

10. 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

(1) ブタミホス原体のラットにおける3世代繁殖試験

(資料10-1)

試験機関：Huntingdon Research Centre (英国)

報告書作成年：1975年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験動物：CD系ラット(体重80~100g) 1群 雄10~11匹、雌20~22匹

試験期間：1973年4月 F0世代親動物投与開始

1974年10月 F2世代第二回交配児(F3B)最終屠殺

投与期間：全世代とも試験期間を通じて投与を続け、試験動物(F0、F1B、F2Bの各世代の雄および雌)は、交配前60日間および第1回交配後約4.5ヶ月間にわたって、それぞれの飼料で飼育した。

投与方法：ブタミホスを0、20、80および300 ppmの濃度で基礎飼料に混入し、自由に摂食させた。なお、ブタミホスは原体のまま飼料に添加した。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

一般状態及び死亡率：全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

体重：育成期間中は雌雄ともに1週間に1回測定した。繁殖期間中は、雄は4週ごとに、雌は妊娠0、7、14および20日と哺育0、7、14および21日に測定した。

摂餌量：育成期間中は雌雄ともに1週間に1回測定した。繁殖期間中は、雄については4週ごとに、雌は体重測定日に測定した。

交配および妊娠の確認：両世代とも60日間投与した後、同じ群の雌2匹と雄1匹を最大20日間同居させた。交配期間中は臍垢を採取し観察することにより雌の発情周期や交尾の確認を行った。交尾が確認された日を妊娠0日とした。交尾日及び出産日から妊娠期間を算定した。

分娩および哺育：すべての児動物について分娩後直ちに(12時間以内に)児動物数を数え、個体識別し、体重測定および外観異常の観察を行った。哺育期間中、死亡および異常の有無を毎日観察した。出生時、生後4日、12日および21日に個体別体重を測定し、生後21日(離乳時)まで母獣と同居させた。F0、F1Bの第2産児から、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

各群ごとに雄10匹および雌20匹を選び、各々F1B、F2Bとした。これらの動物はできるだけ多くの母獣から、平均離乳時体重に近いものを選んだ。また、性別は生後21日の児動物屠殺時に生殖腺を観察して判定した。

繁殖性に関する指標：次の指標について観察または算出した。

交配率(雄) = (雌動物を受胎させた雄動物数 / 交配に用いた雄動物数) × 100

交配率(雌) = (交尾が成立した雌動物数 / 交配に用いた雌動物数) × 100

妊娠率 = (出産した母獣数 / 交配に用いた雌動物数) × 100

妊娠期間：交尾が確認された日から分娩完了日までの日数

平均産児数 = 総出産児数 / 出産母獣数

児動物の平均死亡率：出生時から各集計日までの間、母獣単位で児の累積死亡率を算出して平均化したもの

平均生存児数 = 総生存児数 / 生存児を有する母獣数

平均児動物体重：母獣単位の平均児体重を群内で平均化したもの

病理学的検査：F3B世代のラットを3週令で屠殺し、すべての群から雄10匹、雌10匹ずつを選んで次の組織を摘出した。

脳、甲状腺、生殖腺、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、胸腺、膀胱、下垂体、副腎、骨、脾臓、肺、骨髄、胃、小腸、大腸

下線を付した臓器については秤量も行い、統計学的に群間差を検定した。

全群において大腿骨塗抹標本作製した。

病理組織学的検査は第1群と第4群のみについて行った。

さらに、各群から雄10匹、雌10匹を選び骨透明標本作製し、骨格を検査した。

他の世代については剖検時、肉眼的に異常のみられた臓器についてのみ病理組織学的検査を行った。

試験結果：概要を表2に示した。

親動物：全試験期間を通して死亡および切迫屠殺した動物が5匹（対照群の雌2匹、雄1匹および80 ppm 群の雌2匹）いたが、各群の出現例数の分布および死因から、投与による影響とは考えられなかった。また、両世代ともに投与に関連した症状所見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住友化学株式会社にある。

体重および摂餌量については3世代を通して、雌雄共に群間で被験物質投与に関係した一定の傾向は認められなかった。

各世代における育成期間中の検体摂取量は次のとおりであった。

投与量 (ppm)		20	80	300	
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	F0	1.4	5.5	20.7
		F1	1.7	6.8	27.4
		F2	1.6	6.3	25.0
		平均	1.57	6.20	24.37
	雌	F0	1.6	6.7	26.6
		F1	2.3	9.3	35.6
		F2	1.9	7.9	32.6
		平均	1.93	7.97	31.60

剖検所見にはF0、F1、F2世代において検体投与に関連する肉眼的変化は認められなかった。

繁殖性に関する指標（交配率、妊娠率、妊娠期間）にはいずれの世代においても投与による影響は認められなかった。

児動物：300 ppm 投与群において、死亡率の高値に伴う生存児数の低値および児体重の低値が認められた。

生存児数については、対照群に比べて統計学的に有意な低値が各群で散見されたが、3世代を通じて有意差が認められたのは300 ppm 群の生後12日および21日のみであった。死亡率に関しては、300 ppm 投与群のF0世代の第2回交配時において生後12日および21日に対照群と比べ有意に高値を示した。同群の他の世代においても対照群と比べ死亡率が高まる傾向がみられたが、統計学的に有意差はなかった。児体重については、300 ppm 投与群において、F0世代の第2回交配時の平均児体重（生後4日）が対照群より有意に低かった。

3世代を通じて、水頭症、無尿といった異常児動物は対照群を含む4匹に認められたが、出現異常のタイプおよび各群の出現例数の分布から検体投与による影響とは考えられなかった。

F3世代の離乳児に肉眼的病理検査、臓器重量測定、病理組織学的検査および骨格検査を行ったが、いずれにおいても被験物質投与による影響と考えられるものは認められなかった。

申請者注：検体摂取量は、育成期間中の体重および摂餌量の値から申請者が算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

以上の結果から、3世代にわたってラットにブタミホス20、80、300 ppmを混餌投与した場合、親動物の体重・摂餌量・肉眼所見ともに投与に関連した影響は認められなかった。また、繁殖性においても投与による影響は認められなかった。児動物においては、300 ppm投与群で体重増加が抑制される傾向にあり、また、授乳中の生存児数の減少および死亡率の増加がみられた。

したがって、親動物の一般毒性学的無毒性量は300 ppm(雄24.37 mg/kg/day、雌31.60 mg/kg/day)以上、繁殖性に対する無毒性量も300 ppm(雄24.37 mg/kg/day、雌31.60 mg/kg/day)以上、児動物に対する無毒性量は80 ppm(雄6.20 mg/kg/day、雌7.97 mg/kg/day)と考えられた。

表1 試験の概要

世代	期間	作業手順	試験項目
F0	育成 (60日間)	各群雌22匹雄11匹 交配前60日より投与開始し試験期間を通して混餌投与を続けた。	症状観察 体重、摂餌量測定(週1回)
	第1回交配 (20日間)	雌雄2対1で交配。 交尾は膣垢を採取し確認(妊娠0日)	交配率を算出
	妊娠 (22日間)		妊娠率を算出 妊娠動物の体重測定(妊娠0, 7, 14, 20日)
	分娩	分娩完了の確認(哺育0日)	妊娠期間、平均出生児数算定 母動物の体重測定(哺育0, 7, 14, 21日)
	哺育 (21日間)		児動物：症状観察(毎日) 体重測定(生後0, 4, 12, 21日) 死亡率算出(生後0, 4, 12, 21日) 性比算出(生後21日)
	離乳	哺育21日にF1A児動物を屠殺。	F1A動物の剖検、肉眼的検査を行った。肉眼的に病変を認めたもののみ病理組織学的検査を行った。
	休養 (10日間)		症状観察 体重測定(週1回)
F0	第2回交配 (20日間)	雌雄2対1で交配。 交尾は膣垢を採取し確認(妊娠0日)	交配率を算出
	妊娠 (22日間)		妊娠率を算出 妊娠動物の体重測定(妊娠0, 7, 14, 20日)
	分娩	分娩完了の確認(哺育0日)	妊娠期間、平均出生児数算定 母動物の体重測定(哺育0, 7, 14, 21日)
	哺育 (21日間)		児動物：症状観察(毎日) 体重測定(生後0, 4, 12, 21日) 死亡率算出(生後0, 4, 12, 21日) 性比算出(生後21日)

表1 試験の概要 (つづき)

世代	期間	作業手順	試験項目
F1	離乳	哺育21日にF1親動物 (F1B) として、 各群雌20匹雄10匹を選択し直ちに投 与開始。 選択されなかったF1B 離乳児の屠殺 F0親動物を屠殺。 (F0世代に準ずる)	選択されなかったF1B 児動物、F0親動物の 剖検、肉眼的検査を行った。肉眼的に病変 を認めたもののみ病理組織学的検査を行っ た。 (F0世代に準ずる)
	育成 (60日間)		
	第1回交配 (20日間)		
	妊娠 (22日間)		
	分娩		
	哺育 (21日間)		
F1	離乳	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
	休養 (10日間)		
	第2回交配 (20日間)		
	妊娠 (22日間)		
	分娩		
	哺育 (21日間)		

表1 試験の概要 (つづき)

世代	期間	作業手順	試験項目	
F2	離乳	哺育21日にF2親動物 (F2B) として、 各群雌20匹雄10匹を選択し直ちに投 与開始。 選択されなかったF2B 離乳児の屠殺 F1B 親動物の屠殺。	選択されなかったF2B 児動物、F1B 親動物の 剖検、肉眼的検査を行った。肉眼的に病変 を認めたもののみ病理組織学的検査を行っ た。	
	育成 (60日間)			
	第1回交配 (20日間)			
	妊娠 (22日間)			(F1世代に準ずる)
	分娩			
	哺育 (21日間)			
	離乳			
F2	休養 (10日間)	(F1世代に準ずる)	(F1世代に準ずる)	
	第2回交配 (20日間)			
	妊娠 (22日間)			
	分娩			
	哺育 (21日間)			
F3	離乳	哺育21日にF3B 離乳児、F2B 親動物を 屠殺。	F3B 離乳児、F2B 親動物の全てを剖検、肉眼 的検査を行った。その後、F3B 動物につい ては全ての群から雌雄各10匹ずつを選び、臓 器重量の測定。また、大腿骨塗抹標本の作 製、骨透明標本の作製を行い骨格を検査し た。 F3B の1群と4群についてのみ病理組織学的 的検査を行った。	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

表2 結果概要

世代		親：F0, 児：F1				親：F1, 児：F2				親：F2, 児：F3			
投与量 (ppm)		0	20	80	300	0	20	80	300	0	20	80	300
動物数	雄	11	11	11	11	10	10	10	10	10	10	10	10
	雌	22	22	22	22	20	20	20	20	20	20	20	20
親動物	死亡数	0	0	0	0	雄:1 雌:1	0	雌:1	0	雌:1	0	雌:1	0
	一般状態												
	体重(雄)												
	体重(雌)												
	摂餌量(雄)												
	摂餌量(雌)												
	肉眼的病理所見												

空欄は特記すべき投与に関係した変化のないことを示す。

表2 結果概要 (つづき)

世代		親: F0, 児: F1A, F1B				親: F1, 児: F2A, F2B				親: F2, 児: F3A, F3B					
		0	20	80	300	0	20	80	300	0	20	80	300		
投与量 (ppm)		0	20	80	300	0	20	80	300	0	20	80	300		
親動物	母動物数	A	18	19	21	22	15	13	18	17	14	14	12	16	
		B	19	20	21	22	13	13	18	18	16	15	15	16	
	非妊娠動物数	A	4	3	1	0	4	7	2	3	6	6	8	4	
		B	3	2	1	0	7	7	2	2	3	5	4	4	
	交配率	雄	A	100	90.9	100	100	100	90.0	90.0	100	90.0	90.0	70.0	80.0
			B	100	100	100	100	100	90.0	100	100	90.0	80.0	80.0	90.0
		雌	A	81.8	90.9	81.8	95.5	95.0	90.0	65.0	85.0	60.0	70.0	65.0	75.0
			B	100	90.9	95.5	95.5	80.0	80.0	85.0	90.0	84.2	70.0	73.7	80.0
	妊娠率	A	81.8	86.4	95.5	100	80.0	70.0	90.0	95.0	70.0	75.0	65.0	80.0	
		B	86.4	90.9	95.5	100	75.0	65.0	95.0	95.0	84.2	75.0	78.9	80.0	
	妊娠期間 (日)	A	21.7	22.1	22.0	22.0	22.0	21.9	22.4	22.1	22.2	22.0	22.1	22.2	
		B	21.7	22.1	22.1	22.0	22.2	21.9	21.9	22.1	22.2	22.4	22.4	22.1	
	平均産児数	A	12.4	12.6	11.7	11.6	13.2	10.7**	12.3	11.8	12.5	11.9	10.5	11.1	
		B	13.6	13.2	12.6	13.9	13.2	12.2	11.9	11.8	12.1	12.8	12.2	12.3	
各哺育日の平均死亡率	0日	A	2.5	0.8	0.0	1.4	1.0	0.0	1.6	3.5	1.1	0.6	3.5	3.1	
		B	2.5	0.0	1.6	1.3	0.5	0.5	3.0	0.5	1.0	1.4	4.2	3.0	
	4日	A	7.6	7.2	10.7	7.3	3.1	0.7	3.9	9.6	4.5	4.1	4.9	9.5	
		B	3.8	2.5	6.2	5.5	0.5	3.5	6.3**	1.7	2.1	7.7	6.3	4.9	
	12日	A	8.5	8.4	12.4	10.7	14.4	8.4	11.2	27.5	7.2	10.4	7.9	17.6	
		B	4.4	9.3	9.8	15.9**	10.5	8.3	12.6	25.6	4.4	9.5	8.5	7.6	
	21日	A	8.5	8.4	12.8	11.0	14.8	11.7	12.5	28.2	7.8	12.2	8.8	18.6	
		B	5.4	9.3	10.5	17.2**	11.1	11.0	14.5	29.3	4.4	11.0	8.5	7.6	
各哺育日の平均生存児数	0日	A	12.1	12.5	11.7	11.5	13.1	10.7**	12.1	11.5	12.4	11.9	10.1*	10.9	
		B	13.5	13.2	12.4	13.7	13.1	12.2	11.6	11.7	12.0	12.6	11.7	11.9	
	4日	A	11.4	11.7	10.4	10.7	12.8	10.6*	11.8	10.8	11.9	11.4	9.9	10.1	
		B	13.3	12.8	11.7	13.0	13.1	11.8	11.2*	11.6	11.9	11.8	11.4	11.7	
	12日	A	11.3	11.6	10.2	10.3	11.3	9.7	10.8	8.2*	11.6	10.6	9.6	9.2*	
		B	13.2	11.9*	11.2*	11.5**	11.8	11.1	10.3	8.2**	11.6	11.6	11.1	11.4	
	21日	A	11.3	11.6	10.2	10.3	11.2	9.3	10.6	8.2*	11.5	10.4	9.5	9.1*	
		B	13.1	11.9	11.1*	11.3**	11.7	10.7	10.1	7.8**	11.6	11.4	11.1	11.4	
性比 (雄児数 / 雌児数)	A	5.1/6.2	5.9/5.7	4.3/5.9	5.5/4.8	5.1/6.1	4.0/5.3	5.8/4.8	3.6/4.5	5.7/5.8	5.3/5.1	4.6/4.9	5.1/4.0*		
	B	6.4/6.6	6.0/5.9	5.7/5.4	5.4/6.0	5.7/6.0	5.5/5.2	5.0/5.1	3.8/4.0*	5.8/5.8	5.9/5.5	5.8/5.4	5.9/5.5		
平均児動物体重	0日	A	6.1	6.3	6.3	6.2	5.9	6.5	6.2	5.8	6.2	6.3	6.6	6.0	
		B	6.2	6.4	6.4	6.2	6.3	6.2	6.3	6.0	6.5	6.3	6.9	6.1	
	4日	A	10.0	10.4	10.5	10.0	9.3	10.9*	10.1	9.2	9.9	10.2	11.0	10.0	
		B	10.1	10.0	10.3	9.3*	10.0	9.8	10.5	9.3	10.3	10.6	11.3	10.2	
	12日	A	25.3	25.6	25.9	23.8	22.8	25.5	23.7	23.1	25.3	25.0	26.4	25.3	
		B	22.9	23.9	26.1*	21.7	24.2	23.7	25.5	21.5	25.4	25.8	26.4	24.4	
	21日	A	48.0	47.1	47.2	43.4	45.1	51.9*	46.8	46.8	48.0	49.5	52.5	51.4	
		B	45.2	47.9	48.8	43.9	49.2	47.5	51.2	45.4	48.0	48.4	46.8	45.0	

表2 結果概要 (つづき)

世 代		親 : F0. 児 : F1A, F1B				親 : F1. 児 : F2A, F2B				親 : F2. 児 : F3A, F3B			
投与量 (ppm)		0	20	80	300	0	20	80	300	0	20	80	300
外形異常数	A	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	B	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
肉眼的 病理所見	A												
	B												

空欄は特記すべき変化のないことを示す。

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

有意差の検定は Wilcoxon test を用いて行った。 (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

表2 結果概要 (つづき)

世 代		F3B				
投 与 量 (ppm)		0	20	80	300	
動 物 数 (雄/雌)		10/10	10/10	10/10	10/10	
児動物	死亡数		0	0	0	0
	一般状態					
	体重	雄	47.7	49.6	43.4	45.8
		雌	46.8	47.9	42.8	44.2
	肉眼的病理所見					
	脳	雄			▼92	
		雌				
	下垂体	雄				
		雌			▽74	
	心臓	雄				
		雌				
	肺	雄			▽83	
		雌				
	肝臓	雄				
		雌				
	脾臓	雄				
		雌				
	胸腺	雄				
		雌				
	腎臓	雄				
雌						
甲状腺	雄			▽75		
	雌					
副腎	雄					
	雌					
生殖腺	雄					
	雌					
相対重量	脳					
	下垂体					
	心臓					
	肺					
	肝臓					
	脾臓					
	胸腺					
	腎臓					
	甲状腺					
	副腎					
生殖腺						
病理組織学的検査						
骨格検査						

空欄は特記すべき変化のないことを示す。

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

有意差の検定は Anovar LSDs 検定を用いて行った。(△ : p<0.05、▲ : p<0.01)

(2) プタミホス原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料10-2)

試験機関：Huntingdon Research Centre (英国)

報告書作成年：1974年

検 体：プタミホス原体

検体純度： %

試験動物：New Zealand White系雌ウサギ（体重2.93～4.08kg）、1群13～14匹

試験期間：1973年6月26日交配開始、1973年8月7日最終屠殺

投与方法：検体をコーンオイルに溶解し、20、40および80 mg/kg/dayの用量で妊娠^{*)}6日から18日までの間、0.5 mL/kgの液量で1日1回強制経口投与した。なお、対照群にはコーンオイルを同様に投与した。

^{*)}交配当日を妊娠0日として起算した。

[投与量設定根拠]

試験項目：

母動物：臨床症状を毎日観察し、体重を妊娠1、6、10、14、21、28日に測定した。妊娠29日に屠殺し、帝王切開した。母獣臓器について肉眼病理変化を検査し、黄体数、着床数、生存胎児および死亡胚/胎児数を検査した。

