

2. 原体中混在物及び代謝物

(1) 急性毒性

① 代謝物 のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No.27)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 :

供試動物 : Hsd/Ola(ICR)マウス、1 群雌雄各 5 匹、投与時 5-7 週齢

投与時体重範囲 雄 ; 20-22g 雌 ; 18-21g

試験期間 : 14 日間観察 (投与日を 1 日として起算)

試験方法 : 検体を 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液に懸濁し、単回強制経口投与した。投与容量は 20ml/kg とした。動物は投与前夜から投与約 4 時間後迄絶食させた。

試験項目 : 症状および生死を、投与日は頻回に、それ以降は 1 日 2 回、14 日間観察した。体重は、投与当日の投与前ならびに投与後 8 および 15 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経口	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 5000	> 5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	14 分 / 7 日	14 分 / 5 日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

死亡 ; 死亡は認められなかった。

症状 ; 全動物で、立毛、円背位、よろめき/ふらつき歩行、四肢退色及び眼球暗調化が認められた。これらの症状の他に、部分的眼瞼閉鎖あるいは腹部膨満も観察された。

体重 ; 全動物で、良好な体重増加が認められた。

肉眼的病理検査 ; 全動物で、胃内に腫大、腫脹あるいは肥厚した白色組織が認められた。

② 代謝物 のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No.28)

試験機関 : (株) 実医研 (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 :

供試動物 : Crj:CD-1(ICR)マウス、1 群雌雄各 5 匹、投与時 6 週齢

投与時体重範囲 雄 ; 30.1-34.5g 雌 ; 22.7-24.9g

試験期間 : 14 日間観察 (投与日を 0 日として起算)

試験方法 : 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液に懸濁し、単回強制経口投与した。投与容量は 20ml/kg とした。動物は投与約 3 時間前から投与約 3 時間後迄絶食させた。

試験項目 : 症状および生死を、投与日は投与後 5、15、30 分および 1、3、6 時間に、その後、日 2 回、14 日間観察した。

体重は、投与日の投与直前ならびに投与後 1、2、3、7 および 14 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経口	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、5000	0、5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 5000	> 5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現例なし	症状発現例なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000	5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

死亡 ; 死亡は認められなかった。

症状 ; 特記すべき変化は観察されなかった。

体重 ; 全例で良好な体重増加が認められた。

肉眼的病理検査 ; 特記すべき変化は観察されなかった。

(2) 変異原性

① 代謝物 の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 No.29)

試験機関 : Microbiological Associates, Inc. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1991 年

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*) TA98 株、TA100、TA1535 株、TA1537 株および TA1538 株を用い、代謝活性化系(S-9Mix)の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。

検体はアセトンに溶解し、100-5000 μ g/plate の 5 用量について試験を実施した。各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

結果の判定は、溶媒対照と比べ TA98、および TA100 株では 2 倍以上、TA1535、TA1537 および TA1538 株では 3 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が用量相関性に認められた場合を陽性とした。

陽性対照として 2-ニトロフルオレン(2NF)、アジ化ナトリウム(SA)、9-アミノアクリジン(9AA)、および 2-アミノアントラセン(2AA)を用いた。

用量設定根拠 ;

結 果 : 結果を表 1 および 2 に示した。

1 回目の試験において、代謝活性化系存在下の TA98 株で陽性となった。

その他の菌株では代謝活性化の有無にかかわらず、陽性の結果は認められなかった。

さらに TA98 株について代謝活性化系存在下で確認試験を実施したところ、陽性の結果が得られた。

以上の結果から、本試験条件下において検体は、代謝活性化系存在下の TA98 株に対して弱い復帰変異誘発性を有するが、他の菌株に対しては代謝活性化の有無にかかわらず復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

表 1 : 1 回目試験

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA 100	TA 1535	TA 98	TA1537	TA 1538
溶媒対照 (アセトン)		—	128	12	22	7	6
検 体	100	—	137	9	27	6	6
	333	—	154	11	22	5	8
	1000	—	159	9	21	5	6
	3333	—	132	14	23	6	6
	5000	—	138	10	25	5	4
溶媒対照 (アセトン)		+	203	11	32	9	8
検 体	100	+	197	11	39	8	11
	333	+	253	14	65	11	10
	1000	+	343	12	102	18	9
	3333	+	308	16	70	15	10
	5000	+	281	15	65	9	10
陽 性 対 照	SA	1	—	398	305		
	2NF	1	—			174	306
	9AA	75	—			385	
	2AA	1	+	831	68	712	100 768

表中の復帰変異コロニー数は 3 枚のプレートの平均値

SA : アジ化ナトリウム

2NF : 2-ニトロフルオレン

9AA : 9-アミノアクリジン

2AA : 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日産化学工業株式会社にある。

表 2：確認試験

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異 コロニー数 /plate
			フレーム シフト型
			TA 98
溶媒対照 (アセトン)		+	23
検 体	100	+	29
	333	+	53
	500	+	68
	1000	+	92
	2000	+	92
	3333	+	82
陽性対照 (2AA)	1	+	956

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値
2AA：2-アミノアントレン

② 代謝物 の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No.30)

