6	150	50	鎮痛作用閾値の上昇あり 死亡: 150mg/kg 3/6
			0 10 50 150	♂6	≥50	10	体温低下あり 死亡: 150mg/kg 3/6
			0 10 50 150	♂3	(作用 なし)	150	自発脳波への作用なし 死亡: 150mg/kg 1/3
			0 10 50 150	♂6	(作用 なし)	150	血漿コリンエステラーゼ (AchE, ChE) への作用なし
			0 2 10 50	♂4	(作用 なし)	50	呼吸数、呼吸換気量、血圧、心拍 数および心電図波形への作用なし
			0 10 50 150	♂6	≥50	10	散瞳作用あり 死亡: 150mg/kg 4/6
			0 10 50 150	♂8	(作用 なし)	10 (50mg/ kg 以上 の群では 全例死亡 のため検 査できな かった。)	腸管輸送能への作用なし 死亡: ≥50mg/kg 8/8
資料 T 32	消化器系	単回経口 投与	0 10 50 150	♂10	(作用 なし)	150	腸管輸送能への作用なし

(次頁に続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表（続き）

検査項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒: 0.5% カルボキシメチル セルロース-Na 水溶液)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要		
資料 T 31	骨格筋への作用 懸垂動作 (マウス)	単回経口 投与	0 10 50 150	♂8	≥50	10	筋弛緩作用あり 死亡: 50mg/kg 1/8 150mg/kg 6/8	
	腎機能への作用 尿量および尿中 電解質 (ラット)		0 10 50 150	♂6	(作用 なし)	150	尿量、尿中電解質、尿 pH、浸透 圧には影響なし 死亡: 150mg/kg 1/6	
			PSP排泄能 (ラット)	0 10 50 150	♂6	(作用 なし)	150	PSP排泄能への作用なし
				血液への作用 血液凝固 (ラット)	0 10 50 150	♂6	(作用 なし)	150
	溶血 (ラット)		0 10 50 150		♂6	(作用 なし)	150	溶血作用なし 死亡: 150mg/kg 5/6
			肝機能への作用 ICG代謝能 (ラット)	0 10 50 150	♂6	(作用 なし)	150	ICG代謝能への作用なし
	資料 T 33		動物細胞ミトコンドリア電子伝達系 の呼吸阻害 (<i>in vitro</i>) ①ラット肝ミトコンドリア呼吸阻害 ②カンガ心筋ミトコンドリア呼吸阻害					50%阻害濃度 (IC ₅₀ , μg/mL)
	資料 T 34		経口投与ラットを用いたミトコンドリア電子 伝達系における <i>in vivo</i> 呼吸阻害検討 ①経口投与ラットの肝・血液の親化合 物 TK ②経口投与ラットから調製した肝ミトコ ンドリア呼吸阻害検討					<i>in vivo</i> 呼吸阻害作用が示唆され た。

<申請者のまとめ・考察>

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(11) 解毒及び治療

1) 解毒試験 - 拮抗薬による解毒

(資料T-35)

試験機関

報告書作成年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果から、解毒薬 カフェイン、塩酸メチルフェニデートおよびペモリンは、トルフェンピラド原体による急性毒性に対して解毒効果を示さず、急性毒性を増強させると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 解毒試験 - 吸着剤および緩下剤による解毒

(資料T-36)

試験機関
報告書作成年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果から、吸着剤（活性炭）および緩下剤（ソルビトールまたは硫酸マグネシウム）の投与はトルフェンピラド原体の急性経口毒性の解毒において有効であることが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) 解毒剤の検討

(資料T-37)

試験機関

報告書作成年

背景および目的：使用時安全性委員会から出された要望事項に対応するため、本検討が実施された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果から、ラットにおいて、解毒薬ユビデカレノン、塩化カルニチンおよび塩化レボカルニチンはトルフェンピラドの急性経口毒性を軽減することが示唆された。

2. 原体の混在物および代謝物の毒性

(1) 原体中の混在物の毒性

トルフェンピラド原体の長期毒性試験を含む主要な毒性試験は、単一ロット（ロット番号： ）の原体を用いて実施された。この原体について申請者が実施した混在物の分析結果を次頁の表 I に示す。これらの混在物の毒性は、一連の原体を用いて実施された毒性試験において有効成分トルフェンピラドの毒性も含めて評価されていると申請者は考える。

なお、トルフェンピラド原体を用いた各種毒性試験の最終報告書ならびに本農薬抄録中の毒性試験抄録に記載されている純度は、毒性試験に対応して実施されたトルフェンピラド原体の保存安定性分析試験の初期値である。

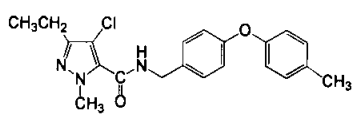
(2) 代謝物の毒性

なす（資料 M-9）、キャベツ（資料 M-10、11）およびもも（資料 M-12、13）を用いた ^{14}C -トルフェンピラドの植物代謝試験の結果、主要な代謝物は であつた。また、日本土壌を用いた ^{14}C -トルフェンピラドの代謝試験（資料 M-14）の結果、主代謝物は であつた。これらの代謝物の毒性を検索するため、表 II に示す毒性試験を実施した。

なお、これらの代謝物はラットを用いた代謝試験においても検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 I. 毒性試験用原体（ロット番号 ）の分析結果

有効成分および混在物名	含有率 (%)
略号	化学名および構造式
<p>トルフェンピラド</p> <p>4-クロロ-3-エチル-1-メチル-N-[4-(p-トリルオキシ)ベンジル]ピラゾール-5-カルボキサミド</p>	

表Ⅱ. 代謝物の毒性試験一覧

代謝物略名	化学名および構造式	実施毒性試験 (資料 No.)
		<ul style="list-style-type: none"> ・ラットの急性経口毒性試験 (T-38, T-39) ・ラットの4週間経口(混餌)毒性試験 (T-40) ・細菌の復帰突然変異試験 (T-41) ・哺乳動物培養細胞の染色体異常試験 (T-42) ・ラットの骨髄小核試験 (T-43)
		<ul style="list-style-type: none"> ・ラットの急性経口毒性試験 (T-44 T-45) ・ラットの4週間経口(混餌)毒性試験 (T-40) ・細菌の復帰突然変異試験 (T-46) ・哺乳動物培養細胞の染色体異常試験 (T-47) ・ラットの骨髄小核試験 (T-48)
		<ul style="list-style-type: none"> ・ラットの急性経口毒性試験 (T-49) ・細菌の復帰突然変異試験 (T-50)
		<ul style="list-style-type: none"> ・ラットの急性経口毒性試験 (T-51) ・細菌の復帰突然変異試験 (T-52)
		<ul style="list-style-type: none"> ・ラットの急性経口毒性試験 (T-53) ・細菌の復帰突然変異試験 (T-54)
		<ul style="list-style-type: none"> ・ラットの急性経口毒性試験 (T-55) ・細菌の復帰突然変異試験 (T-56)
		<ul style="list-style-type: none"> ・ラットの急性経口毒性試験 (T-57) ・細菌の復帰突然変異試験 (T-58)
		<ul style="list-style-type: none"> ・細菌の復帰突然変異試験 (T-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日本農薬株式会社にある。

1) の毒性

①

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-38)

試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢 (体重 雄 182~200 g、雌 145~169 g)

試験期間: 14日間観察

投与方法: 被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルローズ-Na 水溶液に懸濁し、投与前一晚絶食させた動物に強制経口投与した。なお、対照群の動物には投与溶媒のみを同様に投与した。

検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日(1日)、投与後2、3、4、8、11および15日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100	
LD ₅₀ 値	27.4	15.4
95%信頼限界 (mg/kg)	16.1~45.0	11.7~20.2
死亡開始時間	投与後4時間	投与後2時間
死亡終了時間	投与後3日 ¹⁾	投与後2日 ¹⁾
症状発現時間	投与後2時間	投与後2時間
症状消失時間	投与後3日	投与後2日
徴候のみられない 最高投与量 (mg/kg)	12.5	6.25

1) 最終の死亡個体を発見した日。

症状として、雌雄とも自発運動の低下、腹臥、呼吸数の減少、呼吸深大、呼吸困難、体温低下がみられた。

体重の減少または増加抑制が 12.5 mg/kg 群の雌では投与後3日まで、25 および 50 mg/kg 群の雄では投与後4日までにみられた。しかし、その後は順調な体重増加がみられた。

剖検の結果、死亡例では腺胃の暗赤色点がみられた。生存例では、主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

②

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 T-39)

試験機関 大塚化学

報告書作成年 2000年

試験目的：トルフェンピラド原体のラット急性経口毒性試験（資料 T-1, 2, 3）において投与溶媒の違いにより毒性値にやや差異がみられた。したがって、CMC-Na 水溶液を投与溶媒として用いたラットの試験（資料 T-38）に加え、オリーブ油を用いた急性経口毒性を検討することとした。

被験物質：

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢（体重 雄 189.3～213.5 g、雌 134.3～158.7 g）

試験期間：14日間観察

投与方法：被験物質をオリーブ油に懸濁し、投与前一晚絶食させた動物に強制経口投与した。
なお、対照群の動物にはオリーブ油のみを同様に投与した。

検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日（1日）、投与後2、3、4、6、8、11および15日に測定した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100	
LD ₅₀ 値	62	54
95%信頼限界 (mg/kg)	40～95	38～75
死亡開始時間	投与後1時間	投与後3時間
死亡終了時間	投与後3日 ¹⁾	投与後3日 ¹⁾
症状発現時間	投与後30分	
症状消失時間	投与後7日	
死亡例のみられなかった 最高投与量 (mg/kg)	25	

1) 最終の死亡個体を発見した日。

症状として、雌雄とも自発運動の低下、眼瞼下垂および肛門周囲の汚れがみられた。また、少数例で腹臥、不整呼吸、歩行異常、削瘦および被毛の粗剛がみられた。

体重の減少または増加抑制が、雄の 50mg/kg 群では投与後4日まで、100mg/kg 群では投与後6日まで、雌の 25mg/kg 以上の群で投与後4日までみられたが、以降は順調な増加がみられた。その他の群では観察終了まで順調な増加がみられた。

剖検の結果、死亡例および生存例ともに主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

③ トルフェンピラド、 および
のラットにおける4週間混餌投与による毒性試験

(資料T-40)