胎児：全ての生存胎児について、性別判定、体重測定、外形検査、内臓検査および骨格検査を行った。

結果：概要を次頁の表に示した。

母動物：80 mg/kg/day群の1例が投与初期から体重減少し、妊娠18日に死亡した。また、20 mg/kg/day群においても死亡が1例みられたが、投与開始以前に体重減少を示

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

したので、投与に関連したものではないと考えられた。

一般症状に対する投与の影響は認められなかった。

体重変化では、20および40 mg/kg/day群で投与期間中（妊娠6から18日）にやや増加抑制がみられたが、その差に用量依存性はなく、投与期間全体での体重増加には差はなかった。80 mg/kg/day群では投与10日以降、投与期間を通じて増加抑制が認められた。

子宮内所見では、胚胎児の死亡率および生存胎児数に投与の影響は認められなかった。

胎児：性比に投与の影響は認められなかった。平均胎児体重では、40 mg/kg/day群で対照群に比べて有意に高値であったが、より高用量の80 mg/kg/day群では差はなかった。骨格および内臓検査において、異常の型ならびに発現頻度に投与に関連した影響は認められなかった。骨格変異の結果で80 mg/kg/day群に過剰肋骨の発現頻度の低値傾向、全ての被験物質投与群で胸骨分節数の低値傾向が認められたが、統計学的な有意差はなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギの器官形成期に投与した場合、母動物に対しては80 mg/kg/dayで死亡および体重増加抑制が認められた。次世代に対しては、80 mg/kg/dayまでの投与で胎児致死作用および催奇形作用は認められなかった。したがって、母動物に関する無毒性量は40 mg/kg/day、次世代に対する無毒性量は80 mg/kg/dayであった。

結果概要

投与群 (mg/kg/day)		0 (対照)	20	40	80
1群当たりの動物数		13	14	13 ^{a)}	13
母動物	妊娠動物数	12	13	12	12
	死亡数	0	1	0	1
	一般症状				
	体重変化				増加抑制 (妊娠10-21日)
	剖検所見				
	子宮内所見				
	平均黄体数	11.2	10.1	12.6	10.4
	平均着床致	9.5	8.5	10.3	9.3
	平均胚・児死亡数 (率)	0.8 (8.2%)	1.0 (12.4%)	1.5 (14.9%)	1.1 (12.9%)
	平均生存胎児数	8.8	7.5	8.8	8.3
胎児	平均胎児体重 (g)	41.4	43.0	△44.5	42.3
	性比 (雄児数/雌児数)	56/49	52/46	61/45	46/53
	奇形発現頻度 ^{b)}	1/105	3/98	0/106	0/99
	内臓軽度異常発現頻度	1/105	1/98	4/106	1/99
	骨格軽度異常発現頻度	6/105	9/98	17/106	5/99
	骨格変異発現率 (%)				
	過剰肋骨	34.3	35.4	34.5	23.3
胸骨分節数の減少/未骨化					
正常肋骨数の胎児	26.5	7.6	14.9	13.9	
過剰肋骨数の胎児	20.2	3.3	12.2	0.0	

空欄は特記すべき変化のないことを示す。太枠内は検体の影響であることを示す。
有意差の検定はWilcoxon検定を行った。(△: P<0.05)

a) : 子宮感染のため除外した1例を含む。

b) : 外形、内臓および骨格異常を含む。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

(3) プタミホス原体のラットにおける催奇形性試験

(資料10-3)

試験機関：ARGUS RESEARCH LABORATORIES, INC.

報告書作成年：1989年 (GLP対応)

検体：プタミホス原体

検体純度： %

試験動物：SD系雌ラット (入荷時12週齢、体重193~241g)、1群25匹

試験期間：1989年3月13日投与開始、1989年3月30日帝王切開終了

投与方法：検体を0.5%メチルセルロース水溶液 (w/w) に懸濁し、5、25および125 mg/kg/Hの用量で妊娠^{*}6日から15日までの10日間、妊娠6日の体重に基準に5 mL/kgの液量で1日1回強制経口投与した。なお、対照群には0.5%メチルセルロース水溶液 (w/w) を同様に投与した。

^{*} 膣洗浄液中に精子を確認した日、あるいは膣栓を確認した日を妊娠0日として起算した。

[投与量設定根拠]

試験項目：

母動物：症状および死亡の有無を毎日観察した。体重は妊娠0日および妊娠6日から20日まで毎日測定した。摂餌量は妊娠0から6日およびその後は20日まで毎日測定した。妊娠20日に帝王切開を行い、母獣臓器について肉眼的病変を検査し、黄体数、着床数、生存胎児および死亡胚/胎児の数および位置を観察した。

胎児：全ての生存胎児について、性別判定、体重測定および外形検査を行った。同腹児のうち約半数はWilsonの粗大切片法の変法を用いて内臓検査を行い、残りはアリザリンレッドS染色を施し骨格検査を行った。

結果：概要を次頁の表に示した。

母動物：各群とも死亡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住友化学株式会社にある。

一般症状では125 mg/kg/日群の1例で妊娠15日にラ音、呼吸困難および流産が認められ、検体投与に関連したものと考えられた(申請者註参照)。その他に、検体投与に関連した症状の発現はなかった。

体重では、125 mg/kg/日群において投与期間(妊娠6日から15日)を通じて対照群に比べて有意な低値を示した。投与期間終了後(妊娠16日から20日)は、逆に体重増加量が対照群に比べて高値を示し、回復傾向が認められた。一方、5 mg/kg/日群の体重増加量が、妊娠6~14日に高値また妊娠16~18日に低値を示したが、いずれもより高用量で同様の変化が認められなかったため、投与との関連はないと考えられた。また、5、25および125 mg/kg/日群の体重増加量が、妊娠18~19日に高値を示したが、1)用量と一貫した変化が認められないこと、2)対照群の値が同期間において自然減少していたことなどから、投与との関連はないと考えられた。

摂餌量では、125 mg/kg/日群において、妊娠12日から18日までの間、絶対あるいは相対摂餌量^(*)が対照群に対し高値であった。これは体重の回復と関連のある変化と考えられた。一方、25 mg/kg/日群の相対摂餌量が、妊娠9~12日および11~12日に高値を示したが、中間用量群でみられた一時的な所見は生物学的に重要とは考えられなかった。

母動物の剖検および子宮内の各所見に検体投与の影響は認められなかった。

注：相対摂餌量=体重1 kgあたりの摂餌量

胎児；体重および性比には対照群との間に差はみられなかった。

生存胎児の観察では、外表異常が125 mg/kg/日群の1例に認められたが、単一所見であること、この系統のラットでよくみられること、および出現頻度に対照群と間で差がないことから検体投与と関連はないと考えられた。内臓検査では、25 mg/kg/日群で腎盂の軽度拡張が1例に認めたのみで検体投与の影響はなかった。骨格検査において、奇形は対照群に1例認められたのみであった。骨格変異については対照群を含め各群に散見されたが、検体投与群で発現頻度の増加はなく、化骨部位の観察においても検体投与に起因した変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットの器官形成期に投与した場合、母動物に対しては125 mg/kg/日群で体重増加抑制などが認められたが、次世代に対しては胎児致死作用および催奇形作用は認められなかった。従って、母動物に対する無毒性量は25 mg/kg/日、次世代に対する無毒性量は125 mg/kg/日であった。

申請者註：

125mg/kg/日群の1例で妊娠15日にみられたラ音、呼吸困難および流産については、(1)最高用量での発現であること、(2)剖検所見での投与時の手技的な問題により生じたと考えられる外傷等が呼吸器系に認められなかったことから、検体投与に関連したものと考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		0 (対照)	5	25	125	
1群当たりの動物数		25	25	25	25	
母動物	妊娠動物数	24	25	24	24	
	死亡	0	0	0	0	
	一般症状				1例にラ音、呼吸困難および流産 (妊娠15日)	
	体重					
	体重増加量		△ (妊娠 6-14日) ▽ (妊娠16-18日) △ (妊娠18-19日)	△ (妊娠18-19日)	▼ (妊娠 6-15日) △ (妊娠16-20日) △ (妊娠18-19日)	
	絶対摂餌量				△ (妊娠17-18日)	
	相対摂餌量 ^{e)}			△ (妊娠 9-12日) △ (妊娠11-12日)	△ (妊娠12-16日) △ (妊娠14-15日) △ (妊娠16-18日) ▲ (妊娠17-18日)	
	剖検所見					
	子宮内所見	平均黄体数	18.6	18.4	18.6	19.2
平均着床致		17.2	17.4	17.0	17.6	
着床率		93.0	94.6	92.0	92.3	
平均胚・児死亡数		1.2	0.9	1.1	1.5	
平均生存胎児数		16.0	16.5	16.0	16.1	
胎児	平均体重 (g)	(雄) 3.60 (雌) 3.38	3.64 3.46	3.73 3.52	3.66 3.45	
	性比 ^{d)}	54.8	49.8	50.5	50.5	
	奇形発現頻度	6/385	6/412	7/383	3/386	
	外表異常発現頻度	0/385	0/412	0/383	1/386 ^{b)}	
	内臓異常発現頻度	0/188	0/199	1/186 ^{c)}	0/186	
	骨格異常発現頻度	1/197 ^{d)}	0/212	0/197	0/200	
	骨格変異発現率 (%)					
	頸肋	0	0.9	1.0	0.5	
	胸椎体分離	2.0	1.9	0.5	0	
	波状肋骨	0.5	0	0	0	
	第1胸骨核未化骨	0	0	1.0	0.5	
	胸骨核癒合	0.5	0	0	0	
	恥骨の不完全化骨	0	0	0.5	0	
平均化骨数						

結果概要

空欄は特記すべき変化がないことを示す。太枠内は検体の影響であることを示す。

母動物の体重、体重変化、摂餌量の平均値ならびに、胎児体重、胎児化骨数および胎児異常率の腹別平均値はBartlett検定および一元配置分散分析法で解析し、有意差の検定はDunnett検定を行った。(△▽: P<0.05 ▲, ▼: P<0.01)

着床率はkruskal-wallisノンパラメトリック一元配置分散分析法を行った。

性比はCochran-Armitage検定およびFisherの直接法を行った。

a) : (生存雄胎児数/生存胎児数) × 100

b) : 糸状尾、軽度の肛門開裂がみられた。

c) : 片側腎盂の軽度拡張がみられた。

d) : 左第1、第3および第6胸椎の一部欠損、第4および第6肋骨分離がみられた。

e) : 体重1kgあたりの摂餌量を示す。

11. 変異原性

(1) -①復帰突然変異試験

(資料11-1)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1975年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌5株 (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100株) およびトリプトファン要求性大腸菌2株 (WP2_{hcr}⁺、WP2_{hcr}⁻株) を用い、Amesらの方法で変異原性を検索した。

試験結果：

薬物	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		
		WP2 _{hcr} ⁺	WP2 _{hcr} ⁻	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)		18	23	17	114	4	11	14
		28	24	18	144	5	14	16
ブタミホス 原体	200	12	14	30	153	6	11	13
		40	12	31	131	—	12	19
	1000	16	20	43	159	5	7	10
		17	7	30	181	4	14	23
	5000	23	18	20	185	5	12	13
		20	20	34	234	12	17	17
陽性対照		464 ^{a)}	1243 ^{b)}	1480 ^{c)}	1272 ^{d)}	>5000 ^{e)}	2808 ^{f)}	123 ^{g)}
		489	1289	1617	1339	>5000	2804	151

a) AF-2

5 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

e) 9-アミノアクリジ

200 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

b) AF 2

0.25 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

f) 2-ニトロフルオレン

50 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

c) β -プロピオラクトン

50 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

g) AF-2

0.1 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

d) AF-2

0.05 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

ブタミホス原体は溶媒対照と比べて復帰変異コロニー数の増加は認めなかった。一方、陽性対照として用いたAF-2、 β -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレンでは溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を認めた。

(1) -②復帰突然変異試験 (in vitro代謝系)

(資料11-1)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1975年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌5株 (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100株) およびトリプトファン要求性の大腸菌2株 (WP2_{her}⁺、WP2_{her}⁻株) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検索した。

試験結果：

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix	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		
			WP2 _{her} ⁺	WP2 _{her} ⁻	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)		+	14	6	5	109	7	9	17
			14	18	10	109	7	13	20
ブタミホス 原体	100	-	16	9	6	88	2	6	8
			21	13	14	110	4	9	16
	100	+	21	14	9	98	2	15	17
			22	16	9	137	3	17	19
	1000	-	11	8	18	126	4	7	7
			19	18	25	126	7	7	22
	1000	+	12	19	3	126	3	13	11
			15	20	9	172	6	14	23
2-アミノ アントラセン	20	-			13	127	16	10	24
					15	137	18	14	24
2-アミノ アントラセン	20	+			620	6464	117	2156	7040
					624	7896	143	1772	7208
AF-2		-	424 ^{a)}	1656 ^{b)}		1116 ^{c)}			136 ^{d)}
			433	1688		1132			144

a) AF-2 5 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ c) AF-2 0.05 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

b) AF-2 0.25 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ d) AF-2 0.1 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

ブタミホス原体はS-9Mixの存在下および非存在下において溶媒対照に比べ復帰変異コロニー数の増加は認めなかった。

一方、陽性対照として用いた2-アミノアントラセンは、S-9Mixを加えることにより活性化され、TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100株に著明な復帰変異を誘起した。

(1) -③修復試験

(資料11-1)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1975年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：枯草菌の組換修復機構保持株（H-17）と欠損株（M-45）を用い、
賀田らの rec-assay 法でDNAの損傷の誘発性を検索した。

試験結果：

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{r}^{-1}$ 試)	阻 止 域 (mm)		差 (mm)
		H-17	M-45	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
ブタミホス原体	20	0	<1	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
カナマイシン	10	3	4	1
		4	5	1
マイトマイシンC	0.1	0.5	9	8.5
		1	10	9

ブタミホス原体はH-17株とM-45株の間にはほとんど生育阻止の差を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシンCでは両株の間に著明な生育阻止の差を生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止を認めた。

(1) -④宿主経由試験

(資料11-1)

試験機関: 残留農薬研究所

報告書作成年: 1975年

検 体: プタミホス原体

検体純度: %

試験方法: プタミホス原体を 24 時間間隔で 2 回、ICR 系雄マウスに経口投与し、2 回目の投与直後、腹腔内にヒスチジン要求性のネズミチフス菌 G-46 株を投与し、3 時間後に腹腔内菌液を回収して、復帰変異率を検索した。

試験結果:

薬 物	総投与量 mg/kg	復帰変異 菌数/mL	生菌数 ×10 ⁻⁸ /mL	復帰変異菌数 生存菌数 ×10 ⁸	平均値 ±SD
溶媒対照 1%Tween80		2.50	34.7	0.07	0.07 ±0.12
		0	38.6	0	
		0	36.1	0	
		0	28.0	0	
		11.67	37.1	0.31	
		2.50	41.3	0.06	
プタミホス 原体	200×2 回	2.50	30.3	0.08	0.07 ±0.07
	200×2	0	21.5	0	
	200×2	5.00	30.6	0.16	
	200×2	0	17.8	0	
	200×2	3.33	33.7	0.10	
プタミホス 原体	400×2 回	5.00	25.9	0.19	0.16 +0.08
	400×2	5.00	22.4	0.22	
	400×2	1.67	11.2	0.15	
	400×2	0	22.0	0	
	400×2	4.17	22.0	0.19	
	400×2	4.17	22.5	0.19	
陽性対照 DMN	20	410.00	38.0	10.79	16.40 ±6.77**
	20	260.00	30.7	8.47	
	20	653.00	36.4	17.95	
	20	1020.00	39.8	25.63	
	20	533.33	40.6	13.14	
	20	823.33	36.7	22.43	

DMN: ジメチルニトロソアミン

** : p<0.01

宿主経由試験において、プタミホス原体投与群では、溶媒対照群と比較して復帰変異率の有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたDMN (ジメチルニトロソアミン) 投与群では溶媒対照群と比較して著明な復帰変異率の増加が認められた。なお、プタミホス原体の G-46 株を用いた in vitro における復帰突然変異性試験の結果は陰性であった。

(2) -①復帰突然変異試験

(資料11-2)

試験機関：住友化学工業株式会社農業事業部

報告書作成年：1975年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌（4株）およびトリプトファン要求性大腸菌（2株）を用い、Amesらの方法で変異原性を検索した。

試験結果：

薬 物	(μ g/ディスク)	突然変異コロニー数/プレート					
		大腸菌		ネズミチフス菌			
		W3102	W3623	TA1535	TA1536	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)	10 μ L	41	17	27	4	7	35
NTG	100	1275	173	約 3000	3	1	153
ブタミホス 原体	100	40	17	18	1	4	20
	1000	41	12	17	0	5	23
	10000	37	15	14	4	6	24

NTG：ニトロソグアニジン

ブタミホス原体10000 μ g/ディスクまでの濃度においては、大腸菌の2株、ネズミチフス菌の4株いずれの株についてもその突然変異体のコロニーの増加は認められず、また、ペーパーディスクを中心とするコロニーの集団も認められなかった。一方、陽性対照のNTG(ニトロソグアニジン)では、ペーパーディスク中心のコロニー集団が認められ、明らかに突然変異性を示すことが認められた。これらは大腸菌W3102、ネズミチフス菌TA1535で特に強く示された。

なお、ヒスチジン要求性のネズミチフス菌およびトリプトファン要求性の大腸菌を用いて、緩衝液中（バクテリア細胞の静止状態）で突然変異率の変化について検討したが、ブタミホス原体の突然変異性は認められなかった。

(2) -②復帰突然変異試験 (*in vitro*代謝系)

(資料11-2)

試験機関：住友化学工業株式会社農業事業部

報告書作成年：1975年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌（2株）およびトリプトファン要求性の大腸菌（2株）を用い、ラットの肝、肺、腎およびマウス肝のホモジネートを用いた*in vitro*の薬物代謝系における代謝産物についての変異原性を検討した。

試験結果：

薬 物	ホモジネート	突然変異体数*			
		大腸菌		ネズミチフス菌	
		W3102	W3623	TA1535	TA1538
ブタミホス原体 (0.1mg)	-	0	1	0	0
	+ラット肝	5	1	0	11
	+ラット肺	0	3	0	12
	+ラット腎	6	1	0	0
	+マウス肝	1	0	0	6
ブタミホス原体 (1mg)	-	2	0	0	0
	+ラット肝	0	1	0	3
	+ラット肺	0	5	0	0
	+ラット腎	0	2	0	10
	+マウス肝	0	0	1	2
β-ナフチルアミン (0.1mg)	-	0	0	0	0
	+ラット肝	141	198	385	108
	+ラット肺	7	65	17	42
	+ラット腎	15	37	3	1
	+マウス肝	74	123	215	102
2-アセチルアミノフルオレン (0.1mg)	-	0	0	0	0
	+ラット肝	0	23	0	1329
	+ラット肺	2	0	0	108
	+ラット腎	0	7	12	75
	+マウス肝	0	14	0	176

