

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

# 農 薬 抄 録

## D C I P (殺線虫剤)

1985年 1月30日 作成

2016年 9月28日 改訂

株式会社 エス・ディー・エス バイオテック

(社名)	(担当部課)	(担当者名)	(電話)
連絡先	(株)エス・ディー・エス	バイオテック	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

## 目 次

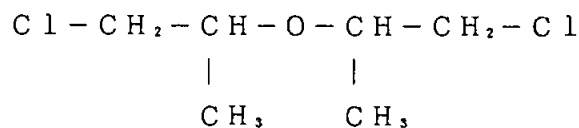
	頁
I. 開発の経緯	1
II. 物理的・化学的性状	2
III. 生物活性	14
IV. 適用及び使用上の注意	15
V. 農薬残留量	21
VI. 有用動植物等に及ぼす影響	34
VII. 使用時安全上の注意、解毒法等	40
VIII. 毒 性	42
1. 原体を用いた試験成績	
(1) 急性毒性	48
(2) 皮膚感作性	53
(3) 急性神経毒性	55
(4) 急性遅発性神経毒性	56
(5) 亜急性毒性	57
(6) 反復経口投与神経毒性	80
(7) 28日間反復経口投与遅発性神経毒性	85
(8) 慢性毒性及び発がん性	86
(9) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性	114
(10) 変異原性	124
(11) 生体の機能に及ぼす影響	133
(12) 解毒及び治療法	145
2. 原体混在物及び代謝物を用いた試験成績	147
3. 製剤を用いた試験成績	157
IX. 動植物及び土壌等における代謝分解	191
[附] DCIPの開発年表	251

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

## I. 開発の経緯

農耕地の連作障害および、いや地が土壌線虫の害によるものと考えられ、畑作の生産力向上の大きな「障害」となっていた。国でも畑作振興の上から、昭和 34 年より国庫補助金による線虫防除事業が始まり、土壌消毒面積も増加し、線虫防除剤の需要も増加した。

は、  
の指導の下に線虫防除剤に着目し、独自の化合物についてスクリーニングを試みていたが、  
下記化合物 (DCIP) が線虫に強い活性を示すことを見出し、国産線虫防除剤として開発を推進した。



(ジクロロジイソプロピルエーテル)

線虫防除剤としての開発に当っては昭和 39 年より  
で日本植物防疫協会に委託し、  
作物別効果及び薬害試験を行った。

並行して作業の省力化をねらい粒剤及び乳剤による作物生育中の施用試験を実施し、夫々農薬登録を行った。

日本では残留農薬安全性評価委員会で 1992 年に ADI が 0.13 mg/kg/日に決められ、現在に至っている。

国外では、台湾において乳剤及び粒剤の農薬登録がなされ、乳剤はトマトに、粒剤はみかんに使用されている。また、アラブ首長国連邦においても乳剤及び粒剤の農薬登録がなされている。

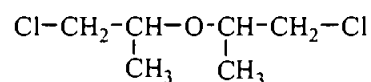
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

## II. 物理的・化学的性状

### 1. 有効成分の名称および化学構造

- 1) 一般名 和名：DCIP (JMAFF 名)
- 2) 別名 商品名：ネマモル (Nemamori)  
試験名：IK-141
- 3) 化学名 IUPAC  
和名：ビス(2-クロロ-1-メチルエチル)エーテル  
英名：bis(2-chloro-1-methylethyl) ether
- CAS  
和名：2,2'-オキシビス[1-クロロプロパン]  
英名：2,2'-oxybis[1-chloropropane]
- JMAFF  
和名：ジクロロジイソプロピルエーテル  
英名：dichlorodiisopropylether

### 4) 構造式



- 5) 分子式  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{O}$
- 6) 分子量 171.1
- 7) CAS No. 108-60-1

### 2. 有効成分の物理的・化学的性状

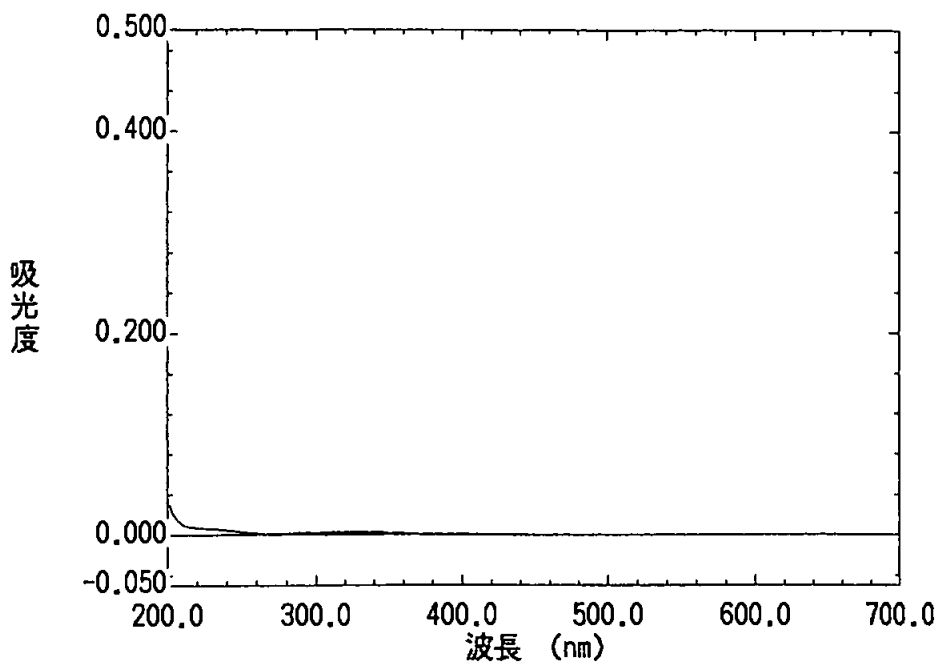
- 1) 外観・臭気 無色透明液体、強い刺激臭 (JIS Z 8723、官能法)
- 2) 密度 1.109 g/cm<sup>3</sup> (24 °C) (比重瓶法)
- 3) 融点 - (常温で液体)
- 4) 沸点 181.6~187.7 °C (101.325 kPa) (蒸留法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

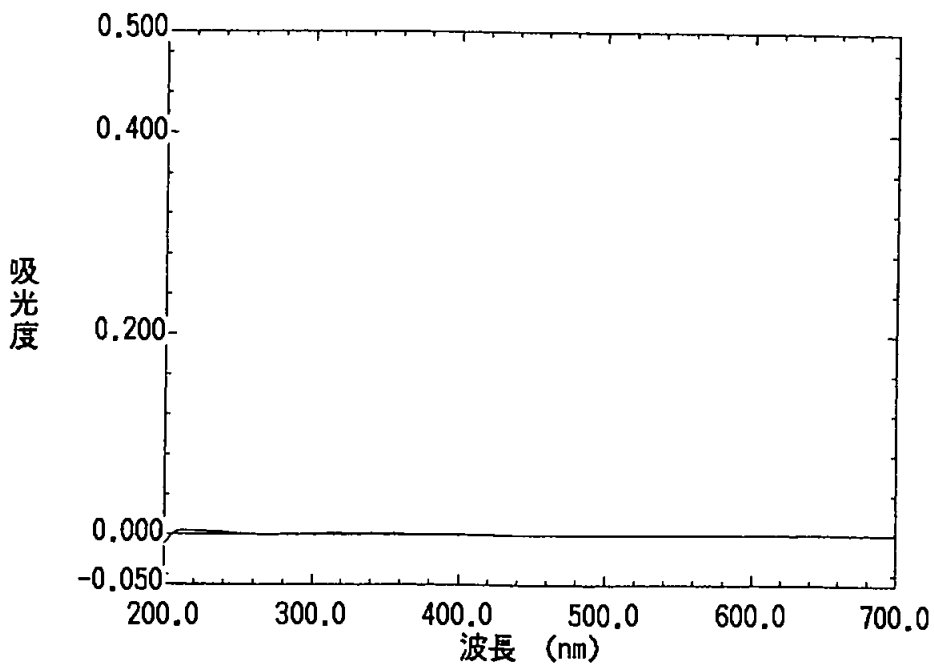
5) 蒸気圧	328 Pa (25 °C)	(OECD 104 静的方法)
6) 溶解度 (水及び有機溶媒)		
	水 2.07 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
	ヘキサン >1000 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
	ヘプタン >1000 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
	キシレン >1000 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
	トルエン >1000 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
	ジクロロメタン >1000 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
	アセトン >1000 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
	メタノール >1000 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
	エタノール >1000 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
	酢酸エチル >1000 g/L (20 °C)	(OECD 105 フラスコ法)
7) 解離定数	測定不能 (解離せず)	(OECD 112 滴定法)
8) 分配係数 (n-オクタン-ル/水)	logPow = 2.14 (20 °C, pH6.80)	(OECD 107 フラスコ振とう法)
9) 生物濃縮性	n-オクタン-ル/水分配係数 < 3.5 のため提出除外	
10) 土壌吸着係数	$K_{F}^{ads} = 0.05383 \sim 4.584$ , $K_{F}^{ads}_{oc} = 7.082 \sim 35.51$ (25 °C)	(OECD 106)
11) 加水分解性	$t_{1/2}$ : 1年以上 (pH5, 25 °C) $t_{1/2}$ : 1年以上 (pH7, 25 °C) $t_{1/2}$ : 1年以上 (pH9, 25 °C)	(OECD 111)
12) 水中光分解性	$t_{1/2}$ : 7日以上 (滅菌蒸留水、25 °C、 蛍光ケミカルランプ、 2.55 mW/cm <sup>2</sup> (310~400 nm)) $t_{1/2}$ : 7日以上 (自然水、25 °C、 蛍光ケミカルランプ、 2.55 mW/cm <sup>2</sup> (310~400 nm))	(農薬検査所法)
13) 安定性 熱安定性	判定不能 (蒸発)	(OECD 113 熱分析法)

14) 紫外-可視吸収、赤外、MS、NMR等のスペクトル

①紫外-可視吸収スペクトル

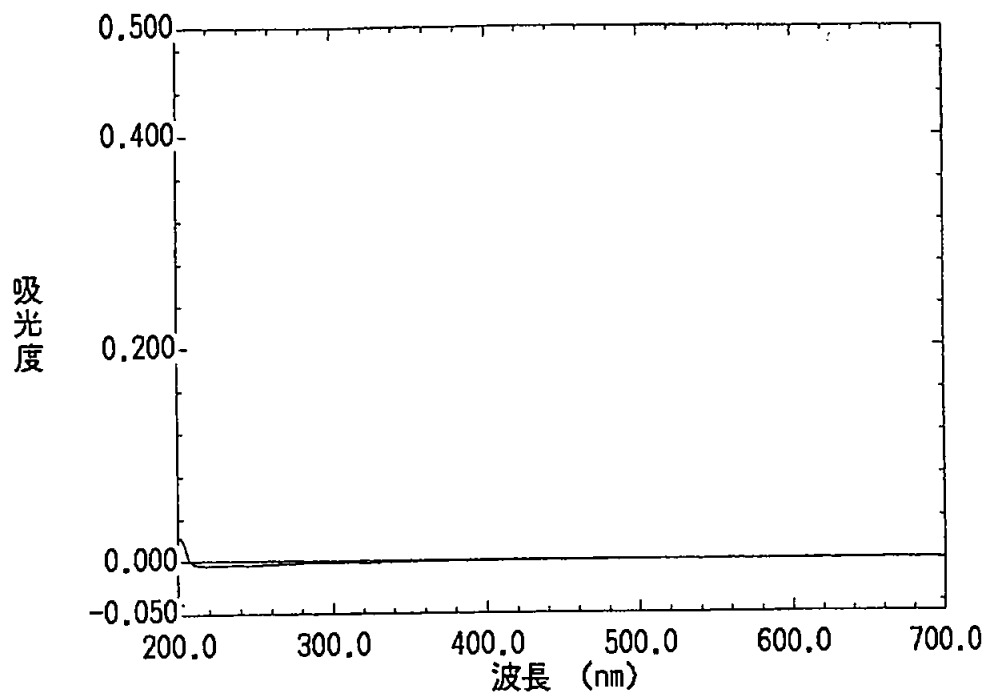


DCIP メタノール測定溶液の紫外-可視吸収スペクトル

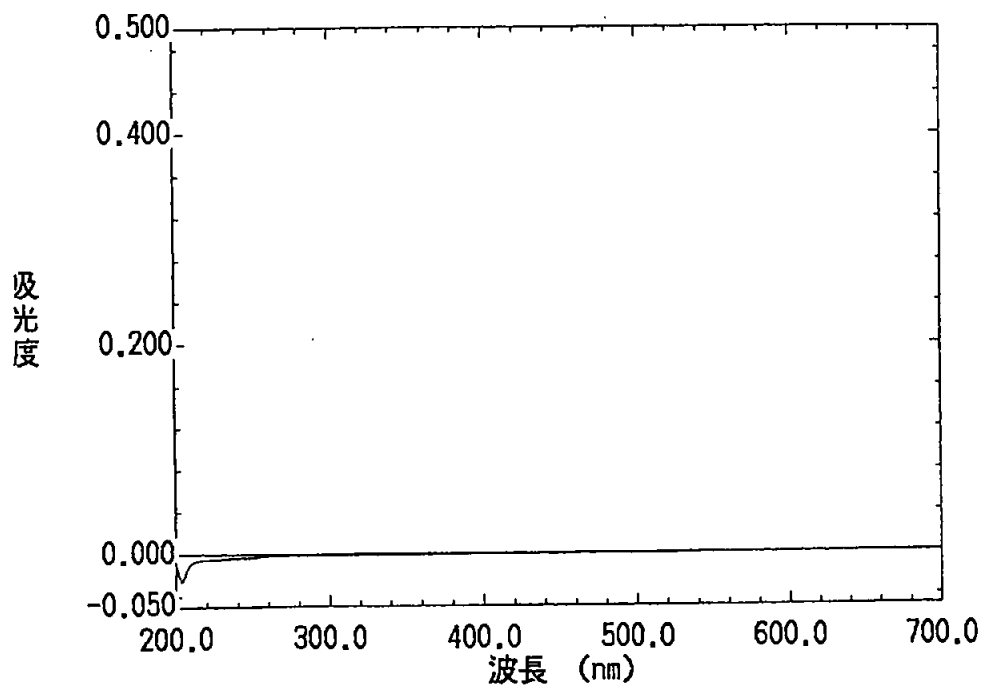


DCIP メタノールブランク溶液の紫外-可視吸収スペクトル

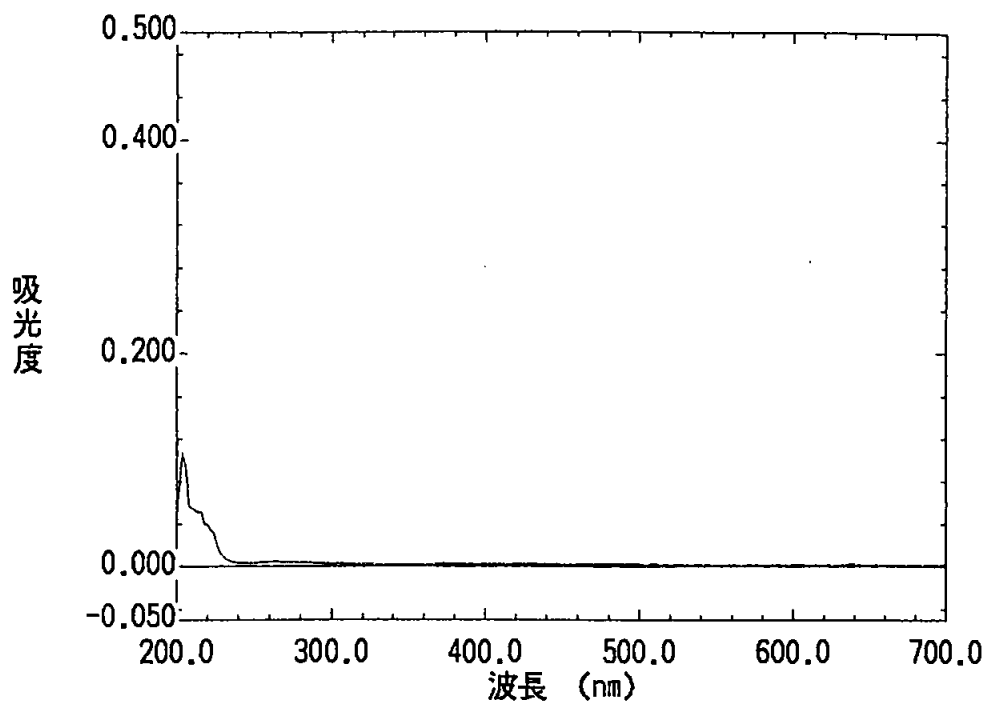
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。



