

(案)

農薬評価書

アミトラズ

2007年2月7日

食品安全委員会農薬専門調査会

目次

・ 目次	1
・ 審議の経緯	3
・ 食品安全委員会委員名簿	3
・ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿	3
・ 要約	4
・ 評価対象農薬の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 開発の経緯	5
・ 毒性等に関する科学的知見	6
1. 動物体内運命試験	6
(1) ラット	6
(2) 乳牛	7
(3) 仔牛	7
(4) イヌ	7
(5) ヒト	7
2. 植物体内運命試験	8
3. 土壌中運命試験	8
(1) 土壌中運命試験(好氣的、嫌氣的及び無菌の土壌)	9
(2) 土壌吸着試験	9
4. 水中運命試験	9
(1) 水中光分解試験(河川水及び滅菌蒸留水)	9
(2) 加水分解試験(緩衝液)	9
5. 土壌残留試験	10
6. 作物残留試験	10
7. 一般薬理試験	10
8. 急性毒性試験	11
9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験 < GLP 対応 >	12
10. 亜急性毒性試験	12
(1) 90 日間亜急性毒性試験(ラット)	12
(2) 90 日間亜急性毒性試験(マウス)	12
(3) 90 日間亜急性毒性試験(イヌ)	13
(4) 21 日間反復経皮毒性試験(ウサギ) < 参考データ >	13

(5)	21 日間反復吸入毒性試験(ラット)	13
(6)	代謝物 B の 90 日間亜急性毒性試験(ラット)	14
(7)	代謝物 B の 90 日間亜急性毒性試験(イヌ)	14
(8)	代謝物 F の 21 日間亜急性毒性試験(ラット)	14
(9)	代謝物 F の 90 日間亜急性毒性試験(イヌ)	14
11.	慢性毒性試験及び発がん性試験	15
(1)	2 年間慢性毒性試験(イヌ)	15
(2)	2 年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)	15
(3)	2 年間慢性毒性/発がん性併合試験(マウス)	15
(4)	18 ヶ月間発がん性試験(マウス)	15
(5)	2 年間発がん性試験(マウス)	16
12.	生殖発生毒性試験	16
(1)	3 世代繁殖試験(ラット)	16
(2)	発生毒性試験(ラット)	16
(3)	発生毒性試験(ラット)	17
(4)	発生毒性試験(ウサギ)	17
(5)	発生毒性試験(ウサギ) <参考データ>	17
13.	遺伝毒性試験	17
14.	その他の試験	19
(1)	ヒト志願者による二重盲検定	19
(2)	ヒトにおける急性中毒例(文献)	20
(3)	代謝物 B のヒト志願者による経口投与試験	20
・	総合評価	21
・	別紙 1:代謝物/分解物略称	25
・	別紙 2:検査値等略称	26
・	別紙 3:作物残留試験成績	27
・	参照	28

< 審議の経緯 >

- 1975年 5月 7日 初回農薬登録
- 2005年 11月 29日 残留農薬基準告知(参照1)
- 2006年 11月 6日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請(厚生労働省発食安第1106001号)同接受
- 2006年 11月 9日 食品安全委員会第167回会合(要請事項説明)(参照7)
- 2007年 1月 22日 農薬専門調査会確認評価第二部会第2回会合(参照8)
- 2007年 2月 7日 農薬専門調査会幹事会第10回会合(参照9)

< 食品安全委員会委員名簿 >

(2006年12月20日まで)

寺田雅昭(委員長)
見上 彪(委員長代理)
小泉直子
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
本間清一

(2006年12月21日から)

見上 彪(委員長)
小泉直子(委員長代理*)
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
本間清一

*2007年2月1日から

< 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿 >

鈴木勝土(座長)	三枝順三	根岸友恵
廣瀬雅雄(座長代理)	佐々木有	林 真
赤池昭紀	高木篤也	平塚 明
石井康雄	玉井郁巳	藤本成明
泉 啓介	田村廣人	細川正清
上路雅子	津田修治	松本清司
臼井健二	津田洋幸	柳井徳磨
江馬 眞	出川雅邦	山崎浩史
大澤貫寿	長尾哲二	山手丈至
太田敏博	中澤憲一	與語靖洋
大谷 浩	納屋聖人	吉田 緑
小澤正吾	成瀬一郎	若栗 忍
小林裕子	布柴達男	

要 約

殺虫剤(殺ダニ剤)である「アミトラズ」(IUPAC: *N'*-(2,4-ジメチルフェニル)-*N*-[(2,4-ジメチルフェニル)イミノ]メチル]-*N*-メチルメタンイミダミド)について、各種評価書等(農薬抄録、JMPR レポート、米国 EPA レポート、Health Canada レポート、Australia APVMA レポート)を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価書等における試験成績は、動物体内運命(ラット、乳牛、仔牛、イヌ、ヒト)、植物体内運命(りんご、レモン、西洋ナシ、きゅうり、いんげん豆)、土壌中運命、水中運命、土壌残留、作物残留、急性毒性(ラット、マウス、モルモット、ウサギ、イヌ、ヒヒ)、亜急性毒性(ラット、マウス、ウサギ、イヌ)、慢性毒性(イヌ)、慢性毒性/発がん性併合(ラット、マウス)、発がん性(マウス)、3 世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット、ウサギ)、遺伝毒性試験等である。

各種毒性試験結果から、本剤の影響として中枢神経系に対する軽度の抑制が認められ、イヌで最も感受性が高いことが示唆された。催奇形性及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験において、雌マウスでリンパ/細網細胞系腫瘍及び肝腫瘍の発生頻度が増加したが、明らかな毒性を示した高用量でのみで認められ、また遺伝毒性が認められないことから、発生機序は非遺伝毒性的メカニズムであり、本剤の評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各試験で得られた無毒性量の最小値は、イヌ 2 年間慢性毒性試験の無毒性量 0.25 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.0025mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)とした。

．評価対象農薬の概要

1．用途

殺虫剤

2．有効成分の一般名

和名：アミトラズ

英名：amitraz

3．化学名

IUPAC

和名：N,N'-[(メチルイミノ)ジメチリジン]ジ-2,4-キシリジン

英名：N,N'-[(methylimino)dimethylidyne]di-2,4-xylidine

CAS (No.33089-61-1)

和名：N'-(2,4-ジメチルフェニル)-N-[(2,4-ジメチルフェニル)イミノ]メチル]-N-メチルメタンイミダミド

英名：N'-(2,4-dimethylphenyl)-N-[(2,4-dimethylphenyl)imino]methyl]-N-methylmethanimidamide

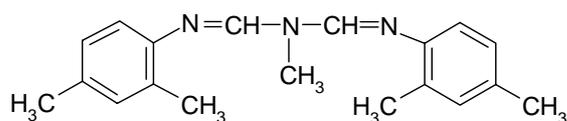
4．分子式

C₁₉H₂₃N₃

5．分子量

293.4

6．構造式



7．開発の経緯

アミトラズは、1970年代初頭にイギリスのブーツ社により開発された殺虫剤（殺ダニ剤）であり、薬剤にダニが接触することで効力を発揮する。作用機構は、オクトパミンレセプターに作用してcAMPの過剰生産を引き起こし、リン酸化と脱リン酸化のバランスを乱すと考えられている。

日本では1975年5月7日に農薬登録されている。その後1985年10月22日にみかんのロウムシ類に対して、2003年12月17日にかんきつに適用拡大された。本原体の所有権は、現在はアリストライフサイエンス株式会社（以下「申請者」と言う）が有している。

・毒性等に関する科学的知見

農薬抄録(2006年)、JMPR レポート(1998年)、米国 EPA レポート(2004年)、Health Canada レポート(1995年)及び Australia APVMA レポート(1995年)を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した。(参照2~6)

各種運命試験(-1~4)は、アミトラスの両フェニル環の炭素を¹⁴Cで標識したもの(phe-¹⁴C-アミトラス)2位のメチル基の炭素を¹⁴Cで標識したもの(met-¹⁴C-アミトラス)、フェニル環の水素を³Hで標識すると同時に主鎖である1,3,5-トリアザペントの炭素を¹⁴Cで標識したもの(tri-¹⁴C-アミトラス)を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない場合はアミトラスに換算した。代謝物/分解物略称及び各種略称は別紙1及び2に示されている。

