

環境省請負業務報告書

農薬吸入毒性評価手法確立調査 (企画・調査業務)

— 報告書 (案) —

平成 22 年 3 月

財団法人残留農薬研究所

目次

1. 本調査の趣旨及び目的 -----	1
2. 基本的事項-----	2
2. 1 試験対象農薬（モデル農薬）の選択 -----	2
2. 2 吸入毒性試験方法の選択及び実施 -----	3
2. 3 吸入毒性試験における無毒性量（NOAEC）の決定-----	6
2. 4 気中濃度評価値の設定方針 -----	6
3. 吸入毒性試験の調査及び実施結果 -----	9
3. 1 フェニトロチオン -----	9
3. 1. 1 構造式、物理化学的性質等の情報 -----	9
3. 1. 2 調査結果 -----	9
3. 1. 3 毒性部会における検討 -----	10
3. 2 トリクロルホン -----	16
3. 2. 1 構造式、物理化学的性質等の情報 -----	16
3. 2. 2 試験結果 -----	16
3. 2. 3 毒性部会における検討 -----	17
3. 3 イソキサチオン -----	28
3. 3. 1 薬剤の用途、構造式、物理化学的性質等の情報 -----	28
3. 3. 2 試験結果 -----	28
3. 3. 3 毒性部会における検討 -----	28
3. 4 毒性試験結果のまとめ -----	32
3. 5 気中濃度評価値の設定 -----	36
4. 農薬の吸入毒性等に係る情報の収集及び文献調査の結果 -----	39
4. 1 欧州食品安全機関（EFSA：European Food Safety Authority） ガイドンスドキュメント翻訳（要約） －圃場労働者，散布作業者，通行者および近隣住民の農薬暴露評価 に関するガイドンス文書－ -----	39
5. 調査業務実施体制-----	41

1. 本調査の趣旨及び目的

環境省では平成 17 年度から、「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」を開始し、街路樹や公園等の市街地において使用される農薬の飛散リスク（人の健康へのリスク）の評価・管理手法について検討している。

適切な飛散リスクの評価・管理手法を確立するためには、暴露量の評価のみならず、毒性評価の結果に基づいたリスク管理を適切に行うことが重要である。

そのため、環境省では、平成 19 年度から平成 21 年度にかけて街路樹や公園等の市街地で使用実績の多い農薬等をモデルとした吸入毒性試験を実施すること等により農薬の吸入毒性評価手法の確立を図ることとした。

本業務では、環境省が実施する吸入毒性試験の試験計画の策定及び試験結果の検証・評価等を行うための、学識経験者からなる「農薬吸入毒性評価手法確立調査部会」（以下、毒性部会）を設置・運営するとともに、農薬の吸入毒性等に係る情報の調査・収集を行った。

本報告書は、これらの毒性試験および調査等を通じて得られたデータ、知見を踏まえ、農薬の吸入によるヒト健康へのリスクを管理するための目安となる気中濃度評価値についてとりまとめたものである。

これらの気中濃度評価値は、上記の「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」事業で策定される「公園・街路樹等病害虫・雑草管理暫定マニュアル」において、農薬散布後の立入制限範囲及び期間を設定する際の科学的根拠として活用される。

2. 基本的事項

2. 1 試験対象農薬（モデル農薬）の選択

モデル農薬を被験物質として吸入毒性試験を実施することにより、農薬吸入毒性評価手法の確立に必要な知見を得るとともに、モデル農薬の毒性評価を行うこととした。

モデル農薬の選定にあたっては、「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」に基づき、街路樹、公園等の市街地における使用実態の多い5農薬（フェニトロチオン、トリクロルホン、イソキサチオン、エトフェンプロックス及びグリホサート）の中から選定することとし、以下の観点を考慮した。

- ①吸入毒性に係る知見が多く、毒性の観点から優先的に評価すべきと考えられるもの
- ②農薬散布後の気中濃度データが入手可能で、かつ比較的高い気中濃度が測定されているもの
- ③吸入毒性試験が技術的に可能なもの

その結果、使用実態の多い5農薬の中で順位1位のフェニトロチオンが選定候補となったが、既存の28日間反復吸入毒性試験報告書によって、気中濃度評価値の検討が可能であると判断されたため、本事業においては試験は実施されないこととなった。