試験機関 ポゾリサーチセンター [GLP対応]
報告書作成年 2001年

試験目的： および のラット急性経口毒性試験(資料T-38, 39, 44, 45)の結果、トルフェンピラドよりやや強い急性経口毒性がみられた。この試験では、個々の代謝物の反復経口投与下における毒性を検索するとともに、それらの毒性をトルフェンピラドと比較した。

被験物質：

試験動物：Fischer系ラット、1群雌雄各5匹、
投与開始時6週齢(体重雄115~130g、雌93~103g)

	投与量 (ppm)	動物数 (匹/投与量/性)	投与開始日~屠殺解剖日
共通対照群	0	5	2000年9月12日
投与群	3, 10, 30, 100	5	~同年10月10日
投与群	3, 10, 30, 100	5	(4週間投与)
トルフェンピラド投与群	10, 30, 100	5	

投与方法：各被験物質を飼料中に混入し、上記に表示した投与量で4週間にわたって連続的に自由摂取させた。被験物質を混入した飼料は約1週間に1回調製した。

さらに、被験物質を混入しない飼料を与えた共通対照群を設けた。

投与量の設定根拠：

検査項目および結果：

一般状態および死亡：一般状態および死亡を毎日観察した。

いずれの被験物質投与群においても死亡は観察されず、また、被験物質による一般状態の変化もみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

体重： 投与期間を通じてすべての動物の体重を週1回測定した。
投与期間終了時点における各群の累積体重増加量を次表に示す。

共通対照群に比べ、
の 100ppm 群の雌およびトルフェンピラドの 100ppm 群の雌雄において体重および体重増加量の低値がみられ、各被験物質による変化と考えられた。それ以外には、各被験物質による変化はみられなかった。

摂餌量および摂餌効率： 投与期間を通じてすべての動物の摂餌量を週1回測定し、摂餌効率（体重増加量÷摂餌量×100）も算出した。

投与4週時の摂餌量を次表に示す。

共通対照群に比べ、
の 100ppm 群の雌で投与期間の大半にわたり低値がみられた。トルフェンピラドの 100ppm 群の雌雄で摂餌量の低値がみられた。これらの変化は各被験物質による変化と考えられた。それ以外の低値は一過性の変化または用量との関連がない変化であり、各被験物質による変化とは考えられなかった。摂餌効率については、
の 100ppm 群の雌で投与期間の大半にわたり軽度な低値がみられ、被験物質による変化と考えられた。それ以外は一過性で一貫性に乏しい変化であり、各被験物質によるものとは考えられなかった。

被験物質摂取量： 摂餌量および投与濃度から算出した投与期間中の1日あたりの平均被験物質摂取量を次表に示す。

性別	雄				雌			
	3	10	30	100	3	10	30	100
投与量 (ppm)	0.3	0.8	2.5	8.1	0.3	0.9	2.7	8.5
	0.2	0.9	2.5	8.4	0.3	0.9	2.7	8.8
トルフェンピラド	- ¹⁾	0.9	2.5	8.0	- ¹⁾	0.9	2.6	8.2

表中の数値単位：mg/kg/day

1) -: 投与群の設定なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液学的検査：4週間の投与終了後、全動物を対象として一晩絶食させた動物の腹大動脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積（MCV、計算値）、平均赤血球血色素量（MCH、計算値）、平均赤血球血色素濃度（MCHC、計算値）、網赤血球率、血小板数、白血球数、白血球百分率、プロトロンビン時間（PT）、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）
共通対照群に比べ、統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

共通対照群に比べ、
の100ppm群の雄で血小板数の高値およびAPTTの低値がみられたが、きわめてわずかな変化であり、血栓形成などはみられないことから、毒性学的意義はないと考えられた。その他、各被験物質に起因する変化はみられなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査と同時期に採取した血液から得られた血清または血漿(*)を用いて以下の項目を検査した。

GOT(*), GPT(*), γ GT(*), ALP, 総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白、A/G比、蛋白質分画、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン
共通対照群に比べ、統計学的有意差のみられた項目を次表（次頁）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日本農薬株式会社にある。

(血液生化学的検査の結果表)

被験物質による影響として、総蛋白の低値がトルフェンピラドの 100ppm 群の雄でみられた。

GPT および ALP の低値が、
、トルフェンピラド投与群にみられたが、それらの変化の程度はわずかであること、また、通常 毒性学的に問題となる高値とは逆の変化であることから、毒性学的意義はないと考えられた。総ビリルビンの低値が、
およびトルフェンピラド投与群でみられたが、軽度な変化であり、貧血や尿中ビリルビンあるいはウロビリノーゲンに変化が観察されないことから、毒性学的意義はないと考えられた。その他、3 または 10ppm に変化がみられたが、いずれの変化も用量との関連性がない変化であった。

尿検査：投与 4 週時に全動物を対象として、採取した尿を用いて以下の項目を測定した。
色調、pH、蛋白、ケトン体、グルコース、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン、沈渣

共通対照群に比べ、
の 10、30 および 100ppm 投与群の雌で尿蛋白陽性例の減少がみられたが、血清総蛋白には変化がなく、腎臓の病理組織学的検査にも異常所見がないこと、さらに、通常 毒性学的に問題となる増加とは逆の変動であることから、毒性学的意義はないと考えられた。また、尿蛋白陽性例の減少は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

の 10 および 30ppm 群の雌にもみられたが、同 100ppm 群で同様の変化はみられなかった。

眼科学的検査：投与開始前および投与 4 週時に全動物を対象として、眼外観、前眼部、中間透光体および眼底を検査した。

いずれの被験物質においても、投与に関連する変化はみられなかった。

器官重量：投与期間終了後の全動物を対象として、以下の器官重量（絶対重量）を測定し、相対重量として対体重比も算出した。

脳、副腎、胸腺、脾臓、肺、肝臓、腎臓、精巣、卵巣
共通対照群に比べ、統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

被験物質による影響として、肝臓重量の高値が の 30ppm 以上の群の雌、トルフェンピラドの 30ppm 以上の群の雌雄にみられた。また、腎臓重量の高値が の 30ppm 以上の群の雄および 100ppm 群の雌、 の 100ppm 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日本農薬株式会社にある。

雄にみられ、トルフェンピラドでは30ppm以上の群の雄でみられた。

その他、脳重量の変動が の100ppm群の雌（相対重量の高値）、トルフェンピラドの100ppm群の雄（相対重量の高値）および100ppm群の雌（絶対重量の低値）でみられたが、剖検時体重の変動に起因する二次的変化と考えられた。また、トルフェンピラドの100ppm群でみられた卵巣絶対重量の低値についても、剖検時体重の変動に起因する二次的変化と考えられた。その他の変化は、投与量との関連性のない変化であった。

剖検： 投与期間終了後、全動物を対象として剖検を行った。

種々の変化が観察されたが、いずれの変化も被験物質によるものとは考えられなかった。

病理組織学的検査：全動物を対象として、以下の全組織・器官を固定保存した。組織検査は共通対照群、 100ppm群、 100ppm群、トルフェンピラド100ppm群の全動物の全組織・器官について染色標本を作製し、鏡検した。さらに、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓および前立腺については、 および の3、10、30ppm群、トルフェンピラド10、30ppm群の全動物を同様に鏡検した。

脳、小脳、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経、眼球、視神経、ハーダー腺、外涙腺、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、胸腺、脾臓、リンパ節（下顎、腸間膜）、心臓、胸大動脈、気管、肺（気管支を含む）、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、唾液腺（顎下、舌下）、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、胸骨・大腿骨（骨髄を含む）、骨格筋（大腿部）、皮膚（鼠径部）、肉眼的異常部位

観察された変化の発生状況を表I（雄）およびII（雌）に示す。

各被験物質による変化として、び慢性肝細胞肥大が の100ppm群の雌およびトルフェンピラドの100ppm群の雌でみられた。また、腎臓の尿細管上皮の硝子滴がトルフェンピラドの100ppm群の雄でみられ、膵臓の腺房細胞の肥大がトルフェンピラド同群の雌でみられた。膵臓の腺房細胞の肥大については、軽微な変化が およびトルフェンピラド投与群の雌でみられたが、発現頻度と投与量との関連性はあきらかではなかった。しかし、より程度が明らかな変化（軽度）がトルフェンピラド100ppm群の雌1例にみられ、被験物質による変化と考えられた。

その他、種々の変化が観察されたが、いずれの変化も共通対照群でも観察されるか、または、出現の程度と投与量との関連性に乏しく偶発性的変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上、各被験物質の影響と考えられる変化を次表にまとめて示す。

本試験の結果から無毒性量について、
は雌雄とも 10ppm (雄 : 0.8mg/kg/day、雌 : 0.9mg/kg/day)、
は雄で 30ppm (2.5mg/kg/day)、雌で 100ppm (8.8mg/kg/day) であり、
トルフェンピラドは雌雄とも 10ppm (雌雄 : 0.9mg/kg/day) であった。結論として、
の反復経口投与毒性はトルフェンピラドとほぼ同程度であり、質的にも大差なかった。一方、
の毒性はトルフェンピラドに比べて弱かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 I . 病理組織学的変化 <雄>

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ. 病理組織学的変化 <雌>

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

④

の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料T-41)

試験機関 ポゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*-株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

本試験では 5000 μ g /プレート を最高用量とし、以下公比2で計8用量を設定した。各実験は、3プレート /用量とした。

試験結果：予備試験および本試験の結果を次頁以降の表IとIIに示す。

被験物質では、S9 mix の共存下および非共存下においていずれの用量、また、いずれの菌株においても陰性対照の2倍をこえる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照物質として用いた 2-(2-フル)-3-(5-ニトロ-2-フル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、2-メキシ-6-クロ-9-[3-(2-クロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl、2-アミノアントラセンおよびベンゾ[a]ピレンでは、すべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果から、
は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異を誘発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日本農薬株式会社にある。

表 I. 予備試験の結果

薬物	S9 mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
陽性対照物質	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
	S9 mixを必要とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: アジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピル]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

a: 抗菌性

*: 結晶の析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 II. 本試験の結果

薬物	S9 mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> ⁻	TA98	TA1537	
対照(DMSO)		0						
被験物質	S9 mix [-]	39.1						
		78.1						
		156						
		313						
		625						
		1250						
		2500						
		5000						
対照(DMSO)		0						
被験物質	S9 mix [+]	39.1						
		78.1						
		156						
		313						
		625						
		1250						
		2500						
		5000						
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00	
		コロニー数/プレート						
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00	
		コロニー数/プレート						