*：それぞれのホモジネートのみの突然変異体数を差し引いた値で示した。

ブタミホス原体 1mg/プレートにおいて、酵素標品の種類にかかわらず、大腸菌、ネズミチフス菌のいずれの株に対しても突然変異体の増加は認められなかった。

一方、β-ナフチルアミン (0.1mg) においては、ラットおよびマウスの肝ホモジネートとインキュベートすると、大腸菌、ネズミチフス菌の全株に突然変異体の増加を認めた。肺、腎については、その生成は比較的少なかった。また、2-アセチルアミノフルオレン (0.1mg) においては、ネズミチフス菌 TA1538 (フレームシフト型) 株に対して、いずれも突然変異体の増加を認めた。

(2) -③修復試験

(資料11-2)

試験機関：住友化学工業株式会社農薬事業部

報告書作成年：1975年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：DNA修復欠損株と野生型株を用い、DNAの損傷の誘発性を検索した。

供試菌株は大腸菌W3623 (野生型) とW3623 *polA*⁻、W3623 *uvrA*⁻、W3623 *recA* の組み合わせを、枯草菌では、H-17 (野生株) とM-45 *recA*⁻の組み合わせを、ネズミチフス菌では、TA1978 (野生株) とTA1538 *uvrB*⁻とを用いた。

試験結果：

薬剤	(μg/ディスク)	生育阻止円直径 (mm) *							
		大腸菌				枯草菌		ネズミチフス菌	
		W3623				H-17	M-45	TA1978	TA1538
		Wild	<i>polA</i> ⁻	<i>uvrA</i> ⁻	<i>recA</i> ⁻	Wild	<i>recA</i> ⁻	Wild	<i>uvrB</i> ⁻
対照 (DMSO)	10 μL	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
NTG	100	9.0	9.9	9.0	17.2	<8.0	27.6	12.5	12.0
	1000	12.9	18.7	12.2	25.3	23.5	39.7		
ブタミホス 原体	100	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
	1000	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0
	10000	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0	<8.0

NTG：ニトロソグアニジン *：直径8mmのペーパーディスクを使用

ブタミホス原体 10000 μg/ディスクまでにおいて、大腸菌、枯草菌、ネズミチフス菌のいずれにおいても、野生株、DNA修復欠損株共に増殖阻害は認められなかった。一方、陽性対照のNTG (ニトロソグアニジン) では、大腸菌 *polA*⁻と *recA*⁻、枯草菌 *recA*⁻などの修復欠損株が野生型に比較して大きな阻害をうけていることが認められた。

なお、大腸菌のDNA修復機構保持株と欠損株を供試し、緩衝液中 (バクテリア細胞の静止状態) ならびにラット肝ホモジネートによる *in vitro* 代謝系中で致死率の比較試験を行い、ブタミホス原体の遺伝子傷害性について検討した結果、いずれもブタミホス原体は陰性であった。

(2) -④宿主経由試験

(資料11-2)

試験機関：住友化学工業株式会社農薬事業部

報告書作成年：1975年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：トリプトファン要求性の大腸菌 W3102 およびヒスチジン要求性のネズミチフス菌 G46 の菌体を拡散箱の中に封入し、ICR系雄マウス、SD系雄ラットの腹腔内に挿入。2時間後にブタミホス原体を経口投与または筋肉注射により与え、3時間放置後拡散箱を回収して突然変異誘発性を検索した。

用量設定根拠：

試験結果：

投与経路	薬物	mg/kg	突然変異率			
			大腸菌		ネズミチフス菌	
			ラット	マウス	ラット	マウス
経 口	溶媒対照 (DMSO)	10 μ L	5.3×10^{-8}	6.1×10^{-8}	6.2×10^{-7}	5.1×10^{-7}
	STZ	20	1.4×10^{-4}	7.3×10^{-4}	4.5×10^{-5}	1.4×10^{-4}
	ブタミホス原体	200	2.5×10^{-8}	1.1×10^{-8}	5.2×10^{-7}	4.7×10^{-7}
		400	3.7×10^{-8}	3.7×10^{-8}	8.3×10^{-7}	1.1×10^{-7}
筋肉注射	溶媒対照 (DMSO)	100 μ L	5.3×10^{-8}	6.1×10^{-8}	6.2×10^{-7}	5.1×10^{-7}
	STZ	20	4.7×10^{-4}	1.6×10^{-4}	3.5×10^{-5}	1.9×10^{-5}
	ブタミホス原体	200	7.5×10^{-8}	1.4×10^{-8}	2.2×10^{-7}	5.4×10^{-7}
		400	2.2×10^{-8}	2.2×10^{-8}	6.7×10^{-7}	2.5×10^{-7}

STZ：ストレプトゾシン

ブタミホス原体投与群は、ラット、マウスの宿主いずれにおいても、大腸菌、ネズミチフス菌の突然変異率に変化は認められず、溶媒対照群と同等の値であった。

一方、陽性対照のSTZ（ストレプトゾシン）は経口投与、筋肉注射いずれの投与経路で投与しても大腸菌、ネズミチフス菌に突然変異性を示すことが確認された。

(3) -①復帰突然変異試験

(資料11-3)

試験機関：残留農業研究所

報告書作成年：1984年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌5株 (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100株) およびトリプトファン要求性の大腸菌1株 (WP2uvrA) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検索した。

用量設定根拠：

試験結果：

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)		-	105	7	9	26	5	9
			88 (97)	10 (9)	13 (11)	31 (29)	3 (4)	10 (10)
ブタミホス 原体	10	-	86	7	13	27	3	8
			92 (89)	7 (7)	10 (12)	38 (33)	6 (5)	6 (7)
	50	-	101	8	10	24	3	13
			88 (95)	5 (7)	8 (9)	30 (27)	2 (3)	12 (13)
	100	-	84	6	8	31	5	8
			90 (87)	5 (6)	6 (7)	24 (28)	3 (4)	12 (10)
500	-	106	3	8	39	2	5	
		96 (101)	9 (6)	9 (9)	33 (36)	1 (2)	11 (8)	
1000	-	93	11	8	29	7	9	
		80 (87)	9 (10)	12 (10)	31 (30)	3 (5)	9 (9)	
5000	-	89	11	11	28	5	11	
		89 (89)	3 (7)	6 (9)	34 (31)	7 (6)	12 (12)	
溶媒対照 (DMSO)		+	100	11	10	26	8	34
			104 (102)	7 (9)	14 (12)	34 (30)	8 (8)	28 (31)
ブタミホス 原体	10	+	105	5	9	31	6	20
			93 (99)	2 (4)	10 (10)	33 (32)	8 (7)	29 (25)
	50	+	88	6	7	25	6	24
			99 (94)	6 (6)	12 (10)	34 (30)	13 (10)	22 (23)
	100	+	94	5	8	23	4	27
			113 (104)	10 (8)	10 (9)	29 (26)	5 (5)	12 (20)
500	+	123	7	20	21	4	14	
		113 (118)	6 (7)	20 (20)	21 (21)	7 (6)	14 (14)	
1000	+	105	4	9	29	7	18	
		102 (104)	9 (7)	6 (8)	32 (31)	4 (6)	24 (21)	
5000	+	109	2	14	32	8	15	
		112 (111)	7 (5)	12 (13)	27 (30)	3 (6)	19 (17)	

()内の数値は平均値。

(つづく)

			復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537	TA1538	
陽 性 対 照	S9Mixを必要としないもの	名称	AF-2 ^{a)}	ENNG ^{b)}	AF-2	AF-2	9-AA ^{c)}	2-NF ^{d)}	
		μg/プレート	0.01	10	0.04	0.1	80	2	
		コロニー数/プレート	398 409 (404)	>1000 >1000 (>1000)	246 (269)	316 (311)	>1000 >1000 (>1000)	258 (263)	
	S9Mixを必要とするもの	S9Mixの有無	名称	2-AA ^{e)}	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
			μg/プレート	0.5	2	40	0.5	2	0.5
		+	コロニー数/プレート	305 297 (301)	225 (211)	>1000 >1000 (>1000)	174 (178)	82 (90)	166 (168)
			コロニー数/プレート	98 80 (89)	9 (10)	7 (7)	30 (34)	11 (11)	13 (14)
		-	コロニー数/プレート	98 80 (89)	9 (10)	7 (7)	30 (34)	11 (11)	13 (14)

() 内の数値は平均値。

a) 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide

b) N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

c) 9-aminoacridine d) 2-nitrofluorene e) 2 aminoanthracene

ブタミホス原体ではS9Mixの有無にかかわらず、いずれの株においても溶媒対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたAF-2、ENNG、9-AA、2-NFでは、S9Mixの添加なしで、2-AAではS9Mixの添加により復帰変異コロニー数の増加が認められた。

(3) - ②修復試験

(資料11-3)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1984年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：枯草菌の組換修復機構野生株 (II-17) と欠損株 (M-45) を用い、
賀田らの rec-assay 法でDNAの損傷の誘発性を検索した。

試験結果：

薬 物	濃 度 (%v/v)	阻 止 域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
ブタミホス原体	1 (原体 0.2 μ L/ $\bar{\tau}$ 1 $\bar{\tau}$)	0	0	0
	5 (" 1 μ L/ $\bar{\tau}$ 1 $\bar{\tau}$)	0	0	0
	10 (" 2 μ L/ $\bar{\tau}$ 1 $\bar{\tau}$)	0	0	0
	20 (" 4 μ L/ $\bar{\tau}$ 1 $\bar{\tau}$)	0	0	0
	75 (" 15 μ L/ $\bar{\tau}$ 1 $\bar{\tau}$)	0	0	0
	100 (" 20 μ L/ $\bar{\tau}$ 1 $\bar{\tau}$)	0	0	0
カナマイシン	10 μ g/ $\bar{\tau}$ 1 $\bar{\tau}$	5.5	5	0.5
マイトマイシンC	0.1 μ g/ $\bar{\tau}$ 1 $\bar{\tau}$	8	1	7

ブタミホス原体は1~100%V/V (原体 0.2~20 μ L/ $\bar{\tau}$ 1 $\bar{\tau}$) のすべての濃度において両株に全く生育阻止帯を誘起しなかった。一方、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止帯を示し、陽性対照として用いたマイトマイシンCでは、両株の間に著明な生育阻止の差を認めた。

(4) ブタミホス原体の哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験

(資料11-4)

試験機関：食品農医薬品安全性評価センター

報告書作成年：1989年 [G L P 対応]

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験方法：チャイニーズハムスターの肺由来の線維芽細胞株 (CHL/1U) を用いラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9mix) の存在下および非存在下で処理した後、染色体標本を作製し、顕微鏡下で観察した。

用量設定根拠：

試験結果：染色体異常の出現頻度を次頁の表に示した。

ブタミホス原体処理群において、構造異常は溶媒対照に比べ有意な増加は認められなかったが、直接法48時間処理50.0 μ g/mlにおいて倍数性細胞の出現頻度の上昇が認められた。この傾向は同条件下での追加試験においても再現された。いずれの処理においても高濃度群では検体の毒性により分裂中期像の減少が認められた。

一方、いずれの処理においても陽性対照群では有意に高い染色体異常の誘発が認められた。

以上の結果より、ブタミホス原体は *in vitro* でチャイニーズハムスターの肺由来の線維芽細胞 (CHL/1U) に対し、染色体の構造異常を誘発しないが、低頻度ながら倍数体細胞を増加させると結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

	処理時間 回復時間	処理濃度 (μ g/mL)	S9mix	構造異常を有する細胞数 ^{a)}						構造異常を有する細胞の出現頻度		倍数体細胞 (%)	
				ギャップ	染色分体型		染色体型		その他	ギャップを含む (%)	ギャップを含まない (%)		
					切断	交換	切断	交換					
直接法	24 0	溶媒 ^{b)}	—	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	
		検体	12.5	—	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0
			25.0	—	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0
			50.0	—	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	1.0
			100.0 ^{c)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	MNNG ^{d)} 2	—	17	60	156	0	1	0	84.0	84.0	1.5		
	48 0	溶媒 ^{b)}	—	1	0	1	0	0	0	1.0	0.5	0.0	
		検体	12.5	—	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	1.0
			25.0	—	0	0	0	0	3	0	1.5	1.5	2.0
			50.0	—	1	1	1	1	0	0	1.5	1.0	18.5
			100.0 ^{c)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	MNNG ^{d)} 2	—	17	45	76	3	19	0	51.5	50.5	7.5		
	(追加試験)	48 0	溶媒 ^{b)}	—	0	0	0	0	1	0	0.5	0.5	0
			検体	30.0	—	1	2	1	0	0	2.0	1.5	4.5
				50.0	—	1	1	0	1	1	0	2.0	1.5
70.0 ^{c)}				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
代謝活性化法	6 18	溶媒 ^{b)}	+	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0	
		検体	75.0	+	1	1	2	0	0	0	2.0	1.0	0.0
			150.0	+	1	1	4	0	0	0	2.5	2.0	1.0
			300.0	+	0	2	4	1	0	0	3.5	3.5	1.0
			BP ^{e)} 30	+	6	18	62	1	8	0	37.0	35.5	0.0
	6 18	溶媒 ^{b)}	—	1	0	1	0	1	0	1.5	1.0	0.0	
		検体	18.8	—	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	0.0
			37.5	—	0	0	1	1	1	0	1.5	1.5	4.0
			75.0	—	2	0	4	0	0	0	3.0	2.0	2.0
			BP ^{e)} 30	—	1	1	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0

a) 200 個の分裂中期像を観察した。(直接法の追加試験は100 個について観察した)

b) ジメチルスルホキシド

c) 毒性により観察できなかった。

d) 陽性対照: N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

e) 1,2-ベンゾピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

	処理時間 回復時間	処理濃度 (μ g/mL)	S9mix	構造異常を有する細胞数 ^{a)}						構造異常を有する細胞の出現頻度		倍数体細胞 (%)	
				ギャップ	染色分体型		染色体型		その他	ギャップを含む (%)	ギャップを含まない (%)		
					切断	交換	切断	交換					
直接法	24 0	溶媒 ^{b)}	—	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	
		検体	12.5	—	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0
			25.0	—	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0
			50.0	—	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	1.0
			100.0 ^{c)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	MNNG ^{d)} 2	—	17	60	156	0	1	0	84.0	84.0	1.5		
	48 0	溶媒 ^{b)}	—	1	0	1	0	0	0	1.0	0.5	0.0	
		検体	12.5	—	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	1.0
			25.0	—	0	0	0	0	3	0	1.5	1.5	2.0
			50.0	—	1	1	1	1	0	0	1.5	1.0	18.5
			100.0 ^{c)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	MNNG ^{d)} 2	—	17	45	76	3	19	0	51.5	50.5	7.5		
	(追加試験)	48 0	溶媒 ^{b)}	—	0	0	0	0	1	0	0.5	0.5	0
			検体	30.0	—	1	2	1	0	0	0	2.0	1.5
50.0				—	1	1	0	1	1	0	2.0	1.5	20.0
70.0 ^{c)}				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
代謝活性化法	6 18	溶媒 ^{b)}	+	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0	
		検体	75.0	+	1	1	2	0	0	0	2.0	1.0	0.0
			150.0	+	1	1	4	0	0	0	2.5	2.0	1.0
			300.0	+	0	2	4	1	0	0	3.5	3.5	1.0
			BP ^{e)} 30	+	6	18	62	1	8	0	37.0	35.5	0.0
	6 18	溶媒 ^{b)}	—	1	0	1	0	1	0	1.5	1.0	0.0	
		検体	18.8	—	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	0.0
			37.5	—	0	0	1	1	1	0	1.5	1.5	4.0
			75.0	—	2	0	4	0	0	0	3.0	2.0	2.0
			BP ^{e)} 30	—	1	1	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0

a) 200 個の分裂中期像を観察した。(直接法の追加試験は100 個について観察した)

b) ジメチルスルホキシド

c) 毒性により観察できなかった。

d) 陽性対照: \underline{N} -メチル- \underline{N}' -ニトロ- \underline{N} -ニトロソグアニジン

e) 1,2-ベンゾピレン

(5) ブタミホス原体のマウス骨髓細胞を用いた小核試験

(資料11-5)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1989年〔GLP対応〕

検体：ブタミホス原体

検体純度： %

試験動物：ICR系雄マウス（8週令，体重34～49g）1群5匹

試験方法：検体はコーンオイルに溶解し，10 mL/kgの割合でマウスに1回経口投与した。

試験は二つの方法で行った。経時変化試験（試験Ⅰ）では検体1000 mg/kgを投与し，24，48および72時間後に，また，用量依存性試験（試験Ⅱ）では検体を0，250，500および1000 mg/kg投与し，24時間後にそれぞれ動物を屠殺した。屠殺後大腿骨を摘出し，常法に従い骨髓細胞の塗抹標本を作製し，顕微鏡下で観察した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁の表に示した。

試験Ⅰにおける1000 mg/kg投与群の投与24，48および72時間後および試験Ⅱにおける250～1000 mg/kgの各投与群の24時間後の検査いずれにおいても小核発生率の増加は観察されなかった。なお，試験Ⅰにおいて骨髓細胞に対する毒性の指標である多染性赤血球の割合が24時間処理でわずかに減少傾向を示したが，統計学的に有意差は認められなかった。

一方，陽性対照であるシクロホスファミドは本試験条件下において著明な小核誘発作用を示した。

以上の結果から，ブタミホス原体はマウス骨髓細胞に対して小核を誘発しないと結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

薬物	投与量 (mg/kg)	投与経路 ×回数	処理 時間 (hr)	動物数	PCE ^{a)} PCE+NCE (% ± SD)	MNPCE ^{b)} PCE (% ± SD)
[経時変化試験]						
コーンオイル	— ^{c)}	経口×1	24	5	42.5 ± 9.0	0.24 ± 0.13
ブタミホス原体	1000	経口×1	24	4 ^{d)}	35.7 ± 11.7	0.08 ± 0.05 ^{e)}
	1000	経口×1	48	4 ^{d)}	38.1 ± 9.4	0.23 ± 0.15
CP ^{f)}	1000	経口×1	72	5	42.0 ± 8.4	0.30 ± 0.20
	80	経口×1	24	5	36.2 ± 8.8	4.08 ± 1.54**
[用量依存性試験]						
コーンオイル	— ^{c)}	経口×1	24	5	45.8 ± 9.9	0.10 ± 0.07
ブタミホス原体	250	経口×1	24	5	40.9 ± 8.2	0.16 ± 0.11
	500	経口×1	24	5	48.9 ± 6.6	0.04 ± 0.09
	1000	経口×1	24	5	39.4 ± 7.7	0.14 ± 0.09
CP ^{f)}	80	経口×1	24	5	33.0 ± 7.3*	3.32 ± 1.70**

a) PEC: 多染性赤血球 NCE: 正染性赤血球

1個体につき1000個の赤血球を観察した。

b) MNPCE: 小核を持つ多染性赤血球

1個体につき1000個の多染性赤血球を観察した。

c) 10 mL/kg

d) 検体の毒性により動物が1例死亡した。

e) 溶媒対照値と比較して統計的に有意な差が認められたが、毒性学的に意味はなく偶発的なものと考えられた。

f) シクロホスファミド

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

12. 生体機能に及ぼす影響

ブタミホス原体における薬理試験

(資料 12)

試験機関：広島大学医学部

報告書作成年：1985年

検体の純度： %

比較対照としてブタミホスオキソン（純度 %）を用いた。

(I) 中枢神経系に対する作用

① マウスにおける一般症状、運動量に対する作用

供試動物：ddy系雄性マウス、体重 15～20 g、一群各5匹

方法：検体をコーンオイルに溶解して、100、250、500および1000 mg/kgを経口的に胃内投与し、一般症状を観察した。また運動量を群単位で運動量測定装置を用いて測定した。