平成19年度は、エトフェンプロックスとトリクロルホンについて適切に暴露するための具体的な方法を検討した（予備試験）。その結果、エトフェンプロックスは高濃度では排気処理フィルター等の目詰まりが生じ、連続暴露試験ができないことが判明したことから、平成20年度にはトリクロルホンの28日間反復吸入毒性試験を実施することとした。

また、「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」の平成20年度のモニタリング調査結果から、エトフェンプロックス及びグリホサートについては気中濃度が低かったことから、平成21年度にはイソキサチオンの28日間反復吸入毒性試験を実施することとした。

2. 2 吸入毒性試験方法の選択及び実施

吸入毒性試験方法の具体案を策定するにあたっては主に以下のような論点が検討された。

○供試動物は、ラットの若齢成獣を用い、系統はウィスター系などの一般的に広く使われ、且つ試験実施機関で背景データを豊富に有するものを用いる。

○暴露方法として全身暴露と鼻部暴露のいずれがよいかについては、吸入による影響だけを評価するか、肢体に付着した農薬の経口摂取等による影響もあわせて評価するかで判断すべきであるが、試験実施機関の吸入装置の保有状況なども考慮して判断する。

○観察及び検査項目は、OECD テストガイドライン 412 に従う他、試験終了後の脳、赤血球及び血漿中のアセチルコリンエステラーゼ活性を測定する。また、アレルギーの指標として試験終了後の血液、脾臓及び胸腺リンパ球のサブセットを測定する。

○観察項目として、アレルギー性の影響が判断できる検査項目について、また経口と吸入での毒性の違いについて検討するのであればトキシコキネティクスの観点から農薬の血中濃度測定について、検査の必要性を検討する。

○尿中の代謝物測定は採尿方法や労力上で難しい点があること、及びコリンエステラーゼ活性の測定で暴露状況が把握できることから今回の試験の中で行う必要はない。

○試験終了後の器官及び組織の保存期間は、湿標本（ホルマリン標本）は3年間、ブロック及びガラススライドは10年間とする。

この結果、ヒト（幼児を含む）の暴露期間や暴露経路を考慮して、28日間吸入毒性試験とし、暴露経路は全身暴露法を採用することとなった。さらに試験計画の骨子が以下の如く決定された。試験方法はOECD テストガイドライン 412 を基本とする事となった。

吸入毒性試験計画

i) 供試動物

- (1) ラットの若齢成獣を用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。
- (2) ラットの系統については、ウィスター系など、広く使われている系統とし、試験実施機関が飼育・管理及び試験の実施に十分な経験を有し、かつ遺伝的情報を含め背景情報を十分に把握している動物を用いるものとする。

ii) 暴露方法

- (1) 平成 19 年度に実施した予備試験の結果を踏まえ、原則として全身暴露型吸入装置を用いることとする。
- (2) 被験物質は原則としてミスト又はダスト状態で暴露させることとし、可能な場合ガス状態でも暴露させることとする。暴露中の吸入装置内温湿度は原則として飼育環境と同様とし、その条件は OECD テストガイドライン 412 ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、30-70%) に従う。
- (3) 暴露中は、流量、被験物質の実際濃度、温度、湿度、粒子径等をモニタリングし、一定条件に保つ。なお、被験物質をガス状態で暴露させる場合は、粒子径分布のモニタリングは実施しない。

iii) 暴露期間

- (1) 亜急性の吸入毒性を評価する観点から、今回の試験では暴露期間は 28 日間とする。
- (2) 1 日の暴露時間は原則 6 時間とし、毎週 5 日間以上、暴露させる。

iv) 動物数及び試験群の設定

(1) 動物数の設定

1 群当たり雌雄各 10 匹以上とし、試験結果の評価を行う上で十分な動物数を確保する。

(2) 試験群の設定

①原則として、ミストまたはダストで 3 段階以上の被験物質投与群並びに対照群を設けることとし、可能であればさらにガスで 1 段階以上の被験物質投与群を設ける。なお、ガスの場合、飼育温度における飽和濃度が無毒性量に満たないと推定される場合には、飽和濃度の 1 段階とする。

②ミストまたはダストによる被験物質投与群の用量段階は、予備試験の結果や文献情報等をもとに、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。

ガスによる被験物質投与群の用量段階もミストまたはダストによるものに準じて設定する。しかしながら、飼育温度における飽和濃度が無毒性量に満たないと推定される場合には、飽和濃度の1段階とする。