1. 動物体内運命試験

(1) ラット

SDラット(一群雌雄各3匹)にmet-¹⁴C-アミトラスを10 mg/kg 体重単回経口投与し、排泄・体内分布を検討した。その結果、雌雄とも投与後24時間以内に約82% TAR (TAR: 総処理放射能)が尿及び糞中に排泄され、主要排泄は尿(雄76.2% TAR、雌73.3% TAR)であった。投与後96時間では雌雄とも94% TARが排泄され、組織内の放射能濃度は肝で比較的高値(雄0.35~0.41 µg/g、雌0.43~0.65 µg/g)であったが、肝及び消化管内容物を除いては0.29 µg/g以下とわずかであった。(参照2)

ラット(一群雌雄各4匹、系統不明)にmet-¹⁴C-アミトラスを4 mg/kg 体重/日、28日間経口投与し、投与7日目、28日目、投与終了後2日目及び7日目の組織における放射能の分布を調べた。その結果、組織における放射能濃度は、投与期間中では甲状腺(3.90~8.76 µg/g)、副腎(1.20~2.81 µg/g)、肝(1.51~2.10 µg/g)及び皮膚(0.40~1.07 µg/g)で比較的高かった。投与終了後には急速に減少し、7日目には皮膚(0.19~0.37 µg/g)、肝(0.28~0.35 µg/g)、副腎(0.21~0.28 µg/g)及び脾(0.14~0.21 µg/g)で比較的高かったが、他の組織では0.14 µg/g以下であった。(参照2)

雌雄ラット(個体数、系統不明)にmet-¹⁴C-アミトラスを4 mg/kg 体重/日、26日間経口投与し、尿中の主要代謝物を調べた。その結果、雄で少なくとも2種、雌で少なくとも7種の代謝物が検出されたが、加水分解処理によりこれらの代謝物は全て代謝物Fに変換した。(参照2)

SDラット雌雄(個体数不明)にmet-¹⁴C-アミトラスを1、10、50及び100 mg/kg 体重単回経口投与し、尿中代謝物の同定及び投与量による影響を検討した。その結果、尿中からアミトラスは検出されず、代謝において性差は認められなかった。主要代謝物は代謝物G、H及びBであった。G及びHは合わせて32% TRR (TRR: 総残留放射能)まで認められ、TRRに対する割合は投与量に関わらず同程度であった。Bの排泄は投与量に相関しており、1 mg/kg 体重投与群では2.11~5.41% TRR、100 mg/kg 体重投与群では23.0~38.0% TRR認められた。その他に代謝物E、C、F(いずれの代謝物も2.43% TRR未満)及び各種抱合体が認められた。(参照2)

<参考試験: ラットにおける代謝、1971年>

雌雄ラット（個体数、系統不明）に met-¹⁴C-アミトラスを 10 mg/kg 体重単回経口投与し、呼吸及び排泄、体内分布について検討した。その結果、48 時間以内に尿及び糞中に約 45.5%TAR 排泄され、呼気への排泄は 0.1%TAR 未満であった。T_{max} は 1~1.5 時間であった。組織内残留放射能は肝で最も高かった。（参照 2）

（ 2 ）乳牛

Ayrshine 乳牛（雌 1 頭）に met-¹⁴C-アミトラスを 1.5 g、7 日間隔で 2 回経皮投与し、吸収・排泄、体内分布について検討した。その結果、塗布後 10~72 時間の乳における放射能濃度は 0.09 µg/g であったが、塗布後 6 日目には 0.04 µg/g に低下した。2 度目の塗布後における乳中放射能濃度の上昇は少なく、塗布後 9 日目（1 度目の塗布後 17 日目）には検出限界以下（<0.03 µg/g）に低下した。尿中には 0.39~10.6 µg/g、糞中には 0.29~5.96 µg/g 検出された。組織内残留は肝（0.87 µg/g）で最も高く、他の組織では 0.03~0.07 µg/g であった。（参照 2）

（ 3 ）仔牛

仔牛（性別、個体数、品種不明）に tri-¹⁴C-アミトラスを 50 mg 単回経口及び 450 mg 単回経皮投与と同時に行い、吸収・排泄及び体内分布について検討した。その結果、尿及び糞中の放射能濃度は経時的に減少し、投与日及び投与 1 日後には 11.1~17.2 µg/g であったが投与 7 日後には 0.29~0.9 µg/g まで減少した。投与 7 日後の組織内残留は肝（0.42~2.19 µg/g）で最も高く、他の組織では 0.03~1.15 µg/g と僅かであった。また、毛において親化合物、代謝物 B 及び C が認められた。（参照 2）

仔牛 1 頭（性別、品種不明）に met-¹⁴C-アミトラスを 2.1 mg/kg 体重、第一胃内に直接投与し、吸収・排泄及び体内分布について検討した。その結果、投与約 9 時間後の尿中に 10.9%TAR が排泄された。組織内残留は筋肉、心臓、脳、骨髄及び大網では検出限界以下（<0.05 µg/g）であったが、他の組織では高い残留が認められ、特に腎（4.78 µg/g）、肝（3.02 µg/g）及び消化管（0.13~1.73 µg/g）で高かった。（参照 2）

仔牛 1 頭（性別、品種不明）に met-¹⁴C-アミトラスを 1.9 mg/kg 体重単回経皮投与し、吸収・排泄及び体内分布について検討した。その結果、尿中排泄は 2.6%TAR であった。組織内残留は眼（1.77 µg/g）、肝（0.42 µg/g）、腎（0.32 µg/g）及び大腸（0.24 µg/g）を除いては 0.09 µg/g 以下であった。（参照 2）

（ 4 ）イヌ

ビーグル犬（雌雄各 1 匹）に met-¹⁴C-アミトラスを 4 mg/kg 体重、単回カプセル経口投与し、吸収・排泄、体内分布及び代謝物について検討した。その結果、4 日以内に 80%TAR 以上が尿及び糞中に排泄された。96 時間後の組織内残留は、眼（0.37~2.27 µg/g）、肝（1.00~1.17 µg/g）及び皮膚（0.41~0.44 µg/g）で比較的高かった。尿中代謝物は同定できなかった。また、血漿中で検出された放射能の 18.6%がタンパク質に結合していることが確認された。（参照 2）

（ 5 ）ヒト

ヒトボランティア 2 名(男性、年齢 30-40 歳、体重 73-90kg)に met-¹⁴C-アミトラズを 0.25 mg/kg 体重、単回カプセル経口投与し、排泄及び代謝物同定試験が実施された。その結果、両ボランティアは投与後 90-160 分後に口渇、眠気、頭痛等が認められ、試験した他の動物種よりもアミトラズに対する感受性が高かった。尿中排泄率は両ボランティアとも類似しており、動物試験で認められたパターンと同じであった。投与後 24 時間以内に約 60% TAR が排泄され、72 時間では約 82% TAR であった。主要代謝物は G 及び H であり、合わせて 27.1% 尿中 TRR を占めた。微量代謝物として B、F、C、E が 1.4~5.8% 尿中 TRR 認められた。(参照 2)

2. 植物体内運命試験

りんご、レモン、西洋ナシ、きゅうり及びいんげん豆を用いたアミトラズの植物体内運命試験が実施された。

温室内で栽培していたりんご及びレモン(品種不明)の葉面に met-¹⁴C-アミトラズ 0.075 mg ai を塗布した結果、処理後 21 日の葉において、親化合物が 40.2% TAR(りんご)及び 51.1% TAR(レモン)を占め、抱合体を含めた代謝物 B 及び C が、りんごでそれぞれ 28.8% TAR 及び 15.5% TAR、レモンでそれぞれ 23.1% TAR および 7.7% TAR が検出された。(参照 2)

りんご(品種: Variety Cox's Orange Pippin)に met-¹⁴C-アミトラズ 10 mg ai を乳剤に製剤化して処理した結果、21 日後の果実における残留放射能は 55.0% TAR であり、果皮に 38.5% TAR、果肉に 16.5% TAR が分布していた。この場合の親化合物の残留濃度は果皮で 6.1% TAR、果肉からは検出されなかった。代謝物 B 及び C は、果皮でそれぞれ 11.3% TAR 及び 3.8% TAR、果肉でそれぞれ 3.5% TAR 及び 9.0% TAR が検出された。(参照 2)

西洋ナシ(品種不明)に met-¹⁴C-アミトラズを 0.06% ai の濃度で果実表面に処理した結果、処理 29 日後及び 61 日後(収穫期)の果実に 45 及び 52% TAR の残留放射能が検出され、主要代謝物は B(14.0% TAR)及び C(5.3% TAR)であった。微量代謝物として E 及び D が同定され、親化合物は 1% TAR 以下であった。(参照 2)