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

a: 抗菌性

*: 結晶の析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

⑤

の哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験

(資料T-42)

試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 2001年

被験物質：

試験方法：チャイニーズハムスターの肺組織由来の培養細胞株（CHL/IU 細胞）を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系（S9 mix）の共存下および非共存下で被験物質の染色体異常誘発性を検索した。以下の条件で被験物質処理を行った後、染色体標本を作製し、染色体検査を実施した。なお、被験物質の溶媒としてDMSOを用いた。

（短時間処理法）：6時間処理（S9mix 共存下） +18時間回復

6時間処理（S9mix 非共存下） +18時間回復

（連続処理法）：24時間処理（S9mix 非共存下）

48時間処理（S9mix 非共存下）

予備試験として各被験物質処理条件における細胞増殖抑制試験を実施し、得られた50%細胞増殖抑制濃度を染色体検査のための最高用量とした。細胞増殖抑制試験の結果を表Iに示す。

[判定基準] 異常細胞の出現率（%）について以下の判定基準を設けた。

- ・5%未満 陰性（-）
- ・5%以上 10%未満 疑陽性（±）
- ・10%以上 陽性（+）

試験結果：染色体検査の結果を表II-1~4に示す。

被験物質では短時間処理および連続処理のいずれの処理においても、染色体の数的異常細胞および構造異常細胞の出現頻度に増加はみられなかった。一方、陽性対照物質のシクロフォスファミドおよびマイトマイシンCでは、構造異常細胞の出現頻度にあきらかな増加がみられた。

以上の結果から、 は本試験条件下で染色体異常を誘発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日本農薬株式会社にある。

表 I. 細胞増殖抑制試験の結果表

処理法	用量 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増殖抑制率(%) ¹⁾	細胞状態 ²⁾	結晶析出 ³⁾
<短時間処理法> 6+18時間 + S9mix	0 (無処理)			
	0 (溶媒対照)			
	39.1			
	78.1			
	156			
	313			
	625			
	1250			
	2500			
	5000			
50%細胞増殖抑制濃度: $\mu\text{g/mL}$				
<短時間処理法> 6+18時間 - S9mix	0 (無処理)			
	0 (溶媒対照)			
	39.1			
	78.1			
	156			
	313			
	625			
	1250			
	2500			
	5000			
50%細胞増殖抑制濃度: $\mu\text{g/mL}$				
<連続処理法> 24時間 - S9mix	0 (無処理)			
	0 (溶媒対照)			
	39.1			
	78.1			
	156			
	313			
	625			
	1250			
	2500			
	5000			
50%細胞増殖抑制濃度: $\mu\text{g/mL}$				
<連続処理法> 48時間 - S9mix	0 (無処理)			
	0 (溶媒対照)			
	39.1			
	78.1			
	156			
	313			
	625			
	1250			
	2500			
	5000			
50%細胞増殖抑制濃度: $\mu\text{g/mL}$				

1) 抑制率(%) = (1 - 被験物質の細胞数 ÷ 溶媒対照の細胞数) × 100

2) 細胞状態 - : 正常

+ : 少数の生存細胞で不連続性が観察される。

++ : 約半数の生存細胞で不連続性が観察される。

+++ : ほとんどの生存細胞で不連続性が観察される。

3) 結晶析出 - : なし、+ : あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ-1. 染色体検査の結果表<短時間処理法、6時間 (+S9mix) +18時間>

	用量 (μ g/mL)	観察 細胞 数	数的異常		構造異常：異常細胞の出現率 (%)								
			倍数体の 出現率(%)	判定	g	ctb	cte	csb	cse	other	TA	判定	
無処置対照	0	200											
溶媒対照	0	200											
被験物質	78.1	200		陰性									陰性
	156	200		陰性									陰性
	313	200		陰性									陰性
	625	200		陰性									陰性
	1250	8		TOX									TOX
陽性対照 CP	15	200		陰性									陽性

g: ギャップ, ctb: 染色分体型切断, cte: 染色分体型交換, csb: 染色体型切断, cse: 染色体型交換
 other: 断片化など, TA: ギャップを含めない場合の総異常細胞出現率
 TOX: 細胞毒性
 CP: シクロフォスファミド

表Ⅱ-2. 染色体検査の結果表<短時間処理法、6時間 (-S9mix) +18時間>

	用量 (μ g/mL)	観察 細胞 数	数的異常		構造異常：異常細胞の出現率 (%)								
			倍数体の 出現率(%)	判定	g	ctb	cte	csb	cse	other	TA	判定	
無処置対照	0	200											
溶媒対照	0	200											
被験物質	78.1	200		陰性									陰性
	156	200		陰性									陰性
	313	200		陰性									陰性
	625	192		TOX									TOX
	1250	24		TOX									TOX
陽性対照 MMC	0.05	200		陰性									陽性

g: ギャップ, ctb: 染色分体型切断, cte: 染色分体型交換, csb: 染色体型切断, cse: 染色体型交換
 other: 断片化など, TA: ギャップを含めない場合の総異常細胞出現率
 TOX: 細胞毒性
 MMC: マイトマイシン C

備考: 1250 μ g/mLにおいて、染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度に高値がみられた。しかし、この用量では細胞毒性が極めて強く観察されたこと、ならびに 625 μ g/mLにおいては同様の出現頻度の高値がみられなかったことから、1250 μ g/mLにおける染色体の構造異常の増加は被験物質の構造異常誘発性を示唆する変化とは考えられず、最終判定には含めなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 II-3. 染色体検査の結果表<連続処理法、24 時間 (- S9mix) >

	用量 (μ g/mL)	観察 細胞 数	数的異常		構造異常：異常細胞の出現率 (%)							
			倍数体の 出現率(%)	判定	g	ctb	cte	csb	cse	other	TA	判定
無処置対照	0	200										
溶媒対照	0	200										
被験物質	4.89	200		陰性								陰性
	9.78	200		陰性								陰性
	19.6	200		陰性								陰性
	39.1	200		陰性								陰性
	78.3	200		陰性								陰性
	157	200		陰性								陰性
313	200		陰性								陰性	
陽性対照 MMC	0.05	200		陰性								陽性

g: ギャップ, ctb: 染色分体型切断, cte: 染色分体型交換, csb: 染色体型切断, cse: 染色体型交換

other: 断片化など, TA: ギャップを含めない場合の総異常細胞出現率

TOX: 細胞毒性

MMC: マイトマイシン C

表 II-4. 染色体検査の結果表<連続処理法、48 時間 (- S9mix) >

	用量 (μ g/mL)	観察 細胞 数	数的異常		構造異常：異常細胞の出現率 (%)							
			倍数体の 出現率(%)	判定	g	ctb	cte	csb	cse	other	TA	判定
無処置対照	0	200										
溶媒対照	0	200										
被験物質	4.89	200		陰性								陰性
	9.78	200		陰性								陰性
	19.6	200		陰性								陰性
	39.1	200		陰性								陰性
	78.3	200		陰性								陰性
	157	200		陰性								陰性
313	57		TOX									TOX
陽性対照 MMC	0.05	200		陰性								陽性

g: ギャップ, ctb: 染色分体型切断, cte: 染色分体型交換, csb: 染色体型切断, cse: 染色体型交換

other: 断片化など, TA: ギャップを含めない場合の総異常細胞出現率

TOX: 細胞毒性

MMC: マイトマイシン C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

⑥

のラットを用いた小核試験

(資料T-43)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：

試験動物：SD系ラット、1群雄6匹（ただし、高用量群のみ10匹に投与）

投与開始時9週齢（体重303～372g）

試験方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0(溶媒対照)、5、10、20mg/kgの用量で24時間間隔で2回強制経口投与した。

小核

試験の最高用量を20mg/kgとしたが、この用量では死亡が予測されたため、投与動物数を高用量群のみ10匹とした。

2回目の投与後24時間に動物を屠殺し、アクリジンオレンジ染色による骨髄塗抹標本を作製した。各動物2000個の幼若赤血球を観察し、被験物質投与群で小核を有する幼若赤血球の出現頻度が、溶媒対照群の値に比べて統計学的に有意な増加を示した場合に陽性と判定した。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

の高用量群20mg/kgで10例中4例の死亡がみられた。それ以外に死亡例は観察されなかった。骨髄塗抹標本を観察した結果、では低用量の5mg/kg以上の投与群で対照群にくらべて幼若赤血球の出現頻度の低下（骨髄細胞の増殖抑制）がみられた。小核を有する幼若赤血球（MNIE）の出現頻度は、いずれの投与群においても増加しなかった。一方、陽性対照物質のシクロフォスファミド投与群では有意なMNIEの出現頻度の増加がみられた。

以上の結果から、はラットを用いた小核試験において小核を誘発せず、*in vivo*染色体異常誘発能を有しないと判断された。

結果表：

試験物質	投与量 × 投与回数	標本 作製 時期	検査 動物 数	IE ¹⁾ 数 / 全赤血球数	IE (%) (平均±SD)	MNIE ²⁾ 数 / IE 数	MNIE (%) (平均±SD)	判定
溶媒対照 (0.5%CMC-Na)	0 mg/kg×2	最終 投与 後 24 時間	6					
被験物質 ()	5 mg/kg×2		6					陰性
	10 mg/kg×2		6					陰性
	20 mg/kg×2		6					陰性
陽性対照 (シクロアスタチン)	20 mg/kg×1		6					陽性

1) IE: 幼若赤血球

2) MNIE: 小核を有する幼若赤血球

*: p<0.05 (Student t 検定)

#: p<0.05 (Kastenbaum and Bowman の検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) の毒性

① のラットにおける急性経口毒性試験 (資料T-44)
試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]
報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢 (体重 雄 216~233 g、雌 143~165 g)

試験期間: 14日間観察

投与方法: 被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、投与前一晩絶食させた動物に強制経口投与した。なお、対照群の動物には投与溶媒のみを同様に投与した。

