

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

メトコナゾール cis (ラセミ体) ;

900 mg/kg 投与群で投与 4 日目に 1 例が死亡した。全動物に粗毛が認められ、中間用量群および高用量群において下痢が認められた。その他の臨床症状として 600 mg/kg 群の 1 例における色素涙、900 mg/kg 群の全例における運動失調および眼球退色、900 mg/kg 群の数例における異常姿勢（円背位）、不活発、口周囲の血液付着が認められた。また、900 mg/kg 群の生存ラットにおいて、試験第 1 週に体重の減少または体重増加量の低下が認められた。

メトコナゾール trans (ラセミ体) ;

600 および 900 mg/kg 群の全動物が、投与後 3 日目または 4 日目に死亡した。

全動物に粗毛が認められた。300 mg/kg 投与群では異常姿勢（円背位）が観察された。また、600 および 900 mg/kg 群の全動物において下痢、嗜眠、眼球退色が、900 mg/kg 群の全動物および 600 mg/kg 群の数例において色素涙および歩行失調・不活発が、600 mg/kg 群の 1 例において運動失調および昏睡が認められた。

300 mg/kg 群のラットにおいて投与第 1 週に体重減少がみられた。

メトコナゾール cis (-) ;

死亡は認められなかった。

試験期間を通して全動物に下痢および粗毛がみられた。その他 900 mg/kg 群のラットにおいて異常姿勢（円背位）および眼球退色がみられた。900 mg/kg 群の 1 例において投与第 1 週に体重が減少した。

以上の結果から、死亡率、600 および 900 mg/kg 投与群の動物における臨床症状の程度、投与第 1 週の体重変化を考慮して、3 種の検体の急性経口毒性を以下のとおりランク付けした。

メトコナゾール trans (ラセミ体) >メトコナゾール cis (ラセミ体) >メトコナゾール cis (-)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

2) 原体混在物

①マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 2-21-①)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

化学名：

検体の純度：

供試動物：ICR 系 SPF マウス (Crj:CD-1), 7 日間馴化,
投与開始時 5 週齢, 投与開始時体重範囲 雄 25.3~34.6 g, 雌 21.0~26.4 g,
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：検体をオリーブ油に懸濁して単回強制経口投与した。投与約 3 時間 30 分前よりすべての動物への投与終了後 3 時間まで動物を絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。

体重測定は、投与時、動物の死亡発見時、投与後 3, 7 および 14 日目に実施した。途中死亡動物および試験終了時における全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	263, 341, 444, 577, 750
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：543 (440-671) 雌：480 (430-537)
死亡開始時間及び終了時間	投与後 2 日から開始 投与後 3 日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後 1 時間から発現 投与後 3 日に消失
症状の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄：263 雌：なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄：341 雌：341

中毒症状として、自発運動低下、よろめき歩行、痙攣、呼吸緩徐、鎮静および昏睡が雌雄ともに認められ、検体投与に起因する症状と考えられた。途中死亡動物の剖検では小腸内水様性内容物うっ滞が認められた。試験終了時における生存動物の剖検では雌雄いずれの動物にも異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 2-21-②)

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

化学名：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA1535, TA1537, TA98 および TA100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシドを用いて調製し、処理用量は 100 μ L とした。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37℃で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。試験は 2 回行い、結果に再現性があることを確認した。

検体処理群において、溶媒対照値の 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、この増加が再現性および用量－反応効果を伴うものである場合に、検体は変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

検体は 2 回の試験において、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても溶媒対照に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。S9 mix の有無にかかわらず、500 μ g/プレート以上の用量で菌株に対する抗菌性が認められた。

一方、陽性対照群では、溶媒対照に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、試験に用いた菌液、検体溶液、S9 mix に雑菌の污染がないこと、各菌株の溶媒対照においてその菌株特有の自然復帰変異コロニー数が出現する事を確認し、試験の有効性が確認された。

以上の結果より、本検体は、本試験の条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表-1 復帰突然変異試験成績 (1 回目の実験)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	-	90	7	16	30	5
検体	15.6	-	76	7	22	25	6
	31.3	-	71	8	15	30	6
	62.5	-	80	8	15	32	5
	125	-	80	11	19	27	7
	250	-	69	10	20	25	8
	500	-	*	6*	14*	*	*
陽性対照							
AF-2	0.01	-	435	N	N	N	N
SA	0.5	-	N	491	N	N	N
AF-2	0.04	-	N	N	655	N	N
AF-2	0.1	-	N	N	N	562	N
9-AA	80	-	N	N	N	N	1547
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	+	80	7	14	32	13
検体	15.6	+	73	9	22	30	11
	31.3	+	80	7	20	35	7
	62.5	+	90	4	18	35	13
	125	+	89	3	23	34	10
	250	+	88	6	15	24	7
	500	+	44*	3*	19*	23*	5*
陽性対照							
2-AA	0.5	+	587	N	N	N	N
2-AA	2	+	N	344	N	N	N
2-AA	40	+	N	N	513	N	N
2-AA	0.5	+	N	N	N	625	N
2-AA	2	+	N	N	N	N	232

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, SA : アジ化ナトリウム,

9-AA : 9-アミノアクリジン, 2-AA : 2-アミノアントラセン, N : 試験を行っていない

*: 菌株の生育阻害を認める

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表-2 復帰突然変異試験成績 (2 回目の実験)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	-	95	9	17	26	6
検体	15.6	-	87	8	16	20	6
	31.3	-	81	7	17	25	4
	62.5	-	84	7	20	21	7
	125	-	90	7	18	24	6
	250	-	95	5	17	26	8
	500	-	*	6*	15*	*	*
陽性対照							
AF-2	0.01	-	377	N	N	N	N
SA	0.5	-	N	399	N	N	N
AF-2	0.04	-	N	N	494	N	N
AF-2	0.1	-	N	N	N	521	N
9-AA	80	-	N	N	N	N	2050
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	+	78	7	17	29	9
検体	15.6	+	76	6	15	29	5
	31.3	+	79	6	21	24	8
	62.5	+	72	7	17	26	12
	125	+	87	11	23	32	9
	250	+	77	6	21	30	6
	500	+	46*	4*	19*	25*	2*
陽性対照							
2-AA	0.5	+	758	N	N	N	N
2-AA	2	+	N	351	N	N	N
2-AA	40	+	N	N	655	N	N
2-AA	0.5	+	N	N	N	737	N
2-AA	2	+	N	N	N	N	267

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, SA : アジ化ナトリウム,

9-AA : 9-アミノアクリジン, 2-AA : 2-アミノアントラセン, N : 試験を行っていない

*: 菌株の生育阻害を認める

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

3) 原体混在物

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-22-①)

試験機関：SafePharm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

化学名：

検体の純度：

供試動物：Sprague-Dawley CD (CrI:CD(SD)IGS BR)系ラット， 5 日間以上馴化，
投与開始時 8～12 週齢，投与開始時体重範囲 雄 200～222 g，雌 207～246 g
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：検体を DMSO に溶解して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与前 (0 日)，投与後 7 日および 14 日および死亡時に体重を測定した。試験終了時に，動物を頸部脱臼により屠殺し，肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌：1000, 1414, 2000 雄：2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌：1519 (974-2368) 雄：>2000
死亡開始時間及び終了時間	投与後 1 日から開始 投与後 3 日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後 30 分から発現 投与後 9 日に消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：なし 雄：2000