レモン(Eureka 種)に phe-¹⁴C-アミトラズを 0.155~0.174 mg ai/個(1 倍処理区)または 1.73~18.1 mg ai/個(10 倍処理区)、収穫 43 日及び 15 日前の 2 回散布し、放射能分布及び代謝について検討した。試料は、1 回目散布後(0 日後試料)、2 回目散布後(28 日後試料)及び 2 回目の散布から 15 日後(最終試料)に採取した。0 及び 28 日後試料では、両処理区とも 92.0~97.6% TAR が果皮表面(洗浄液中)に認められた。最終試料においては、1 倍処理区では果皮中で 63.8% TAR(1.53 mg/kg)と最も多く、果皮表面に 22.2% TAR(0.53 mg/kg)、果肉中に 14.2% TAR(0.33 mg/kg)認められた。これに対し 10 倍処理区では果皮表面に 58.6% TAR(13.0 mg/kg)存在し、果皮中に 34.8% TAR(7.68 mg/kg)、果肉中に 6.6% TAR(1.48 mg/kg)であった。主要代謝物は B であり、1 倍処理区では 29.5% TRR(0.709 mg/kg)、10 倍処理区では 12.7% TRR(2.81 mg/kg)を占め、他に微量代謝物として C、D、E、F、G 及び H が認められた。親化合物は、1 倍処理区では 18.1% TRR(0.435 mg/kg)、10 倍処理区では 59.6% TRR(13.2 mg/kg)認められた。主要代謝経路は、加水分解によって起こる N-メチル部位の開裂による主要代謝物 B 及び C の生成であった。(参照 2)

3. 土壌中運命試験

(1) 土壌中運命試験 (好氣的、嫌氣的及び無菌的土壌)

phe-¹⁴C-アミトラズを砂壤土 (採取地 : Sutton Bonnington または Shelford) 及びシルト質壤土 (Willingham) に 6 mg/kg の濃度で処理し、土壌中運命試験が実施された。

好氣的土壌では、処理されたアミトラズは 90%以上が速やか (1 日以内) に分解され、主として代謝物 C が処理放射能の 1/3 を占め、14 日後に 1/10 以下に減少した。同時に、代謝物 E 及び B が生成したが、いずれも 10%TAR を超えることはなかった。両土壌とも 90 日後までに 15.2~23.7%TAR、364 日後までに 24.8 ~34.5%TAR の二酸化炭素が発生した。非抽出放射能は 30~59 日後に最大 73.7~80.1%TAR になり、その後 364 日後までに 52.9~64.5%にやや減少した。

嫌氣的土壌での二酸化炭素発生は、90 日後 (好氣的条件 30 日+嫌氣的条件 60 日) までに 7.1~12.9%TAR であり、好氣的土壌より少なかった。

無菌的土壌では二酸化炭素の発生は認められなかった。無菌的土壌でもアミトラズの分解は速やかで、1 日後には親化合物が 2%TAR 以下に減少し、C が 40~50%TAR を占め、30 日後でも 30~40%TAR を占めた。B と E はこの間、1~6 %TAR の間で推移した。(参照 2)

(2) 土壌吸着試験

アミトラズの土壌吸着試験が 4 種類の国内土壌 (埴壤土 : 十勝、軽埴土 : 石川、シルト質埴壤土 : 茨城、砂土 : 宮崎) を用いて実施されたが、アミトラズは土壌中で急速に分解したため、吸着係数は算出できなかった。(参照 2)

4 . 水中運命試験

(1) 水中光分解試験 (河川水及び滅菌蒸留水)

河川水 (採取地 : 神奈川県 水無川上流) 及び滅菌蒸留水におけるアミトラズの光分解試験が実施された。

河川水及び滅菌蒸留水ともに、光の照射によりアミトラズの分解速度は増加した。河川水中と滅菌蒸留水中での分解速度を比較すると、明条件及び暗条件とも滅菌蒸留水での分解が河川水中よりも速やかであったことから、この場合のアミトラズの分解は微生物による寄与は少なく、試験水中の pH の影響 (河川水の pH7.8、蒸留水 pH6.9) が大きいと考えられた。主要分解物 B は、試験水溶液の調製直後から検出され、アミトラズの減少とともに 24 時間後までは増加し、その後減少した。推定半減期は河川水及び滅菌蒸留水で 0.8 日 (20 時間) 及び 0.5 日 (11 時間) であった。これは、太陽光下での半減期に換算すると 5.1 日及び 2.8 日であった。(参照 2)

(2) 加水分解試験 (緩衝液)

phe-¹⁴C-アミトラズを用い、フタル酸緩衝液 (pH5.0)、リン酸緩衝液 (pH7.0) 及びホウ酸緩衝液 (pH9.0) における加水分解試験が実施された。

その結果、アミトラズは水溶液中で急速に加水分解された。pH5.0、7.0 及び 9.0 における半減期はそれぞれ 2.1 時間、22.1 時間及び 25.5 時間であり、酸性条件下で分解しやすいことが確認された。分解物は C、B 及び E であり、どの試験水においても C の生成が最も

多かった。これらの化合物はともにさらに分解されやすく、Bは分解してCとなり、さらに分解してEとなった。(参照2)

5. 土壌残留試験

埴壤土(福島) 洪積埴壤土(長野) 火山灰埴壤土(栃木) 及び洪積砂質埴壤土(愛知)を用いたアミトラズの土壌残留試験(圃場及び容器内)が実施された。

推定半減期は表1に示されている。圃場試験では、測定したいずれの時点でも検出限界以下(<0.1 mg/kg)であった。(参照2)

表1 土壌残留試験成績(推定半減期)

試験	濃度 ¹⁾	土壌	推定半減期(アミトラズ)
圃場試験	0.8 g ai/樹	埴壤土	推定できず
	1000~1200 g ai/ha	洪積埴壤土	推定できず
容器内試験	0.5 mg/kg	火山灰埴壤土	約3時間
		洪積砂質埴壤土	約3時間

1)圃場試験で20%乳剤、容器内試験で原体を使用

6. 作物残留試験

アミトラズ及び代謝物Bを分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。結果は別紙3のとおりであった。(参照2)

7. 一般薬理試験

ラット、マウス及びウサギを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表2に示されている。(参照2)

表2 アミトラズ一般薬理試験概要

	試験の種類	動物種	動物数/群	投与量 (mg/kg 体重) 投与経路	無作用量 (mg/kg 体重)	作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要
中枢神経系	体温	ウサギ	5	25, 50 (経口)	-	25	25mg/kg 体重では軽微、50mg/kg 体重では急激な体温降下を示したが、いずれも24時間後には正常体温に回復
	発熱物質の影響			検体: 50(経口) DNP ¹⁾ : 15(静注)			DNPによる体温上昇を僅かに抑制、上昇持続時間も僅かに短縮
	筋弛緩	マウス	雄 5~10	300~1000	(懸垂法) 1000 (斜面法) 1000 (正向反射) 1000 (回転棒法)	(懸垂法) >1000 (斜面法) >1000 (正向反射) >1000 (回転棒法)	回転棒法のみ、投与後1~4時間の10例中2例に軽度の筋弛緩作用

					<1000	1000	
	睡眠作用		雄 10	700 (経口)	-	700	睡眠持続時間の軽度な延長
	自発運動量		雄 10	700 (経口)	-	700	明らかな自発運動量の抑制
	自発性脳波	ウサギ	1	25, 50 (胃ゾンデ)	25	50	投与 1~2 時間後に律動性が不規則~消失し、著明な高振幅徐派及び心電図での除脈を示し 4 時間後に死亡
循環器系	血圧・呼吸・心電図	ウサギ	雄 1	100, 200, 300 µg/kg 体重 (耳静脈静注)	血圧: 200 呼吸: 100 心電図: 300 (µg/kg 体重)	血圧: 300 呼吸: 200 心電図: - (µg/kg 体重)	血圧下降、呼吸興奮が認められたが、心電図への影響は認められず
	腎臓に対する影響	ラット	雄 10	200 (経口)	(尿量) - (電解質) - (一般尿検査) -	(尿量) 200 (電解質) 200 (一般尿検査) 200	尿量が軽度増加、Na 及び K の顕著な減少、一般尿検査にてブドウ糖陽性
	平滑筋に対する影響	ウサギ 摘出腸管	1	3×10^{-5} , 3×10^{-4} 4×10^{-4} g/ml (<i>in vitro</i>)	-	3×10^{-5} g/ml	摘出腸管運動の抑制、緊張低下、運動の不規則、振幅の減少
	抗 ChE 作用		雄 3	300 µg/kg (静注)	300 µg/kg	-	血清 ChE 活性に影響せず
皮膚・眼	皮膚刺激 (Draize 法)	ウサギ	3	0.5 g	-	0.5 g	中程度の刺激性(一次刺激性指数: 2.7)
	眼刺激性 (Draize 法)		3	0.1 g	-	0.1 g	軽度で緩やかな刺激、投与後 24 時間以後に回復
	毛細血管透過性		5	100 (経口)	100	-	影響なし
血液系	血液凝固		3	50 (経口)	-	50	投与後 2~4 時間に凝固時間の短縮傾向
	溶血作用		3	50 (経口)	50	-	溶血性は認められず