検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日(1日)、投与後2、3、4、8、11および15日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 10, 30, 100, 300, 1000	
LD ₅₀ 値	70.8	35.5
95%信頼限界 (mg/kg)	34.7~144.5	17.4~72.4
死亡開始時間 死亡終了時間	投与後 15 分 投与後 6 時間 ¹⁾	投与後 5 分以内 投与後 6 日 ¹⁾
症状発現時間 症状消失時間	投与後 5 分以内 投与後 2 日	
徴候のみられない 最高投与量 (mg/kg)	10	

1) 最終の死亡個体を発見した時間または日。

症状として、雌雄とも自発運動の低下、腹臥、呼吸数の減少、呼吸深大、呼吸困難、下痢がみられた。また、強直性痙攣が 1000 mg/kg 群の雌の死亡例の一部でみられた。

体重の増加抑制が 300 mg/kg 群の雌雄で投与後 4 日までみられたが、その後は順調な増加がみられた。その他の投与群では、体重に影響はみられなかった。

剖検では、死亡例および生存例とも主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

② のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 T-45)

試験機関 大塚化学

報告書作成年 2000年

試験目的：トルフェンピラド原体のラット急性経口毒性試験 (資料 T-1, 2, 3) において投与溶媒の違いにより毒性値にやや差異がみられた。したがって、本代謝物について CMC-Na 水溶液を投与溶媒として用いたラットの試験 (資料 T-44) に加え、オリーブ油を用いた急性経口毒性を検討することとした。

被験物質：

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢 (体重 雄 180.3~208.7g、雌 133.0~158.0g)

試験期間：14日間観察

投与方法：被験物質をオリーブ油に懸濁し、投与前一晚絶食させた動物に強制経口投与した。なお、対照群の動物にはオリーブ油のみを同様に投与した。

検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日 (1日)、投与後2、3、4、6、8、11および15日に測定した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 10, 30, 60, 100, 200	
LD ₅₀ 値	30~60	
95%信頼限界 (mg/kg)	(算出不能)	
死亡開始時間	投与後 15分	投与後 30分
死亡終了時間	投与後 2日 ¹⁾	投与後 2日 ¹⁾
症状発現時間	投与後 5分	投与後 5分
症状消失時間	投与後 3日	投与後 2日
死亡例のみられなかった最高投与量 (mg/kg)	30	

1) 最終の死亡個体を発見した日。

症状として、雌雄とも自発運動の低下、腹臥、不整呼吸、眼瞼下垂および肛門周囲の汚れがみられた。また、少数例で横臥および歩行異常がみられた。

体重の増加抑制が雄の 100 mg/kg 群では投与後 2日、200mg/kg 群では投与後 3日までみられたが、その後は順調な増加がみられた。また、雌の 60mg/kg 群で投与後 2日に増加抑制がみられたが、その後は順調な増加がみられた。その他の投与群では、体重に影響はみられなかった。

剖検では、死亡例および生存例とも主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

- ③ の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料T-46)
試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]
報告書作成年 1999年

被験物質：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*-株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

各菌株ごと予備試験で抗菌性がみられた最低濃度を本試験の最高用量として設定し、以下公比2で計8用量を設定した。各実験は、3プレート/用量とした。

試験結果：予備試験および本試験の結果を次頁以降の表IとIIに示す。

被験物質では、S9 mixの共存下および非共存下においていずれの用量、また、いずれの菌株においても陰性対照の2倍をこえる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照物質として用いた2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl、2-アミノアントラセンおよびベンゾ[a]ピレンでは、すべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果から、 は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異を誘発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日本農薬株式会社にある。

表 I. 予備試験の結果

薬 物	S9 mix の 有 無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i> ⁻	TA98	TA1537	
対照(DMSO)		0						
被験物質	S9 mix [-]	0.305						
		1.22						
		4.88						
		19.5						
		78.1						
		313						
		1250						
		5000						
対照(DMSO)		0						
被験物質	S9 mix [+]	0.305						
		1.22						
		4.88						
		19.5						
		78.1						
		313						
		1250						
		5000						
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00	
		コロニー数/プレート						
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00	
		コロニー数/プレート						

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

a: 抗菌性

*: 結晶の析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ. 本試験の結果

薬物	S9 mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
対照(DMSO)		0						
被験物質	S9 mix [-]	2.44						
		4.88						
		9.77						
		19.5						
		39.1						
		78.1						
		156						
		313						
		625						
		1250						
対照(DMSO)		0						
被験物質	S9 mix [+]	2.44						
		4.88						
		9.77						
		19.5						
		39.1						
		78.1						
		156						
		313						
		625						
		1250						
陽性対照物質	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00	
		コロニー数/プレート						
陽性対照物質	S9 mixを必要とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00	
		コロニー数/プレート						

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシロ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

a: 抗菌性

*: 結晶の析出

-: 非実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

④

の哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験

(資料T-47)

試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 2001年

被験物質：

試験方法：チャイニーズハムスターの肺組織由来の培養細胞株（CHL/IU 細胞）を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系（S9 mix）の共存下および非共存下で被験物質の染色体異常誘発性を検索した。以下の条件で被験物質処理を行った後、染色体標本を作製し、染色体検査を実施した。なお、被験物質の溶媒としてDMSOを用いた。

（短時間処理法）：6時間処理（S9mix 共存下） +18時間回復

6時間処理（S9mix 非共存下） +18時間回復

（連続処理法）：24時間処理（S9mix 非共存下）

48時間処理（S9mix 非共存下）

予備試験として各被験物質処理条件における細胞増殖抑制試験を実施し、得られた50%細胞増殖抑制濃度を染色体検査のための最高用量とした。細胞増殖抑制試験の結果を表Iに示す。

[判定基準] 異常細胞の出現率（%）について以下の判定基準を設けた。

- ・5%未満 陰性（-）
- ・5%以上 10%未満 疑陽性（±）
- ・10%以上 陽性（+）

試験結果：染色体検査の結果を表II-1~4に示す。

被験物質では短時間処理および連続処理のいずれの処理においても、染色体の数的異常細胞および構造異常細胞の出現頻度に増加はみられなかった。一方、陽性対照物質のシクロフォスファミドおよびマイトマイシンCでは、構造異常細胞の出現頻度にあきらかな増加がみられた。

以上の結果から、 は本試験条件下で染色体異常を誘発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日本農薬株式会社にある。

表 I. 細胞増殖抑制試験の結果表

処理法	用量 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増殖抑制率(%) ¹⁾	細胞状態 ²⁾	結晶析出 ³⁾
<短時間処理法> 6+18時間 + S9mix	0 (無処理)			
	0 (溶媒対照)			
	39.1			
	78.1			
	156			
	313			
	625			
	1250			
	2500			
	5000			
50%細胞増殖抑制濃度: $\mu\text{g/mL}$				
<短時間処理法> 6+18時間 - S9mix	0 (無処理)			
	0 (溶媒対照)			
	39.1			
	78.1			
	156			
	313			
	625			
	1250			
	2500			
	5000			
50%細胞増殖抑制濃度: $\mu\text{g/mL}$				
<連続処理法> 24時間 - S9mix	0 (無処理)			
	0 (溶媒対照)			
	39.1			
	78.1			
	156			
	313			
	625			
	1250			
	2500			
	5000			
50%細胞増殖抑制濃度: $\mu\text{g/mL}$				
<連続処理法> 48時間 - S9mix	0 (無処理)			
	0 (溶媒対照)			
	39.1			
	78.1			
	156			
	313			
	625			
	1250			
	2500			
	5000			
50%細胞増殖抑制濃度: $\mu\text{g/mL}$				

1) 抑制率(%) = (1 - 被験物質の細胞数 ÷ 溶媒対照の細胞数) × 100

2) 細胞状態 - : 正常

+ : 少数の生存細胞で不連続性が観察される。

TOX : ほとんどの細胞がプレート表面から剥離するか、死滅している。生存細胞はほとんど観察されない。

3) 結晶析出 - : なし、+ : あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 II-1. 染色体検査の結果表<短時間処理法、6時間 (+S9mix) +18時間>

	用量 (μ g/mL)	観察 細胞 数	数的異常		構造異常：異常細胞の出現率 (%)								
			倍数体の 出現率(%)	判定	g	ctb	cte	csb	cse	other	TA	判定	
無処置対照	0	200											
溶媒対照	0	200											
被験物質	40.0	200		陰性									陰性
	80.0	200		陰性									陰性
	120	200		陰性									陰性
	160	200		陰性									陰性
	200	0		TOX									TOX
陽性対照 CP	15	200		陰性									陽性

g: ギャップ, ctb: 染色分体型切断, cte: 染色分体型交換, csb: 染色体型切断, cse: 染色体型交換

other: 断片化など, TA: ギャップを含めない場合の総異常細胞出現率

TOX: 細胞毒性

CP: シクロフォスファミド

表 II-2. 染色体検査の結果表<短時間処理法、6時間 (- S9mix) +18時間>

	用量 (μ g/mL)	観察 細胞 数	数的異常		構造異常：異常細胞の出現率 (%)								
			倍数体の 出現率(%)	判定	g	ctb	cte	csb	cse	other	TA	判定	
無処置対照	0	200											
溶媒対照	0	200											
被験物質	40.0	200		陰性									陰性
	80.0	200		陰性									陰性
	120	200		陰性									陰性
	160	0		TOX									TOX
	200	0		TOX									TOX
陽性対照 MMC	0.05	200		陰性									陽性

g: ギャップ, ctb: 染色分体型切断, cte: 染色分体型交換, csb: 染色体型切断, cse: 染色体型交換

other: 断片化など, TA: ギャップを含めない場合の総異常細胞出現率

TOX: 細胞毒性

MMC: マイトマイシン C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 II-3. 染色体検査の結果表<連続処理法、24 時間 (- S9mix) >

