

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に及ぼす影響

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)	LC ₅₀ 又はEC ₅₀ 値(mg/L) 〔()内は有効成分換算値〕				試験機関 (報告年)	記載頁
						24h	48h	72h	96h		
1 GLP	魚類急性毒性試験 原体()	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	10	止水	22.1~ 22.3	11.4 [#]	10.6 [#]	10.6 [#]	10.6 [#]		VI-4
2 GLP	シロコ類急性遊泳 阻害試験 原体()	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)	20	止水	20.0~ 20.1	0.000359 [#] ()	0.000243 [#] ()				VI-6
3 GLP	ヌズビ急性毒性試験 原体()	ミナミヌマエビ (<i>Neocaridina denticulata</i>)	10	半止水	23.0~ 23.5	0.0432 [#]	0.0213 [#]	0.0164 [#]	0.0154 [#]		VI-7
4 GLP	ヌズビ急性毒性試験 原体()	ニッポンヨコエビ (<i>Gammarus nipponensis</i>)	20	半止水	22.4~ 23.2	>0.0100 [#]	0.00872 [#]	0.00691 [#]	0.00476 [#]		VI-9
5 GLP	ユシカ幼虫急性毒性試験 原体()	セスジユスリカ (<i>Chironomus yoshimatsui</i>)	10	止水	23.1~ 23.8	1.79 [#]	0.767 [#]				VI-11
6 GLP	藻類生長阻害試験 原体()	緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 10 ⁴ cell/mL	振とう 培養法	23.0~ 23.1	ErC ₅₀ : (0-72h) 14.4*() NOECr: 0.66*()					VI-12
7 GLP	シロコ類繁殖試験 原体()	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)	10	半止水	20.0~ 20.1	21日間 EC ₅₀ : 0.000191*() NOEC: 0.000050*() LOEC: 0.0001*()					VI-13
8 GLP	魚類急性毒性試験 乳剤(40%)	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	10	止水	22.1~ 22.4				17.2		VI-15
9 GLP	シロコ類急性遊泳 阻害試験 乳剤(40%)	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)	20	止水	20.0		0.000934				VI-16
10 GLP	藻類生長阻害試験 乳剤(40%)	緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 10 ⁴ cell/mL	振とう 培養法	21.9~ 22.0	ErC ₅₀ : (0-72h) 31.7 NOECr: 4.90					VI-17
11 GLP	魚類急性毒性試験 粒剤(3%)	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	10	半止水	22.8~ 23.3	463	463	335	335		VI-18
12 GLP	シロコ類急性遊泳 阻害試験 粒剤(3%)	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)	20	止水	20.0~ 20.1	0.0342	0.0199				VI-19
13 GLP	藻類生長阻害試験 粒剤(3%)	緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 10 ⁴ cell/mL	振とう 培養法	23.2~ 24.1	ErC ₅₀ : (0-72h) 334 NOECr: 37.0					VI-20

: 試験液中平均実測濃度から算出 * : 設定濃度から算出
* : 試験結果は設定濃度を有効成分換算値で補正して試験結果である。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

No.	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群当り の供試数	試験 方法	試験 水温 (°C)	LC ₅₀ 又はEC ₅₀ 値(mg/L) 〔()内は有効成分換算値〕				試験機関 (報告年)	記載 頁
						24h	48h	72h	96h		
14	魚類急性毒性試験 GLP 粒剤(5%)	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	10	半止水	22.9~ 23.2	244	197	197	197		VI-21
15	シジコ類急性遊泳 阻害試験 GLP 粒剤(5%)	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)	20	止水	20.2~ 20.5	0.0245	0.0115				VI-22
16	藻類生長阻害試験 GLP 粒剤(5%)	緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 10 ⁶ cell/mL	振とう 培養法	22.8~ 23.5	ErC ₅₀ : (0-72h) 308 NOECr: 20.5					VI-23
17	魚類急性毒性試験 GLP 粒剤(10%)	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	10	半止水	22.7~ 23.2	166	123	118	109		VI-24
18	シジコ類急性遊泳 阻害試験 GLP 粒剤(10%)	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)	20	止水	19.8~ 20.1	0.0168	0.00684				VI-25
19	藻類生長阻害試験 GLP 粒剤(10%)	緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 10 ⁶ cell/mL	振とう 培養法	22.0~ 23.1	ErC ₅₀ : (0-72h) 100 NOECr: 6.51					VI-26
20	魚類急性毒性試験 GLP MC剤(25%)	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	10	半止水	22.0~ 22.9	>1000	>1000	>1000	>1000		VI-27
21	シジコ類急性遊泳 阻害試験 GLP MC剤(25%)	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)	20	止水	19.7~ 19.8	0.00565	0.00153				VI-28
22	藻類生長阻害試験 GLP MC剤(25%)	緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 10 ⁶ cell/mL	振とう 培養法	21.5~ 22.0	ErC ₅₀ : (0-72h) 65.4 NOECr: 12.4					VI-29
23	魚類急性毒性試験 GLP EW剤(40%)	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	10	半止水	22.1~ 23.9	35.1	28.4	27.2	26.1		VI-30
24	シジコ類急性遊泳 阻害試験 GLP EW剤(40%)	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)	20	止水	19.9~ 20.0	0.00255	0.00133				VI-31
25	藻類生長阻害試験 GLP EW剤(40%)	緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 10 ¹ cell/mL	振とう 培養法	21.5~ 22.0	ErC ₅₀ : (0-72h) >1000 NOECr: 1.00					VI-32

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

No.	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群当り の供試数	試験 方法	試験 水温 (℃)	LC ₅₀ 又はEC ₅₀ 値(mg/L) 〔()内は有効成分換算値〕				試験機関 (報告年)	記載 頁
						24h	48h	72h	96h		
26 GLP	魚類急性毒性試験 水和剤(34%)	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	10	半止水	22.3~ 23.6	25.9	25.2	25.2	25.2		VI-33
27 GLP	シロコ類急性遊泳 阻害試験 水和剤(34%)	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)	20	止水	19.8~ 20.2	0.00482	0.00349				VI-34
28 GLP	藻類生長阻害試験 水和剤(34%)	緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 10 ⁴ cell/mL	振とう 培養法	21.5~ 22.0	ErC ₅₀ : (0-72h) 15.6 NOECr : 1.44					VI-35

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(1) 原体

1) 魚類急性毒性試験

(資料 1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

(修正書報告年)

被験物質：ダイアジノン原体(純度)

供試生物：コイ(学名 *Cyprinus carpio*)

一群各10尾，体長：2.7~3.8 cm(平均 3.3 cm)

体重：0.45~2.12 g(平均 0.87 g)

試験に用いたものと同バッチのコイの硫酸銅による急性LC₅₀値は0.22 mg/L

方 法：暴露条件 止水条件下、96時間暴露
試験開始24時間前から暴露期間終了まで給餌は行わなかった。

試験水温 22.1~22.3℃

試験容器 10 L容ガラス水槽

試験液量 報告書に記載なし

明/暗周期 14/10時間

試験液の調製 試験容器に所定量の被験物質を添加し、活性炭ろ過および石灰石カラム通過後、曝気した希釈水を規定量まで加えて、よく混合した。試験期間中の試験液のpHは8.4~8.6であり、酸素飽和度は81~94%であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果 :

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	1.25, 2.50, 5.00, 10.0, 20.0	
	測定濃度(時間加重平均)	1.03, 2.12, 4.26, 8.44, 19.9	
	測定平均(時間加重%)	82.3, 85.0, 85.1, 84.4, 99.5	
	測定濃度(幾何平均)	1.04, 2.14, 4.29, 8.51, 19.9	
	測定平均(幾何平均%)	83.1, 85.6, 85.9, 85.1, 99.5	
LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	時間加重平均	11.4 [9.15~14.7]
		幾何平均	11.4 [9.21~14.7]
	48 h 72 h 96 h	時間加重平均	10.6 [8.44~13.8]
		幾何平均	10.6 [8.49~13.9]
NOEC (mg/L)	24 h	時間加重平均値 : 4.26 幾何平均値 : 4.29	
	48 h		
	72 h		
	96 h		
死亡例の認められなかった 最高濃度 (mg/L)	24 h	時間加重平均値 : 4.26 幾何平均値 : 4.29	
	48 h		
	72 h		
	96 h		

試験液中の被験物質の実測濃度は各設定濃度/各時間で70.4~100%であった。
したがって、影響濃度は平均実測濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 2)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

(修正書報告年)

被験物質：ダイアジノン原体(純度)

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)

試験に用いたものと同クローンのニクロム酸カリウムに対する感受性のバックグラウンドデータ(年8月28日～12月4日)：EC₅₀=0.90～1.04 mg/Lであった。

方 法：暴露条件 止水条件下、48時間暴露

試験中は給餌および曝気を行わなかった。

試験水温 20.0～20.1℃

試験容器 60 mL容ガラスビーカー、5頭/ビーカーの4連制/群

試験液量 50 mL/1連

明/暗周期 16/8時間

試験液の調製 各被験物質濃度について、目盛り付きガラス容器に入れた希釈水に所定量の被験物質を溶解した。調製した試験液から化学分析用試料を採取して、試験ビーカーに入れた。その後、ミジンコを直接導入した。試験期間中の試験液のpHは7.9～8.6、酸素飽和度は92～98%であった。

結 果：

試験濃度 (ng/L)	設定濃度	30.0, 60.0, 120, 240, 480, 960	
	実測濃度(平均)	59.8, 79.0, 125, 225, 419, 831	
EC ₅₀ (ng/L) [95%信頼限界]	24 h	359 () [300～429]	
	48 h	243 () [204～289]	
NOEC (ng/L)	125 ()		

()内は有効成分換算値 24hのEC₅₀及びNOECは申請者にて算出した有効成分換算値である

試験液中の被験物質の平均実測濃度は各設定濃度の86.6～199%であった。したがって、影響濃度は平均実測濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3) ヌマエビ急性毒性試験

(資料 3)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン原体(純度)

供試生物：ミナミヌマエビ(学名 *Neocaridina denticulata*)

一群各10匹、全長：2.1±0.29 cm、体重：0.095±0.050 g

試験に用いたものと同系のミナミヌマエビのニクロム酸カリウムによる96時間 LC₅₀値は1.26 mg/Lであった。

成体と形態的に異なる段階のもので、未抱卵の個体を用いた。

方 法：暴露条件 半止水条件下(48時間後に換水)、96時間暴露
暴露期間中、給餌は行わなかった。

試験水温 23.0～23.5℃

試験容器 3 L容のガラス製容器

試験液量 約2.5 L/試験区

明/暗周期 16/8時間

試験液の調製 被験物質と試験用水を混合後、約30分間攪拌して溶解し、10.0 mg/Lの試験原液(有効成分純度に補正)を調製した。調製容器にて必要量の試験原液と試験用水を混合後、攪拌して試験液を調製した。

暴露期間中の試験液のpHは6.8～7.7であり、溶存酸素濃度は5.1～8.8 mg/Lであった。

結 果

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0, 0.00460, 0.00875, 0.0166, 0.0316, 0.0600			
	実測濃度(平均)	n. d., 0.00438, 0.00838, 0.0165, 0.0305, 0.0601			
LC ₅₀ (mg/L) ^a [95%信頼限界]	24 h	0.0432 [0.0303～0.0886]			
	48 h	0.0213 [0.0157～0.0290]			
	72 h	0.0164 [0.0121～0.0223]			
	96 h	0.0154 [0.0112～0.0212]			
NOEC (mg/L)	0.00460				

^a：試験結果は有効成分に補正した試験結果である。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

暴露期間中の症状としては、平衡喪失、体色明化、体色赤化、嗜眠状態、活性度の低下の症状が観察された。0.00460および0.0166 mg/L区において脱皮個体が若干数認められた。対照区では症状を認めなかった。

試験液中の被験物質濃度の測定結果は、暴露開始時は0.00489、0.00831、0.0158、0.0316、0.0645 mg/L(設定濃度の94.9~107%)、48時間換水前は0.00396、0.00785、0.0173、0.0288、0.0560 mg/L(設定濃度の86.1~104%)、48時間換水後は0.00482、0.00961、0.0180、0.0332 mg/L(設定濃度の105~110%)、暴露終了時は0.00393、0.00788、0.0152、0.0286 mg/L(設定濃度の85.5~91.5%)であり、平均実測濃度は各設定濃度の95.1~100%であった。したがって、影響濃度は設定濃度に基づいて求めた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

4) ヨコエビ急性毒性試験

(資料 4)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン原体(純度)

供試生物：ニッポンヨコエビ(学名 *Gammarus nipponensis*)

一群各20匹(10匹/試験容器、2連)、外寸：0.39±0.037 cm、

体重：0.0048 g

試験に用いたものと同系のニッポンヨコエビの二クロム酸カリウムによる96時間LC₅₀値は0.172 mg/Lであった。

方 法：暴露条件 半止水条件下(48時間後に換水)、96時間暴露
暴露期間中、給餌は行わなかった。

試験水温 22.4~23.2℃

試験容器 1 L容のガラス製容器

試験液量 2 L/試験区(1 L/試験容器、2連)

明/暗周期 16/8時間

試験液の調製 被験物質と試験用水を混合後、約30分間攪拌して溶解し、10.0 mg/Lの試験原液(有効成分純度に補正)を調製した。調製容器にて必要量の試験原液と試験用水を混合後、攪拌して試験液を調製した。

暴露期間中の試験液のpHは7.4~7.7であり、溶存酸素濃度は7.4~8.5 mg/Lであった。

結 果

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0, 0.00198, 0.00296, 0.00444, 0.00667, 0.0100	
	実測濃度(平均)	n. d., 0.00188, 0.00263, 0.00411, 0.00616, 0.00936	
LC ₅₀ (mg/L) ^a [95%信頼限界]	24 h	>0.0100 [—]	
	48 h	0.00872 [0.00791~0.00956]	
	72 h	0.00691 [0.00621~0.00776]	
	96 h	0.00476 [0.00425~0.00533]	
NOEC (mg/L)	0.00198		

^a：試験結果は有効成分に補正した試験結果である。

—：求められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

暴露期間中の症状としては、体色明化、嗜眠状態および活性度の低下が観察された。0.00667 mg/L区において脱皮個体が若干数認められた。対照区では症状を認めなかった。

試験液中の被験物質濃度の測定結果は、暴露開始時は0.00209、0.00255、0.00417、0.00611、0.00922 mg/L(設定濃度の86.0～106%)、48時間換水前は0.00163、0.00252、0.00382、0.00632、0.00847 mg/L(設定濃度の82.2～94.7%)、48時間換水後は0.00218、0.00286、0.00444、0.00644、0.0101 mg/L(設定濃度の96.6～110%)、暴露終了時は0.00167、0.00260、0.00404、0.00578、0.00970* mg/L(設定濃度の84.5～97.0%)であり、平均実測濃度は各設定濃度の88.8～94.8%であった。したがって、影響濃度は設定濃度に基づいて求めた。

* : 供試全個体死亡確認時の値である

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

5) ユスリカ幼虫急性毒性試験

(資料 5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン原体(純度)

供試生物：セスジユスリカ(学名 *Chironomus yoshimatsui*)

一群各10匹(5匹/試験容器、2連)、2～3虫齢の幼虫、

試験に用いたものと同系のセスジユスリカの二クロム酸カリウムによる48時間 LC₅₀値は136 mg/Lであった。

方法：暴露条件 止水条件下、48時間暴露
暴露期間中、給餌は行わなかった。

試験水温 23.1～23.8℃

試験容器 500 mL容のガラス製容器

試験液量 1 L/試験区(500 mL/試験容器、2連)

明/暗周期 16/8時間

試験液の調製 被験物質と試験用水を混合後、約30分間攪拌して溶解し、10.0 mg/Lの試験原液(有効成分純度に補正)を調製した。調製容器にて必要量の試験原液と試験用水を混合後、攪拌して試験液を調製した。

暴露期間中の試験液のpHは7.4～7.6であり、溶存酸素濃度は7.9～8.5 mg/Lであった。

結果

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0, 0.0102, 0.0569, 0.319, 1.79, 10.0	
	実測濃度(平均)	n. d., 0.0102, 0.0589, 0.319, 1.80, 9.82	
LC ₅₀ (mg/L) ^a [95%信頼限界]	24 h	1.79 [—]	
	48 h	0.767 [0.199～5.27]	
NOEC (mg/L)	0.0102		

^a：試験結果は有効成分に補正した試験結果である。

—：求められなかった。

暴露期間中の症状としては、体の萎縮、退色および活動度の低下が観察された。

対照区では症状を認めなかった。

試験液中の被験物質濃度の測定結果は、暴露開始時は0.00999、0.0639、0.330、1.84、9.54 mg/L(設定濃度の95.4～112%)、暴露終了時は0.0104、0.0543、0.309、1.77、10.1 mg/L(設定濃度の95.5～102%)であり、平均実測濃度は各設定濃度の98.2～104%であった。したがって、影響濃度は設定濃度に基づいて求めた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

6) 藻類生長阻害試験

(資料 6)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

(修正書報告年)

被験物質：ダイアジノン原体(純度)

供試生物：緑藻(学名 *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*))

初期濃度 1×10^4 cells/mL

硫酸亜鉛を用いたバックグラウンドデータは、 E_0C_{50} が $41.2 \mu\text{g/L}$ 、 E_rC_{50} が $68.3 \mu\text{g/L}$ であり、亜鉛イオンに対する公知の E_0C_{50} 値の範囲内($45.0 \sim 65.4 \mu\text{g/L}$)にあった。

方 法：培養条件 照度3965~4003 lux、無菌条件下で、振盪培養した。

試験期間中の試験液のpHは8.35~8.59であった。

培養温度 23.0~23.1°C

試験容器 250 mL容ガラス三角フラスコ+シリコンスポンジ蓋

各濃度当たり、3反復(対照は6反復)

試験液量 100 mL/1連

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.21, 0.66, 2.09, 6.63, 20.9
	実測濃度(平均)	0.20, 0.61, 1.91, 5.72, 19.4
E_rC_{50} (mg/L) [95%信頼限界]		(0h~72h) 14.4 [8.76-23.2] ([])
NOEC _r (mg/L)		0.66 ()

()内は有効成分換算値

試験液中の被験物質濃度の測定結果は試験開始時は0.20, 0.61, 1.90, 5.67, 20.0 mg/L(設定濃度89.6%~100%)および試験終了時は0.20, 0.60, 1.92, 5.77, 18.8 mg/L(設定濃度91.2%~100%)であった。暴露期間中の被験物質平均濃度は90.4~100%であったため、影響濃度は設定濃度に基づき、プロビット法を用いて影響濃度を算出した。

また、ANOVA検定、次いでDunnettの検定によって、NOECを算出した。試験開始時および終了時の鏡検では、いずれの群においても形態的な変化は認められなかった。生長阻害の増大に伴い、細胞破片の増加が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

7) ミジンコ類繁殖試験

(資料 7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン原体(純度)

供試生物：オオミジンコ(学名 *Daphnia magna*)、一群各10頭(生後24時間以内の個体)

試験に用いたものと同クローンのニクロム酸カリウムに対する感受性のバックグラウンドデータ(2003年8月28日～12月4日)： EC_{50} = 0.90～1.04 mg/Lであった。

方 法：暴露条件	半止水条件下、21日間暴露 週に3回、新たに所定濃度に調製した試験水を入れた新たなビーカーにミジンコを移して、試験水の交換を行った。 試験中、ミジンコには単細胞藻類 (<i>Scenedesmus subspicatus</i>) の懸濁液を給餌した。および曝気を行わなかった。
試験水温	20.0～20.1℃
試験容器	60 mL容ガラスビーカー、1頭/ビーカーの10連制/群
試験液量	50 mL/1連
明/暗周期	16/8時間
試験液の調製	各被験物質濃度について、目盛り付きガラス容器に入れた希釈水に所定量の被験物質を溶解した。調製した試験液から化学分析用試料を採取して、試験ビーカーに入れた。その後、ミジンコを直接導入した。試験期間中の試験液のpHは7.8～9.2、酸素飽和度は90～102%であった。
観察	週3回、各ビーカーの新生ミジンコを数え、状態の異常を記録した。 繁殖試験では、遊泳阻害、第一産仔までの時間、生存雌当り幼体数(遊泳阻害及び生存別)を評価した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果：

試験濃度* ¹ (ng/L)		設定濃度		12.5	25.0	50.0	100	200
		実測濃度(平均)		27.1	29.2	49.0	111	203
動物数		10	10	10	10	10	10	10
親	遊泳阻害数	0	0	0	1	1		
	遊泳阻害率(%)	0	0	0	10	10		
	1頭当り平均累積産仔数	62.4	59.0	57.0	40.3	32.7		
	当初の産仔までの日数	9.5	9.3	9.1	10.1	10.4		
EC ₅₀ (ng/L) [95%信頼限界]		191 [136~399] ()						
LOEC (ng/L)		100 ()						
NOEC (ng/L)		50 ()						

*¹：各値は被験物質の設定濃度に基づく値

()内は申請者にて算出した有効成分換算値である

対照区では定量限界付近で被験物質による軽度の汚染が認められたが、試験中、遊泳阻害は認められず、親ミジンコ1頭が産出した平均累積生存産仔数は64.3頭であったことから有効性基準に合致した。NOECおよび影響濃度の判定に関連した平均実測濃度は設定濃度の98~117%であったため、影響濃度は設定濃度に基づいた。親ミジンコの遊泳阻害は100および200ng/Lで21日後に1頭ずつ認められた。有意な影響が認められない被験物質の最高濃度(NOEC)は50ng/L、EC₅₀(累積産仔)は191ng/L(95%信頼限界:136~399ng/L)であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(2) 製剤

8) 魚類急性毒性試験

(資料 8)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン40%乳剤(ダイアジノン乳剤40、有効成分：40.8%)

供試生物：コイ(学名 *Cyprinus carpio*)

一群各10尾，体長：2.8~3.9 cm(平均 3.5 cm)，

体重：0.41~1.84 g(平均 1.01 g)

方法：暴露条件 止水条件下、96時間暴露
試験開始24時間前から暴露期間終了まで給餌は行わなかった。
試験水温 22.1~22.4℃
試験容器 10 L容ガラス水槽
試験液量 報告書に記載なし
明/暗周期 14/10時間
試験液の調製 試験容器に所定量の被験物質を添加し、活性炭ろ過および石灰石カラム通過後、曝気した希釈水を規定量まで加えて、よく混合した。
試験期間中の試験液のpHは8.4~8.6であり、酸素飽和度は85~93%であった。

結果：	試験濃度 (mg/L)	3.75, 7.50, 15.0, 30.0, 60.0	
	LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	96 h	17.2 [12.2~24.2]
	NOEC (mg/L)	7.50	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

9) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 9)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン40%乳剤(ダイアジノン乳剤40、有効成分：40.8%)

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)

試験に用いたものと同クローンのニクロム酸カリウムに対する感受性のバックグラウンドデータ(2003年8月28日~12月4日)： $EC_{50} = 0.90 \sim 1.04$ mg/Lであった。

方法：暴露条件 止水条件下、48時間暴露
試験中は給餌および曝気を行わなかった。
試験水温 20℃
試験容器 60 mL容ガラスビーカー、5頭/ビーカーの4連制/群
試験液量 50 mL/1連
明/暗周期 16/8時間
試験液の調製 各被験物質濃度について、容積測定用ガラス容器に入れた希釈水に所定量の被験物質を溶解した。調製した試験液を試験ビーカーに入れた。その後、ミジンコを直接導入した。試験期間中の試験液のpHは7.9~8.6、酸素飽和度は88~97%、照度は746~786 luxであった。