結果：一般症状において、250 mg/kgで呼吸不規則、立毛、自発運動減少を、500 mg/kgで流涎、流涙、歩行失調、立毛、自発運動減少を、1000 mg/kgで四肢麻痺、強直性痙攣、筋攣縮、呼吸困難、四肢または全身性の運動失調を認め、ほぼ全例に立毛、衰弱および体重減少を認めた。運動量に対して、500 mg/kg以上で減少傾向を認めた。

② ウサギにおける自発脳波に対する作用

供試動物：雌ウサギ、体重 約3.0 kg、一群各3匹

方法：ペントバルビタールNa 25 mg/kgの静脈内投与による麻酔下で脳を手術して各種領域より単極誘導した後、ブタミホス1、2、5および10 mg/kg、ブタミホスオキソン2、5および10 mg/kgを耳静脈投与し、ポリグラフにより脳波の異常の有無を調べた。尚、ブタミホスおよびブタミホスオキソンは乳化剤ソルポール1200を添加後、生理食塩水で希釈懸濁して使用した。

結果：1～5 mg/kgで投与直後に速やかに回復する痙攣を認めたが、脳波に影響はなかった。10 mg/kgでは、死亡により脳波は記録不可能であった。ブタミホスオキソンでは、10 mg/kgで投与直後に速やかに回復する痙攣を認めたが、脳波に影響はなかった。

③ ウサギにおける体温に対する作用

供試動物：雌ウサギ 体重 2.1～2.6 kg、一群各8匹

方法：ウサギの直腸内70 mmの位置にサーミスター温度計を挿入し、ブタミホス投与3時間前より1時間間隔で4回、投与後30分、1、2、3、4時間後に直腸体温を測定した。

尚、ブタミホスはコーンオイルに溶解し、100、250、500、1000および2500 mg/kgを皮下に投与した。

結 果：体温に影響はみられなかった。

(2) 循環器系、呼吸に対する作用

① イヌにおける血圧および呼吸に対する作用

供試動物：雄または雌のイヌ、体重 雌雄5.0~10.0 kg、一群各4匹

方 法：ペントバルビタールNa 25 mg/kgの静脈内投与による麻酔下で、気管および大腿動脈にカニューレを挿入して、呼吸運動、血圧を調べ、媒紙上に記録した。尚、ブタミホスは乳化剤ソルポールを添加後、生理食塩水で希釈懸濁し、大腿静脈より5、10、20、25および50 mg/kg投与した。ブタミホスオキソンは5 mg/kgを同様に調製して投与した。

薬理学的解析のためアセチルコリン、アトロピン、PAMを用いた。

結 果：5 mg/kgで軽度、10 mg/kg以上で著しい一過性の血圧下降を認め、50 mg/kgでは死亡が認められた。また、10 mg/kgでアセチルコリンの降圧効果の回復が遅延したが、この遅延はPAMでやや拮抗した。呼吸に対して、5 mg/kg以上で一過性の無呼吸に次ぐ過呼吸が認められた。

ブタミホスオキソンでは、5 mg/kgで一過性の著明な降圧効果を示した。この作用はアトロピン、PAMで抑制された。呼吸に対して、5 mg/kgで一過性の無呼吸に次ぐ過呼吸が認められた。

② ウサギにおける心電図に対する作用

供試動物：雌ウサギ、体重 約3.0 kg、一群各4匹

方 法：ブタミホスは乳化剤ソルポールを添加後、生理食塩水で希釈懸濁して、耳静脈内に1、2および5 mg/kg投与し、ポリグラフを使用し第一、第二誘導により心電図を調べた。

ブタミホスオキソンは2、5および10 mg/kgを同様に調製し投与した。

結 果：心電図に対して、影響はみられなかった。

③ モルモットにおける摘出心房律動に対する作用

供試動物：雄モルモット、体重 約250 g、一群各4匹

方 法：モルモットの摘出心房をMagnus法に従い、 $O_2/CO_2=95/5$ の混合ガスで飽和した温血動物Ringer液中に懸垂し、収縮を調べた。

ブタミホスは(2)②と同様に調製し、懸垂液中の最終濃度は $10^{-7} \sim 10^{-4}$ g/mLとし、ブタミホスオキシソンの最終濃度は $10^{-8} \sim 10^{-4}$ g/mLとした。

尚、薬理作用の解析のため、プロプラノール、アドレナリン、アセチルコリンを使用した。

結果： 10^{-5} g/mL で一過性の拍動数および振幅増加を認めた。この作用はプロプラノロール前処置で抑制された。 10^{-4} g/mL では、不整脈の後、心停止が観察された。アセチルコリンおよびアドレナリン作用には影響はみられなかった。ブタミホスオキソンでは、 10^{-5} g/mL以上で収縮抑制作用がみられた。アセチルコリンおよびアドレナリン作用には影響はみられなかった。

(3) 自律神経系に対する作用

① モルモットにおける摘出回腸収縮に対する作用

供試動物：雄モルモット、体重 約250 g、一群各3匹

方法：モルモットの摘出回腸をMagnus法に従い、空気で飽和したTyrode液中に懸垂し、収縮を調べた。尚、ブタミホスおよびブタミホスオキソンは乳化剤ソルポールを添加後、生理食塩水で希釈懸濁して使用した。懸垂液中の最終濃度は 10^{-7} ~ 10^{-4} g/mLとした。

薬理作用の解析のため、ヒスタミン、バリウム、アセチルコリン、セロトニンを用いた。

結果：自発収縮に影響はみられなかった。 10^{-6} g/mL でアセチルコリンおよびバリウム収縮に対して溶媒と同程度の抑制がみられたが、同濃度でヒスタミンおよびセロトニン収縮に対しては、溶媒よりやや強い抑制作用が認められた。

ブタミホスオキソンにおいては、自発収縮、アセチルコリンおよびヒスタミン収縮に対して影響はみられなかったが、セロトニンおよびバリウム収縮に対して溶媒と同程度の抑制作用が認められた。

② ウサギにおける摘出回腸収縮に対する作用

供試動物：雌ウサギ、体重 約2.5 kg、一群各3匹

方法：ウサギの摘出回腸をMagnus法に従い、空気で飽和したTyrode液中に懸垂し、収縮を調べた。ブタミホスおよびブタミホスオキソンは上記と同様に調整し、懸垂液中の最終濃度はそれぞれ 10^{-7} ~ 10^{-6} g/mLおよび 10^{-6} ~ 10^{-5} g/mLとした。

薬理作用の解析のため、アセチルコリンおよびアドレナリンを用いた。

結果： 10^{-6} g/mL で自動運動およびアセチルコリン収縮を抑制した。アドレナリン作用に対して影響はみられなかった。

ブタミホスオキソンにおいては、自動運動およびアドレナリン作用に影響はみられなかった。アセチルコリン収縮に対して溶媒と同程度の抑制を認めた。

(4) 末梢神経系に対する作用

① ラットにおける摘出横隔神経－横隔膜標本に対する作用

供試動物：雄ラット、体重 約200 g、一群各3匹

方 法：ラットの摘出横隔神経－横隔膜標本を、 $O_2/CO_2=95/5$ の混合ガスで飽和した Krebs-Ringer液中に懸垂し、矩形波刺激を間接および直接に交互に加え、収縮を調べた。尚、ブタミホスは乳化剤ソルポールを添加後、生理食塩水で希釈懸濁して使用した。ブタミホスおよびブタミホスオキシソンの最終濃度は 10^{-6} ～ 10^{-3} g/mLとした。

薬理作用解析のため、d-ツボクラリン、サクシニルコリン、エゼリン、PAMを用いた。

結 果： 10^{-3} g/mLで間接刺激による収縮を抑制した。この抑制作用はPAM前処置でやや遅延した。d-ツボクラリンおよびサクシニルコリンの収縮抑制作用に対して、 10^{-3} g/mLで拮抗作用を示した。

ブタミホスオキシソンにおいては、 10^{-4} g/mLで収縮高の増加作用を示した。また、 10^{-3} g/mLで緊張度を増加させる一方、間接刺激による収縮を抑制した。これらの抑制作用はPAM前処置で遅延しなかった。d-ツボクラリンおよびサクシニルコリンの収縮抑制作用に対して、ブタミホスオキシソンは、 10^{-4} g/mLで拮抗作用を示した。

② ウサギにおける眼に対する作用

供試動物：雌ウサギ、体重 約2.5 kg、一群各8匹を用いた。

方 法：ブタミホスをコーンオイルに溶解し、1%および50%液 0.2 mLを点眼して眼粘膜への刺激反応、角膜反射への影響を観察した。

角膜反射に及ぼす影響にはコカイン1%液を対照として用いた。

結 果：50%液で結膜の充血および流涙がみられたが、1時間後には回復がみられた。角膜反射に対しては、影響はみられなかった。

(5) 血液学的検討

① ウサギにおける血液凝固時間に対する作用

供試動物：雌ウサギ、体重 2.2 kg、一群各3匹

方 法：ブタミホスをDMSOに溶解させ、生理食塩水で10倍に希釈懸濁し、ウサギの頸動脈より採取した血液1 mLに対し、ブタミホス0.1、0.3および1%液を0.1 mL添加して血液凝固時間を測定した。

結 果：血液凝固時間への影響はみられなかった。

② ウサギにおける赤血球に対する溶血作用

供試動物：雌ウサギ、体重 2.2 kg、一群各3匹

方 法：ウサギの赤血球に生理食塩水を加え、10%血球浮遊液を調製した。これにブタミホスをDMSOに溶解後、生理食塩水で50倍希釈し、0.02、0.06および0.2%の最終濃度になるように添加して溶血性を吸光度測定により確認した。

結 果：溶血作用はみられなかった。

以上の結果より、ブタミホスは哺乳動物に対し、高用量では降圧作用、心筋収縮力増加作用、腸運動抑制作用、神経-筋伝達抑制作用を有するが、この他の薬理作用はほとんどないか、弱いと考えられる。

ブタミホス原体の「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	適用量 (mg/kg)	動物数	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要		
中枢機能	一般症状および運動量 症状観察 運動量測定	マウス	経口 (corn oil)	ブタミホス 100, 250, 500, 1000	雄 5 匹/群	250	100	250 mg/kg で呼吸不規則、立毛、 自発運動減少 500 mg/kg で流涎、流涙、歩行失 調、立毛、自発運動減少 1000 mg/kg で四肢麻痺、強直性 痙攣、筋攣縮、呼吸困難、四肢ま たは全身性の運動失調、立毛、衰 弱、体重減少 死亡例なし。500 mg/kg 以上で自 発運動量減少傾向	
									脳波 麻酔下
	体温	ウサギ	皮下 (corn oil)	ブタミホス 100, 250, 500, 1000, 2500	雌 8 匹/群	-	ブタミホス 2500	影響なし	
循環器系および呼吸	呼吸及び 血压 麻酔下	イヌ	静脈内 (sorpol 1200)	ブタミホス 5, 10, 20, 25, 50	雄雌 各 4 匹/群	ブタミホス 5	ブタミホス -	ブタミホス: 5 mg/kg で軽度の、10 mg/kg 以上で著しい一過性の血 圧下降。50 mg/kg で死亡 10 mg/kg で ACh の降圧効果回復 が遅延、この効果は PAM でやや拮 抗	
				ブタミホスオキソン 5		ブタミホスオキソン 5	ブタミホスオキソン -		ブタミホスオキソン: 血压下降 この効果はアトロピン、PAM で拮 抗傾向
				ブタミホス 5, 10, 20, 25		ブタミホス 5	ブタミホス -		ブタミホス、ブタミホスオキソン共に投与直後 に一過性の無呼吸に次ぐ過呼吸
				ブタミホスオキソン 5		ブタミホスオキソン 5	ブタミホスオキソン		

ACh : アセチルコリン、Ad : アドレナリン、d-Te : d-ツボクラリン、SCC : サクシニルコリン

ブタミホス原体の「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表(つづき)

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	適用量 (mg/kg)	動物数	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
循環器系および呼吸	心電図	ウサギ	静脈内 (sorpel 1200)	雌 4 匹/群	ブタミホス 1、2、5	ブタミホス 5	影響なし	
					ブタミホスオキソ 2、5、10	ブタミホスオキソ 10		
	摘出心房 マグヌス法	モル モット	<i>in vitro</i> (sorpel 1200)	雄 4 匹	ブタミホス $10^{-7} \sim 10^{-4}$ (g/mL)	ブタミホス 10^{-4} (g/mL)	ブタミホス: 10^{-5} g/mL で一過性の拍動 数および振幅増加、この作用はプロ プラノロール前処置で抑制、 10^{-4} g/mL で不整脈、心停止、ACh、Ad 作用 には影響なし	
					ブタミホスオキソ $10^{-8} \sim 10^{-4}$ (g/mL)	ブタミホスオキソ 10^{-5} (g/mL)		ブタミホスオキソ: 10^{-5} g/mL 以上で収 縮抑制、ACh、Ad 作用には影響な し
自律神経系	摘出回腸 マグヌス法	モル モット	<i>in vitro</i> (sorpel 1200)	雄 3 匹	ブタミホス $10^{-7} \sim 10^{-4}$ (g/mL)	ブタミホス 10^{-4} (g/mL)	ブタミホス、ブタミホスオキソ共に 自発収縮に対する影響なし	
					ブタミホスオキソ $10^{-7} \sim 10^{-1}$ (g/mL)	ブタミホスオキソ 10^{-4} (g/mL)		
					ブタミホス 10^{-6} (g/mL)	ブタミホス 10^{-6} (g/mL)		ブタミホス:ACh、Ba 収縮に対して溶 媒と同程度の抑制。His、5-HT 収 縮に対して溶媒よりやや強い抑 制
					ブタミホスオキソ 10^{-6} (g/mL)	ブタミホスオキソ 10^{-6} (g/mL)		ブタミホスオキソ:ACh、His、5-HT、Ba 収縮に対して溶媒と同程度の抑 制
	摘出回腸 マグヌス法	ウサギ	<i>in vitro</i> (sorpel 1200)	雌 3 匹	ブタミホス $10^{-7} \sim 10^{-6}$ (g/mL)	ブタミホス 10^{-6} (g/mL)	ブタミホス: 10^{-6} g/mL で自動運動およ び ACh 収縮を抑制	
					ブタミホスオキソ $10^{-6} \sim 10^{-6}$ (g/mL)	ブタミホスオキソ 10^{-5} (g/mL)		ブタミホスオキソ: 自動運動に影響な し。ACh 収縮に対して溶媒と同程 度の抑制
					ブタミホス 10^{-6} (g/mL)	ブタミホス 10^{-6} (g/mL)		ブタミホス、ブタミホスオキソ共に Ad 作用 に影響なし
					ブタミホスオキソ 10^{-5} (g/mL)	ブタミホスオキソ 10^{-5} (g/mL)		

ACh: アセチルコリン、Ad: アドレナリン、d-Tc: d-ツボクラリン、SCC: サクシニルコリン

ブタミホス原体の「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表(つづき)

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	適用量 (mg/kg)	動物数	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
末梢神経 神経筋 接合部	ラット	<i>in vitro</i> (sorpel 1200)	ブタミホス $10^{-5} \sim 10^{-3}$ (g/mL)	雄 3 匹	ブタミホス 10^{-3} (g/mL)	ブタミホス 10^{-4} (g/mL)	ブタミホス: 10^{-3} g/mL で一過性の拍動数および振幅増加 この作用はプロプラノロール前処置で抑制 10^{-4} g/mL で不整脈、心停止 ACh, Ad 作用には影響なし
			ブタミホスオキソリン $10^{-6} \sim 10^{-3}$ (g/mL)		ブタミホスオキソリン 10^{-4} (g/mL)	ブタミホスオキソリン 10^{-5} (g/mL)	ブタミホスオキソリン: 10^{-5} g/mL 以上で収縮抑制、ACh, Ad 作用には影響なし
			ブタミホス 10^{-3} (g/mL)		ブタミホス 10^{-3} (g/mL)	ブタミホス —	ブタミホス: PAM 前処置で抑制作用や遅延、間接刺激による収縮に対する d-Tc, SCC の抑制作用に拮抗
			ブタミホスオキソリン $10^{-4} \sim 10^{-3}$ (g/mL)		ブタミホスオキソリン 10^{-4} (g/mL)	ブタミホスオキソリン —	ブタミホスオキソリン: PAM 前処置で抑制作用や遅延せず 間接刺激による収縮に対する d-Tc, SCC の抑制作用に拮抗
眼粘膜および角膜に対する作用	ウサギ	点眼 (corn oil)	ブタミホス 1, 50 (%)	雌 8 匹	50 (%)	1 (%)	50%で結膜の充血、流涙 角膜反射に影響なし
血液学的 検討	血液凝固	ウサギ	<i>in vitro</i> (DMSO) 0.1, 0.3, 1.0 (%)	雌 3 匹	—	1.0 (%)	影響なし
	溶血作用	ウサギ	<i>in vitro</i> (DMSO) 0.02, 0.06, 0.2 (%)	雌 3 匹	—	0.2 (%)	影響なし

ACh: アセチルコリン, Ad: アドレナリン, d Tc: d-ツボクラリン, SCC: サクシニルコリン

13. 治療

(1) ブタミホス原体の急性遅延性神経毒性の治療に関する検討 (I)

(資料13-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1989年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

治療剤：次のような糖質コルチコイド剤を使用した。

①メチルプレドニゾロン (ソル・メドール®500、日本アップジョン)

②メチルプレドニゾロン (メドロール®錠、日本アップジョン)

③トリウムシノロンアセトニド (筋注用ケナコルト®-A、三共)

④酢酸コルチゾン (コートン錠、萬有製薬)

⑤プレドニゾロン (デルタ・プレニン®錠、住友製薬)

⑥ヒドロコルチゾン (コートリル®錠、台糖ファイザー)

⑦デキサメタゾン (デキサメサゾン錠、<東洋>、東洋醸造)

⑧コルチコステロン (純度95~98%、Sigma)

これらの治療剤のうち①および③は水性懸濁注射液として、他の市販剤はそのまま用いた。また⑧についてはグリセロールホルマル液に溶解して使用した。

供試動物：白色レグホン系雌ニワトリ、9~13カ月齢、体重 1.73~2.63 kg、1群3~12羽

試験期間：3週間

投与方法：検体はコーンオイルに溶解し、2000又は2500 mg/kgの割合で1回経口投与した。

治療剤は検体投与直後あるいは遅延性神経毒性発症後、結果の表に示したような投与経路、用量を用いて単回もしくは繰り返し投与した。また治療剤の併用による効果も調べた。

尚、陽性対照としてはTri-ortho-cresyl phosphate (TOCP) を 250~500 mg/kg (溶媒；コーンオイル) 経口投与し、同様に糖質コルチコイドの治療効果を調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

検体の投与量はニワトリにおける急性経口毒性試験で20 %の死亡率を示した2240 mg/kgに近い2000 mg/kgまたは2500 mg/kgとし、2500 mg/kg群では急性中毒症状の解毒のため必要に応じて硫酸アトロピン20 mg/kg（筋肉内注射）および2-PA100 mg/kg（皮下注射）で処置した。