	用量 (μ g/mL)	観察 細胞 数	数的異常		構造異常：異常細胞の出現率 (%)								
			倍数体の 出現率(%)	判定	g	ctb	cte	csb	cse	other	TA	判定	
無処置対照	0	200											
溶媒対照	0	200											
被験物質	10.0	200		陰性									陰性
	30.0	200		陰性									陰性
	50.0	200		陰性									陰性
	70.0	200		陰性									陰性
	90.0	200		陰性									陰性
	110	0		TOX									TOX
	130	0		TOX									TOX
陽性対照 MMC	0.05	200		陰性									陽性

g: ギャップ, ctb: 染色体型切断, cte: 染色体型交換, csb: 染色体型切断, cse: 染色体型交換

other: 断片化など, TA: ギャップを含めない場合の総異常細胞出現率

TOX: 細胞毒性

MMC: マイトマイシン C

表 II-4. 染色体検査の結果表<連続処理法、48 時間 (- S9mix) >

	用量 (μ g/mL)	観察 細胞 数	数的異常		構造異常：異常細胞の出現率 (%)								
			倍数体の 出現率(%)	判定	g	ctb	cte	csb	cse	other	TA	判定	
無処置対照	0	200											
溶媒対照	0	200											
被験物質	10.0	200		陰性									陰性
	30.0	200		陰性									陰性
	50.0	200		陰性									陰性
	70.0	200		陰性									陰性
	90.0	79		TOX									TOX
	110	0		TOX									TOX
	130	0		TOX									TOX
陽性対照 MMC	0.05	200		陰性									陽性

g: ギャップ, ctb: 染色体型切断, cte: 染色体型交換, csb: 染色体型切断, cse: 染色体型交換

other: 断片化など, TA: ギャップを含めない場合の総異常細胞出現率

TOX: 細胞毒性

MMC: マイトマイシン C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

⑤ のラットを用いた小核試験

(資料T-48)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：

試験動物：SD系ラット、1群雄6匹（ただし、高用量群のみ10匹に投与）

投与開始時9週齢（体重307～349g）

試験方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0(溶媒対照)、5、10、20mg/kgの用量で24時間間隔で2回強制経口投与した。

小核試験の最高用量を20mg/kgとしたが、この用量では死亡が予測されたため、投与動物数を高用量群のみ10匹とした。

2回目の投与後24時間に動物を屠殺し、アクリジンオレンジ染色による骨髄塗抹標本を作製した。各動物2000個の幼若赤血球を観察し、被験物質投与群で小核を有する幼若赤血球の出現頻度が、溶媒対照群の値に比べて統計学的に有意な増加を示した場合に陽性と判定した。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

の高用量群20mg/kgで10例中1例の死亡がみられた。それ以外に死亡例は観察されなかった。骨髄塗抹標本を観察した結果、では低用量の5mg/kg以上の投与群で対照群にくらべて幼若赤血球の出現頻度の低下（骨髄細胞の増殖抑制）がみられた。小核を有する幼若赤血球（MNIE）の出現頻度は、いずれの投与群においても増加しなかった。一方、陽性対照物質のシクロフォスファミド投与群では有意なMNIEの出現頻度の増加がみられた。

以上の結果から、はラットを用いた小核試験において小核を誘発せず、*in vivo*染色体異常誘発能を有しないものと判断された。

結果表：

試験物質	投与量 × 投与回数	標本 作製 時期	検査 動物 数	IE ¹⁾ 数 / 全赤血球数	IE (%) (平均±SD)	MNIE ²⁾ 数 / IE 数	MNIE (%) (平均±SD)	判定
溶媒対照 (0.5%CMC-Na)	0 mg/kg × 2	最終 投与 後 24 時間	6					
被験物質	5 mg/kg × 2		6					陰性
	10 mg/kg × 2		6					陰性
	20 mg/kg × 2		6					陰性
陽性対照 (シクロホスファミド [*])	20 mg/kg × 1			6				陽性

1) IE: 幼若赤血球

2) MNIE: 小核を有する幼若赤血球

*: p<0.05 (Student t 検定)

#: p<0.05 (Kastenbaum and Bowman の検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) の毒性

① のラットにおける急性経口毒性試験 (資料T-49)
試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]
報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢 (体重 雄 199~217g、雌 154~177g)

試験期間: 14日間観察

投与方法: 被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、投与前一晩絶食させた動物に強制経口投与した。なお、対照群の動物には投与溶媒のみを同様に投与した。

検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日(1日)、投与後2、3、4、8、11および15日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 60, 200, 600, 2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	600~2000	>2000
死亡開始時間 死亡終了時間	投与後6時間 投与後5日 ¹⁾	(死亡なし)
症状発現時間 症状消失時間	投与後15分 投与後5日	投与後15分 投与後2日
徴候のみられない 最高投与量 (mg/kg)	200	

1) 最終の死亡個体を発見した日。

症状として、雌雄とも自発運動の低下および呼吸数の減少がみられ、雄ではさらに振戦、腹臥、呼吸深大および粗毛がみられた。

体重の増加抑制または減少が2000 mg/kg群の雄で投与後4日までみられた。その他の雄の投与群および雌の全投与群には体重に関して影響はみられなかった。

剖検では、2000 mg/kg群の雄の死亡例において腺胃の暗赤色点および脾臓の小型化がみられた。また、生存例では2000 mg/kg群の雄1例に腎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日本農薬株式会社にある。

- ② の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料T-50)
試験機関 ボゾリサーチセンター[GLP対応]
報告書作成年 1999年

被験物質：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

本試験ではサルモネラ菌株では 1250 μ g/プレート、大腸菌株では 5000 μ g/プレートを最高用量とし、以下公比2で計6用量を設定した。各実験は、3プレート/用量とした。

試験結果：予備試験および本試験の結果を次頁以降の表IとIIに示す。

被験物質では、S9 mix の共存下および非共存下においていずれの用量、また、いずれの菌株においても陰性対照の2倍をこえる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照物質として用いた 2-(2-フル)-3-(5-ニトロ-2-フル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl、2-アミノアントラセンおよびベンゾ[a]ピレンでは、すべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果から、
は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異を誘発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日本農薬株式会社にある。

表 I. 予備試験の結果

薬 物	S9 mix の 有 無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
		コロニー数/プレート					
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00
		コロニー数/プレート					

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナトリウムアジド

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピル]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

*: 抗菌性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ. 本試験の結果

薬 物	S9 mix の 有 無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		39.1					
		78.1					
		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		39.1					
		78.1					
		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
		コロニー数/プレート					
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00
		コロニー数/プレート					

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

*: 抗菌性.

-. 非実施.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) の毒性

① のラットにおける急性経口毒性試験 (資料T-51)
試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]
報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢 (体重 雄 195~202 g、雌 157~174 g)

試験期間: 14日間観察

投与方法: 被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、投与前一晩絶食させた動物に強制経口投与した。なお、対照群の動物には投与溶媒のみを同様に投与した。

検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日(1日)、投与後2、3、4、8、11および15日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間 死亡終了時間	(死亡例なし)	
症状発現時間 症状消失時間	(症状発現なし)	
徴候のみられない 最高投与量 (mg/kg)	2000	

いずれの動物にも、被験物質の投与による症状の発現、体重への影響はみられなかった。また、主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

- ② の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料T-52)
試験機関 ボゾリサーチセンター[GLP対応]
報告書作成年 1999年

被験物質：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*⁻株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9 mix)の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

本試験では5000 μ g/プレートを最高用量とし、以下公比2で計8用量を設定した。各実験は、3プレート/用量とした。

試験結果：予備試験および本試験の結果を次頁以降の表Iと表IIに示す。

被験物質では、S9 mixの共存下および非共存下においていずれの用量、また、いずれの菌株においても陰性対照の2倍をこえる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照物質として用いた2-(2-フル)3-(5-ニトロ-2-フル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、2-メキシ-6-クロ-9-[3-(2-クロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl、2-アミノアントラセンおよびベンゾ[a]ピレンでは、すべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果から、
は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異を誘発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日本農薬株式会社にある。

表 I. 予備試験の結果

薬 物	S9 mix の 有 無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00
		コロニー数/プレート					

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: アジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピル]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

a: 抗菌性

*: 結晶の析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表II. 本試験の結果

薬物	S9 mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		39.1					
		78.1					
		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		39.1					
		78.1					
		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
陽性 対照 物質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
		コロニー数/プレート					
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00
		コロニー数/プレート					

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノ]ピロリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

a: 抗菌性

*: 結晶の析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) の毒性

① のラットにおける急性経口毒性試験 (資料T-53)

試験機関 ポゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢 (体重 雄 202~215 g、雌 150~162 g)

試験期間: 14日間観察

投与方法: 被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、投与前一晚絶食させた動物に強制経口投与した。なお、対照群の動物には投与溶媒のみを同様に投与した。

検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日(1日)、投与後2、3、4、8、11および15日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間 死亡終了時間	(死亡例なし)	
症状発現時間	投与後2時間	投与後4時間
症状消失時間	投与後4時間	投与後6時間
死亡例のみられなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	

症状として、雌雄とも下痢がみられた。

体重について被験物質の投与による影響はみられず、また、剖検の結果、主要な組織器官に特記すべき変化もみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

- ② の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料T-54)
試験機関 ポゾリサーチセンター [GLP対応]
報告書作成年 1999年

被験物質：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*-株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

本試験では 5000 μ g / プレート を最高用量とし、以下公比 2 で計 6 用量を設定した。各実験は、3 プレート / 用量とした。

試験結果：予備試験および本試験の結果を次頁以降の表 I と II に示す。

被験物質では、S9 mix の共存下および非共存下においていずれの用量、また、いずれの菌株においても陰性対照の 2 倍をこえる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照物質として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl、2-アミノアントラセンおよびベンゾ[a]ピレンでは、すべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果から、 は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異を誘発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日本農薬株式会社にある。

表 I. 予備試験の結果

薬 物	S9 mix の 有 無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
		コロニー数/プレート					
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00
		コロニー数/プレート					

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシロ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 II. 本試験の結果

薬物	S9 mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
		コロニー数/プレート					
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00
		コロニー数/プレート					

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピル]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6) の毒性

① のラットにおける急性経口毒性試験 (資料T-55)

試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢 (体重 雄 182~236 g、雌 148~165 g)

試験期間: 14日間観察

投与方法: 被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、投与前一晚絶食させた動物に強制経口投与した。なお、対照群の動物には投与溶媒のみを同様に投与した。

検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日(1日)、投与後2、3、4、8、11および15日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0,1000,2000,3000,4000	0,1000,2000
LD ₅₀ 値	2024	>2000
95%信頼限界 (mg/kg)	1726~2373	
死亡開始時間	投与後6時間	(死亡例なし)
死亡終了時間	投与後7日 ¹⁾	
症状発現時間	投与後1時間	投与後2時間
症状消失時間	投与後8日	投与後2日
	死亡例のみられなかった 最高投与量: 1000 mg/kg	徴候のみられない 最高投与量: 1000 mg/kg