結果：

試験濃度 (ng/L)	156, 313, 625, 1250, 2500	
EC_{50} (ng/L) [95%信頼限界]	48 h	934 [758~1150]
NOEC (ng/L)	313	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。

NOECはWilliams検定を用いて判定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

10) 藻類生長阻害試験

(資料 10)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン40%乳剤(ダイアジノン乳剤40、有効成分：40.8%)

供試生物：緑藻(学名 *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*))

初期濃度 1×10^4 cells/mL

硫酸亜鉛を用いたバックグラウンドデータは、 $E_h C_{50}$ が41.2 $\mu\text{g/L}$ 、 $E_r C_{50}$ が68.3 $\mu\text{g/L}$ であり、亜鉛イオンに対する公知の $E_h C_{50}$ 値の範囲内(45.0~65.4 $\mu\text{g/L}$)にあった。

方 法：培養条件 照度3297~4123 lux、無菌条件下で、振盪培養した。
試験期間中の試験液のpHは7.40~7.90であった。
培養温度 21.9~22.0°C
試験容器 250 mL容ガラス三角フラスコ+シリコンスポンジ蓋
各濃度当たり、3反復(対照は6反復)
試験液量 100 mL/1連

結 果：

試験濃度 (mg/L)	0.49, 1.55, 4.90, 15.5, 49.0 (0.20, 0.63, 2.00, 6.32, 20.0)
$E_r C_{50}$ (mg/L) [95%信頼限界]	(0h~72h) 31.7 [29.7~34.0]
NOECr (mg/L)	4.90

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。
また、ANOVA検定、次いでDunnettの検定によって、NOECを算出した。
試験開始時および終了時の鏡検では、いずれの群においても形態的な変化は認められなかった。生長阻害の増大に伴い、細胞破片の増加が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

11) 魚類急性毒性試験

(資料 11)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン3%粒剤(ダイアジノン粒剤3、有効成分：3.29 W/W%)

供試生物：コイ(学名 *Cyprinus carpio*)

一群各10尾，体長：5.5±0.17 cm，体重：1.7±0.18 g

試験系の再現性を確認するため実施(4月3日～4月7日)した硫酸銅(II)五水和物に対する96時間LC₅₀は0.111 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.0668～0.313 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.190±0.062 mg/L (n=33)]。

方法：暴露条件 半止水条件下(48時間後に換水)、96時間暴露
暴露期間中、給餌は行わなかった。
試験水温 22.8～23.3℃
試験容器 50 L容ガラス製水槽
試験液量 50 L
明/暗周期 16/8時間
試験液の調製 必要量の被験物質と試験用水を試験容器で混合、攪拌して調製した。
試験期間中の試験液のpHは7.4～7.9であり、溶存酸素濃度は7.3～8.6 mg/Lであった。

結果：

試験濃度 (mg/L)	30.5, 122, 195, 313, 500	
LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	463 [380～730]
	48 h	463 [380～730]
	72 h	335 [274～413]
	96 h	335 [274～413]
NOEC (mg/L)	30.5	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。

12) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 12)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン3%粒剤(ダイアジノン粒剤3、有効成分：3.29 W/W%)

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

試験系の再現性を確認するため実施(8月1日~8月3日)したニクロム酸カリウムに対する48時間EC₅₀は0.200 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.120~0.351 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.235±0.058 mg/L(n=55)]。

方 法：暴露条件 止水条件下、48時間暴露
 暴露期間中は給餌および曝気を行わなかった。
 試験水温 20.0~20.1℃
 試験容器 100 mLガラスビーカー、5頭/ビーカーの4連制/群
 試験液量 100 mL/1連
 明/暗周期 16/8時間
 試験液の調製 必要量の被験物質を秤量し、試験用水と混合後、約1時間攪拌して100 mg/Lの元試験原液を調製した。この元試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験用水と混合、攪拌して1.00 mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験容器に入れた試験用水に添加後、攪拌し試験液を調製した。試験期間中の試験液のpHは7.6~7.8、溶存酸素濃度は8.4~8.7 mg/Lであった。

結 果：	試験濃度 (mg/L)	0.0130, 0.0182, 0.0255, 0.0357, 0.0500	
	EC ₅₀ (mg/L)	24 h	0.0342 [—]
	[95%信頼限界]	48 h	0.0199 [0.0182~0.0255]
	NOEC (mg/L)	0.0130	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、Binomial法を用いて算出した。
 NOECは暴露期間中、対照群と比較して何ら影響が認められない試験最高濃度区とした。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

13) 藻類生長阻害試験

(資料 13)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン 3% 粒剤 (ダイアジノン粒剤 3、有効成分：3.29 W/W%)

供試生物：緑藻 (学名 *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*))

初期濃度 1×10^4 cells/mL

試験系の再現性を確認するため実施 (8月7日～8月10日) した二クロム酸カリウムに対する $E_b C_{50}$ (0-72h) および $E_r C_{50}$ (0-72h) はそれぞれ 0.547 mg/L および 1.10 mg/L であった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内 (平均 $\pm 2 \times$ 標準偏差：0.406～0.890 mg/L 及び 0.949～1.49 mg/L) であった [平均 \pm 標準偏差はそれぞれ 0.648 \pm 0.121 mg/L および 1.22 \pm 0.14 mg/L (n=5)]。

方法：培養条件 光強度を 60～120 $\mu E/m^2$ とする連続照明、無菌条件下で、振盪培養した。試験液の pH は暴露開始時 7.9～8.6、暴露終了時 8.2～8.5 であった。

培養温度 暴露開始時 23.2～24.1°C、暴露終了時 23.2～24.0°C

試験容器 500 mL 容ガラス三角フラスコ、通気性のシリコセン付
各濃度当たり 3 連制

試験液量 100 mL/1 連

結果：

試験濃度 (mg/L)	4.12, 12.3, 37.0, 111, 333, 1000
$E_r C_{50}$ (mg/L) [95%信頼限界]	(0h～72h) 334 [313～357]
NOECr (mg/L)	37.0

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき算出した。

細胞観察結果では、1000 および 333 mg/L 区ではやや多く、111 mg/L 区ではわずかの細胞が膨張していた。その他の濃度区では対照群と同様であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

14) 魚類急性毒性試験

(資料 14)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン5%粒剤(ダイアジノン粒剤5、有効成分：5.26%)

供試生物：コイ(学名 *Cyprinus carpio*)

一群各10尾，体長：5.5±0.17 cm，体重：1.6±0.23 g

試験系の再現性を確認するため実施(4月3日～4月7日)した硫酸銅(Ⅱ)五水和物に対する96時間LC₅₀は0.111 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.0668～0.313 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.190±0.062 mg/L (n=33)]。

方法：暴露条件 半止水条件下(48時間後に換水)、96時間暴露
暴露期間中、給餌は行わなかった。
試験水温 22.9～23.2℃
試験容器 50 L容ガラス製水槽
試験液量 50 L
明/暗周期 16/8時間
試験液の調製 必要量の被験物質と試験用水を試験容器で混合、攪拌して調製した。
試験期間中の試験液のpHは7.2～7.9であり、溶存酸素濃度は7.2～8.6 mg/Lであった。

結果：

試験濃度 (mg/L)	19.5, 97.7, 156, 250, 400	
LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	244 [156～400]
	48 h	197 [167～234]
	72 h	197 [167～234]
	96 h	197 [167～234]
NOEC (mg/L)	19.5	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

15) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 15)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン5%粒剤(ダイアジノン粒剤5、有効成分：5.26 W/W%)

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

試験系の再現性を確認するため実施(8月1日~8月3日)したニクロム酸カリウムに対する48時間EC₅₀は0.200 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.120~0.351 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.235±0.058 mg/L(n=55)]。

方法：暴露条件 止水条件下、48時間暴露
暴露期間中は給餌および曝気を行わなかった。
試験水温 20.2~20.5℃
試験容器 100 mLガラスビーカー、5頭/ビーカーの4連制/群
試験液量 100 mL/1連
明/暗周期 16/8時間
試験液の調製 必要量の被験物質を秤量し、試験用水と混合後、約1時間攪拌して100 mg/Lの元試験原液を調製した。この元試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験用水と混合、攪拌して1.00 mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験容器に入れた試験用水に添加後、攪拌し試験液を調製した。試験期間中の試験液のpHは7.6~7.9、溶存酸素濃度は8.3~8.5 mg/Lであった。

結果：	試験濃度 (mg/L)	0.00651, 0.00911, 0.0128, 0.0179, 0.0250	
	EC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	0.0245 [—]
		48 h	0.0115 [0.0104~0.0126]
	NOEC (mg/L)	0.00651	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。
NOECは暴露期間中、対照群と比較して何ら影響が認められない試験最高濃度区とした。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

16) 藻類生長阻害試験

(資料 16)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン5%粒剤(ダイアジノン粒剤5、有効成分：5.26 W/W%)

供試生物：緑藻(学名 *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*))

初期濃度 1×10^4 cells/mL

試験系の再現性を確認するため実施(8月7日~8月10日)した二クロム酸カリウムに対する $E_r C_{50}$ (0-72h)および $E_r C_{50}$ (0-72h)はそれぞれ0.547 mg/Lおよび1.10 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均 $\pm 2 \times$ 標準偏差：0.406~0.890 mg/L及び0.949~1.49 mg/L)であった[平均 \pm 標準偏差はそれぞれ0.648 \pm 0.121 mg/Lおよび1.22 \pm 0.14 mg/L (n=5)]。

方 法：培養条件 光強度を60~120 $\mu E/m^2$ とする連続照明、無菌条件下で、振盪培養した。試験液のpHは暴露開始時7.8~8.5、暴露終了時8.1~8.2であった。

培養温度 暴露開始時23.0~23.5 $^{\circ}C$ 、暴露終了時22.8~23.3 $^{\circ}C$

試験容器 500 mL容ガラス三角フラスコ、通気性のシリコセン付
各濃度当たり3連制

試験液量 100 mL/1連

結 果：

試験濃度 (mg/L)	20.5, 51.2, 128, 320, 800
$E_r C_{50}$ (mg/L) [95%信頼限界]	(0h~72h) 308 [241~395]
NOECr (mg/L)	20.5

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき算出した。

細胞観察結果では、800および320 mg/L区において極わずかに凝集している細胞が観察された。その他の濃度区では対照群と同様であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

17) 魚類急性毒性試験

(資料 17)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン10%粒剤(ダイアジノン粒剤10、有効成分：10.42%)

供試生物：コイ(学名 *Cyprinus carpio*)

一群各10尾，体長：5.4±0.31 cm，体重：1.8±0.25 g

試験系の再現性を確認するため実施(4月3日～4月7日)した硫酸銅(II)五水和物に対する96時間LC₅₀は0.111 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.0668～0.313 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.190±0.062 mg/L (n=33)]。

方法：暴露条件 半止水条件下(48時間後に換水)、96時間暴露
暴露期間中、給餌を行わなかった。
試験水温 22.7～23.2℃
試験容器 50 L容ガラス製水槽
試験液量 50 L
明/暗周期 16/8時間
試験液の調製 必要量の被験物質と試験用水を試験容器で混合、攪拌して調製した。
試験期間中の試験液のpHは7.2～7.7であり、溶存酸素濃度は6.8～8.5 mg/Lであった。

結果：

試験濃度 (mg/L)	9.84, 61.0, 97.7, 156, 250	
LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	166 [97.7～250]
	48 h	123 [104～146]
	72 h	118 [97.7～156]
	96 h	109 [61.0～156]
NOEC (mg/L)	9.84	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、Binomial法およびプロビット法を用いて算出した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

18) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 18)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン10%粒剤(ダイアジノン粒剤10、有効成分：10.42%)

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

試験系の再現性を確認するため実施(8月1日～8月3日)したニクロム酸カリウムに対する48時間EC₅₀は0.200 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.120～0.351 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.235±0.058 mg/L(n=55)]。

方 法：暴露条件 止水条件下、48時間暴露
暴露期間中、給餌は行わなかった。
試験水温 19.8～20.1℃
試験容器 100 mL容ガラスビーカー、5頭/ビーカーの4連制/群
試験液量 100 mL/1連
明/暗周期 16/8時間
試験液の調製 必要量の被験物質を秤量し、試験用水と混合後、約1時間攪拌して100 mg/Lの元試験原液を調製した。この元試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験用水と混合、攪拌して1.00 mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験容器に入れた試験用水に添加後、攪拌し試験液を調製した。試験期間中の試験液のpHは7.6～7.8、溶存酸素濃度は8.3～8.6 mg/Lであった。

結 果：

試験濃度 (mg/L)	0.00395, 0.00593, 0.00889, 0.0133, 0.0200	
EC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	0.0168 [0.0133～0.0200]
	48 h	0.00684 [0.00593～0.0889]
NOEC (mg/L)	0.00395	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、Binomial法を用いて算出した。
NOECは暴露期間中、対照群と比較して何ら影響が認められない試験最高濃度区とした。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

19) 藻類生長阻害試験

(資料 19)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン10%粒剤(ダイアジノン粒剤10、有効成分：10.42%)

供試生物：緑藻(学名 *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*))

初期濃度 1×10^4 cells/mL

試験系の再現性を確認するため実施(8月7日~8月10日)した二クロム酸カリウムに対する $E_b C_{50}$ (0-72h)および $E_r C_{50}$ (0-72h)はそれぞれ0.547 mg/Lおよび1.10 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均 $\pm 2 \times$ 標準偏差：0.406~0.890 mg/L及び0.949~1.49 mg/L)であった[平均 \pm 標準偏差はそれぞれ0.648 \pm 0.121 mg/Lおよび1.22 \pm 0.14 mg/L (n=5)]。

方法：培養条件 光強度を60~120 $\mu E/m^2$ とする連続照明、無菌条件下で、振盪培養した。試験液のpHは暴露開始時7.9~8.4、暴露終了時8.0~8.3であった。

培養温度 暴露開始時22.1~23.1 $^{\circ}C$ 、暴露終了時22.0~23.0 $^{\circ}C$

試験容器 500 mL容ガラス三角フラスコ、通気性のシリコセン付
各濃度当たり3連制

試験液量 100 mL/1連

結果：

試験濃度 (mg/L)	6.51, 18.2, 51.0, 143, 400
$E_r C_{50}$ (mg/L) [95%信頼限界]	(0h~72h) 100 [95.5~105]
NOECr (mg/L)	6.51

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき算出した。

細胞観察結果では、400 mg/L区はほとんど全ての細胞が、143 mg/L区ではわずかの細胞が、51.0 mg/L区では極わずかの細胞が凝集していた。その他の濃度区では対照群と同様であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

20) 魚類急性毒性試験

(資料 20)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン25%マイクロカプセル剤(ダイアジノンSLゾル：有効成分27.0%)

供試生物：コイ(学名 *Cyprinus carpio*)

一群各10尾，体長：4.6±0.30 cm，体重：1.1±0.24 g

試験系の再現性を確認するため実施した硫酸銅(II)五水和物に対する96時間LC₅₀は0.257 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.0678~0.316 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.192±0.062 mg/L (n=21)]。

方 法：暴露条件 半止水条件下(48時間後に換水)、96時間暴露
暴露期間中、給餌を行わなかった。

試験水温 22.0~22.9℃

試験容器 ガラス製水槽(縦60.0cm、横29.5cm、深さ36.0cm)

試験液量 50 L

明/暗周期 16/8時間

試験液の調製 試験容器に入れた試験用水に必要な量の被験物質を添加後、攪拌して調製した。

暴露期間中の試験液のpHは7.3~7.7であり、溶存酸素濃度は6.8~8.4 mg/Lであった。

結 果：

試験濃度 (mg/L)	125, 250, 500, 1000	
LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	> 1000
	48 h	> 1000
	72 h	> 1000
	96 h	> 1000
NOEC (mg/L)	≥ 1000	

試験濃度で死亡が認められなかったため、LC₅₀は「> 試験最高濃度」と表示した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

21) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 21)

試験機関：

[G L P対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン25%マイクロカプセル剤(ダイアジノンS Lゾル：有効成分27.0%)

供試生物：オオミジンコ(学名 *Daphnia magna*)，一群各20頭(生後24時間以内の幼体)
試験系の再現性を確認するため実施したニクロム酸カリウムに対する48時間EC₅₀は0.296 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.106~0.342 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.224±0.059 mg/L(n=37)]。

方 法：暴露条件 止水条件下、48時間暴露
暴露期間中は給餌を行わなかった。
試験水温 19.7~19.8℃
試験容器 100 mLガラスビーカー、5頭/ビーカーの4連制/群
試験液量 100 mL/1連
明/暗周期 16/8時間
試験液の調製 必要量の被験物質を秤量し、試験用水と混合、攪拌して100 mg/Lの元試験原液を調製した。この元試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験用水と混合、攪拌して0.500および0.100 mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験容器に入れた試験用水に添加後、攪拌し試験液を調製した。試験期間中の試験液のpHは7.8~7.9、溶存酸素濃度は8.4~8.7 mg/Lであった。

結 果：

試験濃度 (mg/L)	0.000194, 0.000427, 0.000939, 0.00207, 0.00455, 0.0100	
E C ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	0.00565 [0.00419~0.00850]
	48 h	0.00153 [0.00118~0.00199]
NOEC (mg/L)	0.000194	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。
NOECは暴露期間中、対照群と比較して何ら影響が認められない試験最高濃度区とした。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

22) 藻類生長阻害試験

(資料 22)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン 2.5%マイクロカプセル剤(ダイアジノンSLゾル：有効成分 27.0%)

供試生物：緑藻(学名 *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*))

初期濃度 1×10^4 cells/mL

硫酸亜鉛を用いたバックグラウンドデータは、 $E_b C_{50}$ が41.2 $\mu\text{g/L}$ 、 $E_r C_{50}$ が68.3 $\mu\text{g/L}$ であり、亜鉛イオンに対する公知の $E_b C_{50}$ 値の範囲内(45.0~65.4 $\mu\text{g/L}$)にあった。

方法：培養条件 照度1169~1221 lux、無菌条件下で、振盪培養した。

試験期間中の試験液のpHは7.46~7.92であった。

培養温度 21.5~22.0°C

試験容器 250 mL容ガラス三角フラスコ+シリコンスポンジ蓋
各濃度当たり、3反復(対照は6反復)

試験液量 100 mL/1連

結果：

試験濃度 (mg/L)	12.4, 37.0, 111, 333, 1000 (3.21, 9.63, 28.9, 86.3, 260)
$E_r C_{50}$ (mg/L) [95%信頼限界]	(0h~72h) 65.4 [48.1~88.7]
NOECr (mg/L)	12.4

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。

また、ANOVA検定、次いでDunnettの検定によって、NOECを算出した。

試験開始時および終了時の鏡検では、いずれの群においても形態的な変化は認められなかった。生長阻害の増大に伴い、細胞破片の増加が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

23) 魚類急性毒性試験

(資料 23)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン40%EW剤(ショットガン：有効成分43.8%)

供試生物：コイ(学名 *Cyprinus carpio*)

一群各10尾，体長：4.6±0.24 cm，体重：1.1±0.20 g

試験系の再現性を確認するため実施した硫酸銅(II)五水和物に対する96時間LC₅₀は0.257 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.0678~0.316 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.192±0.062 mg/L (n=21)]。

方法：暴露条件 半止水条件下(48時間後に換水)、96時間暴露
暴露期間中、給餌を行わなかった。
試験水温 22.1~23.9℃
試験容器 ガラス製水槽(縦60.0cm、横29.5cm、深さ36.0cm)
試験液量 50 L
明/暗周期 16/8時間
試験液の調製 試験容器に入れた試験用水に必要な量の被験物質を添加後、攪拌して調製した。
暴露期間中の試験液のpHは7.2~7.7であり、溶存酸素濃度は7.1~8.4 mg/Lであった。

結果：

試験濃度 (mg/L)	9.88, 14.8, 22.2, 33.3, 50.0	
LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	35.1 [22.2~50.0]
	48 h	28.4 [22.2~33.3]
	72 h	27.2 [23.5~31.4]
	96 h	26.1 [22.4~30.5]
NOEC (mg/L)	—*	

*：本試験の濃度範囲が狭かったため、求められなかった。

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、Binomial法およびプロビット法を用いて算出した。

24) ミジンコ類急性遊泳障害試験

(資料 24)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン40%EW剤(ショットガン：有効成分43.8%)

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

試験系の再現性を確認するため実施したニクロム酸カリウムに対する48時間EC₅₀は0.296 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.106~0.342 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.224±0.059 mg/L(n=37)]。

方 法：暴露条件 止水条件下、48時間暴露
暴露期間中は給餌を行わなかった。

試験水温 19.9~20.0℃

試験容器 100 mLガラスビーカー、5頭/ビーカーの4連制/群

試験液量 100 mL/1連

明/暗周期 16/8時間

試験液の調製 必要量の被験物質を秤量し、試験用水と混合、攪拌して100 mg/Lの元試験原液を調製した。この元試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験用水と混合、攪拌して0.100 mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験容器に入れた試験用水に添加後、攪拌し試験液を調製した。試験期間中の試験液のpHは7.8~7.9、溶存酸素濃度は8.5~8.7 mg/Lであった。

結 果：	試験濃度 (mg/L)	0.000599, 0.00102, 0.00173, 0.00297, 0.00500	
	EC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	0.00255 [0.00173~0.00294]
		48 h	0.00133 [0.00102~0.00173]
NOEC (mg/L)	0.00102		

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。NOECは暴露期間中、対照群と比較して何ら影響が認められない試験最高濃度区とした。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

25) 藻類生長阻害試験

(資料 25)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン40%EW剤(ショットガン：有効成分43.8%)

供試生物：緑藻(学名 *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*))

初期濃度 1×10^4 cells/mL

硫酸亜鉛を用いたバックグラウンドデータは、 $E_b C_{50}$ が41.2 $\mu\text{g/L}$ 、 $E_r C_{50}$ が68.3 $\mu\text{g/L}$ であり、亜鉛イオンに対する公知の $E_b C_{50}$ 値の範囲内(45.0~65.4 $\mu\text{g/L}$)にあった。

方法：培養条件 照度3958~4231 lux、無菌条件下で、振盪培養した。
試験期間中の試験液のpHは7.91~8.27であった。
培養温度 21.5~22.0°C
試験容器 250 mL容ガラス三角フラスコ+シリコンスポンジ蓋
各濃度当たり、3反復(対照は6反復)
試験液量 100 mL/1連

結果：

試験濃度 (mg/L)	1.00, 3.16, 10.0, 31.6, 100, 316, 1000 (0.42, 1.32, 4.17, 13.2, 41.7, 132, 417)
$E_r C_{50}$ (mg/L) [95%信頼限界]	(0h~72h) >1000 [>1000~>1000] (>417 [>417~>417])
NOECr (mg/L)	1.00 (0.42)

()内は有効成分換算値

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。
また、ANOVA検定、次いでDunnettの検定によって、NOECを算出した。
試験開始時および終了時の鏡検では、いずれの群においても形態的な変化は認められなかった。生長阻害の増大に伴い、細胞破片の増加が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

26) 魚類急性毒性試験

(資料 26)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン34%水和剤(ダイアジノン水和剤34、有効成分：37.0%)

供試生物：コイ(学名 *Cyprinus carpio*)

一群各10尾，体長：4.6±0.20 cm，体重：1.2±0.15 g

試験系の再現性を確認するため実施した硫酸銅(Ⅱ)五水和物に対する96時間LC₅₀は0.257 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.0678~0.316 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.192±0.062 mg/L (n=21)]。

方法：暴露条件 半止水条件下(48時間後に換水)、96時間暴露
暴露期間中、給餌は行わなかったが、緩やかなエアレーションは行った。

試験水温 22.3~23.6℃

試験容器 ガラス製水槽(縦60.0cm、横29.5cm、深さ36.0cm)