試験機関 : (株) 実医研 (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

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*)TA1535 株、TA1537 株、TA98 株、TA100 株およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA 株を用い、代謝活性化系(S-9Mix)の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、156.3–5000 μ g/plate の 6 用量について試験を実施した。各濃度につき 2 枚のプレートを用いた。それぞれの菌株、S-9Mix 存在下・非存在下の処理毎に、溶媒対照および陽性対照群を設け、溶媒対照群は 3 枚、陽性対照群は 2 枚のプレートを用いた。試験はプレインキュベーション法で実施した。

結果の判定は、溶媒対照と比べ 2 倍以上復帰変異コロニー数が増加し、かつ、再現性および量-反応の関係が認められた場合を陽性とした。

陽性対照として 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(AF-2)、アジ化ナトリウム(SA)、9-アミノアクリジン(9AA)、および 2-アミノアントラセン(2AA)を用いた。

用量設定根拠:

結 果 : 結果を表 1 および 2 に示した。

用量設定試験、本試験のいずれにおいても、代謝活性化の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、プロトコールに記載された有効性の基準は全て満たされており、試験は有効であると判定された。

以上の結果から、本試験条件下において検体は、代謝活性化の有無にかかわらず復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

表 1：用量設定試験

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩 基 対 置 換 型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)		—	136	11	30	24	9
検 体	5	—	129	10	35	25	6
	10	—	139	15	32	25	11
	50	—	131	11	35	22	8
	100	—	140	18	37	27	11
	500	—	124	14	29	25	6
	1000 [#]	—	121	12	27	18	6
	5000 [#]	—	92	8	21	6	3
溶媒対照 (DMSO)		+	139	15	42	37	12
検 体	5	+	144	12	44	37	12
	10	+	148	19	38	35	16
	50	+	149	14	46	37	15
	100	+	152	16	42	34	12
	500	+	126	16	35	35	11
	1000	+	142	19	39	35	10
	5000 [#]	+	81	14	26	15	7
陽 性 対 照	AF-2	0.01	500		176	544	
		0.1					
	SA	0.5		519			
	9AA	80					
	2AA	0.5	991	225	892	564	232
		1					
		2					
		10					

表中の復帰変異コロニー数は2枚のプレートの平均値

[#]: 析出

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 9AA: 9-アミノアクリジン

2AA: 2-アミノアントラセン

表 2：本試験

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩 基 対 置 換 型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)		—	125	15	30	24	9
検 体	156.3	—	126	14	31	20	8
	312.5	—	130	11	31	27	10
	625 [#]	—	126	16	38	23	7
	1250 [#]	—	124	14	29	21	7
	2500 [#]	—	119	11	27	17	7
	5000 [#]	—	112	6	19	9	3
溶媒対照 (DMSO)		+	133	13	38	32	14
検 体	156.3	+	135	14	42	37	14
	312.5	+	132	15	38	35	12
	625	+	130	12	37	36	13
	1250 [#]	+	127	12	34	28	12
	2500 [#]	+	122	12	33	20	10
	5000 [#]	+	95	8	21	15	6
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	450	173		
		0.1	—			526	
	SA	0.5	—		533		
	9AA	80	—				615
	2AA	0.5	+			548	
		1	+	932			
		2	+		222		192
		10	+		836		

表中の復帰変異コロニー数は2枚(溶媒対照のみ3枚)のプレートの平均値

#: 析出

AF-2: 2-(2-フル)-3-(5-ニトロ-2-フル)アクリルアミド SA: アジ化ナトリウム 9AA: 9-アミノアクリジン

2AA: 2-アミノアントレン

③ 代謝物 のマウス L5178Y 細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (資料 No.31)

試験機関 : Microbiological Associates, Inc. (GLP 対応)
報告書作成年 : 1992 年

検体純度 :

試験方法 : マウスリンパ腫由来の L5178Y 細胞を用い、代謝活性化系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で、トリフルオロチミジン(TFT)抵抗性細胞の出現頻度を測定し、検体の遺伝子突然変異誘発性を調べた。

検体はアセトンを用いて溶解し、S-9Mix の存在下で 10-100 μ g/ml、非存在下で 5-200 μ g/ml の濃度で細胞の培地中に処理し、処理後 TFT 抵抗性の細胞の出現頻度を測定した。結果の判定は突然変異頻度の上昇に用量依存性があり、10 % 以上の細胞増殖率を有する 1 濃度以上で突然変異頻度が背景値より 2 倍以上高かった場合を陽性 (用量依存性あるいは背景値の 2 倍以上のいずれか一方の条件のみを満たす場合は疑陽性) とした。

用量設定根拠 ;

結 果 : 結果を次表に示した。

S-9Mix の存在下および非存在下のいずれの検体処理群においても溶媒対照の 2 倍以上の突然変異頻度は観察されなかった。また、突然変異頻度の用量依存性をもった上昇も観察されなかった。

一方、陽性対照群として用いたエチルメタンスルフォネート(EMS)は S-9Mix 非存在下で、7,12-ジメチルベンツアントラセン(DMBA)は S-9Mix 存在下で、溶媒対照の 2 倍以上の突然変異頻度を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体は、遺伝子突然変異誘発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