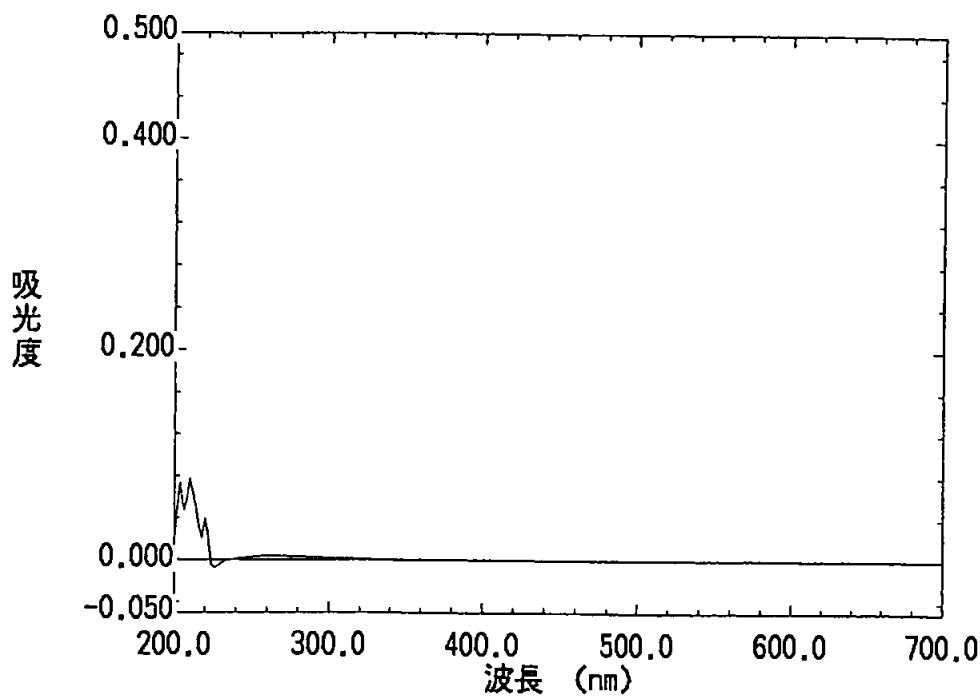
DCIP 酸性測定溶液の紫外-可視吸収スペクトル



DCIP 酸性ブランク溶液の紫外-可視吸収スペクトル



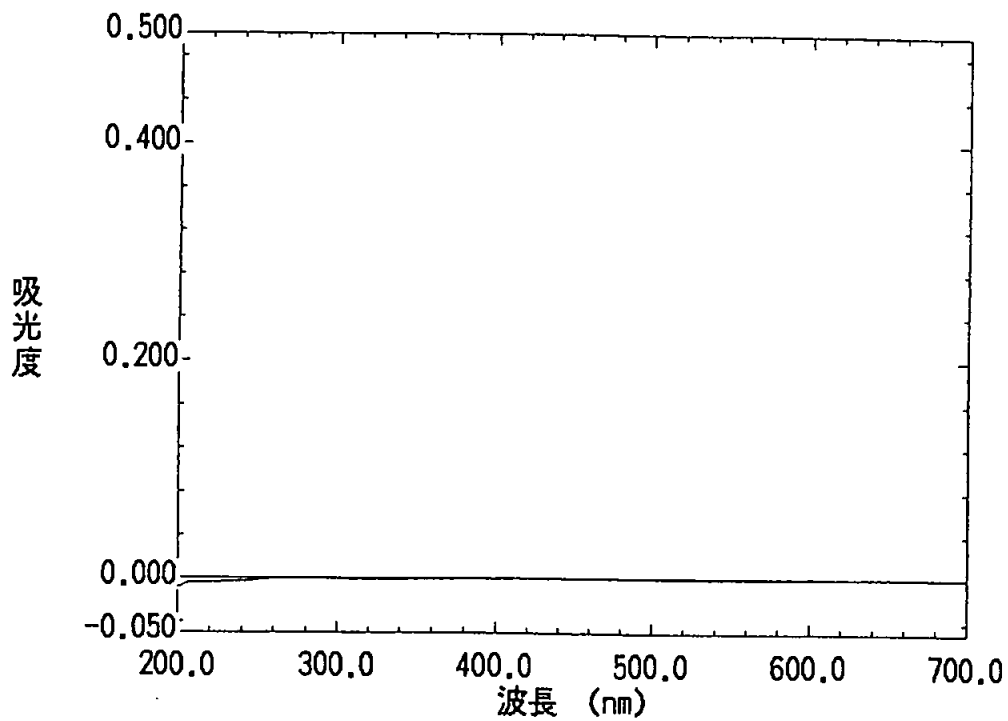
DCIP アルカリ性測定溶液の紫外-可視吸収スペクトル



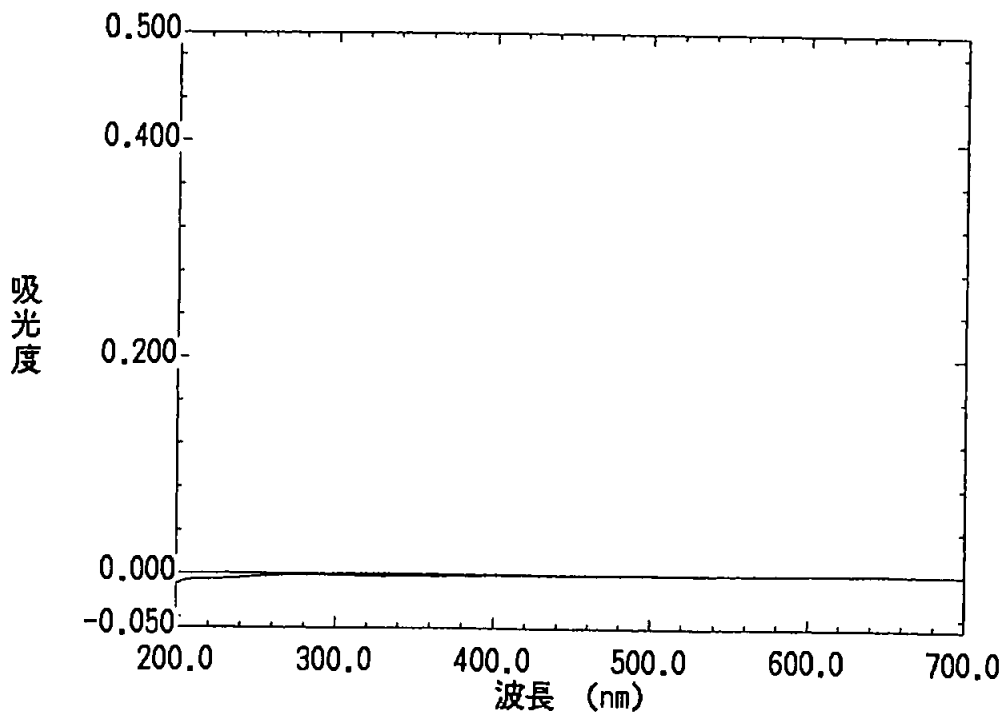
DCIP アルカリ性ブランク溶液の紫外-可視吸収スペクトル



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

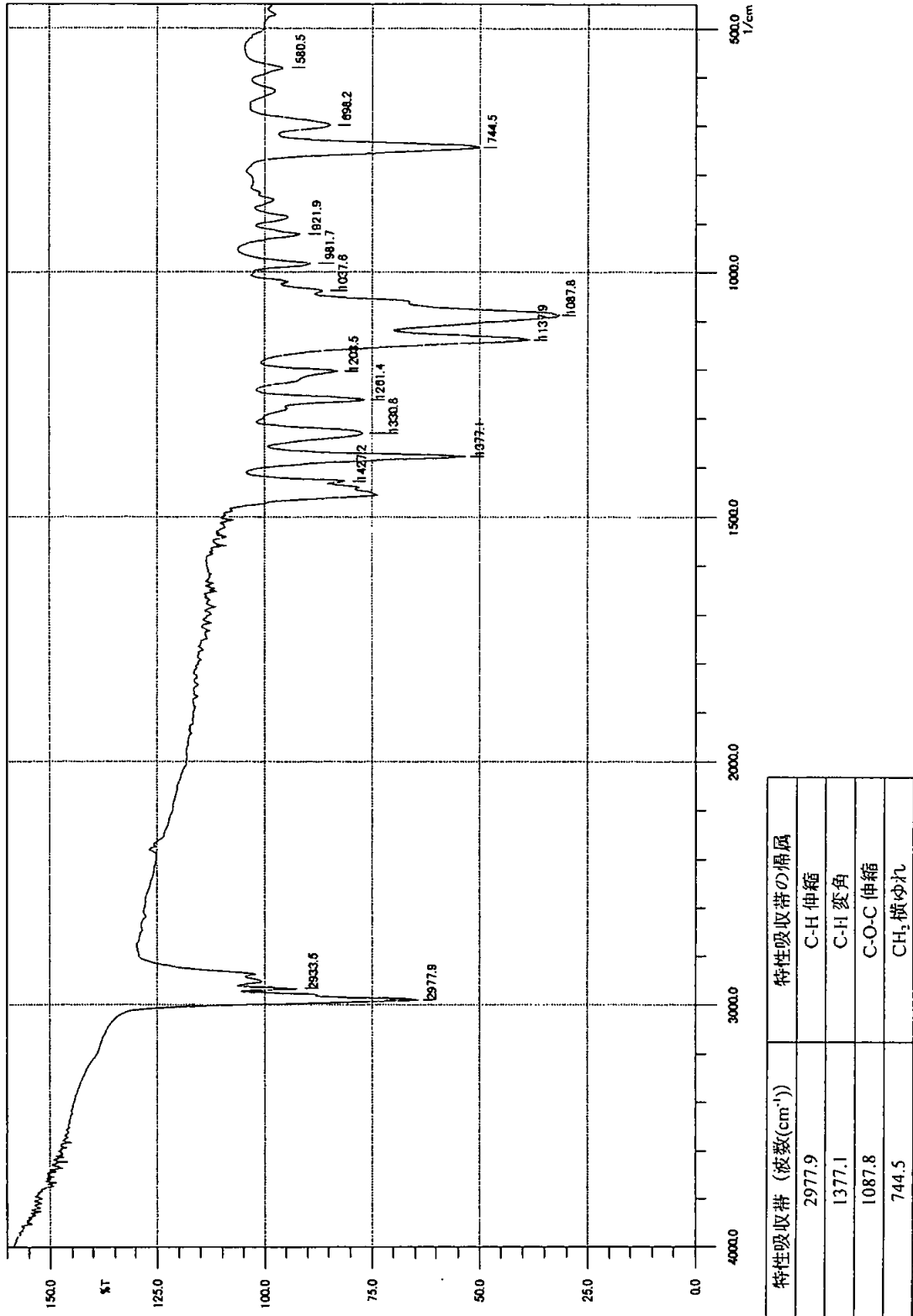


DCIP 中性測定溶液の紫外-可視吸収スペクトル

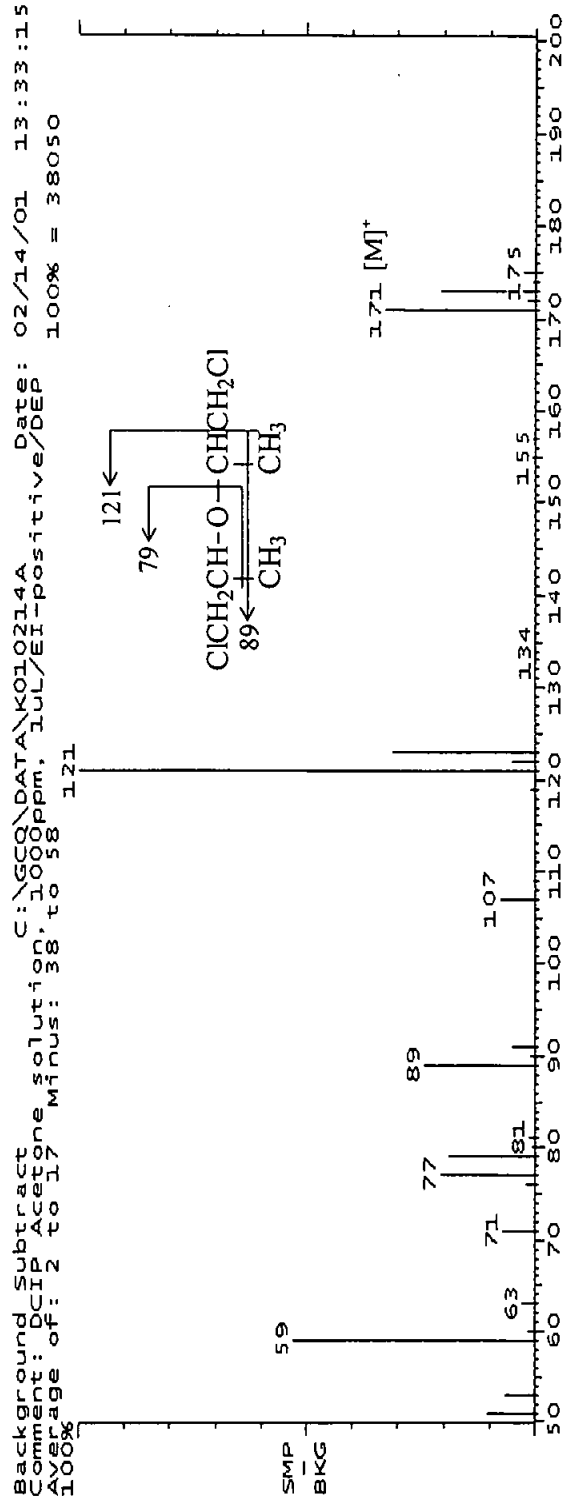
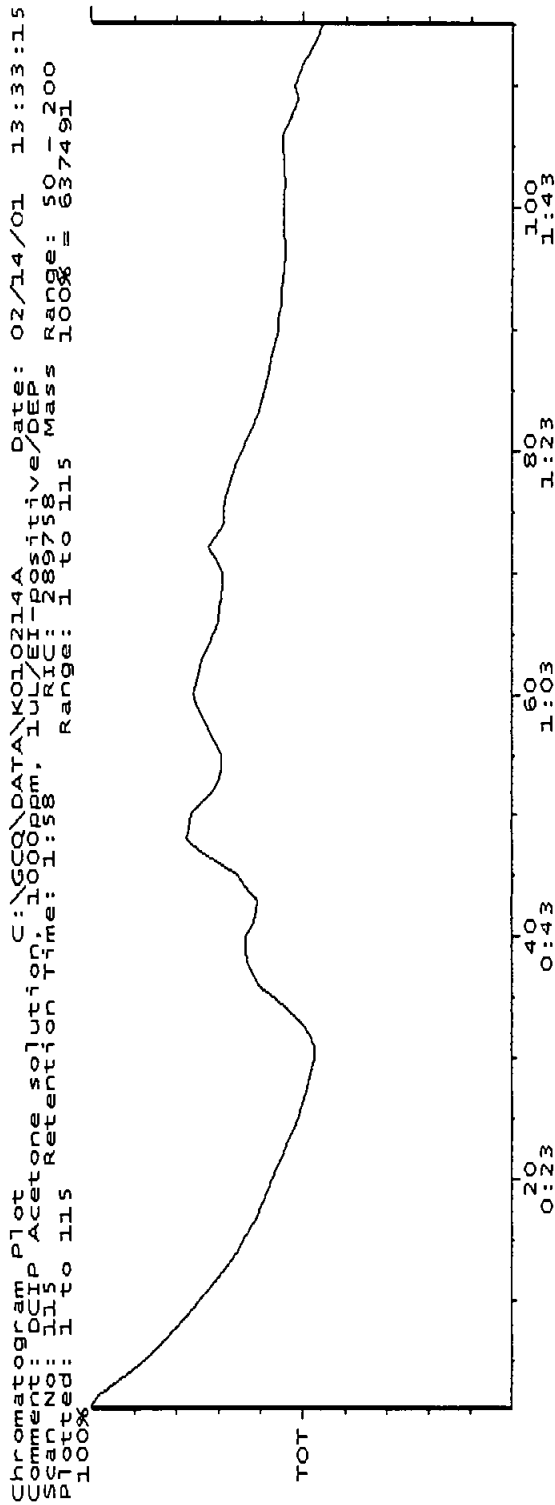


DCIP 中性ブランク溶液の紫外-可視吸収スペクトル

②赤外吸収スペクトル



③質量スペクトル

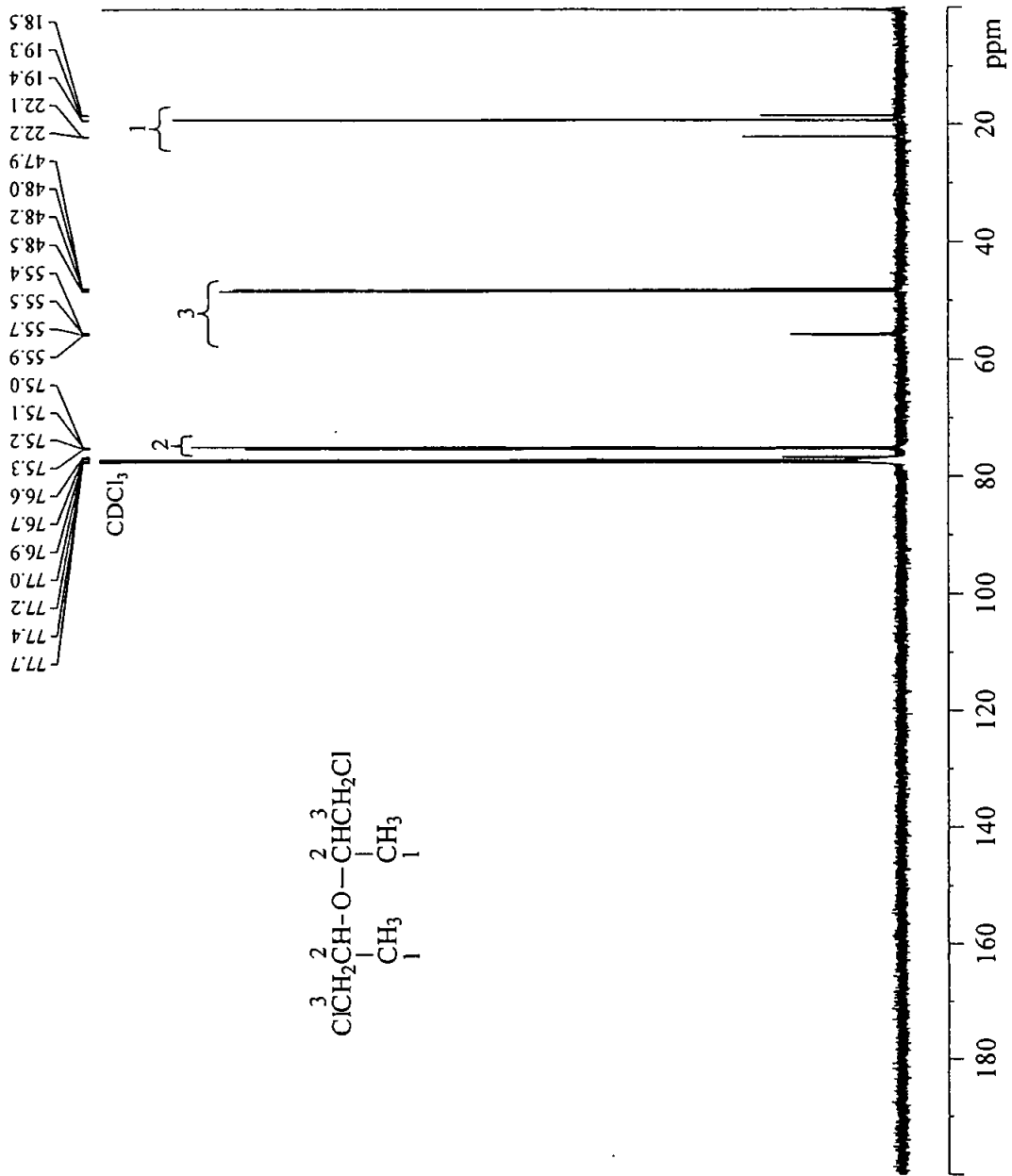


④  $^{13}\text{C}$ -核磁気共鳴スペクトル

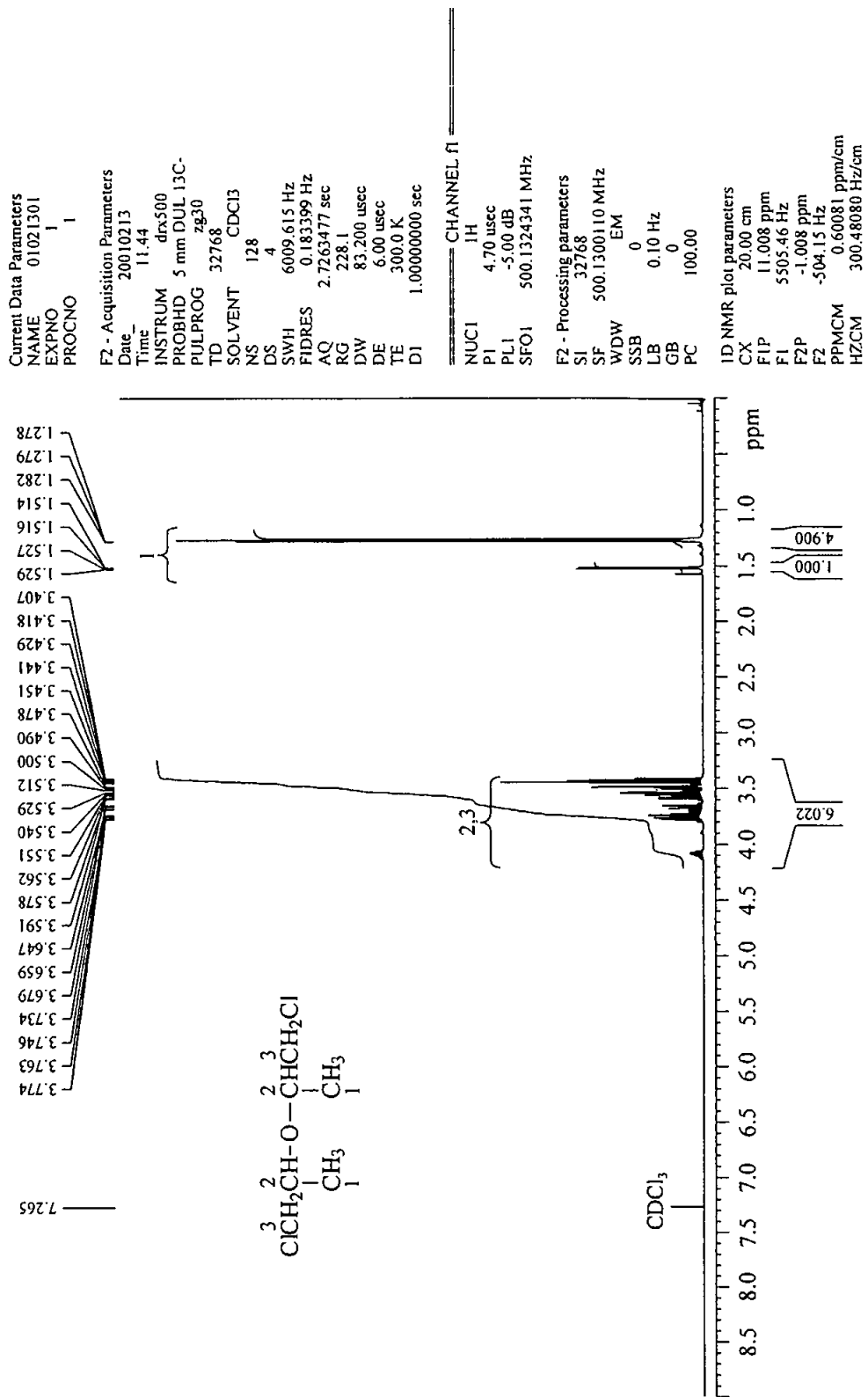
Current Data Parameters  
 NAME 01021301  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20010213  
 Time 12.35  
 INSTRUM drx500  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-  
 PULPROG zgpg30  
 TD 65536  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 1280  
 DS 4  
 SWH 30303.031 Hz  
 FIDRES 0.462388 Hz  
 AQ 1.0813940 sec  
 RG 8192  
 DW 16.500 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 300.0 K  
 DI 1.00000000 sec  
 D11 0.03000000 sec  
 D12 0.00002000 sec  
 NUC1  $^{13}\text{C}$   
 P1 7.50 usec  
 PL1 0.00 dB  
 SFO1 125.7716459 MHz  
 CPDPRG2 waltz16  
 NUC2  $^1\text{H}$   
 PCPD2 80.00 usec  
 PL2 -5.00 dB  
 PL12 14.00 dB  
 PL13 14.00 dB  
 SFO2 500.1320005 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 125.7577390 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 18.00



⑤ <sup>1</sup>H-核磁気共鳴スペクトル



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

3. 原体の成分組成

区 分	名称		構造式	分子式	分子 量	含有量 (%)	
	一般名 CAS 番号	化学名				規格 値	通常値 又はレンジ
有効成分	DCIP 108-60-1	ジクロロイソプロピル エーテル	$\text{Cl}-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{O}-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{Cl}$	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{O}$	171.1		
原体 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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

#### 4. 製剤の組成

- |             |        |  |
|-------------|--------|--|
| 1) 80 %乳剤   |        |  |
| DCIP        | 80.0 % |  |
| 有機溶剤、乳化剤 等  | 20.0 % |  |
| 2) 30 %粒剤   |        |  |
| DCIP        | 30.0 % |  |
| 鉍物質 等       | 70.0 % |  |
| 3) 41 %くん蒸剤 |        |  |
| DCIP        | 41.0 % |  |
| D-D         | 55.5 % |  |
| 有機溶剤 等      | 3.5 %  |  |

### Ⅲ. 生物活性

#### 1. 活性の範囲

DCIPは広範囲の土壌中に棲息する線虫に有効で、野菜の重要害虫であるネコブセンチュウを始め、茶のネグサレセンチュウやカナヤサヤワセンチュウ、及び桑のネコブセンチュウやピンセンチュウに対して的確な防除効力を示す、汎用性のある殺線虫剤である。

対象害虫は、線虫類ばかりでなく、みかんのミカンネコナカイガラムシ、ネキリムシ類、コガネムシ類、ケラ類などに対しても高い効果がある。

間接的な防除効果として、線虫の被害と関連して発生するといわれているタバコの立枯病、黒根病及び疫病などの土壌病害の発生を抑制する効果もある。

DCIPはまた野ねずみやもぐらに対する忌避的效果も有する。

#### 2. 作用機作

DCIPは野菜、茶、タバコ、果樹等に広く使用できる殺線虫剤で、その作用機作は他の有機ハロゲン系の薬剤と同様に、線虫の角皮より体内に浸透した後に線虫の体内の酵素の塩基性求核中心部と結合することにより生ずる酵素阻害が主な作用と考えられている。

この作用が線虫に対する麻酔効果と薬剤に基づく殺線虫効果を生じ、この2つの効果が重なって、DCIPの高い防除効力を発現させているものと思われる。

#### 3. 作用特性

DCIPは土壌中で拡散して効力を発揮する接触型の殺線虫剤であるが、同様な作用をもつ他の薬剤のような薬害の発生の回避のためのガス抜きを必要としないので、作物の植付け前の予防的な使用のみでなく、作物によっては、植付け後あるいは生育中の治療的な施用方法によっても使用することができる。