試験水量 50 L

明/暗周期 16/8時間

試験液の調製 試験容器に入れた試験用水に必要な量の被験物質を添加後、攪拌して調製した。
暴露期間中の試験液のpHは7.1~8.1であり、溶存酸素濃度は6.5~8.7 mg/Lであった。

結果：

試験濃度 (mg/L)	5.21, 7.29, 10.2, 14.3, 20.0, 28.0, 39.2	
LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	25.9 [20.0~39.2]
	48 h	25.2 [20.0~39.2]
	72 h	25.2 [20.0~39.2]
	96 h	25.2 [20.0~39.2]
NOEC (mg/L)	7.29	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、Binomial法を用いて算出した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

27) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 27)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン 34%水和剤(ダイアジノン水和剤 34、有効成分：37.0%)

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

試験系の再現性を確認するため実施したニクロム酸カリウムに対する48時間 EC₅₀は0.296 mg/Lであった。試験機関におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均±2×標準偏差：0.106~0.342 mg/L)であった[平均±標準偏差は0.224±0.059 mg/L(n=37)]。

方 法：暴露条件 止水条件下、48時間暴露

暴露期間中は給餌を行わなかった。

試験水温 19.8~20.2℃

試験容器 100 mLガラスビーカー、5頭/ビーカーの4連制/群

試験液量 100 mL/1連

明/暗周期 16/8時間

試験液の調製 必要量の被験物質を秤量し、試験用水と混合、攪拌して100 mg/Lの元試験原液を調製した。この元試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験用水と混合、攪拌して0.100 mg/Lの試験原液を調製した。この試験原液を攪拌しながら必要量分取し、試験容器に入れた試験用水に添加後、攪拌し試験液を調製した。試験期間中の試験液のpHは7.8~7.9、溶存酸素濃度は8.6~8.8 mg/Lであった。

結 果：

試験濃度 (mg/L)	0.000958, 0.00163, 0.00277, 0.00471, 0.00800	
E C ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 h	0.00482 [0.00418~0.00560]
	48 h	0.00349 [0.00313~0.00394]
NOEC (mg/L)	0.00163	

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。

NOECは暴露期間中、対照群と比較して何ら影響が認められない試験最高濃度区とした。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

28) 藻類生長阻害試験

(資料 28)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

被験物質：ダイアジノン34%水和剤(ダイアジノン水和剤34、有効成分：37.0%)

供試生物：緑藻(学名 *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*))

初期濃度 1×10^4 cells/mL

硫酸亜鉛を用いたバックグラウンドデータは、 E_bC_{50} が41.2 $\mu\text{g/L}$ 、 E_rC_{50} が68.3 $\mu\text{g/L}$ であり、亜鉛イオンに対する公知の E_bC_{50} 値の範囲内(45.0~65.4 $\mu\text{g/L}$)にあった。

方 法：培養条件 照度4004~4289 lux、無菌条件下で、振盪培養した。
試験期間中の試験液のpHは7.62~8.49であった。
培養温度 21.5~22.0℃
試験容器 250 mL容ガラス三角フラスコ+シリコンスポンジ蓋
各濃度当たり、3反復(対照は6反復)
試験液量 100 mL/1連

結 果：

試験濃度 (mg/L)	1.44, 3.61, 9.01, 22.5, 56.3 (0.51, 1.28, 3.20, 8.00, 20.0)
E_rC_{50} (mg/L) [95%信頼限界]	(0h~72h) 15.6 [6.09~42.0] (5.54 [2.16~14.9])
NOECr (mg/L)	1.44 (0.51)

()内は有効成分換算値

影響濃度は設定被験物質濃度に基づき、プロビット法を用いて算出した。
また、ANOVA検定、次いでDunnettの検定によって、NOECを算出した。
試験開始時および終了時の鏡検では、いずれの群においても形態的な変化は認められなかった。生長阻害の増大に伴い、細胞破片の増加が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2. 水産動植物以外の有用生物に及ぼす影響

2-1. 蚕に及ぼす影響

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		試験結果		試験機関(報告年)
				投与方法	投与量			
1	蚕影響試験原体()	カイコ(2齢, 3齢, 4齢, 5齢幼虫)	25頭/区	局所施用(胸部背面)	—	LD ₅₀ (24h) µg/larva 2齢: 0.048 3齢: 0.274 4齢: 1.622 5齢: 2.410	LD ₅₀ (24h) µg/body wt. 2齢: 3.870 3齢: 7.154 4齢: 4.135 5齢: 2.687	
2	蚕影響試験乳剤(40%)	カイコ(3齢幼虫) 日124号×支124号	20頭/区 2連制	桑葉散布	1000倍 50ml/3鉢	無影響日数: 13日 (無降雨状況)		
3		カイコ(5齢幼虫) 日124号×支124号	20頭/区 2連制	桑葉散布	1000倍 500ml/株	無影響日数: 14日 (自然条件下)		
4	蚕影響試験粉剤(2%)	カイコ(3齢幼虫) 日124号×支124号	20頭/区 2連制	桑葉散布	1g/3鉢	無影響日数: 13日 (無降雨状況)		
5		カイコ(5齢幼虫) 日124号×支124号	20頭/区 2連制	桑葉散布	5g/株	無影響日数: 12日 (自然条件下)		
6	蚕影響試験水和剤(34%)	カイコ(3齢幼虫)	—	桑葉散布	1000倍	無影響日数: 13日 (無降雨状況)		
7	蚕影響試験粉剤(3%)	カイコ(3齢幼虫)	—	桑葉散布	—	無影響日数: 21日 (無降雨状況)		
8	蚕影響試験粒剤(5%)	カイコ(5齢起蚕) 日144号×支144号	—	地表面散布後、桑葉を給与	0.2g/鉢 (10kg/10a相当)	処理4, 8, 15, 22日後、 死亡率0%		
9		カイコ(5齢起蚕) 日144号×支144号	—	地表面散布後、桑葉を給与	2g/鉢 (100kg/10a相当)	処理1, 4, 9, 17日後、 死亡率0%		
10		カイコ(5齢起蚕) 日144号×支144号	—	地表面散布後、桑葉を給与	10g/鉢 (500kg/10a相当)	処理1, 4日後 死亡率0% 9日後 死亡率20% 17日後 死亡率60%		
11	蚕影響試験	カイコ(3齢, 5齢幼虫) 日112号×支115号	10頭/区 3連制	蚕体散布	500倍	24時間後死亡率 3齢: 75%、5齢: 70%		
				散布桑葉給餌	500倍	24時間後死亡率 3齢: 100%、5齢: 70%		
12	蚕影響試験	カイコ(蟻虫) 日122号×(日122号× 日122号(太))	100頭/区	蚕体散布	1,000~ 256,000倍	1,000倍: 2時間後死亡率100% 4,000倍: 5時間後死亡率100% 16,000倍: 1日後死亡率100% 64,000倍: 2日後死亡率33% 256,000倍: 2日後死亡率0%		
13	蚕影響試験乳剤	カイコ(2齢, 4齢幼虫) 日122号×(日122号× 日122号(太))	50頭/区 3連制	蚕体散布	500~4,000 倍	7日後死亡率 2齢 500倍: 99%、1,000倍: 93% 2,000倍: 9%、4,000倍: 0.6% 4齢 500倍: 81%、1,000倍: 19% 2,000倍: 0%		
14	蚕影響試験水和剤					7日後死亡率 2齢 500倍: 100%、1,000倍: 99% 2,000倍: 63%、4,000倍: 0% 4齢 500倍: 96%、1,000倍: 41% 2,000倍: 0%		

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

No.	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群当り の供試数	試験方法		試験結果	試験機関 (報告年)
				投与方法	投与量		
15	蚕影響試験	カイコ(3齢、4齢、5齢幼虫) 日122号×(日122号× 日122号(太))	20頭/区 3連制	散布桑葉 給餌	1,000～ 256,000倍	4日後死亡率 4,000倍まで各齢全死 16,000倍で60%(5齢3日齢) 99%(4齢起蚕) 100%(3齢起蚕) 64,000倍で平均10%前後、 256,000倍で3%未満	
16	蚕影響試験	カイコ(5齢幼虫) 日122号×(日122号× 日122号(太))	20頭/区 1連制	散布桑葉 給餌	1,000～ 16,000倍	1,000倍: 齢中死亡率100% 2,000倍: 齢中死亡率5%、蛹 化率25% 4,000、16,000倍: 齢中死亡 率0%、蛹化率95%	
17	蚕影響試験 乳剤、水和剤	カイコ(4齢幼虫) 日122号×支122号	50頭/区 2連制	散布桑葉 給餌	1,000、 4,000倍	乳剤、水和剤共に、安全日数 は7日以上(1,000倍)、3日 以上(4,000倍)	
18	蚕影響試験 微粒剤(5%)	カイコ(稚蚕、4齢起蚕) 日124×支124	50頭/区 2連制	散布桑葉 給餌	4kg/10a	死亡率 稚蚕: 100%(散布9日後) 4齢起蚕: 100%(散布1日後) 5%(散布9日後)	
19	蚕影響試験 微粒剤(5%)	カイコ(稚蚕、4齢起蚕) 8.3×3.4、錦秋×鐘和	50頭/区 2連制	散布桑葉 給餌	4kg/10a	死亡率 稚蚕: 1%(散布9日後) 4齢起蚕: 0%(散布9日)	
				土壌表面散 布、桑葉給 餌		死亡率 稚蚕: 5%(散布5日後) 0%(散布10日後) 4齢起蚕: 0%(散布5日)	
20	蚕影響試験 微粒剤(5%)	カイコ(稚蚕、4齢起蚕) 2.4×5.4	50頭/区 2連制	散布桑葉 給餌	4kg/10a	死亡率 稚蚕: 100%(散布1日後) 0%(散布5日後) 4齢起蚕: 95%(散布1日後) 20%(散布9日後)	
21	蚕影響試験 微粒剤(3%)	カイコ(4齢起蚕) 夏蚕期: 春嶺×鐘月 晩秋蚕期: 錦秋×鐘和	50頭/区 2連制	散布桑葉 給餌	4kg/10a	安全日数: 9日以上	
22	蚕影響試験 乳剤(40%)	カイコ(3齢起蚕) 錦秋×鐘和	25頭/区 2連制	散布桑葉 給餌	3～4ml/株	安全日数: 15日以上	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2-2. ミツバチに及ぼす影響

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		試験結果	試験機関 (報告年)
				投与方法	投与量		
1	ミツバチ影響試験 (急性接触) 原体()	セイヨウミツバチ (成虫) <i>Apis mellifera</i>	20頭/区 3反復	局所施用 (腹部腹面)	0.18~ 0.28µg/2 µl/頭	LD ₅₀ (24h) : 0.24µg/頭	
2	ミツバチ影響試験 (急性接触)	セイヨウミツバチ (成虫) <i>Apis mellifera</i>	—	定量滴下	—	LD ₅₀ (24h) : 0.22 µg/頭	
3	ミツバチ影響試験 (急性経口)	セイヨウミツバチ (成虫) <i>Apis mellifera</i>	10頭/区	経口投与	20 µl/頭	LD ₅₀ (24h) : 0.2 µg/頭	
4	ミツバチ影響試験 (急性接触)	ミツバチ	—	野外散布 (粉状)	—	ミツバチの活動いかに係 わらず毒性高い。残毒日数は 1日以上	
5	ミツバチ影響試験 (急性接触)	ミツバチ	—	野外散布 (液状)	—	ミツバチの活動いかに係 わらず毒性高い。残毒日数は 1日	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2-3. 天敵昆虫等に及ぼす影響

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		試験結果 死亡率(%)		試験機関 (報告年)
				投与方法	投与量	死亡率 (%,24h)	死亡率 (%,48h)	
1	天敵昆虫等影 響試験 原体()	ナミテントウ <i>Harmonia axyridis pallas</i>	成虫雌雄 各1頭/区 5連制 幼虫5頭/区 3連制	虫体浸漬 接触試験	250、 500ppm	死亡率 (%,24h)成 虫 100 100 100 100	死亡率 (%,48h) 成虫 100 100 100	
2	天敵昆虫等影 響試験 原体()	タイリクヒメハナカメムシ 成虫 <i>Orius strigicollis</i> <i>poppius</i>	雌雄各5頭/区 3連制	接触試験	250、 500ppm	死亡率 (%,24h) 100 100	死亡率 (%,48h) 100 100	
3	天敵昆虫等影 響試験 原体()	ククメリスカブリダニ成虫 <i>Amblyseius cucumeris</i> Oudemans	雌3頭/区 雄1頭/区 5連制	接触試験	250、 500ppm	死亡率 (%,24h) 100 100	死亡率 (%,48h) 100 100	
4	天敵昆虫等影 響試験	キクツキコモリグモ 雌亜成体、成体	10頭/区	胸腹部に 局所施用	1.6μl	LD ₅₀ (24h) : 16.9μg/kg		
5	天敵昆虫等影 響試験 乳剤(40%)	クモ類 雌成体 キクツキコモリグモ <i>Lycosa pseudoannulata</i> セズジアカムネグモ <i>Oedothorax insecticeps</i>	1頭/区 25反復	虫体浸漬	—	キクツキコモリグモ LD ₅₀ (24h) : 198.4μg/kg セズジアカムネグモ LD ₅₀ (24h) : 3220.2μg/kg		
6	天敵昆虫等影 響試験 乳剤(40%)	ズイムシアカタマゴバチ	1卵塊	卵塊浸漬	0.02125、 0.0425%	死亡率(14日間) 0.02125%水溶液 : 77.65% 0.0425%水溶液 : 92.3%		
7	天敵昆虫等影 響試験	寄生蜂の一種 <i>Aphytis cylindratu</i> s 成虫	20~50頭	ドライフ イルム法	1000~ 1600倍	50%致死時間 : <2時間		
8	天敵昆虫等影 響試験 水和剤	クワコナカイガラヤドリバチ <i>Pseudaphycus maltnu</i> s 成虫	1頭/区 3連制	リーフデ イスク法	1500倍	死亡率(48h) 散布5日後葉 : 37.65% 7日後葉 : 6.99%		
9	天敵昆虫等影 響試験 水和剤(34%)	キンモンホソガトビコバチ <i>Holcathorax testacei</i> pes 成虫	80~300頭/区 5連制	リーフデ イスク法	340ppm	死亡率(24h) 散布5日後葉 : 約90% 10日後以降、急速に殺虫 力低下、15日後には影響 なし		
10	天敵昆虫等影 響試験 水和剤(34%)	ミカドドロバチ雌成虫	10頭/区	ドライフ イルム法	800倍	処理10日後でも影響あ り(累積死亡率 : 21~ 59%)		

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2-4. 鳥類に及ぼす影響

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	LD ₅₀ 又はLC ₅₀ 値 及び無影響量	観察された 影響等	試験機関 (報告年)
1	急性経口毒性試験 原体()	ウズラ	♀8羽	強制経口 投与	19.4, 15.0, 11.5, 8.8, 6.8, 5.2 mg/kg	LD ₅₀ 9.7 mg/kg	鎮静、下痢、 流涎、痙攣、 体温低下等	
2	急性経口毒性試験 原体()	ニワトリ	♀2羽	強制経口 投与	40, 30, 20 mg/kg	LD ₅₀ 約30 mg/kg	鎮静、下痢、 流涎、自発運 動減少、起立 不能等	
3	混餌投与試験 粒剤(3%)	ニワトリ	♀2羽	5日間 混餌投与	10%	NOEC 10%	忌避による衰 弱	

文献

No.	試験の種類	供試生物	1群当りの 供試数	投与方法	投与量	LD ₅₀ 値又は LC ₅₀ 値	報告者(報告年)
1	急性経口毒性試験	ニワトリ雌				4.5 mg/kg	
2	急性経口毒性試験	ニワトリ(ひな)				8.4 mg/kg	
3	混餌投与試験	ウズラ				240 ppm	
4	混餌投与試験	日本ウズラ				47 ppm	
5	急性経口毒性試験	ムクドリ				110 mg/kg	
6	急性経口毒性試験	ツグミ				2.0 mg/kg	
7	急性経口毒性試験	ガチョウ				2.75mg/kg	
8	混餌投与試験	キジ				244 ppm	
9	混餌投与試験	マガモ				191 ppm	
10	急性経皮毒性試験	シチメンチョウ	3	経皮塗布	15 mg/kg 10 mg/kg 5 mg/kg	死亡2/3 中毒症状 死亡0/3 Ch-E阻害大 死亡0/3 Ch-E阻害大	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

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) 医薬用外劇物。(5%以下を含有する製剤は除外)
取り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) 本剤の解毒剤としては硫酸アトロピン製剤およびPAM製剤がある。
- (3) 原液は眼に対して強い刺激性があるので、散布液調製時には保護眼鏡を着用して薬剤が眼に入らないように注意すること。
また散布液も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。
眼に入った場合には直ちに十分に水洗し、眼科医の手当を受けること。
(40%乳剤)
 - ・本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないように注意すること。
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。
(10%粒剤、34%水和剤)
 - ・本剤は眼に対して弱い刺激性があるので眼に入らないように注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗すること。(40%EW剤、25%MC剤)
- (4) 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に注意すること。
付着した場合には直ちに石けんでよく洗い落とすこと。(40%乳剤)
 - ・本剤は皮膚に対して弱い刺激性があるので皮膚に付着しないように注意すること。
付着した場合には直ちに石けんでよく洗い落とすこと。(25%MC剤)
- (5) 散布等作業の際は防護マスク、不浸透性手袋、不浸透性防除衣などを着用すること。作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに洗眼すること。(34%水和剤、40%乳剤)
 - ・散布の際は防護マスク、不浸透性手袋、不浸透性防除衣などを着用すること。
また散布液を吸い込んだり浴びたりしないよう注意し、作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに衣服を交換すること。
(25%MC剤)
 - ・散布の際は防護マスク、手袋、不浸透性防除衣などを着用すること。
作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに衣服を交換すること。(40%EW剤)
 - ・散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。
また粉末を吸い込んだり浴びたりしないよう注意し、作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをする。
(10%粒剤、5%粒剤、3%粒剤)
- (6) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。
- (7) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。
- (8) ハウス内での散布後は、十分に換気し入室すること。(34%水和剤、40%乳剤)
- (9) 公園等で使用する場合は、使用中及び使用後(少なくとも使用当日)に小児や使用に関係のない者が使用区域に立ち入らないよう網囲いや立て札を立てるな

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

どは配慮し、人畜等に被害を及ぼさないよう注意を払うこと。

(10%粒剤、5%粒剤)

- ・街路、公園等で使用する場合は、散布中及び散布後（少なくとも散布当日）に小児や散布に関係のない者が散布区域に立ち入らないよう縄囲いや立て札を立てるなどは配慮し、人畜等に被害を及ぼさないよう注意を払うこと。

(34%水和剤、40%乳剤、40%EW剤)

- (10) ハウス内での散布後は、十分に換気し入室すること。(34%水和剤)

2. 解毒法および治療法

解毒法としては、硫酸アトロピン製剤およびPAM製剤の投与が有効である。

3. 製造時、使用時等における事故例

該当なし。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

Ⅶ. 毒性

〈毒性試験一覧表〉

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁			
1	急性毒性 7日間観察	ラット	♂ 10	経口	♂ 418, 502, 603, 723 ♀ 349, 418, 502, 603	♂ 521 ♀ 485		Ⅷ-14			
			♀ 10								
2	急性毒性 7日間観察	ラット	♂ 10	経皮	♂ 982, 1178, 1696, 2035, 2443 ♀ 545, 654, 785, 942, 1131, 1357	♂ 1666 ♀ 876					
			♀ 10								
			♂ 10						皮下	♂ ♀ 1390, 1670, 2000, 2400, 2800, 3460, 4150	♂ 2190 ♀ 2450
			♀ 10								
♂ 10	腹腔内	♂ ♀ 102, 603, 723, 848, 1043	♂ 738 ♀ 765								
♀ 10											
♂ 10	経皮	♂ 964, 1160, 1390, 1670, 2000	♂ 1440								
3 [GLP]	急性毒性 14日間観察	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ ♀ 0, 105, 137, 178, 231, 300, 390	♂ 177 ♀ 178		Ⅷ-19			
2	急性毒性 7日間観察	マウス	♂ 10	経口	♂ ♀ 100, 121, 145, 174, 208, 250, 300	♂ 145 ♀ 194		Ⅷ-20			
			♀ 10								
			♂ 10						皮下	♂ ♀ 267, 322, 386, 463, 556, 667, 800	♂ 372 ♀ 454
			♀ 10								
♂ 10	腹腔内	♂ ♀ 121, 145, 174, 208, 250	♂ 156 ♀ 177								
♀ 10											
♂ 10	経皮	♂ 165, 198, 253, 319, 396, 495, 616, 770	♂ 324 ♀ 429								
♀ 10											
4 [GLP]	急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	吸入 4時間 ミスト	♂ ♀ (mg/m ³) 2120, 2720, 3610, 3330, 4180	(mg/m ³) ♂ 3100 ♀ 3100		Ⅷ-23			

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
5	急性毒性 7日間観察	マウス	♂ 10	吸入 4時間 ミスト	♂ (mg/m ³) 334, 401, 481, 578, 694, 833, 1000, 1200, 1440	♂ (mg/m ³) 630		VII-25
6	皮膚刺激性 48時間観察	ウサギ	♀ 6	貼付	10倍希釈液 0.1 mL/2.54× 2.54 cm	軽度の刺激性 あり		VII-26
7	眼刺激性 7日間観察	ウサギ	♀ 非洗眼 3 洗眼 5	点眼	10倍希釈液 0.1 mL/眼	刺激性なし		VIII-28
8 [GLP]	皮膚感作性 [GPM法] 48時間観察	モルモット	♂ 10 ♀ 10	感作： (2回) 惹起：	10%検体 皮内注射 7日後；100%検体 貼付 21日後；100%検体 貼付	感作性あり		VII-31
9 [GLP]	急性神経毒性 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ ♀ 0, 100, 300, 500	一般毒性に関する 無毒性量： ♂ <100 ♀ 100 神経系に対する 無毒性量： ♂ ♀ 100		VIII-33
9-1 [GLP]	急性神経毒性 の追加試験 4日間観察	ラット	0, 100, 500 mg/kg ♂ 25 ♀ 25 1, 2.5 mg/kg ♂ 20 ♀ 20	経口	♂ ♀ 0, 1, 2.5, 100, 500	無毒性量： ♂ ♀ 2.5		VIII -38-1
10 [GLP]	急性遅発性 神経毒性 42日間観察	ニワトリ	♀ 検体投与 群 12 対照群 6	経口	20 x 2 回	神経毒性なし		VII-39
11	急性遅発性 神経毒性 21日間観察	ニワトリ	♀ 6	経口	12, 20	神経毒性なし		VII-41
12 [GLP]	反復経口投与 毒性 (3カ月)	ラット	♂10、♀10 衛星群 ♂18、♀18	経口 (混餌)	♂ ♀ 0, 5, 125, 3000ppm ♂ 0, 0.3, 7.8, 199.3 ♀ 0, 0.3, 8.9, 247.4	♂ ♀ 5ppm ♂ ♀ 0.3		VIII-43
14 [GLP]	反復経口投与 毒性 (3カ月)	イヌ	♂ 4 ♀ 4	経口 (カプセル)	♂ ♀ 0, 0.3, 3, 10	♂ ♀ 0.3		VIII-55