<マウスリンフォーマ試験結果>

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g/ml}$)	S-9 Mix の 有無	細胞増殖率 (%)	変異数/ 10^6cells <平均>	判 定
溶媒対照 (アセトン)	-	-	100	33 29 34 18 <29>	
検 体	5.0	-	64	36	-
	10	-	25	34	-
	20	-	6	42	-
	30	-	TOX	TOX	
	50	-	TOX	TOX	
	75	-	TOX	TOX	
	100	-	TOX	TOX	
	200	-	TOX	TOX	
溶媒対照 (DMSO)	-	-	100	25 25 <25>	
陽性対照 (EMS)	0.25	-	71	394	+
	0.50	-	44	646	+
溶媒対照 (アセトン)	-	+	100	34 41 # 32 <36>	
検 体	30	+	44	59	-
	35	+	28	53	-
	40	+	36	50	-
	45	+	35	46	-
	50	+	22	40	-
	100	+	TOX	TOX	
溶媒対照 (DMSO)	-	+	100	27 23 <25>	
陽性対照 (DMBA)	2.5	+	65	220	+
	5.0	+	15	409	+

TOX:強毒性のためコロニー不形成。

#: 紛失

EMS: エチルメタンスルフォネート

DMBA:7,12-ジメチルベニツアントラセン

④ 代謝物 のマウスを用いた小核試験

(資料 No.32)

試験機関 : Microbiological Associates, Inc. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1992 年

検体純度 :

供試動物 : ICR 系マウス、 6-8 週齢、1 群雄 5 匹

開始時体重範囲 (群分け時) : 30.2-36.5 g

試験方法 : 骨髓中の小核を有する多染性赤血球数を指標として、小核誘起性を調べた。検体はコーンオイルに懸濁し、164 および 260mg/kg の用量を単回腹腔内投与した。

同様に、溶媒対照としてコーンオイルを、陽性対照としてシクロフォスファミドの水溶液を単回腹腔内投与した。

投与後 24 および 48 時間後に動物を屠殺し、常法に従い大腿骨を摘出し、牛胎児血清で骨髓を洗い出し、骨髓細胞の塗抹標本を作製した。塗抹標本は、メタノール固定後メイ-グリュンワルド-ギムザ染色を施し、顕微鏡下で、1 動物当たり 1000 個の多染性赤血球について小核を有する多染性赤血球数を測定した。また、全赤血球中の多染性赤血球の割合についても調べた。

投与量設定根拠 ;

結 果 : 結果を表 1 および 2 に示した。

いずれの検体投与群においても、溶媒対照と比較して小核を有する多染性赤血球数の増加は認められなかった。260mg/kg 投与 48 時間屠殺群では、全赤血球中の多染性赤血球出現頻度が減少し、検体の骨髓に対する毒性が示唆された。

一方、陽性対照群では溶媒対照群と比較して小核を有する多染赤血球数の有意な増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において検体は、骨髓細胞に対する小核誘発性を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日産化学工業株式会社にある。

表 1：小核試験

薬 物	投与量 (mg/kg)	時間 (hr)	動物数	多染性赤血球中の 小核出現頻度 (‰)	多染性赤血球 出現頻度 (%)
				雄	雄
対照 (コ-ンオイル)	-	24	5	0.2 ± 0.45	50
		48	5	0.4 ± 0.89	57
検 体	260	24	5	0.4 ± 0.55	49
		48	1	1.0	38
陽性対照 (シクロオクサミド)	30	24	5	7.0 ± 1.73 ↑	53

Kastenbaum & Bowman's tables

↑ : p < 0.05

表 2：追加小核試験

薬 物	投与量 (mg/kg)	時間 (hr)	動物数	多染性赤血球中の 小核出現頻度 (‰)	多染性赤血球 出現頻度 (%)
				雄	雄
対照 (コ-ンオイル)	-	48	5	0.4 ± 0.55	52
検 体	164	48	5	0.2 ± 0.45	57
陽性対照 (シクロオクサミド)	30	48	5	4.4 ± 2.07 ↑	46

Kastenbaum & Bowman's tables

↑ : p < 0.05

3. 製剤

3.1 20%フロアブル剤

(1) 急性毒性

① 20%フロアブル剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.33)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 : 20%フロアブル剤

〔組成〕 ビフェナゼート原体 20 %
水、界面活性剤等 残分

供試動物 : Crj:CD(SD)IGS ラット、1 群雌雄各 5 匹、投与時 6 週齢

投与時体重範囲 雄 ; 175-195g 雌 ; 125-141g

試験期間 : 14 日間観察 (投与日を 0 日として起算)

試験方法 : 検体を脱イオン水で希釈し、単回強制経口投与した。投与容量は 20 ml/kg とした。動物は投与前日の夕方より投与約 3 時間後迄絶食させた。

試験項目 : 症状および生死を、投与日は投与後 1、3 および 6 時間目に、それ以降は 1 日 1 回、14 日間観察した。体重は投与開始前、投与後 7 および 14 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経口	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、5000	0、5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 5000	> 5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現例なし	症状発現例なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

死亡 ; 死亡は認められなかった。

症状 ; 異常は認められなかった。

体重 ; 全動物で体重増加が認められた。

肉眼的病理検査 ; 5000mg/kg 群で、脾臓の腫大が雄 5 例および雌 2 例に、また脾臓の暗調化が全例に認められた。

② 20%フロアブル剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No.34)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)
報告書作成年 : 1998 年

検体純度 : 20%フロアブル剤

〔組成〕 ビフェナゼート原体 20 %
水、界面活性剤等 残分

供試動物 : Crj:CD-1(ICR)マウス、1 群雌雄各 5 匹、投与時 6 週齢

投与時体重範囲 雄 ; 28.4-35.2g 雌 ; 20.7-28.8g

試験期間 : 21 日間観察^{注1} (投与日を 0 日として起算)