現在までの所、DCIPの効力の低下やDCIPに対して抵抗性の線虫や害虫が増加する等の問題は全く生じていない。

さらに、DCIPは乳剤のみならず粒剤もあり、種々の栽培形式に応じて剤型を選択できる特徴をも有している。



#### IV. 適用及び使用上の注意

##### 1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

###### (1) DCIP 乳剤 (80%) - ネマモール乳剤

作物名	適用病害虫名	使用量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	DCIPを含む農薬の総使用回数
なす	ネブセンチュウ	20~30 L / 10 a	定植前まで	1回	定植前に所定量を注入器により1穴当り2~3 mLずつ30 cm間隔千鳥状に注入する。	1回
はくさい トマト ミニトマト すいか きゅうり		5~10 L / 10 a			定植前に所定量を300倍以上の水でうすめ、灌注覆土する。または所定量を10倍の水でうすめ、注入器により1穴当り5~10 mLずつ30 cm間隔に千鳥状に注入する。	
いちじく		10 L / 10 a	収穫14日前まで	2回以内	所定量を200倍の水でうすめ、灌注覆土する。	2回以内
茶	チャネグサセンチュウ カヤヤワセンチュウ	5~10 L / 10 a	摘採14日前まで	2回以内 (秋期は1回以内、春期は1回以内)	所定量を300倍以上の水でうすめ、ジョロ、バケツ等で灌注覆土する。	2回以内 (秋期は1回以内、春期は1回以内)
みかん	ミカンネブセンチュウ	8 L / 10 a	収穫15日前まで	1回		1回
桑	ネブセンチュウ ヒンセンチュウ	5~10 L / 10 a	生育中			

作物名	適用場所	使用目的	適用害獣名	使用量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	DCIPを含む農薬の総使用回数
モグラが加害する農作物等	畑地	忌避	モグラ	原液 5 ml / 穴 15 cm 間隔	作物栽培期間	—	畑の外周に15 cm 間隔深さ10~15 cm に注入・鎮圧	—

(2) DCIP 粒剤 (30%) - ネマモール粒剤 30

作物名	適用病虫害名	使用量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	DCIPを含む農薬の総使用回数
セルリー すいか カーネーション	ネブセンチュウ 初サセンチュウ	30 kg/10 a	定植前まで	1回	全面土壌混和 植溝土壌混和 植穴土壌混和	1回
きゅうり	ネブセンチュウ				定植前全面土壌混和 耕起整地後 30 cm 間隔に深さ 10～15 cm の溝を掘り 1 m 当り本剤 9 g を施し直ちに覆土する。	
					定植前植溝土壌混和 植付位置に深さ 10～15 cm の溝を掘り全面土壌混和と同要領で行う。	
ほうれんそう	コナダニ類	30 g/m <sup>2</sup>	は種前まで		定植前植穴土壌混和 植付位置に植穴中心に深さ 10～15 cm 径 30 cm 位の穴を掘り本剤 15 g を施し直ちに覆土する。 育苗床モミガラ処理 全面土壌混和	
茶	初サセンチュウ	30 kg/10 a	摘採 14 日前まで	2 回以内 (秋期は 1 回以内、春期は 1 回以内)	裾下にそって深さ 10～15 cm の溝を掘り散粒して覆土する。又は畦間に全面散布して耕起する。	2 回以内 (秋期は 1 回以内、春期は 1 回以内)
みかん	初サセンチュウ		収穫 150 日前まで		樹冠下に散布	1 回
はくさい	ネブセンチュウ	30 kg/10 a	定植前まで	1回	定植前全面土壌混和 耕起整地後 30 cm 間隔に深さ 10～15 cm の溝を掘り 1 m 当り本剤 9 g を施し直ちに覆土する。	1回
桑			生育中		定植前植溝土壌混和 植付位置に深さ 10～15 cm の溝を掘り全面土壌混和と同要領で行う。	
			かんしょ		植付前まで	
					株際から 30 cm 離し株間に深さ 10～15 cm の溝を 30 cm 間隔に掘り本剤所定量を施し直ちに覆土する。 全面土壌混和 植溝土壌混和 植穴土壌混和	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

作物名	適用場所	使用目的	適用害獣名	使用量	使用時期	本剤使用回数	使用方法	DCIPを含む農薬の総使用回数
らっかせい	圃場 野積箇所	食害忌避	野ソ	1m <sup>2</sup> 当り 30g	野積当日	1回	整地後、圃場の野積予定箇所及びその周囲約 50cm 幅の範囲に本剤を均一に散布し、表土 15cm と混和する。	1回
チューリップ	畑地 (根雪地帯)			処理溝 1m当り 50g	根雪前	-	畑の外周に深さ 10cm 程度の溝を掘り、本剤を散布後覆土・鎮圧する。	-
りんご	-			100g/樹		1回	樹幹下半径約 50cm の範囲に均一に散粒し、レキ等で表土と混和した後、鎮圧する。	1回
野ソあるいはモグラが加害する農作物等	ビニルハウス			処理溝 1m当り 50g	ビニル被覆前後	-	ビニルハウスの外周に深さ 10cm 程度の溝を掘り、本剤を散布後覆土・鎮圧する。	-
	畑地 (根雪地帯)	処理溝 1m当り 100g	根雪前	畑の外周に深さ 10cm 程度の溝を掘り、本剤を散布後覆土・鎮圧する。				
	畑地	忌避	モグラ	処理溝 1m当り 100g	作物栽培期間			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

## 2. 使用上の注意事項

### (1) DCIP 乳剤-ネマモール乳剤

- 1) 使用量に合わせ秤量し、使いきること。
- 2) まめ科作物には薬害のおそれがあるので使用しないこと。
- 3) 本剤をモグラの忌避剤として使用する場合には、次の注意を守ること。
  - ①本剤の忌避作用は、日時の経過によって次第に失われるので、薬臭が感じられなくなったら再度処理すること。
  - ②栽培期間中に本剤が農作物にかからないように注意すること。また、少なくとも農作物の根の張る範囲から 60 cm 以上離れた畑周辺に処理すること。
  - ③本剤は忌避剤なので、畑地内にモグラが侵入した場合は物理的防除法など他の防除法と併用して使用することが望ましい。
  - ④花き類の近辺では使用しないこと。
- 4) 畑地のモグラに対する忌避を使用目的として使用する場合には、使用者の責任において事前に栽培作物への薬害の有無を十分確認してから使用すること。なお、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

(2) DCIP 粒剤-ネマモール粒剤 30

- 1) 使用量に合わせ秤量し、使いきること。
- 2) まめ科作物には使用しないこと。
- 3) 缶をあけたらなるべく早く使用すること。
- 4) 使用時期は地温 10℃以上のときに行ない、乾燥し過ぎ、又は湿り過ぎの時は施用をさけること。
- 5) 本剤を、野ソ及びモグラの忌避剤として使用する場合には、次の注意を守ること。
  - ①本剤を野ソ防除に使用する場合、落花生に対しては野積当日に、りんご・畑地野菜・チューリップに対しては根雪前に、ビニールハウスに使用する場合にはビニール被覆前後に、モグラ防除に畑地に使用する場合には作物の栽培期間中に処理すること。
  - ②本剤の忌避作用は、日時の経過によって次第に失われるので、野積作物は圃場に長く放置しないこと。また、ビニールハウスや畑地に使用する場合には、薬臭が感じられなくなったら再度処理すること。
  - ③りんごに使用する場合には、樹幹下半径約 50 cm の範囲の落葉、雑草等をあらかじめ取り除いてから処理すること。
  - ④直接野積の作物や栽培期間中の作物にかからないように注意すること。
  - ⑤野積に当っては、下にむしろ、麻袋等を敷いて直接作物が処理土壌にふれないようにすること。
  - ⑥本剤は忌避剤なので、ビニールハウスや畑地内に野ソ及びモグラが侵入した場合は物理的防除法など他の防除法と併用して使用することが望ましい。
  - ⑦チューリップ、カーネーション以外の花卉類の近辺では使用しないこと。
- 6) きゅうりのコナダニ類に使用する場合には、育苗床の床下に入れたモミガラの上に本剤の所定量を散布すること。
- 7) ほうれんそうのコナダニ類に使用する場合には、ネーキッド種子、催芽処理した種子等薬剤感受性の高い種子は、薬剤処理後 3 日おいてからは種すること。
- 8) ビニールハウスの野ソ及び畑地（根雪地帯）の野ソに対する食害忌避、又は畑地のモグラに対する忌避を使用目的として使用する場合には、使用者の責任において事前に栽培作物への薬害の有無を十分確認してから使用すること。なお、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

3. 水産動植物に有害な農薬については、その旨

(1) DCIP 乳剤-ネマモール乳剤

この登録に係る使用方法では該当がない。

(2) DCIP 粒剤-ネマモール粒剤 30

この登録に係る使用方法では該当がない。

## V. 農薬残留量

### 1. 作物残留

#### (1) 分析法の原理と操作概要

試料に を加え、Dean & Stark の装置を用いて蒸留する。留出を脱水し、フロリジルのカラムクロマトグラフィーで精製し、ガスクロマトグラフィー (ECD) で定量する。

#### (2) 分析対象の化合物

一般名：DCIP

化学名：ビス (2-クロロ-1-メチルエチル) エーテル

分子式：C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>O

分子量：171.1

#### (3) 残留試験結果

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤 型 (有効成分) 分量 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)			
					公 的 分 析 機 関		社 内 分 析 機 関	
					DCIP		DCIP	
					最高値	平均値	最高値	平均値
きゅうり (施設) (果実) 昭和 46 年度	乳 剤 (80 %) 10 L/10 a 灌 注	茨城県農業試験場	0 1	- 54			< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
		神奈川県農業総合 研究所	0 1	- 108			< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
きゅうり (施設) (果実) 昭和 60 年度	乳 剤 (80 %) 30 L/10 a 点 注	日本植物防疫協会 研究所	0 1	- 59	< 0.005 0.037	< 0.005 0.036	< 0.005 0.016	< 0.005 0.012
		長野県農事試験場	0 1	- 55	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
きゅうり (果実) 昭和 47 年度	粒剤 (30 %) 30 kg/10 a 土壌混和	埼玉県農業試験場	0 1	- 104			< 0.005 0.005	< 0.005 0.005
		神奈川県農業総合 研究所	0 1	- 37			< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
はくさい (露地) (茎葉) 昭和 46 年度	乳 剤 (80 %) 10 L/10 a 灌 注	滋賀県農業試験場	0 1	- 94			< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
		和歌山県農業試験 場	0 1	- 103			< 0.005 0.042	< 0.005 0.042
はくさい (茎葉) 昭和 47 年度	粒剤 (30 %) 30 kg/10 a 散 布	埼玉県農業試験場	0 1	- 82			< 0.005 0.065	< 0.005 0.064
		神奈川県農業総合 研究所	0 1	- 26			< 0.005 0.073	< 0.005 0.071

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					DCIP		DCIP	
					最高値	平均値	最高値	平均値
はくさい (露地) (茎葉) 平成 22 年度	粒剤 (30%) 15 g/株 植穴処理	日本植物防疫協会 研究所成東試験地	0	-	<0.01	<0.01		
			1	63	0.08	0.07		
			1	70	0.03	0.03		
			1	77	0.06	0.06		
		福井県植物防疫協会	0	-	<0.01	<0.01		
			1	58	<0.01	<0.01		
			1	65	<0.01	<0.01		
			1	72	<0.01	<0.01		
みかん (果肉) 昭和 46 年度	乳剤 (80%) 10 L/10 a 灌注	徳島県果樹試験場	0	-			< 0.005	< 0.005
			1	153			< 0.005	< 0.005
		熊本県果樹試験場	0	-			< 0.005	< 0.005
			1	168			< 0.005	< 0.005
みかん (果皮) 昭和 46 年度	乳剤 (80%) 10 L/10 a 灌注	徳島県果樹試験場	0	-			< 0.03	< 0.03
			1	153			0.21	0.19
		熊本県果樹試験場	0	-			< 0.03	< 0.03
			1	168			< 0.03	< 0.03
みかん (果肉) 昭和 46.47 年度	粒剤 (30%) 30 kg/10 a 散布	高知県農林技術研究所	0	-			< 0.005	< 0.005
			1	165			< 0.005	< 0.005
		大分県園東柑橘指導所	0	-			< 0.005	< 0.005
			1	70			< 0.005	< 0.005
みかん (果皮) 昭和 46.47 年度	粒剤 (30%) 30 kg/10 a 散布	高知県農林技術研究所	0	-			< 0.03	< 0.03
			1	165			< 0.03	< 0.03
		大分県園東柑橘指導所	0	-			< 0.03	< 0.03
			1	70			0.03	0.03



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス/バイオテックにある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分) 希釈倍数又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					DCIP		DCIP	
					最高値	平均値	最高値	平均値
みかん (施設) (果肉) 平成 18、 19 年度	粒剤 (30%) 30 kg/10 a 樹冠下散布	三重県植物防疫協会	0	-	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
			1	120	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
			1	150	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
			1	180	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
		兵庫県立農水 技術センター 淡路農技センター	0	-	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
			1	120	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
			1	148	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
			1	180	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
みかん (施設) (果皮) 平成 18、 19 年度	粒剤 (30%) 30 kg/10 a 樹冠下散布	三重県植物防疫協会	0	-	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03
			1	120	0.08	0.08	0.05	0.05
			1	150	0.08	0.08	0.05	0.05
			1	180	0.06	0.06	0.04	0.04
		兵庫県立農水 技術センター 淡路農技センター	0	-	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03
			1	120	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03
			1	148	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03
			1	180	< 0.03	< 0.03	< 0.03	< 0.03
みかん (露地) (果肉) 昭和 53 年度	乳剤(15%) 100 倍 50 L/10 a 樹幹散布	神奈川県園芸試験場	0	-	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005
			1	141	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005
	乳剤(15%) 100 倍 100 L/10 a 樹幹散布	愛知県農業総合試験場	0	-	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005
			1	176	< 0.005	< 0.005	< 0.005	< 0.005
みかん (露地) (果皮) 昭和 53 年度	乳剤(15%) 100 倍 50 L/10 a 樹幹散布	神奈川県園芸試験場	0	-	< 0.05	< 0.05	< 0.02	< 0.02
			1	141	< 0.05	< 0.05	< 0.02	< 0.02
	乳剤(15%) 100 倍 100 L/10 a 樹幹散布	愛知県農業総合試験場	0	-	< 0.05	< 0.05	< 0.02	< 0.02
			1	176	< 0.05	< 0.05	< 0.02	< 0.02
茶 (製茶) 昭和 46 年度	乳剤 (80%) 10 L/10 a 灌注	福岡県立農業試験場	0	-			< 0.02	< 0.02
			1	31			< 0.02	< 0.02
			1	66			< 0.02	< 0.02
			1	345			< 0.02	< 0.02
		三重県農業技術センター	0	-			< 0.02	< 0.02
			1	341			< 0.02	< 0.02
茶 (浸出液) 昭和 46 年度	乳剤 (80%) 10 L/10 a 灌注	福岡県立農業試験場	0	-			< 0.04	< 0.04
			1	31			< 0.04	< 0.04
			1	66			< 0.04	< 0.04
			1	345			< 0.04	< 0.04
		三重県農業技術センター	0	-			< 0.04	< 0.04
			1	341			< 0.04	< 0.04

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤 型 (有効成分) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)				
					公的分析機関		社内分析機関		
					D C I P		D C I P		
					最高値	平均値	最高値	平均値	
茶 (製茶) 昭和46年度	粒剤(30%) 30 kg/10 a	福岡県立農業試験 場茶葉指導所	0 1	- 188			< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	
		三重農業技術センター 茶葉センター	0 1 1	- 208 208			< 0.02 < 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02 < 0.02	
	50 kg/10 a 溝施用								
茶 (浸出液) 昭和46年度	粒剤(30%) 30 kg/10 a	福岡県立農業試験 場茶葉指導所	0 1	- 188			< 0.04 < 0.04	< 0.04 < 0.04	
		三重農業技術センター 茶葉センター	0 1 1	- 208 208			< 0.04 < 0.04 < 0.04	< 0.04 < 0.04 < 0.04	
	50 kg/10 a 溝施用								
茶 (露地) (荒茶) 平成2年度	粒剤(30%) 30 kg/10 a 溝施用	奈良農試	0 1	- 29	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	
		佐賀茶試	0 1	- 30	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	
茶 (露地) (抽出液) 平成2年度	粒剤(30%) 30 kg/10 a 溝施用	奈良農試	0 1	- 29	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	
		佐賀茶試	0 1	- 30	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02	
茶 (露地/簡易 被覆) (荒茶) 平成7年度	粒剤(30%) 30 kg/10 a 耕起前畝間 処理	神奈川県農業総合 研究所	0	-	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	
			2	14	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	
			2	28	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	
			2	42	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	
		宮崎県総合農業試 験場	0	-	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04
			2 2 2	14 28 42	< 0.04 < 0.04 < 0.04	< 0.04 < 0.04 < 0.04	< 0.04 < 0.04 < 0.04	< 0.04 < 0.04 < 0.04	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					DCIP		DCIP	
					最高値	平均値	最高値	平均値
トマト (露地) (果実) 昭和54年度	乳剤 (80%) 10 L/10 a 灌注	茨城県農業試験場	0 1	- 47	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.002 < 0.002	< 0.002 < 0.002
		長野県農業大学校	0 1	- 102	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.002 < 0.002	< 0.002 < 0.002
トマト (施設) (果実) 昭和60年度	乳剤 (80%) 30 L/10 a 点注	日本植物防疫協会 研究所	0 1	- 87	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
		長野南信農業試験 場	0 1	- 74	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
トマト (露地) (果実) 昭和47年度	粒剤(30%) 30 kg/10 a 土壌混和	茨城県農業試験場	0 1	- 65	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
		埼玉県農業試験場	0 1	- 80	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
なす (施設) (果実) 昭和59/60 年度	乳剤 (80%) 30 L/10 a 点注	長野県農事試験場 (59年)	0 1	1 110	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
		日本植物防疫協会 研究所(60年)	0 1	- 64	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
なす (施設) (果実/へた を除く) 昭和61年度	粒剤(30%) 30 kg/10 a 土壌混和	福島県植物防疫協 会	0 1	- 60	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
		日本植物防疫協会 研究所高知試験農 場	0 1	- 40	< 0.005 0.006	< 0.005 0.006	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)				
					公的分析機関		社内分析機関		
					DCIP		DCIP		
					最高値	平均値	最高値	平均値	
すいか (施設) (果実) 昭和60年度	乳剤 (80%) 30 L/10 a 点注	日本植物防疫協会 研究所	0 1	- 90	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	
		鳥取県野菜試験場 西伯分場	0 1	- 82	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	
すいか (露地/トンネル) (果実) 昭和54年度	粒剤(30%) 30 kg/10 a 土壌混和	茨城県農業試験場	0 1	- 101	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	
		埼玉県植物防疫協会	0 1	- 91	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	
かんしょ (露地) (マルチ) (塊根) 昭和60年度	乳剤 (80%) 30 L/10 a 点注 *ガス抜き **ガス抜きなし	日本植物防疫協会 研究所高知試験農場	0 *1 **1	- 109 109	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	
		鹿児島県農業試験場	0 *1 **1	- 105 105	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	
		日本植物防疫協会 研究所高知試験農場	0 1 1	- 45 60	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	
		鹿児島県農業試験場	0 1 1	- 45 60	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005 < 0.005	
	かんしょ (露地) (塊根) 昭和48年度	粒剤(30%) 30 kg/10 a 土壌混和	鹿児島県農業試験場	0 1	- 124	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
			茨城県農業試験場	0 1	- 161	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					DCIP		DCIP	
					最高値	平均値	最高値	平均値
いちじく (露地) (果実) 昭和54年度	乳剤 (80%) 2000 L/10a (1回当り) 200倍	兵庫県神戸市垂水区 岩岡町古郷	0	-	< 0.05	< 0.05		
			1	64	< 0.05	< 0.05		
			1	68	< 0.05	< 0.05		
			2	3	< 0.05	< 0.05		
			2	7	< 0.05	< 0.05		
			2	14	< 0.05	< 0.05		
			2	21	< 0.05	< 0.05		
	乳剤 (80%) 3000 L/10a (1回当り) 300倍		1	64	< 0.05	< 0.05		
			1	68	< 0.05	< 0.05		
			2	3	< 0.05	< 0.05		
			2	7	< 0.05	< 0.05		
			2	14	< 0.05	< 0.05		
			2	14	< 0.05	< 0.05		
			2	21	< 0.05	< 0.05		
いちじく (露地) (果実) 平成2年度	乳剤 (80%) 2000 L/10a 200倍 土壌灌注	兵庫県神戸市西区 岩岡町広古	0	-	< 0.02	< 0.02		
			1	46	< 0.02	< 0.02		
				56	< 0.02	< 0.02		
				66	< 0.02	< 0.02		
	乳剤 (80%) 2000 L/10a 300倍 土壌灌注		1	46	< 0.02	< 0.02		
				56	< 0.02	< 0.02		
				66	< 0.02	< 0.02		
				66	< 0.02	< 0.02		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)					
					公的分析機関		社内分析機関			
					D C I P		D C I P			
					最高値	平均値	最高値	平均値		
ほうれんそう (露地) (茎葉) 昭和54年度	乳剤 (80%) 100 L/10a 10倍 点注	茨城県農業試験場	0 1	- 81	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005		
		長野県農業大学校	0 1	- 91	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005		
ほうれんそう (施設) (茎葉) 平成9年度	乳剤 (80%) 30 L/10a 点注	埼玉県園芸試験場	0 1 1 1 1	- 69 <sup>1)</sup> 79 <sup>1)</sup> 59 <sup>2)</sup> 69 <sup>2)</sup>	< 0.02 < 0.02 < 0.02 < 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02 < 0.02 < 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02 < 0.02 < 0.02 < 0.02	< 0.02 < 0.02 < 0.02 < 0.02 < 0.02		
			岐阜県植物防疫協会	0 1 1 1 1	- 57 <sup>1)</sup> 67 <sup>1)</sup> 47 <sup>2)</sup> 57 <sup>2)</sup>	< 0.02 0.03 0.09 0.03 0.09	< 0.02 0.03 0.08 0.03 0.09	< 0.02 0.06 0.08 0.03 0.03	< 0.02 0.06 0.08 0.03 0.03	
				長野県中信農業試験場	0 1	- 49	< 0.005 0.005	< 0.005 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
				滋賀県立短期大学 農学部	0 1	- 60	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 0.012	< 0.005 0.012