③対照群は空気を暴露させることとし、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。

v) 観察及び検査

観察及び検査項目は、OECD テストガイドライン 412 に記述された項目に、以下の項目を追加する。

- ・試験終了後、脳、赤血球及び血漿中におけるアセチルコリンエステラーゼ活性を測定し、対照群に対する低下率を測定する
- ・器官及び組織の保存期間について、ホルマリン標本は試験終了後3年間、ブロック及びガラススライドは10年間とする。
- ・アレルギー性の影響が判断できる検査項目を追加（試験終了時に抹消血、胸腺、脾臓のリンパ球のサブセットを測定）する。

vi) 被験物質

(1) 被験物質は純品とし、純度は原則として98%以上とする。ただし、98%以上の純度の純品が入手困難な場合には、入手可能な純品のうち最も濃度の高いものを用いることとする。また、純品の入手が困難な場合は、農薬として製造された原体を用いることとする。

(2) 被験物質の組成については、分析の上、報告をすることとする。

2. 3 吸入毒性試験における無毒性量（NOAEC）の決定

無毒性量については、OECD テストガイドライン 412 に準拠した本吸入毒性試験計画に基づき実施した 28 日間吸入毒性試験における観察・検査項目（生死及び一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、アセチルコリンエステラーゼ活性、リンパ球サブセット、病理学的検査、血液中の被験物質濃度）のすべてにおいて、毒性学的に有害な影響が認められない最高の暴露量を無毒性量とした（「3. 吸入毒性試験の調査及び実施結果」を参照）。

なお、アセチルコリンエステラーゼ活性阻害の毒性判定基準としては、WHO（JMPR）の基準に基づき、脳（中枢神経系）及び赤血球（末梢神経系の代用項目）のいずれかで、統計学的有意差がつく、かつ、20%以上の阻害があった場合を毒性影響とすることとした。

2. 4 気中濃度評価値の設定方針

2. 4. 1 気中濃度評価値の定義及び算出方法

（1）本事業における定義

気中濃度評価値とは、人の健康を保護する観点から、街路樹や公園などで使用される農薬による人の健康への影響を評価する際の目安として、吸入毒性試験成績を基に適切な安全幅を見込んで設定する。

一般に、気中濃度評価値以下の濃度であれば、人の健康に好ましくない影響が起きることはないと考えられる。気中濃度評価値は、安全と危険との明確な境界を示すものではなく、気中濃度が短時間わずかにこの値を超えることがあっても、直ちに人の健康に影響があるというものではない。

（2）評価値算出方法

ラットに全身暴露又は鼻部暴露条件下、28 日間被験物質を吸入させ（1 日 6 時間、5 日間/週）、無毒性量（NOAEC : No Observed Adverse Effect Concentration）を求める。当該 NOAEC（mg/m³）から以下に示すように、ヒト許容一日経気道暴露量（mg/kg 体重/day）を算出し、ヒトの呼吸量を用いて気中濃度評価値を求める。

（3）評価値設定農薬

フェニトロチオン、トリクロルホン及びイソキサチオン

①ヒト許容一日経気道暴露量（ADAEL : Acceptable Daily Airway Exposure Level）（mg/kg 体重/day）の算出

2007 年 11 月に公表された「一般用医薬品及び医薬部外品としての殺虫剤の室内使用時のリスク評価ガイドライン（案）」（以下、「殺虫剤ガイドライン（案）」という。）¹⁾及びラットの呼吸量 0.2 L/min²⁾を用いた、暴露濃度から暴露量への変換式

¹⁾ 一般用医薬品及び医薬部外品としての殺虫剤の室内使用時のリスク評価方法ガイドライン（案）（厚生労働省意見募集案件（2007））

²⁾ 1-メチルシクロプロペン農薬評価書：食品安全委員会（2009）

(mg/m³→mg/kg 体重/day) を以下に示す；

$$\begin{aligned} & \text{ラットの経気道暴露量 (mg/kg 体重/day)} \\ &= \text{経気道暴露濃度 (mg/m}^3\text{)} \\ & \quad \times 0.2 \text{ L/min}^2 \times 1/1000 \text{ (m}^3\text{/L)} \quad \leftarrow 1 \text{ 分間の呼吸量} \\ & \quad \times 60 \text{ min} \times \text{暴露時間/day} \quad \leftarrow 1 \text{ 日の暴露時間} \\ & \quad \times 1/\text{ラットの平均体重 (kg 体重)} \quad \leftarrow \text{体重あたりに換算} \end{aligned}$$