中毒症状としては，運動失調，脱水，削瘦，円背位，嗜眠，立毛，呼吸数減少，喘鳴呼吸および努力性呼吸，流涎の増加，眼，口，鼻周囲の汚れ，がに股歩行あるいは爪先歩行が観察された。死亡動物の剖検では，出血性あるいは異常に赤い肺，肝臓の暗調化，腎臓の暗調化，胃粘膜の出血，小腸および大腸の出血が観察された。試験終了時の生存動物の剖検では，異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 2-22-②)

試験機関：Safeparm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

化学名：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA1535, TA1537, TA98 および TA100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて、プレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシドを用いて調製し、処理容量は 100 μ L とした。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37℃で 48 時間培養後、コロニーカウンターを用いて復帰変異コロニーを計数した。復帰突然変異試験は 2 回実施した。少なくとも 1 つの菌株において、再現性を伴う用量に相関した統計学的に有意な復帰変異体数の増加が認められた場合に、検体は変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

検体処理群において、代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの用量においても、復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。サルモネラ菌では 500 μ g/プレート以上の用量において、菌株に対する抗菌性が認められる場合があった。5000 μ g/プレートの用量で検体の析出が認められた。

一方、試験に用いたすべての陽性対照物質は、復帰変異コロニー数の明らかな増加を誘発した。従って、S9 mix の活性および菌株の感受性が確認された。また、溶媒対照の復帰変異コロニー数は正常範囲内であった。

以上の結果より、本検体は、本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表-1 復帰突然変異試験成績 (実験 1)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	—	139	13	21	25	15
検体	5	—	137	13	N	20	12
	15	—	128	14	N	27	12
	50	—	139	14	21	25	10
	150	—	137	15	21	26	14
	500	—	75*	12*	17	16	0*
	1500	—	0*	0*	23	19*	0*
	5000	—	N	N	14P	N	N
陽性対照							
ENNG	3	—	749	N	N	N	N
ENNG	5	—	N	259	N	N	N
ENNG	2	—	N	N	1127	N	N
4NQO	0.2	—	N	N	N	182	N
9AA	80	—	N	N	N	N	1397
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	+	151	14	29	32	18
検体	5	+	157	13	N	32	19
	15	+	152	13	N	26	18
	50	+	153	15	28	26	21
	150	+	160	16	24	23	15
	500	+	100*	11	19	26	4*
	1500	+	0*	0*	32	17*	0*
	5000	+	N	N	14P	N	N
陽性対照							
2AA	1	+	1196	N	N	N	N
2AA	2	+	N	290	N	N	N
2AA	10	+	N	N	807	N	N
BP	5	+	N	N	N	399	N
2AA	2	+	N	N	N	N	390

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 4NQO : 4-ニトロキノリン-1-オキシド,
9AA : 9-アミノアクリジン, 2AA : 2-アミノアントラセン, BP : ベンズ(a)ピレン

N : 試験を行っていない

* : バックグラウンドの菌の生育阻害が認められる

P : 検体の析出が認められる

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表-2 復帰突然変異試験成績（実験 2）

（表中の値は 3 枚のプレートの平均値）

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数／プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <u>uvrA</u>	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	－	114	31	22	20	9
検体	5	－	122	29	N	19	12
	15	－	113	26	N	21	10
	50	－	101	24	26	23	12
	150	－	110	22	28	17	11
	500	－	85*	16*	25	18	0*
	1500	－	0*	0*	21	15*	0*
	5000	－	N	N	11P	N	N
陽性対照							
ENNG	3	－	778	N	N	N	N
ENNG	5	－	N	523	N	N	N
ENNG	2	－	N	N	973	N	N
4NQO	0.2	－	N	N	N	226	N
9AA	80	－	N	N	N	N	1100
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	+	126	16	30	35	21
検体	5	+	131	18	N	38	17
	15	+	122	17	N	36	14
	50	+	125	20	29	34	16
	150	+	107	12	27	25	16
	500	+	84*	16*	24	29	7*
	1500	+	0*	2*	21	25*	0*
	5000	+	N	N	16P	N	N
陽性対照							
2AA	1	+	909	N	N	N	N
2AA	2	+	N	269	N	N	N
2AA	10	+	N	N	639	N	N
BP	5	+	N	N	N	231	N
2AA	2	+	N	N	N	N	455

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 4NQO : 4-ニトロキノリン-1-オキシド,

9AA : 9-アミノアクリジン, 2AA : 2-アミノアントラセン, BP : ベンズ(a)ピレン

N : 試験を行っていない

* : バックグラウンドの菌の生育阻害が認められる

P : 検体の析出が認められる

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

4) 原体混在物

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-23-①)

試験機関 : Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1992 年

化学名 :

検体の純度 :

供試動物 : Fischer 344 ラット, 4 日間以上馴化,
入荷時 8~9 週齢, 投与開始時体重範囲 雄 202~219 g, 雌 121~159 g,
1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間観察

投与方法 : 検体をコーン油に溶解して単回強制経口投与した。投与前に一晩絶食させた。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察した。第 1 日, 第 8 日および第 15 日の体重を記録し, 体重の変化を計算した。第 15 日にペントバルビタル・ナトリウムの腹腔内注射により屠殺し, 剖検した。肉眼による病理学的変化はすべて記録した。

結 果 :

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌 : >5000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	投与後 0.4 時間から発現 投与後 5 日目に消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000

試験終了時の剖検で, 肉眼による変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②ウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 2-23-①)

試験機関：Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

化学名：

検体の純度：

供試動物： ニュージーランドホホワイト種ウサギ，12 日間以上馴化，
入荷時 3～5 ヶ月齢，投与開始時体重範囲 雄 3.72～4.26 kg，雌 4.07～4.45 kg，
1 群雌雄各 3 匹

観察期間： 7 日間観察

投与方法： 投与前日に電気バリカンを用いて動物の背部の毛を刈り取った。皮膚の供試部位を水で湿らせた。検体（500 mg）を 6 cm²のリント・パッチに付けて湿らせた皮膚に貼り付け，ガーゼで覆い，半閉塞性の弾力のある粘着包帯で固定した。4 時間暴露後，包帯を取り除き，皮膚を水で洗ってから乾かした。

観察項目：パッチ除去後，紅斑，浮腫及びその他の皮膚の変化について検査した。紅斑及び浮腫は EEC の基準（申請者注：農林水産省ガイドラインの基準と同様）に従って採点した。24，48 および 72 時間後の各時点での平均評点および群平均評点を計算した。

結 果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目	最高評点*	暴露後時間				
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日
紅斑	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表の点数は 6 匹の平均値である。

* 判定基準の最高評点

いずれの動物においても皮膚刺激性反応，その他の異常も認められなかった。

以上の結果から，本検体はウサギの皮膚に対し刺激性を有さないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

③ウサギにおける眼刺激性試験

(資料 2-23-①)

試験機関：Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

化学名：

検体の純度：

供試動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ，12 日間以上馴化，
入荷時 3～5 ヶ月齢，投与開始時 雄：3.49～3.66 kg，雌：4.01～4.69 kg
1 群雌雄各 3 匹