試験項目：1日1回以上全てのニワトリの生死と遅延性神経毒性症状を観察した。

結果：試験はI～VI群にわけて行った。結果の概要は次頁の表に示す通りである。

いずれの試験群においても検体およびT O C Pによる遅延性神経毒性症状に有効な治療効果は認められなかった。

以上の結果から、ブタミホス原体による遅延性神経毒性症状の発現に対し、メチルプレドニゾン、トリアムシノロンアセトニド、プレドニゾン、ヒドロコルチゾン、デキサメタゾン、酢酸コルチゾンおよびコルチコステロン等の糖質コルチコイド剤は治療効果を示さないと結論した。

試験群	化合物	投与量 (mg/kg)	治療剤の処置	動物数		DNT ^{a)} 症状発現数	
				死亡数	生存例中	死亡数	全例中
I	TOCP	300	なし	4	4	0	4
	TOCP	300	直後に治療剤①90 mg/kg (iv)、翌日より治療剤③3 mg/kgを3日間隔で7回 (im)	5	—	5	(0) ^{b)}
	TOCP	300	直後および翌日に治療剤①45 mg/kg (iv)、更に同様の処置を1週間間隔で3回	5	5	0	5
II	対照	0	直後に治療剤①90 mg/kg (iv)、翌日より治療剤③3 mg/kgを3日間隔で7回 (im)	4	—	4	(0) ^{b)}
	TOCP	500	直後に治療剤①90 mg/kg (iv)、その後治療剤②2 mg/羽を週3回 (P0)	3	3	0	3
	TOCP	500	直後に治療剤①90 mg/kg (iv)、その後治療剤⑤5 mg/羽を週3回 (P0)	3	3	0	3
III	ブタミホス	2000	なし	4	4	3	1
	ブタミホス	2000	直後より治療剤③0.5 mg/kgを3~4日間隔で7回 (im)	5	—	5	(0) ^{b)}
	ブタミホス	2000	DNT発現後治療剤③0.5 mg/kgを3~4日間隔で2~3回 (im)	2 ^{c)}	2	0	2
IV	ブタミホス	2500	なし	6	6	1	4
	ブタミホス	2500	翌日より治療剤④25 mg/羽を毎日20日間 (P0)	6	6	0	6
	TOCP	250	なし	3	3	0	3
V	TOCP	250	翌日より治療剤④25 mg/羽を毎日20日間 (P0)	3	3	0	3
	TOCP	500	直後から治療剤⑥40 mg/羽を週3回 (P0)	3	3	1	2
	TOCP	500	直後から治療剤⑦1 mg/羽を週3回 (P0)	3	3	0	3
VI	TOCP	500	直後から治療剤⑤10 mg/羽を週3回 (P0)	3	3	1	2
	TOCP	250	なし	6	6	0	6
	TOCP	250	直後に治療剤⑧35 mg/kg (iv)、1週間後3羽に同様の処置	12	12	0	12
VI	TOCP	250	直後に治療剤⑧35 mg/kg (iv)、翌日より治療剤③70 mg/kgを週3回 (P0)	6	6	1	5
	TOCP	500	直後に治療剤③35 mg/kg (iv)、1週間後3羽に同様の処置	6	6	0	6
	対照	0	コントロール投与直後に治療剤⑧35 mg/kg (iv)、1週間後3羽に同様の処置	6	6	0	6

a) : DNT ; 遅延性神経毒性
 b) : 早期死亡によりDNT発症の有無不明
 c) : 5羽の動物のうち2羽のDNT発症動物に治療剤を投与
 P0 : 経口投与、
 治療剤 : ①チクロピリドニゾロン(リル・ドール® 500) ④酢酸コルチゾン(コート錠)
 ② " " (オド・ドール® 錠) ⑤アト・ニゾロン (チル・ブ・レニ® 錠)
 ③ Nリジメシロソアセトド (筋注用チコト® -A) ⑥ヒド・コルチゾン (コートリル® 錠)
 iv : 静脈内注射、 im : 筋肉内注射
 ⑦デキメタゾン (デキメタゾン錠)
 ⑧コルチコステロン

(2) プタミホス原体による急性遅延性神経毒性の治療に関する検討 (II)

(資料13-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1989年

検 体：プタミホス原体

検体純度： %

治療剤：コルチコステロン(純度 95~98 %, Sigma)、グルセロホルマール液に溶解して用いた。

供試動物：白色レグホン系雌ニワトリ、8~12カ月齢、体重1.62~2.27 kg)

投与方法：検体はコーンオイルに溶解し、500、1000あるいは2000 mg/kgを4あるいは2 mL/kgの割合で1回経口投与した。投与液は純度補正を行って用時調製した。

陽性対照としてはTri-ortho-cresyl phosphate (TOCP：純度 97.8 %、イーストマンコダック製)を125、250あるいは500 mg/kg (溶媒：コーンオイル) 経口投与した。

試験 I：1群3~4羽のニワトリを用い、検体(500、1000、2000 mg/kg) またはTOCP (125、250、500 mg/kg) 投与後24時間に安楽殺し、脳のneuropathy target esterase (NTE) 活性の測定を行い、NTE活性阻害の程度を調べた。

試験 II：1群20羽のニワトリに検体2000 mg/kgあるいはTOCP 500 mg/kgを経口投与し、投与後1、3、7、14および21日にそれぞれ4羽のニワトリを安楽殺し、脳のNTE活性の測定を行った。また、その間遅延性神経毒性(DNT) 症状の有無を観察した。

試験 III：1群3羽のニワトリに検体2000 mg/kgまたはTOCP 500 mg/kgを経口投与し、投与直後に治療剤コルチコステロンを静脈内(35 mg/kg) および経口投与(70 mg/kg) し、更に24および48時間後に70 mg/kgを経口投与した。72時間後にニワトリを安楽殺し、脳のNTE活性を測定し、阻害の程度を比較した。

結 果：

試験 I：検体投与24時間後の脳におけるNTE活性の阻害の程度は次表の通りであり、検体投与群では用量相関性を示す阻害が認められた。一方TOCP群における阻害は顕著であった。

化合物	プタミホス			TOCP		
投与量 (mg/kg)	500	1000	2000	125	250	500
NTE阻害率 (%)	36.4	46.7	69.5	80.3	82.6	91.7

NTE: neuropathy target esterase

試験Ⅱ；検体投与後の経日的なNTE活性の阻害の程度およびDNT症状発生数は次の通りであった。

検体投与群のNTE活性の阻害は3日目に最大となり、その後回復の傾向がみられた。一方、TOCP群では1日目に最大阻害率を示し、回復傾向を認めたのは3日目以降であった。このことはNTE活性を指標とした治療剤の効果の検討にあたって治療剤の処置は検体投与直後から3日目までに行う必要があることを示唆した。

本試験においてDNT症状は検体およびTOCP群共11日目より認められた。

群	NTE阻害率 (%)				
	投与後日数 (日)				
	1	3	7	14	21
ブタミホス 2000 mg/kg	71.5 (0/20)	81.4 (0/16)	67.8 (0/12)	34.1 (2/8)	12.6 (3/4)
TOCP 500 mg/kg	86.9 (0/20)	86.2 (0/16)	69.6 (0/12)	33.0 (4/8)	21.5 (4/4)

NTE: neuropathy target esterase

() 内は遅延性神経毒性症状発現数/生存数を示す。

試験Ⅲ；検体投与後治療剤で処置したニワトリの脳NTE活性を測定した結果は次の通りであり、コルチコステロンの処置によってもNTE活性の賦活化効果は認められなかった。

群	投与量 (mg/kg)	治療処置	NTE阻害率 (%)
対照	0	あり	39.6
ブタミホス	2000	なし	82.9
	2000	あり	86.8
TOCP	500	なし	95.1
	500	あり	87.9

尚、コルチコステロン投与によって40%の阻害が認められたが、コルチコステロン単独ではDNTの発症は考えられず、非特異的なものと考えられた。

以上の結果から、ブタミホス原体は明らかにNTE活性を阻害したが、コルチコステロンはNTE活性を指標としても治療効果を示さなかった。

(3) ブタミホス原体のラットにおける急性中毒に対するアトロピンおよびPAMの解毒効果

(資料13-3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1988年

検 体：ブタミホス原体

検体純度： %

治療剤：硫酸アトロピン（半井化学薬品）

ブラリドキシムヨウ化メチル（PAM、パム注射液住友[®]、住友製薬）

供試動物：SD系雄ラット、7週齢、体重 210.4 ~ 250.5g、1群10匹

試験期間：14日間観察

投与方法：検体投与量は約LD₅₀値に相当する750 mg/kgを設定した。

検体は75 mg/mLの割合で10% Tween80 に懸濁し、10 mL/kgの割合で約20時間絶食したラットに経口投与した。

硫酸アトロピンは25 mg/mLの割合で生理食塩液に溶解し、検体投与後1時間、6時間から24時間までは6時間毎に、以後48時間までは8時間毎に1 mL/kg（アトロピン量として25 mg/kg）の割合で皮下投与した。PAMは検体投与後1時間、3時間から24時間までは3時間毎に、以後48時間までは4時間毎にパム注射液住友[®]を2 mL/kg（PAM量として50 mg/kg）の割合で腹腔内投与した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間、経時的に観察した。

結 果：結果のまとめを次頁の表に示した。

PAM処置では中毒症状の完全な抑制は困難であったが、筋攣縮の発現数および程度を軽減し、死亡率も低減した。アトロピン処置においてはブタミホス投与により発現した中毒症状のほとんどを消失又は抑制し、100%救命率を示したが筋攣縮や全身性のふるえに対して効果は少なかった。PAMおよびアトロピンを併用するとアトロピン単独処置で抑制されなかった筋攣縮も軽減した。

以上の結果から、ブタミホスによる急性中毒の治療については硫酸アトロピン単独処置のみで有効であるが、PAMとの併用処置を行うことにより症状面でさらに優れた治療効果を有すると考えられる。

なお、ブタミホス投与により発現した全身性のふるえはアトロピンおよびPAMの併用処置でも完全に抑制されなかったことから、コリン作動性以外の作用の関与も考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

検体	750 mg/kg (経口投与)			
	—	PAM (腹腔内投与)	アトロピン (皮下投与)	PAM アトロピン併用
動物数	10	10	10	10
死亡開始および 終了時間	開始；9時間後 終了；32時間後	9時間後 3日後	無 無	24時間後 24時間後
死亡動物数	7	4	無	1
症状発現および 消失時間	発現；30分後 消失；52時間後	30分後 3日目	30分後 4日目	30分後 4日目
中毒症状	筋攣縮、全身性のふるえ、自発運動減少、歩行失調、四肢麻痺、四肢の屈曲、呼吸抑制、呼吸深大/困難、流涙、紅涙、流涎、縮瞳、尿失禁、軟便/下痢	筋攣縮の発現数と程度の軽減。その他の中毒症状は対照群とほぼ同様。	四肢の屈曲、呼吸深大/困難、流涙、紅涙、流涎と縮瞳の発現抑制。歩行失調、四肢麻痺の発現数の減少。呼吸抑制の明らかな発現の抑制。	四肢麻痺、四肢の屈曲、呼吸深大/困難、流涙、紅涙、流涎と縮瞳の発現の完全抑制。筋攣縮の発現数と程度の軽減。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

14. 補足試験

クレマート乳剤の作業者曝露について
－クレマート散布時の作業者への曝露－

(資料 14)

試験機関 : 住友化学工業株式会社

報告書作成年 : 1986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住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

(4) 安全性評価

算定された一日体内曝露量と亜急性発達神経毒性試験の無毒性量 22 mg/kg/day を比較する事により安全係数を求めたところ、最大作業時の安全係数は保護具未着用時 6,250、保護具着用時 12,200、平均作業時のそれは保護具未着用時 25,000、保護具着用時 49,000 であった。

防除衣	保護具		安全係数	
	手袋	マスク	最大作業	平均作業
無	有	無	6,250	25,000
		有	6,770	27,100
有	有	無	10,900	43,700
		有	12,200	49,000

クレマート乳剤のラベルには、散布の際は防護マスク、不浸透性手袋、不浸透性防除衣を着用するよう記載されている。従って、クレマート乳剤を使用法に従い保護具を着用し適切に散布した場合には、十分な安全係数 (>10,000) が得られると考えられた。

B. 原体混在物を用いた試験成績

1. プタミホス原体中の不純物

のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 混1)

試験機関：住友化学工業株式会社 安全性研究所

報告書作成年：1984年

検 体：

検体の純度： %

供試動物：ICR系マウス、6週齢、体重(5週齢時)：雄26~31g 雌21~25g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

試験方法：7段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からLitchfield & Wilcoxonの方法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法：検体を10%-Tween80水溶液で懸濁して20ml/kgの割合で単回経口投与した。投与前に20時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行なった。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、200、300、450、750、1000、1500
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：947 (716~1250) 雌：802 (631~1020)
死亡開始時間 および終了時間	投与後30分以降から開始 投与後2日に終了
症状発現時間 および消失時間	投与後30分から発現 投与後3日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 200
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 450

中毒症状としては雌雄に関係なく、筋攣縮、振戦、自発運動減少、歩行失調、四肢麻痺、呼吸不規則、流涎、水様物の排泄、軟便・下痢、眼脂分泌、立毛が観察された。更に雌では正向反射消失、呼吸深大・困難が観察された。体重、剖検所見においては、検体投与による影響は認められなかった。

2. プタミホス原体中の不純物のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 混2)

試験機関：住友化学工業株式会社 安全性研究所

報告書作成年：1984年

検 体：

検体の純度： %

供試動物：ICR系マウス、6週齢、体重(5週齢時)：雄26~31g 雌21~25g、1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

試験方法：7段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からLitchfield & Wilcoxonの方法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法：検体を10%-Tween80水溶液で懸濁して20mL/kgの割合で単回経口投与した。投与前に20時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行なった。

結果：

投与方法	経口	
投与量 (mg/kg)	0、100、500、650、850、1100、1500	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：727 (622~850)	雌：718 (614~839)
死亡開始時間 および終了時間	投与後10分以降から開始 投与後7日に終了	
症状発現時間 および消失時間	投与後10分から発現 投与後3日に消失	
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 100	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：500	雌：100

中毒症状としては雌雄に関係なく、筋攣縮、間代性痙攣、自発運動減少、歩行失調、四肢麻痺、正向反射消失、呼吸不規則、呼吸深大・困難、立毛、体温低下、眼瞼閉塞が観察された。体重については、雄の650mg/kg投与群における一過性の体重増加抑制と雌の850mg/kg投与群における体重増加抑制が認められた。剖検所見においては、検体投与による影響は認められなかった。

3. プタミホス原体中の不純物のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 混3)

試験機関：住友化学工業株式会社 安全性研究所

報告書作成年：1984年

検 体：

検体の純度： %

供試動物：ICR系マウス、6週齢、体重(5週齢時)：雄26~31g 雌21~25g 1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

試験方法：8段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からLitchfield & Wilcoxonの方法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法：検体を10%-Tween80水溶液で懸濁して20mL/kgの割合で単回経口投与した。投与前に20時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行なった。

結果：

投与方法	経口	
投与量 (mg/kg)	0、100、300、390、510、660、860、1100	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：448 (354~567)	雌：509 (443~585)
死亡開始時間 および終了時間	投与後10分以降から開始 投与後4日に終了	
症状発現時間 および消失時間	投与後10分から発現 投与後2日に消失	
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 100	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：300	雌：100

中毒症状としては雌雄に関係なく、筋攣縮、間代性痙攣、自発運動減少、歩行失調、四肢麻痺、呼吸不規則、立毛、正向反射消失、呼吸深大・困難が観察された。更に雌では体温降下が観察された。体重、剖検所見においては、検体投与による影響は認められなかった。

4. プタミホス原体中の不純物

のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 混4)

試験機関：住友化学工業株式会社 安全性研究所

報告書作成年：1984年

検 体：

検体の純度： %

供試動物：ICR系マウス、6週齢、体重(5週齢時)：雄26~31g 雌21~25g、1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

試験方法：8段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からLitchfield & Wilcoxonの方法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法：検体を10%-Tween80水溶液で懸濁して20mL/kgの割合で単回経口投与した。投与前に20時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行なった。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、25、200、330、400、500、650、800
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：694 (534~900) 雌：605 (528~694)
死亡開始時間 および終了時間	投与後10分以降から開始 投与後4日に終了
症状発現時間 および消失時間	投与後10分から発現 投与後4日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 25
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 400

中毒症状としては雌雄に関係なく、筋攣縮、白発運動減少、歩行失調、四肢麻痺、呼吸不規則、流涎、体温降下、立毛、眼脂分泌、眼瞼閉塞、呼吸深大・困難、流涙、振戦、間代性痙攣、尾部先端黒色化が観察された。更に雌では軟便・

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

下痢が観察された。体重においては、雌雄とも500mg/kg投与群以上において軽度な体重増加の抑制が認められた。剖検所見においては、検体投与による影響は認められなかった。

5. プタミホス原体中の不純物の復帰突然変異性試験

(資料 混5)

試験機関：住友化学工業株式会社安全性研究所

報告書作成年：1985年〔GLP対応〕

検 体：

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性 (His-) ネズミチフス菌のヒスチジン非要求性 (His+) への復帰突然変異およびトリプトファン要求性 (Trp-) 大腸菌のトリプトファン非要求性 (Trp+) への復帰突然変異を指標として、 の変異原性の有無を調べた。

用量設定根拠：

試験結果：S9mix添加の有無にかかわらず、使用した6菌株全てにおいて、5000~10 μ g/プレートの濃度範囲において よる変異体数の増加は認められなかった。一方、薬物代謝酵素系添加時および非添加時の各菌株に対する陽性対照化合物では明瞭な変異体数の増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下では、プタミホス原体中の不純物である に突然変異性は無いと結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

変異原性試験

菌株	S 9 mix	復帰変異体数/プレート							陽性 対照 ^{注)}
		濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)							
		0	10	50	100	500	1000	5000	
TA100	-	83	122	126	126	112	105	112	408
		93	125	108	108	134	132	137	407
		(88)	(124)	(117)	(117)	(123)	(119)	(125)	(408)
TA98	-	31	29	37	28	38	31	47	317
		22	23	27	34	38	30	30	339
		(27)	(26)	(32)	(31)	(38)	(31)	(39)	(328)
TA1535	-	10	12	15	15	13	13	11	349
		11	13	15	13	11	8	10	349
		(11)	(13)	(15)	(14)	(12)	(11)	(11)	(349)
TA1537	-	17	8	19	11	11	11	10	910
		17	16	7	12	13	7	10	774
		(17)	(12)	(13)	(12)	(12)	(9)	(10)	(842)
TA1538	-	15	6	11	5	12	11	5	896
		5	10	14	17	13	12	10	793
		(10)	(8)	(13)	(11)	(13)	(12)	(8)	(845)
WP2uvrA	-	22	31	31	22	30	24	27	369
		28	26	32	18	32	29	30	310
		(25)	(29)	(32)	(20)	(31)	(27)	(29)	(340)
TA100	+	93	84	98	113	90	110	104	683
		85	89	96	105	95	99	106	685
		(89)	(87)	(97)	(109)	(93)	(105)	(105)	(684)
TA98	+	45	39	48	35	26	38	37	430
		36	51	39	36	25	42	37	433
		(41)	(45)	(44)	(36)	(26)	(40)	(37)	(432)
TA1535	+	10	9	12	11	13	8	12	182
		12	13	9	12	14	9	12	157
		(11)	(11)	(11)	(12)	(14)	(9)	(12)	(170)
TA1537	+	18	20	30	29	21	17	27	205
		31	29	18	29	26	31	22	192
		(25)	(25)	(24)	(29)	(24)	(24)	(25)	(199)
TA1538	+	25	23	27	27	20	28	34	198
		23	29	22	30	28	32	31	164
		(24)	(26)	(25)	(29)	(24)	(30)	(33)	(181)
WP2uvrA	+	25	27	31	28	30	34	30	461
		33	35	31	31	31	28	38	476
		(29)	(31)	(31)	(30)	(31)	(31)	(34)	(469)

