

90日間反復吸入毒性試験 (2-1-11)

1. 目的

本試験は、被験物質を90日間にわたって反復吸入暴露したときに生じる毒性変化及び毒性変化の認められない最高投与量（無毒性量）についての科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

2. 供試動物

- (1) 1種以上の哺乳動物（通常、ラット）を用いる。
- (2) 若齢成獣を用いる。
- (3) 原則として、雌雄の動物を同数用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものをを用いる。

3. 暴露方法

- (1) 適切な性能を有する吸入装置を用いる。暴露中は給餌、給水を行わない。
- (2) 暴露中、流量、被験物質の実際濃度、粒子径分布、温度、湿度等をモニタリングし、一定条件に保つ。
- (3) 粒子径（空気力学的質量中位径）は、1～4 μ m又は実施可能な最小粒子径とする。
- (4) 揮発性物質の場合は、爆発の起こる濃度にならないよう注意する。

4. 暴露期間

1日の暴露時間は少なくとも6時間とし、毎週5日間以上、90日以上暴露する。

5. 動物数及び試験群の設定

(1) 動物数の設定

- ① 1群当たり雌雄各10匹以上とする。
- ② 各群への動物の割り付けは、体重層別等による適切な無作為抽出法により行う。
なお、試験結果の評価を行う上で十分な動物数を確保すること。

(2) 試験群の設定

① 被験物質投与群

- ア 対照群の他に少なくとも3段階の暴露群を設ける。
- イ 用量段階は、被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は多数例の死亡を起こすことなく毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。また、用量設定の根拠を示すこと。

② 対照群

- ア 対照群は、被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一の条件とする。
- イ 被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行うこと。毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

6. 観察及び検査

次の（１）～（５）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

- ① すべての動物について、毎日、死亡の有無及び一般状態（毒性徴候の発現時期やその程度）を観察するとともに、定期的に体重及び摂餌量を測定する。
- ② 体重及び摂餌量の測定の頻度は、通常、投与開始前及び投与開始後少なくとも週１回とする。

（２）血液検査

- ① 少なくとも試験終了時に１回、原則として、すべての動物について行うことが望ましいが、実施上の理由から、各群の一部（少なくとも５匹）の動物に限っても差し支えない。
- ② 検査前に一晩絶食させることが望ましい。
- ③ 通常、次の項目について行うが、そのほか試験ごとに適切な項目を追加選定して行うことが望ましい。なお、検査項目及び検査方法は、国際的に広く採用されているものを考慮に入れて選定する。

ア 血液学的検査

赤血球数、白血球数、血液像（白血球型別百分率）、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値、その他必要に応じて網状赤血球数、凝固能（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）等

イ 血液生化学的検査

血清（血漿）総蛋白、アルブミン、ブドウ糖、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、トランスアミナーゼ〔AST（GOT）、ALT（GPT）〕、 γ -GTP、アルカリフォスファターゼ、電解質（ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン等）等

（３）尿検査

- ① 各群雌雄ごとに一定数の動物（少なくとも５匹）について血液検査と同時期に必要な応じて尿検査を行う。
- ② 検査は、通常、次の項目について行う。
尿量、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣、比重等

（４）眼科学的検査

可能な限りすべての動物（少なくとも高用量群と対照群）について、投与開始前と試験終了時に行う。異常が発見された場合にはすべての動物について行う。

（５）病理学的検査等

① 剖検

ア すべての動物について剖検後、体表、開口部、頭蓋、胸腔及び腹腔並びに内部器官の観察を行う。

イ すべての動物について、次の器官を含む主要な臓器の重量を測定する。

肝臓、腎臓、副腎、精巣

② 器官及び組織の保存

試験終了後も必要に応じて病理組織学的検査を実施できるように、次に掲げる器官及び組織を保存する。

すべての肉眼的病変部、皮膚、脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、胸腺、肺（気管を含む）、鼻咽頭、心臓、胸骨、唾液腺、肝臓（及び胆嚢）、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、生殖腺、子宮及び性器付属器、乳腺、筋肉、食道、胃、

小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、膀胱、リンパ節、末梢神経、脊髄、眼、大動脈

③ 病理組織学的検査

次の動物等を対象として病理組織学的検査を実施する。

ア 対照群及び最高投与群のすべての動物

イ 試験期間中に死亡及び屠殺したすべての動物

ウ すべての動物における肉眼的病変部

エ すべての動物における標的臓器

オ すべての動物における気道、肝臓及び腎臓

なお、その他の投与群の病理組織学的検査は、最高投与群で作用が発現した部位について必ず行う。