観察期間： 7 日間観察

投与方法： 検体 54 mg (0.1 mL 相当) を，各動物の片方の眼の下部結膜嚢内に入れた。処理した眼は
2，3 秒間そっと閉じておき，検体の喪失を防いだ。洗眼は行わなかった。

観察項目： 適用後 1，4，24，48，72 時間及び 7 日後に角膜，虹彩，結膜の刺激性変化を観察し，EEC
の基準（申請者注：農林水産省ガイドラインと同様）に従って採点した。

結 果：

項 目			最高 評点 ^a	暴露後時間					
				1 時間	4 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日
非 洗 眼 群 6 匹	角膜	程度(A)	4	0	0	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩	(C)	2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤(D)	3	0.2	0.2	0	0	0	0
		浮腫(E)	4	0	0	0	0	0	0
		その他(分泌物)(F) ^b	3	1.0	0	0	0	0	0
	合 計 ^c		110	2.4	0.4	0	0	0	0

表の点数は 6 匹の平均値である。

a 判定基準の最高評点

b 申請者注 ドレイズ法に従って最高評点を 3 として採点。「わずかな分泌物」を評点 1
とした

c 申請者注 ドレイズ法による評価合計点

群平均値より算出， $((A) \times (B) \times 5) + ((C) \times 5) + ((D) + (E) + (F)) \times 2$

結膜の充血が検体適用後 1 及び 4 時間に 1 例で観察された。この軽微な刺激性変化は 24
時間以内に消失した。

角膜及び虹彩には検体投与の影響はみられなかった。

以上の結果から，本検体はウサギに対して刺激性がないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

④モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 2-23-①)

試験機関：Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

化学名：

検体の純度：

供試動物：Dunkin-Hartley 系統， 8 日間以上馴化，

入荷時 5～9 週齢， 投与開始時体重範囲 雄 351～425 g， 雌 342～408 g

検体投与群雌雄各 10 匹， 対照群 1 群雌雄各 5 匹，

観察期間：惹起後 48 時間観察

投与方法：[Maximization 法]

投与量設定根拠；主要な試験で皮内感作， 局所感作および局所惹起に用いられる検体の濃度を決定するために雌雄それぞれ 4 匹の動物を用いてスクリーニング試験を実施した。

(皮内投与)：雄 2 匹と雌 2 匹のモルモットは， 電気バリカンと電気かみそりを用いて肩の部位の毛を短く刈り取った。数段階に希釈した検体の投与量 (0.1 mL) を中央線の両側に皮内注射した。翌日に動物を検査し， 中等度までの炎症が生じた最高濃度を決定した。この濃度を皮膚感作の皮内段階で用いるのに選択した。

(局所投与)：雄 2 匹と雌 2 匹のモルモットの別のグループで， 各動物の脇腹の毛を短く刈り取った。数段階に希釈した検体の投与量 (0.3 mL) を 16 cm² の濾紙のパッチに吸収させた。刈毛した脇腹の皮膚に貼り付け， 半閉塞性テープで覆い， 弾力のある粘着包帯を用いて 24 時間保持した。包帯を除去した後に， 皮膚の供試部位を水で洗った。パッチと包帯を除去した翌日に， 皮膚の供試部位の炎症の兆候の有無を調べ， 4 段階の尺度で炎症にスコアをつけた。可能な最高濃度の検体を含む製剤を局所感作および局所惹起のために選択したが， その製剤は用量設定試験で炎症を起こさないことがわかっているものである。

皮内感作投与；第 1 日に肩甲部を刈毛し， 正中線をはさんで片側 1 列に 3 箇所ずつ， 計 6 箇所に皮内投与液 0.1 mL を投与した。

局所感作投与；第 7 日 (感作皮内投与 6 日後) に感作皮内投与部位を刈毛し， 0.45 mL の適度に薄めた検体を湿らせ， 48 時間閉塞貼付した。

局所惹起投与；第 22 日， 感作経皮貼付投与から 3 週間後に刈毛した脇腹に， 0.15 mL の適度に薄めた検体を閉塞貼付した。惹起の 24 時間後および 48 時間後に， 惹起に対する皮膚の反応を評価した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。
 結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感作	惹起	観察時間	皮膚反応動物数／ 供試動物数
検体投与群	皮内投与 0.2%	70% 検体	0	10/20
			24	2/20
			48	0/20
検体対照群	皮内投与 0.2%	70% 検体	0	7/10
			24	0/10
			48	0/10

20 匹の供試動物中の 2 匹がチャレンジ・パッチ除去の 24 時間後に陽性反応を示した。48 時間後には陽性反応を示した動物はなかった。

雄 1 匹の対照動物が、局所感作手順中に施された包帯の除去の翌日に、出血性脱腸を生じた。この動物は苦痛を与えないように屠殺した。

以上の結果から、本検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

⑤ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 2-23-①)

試験機関：Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

化学名：

検体の純度：

供試動物：Fischer 344 ラット，4 日間以上馴化，
入荷時 8～9 週齢，投与開始時体重範囲 雄 207～249 g，雌 148～157 g，
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：投与前日に電気バリカンを用いて動物の背部の毛を刈り取った。第 1 日に動物の体重を測定し，検体の単回投与量を皮膚に塗布した。検体は脱イオン水で湿らせ，ガーゼ（約 6×8 cm）で包帯して適所に保持し，防水粘着テープで覆った。その後ラットを個体別に収容した。24 時間の暴露後に包帯を取り除き，皮膚を暖かい薄めた洗剤液で洗い，乾かした。動物はグループ毎の収容に戻した。

観察・検査項目：投与当日（第 1 日）には 6 回，14 日間の観察期間中のその他の日には毎日 2 回，詳細に臨床的な検討を行った。最初（第 1 日），第 8 日および第 15 日の体重を記録し，体重の変化を計算した。第 15 日にペントバルビタル・ナトリウムの腹腔内注射により屠殺し，剖検した。肉眼による病理学的変化はすべて記録した。

結 果：

投与方法	経皮
投与量(mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌：>2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	投与後 2 日から発現 投与後 3 日目に消失
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	2000

全身毒性を示す症状は観察されなかった。パッチ除去後 2 日に投与部位に紅斑が観察されたが，翌日には回復した。

剖検では，投与部位の皮膚および皮下組織の血管のうっ血が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

⑥細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 2-23-②)

試験機関：Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

化学名：

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 5 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537 および TA1538) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101 株を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames の方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシドを用いて調製し、処理容量は 20 μ L/プレートとした。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37℃で 48 から 72 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。再現性のある正の用量反応関係が認められる場合あるいは溶媒対照に比し 2.5 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められる場合に変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

分析の結果、ジメチルスルホキシドに調製した検体溶液は少なくとも 1 日は安定であった。2 回の独立した復帰突然変異試験の結果、検体処理群において、S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下における本検体の細菌に対する突然変異誘発性は陰性であると結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表1 復帰突然変異試験成績（実験1）