1) 最終の死亡個体を発見した日。

症状として、雌雄とも自発運動の低下がみられた。その他、雄で呼吸数の減少、下痢および粗毛がみられた。

体重の減少または増加抑制が 1000 mg/kg 群の雄および 2000 mg/kg 群の雌雄では投与後2日、3000 mg/kg 群の雄では投与後4日までみられた。しかし、その後は順調な体重増加がみられた。4000 mg/kg 群の雄の体重は、全例死亡まで減少した。

剖検の結果、投与当日の死亡例では、腺胃の一部暗赤色化および小腸の暗赤色液貯留がみられた。投与後4日以降の死亡例では胸腺の暗赤色化および萎縮、脾臓の萎縮、副腎の腫大、腺胃の暗赤色点がみられた。生存例では、主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

- ② の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料T-56)
試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]
報告書作成年 1999年

被験物質:

試験方法: ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*-株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

本試験では 5000 μ g/プレートを最高用量とし、以下公比2で計8用量を設定した。各実験は、3プレート/用量とした。

試験結果: 予備試験および本試験の結果を次頁以降の表IとIIに示す。

被験物質では、S9 mix の共存下および非共存下においていずれの用量、また、いずれの菌株においても陰性対照の2倍をこえる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照物質として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、2-メキシ-6-クロ-9-[3-(2-クロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl、2-アミノアントラセンおよびベンゾ[a]ピレンでは、すべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果から、 は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異を誘発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日本農薬株式会社にある。

表 I. 予備試験の結果

薬 物	S9 mix の 有 無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
対照(DMSO)		0						
被験物質	S9 mix [-]	0.305						
		1.22						
		4.88						
		19.5						
		78.1						
		313						
		1250						
		5000						
対照(DMSO)		0						
被験物質	S9 mix [+]	0.305						
		1.22						
		4.88						
		19.5						
		78.1						
		313						
		1250						
		5000						
陽性対照物質	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00	
		コロニー数/プレート						
	S9 mixを必要とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00	
		コロニー数/プレート						

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピル]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

a: 抗菌性

*: 結晶の析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ. 本試験の結果

薬 物	S9 mix の 有 無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		39.1					
		78.1					
		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		39.1					
		78.1					
		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
		コロニー数/プレート					
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00
		コロニー数/プレート					

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: アジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

a: 抗菌性

*: 結晶の析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

7) の毒性

①

のラットにおける急性経口毒性試験 (資料T-57)

試験機関 ポゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢 (体重 雄 188~209 g、雌 150~172 g)

試験期間: 14日間観察

投与方法: 被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na 水溶液に懸濁し、投与前一晚絶食させた動物に強制経口投与した。なお、対照群の動物には投与溶媒のみを同様に投与した。

検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日(1日)、投与後2、3、4、8、11および15日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 60, 200, 600, 2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	1095 (算定不能)	
95%信頼限界		
死亡開始時間	投与後4時間	
死亡終了時間	投与後2日 ¹⁾	
症状発現時間	投与後15分	投与後1時間
症状消失時間	投与後2日	投与後2日
徴候のみられない 最高投与量 (mg/kg)	200	

1) 最終の死亡個体を発見した日。

症状として、雌雄とも自発運動の低下、呼吸数の減少、腹臥、呼吸深大、体温低下、流涙および流涎がみられ、雄では少数例で呼吸困難がみられた。

体重の増加抑制が、600 mg/kg 群の雄で投与後2日にみられた。その他の被験物質投与群では影響がみられなかった。

剖検では、2000 mg/kg 群の雄の死亡例で腺胃の暗赤色点がみられた。一方、生存例では主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

②

の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料T-58)

試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験方法: ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*-株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

本試験では 5000 μ g/プレートを最高用量とし、以下公比2で計6用量を設定した。各実験は、3プレート/用量とした。

試験結果: 予備試験および本試験の結果を次頁以降の表IとIIに示す。

被験物質では、S9 mixの共存下および非共存下においていずれの用量、また、いずれの菌株においても陰性対照の2倍をこえる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照物質として用いた2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl、2-アミノアントラセンおよびベンゾ[a]ピレンでは、すべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果から、
は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異を誘発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日本農薬株式会社にある。

表 I. 予備試験の結果

薬 物	S9 mix の 有 無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		0.305					
		1.22					
		4.88					
		19.5					
		78.1					
		313					
		1250					
		5000					
陽性対照物質	S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
	S9 mix を必要とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピル]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ. 本試験の結果

薬物	S9 mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		156					
		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
陽性対照物質	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00
		コロニー数/プレート					
	S9 mixを必要とするもの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00
		コロニー数/プレート					

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

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

NaN₃: ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

8) の毒性

①

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-59)

試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時7週齢(体重雄202~216g、雌155~172g)

試験期間: 14日間観察

投与方法: 被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、投与前一晩絶食させた動物に強制経口投与した。なお、対照群の動物には投与溶媒のみを同様に投与した。

検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日(1日)、投与後2、3、4、8、11および15日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 1000, 2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間	投与後6時間 ¹⁾	
死亡終了時間	投与後6時間 ¹⁾	
症状発現時間	投与後2時間	投与後2時間
症状消失時間	投与後2日	投与後6時間
徴候のみ見られない 最高投与量 (mg/kg)	1000	

1) 2000 mg/kg 群の雄2例および雌1例が投与後6時間に死亡。

症状として、雌雄とも自発運動の低下、呼吸数の減少および下痢がみられた。また、雌の死亡例の一部で腹臥がみられた。

体重の増加抑制が被験物質投与群で投与後2日にみられたが、その後は順調な増加がみられた。

死亡例および生存例ともに、主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

② の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料T-60)

試験機関 日本油料検定協会総合分析センター

報告書作成年 1988年

被験物質：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*⁻株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。投与用量は、5000 μ g/プレートを最高用量とし、以下公比2で計5用量を設定した。各実験は、2プレート/用量とした。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

被験物質では、S9 mix の共存下および非共存下においていずれの用量、また、いずれの菌株においても陰性対照の2倍をこえる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照物質として用いた2-(2-フル)3-(5-ニトロ-2-フル)アクリルアミド^{*}、アジ化ナトリウム、*N*-エチル-*N*'-ニトロ-*N*-ニトログアニジン、9-アミノアクリジン、2-アミノアントラセンおよびベンゾ[a]ピレンでは、すべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果から、^{*}は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異を誘発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日本農薬株式会社にある。

結果表：

薬物	S9 mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0					
被験物質		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0					
被験物質		313					
		625					
		1250					
		2500					
		5000					
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN ₃	ENNG	AF-2	9-AA
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	2	0.1	80
		コロニー数/プレート					
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	2	20	5	5
		コロニー数/プレート					

表中の数値は、2プレートの平均値であり、原報に基づき申請者が算出した。

表中の陽性対照物質の説明

- AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
- NaN₃: アジ化ナトリウム
- ENNG: N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン
- 9-AA: 9-アミノアクリジン
- 2-AA: 2-アミノアントラセン
- BP: ベンゾ[a]ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3. 製剤の毒性

(1) 乳剤の毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-61)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%乳剤

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時 10週齢 (体重 雄 281~305 g、雌 196~209 g)

試験期間：14日間観察

投与方法：被験物質を注射用水に懸濁し、投与前日から一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

検査項目：中毒症状および生死を14日間観察し、体重を投与当日(1日)、投与後2、5、9および14日に測定した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行い、肉眼的変化がみられた死亡例の肺、気管、鼻腔、喉頭、胃および副腎の代表例について病理組織学的検査を実施した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	47, 66, 93, 130, 182, 255, 357, 500	
LD ₅₀ 値	102	83
95%信頼限界 (mg/kg)	75~137	63~109
死亡開始時間	投与後 15分以内	投与後 30分以内
死亡終了時間	投与後 2日 ¹⁾	投与後 3日 ¹⁾
症状発現時間	投与後 15分以内	投与後 15分以内
症状消失時間	投与後 2日	投与後 3日
死亡例のみられなかった 最高投与量 (mg/kg)	47	

1)：最終の死亡例を発見した日。

症状として、雌雄とも自発運動の減少、腹臥位または横臥位、頻呼吸、呼吸緩除、あえぎ様呼吸、呼吸困難、軟便、肛門周囲の汚れがみられた。また、少数例で失調歩行、強直性痙攣、振戦、流涎、散瞳がみられた。

体重では、投与後2日に増加抑制傾向がみられた。投与後5日に雄の130mg/kg群で減少がみられたが、その他の群ではほぼ回復し、投与後9日以降ではすべての群で増加がみられた。

剖検の結果、死亡例で胃、十二指腸または空腸の白色被験物質様物の貯留、胃の黒色巣がみられた。また、肺の赤色巣、白色巣または退縮不全、気管、気管支、または喉頭の白色泡沫液の貯留、鼻腔の白色泡沫液の流出、鼻腔の血液貯留、鼻周囲の血液付着、副腎の腫大がみられた。組織検査では、肺のうっ血および水腫、肺胞内出血、胃および副腎のうっ血がみられた。一方、生存例では主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料T-62)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%乳剤

試験動物：ICR系マウス、1群雌雄各5匹

投与時10週齢（体重 雄 28.5~35.6 g、雌 19.6~23.5 g）

試験期間：14日間観察

投与方法：被験物質を注射用水に懸濁し、投与前日から一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

検査項目：中毒症状および生死を14日間観察し、体重を投与当日（1日）、投与後2、5、9および14日に測定した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行い、肉眼的変化のみられた死亡例の肺および空腸の代表例について病理組織学的検査を実施した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	47, 66, 93, 130, 182	
LD ₅₀ 値	104	108
95%信頼限界 (mg/kg)	(算出不能)	63~337
死亡開始時間	投与後30分以内	投与後30分以内
死亡終了時間	投与後2日 ¹⁾	投与後3日 ¹⁾
症状発現時間	投与後15分以内	
症状消失時間	投与後3日	
徴候のみられない 最高投与量 (mg/kg)	47	