試験方法 : 検体を脱イオン水で希釈し、単回強制経口投与した。投与容量は 20 ml/kg とした。動物は投与約 2 時間前より投与約 3 時間後迄絶食させた。

試験項目 : 症状および生死を、投与日は投与後 1、3 および 6 時間目に、それ以降は 1 日 1 回、21 日間観察した。体重は投与開始前、投与後 7、14 および 21 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経口	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、2032、2743、3704、5000、6750	0、2032、2743、3704、5000、6750
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 6750	> 6750
死亡開始時間および終了時間	1 日 / 5 日	1 日 / 7 日
症状発現時間および消失時間	1 時間 / 13 日 ^{注2}	1 時間 / 8 日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	3704	2743

死亡 ; 投与後 1 日から 7 日までに認められたが、いずれの群でも半数致死に至らなかった。

症状 ; 腹臥位、うずくまり姿勢、起立不能、自発運動低下、呼吸緩徐、昏迷、振戦、痙攣、腹部膨満、外陰部被毛の浸潤、ならびに動物の闘争による外傷と考えられる顔面、前肢あるいは尾部の創傷、尾部の癒痕および尾端部欠損が認められた。

体重 ; 生存例では、投与後 7 日では雄 5 匹、雌 7 匹が、また投与後 14 日では雌 1 匹が投与前の値より減少していたが、投与後 21 日には全例で増加が確認された。

注1 : 投与 14 日に雌 1 匹の体重が投与前と比較し減少していたため、観察期間を延長した。

注2 : 雄 1 匹で観察終了時まで認められた、創傷およびそれに起因する癒痕および欠損は除いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

肉眼的病理検査；死亡例では、肺赤色化、肺赤色斑、腺胃部赤色あるいは黒色斑散在、腺胃部赤色化、胃黒色内容物、小腸黒色内容物、肝臓退色、肝臓うっ血、腎臓退色、膀胱尿うっ滞等が認められた。
生存例では、雌雄共に全例で脾臓の暗調化が、また雌では脾臓の腫大が数例認められた。

③ 20%フロアブル剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.35)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 : 20%フロアブル剤

[組成] ビフェナゼート原体 20 %
水、界面活性剤等 残分

供試動物 : Crj:CD(SD)IGS ラット、1 群雌雄各 5 匹、投与時 7 週齢、

投与時体重範囲 雄 ; 251-279g 雌 ; 184-198g

試験期間 : 14 日間観察 (投与日を 0 日として起算)

試験方法 : 検体をそのまま濾紙にしみ込ませ、前日に剪毛・剃毛した背部中央皮膚(4×5cm)に、24 時間閉鎖貼付した。貼付終了後、残余検体を中性洗剤を用い微温湯でできる限り除去した。

試験項目 : 症状および生死を、投与日は投与後 1、3 および 6 時間目に、それ以降は 1 日 1 回、14 日間観察した。体重は投与開始前、投与後 7 および 14 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経皮	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、2000	0、2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 2000	> 2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現例なし	症状発現例なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

死亡 ; 死亡は認められなかった。

症状 ; 異常は認められなかった。

体重 ; 全動物で体重増加が認められた。

肉眼的病理検査 ; 異常は認められなかった。

④ 20%フロアブル剤のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No.36)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 : 20%フロアブル剤

〔組成〕 ビフェナゼート原体 20 %
水、界面活性剤等 残分

供試動物 : Crj:CD(SD)IGS ラット、1 群雌雄各 5 匹、曝露時 7 週齢、

曝露時体重範囲 雄 ; 227-239g 雌 ; 164-177g

試験期間 : 14 日間観察 (曝露日を 0 日として起算)

試験方法 : 検体は圧搾空気を供給したアトマイザー用いてミスト化し、4 時間連続鼻部曝露した。

なお、1.51 mg/ℓはミスト発生可能な最高濃度であった。

濃度測定 : チャンバー内ミストをポンプで定量吸引し、ガラス繊維ろ紙に捕集した。この濾紙から検体を抽出し、高速液体クロマトグラフを用いた化学分析にて求めた。

曝露条件 :

設定濃度(mg/ℓ)		30.6
実際濃度(mg/ℓ)		1.51
粒子径分布* (%)	> 7.07 μm	40.1
	3.85-7.07	12.0
	2.15-3.85	13.1
	1.17-2.15	17.2
	0.61-1.17	17.8
	0-0.61	-
空気力学的質量中位径(μm)		4.6
呼吸可能な粒子(<15μm)の割合(%)		約 80%
チャンバー容積(ℓ)		18.3
チャンバー内通気量(ℓ/分)		20.0
曝露条件		ミスト、4 時間、鼻部曝露

* : Andersen 式カスケードインパクターを用いて 2 回測定した平均値

試験項目 : 症状は、曝露当日は曝露開始 2 時間後ならびに曝露終了直後および曝露期間終了 2 時間後に観察し、曝露期間終了 4 時間後には生死を確認した。その後は 1 日 1 回観察した。体重は曝露直前および曝露後 1 週間毎に測定した。曝露後 14 日に全動物を対象に肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与経路	吸入	
性別	雄	雌
曝露濃度(mg/l)	1.51	1.51
LC ₅₀ (mg/l)	> 1.51	> 1.51
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および終了時間	曝露終了直後／ 曝露終了後 2 時間	曝露終了直後／ 曝露終了後 2 時間
死亡例の認められなかった 最大曝露濃度(mg/l)	1.51	1.51