1) 播種20日前処理、 2) 播種10日前処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果(ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					D C I P		D C I P	
					最高値	平均値	最高値	平均値
セルリー (施設) (茎葉) 昭和 61 年度	粒剤 (30 %) 30 kg/10 a 土壌混和	長野県農事試験場 原村試験地	0 1	- 67	< 0.005 0.224	< 0.005 0.216	< 0.005 0.170	< 0.005 0.168
		静岡県農業試験場	0 1	- 123	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005	< 0.005 < 0.005
セルリー (露地) (茎) 平成 2 年度	粒剤 (30 %) 30 kg/10 a 土壌混和	(株)エス・ディー・エス バイオテック みのり農 試	- 1	- 82			< 0.005 0.033	< 0.005 0.030

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製場所	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					D C I P		D C I P	
					最高値	平均値	最高値	平均値
りんご (露地) (果実) 平成4年度	粒剤(30%) 200g/樹 表土混和	秋田果試	0	-	< 0.01	< 0.01	< 0.005	< 0.005
			2	167	< 0.01	< 0.01	< 0.005	< 0.005
		長野農総試	0	-	< 0.01	< 0.01	< 0.005	< 0.005
			2	145	< 0.01	< 0.01	< 0.005	< 0.005



[参考：代謝物

の残留について]

きゅうり及びはくさいに DCIP 乳剤を処理し、DCIP 及びその代謝物の残留量を調べた。

(1) 分析方法の原理と操作概要

① DCIP

前述の通り。

②

試料を で抽出し、蒸留水を加える。  
 で洗浄後、水層に を加えて 37℃ で一  
 晩反応させ、 を遊離させる。  
 を加え、Dean & Stark 改良型抽出装置を用いて抽出する。  
 を脱水し、 をガスクロマトグラフィー (GC/MS) で定量  
 する。

(2) 分析対象の化合物

① DCIP

一般名：DCIP  
 化学名：ビス(2-クロロ-1-メチルエチル) エーテル  
 分子式：C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>O  
 分子量：171.1

②

化学名：  
 分子式：  
 分子量：

(3) 残留試験結果

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調整場所	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)			
					DCIP			
					最高値	平均値	最高値	平均値
きゅうり (施設) (果実) 昭和 62 年度	乳剤 (80%) 30 L/10 a 点注	SDS バイテック みのり農事試験場	0	-	< 0.005	< 0.005		
			1	44	< 0.005	< 0.005		
			1	77	< 0.005	< 0.005		
はくさい (施設) (茎葉) 昭和 62 年度	乳剤 (80%) 30 L/10 a 点注	SDS バイテック みのり農事試験場	0	-	< 0.005	< 0.005		
			1	57	0.020	0.019		
			1	78	< 0.005	< 0.005		

2. 土壌残留

1) DCIP の残留

(1) 分析法の原理と操作概要

試料を \_\_\_\_\_ で抽出した後、 \_\_\_\_\_ でろ過し、分液漏斗に入れ、 \_\_\_\_\_ を加えて振とうし分液した後、さらに \_\_\_\_\_ を加えて \_\_\_\_\_ を加えて振とうし分液する。 \_\_\_\_\_ を加えて脱水する。フロリジルカラムを用いてクリンアップを行った後、ECD-GLC により定量する。

(2) 分析対象の化合物名

一般名：DCIP  
 化学名：ビス(2-クロロ-1-メチルエチル)エーテル  
 分子式：C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>O  
 分子量：171.1  
 代謝経路図中の記号：J

2) 残留試験結果

(1) 容器内試験

推定半減期：1日以内

分析機関：

報告年：

採取場所	供試液の添加濃度	使用回数	経過 日数	分析値 (ppm)		
				最高値	回数	平均値
茨城県西茨城郡 友部町 (壤土)	DCIP 5 % (1.0 mL) 50 mg/100 g	0	直前	< 0.01	3	< 0.01
		1	直後	502	3	497
		1	1	138	3	130
		1	3	48.9	3	32.9
		1	7	9.84	3	9.56
		1	14	3.54	3	3.46
		1	28	2.58	3	2.47
		1	62	0.77	3	0.66
		1	92	0.50	3	0.48
広島県立農業試験場 (砂壤土)	DCIP 5 % (1.0 mL) 50 mg/100 g	0	直前	< 0.01	3	< 0.01
		1	直後	507	3	498
		1	1	145	3	137
		1	3	44.1	3	36.3
		1	7	13.0	3	12.2
		1	14	1.69	3	1.34
		1	28	0.63	3	0.54
		1	62	0.27	3	0.25
		1	92	0.22	3	0.20

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(2) 圃場試験

推定半減期:31日以内

分析機関:

報告年:

試料調整及び 採取場所	供試薬剤の 濃度・量・回数	使用 回数	経過 日数	分析値 (ppm)		
				最高値	回数	平均値
茨城県西茨城郡 友部町中市原 (壤土)	DCIP 粒剤 (30 %) 30 kg/10 a 1回	0	直前	< 0.01	3	< 0.01
		1	直後	40.9	3	40.1
		1	31	3.67	3	3.53
		1	62	1.09	3	1.05
		1	92	0.29	3	0.28
		1	123	0.15	3	0.15
埼玉県深谷市 幡羅町 1-13 (砂壤土)	DCIP 粒剤 (30 %) 30 kg/10 a 1回	0	直前	< 0.01	3	< 0.01
		1	直後	23.3	3	21.5
		1	30	0.38	3	0.36
		1	78	0.13	3	0.11
		1	91	0.11	3	0.10

## VI. 有用生物に及ぼす影響

### 1. 水産動植物に対する影響

No.	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群当り の供試数	試験 方法	試験 水温 (°C)	LC50 又は EC50 (mg/L) [0内は有効成分換算値]				試験機関 (報告年)	概要 書記 載頁
						24h	48h	72h	96h		
有 1-1	魚類急性毒性 試験 原体	コイ	10	半止 水	21.0 ~ 23.3	>65.1 <sup>#</sup>	>65.1 <sup>#</sup>	>65.1 <sup>#</sup>	>65.1 <sup>#</sup>		35
有 1-2	ミジンコ類急性遊 泳阻害試験 原体	オオミジンコ	20	止水	20.2 ~ 20.6	>72.3 <sup>#</sup>	31.9 <sup>#</sup>	/	/		36
有 1-3	藻類生長阻害 試験 原体	緑藻 <i>P. subcapitata</i>	初期濃度 10 <sup>-4</sup> cells/mL	静置 培養 法	24.6 ~ 25.5	ErC50 (0-72h) NOECr		> 51.3 <sup>#</sup> 10.6 <sup>#</sup>			37

*Pseudokirchneriella subcapitata*: 旧学名は *Selenastrum capricornutum*

# : 実測値に基づく値

製剤試験については 13 生産 3986 号 4. (3) ①イ,キ 又は④イ,キ に該当するため提出除外

## 水産動植物への影響に関する試験

### 1) 魚類急性毒性試験

(資料 有 1-1)

#### コイを用いた急性毒性試験

試験機関

報告書作成年

被験物質：DCIP原体

供試生物：コイ (学名 *Cyprinus carpio*)

一群各 10 匹、体長：5.64±0.15 cm、体重：2.75±0.12 g

方法：試験は、農水省農産園芸局長通知(12農産第8147号、平成12年11月24日)、別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針 2-7-1 魚類急性毒性試験」に準じた。DCIP原体の3試験濃度区および無処理対照区を設け、設定水温 22±2℃、照明時間 14 時間(6:00~20:00)の半止水式で行った。暴露期間は 96 時間とし、48 時間毎に試験液を交換した。

所定量のDCIP原体を希釈水に添加し、良く攪拌・懸濁させて試験液を調製した。なお、試験期間中に試験液中の被験物質濃度を経時的に測定した。

試験水温：21.0 ~ 23.3℃

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	6.25, 25.0, 100	
	平均実測濃度	5.28, 17.6, 65.1	
LC50* (mg/L) [95%信頼限界]	24h	>65.1	[-]
	48h	>65.1	[-]
	72h	>65.1	[-]
	96h	>65.1	[-]
NOEC* (mg/L)		5.28	

\*：実測値(試験期間の平均測定濃度)、-：求められず

試験期間中、全ての試験区において死亡はみられなかった。

症状としては、上層遊泳、行動不活発、着底、横臥、横転、遊泳姿勢不安定、平衡失調および刺激に対する反応の低下が観察された。

(資料 有 1-2)

## 2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

試験機関

報告書作成年

被験物質：DCIP原体

供試生物：オオミジンコ(学名 *Daphnia magna*)、一群各 20 頭(生後 24 時間以内の個体)

方法：試験は、農水省農産園芸局長通知(12 農産第 8147 号,平成 12 年 11 月 24 日)、別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針 2-7-2-1 ミジンコ類急性遊泳阻害試験」に準じた。DCIP 原体の 5 試験濃度区および無処理対照区を設け、各区 4 連制とし、設定水温 20±1℃、照明時間 14 時間(6:00~20:00)の止水式で行った。生後 24 時間以内のミジンコ幼体を用い、48 時間暴露を行った。

0.05 g の DCIP 原体を希釈水 500 mL に添加し攪拌して設定濃度 100 mg/L の試験液を調製した。この試験液を段階希釈して設定濃度 6.25~50.0 mg/L の各試験液を調製した。なお、試験期間中に試験液中の被験物質濃度を経時的に測定した。

試験水温：20.2 ~ 20.6℃

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100	
	平均実測濃度	4.55, 9.14, 18.2, 37.4, 72.3	
EC50# (mg/L) [95%信頼限界]	24h	>72.3 [-]	
	48h	31.9 [26.1~38.6]	
NOEC (mg/L)		4.55	

#：実測値(試験期間の平均測定濃度)、-：求められず

症状としては、遊泳姿勢不安定、回転、自発運動の低下、着底、横臥などの遊泳異常、および浮上、着底、横臥、死亡などの遊泳阻害であった。

(資料 有 1-3)

### 3) 藻類生長阻害試験

試験機関

報告書作成年

被験物質：DCIP原体

供試生物：緑藻(学名 *Pseudokirchneriella subcapitata*)

方法：試験は、農水省農産園芸局長通知(12農産第8147号、平成12年11月24日)、別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針 2-7-3 藻類生長阻害試験」に準じた。DCIP原体の5試験濃度区、助剤対照区および無処理対照区を設け、各区3連制とし、静置培養下、設定水温  $25 \pm 2$  °C、照度 4000 Lx の連続照明で行った。

1.0 g のDCIP原体を助剤 1.0 g (tween 20 0.5 g、アセトン 0.5 g) に溶解させ、これを 98.0 mL の OECD 液体培地に添加して 10,000 mg/L の試験原液を調製した。これを段階希釈して各試験濃度の 100 倍濃度溶液を調製した。100 倍濃度溶液を各設定濃度となるよう濾過滅菌した OECD 液体培地に添加・攪拌したものを試験液とした。

なお、試験期間中に試験液中の被験物質濃度を経時的に測定した。

試験水温：24.6 ~ 25.5 °C

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100
	平均実測濃度	2.8, 4.8, 10.6, 23.2, 51.3
ErC50 <sup>#</sup> (mg/L) [95%信頼限界]		(0-72h) > 51.3 [-]
NOECr (mg/L)		10.6

<sup>#</sup>：実測値（試験期間の平均測定濃度） -：求められず

外見等の異常としては、50 および 100 mg/L 区で細胞の膨潤、細胞質が粗い、変形が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

## 2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

### 2-1 蚕

No.	供試生物	一試験区当たりの供試虫数	供試薬剤	試験方法 投与方法、投与量、 試験条件等	試験結果	試験の実施機関及び報告年
有 2-1	蚕	—	乳剤 (80%)	土壌施用：1000倍希 釈液を土壌灌注	影響なし	
		—	粒剤 (20%)	土壌施用：20-30 kg/10a	影響なし	

### 2-2 ミツバチ

No.	供試生物	一試験区当たりの供試虫数	供試薬剤	試験方法 投与方法、投与量、 試験条件等	試験結果	試験の実施機関及び報告年
有 1	セイヨウミツバチ	50頭 (10頭× 5連)	原体	経口毒性(μg/Bee)： 25, 50, 100	LD50(48時間)： > 100 μg/Bee	

### 2-3 天敵

No.	供試生物	一試験区当たりの供試虫数	供試薬剤	試験方法 投与方法、投与量、 試験条件等	試験結果	試験の実施機関及び報告年
有 2-2	ヒノマルコモリグモ 孵化幼生	9頭 (3頭× 3連)	原体	処理砂接触法：原体を 希釈し、シャーレに入 れた石英砂表面に 24 L/10a 相当量点注、供 試虫を放飼。	影響なし (72時間後)	
有 2-3	捕食性 ゴキブリ類 (ムササビオ オナハダゴ キブリ、アトワ アオゴキブリ シ、セアカヒ タゴキブリ 成虫)	9頭 (3頭× 3連)	原体	処理砂接触法：原体を 希釈し、シャーレに入 れた石英砂表面に 24 L/10a 相当量点注、供 試虫を放飼。	影響なし (72時間後)	



2-4 鳥類

No.	試験の種類・被験物質	供試生物	1群当りの供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50又はLC50及び無影響量 (mg/kg)	観察された影響等	試験機関 (報告年)
有 3-1	急性経口 毒性  原体	ニホンズラ 16週齢	雄5羽	強制 経口	0 305 488 781 1250 2000 (mg/kg)	LD50 1439 (mg/kg)	(死亡) 1250 mg/kg 群：1例、 2000 mg/kg 群：全例 (臨床症状) 閉眼と鎮静 1250 mg/kg 群：全例 生存例は投与終了後 3日で回復 2000 mg/kg 群：全例 (体重) 1250 mg/kg 群以下の 投与群：投与後3日 の群平均値減少、そ の後増加 (摂餌量) すべての投与群：投 与後0-3日の群平均 値は対照群に比して 減少、その後は対照 群と同等か上回った (剖検所見) 1250 mg/kg 群以上の 死亡例：そ嚢膨張(水 溶性内容物)、腺胃黒 色斑、筋胃暗緑色化 1250 mg/kg 群以下の 生存例：異常なし	

## VII. 使用時安全上の注意、解毒法等

### 1. 使用時安全上の注意事項

#### (1) DCIP 乳剤-ネマモール乳剤

- 1) 医薬用外劇物。取扱いには十分注意すること。  
誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。  
本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。
- 2) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。  
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- 3) 本剤は皮膚に対して刺激性があるので皮膚に付着しないよう注意すること。  
付着した場合には直ちに石けんでよく洗い落とすこと。
- 4) 本剤の処理の際は吸収缶付き（活性炭入り）防護マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。  
また薬液が皮膚に付着したり揮散したガスを吸い込んだりしないよう注意し、作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに洗眼すること。
- 5) 作業中の圃場へ小児等作業に関係のないものや家畜、家禽が立ち入らないよう十分に注意すること。

#### (2) DCIP 粒剤-ネマモール粒剤 30

- 1) 医薬用外劇物。取扱いには十分注意すること。  
誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。  
本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。
- 2) 本剤の処理の際は吸収缶付き（活性炭入り）防護マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。  
また薬剤が皮膚に付着したり揮散したガスを吸い込んだりしないよう注意し、作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをすること。
- 3) 作業中の圃場へ小児等作業に関係のないものや家畜、家禽が立ち入らないよう十分に注意すること。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

## 2. 解毒法及び治療法

ヒトにおける中毒事例は、現在知られていないが、各種の動物実験から、本剤を一時的に大量に経口あるいは吸入摂取した場合、中枢神経系に対する作用及び消化管粘膜に対する刺激作用が認められ、また眼粘膜に対する刺激作用が認められた。長期摂取では貧血を主体とする症状が発現した。これらの症状と本剤の化学構造及び物性等の類似性から、本剤による中毒が疑われる場合には一般的な有機溶剤中毒に対する処置が有効と考えられる。ただし、肝障害は起こしにくいと考えられる。

有機溶剤中毒のおもな症状と応急処置は下記のとおりである。

おもな症状 : 頭痛、けん怠感、めまい、貧血、肝障害

応急処置 :

- 1) 中毒にかかった者を直ちに通風のよい場所に移す。
- 2) 中毒にかかった者の頭を低くして横向き又は仰向きに寝かせ、身体の保温に努めること。
- 3) 中毒にかかった者が意識を失っている場合は、口中の異物を取り除くこと。
- 4) 中毒にかかった者の呼吸が止まった場合は、すみやかに人工呼吸を行うこと。

## 3. 製造時、使用時等における事故例

DCIP 乳剤および DCIP 粒剤の製造時および使用時等における事故例はない。

## VIII. 毒性

### 〈毒性試験一覧〉

#### 1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
1-1	急性毒性試験 14日間観察	ラット	♂ 13 ♀ 13	経口	247, 371, 556, 835, 1252, 1879	♂ 503 ♀ 698		48
		マウス	♂ 13 ♀ 13	経口	318, 382, 459, 550, 660, 792, 962, 1127, 1375	♂ 599 ♀ 536		
1-2	急性毒性試験 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	腹腔内	184, 220, 265, 318, 382, 459, 550, 660	♂ 250 ♀ 279		49
		マウス	♂ 10 ♀ 10	腹腔内	184, 220, 265, 318, 382, 459, 550, 660	♂ 281 ♀ 259		
1-3	急性毒性試験 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経皮	0, 1000, 2000	♂♀ >2000		50
1-10	急性毒性試験 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	吸入 (4時間)	10.4, 12.5, 14.8, 14.9 mg/L	♂♀ 12.8 mg/L		51
3-3	皮膚感作性 Maximization 法 24日間観察	モルモット	♂20 陰性対照 ♂ 10	皮内感作: 25 % 経皮感作: 100 % 惹起: 5 %		陰性		53
Ex. 1-14	急性神経毒性	【除外理由】ラットにおける28日間反復経口投与神経毒性試験の結果、特異的な神経毒性を示唆する所見がないため。						55
Ex. 1-15	急性選発性神経毒性	【除外理由】急性毒性試験等他の試験成績から、当該農薬の有効成分がコリンエステラーゼ阻害性を有さないため。						56
4-1	亜急性毒性試験 28日間	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口 (混餌)	0, 100, 300, 1000, 3000 ppm ♂ 0, 10.9, 32.3, 105.1, 303.5 ♀ 0, 10.6, 32.0, 99.6, 294.2	♂ 303.5 ♀ 294.2		57
4-2	亜急性毒性試験 3カ月	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口 (混餌)	0, 100, 300, 1000, 3000 ppm ♂ 0, 10.1, 28.5, 95.5, 289.6 ♀ 0, 10.3, 30.3, 98.2, 284.9	♂ 28.5 ♀ 30.3		59
4-3	亜急性毒性試験 3カ月	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口 (混餌)	0, 200, 600, 2000, 6000 ppm ♂ 0, 12, 39, 135, 485 ♀ 0, 13, 40, 147, 510	♂ 39 ♀ 40		63
4-4	亜急性毒性試験 3カ月	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口 (混餌)	0, 200, 600, 2000, 6000 ppm ♂ 0, 20, 77, 238, 752 ♀ 0, 27, 85, 288, 812	♂ 77 ♀ 85		67
4-8	亜急性毒性試験 28日間	イヌ	♂ 3 ♀ 3	経口 (カプセル)	0, 5, 15, 50, 150	♂♀ 50		71

・網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
4-6	亜急性毒性試験 3週間	ウサギ	♂ 2 ♀ 2	経皮	0, 250, 500, 1000	♂♀ 500		77
4-7	反復経口投与 神経毒性試験 28日間	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口 (強制)	0, 20, 50, 100	♂♀ 50 神経毒性なし		80
Ex. 4-10	反復経口投与 神経毒性	【除外理由】ラットにおける28日間反復経口投与神経毒性試験の結果、特異的な神経毒性を示唆する所見がないため。						84
Ex. 4-11	28日間反復投与 遅発性神経毒性	【除外理由】急性毒性試験等他の試験成績から、DCIP 原体がコリンエステラーゼ阻害性を有さず、急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がないと認められるため。						85
5-2	慢性毒性試験 24カ月	ラット	♂ 56 ♀ 56	経口 (混餌)	0, 80, 400, 2000, 10000 ppm ♂ 0, 2.70, 13.4, 65.5, 353 ♀ 0, 3.30, 17.0, 85.2, 432	♂ 13.4 ♀ 17.0		86
5-1	慢性毒性試験 24カ月	マウス	♂ 56 ♀ 56	経口 (混餌)	0, 80, 400, 2000, 10000 ppm ♂ 0, 8.41, 40.1, 198, 927 ♀ 0, 7.58, 35.8, 194, 961	♂ 198 ♀ 194		98
5-3	慢性毒性試験 52週間	イヌ	♂ 4 ♀ 4	経口 (カプセル)	0, 2, 10, 50	♂♀ 50		109
R8	発がん性試験 103週間	ラット	♂ 50 ♀ 50	経口 (強制)	0, 100, 200	発癌性なし		113
6-1	繁殖試験	ラット	F <sub>0</sub> ・F <sub>1</sub> ♂ 30 ♀ 30 F <sub>2</sub> ♂ 20 ♀ 20	経口 (混餌)	0, 30, 100, 300 ppm F <sub>0</sub> ♂ 0, 2.5, 10.2, 27.4 ♀ 0, 2.5, 8.6, 27.2 F <sub>1</sub> ♂ 0, 2.7, 12.0, 29.5 ♀ 0, 3.9, 14.6, 41.1 F <sub>2</sub> ♂ 0, 3.5, 9.1, 31.5 ♀ 0, 3.2, 12.6, 32.6	♂ 27.4 ♀ 27.2 生殖に及ぼす影響なし		114
6-2	催奇形性試験	ラット	♀ 24	経口 (強制)	0, 2, 10, 50	一般毒性 母動物: 10 胎児動物: 50 催奇形性なし		120
6-3	催奇形性試験	ウサギ	♀ 19	経口 (強制)	0, 5, 25, 125	一般毒性 母動物: 25 胎児動物: 125 催奇形性なし		122