1)：最終の死亡例を発見した日。

症状として、雌雄とも自発運動の減少、腹臥位または横臥位、失調歩行、呼吸困難、あえぎ様呼吸がみられた。

体重では、投与後2日に雄の93mg/kg群で増加の抑制傾向がみられたが、投与後5日にはほぼ回復した。その他の群の動物では被験物質による影響はみられなかった。

剖検の結果、死亡例では胃または十二指腸の白色被験物質様物の貯留、回腸の黒色内容物の貯留、肺の赤色巣、白色巣または暗赤色化がみられた。組織検査では、肺のうっ血、水腫および肺胞内出血がみられた。一方、生存例では主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料T-63)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%乳剤

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時 10週齢 (体重 雄 328~368g、雌 213~247g)

試験期間：14日間観察

投与方法：被験物質を刈毛した背部皮膚に24時間閉鎖塗布した。

24時間後、皮膚に付着した被験物質を微温湯に浸したガーゼで清拭した。なお、対照群の動物には、注射用水のみを同様に処置した。

検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日(1日)、投与後2、5、9および14日に測定した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	
死亡開始・終了時間	(死亡例なし)	
症状発現・消失時間	(症状なし)	
死亡例のみられなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	

いずれの個体にも症状は観察されなかった。

体重の低下が対照群および2000mg/kg群で観察されたが、その程度は対照群に比べ2000mg/kg群でやや大きい傾向を示した。投与後5日以降では順調な増加がみられた。

剖検では、主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

4) ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料T-64)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%乳剤

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時10週齢(体重雄387~457g、雌233~286g)

試験期間：14日間観察

投与方法：乳剤原液をそのまま用いて、ネブライザーによりミストを発生させた。

暴露条件：

		対照 ¹⁾	被験物質				
設定濃度	(mg/L)	0	0.130	0.300	0.450	1.000	1.500
名目濃度 ²⁾	(mg/L)	0	0.212	0.347	0.785	2.247	5.101
実測濃度 ³⁾	(mg/L)	0	0.131	0.228	0.439	1.086	1.410
粒子径分布 (累積%)	>11.0 (μm)		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	7.0 ~ 11.0		98.7	96.1	97.7	98.3	95.2
	4.7 ~ 7.0		97.8	94.3	96.1	96.8	91.2
	3.3 ~ 4.7		94.2	89.7	90.1	91.7	81.5
	2.1 ~ 3.3		81.7	76.4	71.8	74.1	59.6
	1.1 ~ 2.1		53.2	47.9	41.7	42.8	30.8
	0.65 ~ 1.1		23.5	21.9	16.5	16.6	11.4
	0.43 ~ 0.65		3.4	4.3	2.2	2.3	1.8
	<0.43		1.2	1.4	0.7	0.8	0.6
空気力学的質量中位径 (μm)			1.055	1.165	1.295	1.250	1.730
呼吸可能な粒子の割合 ⁵⁾ (%)			98.7	96.1	97.7	98.3	95.2
チャンバー内容積 (L)		600					
チャンバー内通気量 (L/分)		120					
暴露条件		ミスト 4時間 全身暴露					

1): 対照群の動物には、空気のみを暴露させた。

2): 名目濃度は、使用被験物質量を通気量で除した値である。

3): 実測濃度は、捕集したミスト中のトルフェンピラド量をHPLC法で定量し、被験物質中のトルフェンピラド含量(15%)で逆算して求めた。表中の数値は、暴露時間中5回測定の実測値である。

4): 粒子径分布は、アンダーセンサンプラーを用いて測定した。表中の数値は、暴露時間中2回測定の実測値である。

5): 11.0μm以下の粒子の割合(%)

検査項目：中毒症状および生死を14日間観察し、体重を暴露当日(1日)、暴露終了後2、5、9および14日に測定した。また、死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行い、肉眼的変化がみられた死亡例の肺、気管支および空腸の代表例について病理組織学的検査を実施した。しかし、空腸については自己融解が著しく、適切な組織検査ができなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果：

	雄	雌
実測濃度 (mg/L)	0, 0.131, 0.228, 0.439, 1.086, 1.410	
LC ₅₀ 値	0.542	
95%信頼限界 (mg/L)	(算出不能)	
死亡開始時間	暴露開始後 1 時間以内	
死亡終了時間	暴露開始後 4 時間以内	
症状発現時間	暴露開始後 1 時間以内	暴露開始後 1 時間以内
症状消失時間	暴露終了後 2 日	暴露終了後 4 時間以内
死亡例のみられなかった 最高投与量 (mg/L)	0.228	

症状として、雌雄とも自発運動の減少、あえぎ様呼吸、呼吸困難がみられた。また、流涎が少数例でみられた。

体重変化について、暴露前に比べ暴露後 2 日ではほとんどの生存例で減少がみられたが、暴露後 5 日には増加に転じた。

剖検では、死亡例で肺の赤色巣、白色巣または赤色化、気管および気管支の白色泡沫液の貯留、空腸粘膜の赤色化がみられた。組織検査では、肺のうっ血および水腫、気管支の水腫が観察された。一方、生存例では被験物質に起因した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日本農薬株式会社にある。

5) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料T-65)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%乳剤

試験動物：日本白色種ウサギ、雄6匹

群分け時 17 週齢 (体重 2.81~3.19kg)

試験期間：13 日間観察

投与方法：0.5mL の被験物質を刈毛した動物の背部皮膚の 1ヶ所 (2.5×2.5cm) に塗布し、
リント布で覆い、4 時間閉塞適用した。適用終了後、皮膚に残った被験物質は、
微温湯に浸したガーゼで清拭した。

検査項目：適用終了後 1、24、48、72 時間、4 日~13 日 (毎日) に適用部位の刺激性変化
(紅斑、痂皮および浮腫) の有無を観察し、ドレイズ法に従って採点した。

試験結果：適用終了後 1、24、48、72 時間、4、7、10 および 13 日時点で観察された刺激
性変化の採点を次表に示す。

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	13 日
紅斑および痂皮	4	1.0	1.8	2.8	2.8	2.8	1.0	0.2	0.0
浮腫	4	0.0	1.5	1.8	3.0	3.0	1.5	0.0	0.0
合計	8	1.0	3.3	4.7	5.8	5.8	2.5	0.2	0.0

表中の数値は、6 匹の平均値である。

刺激性変化として、紅斑が投与後 1 時間から、浮腫が投与後 24 時間から観察された。刺激性変化は投与後 7 日から経時的に軽減化し、13 日後には消失した。投与後 24 および 72 時間の結果から皮膚一次刺激性指数は、4.6 と算出された。

以上の結果から、15%乳剤のウサギの皮膚に対する刺激性は中程度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日本農薬株式会社にある。

6) ウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料T-66)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%乳剤

試験動物：日本白色種ウサギ、雄9匹

群分け時18週齢(体重3.37~3.53kg)

試験期間：21日間観察

投与方法：0.1mLの被験物質を片側の下部眼瞼結膜嚢内へ投与した。非洗眼群の6匹はそのままとし、洗眼群の3匹は投与後2分に微温生理食塩水で洗眼した。

検査項目：投与後1、24、48、72時間、4日~21日(毎日)に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、ドレイズ法に基き採点した。

試験結果：投与後1、24、48、72時間、4、7、10、13、16および21日時点で観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

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	13 日	16 日	21 日
非洗眼群 [6匹の 平均]	角膜 混濁	程度	4	0.0	1.0	1.0	0.8	0.8	0.3	0.2	0.2	0.0	0.0
		面積	4	0.0	3.7	2.7	1.7	1.3	0.3	0.2	0.2	0.0	0.0
	虹	彩	2	0.0	1.0	1.0	0.3	0.5	0.3	0.2	0.2	0.0	0.0
	結膜	発赤	3	1.0	1.7	1.8	1.5	1.3	0.7	0.2	0.2	0.0	0.0
		浮腫	4	1.2	1.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	3	2.8	2.2	1.5	0.8	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計 ¹⁾			110	10.0	33.3	25.3	14.7	12.8	4.7	2.0	2.0	0.0
洗眼群 [3匹の 平均]	角膜 混濁	程度	4	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.3	0.3	0.7	0.7	0.3
		面積	4	0.0	3.3	2.3	1.7	1.7	0.7	0.7	1.0	1.0	0.7
	虹	彩	2	0.0	1.0	1.0	0.7	0.7	0.3	0.7	0.3	0.0	0.0
	結膜	発赤	3	1.0	1.7	2.0	1.7	1.7	1.0	1.3	0.7	0.0	0.0
		浮腫	4	1.3	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	3	0.0	2.0	1.3	0.3	0.7	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計 ¹⁾			110	4.7	31.7	23.3	15.7	16.3	7.7	9.3	8.0	5.0

1) : Draize 法による評価点 (最高110点)。

非洗眼群では、結膜の刺激性が投与後1時間から、角膜および虹彩の刺激性変化が24時間後からみられた。これらの刺激性変化は投与後48時間から経時的に軽減化し、16日後には消失した。

一方、洗眼群においては非洗眼群と同等な刺激性変化がみられた(最高平均評価点:非洗眼群33.3 vs 洗眼群31.7)。また、3例中1例では、投与後21日においても角膜の混濁が観察されたが、回復傾向にあった。したがって、洗眼群の刺激性は非洗眼群と同程度と考えられた。

以上の結果から、15%乳剤のウサギの眼粘膜に対する刺激性は中程度(A.F.N.O.R.の分類法)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日本農薬株式会社にある。

7) ウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料T-67)

試験機関 大塚化学

報告書作成年 2000年

被験物質：15%乳剤の1000倍水希釈液

試験動物：日本白色種ウサギ、雌6匹（体重 2.13~2.45kg）

試験期間：3日間観察

投与方法：15%乳剤を注射用蒸留水で1000倍（0.1% v/v）に希釈し、その0.1mLを片側の下部眼瞼結膜嚢内へ投与した。

検査項目：投与後1、24、48および72時間に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインに基き採点した。

試験結果：観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

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 [6匹の 平均]	角膜	程度	4	0	0	0	0
	混濁	面積	4	0	0	0	0
	虹	彩	2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合計		110	0	0	0	0

1) : Draize 法による評価点 (最高110点)。

全例の角膜、虹彩および結膜にはいずれの観察時にも刺激性変化がみられなかった。

以上の結果から、15%乳剤1000倍水希釈液のウサギの眼粘膜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日本農薬株式会社にある。

8) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料T-68)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%乳剤

試験動物：ハートレー系モルモット、雄25匹
群分け時5週齢(体重278~347g)