死亡；死亡は認められなかった。

症状；曝露期間中に症状は認められなかった。曝露終了直後の観察では、雄 3 匹および雌 4 匹で鼻吻部被毛の汚れが、また他の雌 1 匹では眼周囲部赤色物付着が認められた。これらの症状は 2 時間後の観察では消失していた。

体重；全動物で体重増加が認められた。

肉眼的病理検査；異常は認められなかった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

① 20%フロアブル剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No. 37)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 : 20%フロアブル剤

〔組成〕 ビフェナゼート原体 20 %
水、界面活性剤等 残分

供試動物 : New Zealand White 種(kbl:NZW)ウサギ、1 群 6 匹、投与時 12 週齢

投与時体重範囲 2457-2864 g

試験期間 : 72 時間観察

試験方法 : 貼付の 24 時間前に剪毛および剃毛した背部皮膚にガーゼパッチ(2.5×2.5cm)を載せ、これと皮膚との間に検体 0.5ml を投与し、その上をポリエチレンシートおよび非刺激性テープを用い閉塞貼付した。検体の代わりに脱イオン水 0.5ml を投与する対照区も設けた。投与 4 時間後にパッチを取り除き、脱イオン水を用いて残余検体を洗い流した。

試験項目 : パッチ除去後 1、24、48、72 時間に投与部位の刺激性変化(紅斑・痂皮、浮腫)の有無を観察し、農林水産省の指針および Draize 法に従って採点した。

また、全ての動物について投与開始直前および観察期間終了時に体重を測定した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

項目		最高採点	適用終了後(時間)			
			1	24	48	72
検体投与区	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
対照区	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

表の点数は 6 匹の平均値

紅斑・痂皮、浮腫およびその他の刺激性変化は認められなかった。

観察期間終了時、全動物で体重増加が認められた。

以上の結果から、ビフェナゼート 20%フロアブル剤はウサギ皮膚に対して、刺激性はないものと判断した。

② 20%フロアブル剤のウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料 No. 38)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 : 20%フロアブル剤

{組成} ビフェナゼート原体 20 %
水、界面活性剤等 残分

供試動物 : New Zealand White 種(kbl:NZW)ウサギ、非洗眼群 雌 6 匹、洗眼群(2 群) 雌各 3 匹
投与時 11 週齢、投与時体重範囲 ; 2228-2540g

試験期間 : 72 時間観察

試験方法 : 検体 0.1ml を左眼の下眼瞼結膜嚢内に投与し、1 秒間眼瞼を閉じあわせた。洗眼群は、投与 30 秒後あるいは投与 2 分後に各 3 匹について、30 秒 - 1 分間微温湯で洗眼した。また、6 匹を非洗眼群とした。右眼は無処理対照眼とした。

試験項目 : 投与 1、24、48、72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農林水産省の指針および Draize 法に従って採点した。

また、全ての動物について投与開始直前および観察期間終了時に体重を測定した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

項 目			最高評点	観 察 時 間			
				1	24	48	72
非洗眼群 (6 匹平均)	角 膜	混 濁	4	0	0	0	0
		面 積*	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物*	3	0	0	0	0
	合計		110	0	0	0	0
洗 眼 群	角 膜	混 濁	4	0	0	0	0
		面 積*	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物*	3	0	0	0	0
	合計		110	0	0	0	0
	角 膜	混 濁	4	0	0	0	0
		面 積*	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物*	3	0	0	0	0
	合計		110	0	0	0	0

* : 農水省ガイドラインには記載なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

角膜、虹彩および結膜の刺激性変化は、洗眼群、非洗眼群ともに認められなかった。
また体重は、全動物で増加が認められた。

以上の結果から、ビフェナゼート 20%フロアブル剤はウサギの眼粘膜に対して刺激性はないものと判断した。

(3) 皮膚感作性

① 20%フロアブル剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 39)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 : 20%フロアブル剤

〔組成〕 ビフェナゼート原体 20 %
水、界面活性剤等 残分

供試動物 : ハートレイ系モルモット(Crj:Hartley)、雌、開始時 6 週齢、開始時体重範囲 321-402g

検体投与群およびその陰性対照群 ; 各 20 匹

陽性物質投与群およびその陰性対照群 ; 各 10 匹 計 60 匹

試験期間 : 感作開始から惹起終了後 48 時間観察まで (31 日間)

試験方法 : Buehler 法で実施し、陽性対照物質として DNCB (2,4-dinitrochlorobenzene) を用いた。
処理方法を下表に示す。

	感作経皮投与液	惹起経皮投与液
検体 投与群	100%検体脱イオン水懸濁液	100%検体脱イオン水懸濁液
検体 陰性対照群	—	100%検体脱イオン水懸濁液
陽性物質 投与群	1%DNCB80%エタノール溶液	0.1%DNCB アセトン溶液
陽性物質 陰性対照群	80%エタノール溶液	0.1%DNCB アセトン溶液