・網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
7-1	変異原性試験 Rec-assay	枯草菌	-	-	0, 0.2, 1, 2, 5, 10, 20 μL/disk	陰性		124
	復帰変異試験	サルモネラ菌 大腸菌	-	-	0, 10, 100, 500, 1000, 2500, 10000 μg/plate	陰性		125
	宿主経由試験	マウス サルモネラ菌	♂ 5~6	-	0.50×2, 150×2	陰性		127
7-2	染色体異常試験	CHL細胞	-	-	+S9 (6hr) : 3.75, 7.5, 15, 30 μg/mL -S9 (6hr) : 125, 250, 500, 1000 μg/mL -S9 (24・48hr) : 62.5, 125, 250, 500 μg/mL	陽性		128
7-4	小核試験	マウス	♂ 5	経口	0, 37.5, 75, 150 2回 (24時間間隔)	陰性		131
8-1	Irwin法	マウス	♂ 4	経口	0, 3, 10, 30, 100, 300	30		133
8-1b	Irwin法	マウス	♂ 4	静脈内	3, 10, 30, 100	30		134
8-2	溶血作用	ウサギ	3	In vitro	0.03, 0.1, 0.3, 1.0 mg/mL	1.0 mg/mL (溶血なし)		135
8-3	ヘキサバル ピタール睡眠	マウス	♂ 5 ♀ 5	静脈内	10, 30, 100	100		136
8-4	回転棒法	マウス	♂ 10	静脈内	10, 30, 100	100		137
8-5	横隔膜/横隔 膜神経	ラット	♂ 4	in vitro	0.3, 3, 10, 30 μg/mL	30 μg/mL		138
8-6	循環器及び 呼吸	ラット	♂ 2 ♀ 2	静脈内	3, 10, 30, 100	10		139
8-7	摘出回腸	モルモット	♂ 1	in vitro	0.3, 3, 30 g/mL	30 μg/mL		140
8-8	炭末輸送	マウス	♂ 5 ♀ 5	静脈内	10, 30, 100	100		141
8-9	尿/尿中電解 質排泄	ラット	♂ 4 ♀ 4	静脈内	10, 30, 100	10		142
9-1	解毒及び 治療法	ラット	♂ 5, 11, 12	経口	500			145

・網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

2. 原体混在物及び代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
7-3	小核試験	マウス	♂ 6	腹腔内	45, 90, 180	陰性		147
R9	復帰変異試験	サルモネラ菌	-	-	0, 0.11, 1.1, 2.2, 5.5, 11 µg/plate	疑陽性		149
R7	急性毒性	ラット		経口		435		150
R1	急性毒性	ラット		経口		320		151
		ウサギ		経皮		1770		
R2	急性毒性	ラット		経口		110		152
		ウサギ		経皮		800		
R3	急性毒性	ラット		経口		4290		153
				吸入 (4 hr)		2000 ppm		
R4	急性毒性	ラット		経口		220	154	
		ウサギ		経皮		480		
		モルモット		経口		720		
R5	急性毒性	ラット		経口		9750	155	
		マウス		経口		3000		
		ウサギ		経皮		20000		
R6	急性毒性	ラット		経口		最小致死量 50	156	
				経皮		最小致死量 100		

・網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

3. 製剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
1-5	急性毒性試験 7日間観察 80%乳剤	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	780, 936, 1123, 1348, 1617 <sup>※1</sup>	♂ 1170 <sup>※1</sup> ♀ 1210		157
				腹腔内	333, 400, 480, 576, 691 <sup>※1</sup>	♂ 445 <sup>※1</sup> ♀ 535		
				皮下	690, 830, 1000, 1200, 1440 <sup>※1</sup>	♂ 865 <sup>※1</sup> ♀ 990		
1-11	急性毒性試験 14日間観察 80%乳剤	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 0, 338, 389, 447, 515, 592, 681 ♀ 0, 447, 515, 592, 681, 783, 900	♂ 436 ♀ 620		159
1-4	急性毒性試験 72時間観察 80%乳剤	マウス	♂ 8	経口	200, 260, 340, 442, 575 <sup>※1</sup>	♂ 296 <sup>※1</sup>		161
				皮下	118, 154, 200, 260, 340, 442, 575, 748 <sup>※1</sup>	♂ 278 <sup>※1</sup>		
1-6	急性毒性試験 7日間観察 80%乳剤	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	200, 260, 338, 439, 571 <sup>※1</sup>	♂ 300 <sup>※1</sup> ♀ 318		163
				皮下	200, 230, 265, 305, 350 <sup>※1</sup>	♂ 252 <sup>※1</sup> ♀ 277		
				静脈内	176, 195, 214, 236, 260 <sup>※1</sup>	♂ 214 <sup>※1</sup> ♀ 217		
1-12	急性毒性試験 14日間観察 80%乳剤	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	0, 251, 301, 361, 433, 520, 624	♂ 313 ♀ 388		165
1-13	急性毒性試験 14日間観察 80%乳剤	ラット	♂ 10 ♀ 10	経皮	0, 1000, 2000	♂ ♀ >2000		167
2-4	皮膚刺激性試験 12日間観察 80%乳剤	ウサギ	♀ 6	閉鎖貼布	0.5 mL/1インチ平方	微弱から軽度		168
2-1	眼刺激性試験 7日間観察 80%乳剤	ウサギ	♀ 6 (非洗眼) ♀ 3 (洗眼)	点眼	0.1 mL/眼	中等度		170
3-1	皮膚感作性試験 Maximization 法 72時間観察 80%乳剤	モルモット	♀ 25 もしくは ♂ 10	感作 皮内 5%×0.1 mL×2 経皮 25% (48時間) 惹起 経皮 25% (24時間)		陰性		173
4-5	亜急性毒性試験 3カ月 80%乳剤	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口 (強制)	0, 25, 50, 100, 200 <sup>※1</sup>	♂ ♀ 50 <sup>※1</sup>		175

※1: 資料 No. 1-4, 1-5, 1-6 及び 4-5 の投与量及び LD<sub>50</sub> 値は DCIP 量であり、乳剤 (製剤) 量ではない。

・網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
1-7	急性毒性試験 14日間観察 30%粒剤	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	0, 1790, 2058, 2367, 2722, 3130, 3600	♂2532 ♀3239		178
1-9	急性毒性試験 14日間観察 30%粒剤	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	0, 895, 1029, 1184, 1361, 1565, 1800	♂1044 ♀1337		179
1-8	急性毒性試験 14日間観察 30%粒剤	ラット	♂ 10 ♀ 10	経皮	0, 1000, 2000	♂♀ >2000		180
2-5	皮膚刺激性試験 3日間観察 30%粒剤	ウサギ	♀ 6	閉鎖貼布	0.5 g /1インチ平方	陰性		181
2-2	眼刺激性試験 7日間観察 30%粒剤	ウサギ	♀ 6 (非洗眼) ♀ 3 (洗眼)	点眼	100 mg/眼	中等度 (洗眼効果あり)		182
2-3	眼刺激性試験 7日間観察 (洗眼効果確認のための追加試験) 30%粒剤	ウサギ	♀ 3					
3-2	皮膚感作性試験 Maximization法 72時間観察 30%粒剤	モルモット	♀ 20 (検体) ♀ 10 (陽性対照)	感作 皮内 5%×0.1 mL×2 経皮 25% (48時間) 惹起 経皮 25% (24時間)		Maximization法 Grade I (微弱)		186
R10	粒剤							188

・網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

1. 原体を用いた試験成績

(1) 急性毒性

DCIP のマウス及びラットにおける急性経口毒性試験

(資料 1-1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ICR-Jcl 系マウス (5 週齢)、平均体重；雄 25.0 g 雌 23.0 g 1 群雌雄各 13 匹  
Wistar-Imamichi 系ラット (5 週齢)、平均体重；雄 94.1 g 雌 91.9 g、  
1 群雌雄各 13 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： DCIP 原液 5 mL、蒸留水 95 mL および Tween 80 2 滴の割合で混合攪拌した希釈液を金属カテーテルを用いて強制経口投与。

観察・検査項目：中毒症状及び死亡を投与後 14 日間観察し、Behrens 法により LD<sub>50</sub> 値を求めた。

結果：

動物種	JCR-Jcl 系マウス	Wistar-Imamichi 系ラット
投与方法	経口	経口
投与量 (DCIP 20 倍希釈液 mL/10 g 体重)	0.0579, 0.0695, 0.0834 0.1000, 0.1200, 0.1450 0.1750, 0.2050, 0.2500	0.0450, 0.0675, 0.1012, 0.1519, 0.2278, 0.3417
(mg/kg)	318, 382, 459, 550, 660 792, 962, 1127, 1375	247, 371, 556, 835, 1252 1879
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂599.3, ♀536.6	♂503.6, ♀698.2
死亡開始時間 及び終了時間	記載なし	記載なし
症状発現及び 消失時期	記載なし	記載なし
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 459	雌雄とも 371

中毒症状としては、マウス、ラットともに雌雄に関係なく虚脱、麻痺、呼吸緩徐が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP のマウス及びラットにおける急性腹腔内毒性試験

(資料 1-2)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ICR-Jcl 系マウス (5 週齢)、平均体重；雄 25.0 g 雌 23.0 g 1 群雌雄各 10 匹  
Wistar-Imamichi 系ラット (5 週齢)、平均体重；雄 111 g 雌 100 g、  
1 群雌雄各 10 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： DCIP 原液 5 mL、蒸留水 95 mL および Tween 80 2 滴の割合で混合攪拌した希釈液を注射器を用いて腹腔内に投与。

観察・検査項目：中毒症状及び死亡を投与後 14 日間観察し、Behrens 法により LD<sub>50</sub> 値を求めた。

結果：

動物種	JCR-Jcl 系マウス	Wistar-Imamichi 系ラット
投与方法	腹腔内	腹腔内
投与量 (DCIP 20 倍希釈液 mL/10 g 体重)	0.0334, 0.0401, 0.0482 0.0578, 0.0695, 0.0834 0.1000, 0.1200	0.0334, 0.0401, 0.0482 0.0578, 0.0695, 0.0834 0.1000, 0.1200
(mg/kg)	184, 220, 265, 318, 382, 459, 550, 660	184, 220, 265, 318, 382, 459, 550, 660
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂281.5      ♀259.5	♂250.7      ♀279.3
死亡開始時間 及び終了時間	記載なし	記載なし
症状発現及び 消失時期	記載なし	記載なし
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雄 220      雌 184	雌雄とも 220

中毒症状としては、マウス、ラットともに雌雄に関係なく虚脱、麻痺、呼吸緩徐が認められたが、経口投与の場合よりも経過はより早かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 1-3)

試験機関：

報告書作成：

検体の純度：

供試動物： Sprague-Dawley 系ラット (7 週齢)、体重；雄 258~296 g 雌 166~204 g  
1 群雌雄各 10 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体をそのまま背部中央に 24 時間閉塞貼布した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与日 (投与前)、試験 2、4、7、11、14 及び 15 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適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行なった。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	0、1000、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも > 2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現 及び消失時期	中毒症状は 観察されなかった
毒性徴候の認められ なかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状としては特に観察されず、死亡例もなかった。

体重は、雄では 1000 及び 2000 mg/kg 群の多くの測定日において、また雌では 2000 mg/kg 群の試験 2 及び 4 日に対照群に比し有意に低下したが、これらはいずれも試験 7 日より回復傾向を示した。

解剖所見では、全動物に薬物に起因すると思われる異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 1-10)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： アルビノラット、体重 雄 約 300 g、雌 約 250 g、1群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

暴露方法： 用事に検体を Lechler ノズル付噴霧器を用いて分散させ、下記の濃度のエアゾールを発生させた。

このエアゾールを断続的に暴露室へ送り込み、ろ過し調整した空気の連続流を供給した。

暴露条件：

設定濃度 (mg/L)	記載なし
実際濃度 (mg/L)	10.4, 12.5, 14.8, 14.9
粒子分布 (%)	記載なし
空気力学的質量中位径 ( $\mu\text{m}$ )	記載なし
呼吸可能な粒子 ( $<4\mu\text{m}$ ) (%)	記載なし
チャンバー容積 ( $\text{m}^3$ )	1.5
チャンパー内通気量 ( $\text{m}^3/\text{時}$ )	6
暴露条件	エアゾール、4 時間、全身暴露 噴射圧 1.5 $\text{kg}/\text{cm}^2$ 、噴射量 40 L/分

試験項目： 暴露中及び暴露後 14 日間、動物の症状及び生死観察記録。生存動物は試験終了時に剖検し、一部の個体については肺の組織学的検査も実施した。LC<sub>50</sub> 値は、Litchfield-Wilcoxon 法により算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

結 果：

投与方法	吸入
暴露濃度 (mg/L)	10.4, 12.5, 14.8, 14.9
LC50 (mg/L) (95%信頼限界)	12.8 (雌雄の区別について記載なし) (11.0~15.0)
死亡開始時間 及び終了時間	記載なし
症状発現及び 消失時間	記載なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	<10.4
死亡の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	<10.4

中毒症状として暴露中に動物は重度の呼吸困難に陥り、口呼吸および眼粘膜の刺激性変化が観察された。

剖検所見では、検体暴露に関連した変化は認められず、また組織学的にも肺には特に異常はなかった。

上記の変化は、性別に関係なく観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

## (2) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 3-3)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ハートレー系雌性白色モルモット、5,6 週齢、体重 295~373g、  
試験群 20 匹、対照群 10 匹

観察期間： 24 日間観察

操作方法： [Maximization Test 法]  
用量設定根拠：

感作； 皮内感作は、検体処理群において刈毛及び剃毛した肩甲骨上の背部皮膚へ、注射用水と FCA との等量混合エマルジョン、検体 25 %液及び検体 50 %液と FCA の等量混合エマルジョンの 3 種類をそれぞれ 0.1 ml ずつ 2 ヲ所合計 6 ヲ所に皮内投与した（皮内感作 0 日目）。また、検体非感作群はオリーブ油を用いて同様な方法により処理した。経皮感作は、検体処理群において皮内感作 6 日後に、皮内感作部位を刈毛及び剃毛し、翌日（皮内感作 7 日後）その部位に、100 %検体液 0.2 ml を 2×4 cm のパッチに塗布したものを 48 時間閉塞貼布することにより行った。検体非感作群は、オリーブ油を用いて同様な方法により処理した。

惹起； 惹起は、検体感作群及び検体非感作群において、皮内感作 21 日後に予め左側胴を刈毛及び剃毛した動物に、5 %検体液及びオリーブ油 0.1 ml をそれぞれ別の 1.5×1.5 cm のパッチに塗布したものを左側胴部に 24 時間閉塞貼布することにより行った。

観察項目： 惹起貼布除去 24 および 48 時間後に、処理部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。皮膚反応の評価は Magnusson & Kligman の基準に基づいて行った。一般状態は試験期間中毎日観察した。体重は 0、7、21 及び 24 日目（皮内感作を 0 日目として）に測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果： 各観察時間において皮膚反応が認められた動物数等を下表に示す。

群			供試動物数	皮膚反応が認められた動物数										陽性率 (%) *		
				24 時間					48 時間							
感作濃度		惹起濃度		皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	24 時間	48 時間	
				0	1	2	3		0	1	2	3				
検体処理	皮内 25 %	5 %	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	
	経皮 100 %															
陽性対照	皮内 0 %	5 %	10	10	0	0	0	10/10	10	0	0	0	10/10	100	100	
	経皮 0 %															
陽性対照	皮内 0.1 %	0.1 %	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100	
	経皮 0.1 %															
陽性対照	皮内 0 %	0.1 %	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0	
	経皮 0 %															

\* 陽性率 (%) = 感作反応が認められた動物数 / 供試動物数 × 100

陽性対照 (DNCB) は定期的 to 実施した試験を用いた (実施日: )

検体感作群、検体非感作群ともいずれの動物にも皮膚反応は認められなかった。  
 検体感作群に検体投与の影響と思われる一般状態および体重の異常は認められなかった。

以上の結果から、本検体はモルモットに対して皮膚感作性はないと判断した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

### (3) 急性神経毒性

急性神経毒性試験の提出除外申し出書

(資料 Ex 1-14)

ラットの28日間反復経口投与神経毒性試験からの考察

「DCIPのラットにおける28日間反復経口投与神経毒性試験」(資料 4-7)の結果、神経毒性を示唆する記載がないため。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(4) 急性遅発性神経毒性

急性遅発性神経毒性試験の提出除外理由書

(資料 Ex 1-15)

急性毒性試験等他の試験成績から、当該農薬の有効成分がコリンエステラーゼ阻害性を有さないため。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

### (5) 亜急性毒性

DCIP のラットにおける亜急性経口毒性試験

(資料 4-1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： Wistar 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、  
投与開始時平均体重 雄 59.1~59.4 g、雌 52.2~52.4 g

投与期間： 28 日間

投与方法： DCIP を 0, 100, 300, 1000, 3000 ppm 含有した飼料を 28 日間摂取させた。

試験項目及び結果：

一般症状及び死亡率；投与期間中一般症状及び死亡の観察を行った。

いずれの投与群においても一般症状の異常は認められず、死亡例もなかった。

体重変化；体重は全期間を通じて 1 週間毎に測定した。

結果を表に示す。

性別	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
1 週								↓90
2 週				↓85				↓89
3 週			↓93	↓83				↓89
4 週			↓91	↓81				↓89

(検定法 不明) ↑ ↓ :  $p < 0.05$ 、 ↕ :  $P < 0.01$ 、 ↕↓ :  $p < 0.001$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

3000 ppm 群の雌雄において体重増加抑制が認められた。1000 ppm 群の雄でも体重増加抑制が認められたが、3000 ppm 群に比して顕著な変化ではなかった。その他の投与群では対照群との間に特に差異はなかった。

摂餌量及び食餌効率；摂餌量は全試験期間中記録した。

雌雄とも 1000 ppm 以上の投与群において、統計学的に有意ではないが摂餌量の減少が認められた。この変化は強い刺激臭を有する DCIP の混入した飼料の忌避によるものであり、DCIP の中毒性変化とは考えられなかった。

食餌効率にも統計学的な有意差は認められなかったが、3000 ppm 群においてわずかな低下傾向が認められた。

飲水量；飲水量を試験開始 1 週間について調べた。

試験群と対照群との間に差異はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量は、下表の通りであった(申請者算出)。

投与量 (ppm)		100	300	1000	3000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	10.9	32.3	105.1	303.5
	雌	10.6	32.0	99.6	294.2

血液学的検査；投与終了時に全生存動物を対象にして、ヘモグロビン量、赤血球数および白血球の測定を行った。

DCIP 投与に伴う変化は、いずれの投与群においても認められなかった。

臓器重量；投与終了時に全生存動物を対象にして、肝臓および腎臓の重量測定を実施し相対重量(比体重値)を算出した。有意差が認められた項目を表に示す。

性別	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
肝臓相対重量				↑108				
腎臓相対重量		↑109	↑108	↑109		↓95	↓95	

(検定法 不明) ↑ ↓ :  $p < 0.05$ 、 ↑ ↓ :  $P < 0.01$ 、 ↑ ↓ :  $p < 0.001$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

3000 ppm 群の雄において、肝臓相対重量の増加が認められた。また、腎臓相対重量の増加がみられたが、対照群の重量が通常より軽い(通常 0.84 % 以上に対し 0.80 %) ことによるものであり、腎臓相対重量の増加は DCIP の中毒性変化とは考えられなかった。また、雌では 300 及び 1000 ppm 群で腎臓相対重量の減少が認められたが、用量相関性が認められず偶発的な変化と考えられた。

肉眼的病理検査；投与終了時の全生存動物について剖検した。

いずれの投与群においても DCIP 投与に起因すると思われる肉眼的変化は認められなかった。

病理組織学的検査；肝臓および腎臓について組織学的検査を実施した。

いずれの投与群においても DCIP 投与に起因すると思われる組織学的変化は認められなかった。

以上の結果より、3000 ppm 群の雌雄に体重増加抑制が認められ、また 3000 ppm 群の雄に肝相対重量の増加が認められた。これらのことから、3000 ppm は毒性量と考えられた。

\* 申請者注：

3000 ppm 群の雌雄に認められた体重増加抑制および 3000 ppm 群の雄に認められた肝相対重量の増加は、いずれも強い刺激臭を有する DCIP の混入した飼料の忌避に起因するものであって DCIP の中毒性変化によるものとは考えられない。従って、申請者は本試験における無毒性量は 3000 ppm (雄 303.5、雌 294.2 mg/kg/日) 以上であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP のラットにおける亜急性経口毒性試験

(資料 4-2)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： Wislar 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、  
投与開始時平均体重 雄 49.0~49.1 g、雌 46.5~46.7 g

試験期間： 3 ヶ月

投与方法： DCIP を 0, 100, 300, 1000 及び 3000 ppm 含有した粉末飼料を 3 ヶ月 (90 日) 間摂取させた。投与飼料の調製には stephan (混合攪拌機) を用い十分に混合した。調製は 2 週間に 1 回行い、室温で保存した。

試験項目及び結果：

一般症状及び死亡率；試験期間中一般症状及び死亡の観察を行った。

いずれの投与群においても DCIP 投与に関連づけられる一般症状の異常は認められず死亡例もなかった。

体重変化；体重は全期間を通じて 1 週間毎に測定した。

結果を表に示す。

性別	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
2 週				↓90				
4 週			↓91	↓85				↓92
6 週		↓90	↓85	↓81				↓91
8 週			↓88	↓81				↓91
10 週			↓89	↓82				↓89
12 週			↓89	↓83				↓89
13 週			↓90	↓83				↓89

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05、 ↑↓ : P<0.01、 ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

300 ppm 以上の雄および 3000 ppm の雌の投与群において、用量依存性の有意な体重増加抑制が認められた。しかし、この変化は強い刺激臭を有する DCIP の混入した飼料に対する動物の忌避による摂餌量の減少によるものであり、DCIP 投与に起因する中毒性変化とは考えられなかった。

摂餌量及び食餌効率；摂餌量は試験開始 4 週間と第 11 及び 12 週目について調べた。

体重変化と相関して 300 ppm 以上の投与群の雄および 1000 ppm 以上の投与群の雌において統計学的に有意ではないが摂餌量の減少がみられた。この変化は前項に記した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ごとく強い刺激臭を有する DCIP の混入した飼料の忌避によるものであり、DCIP の中毒性変化とは考えられなかった。