注) 陽性対照化合物: ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)

S 9 mix 無添加

TA100	methyl methanesulfonate	200
TA98	2-nitrofluorene	1
TA1535	sodium azide	0.5
TA1537	9-aminoacridine hydrochloride	80
TA1538	2-nitrofluorene	2
WP2uvrA	N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	2

S 9 mix 添加

TA100	benzo (α) pyrene	5
TA98	benzo (α) pyrene	5
TA1535	2-aminoanthracene	2
TA1537	benzo (α) pyrene	5
TA1538	benzo (α) pyrene	5
WP2uvrA	2-aminoanthracene	80

() 内の数値は2枚のプレートの平均値を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

6. プタミホス原体中の不純物 の復帰突然変異性試験

(資料 混6)

試験機関：住友化学工業株式会社安全性研

究所

報告書作成年：1985年〔GLP対応〕

検 体：

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性 (His-) ネズミチフス菌のヒスチジン非要求性 (His+) への復帰突
然変異およびトリプトファン要求性 (Trp-) 大腸菌のトリプトファン非要求性
(Trp+) への復帰突然変異を指標として、 の変異原性の有無を調べた。

用量設定根拠：

試験結果：S9mix添加の有無にかかわらず、使用した6菌株全てにおいて による変異体数
の増加は認められなかった。一方、薬物代謝酵素系添加時および非添加時の各菌
株に対する陽性対照化合物では明瞭な変異体数の増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下では、 に突然変
異性は認められないと結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

DEBTの変異原性試験

菌株	S 9 mix	復帰変異体数/プレート								陽性 対照 ^(注)
		濃 度 (μg/プレート)								
		0	5	10	50	100	500	1000	5000	
TA100	-	103	129	98	105	99	107 T)	0 T)	NT	494
		112	114	103	123	111	91 T)	0 T)	NT	440
		(108)	(122)	(101)	(114)	(105)	(99)	(0)		(467)
TA98	-	27	37	24	32	22	16 T)	0 T)	NT	376
		22	20	22	20	28	16 T)	0 T)	NT	331
		(25)	(29)	(23)	(26)	(25)	(16)	(0)		(354)
TA1535	-	12	28	8	11	12	0 T)	0 T)	NT	357
		12	13	9	9	4	0 T)	0 T)	NT	370
		(12)	(21)	(9)	(10)	(8)	(0)	(0)		(364)
TA1537	-	7	9	9	7	16	4 T)	0 T)	NT	703
		7	13	10	10	6	6 T)	0 T)	NT	768
		(7)	(11)	(10)	(9)	(11)	(5)	(0)		(736)
TA1538	-	6	11	15	7	13	0 T)	0 T)	NT	852
		13	21	12	17	17	0 T)	0 T)	NT	993
		(10)	(16)	(14)	(12)	(15)	(0)	(0)		(923)
WP2uvrA	-	19	NT	29	16	28	16	24 T)	9 T)	232
		19	NT	22	18	22	13	18 T)	19 T)	210
		(19)		(26)	(17)	(25)	(15)	(21)	(14)	(221)
TA100	+	90	93	84	74	71	59 T)	69 T)	NT	827
		72	96	88	85	80	74 T)	70 T)	NT	712
		(81)	(95)	(86)	(80)	(76)	(67)	(70)		(770)
TA98	+	34	36	36	46	57	26 T)	0 T)	NT	554
		35	30	31	43	44	39 T)	0 T)	NT	505
		(35)	(33)	(34)	(45)	(51)	(33)	(0)		(525)
TA1535	+	15	14	12	6	6	0 T)	0 T)	NT	123
		14	17	21	9	9	0 T)	0 T)	NT	104
		(15)	(16)	(17)	(8)	(8)	(0)	(0)		(114)
TA1537	+	25	16	33	21	21	0 T)	0 T)	NT	180
		16	21	20	20	23	0 T)	0 T)	NT	157
		(21)	(19)	(27)	(21)	(22)	(0)	(0)		(169)
TA1538	+	26	27	26	28	27	21 T)	0 T)	NT	216
		34	25	34	33	24	13 T)	0 T)	NT	230
		(30)	(26)	(30)	(31)	(26)	(17)	(0)		(223)
WP2uvrA	+	27	NT	39	24	25	29	16	11 T)	457
		25	NT	23	23	21	19	19	21 T)	378
		(26)		(31)	(24)	(23)	(24)	(18)	(16)	(418)

注) 陽性対照化合物: (μg/プレート)

S 9 mix 無添加

TA100 methyl methanesulfonate 200
 TA98 2-nitrofluorene 1
 TA1535 sodium azide 0.5
 TA1537 9-aminoacridine hydrochloride 80
 TA1538 2-nitrofluorene 2
 WP2uvrA N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 2

S 9 mix 添加

TA100 benzo(α)pyrene 5
 TA98 benzo(α)pyrene 5
 TA1535 2-aminoanthracene 2
 TA1537 benzo(α)pyrene 5
 TA1538 benzo(α)pyrene 5
 WP2uvrA 2-aminoanthracene 80

T): 致死作用を示す。 NT: 試験せず。

() 内の数値は2枚のプレートの平均値を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

7. ブタミホス原体中の不純物の復帰突然変異性試験

(資料 混7)

試験機関：住友化学工業株式会社安全性研究所

報告書作成年：1985年〔GLP対応〕

検体：

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性 (His-) ネズミチフス菌のヒスチジン非要求性 (His+) への復帰突然変異およびトリプトファン要求性 (Trp-) 大腸菌のトリプトファン非要求性 (Trp+) への復帰突然変異を指標として、 の変異原性の有無を調べた。

用量設定根拠：

試験結果：S9mix添加の有無にかかわらず、使用した6菌株全てにおいて による変異体数の増加は認められなかった。一方、薬物代謝酵素系添加時および非添加時の各菌株に対する陽性対照化合物では明瞭な復帰変異体数の増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下では、ブタミホス原体中の不純物である に突然変異性は認められないと結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

の変異原性試験

菌株	S 9 mix	復帰変異体数/プレート								陽性 対照 ⁽¹⁾
		濃度 (μg/プレート)								
		0	5	10	50	100	500	1000	5000	
TA100	-	86	116	104	110	107	0 T)	0 T)	NT	370
		92	92	121	97	107	0 T)	0 T)	NT	415
		(89)	(104)	(113)	(104)	(107)	(0)	(0)		(393)
TA98	-	28	23	20	30	21	16 T)	19 T)	NT	481
		20	27	23	25	34	13 T)	18 T)	NT	495
		(24)	(25)	(22)	(28)	(28)	(15)	(19)		(488)
TA1535	-	25	22	21	25	27	28 T)	26 T)	NT	333
		16	37	25	39	28	27 T)	25 T)	NT	309
		(21)	(30)	(23)	(32)	(28)	(28)	(26)		(321)
TA1537	-	6	8	10	8	11	0 T)	0 T)	NT	1194
		3	10	7	9	5	0 T)	0 T)	NT	1251
		(5)	(9)	(9)	(9)	(8)	(0)	(0)		(1223)
TA1538	-	10	8	7	12	18	15 T)	0 T)	NT	807
		10	8	14	7	17	7 T)	0 T)	NT	689
		(10)	(8)	(11)	(10)	(18)	(11)	(0)		(748)
WP2uvrA	-	22	NT	15	17	15	17	17	26	286
		21	NT	20	20	25	25	19	17	278
		(22)		(18)	(19)	(20)	(21)	(18)	(22)	(282)
TA100	+	82	71	83	74	87	60 T)	0 T)	NT	680
		77	83	71	93	75	85 T)	0 T)	NT	674
		(80)	(77)	(77)	(84)	(81)	(73)	(0)		(677)
TA98	+	39	42	38	41	27	21 T)	20 T)	NT	528
		47	44	41	32	51	32 T)	43 T)	NT	509
		(43)	(43)	(40)	(37)	(39)	(27)	(32)		(519)
TA1535	+	13	14	16	12	9	12 T)	11 T)	NT	148
		11	13	13	13	10	9 T)	14 T)	NT	140
		(12)	(14)	(15)	(13)	(10)	(11)	(13)		(144)
TA1537	+	30	21	27	29	25	8 T)	0 T)	NT	230
		13	21	18	25	18	12 T)	0 T)	NT	196
		(22)	(21)	(23)	(27)	(22)	(10)	(0)		(213)
TA1538	+	20	28	34	27	25	0 T)	0 T)	NT	194
		29	27	30	33	30	0 T)	0 T)	NT	194
		(25)	(28)	(32)	(30)	(28)	(0)	(0)		(194)
WP2uvrA	+	11	NT	18	22	30	19	25	16	384
		26	NT	25	9	24	27	20	25	311
		(19)		(22)	(16)	(27)	(23)	(23)	(21)	(348)

注) 陽性対照化合物: (μg/プレート)

S 9 mix 無添加

TA100	methyl methanesulfonate	200
TA98	2-nitrofluorene	1
TA1535	sodium azide	0.5
TA1537	9-aminoacridine hydrochloride	80
TA1538	2-nitrofluorene	2
WP2uvrA	N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	2

S 9 mix 添加

TA100	benzo (α) pyrene	5
TA98	benzo (α) pyrene	5
TA1535	2-aminoanthracene	2
TA1537	benzo (α) pyrene	5
TA1538	benzo (α) pyrene	5
WP2uvrA	2-aminoanthracene	80

T): 致死作用を示す。 NT: 試験せず。

() 内の数値は2枚のプレートの平均値を示す。

8. プタミホス原体中の の復帰突然変異性試験

(資料 混8)

試験機関：住友化学工業株式会社安全性研究所

報告書作成年：1985年〔GLP対応〕

検 体：

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性 (His-) ネズミチフス菌のヒスチジン非要求性 (His+) への復帰突然変異およびトリプトファン要求性 (Trp-) 大腸菌のトリプトファン非要求性 (Trp+) への復帰突然変異を指標として、 の変異原性の有無を調べた。

用量設定根拠：

試験結果：S9 mix添加の有無にかかわらず、使用した6菌株全てにおいて、5000~10 μ g/プレート の濃度範囲において による変異体数の増加は認められなかった。一方、薬物代謝酵素系添加時および非添加時の各菌株に対する陽性対照化合物では明瞭な変異体数の増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下では、プタミホス原体中の不純物である に突然変異性は無いと結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

の変異原性試験

菌株	S 9 mix	復帰変異体数/プレート							陽性 対照 ⁽¹⁾
		濃 度 (μg/プレート)							
		0	10	50	100	500	1000	5000	
TA100	-	111	98	122	92	91	109	120	377
		109	105	130	114	122	129	108	420
		(110)	(102)	(126)	(103)	(107)	(119)	(114)	(399)
TA98	-	20	17	23	17	15	19	22	284
		20	22	19	30	17	16	11	273
		(20)	(20)	(21)	(24)	(16)	(18)	(17)	(279)
TA1535	-	11	4	11	10	7	10	9	361
		8	9	5	6	8	3	9	377
		(10)	(7)	(8)	(8)	(8)	(7)	(9)	(369)
TA1537	-	13	18	14	13	10	9	17	636
		11	11	9	12	12	10	14	558
		(12)	(15)	(12)	(13)	(11)	(10)	(16)	(597)
TA1538	-	18	14	16	16	8	20	11	790
		16	22	12	11	12	14	12	907
		(17)	(18)	(14)	(14)	(10)	(17)	(12)	(849)
WP2 <u>uvrA</u>	-	26	24	19	14	35	31	22	369
		12	29	21	28	22	29	27	319
		(19)	(27)	(20)	(21)	(29)	(30)	(25)	(344)
TA100	+	98	88	110	76	92	78	80	746
		85	109	99	79	93	85	93	717
		(92)	(99)	(105)	(78)	(93)	(82)	(87)	(732)
TA98	+	45	46	60	43	40	30	33	456
		44	32	54	28	47	39	28	456
		(45)	(39)	(57)	(36)	(44)	(35)	(31)	(456)
TA1535	+	15	15	16	12	9	5	12	144
		8	13	11	12	12	15	10	134
		(12)	(14)	(14)	(12)	(11)	(10)	(11)	(139)
TA1537	+	27	22	22	14	23	24	25	225
		22	25	22	16	21	24	17	181
		(25)	(24)	(22)	(15)	(22)	(24)	(21)	(203)
TA1538	+	30	36	29	34	17	29	32	208
		45	26	24	21	27	31	20	204
		(38)	(31)	(27)	(28)	(22)	(30)	(26)	(206)
WP2 <u>uvrA</u>	+	25	24	39	35	34	23	24	510
		21	29	27	26	23	24	21	481
		(23)	(27)	(33)	(31)	(29)	(24)	(23)	(496)

注) 陽性対照化合物: (μg/プレート)

S 9 mix 無添加

TA100	methyl methanesulfonate	200
TA98	2-nitrofluorene	1
TA1535	sodium azide	0.5
TA1537	9-aminoacridine hydrochloride	80
TA1538	2-nitrofluorene	2
WP2 <u>uvrA</u>	N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	2

S 9 mix 添加

TA100	benzo (α) pyrene	5
TA98	benzo (α) pyrene	5
TA1535	2-aminoanthracene	2
TA1537	benzo (α) pyrene	5
TA1538	benzo (α) pyrene	5
WP2 <u>uvrA</u>	2-aminoanthracene	80

() 内の数値は2枚のプレートの平均値を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

中毒症状としては、流涙、振戦、血涙、流涎および尿失禁が認められた。体重では、より高用量群で増加抑制を示す傾向が認められた。解剖所見では、いずれにおいても異常は認められなかった。

(2) プタミホス50%乳剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 製1-2)

試験機関：株式会社アニマルリサーチ

報告書作成年：1984年

検 体：プタミホス50%乳剤

組 成：プタミホス原体 %

有機溶剤、界面活性剤等 残量

100.0%

供試動物：ICR系マウス、6週齢、体重（平均値±SD）：雄 33 ± 2 g、雌 28 ± 1 g、

1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

試験方法：5段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からLitchfield & Wilcoxon の方法を用いてLD₅₀値を算出した。

投与方法：検体を蒸留水で希釈して10 mL/kgの割合で単回経口投与した。投与前に16時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および死亡を14日間観察した。また、投与後3、5、7および14日に体重を測定した。さらに、死亡動物および試験終了時の生存動物を解剖し、全身の主要組織、器官を肉眼的に観察。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	1038、1350、1755、2282、2966
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：1700 (1440~2006) 雌：1900 (1610~2240)
死亡開始時間 および終了時間	投与後1日以内から開始 投与後3日に終了
症状発現 および消失時間	投与後30分から発現 投与後4日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 <1038
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 1038

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

中毒症状としては沈静化、流涙、振戦、血涙、間代性痙攣および尿失禁などが認められた。体重では、より高用量群で増加抑制を示す傾向が認められた。解剖所見では、いずれにおいても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住友化学株式会社にある。

5000 mg/kgにおいても中毒症状は認められなかった。体重では、雄の5000 mg/kg群において体重増加抑制が認められた。解剖所見ではいずれも異常は見られなかった。

(4) ブタミホス50%乳剤のウサギの皮膚および眼に対する刺激性試験

(資料 製1-4)

試験機関：住友化学工業株式会社 安全性研究所

報告書作成年：1985年

検 体：ブタミホス50%乳剤

組 成：ブタミホス原体

有機溶剤、界面活性剤等 残 量

100 %

試験動物：ニュージーランドホワイト種雌雄ウサギ、体重 2.00~2.92kg

[皮膚に対する刺激性試験]

動物数：1群6匹

観察期間：適用後1週間観察

試験方法：ウサギの背部の毛を約15×15cmの広さに剪毛し、2箇所を適用部位を設け、一方に傷をつけ、これらの部位に、検体0.5mLをリント布(2.5×2.5cm)で4時間閉塞適用した。

観 察：適用4.5、24、48、72時間後および7日後に、Draizeの判定基準により刺激性反応を観察し、一次刺激率の評価を行った。

試験結果：観察した刺激性反応の採点は次頁の表のとおりである。刺激性変化として、無傷および有傷部位とも紅斑および浮腫を認めたが、7日後には全ての変化が消失した。

以上の結果から、ブタミホス 50%乳剤は、ウサギの皮膚に対して、中等度の刺激性ありと判定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

適用 部位	動物 番号	項 目	最高 評点*	暴 露 後 時 間				
				4.5時間	24時間	48時間	72時間	7日
無 傷	1	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	2	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	3	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2	0
		浮腫	4	1	2	2	2	0
	4	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	5	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	6	紅斑・痂皮	4	1	1	1	0	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0
	小計	紅斑・痂皮	24	6	7	7	6	0
		浮腫	24	6	7	6	6	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.0	1.2	1.2	1.0	0	
	浮腫	4	1.0	1.2	1.0	1.0	0	
有 傷	1	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	2	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	3	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2	0
		浮腫	4	1	2	2	2	0
	4	紅斑・痂皮	4	1	2	1	1	0
		浮腫	4	1	2	2	1	0
	5	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	6	紅斑・痂皮	4	1	1	1	0	0
		浮腫	4	1	1	1	0	0
	小計	紅斑・痂皮	24	6	8	7	6	0
		浮腫	24	6	8	8	6	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.0	1.3	1.2	1.0	0	
	浮腫	4	1.0	1.3	1.3	1.0	0	
合 計*	紅斑・痂皮	48	12	15	14	12	0	
	浮腫	48	12	15	14	12	0	
平 均*	紅斑・痂皮	4	1.0	1.3	1.2	1.0	0	
	浮腫	4	1.0	1.3	1.2	1.0	0	

※ 判定基準の最高評点

[眼に対する刺激性試験]

動物数：非洗浄群：1群6匹、洗浄群：1群3匹

観察期間：適用後14日間観察

試験方法：検体0.1mLを一眼に適用し、他眼は対照とした(非洗浄群)。非洗浄群において刺激性が認められたので、適用2分後に1分間、約300mLの微温湯にて洗浄する群(洗浄群)を設けて試験した。

観察：非洗浄群では適用1、24、48、72時間後および7日後、洗浄群ではさらに2週間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化をDraizeの判定基準により観察した。Kay and Calandraの方法で刺激性の評価を行った。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

刺激性反応として、結膜潮紅および結膜浮腫、虹彩充血、角膜混濁、眼脂分泌などがみられたが、非洗眼群は7日後、洗浄群では14日後、全ての局所反応は消失した。

以上の結果から、ブタミホス50%乳剤は、ウサギの眼に対して、非洗眼群、洗眼群とも中等度の刺激性ありと判定され、洗浄効果は認めなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