試験期間：惹起暴露終了後2日間観察

試験方法：Buehler法

用量設定根拠：

これらの結果に基き次の濃度が設定された。

感作(経皮投与) 6.25%

惹起(経皮投与) 3.13%

また、陽性対照物質として2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)を用いた。DNCBはオリーブ油と混合し、感作および惹起濃度を1%とした。

感作：被験物質群および陽性対照物質群では、刈毛した各動物の左腹側部に被験物質液またはDNCB液を6時間閉塞貼付した。この投与操作を1週間間隔で計3回繰り返して感作した。

惹起：最終感作の2週間後に刈毛した各動物の右腹側部に、被験物質液またはDNCB液を6時間閉塞貼付した。

検査項目：惹起後24および48時間に惹起暴露部位の皮膚反応を観察した。

試験結果：観察された惹起暴露部位の皮膚反応を次表に示す。

群名 (供試動物数)	試験物質処置		惹起 後の 観察 時間	惹起暴露後の 皮膚反応評点 ¹⁾										陽 性 動 物 数	感 ²⁾ 作 陽 性 率 (%)
				紅斑と痂皮					浮腫						
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4		
		感作	惹起												
被験物質感作群 (10匹)	被験物質	被験物質	24	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
			48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	
被験物質非感作群 (10匹)	無処置	被験物質	24	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
			48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	
陽性対照物質感作群 (5匹)	DNCB	DNCB	24	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	5	100
			48	0	0	0	3	2	0	0	0	0	5	5	

1)：皮膚反応評点の基準(Draize法)

<紅斑と痂皮>

評点0：紅斑なし

評点1：非常に軽度な紅斑(かろうじて識別できる)

評点2：はっきりした紅斑

評点3：中等度ないし高度紅斑

評点4：高度紅斑(beet redness)からわずかな痂皮の形成(深部損傷)まで

<浮腫>

評点0：浮腫なし

評点1：非常に軽度な浮腫(かろうじて識別できる)

評点2：軽度浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)

評点3：中等度浮腫(約1mmの膨隆)

評点4：高度浮腫(約1mm以上の膨隆と暴露範囲を超えた広がり)

2)：感作陽性率(%) = [陽性動物数 ÷ 供試動物数] × 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

被験物質感作群および非感作群では、惹起後のいずれの観察時間においても皮膚反応は観察されなかった。一方、陽性対照としたDNCB感作群では全例に強い皮膚反応がみられ、感作陽性率は100%であった。

以上の結果から、15%乳剤のBuehler法によるモルモット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日本農薬株式会社にある。

(2) フロアブルの毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-69)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%フロアブル

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時9週齢（体重 雄 263~291 g、雌 174~192 g）

試験期間：14日間観察

投与方法：被験物質を注射用水に懸濁し、投与前日から一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

検査項目：中毒症状および生死を14日間観察し、体重を投与当日（1日）、投与後2、5、9および14日に測定した。死亡動物および観察終了時の全生存動物について剖検を行い、肉眼的変化がみられた死亡例および生存例の肺、胃、盲腸、腎臓、胸腺および脾臓の代表例について病理組織学的検査を実施した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	130, 204, 319, 500, 783	
LD ₅₀ 値	360	153
95%信頼限界 (mg/kg)	250~527	4~245
死亡開始時間	投与後2時間以内	投与後2時間以内
死亡終了時間	投与後3日 ¹⁾	投与後2日 ¹⁾
症状発現時間	投与後15分以内	投与後15分以内
症状消失時間	投与後4日	投与後3日
死亡例のみられなかった最高投与量 (mg/kg)	130	

1)：最終の死亡例を発見した日。

症状として、雌雄とも自発運動の減少、腹臥位または横臥位、呼吸緩徐および呼吸困難、散瞳、軟便、検体様物混入便、肛門周囲の汚れがみられた。さらに、雌で失調歩行がみられた。

体重では、全群で投与後2日に減少がみられた。投与後5日には319 および500mg/kg 群で減少がみられたが、その他の群ではほぼ回復し、投与後9日以降ではすべての群で増加がみられた。

剖検の結果、死亡例で肺の赤色化または褐色化、胃の黒色巣、盲腸の赤色化、消化管内に白色または黄色物質の貯留がみられた。組織検査では、肺の水腫がみられた。一方、生存例では剖検において腹水および胸水の貯留がみられたが、組織検査において被験物質の投与に関連す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日本農薬株式会社にある。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料T-70)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%フロアブル

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時9週齢（体重 雄 331~364 g、雌 209~225 g）

試験期間：14日間観察

投与方法：被験物質を刈毛した背部皮膚に24時間閉鎖塗布した。

24時間後、皮膚に付着した被験物質を微温湯に浸したガーゼで清拭した。なお、対照群の動物には、注射用水のみを同様に処置した。

検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。観察終了時の全生存動物について剖検を行った。また、体重を投与当日（1日）、投与後2、5、9および14日に測定した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	
死亡開始・終了時間	(死亡例なし)	
症状発現・消失時間	(症状なし)	
死亡例のみられなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	

いずれの個体にも症状は観察されなかった。

体重変化について、投与翌日では低下が対照群および2000mg/kg群で観察されたが、投与後5日には2000mg/kg群の雌1例を除きほぼ回復した。投与後9日には被験物質投与による変化はみられなかった。

剖検では、主要な組織器官に特記すべき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日本農薬株式会社にある。

3) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料T-71)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%フロアブル

試験動物：日本白色種ウサギ、雄6匹

群分け時15週齢(体重2.78~3.08kg)

試験期間：3日間観察

投与方法：0.5mLの被験物質を刈毛した動物の背部皮膚の1ヶ所(2.5×2.5cm)に塗布し、
リント布で覆い、4時間閉塞適用した。適用終了後、皮膚に残った被験物質は、
微温湯に浸したガーゼで清拭した。

検査項目：適用終了後1、24、48および72時間に適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮および浮腫)の有無を観察し、ドレイズ法に従って採点した。

試験結果：適用終了後1、24、48および72時間時点で観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

項目	最高 評点	投与後時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑および痂皮	4	0.0	0.0	0.0	0.0
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.0	0.0	0.0	0.0

表中の数値は、6匹の平均値である。

投与後のいずれの観察時間においても、刺激性変化は観察されなかった。

以上の結果から、15%フロアブルのウサギの皮膚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日本農薬株式会社にある。

4) ウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料T-72)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%フロアブル

試験動物：日本白色種ウサギ、雄9匹

群分け時 18 週齢 (体重 3.35~3.57kg)

試験期間：3 日間観察

投与方法：0.1mL の被験物質を片側の下部眼瞼結膜囊内へ投与した。非洗眼群の6匹はそのままとし、洗眼群の3匹は投与後2分に微温生理食塩水で洗眼した。

検査項目：投与後1、24、48 および 72 時間に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、ドレイズ法に基き採点した。

試験結果：投与後1、24、48 および 72 時間時点で観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

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 [6 匹の 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 ¹⁾			110	0.0	0.0	0.0
洗眼群 [3 匹の 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 ¹⁾			110	0.0	0.0	0.0

1) : Draize 法による評価点 (最高 110 点)。

非洗眼群および洗眼群ともに、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化はみられなかった。

以上の結果から、15%フロアブルのウサギの眼粘膜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日本農薬株式会社にある。

5) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料T-73)

試験機関 新日本科学 [GLP対応]

報告書作成年 2000年

被験物質：15%フロアブル

試験動物：ハートレー系モルモット、雄35匹

群分け時5週齢(体重306~356g)

試験期間：惹起暴露終了後2日間観察

試験方法：Buehler法

用量設定根拠：

被験物質(原液)をそのまま感作および惹起暴露に用いた。

また、陽性対照物質として2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)を用いた。DNCBはオリーブ油と混合し、感作および惹起濃度を1%とした。

感作：被験物質群および陽性対照物質群では、刈毛した各動物の左腹側部に被験物質液またはDNCB液を6時間閉塞貼付した。この投与操作を1週間間隔で計3回繰り返して感作した。

惹起：最終感作の2週間後に刈毛した各動物の右腹側部に、被験物質液またはDNCB液を6時間閉塞貼付した。

検査項目：惹起後24および48時間に惹起暴露部位の皮膚反応を観察した。

試験結果：観察された惹起暴露部位の皮膚反応を次表に示す。

群名 (供試動物数)	試験物質処置		惹起後の 観察 時間	惹起暴露後の 皮膚反応評点 ¹⁾										陽性 動物 数	感 ²⁾ 作 陽 性 率 (%)
				紅斑と痂皮					浮腫						
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4		
被験物質感作群 (20匹)	被験物質	被験物質	24	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
			48	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	
被験物質非感作群 (10匹)	無処置	被験物質	24	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
			48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	
陽性対照物質感作群 (5匹)	DNCB	DNCB	24	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	5	100
			48	0	0	0	3	2	0	0	0	0	5	5	

1)：皮膚反応評点の基準(Draize法)

<紅斑と痂皮>

評点0：紅斑なし

評点1：非常に軽度な紅斑(かろうじて識別できる)

評点2：はっきりした紅斑

評点3：中等度ないし高度紅斑

評点4：高度紅斑(beet redness)からわずかな痂皮の形成(深部損傷)まで

<浮腫>

評点0：浮腫なし

評点1：非常に軽度な浮腫(かろうじて識別できる)

評点2：軽度浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)

評点3：中等度浮腫(約1mmの膨隆)

評点4：高度浮腫(約1mm以上の膨隆と暴露範囲を超えた広がり)

2)：感作陽性率(%) = [陽性動物数 ÷ 供試動物数] × 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

被験物質感作群および非感作群では、惹起後のいずれの観察時間においても皮膚反応は観察されなかった。一方、陽性対照としたDNCB感作群では全例に強い皮膚反応がみられ、感作陽性率は100%であった。

以上の結果から、15%フロアブルのBuehler法によるモルモット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日本農薬株式会社にある。

(3) 製剤の被暴量調査

1) 15%乳剤のハウス内散布における作業者の被暴量調査

(資料T-74)

試験機関

報告書作成年

調査目的：本剤の想定使用量における作業者への被暴量を評価するために実施された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上のことから、本剤の散布、補助ならびにリエントリーに際して、トルフェンピラドの被暴量はごくわずかであった。したがって、散布者、散布補助者ならびにリエントリー者の健康に対する影響はないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。