第 1 回感作 ; 左側肩甲部 (2×2cm) の区画に、感作経皮投与液 0.4ml を滴下したガーゼ (2×2cm) を 6 時間閉塞貼付した。

第 2 回感作 ; 第 1 回感作経皮投与後 7 日に、同一部位に処置した。

第 3 回感作 ; 第 1 回感作経皮投与後 14 日に、同一部位に処置した。

惹起 ; 第 1 回感作経皮投与後 28 日に、左側腹部には惹起経皮投与液 0.4ml を滴下したガーゼ (2×2cm) を 6 時間閉塞貼付し、右側腹部には、検体投与群およびその陰性対照群には乾いたガーゼを、陽性物質対照群およびその陰性対照群には溶媒であるアセトン 0.4ml を滴下したガーゼを同様に貼付した。

投与量設定根拠 ;

試験項目 : 惹起経皮貼付除去後 24 および 48 時間に側腹部の皮膚反応を肉眼的に観察し、採点した。また、全動物について試験開始時および観察終了時に体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

採点方法；各観察時に下記に示した基準に従い採点した。採点された点数のうち、最高点をその動物の評点とし、各々の陰性対照群に認められた最高評点より高い評点（ただし評点1以上）を示した動物を感作陽性動物とした。

	点 数
肉眼的に変化なし	0
非常に軽度の紅斑（通常散在性）	0.5
軽度の紅斑（通常び慢性）	1
中等度の紅斑	2
重度の紅斑（浮腫の有無を問わない）	3

また、惹起経皮貼付除去後 24 および 48 時間の観察時期毎に、1 匹当たりの平均皮膚反応強度を算出した。

結 果： 各観察時における結果を下表に示す。

群	性	匹数	処理				感作反応動物数										陽性動物数	感作率 (%)
			感作経皮Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	惹起経皮	皮膚反応評点											
							24 時間後					48 時間後						
							0	0.5	1	2	3	0	0.5	1	2	3		
検体投与群	雌	20	100%検体脱イオン水懸濁液	同左	同左	100%検体脱イオン水懸濁液	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0/20	0
検体陰性対照群	雌	20	なし	同左	同左	100%検体脱イオン水懸濁液	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	—	—
陽性物質投与群	雌	10	1%DNCB 80%イソノール溶液	同左	同左	0.1%DNCB アセトン溶液	0	0	7	3	0	1	0	8	1	0	10/10	100
陽性物質陰性対照群	雌	10	80%イソノール溶液	同左	同左	0.1%DNCB アセトン溶液	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	—	—

検体投与群では、全ての動物で評点は 0 で皮膚反応は認められず、感作率は 0%であった^{注18}。

陽性物質投与群では、7 匹が評点 1、3 匹が評点 2 であり、対照群では全て評点 0 であったことから、感作率は 100%であった。

惹起経皮貼付除去後 24 および 48 時間の観察時における 1 匹当たりの平均皮膚反応強度は、陽性物質対照群で各々 1.30 および 1.00 であり、その他の群では両観察時とも 0 であった。

体重は、全動物で増加した。

以上の結果から、ピフェナゼート 20%フロアブル剤の皮膚感作性は陰性と判断した。

^{注18}：Magnusson と Kligman の基準では、感作率 0-8%で程度が微弱な区分 I に分類される。

3.2 15%くん煙剤

(1) 急性毒性

① 15%くん煙剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. 40)

試験機関 : (株) ポリサ-センター (GLP 対応)

報告書作成年 : 2003 年

検体純度 : 15%くん煙剤

(組成) ビフェネ-ト 15.0 %

供試動物 : Crl:CD(SD)IGS ラット、投与時 8~9 週齢、1 群雌 6 匹、投与時体重範囲 183~203g

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 毒性等級法

検体を蒸留水で調製し、単回強制経口投与した。投与容量は 10ml/kg とした。動物は投与前に約 16 時間絶食した。

試験項目 : 症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与 0 日 (投与直前)、投与後 1、3、7 及び 14 日に測定した。試験終了時に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
性別	雌
投与量 (mg/kg)	300、2000
LD50 (mg/kg)	>2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	影響なし
毒性徴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

死亡 ; 死亡は認められなかった。

症状 ; 検体投与に関連した影響は認められなかった。

体重 ; 検体投与に関連した影響は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 検体投与に関連した影響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日産化学工業株式会社にある。

② 15%くん煙剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 41)

試験機関 : (株) ホザリサ-センター (GLP 対応)

報告書作成年 : 2003 年

検体純度 : 15%くん煙剤

(組成) ビフェネート 15.0 %

供試動物 : Crj:CD(SD)IGS ラット、投与時 8 週齢、1 群雌雄各 5 匹

投与時体重範囲 雄 ; 259~274 雌 ; 210~223g

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 検体を 4×5cm のリント布に載せた後、剪毛した背部皮膚に 24 時間閉塞貼付した。

試験項目 : 症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与 0 日 (投与直前)、投与後 3、7、及び 14 日に測定した。試験終了時に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 皮	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000	2000
LD50 (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現及び消失時間	影響なし	影響なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

死亡 ; 死亡は認められなかった。

症状 ; 検体投与に関連した影響は認められなかった。

体重 ; 検体投与に関連した影響は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 検体投与に関連した影響は認められなかった。

③ 15%くん煙剤のラットにおける急性吸入毒性試験 (資料 No. 42)