1) DNP: 2,4-ジニトロフェノール

8. 急性毒性試験

アミトラズ、代謝物 B 及び C の急性毒性試験が実施された。結果は表 3 に示されている。臨床症状として視床下部機能低下、中枢神経系の抑制、興奮性、運動失調、呼吸困難、振戦、眼瞼下垂、体温低下等が認められ、これらの毒性の強度には種差が認められた。イヌで最も強い毒性を示し、ヒヒ、ウサギで中等度、ラット、モルモットでは低く、マウスで最も低かった。また、代謝物では B の毒性が強いことが示唆され、類似の症状が認められた。(参照 2,3,4,7)

表 3 急性毒性試験結果概要(原体及び代謝物)

被験物質	動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)/ LC ₅₀ (mg/L)
原体	ラット	経口	600

		経皮	>1600
		腹腔内	800
		吸入	65 mg/L
	マウス モルモット	経口	>1600
			400-800
	ウサギ	経口	>100
		経皮	>200
	イヌ ヒヒ	経口	100
			100-250
	代謝物 B	ラット	経口
マウス		150	
イヌ		>20	
代謝物 C	ラット	1600	
代謝物 F	ラット	>1600	
	マウス	>1600	

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験 <GLP 対応>

NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、アミトラスは眼に対し軽微ないし軽度の刺激性を示したが、皮膚に対する刺激性は認められなかった。(参照 2,3)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験(Buehler 法及び Maximization 法)が実施された。その結果、Buehler 法では陰性であったが、Maximization 法では顕著な皮膚感作性(Grade)が認められた。(参照 2,3)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験(ラット)

Wistar ラット(一群雌雄各 21 匹)を用いた強制経口(原体:0, 3, 12 mg/kg 体重/日)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。なお、50 及び 200 mg/kg 体重/日投与群も設けたが、50 mg/kg 体重/日投与群では発育抑制及び行動障害、200 mg/kg 体重/日投与群では興奮性及び衰弱が認められたため、ともに 7 日目で中止した。

12 mg/kg 体重/日投与群で過敏性及び興奮性、体重増加抑制、肝絶対・比重量低下が認められた。肉眼的及び組織学的病理検査において、検体投与の影響による所見は認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と考え、無毒性量は 3 mg/kg 体重/日であると判断された。(参照 2,3,4)

(2) 90 日間亜急性毒性試験(マウス)

B6C3F1 マウス(一群雌雄各 20 匹)を用いた混餌(原体:0, 100, 200, 400, 600, 800 ppm)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

闘争による衰弱のため、100ppm 投与群雄 2 匹及び 600ppm 投与群雄 4 匹を切迫屠殺した。400ppm 以上投与群雄で攻撃行動の増加、体重増加抑制及び飼料効率低下、200ppm

以上投与群雌で体重増加抑制及び飼料効率低下が認められた。肉眼的病理検査において検体投与の影響による所見は認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなく、病理組織学的検査を実施されていないなど限られたデータを用いての評価であったが、無毒性量は雄 200ppm(25.5 mg/kg 体重/日) 雌 100ppm (17.2 mg/kg 体重/日) であると判断された。(参照 2,3,6)

(3) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 2 匹) を用いたカプセル経口 (原体 : 0, 0.25, 1.0, 4.0 mg/kg 体重/日) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

1.0 mg/kg 体重/日以上投与群雌雄で中枢神経系の抑制、運動失調、回帰性の直腸温及び心拍数低下が認められ、4.0 mg/kg 体重/日投与群でより顕著であった。他に 4.0 mg/kg 体重/日投与群雌雄で血中 Glu 増加 (事務局注 : 有意とあるが 72 頁の表中に有意差検定の結果なし) 1.0 mg/kg 体重/日以上投与群雌雄で尿糖及び肝重量増加と肝病変が検出された。

本試験の実施は GLP 準拠下でなく、少ない動物数による限られたデータを用いての評価であったが、無毒性量は雌雄とも 0.25 mg/kg 体重/日であると判断された。(参照 2,3,4,6)

(4) 21 日間反復経皮毒性試験 (ウサギ) < 参考データ >

NZW ウサギ (一群雌雄各 4 匹) を用いた経皮 (原体 : 0, 50, 200 mg/kg 体重/日) 投与による反復経皮毒性試験が実施された。

200 mg/kg 体重/日投与群雄 1 匹及び雌 3 匹、50 mg/kg 体重/日投与群雄 1 匹、対照群雄 1 匹が死亡した。200 mg/kg 体重/日投与群雌で鎮静作用が認められた。50 mg/kg 体重/日以上投与群雌雄で鎮静作用、局所的な皮膚反応、体重及び摂餌量低下、雌で摂餌量低下が認められた。しかし、全群において数匹の動物に感染 (細菌及び寄生虫の両方、またはどちらか) の兆候が認められたため、本試験は評価に用いることができないと判断された。(参照 2,3,4,6)

(5) 21 日間反復吸入毒性試験 (ラット)

CFHB ラット (一群雌雄各 6 匹) を用いた吸入 (原体 : 0.01, 0.1, 1.0 mg/L) 曝露による反復吸入毒性試験が実施された。

0.1mg/L 曝露群雌雄において、曝露中に僅かな呼吸困難、軽度な眼の刺激、音に対する感受性低下が認められ、曝露後は指診に対し過敏であり、攻撃性が認められた。1.0 mg/L 曝露群雌雄では、これらの症状が顕著に認められ、さらに運動失調、鼻の分泌物増加、多尿、振戦、昏睡、体重減少、摂餌量及び飲水量低下、PCV、Hb、RBC 及び TP 低下が認められた。0.01 mg/L 以上曝露群雌及び 0.1 mg/L 以上曝露群雄で体重増加抑制が認められた。0.1 mg/L 以上曝露群では様々な臓器の比重量増加が認められたが、付随する病理学的変化は認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と判断された。無毒性量は雄で 0.01 mg/L、雌では設定できなかった。(参照 2,3,4)

(6) 代謝物 B の 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

代謝物 B の Wistar ラット(一群雌雄各 10 匹)を用いた強制経口(原体:0, 0.25, 1, 3, 12 mg/kg 体重/日)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

12 mg/kg 体重/日投与群雄 2 匹が死因不明で、3 mg/kg 体重/日投与群雄 1 匹が肺炎で死亡した。12 mg/kg 体重/日投与群雌雄で試験 1 週目に興奮状態が認められたが 9 週目には正常状態に回復した。同群雄で脾絶対・比重量の増加、雌で体重増加抑制、肝比重量増加が認められた。3 mg/kg 体重/日以上投与群雄で体重増加抑制及び精巣比重量の増加、雌で副腎比重量及び子宮の絶対・比重量増加が認められたが、これらの臓器にはいずれも関連する病理組織学的変化が認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と考え無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg 体重/日であると判断された。(参照 2,3)

(7) 代謝物 B の 90 日間亜急性毒性試験(イヌ)

代謝物 B のビーグル犬(一群雌雄各 4 匹)を用いたカプセル経口(原体:0, 0.1, 0.25, 1.0 mg/kg 体重/日)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

0.25mg/kg 体重/日以上投与群雌雄で傾眠及び体温低下が認められた。本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と考え、無毒性量は雌雄とも 0.1mg/kg 体重/日であると判断された。(参照 2,3)

(8) 代謝物 F の 21 日間亜急性毒性試験(ラット)

代謝物 F の Wistar ラット(一群雌雄各 4~6 匹、対照群雌雄各 10 匹)を用いた強制経口(原体:0, 40, 100, 250 mg/kg 体重/日)投与による 21 日間亜急性毒性試験が実施された。

250 mg/kg 体重/日投与群雄で軽度の体重増加抑制が認められたが、有意差はなく同群雌での体重変化は対照群と同等であったことから、偶発的な所見と考えられた。250 mg/kg 体重/日投与群雌で脾絶対重量の軽度な増加が認められたが、血液学的及び病理学的変化を伴わず、重要性は不明であった。