上式を用いて経気道暴露における NOAEC から ADAEL を求める；

$$\begin{aligned} & \text{ヒト許容一日経気道暴露量 (ADAEL, mg/kg 体重/day)} \\ &= \text{吸入毒性試験で得られた NOAEC (mg/m}^3\text{)} \\ & \text{呼吸量換算} \rightarrow \quad \times 0.2 \text{ L/min} \times 1/1000 \text{ (m}^3\text{/L)} \\ & \text{暴露時間換算} \left\{ \begin{array}{l} \times 60 \text{ min} \times 6 \text{ h/day (1 日 6 時間暴露試験なので)} \\ \times 5 \text{ day/7 day (1 週間 5 日暴露試験なので)} \end{array} \right. \\ & \text{体重換算} \rightarrow \quad \times 1/\text{吸入毒性試験で得られたラットの平均体重 (kg 体重)} \\ & \quad \times 1/100 \text{ (不確実係数)} \\ &= \text{NOAEC} \times 0.2 \times 1/1000 \times 60 \times 6 \times 5/7 \times 1/\text{平均体重} \times 1/100 \\ &= \text{NOAEC} \times 1/\text{平均体重} \times 1/1944 \end{aligned}$$

注) 上式より雌雄の体重に基づいて計算した ADAEL のうち、より小さい値を気中濃度評価値の算出に使用する。

②ADAEL から気中濃度評価値 (mg/m³) の算出

殺虫剤ガイドライン (案)¹⁾における以下の経気道暴露量算出式を用い、気中濃度評価値を求める。

$$\begin{aligned} \text{ADAEL (mg/kg 体重/day)} &= \text{気中濃度評価値 (mg/m}^3\text{)} \\ & \quad \times \text{呼吸量}^* \text{ (L/min/kg 体重)} \times 1/1000 \text{ (m}^3\text{/L)} \\ & \quad \times 60 \text{ min} \times 24 \text{ h/day (24 時間吸入するとして)} \end{aligned}$$

上式を変換し、

$$\begin{aligned} \text{気中濃度評価値 (mg/m}^3\text{)} &= \text{ADAEL (mg/kg 体重/day)} \\ & \quad / \{ \text{呼吸量}^* \text{ (L/min/kg 体重)} \times 1/1000 \text{ (m}^3\text{/L)} \\ & \quad \times 60 \text{ min} \times 24 \text{ h/day} \} \end{aligned}$$

¹⁾ 一般用医薬品及び医薬部外品としての殺虫剤の室内使用時のリスク評価方法ガイドライン (案) (厚生労働省意見募集案件 (2007))

²⁾ 1-メチルシクロプロペン農薬評価書：食品安全委員会 (2009)

※ 呼吸量：

成人の平均呼吸量は 0.200 L/min/kg 体重と仮定する。

←殺虫剤ガイドライン（案）¹⁾と同じシナリオ（1日の平常の活動状況を休息 16 h/day（休息時の呼吸量 8 L/min³⁾）、軽作業 8 h/day（軽作業時の呼吸量 16 L/min⁴⁾）とし、成人の平均体重 53.3 kg 体重を用いて 0.200 L/min/kg 体重が算出される。

※ 呼吸量：小児の平均呼吸量は 0.403 L/min/kg 体重と仮定する。

←小児の 1 日当たりの呼吸量 8.7 m³/day⁵⁾ 及び小児の平均体重 15 kg 体重⁵⁾ から 0.403 L/min/kg 体重が算出される。

2. 4. 2 確認された事項および考慮すべき事柄

- (1) 農薬の一日摂取許容量 (ADI) との関係：市街地および公園等における農薬散布は短期間であり、その健康影響は亜急性的なものと考えられることから、慢性的な健康影響を評価した ADI^{*}とは性質を異にすると考えられる。従って、気中濃度評価値の設定において、例えば、水質汚濁に係る登録保留基準値を設定する場合のように ADI の配分を予め設定する手法は、必ずしも妥当ではないと考えられる。

※ ADI とは、人が生涯にわたって当該農薬を摂取したとしても安全性に問題がないと認められる 1 日当たりの農薬摂取量のこと。

- (2) 試験期間による安全係数の追加：動物試験の試験期間の長さによる追加安全係数については市街地および公園等における農薬散布が短期間であることから、考慮の必要性はないと考えられる。