項 目			最高 評点*	適用後時間						
				1時間	24時間	48時間	72時間	7日	14日	
井 洗 淨 群	動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	1	0	—
			面積	4	0	3	1	1	0	—
		虹 彩		2	1	1	1	0	0	—
		結膜	潮紅	3	2	2	2	1	0	—
			浮腫	4	2	2	1	1	0	—
			眼脂	3	0	3	1	0	0	—
	動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	1	0	—
			面積	4	0	2	2	1	0	—
		虹 彩		2	1	1	1	0	0	—
		結膜	潮紅	3	2	2	1	1	0	—
			浮腫	4	1	1	1	1	0	—
			眼脂	3	0	2	1	0	0	—
	動物 番号 3	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	1	0	—
			面積	4	0	4	2	2	0	—
		虹 彩		2	1	1	1	0	0	—
		結膜	潮紅	3	1	2	1	1	0	—
			浮腫	4	1	2	1	1	0	—
			眼脂	3	0	2	0	0	0	—
	動物 番号 4	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	1	0	—
			面積	4	0	2	2	1	0	—
		虹 彩		2	0	1	0	0	0	—
		結膜	潮紅	3	1	2	2	1	0	—
			浮腫	4	1	2	1	1	0	—
			眼脂	3	0	2	1	0	0	—
動物 番号 5	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	1	0	—	
		面積	4	0	3	3	3	0	—	
	虹 彩		2	1	1	1	1	0	—	
	結膜	潮紅	3	1	2	2	2	0	—	
		浮腫	4	1	2	1	1	0	—	
		眼脂	3	0	2	2	1	0	—	
動物 番号 6	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	1	0	—	
		面積	4	0	2	1	1	0	—	
	虹 彩		2	1	1	1	0	0	—	
	結膜	潮紅	3	1	2	1	0	0	—	
		浮腫	4	1	1	1	0	0	—	
		眼脂	3	0	2	0	0	0	—	
合 計*			660	55	180	120	74	0	—	
平 均			110	9.2	30.0	20.0	12.3	0	—	
洗 淨 群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	1.0	1.0	1.0	0.3	0	
		面積	4	0	4.0	3.7	3.0	0.3	0	
	虹 彩		2	1.0	1.0	0.7	0.3	0	0	
	結膜	潮紅	3	1.3	2.0	1.3	1.0	0	0	
		浮腫	4	1.3	1.3	0.7	0.7	0	0	
		眼脂	3	0	2.7	0.7	0.3	0	0	
	合 計*			110	10.3	37.0	27.0	20.7	1.7	0

※ 判定基準の最高評点 * Draize法による評価点 (最高110点/匹)

(5) プタミホス50%乳剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 製1-5)

試験機関：住友化学工業株式会社 安全性研究所

報告書作成年：1985年

検 体：プタミホス50%乳剤

組 成：プタミホス原体

有機溶剤、界面活性剤等 残 量

100 %

試験動物：ハートレー系雄性モルモット、体重302~395 g、1群10匹

観察期間：感作開始後30日間観察

試験方法：Buehler法

投与量設定根拠：

感作：モルモットの腹側部を剪毛し、検体0.5 mL、一方、陽性対照群として、2,4-ジニトロクロルベンゼン(DNCB)アセトン溶液0.5 mLをリント布(1.5×1.5インチ)に含ませたものを、6時間閉塞貼付し、週1回で計3回適用した。

誘発：最終感作の2週間後に感作時と同様の方法で行った。

観察：誘発24時間後及び48時間後に、貼付部位の皮膚反応を紅斑と浮腫に分けて以下の4段階に区分し、感作群と非感作群について評点の有意差検定(Mann-WhitneyのU-検定、 $p < 0.05$)を行い、感作性の有無を判定した。

0：変化なし

1：境界不明瞭(軽度)な反応

2：境界明瞭(中等度)な反応

3：高度な反応

試験結果：評価の結果を次頁の表に示す。検体感作群では、感作期間中、各感作の24及び48時間後のいずれにも、紅斑及び浮腫の皮膚反応は認められず、また誘発後24及び48時間における皮膚反応も、陰性の結果であった。

一方、陽性対照のDNCB感作群では、2回目の感作の24時間後の観察において、軽度の紅斑がみられ、3回目の感作の24時間後には軽度の紅斑及び浮腫を認めた。誘発において、DNCB感作群の24及び48時間後の皮膚反応は、軽度ないし中等度の紅斑及び浮腫を示したが、非感作群にDNCBを貼付した場合には皮膚反応を認めず、DNCBは皮膚感作性陽性を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

以上の結果より、ブタミホス50%乳剤はBuehler法において皮膚感作性なしと判定された。

群		供試動物数	感作反応動物数							陽性率 (%)						
			皮膚反応	24時間後				計	48時間後				24時間	48時間		
				皮膚反応評点					皮膚反応評点							
感作	誘発	0	1	2	3	0	1	2	3	24時間	48時間					
検体	100% 検体	100% 検体	10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	
			10	浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	
		100% 検体	10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	
			10	浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	
陽性 対照	0.5% DNCB	0.5% DNCB	10	紅斑	0	7	3	0	10/10	7/10	3	7	0	0	100	70
			10	浮腫	0	9	1	0	10/10	7/10	6	4	0	0		
		0.5% DNCB	10	紅斑	10	0	0	0	0/10	0/10	10	0	0	0	0	0
			10	浮腫	10	0	0	0	0/10	0/10	10	0	0	0	0	0

2. プタミホス 80%乳剤

(1) プタミホス 80%乳剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製2-1)

試験機関：Inveresk Research International Limited

報告書作成年：1995年 [GLP対応]

検 体：プタミホス 80%乳剤

組 成：プタミホス原体； %

有機溶剤、界面活性剤等；残量

供試動物：SD系ラット、6~8週齢、体重：雄 157~185g、雌 126~164g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

試験方法：5段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からプロビットモデルに最尤法を適用してLD₅₀値を算出した。死亡が2群以下のみで発現した場合は、Berksonの方法によりデータを調整してLD₅₀値を算出した。

投与方法：脱イオン水に溶解あるいは懸濁した検体を 10 mL/kg の割合単回経口投与した。投与前には一晩絶食した。

観察・検査項目：一般状態および生死を毎日観察し、体重は投与直前、投与後7日および死亡時あるいは観察期間終了時に測定した。死亡時ならびに投与後14日の観察期間終了時に剖検を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	250, 500, 750, 1000, 1500
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：703 ^{a)} 雌：760 (478~1011)
死亡開始時間 および終了時間	投与後1日から開始 投与後1日に終了
症状発現 および消失時間	投与後30分から発現 投与後4日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共：<250
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共：500

a) :Barksonの方法を用いたため95%信頼限界は算出できなかった。

一般症状として立毛、被毛の汚れ、眼の発赤、鼻部の分泌液、運動失調、行動抑制、腹臥、流涎量及び尿量の増加、振戦、円背位、呼吸困難ならびに外陰部周辺の湿潤化が認められた。

剖検所見では異常は認められず、体重増加量は正常であった。

(2) ブタミホス 80%乳剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 製2-2)

試験機関：Inveresk Research International Limited

報告書作成年：1995年 [GLP対応]

検 体：ブタミホス 80%乳剤

組 成：ブタミホス原体； %

有機溶剤、界面活性剤等；残量

供試動物：SD系マウス、5~7週齢、体重；雄 23~27g、雌 18~24g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

試験方法：5段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からプロビットモデルに最尤法を適用してLD₅₀値を算出した。死亡が2群以下のみで発現した場合は、Berksonの方法によりデータを調整してLD₅₀値を算出した。

投与方法：脱イオン水に溶解した検体を、10 mL/kgの割合単回経口投与した。投与前には3時間絶食した。

観察・検査項目：一般症状および生死を毎日観察し、体重は投与直前、投与後7日および死亡時あるいは観察期間終了時に測定した。死亡時ならびに投与後14日の観察期間終了時に、各動物を剖検に供した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	500, 1000, 1500, 2000, 2500
LD ₅₀ (mg/kg) ^{b)} (95%信頼限界)	雄：1959 (1328~7817) 雌：790 ^{a)}
死亡開始時間 および終了時間 ^{b)}	投与後2時間から開始 投与後4時間に終了
症状発現 および消失時間	投与後30分から発現 投与後4日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共：<500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) ^{b)}	雌雄共：500

a) :Barksonの方法を用いたため95%信頼限界は算出できなかった。

b) :切迫殺を含む。また、500 mg/kg群の雄1例の死亡は誤投与によるものであるためこれらの算出に含めない。

一般症状として立毛、活動量低下、水様/白色の眼分泌物、外皮眼、運動失調、行動抑制、腹臥、円背位、呼吸困難、流涎量増加、振戦、舌咬合、痙攣及び排

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

尿量増加が認められた。

剖検所見では検体投与に起因すると考えられる変化は認められず、体重増加量は正常であった。

(3) ブタミホス 80%乳剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (限界試験)

(資料 製2-3)

試験機関: Inveresk Research International Limited

報告書作成年: 1995年 [GLP対応]

検 体: ブタミホス 80%乳剤

組 成: ブタミホス原体; %

有機溶剤, 界面活性剤等; 残量

供試動物: SD系ラット, 8~10週齢, 体重; 雄 248~288g, 雌 224~244g, 1群雌雄各5匹

観察期間: 14日間

投与方法: 検体をそのままの状態、蒸留水にて湿らせたガーゼ (5cm×5cm) に均一に塗布した後、投与前日に刈毛したラットの背部皮膚に単回経皮投与した。投与部位は非刺激性閉塞テープで巻き、24時間後にガーゼを除去し、水で湿らせたガーゼで余分な検体を拭き取った。

観察・検査項目: 一般症状および生死を毎日観察し、体重は投与前直前、投与後7日および14日に測定した。投与後14日の観察期間終了時に各動物を剖検に供した。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共: >2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	発現: ♂♀: 30分後 消失: ♂♀: 2日後
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共: <2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共: 2000

一般症状として鼻部の赤色分泌物及び立毛のみが認められた。

肉眼的剖検では、胸骨の突出が1例の動物に認められたのみであった。

体重増加量は正常範囲内であった。

(4) プタミホス 80%乳剤のウサギにおける皮膚に対する一次刺激性試験

(資料 製2-4)

試験機関：Inveresk Research International Limited

報告書作成年：1995年 [GLP対応]

検 体：プタミホス 80%乳剤

組 成：プタミホス原体； %

有機溶剤、界面活性剤等；残量

試験動物：ニュージーランド白色種雄性若齢ウサギ、体重 2.09kg~2.30kg、1群6匹)

観察期間：検体除去後 14 日間観察

試験方法：ウサギの背部を剪毛し、その無傷の皮膚に、検体 0.5 mL を適用し、ガーゼパッチ (2.5cm×2.5cm) で覆って 4 時間保持した。適用後皮膚に付着した検体を濡れティッシュで拭き取ったのち、経時的に観察した。

観 察：検体除去 1、24、48 及び 72 時間後に局所を観察した。皮膚の反応は Draize らの方法に従って点数化した。反応の可逆性を評価するため、検体除去 4、7、9、11 及び 14 日後についても皮膚反応を観察した。

試験結果：Draize らの判定基準による局所反応の評点は以下の通りであった。

動物番号	項 目	最高評点*	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
301	紅斑・痂皮形成	4	1	1	1	1
	浮 腫	4	0	0	0	0
302	紅斑・痂皮形成	4	2	2	1	1
	浮 腫	4	0	1	0	0
303	紅斑・痂皮形成	4	2	1	1	1
	浮 腫	4	1	0	0	0
304	紅斑・痂皮形成	4	1	1	1	1
	浮 腫	4	0	0	0	0
305	紅斑・痂皮形成	4	1	1	1	2
	浮 腫	4	1	0	0	1
306	紅斑・痂皮形成	4	2	1	1	1
	浮 腫	4	1	1	0	0
合 計	紅斑・痂皮形成	24	9	7	6	7
	浮 腫	24	3	2	0	1
平 均	紅斑・痂皮形成	4	1.5	1.2	1	1.2
	浮 腫	4	0.5	0.3	0	0.2

※ 判定基準の最高評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

動物番号	項目	最高評点※	暴露後時間				
			4日	7日	9日	11日	14日
301	紅斑・痂皮形成	4	1	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
302	紅斑・痂皮形成	4	1	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
303	紅斑・痂皮形成	4	1	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
304	紅斑・痂皮形成	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
305	紅斑・痂皮形成	4	2	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
306	紅斑・痂皮形成	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮形成	24	7	3	3	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮形成	4	1.2	0.5	0.5	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0

※ 判定基準の最高評点

刺激性の徴候が6例全例の動物に認められた。検体除去1時間後から4日後までに中等度の紅斑が認められ、9日後まで軽度の紅斑が引き続き認められた。しかしながらこの刺激反応は11日後には消失した。検体除去1時間後から72時間後に浮腫及び中等度の刺激が認められた場合があったが、いずれも軽度かつ一過性であった。なお、落屑も検体除去7日後、11日後に認められた。

以上の結果より、ブタミホス 80%乳剤はウサギの皮膚に対して、僅かな刺激性ありと判定した。

(5) プタミホス 80%乳剤のウサギにおける眼に対する一次刺激性試験

(資料 製2-5)

試験機関：Inveresk Research International Limited

報告書作成年：1995年 [GLP対応]

検 体：プタミホス 80%乳剤

組 成：プタミホス原体； %

有機溶剤、界面活性剤等；残量

試験動物：ニュージーランド白色種雄性若齢ウサギ、

非洗眼群：1群6匹、洗眼群：1群3匹

観察期間：適用後4日間観察

試験方法：検体 0.1 mL を、ウサギの右眼の下脣を眼球から離し袋状のかたちを作り適用し、経時的に観察した（非洗眼群）。

また、同様に検体を適用し、適用 2~3 分後に約 100 mL の蒸留水で洗った後、経時的に観察した洗眼群を設けた。いずれも他眼は対照とした。

観 察：非洗眼群および洗眼群とも、被験物質適用 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩および結膜を観察し、眼の局所反応を測定した。

試験結果：Draize らの判定基準による局所反応の評点は以下の通りであった

項目			最高 評点*	適用後時間								
				30分	1時間	4時間	24時間	48時間	72時間	4日間		
非 洗 群	動物 番号 404	角 膜	程度	4	0	0	0	0	0	0	0	—
		混 濁	面積	4	0	0	0	0	0	0	0	—
		虹 彩		2	1	0	0	0	0	0	0	—
	結 膜	潮紅		3	1	1	1	1	1	0	0	—
		浮腫		4	1	1	1	1	0	0	0	—
		眼脂分泌		3	2	1	2	0	1	0	0	—
浄 群	動物 番号 405	角 膜	程度	4	0	0	0	0	0	0	0	—
		混 濁	面積	4	0	0	0	0	0	0	0	—
		虹 彩		2	0	0	0	1	0	0	0	—
	結 膜	潮紅		3	1	1	1	2	0	0	0	—
		浮腫		4	0	1	2	2	0	0	0	—
		眼脂分泌		3	2	1	2	2	0	0	0	—

※ 判定基準の最高評点 —：観察終了

項目			最高 評点*	適用後時間							
				30分	1時間	4時間	24時間	48時間	72時間	4日間	
非 洗 淨 群	動物 番号 406	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	1	0	0	0
		結膜	潮紅	3	1	1	1	2	1	1	0
			浮腫	4	1	1	1	2	0	0	0
			眼脂分泌	3	2	2	2	1	0	0	0
	動物 番号 407	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	—
			面積	4	0	0	0	0	0	0	—
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	—
		結膜	潮紅	3	1	1	1	1	0	0	—
			浮腫	4	1	1	1	0	0	0	—
			眼脂分泌	3	2	1	2	0	0	0	—
動物 番号 408	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	—	
		面積	4	0	0	0	0	0	0	—	
	虹彩		2	0	0	0	1	0	0	—	
	結膜	潮紅	3	1	1	1	2	1	0	—	
		浮腫	4	0	1	2	0	0	0	—	
		眼脂分泌	3	2	2	2	1	0	0	—	
動物 番号 409	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	—	
		面積	4	0	0	0	0	0	0	—	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	—	
	結膜	潮紅	3	1	1	1	1	0	0	—	
		浮腫	4	0	1	1	0	0	0	—	
		眼脂分泌	3	2	1	2	0	0	0	—	
合計*			660	47	40	52	51	8	2	0	
平均			110	7.8	6.7	8.7	8.5	1.3	0.3	0.0	
洗 淨 群 (3匹 平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	—	
		面積	4	0	0	0	0	0	0	—	
	虹彩		2	0.3	0	0	0	0	0	—	
	結膜	潮紅	3	1	1	1	1	0.7	0	—	
		浮腫	4	0.3	1	1.7	0	0	0	—	
		眼脂分泌	3	2	1.3	2	0	0	0	—	
合計*			110	8.4	6.7	9.3	2	1.3	0	—	

※ 判定基準の最高評点 — : 観察終了

* Draize 法による評価点(最高 110 点/匹)

検体を適用直後、全ての動物は身もだえ動作及び処置眼に対し身づくろい動作を示した。この動作は刺激の影響を示している。

非洗眼群：適用 30 分後に軽度の虹彩炎（評点 1）、軽度の結膜発赤（評点 1）および結膜浮腫（評点 1）を認めた。適用 4 時間後には中等度の結膜浮腫（評点 2）が認められ、結膜の分泌物（評点 1～2）が全ての処置眼に認められた。さらに、適用 24 時間後には軽度から中等度の結膜発赤（評点 2）が認められた。これらの局所反応は徐々に軽減し、虹彩炎と結膜浮腫は 48 時間以内に、結膜の分泌物は 72 時間以内に、結膜発赤は 4 日目で完全に回復していた。

洗眼群：適用 30 分後に軽度の虹彩炎（評点 1）、軽度の結膜浮腫（評点 1）および結膜の分泌物（評点 1～2）を認め、適用 1 時間後には軽度の結膜発赤（評点 1）が認められた。適用 4 時間後には軽度から中等度の結膜浮腫（評点 2）が認められた。これらの局所反応は徐々に軽減し、虹彩炎は 1 時間以内に、結膜の浮腫と分泌物は 24 時間以内に、結膜発赤は 72 時間以内に回復していた。洗眼により刺激反応の強さが軽減し、回復までの期間が短縮した。

以上の結果より、ブタミホス 80%乳剤はウサギの眼に対して、僅かな刺激性ありと判定した。洗浄効果は認められた。

(6) ブタミホス 80%乳剤のモルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料 製2-6)

試験機関: Inveresk Research International Limited

報告書作成年: 1995年 [GLP対応]

検 体: ブタミホス 80%乳剤

組 成: ブタミホス原体; %

有機溶剤、界面活性剤等; 残量

試験動物: ハートレー系雌性モルモット、体重 352g~459g、1群 10~20匹

観察期間: 感作開始後 30日間観察

試験方法: Buehler 法

検体は脱イオン水で所定濃度に希釈した。

投与量設定根拠:

感作; パッチ (2.5cm×2.5cm) に 0.5 mL の検体を含ませて剃毛した背中に置き、6時間閉塞する適用を週1回、3週連続で行った。初回、2回目は100%濃度を適用したが、2回目感作後に中等度から強度の刺激性が認められたため、3回目は75%濃度の検体を適用した。非感作群は検体の代わりに溶媒である脱イオン水を用いて同様に処置した。