試験機関 : (株) 三菱化学安全科学研究所
(GLP 対応)

報告書作成年 : 2003 年

検体純度 : 15%くん煙剤

(組成) ビフェニール 15.0 %

供試動物 : Crj:CD(SD)IGS ラット、暴露時 5 週齢、1 群雌雄各 5 匹

投与時体重範囲 雄 ; 152~176 雌 ; 126~147g

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 全身吸入暴露 (4 時間暴露)

アルミホイルシャーレに 8.0g の被験物質を正確に秤量し、吸入チャンバ (内容積約 1.6m³) の中央の動物暴露部位と同じ高さに置いた。点火紙を被験物質に挿入し、これに着火することで被験物質のくん煙を発生させた。着火 1 分後に吸入チャンバ上部に設置したファンを 1 分間回転させ、吸入チャンバ内の空気を攪拌し、暴露空気の均質化を図った。攪拌終了時を暴露開始時とした。その後 4 時間全身吸入暴露を行った。吸入チャンバ内の換気は、くん煙発生時の余剰空気の排出のみとし、それ以外には実施しなかった。対照群では同様に動物を吸入チャンバ内に収容、吸入チャンバの扉を閉鎖し、4 時間の放置を行うのみとした。

なお、暴露濃度はガイドラインに記載された上限濃度である 5mg/L とした。〔申請者注 ; 実際使用量 100g/400m³ (0.25mg/L) の 20 倍量相当〕

暴露空気をガラス繊維フィルターで捕集し、高速液体クロマトグラフにより実際濃度を求めた。

暴露条件 ;

設定暴露濃度 (mg/L)		5
気中有効成分濃度 (mg/L)	暴露後 0~10 分	0.3525
	暴露後 30~40 分	0.2688
	暴露後 50~60 分	0.2212
	暴露後 1 時間 50 分~2 時間	0.1188
	暴露後 2 時間 50 分~3 時間	0.0654
	暴露後 3 時間 50 分~4 時間	0.0351
粒度分布 (%)	≥9.0 μm	0.27
	5.8	0.61
	4.7	1.45
	3.3	1.29
	2.1	4.33
	1.1	37.38
	0.7	37.01
	0.4	14.92
	≤0.4	2.75
空気力学的質量中位径 (MMAD、μm)		1.19
幾何標準偏差 (GSD)		1.89
呼吸可能な粒子の割合 (4 μm 以下、%)		96.9

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験項目：症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与 1 日（投与前）、投与後 2、4、8 及び 15 日に測定した。試験終了時に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	吸 入	
	雄	雌
暴露濃度 (mg/L)	5	5
LC50 (mg/L)	>5	>5
死亡開始及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現及び消失時間	影響なし	影響なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	5	5
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	5	5

死亡；死亡は認められなかった。

症状；検体投与に関連した影響は認められなかった。

体重；検体投与に関連した影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；検体投与に関連した影響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日産化学工業株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

① 15%くん煙剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No. 43)

試験機関 : (株) ポリサ-センター (GLP 対応)

報告書作成年 : 2003 年

検体純度 : 15%くん煙剤

(組成) ビフェニール 15.0 %

供試動物 : 日本白色種ウサギ、雌、投与時 17 週齢、3 匹、投与時体重範囲 3.15~3.34kg

試験期間 : 3 日間観察

試験方法 : 検体 0.5g を 2.5×2.5cm のリット布に載せた後、剪毛した背部皮膚に 4 時間閉塞貼付した。貼付終了後にリット布を除去し、皮膚に残った検体を洗浄した。

試験項目 : リット布除去後 1、24、48 及び 72 時間に、投与部位の刺激性変化を観察し、Draize の基準に従って採点した。得られた評点から皮膚一次刺激指数 (Primary Irritation Index、P.I.I.) を算出し、刺激性強度を分類した。また、一般状態及び体重も観察した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

動物 数	項目	最高 評点	観察時間			
			時間			
			1	24	48	72
3 匹 (平均)	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合 計		0	0	0	0
	P.I.I.	8	0			

刺激性変化 ; 刺激性変化は認められなかった。

一般状態 ; 検体投与に関連した影響は認められなかった。

体重 ; 検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性はないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

② 15%くん煙剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No. 44)

試験機関 : (株) ホリサ-センター (GLP 対応)

報告書作成年 : 2003 年

検体純度 : 15%くん煙剤

(組成) ビフェニール 15.0 %

供試動物 : 日本白色種ウサギ、雌、投与時 15 週齢、非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹、

投与時体重範囲 2.32~2.75kg

試験期間 : 19 日間観察

試験方法 : 検体 0.1g を左眼の結膜嚢内に投与した。洗眼群は、投与後 30 秒に注射用水で洗眼した。
右眼は対照眼とした。

試験項目 : 投与後 1、24、48 及び 72 時間、4 から 19 日までは毎日、刺激性変化を観察し、Draize
の基準に従って採点した。刺激性強度は、Kay & Calandra の方法に従って分類した。
また、一般状態及び体重も観察した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