アンダーラインは前回の食品安全委員会の評価時に提出していない資料

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
17	反復経皮投与毒性 (21日間)	ウサギ	♂ 10 ♀ 10	経皮	♂ ♀ 0, 1, 10, 100	♂ 1 ♀ 10		VII-67
18	反復吸入毒性 (90日間)	急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性を有さないと認められることから反復吸入毒性試験は試験省略						VII-72
19 [GLP]	反復投与神経毒性	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口 (混餌)	♂ ♀ (ppm) 0, 25, 125, 1000 ♂ 0, 1.7, 8.4, 69.1 ♀ 0, 1.8, 9.3, 82.4	一般毒性に関する無毒性量： ♂ ♀ <25 ppm 神経系に対する無毒性量： ♂ 125 ppm ♀ 25 ppm 一般毒性に関する無毒性量： ♂ <1.7, ♀ <1.8 神経系に対する無毒性量： ♂ 8.4, ♀ 1.8		VIII-73
20	反復投与遅発性神経毒性	急性遅発性神経毒性試験の結果、明らかに遅発性神経毒性がないと認められることから反復投与遅発性神経毒性省略						VIII-78
21 [GLP]	慢性毒性 / 発がん性 I : 120週間 II : 108週間	ラット	I ; ♂ 75 ♀ 75 II ; ♀ 65	経口 (混餌)	I ; ♂ ♀ 0, 0.1, 1.5, 22.5 II ; ♀ 0, 0.025	♂ 0.4 * ♀ 0.4 * *赤血球のAChE活性阻害率20%を指標とし申請者が算出した。 発がん性なし		VIII-79
23	25%水和剤慢性毒性 46週間 (27週間)	イヌ	2	経口 (カプセル)	0, 4.6, 9.3, 23.1	♂ <4.6 ♀ <4.6		VIII-120
24	50%水和剤慢性毒性 106週間	サル	♂ 3 ♀ 3	経口	♂ ♀ 0, 0.05, 0.5, 5	♂ 0.5 * ♀ 0.5 * *赤血球のAChE活性阻害率20%を指標とし申請者が記載した。 発がん性なし		VIII-124
26	発がん性 103週間	マウス	投与群 ♂ 50 ♀ 50 対照群 ♂ 25 ♀ 25	経口 (混餌)	♂ ♀ 0, 100, 200 ppm WHO換算方式 ♂ ♀ 0, 15, 30	♂ ♀ <100 ppm* ♂ ♀ <15 発がん性なし *申請者による記載		VIII-131
27	発がん性 2年間	マウス	♂ 50 ♀ 50	経口 (混餌)	♂ 0, 100, 200, 300 ppm ♀ 0, 100, 200, 400 ppm	♂ ♀ 200 ppm*		VIII-140

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
28 [GLP]	繁殖毒性 2世代	ラット	♂ 13 ♀ 26	経口 (混餌)	♂ ♀ 0, 0.1, 1, 10	親動物・児動物 ♂ 10 ♀ 10 繁殖に対する 影響なし		VII-155
30	催奇形性	ラット	♀ 30	経口	0, 0.53, 1.45, 4.0	母動物: 4.0 胎児: 1.45 催奇形性なし		VII-164
31 [GLP]	催奇形性	ウサギ	♀ 16~17	経口	0, 2.5, 10, 40	母動物: 10 胎児: 40 催奇形性なし		VII-173
32	変異原性 復帰変異	ネズミチフス菌: TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 大腸菌: WP2 ^{hcr} -		<i>in vitro</i>	試験 I: 200, 1000, 5000 試験 II: 0, 10, 100, 1000 µg/プレート	陰性		VII-179
	変異原性 復帰変異 (宿主経由試験)	マウス♂ 5~6 ネズミチフス菌: G46		<i>in vivo</i>	0, 30, 70(各2 回経口投与)	陰性		
	変異原性 Rec assay	枯草菌: H-17, M-45		<i>in vitro</i>	0, 1, 5, 10, 25, 50, 100% 0.02 mL/ディスク	陰性		
33 [GLP]	変異原性 染色体異常 誘発性	ヒト・リンパ球		<i>in vitro</i>	0, 5, 10, 20 µg/mL	陰性		VII-184
34 [GLP]	変異原性 DNA 損傷性	大腸菌: WP-2, WP-67, CM-871		<i>in vitro</i>	0, 100, 316, 1000, 3160, 10000 µg/mL	極めて弱いDNA 損傷性		VII-186
35 [GLP]	変異原性 小核誘発性	マウス♂ 6		<i>in vivo</i>	0, 15.6, 31.3, 62.5, 125 (各2 回経口投与)	陰性		VII-189

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁	
36	生体機能への影響	呼吸、循環器系 〔呼吸、頸動脈圧、心電図、生体位心臓運動〕	ウサギ	♂ ー (記載なし)	大腿静脈	5, 20	20		VII-191
		消化器系 〔摘出腸管に対する作用〕	モルモット	♂ ー (記載なし)	マグヌス槽	10 ⁻⁸ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ M	回腸: 10 ⁻⁴ 結腸: <10 ⁻⁵ M		
		消化器系 〔腸管内炭末輸送〕	マウス	♂ 7	経口	0, 5, 20	5		
		体温に対する作用 〔正常体温〕	ラット	♂ 7	経口	0, 5, 20	20		
		体温に対する作用 〔解熱作用〕	ラット	♂ 7	経口	0, 5, 20	20		
		ヒスタミンによる毛細血管透過性に対する作用	ラット	♂ ー (記載なし)	経口	0, 5, 20	5		
		角膜及び結膜に対する作用	モルモット	♂ ー (記載なし)	点眼	1, 5, 10%液 0.2 mL/片眼	10%		
		脳波に対する作用	ウサギ	♂ ー (記載なし)	耳静脈	5, 20	20		
37	生体機能への影響(解毒及び治療)	①ChE活性の測定	ラット	♀ 6	経口	235(LD ₅₀ の0.8倍)	ー		VII-195
		②中毒治療 アトロピン及びPAMによる治療効果	ラット	♀ 6	経口	ー	アトロピン及びPAMの併用投与が有効		
		③PAMによるChEの再活性化	ラット	♀ 6	経口	235(LD ₅₀ の0.8倍)	アトロピン筋注後のPAM投与により横隔膜のChE活性が再活性化		
		④血中ChE活性とアトロピン及びPAMによる治療効果	ウサギ	4	腹腔内	1600	PAM単独あるいはアトロピンとの併用により、血中ChE活性が再活性化し、中毒症状が回復		
38	中毒治療法	ヒト		誤飲	約30 mL	アトロピンとPAMの併用が有効		VII-197	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2. 原体中の混在物及び代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
39	原体混在物の急性毒性 (D-I) 14日間観察	マウス	♂ 10	経口	10, 30, 100, 300, 1000	> 1000		VIII-199
	原体混在物の急性毒性 (D-II) 14日間観察	マウス	♂ 10	経口	10, 30, 100, 300, 1000	> 1000		
	原体混在物の急性毒性 (D-III) 14日間観察	マウス	♂ 10	経口	10, 30, 100, 300, 1000	30~100		
	原体混在物の急性毒性 (D-IV) 14日間観察	マウス	♂ 10	経口	10, 30, 100, 300, 1000	300~1000		
	原体混在物の急性毒性 (D-V) 14日間観察	マウス	♂ 10	経口	10, 30, 100, 300, 1000	100~300		
40 [GLP]	原体混在物の変異原性 (D-I) 復帰変異性	ネズミチフス菌 (TA100、TA98)		in vitro	0, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 µg/プレート	陰性		VII-201
41 [GLP]	原体混在物の変異原性 (D-II) 復帰変異性	ネズミチフス菌 (TA100、TA98)		in vitro	0, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 µg/プレート	陰性		VII-203
42 [GLP]	原体混在物の変異原性 (D-III) 復帰変異性	ネズミチフス菌 (TA100、TA98)		in vitro	0, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 µg/プレート	陰性		VII-205
43 [GLP]	原体混在物の変異原性 (D-IV) 復帰変異性	ネズミチフス菌 (TA100、TA98)		in vitro	0, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 µg/プレート	陰性		VII-207
44 [GLP]	原体混在物の変異原性 (D-V) 復帰変異性	ネズミチフス菌 (TA100、TA98)		in vitro	0, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 µg/プレート	陰性		VII-209

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3. 製剤を用いた試験成績

(1) 34%水和剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 ・期間	供試 動物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記 載 頁
45 [GLP]	急性毒性 34%水和剤 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ ♀ 0, 480, 580, 690, 830, 1000	♂ 721 ♀ 908		VII-211
46 [GLP]	急性毒性 34%水和剤 14日間観察	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 0, 192, 250, 325, 423, 549 ♀ 0, 325, 423, 549, 714, 928	♂ 434 ♀ 644		VII-213
47 [GLP]	急性毒性 34%水和剤 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経皮	♂ ♀ 0, 2000	♂ >2000 ♀ >2000		VII-215
48 [GLP]	皮膚刺激性 34%水和剤 3日間観察	ウサギ	♂ 6	貼付	0.5 g/2×3 cm	刺激性なし		VII-216
49 [GLP]	眼刺激性 34%水和剤 7日間観察	ウサギ	♂ 非洗眼 6 洗眼 3	点眼 点眼	0.1 g/右眼 0.1 g/右眼	軽度の刺激性 あり 洗眼効果あり		VII-218
50 [GLP]	皮膚感作性 〔GPM法〕 34%水和剤 48時間観察	モルモット	♂ 10 ♀ 10	感作： (2回) 惹起：	30%, 10%検体+Adj液 皮内注射 7日後；50%検体 貼付 21日後；30, 10%検体 添付	感作性あ り		VII-220

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(2) 3%粉剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
51 [GLP]	急性毒性 3%粉剤 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 0, 2960, 3850, 5000, 6500, 8450 ♀ 0, 5000	♂ 9743 ♀ >5000		VIII-222
52 [GLP]	急性毒性 3%粉剤 14日間観察	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 0, 2280, 2960, 3850, 5000, 6500 ♀ 0, 5000	♂ 4404 ♀ >5000		VIII-224
53 [GLP]	急性毒性 3%粉剤 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経皮	♂♀ 0, 2000	♂ >2000 ♀ >2000		VIII-226
54 [GLP]	皮膚刺激性 3%粉剤 3日間観察	ウサギ	♀ 6	貼付	0.5 g/2×3 cm	刺激性なし		VII-227
55 [GLP]	眼刺激性 3%粉剤 3日間観察	ウサギ	♀ 非洗眼 6 洗眼 3	点眼 点眼	0.1 g/右眼 0.1 g/右眼	刺激性なし		VIII-229
56 [GLP]	皮膚感受性 [GPM法] 3%粉剤 48時間観察	モルモット	♂ 25	感作: (2回) 惹起:	2%検体 皮内注射 7日後; 25%検体 貼付 21日後; 25%検体 貼付	感受性なし		VIII-231

(3) 3%粒剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
57 [GLP]	急性毒性 3%粒剤 14日間観察	ラット	♀ 5	経口	2000	>2000		VIII-233
58 [GLP]	急性毒性 3%粒剤 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂♀ 0, 2000	♂ >2000 ♀ >2000		VIII-234
59 [GLP]	皮膚刺激性 3%粒剤 3日間観察	ウサギ	♀ 3	貼付	0.5 g/2.5×2.5 cm	刺激性なし		VIII-235
60 [GLP]	眼刺激性 3%粒剤 3日間観察	ウサギ	♀ 非洗眼 3 洗眼 3	点眼 点眼	0.1 g/右眼 0.1 g/右眼	軽度の刺激性 あり 洗眼効果なし		VII-236
61 [GLP]	皮膚感受性 [Buehler法] 3%粒剤 48時間観察	モルモット	♂ 20	感作: (3回) 惹起:	100%検体 貼付 (7日間隔) 100%検体 貼付	感受性なし		VIII-238

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(4)40%乳剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
62	急性毒性 40%乳剤 7日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	(mL/kg) ♂ 0.445, 0.523, 0.604, 0.695 ♀ 0.637, 0.714, 0.800, 0.896, 1.003	♂ 630* (0.564 mL/kg) ♀ 855* (0.765 mL/kg) *:比重から換算		VIII-240
			♂ 10 ♀ 10	経皮	(mL/kg) ♂ ♀ 5	♂ > 5585mg/kg* (> 5 mL/kg) ♀ > 5585mg/kg* (> 5 mL/kg) *:比重から換算		
63 [GLP]	急性毒性 40%乳剤 14日間観察	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ ♀ 0, 135, 175, 228, 296, 385, 500	♂ 246 ♀ 320		VIII-242
64 [GLP]	皮膚刺激性 40%乳剤 14日間観察	ウサギ	♂ 6	貼付	0.5 mL/2×3 cm	軽度の刺激性あり		VIII-243
65 [GLP]	眼刺激性 40%乳剤 21日間観察	ウサギ	♂ 非洗眼 6 洗眼 3	点眼 点眼	0.1 mL/右眼 0.1 mL/右眼	強い刺激性あり 洗眼効果あり		VIII-245
66 [GLP]	眼刺激性 40%乳剤 700倍希釈液 3日間観察	ウサギ	♂ 非洗眼 6 洗眼 3	点眼 点眼	700倍希釈液 0.1 mL/右眼 0.1 mL/右眼	刺激性なし		VIII-247
67 [GLP]	眼刺激性 40%乳剤 50倍希釈液 3日間観察	ウサギ	♀ 非洗眼 6	点眼	50倍希釈液 0.1 mL/右眼	刺激性なし		VIII-249
68 [GLP]	皮膚感作性 [GPM法] 40%乳剤 48時間観察	モルモット	♂ 10 ♀ 10	感作: (2回) 惹起: 再感作: 再惹起:	100%, 50%検体 皮内注射 7日後; 100%検体 貼付 21日後; 100%検体 貼付 35日後; 100%検体 貼付 42日後; 50, 10%検体 貼付	感作性 なし		VIII-251

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(5) 5%粒剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
69 [GLP]	急性毒性 5%粒剤(新) 14日間観察	ラット	♀ 5	経口	2000	>2000		VIII-254
70 [GLP]	急性毒性 5%粒剤(新) 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂♀ 0, 2000	♂ >2000 ♀ >2000		VIII-255
71 [GLP]	皮膚刺激性 5%粒剤(新) 3日間観察	ウサギ	♂ 3	貼付	0.5 g/2.5×2.5 cm	刺激性なし		VIII-256
72 [GLP]	眼刺激性 5%粒剤(新) 3日間観察	ウサギ	♂ 非洗眼 3 洗眼 3	点眼 点眼	0.1 g/右眼 0.1 g/右眼	極軽度の刺激性あり 洗眼効果あり		VIII-257
73 [GLP]	皮膚感受性 [Buehler法] 5%粒剤(新) 48時間観察	モルモット	♂ 20	感作: (3回) 惹起:	100%検体 貼付(7日 間隔) 100%検体 貼付	感受性なし		VIII-259
74 [GLP]	急性毒性 5%粒剤(旧) 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂♀ 2500, 3000, 3600, 4320, 5184, 6221	♂ 4021 ♀ 5304		VIII-261
75 [GLP]	急性毒性 5%粒剤(旧) 14日間観察	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	♂♀ 1538, 2000, 2600, 3380, 4394, 5712	♂ 2051 ♀ 3586		VIII-263
76 [GLP]	急性毒性 5%粒剤(旧) 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経皮	♂♀ 0, 2000	♂ >2000 ♀ >2000		VIII-264
77 [GLP]	皮膚刺激性 5%粒剤(旧) 3日間観察	ウサギ	♂ 6	貼付	0.5 g/2×3 cm	刺激性なし		VIII-265
78 [GLP]	眼刺激性 5%粒剤(旧) 3日間観察	ウサギ	♀ 非洗眼 6 洗眼 3	点眼 点眼	0.1 g/右眼 0.1 g/右眼	軽度の刺激性あり 洗眼効果あり		VIII-267
79 [GLP]	皮膚感受性 [GPM法] 5%粒剤(旧) 48時間観察	モルモット	♂ 25	感作: 惹起:	5%検体 皮内注射 7日後; 25%検体 貼付 21日後; 25%検体 貼付	感受性なし		VIII-269

注: (新)新処方、(旧)旧処方

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(6)25%マイクロカプセル剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
80 [GLP]	急性毒性 25%MC剤(新) 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経口	♂♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000		VII-271
81 [GLP]	急性毒性 25%MC剤(新) 14日間観察	マウス	♂ 5 ♀ 5	経口	♂♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000		VII-272
82 [GLP]	急性毒性 25%MC剤(新) 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂♀ 2000	♂ >2000 ♀ >2000		VII-273
83 [GLP]	皮膚刺激性 25%MC剤(新) 3日間観察	ウサギ	♂ 6	貼付	0.5 mL/2.5× 2.5 cm	刺激性なし		VII-274
84 [GLP]	眼刺激性 25%MC剤(新) 3日間観察	ウサギ	♀ 非洗眼 6	点眼	0.1 mL/右眼	刺激性なし		VII-276
85 [GLP]	皮膚感受性 [GPM法] 25%MC剤(新) 48時間観察	モルモット	♀ 20	感作： (2回) 惹起：	5%検体 0.1 mL 皮内注射 7日後；検体原液 貼付 21日後；検体原液， 50%検体 貼付	感受性あり		VII-278
86 [GLP]	急性毒性 25%MC剤(旧) 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂♀ 0, 5000	♂ >5000 ♀ >5000		VII-280
87 [GLP]	急性毒性 25%MC剤(旧) 14日間観察	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	♂♀ 0, 5000	♂ >5000 ♀ >5000		VII-281
88 [GLP]	急性毒性 25%MC剤(旧) 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経皮	♂♀ 0, 2000	♂ >2000 ♀ >2000		VII-282
89 [GLP]	皮膚刺激性 25%MC剤(旧) 5日間観察	ウサギ	♂ 6	貼付	0.5 mL/2×3 cm	軽微な刺激性あり		VII-283
90 [GLP]	眼刺激性 25%MC剤(旧) 3日間観察	ウサギ	♂ 非洗眼 6 洗眼 3	点眼 点眼	0.1 mL/右眼 0.1 mL/右眼	刺激性なし		VII-285
91 [GLP]	皮膚感受性 [GPM法] 25%MC剤(旧) 48時間観察	モルモット	♂ 25	感作： (2回) 惹起：	2%検体 皮内注射 7日後；検体原液 貼付 21日後；25%検体 貼付	感受性あり		VII-287

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(7) 40% E W 剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
92 [GLP]	急性毒性 40% E W 剤 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経口	♂ ♀ 707, 1000, 1414, 2000, 2828	♂ 1802 ♀ 2593		VII-289
93 [GLP]	急性毒性 40% E W 剤 14日間観察	マウス	♂ 5 ♀ 5	経口	♂ ♀ 342, 447, 585, 765, 1000	♂ 585 ♀ 829		VII-291
94 [GLP]	急性毒性 40% E W 剤 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂ ♀ 2000	♂ >2000 ♀ >2000		VII-293
95 [GLP]	皮膚刺激性 40% E W 剤 3日間観察	ウサギ	♂ 6	貼付	0.5 mL/2.5× 2.5 cm	軽度の刺激性 あり		VII-294
96 [GLP]	眼刺激性 40% E W 剤 3日間観察	ウサギ	♂ ♀ 非洗眼 6 洗眼 3	点眼 点眼	0.1 g/右眼 0.1 g/右眼	軽度の刺激性 あり 洗眼効果なし		VII-296
97 [GLP]	皮膚感受性 〔GPM法〕 40% E W 剤 48時間観察	モルモット	♀ 20 陽性対照 ♀ 10	感作： (2回) 惹起：	1%検体 皮内注射 7日後；検体原液 貼付 21日後；検体原液， 75%検体 貼付	軽度の感 作性あり		VII-299

(8) 10% 粒剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
98 [GLP]	急性毒性 10% 粒剤 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経口	♂ ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000		VII-302
99 [GLP]	急性毒性 10% 粒剤 14日間観察	マウス	♂ 5 ♀ 5	経口	♂ ♀ 128, 320, 800, 2000, 5000	♂ 1519 ♀ 1265		VII-303
100 [GLP]	急性毒性 10% 粒剤 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂ ♀ 2000	♂ >2000 ♀ >2000		VII-305
101 [GLP]	皮膚刺激性 10% 粒剤 3日間観察	ウサギ	♂ ♀ 6	貼付	0.5 g/2.5×2.5 cm	刺激性なし		VII-306
102 [GLP]	眼刺激性 10% 粒剤 3日間観察	ウサギ	♂ ♀ 非洗眼 6	点眼	0.1 mL (98 mg)/ 右眼	中等度の刺激 性あり		VII-307
103 [GLP]	皮膚感受性 〔Buehler法〕 10% 粒剤 48時間観察	モルモット	♀ 20 陽性対照 ♀ 10	感作： (3回) 惹起：	75%検体ワセリン調製物 貼付(7日間隔) 28日後；75%，50% 検体ワセリン調製物 貼付	感受性なし		VII-309

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

4. 参考資料

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
13 [参考]	反復経口投与 毒性(6カ月)	ラット	♂ 30 ♀ 30	経口 (混餌)	♂♀ 0, 5, 25, 125, 500ppm WHO換算方式 ♂♀ 0, 0.25, 1.25, 6.25, 25	♂♀ 125 ppm ♂♀ 6.25		VII-311
15 [参考]	反復経口投与 毒性(8カ月)	イヌ	♂ 3 ♀ 3	経口	♂♀ 0, 2.5, 5, 10, 20	♂♀ 5		VII-316
16 [参考]	反復経口投与 毒性(8カ月)	ブタ	♂ 3 ♀ 3	経口	♂♀ 0, 1.25, 2.5, 5, 10	♂ 1.25 ♀ 1.25		VII-320
22 [参考]	25%水和剤 慢性毒性 104週間	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口 (混餌)	♂ 0, 10, 100, 1000*ppm ♀ 0, 10, 100ppm *100ppm投与開始し、10週間後 1000ppmまで投 与濃度を増量 した。 ♂ 0, 0.166, 1.60, 15.7 ♀ 0, 0.142, 1.44	♂♀ <10ppm ♂ <0.166 ♀ <0.142		VII-323
25 [参考]	発がん性 103週間	ラット	投与群 ♂ 50 ♀ 50 対照群 ♂ 25 ♀ 25	経口 (混餌)	♂♀ 0, 400, 800 ppm WHO換算方式 ♂♀ 0, 20, 40	♂♀ <800 ppm* ♂♀ <20 発がん性なし *申請者による記載		VII-328
29 [参考]	50%水和剤 繁殖毒性 3世代	ラット	♂ 10~20 ♀ 20	経口 (混餌)	F0世代 ♂♀ 0, 4 ppm F1, F2, F3世代 ♂♀ 0, 4, 8 ppm WHO換算方式 親動物 ♂♀ 0, 0.2, 0.4 児動物 ♂♀ 0, 0.4, 0.8	親動物・児動物 ♂♀ 8ppm 親動物♂♀ 0.4 児動物♂♀ 0.8 繁殖に対する 影響なし		VII-339

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

1. 原体を用いた試験成績

(1) 急性毒性

1) ラットにおける急性経口及び経皮毒性試験

(資料No. 1)

試験機関：

報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物： 系ラット、10週齢、体重 雄 200～232 g、雌 150～165 g
1群雌雄各10匹

観察期間： 7日間

投与方法： 経口投与では検体をコーン油に溶解し体重100g当り1mLを胃内に投与した。
経皮投与では検体をメタノールに溶解し背部中央の剪毛皮膚4×5cmに体重100g
当り0.2mLを塗布し、塗布24時間後に微温湯で塗布面を洗浄した。

絶食期間： 報告書に記載なし

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を7日間観察した。

結 果：	投与方法	経口
	投与量 (mg/kg)	雄 418、502、603、723 雌 349、418、502、603
	LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 521 (486～558) 雌 485 (447～525)
	死亡開始時間及び終了時間	雄 投与1日後から開始 投与4日後に終了 雌 投与1日後から開始 投与3日後に終了
	症状発現時間及び消失時間	投与1時間前後から発現 投与4～5日後に消失
	死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 418 雌 349