惹起; 検体感作群及び非感作群とも最終感作の2週間後に、剃毛したモルモットの背部 (5cm×5cm) に検体 50%液を含ませたパッチを感作と同じ方法で6時間閉塞適用し、惹起した。

陽性対照; 試験実施機関で6箇月に1回実施している 2-Mercaptothiazole (MBT) を用いた陽性対照試験 (1994年6月2日終了) の結果を引用した。

観察; 惹起 24 及び 48 時間後に適用部位における局所反応の強さを以下の評価点に従って点数化した。体重は試験開始時と終了時に記録し、一般状態は毎日観察した。

0: 肉眼的に変化なし

1: 軽度又はまだらな紅斑

2: 中等度又は融合性の紅斑

3: 強度の紅斑及び又は浮腫

試験結果：観察した皮膚感作性反応は以下の通りであった。

群	供試動物数	感作物質	惹起物質	感作反応動物数						陽性率 (%)					
				24 時間			計	48 時間			計	24 時間	48 時間		
				皮膚反応評点				皮膚反応評点							
				0	1	2	3	0	1	2	3				
検 体	19 ^{a)}	次及び一次: 100%検体 三次:75%検体	脱イオン水	19	0	0	0	0/19	19	0	0	0	0/19	0	0
			50%検体	19	0	0	0	0/19	19	0	0	0	0/19	0	0
	20	脱イオン水	脱イオン水	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
			50%検体	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
陽 性 対 照	20	75%MBT	トクロロン油	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
			75%MBT	11	7	2	0	9/20	15	5	0	0	5/20	45	25
	10	トクロロン油	トクロロン油	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
			75%MBT	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0

a) 2 回目の感作のパッチ除去時に 1 例に足の障害が見られたため安楽死させた

50%濃度の検体で惹起した後、検体感作群、非感作群では陽性反応は認められなかった。体重増加量は正常範囲内であった。試験期間中に処置によって生じた皮膚反応以外には一般状態の異常は認められなかった。

以上のように、ブタミホス 80%乳剤の感作群では皮膚反応を認めなかったことから、本試験条件 D (Buehler 法) では皮膚感作性なしと判定した。

3. プタミホス40%水和剤

(1) プタミホス40%水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製3-1)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター

報告書作成年：1988年（GLP対応）

検 体：プタミホス40%水和剤

組 成：プタミホス原体 _____ %

_____ 鋳物質微粉、界面活性剤等 _____ 残量

100.0%

供試動物：SD系ラット、7週齢、1群雌雄各5匹、体重：雄232～256g、雌142～178g

観察期間：14日間

試験方法：溶媒対照群を含めて6段階（雄）あるいは8（雌）段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からProbit法を用いてLD₅₀値を算出した。

投与方法：検体を蒸留水で懸濁して20 mL/kgの割合で単回経口投与した。投与前には約16時間絶食し、対照群には蒸留水のみを同様に経口投与した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を毎日観察し、投与直前、投与後1、2、3、7、10、14日目および死亡動物発見時に体重を測定した。途中死亡動物および観察期間終了時に生存していた全ての動物を肉眼的に剖検した。

結果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	0、1000 (雌のみ)、1300 (雌のみ)、1800、2300、3000、3800、5000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	♂：2759 (2324～3285) ♀：1529 (1223～1916)
死亡開始時間 および終了時間	投与後1日から開始投与後5日に終了
症状発現 および消失時間	投与後5分から発現 投与後5日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：<1800 雌：<1000
死亡例の認められなかった 最大投与量 (mg/kg)	雄：1800 雌：1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

各投与群において中毒症状が発現した。主たる中毒症状として、流涎、自発運動の低下あるいは腹臥位、粗毛、振顫、呼吸数の減少および深大、眼球突出、ならびに流涙あるいは血涙が認められた。

体重については投与全群で投与後2あるいは3日までに減少あるいは増加抑制がみられたが、以後回復した。剖検所見では、途中死亡動物の腺胃部に暗赤色斑がみられ胃内に暗赤色液の貯留が認められたが、生存動物では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住友化学株式会社にある。

各投与群において中毒症状が発現した。主たる中毒症状として、自発運動の減少、腹臥位、異常歩行、眼瞼下垂、流涙、流涎、振顫あるいは間代性痙攣および呼吸数の減少と深大が認められた。

体重については、投与全群で投与後1あるいは3日までに増加抑制あるいは減少がみられたが、以後回復した。

剖検所見では、途中死亡動物の腺胃部に暗赤色斑がみられ、胃および小腸内に暗赤色液の貯留が認められたが、生存動物では異常は認められなかった。

(4) ブタミホス40%水和剤のウサギの皮膚に対する刺激性試験

(資料 製3-4)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター

報告書作成年：1988年(GLP対応)

検 体：ブタミホス40%水和剤

組 成：ブタミホス原体 _____ %
 鉱物質微粉、界面活性剤等 _____ 残 量
 100 %

試験動物：日本白色種雄性ウサギ、14週令、体重：2.50~2.69kg、1群6匹

観察期間：検体除去後72時間観察

試験方法：ウサギの背部を刈毛し、正中線をはさんで片側1/2に検体0.5gをリント布(2.5 × 2.5cm)にのせ、同量の蒸留水で湿らせて貼布し、1時間閉塞適用した。
 残りのリント布を取り除き適用部位を清拭した。

観 察：検体除去の1、24、48および72時間後にDraizeの判定基準により刺激性反応を観察し、
 一次刺激率の評価を行った。

試験結果：観察した刺激性反応の採点は下表のとおりである。

動物 番号	項 目	最高 評点*	暴 露 後 時 間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

※ 判定基準の最高評点

いずれの観察時期においても刺激性反応は認められず、皮膚一次刺激指数は0であった。

以上の結果から、ブタミホス40%水和剤はウサギの皮膚に対して刺激性はないと結論された。

(5) プタミホス40%水和剤のウサギの眼に対する刺激性試験

(資料 製3-5)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター

報告書作成年：1988年(G.I.P対応)

検 体：プタミホス40%水和剤

組 成：プタミホス原体 %

鉱物質微粉、界面活性剤等 残 量

100 %

試験動物：日本白色種雄性ウサギ、14週令、体重：2.51~2.93kg、非洗浄群：1群6匹、
洗浄群：1群3匹

観察期間：適用後5日間観察

試験方法：検体0.1gを片眼に適用し、他眼は対照とした(非洗浄群)。また、同様に適用し、適用2
~3分後に200mLの微温湯にて洗浄する群(洗浄群)を設けた。

観 察：非洗浄群、洗浄群共、適用1、24、48、72時間後、4日および5日後に角膜、虹彩、結
膜の刺激性変化を農水省の基準に従って点数化した。角膜混濁及び虹彩の評点1以上、
結膜発赤及び浮腫の評点2以上を陽性反応とした。

試験結果：観察した刺激性変化の評点は次頁の表のとおりである。

非洗浄群では、適用1時間あるいは24時間後に全例で虹彩の充血、結膜の発赤および腫
脹が、6例中5例に角膜の混濁が認められたが、日数の経過とともに軽減または消失し、
適用5日後にはいずれの症状も観察されなかった。

洗浄群では適用1時間後に全例で結膜の腫脹が認められたが、24時間後には回復してい
た。

以上の結果から、プタミホス40%水和剤は、ウサギの眼に対して刺激性ありと判定され、明らかな
洗浄効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

項目		最高 評点*	適用後時間						
			1時間	24時間	48時間	72時間	4日	5日	
非 洗 淨 群	動物 番号 1	角膜混濁	4	0	1	1	0	0	0
		虹彩	2	0	1	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	1	1	0	0	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜混濁	4	0	1	1	0	0	0
		虹彩	2	0	1	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	1	1	0	0	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0
	動物 番号 3	角膜混濁	4	0	1	1	0	0	0
		虹彩	2	0	1	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	0	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0
	動物 番号 4	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0
		虹彩	2	0	1	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	1	1	1	0	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0
	動物 番号 5	角膜混濁	4	0	1	1	1	0	0
		虹彩	2	0	1	0	0	0	0
結膜	発赤	3	0	2	1	1	1	0	
	浮腫	4	1	1	1	0	0	0	
動物 番号 6	角膜混濁	4	0	1	1	0	0	0	
	虹彩	2	0	1	0	0	0	0	
結膜	発赤	3	0	1	1	1	1	0	
	浮腫	4	0	1	0	0	0	0	
合計		78	6	24	12	5	2	0	
平均		13	1.0	4.0	2.0	0.8	0.3	0	
洗淨群 (3匹平均)	角膜混濁		4	0	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	1.0	0	0	0	0	
	合計		13	1.0	0	0	0	0	

※ 判定基準の最高評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

誘発；皮内投与21日後に全動物の左右側胴部を5×5cmの広さに刈毛及び剃毛し、直径2.5 cmのパッチに25%被験液または0.01%DNCBオリーブ油溶液0.1 mLを塗布して左側胴部に、またそれらの溶媒0.1 mLを塗布して右側胴部に固定して、24時間閉塞貼付した。

観察：誘発（貼付）24、48及び72時間後に皮膚反応を観察し、Magnusson & Kligmanの評価表に従って判定した。

試験結果：評価の結果は次頁の表のとおりである。

陽性対照であるDNCBの感作群で、誘発（貼付）後24、48及び72時間の観察において全例に中等度ないし強度の紅斑及び浮腫、10例中2例に痂皮形成が認められ陽性率は100%であった。

しかしDNCBの非感作群及び検体の感作群、非感作群では、いずれも全例の皮膚に変化は認められず、溶媒でも影響は認められなかった。

以上の結果から、ブタミホス40%水和剤には皮膚感作性はないと結論された。

群	供試動物数	感作反応動物数												陽性率 (%)					
		24時間後			48時間後			72時間後			24時間	48時間	72時間						
		皮膚反応評点			皮膚反応評点			皮膚反応評点			計	計	計						
		0	1	2 3	0	1	2 3	0	1	2 3									
感作	惹起																		
一次: 1%検体 二次: 25%検体	25%検体	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
-	25%検体	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
一次: 0.1% DNCB 二次: 1%DNCB	0.01% DNCB	10	0	0	0	10/10	0	0	6	4	10/10	0	0	7	3	10/10	100	100	100
-	0.01% DNCB	10	10	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0
検体																			
陽性対照																			

4. プタミホス5%粒剤

(1) プタミホス5%粒剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製4-1)

試験機関：株式会社アニマルリサーチ

報告書作成年：1984年

検 体：プタミホス5%粒剤

組 成：プタミホス原体 %

鉱物質微粉、界面活性剤等 残 量

100.0%

供試動物：Wistar系ラット、6週齢、体重（平均値±SD）：雄184±9 g、雌136±4 g、
1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

試験方法：2段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からLD₅₀値を求めた。

投与方法：検体を蒸留水で懸濁して7.5 mL/kgの割合で単回投与した。投与前に16時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および死亡を14日間観察した。また、投与後3、5、7および14日に体重を測定した。さらに、死亡動物および試験終了時の生存動物を解剖し、全身の主要組織、器官を肉眼的に観察した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2500、5000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄雌共 >5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現 および消失時間	中毒症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：5000 雌：2500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

5000 mg/kgにおいても中毒症状は認められなかった。体重では、雌の5000 mg/kg群において体重増加抑制が認められた。解剖所見ではいずれにおいても異常は見られなかった。

(2) ブタミホス5%粒剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 製4-2)

試験機関：株式会社アニマルリサーチ

報告書作成年：1984年

検 体：ブタミホス5%粒剤

組 成：ブタミホス原体 %

鋳物質微粉、界面活性剤等 残 量

100.0%

供試動物：ICR系マウス、6週齢、体重（平均値±SD）：雄 28 ± 2 g、雌 25 ± 1 g、

1群雌雄各10匹

観察期間：14日間観察

試験方法：2段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からLD₅₀値を求めた。

投与方法：検体を蒸留水で懸濁して20 mL/kgの割合（0.2 mLを15分間隔で2～3回投与）で単回経口投与した。投与前に16時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および死亡を14日間観察した。また、投与後3、5、7および14日に体重を測定した。さらに、死亡動物および試験終了時の生存動物を解剖し、全身の主要組織、器官を肉眼的に観察した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2500、5000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現 および消失時間	中毒症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

5000 mg/kgにおいても中毒症状は認められず、体重にも異常はなかった。
また、解剖所見でも異常は見られなかった。

(3) ブタミホス5%粒剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製4-3)

試験機関：株式会社アニマルリサーチ

報告書作成年：1984年

検 体：ブタミホス5%粒剤

組 成：ブタミホス原体 %

鋳物質微粉、界面活性剤等 残 量

100.0%

供試動物：Wistar系ラット、6週齢、体重（平均値±SD）：雄187±7 g、雌139±5 g、

1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

投与方法：蒸留水で懸濁した検体を4×5 cmの範囲で刈毛した動物の背中央部に7.5 mL/kgの割合で単回経皮投与した。塗布はドライヤーで乾燥させながら行い、1回の塗布量は0.3~0.4 mLとして2~数回に分けて行った。投与部位はガーゼで閉塞し、塗布後24時間に中性洗剤で検体を拭き取った。

観察・検査項目：中毒症状および死亡を14日間観察した。また、投与後3、5、7および14日に体重を測定した。さらに、死亡動物および試験終了時の生存動物を解剖し、全身の主要組織、器官を肉眼的に観察した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2500、5000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現および 消失時間	中毒症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

5000mg/kgにおいても中毒症状は認められず、体重にも異常はなかった。また、解剖所見でも異常は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

適用 部位	動物 番号	項 目	最高 評点※	暴 露 後 時 間			
				0.5 時間	24 時間	48 時間	72 時間
正 常	1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	小計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
		浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	
	浮腫	4	0	0	0	0	
創 傷	1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	小計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
		浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	
	浮腫	4	0	0	0	0	
合 計*	紅斑・痂皮	48	0	0	0	0	
	浮腫	48	0	0	0	0	
平 均*	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	
	浮腫	4	0	0	0	0	

※ 判定基準の最高評点

〔眼に対する刺激性試験〕

動物数：非洗浄群：1群6匹（雌雄各3匹）、洗浄群：1群3匹（雄2匹、雌1匹）

観察期間：適用後96時間観察

試験方法：検体を乳鉢ですりつぶし、その0.1gをウサギ6匹の片方の眼に適用し、他眼は対照とした（非洗浄群）。また、他の3匹の眼に同様に適用した後、その適用眼を2分後に約1分間300mlの微温湯で洗浄した（洗浄群）。

観察：適用1、24、48、72および96時間後に観察し、刺激反応はDraizeの判定基準に従い点数化して記録した。刺激度の評価はKay and Calandraの方法に従って行った。

試験結果：観察した刺激反応の評点は次頁の表の通りである。

非洗浄群では、1時間後、全例に結膜潮紅（強さ1）、結膜浮腫（強さ1ないし2）、2例に虹彩充血（強さ1）を認めた。24時間後、結膜浮腫は4例に強さ1を認めたのみであったが、他の所見は変わらず、さらに5例に角膜混濁（強さ1、広さ1ないし2）、3例に眼脂分泌（強さ1）が認められた。これらの反応はその後徐々に軽減し、96時間後には全て消失した。

洗浄群では、1時間後、全例に結膜潮紅及び結膜浮腫（いずれも強さ1）、2例に虹彩充血（強さ1）を認めたが、それらは48時間後には消失した。

以上の結果から、ブタミホス7%粒剤の局所反応の最大値は、非洗浄群では11.0、洗浄群では7.3であり、本製剤はウサギの眼に対して軽度の刺激性を示すと判定されたが、洗浄群では極く軽度の刺激性を示すと判定され、洗浄効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

項 目			最高 評点 [※]	適用後時間 (時間)						
				1	24	48	72	96		
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	0	1	0	0	0	
			面積	4	0	1	0	0	0	
		虹 彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	潮紅	3	1	1	0	0	0	
			浮腫	4	1	1	0	0	0	
			眼脂分泌	3	0	1	0	0	0	
	動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	潮紅	3	1	1	0	0	0	
			浮腫	4	1	0	0	0	0	
			眼脂分泌	3	0	0	0	0	0	
	動物 番号 3	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	1	0	
			面積	4	0	1	1	1	0	
		虹 彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	潮紅	3	1	1	1	0	0	
			浮腫	4	2	1	0	0	0	
			眼脂分泌	3	0	0	0	0	0	
	動物 番号 4	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0	
			面積	4	0	1	1	0	0	
		虹 彩			2	0	1	0	0	0
		結膜	潮紅	3	1	1	1	0	0	
			浮腫	4	1	1	0	0	0	
			眼脂分泌	3	0	1	0	0	0	
動物 番号 5	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0		
		面積	4	0	2	1	0	0		
	虹 彩			2	1	1	0	0	0	
	結膜	潮紅	3	1	1	1	0	0		
		浮腫	4	1	1	1	0	0		
		眼脂分泌	3	0	1	1	0	0		
動物 番号 6	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0		
		面積	4	0	1	1	0	0		
	虹 彩			2	1	0	0	0	0	
	結膜	潮紅	3	1	1	0	0	0		
		浮腫	4	2	0	0	0	0		
		眼脂分泌	3	0	0	0	0	0		
合 計			660	38	66	30	5	0		
平 均			110	6.3	11.0	5.0	0.8	0.0		
洗 眼 群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	—		
		面積	4	0	0	0	0	—		
	虹 彩			2	0.7	0	0	—		
	結膜	潮紅	3	1.0	0.3	0	0	—		
		浮腫	4	1.0	0	0	0	—		
		眼脂分泌	3	0	0	0	0	—		
合 計			110	7.3	0.7	0	0			

※ 判定基準の最高評点
— : 検査しなかった。

* Draize法による評価点 (最高110点/匹)

2：境界明瞭（中等度）な反応

3：高度な反応

試験結果：感作期間中の観察では、検体感作群にはなんら皮膚反応は認められなかった。

一方、DNCB感作群では2回目の感作後に軽度ないし中等度の紅斑及び軽度の浮腫が認められ、最終感作後には軽度ないし強度の紅斑及び浮腫が観察された。

惹起後に観察された皮膚感作性反応は下表の通りである。

	群		供試動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)				
	感作	誘発		皮膚反応	24時間後				計	48時間後				24時間	48時間	
					皮膚反応評点					皮膚反応評点						
				0	1	2	3									
検体	100%検体	100%検体	10	紅斑	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
				浮腫	10	0	0	0		10	0	0	0			
	-	100%検体	10	紅斑	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
				浮腫	10	0	0	0		10	0	0	0			
陽性対照	1%DNCB	0.5%DNCB	5	紅斑	0	1	4	0	5/5	0	5	0	0	5/5	100	100
				浮腫	0	3	2	0		2	3	0	0			
	-	0.5%DNCB	5	紅斑	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0
				浮腫	5	0	0	0		5	0	0	0			

検体感作群では非感作群と同様に皮膚反応は認められなかった。一方、陽性対照DNCB感作群では軽度から中等度の紅斑及び浮腫が認められ、明らかな陽性反応を示した。DNCB非感作群では皮膚反応は認められなかった。

体重においては各群とも順調な増加を示した。

以上の結果から、ブタミホス7%粒剤は、本試験条件下において、皮膚感作性はないと結論した。