以上の結果から、アミトラスの生体内変化によって生成される代謝物 F は親化合物よりも毒性が低いと考えられた。本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と考え、無毒性量は雌雄とも 250 mg/kg 体重/日であると判断された。(参照 2,3)

(9) 代謝物 F の 90 日間亜急性毒性試験(イヌ)

代謝物 F のビーグル犬(一群雌雄各 4 匹)を用いた強制カプセル経口(原体:0, 16, 40, 100 mg/kg 体重/日)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

尿検査において、100 mg/kg 体重/日投与群雌雄の何匹かに尿糖以外の尿中還元物質のわずかな上昇が認められた。これは毒性学上重要ではないが、代謝物 F の投与による影響を完全に無視することはできないと考えられた。

本試験において、100 mg/kg 体重/日が雌雄において尿糖以外の尿中還元物質の尿排泄に影響を及ぼす境界と考えられたため、本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と考え、無毒性量は雌雄とも 40 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2,3)

11. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 2 年間慢性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いたカプセル経口（原体：0, 0.1, 0.25, 1.0 mg/kg 体重/日）投与による 2 年間慢性毒性試験が実施された。

その結果、1.0 mg/kg 体重/日投与群雌雄に軽い中枢神経系の抑制、雄 1 匹に軽い体温低下（正常範囲内の低下）が認められた以外、検体投与に関連する変化は認められなかった。本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と考え、無毒性量は雌雄とも 0.25 mg/kg 体重/日であると判断された。（参照 2,3,4,6）

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 40 匹）を用いた混餌（原体：0, 15, 50, 200ppm）投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

200ppm 投与群雄及び 50ppm 投与群雌で神経過敏、興奮性及び攻撃性が認められ、雌に多く認められた。200ppm 投与群雌雄で体重増加抑制及び摂餌量低下が認められた。腫瘍の発生率、種類及び出現時間に関しては対照群との間に有意差はなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなく、病理組織学的検査結果の詳細が記載されていないなど限られたデータを用いての評価であったが、無毒性量は雄 50ppm（2.50 mg/kg 体重/日）、雌 15ppm（0.97 mg/kg 体重/日）であると判断された。発がん性は認められなかった。（参照 2,3,4）

(3) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 100 匹）を用いた混餌（原体：0, 7, 25, 100, 400ppm）投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

400ppm 投与群雄では早期死亡例が認められ、投与開始 78 週目までに半数以上が死亡した。また同群で Lym 減少、Seg 増加、GOT、ALP 及び BUN 増加、雌で GPT、ALP 及び BUN 増加、TP 低下が認められた。100ppm 以上投与群雌雄で被毛失沢、立毛、自発運動低下、雄で体重増加抑制、雌で飲水量低下が認められた。25ppm 以上投与群雌雄で体重増加抑制が認められた。臓器重量及び病理学的検査において、検体投与に関連する変化は認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と考え、無毒性量は雄 25ppm（3.36 mg/kg 体重/日）、雌 7ppm（0.90 mg/kg 体重/日）であると判断された。発がん性は認められなかった。（参照 2）

(4) 18 ヶ月間発がん性試験（マウス）

CFLP マウス（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体：0, 25, 100, 400ppm）投与による 18 ヶ月間発がん性試験が実施された。

400ppm 投与群雌雄で摂餌量増加、100ppm 以上投与群雌雄で体重増加抑制が認められた。400ppm 投与群雌にリンパ/細網細胞系腫瘍（lymphoreticular tumors）の発生頻度増加が認められた。その他、臓器重量及び病理学的検査において、検体投与に関連する変化は認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と考え、無毒性量は雌雄とも 25ppm

(雄: 2.79 mg/kg 体重/日、雌: 4.11 mg/kg 体重/日)であると判断された。発がん性については、400ppm 投与群雌でリンパ/細網細胞系腫瘍の発生頻度を増加させた。(参照 2)

(5) 2年間発がん性試験(マウス)

B6C3F1 マウス(一群雌雄各 75 匹)を用いた混餌(原体: 0, 25, 100, 400ppm)投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

400ppm 投与群雄で自発運動の亢進、立毛及び円背の増加、M/E 比低下が認められた。100ppm 以上投与群雌雄で体重増加抑制及び摂餌量減少、雄で攻撃行動(皮膚に闘争による傷あり)、雌で M/E 比低下が認められた。400ppm 投与群雌において、肉眼的病理検査で肝腫瘍の発生率増加が認められ、病理組織学的検査では肝細胞癌及び肝細胞腺腫の増加が認められた。25ppm 以上投与群雄で胃の過角化症及び脾の髄外造血の発生頻度増加、雌で肝の過形成性結節、好塩基性肝細胞変性及び斑状血管拡張の発生頻度増加が認められた。

本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と判断された。無毒性量は雌雄とも 25ppm 未満と考えられた。発がん性については、400ppm 投与群雌で肝腫瘍の発生率を僅かに増加させた。(参照 2,3,4,6)

12. 生殖発生毒性試験

(1) 3 世代繁殖試験(ラット)

Wistar ラット(一群雄 12 匹、雌 24 匹)を用いた混餌(原体: 0, 15, 50, 200ppm)投与による 3 世代繁殖試験が実施された。

200ppm 投与群 P 世代において、発育及び摂餌量に僅かな一時的抑制が認められ、同群 F1 世代の哺育期間中に顕著な死亡率増加が生じたため、200ppm 投与群の試験は F1 世代で終了とした。50ppm 投与群では、腹数及び平均同腹児数に検体投与の影響は認められなかったが、全世代の児動物で死亡率の僅かな増加が認められ、有意差はないものの哺育 21 日目の同腹児数は対照群より少なかった。その他の検体投与による影響はどの群にも認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなく、病理組織学的検査結果の詳細が記載されていないなど限られたデータを用いての評価であったが、親動物に対する無毒性量は 50 ppm(雄 4.36 mg/kg 体重/日、雌 5.09 mg/kg 体重/日)、児動物に対する無毒性量は 15 ppm(雄 1.29 mg/kg 体重/日、雌 1.58 mg/kg 体重/日)であると判断された。(参照 2,3,4,6)

(2) 発生毒性試験(ラット)

Wistar ラット(一群雌 11~13 匹)を用いた強制経口(原体: 0, 1, 3, 12 mg/kg 体重/日)投与による発生毒性試験が実施された。

12 mg/kg 体重/日投与群母動物で体重増加抑制、胎児で低体重が認められた。この他、検体投与に関連した毒性所見は認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなく、非常に限られたデータを用いての評価であったが、無毒性量は母動物及び胎児で 3 mg/kg 体重/日であると判断された。催奇形性は認められなかった。(参照 2,3,4,6)

(3) 発生毒性試験(ラット)

SD ラット（一群雌 24 匹）を用いた強制経口（原体：0, 7.5, 15, 30 mg/kg 体重/日）投与による発生毒性試験が実施された。

対照群の 1 匹が死亡した。30 mg/kg 体重/日投与群母動物で毛の汚れが認められた。15 mg/kg 体重/日以上投与群母動物で体重増加抑制、摂餌量低下、胎児で尿管拡張及び両側性の腎盂拡張が認められた。妊娠率はいずれの群でも高く、着床数、着床後胚死亡、胎児数、性比及び剖検所見に検体投与の影響は認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなかったが、評価可能と考え、無毒性量は母動物及び胎児で 7.5 mg/kg 体重/日であると判断された。（参照 3）

（4）発生毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 8~11 匹）を用いた強制経口（原体：0, 1, 5, 25 mg/kg 体重/日）投与による発生毒性試験が実施された。

25 mg/kg 体重/日投与群母動物に体重減少、流産及び感染症の悪化が認められた。胎児には検体投与に関連した毒性所見は認められなかった。

本試験の実施は GLP 準拠下でなく、非常に限られたデータを用いての評価であったが、無毒性量は母動物で 5 mg/kg 体重/日、胎児で 25 mg/kg 体重/日であると判断された。催奇形性は認められなかった。（参照 2）