中毒症状としては、雌雄に関係なく、投与1時間前後より鎮静し、引きつづき流涎、流涙、振せんが観察された。症状は徐々に著明となり、間代性けいれん、鼻孔周辺に血液飛沫の付着、眼部に血液を認め、尿失禁、軟便の排泄も認められた。徐々に呼吸困難、瘠瘦著明となり、衰弱して1～3日後にかけて死亡した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄 982、1178、1413、1696、 2035、2443 雌 545、654、785、942、 1131、1357
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1666 (1508~1840) 雌 876 (795~966)
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与2日後から開始 投与5日後に終了 雌 投与2日後から開始 投与6日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与4~5時間前後から発現 投与1週間後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 982 雌 545

中毒症状としては、投与4~5時間後より鎮静し、流涙と軽度の振せんが観察された。1日後には流涎、尿失禁を示し、沈うつ状態になったが、死亡動物は認めなかった。2日後には極度に衰弱し、振せん、尿失禁、下痢を呈し死亡を開始した。

経口投与と経皮投与における毒性を比較すると、経皮投与の場合は毒性が弱く、ダイアジノン皮膚からの吸収よりも、消化器官から吸収されやすいことが示唆された。

また、経皮投与によるLD₅₀値は、雄 1666 mg/kg、雌 876 mg/kgで、雌は雄に比較して2倍の感受性を示し、性差が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) ラットにおける急性経口、皮下、腹腔内及び経皮毒性試験 (資料No. 2)

試験機関：
報告書作成年

検体の純度： ()

供試動物： 系ラット、5週齢、体重 雄 90～115 g、雌 80～100 g
1群雌雄各10匹(経皮投与は雄のみ実施)

観察期間：7日間

実施期間 6月22日～ 8月31日

投与方法：経口投与では検体をコーン油に溶解し体重100g当り1mLを胃内に投与した。
皮下投与及び腹腔内投与では経口投与と同様に検体をコーン油に溶解し、腹部皮下または下腹部より腹腔内に体重100g当り0.5mLを投与した。
経皮投与では検体をそのまま背部の剪毛皮膚2×3cmに塗布した。

絶食期間：報告書に記載なし

観察・検査項目：中毒症状及び生死を7日間観察した。

結果：	投与方法	経口
	投与量 (mg/kg)	502、602、723、868、1041、 1250、1500
	LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 868 (780～966) 雌 822 (744～908)
	死亡開始時間及び終了時間	雄 投与1日後から開始 投与5日後に終了 雌 投与1日後から開始 投与3日後に終了
	症状発現時間及び消失時間	投与1時間前後から発現 投与4～5日後に消失
	死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに502

中毒症状としては、雌雄に関係なく、投与1時間前後より鎮静し、引きつづき流涎、流涙、振せんが観察された。症状は徐々に著明となり、間代性けいれん、鼻孔周辺に血液飛沫の付着、眼部に血液を認め、尿失禁、軟便の排泄も認められた。徐々に呼吸困難、瘠瘦著明となり、衰弱して1～2日後にかけて昏睡死亡に至った。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

投与方法	皮下
投与量 (mg/kg)	1390、1670、2000、2400、 2800、3460、4150
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 2190 (2010~2390) 雌 2450 (2170~2750)
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与1日後から開始 投与4日後に終了 雌 投与2日後から開始 投与5日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与5~6時間前後から発現 投与5~6日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに1390

中毒症状としては、投与5~6時間前後より経口投与と同様な症状を呈し、2日後では衰弱著しくほとんど自発的な運動を認めず、2~4日後にかけて昏睡死亡に至った。

投与方法	腹腔内
投与量 (mg/kg)	102、603、723、848、1043
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 738 (676~805) 雌 765 (710~825)
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与1日後から開始 投与3日後に終了 雌 投与2日後から開始 投与4日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与1時間前後から発現 投与4~5日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 102 雌 603

中毒症状としては、経口投与とほぼ同様に、雌雄に関係なく、投与1時間前後より鎮静し、引きつづき流涎、流涙、振せんが観察された。症状は徐々に著明となり、間代性けいれん、鼻孔周辺に血液飛沫の付着、眼部に血液を認め、尿失禁、軟便の排泄も認められた。徐々に呼吸困難、瘠瘦著明となり、衰弱して1~2日後にかけて昏睡死亡に至った。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	964、1160、1390、1670、2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1440 (1330~1570)
死亡開始時間及び終了時間	投与2日後から開始 投与4日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与3時間前後から発現 投与3~4日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	964

経皮投与では中毒症状の発現は極めて遅く、投与3時間後には全く中毒症状を認めなかった。高薬量投与群では1日後に流涎、流涙、振せんを認め、ほとんど運動不能となり、2~4日後までの間に昏睡死亡に至った。

各投与経路における毒性を比較すると、経口投与と腹腔内投与がほぼ同等であり、次に経皮投与であり、皮下投与の場合が最も弱かった。このことから経口投与における消化器官または腹腔内投与における腹腔漿膜面からのダイアジノンの吸収は、皮下または経皮投与における皮膚からの吸収よりも大きいことが示唆された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. 3)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物： 系マウス、6週齢、体重 雄 28.8±0.8 g、雌 23.2±0.9 g
1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

実施期間 1986年6月10日～1986年7月3日

投与方法：検体をコーン油で溶解し胃内に体重100g当り1mLを投与した。

絶食期間：報告書に記載なし

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察し、投与直前と投与3、7、10及び14日後に体重を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	105、137、178、231、300、390
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 177 (152.6～203.6) 雌 178 (154.6～203.6)
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与2時間後から開始 投与2日後に終了 雌 投与1日後から開始 投与3日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与10分後から発現 投与3日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに105

中毒症状としては、雌雄に関係なく、自発運動の低下、下痢、流涎、流涙、鎮静、及び衰弱が認められた。雌雄ともに投与3日後に体重抑制または抑制傾向がみられ、以後回復に向かった。解剖所見では死亡例に肺のうっ血、胃粘膜の出血、胃粘膜の糜爛、肝臓及び小腸粘膜の出血が認められたが、生存例では雌雄ともに異常所見は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

4) マウスにおける急性経口、皮下、腹腔内及び経皮毒性試験 (資料No. 2)

試験機関：
報告書作成年

検体の純度： ()

供試動物： 系マウス、5週齢、体重 雄 19.0~24.5 g、雌 17.0~23.7 g
1群雌雄各10匹

観察期間：7日間

実施期間 1975年12月4日~12月11日、1976年6月28日~7月5日

投与方法：経口投与では検体をコーン油に溶解し胃内に体重10g当り0.1mLを投与した。
皮下投与及び腹腔内投与では経口投与と同様に検体をコーン油に溶解し、腹部皮下または下腹部より腹腔内に体重10g当り0.05mLを投与した。
経皮投与では検体をそのまま背部の剪毛皮膚1×1cmに塗布した。

絶食期間：報告書に記載なし

観察・検査項目：中毒症状及び生死を7日間観察した。

結 果：	投与方法	経口
	投与量 (mg/kg)	100、121、145、174、208、 250、300
	LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 145 (131~160) 雌 194 (177~212)
	死亡開始時間及び終了時間	雄 投与1日以内に開始 投与4日後に終了 雌 投与3時間後から開始 投与5日後に終了
	症状発現時間及び消失時間	投与30分後から発現 投与4~5日後に消失
	死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 100 雌 121

中毒症状としては、雌雄に関係なく、投与30分前後より鎮静し、流涎、流涙、振せんが観察された。症状は徐々に著明となり、間代性けいれんを発症し、発汗著明、運動不能となり、3時間前後より徐々に昏睡がみられ、死亡した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

投与方法	皮下
投与量 (mg/kg)	267、322、386、463、556、 667、800
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 372 (341~406) 雌 454 (405~510)
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与1日後から開始 投与5日後に終了 雌 投与1日後から開始 投与4日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与4~5時間後から発現 投与1週間後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに267

中毒症状としては、雌雄に関係なく、投与4~5時間前後より鎮静し、その後、流涎、流涙及び振せんを発症した。1日後には全動物で症状が著しく、摂食せず、また、運動不能、呼吸困難著明で間代性けいれんを認め、徐々に衰弱して昏睡死亡した。

投与方法	腹腔内
投与量 (mg/kg)	121、145、174、208、250
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 156 (143~169) 雌 177 (164~191)
死亡開始時間及び終了時間	投与1日後から開始 投与4日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与30分以内に発現 投与4日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに121

中毒症状としては、雌雄に関係なく、投与30分以内に鎮静し、流涎、流涙、振せんが観察された。症状は徐々に著明となり、間代性けいれんを発症し、発汗著明、運動不能となり、3時間前後より徐々に昏睡がみられ、死亡した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	165、198、253、319、396、 495、616、770
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 324 (373~387) 雌 429 (378~486)
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与2日後から開始 投与4日後に終了 雌 投与2日後から開始 投与5日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与12時間後から発現 投与4~5日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 165 雌 253

中毒症状としては、高薬量投与群で12時間前後より流涎、流涙、振せん等を呈し、経口投与と同様の経過をたどり2~3日後にかけて死亡した。

各投与経路における毒性を比較すると、経口投与と腹腔内投与はほぼ同等の毒性であり、また、皮下投与と経皮投与がほぼ同等の毒性であった。しかし、皮下投与及び経皮投与による毒性は、経口投与及び腹腔内投与による毒性より約3倍弱いことから、ダイアジノン皮膚からの吸収よりも消化器官または腹腔内組織・器官から吸収されやすいことが示唆された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

5) ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料No. 4)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物： 系ラット(7～9週齢) 1群雌雄各5匹

体重； 雄 189～217 g、雌 194～216 g

観察期間：14日間観察

実施期間 4月9日～ 5月16日

投与方法：連続的に一定量の検体をエアゾール発生器に送り込み、吸入可能な検体の微小粒子を含むエアゾール(ミスト)を発生させ粒子暴露室に供給した。動物は個体別ケージに入れ、暴露室内で4時間全身暴露させた。検体濃度は表面付着型フィルターを用い、粒径分布はMayのマルチステージ液体インピンジャーを用いて測定した。暴露条件と暴露期間中の検体濃度及び粒径測定の結果は下記のとおりであった。1群は対照群とし検体を除いて同様の処理を行った。

暴露室容量 115 L

通気量 25 L/min.

検体濃度及び粒径分布

試験群	検体濃度 (mg/L)	粒径分布 (%) < 55 μ m
1	0	—
2	4.18	67
3	3.33	69
4	3.61	69
5	2.72	72
6	2.12	75

観察・検査項目：

中毒症状及び生死を14日間観察し、毎日体重を測定し、群毎に摂餌量と飲水量を測定した。

死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

また、肺、肝臓及び腎臓の病理組織学的検査を行った。

L C₅₀値は対数プロビット法を用いて算定した。

結 果：

経時間的死亡率及びL C₅₀値；暴露後の経時間的死亡率を次頁の表に示した。

3, 4及び5群の死亡率から検体の4時間暴露のL C₅₀値は3.1 mg/L(標準誤

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

差0.10 mg/L)と推定した。

一般症状；検体暴露群では以下の症状が認められた。

暴露中 閉眼または半閉眼、流涙、流涎、呼吸数と呼吸運動の異常、
蹲踞姿勢。

観察期間中 全身振せん、細動性振せん、運動失調、立毛、接触に対する
過敏性促進、眼球突出、流涙、呼吸数ないしは呼吸運動の
異常、下痢、小糞塊。

体重；雄では9日後まで、雌では8日後まで体重の低下もしくは体重増加抑制が認められた。

摂餌量及び飲水量；観察期間中、生存動物のいる群では、雄で8日まで、雌で3日まで摂餌量の低下が認められ、飲水量は8日まで低下した。

肺重量対体重比；死亡動物では全て高い値であった。

肉眼的病理所見；生存動物では特記すべき所見を認めなかった。

死亡動物では以下の所見が認められた。

肺のうっ血、胸腺のうっ血、肝臓と脾臓の矮小化、消化管の膨満化、副腎の退色ないしは肥大、肝臓と腎臓の退色、胃噴門部の穿孔(1動物)。

病理組織学所見；脾臓において2、3及び4群の一部の動物で赤脾髄と白脾髄もしくはいずれか一方の減少。胃において3群の雄1匹で前胃部の潰瘍。

暴露後の経時的死亡率(死亡数/供試数)

試験群 検体濃度(mg/L)	雄						雌						雌雄合計 14日
	0	1	2	3	7	14日	0	1	2	3	7	14日	
1 (0)	0/5	→	→	→	→	0/5	0/5	→	→	→	→	0/5	0/10
2 (4.18)	0/5	→	→	2/5	5/5		→	2/5	3/5	5/5			10/10
3 (3.33)	0/5	→	→	1/5	2/5	3/5	→	→	2/5	5/5			8/10
4 (3.61)	0/5	→	→	2/5	5/5		→	2/5	4/5	→	5/5		10/10
5 (2.72)	0/5	→	→	→	→	0/5	0/5	→	→	→	→	0/5	0/10
6 (2.12)	0/5	→	→	→	→	0/5	0/5	→	→	→	→	0/5	0/10

以上の結果、ラットにおける4時間全身暴露によるダイアジノンの吸入毒性LC₅₀値は、3.1 mg/L(標準誤差 0.1 mg/L)と推定された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

6) マウスにおける急性吸入毒性試験

(資料No. 5)

試験機関：

報告書作成年

検体の純度：

供試動物： 系マウス 雄、7週齢、体重 雄 18～22 g、1群10匹

観察期間：7日間

実施時期 年6月

投与方法：検体に2%キシロール、2%ソルポール(N02020)を加え、水にて乳濁液としたものを試験溶液とした。これを連続注入装置によりガラス製噴霧器に滴下し、5L/min.の空気をコンプレッサーより送り、マウスを入れたデシケーター内に噴霧して4時間吸入させた。薬剤の噴霧量と送気量から吸入室中濃度を計算した。デシケーター内のマウスは経皮毒性をさけるためにポリエチレンの容器内に入れて頭部だけを出した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を7日間観察した。

結 果：	投与方法	吸入
	投与量 (mg/m ³)	334、401、481、578、694、 833、1000、1200、1440
	LC ₅₀ (mg/m ³) (95%信頼限界)	630 (525～756)
	死亡開始時間及び終了時間	投与開始4時間以内に開始 投与3日後に終了
	死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/m ³)	334

中毒症状としては、吸入直後に生存しているマウスはそれほど衰弱していないが、徐々に衰弱度を増し、24～48時間後には呼吸困難症状を示して、時々振せんを起こし、やがて死亡した。その他軽度の放尿を認めた。高濃度吸入群では4時間吸入中に死亡するマウスもあった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No. 6)

試験機関：

報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物：若令成獣雌ウサギ 1群6匹

観察期間：48時間

投与方法：ウサギの背部を電気バリカンで剪毛し、2.54 cm×2.54 cmの範囲の塗布部位を1匹当たり2箇所設け、擦過区と非擦過区とした。これにアセトンで10%に希釈した検体を1区当たり0.1 mL塗布し、被覆固定した。適用時間は4時間とし、皮膚に残った検体は除去した。

観察項目：塗布検体除去後に最初の観察を行い、以後24時間後および48時間後に塗布部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無をDraize法にしたがい観察した。

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。

検体除去後に軽度の紅斑が認められたが、24時間後にはこれらの反応は消失し始め、48時間後には回復した。また、観察期間中いずれの動物にも浮腫を認めなかった。

皮膚刺激率は0.36であった。

以上の結果から、ダイアジノン原体はウサギの皮膚に対して非常に弱い刺激性があると判定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

ダイアジノン原体の皮膚刺激性試験 個体別刺激性評点

動物番号	項目	最高 評点	暴露後時間			
			4時間	24時間	48時間	
非 擦 過 区	1	紅斑・痂皮	4	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0
	2	紅斑・痂皮	4	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0
	3	紅斑・痂皮	4	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0
	4	紅斑・痂皮	4	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0
	5	紅斑・痂皮	4	1	1	0
		浮腫	4	0	0	0
	6	紅斑・痂皮	4	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0
	合計	紅斑・痂皮	24	4	1	0
		浮腫	24	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.7	0.2	0	
	浮腫	4	0	0	0	
擦 過 区	1	紅斑・痂皮	4	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0
	2	紅斑・痂皮	4	1	1	0
		浮腫	4	0	0	0
	3	紅斑・痂皮	4	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0
	4	紅斑・痂皮	4	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0
	5	紅斑・痂皮	4	1	1	0
		浮腫	4	0	0	0
	6	紅斑・痂皮	4	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0
	合計	紅斑・痂皮	24	6	2	0
		浮腫	24	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.0	0.3	0	
	浮腫	4	0	0	0	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No. 7)

試験機関：
報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物：若令成獣雌ウサギ 洗眼群 5 匹、非洗眼群 3 匹

観察期間：7 日間

投与方法：検体を 5%アラビアゴム水溶液に懸濁し、10倍希釈液とした。この10倍希釈液 0.1mlを片方の眼の下眼瞼結膜のう内に適用し、5匹は適用5分後に水で洗眼した。3匹については洗眼しなかった。

観察項目：適用1、24、48、72時間後および7日後に、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。評価基準は表2に示した。

結果：観察した刺激性変化の評点は、次頁の表1のとおりである。
非洗眼群、洗眼群ともに一過性の刺激反応がみられたが、刺激性陽性と判定する動物は認められなかった。

以上の結果から、ダイアジノン原体はウサギの眼粘膜に対して、一過性の刺激反応はみられるが、眼刺激性はないと判定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表1 ダイアジノン原体の眼刺激性試験 個体別刺激性評点

項目		最高 評点	適用後時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間	7日間	
非洗 眼群	動物 番号 1	角膜混濁	4	0	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0	0
		結膜発赤	3	1	1	0	0	0
		結膜浮腫	4	0	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜混濁	4	0	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0	0
		結膜発赤	3	1	1	0	0	0
		結膜浮腫	4	0	0	0	0	0
	動物 番号 3	角膜混濁	4	0	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0	0
		結膜発赤	3	1	0	0	0	0
		結膜浮腫	4	0	0	0	0	0
	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	1	0.7	0	0	0
		結膜浮腫	4	0	0	0	0	0
洗眼群 (5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	1	0.4	0	0	0	
	結膜浮腫	4	0	0	0	0	0	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表2 眼の反応に対する評点

	評点
角膜	
潰瘍あるいは混濁なし	0
虹彩を明視できる程度の、散在性～びまん性の不透明化	1 (1)
虹彩の細部がわずかにぼやけて見える	2 (1) (2)
虹彩の細部は識別不能、瞳孔の大きさはほとんど判別不能	3 (1) (2)
完全な角膜混濁、虹彩は全く見えない	4 (1) (2)
潰瘍角膜上皮の広い部分にわたる欠損	4 (1) (2)
虹彩	
正常	0
皺壁形成亢進、充血、腫脹、角膜周囲の充血(いずれか1つ、あるいは総て、もしくは、これらの組合せ)がみられるが、対光反射は健在(緩慢な反応は陽性である)	1 (1)
光に対する反応なし、出血、全体の破壊(これらのうちどれかあるいは全部)	2 (1)
結膜	
赤み(角膜と虹彩を除いた眼瞼および結膜に関する)	
正常な血管網	0
幾つかの血管は明確に充血	1
びまん性にやや深紅色、個々の血管は容易に見分けられない	2 (1)
びまん性の牛肉色	3 (1)
結膜浮腫	
腫脹なし	0
正常を上回るわずかな腫脹(瞬膜を含む)	1
部分的な両眼瞼の反転を伴う顕著な腫脹	2 (1)
両眼瞼が約半分閉じているほど腫脹	3 (1)
半分以上の閉瞼を伴った腫脹	4 (1)
眼瞼および眼球結膜あるいは瞬膜の潰瘍あるいは壊死	4 (1) (2)

(1) 刺激性陽性とみなされる評点

(2) 腐食性陽性とみなされる評点

更に、評点1の混濁が6日ないしそれ以上にわたって存続する場合、腐食性ありとみなされる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(3)皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No. 8)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物： 系モルモット、体重 306～400 g、1群雌雄各10匹

観察期間：48時間(実施期間 年5月19日～ 年7月6日)

試験方法：[GPM法]

用量設定根拠：

感作；適用前日にモルモットの背部を剪毛、剃毛した。検体投与群にはFCA、10% (v/v)検体蒸留水溶液及び10% (v/v)検体FCA溶液を0.1 mLずつ皮内注射した(一次感作)。陰性対照群にはFCA、蒸留水、蒸留水とFCA等量混合液を0.1 mLずつ皮内注射した。

両群ともに皮内注射6日後に10% (w/v)ラウリル硫酸ナトリウム(SLS)含有白色ワセリンを塗布し、皮内注射7日後、検体投与群には検体原液を0.6 mL吸収させた40×25 mmのろ紙を48時間閉塞貼付した(二次感作)。陰性対照群には蒸留水を0.6 mL吸収させたろ紙を48時間閉塞貼付した。

惹起；二次感作の2週間後、左腹側部には蒸留水を、右腹側部には検体原液をそれぞれ0.03 mL吸収させた直径10 mmのろ紙を24時間閉塞貼付した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

観察項目：惹起の閉塞貼付除去24及び48時間後に、Magnusson-Kligman法により、適用部位における紅斑または浮腫の有無を肉眼的に観察した。

反応の程度を以下の基準で採点し、皮膚感作性の強さを評価した。

評点1以上の陽性反応が20匹中2匹以上に認められた場合に陽性と判定した。

評点	判定基準
0	反応なし
±	軽度散在性の紅斑
1	軽度びまん性または中等度散在性の紅斑
2	中等度びまん性の紅斑
3	強度びまん性の紅斑

結果：皮膚反応の観察結果は、下表のとおりである。

群			供試動物数	感作反応動物数											
				24時間			48時間								
感作	惹起	皮膚反応評点			計	皮膚反応評点			計						
		0		±		1 2 3	0	±		1 2 3					
検体	10%検体(皮内) 検体原液(経皮)	検体原液	20	11	1	6	0	0	6/18	8	5	4	1	0	5/18
陰性 対照	蒸留水(皮内) 蒸留水(経皮)	検体原液	20	18	2	0	0	0	0/20	18	2	0	0	0	0/20

検体投与群では、24時間後の観察で評点1の紅斑が6例、48時間後の観察で評点2の紅斑が1例、評点1が4例に、評点1に満たない程度の軽度紅斑がそれぞれ1例及び5例認められた。

対照群の検体原液適用部位では2例に、評点1に満たない軽度散在性の紅斑がみられた。

試験期間中に2例の死亡が確認され、そのうち1例は剖検の結果、検体投与による死亡と判定された。

以上の結果から、ダイアジノン原体の皮膚感作性はあると判定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(4)急性神経毒性

1) ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料No. 9)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物： 系ラット、開始時5週齢、1群雌雄各10匹

体重 雄106～121 g(平均114.3 g)、雌102～119 g(平均110.0 g)

観察期間：14日間(雄； 7月5日～ 7月19日、雌； 7月6日～ 7月20日)

投与方法：検体をトウモロコシ油に溶解し、0、100、300及び500 mg/kgの投与量で体重
100 g当り0.5 mLを経口投与した。

投与前に16～18時間絶食した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率；投与当日は投与直後から投与後1時間までは連続して、さらに、投与後2、4及び6時間に生死を観察した。その後は投与後1日から13日まで毎日、午前・午後の2回、投与後14日は午前に1回観察した。