<非洗眼群>

項 目			最高 評点	観 察 時 間										
				時 間				日						
				1	24	48	72	4	5	6	7	8	9	10
非洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	程 度	4	1.0	1.0	0.7	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
		面 積*	4	1.0	1.0	0.7	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
	結膜	虹 彩	2	0	0.7	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0
		発 赤	3	1.0	1.0	0.7	0.3	0	0	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	1.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		分泌物*	3	1.0	0.7	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	0
	合 計**		110	11.0	11.7	7.0	3.0	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
項 目			最高 評点	観 察 時 間										
				日										
				11	12	13	14	15	16	17	18	19		
非洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	程 度	4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0		
		面 積*	4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0		
	結膜	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		発 赤	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		分泌物*	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	合 計**		110	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	0		

<洗眼群>

項 目			最高 評点	観 察 時 間										
				時 間				日						
				1	24	48	72	4	5	6	7	8	9	10
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		面 積*	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	0.7	0.7	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	1.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		分泌物*	3	1.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	合 計**		110	6.7	1.3	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0
項 目			最高 評点	観 察 時 間										
				日										
				11	12	13	14	15	16	17	18	19		
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		面 積*	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発 赤	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		分泌物*	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	合 計**		110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

*：農林水産省の指針では要求されていない

**：Draize 法による評価点（最高 110 点）

刺激性変化

非洗眼群では、投与後 1 時間から角膜及び結膜に刺激性変化が認められ、投与後 24 時間では虹彩の刺激性変化が加わった。投与後 24 時間の刺激性変化が最も強かった。投与後 48 時間以降刺激性変化は緩やかな回復傾向を示したが、1 例の角膜の刺激性変化に回復の遅れが見られた。しかしながら、投与後 19 日までに全ての刺激性変化が消失した。

洗眼群では、投与後 1 時間から結膜に刺激性変化が認められ、投与後 1 時間の刺激性変化が最も強かった。投与後 24 時間以降刺激性変化は回復し、投与後 72 時間までに全ての刺激性変化が消失した。

刺激性強度

非洗眼群；軽度刺激物

洗眼群；軽度刺激物。洗眼効果が認められた。

一般状態；検体投与に関連した影響は認められなかった。

体重；検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、検体はワザの眼に対して軽度の刺激性を有すると判断した。また、洗眼による刺激性の明らかな軽減が認められた。

(3) 皮膚感作性

① 15%くん煙剤のモルセットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 45)

試験機関 : (株) ホリサ-センタ- (GLP 対応)

報告書作成年 : 2003 年

検体純度 : 15%くん煙剤

(組成) ビフェニール 15.0 %

供試動物 : ハトリ-系白色モルセット、雌、投与時 6~7 週齢

検体感作群 20 匹、検体非感作群 10 匹、投与時体重範囲 316~375g

試験期間 : 感作開始日から惹起終了後 48 時間までの 30 日間

試験方法 : Buehler 法

投与量設定根拠 :

処理物質 ; 感作及び惹起物質を下表に示す。

群	感 作	惹 起
検体感作群	50%検体注射用水調製物	50%検体注射用水調製物
検体非感作群	注射用水	50%検体注射用水調製物

処理方法 ; 感作は、約 5×5cm の広さに剪毛した動物の左腹側部に、処理物質の 0.2mL を直径 2.5cm のリト布に塗布し 6 時間閉塞貼付した。同様の処理を 7 日間隔で合計 3 回行った。惹起は、最終感作後 14 日目に、約 5×5cm の広さに剪毛した動物の右腹側部に、処理物質の 0.2mL を直径 2.5cm のリト布に塗布し 6 時間閉塞貼付した。

試験項目 : 以下に示した項目について観察及び測定を行った。

一般状態 ; 感作開始日 (0 日) から惹起後の皮膚の観察終了日 (30 日後) まで毎日、動物の一般状態を観察した。

体重測定 ; 感作開始日 (0 日)、最終感作日 (14 日後)、惹起日 (28 日後) 及び観察終了日 (30 日後) に全動物の体重を測定した。

皮膚反応 ; 皮膚反応の観察は惹起貼付除去後 24 及び 48 時間に行い、次に示す Magnusson & Kligman の基準に従って評点した。

皮膚反応の評価基準	
皮膚反応の程度	評点
肉眼的に変化なし	0
散在性又は斑状の紅斑	1
中等度びまん性紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

評価 ; 評点 1 以上を陽性とする感作率 (%) を算出し、感作群と非感作群の反応の程度及び感作率を比較して感作性を評価した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

結 果：各観察時間における結果を下表に示す。

群	供試動物数	観察時間 (時間)	感作反応動物数 皮膚反応評点				平均 評点	陽性反 応動物 数	感作率 (%)
			0	1	2	3			
検体 感作群	20	24	20	0	0	0	0	0	0
		48	20	0	0	0	0	0	0
検体 非感作群	10	24	10	0	0	0	0	0	0
		48	10	0	0	0	0	0	0

検体感作群及び検体非感作群で皮膚反応は認められなかった。

なお、直近に実施したモルモットの陽性対照物質（DNCB：2,4-ジニトロクロベンゼン）に対する感受性の確認試験（2002年12月27日～2003年04月10日）では、感作率は100%であった。

一般状態及び体重では検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において検体の皮膚感作性は陰性と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

4. 参考資料

① ハイイツ小体確認試験

(参考資料-1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

従って、ハインツ小体の形成が明瞭に認められたことから、本剤投与により認められた溶血性貧血の機序として、赤血球に対する酸化作用の関与が推察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

② 貧血確認試験

(参考資料-2)

用量と考えられた。

200mg/kg は溶血性貧血を誘発する