（5）発生毒性試験（ウサギ） <参考データ>

NZW ウサギ（一群雌 16 匹）を用いた強制経口（原体：0, 3, 6, 12 mg/kg 体重/日）投与による発生毒性試験が実施された。

対照群を含む全群が、試験開始時から呼吸器疾患にかかっていたようだった。剖検所見では胸腔及び肺の異常所見が多数認められた。母動物が 12 mg/kg 体重/日投与群で 4 匹死亡（うち 3 匹は臨床状態の悪化及び流産のため切迫屠殺）、6 mg/kg 体重/日投与群で 2 匹死亡、3 mg/kg 体重/日投与群で 3 匹死亡（うち 1 匹は切迫屠殺）、対照群で 2 匹死亡した。全投与群の母動物に倦怠、斜視、多呼吸が認められ、重症度及び発生頻度は用量に依存していた。12 mg/kg 体重/日投与群母動物で体重増加抑制、摂餌量低下、流産が認められた。3 及び 6 mg/kg 体重/日投与群では、黄体数、着床部位、生存胎児数などに検体投与による悪影響は認められなかった。全投与群において、同腹児重量及び胎児の平均体重、性比への検体投与による悪影響は認められず、また投与の影響と考えられる胎児の異常及び変異も認められなかった。

本試験は、対照群を含め全群の母動物で死亡及び臨床症状が認められたため、評価に用いることはできないと判断された。（参照 3,4）

13．遺伝毒性試験

アミトラスを用いた各種遺伝毒性試験が実施された。結果は表 4 に示されている。いずれの試験結果も陰性であった。（参照 2,3,4）

表 4 遺伝毒性試験結果概要（原体、農薬抄録）

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
<i>in vitro</i>	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (M45, H17 株)	20~2000 µg/disc (-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) <i>E. coli</i> WP2 <i>hcr</i> 株	10~5000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> G46 株	10~5000 µg/plate (-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (+/-S9) (TA1535, TA1537, TA1538 株) <i>E. coli</i> WP2, WP2 <i>uvrA</i> 株(-S9)	62.5~1000 µg/plate	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535, TA1537, TA1538 株)	31.2~500 µg/plate (+/-S9*)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株)	33~10000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験 [GLP]	ヒトリンパ球	3~30 µg/mL (+S9) 5~20 µg/mL (-S9)	陰性
	形質転換試験	マウス胎児線維芽細胞 (C3H/10T ^{1/2} 細胞)	12.5~37.5 µg/mL (+S9) 5~15 µg/mL (-S9)	陰性
	不定期 DNA 合成 (UDS)試験	ヒト胎児肺線維芽細胞	20~300 µg/mL (+/-S9)	陰性
	DNA 損傷試験 (アルカリ溶出法)	チャイニーズハムスター 肺線維芽細胞 (V79)	0.01~0.3 mM (+ラット S9) 0.03~0.1 mM (-ラット S9) 0.1~0.3 mM (+マウス S9)	陰性
<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	宿主経路試験	ICR マウス (一群雄 6 匹) <i>S. typhimurium</i> G46 株 (腹腔内投与)	0, 30, 100 mg/kg 体重 (2 回経口投与)	陰性
	宿主経路試験 (雄マウス)	CFLP マウス (一群雄 5 匹) <i>S. typhimurium</i> (G46, TA1532, TA1964 株、腹腔内投与)	0, 100, 200, 400 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
	宿主経路試験 (雌マウス)	CFLP マウス (一群雌 5 匹) <i>S. typhimurium</i> (G46, TA1532, TA1964 株、腹腔内投与)	0, 100, 200, 400 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
	不定期 DNA 合成 (UDS)試験 [GLP]	SD ラット肝細胞 (検体投与群雄 5 匹)	100, 300 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	優勢致死試験 (雌マウス)	CFLP マウス (一群雌雄各 12 匹)	0, 12, 50 mg/kg 体重 (雌: 5 日間経口投与)	陰性
	優勢致死試験 (雄マウス)	CFLP マウス (一群雌雄各 20 匹)	0, 12, 50 mg/kg 体重 (雄: 5 日間経口投与)	陰性

注) +/-S9: 代謝活性化系存在下及び非存在下

*) Phenobarbitone で誘導した雌雄の CFLP マウスの肝ミクロゾームを使用した。

代謝物 B、C、E 及び F を用いた各種遺伝毒性試験が実施された。結果は表 5 に示されている。代謝物 E のマウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験で陽性が認められたが、*in vitro*での DNA 損傷性がなく、細胞形質転換試験も陰性であり、225 mg/kg 体重で 2 回経口投与した *in vivo*でのげっ歯類を用いた小核試験が陰性である点、さらにこの物質自体が主な代謝物ではないことなどを考慮して総合的に判断し、生体にとって特に問題となる遺伝毒性はないものと考えた。その他の試験結果は全て陰性であった。(参照 2,3)

表 5 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物)

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
------	----	----	----------	----

代謝物 B	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535, TA1537, TA1538 株) <i>E. coli</i> WP2, WP2 <i>uvrA</i> 株	処理濃度不明 (-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株)	50~5000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	DNA 損傷試験 (アルカリ溶出法)	チャイニーズハムスター 肺線維芽細胞 (V79)	0.03 ~3.0 mM (+ラット S9) 3.0 mM (-ラット S9) 0.3~3.0 mM (+マウス S9)	陰性
代謝物 C	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535, TA1537, TA1538 株) <i>E. coli</i> WP2, WP2 <i>uvrA</i> 株	処理濃度不明 (-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株)	50~5000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	DNA 損傷試験 (アルカリ溶出法)	チャイニーズハムスター 肺線維芽細胞 (V79)	0.01~1.0 mM (+ラット S9) 0.3, 1.0 mM (-ラット S9) 0.1~1.0 mM (+マウス S9)	陰性
代謝物 E	DNA 損傷試験 (アルカリ溶出法)	チャイニーズハムスター 肺線維芽細胞 (V79)	0.3, 1.0 mM (+ラット S9) 0.3~2.0 mM (-ラット S9) 0.03 ~1.0 mM (+マウス S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験 [GLP]	マウスリンパ腫細胞(L5178Y)	1.0~100 µg/mL (+S9) 3.3~600 µg/mL (-S9)	3.3 µg/mL 以上(+S9)で 陽性
	形質転換試験 [GLP]	マウス胎児線維芽細胞 (C3H/10T ^{1/2} 細胞)	5~20 µg/mL (+S9) 100~400 µg/mL (-S9)	陰性
代謝物 E (<i>in vivo</i>)	小核試験	ICR マウス (一群雄 5 匹)	56.3~225 mg/kg 体重 (2 回経口投与)	陰性
代謝物 F	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535, TA1537, TA1538 株) <i>E. coli</i> WP2, WP2 <i>uvrA</i> 株	処理濃度不明 (-S9)	陰性
	DNA 損傷試験 (アルカリ溶出法)	チャイニーズハムスター 肺線維芽細胞 (V79)	0.03~3.0 mM (+ラット S9) 0.03 ~1.0 mM (+マウス S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

14 . その他の試験

(1) ヒト志願者による二重盲検定

成人男性(6名、年齢18-45歳、体重60-70kg)に、アミトラズ及びプラセボ対照を経口投与し、安全性試験が実施された。被験者にはそれぞれフェーズ1, 2及び3にアミトラズ0.0625 mg/kg 体重/日、アミトラズ0.125 mg/kg 体重/日、プラセボ対照を無作為に割り当て、フェーズ1~3まで投与を実施した。投与の間隔は少なくとも14日とした。

試験後の検査では全被験者は健康状態良好であった。生命徴候(血圧、脈拍、呼吸数、体温及び体重)、血液生化学的検査、血液学的検査、内科的診査、尿検査、心電図の各パラメータに臨床的有意と考えられる影響は認められず、精神運動機能(psychomotor performance)及び瞳孔反射ではプラセボ投与群と検体投与群に差は認められなかった。

従って、本試験における無影響量は0.125 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照2,3)

(2) ヒトにおける急性中毒例(文献)

17才の男性におけるアミトラズの急性中毒例が報告されている。

患者は農場労働者であり、圃場で昏睡状態のところを発見された。病院に運ばれた後昏睡は深まり、呼吸低下、動脈性低血圧、徐脈が始まった。症状から有機リン系殺虫剤の中毒が疑われ、硫酸アトロピンによる治療が開始された。しかし臨床症状に大きな変化はなく、また血液中 ChE 分析により、入院から 3 時間後には有機リン系殺虫剤中毒から脱していたことが示された。入院後 24 時間後に患者は意識を取り戻したが、記憶は 48 時間後まで回復しなかった。その後、患者がアミトラス原液 50cc を飲んだことが明らかになった。患者は入院から 2 日後には問題なしとして退院した。

患者が飲んだのは、アミトラス 12.5%と芳香族溶媒に加えてエピクロルヒドリン 2.5%を含有する液体と考えられた。中毒時の症状として認められた徐脈、動脈性低血圧、中枢神経系抑制及び呼吸低下はアミトラスを用いた実験において観察されたものと類似の症状であった。しかし、アミトラスは速やかに代謝され、薬理学的作用は短時間に消失することから、この症例で見られた持続的な神経精神的低下は溶媒であるエピクロルヒドリン及び芳香族炭化水素の相加作用あるいは共同作用に起因する可能性も考えられた。(参照 2)