観察期間中死亡した動物はなかった。

一般状態；生死の観察と同時期に一般状態を観察した。

認められた症状を下表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

検査 時期	性別	雄				雌			
	投与量(mg/kg)	0	100	300	500	0	100	300	500
	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
1時間	粘液便	0	0	0	0	1	0	1	2
	肛門周囲の被毛の 汚れ	0	0	0	0	0	0	0	1
2時間	粘液便	1	0	0	0	0	0	1	0
	肛門周囲の被毛の 汚れ	0	0	0	0	0	0	1	1
4時間	粘液便	1	0	1	2	0	0	0	1
	肛門周囲の被毛の 汚れ	0	0	1	3	0	0	1	0
	よろめき歩行	0	0	0	2	0	0	0	2
6時間	呼吸緩徐	0	0	0	1	0	0	0	0
	自発運動の低下	0	0	1	7	0	0	0	5
	体温低下	0	0	0	2	0	0	0	0
	粘液便	0	0	0	0	0	1	0	1
	腹臥位	0	0	0	1	0	0	0	0
	肛門周囲の被毛の 汚れ	0	0	2	4	0	1	5	2
	外尿道口周囲の被 毛の汚れ	0	0	1	2	0	1	3	7
	よろめき歩行	0	0	0	2	0	0	0	1
	振戦	0	0	0	1	0	0	0	0
1日	自発運動の低下	0	0	0	3	0	0	0	3
	粘液便	1	0	3	5	2	1	4	6
	肛門周囲の被毛の 汚れ	0	0	3	7	0	0	3	8
	外尿道口周囲の被 毛の汚れ	0	0	1	8	0	0	4	10
	眼周囲の被毛の汚 れ	0	0	0	2	0	0	0	2
	口周囲の被毛の汚 れ	0	0	1	8	0	0	0	5
	よろめき歩行	0	0	0	0	0	0	0	1
	頻呼吸	0	0	0	1	0	0	0	0
	振戦	0	0	0	1	0	0	0	0
2日	外尿道口周囲の被 毛の汚れ	0	0	0	1	0	0	0	1
	口周囲の被毛の汚 れ	0	0	0	1	0	0	0	0

統計解析は実施せず。

500 mg/kg投与群の雌雄で投与後4時間から投与後1日にかけて自発運動の低下
やよろめき歩行、呼吸緩徐、体温低下などを示す例が認められ、検体投与に関

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

連した変化と考えられた。

300 mg/kg投与群の雄1例でも自発運動の低下が認められた。

また、粘液便及び被毛の汚れが、対照群では数例のみの発生であるのと比較して、500及び300 mg/kg投与群の雌雄で多数例に認められ、これらの変化も検体投与に関連したものと考えられた。

100 mg/kg投与群の雌雄では検体投与による影響はなかった。

体重変化；投与前、投与後1、3、5、7、10及び14日にすべての動物の体重を測定した。対照群と比較して統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

検査時期	投与量(mg/kg)					
	雄			雌		
	100	300	500	100	300	500
1日	↓96	↓85	↓77		↓85	↓78
3日		↓92	↓87			↓90
5日		↓94	↓91			↓93
7日			↓94			

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01（Dunnett検定またはMann-WhitneyのU検定）

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの

500及び300 mg/kg投与群の雌雄で投与後1日に有意な低値がみられ、この有意差は500 mg/kg投与群の雄で最も持続的であり、投与後7日まで認められた。この変化には用量依存性もみられることから、検体投与に関連した変化と考えられた。

100 mg/kg投与群の雄で投与後1日にのみ有意な低値がみられたが、ごく軽度な変化であった。

100 mg/kg投与群の雌では検体投与による影響はなかった。

<申請者注：100 mg/kg投与群の雄で投与後1日にのみ認められた体重の有意な低値(平均体重130.8 g)は一過性のごく軽度な変化であり、実施機関の背景データ(142.7±14.3 g)の範囲内の変動であることから、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。>

詳細な状態の観察；投与前、投与後5時間、投与後7及び14日に、全例を対象として、以下の項目を観察し、あらかじめ定めたスコアリング基準を用いて評価した。

ホームケージ；体位・姿勢、呼吸状態、振戦・痙攣、常同行動/回転・旋回、異常行動/自咬

ハンドリング；ケージから取り出す際の取り出し易さ、取り扱い易さ、筋収縮性、立毛、被毛の状態、眼・眼球及び粘膜の外観、皮膚、瞳孔径、流涙、流涎、その他の分泌物の有無

オープンフィールド；歩行、運動協調性、環境刺激に対する反応、探索行動、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

排泄状態/排尿・排糞、常同行動/身づくろい・くびふり、異常行動/後ずさり・異常発声、攻撃性

対照群と比較して統計学的有意差または傾向が認められた項目を下表に示す。

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量(mg/kg)	0	100	300	500	0	100	300	500
	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
5時間	体位・姿勢： 横臥位	0	0	0	<5>	0	0	3	↑8
	被毛：軽度の汚れ	1	0	2	<5>	0	0	2	<3>
	歩行：なし	0	0	0	<2>	0	0	0	<1>
	運動協調性： ふらつき (歩行失調)	0	0	0	↑6	0	0	0	<5>
	環境刺激に対する 反応：なし	0	0	0	0	0	0	0	<1>

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01 (Mann-WhitneyのU検定)

< >：有意差は認められないが、参考値として記載した

500 mg/kg投与群で投与後5時間に雄の運動協調性の失調例（ふらつき）及び雌の体位・姿勢の異常例（横臥位）が有意な増加を示し、その他に被毛の汚れを示す例や歩行のみられない例、あるいは環境刺激に対する反応の低下した例も認められた。これらの変化はいずれも検体投与に関連した変化と考えられた。

<申請者注：500 mg/kg投与群で投与後5時間に統計学的に有意ではないが、雌の運動協調性の失調例（ふらつき）及び雄の体位・姿勢の異常例（横臥位）が増加傾向を示し、これらの変化についても検体投与の影響と考えられた。>

300及び100 mg/kg投与群の雌雄では検体投与による影響はなかった。

機能検査；投与開始前、投与後5時間、投与後7及び14日に、全例を対象として、以下の項目を観察し、あらかじめ定めたスコアリング基準を用いて評価した。視覚刺激(接近反応)、触覚刺激(接触反応)、聴覚刺激(音に対する反応)、痛覚刺激(尾根部を挟む)、固有受容器刺激(強制姿勢からの復帰)、空中正向反射さらに、以下の項目の測定を行った。前後肢握力、後肢の開脚幅、自発運動量(10分間隔で60分間測定)

対照群と比較して統計学的有意差または傾向が認められた項目を表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

スコアリングによる検査項目

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量(mg/kg)	0	100	300	500	0	100	300	500
	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
5時間	触覚：感受性低下	0	0	0	<4>	0	0	0	<1>
	聴覚：反応なし	0	0	0	<1>	0	0	0	<1>
	痛覚：鈍化	0	0	0	0	0	0	0	<1>
	正向反射：異常	0	0	0	↑8	0	0	0	<3>

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01 (Mann-WhitneyのU検定)

<>：有意差は認められないが、参考値として記載した

測定による検査項目

検査時期	検査項目	投与量(mg/kg)					
		雄			雌		
		100	300	500	100	300	500
5時間	前肢握力	↓87		↓65			↓65
	後肢握力			↓52			↓66
	自発運動量 0-10分		↓13	↓8		↓28	↓12
	自発運動量 10-20分	↓36	↓2	↓1		<16>	↓10
	自発運動量 0-60分		↓10	↓7		↓33	↓13
7日	自発運動量 50-60分					↓9	

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01 (Mann-WhitneyのU検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの

<>：有意差は認められないが、参考値として記載した

500 mg/kg投与群の雌雄で投与後5時間に空中正向反射の不全例が増加または増加傾向を示し、その他に雌雄で聴覚及び触覚刺激に対する反応の鈍化した例が、雌で痛覚刺激に対する反応の鈍化した例が認められた。

500及び300 mg/kg投与群の雌雄で投与後5時間の検査において測定開始後0～20分を中心に自発運動量の有意な低下が認められ、500 mg/kg投与群の雌雄では前肢及び後肢の握力の低値も認められた。

その他にも対照群と比較して有意な変化が散見されたが、用量依存性がないか、あるいは一過性の変化であることから、投与に関連した変化であるとは考えられなかった。

したがって、100 mg/kg投与群の雌雄では検体投与による影響はなかった。

肉眼的病理検査；いずれの群においても、特に神経症状を示す動物が認められなかったため、各群雌雄各5匹を灌流固定の対象動物とした。灌流固定の対象動物については、投与後14日の心臓全身灌流固定後に、病理組織学的検査用の器官・組織の摘出の際に、肉眼的に観察した。また、灌流固定対象外の各群雌雄各5匹

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

については、投与後14日にエーテル麻酔下で放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。

対照群では雄1例に右腎臓の腎盂拡張が認められたが、雌では異常所見は認められなかった。

100 mg/kg投与群では、雌雄とも常所見は認められなかった。

300 mg/kg投与群では、雄1例に回腸の憩室、他の雄1例に大脳の脳室拡張が認められたが、雌では異常所見は認められなかった。

500 mg/kg投与群では、雌1例に腹腔内器官(胃、肝臓及び左腎臓)の癒着が認められたが、雄では異常所見は認められなかった。

いずれの所見も単発であり、すべての投与群の雌雄で検体投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査；投与後14日に各群雌雄各5匹の灌流固定対象動物について、ペントバルビタールナトリウム(約40 mg/kg)による深麻酔下にて、前処理液としてヘパリン・亜硝酸ナトリウム添加ラクトリンゲル液、固定液として3%グルタルアルデヒド、3%パラホルムアルデヒド、0.1%ピクリン酸及び0.05%塩化カルシウムを含む0.1Mリン酸緩衝液を用いて心臓全身灌流固定した後、以下の器官・組織について、パラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本作製し、検鏡した。また、末梢神経については、樹脂包埋後、薄切し、トルイジン・ブルー染色標本も作製して検査した。

前脳及び海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、
視神経及び網膜を含む眼球、脊髄の頸膨大及び腰膨大、脊髄神経節、
神経線維の前根及び後根、近位の坐骨神経、
近位の脛骨神経(膝部)及び脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋(腓腹筋)

各群雌雄のいずれの器官・組織にも異常所見は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する単回経口投与による急性神経毒性試験における影響として、500及び300 mg/kg投与群の雌雄で粘液便、被毛の汚れ、自発運動量の低下及び低体重が認められ、500 mg/kg投与群の雌雄では運動協調性及び体位・姿勢の異常、反射及び感覚刺激に対する反応の異常、並びに握力の低下も認められた。100 mg/kg投与群では雄の軽度な低体重を除き、検体投与に関連した変化は認められなかった。したがって、本剤の無毒性量は以下の通りと判断される。

一般毒性に関する無毒性量：雄 100 mg/kg未満、雌 100 mg/kg

神経毒性に関する無毒性量：雌雄 100 mg/kg

<申請者注：

>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) ラットにおける急性神経毒性試験の追加試験

(資料No. 9-1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物： 系ラット、開始時5週齢、

0、100、500 mg/kg雌雄各25匹、1、2.5 mg/kg雌雄各20匹

体重 雄115～137 g(*)、雌88～111 g(*)

*：申請者にて算出。

観察期間：4日間(雄； 2月3日～2月7日、雌； 2月10日～2月14日)

投与方法：検体をトウモロコシ油に溶解し、0、1、2.5、100及び500 mg/kgの投与量で体重100 g当り0.5 mLを経口単回投与した。

投与前に一晩絶食した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率；投与前および投与後1、2、4、6および9時間、以降は1日1回、採血前に観察した。観察期間中死亡した動物はなかった。

一般状態；生死の観察と同時期に一般状態を観察した。

500 mg/kg投与では、雌雄ともに、投与後4時間以降によるめき歩行あるいは振戦が認められ、投与後6時間以降には腹臥、自発運動の低下、呼吸緩徐あるいは体温低下等も認められ、概ね投与後1日まで認められた。

認められた症状を次頁表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

所見	500 mg/kg 投与											
	雄						雌					
	1hr	2hr	4hr	6hr	9hr	1day	1hr	2hr	4hr	6hr	9hr	1day
腹臥	-	-	-	-	1/20	-	-	-	-	2/20	3/20	-
自発運動の低下	-	-	-	-	4/20	5/15	-	-	-	2/20	5/20	4/15
よろめき歩行	-	-	3/25	7/20	2/20	-	-	-	1/25	8/20	4/20	2/15
振戦	-	-	1/25	-	5/20	5/15	-	-	-	-	5/20	5/15
呼吸緩徐	-	-	-	-	4/20	1/15	-	-	-	3/20	7/20	2/15
体温低下	-	-	-	-	1/20	-	-	-	-	2/20	3/20	2/15
流涙	-	-	-	-	1/20	1/15	-	-	-	1/20	1/20	4/15
流涎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/20	-
赤色尿	-	-	-	-	-	2/15	-	-	-	-	-	1/15
被毛汚染*	-	-	-	1/20	4/20	8/15	-	-	1/25	3/20	6/20	14/15

-: 所見なし、所見が観察された動物数/総観察動物数

1hr, 2hr, 4hr, 6hr, 9hr, 1day: 投与後時間

*: 口周囲, 眼周囲, 外尿道口周囲あるいは肛門周囲

統計解析は実施せず。

その他、対照群および被験物質投与群（1、2.5、100および500 mg/kg投与）の雌雄では、投与後1時間から粘液便が認められたが、投与翌日には認められず、対照群にも認められた変化であったことから、投与媒体による影響と考えられた。

体重変化；投与日（投与前）、投与後1、2および4日に測定した。500 mg/kg投与では、雌雄ともに投与後1日以降に体重の有意な低値が認められ、投与後1日に雌雄ともに体重減少が認められた。

100 mg/kg投与では、雌雄ともに投与後1日に体重の有意な低値が認められたが、いずれの動物にも体重減少は認められなかった。この変化は、当研究所における背景データの範囲内（雄148.6 ± 7.3 g、雌118.4 ± 6.6 g）であり、ごく軽度な体重増加抑制と考えられた。

検査時期	投与量(mg/kg)							
	雄				雌			
	1	2.5	100	500	1	2.5	100	500
1日			↓97	↓78			↓96	↓76
2日				↓82				↓82
4日				↓87				↓92

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01（Dunnett検定）

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの（申請者にて算出）。

コリンエステラーゼ活性測定；投与後4、9、24、48時間は全投与群、投与後96時間は0、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

100及び500mg/kg投与のみについて、各群5匹の後大静脈より採血し、血漿及び赤血球アセチルコリンエステラーゼ(AChE)活性を測定した。また、採血後、全例から脳を摘出し、脳AChE活性を測定した。

なお、AChE活性率については、以下の式により求めた。

AChE活性率(% of control)

$$= \frac{\text{被験物質投与群各時点の各AChE活性平均値}}{\text{対照群各時点の各AChE活性平均値}} \times 100$$

AChE活性に統計学的有意差があることを前提に、20%以上の阻害(対照群に対して80%以下の活性率)が認められた場合を毒性影響とした。ただし、20%以上の阻害があり、統計学的有意差がない場合は、その他のデータも考慮し、判断した。血漿AChEのみに影響が見られた場合は、毒性影響としなかった。

AChE活性測定結果について下表に示す。

検査項目	投与後 (時間)	性別及び投与量(mg/kg)							
		雄				雌			
		1	2.5	100	500	1	2.5	100	500
血漿AChE	4	69	▽49	▽11	▽8	▽55	▽43	▽15	▽9
	9	78	▽67	▽8	▽5	▽66	▽53	▽10	▽8
	24	112	96	▽29	▽6	90	88	▽13	▽5
	48	92	93	▽53	▽19	84	81	↓41	↓11
	96	-	-	94	81	-	-	92	↓73
赤血球AChE	4	93	96	▽27	▽26	114	109	↓37	↓39
	9	111	73	▽34	▽26	93	98	▽28	▽29
	24	96	88	▽34	▽21	85	79	▽27	▽29
	48	60	99	37	▽25	105	115	▽59	▽36
	96	-	-	67	▽60	-	-	84	↓51
脳AChE	4	99	99	↓39	↓25	100	100	↓48	↓26
	9	102	107	▽37	▽14	102	97	↓31	↓13
	24	105	103	↓45	↓16	100	99	↓37	↓16
	48	100	103	↓55	↓39	107	↑109	↓58	↓40
	96	-	-	↓65	↓55	-	-	↓62	↓53

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01(Dunnett検定)

△▽：p<0.05(Steel検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

-：測定データなし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

1 mg/kg投与において、投与後48時間の雄の赤血球AChE活性率に80%以下の低値がみられたが、同時点の2.5 mg/kg投与には変化がないこと、赤血球AChE活性は本試験における対照群の全数の集計値（215～819 IU/L）の範囲を1例（176 IU/L）がわずかに下回ったものの、有意差もないことから、被験物質投与による影響ではなく、個体差による偏りによるものと考えられた。また、2.5 mg/kg投与において、投与後9時間の雄および投与後24時間の雌の赤血球AChE活性率に80%以下の低値がみられたが、いずれも80%を僅かに下回る程度であり、赤血球AChE活性値に有意差はなく、本試験における対照群の全数の集計値（雄；215～819 IU/L、雌；169～650 IU/L）の範囲内であったことから、被験物質投与による影響ではなく、個体差による偏りによるものと考えられた。

その他、1および2.5 mg/kg投与では、投与後4および9時間の血漿AChE活性に低値がみられたが、脳AChE活性に対する阻害作用はみられなかった。

一方、100および500 mg/kg投与では、投与後4時間以降の血漿、赤血球および脳AChE活性に有意な低値および20%以上の阻害が認められた。これらの変化は、投与後96時間では回復あるいは回復傾向を示すと考えられた。

肉眼的病理検査；投与後4、9、24、48、96時間の採血後に、体外表を観察し、イソフルラン麻酔下で放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。雌雄ともに、いずれの動物にも、異常は認められなかった。

以上の結果から本剤の急性神経毒性試験の影響として、500 mg/kg投与の雌雄におけるよろめき歩行、振戦、自発運動の低下等の神経毒性症状、投与1日後の体重減少、100 mg/kg投与の雌雄におけるごく軽度な体重増加抑制が認められた。これらの変化は、先に実施した急性神経毒性試験の結果（資料No. 9）とほぼ同様であり、再現性が認められた。また、100および500 mg/kg投与の雌雄で、投与後4時間以降の赤血球および脳AChE活性に有意な低値および20%以上の阻害が認められた。

したがって、本試験条件下におけるダイアジノン原体の神経系へのコリンエステラーゼ活性阻害に係る無毒性量は、雌雄ともに2.5 mg/kgと考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

1) ニワトリにおける急性遅発性毒性

(資料No. 10)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物： ニワトリ 若齢雌、体重 1.89～2.70 kg、
検体投与群 1群12羽、陽性対照群及び陰性対照群 1群各6羽

観察期間：42日間 (8月5日～ 9月16日)

試験方法：検体を10、20及び40 mg/kgの投与用量で実施した予備試験の結果、LD₅₀値(近似値)は20 mg/kgであった。これに基づき、検体をトウモロコシ油に溶解し、0及び20 mg/kgの投与用量で体重1kg当り4mLを試験1日目及び22日目に経口投与した。

保護剤としてピリミジン-2-アルドキシムメチルメタンスルホネート(PAM-2) 50 mg/kg及び硫酸アトロピン10 mg/kgを試験1日目及び22日目に筋肉投与した。

陽性対照としてリン酸トリオルソクレジル(TOCP)を500 mg/kg経口投与した。

観察・検査項目：中毒症状、神経症状及び生死を42日間観察し、体重測定を投与前日、投与日(1日目、22日目)、その翌日(2日目、23日目)、さらに1週間に2回の割合で行った。なお、運動機能障害検査を1週間に2回行った。瀕死状態になったニワトリと試験終了時まで生存した全てのニワトリはペントバルビタールナトリウムで麻酔し、神経組織を摘出して病理組織学的に検査した。

結果：あらかじめ求めたLD₅₀値(近似値)は20 mg/kgであった。

検体投与群では、検体を投与した試験1日目及び22日目以後に顕著なコリン作動性反応とそれに関連した運動障害が認められた。これら症状は硫酸アトロピン及びPAM-2の保護剤投与によって抑制した。現れた症状としては、活動性の低下、末梢血管拡張症、ふらつき、翼の下垂、踝関節をついた休息姿勢及び流涎がしばしばみられたが、コリン作動性反応による死亡動物はなかった。これらの症状は投与後2～3日以内に完全に回復した。なお、42日間の観察期間中、検体投与群には急性遅発性神経毒性症状を認めなかった。

陽性対照群では、試験11日目より平衡障害とふらつき歩行が認められた。病理

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

組織学的検査では、陽性対照群のすべての動物に上頸部または中位-胸部脊髄のいずれかあるいは両者に軽～中程度の軸索の膨化と好酸性物質の蓄積が観察された。また、腰部脊髄及び坐骨、頸骨神経にも同様の変化が散見された。検体投与群では12羽中5羽において上頸部または中位-胸部脊髄に軽度の軸索膨化と好酸性物質の蓄積が観察された。この変化程度はTOCP投与によって上部脊髄に観察された変化と類似していたが、軽微であり、運動機能障害等も認められないことから、この変化は急性遅発性神経毒性に関連したものでないと判断した。

以上の結果から、硫酸アトロピン及びPAM-2を保護剤としてダイアジノン原体を2回投与した場合、ダイアジノン原体投与による急性遅発性神経毒性を示唆する明瞭な所見は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) ニワトリにおける急性遅発性神経毒性

(資料No. 11)

試験機関：
報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物： ニワトリ 雌、6～8ヶ月齢、体重 1.2～1.6 kg、
1群各6羽

観察期間：21日間

試験方法：検体を13.5、17.5、22.8及び29.6 mg/kgの投与用量で実施した予備試験の結果、
LD₅₀は17.1 mg/kgであった。これに基づき、検体をトウモロコシ油に溶解
し、0、12及び20 mg/kgの投与用量で体重1kg当り2mlを経口投与した。
保護剤として硫酸アトロピン5 mg/kgを検体の20 mg/kgに対して皮下投与した。
陽性対照としてレプトホス原体(O-4-bromo-2,5-dichlorophenyl-O-methyl-
phenylphosphothioate、純度97.5%)を600 mg/kg経口投与した。

観察・検査項目：中毒症状、神経症状及び産卵率を21日間観察し、体重測定を投与前、3、
7、14及び21日目に測定した。また、血漿コリンエステラーゼ活性につ
いて投与後7、14及び21日目に翼下静脈より採血した血液を用いて測定
した。21日間の観察の後、ニワトリはペントバルビタールナトリウムで
麻酔し、神経組織を摘出して病理組織学的に検査した。

結 果：あらかじめ求めたLD₅₀値は17.1 mg/kgであった。

検体投与群では、検体投与1～2時間後より自発運動の低下、流涎及び起立不
能が認められたが、2～3時間後より回復に向い、1日後には異常を認めな
かった。なお、21日間の観察期間中検体投与群には急性遅発性神経毒性症状を認
めなかった。陽性対照群では、投与11～14日後より食欲の不振、体重の減少及
び後肢麻痺を認めた。その後、体重の減少は続き、また、後肢の麻痺も回復せ
ず衰弱した。

産卵率は、検体投与群では、投与直後の1週間は低下したが、その後回復した。
陽性対照群では体重の減少、後肢の麻痺が認められる頃より著しく低下した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

血漿コリンエステラーゼ活性は、検体投与群で投与1週間後の測定では著しい活性低下(対照群を100%とした場合、12 mg/kg投与群で40%、20 mg/kg投与群で10%)を示したが、その後回復し、21日後には対照群の80%以上まで回復した。陽性対照群では試験期間中著しい活性変動を認めなかった。