（表中の値は3枚のプレートの平均値）

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			TA100	TA1535	WP2uvrA/ pKM101	TA1538	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	20 μL	-	93	17	111	23	30	12
検体	31.25	-	85	17	106	20	26	11
	62.5	-	89	27	108	11	25	10
	125	-	95	17	114	8	31	11
	250	-	97	12	105	12	27	13
	500	-	84	21	106	9	25	9
	1000	-	81	23	92	12	21	10
	2000	-	70	17	94	13	20	11
	5000	-	75	10	94	10	14	9
陽性対照								
NaN ₃	2	-	N	706	N	N	N	N
NaN ₃	5	-	589	N	N	N	N	N
AAC	50	-	N	N	N	N	N	407
PD	20	-	N	N	498	N	N	N
NF	5	-	N	N	N	675	653	N
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	20 μL	+	114	16	113	25	32	14
検体	31.25	+	111	12	118	25	30	16
	62.5	+	120	8	118	21	28	11
	125	+	121	12	120	14	28	13
	250	+	141	13	109	14	25	11
	500	+	118	16	117	13	21	12
	1000	+	112	13	99	13	24	11
	2000	+	98	10	109	15	18	12
	5000	+	83	13	108	9	22	11
陽性対照								
BP	10	+	856	N	784	255	537	N
AAN	5	+	N	212	N	N	N	N
NR	20	+	N	N	N	N	N	283

NaN₃:アジ化ナトリウム, AAC:9-アミノアクリジン, PD:ニクロム酸カリウム,

NF:2-ニトロフルオレン, BP:ベンズ(a)ピレン, AAN:2-アミノアントラセン,

NR:ニュートラルレッド

N:試験を行っていない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 2 復帰突然変異試験成績 (実験 2)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			TA100	TA1535	WP2uvrA/ pKM101	TA1538	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	20 μL	—	96	15	112	18	20	12
検体	31.25	—	103	12	106	18	17	11
	62.5	—	86	14	108	13	14	13
	125	—	99	12	109	21	14	11
	250	—	102	11	100	18	12	11
	500	—	86	13	88	14	14	12
	1000	—	93	10	82	13	16	9
	2000	—	84	12	54	15	9	9
	5000	—	85	12	83	16	11	12
陽性対照								
NaN ₃	2	—	N	665	N	N	N	N
NaN ₃	5	—	657	N	N	N	N	N
AAC	50	—	N	N	N	N	N	281
PD	20	—	N	N	502	N	N	N
NF	5	—	N	N	N	621	473	N
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	20 μL	+	114	14	111	24	22	13
検体	31.25	+	108	12	106	22	17	14
	62.5	+	121	14	103	25	19	13
	125	+	119	11	119	21	19	13
	250	+	122	12	92	24	16	13
	500	+	111	9	103	24	16	13
	1000	+	107	11	94	18	16	12
	2000	+	89	13	101	19	13	12
	5000	+	91	10	106	20	16	13
陽性対照								
BP	10	+	697	N	804	305	550	N
AAN	5	+	N	249	N	N	N	N
NR	20	+	N	N	N	N	N	267

NaN₃:アジ化ナトリウム, AAC:9-アミノアクリジン, PD:ニクロム酸カリウム,

NF:2-ニトロフルオレン, BP:ベンズ(a)ピレン, AAN:2-アミノアントラセン,

NR:ニュートラルレッド

N:試験を行っていない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

5) 原体不純物

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-24-①)

試験機関 : Safepharm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1999 年

化学名 :

検体の純度 :

供試動物 : Sprague-Dawley CD (Cr1:CD(SD)IGS BR)系ラット, 5 日間以上馴化,
投与開始時 8~12 週齢, 投与開始時体重範囲 雄 219~230 g, 雌 211~224 g
1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間観察

投与方法 : 検体を DMSO に溶解して単回強制経口投与した。投与前に一晩絶食した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与前 (0 日), 投与後 7 日および 14 日に体重を測定した。試験終了時に, 動物を頸部脱臼により屠殺し, 肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄 : >2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	投与後 2 時間から発現 投与後 2 日に消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状としては, 投与後 2 時間~1 日に, 円背位が全例で認められたが, 投与 2 日後には回復した。

試験終了時の生存動物の剖検では, 異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 2-24-②)

試験機関：Safepharm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

化学名：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA1535, TA1537, TA98 および TA100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて、プレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシドを用いて調製し、処理容量は 100 μ L とした。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37℃で 48 時間培養後、コロニーカウンターを用いて復帰変異コロニーを計数した。復帰突然変異試験は 2 回実施した。少なくとも 1 つの菌株において、再現性を伴う用量に 관련된統計学的に有意な復帰変異体数の増加が認められた場合に、検体は変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

検体処理群において、代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの用量においても、復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。サルモネラ菌では、菌株により用量は異なるが、検体による抗菌性が認められた。

一方、試験に用いたすべての陽性対照物質は、復帰変異コロニー数の明らかな増加を誘発した。従って、S9 mix の活性および菌株の感受性が確認された。また、溶媒対照の復帰変異コロニー数は正常範囲内であった。

以上の結果より、本検体は、本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表1 復帰突然変異試験成績（実験1）

（表中の値は3枚のプレートの平均値）

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	-	125	11	18	23	9
検体	5	-	139	13	N	N	14
	15	-	138	15	N	N	15
	50	-	139	16	21	16	10
	150	-	139	16	18	16	10
	500	-	115	18	18	17	4*
	1500	-	66*	17*	21	16	0*
	5000	-	N	N	11P	13*P	N
陽性対照							
ENNG	3	-	749	N	N	N	N
ENNG	5	-	N	259	N	N	N
ENNG	2	-	N	N	1127	N	N
4NQO	0.2	-	N	N	N	129	N
9AA	80	-	N	N	N	N	1397
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	+	151	11	27	26	20
検体	5	+	155	14	N	N	17
	15	+	154	14	N	N	21
	50	+	170	13	27	29	19
	150	+	155	15	30	29	19
	500	+	123	13	27	18	17
	1500	+	92*	13*	24	20	8*
	5000	+	N	N	10P	13*	N
陽性対照							
2AA	1	+	1196	N	N	N	N
2AA	2	+	N	290	N	N	N
2AA	10	+	N	N	807	N	N
BP	5	+	N	N	N	274	N
2AA	2	+	N	N	N	N	390

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 4NQO : 4-ニトロキノリン-1-オキシド,

9AA : 9-アミノアクリジン, 2AA : 2-アミノアントラセン, BP : ベンズ(a)ピレン

N : 試験を行っていない

* : バックグラウンドの菌の生育阻害が認められる

P : 検体の析出が認められる

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 2 復帰突然変異試験成績 (実験 2)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	—	106	36	25	19	10
検体	5	—	99	18	N	N	8
	15	—	110	29	N	N	7
	50	—	113	33	24	21	9
	150	—	119	32	26	20	10
	500	—	85*	27*	28	23	5
	1500	—	38*	28*	17	24	6*
	5000	—	N	N	12P	12*P	N
陽性対照							
ENNG	3	—	455	N	N	N	N
ENNG	5	—	N	323	N	N	N
ENNG	2	—	N	N	641	N	N
4NQO	0.2	—	N	N	N	143	N
9AA	80	—	N	N	N	N	1649
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	+	97	19	27	28	14
検体	5	+	97	16	N	N	17
	15	+	87	19	N	N	17
	50	+	92	19	26	33	15
	150	+	88	17	27	25	15
	500	+	76	11*	24	25	14
	1500	+	51*	11*	25	26	6*
	5000	+	N	N	11P	15*P	N
陽性対照							
2AA	1	+	953	N	N	N	N
2AA	2	+	N	260	N	N	N
2AA	10	+	N	N	627	N	N
BP	5	+	N	N	N	229	N
2AA	2	+	N	N	N	N	307