- (3) 妊婦等の感受性：動物を用いた毒性試験（催奇形性試験又は繁殖毒性試験）において妊娠動物あるいは胎児への明らかな毒性影響が認められている場合には、妊婦あるいは胎児に対する影響を考慮して気中濃度評価値にさらに安全係数を乗ずることを検討する必要があるため、試験結果を踏まえて被験対象農薬毎に検討することとした（検討結果は「3. 吸入毒性試験の調査及び実施結果」を参照）。

- (4) 小児の感受性：さらに、小児の感受性を考慮し、個々の剤の毒性試験結果において児動物に対する明らかな影響が認められる場合には、さらに安全係数を乗ずることを検討する必要があるため、試験結果を踏まえて被験対象農薬毎に検討することとした（検討結果は「3. 吸入毒性試験の調査及び実施結果」を参照）。

¹⁾ 一般用医薬品及び医薬部外品としての殺虫剤の室内使用時のリスク評価方法ガイドライン（案）（厚生労働省意見募集案件（2007））

³⁾ 新生理学〈形態と機能〉：151（1984）

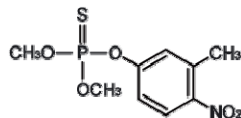
⁴⁾ 許容濃度暫定値（1981）の提案理由：日本産業衛生学学会・許容濃度に関する委員会，産業医学，23，577(1981)

⁵⁾ EPA "Standard Operating Procedures (SOPs) for Residential Exposure Assessments—INHALATION OF RESIDUES FROM INDOOR TREATMENTS" (1997)

3. 吸入毒性試験の調査及び実施結果

3. 1 フェニトロチオン

3. 1. 1 構造式、物理化学的性質等の情報



分子量：277.2
融点：0.3℃* 沸点：140-145℃で分解*
蒸気圧：1.57×10⁻³Pa (25℃)

3. 1. 2 調査結果

フェニトロチオンの安全性評価の一環として、雌雄 SD 系ラット（6 週齢）に 4 週間反復吸入曝露し、その亜急性毒性を検討した。ミストエアロゾルとしての気中濃度を 2、4 および 8 mg/m³ に設定し、被験物質を 1 日 6 時間、週 5 日間の鼻部曝露した。死亡の確認、一般症状観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、コリンエステラーゼ活性、臓器重量、剖検および病理組織学的検査を実施した。各設定濃度に対する実測気中濃度（化学分析）は、2.0、3.8 および 7.4 mg/m³ であった。ミストエアロゾルの空気力学的中位径（MMAD）は、溶媒対照群、2 mg/m³ 群、4 mg/m³ 群および 8 mg/m³ 群でそれぞれ 2.67、2.25、3.04 および 2.20 μm、幾何学標準偏差（GSD）はそれぞれ 2.14、2.10、2.09 および 2.29 であった。試験結果は以下の通りであった。

1. 死亡は認められず、一般症状観察、体重、摂餌量、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、剖検および病理組織学的検査においても投与に関連する影響は認められなかった。

2. フェニトロチオンは有機リン系殺虫剤であり、コリンエステラーゼ活性を抑制すると広く認識されている。本試験においては、以下のコリンエステラーゼの変動が認められた：8 mg/m³ の雄（対照群の値の 81%）、4 mg/m³ の雌（同 56%）および 8 mg/m³ の雌（同 29%）における血漿コリンエステラーゼ活性の低下、4 mg/m³ の雄（同 93%）、8 mg/m³ の雄（同 88%）および 8 mg/m³ の雌（同 68%）における脳コリンエステラーゼ活性の低下、および 8 mg/m³ の雄（同 74%）および 8 mg/m³ の雌（同 49%）における赤血球コリンエステラーゼ活性の低下。JMPR の基準に従うと、血漿コリンエステラーゼ活性の変動および対照群の 80% までの脳および赤血球のコリンエステラーゼ活性阻害には毒性学的意義はないと解釈されている。よって、本試験では、雌雄における血漿コリンエステラーゼの低下および 4 mg/m³ の雄における脳コリンエステラーゼの低下についての毒性学的意義は乏しいと考えられた。