病理組織学的検査では、検体投与群では脳、胸髄、腰髄及び坐骨神経に異常はみられなかったが、陽性対照群において胸髄及び腰髄神経線維の軸索の膨化と髄鞘の変化及び崩壊が認められた。これらの変化は腰髄に強い傾向であった。また、坐骨神経線維の軸索、髄鞘の変化も認められた。

以上の結果から、ダイアジノン原体に急性遅発性神経毒性作用はないと判断した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(6)90日間反復経口投与毒性

1) ラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験

(資料No. 12)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度：

供試動物： 系ラット、主試験群：1群雌雄各10匹、衛星群：1群雌雄各18匹、
開始時4週齢

投与開始時体重 主試験群 雄160.5(140~178)g、雌138.7(127~151)g

衛星群 雄175.4(156~189)g、雌138.8(122~156)g

衛星群は、投与15、29及び57日時に各群雌雄6匹について血液を採取し、赤血球のアセチルコリンエステラーゼ活性を測定した。

投与期間：90日間(10月14、15日～ 1月12、13日)

なお、投与開始日を投与1日と起算した。

投与方法：検体を0、5、125及び3000 ppmの濃度で飼料に混入し、90日間以上にわたって
随時摂食させた。検体を混入した飼料は、最長11日間に1回の頻度で計14回調
製した。

用量設定根拠；

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；全動物の一般状態を毎日2回(午前及び午後)観察した。剖検日は午前中に1回観察した。

対照群、3000及び5 ppm投与群では、雌雄とも投与期間中に異常は認められなかった。125 ppm投与群では、雄1匹が投与74日に死亡した。剖検所見で肝臓の肥大が認められたが、病理組織学的検査では肝臓に異常は認められなかった。一方、肺の病理組織学的検査では軽度なうっ血と肺胞水腫が認められ、死因は呼吸器系の変化を反映した呼吸困難あるいは循環器障害による急性死と推察されたが、死亡の前日まで一般状態、体重及び摂餌量等に異常は認められていないことから検体投与との関連性は明らかでなかった。同群のその他の雌雄動物には異常は認められなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前日、投与7、14、21、28、35、42、49、56、63、70、77、84及び91日に、全生存動物を対象に以下の項目について観察を行った。

ケージ外からの観察： 活動性の程度(興奮もしくは鎮静)、異常姿勢の有無、異常行動の有無

ケージから取り出し時の観察：取り出し易さ、取り扱い易さ

オープンフィールドでの観察：歩行、運動協調性、環境刺激に対する反応、探索行動(匂い、立上り等)、排泄状態/排尿・排糞、常同行動/身づくろい・くびふり、異常行動/後ずさり・異常発声、攻撃性、体位・姿勢、常同行動/回転・旋回、異常行動/自咬

手に持った観察：筋収縮性、立毛、被毛の状態、皮膚、眼・眼球及び粘膜の外観、瞳孔径、流涙、流涎、その他分泌物の有無、体温、呼吸状態、振戦・痙攣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

検査項目	検査時期(週)	性別及び投与量(ppm)							
		雄				雌			
		0	5	125	3000	0	5	125	3000
排尿	9	5/10	4/10	4/10	▽0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

表中の数値は観察動物数/検査動物数

統計学的有意差：△▽： $p \leq 0.05$ (Steelの多重比較検定)

3000 ppm投与群の雄では、排尿の項目に有意な低下が投与63日(投与9週)の検査時にのみ認められたが、一過性的な変化であり偶発的な変化と考えられ、毒性的な意義はないと判断した。

125及び5 ppm投与群では、雌雄ともに投与期間中に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

機能検査；投与13週に、全生存動物を対象として以下の項目を検査した。

刺激に対する感覚運動反射：視覚刺激、触覚刺激、聴覚刺激、痛覚刺激、固有受容器刺激、空中正向反射

握力：前肢及び後肢握力を各3回測定し、1 g単位で記録した。

自発運動：自発運動量測定器を用いて、10分間隔で1時間測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

検査項目		性別及び投与量(ppm)					
		雄			雌		
		5	125	3000	5	125	3000
前肢握力							
自発運動	20～30分						
	30～40分						
	40～50分						

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの
 統計学的有意差：↑↓： $p \leq 0.05$ ↑↓： $p \leq 0.01$ (Dunnettの多重比較検定)
 △▽： $p \leq 0.05$ ▲▼： $p \leq 0.01$ (Steelの多重比較検定)

刺激に対する感覚運動反応では、各投与群の雌雄ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

握力では、3000 ppm投与群の雌に前肢の握力の有意な低値が認められた。

自発運動量では、3000 ppm投与群の雌に測定開始20分から50分にかけて有意な低値が認められた。

本検体(ダイアジノン)は有機リン系のコリンエステラーゼ活性阻害剤であり、ダイアジノン投与により赤血球コリンエステラーゼ活性が低下することが報告されている(資料No. 21、他)。アセチルコリンエステラーゼは神経接合部の筋収縮に関連するアセチルコリンを分解する酵素であることから、アセチルコリンエステラーゼの活性阻害により筋力の低下や自発運動の低下が惹起される可能性が考えられた。

体重変化；投与1、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85及び91日並びに剖検日の午前中に、全生存動物を対象として体重を測定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

検査時期 (週)	性別及び投与量(ppm)					
	雄			雌		
	5	125	3000	5	125	3000
8						
15						
22						
29						
36						
43						
50						

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの統計学的有意差：↑↓： $p \leq 0.05$ ↑↓： $p \leq 0.01$ (Dunnett の多重比較検定)

3000 ppm 投与群の雄では、投与 8 日から投与 29 日まで、雌では投与 8 日から投与 50 日まで、有意な体重増加抑制が認められ、その後雌雄とも試験期間を通じて低値で推移した。

125 及び 5 ppm 投与群では、雌雄ともに投与期間中に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

摂餌量；投与 1、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85 及び 91 日の午前中に全動物について、摂餌量を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

検査時期 (週)	性別及び投与量(ppm)					
	雄			雌		
	5	125	3000	5	125	3000
8						
15						

統計学的有意差：↑↓： $p \leq 0.05$ ↑↓： $p \leq 0.01$ (Dunnett の多重比較検定)
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの

3000 ppm 投与群では、雌雄ともに投与 8 日に有意な低値が認められた。雄では投与 15 日にも有意差が認められたが、その後、他群と同様の推移に回復する傾向が認められた。この低値は、速やかに回復していることから、検体混合飼料に対する忌避反応と推察された。

125 及び 5 ppm 投与群では、雌雄ともに投与期間中に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		5	125	3000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.3	7.8	199.3
	雌	0.3	8.9	247.4

眼科的検査；投与開始前には全動物について、投与 13 週には、対照群及び 3000 ppm 投与群の動物について検査を行った。

投与開始前及び投与 13 週のいずれにも、3000 ppm 投与群の雌雄とも前眼部、中間透光体及び眼底のいずれも異常な所見はみられなかった。

したがって、125 及び 5 ppm 投与群の雌雄では、投与 13 週的眼科的検査は行わなかった。

尿検査；投与 13 週に全動物を対象として以下の項目を検査した。

pH、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血反応、尿量、比重

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

検査項目	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	5	125	3000	5	125	3000

統計学的有意差：△▽： $p \leq 0.05$ ▲▼： $p \leq 0.01$ (Steel の多重比較検定)
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの
但し、比重はランク表示のため、有意差のみ示した。

3000 ppm 投与群では、雌雄ともに pH の有意な低下、比重の有意な増加並びに尿量の有意な低下あるいは低下傾向が認められた。尿の pH の低下と比重の増加は尿量の低下に関連した二次的な変化であると考えられた。

125 及び 5 ppm 投与群では、雌雄ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

血液学的検査；投与91日の夕刻以降からの絶食下でラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈から採血を行い、全生存動物を対象に以下の項目の測定を行った。

赤血球数(RBC)、ヘマトクリット値(Ht)、ヘモグロビン濃度(Hb)、
平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモ

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

グロビン濃度(MCHC)、網赤血球数、血小板数(Plt.)、白血球数(WBC)、白血球百分比、杆状核好中球(Stab)、単球(Mono)、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目	性別及び投与量(ppm)					
	雄			雌		
	5	125	3000	5	125	3000

Stab. : 杆状核好中球比率 Mono. : 単球比率
 統計学的有意差 : $\uparrow \downarrow$: $p \leq 0.05$ $\uparrow \downarrow$: $p \leq 0.01$ (Dunnett の多重比較検定)
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

3000 ppm 投与群では、雌で RBC、Ht 及 Hb の有意な低下が認められ、貧血傾向が示唆された。この貧血傾向は、検体投与に関連した変化と考えられた。

125 ppm 投与群では、雌で網赤血球数、単球比率の有意な高値が認められたが、いずれも用量との関連性のない変化であった。

5 ppm 投与群では、対照群と比較して雄で杆状核好中球比率の有意な低値、雌で PT 及び単球比率の有意な高値が認められたが、いずれも 3000 ppm 投与群には認められない変化であり、毒性学的に意義はないと判断した。

血液生化学的検査 ; 血液学的検査で採取した血液から得られた血漿または血清を用い、以下の項目の測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (γ -GTP)、グルコース (GLU)、総コレステロール (T-Cho)、トリグリセリド (TG)、総ビリルビン (T-Bil)、尿素窒素 (UN)、クレアチニン (Crea)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、総蛋白 (TP)、蛋白分画 (P-F)、アルブミン (ALB)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目	検査週	性別及び投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		5	125	3000	5	125	3000

統計学的有意差：↑↓： $p \leq 0.05$ ↑↓： $p \leq 0.01$ (Dunnett の多重比較検定)

△▽： $p \leq 0.05$ ▲▼： $p \leq 0.01$ (Steel の多重比較検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

赤血球のアセチルコリンエステラーゼ活性は、投与 2 週、4 週、8 週及び 13 週において、125 ppm 投与群の雌雄で対照群の 34~60%、3000 ppm 投与群の雌雄で対照群の 24~36%の有意な低下が認められた。

投与 13 週の脳のアセチルコリンエステラーゼ活性は、125 ppm 投与群の雄で対照群の 94%、雌で対照群の 69%の有意な低値が、3000 ppm 投与群の雄で対照群の 29%、雌で対照群の 15%の有意な低値が認められた。

125 及び 3000 ppm 投与群では明らかなアセチルコリンエステラーゼ活性の低下(対照群に比較し 20%以上の抑制)が認められていることから、いずれも検体投与の影響と考えられた。しかし、アセチルコリンエステラーゼ活性の低下のみられた 3000 ppm 投与群においても一般状態や詳細な状況観察等に異常は認められず、また、赤血球のアセチルコリンエステラーゼ活性の低下が経時的に増強する傾向は認められなかった。

臓器重量；試験終了時に全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾臓、心臓、肝臓、腎臓、精巣、前立腺、卵巣

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

臓器名	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	5	125	3000	5	125	3000

統計学的有意差：↑ ↓ : $p \leq 0.05$ ↑↓ : $p \leq 0.01$ (Dunnett の多重比較検定)
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの
 () : 有意差は認められないが参考値として記載した

3000 ppm 投与群では、雌雄とも肝臓の重量及び対体重比に高値傾向が認められ、雌の対体重比には有意差が認められた。他に雄で脳の重量に有意な高値が認められた。

125 ppm 投与群では、雄で心臓の対体重比に有意な低値、雌で腎臓と脾臓の対体重比に有意な低値が認められたが、いずれも用量との関連性のない変化であった。

5 ppm 投与群では、雌で腎臓の対体重比に有意な低値が認められたが、用量との関連性のない変化であった。雄には有意な変化は認められなかった。

肉眼的病理学的検査；全動物を対象として、死亡動物は発見後速やかに、生存動物は投与 91 日の翌日に剖検を行った。

3000 ppm 投与群では、雌雄ともに検体投与に関連した変化は認められなかった。なお、雄 1 匹に精巣の萎縮と精囊の小型並びに精巣上体の無形成が両側性に認められたが、この 1 匹のみの変化であり自然発生性の変化と判断した。

125 ppm 投与群では、雄の死亡動物で肝臓の肥大が認められたが、病理組織学的検査では肝臓に異常は認められなかった。なお、生存動物には雌雄ともに異常所見は認められなかった。

対照群及び 5 ppm 投与群では、雌雄ともに異常所見はみられなかった。

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下の器官・組織について通常の方法で作成した切片はヘマトキシリン・エオジン染色で標本を作製し、対照群及び 3000 ppm 投与群について鏡検した。また、3000 ppm 投与群の雄の肝臓と腎臓並びに雌の肺については、オイル赤 O 染色により中性脂肪の確認を、ナイル青染色による酸性脂質と中性脂肪の確認を行った。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3000 ppm 投与群において検体投与による影響と考えられる変化が認められた肺、肝臓及び腎臓については全投与群の鏡検を行った。

脳、下垂体、脊髄(頸部、胸部、腰部)、胸腺、甲状腺、上皮小体、脾臓、心臓、胸部大動脈、食道、胃(前胃及び腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、気管、肺(気管支を含む)、腎臓、副腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢(凝固腺を含む)、卵巣、子宮(角部及び頸部)、膾、眼球、ハーダー腺、乳腺(右腹部、雌のみ)、皮膚(腹部)、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む、右)、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、唾液腺、坐骨神経、骨格筋(外側広筋)、及び肉眼的異常部位(正常組織との境界部を含む)

病理組織学的検査の結果を表1に示す。

3000 ppm 投与群の雌に肺の肺胞内マクロファージ集簇及び肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、雄に肝臓の小葉周辺性脂肪化並びに腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴及び好酸性小体が対照群と比べ有意差が認められ、検体投与に関連した変化と考えられた。

125 ppm 投与群の雄に肝臓の小葉周辺性脂肪化が認められたが、有意差はなく、肝機能に関連する項目にも変化が認められなかったことから、検体投与との関連性は明らかでなかった。

以上の結果、ダイアジノンのラットを用いた経口投与による90日間反復経口投与毒性試験における影響として、3000 ppm投与群では、雌雄で投与期間初期に混餌飼料に対する忌避反応に起因する摂餌量の低下と体重増加抑制、投与13週に尿pHの低下と尿比重の増加並びに尿量の低下あるいは低下傾向、肝臓の有意な重量増加あるいは増加傾向並びに血液生化学的検査における雌雄のAST、ALP及び γ -GTPの増加、雄のALB、A/G及びGLUの高値、アルブミンおよびTGと α_1 の減少並びに雌の α_2 及びUNの増加、赤血球及び脳のアセチルコリンエステラーゼ活性の低下、さらに、雄で肝臓の小葉周辺性脂肪化並びに腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴及び好酸性小体、雌で前肢の握力の低下及び自発運動量の低下、貧血傾向(赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度の有意な低値)、尿素窒素の有意な高値、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大並びに肺の肺胞内マクロファージ集簇が認められた。125 ppm投与群では雌雄で赤血球及び脳のアセチルコリンエステラーゼ活性の低下が認められた。一方、5 ppm群の雌雄には検体投与に関連した変化は認められなかった。

したがって、当該試験条件下におけるダイアジノンのラットに対する無毒性量(NOEL)は、雌雄ともに5 ppm(雌雄とも0.3 mg/kg/day相当)であると判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

申請者注：

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) イヌを用いた90日間反復経口投与毒性試験

(資料No. 14)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度： (試験期間中)及び (試験終了後)(原体)

供試動物：ビーグル犬(Nosan:Beagle)、1群雌雄各4匹、開始時6カ月齢

投与開始時体重 雄7.8~11.0 kg、雌7.8~9.1 kg

投与期間：90日間(10月13、14日～ 1月10、11日)

なお、投与開始日を試験1日とし、投与開始週を試験1週と起算した。

投与方法：検体をトウモロコシ油に10%W/Wになるように溶解し、0、0.3、3及び10(投与8日から投与90日まで、投与1日から投与7日までは15 mg/kg/day)mg/kg/dayの用量をゼラチンカプセルに充填し、90日間にわたって反復経口投与した。投与量は、動物ごとに投与日に最も近い日に測定した体重値に基づき算出し、投与は9:45~11:55の間に行った。検体の10%W/W調製液は、15日間に1回の頻度で調製した。

用量設定根拠；

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；すべての動物の一般状態を毎日3回(投与前、投与1時間後及び午後)観察した。剖検日は午前中に1回観察した。なお、投与後の縮腫の有無に留意して観察した。

なお、10 mg/kg/day投与群については、一般状態観察の一環として期間中に体重及び摂餌量を測定した。

一般状態において有意な差を示した所見を下表に示す。

所見	性別及び投与量 (mg/kg/day)							
	雄				雌			
	0	0.3	3	10	0	0.3	3	10
検査例数	4	4	4	4	4	4	4	4

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01 (Fisherの直接確率法) 申請者実施

10 mg/kg/day投与群では、投与前あるいは投与後の嘔吐が、雌雄の全例で観察され、雄3例及び雌全例では高頻度に観察された。また、下痢あるいは粘液便の異常便の排泄が、雄全例及び雌3例で観察され、雄全例及び雌2例では高頻度に観察された。なお、雄1例及び雌2例で投与期間中に継続的な体重減少及び摂餌量減少がみられたことから以下に示す期間の休薬を行った。

3 mg/kg/day投与群では、投与前の嘔吐が雄1例に1日間、粘液便が雄1例に1日間観察された。雌では、特記すべき変化は認められなかった。

0.3 mg/kg/day投与群では、投与前あるいは投与後の嘔吐が、雄1例及び雌2例にそれぞれ1日間、発情出血が雌1例に8日間観察された。

対照群では、雄1例に投与後の嘔吐が観察された。雌に異常はみられなかった。

<申請者注：統計検定を実施したところ10 mg/kg/day群雌雄の嘔吐が有意に増加し、さらに下痢の発生頻度が雄では有意に増加し、雌でも増加傾向が観察されたことから、これらの変化は検体投与の影響と判断された。その他の所見は、いずれも1例のみの発生であることか偶発性変化であると判断された。>

休薬した動物の休薬期間を以下に示す。

投与群	性	動物番号	休薬期間
10 mg/kg/day	雄	402	投与14日～投与28日 15日間
	雌	453	投与11日～投与28日 18日間
			投与37日～投与50日 14日間
			投与72日～投与78日 7日間
雌	454	投与11日～投与28日 18日間	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

詳細な状態の観察；投与開始前日、投与7、14、21、28、35、42、49、56、63、70、77、84及び89日の13:03～15:45(投与日の場合は投与後)に、すべての動物を対象に以下の項目について観察を行った。

観察(検査)項目：

視診、触診により外観(体外表)、姿勢、自律神経系機能、運動協調性、取扱い操作等に対する反応及び行動等を詳細に観察した。

なお、自律神経系機能の観察項目である体温については、電子体温計を用い直腸内温度を測定した。体温の成績については、動物毎に投与開始前日の測定値と各投与後の測定値との差を求め評価した。

10 mg/kg/day投与群雄では、特記すべき変化は認められなかった。雌では、投与56あるいは63日の検査で2例に体温の低値傾向(投与開始前日との差：-1.1℃及び-0.9℃)が認められた。これらは検体による一般状況の悪化と考えられた。これらの変化以外に特記すべき変化は認められなかった。

3及び0.3 mg/kg/day投与群では、雌雄とも特記すべき変化は認められなかった。

体重変化；投与開始前日、投与1、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85及び90日の同一時間帯(8:50～9:38)に、すべての動物を対象にデジタル台はかりを用いて体重を測定した。なお、剖検日には麻酔剤の投与液量算出のため測定を行った。

10 mg/kg/day投与群では、雄3例及び雌2例において、投与15日あるいは22日までに減少あるいは増加抑制傾向がみられ、その後も対照群に比べ増加抑制傾向がみられた。休薬した他の雄1例及び雌2例においても減少あるいは増加抑制傾向がみられた。

3及び0.3 mg/kg/day投与群雌雄では、いずれの測定日においても対照群と比較して有意差は認められなかった。

検査週	性別及び投与量(mg/kg/day)					
	雄			雌		
	0.3	3	10	0.3	3	10
投与前	98	98	99	101	101	96
15日	99	98	94	100	98	89
22日	100	98	94	101	98	92
90日	97	99	97	102	96	92

統計学的有意差：いずれも有意差なし(Dunnettの多重比較検定)

摂餌量；すべての動物について、投与開始前日、投与1、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85及び90日に摂餌量を測定した。測定日の前日に1日分300gをセットした後、残量を前日のセットと同一時間帯に測定した。セット量及び残量から1日分の摂餌量を算出した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

10 mg/kg/day 投与群では、休薬した雄 1 例及び雌 2 例において、残餌が散見されたが、その他の動物では、いずれの測定日においても残餌はみられなかった。

3 及び 0.3 mg/kg/day 投与群雌雄では、いずれの測定日においても対照群と比較して有意差は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前(雌雄：馴化 26 日)及び投与 13 週(雌雄：投与 87 日)に、すべての動物について検査を行った。

対照群及び検体投与群のすべての雌雄に異常な所見はみられなかった。

尿検査；投与開始前(雄：馴化 22～23 日、雌：馴化 24～25 日)及び投与 12 週の最終日から投与 13 週(雌雄：投与 84～85 日)に、すべての動物について採尿し、以下の項目について検査を実施した。

pH、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血反応、色調、尿量、比重

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

検査項目	検査週	性別及び投与量(mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.3	3	10	0.3	3	10

統計学的有意差：↑↓： $p \leq 0.05$ (Dunnnett の多重比較検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

10 及び 3 mg/kg/day 投与群の雄及び検体投与群の雌では、有意な変化あるいは特記すべき変化は認められなかった。

0.3 mg/kg/day 投与群雌では、投与 13 週の検査において、対照群と比較し pH の有意な高値及び尿量の有意な低値が認められたが、いずれも用量関連性がないことから検体投与との関連性はないと考えられた。

血液学的検査；投与開始前(雄：馴化 23 日、雌：馴化 24 日)及び投与 13 週(雌雄：投与 86 日)の午前中に、16 時間以上の絶食下で橈側皮静脈から採血を行い、すべての動物を対象に以下の項目の測定を行った。

赤血球数(RBC)、ヘマトクリット値(Ht)、ヘモグロビン濃度(Hb)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、網赤血球数、血小板数(Plt.)、白血球数(WBC)、白血球百分比、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

検査項目	検査週	性別及び投与量(mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.3	3	10	0.3	3	10

統計学的有意差：↑↓： $p \leq 0.05$ (Dunnett の多重比較検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

10 mg/kg/day 投与群において、休薬した雌 1 例で APTT に延長がみられた。また、休薬した雌雄各 1 例では、RBC、Hb 及び Ht の低値がみられ、休薬した雌 1 例では、RBC、Hb 及び Ht が投与開始前に比べて低値傾向がみられた。

これらの変化は、一般状態の悪化に伴う直接的ないし二次的变化に起因すると考えられた。

3 mg/kg/day 投与群の雌では、対照群と比較して Hb の有意な低値が認められた。この変化は用量相関性がないこと、また、対照群を含めて、各個体とも投与開始前の値と比べて顕著な差はないことから、投与開始前から対照群の値が高値に偏ったことによるものと考えられ、毒性学的な意義はないと判断した。雄では全ての検査項目で有意な変化は認められなかった。

0.3 mg/kg/day 投与群の雄では、対照群と比較して好酸球比率 (Eosi) に有意な高値が認められた。雌では、対照群と比較して RBC、Hb の有意な低値が認められた。これらの変化はいずれも用量相関性がないことから検体投与との関連性はないと考えられた。

血液生化学的検査；すべての動物を対象として、血液学的検査と同時に採取し分離した血漿、又は血清を用い、以下の項目の測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (γ -GTP)、グルコース (GLU)、総コレステロール (T-Cho)、トリグリセライド (TG)、総ビリルビン (T-Bil)、尿素窒素 (UN)、クレアチニン (Crea)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、総蛋白 (TP)、蛋白分画 (P-F)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、アルブミン (ALB)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