(3) 代謝物 B のヒト志願者による経口投与試験

21~41 歳の成人女性 2 人及び男性 4 人に一週間間隔で代謝物 B (2mg、約 0.03 mg/kg 体重/日に相当) またはプラセボ(ラクトース)をカプセル経口投与した。

検体投与群及びプラセボ投与群で観察期間中、差異を示唆するような影響は認められなかった。血圧、脈拍数、及び口腔内温度において検体投与群とプラセボ投与群で値に差が認められたが、この差は試験開始時に見られたものと同程度であった。

以上の結果から、アミトラスの代謝物 B はヒトに対し影響は認められなかった。(参照 2,3)

・総合評価

参照に挙げた資料を用いて、農薬「アミトラス」の食品健康影響評価を実施した。

動物体内運命試験の結果、経口投与されたアミトラスは動物体内で速やかに代謝、排泄された。主要排泄は尿中（平均 80% TAR）であり、残りは糞中に排泄された。主要代謝物は G、H 及び B であった。植物体内運命試験の結果、果肉への移行は少なく、主要代謝物は B 及び C であった。

アミトラス及び代謝物 B を分析対象化合物とした作物残留試験が実施されており、アミトラスの最高値は最終散布 21 日後に収穫したなつみかん（果皮）の 1.21 mg/kg、代謝物 B の最高値は最終散布 14 日後及び 28 日後に収穫した温州みかん（果皮）の 1.61 mg/kg であった。

各種運命試験及び残留試験結果から、農産物の暴露評価対象物質をアミトラス及び代謝物 B と設定した。

各種毒性試験結果から、本剤の影響として中枢神経系に対する軽度の抑制が認められ、イヌで最も感受性が高いことが示唆された。催奇形性及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験において、雌マウスでリンパ/細網細胞系腫瘍及び肝腫瘍の発生頻度が増加したが、明らかな毒性を示した高用量でのみで認められ、また遺伝毒性が認められないことから、発生機序は非遺伝毒性メカニズムであり、本剤の評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。なお、本剤の評価は限られたデータあるいは GLP 規制前のデータを用いざるを得なかったが、評価には支障がないと判断した。

評価に用いた評価書等に記載されている各試験の無毒性量等は表 6 に示されている。

食品安全委員会農薬専門調査会は、各試験で得られた無毒性量の最小値がイヌを用いた 2 年間慢性毒性試験の 0.25 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.0025 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量（ADI）と設定した。

ADI	0.0025 mg/kg 体重/日
（ADI 設定根拠資料）	慢性毒性試験
（動物種）	イヌ
（期間）	2 年間
（投与方法）	強制経口
（無毒性量）	0.25 mg/kg 体重/日
（安全係数）	100

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表6 各試験における無毒性量の比較

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日) ¹⁾				
			農薬抄録	JMPR	US EPA	Canada	Australia
ラット	90日間 亜急性 毒性試験	0, 3, 12	3 体重増加抑制等	3 体重増加抑制等	3 体重増加抑制等		
	21日間 反復吸入 毒性試験	0, 0.01, 0.1, 1.0 mg/L	0.01 体重増加抑制、攻撃 行動等	- 体重増加抑制、攻撃 行動等	0.01 体重増加抑制、攻撃 行動等		
	2年間 慢性毒性/ 発がん性 併合試験	0, 15, 50, 200 ppm 雄：0, 0.77, 2.50, 10.2 雌：0, 0.97, 3.13, 12.6	雄：2.50 雌：0.97 興奮性及び攻撃性、 (発がん性は認めら れない)	2.5 興奮性及び攻撃性、 体重増加抑制等 (発がん性は認めら れない)	雄：2.5 雌：0.97 興奮性及び攻撃性、 体重増加抑制等 (発がん性は認めら れない)		- 神經過敏及び攻撃行 動
	3世代 繁殖試験	0, 15, 50, 200 ppm 雄：0, 1.29, 4.36, 16.4 雌：0, 1.58, 5.09, 20.1	雄：1.29 雌：1.58 死亡率増加等	親動物：4.4 繁殖毒性：1.3 死亡率増加等	親動物 雄：4.36 雌：5.09 児動物 雄：1.29 雌：1.58 死亡率増加等 (繁殖に対する悪影 響なし)		1.29 死亡率増加等
	発生毒性 試験	0, 1, 3, 12	母動物：3 胎児：3 母動物：体重増加抑 制 胎児：低体重 (催奇形性は認めら れない)	母動物：12 胎児：3 母動物：毒性所見な し 胎児：低体重 (催奇形性は認めら れない)	母動物：3 胎児：12 母動物：体重増加抑 制 胎児：毒性所見なし (催奇形性は認めら れない)		- 胎児低体重
	発生毒性 試験	0, 7.5, 15, 30		母動物及び胎児：7.5 母動物：体重増加抑 制等 胎児：尿管及び腎盂	母動物：7.5 胎児：30 母動物：体重増加抑 制等		

2007/2/7 農薬専門調査会幹事会第10回会合 アミトラス評価書(案) たたき台

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日) ¹⁾				
			農薬抄録	JMPR	US EPA	Canada	Australia
				拡張	胎児：尿管及び腎盂 拡張増加は有意差なし		
マウス	90日間 亜急性 毒性試験	0, 100, 200, 400, 600, 800 ppm ----- 雄：0, 12.6, 25.5, 53.4, 96.2, 108 雌：0, 17.2, 34.5, 68.2, 112, 151	雄：25.5 雌：17.2 体重増加抑制、雄で 攻撃行動の増加等	17 体重増加抑制、雄で 攻撃行動の増加等			- 体重増加抑制、雄で 攻撃行動の増加
	2年間 慢性毒性/ 発がん性 併合試験	0, 7, 25, 100, 400 ppm ----- 雄：0, 0.93, 3.36, 13.6, 60.4 雌：0, 0.90, 3.16, 12.8, 56.7	雄：3.36 雌：0.90 自発運動低下、体重 増加抑制等 (発がん性は認めら れない)				
	18ヶ月間 発がん性 試験	0, 25, 100, 400 ppm ----- 雄：0, 2.79, 12.5, 66.5 雌：0, 4.11, 16.3, 84.5	雄：2.79 雌：4.11 体重増加抑制等 400ppm 投与群雌で リンパ/細網細胞系 腫瘍の発生頻度増加	15 400ppm 投与群雌雄 で肝細胞腫瘍が増 加、雌でリンパ/細網 細胞系腫瘍の発生頻 度増加			- 400ppm 投与群でリ ンパ/細網細胞系腫 瘍の増加
	2年間 発がん性 試験	0, 25, 100, 400 ppm ----- 雄：0, 2.3, 9.6, 44.7 雌：0, 2.6, 10.8, 50.1	雄：- 雌：- 雄：胃の過角化症等 雌：肝の過形成結節 等 400ppm 投与群雌で 肝腫瘍の発生率が僅 かに増加	長期毒性：2.3 発がん性：11 体重増加抑制、M/E 比低下、攻撃行動等 400ppm 投与群雌で 肝腫瘍の発生率が僅 かに増加	- 雄で肺腺腫、雌で肝 細胞腺腫及び癌の発 生頻度に用量相関性 の増加傾向		2.2 攻撃行動 肝腫瘍及び癌の増加
ウサギ	発生毒性 試験	0, 1, 5, 25	母動物：5 胎児：25 母動物：体重増加抑	母動物：25 胎児：5 母動物：毒性所見な	母動物：5 胎児：5 母動物：体重減少、		- 同腹児数減少