いずれの投与群においても、食餌効率の異常は認められなかった。

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量は、下表の通りであった(申請者算出)。

投与量 (ppm)		100	300	1000	3000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	10.1	28.5	95.5	289.6
	雌	10.3	30.3	98.2	284.9

血液学的検査；投与終了時に全生存動物を対象にして、ヘモグロビン量、血球容積、赤血球数、白血球数、白血球百分比の測定を行なった。

対照群と比べ有意差が認められた項目を表に示す。

性別	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
ヘモグロビン量				↓ 92				↓ 93
赤血球数				↓ 89			↓ 91	↓ 85
白血球数							↑ 121	↑ 129
リンパ球百分率		↑ 107						
好中球百分率		↓ 59						

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05、 ↑ ↓ : P<0.01、 ↑ ↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

3000 ppm 群の雌雄においてヘモグロビン量と赤血球数が減少した。赤血球数の減少は 1000 ppm 群の雌においても認められた。300 ppm 群の雄において、リンパ球百分率の増加と好中球百分率の減少が認められたが、用量相関性は認められず、偶発的な変化と考えられた。又、雌では 1000 ppm 以上の投与群において白血球数の増加が認められた。その他には DCIP 投与に伴う変化はなかった。

血液生化学的検査；投与終了時に全生存動物を対象にして、血清中の GOT, GPT, アルカリフォスファターゼ値を測定した。

対照群と比べ有意差が認められた項目を表に示す。

性別	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
GPT				↓ 80				↓ 78

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05、 ↑ ↓ : P<0.01、 ↑ ↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

3000 ppm 群の雌雄において、GPT 値が有意に減少した。その他には特に異常はみられなかった。

尿検査；投与終了時に、全生存動物を対象にして外観、pH、糖、蛋白(アルブミン)、潜血、ケトン体、沈渣について検査した。

いずれの投与群においても DCIP 投与に伴う変化は認められなかった。

臓器重量；投与終了時に全生存動物を対象にして、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、脳、生殖腺(精巣、卵巣)、胸腺、甲状腺、副腎の重量(絶対重量)を測定し、対体重比(相対重量)を求めた。

対照群と比べ有意差が認められた項目を表に示す。

性別		雄				雌			
検査時期(週)		13				13			
投与量(ppm)		100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
体重		94	93	↓90	↓83	103	104	97	↓89
肝臓	対体重比				↑116				↑113
脾臓	対体重比				↑133			↑125	↑147
心臓	対体重比		↑106		↑112				↑110
脳	対体重比			↑110	↑116				
胸腺	対体重比	↑122	↑131	↑129	↑141				↑118
甲状腺	対体重比							↑120	↑131
精巣	対体重比				↑114				

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05、 ↑↓ : P<0.01、 ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

臓器重量では 3000 ppm 群の雌雄において、肝臓、脾臓、心臓及び胸腺の相対重量が有意に増加した。更に、同群の雌では甲状腺の相対重量が増加した。脾臓及び甲状腺の相対重量増加は、雌の 1000 ppm 群においても観察された。雄の 100、300 及び 1000 ppm 投与群に胸腺重量の増加が認められたが、これは対照群の胸腺相対重量が低値(通常 0.107% に対し 0.086%)であったことによる偶発的な変化であった。また、雄の 3000 及び 1000 ppm 群に認められた脳及び精巣相対重量の増加は、体重の有意な低値によるものであり DCIP 投与による直接的な影響による変化とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；投与終了時に全生存動物を対象に剖検を行った。

剖検所見ではいずれの投与群においても DCIP 投与に関連づけられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査；雌雄とも最高濃度群と対照群の全動物を対象にして、上記の秤量臓器に加え、肺、気管、唾液腺、前立腺、精巣上体、子宮、膀胱、骨格筋、胸大動脈、食道、胃、腸管(6ヶ所)、膵臓、リンパ節(腋窩、腸間膜)について検索した。その他の投与群では、臓器重量に変化のあった心臓、肝臓、脾臓、胸腺および甲状腺についてのみ検索した。

性別		雄					雌				
投与量(ppm)		0	100	300	1000	3000	0	100	300	1000	3000
検査例数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
脾臓 赤血球増生 (赤脾髄における正赤芽球の増加)		0	0	0	2	7	0	0	0	3	9

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 投与に起因すると考えられる変化は、雌雄とも 1000 ppm 以上の投与群の脾臓にのみ観察された。これは、赤脾髄における正赤芽球の増生であり、血液学的検査で認められたヘモグロビン量および赤血球数の減少並びに脾臓の相対重量増加に対応するものと考えられる。なお、同変化は最高濃度群においてより顕著であった。

以上の様に、検体投与に関連づけられる変化は、雌雄とも 1000 ppm 以上の投与群において認められた。即ち、これらの投与群では、本検体投与に起因する特異的变化と思われる貧血性変化が認められ、これに対応して脾臓の相対重量増加および赤芽球増生が観察された。従って、本試験における無毒性量は雌雄とも 300 ppm (雄 28.5 mg/kg/日\*、雌 30.3 mg/kg/日\*)であると判断する。

\* 申請者注：



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP のラットにおける亜急性経口毒性試験

(資料 4-3)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： SD 系ラット、1 群雌雄各 10 匹 (5 週令)

投与期間： 3 ヶ月

投与方法： DCIP を 200, 600, 2000, 6000 ppm 含有する飼料を 3 ヶ月間摂食させた。

なお、DCIP を飼料に添加する場合は、DCIP 原液 5 mL、蒸留水 95 mL、Tween 80 2 滴を攪拌して原液の 20 倍希釈液を調製し、所定量を粉末飼料に添加した後、固形飼料にして給餌した。

飼料調製は 2 週間毎に行い、調製後は缶に密封して 4 °C に保存した。

試験項目及び結果：

一般症状；全投与期間を通して一般症状を観察した。

最高濃度群において瘦削が顕著であった他はとくに異常は認められなかった。

死亡率；全投与期間を通して死亡状況を観察した。

何れの群においても死亡例はみられなかった。

体重変化；体重は毎週 1 回測定した。

対照群に比べ有意差が認められた変化を表に示す。

性別	雄				雌			
	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
投与量 (ppm)	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
12 日	↓96		↓92	↓76			↓95	↓84
26 日			↓95	↓86			↓89	↓82
40 日			↓94	↓88			↓91	↓85
54 日			↓92	↓81			↓89	↓80
68 日			↓91	↓79			↓89	↓79
82 日			↓89	↓77			↓87	↓75
91 日			↓86	↓72			↓87	↓73

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05、 ↑↓ : P<0.01、 ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

2000 及び 6000 ppm 群の雌雄において明らかな体重増加の抑制がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

摂餌量及び食餌効率；摂餌量を毎週火、木、土曜日に測定した。また、投与初期について食餌効率を計算した。

主な結果を表に示す。

性別	雄				雌			
	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
投与量 (ppm)	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
1-5日	95	92	141	39	102	98	85	44
6-12日	97	95	93	88	75	87	73	71
13-19日	122	115	114	116	105	107	100	102
20-26日	101	94	95	99	100	102	98	98
48-54日	99	90	88	95	98	94	86	83
76-81日	105	101	93	86	106	104	136	73
82-89日	102	95	96	99	102	101	104	74
90-91日	102	92	98	113	97	94	99	74
1-26日の食餌効率	86	97	86	83	93	93	93	87

有意差検定の実施なし

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

摂餌量は 6000 ppm 群雌雄の投与開始後 1 週目で他の群より著しく低く、同群の雌については 76-91 日目においても低い値を示した。

薬物投与開始日から 26 日目までの初期の食餌効率は、雄の 600 ppm 群を除いて、何れも対照群よりやや低い値を示した。

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した 1 日当りの平均検体摂取量は、下表の通りであった。

投与量 (ppm)		200	600	2000	6000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	12	39	135	485
	雌	13	40	147	510

血液学的検査；最終解剖時に尾血管より採血し、白血球数、赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量を測定した。

対照群と比べ有意差が認められた項目を表に示す。

性別	雄				雌			
	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
投与量 (ppm)	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
赤血球数				↓ 83			↓ 91	↓ 78
ヘマトクリット値				↓ 93				↓ 93
ヘモグロビン量				↓ 89				↓ 91

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : P<0.01, ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量において 0.6 %群雌雄で統計学的に有意な減少が認められた。また、統計学的に有意な赤血球数の減少は 2000 ppm 群の雌にも認められ、これらは薬物投与による影響と考えられた。

白血球数にはややふれがみられたが、薬物濃度との関係は認められず、対照群と比較し有意差はなかった。

血液生化学的検査；最終解剖時に腹部後大静脈より採血し、GOT、GPT 及びアルカリフォスファターゼ、を測定した。

結果を表に示す。

性別	雄				雌			
	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
GOT								↓ 83
GPT						↑ 151		
アルカリフォスファターゼ		↓ 74	↓ 59				↓ 64	↓ 66

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05、 ↑↓ : P<0.01、 ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

GOT 値及び GPT 値は 600 ppm 群雌雄において軽度の増加を示し、6000 ppm 群雌雄においてはやや低い値を示した。また GPT 値は 0.02 %群雌においてやや低い値を示した。しかしこれらの変化は薬物濃度との関係が認められず、薬物の影響とは考えられなかった。

アルカリフォスファターゼ値は、600 ppm 群雄、2000 ppm 群雌雄、6000 ppm 群雌において対照群に比して低い値を示したが、薬物濃度との関係が認められず薬物の影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；最終解剖時に全身諸臓器の肉眼による検査を行った。

各群とも異常は認められなかった。

臓器重量；最終解剖時に心、腎、肝、脾、脳、甲状腺、胸腺、副腎及び卵巣または精巣の湿臓器重量を測定し、体重比(相対臓器重量)を計算した。

対照群と比べ有意差が認められた項目を表に示す。

性別		雄				雌			
検査時期 (週)		13				13			
投与量 (ppm)		200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
体重				↓ 86	↓ 72	97		↓ 87	↓ 73
肝臓	対体重比				↑134			↑116	↑140
腎臓	対体重比			↑111	↑120				
脾臓	対体重比							↑123	↑132
心臓	対体重比								↓ 84
脳	対体重比			↑114	↑131			↑111	↑127
精巣	対体重比			↑117	↑140				
卵巢	対体重比					↑124			

(検定方法 不明) ↑↓ : p<0.05、 ↑↓ : P<0.01、 ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

脳相対重量の増加が 2000 ppm 以上の投与群の雌雄に、精巣相対重量の増加が 2000 ppm 以上の投与群の雄に認められたが、この変化は体重の有意な減少によるものと考えられた。また、200 ppm 群の雌に認められた卵巢相対重量の増加は、用量相関性が認められず偶発的な変化と考えられた。

病理組織学的検査；最終解剖時に重量測定臓器に加え消化管、膀胱、膵、および骨髄について病理組織学的検査を行なった。

2000 及び 6000 ppm 群の脾臓において著しいヘモジデリン沈着が認められた。6000 ppm 群の方が 2000 ppm 群よりも程度が強く、雄より雌の方が著しかった。

その他の臓器においては、薬物投与によると思われる変化は認められなかった。

以上のように DCIP 投与によると思われる体重増加の抑制、赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン値の減少、脾臓におけるヘモジデリン沈着などが 2000 及び 6000 ppm 投与群で認められた。600 ppm 以下の投与群では薬物の影響は認められなかったことから、DCIP のラットにおける無毒性量は 600 ppm (雄；39 mg/kg/日、雌：40 mg/kg/日) であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP のマウスにおける亜急性経口毒性試験

(資料 4-4)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ICR 系マウス、1 群雌雄各 10 匹 (5 週令)

投与期間： 3 ヶ月

投与方法： DCIP を 200, 600, 2000, 6000 ppm 含有する飼料を 3 ヶ月間摂食させた。  
DCIP を飼料に添加する場合は、DCIP 原液 5 mL、蒸留水 95 mL、Tween 80 2 滴を攪拌して原液の 20 倍希釈液を調製し、所定量を粉末飼料に添加した後、固形飼料にして給餌した。

飼料調製は 2 週間毎に行い、調製後は缶に密封して 4 °C に保存した。

試験項目及び結果：

一般症状；全投与期間を通して一般症状を観察した。

雌雄とも、最高濃度 6000 ppm 群において瘦削が顕著であった外は特に異常は認められなかった。

死亡率；全投与期間を通して死亡状況を調査した。

雌雄とも、何れの群においても死亡例は認められなかった。

体重変化；体重は毎週 1 回、土曜日に測定した。

対照群と比べ有意差が認められた変化を表に示す。

性別	雄				雌			
	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
12 日				↓ 84		↓ 94	↓ 95	↓ 91
26 日			↓ 89	↓ 80			↓ 92	↓ 87
40 日				↓ 85		↑ 107		↓ 92
54 日				↓ 84				↓ 86
68 日				↓ 84				↓ 80
82 日				↓ 74				↓ 67
91 日				↓ 71				↓ 64

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05、 ↑↓ : P<0.01、 ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

6000 ppm 群の雌雄において明らかな体重増加抑制が認められた。2000 ppm 群の雌雄において実験開始後 40 日目頃まで体重増加抑制がみられたが、その後回復した。

摂餌量及び食餌効率；摂餌量を毎週火、木、土曜日に測定した。また、投与初期について食餌効率を計算した。主な結果を表に示す。

性別	雄				雌			
	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
1-5日	102	76	88	36	103	105	95	44
6-12日	113	100	110	118	126	112	124	144
13-19日	109	114	89	98	102	82	98	105
20-26日	92	90	79	62	89	121	81	77
27-33日	102	109	113	96	98	100	96	80
62-68日	80	98	107	82	91	88	84	63
69-74日	86	107	114	86	70	72	81	41
75-82日	82	98	98	69	118	118	135	65
83-89日	105	105	116	82	84	92	103	61
90-91日	83	88	98	71	95	92	97	68
1-26日の食餌効率	100	91	64	55	100	100	71	43

有意差検定の実施なし

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

摂餌量は 6000 ppm 群雌雄の投与開始後 1 週目及び 62-91 日目において他の群より低かった。薬物投与開始初期 (1-26 日) の食餌効率は、6000 及び 2000 ppm 群の雌雄において他の群より低い値を示した。

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した 1 日当りの平均検体摂取量は、下表の通りであった。

投与量 (ppm)		200	600	2000	6000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	20	77	238	725
	雌	27	85	288	812

血液学的検査；最終解剖時に尾血管より採血し、白血球数、赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量を測定した。

対照群と比べ有意差が認められた項目を表に示す。

性別	雄				雌			
	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
赤血球数				↓ 94				↓ 87
ヘマトクリット値				↓ 91				↓ 92
ヘモグロビン量				↓ 92				↓ 95

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : P<0.01, ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

6000 ppm 群雌雄において、赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量の減少が認められ、これらは薬物投与による影響と考えられた。白血球数には検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；最終解剖時に腹部後大静脈より採血し、アルカリフォスファターゼ、GOT 及び GPT を測定した。

対照群と比べ有意差が認められた項目を表に示す。

性別	雄				雌				
	投与群 (ppm)	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
アルカリフォスファターゼ			↑151	↑219					

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : P<0.01, ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

雄の 2000 及び 6000 ppm 群において、アルカリフォスファターゼの有意な増加が認められた。雌の 2000 及び 6000 ppm 群において増加傾向が認められたが、有意な変化ではなかった。

肉眼的病理検査；各群とも肉眼的にとくに異常は認められなかった。

臓器重量；最終解剖時に心、腎、肝、脾、副腎及び卵巣または精巣の湿臓器重量を測定し、体重比(相対臓器重量)を計算した。対照群と比べ有意差が認められた項目を表に示す。

性別	雄				雌			
	検査時期(週)	13				13		
投与群 (ppm)	200	600	2000	6000	200	600	2000	6000
体重			100	↓71		97	98	↓64
肝臓 対体重比			↓90			↓91		↑112
腎臓 対体重比								↑116
心臓 対体重比			↓84					
副腎 対体重比				↑140			↑111	↑128
精巣 対体重比			↓79	↑124				
卵巣 対体重比							↓68	↓49

(検定方法 不明) ↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : P<0.01, ↑↓ : p<0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

2000 ppm 群雄の心臓、肝臓、精巣での減少、2000 ppm 群雌の卵巣での減少及び副腎での増加、6000 ppm 群雄の精巣及び副腎での増加、6000 ppm 群雌の腎臓および肝臓の増加、副腎での著しい増加、卵巣での著しい減少が認められた。

卵巣対体重比の減少はその萎縮により、検体投与による影響と考えられた。その他の変化については、病理組織学的変化もなく体重減少による変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

病理組織学的検査；最終解剖時に重量測定臓器に加え消化管、膀胱、膵及び骨髄について病理組織学的検査を行なった。

2000 及び 6000 ppm 群の脾臓において著しいヘモジデリン沈着が認められた。6000 ppm 群の方が 2000 ppm 群よりも程度が強く、雄より雌の方が著しかった。また雌では対照群、200 及び 600 ppm 群で少量の沈着がみられたが、これらの群間での差は認められなかった。卵胞及び黄体の形成減少が 2000 及び 6000 ppm 群の卵巣に認められた。また卵巣髄質の萎縮が 2000 ppm 群では軽度に、6000 ppm 群では著しく認められた。その他の臓器においては検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上のように DCIP によると思われる体重増加の抑制、赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン値の減少が 6000 ppm 群雌雄に認められた。2000 及び 6000 ppm 群雌雄で脾臓にヘモジデリン沈着が認められ、さらに雌には卵巣の相対臓器重量の減少及び萎縮が認められた。これらのことから DCIP の無毒性量は、雌雄共に 600 ppm (雄：77 mg/kg/日、雌：85 mg/kg/日)であると判断する。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP のビーグル犬を用いた 4 週間亜急性経口毒性試験  
－慢性毒性試験のための用量設定試験－

(資料 4-8)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ビーグル犬、1 群雌雄各 3 頭、開始時 6 カ月齢  
投与開始時体重 ♂：7.9～9.2 kg、♀：6.4～8.8 kg

投与期間： 投与期間 4 週間

投与方法： 最近時の各動物の体重に基づいて秤量した検体をゼラチンカプセルに充填し、5、15、50 および 150 mg/kg/日の用量で 4 週間、1 日 1 回連日経口投与した。  
対照群には空カプセルを同様に投与した。なお、投与開始日を 0 日とした。

投与量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態観察、死亡及び瀕死状態の有無を毎日投与前、投与後 1 および 3 時間後の 3 回確認した。

試験終了時の死亡率を次表に示す。

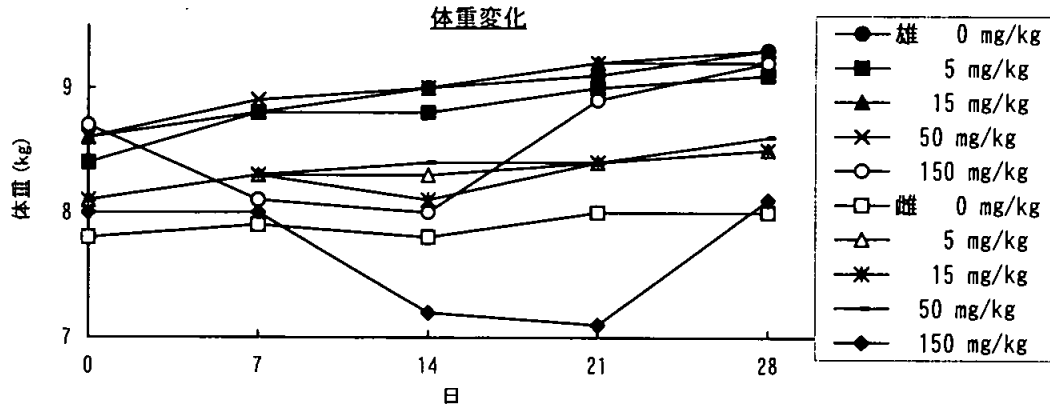
投与量 (mg/kg)		0	5	15	50	150
死亡率 (匹)	雄	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3
	雌	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3

150 mg/kg 投与群の雄 1 例を投与 16 日に、雌 1 例を投与 25 日にそれぞれ切迫屠殺した。

一般状態では、便の性状変化がみられ、50 mg/kg 投与群の雌 1 例(軟便、粘性便)が投与 1 日に 1 回、また切迫屠殺した 150 mg/kg 投与群の雄 1 例(水様便)、雌 1 例(粘性便)が投与 1～2 日に 1 回認められた。発現頻度が低く、剖検でも腸管に異常が認められなかったことから、毒性学的意義は少ないものと判断された。

また、嘔吐がすべての投与群に認められたが、出現回数は対照群と大差なかった。切迫屠殺例では、この他に眼粘膜の蒼白化(投与初期)、眼粘膜と口腔粘膜の黄色化(屠殺 1～2 日前)、体重減少、無排便などが認められた。

体重変化；群分け前、投与開始1週間前、投与開始日に各1回、投与期間中は週1回および剖検日に体重を測定した。  
体重変化を図に示す。



生存動物では、150 mg/kg 投与群の雌1例で投与2週に体重減少が認められ、投与4週においても投与開始日の体重まで回復しなかった。その他の投与群の動物に検体の影響は認められなかった。対照群と比較して統計学的有意差は雌雄とも認められなかった。

切迫屠殺例では、屠殺時まで体重減少が認められた。

摂餌量；投与開始直前の1週間、投与期間中ともに毎日測定した。

生存動物では、体重減少がみられた150 mg/kg 投与群の雌1例に、投与2週に低下が認められた。切迫屠殺例では、雄で投与1および2週、雌で投与2および3週に低下が認められた。しかし、対照群と比較して統計学的有意差は雌雄とも認められなかった。

血液学的検査；全動物について、投与開始前、投与第2および4週に、16時間絶食の後、橈側皮静脈より採血し、以下の項目の測定を行った。なお、抗凝固剤としてプロトロンビン時間と活性化部分トロンボプラスチン時間には3.8%クエン酸ナトリウムを用いた血漿を、それ以外の項目については抗凝固剤としてEDTA-2Kを用いた。

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、平均赤血球色素量、平均赤血球色素濃度、血小板数、網赤血球数、白血球数、白血球百分率、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間