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 4NQO : 4-ニトロキノリン-1-オキシド,
9AA : 9-アミノアクリジン, 2AA : 2-アミノアントラセン, BP : ベンズ(a)ピレン

N : 試験を行っていない

* : バックグラウンドの菌の生育阻害が認められる

P : 検体の析出が認められる

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

6) 代謝物

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-25-①)

試験機関：Safepharma Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

化学名：

検体の純度：

供試動物：Sprague-Dawley CD (CrI:CD(SD)IGS BR)系ラット，5 日間以上馴化，
投与開始時 8～12 週齢，投与開始時体重範囲 雄 205～224 g，雌 215～228 g，
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：検体を DMSO に溶解して単回強制経口投与した。投与前に一晩絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は，投与前（0 日），投与後 7 日および
14 日に測定した。試験終了時に，動物を頸部脱臼により屠殺し，肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄：>2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	投与後 2 時間から発現 投与後 2 日に消失
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	2000

中毒症状としては，雌 2 例に円背位が観察された。雄ならびに残りの雌では試験期間中異常は認められなかった。

剖検では，異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 2-25-②)

試験機関：SafePharm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

化学名：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA1535, TA1537, TA98 および TA100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて、プレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシドを用いて調製し、処理容量は 100 μ L とした。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37℃で 48 時間培養後、コロニーカウンターを用いて復帰変異コロニーを計数した。5000 μ g/プレートの用量ではプレート上に著しい析出が認められたため、肉眼で復帰変異コロニーを計数した。復帰突然変異試験は 2 回実施した。少なくとも 1 つの菌株において、再現性を伴う用量に相關した統計学的に有意な復帰変異体数の増加が認められた場合に、検体は変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

検体処理群において、代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの用量においても、復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。1500 μ g/プレート以上あるいは 5000 μ g/プレートの用量において、菌株に対する抗菌性が認められた。また、5000 μ g/プレートの用量で、プレート上に検体の析出が認められた。

一方、試験に用いたすべての陽性対照物質は、復帰変異コロニー数の明らかな増加を誘発した。従って、S9 mix の活性および菌株の感受性が確認された。また、溶媒対照の復帰変異コロニー数は正常範囲内であった。

以上の結果より、本検体は、本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表1 復帰突然変異試験成績（実験1）

（表中の値は3枚のプレートの平均値）

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	-	103	19	22	22	15
検体	15	-	100	16	20	24	18
	50	-	106	16	20	22	13
	150	-	103	17	23	23	9
	500	-	97	18	25	22	8
	1500	-	67*	13*	24	25	2
	5000	-	0*P	0*P	0*P	0*P	0*P
陽性対照							
ENNG	3	-	497	N	N	N	N
ENNG	5	-	N	248	N	N	N
ENNG	2	-	N	N	1131	N	N
4NQO	0.2	-	N	N	N	128	N
9AA	80	-	N	N	N	N	1077
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	+	117	13	33	25	22
検体	15	+	103	14	34	33	19
	50	+	95	13	27	31	18
	150	+	108	11	23	32	17
	500	+	117	14	26	32	14
	1500	+	74	11*	23	25	6
	5000	+	0*P	0*P	13*P	10*P	0*P
陽性対照							
2AA	1	+	652	N	N	N	N
2AA	2	+	N	261	N	N	N
2AA	10	+	N	N	558	N	N
BP	5	+	N	N	N	277	N
2AA	2	+	N	N	N	N	326

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 4NQO : 4-ニトロキノリン-1-オキシド,

9AA : 9-アミノアクリジン, 2AA : 2-アミノアントラセン, BP : ベンズ(a)ピレン

N : 試験を行っていない

* : バックグラウンドの菌の生育阻害が認められる

P : 検体の析出が認められる

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 2 復帰突然変異試験成績 (実験 2)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	—	115	30	28	29	13
検体	15	—	113	28	26	23	16
	50	—	125	28	22	21	9
	150	—	126	28	21	15	10
	500	—	126	27	28	20	10
	1500	—	74*	24*	22	21	5*
	5000	—	0*P	0*P	0*P	0*P	0*P
陽性対照							
ENNG	3	—	778	N	N	N	N
ENNG	5	—	N	523	N	N	N
ENNG	2	—	N	N	973	N	N
4NQO	0.2	—	N	N	N	226	N
9AA	80	—	N	N	N	N	1100
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	+	101	9	28	25	17
検体	15	+	101	9	31	27	13
	50	+	94	8	32	27	19
	150	+	107	10	32	27	21
	500	+	108	10	29	24	15
	1500	+	57*	9*	26	25	6*
	5000	+	49*P	0*P	17*P	0*P	0*P
陽性対照							
2AA	1	+	909	N	N	N	N
2AA	2	+	N	192	N	N	N
2AA	10	+	N	N	639	N	N
BP	5	+	N	N	N	231	N
2AA	2	+	N	N	N	N	455

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 4NQO : 4-ニトロキノリン-1-オキシド,
9AA : 9-アミノアクリジン, 2AA : 2-アミノアントラセン, BP : ベンズ(a)ピレン

N : 試験を行っていない

* : バックグラウンドの菌の生育阻害が認められる

P : 検体の析出が認められる

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

7) 代謝物

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-26)

試験機関：American Cyanamid Company

[GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

化学名：

検体の純度：

供試動物：Sprague-Dawley CD (Cr1:CD(SD)BR)系ラット，7日間以上馴化，
投与開始時 8 週齢，投与開始時体重範囲 雄 227～243 g，雌 172～182 g，
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁して単回強制経口投与した。投与前に一晩絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は，投与前（0 日），投与後 7 日および
14 日に測定した。試験終了時に全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄：>5000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000

14 日間の観察期間中，臨床症状は観察されなかった。

試験終了時の全ての動物は，14 日間の試験期間中体重が増加した。

剖検では，異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

8) 代謝物

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-27-①)

試験機関：Safeparm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

化学名：

検体の純度：

供試動物：Sprague-Dawley CD (Cr1:CD(SD) IGS BR)系ラット，1群雌雄各5匹，5日間以上馴化
投与開始時 8～12 週齢，投与開始時体重範囲 雄 210～247 g，雌 212～221 g

観察期間：14 日間観察

投与方法：検体を DMSO に溶解して単回強制経口投与した。投与前に一晩絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は，投与前（0 日），投与後 7 日および 14 日に測定した。試験終了時に，動物を頸部脱臼により屠殺し，肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄：>2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	投与後 4 時間から発現 投与後 9 日に消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状としては，円背位が全例にみられ，立毛を伴う場合もあった。
剖検では，異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 2-27-②)

試験機関：Safeparm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

化学名：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA1535, TA1537, TA98 および TA100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて、プレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシドを用いて調製し、処理容量は 100 μ L とした。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37℃で 48 時間培養後、コロニーカウンターを用いて復帰変異コロニーを計数した。復帰突然変異試験は 2 回実施した。少なくとも 1 つの菌株において、再現性を伴う用量に相関した統計学的に有意な復帰変異体数の増加が認められた場合に、検体は変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

検体処理群において、代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの用量においても、復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。サルモネラ菌では 5000 μ g/プレートの用量において、菌株に対する抗菌性が認められる場合があった。