2007/2/7 農薬専門調査会幹事会第10回会合 アミトラス評価書(案) たたき台

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日) ¹⁾				
			農薬抄録	JMPR	US EPA	Canada	Australia
			制、流産等 胎児：毒性所見なし (催奇形性は認められない)	し 胎児：流産、同腹児 数減少等 (催奇形性は認められない)	流産 胎児：同腹児数減少、 胎児平均体重低下等 (催奇形性は認められない)	/	
イヌ	90日間 亜急性 毒性試験	0, 0.25, 1.0, 4.0	雌雄：0.25 中枢神経系の抑制等	0.25 中枢神経系の抑制等	0.25 中枢神経系の抑制等	/	0.25 血中 Glu 増加
	2年間 慢性毒性 試験	0, 0.1, 0.25, 1.0	雌雄：0.25 軽い中枢神経系の抑制	0.25 軽い中枢神経系の抑制	0.25 軽い中枢神経系の抑制	/	0.25 血中 Glu 増加
ヒト	二重盲検定 試験	0, 0.0625, 0.125	0.125 毒性所見なし	0.13 毒性所見なし	/	0.125 毒性所見なし	/
ADI (cRfD)			NOAEL : 0.25 SF : 100 ADI : 0.0025	NOAEL : 1.3 SF : 100 ADI : 0.01	NOAEL : 0.25 UF : 1000 cRfD : 0.00025	NOAEL : 0.125 SF : 10 ADI : 0.0125	NOAEL : 0.25 SF : 100 ADI : 0.002
ADI 設定根拠資料			イヌ2年間慢性毒性 試験	ラット3世代繁殖試 験	イヌ2年間慢性毒性 試験	ヒト二重盲検定試験	イヌ2年間慢性毒性 試験

/ : 試験記載なし - : 無毒性量が設定できず(または記載なし)

NOAEL : 無毒性量 SF : 安全係数 UF : 不確実係数 ADI : 一日摂取許容量 cRfD : 慢性参照用量

1) 無毒性量欄には、最小毒性量で認められた主な毒性所見等を記した。

<別紙1:代謝物/分解物略称>

略称	化学名
B	<i>N</i> -メチル- <i>N</i> '-(2,4-キシリル)ホルムアミジン
C	ホルム-2',4'-キシリジド
D	<i>N,N</i> '-ビス(2,4-キシリル)ホルムアミジン
E	2,4-ジメチルアニリン
F	4-アミノ-3-メチル安息香酸
G	4-カルボキシ-2-メチルホルムアニリド
H	4-カルボキシ-2-メチルアセタニリド

<別紙 2: 検査値等略称>

略称	名称
ai	有効成分量
ALP	アルカリフォスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (= グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT))
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (= グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT))
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック アデノシンモノホスフェイト
ChE	コリンエステラーゼ
Glu	グルコース (血糖)
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
Lym	リンパ球数
M/E 比	顆粒球/赤芽球比
Na	ナトリウム
PCV	血中血球容積
RBC	赤血球数
Seg	分葉核好中球数
TAR	総処理放射能
T _{max}	最高濃度到達時間
TP	総蛋白質
TRR	総残留放射能

< 別紙3: 作物残留試験成績 >

作物名 実施年	試験 圃場 数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値(mg/kg)				
					親化合物		代謝物 B		合計
					最高値	平均値	最高値	平均値	平均値
みかん (果肉・露地) 1993年	2	1000	1	14	<0.005	<0.005	0.02	0.01*	0.015*
				21	<0.005	<0.005	0.03	0.012*	0.017*
みかん (果皮・露地) 1993年	2	1000	1	14	0.386	0.192	1.39	0.565	0.757
				21	0.272	0.142	1.07	0.518	0.660
温州みかん (果肉・施設) 1993年	2	933T	1	14	<0.005	<0.005	0.078	0.025*	0.030*
			1	28	<0.005	<0.005	0.022	0.013*	0.018*
			1	42	<0.005	<0.005	0.048	0.018*	0.021*
			2	14	<0.005	<0.005	0.044	0.022*	0.027*
			2	28	<0.005	<0.005	0.110	0.042*	0.047*
			2	42	<0.005	<0.005	0.122	0.047	0.052*
温州みかん (果皮・施設) 1993年	2	933T	1	14	<0.05	<0.035	1.17	0.592	0.627*
			1	28	<0.05	<0.035	1.03	0.560	0.595*
			1	42	<0.05	<0.035	0.64	0.395	0.430*
			2	14	<0.05	<0.035	1.38	1.245	1.280*
			2	28	<0.05	<0.035	1.61	1.318	1.353*
			2	42	<0.05	<0.035	1.05	0.782	0.817*
温州みかん (果肉・施設) 1994年	2	933T	1	14	<0.01	<0.01	0.052	0.050	0.060*
			1	28	<0.01	<0.01	0.065	0.062	0.072*
			1	42	<0.01	<0.01	0.044	0.044	0.054*
温州みかん (果皮・施設) 1994年	2	933T	1	14	<0.05	<0.05	1.61	1.16	1.21*
			1	28	<0.05	<0.05	0.85	0.765	0.815*
			1	42	<0.05	<0.05	0.52	0.34	0.39*
なつみかん (果実・露地) 1993年	2	667~800T	1	45	<0.01	<0.008	0.106	0.083	0.091*
			1	60	<0.01	<0.008	0.111	0.084	0.092*
			1	89-90	<0.01	<0.008	0.125	0.072	0.080*
なつみかん (果肉・露地) 1995年	2	800	1	14	<0.005	<0.005	0.03	0.014	0.019*
			1	21	0.005	0.005*	0.015	0.010	0.015*
なつみかん (果皮・露地) 1995年	2	800	1	14	0.302	0.239	0.68	0.295	0.534
			1	21	1.21	0.528	1.16	0.445	0.973
なつみかん (全果実・露地) 1995年	2	800	1	14					0.182
			1	21					0.306
なつみかん (全果実・露地) 1997年	2	1000	1	30	0.173	0.082	0.376	0.240	0.322
			1	45	0.080	0.036*	0.184	0.173	0.209*
			1	60	0.048	0.025*	0.190	0.120	0.145*
			1	90-91	0.026	0.013*	0.245	0.152	0.165*
			1	90-91	0.026	0.013*	0.245	0.152	0.165*
ゆず (果実・露地) 1993年	1	600T	1	102	<0.01	<0.008*	0.025	0.021	0.029*
			1	51	<0.01	<0.008*	0.100	0.073	0.081*
すだち (果実・露地) 1994年	1	667T	1	42	<0.01	<0.01	0.033	0.030	0.040*
			1	42	<0.01	<0.01	0.033	0.030	0.040*
すだち (果実・露地) 1997年	1	1000	1	45	<0.005	<0.005	0.16	0.16	0.165*
			1	60	<0.005	<0.005	0.08	0.08	0.085*
			1	90	<0.005	<0.005	0.02	0.02	0.025*
かぼす (果実・露地) 1997年	1	1400	1	44	<0.005	<0.005	0.29	0.29	0.295*
			1	61	<0.005	<0.005	0.24	0.24	0.245*
			1	91	<0.005	<0.005	0.17	0.17	0.175*
りんご (果実・露地) 1993年	2	1250	1	30	0.007	0.005*	0.13	0.052*	0.057*
なし (果実・露地) 1993年	4	1000~1250	1	30	<0.005	<0.005	0.24	0.165	0.17*

- ・ T: アミトラズ 10.0% + ブプロフェジン 10.0% 乳剤 (タイクーン乳剤) 無印のものはアミトラズ 20.0% 乳剤を使用した。
- ・ 処理方法は散布とし、それ以外の方法で実施した場合は処理量欄に方法を記載した。
- ・ 複数の試験機関で検出限界が異なる場合の最高値は、大きい値を示した (例えば A 機関で 0.006 検出され、B 機関で <0.008 の場合、<0.008 とした)。
- ・ 一部に検出限界以下を含むデータの平均を計算する場合は検出限界値を検出したものとして計算し、*を付した。
- ・ 全てのデータが検出限界以下の場合には検出限界値の平均に<を付して記載した。

< 参照 >

- 1 食品・添加物等の規格基準(昭和 34 年厚生労働省告示第 370 号)の一部を改正する件(平成 17 年 11 月 29 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号)
- 2 農薬抄録アミトラズ(殺虫剤)(平成 18 年 9 月 28 日改訂): アリスタライフサイエンス株式会社
- 3 JMPR : 944_Amitraz (JMPR Evaluations 1998 Part Toxicological)(1998)
- 4 EPA : Toxicology Disciplinary Chapter for the Reregistration Eligibility Decision Document AMITRAZ, PC Code:106201, DP Number:D300297 (2004)
- 5 Health Canada : Decision Document, AMITRAZ. E95-02 (1995)
- 6 Australia APVMA : Australian Toxicology Evaluation of AMITRAZ (1995)
- 7 食品健康影響評価について : 食品安全委員会第 167 回会合資料 1 - 1
(URL ; <http://www.fsc.go.jp/iinkai/i-dai167/dai167kai-siryoku1-1.pdf>)
- 8 食品安全委員会農薬専門調査会確認評価第二部会第 2 回会合
(URL ; http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kakunin2_dai2/index.html)
- 9 食品安全委員会農薬専門調査会幹事会第 10 回会合
(URL ; http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kanjikai_dai10/index.html)