有意差の認められた項目について表に示した。

性別	雄								雌								
	5		15		50		150		5		15		50		150		
検査時期	2週	4週	2週	4週	2週	4週	2週	4週	2週	4週	2週	4週	2週	4週	2週	4週	
白血球数							130		134								
							↑		↑								

Dunnett の検定法：↑ P<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

投与 4 週の検査で、雄の 50 および 150 mg/kg 投与群に白血球数の有意な増加が認められたが、いずれの個体も背景データを逸脱するものではなく、検体投与に関連した変化は認められないと判断された。生存例で体重減少がみられた 150 mg/kg 投与群の雌 1 例に投与 2 週の検査で白血球数の増加が認められ、切迫屠殺動物 2 例の瀕死期の検査で、白血球数増加、プロトロンビン時間の延長、赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の増加などが認められたが、全身状態の悪化に起因するものと考えられた。

血液生化学検査；血液学的検査と同時に採取した血液を用い、下記項目の測定を行った。なお、GOT と GPT は抗凝固剤としてヘパリンを用いた血漿、それ以外の項目については血清を用いた。

GOT、GPT、アルカリホスファターゼ（以下、ALP）、無機リン、血糖、尿素窒素、クレアチニン、総コレステロール、総ビリルビン、リン脂質、総蛋白質、A/G 比（蛋白質分画から算出）、蛋白質分画、カルシウム、塩素、カリウム、ナトリウム、トリグリセライド、遊離脂肪酸

有意差の認められた項目について表に示した。

性別	雄								雌							
	5		15		50		150		5		15		50		150	
群 (mg/kg)	2 週		4 週		2 週		4 週		2 週		4 週		2 週		4 週	
総コレステロール								↓ 59								
総蛋白質	↑ 109															
リン脂質								↓ 62								
クレアチニン															↓ 68	↓ 58

Dunnell の検定法：↑, ↓ P<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

150 mg/kg 投与群の雄で総コレステロールおよびリン脂質の減少が投与 2 週に、雌でクレアチニン減少が投与 2 および 4 週に認められた。後述する屠殺例の検査値からクレアチニン減少は検体投与に関連した変動と考えられた。その他、5 mg/kg 投与群の雄で認められた投与 2 週での総蛋白質の増加は、投与量との相関性のない変化で、検体投与による影響とは考えられなかった。

体重減少がみられた 150 mg/kg 投与群の雌 1 例では、GOT、GPT および ALP 活性の上昇、総コレステロールおよびトリグリセライドの減少が投与 2 週に認められた。切迫屠殺動物では、総コレステロール、トリグリセライドおよびリン脂質の減少、遊離脂肪酸の増加、GOT および GPT 活性の上昇が認められた。これらの変化は、肝細胞の高度な空胞化に関連する変化と考えられた。また、総ビリルビンの増加や ALP 活性の上昇がみられ、肝臓の胆汁うっ滞に起因する変化と考えられた。その他に、クレアチニン、総蛋白質、血糖、カリウムおよびナトリウムの減少などが認められたが、栄養状態の悪化に起因する変化と考えられた。

尿検査； 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。  
尿量、色調、比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、蛋白質、  
ウロビリノーゲン、沈渣

生存動物では、投与2および4週ともに検体投与に関連した変化は認められなかった。  
切迫屠殺動物では、雌の投与4週にビリルビンが高度に出現したが、黄疸に関連する  
変化と考えられた。また、ケトン体が軽微に認められたが、栄養状態の悪化に伴う変  
化と考えられた。

眼科学的検査；全動物について、投与開始前1週と投与4週に肉眼による外観検査、スリットラ  
ンプ検査および眼底検査を実施した。  
異常所見は観察されなかった。

臓器重量；全動物について下記の臓器を摘出し、重量（絶対重量）を測定した。また、臓器重量  
/体重比（相対重量）を算出した。

脳、下垂体、甲状腺、顎下腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、膵臓、副腎、脾臓、  
精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮

生存動物では、有意な変化は認められなかった。  
切迫屠殺動物（雌雄各1例）では、肝臓の絶対および相対重量の増加が認められた。  
病理組織学的検査で肝細胞の高度な空胞化と軽度な胆汁うっ滞が観察され、切迫屠殺  
動物における肝臓重量増加は検体投与に起因した変化と考えられた。  
なお、150 mg/kg 投与群の雌の切迫屠殺例と生存動物各1例に認められた胸腺重量の  
低下は一般状態の悪化などに起因した二次性的変化と考えられた。

肉眼的病理検査；瀕死動物を含め、すべての動物について剖検を行った。  
体重減少がみられた150 mg/kg 投与群の生存例の雌1例と雌雄の切迫屠殺動物に肝臓  
の黄色化が、また切迫屠殺動物では肝臓以外の全身諸臓器の黄色化が認められ検体投  
与に起因する変化と考えられた。  
その他に認められた所見は偶発的なものと考えられた。

病理組織学的検査；瀕死動物を含め、すべての動物を対象として、以下の臓器について病理標本  
を作製し、検鏡した。

大脳、小脳、延髄、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、心臓、肺、肝臓、胆嚢、  
腎臓、脾臓、膵臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、顎下腺

検査結果を表1に示す。  
切迫屠殺動物では、肝細胞の高度な空胞化と軽度な胆汁うっ滞が認められ、いずれも  
検体投与に起因した変化と考えられた。150 mg/kg 投与群の生存動物の肝臓には、組  
織学的な変化はみられなかった。なお、150 mg/kg 投与群の雌の切迫屠殺例と生存動  
物の1例に認められた皮質リンパ球の減少による胸腺萎縮は、一般状態の悪化などに  
起因した二次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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

以上の結果、150 mg/kg 投与群の雌雄で一般状態の悪化、体重減少、摂餌量減少、肝臓重量増加を伴う肝細胞空胞化、胆汁うっ滞、肝臓の変化と関連した血液生化学的変化などが認められた。50 mg/kg 以下の投与群の雌雄では検体投与に起因した変化が認められなかったことから、本試験における無毒性量は 50 mg/kg/日と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表1：病理組織学的検査結果

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (mg/kg/日)		0	5	15	50	150	0	5	15	50	150
最終計画殺	臓器	所見\検査動物数	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2
	心臓	乳頭筋心筋線維化	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		房室弁血管拡張症	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	限局性肺炎	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	胸腺	萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎臓	間質細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
切迫屠殺	臓器	所見\検査動物数	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	心臓	限局性心外膜線維性肥厚	-	-	-	-	0	-	-	-	-	1
	肝臓	肝細胞空胞化	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
		胆汁うっ滞	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	胸腺	萎縮	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	腎臓	尿細管上皮空胞化	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1

-：検査動物がなかったことを示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP のウサギにおける亜急性経皮毒性試験

(資料 4-6)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ(体重 2.1~2.9 Kg)、1群雌雄各2匹

投与期間： 3週間

投与方法： エタノールで希釈した DCIP を 0, 250, 500, 1000 mg/kg の用量で 1日 6~8 時間、週 5 日間、3 週間にわたりせん毛した皮膚に塗布し、毎日の処理時間終了ごとに、石けんおよび微温湯で動物を洗い、その後は水分を拭き取った。

投与量設定根拠：

試験項目及び結果：

一般症状；投与期間中一般症状を観察した。

500 および 1000 mg/kg 塗布群において、投与期間中特に毎日の検体の塗布時あるいは洗浄時に神経過敏症が観察された。同変化は、第 3 週時には 250 mg/kg 塗布群においても認められた。

なお、対照群の雄 1 例が第 1 週の終わりに完全な食欲欠乏を示したため、対照群から除外した。

適用部位の皮膚所見；投与期間中適用部位の皮膚反応を観察した。

投与第 1 週目の終りには、検体塗布群の全動物において軽度ではあるが皮膚が硬化あるいは落屑状を呈し、限局性の出血巣及び小壊死巣が観察された。同変化の程度は、投与 2 週目の終りまでは明らかな用量相関性を示したが、投与 3 週目ではその差は徐々に減少し、不明瞭となった。

体重変化；投与期間中毎週体重を測定した。

検体塗布群と対照群との間に特に差異は認められなかった。

摂餌量及び飲水量；投与期間中摂餌量及び飲水量を毎週調査した。

1000 mg/kg 塗布群の雄において飲水量の増加が認められたことを除き、検体塗布に伴う変化はなかった。

血液学的検査；投与開始前及び投与第3週時に全生存動物を対象として、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数、白血球数、白血球百分比の測定を行なった。また、対照群と最高用量群については平均赤血球恒数 (MCV, MCH, MCHC) の測定も実施した。

結果を表に示す。

性別	雄			雌		
	3週			3週		
検査時期 群 (mg/kg/日)	250	500	1000	250	500	1000
ヘモグロビン量	85	90	71	100	102	93
ヘマトクリット値	93	94	79	99	101	93
赤血球数	84	87	70	98	89	87
白血球数	125	116	85	106	116	115
MCV	—	—	113	—	—	107
MCH	—	—	102	—	—	107
MCHC	—	—	90	—	—	100

有意差検定の実施なし —：測定なし

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの、なお雄については対照群の雄1例が食欲廃絶を示したため除外し対照群1例のデータで計算

1000 mg/kg 塗布群、特に雄において、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値および赤血球数が減少を示し、MCV、MCH、MCHC は生物学的変動範囲にあることから、正球性貧血が示唆された。

白血球百分比に異常は認められず、その他の塗布群では検体塗布に伴う変化は特にみられなかった。

尿検査；試験終了時に全生存動物を対象として、外観、pH、糖、蛋白(アルブミン)、潜血、ケトン体、沈渣の検査を実施した。

いずれの塗布群においても検体塗布に伴う変化は認められなかった。

臓器重量；投与終了時に全生存動物を対象に心臓、腎臓、肝臓、脾臓の各重量を測定し、体重比(相対臓器重量)を算出した。

検体塗布に関連づけられる異常は特に認められなかった。

肉眼的病理検査；投与終了時に全生存動物を対象として、剖検を行った。

前述の塗布部位の皮膚所見以外には検体塗布に起因すると思われる変化はなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

病理組織学的検査；投与3週間後に剖検した全動物を対象にして、上記の秤量臓器に加え、適用部位を含む皮膚および胃の組織学的検査を実施した。  
主な所見を表に示す。

検査時期	投与群 (mg/kg/日)		0	250	500	1000
最終 計画 殺	臓器	所見\検査動物数	3	4	4	4
	皮膚 (適用 部位)	棘細胞増生・過角化症・錯角化症 軽度	0	1	2	0
		同 中等度	0	1	1	2
		同 重度	0	2	1	2
		表皮内小膿胞	0	2	0	0
	浮腫及び炎症性細胞を伴う出血性滲出液	0	2	1	2	

検体塗布に起因すると考えられる変化は、塗布部位の皮膚においてのみ観察された。病変のあった皮膚では、表皮の棘細胞増生、過角化症、錯角化症および表皮下の炎症が認められた。これらの病変は、全塗布群に共通して認められ用量による差異はなかった。

以上の様に、最高用量の 1000 mg/kg 塗布群では雌雄とも軽度の正球性貧血が示唆され、皮膚塗布部位における硬化・落屑、出血あるいは壊死巣などの肉眼病変、表皮の棘細胞症、過角化症、錯角化症および表皮下の炎症などの組織学的変化が認められた。500 および 250 mg/kg 塗布群では適用部位の皮膚に上記の変化が観察された以外には検体塗布に伴う明確な中毒性変化はなかった。  
以上の結果から、本試験条件下における DCIP の無毒性量は雌雄とも 500 mg/kg/日と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(6) 反復経口投与神経毒性試験

ラットにおける 28 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 4-7)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： Crj:CD (SD) IGS 系ラット、一群雌雄各 10 匹、開始時 5 週齢  
体重；雄 132~149 g 雌 116~134 g

投与期間： 28 日間

投与方法： 検体を 0、20、50 及び 100 mg/kg の用量で、連続 28 日間にわたって胃ソルデを用いて強制的に 1 日 1 回強制経口投与した。溶媒としてトウモロコシ油を用い、5 mg/kg の容量で投与した。

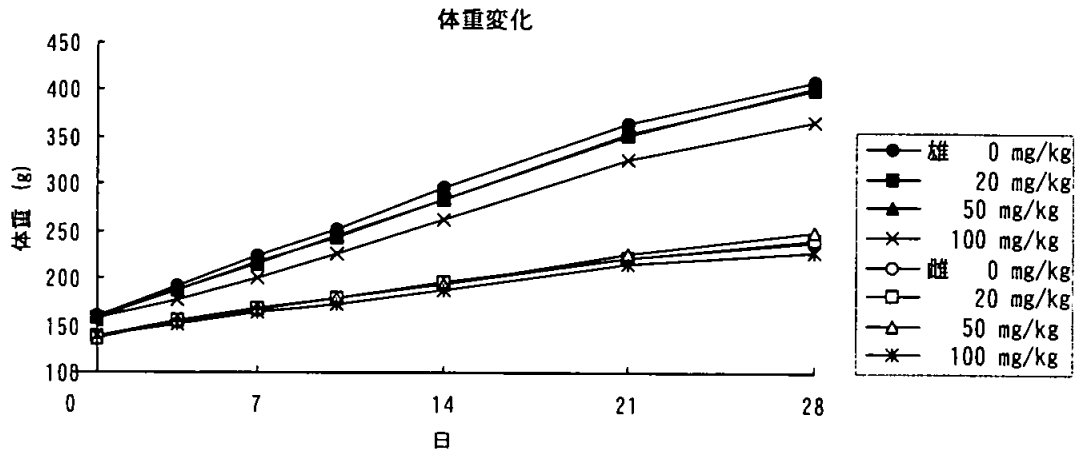
投与量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死についての観察を 1 日 2 回午前と午後に行った。

試験期間を通して死亡例は認められなかった。100 mg/kg 群の雄では投与 4 日まで、雌では 2 日までほとんどの動物に閉眼が認められた。投与 9 日以降では雌雄ともに流涎が散見された。他に、雌 1 例で投与 25 日以降に眼球の赤色斑が認められた。なお、投与開始日を投与 0 日とした。

体重変化；投与 1、4、7、10、14、21 および 28 日に体重を測定した。平均体重変化を次図に示す。



総体重増加量を次表に示す。

投与量 (mg/kg)		0	20	50	100
総体重増加量 (g)	雄	248.0	244.3	242.3	↓↓ 209.0
	雌	101.2	102.1	112.4	89.5

Dunnnett の検定法 ↓ ↓ :  $p \leq 0.01$

100 mg/kg 群の雄の体重は投与 4 日以降に有意な低値がみられ、増加抑制も認められたが、雌では有意差は認められなかった。

摂餌量： 全動物の摂餌量を週 1 回測定した。  
結果を次表に示した。

(単位 ; g)

性別	雄				雌				
	投与量 (mg/kg)	0	20	50	100	0	20	50	100
検査時期 (日)	1	20.10	19.70	20.30	20.10	17.40	17.20	17.20	17.60
	7	23.03	22.00	21.68	↓ 19.01	17.20	17.54	17.30	16.00
	14	25.69	24.20	24.20	↓ 22.43	16.98	17.06	17.25	16.85
	21	27.98	26.58	26.26	↓ 24.99	17.60	17.71	18.71	17.63
	28	26.38	26.40	25.94	25.23	16.95	16.95	18.06	16.41

Dunnnett の検定法 ↓ :  $p \leq 0.05$ , ↓ ↓ :  $p \leq 0.01$

100 mg/kg 群の雄では投与 7 日以降に有意な低値がみられたが、投与 28 日には有意差はみられなかった。雌では有意差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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

詳細な一般状態観察；投与開始前及び投与 7, 14, 21, 28 日に、全動物を対象として以下の項目について観察し、程度付けした。

ホームケージ内；姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦・痙攣、常同行動（回転・旋回）、異常行動（自傷）  
 ハンドリング； ケージからの取り出し易さ、扱い易さ、筋緊張、立毛、被毛の状態、皮膚、眼球突出、瞳孔径、可視粘膜、流涙、流涎、体温  
 オープンフィールド内；痙攣、歩行、覚醒状態、排尿、排糞、常同行動（毛繕い・匂嗅ぎ）、異常行動（後方突進・発声）、呼吸

各投与群の雌雄に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

機能検査；投与開始前と投与 4 週に、全動物を対象として以下の項目について観察・測定し、程度付けした。

作業台上； 視覚（接近反応）、触覚（接触反応）、聴覚（音に対する反応）、痛覚（尾根部を挟む）、固有受容反応（強制姿勢からの復帰）、空中正向反射、握力、後肢の開脚幅、自発運動量（10分×6回）

自発運動量測定<sup>a</sup>

検査 時期 (週)	測定 時間 <sup>b</sup> (分)	投与量 (mg/kg)							
		雄				雌			
		0	20	50	100	0	20	50	100
0	0-10	400.8	322.4	341.0	343.1	447.3	441.6	342.5	306.8
	10-20	247.1	197.4	181.5	239.4	245.9	253.3	241.0	162.8
	20-30	128.2	102.1	129.8	158.8	140.3	177.1	140.6	151.4
	30-40	63.2	54.4	83.9	82.0	138.5	148.6	60.9	88.1
	40-50	9.9	36.0	82.3	58.5	94.0	88.6	37.1	60.7
	50-60	15.9	4.3	2.6	0.0	71.1	88.1	63.0	34.4
	0-60	865.1	716.6	821.1	881.8	1137.1	1197.3	885.1	804.2
4	0-10	262.3	214.4	190.7	195.6	361.4	312.4	316.4	363.2
	10-20	217.4	170.1	152.5	↓129.3	290.5	282.8	253.3	303.5
	20-30	160.8	144.0	79.5	↓55.9	240.7	174.2	162.8	244.5
	30-40	123.7	75.2	66.6	↓51.0	137.4	182.1	110.6	156.5
	40-50	97.4	55.3	55.3	↓40.3	119.5	129.0	108.1	121.0
	50-60	62.6	49.0	27.8	43.5	89.6	124.3	77.1	95.7
	0-60	924.2	708.0	572.4	↓515.6	1239.1	1204.8	1028.3	1284.4

Dunnett の検定法 ↓ :  $p \leq 0.05$ , ↓↓ :  $p \leq 0.01$

a 10 匹の平均値

b 10 分間隔で 6 回測定

投与 4 週の自発運動量において、100 mg/kg 群の雄で測定開始 10~50 分および 1 時間の総運動量で有意な低値が認められた。しかし、握力などの他の機能検査項目や観察項目には異常がみられていないこと、神経線維などに病理組織学的所見をともなっていないことから、検体投与による体重増加抑制や継続的な摂餌量の低下にともなう変化と考えられた。

眼科学的検査；投与開始前は全動物、投与4週は対照群および100 mg/kg群の全動物について眼科学的検査を実施した。散瞳を点眼した後、個々の動物の両眼の前眼部および中間透光体をスリットランプで、両眼底を眼底カメラを使って観察した。  
各投与群の雌雄ともに、両眼の前眼部、中間透光部および眼底のいずれにも異常は認められなかった。

肉眼的病理検査；各群5匹を対象として肉眼的病理検査を行った。

100 mg/kg群の雌1例に右眼球の赤色斑が認められたが、他の雌に認められなかったことおよび検体投与に起因した毒性がより強く発現している100 mg/kg群の雄に異常がみられないことから、検体投与との関連性はないと考えられた。  
それ以外に異常は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群および100 mg/kg群の雌雄各5匹の動物を対象とした。灌流固定実施後、器官・臓器を摘出し、以下の器官・臓器についてパラフィン包埋、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して検鏡した。なお、剖検時に右眼球に赤色斑が認められた雌1例については、灌流固定を行っていないが、右眼球の組織標本を作製し検鏡した。

- ・ 脳(前脳および海馬を含む大脳中心部、中脳、橋、小脳、延髄)
- ・ 視神経および網膜を含む眼球
- ・ 脊髄(頸膨大および腰膨大)
- ・ 脊髄神経節
- ・ 神経線維(前根および後根)
- ・ 坐骨神経(近位)、脛骨神経(膝部・近位および腓腹筋分岐部)
- ・ 骨格筋(腓腹筋)

100 mg/kg群の雌雄ともに、検査したいずれの器官・臓器(中枢および末梢神経系)にも異常は認められなかった。

なお、右眼球に赤色斑が認められた雌1例については、視神経乳頭に軽度な出血が認められたが、他の雌に認められなかったことおよび被験物質投与に起因した毒性がより強く発現している100 mg/kg群の雄に異常がみられないことから、検体投与との関連性はないと考えられた。

以上のように、検体投与に関連する変化として、100 mg/kg群で雌雄とも投与期間初期に閉眼、投与9日以降に流涎が散見されたが、流涎については検体の刺激性に基づくものと考えられた。また、雄では体重増加抑制や継続的な摂餌量の低下、これに伴い自発運動量の低下も認められたが、その他の観察、検査項目には異常はなく、中枢および末梢神経系には雌雄とも病理組織学的変化はまったく認められなかった。20および50 mg/kg群では一般状態、機能検査、体重推移および摂餌量などにもまったく変化が認められなかった。

本試験条件下における検体の無毒性量(NOEL)は雌雄ともに50 mg/kg/日であり、高用量の100 mg/kg/日においても神経毒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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

反復経口投与神経毒性試験の提出除外申し出書

(資料 Ex 4-10)

ラットの 28 日間反復経口投与神経毒性試験からの考察

「DCIP のラットにおける 28 日間反復経口投与神経毒性試験」(資料 4-7)の結果、神経毒性を示唆する所見がないため。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(7) 28日間反復投与遅発性神経毒性

28日間反復投与遅発性神経毒性試験の提出除外理由書

(資料 Ex 4-11)

急性毒性試験等の試験成績から、DCIP 原体がコリンエステラーゼ阻害性を有さず、急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がないと認められるため。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(8) 慢性毒性及び発がん性

DCIP のラットにおける慢性毒性試験

(資料 5-2)

試験機関：

報告書作成年：

報告書改訂年：

検体の純度：

供試動物： SD 系ラット (6 週令)、1 群雌雄各 56 匹

投与期間： 24 ヶ月

投与方法： DCIP を 0, 80, 400, 2000, 10000 ppm 含有した粉末飼料を 24 ヶ月 (104 週) 間摂取させた。DCIP はオリーブオイル (飼料の 5 %) で希釈した後粉末飼料に加え、混合機で撹拌した。