血液生化学的検査結果

検査項目	検査週	性別及び投与量 (mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.3	3	10	0.3	3	10

統計学的有意差：↑↓： $p \leq 0.05$ (Dunnett の多重比較検定)

：△▽： $p \leq 0.05$ (Steel の多重比較検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

10 mg/kg/day 投与群の投与 13 週時検査において、休薬した雄 1 例で、TP 及び Ca の低値並びに AST、ALT、ALP 及び γ -GTP の高値がみられた。また、休薬した雌 1 例で TP 及び Cl の低値がみられた。

これらの変化は、一般状態の悪化に伴う直接的ないし二次的变化に起因すると考えられた。

3 mg/kg/day 投与群の投与 13 週時検査において、雄で対照群と比較して Cl の有意な低値が認められたが、用量相関性のないこと、投与開始前でも対照群と比較して有意な低値が認められていることから毒性学的な意義はないと判断した。雌では有意な変化は認められなかった。

0.3 mg/kg/day 投与群雌雄では、有意な変化は認められなかった。

赤血球及び脳のアセチルコリンエステラーゼ活性；

投与開始前(雄：馴化23日、雌：馴化24日)、投与2週(雄：投与14日、雌：投与13日)、4週(雄：投与28日、雌：投与27日)、8週(雄：投与56日、雌：投与55日)及び13週(雌雄：投与86日)に、全動物を対象として橈側皮静脈から採血し、赤血球のアセチルコリンエステラーゼ活性を測定した。

脳のアセチルコリンエステラーゼ活性測定は、すべての動物を対象として、剖検時に脳の一部を摘出し、脳のアセチルコリンエステラーゼ活性を測定した。脳アセチルコリンエステラーゼ活性は組織蛋白濃度あたりとして算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

アセチルコリンエステラーゼ活性測定結果

検査項目	検査週	性別及び投与量(mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.3	3	10*	0.3	3	10**

* : 3例平均値、比較検定未実施

** : 2例平均値、比較検定未実施

統計学的有意差 : $\uparrow\downarrow$: $p \leq 0.05$, $\uparrow\downarrow$: $p \leq 0.01$ (Dunnettの多重比較検定)

: $\Delta\nabla$: $p \leq 0.05$ (Steelの多重比較検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの

赤血球のアセチルコリンエステラーゼ活性は、雄では、3 mg/kg/day 投与群で投与 2、4、8 及び 13 週に対照群と比較して 29~53%の有意な低値が認められた。また、10 mg/kg/day 投与群の全例とも、いずれの測定時期においても 3 mg/kg/day 投与群及び投与開始前に比べて低値(対照群と比較し 18~25%)がみられた。なお、0.3 mg/kg/day 投与群では、いずれの測定時期においても対照群に比較して、有意な変化は認められなかった。

雌では、3 mg/kg/day 投与群で投与 4、8 及び 13 週に対照群と比較して 43~58%の有意な低値が認められた。また、10 mg/kg/day 投与群の全例とも、いずれの測定時期においても 3 mg/kg/day 投与群及び投与開始前に比べて低値(対照群と比較し 17~25%)がみられた。なお、0.3 mg/kg/day 投与群では、いずれの測定時期においても対照群に比較して、有意な変化は認められなかった。

脳のアセチルコリンエステラーゼ活性は、雌雄の 3 mg/kg/day 投与群で対照群に比べて低値がみられた。また、10 mg/kg/day 投与群の雌雄の全例とも、3 mg/kg/day 投与群に比べて低値がみられた。なお、雌雄の 0.3 mg/kg/day 投与群では、対照群に比較して、有意な変化は認められなかった。

臓器重量 ; 試験終了時にすべての動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

大脳、小脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、顎下腺、心臓、肺、肝臓(胆嚢を含む)、脾臓、腎臓、副腎、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

臓器重量検査結果

臓器名	性別及び投与量 (mg/kg/day)					
	雄			雌		
	0.3	3	10	0.3	3	10
体 重	96	98	95	101	95	92

統計学的有意差：↑↓： $p \leq 0.05$ (Dunnett の多重比較検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

10 mg/kg/day 投与群において、休棄した雄 1 例で、胸腺の重量及び対体重比の低値がみられた。また、休棄した雌 1 例では、脾臓及び胸腺の重量及び対体重比の低値がみられた。

これらの変化は、一般状態の悪化に伴う直接的ないし二次的变化に起因すると考えられた。

3 mg/kg/day 投与群の雌では、対照群と比較して、心臓の重量の有意な低値が認められたが、用量相関性がないこと、また、病理組織学的検査では異常はみられないことから、毒性学的な意義はないと判断した。雄では、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

3 mg/kg/day 投与群の雌雄では、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

肉眼的病理学的検査；投与期間終了日の翌日にすべての動物を対象として、剖検を行った。

10 mg/kg/day 投与群において、休棄した雄 1 例で、脾臓の萎縮、胸腺の萎縮及び腹腔の腹水(無色透明、漿液性、60 mL)が認められた。また、休棄した雌 1 例では、脾臓の萎縮及び胸腺の萎縮が認められた。

これらの変化は、一般状態の悪化に伴う直接的ないし二次的变化に起因すると考えられた。

3 mg/kg/day 投与群の雌雄では、特記すべき変化は認められなかった。

0.3 mg/kg/day 投与群の雌 1 例に肺の左後葉及び副葉の癒着が認められた。この変化は病理組織学的検査では軽度の胸膜の線維化として認められたが、用量との関連性がないことから自然発生性の変化と判断され、検体投与との関連性はないと考えられた。雄では、特記すべき変化は認められなかった。

病理組織学的検査；すべての動物を対象として、以下の器官・組織について通常の方法で作成した切片はヘマトキシリン・エオジン染色で、また、一部の動物の腎臓、副腎に関しては、オイル赤O色、ナイル青染色で、また、一部の動物の肝臓に関しては、ベルリン青染色で標本をそれぞれ作製し、鏡検した。

肝臓(胆嚢を含む)、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳(大脳、小脳、脳幹)、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、脾臓、脊髄(頸

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

部、胸部及び腰部)、眼球(視神経を含む)、瞬膜腺、胸骨、大腿骨(骨髄を含む遠位端)、皮膚(背部)、骨格筋(外側広筋)、乳腺、胸部大動脈、舌、顎下リンパ節、顎下腺、舌下腺、喉頭、気管、気管支、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、坐骨神経、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、膾、

病理組織学的検査の結果を表1に示す。

10 mg/kg/day 投与群の休薬した個体において雌雄に胸腺の皮質の萎縮、雄に膵臓の腺房細胞萎縮及び間質の線維化、肝臓の門脈周囲の炎症性細胞浸潤、腎臓の近位尿細管の脂肪化、前立腺の上皮細胞の萎縮、副腎の束状帯における皮質細胞の空胞化、雌に腎臓の尿細管上皮の再生、脾臓の赤脾髄の萎縮及び骨格筋の筋線維の萎縮が認められた。これらの変化は、一般状態の悪化に伴う直接的ないし二次的变化に起因すると考えられ、膵臓、肝臓及び腎臓等で器質的な障害を示唆する病理組織学的所見であると判断された。さらに、休薬しなかった雌1例において、肝臓の胆管増生が認められた。

3 mg/kg/day 以下の投与群においても種々の変化が観察されたが、投与量との関連性のない変化あるいはその他の検査でも関連づけられる異常はなかったことから、検体投与との関連性は認められなかった。

以上の結果、イヌを用いた90日間反復経口投与毒性試験における影響として10 mg/kg/day 投与群においては、検体投与による影響として、体重及び摂餌量の減少、嘔吐及び下痢あるいは粘液便の排泄がみられ、血液学的検査及び血液生化学的検査においても、一般状態の悪化に伴う直接的ないし二次的变化が認められた。また、病理組織学的検査において雌雄に胸腺の皮質の萎縮、雄に膵臓の腺房細胞萎縮及び間質の線維化、肝臓の門脈周囲の炎症性細胞浸潤、腎臓の近位尿細管の脂肪化、前立腺の上皮細胞の萎縮、副腎の束状帯における皮質細胞の空胞化、雌に腎臓の尿細管上皮の再生、脾臓の赤脾髄の萎縮、骨格筋の筋線維の萎縮及び肝臓の胆管増生が認められた。さらに10及び3 mg/kg/day 投与群の雌雄において、赤血球及び脳アセチルコリンエステラーゼ活性の低下が認められた。したがって、ビーグル犬に対する無毒性量(NOEL)は、雌雄とも0.3 mg/kg/day であると判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

申請者注：

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表1. 病理組織学的検査結果(続き)

性別	雄				雌			
投与群(mg/kg/day)	0	0.3	3	10	0	0.3	3	10
動物数	4	4	4	4	4	4	4	4

表中の数値は発症例数

± : ごく軽度 + : 軽度、 ++ : 中等度

休薬動物動物番号 : a;402、b;453、c;454

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(7) 21日間反復経皮投与毒性

ウサギを用いた経皮投与による亜急性毒性試験

(資料No. 17)

試験機関：

報告書作成年

検体の純度： (原体)

供試動物： ウサギ、1群雌雄各10匹 (非擦過群雌雄各5匹、擦過群雌雄各5匹)、開始時13~16週齢、開始時体重2.3~3.1 kg、

観察期間：21日間観察 (投与期間： 年3月6日~ 年3月28日)

投与方法：検体を流動パラフィンに溶解し、剃毛した動物の背部中央の皮膚に0、1、10及び100 mg/kg/dayを21日間塗布した。なお、各群に非擦過群と擦過群を設けた。擦過群は手術用メスを用い2 cm間隔の平行した切れ目を浅く作った。すりこみを毎週行い、剃毛は試験期間中必要に応じて行った。検体塗布時間は6時間とし、塗布部分を被覆した。塗布時間終了後塗布部分を40~50°Cの湯で洗浄し、検体を除去した。各動物には、この処置を1週間に7日、毎日1回、3週間連続して行った。

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；一般症状及び生死を毎日観察した。

全期間を通して、検体塗布群と対照群の間に、塗布部分の皮膚に差を認めなかった。また、検体塗布に関連したと思われる中毒症状も認めなかった。

1 mg/kg/day群の雄1匹と雌1匹がそれぞれ、試験開始後18日後と8日後に死亡した。これら死亡動物の剖検及び脳コリンエステラーゼ活性測定結果から、検体塗布に起因した死亡ではないと判定した。その他、検体塗布群、対照群ともに死亡動物は認められなかった。

体重変化；検体塗布直前、塗布4、8、11、15、18及び22日目に全生存動物の体重を測定した。

100 mg/kg/day群擦過群雌の体重は対照群に比較し低下した。しかし、100 mg/kg/day群非擦過群では対照群と差が認められなかったことから、擦過群の体重低下は検体塗布に関連したものではないと判定した。

摂餌量；検体塗布4、8、11、15及び22日目に全生存動物の摂餌量を測定した。

検体塗布の擦過群及び非擦過群と対照群との間に差を認めなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの

検体塗布擦過群において対照群と比較し有意に変動した項目が認められたが、いずれも検体塗布量との関連性のない変化あるいは偶発性変動と考えられた。

コリンエステラーゼ活性検査；検体塗布7日目に擦過群の全動物を対象として血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ活性を、塗布3週後に擦過群及び非擦過群の全動物を対象として血漿、赤血球及び脳のコリンエステラーゼ活性を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す

項目	検査時期	処置時	動物数	性別及び用量群 (mg/kg/day)					
				雄			雌		
				1	10	100	1	10	100

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01 (Studentのt検定)

(#：但し、血漿ChEについては雌雄の合計値で検定した。)

A：擦過群、I：非擦過群

^a：検査例数 4

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの

100 mg/kg/day群雌雄において赤血球コリンエステラーゼ活性及び脳コリンエステラーゼ活性の有意な低下が認められた。しかし、血漿コリンエステラーゼ活性は対照群と比較し変動のみられるものの、毒性学的に意味のない変動範囲内の変化であった。10 mg/kg/day群擦過群雄の赤血球コリンエステラーゼ活性が対照群に比較し低下したが、同群雌では検体塗布に関連したと思われる変化は認めなかった。10および1 mg/kg/day群の擦過群の雄において赤血球コリンエステラーゼ活性の有意な低下がみられたが、対照群との差はわずかであることから検体塗布に関連した変化とは思われなかった。

<申請者注：10および1 mg/kg/day群の擦過群の雄にみられた赤血球コリンエステラーゼ活性の有意な低下については非擦過群には異常がなく、かつコリンエステラーゼ活性について毒性学的に意義のあるとされる20%低下とほぼ同値であったことから、検体投与の影響はなかったと判断された。>

臓器重量；塗布期間終了時に全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、心臓、生殖器、甲状腺(含上皮小体)、副腎、下垂体、脳

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

項目	性別及び用量群 (mg/kg/day)					
	雄			雌		
	1	10	100	1	10	100

統計学的有意差：↑↓：p<0.05 ↑↓：p<0.01 (Student の t 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの

検体塗布の擦過群と非擦過群において、対照群と比較し有意な変動が散見されたが、検体塗布用量との関連性は認められず、検体塗布に関連したと思われる変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；塗布期間終了時に全動物を対象として、肉眼的病理検査を行った。

その結果、検体塗布に関連したと思われる変化は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の臓器について病理組織学的検査を行った。

副腎、脳（延髄、小脳、大脳皮質）、生殖器、心臓、腎臓、肝臓、胆のう、下垂体、皮膚（塗布部位、非塗布部位）、甲状腺と上皮小体、肉眼的病変部、

病理組織学的検査を実施せず、保存した臓器を以下に示す。

大動脈（胸部、大動脈弓）、盲腸、頸部、十二指腸と回腸、眼球、空腸、膵臓と脾臓、肺と主気管支、リンパ節（頸部、腸間膜）、乳腺、骨髄、結腸、食道、前立腺、唾液腺、舌、骨格筋、胸腺、気管、胃(腺部と無腺部)、膀胱、子宮、座骨神経

擦過群と非擦過群の間には皮膚変化に差異を認めなかった。また、対照群を含む多くの動物で肝臓の慢性炎症細胞浸潤が認められた。この肝臓の変化は Eimeria stiedae (ウサギの肝に寄生する寄生球虫) 感染ウサギに通常みられる変化であり、検体塗布に関連した変化ではなかった。その他臓器において、いくつかの病変が観察されたが、いずれの病変も検体塗布量と相関性はなく、検体塗布に関連したと思われる病理組織学的変化は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

以上の結果から、ダイアジノン原体のウサギを用いた21日間亜急性経皮毒性試験における影響としては、100 mg/kg/day群雌雄における赤血球コリンエステラーゼ活性及び脳コリンエステラーゼ活性の低下、10 mg/kg/day群擦過群雄における赤血球コリンエステラーゼ活性の低下であった。

従って、当試験における無毒性量は雄で1 mg/kg/day、雌で10 mg/kg/dayと判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(8) 反復吸入毒性

(資料No. 18)

試験成績提出除外理由書 (試験未実施)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与神経毒性試験 (資料No. 19)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体純度： (原体)

供試動物： 系ラット、開始時5週齢、開始時体重 雄 136～172 g 雌 116～146 g、1群雌雄各10匹

投与期間：90日間(雄； 年5月17日～ 年8月15日、雌； 年5月18日～ 年8月16日)

なお、以下、投与開始日を投与1日として起算した。

投与方法：検体を0、25、125及び1000 ppmの濃度で飼料に混入し、90日間にわたって随時摂取させた。検体を混入した飼料は3～12日の間隔で計13回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率；生死を毎日、午前・午後の2回観察した。

試験期間中死亡した動物はなかった。

一般状態；一般状態を毎日、午前・午後の2回観察した。

各投与群の雌雄ともに、投与期間中に異常は認められなかった。

体重変化；投与1、4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85及び91日にすべての動物の体重を測定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

検査 時期	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	25	125	1000	25	125	1000

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01 (Dunnett検定)

表中の数値は変動の日安として対照群を100とした場合の値を示したもの

1000 ppm投与群の雌で投与4、8及び15日に有意な低値が認められた。これらの変化は、先に実施した28日間反復経口投与神経毒性予備試験では認められていないこと、対照群と比較してごく軽度であること、投与22日以降には変化がみられないこと、雄に変化がみられないことから、検体投与に関連しない偶発的な変化と考えられた。

したがって、いずれの投与群の雌雄でも検体投与による影響はなかった。

摂餌量；全動物について投与1、4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85、及び91日の午前中に給餌量及び残量を測定し、1日あたりの摂餌量を算出した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

検査 時期	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	25	125	1000	25	125	1000

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01 (Dunnett検定)

表中の数値は変動の日安として対照群を100とした場合の値を示したもの

1000 ppm投与群の雌で投与71～78日に有意な高値が認められたが、一過性の変化であり、検体投与との関連はないと考えられた。

したがって、いずれの投与群の雌雄でも検体投与による影響はなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		25	125	1000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.7	8.4	69.1
	雌	1.8	9.3	82.4

詳細な状態の観察；投与開始前、投与2、4、8及び13週時に、全例を対象として、以下の項目を観察し、あらかじめ定めたスコアリング基準を用いて評価した。

ホームケージ； 体位・姿勢、呼吸状態、振戦・痙攣、常同行動/回転・旋回、異常行動/自咬

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

ハンドリング； ケージから取り出す際の取り出し易さ、取り扱い易さ、筋収縮性、立毛、被毛の状態、眼・眼球及び粘膜の外観、皮膚、瞳孔径、流涙、流涎、その他の分泌物の有無
 オープンフィールド； 歩行、運動協調性、環境刺激に対する反応、探索行動、排泄状態/排尿・排糞、常同行動/身づくろい・くびふり、異常行動/後ずさり・異常発声、攻撃性

各投与群の雌雄ともに、いずれの検査時にも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、投与2、4、8及び13週時に、全例を対象として、以下の項目を観察し、あらかじめ定めたスコアリング基準を用いて評価した。視覚刺激(接近反応)、触覚刺激(接触反応)、聴覚刺激(音に対する反応)、痛覚刺激(尾根部を挟む)、固有受容器刺激(強制姿勢からの復帰)、空中正向反射さらに、以下の項目の測定を行った。

前後肢握力、後肢の開脚幅、自発運動量(10分間隔で60分間測定)。

対照群と比較して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(週)	検査項目	性別及び投与量(ppm)					
		雄			雌		
		25	125	1000	25	125	1000
2							
4							
13							

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

(Dunnett 検定または Mann-Whitney の U 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

自発運動量について対照群と比較して有意な変化が散見されたが、一過性の変化であること、及び/または用量依存性が認められなかったことから、検体投与との関連はないと考えられた。

したがって、いずれの投与群の雌雄でも検体投与による影響はなかった。

眼科学的検査； 投与開始前(群分け前に実施)は全例、投与13週時は対照群及び1000 ppm投与群の全例について検査した。

検体投与に関連のある異常は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

コリンエステラーゼ活性測定；全例について投与91日に、頸静脈より採血し、血漿及び赤血球アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 活性を測定した。

また、投与91日に灌流固定実施例(後述)を除く全例から脳を摘出し、脳AChE活性を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

検査項目	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	25	125	1000	25	125	1000

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

(Dunnett 検定または Mann-Whitney のU検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの

<>：無毒性量を判断するための参考値として記載した

すべての投与群の雌雄で血漿及び赤血球アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 活性が用量依存性に低下した。

1000 ppm投与群の雌雄及び125 ppm投与群の雌で脳AChE活性の低下が認められた。

肉眼的病理検査；いずれの群においても、特に神経症状を示す動物が認められなかったため、各群雌雄各5匹を灌流固定の対象動物とした。灌流固定の対象動物については、投与91日の心臓全身灌流固定後に、病理組織学的検査用の器官・組織を摘出する際に肉眼的に観察した。また、灌流固定対象外の各群雌雄各5匹については、投与91日にエーテル麻酔下で放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。

いずれの投与群の雌雄でも検体投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査；投与91日に各群雌雄各5匹の灌流固定対象動物について、ペントバルビタールナトリウム(約40 mg/kg)による深麻酔下にて、前処理液としてヘパリン・亜硝酸ナトリウム添加ラクトリンゲル液、固定液として3%グルタルアルデヒド、3%パラホルムアルデヒド、0.1%ピクリン酸及び0.05%塩化カルシウムを含む0.1Mリン酸緩衝液を用いて心臓全身灌流固定した後、以下の器官・組織についてパラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本を作製し、鏡検した。また、末梢神経については、樹脂包埋後、薄切し、トルイジン・ブルー染色標本も作製して検査した。

前脳及び海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、

視神経及び網膜を含む眼球、脊髄の頸膨大及び腰膨大、脊髄神経節、

神経線維の前根及び後根、近位の坐骨神経、

近位の脛骨神経(膝部)及び脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋(腓腹筋)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

各群雌雄の検鏡したいずれの器官・組織にも検体投与に関連した異常所見は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する90日間飼料混入投与による神経毒性試験における影響として、すべての投与群の雌雄で血漿及び赤血球AChE活性が低下し、1000 ppm投与群の雌雄及び125 ppm投与群の雌で脳AChE活性が低下した。

本検体は有機リン系殺虫剤として今日まで使用されている。有機リン化合物は、神経伝達物質であるアセチルコリンを分解する酵素AChEと結合しその活性を阻害することから、神経終末にアセチルコリンが蓄積し間接的にシナプスにおける情報伝達を阻害する¹⁾。AChE活性は脳、血球、血漿の順にその活性が強い¹⁾ことが知られ、本試験においてもAChE活性の阻害は脳、血球、血漿の順に強く認められている。また、血清中の偽性コリンエステラーゼ活性が20%以上阻害された時の有機リン系殺虫剤中毒の治療法が紹介され²⁾、血漿AChEは有機リン化合物の中毒における指標酵素とされている。一方、AChE活性阻害のみが有機リン化合物の特異な毒性の主たる要素ではないことから、AChE活性の低下のみで神経毒性を説明することは困難であるともいわれている³⁾。本試験では、AChE活性の阻害は25 ppm以上の投与群に用量依存性にみられるが、神経症状は認められず、血漿AChE活性の低下は投与物質の体内吸収の程度を示していると考えられる。これらのことから、本試験の神経毒性及び一般毒性学的な無毒性量の判断基準として、神経毒性は脳中コリンエステラーゼ活性が20%以上阻害される場合、一般毒性は血漿及び赤血球中コリンエステラーゼ活性が20%以上阻害される場合とするのが適当と考えられた。

したがって、本剤の神経毒性に関する無毒性量は雄で125 ppm (8.4 mg/kg/day)、雌で25 ppm (1.8 mg/kg/day)であると判断される。一般毒性についての無毒性量は雌雄とも25 ppm(雄：1.7 mg/kg/day、雌：1.8 mg/kg/day)未満と判断された。

参考文献

- 1) Santhoshkumar P, Karanth S, Shivanandappa T. Neurotoxicity and Pattern of Acetylcholinesterase Inhibition in the Brain Regions of Rat by Bromophos and Ethylbromophos. *Fundamental and Applied Toxicology*. 32, 23-30 (1996)
- 2) Curtis D. Klaassen 編、キャサレット&ドール トキシコロジー、The Basic Science of Poisons 第6版、サイエンティスト社、p. 891. (2004)
- 3) Karanth S, Oliver K Jr., Liu J, Pope C. In Vivo Interaction between Chlorpyrifos and Parathion in Adult Rats: Sequence of Administration Can Markedly Influence Toxic Outcome. *Toxicol Appl Pharmacol*. 177, 247-255 (2001)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性

(資料No. 20)

試験成績提出除外理由書(試験未実施)