一方、試験に用いたすべての陽性対照物質は、復帰変異コロニー数の明らかな増加を誘発した。従って、S9 mix の活性および菌株の感受性が確認された。また、溶媒対照の復帰変異コロニー数は正常範囲内であった。

以上の結果より、本検体は、本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表-1 復帰突然変異試験成績（実験 1）

（表中の値は 3 枚のプレートの平均値）

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数／プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	－	104	18	23	21	11
検体	15	－	108	19	N	27	12
	50	－	98	20	24	28	12
	150	－	100	18	20	23	13
	500	－	109	17	20	22	14
	1500	－	97	19	20	18	12
	5000	－	83*	15*	20	18	5*
陽性対照							
ENNG	3	－	497	N	N	N	N
ENNG	5	－	N	248	N	N	N
ENNG	2	－	N	N	1131	N	N
4NQO	0.2	－	N	N	N	128	N
9AA	80	－	N	N	N	N	1077
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	＋	104	11	32	33	21
検体	15	＋	113	13	N	29	18
	50	＋	102	12	29	30	17
	150	＋	102	15	26	28	20
	500	＋	104	14	28	26	17
	1500	＋	106	13	28	30	19
	5000	＋	99*	9	28	27	13
陽性対照							
2AA	1	＋	652	N	N	N	N
2AA	2	＋	N	261	N	N	N
2AA	10	＋	N	N	558	N	N
BP	5	＋	N	N	N	277	N
2AA	2	＋	N	N	N	N	326

ENNG：N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン，4NQO：4-ニトロキノリン-1-オキシド，
9AA：9-アミノアクリジン，2AA：2-アミノアントラセン，BP：ベンズ(a)ピレン

N：試験を行っていない

*：バックグラウンドの菌の生育阻害が認められる

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表-2 復帰突然変異試験成績 (実験 2)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	-	113	33	28	21	6
検体	15	-	101	23	N	N	9
	50	-	100	16	25	20	9
	150	-	106	21	20	20	8
	500	-	99	21	22	18	7
	1500	-	115	18	27	18	6
	5000	-	83*	18*	22	17*	6*
陽性対照							
ENNG	3	-	455	N	N	N	N
ENNG	5	-	N	323	N	N	N
ENNG	2	-	N	N	641	N	N
4NQO	0.2	-	N	N	N	143	N
9AA	80	-	N	N	N	N	1649
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	+	100	13	31	33	18
検体	15	+	97	N	N	N	N
	50	+	96	14	31	31	14
	150	+	94	16	25	23	16
	500	+	101	17	17	32	16
	1500	+	91	11	30	35	14
	5000	+	84*	11	28	27*	16
陽性対照							
2AA	1	+	953	N	N	N	N
2AA	2	+	N	260	N	N	N
2AA	10	+	N	N	627	N	N
BP	5	+	N	N	N	229	N
2AA	2	+	N	N	N	N	307

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 4NQO : 4-ニトロキノリン-1-オキシド,
9AA : 9-アミノアクリジン, 2AA : 2-アミノアントラセン, BP : ベンズ(a)ピレン

N : 試験を行っていない

* : バックグラウンドの菌の生育阻害が認められる

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

9) 代謝物

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-28-①)

試験機関：SafePharm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

化学名：

検体の純度：

供試動物：Sprague-Dawley CD (Crl:CD(SD)IGS BR)系ラット，5 日間以上馴化，
投与開始時 8～12 週齢，投与開始時体重範囲 雄 200～219 g，雌 200～217 g，
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：検体を DMSO に溶解して単回強制経口投与した。投与前に一晩絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は，投与前（0 日），投与後
7 日および 14 日に測定した。試験終了時に，動物を頸部脱臼により屠殺し，
肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄：>2000
死亡開始時間及び終了時間	投与 2 日後に雌 1 例
症状発現時間及び消失時間	投与後 1 日から発現 投与後 10 日に消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：なし

中毒症状としては，雌 3 例に，運動失調，色素涙，チアノーゼ，脱水，削瘦，円背位，嗜眠，立毛，眼瞼下垂，呼吸数減少，努力性呼吸，眼，口あるいは鼻の周囲の汚れなどの症状が観察された。生存した動物は試験期間を通して正常もしくは投与後 8 日ないし 10 日で回復した。生存した動物は試験期間中期待された体重増加を示した。

死亡した雌の剖検では，出血性の肺，肝臓の暗調化，脾臓の暗調化，腎臓の暗調化，胃粘膜の出血及び小腸の出血が観察された。試験終了時の生存動物の剖検では，異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 2-28-②)

試験機関：Safepharma Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

化学名：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA1535, TA1537, TA98 および TA100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて、プレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒としてジメチルスルホキシドを用いて調製し、処理容量は 100 μ L とした。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37℃で 48 時間培養後、コロニーカウンターを用いて復帰変異コロニーを計数した。復帰突然変異試験は 2 回実施した。少なくとも 1 つの菌株において、再現性を伴う用量に相関した統計学的に有意な復帰変異体数の増加が認められた場合に、検体は変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

検体処理群において、代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの用量においても、復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。

一方、試験に用いたすべての陽性対照物質は、復帰変異コロニー数の明らかな増加を誘発した。従って、S9 mix の活性および菌株の感受性が確認された。また、溶媒対照の復帰変異コロニー数は正常範囲内であった。

以上の結果より、本検体は、本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表-1 復帰突然変異試験成績（実験 1）

（表中の値は 3 枚のプレートの平均値）

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数／プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	－	107	18	16	21	11
検体	50	－	97	22	15	28	16
	150	－	111	18	17	24	11
	500	－	100	20	21	23	15
	1500	－	98	14	17	25	13
	5000	－	106	20	16	23	12
陽性対照							
ENNG	3	－	497	N	N	N	N
ENNG	5	－	N	248	N	N	N
ENNG	2	－	N	N	1131	N	N
4NQO	0.2	－	N	N	N	128	N
9AA	80	－	N	N	N	N	1077
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	＋	101	11	27	33	17
検体	50	＋	101	12	25	32	19
	150	＋	100	13	25	32	21
	500	＋	95	13	24	32	20
	1500	＋	109	13	26	27	21
	5000	＋	101	13	25	29	19
陽性対照							
2AA	1	＋	652	N	N	N	N
2AA	2	＋	N	261	N	N	N
2AA	10	＋	N	N	558	N	N
BP	5	＋	N	N	N	277	N
2AA	2	＋	N	N	N	N	326

ENNG：N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン，4NQO：4-ニトロキノリン-1-オキシド，

9AA：9-アミノアクリジン，2AA：2-アミノアントラセン，BP：ベンズ(a)ピレン

N：試験を行っていない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表-2 復帰突然変異試験成績（実験 2）

（表中の値は 3 枚のプレートの平均値）

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	－	116	33	23	21	7
検体	50	－	111	32	24	20	9
	150	－	122	35	26	23	12
	500	－	116	37	24	24	9
	1500	－	124	33	19	19	11
	5000	－	107	31	22	27	9
陽性対照							
ENNG	3	－	455	N	N	N	N
ENNG	5	－	N	323	N	N	N
ENNG	2	－	N	N	641	N	N
4NQO	0.2	－	N	N	N	143	N
9AA	80	－	N	N	N	N	1649
溶媒対照 (ジメチルスルホキシド)	100 μL	＋	96	16	32	32	16
検体	50	＋	104	12	31	26	14
	150	＋	92	14	32	38	14
	500	＋	91	12	31	29	19
	1500	＋	88	11	32	28	14
	5000	＋	104	13	26	34	14
陽性対照							
2AA	1	＋	953	N	N	N	N
2AA	2	＋	N	260	N	N	N
2AA	10	＋	N	N	627	N	N
BP	5	＋	N	N	N	229	N
2AA	2	＋	N	N	N	N	307