なお、試験開始後計画的 (投与 13, 26, 52, 78\*週時) に各群の動物雌雄それぞれ 7 匹ずつを、また試験終了時 (投与 104 週後) には、生存動物全例をと殺し検査した。また、途中死亡・切迫殺動物についても可能な限り諸検査を実施した。

試験項目及び試験結果：

一般症状及び死亡率；投与期間中毎日動物の症状、生死を観察した。

104 週時の死亡率を表に示す。

投与量 (ppm)		0	80	400	2000	10000
死亡率 (%)	雄	46.4	42.9	10.7	25.0	21.4
	雌	46.4	46.4	7.1	7.1	25.0

2000 ppm 以上の投与群で雌雄とも体重増加抑制に伴う体型の小型化および削瘦が認められ、10000 ppm 群では 4~8 週頃より行動の不活発な個体が観察された。

104 週時の死亡率は、上記の表のごとくであり、対照群との間に差は認められなかった。

体重変化；投与開始後 26 週までは毎週 1 回、52 週までは 2 週に 1 回、その後 104 週まで 4 週に 1 回の頻度で測定した。

結果を表に示す。

※ ; 78 週目の検査では、同時に、資料 M2 に示した臓器内分布が調べられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

性別	雄				雌				
	週\投与量 (ppm)	80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
1			100	↓94	↓74			↓94	↓74
4			↓96	↓91	↓69		↓96	↓92	↓82
13				↓85	↓66		↓94	↓89	↓77
26				↓84	↓68		↓94	↓83	↓74
52				↓83	↓69			↓73	↓62
80			↓85	↓84	↓68		↓81	↓75	↓54
104					↓74			↓76	↓50

Dunnett または Scheffe 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 とした場合の値を表したもの。

400 ppm 以上の投与群において雌雄とも体重増加抑制が認められた。このうち 10000 ppm 及び 2000 ppm 群では、摂餌量及び食餌効率が低下しており、体重増加抑制は強い刺激臭を有する検体の混入した飼料忌避及び検体摂取の影響と考えられた。400 ppm 群では食餌効率の低下はなく体重増加抑制は飼料忌避によるものと考えられた。80 ppm 群では雌雄ともに有意差は認められなかった。

摂餌量； 各投与群雌雄とも投与開始時に定めた 4 ケージについて毎週 2 回摂餌量を測定した。1 日 1 匹の平均摂餌量を、投与開始後 26 週までは週 1 回、その後 52 週までは 2 週に 1 回、その後 104 週まで 4 週に 1 回の頻度で算出した。

性別	雄				雌				
	週\投与量 (ppm)	80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
1		98	94	70	45	107	101	83	48
4		101	98	84	68	98	99	90	77
13		102	92	78	69	93	88	75	71
26		102	95	82	72	101	100	79	74
52		105	90	75	73	109	95	79	68
80		90	88	83	70	92	84	79	64
104		96	86	94	70	92	90	80	66

有意差検定の実施なし

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

400 ppm 以上の投与群では、飼料の給餌器からの掻き出しが多く、検体濃度に関連した摂餌量の低下傾向が認められた。2000 ppm 及び 10000 ppm 群では、強い刺激臭を有する検体の混入した飼料忌避による摂餌量の低下が認められた。

食餌効率； 各投与群雌雄の平均体重増加をそれぞれの平均摂餌量で除し、100 を乗じてパーセントとした。

各投与群の食餌効率は雌雄ともに対照群のそれを上下する一定しない変動を示したが、10000 ppm 群の雌雄および 2000 ppm 群の雌で検体濃度と関連した食餌効率の総平均の低下が見られた。

検体摂取量；摂餌量に投与濃度を乗じて検体摂取量を算出した。

算出された各投与群雌雄の総平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		80	400	2000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.70	13.4	65.5	353
	雌	3.30	17.0	85.2	432

飲水量；各投与群雌雄とも投与開始時に定めた4ケージについて毎週2回飲水量を測定した。1日1匹の平均飲水量を平均摂餌量の場合と同様に算出した。

2000 ppm以上の投与群の雌雄および400 ppm群の雄で飲水量の低下傾向を認めたが、これは摂餌量の減少に伴う二次的な変化と推察された。

血液学的検査；投与13, 26, 52, 78週時の計画殺動物と投与104週時の全生存動物を対象として、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、白血球百分率の測定を行った。採血は開腹した後大静脈より行ったが、白血球百分率検査用の血液は尾静脈血を用いた。

統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

検査時期	検査項目	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
13週	RBC				↓89				↓92
	Ht				↓93				
	Hb				↓89			↓96	↓93
	WBC			↓77	↓64				
	白血球百分率	リンパ球	↓90		↓87				
	分葉核好中球	↑400		↑533					
26週	Ht								↓94
	Hb				↓93				↓90
	白血球百分率	分葉核好中球							↑164
	好酸球	↓0	↓0	↓0					
52週	RBC				↓93				
	Hb		↑105						↓94
	白血球百分率	桿状核好中球							↓0
78週	白血球百分率	分葉核好中球					↑150	↑155	↑155

Dunnett または Scheffe 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とした場合の値を表したもの。

10000 ppm群の雌雄で貧血と関連する項目の変動が試験前半期に観察された。これに関連し、病理組織学的検査において脾臓のヘモジデリン沈着が10000 ppm群の雌雄で、脾臓の髓外造血亢進が10000 ppm群の雄で、腎臓のヘモジデリン沈着が10000 ppm群の雌で認められており、検体の特異的な作用と考えられた。一方、好中球における変動は、投与期間を通じた変動でないこと及び病理組織学的検査での裏付けの所見もないことから検体による作用とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

血液生化学的検査；投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物を対象として、下記の項目について検査を行った。

GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ (ALP)、血糖、総蛋白、尿素窒素 (BUN)、総コレステロール (T. Chol)、総ビリルビン値

また、投与 104 週時には血清蛋白分画の測定も行なった。

統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

検査時期	検査項目	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
13 週	GOT				↓77				↓70
	GPT				↓36				↓38
	ALP					↓64		↓59	
	血糖			↓85	↓82				
	BUN			↑133	↑127				
26 週	GPT				↓48				
	BUN	↑113		↑113	↑113				
	T. Chol					↑125			
52 週	GPT								↓27
	血糖				↑116				
	BUN							↑126	
	T. Chol					↓79	↓74	↓79	↓73
78 週	GPT				↓52				↓47
	ALP							↑205	
104 週	GOT				↓76				
	GPT				↓48				↓63
	血糖								↑129
	アルブミン分画				↑133			↑128	↑132
	α1グロブリン分画				↓67			↓74	↓68
	α2グロブリン分画				↓64				↓64
	α'2グロブリン分画			↓71	↓62				↓63
	A/G 比				↑175			↑159	↑164

Dunnett または Scheffe 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 とした場合の値を表したもの。

尿素窒素の軽度増加が 2000 および 10000 ppm 群の雄で 13 週時に認められた。26 週時にも 80, 2000 および 10000 ppm 群の雄でごく軽度増加が認められたが、用量相関性が認められず偶発的な変動と考えられた。尿素窒素の軽度増加は試験中期以降は回復したことから、肝に対する検体の何らかの作用が示唆されたが、極めて軽度と推察された。また、10000 ppm 群の雌雄で GPT の著しい減少と GOT の減少が認められた。通常、薬物による臓器障害の際にはこれらの測定値は上昇するが減少であることから、これらの変化は体重増加抑制に伴う生理活性の低下によるもので、毒性学的意義はないと判断された。

104 週時の検査で血清蛋白分画の変動が 2000 および 10000 ppm 群の雌雄に認められたが、検査を実施したのが 104 週時のみであり検体投与による変化であると断定できなかった。

アルカリフォスファターゼおよび総コレステロールに変動を認めたが、用量相関性がなく検体による特異的で毒性学的意義のある変化と判断もしくは断定できなかった。

また、血糖にも変動がみられ、雄では 13 週時に 2000 および 10000 ppm 群で減少、52 週時に 10000 ppm 群で増加、雌では 104 週時に 10000 ppm 群で増加が認められた。雄では 13 週時と 52 週時では変動が反対であり、試験後半には変動が認められなかったこと、雌では 104 週時のみの単発的な変動であることから検体による特異的で毒性学的意義のある変化と判断もしくは断定できなかった。

尿検査； 投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と 104 週時の全生存動物を対象として、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血の検査を行なった。  
統計学的有意差が認められたのは、78 および 104 週に 10000 ppm 群の雄に、また 104 週に 2000 ppm 群の雌に認められた尿蛋白の減少と 104 週に 10000 ppm 群の雄に認められたケトン体陽性例の増加であった。  
尿蛋白の減少については血漿総蛋白値や泌尿器系組織に異常がなかったこと、また雌については用量相関性も認められなかったことから検体による変動とは考えられなかった。

臓器重量； 投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物を対象として、剖検後、下記の臓器重量 (絶対重量) を測定した。

脳、下垂体、甲状腺、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、生殖腺 (精巣、卵巣)、骨格筋 (左後肢下腿三頭筋)

また、各臓器について相対重量 (比体重値) を求めた。

統計学的有意差が認められた臓器を表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表：統計学的有意差が認められた臓器重量変化（雄）

投与量 (ppm)		80		400			2000					10000				
臓器	検査時期 (週)	26	52	13	26	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104
体重				↓90			↓82		↓81			↓64	↓72	↓68	↓74	↓74
脳	絶対重量											↓90				
	相対重量						↑118					↑138	↑134	↑139	↑128	↑131
下垂体	絶対重量		↑131									↓69				↓71
	相対重量															
甲状腺	絶対重量										↑136					
	相対重量										↑141				↑155	↑176
心臓	絶対重量		↑114			↓84	↓79					↓64	↓69		↓87	↓74
	相対重量								↑120					↑125	↑115	
胸腺	絶対重量										↑206					
	相対重量										↑210					
肝臓	絶対重量	↑127	↑123				↓83					↓71				↓82
	相対重量	↑117			↑115			↑114					↑120	↑126	↑111	↑120
腎臓	絶対重量						↓79					↓74	↓84		↓75	↓75
	相対重量							↑109					↑114			
脾臓	絶対重量											↓81				↓66
	相対重量											↑121	↑133	↑150		
副腎	絶対重量													↓77		
	相対重量			↑122			↑122			↑117		↑133				
精巣	絶対重量															
	相対重量						↑130					↑145	↑141	↑131	↑140	↑144
骨格筋	絶対重量						↓84					↓66	↓77	↓82		
	相対重量													↑120		↑127

Dunnett または Scheffe 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 とした場合の値を表したもの。

表：統計学的有意差が認められた臓器重量変化（雌）

投与量 (ppm)		80		400			2000					10000				
臓器	検査時期 (週)	13	52	26	52	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104
体重				↓89			↓90	↓82	↓68	↓64	↓76	↓76	↓73	↓58	↓54	↓50
脳	絶対重量						↓90									
	相対重量							↑121	↑146	↑159	↑133	↑120	↑133	↑163	↑178	↑192
下垂体	絶対重量											↓58				
	相対重量			↑134	↑136		↑134	↑168						↑148		↑161
甲状腺	絶対重量							↓65								
	相対重量							↑151				↑185	↑151	↑131	↑203	↑209
心臓	絶対重量							↓89	↓80				↓78	↓78	↓80	↓69
	相対重量	↑112						↑115	↑117			↑115		↑130	↑141	↑142
胸腺	絶対重量	↑228					↑286	↓33	↓53			↑203		↓42		
	相対重量	↑249					↑301	↓47			↑279					↑218
肝臓	絶対重量							↓74	↓69			↓80	↓78	↓69	↓69	↓63
	相対重量													↑117	↑130	↑124
腎臓	絶対重量												↓79	↓76	↓82	↓73
	相対重量		↑116	↑114	↑116			↑119	↑127	↑133		↑114		↑131	↑154	↑143
脾臓	絶対重量		↑122													↓63
	相対重量								↑136			↑129	↑162	↑158	↑164	↑136
副腎	絶対重量													↓78		
	相対重量		↑142		↑133			↑142						↑125	↑158	↑158
卵巢	絶対重量											↓76				
	相対重量													↑163	↑200	
骨格筋	絶対重量											↓74	↓84		↓70	
	相対重量					↑126			↑140	↑127	↑134		↑118	↑142	↑133	↑174

Dunnett または Scheffe 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 とした場合の値を表したもの。

雌雄とも臓器重量を測定した全ての臓器に統計学的有意差が認められたが、病理組織学的検査との関連性は認められず、用量相関性もみられないことから、これらの変化はいずれも体重増加抑制に伴う体型の小型化によるもので検体投与による臓器障害を示唆するもので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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

肉眼的病理検査；投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物及び途中死亡・切迫殺動物を対象として肉眼的病理検査を実施した。

10000 ppm 群の雌雄で、体型および全身諸臓器の小型化がみられたが、体重増加抑制に伴うものと考えられた。

病理組織学的検査；投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物及び途中死亡・切迫殺動物を対象として、下記の臓器について病理組織学的検査を実施した。

大脳、小脳、延髄、下垂体、甲状腺、胸腺、肺、心臓、肝臓、膵臓、胃、腸、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、大腿骨骨髓、下髄三頭筋、リンパ節、唾液腺、膀胱、皮膚、乳腺および肉眼的異常部位

非腫瘍性病変；血液検査で貧血に係る項目の変動と関連し 10000 ppm 群の雌雄で脾臓のヘモジデリン沈着、雄で髄外造血亢進及び雌で腎臓のヘモジデリン沈着がそれぞれ観察された。その他、10000 ppm 群雌雄で肝細胞萎縮、雌で肝胆管増生が観察されたが、これは摂餌量の低下に伴う低栄養状態を反映したものと推察され、検体の毒性によるものではないと判断された。また、2000 ppm 以上の投与群の雌で子宮粘膜扁平上皮化生が観察されたが、その意義は不明であった。

腫瘍性病変；いずれの検体投与群においても、対照群に比べその発生頻度において有意な増加を示したものはなかった。

次頁の表に、各群における腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の発生頻度を示す。また、すべての腫瘍性病変発生数を別紙 1~2、主な非腫瘍性病変発生数を別紙 3 として示す。

以上の様に本慢性毒性試験では、検体摂取による影響として考えられる変化は、2000 ppm 群以上でみられた食餌効率の低下を伴う体重増加抑制、10000 ppm 群の雌雄でみられた貧血に係る血液学的検査項目での変動、及びこの貧血と関連して、10000 ppm 群の雌雄のでみられた脾臓のヘモジデリン沈着と同群雄での脾臓の髄外造血亢進及び同群雌での腎のヘモジデリン沈着であった。

以上の結果から、本試験での無毒性量は雌雄とも 400 ppm (雄 13.4 mg/kg/日、雌 17.0 mg/kg/日) であると判断する。

腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の発生頻度

性別	投与量 (ppm)	0	80	400	2000	10000	
雄	検査動物数	56 (43/13)	56 (44/12)	56 (53/ 3)	56 (49/ 7)	56 (50/ 6)	
	腫瘍数	良性	13 ( 7/ 6)	16 (12/ 4)	12 (11/ 1)	15 (12/ 3)	11 ( 8/ 3)
		悪性	5 ( 3/ 2)	4 ( 0/ 5)	4 ( 2/2)	7 ( 2/ )	3 ( 1/ 2)
	腫瘍総数	18 (10/ 8)	21 (12/ 9)	16 (13/ 3)	22 (14/ 8)	14 ( 9/ 5)	
	腫瘍動物数	14 ( 7/ 7)	18 ( 9/ 9)	15 (12/ 3)	17 (10/ 7)	13 ( 9/ 4)	
	非腫瘍性病変 動物数	150 (140/10)	167 (155/12)	159 (159/ 0)	131 (131/ 0)	159 (157/ 2)	
雌	検査動物数	56 (43/13)	56 (43/13)	56 (54/ 2)	56 (54/ 2)	56 (49/ 7)	
	腫瘍数	良性	36 (22/14)	39 (20/19)	40 (37/ 3)	35 (33/ 2)	25 (20/ 5)
		悪性	3 ( 0/ 3)	2 ( 0/ 2)	2 ( 2/ 0)	3 ( 2/ 1)	5 ( 2/ 3)
	腫瘍総数	39 (22/17)	41 (20/21)	42 (39/ 3)	38 (35/ 3)	30 (22/ 8)	
	腫瘍動物数	28 (15/13)	27 (14/13)	28 (26/ 2)	26 (24/ 2)	22 (15/ 7)	
	非腫瘍性病変 動物数	116 (116/ 0)	113 (110/ 3)	135 (134/ 1)	138 (138/ 0)	161 (159/ 2)	

表中の数値 : 合計(計画殺による検査結果/死亡・切迫殺による検査結果)



別紙1 雄ラットの腫瘍性病変発生数

臓器	所見	投与量 (ppm)		0		80		400		2000		10000	
		計画殺 (A) / 死亡・切迫殺 (B)		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
		検査動物数		43	13	44	12	53	3	49	7	50	6
肝臓	結節性肥大 (良)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
腎臓	脂肪腫 (良)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	腎芽細胞腫 (悪)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
リンパ・ 造血器系	胸腺腫 (良)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	胸腺細網細胞肉腫 (悪)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	リンパ節血管腫 (良)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	リンパ肉腫 (悪)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	白血病 (悪)	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
消化器系	前胃乳頭腫 (良)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	結腸乳頭腫 (良)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	小腸平滑筋腫 (良)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	回盲部未分化肉腫 (悪)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	大網内脂肪肉腫 (悪)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	膵ラ氏島腺腫 (良)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	
精巣	間細胞腫 (良)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
前立腺	平滑筋腫 (良)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
乳腺	良性腫瘍 (良)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
下垂体	前葉腺腫 (良)	4	3	6	3	4	1	3	0	2	1	0	
副腎	褐色細胞腫 (良)	2	0	2	0	2	0	1	0	0	0	0	
	皮質腺腫 (良)	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	
甲状腺	腺腫 (良)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
上皮小体	腺腫 (良)	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	
脳	グリア細胞腫 (悪)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
皮膚	乳頭腫 (良)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	扁平上皮癌 (悪)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
皮下	線維腫 (良)	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	
	血管内皮腫 (良)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	筋線維腫 (良)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	脂肪腫 (良)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
	粘液腫 (良)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	線維肉腫 (悪)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	悪性血管内皮腫 (悪)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	巨細胞肉腫 (悪)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
未分化腫瘍 (悪)	0	0	0	2	0	2	0	2	0	0	0		
その他	筋間毛細血管腫 (良)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	筋間血管線維腫 (良)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	舌下腺腺腫 (良)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	舌下腺血管肉腫 (悪)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	眼球胎児性奇形腫 (悪)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	細網細胞肉腫 (悪)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	

(良) ; 良性腫瘍 (悪) ; 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 :  $p < 0.05$  で有意差なし

別紙2 雌ラットの腫瘍性病変発生数

臓器	所見	投与量 (ppm)		0		80		400		2000		10000	
		計画殺 (A) / 死亡・切迫殺 (B)		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
		検査動物数		43	13	43	13	54	2	54	2	49	7
肝臓	胆管のう腫 (良)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
リンパ・ 造血器系	リンパ腫 (良)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	白血病 (悪)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肺	腺腫 (良)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
消化器系	膵ラ氏島腺腫 (良)	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0
腎臓	明細胞腺腫 (良)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
子宮	ポリープ (良)	0	0	1	0	2	0	1	0	2	1	0	1
	乳頭状腺腫 (良)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	線維腺腫 (良)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	線維腫 (良)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	血管内皮腫 (良)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ内皮腫 (良)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
乳腺	癌 (悪)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
	良性腫瘍 (良)	12	6	7	6	15	1	11	1	7	1	0	0
下垂体	前葉腺腫 (良)	9	8	10	10	14	2	17	1	10	1*	0	0
副腎	褐色細胞腫 (良)	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	神経節細胞腫 (良)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
上皮小体	腺腫 (良)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
皮膚	扁平上皮癌 (悪)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
皮下	線維肉腫 (悪)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	未分化腫瘍 (悪)	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
その他	細網細胞肉腫 (悪)	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1

(良) ; 良性腫瘍 (悪) ; 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : \* ; p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別紙3 主な非腫瘍性病変発生数

臓器	所見	性別		雄										雌									
		投与量 (ppm)		0		80		400		2000		10000		0		80		400		2000		10000	
		計画殺 (A) / 死亡・切迫殺 (B)		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
		検査動物数		43	13	44	12	53	3	49	7	50	6	43	13	43	13	54	2	54	2	49	7
肺	気腫	1	0	0	0	1	0	2	0	2	0	1	0	1	0	4	0	2	0	5	0		
肝臓	胆管増生	1	0	8 <sup>†</sup>	0	9 <sup>†</sup>	0	8 <sup>†</sup>	0	3	0	6	0	4	0	9	0	10	0	16 <sup>†</sup>	0		
	びまん性肝細胞脂肪化	1	0	1	0	1	0	3	0	2	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0		
	肝細胞萎縮	0	0	0	0	1	0	1	0	7 <sup>†</sup>	0	1	0	0	0	1	0	4	0	13 <sup>‡</sup>	0		
腎臓	尿細管上皮変性	6	0	6	0	10	0	13	0	24 <sup>‡</sup>	0	7	0	4	0	2 <sup>†</sup>	0	3	0	1 <sup>†</sup>	0		
	ヘモジデリン沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	1	0	8 <sup>‡</sup>	0		
脾臓	ヘモジデリン沈着	0	0	1	0	1	0	0	0	33 <sup>‡</sup>	0	4	0	0	0	7	0	11	0	37 <sup>‡</sup>	0		
	髄外造血亢進	0	0	1	0	0	0	1	0	5 <sup>†</sup>	0	10	0	8	0	9	0	3 <sup>†</sup>	0	15	0		
前立腺	上皮過形成	1	0	0	0	2	0	4	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
子宮	腺のう胞化											3	0	3	0	4	0	7	0	4	0		
	粘膜扁平上皮化成											0	0	2	0	2	0	8 <sup>‡</sup>	0	13 <sup>‡</sup>	0		
甲状腺	後鰓体遺残	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	3	0		

Fisher の直接確率計算法 : † ; p<0.05, \*2 ; p<0.01, \*3 ; p<0.001