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 4NQO : 4-ニトロキノリン-1-オキシド,
9AA : 9-アミノアクリジン, 2AA : 2-アミノアントラセン, BP : ベンズ(a)ピレン

N : 試験を行っていない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

10)代謝物

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-31-①)

試験機関：(株) 化合物安全性研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 2003 年

化 学 名：

検体の純度：

供 試 動 物： Crj:CD(SD) IGS 雌ラット，投与時 9 週齢，投与開始時体重範囲 185～205 g，
1 群雌 3 匹

観 察 期 間： 14 日間

投 与 方 法： 検体を精製水に懸濁して経口投与した。投与前に 1 晩（16～17 時間）絶食した。

観 察 ・ 検 査 項 目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌： > 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	異常症状なし (1 例で糞に検体と 思われる白色物混入)
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	2000

中毒症状は，認められなかった。唯一，1 例で糞に白色物の混入が認められたが，検体の排泄と判断された。

剖検所見では，主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 2-31-②)

試験機関：(株) 化合物安全性研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

化 学 名：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA98, TA100, TA1535 及び TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、フェノバルビタール及び 5, 6-ベンゾフラボンで誘導したラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。

検体は溶媒として精製水を用いて調製した。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37℃で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。再現性のある正の用量反応関係が認められる場合変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠：

結 果： 結果を次頁の表に示した。

復帰突然変異試験の結果、検体処理群において、S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下における本検体の細菌に対する突然変異誘発性は陰性であると結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 1 復帰突然変異試験成績

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (水)	20 μL	-	126	8	20	24	10
検 体	156	-	130	11	15	21	11
	313	-	131	12	16	21	8
	625	-	144	11	20	21	10
	1250	-	138	11	22	25	10
	2500	-	124	7	21	27	10
	5000	-	139	10	15	26	12
陽性対照							
AF-2	0.01	-	1101	N	N	N	N
NaN ₃	0.5	-	N	266	N	N	N
AF-2	0.01	-	N	N	115	N	N
AF-2	0.1	-	N	N	N	412	N
9-AA	80	-	N	N	N	N	221
溶媒対照 (水)	20 μL	+	177	14	22	34	12
検 体	156	+	176	13	22	44	13
	313	+	177	11	21	45	11
	625	+	169	11	24	40	13
	1250	+	181	11	27	44	14
	2500	+	190	11	24	39	10
	5000	+	189	9	27	42	6
陽性対照							
2-AA	0.5	+	N	N	N	410	N
2-AA	1	+	1546	241	N	N	327
2-AA	2	+	N	N	N	N	N
2-AA	10	+	N	N	912	N	N

N : 試験を行っていない

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

9-AA : 9-アミノアクリジン

NaN₃ : アジ化ナトリウム,

2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

Ⅷ. 3. 製剤

Ⅷ 3.1. 急性毒性

1) 急性経口毒性

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-29-①)

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：9%乳剤*

供試動物：Sprague-Dawley 系 SPF ラット (Crj:CD(SD) IGS), 投与開始時 8 週齢,
投与開始時体重範囲 雄 230~244 g, 雌 176~184 g, 1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を脱イオン水に懸濁させ経口投与した。投与前日の夕方から投与約 3 時間後まで絶食した。

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

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2,000 (限界試験)
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄： > 2,000
死亡開始時間及び終了時間	投与 2 日に雄 1 例のみ
症状発現時間及び消失時間	投与後 1 時間から発現 投与後 3 日に消失

中毒症状としては、横臥位、円背位、混迷、鎮静、自発運動低下、自発運動消失、よろめき歩行、呼吸緩徐、流涎、鼻吻部、口周囲部および外陰部被毛の汚れ、外陰部被毛湿潤が認められた。

生存動物の体重は、投与後 7 及び 14 日において順調に増加していた。

死亡動物の剖検では、肺の赤色化、赤色あるいは黒色斑散在、水腫、気管の泡沫液、腺胃部の赤色化、赤色あるいは黒色斑散在、胃のガス貯留、腸管の赤色化、水腫、赤色あるいは黒色内容物、ガス貯留および脾臓の小型化が認められた。

観察期間終了時（投与後 14 日）に行った剖検では、異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

2) 急性経皮毒性

①ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 2-29-②)

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：9%乳剤*

供試動物：Sprague-Dawley 系 SPF ラット (Crj:CD(SD) IGS),

投与開始時 8 週齢, 投与開始時体重範囲 雄 249~276 g, 雌 187~208 g,

1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体をそのまま背部中央に 24 時間塗布した。貼付除去後、残存する検体は微温湯で可能な限り除去した。

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

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2,000 (限界試験)
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄： > 2,000
死亡開始時間及び終了時間	雄・雌ともに死亡は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	雄・雌ともに症状は認められなかった

雌雄ともに、臨床症状は認められなかった。

体重は、雌雄ともに、投与後 7 及び 14 日において順調に増加した。

観察期間終了時(投与後 14 日)に行った剖検において、雌雄ともに異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

VIII.3.2. 皮膚及び眼に対する刺激性

1) 皮膚刺激性

①ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 2-29-③)

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：9%乳剤*

組成

供試動物：ニュージーランドホワイト種 SPF 雌ウサギ (Kb1:NZW),
投与開始時 12 週齢, 投与開始時体重範囲 2281~2569 g,
1 群 3 匹

観察期間：3 日間(72 時間)

投与方法：検体 0.5mL をそのまま剪毛及び剃毛したウサギの背部皮膚(2.54 cm 四方, 約 6 cm²)に適用し, 閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし, 皮膚に残った検体は脱イオン水を用いて洗い流した。

観察項目：暴露終了後 1, 24, 48 及び 72 時間に適用部分の刺激性変化(紅斑, 痂皮, 浮腫)の有無を観察し, 農林水産省の指針に従い採点した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項 目	最高 評点*	暴 露 後 時 間 (hr)			
		1	24	48	72
紅斑・痂皮	4	0.67	0.67	0	0
浮 腫	4	0	0	0	0
合 計	8	0.67	0.67	0	0

注) 表の点数は 3 匹の平均値である。

*判定基準の最高評点

暴露後 1 及び 24 時間の観察で非常に軽度の紅斑が 3 例中 2 例で認められたが, 48 時間後には消失した。

以上の結果からメトコナゾール 9%製剤はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性があるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

2) 眼刺激性

①ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 2-29-④)

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：9%乳剤*

組成

供試動物：ニュージーランドホワイト種 SPF 雌ウサギ (Kb1:NZW),
投与開始時 11 週齢, 投与開始時体重範囲 2172~2456 g,
1 群 3 匹

観察期間：21 日間

投与方法：検体 0.1 mL をそのまま左眼に適用し (A・B 群), B 群は投与 30 秒後に洗眼した。また, 検体の 1000 倍希釈液 0.1 mL を適用し, 洗眼をしない C 群も設置した。

観察項目：A 及び B 群は適用後 1, 24, 48 及び 72 時間, 4, 7, 14 及び 21 日に観察した。C 群は適用後 1, 24, 48 及び 72 時間に観察した。観察は角膜, 虹彩及び結膜の刺激性変化について行い, 農林水産省の指針に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

非洗眼群 (A 群) では, 角膜, 虹彩及び結膜に刺激性変化が認められ, その程度は角膜の混濁評点 2, 虹彩評点 1, 結膜発赤評点 2 および結膜浮腫評点 3 であった。その他眼瞼及び眼瞼に接する被毛を湿潤する分泌物及び角膜の血管の新生が認められた。これらの刺激性変化が投与後 21 日までに消失した動物が 3 例中 2 例, 角膜の混濁及び結膜の発赤が残存した動物が 1 例認められた。

洗眼群 (B 群) では, 角膜, 虹彩及び結膜に刺激性変化が認められ, その程度は洗眼を行わなかった A 群とほぼ同等であった。

検体の 1000 倍希釈液を投与し洗眼を行わなかった群 (C 群) では角膜, 虹彩及び結膜に刺激性変化が認められなかった。

以上の結果から, メトコナゾール 9%製剤はウサギの眼粘膜に強い刺激性があるものと思われ, 洗眼による効果は認められなかった。使用最高濃度である 1000 倍希釈液ではウサギの眼粘膜に刺激性がないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

項	目		最高 評点 ^a	適 用 後 時 間							
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日	14日	21日
非洗眼群 (A群) (3匹平均)	角 膜	程 度 (A)	4	1.0	1.7	1.7	1.7	1.7	2.0	1.3	0.7
	混 濁	面 積 (B)	4	3.0	3.7	3.7	3.7	3.7	4.0	2.0	0.7
	虹 彩 (C)		2	1.0	0.7	0.7	0.7	0	0	0	0
	結 膜	発 赤 (D)	3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.3	1.7	1.3	0.3
		浮 腫 (E)	4	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.7	1.0	0
		その他 ^b (分泌物) (F)	3	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.3 ^d	0.7 ^d	0 ^d
洗眼群 (B群) (3匹平均)	合 計 ^c		110	34.0	45.0	45.0	45.0	42.1	49.4	19	3.1
	角 膜	程 度 (A)	4	1.0	1.0	1.3	1.3	1.3	1.7	1.3	1.3
	混 濁	面 積 (B)	4	3.0	3.0	3.3	3.3	3.3	3.0	1.3	1.3
	虹 彩 (C)		2	1.0	0.3	0.3	0.3	0	0	0	0
	結 膜	発 赤 (D)	3	1.0	1.0	1.0	1.7	1.7	1.7	1.0	0.3
		浮 腫 (E)	4	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.0	0
1000 倍希釈液 非洗眼群 (C群) (3匹平均)		その他 ^b (分泌物) (F)	3	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0 ^d	1.3 ^d	0.7 ^d
	合 計 ^c		110	34.0	26.5	33.0	34.4	32.9	36.9	15.1	10.5
	角 膜	程 度 (A)	4	0	0	0	0	—	—	—	—
	混 濁	面 積 (B)	4	0	0	0	0	—	—	—	—
	虹 彩 (C)		2	0	0	0	0	—	—	—	—
	結 膜	発 赤 (D)	3	0	0	0	0	—	—	—	—
1000 倍希釈液 非洗眼群 (C群) (3匹平均)		浮 腫 (E)	4	0	0	0	0	—	—	—	—
		その他 ^b (分泌物) (F)	3	0	0	0	0	—	—	—	—
	合 計 ^c		110	0	0	0	0	—	—	—	—

a: 判定基準の最高評点

b: その他の所見として分泌物または角膜の血管新生が認められた。申請者注; そのうち分泌物についてのみドレイズ法に従って最高評点を3として採点した。

c: 申請者注 ドレイズ法による評価合計点 (群平均値より算出, $(A) \times (B) \times 5 + (C) \times 5 + ((D) + (E) + (F)) \times 2$)

d: 角膜の血管新生が認められた。

VII.3.3. 皮膚感作性

1) 皮膚感作性

①モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 2-29-⑤)

試験機関：(財)残留農業研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：9%乳剤*

組成

供試動物：ハートレイ系 SPF 雌モルモット (Crj:Hartley), 投与開始時 6 週齢,

第 1 回感作経皮貼付時体重範囲 355~422 g,

A 群；感作・惹起ともに検体投与群 20 匹

B 群；惹起でのみ検体投与群 (検体の陰性対照) 10 匹

C 群；感作・惹起ともに DNCB 投与群 (陽性対照群) 10 匹

D 群；惹起でのみ DNCB 投与群 (DNCB の陰性対照) 5 匹

観察期間：30 日間観察

試験操作：〔ビューラー法〕

投与量設定根拠：検体の 10, 25, 50 及び 100%濃度で 6 時間投与し、貼付除去後 24 時間に観察採点した。いずれの濃度でも刺激性変化が認められなかったため、感作および惹起濃度ともに、検体の 100%濃度 (原液) とした。

感作：左肩甲部を刈毛し、A 群では 100%濃度の検体 0.4 mL を 6 時間閉塞貼付した。その 1 週間後および 2 週間後にも、同じ部位に同じ量 6 時間閉塞貼付した。

一方、陽性対照群には DNCB の 1%溶液 (溶媒 80%エタノール) を閉塞貼付した。また、1 週間後及び 2 週間後にも同様に処置をした。

陰性対照である B 群及び D 群は、それぞれガーゼのみと 80%エタノールを同様に各回貼付した。

惹起：最終感作の 2 週間後 (第 1 回感作投与後 28 日) に刈毛した左側腹部に、A・B 群は 100%濃度の検体 0.4 mL を、C・D 群は DNCB の 0.1%溶液 0.4 mL を 6 時間閉塞貼付した。また、右側腹部には A・B 群はガーゼのみを、C・D 群はアセトン 0.4 mL を閉塞貼付した。

観察項目：惹起 24 時間及び 48 時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下の基準に基づいて採点し、得られた皮膚感作率を Magnusson and Kligman の基準を用いて評価した。

0 = 肉眼的に変化なし

1 = 散在性の軽度の紅斑

2 = 中等度およびび漫性の紅斑

3 = 重度の紅斑および浮腫

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を次頁の表に示す。

検体処理群における皮膚感作率は0%であった。一方、陽性対照のDNCB投与群の皮膚感作率は90%であった。

群	感作	惹起	供試 動物数	観察 時間	感作反応動物数					感作 陽性 率(%)
					皮膚反応評点				計	
					0	1	2	3		
検体	100% 検体	100% 検体	20	24	20	0	0	0	0/20	0
				48	20	0	0	0	0/20	0
	—	100% 検体	10	24	10	0	0	0	0/10	0
				48	10	0	0	0	0/10	0
陽性 対照	1% DNCB	0.1% DNCB	10	24	1	6	3	0	9/10	90
				48	1	8	0	1	9/10	90
	80% イタノール	0.1% DNCB	5	24	5	0	0	0	0/5	0
				48	5	0	0	0	0/5	0

以上の結果から、メトコナゾール 9%乳剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。