以上、フェニトロチオンを雌雄の SD ラットに 0、2、4 および 8 mg/m³ の曝露濃度により 1 日 6 時間、週 5 日の頻度で 4 週間反復して曝露し、亜急性毒性を評価した。毒性学的に意義のある影響は、8 mg/m³ 群の雌雄に認められた脳および赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害のみであった。従って、本試験条件下における無毒性量（NOAEL）は雌雄とも 4 mg/m³（実測気中濃度平均値：3.8 mg/m³）と考えられた。

* 国際化学物質安全性計画 環境保健クライテリア (<http://www.inchem.org/pages/ehc.html>)

3. 1. 3 毒性部会における検討

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた 28 日間反復吸入毒性試験（試験条件：1 日 6 時間、1 週 5 日間の鼻部暴露。暴露濃度：0、2、4 及び 8 mg/m³。観察・検査項目：一般状態、体重、摂餌量、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、赤血球・血漿及び脳のコリンエステラーゼ活性、病理学的検査。2003 年。）において、8 mg/m³ 群の雌で脳コリンエステラーゼ活性に統計学的に有意で、かつ 20%以上の阻害及び 8 mg/m³ 群の雌雄で赤血球コリンエステラーゼ活性に統計学的有意で、かつ 20%以上の阻害が認められたことから、無毒性量を雌雄ともに 4 mg/m³ とした。

なお、文献調査において妊娠動物や児動物への毒性影響は認められなかった（別紙 1 参照）。

技術情報

フェニトロチオンの毒性試験の概要

住友化学工業株式会社農業化学品管理室

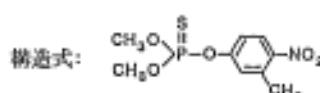
(昭和63年2月20日受理)

薬剤の概要

フェニトロチオン (スミチオン®) は有機リン系の殺虫剤である。その殺虫スペクトルは広く、国内外で稲、果樹、野菜、茶など広範囲にわたる農業分野の主要害虫および森林害虫に対して、また防疫用の殺虫剤として、カ、ハエ、ゴキブリなどの衛生害虫に対して、その確かな効果と汎用性のゆえに多く使用されている。スミチオンの主な物理化学的性質は次のとおりである。

一般名: フェニトロチオン fenitrothion

化学名: O, O-dimethyl O-(3-methyl-4-nitrophenyl)-thiophosphate



分子量: 277.23

性状: わずかに特有の臭いをもつ黄褐色油状液体

比重 (d_4^{20}): 1.333

融点: 0.3°C (結晶)

蒸気圧: 1.37×10^{-4} mmHg (20°C)

溶解性: アルコール、エーテル、芳香族炭化水素に易溶。水に対する溶解性は低い (14 ppm, 30°C)。

安定性: 弱酸には安定。アルカリ条件下では比較的不安定で *p*-nitro-*m*-cresol を生ずる。光に対しては比較的安定であるが、紫外線により徐々に分解する。

代謝

スミチオンを ^{14}C もしくは ^{32}P で標識してラット、マウス、イヌ、ウサギ、モルモットに経口投与すると、スミチオンの代謝・分解はきわめて速やかに起こり、72~96時間後には投与した放射能の事実上すべてが、尿、糞へ排泄され、さらに長期間の投与によっても体内での化合物の貯留は認められない。スミチオンを経口投与した動物の尿、糞中には主として O-メチル基の脱離によ

て生成した脱メチル体やフェノキシ基とリンとの結合が開裂した *p*-nitro-*m*-cresol やその誘導体およびそれらの抱合体が存在しており、スミチオンはほとんど検出されない。スミチオンは体内で酸化されてコリンエステラーゼ阻害作用を持つスミオキシソンに変わるが、スミオキシソンはスミチオンよりもさらに速やかに代謝・分解されることが知られている。反芻動物やウサギの消化管ではスミチオン分子中のニトロ基が還元されてアミノスミチオンが生ずる (住友化学 1969 年, 1976 年, 1978 年)¹⁻³⁾。

急性毒性試験

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)			
ラット	経口	330(雄) 800(雌)	住友化学	1972	
	経皮	890(雄) 1200(雌)	〃	〃	
	皮下	840(雄) 1300(雌)	〃	〃	
	腹腔内	148(雄) 461(雌)	〃	〃	
	吸入*	雄雌とも >2210	〃	1986	
マウス	経口	1030(雄) 1040(雌)	〃	1972	
	経皮	雄雌とも >2500	〃	〃	
	皮下	1350(雄) 1530(雌)	〃	〃	
	腹腔内	464(雄) 530(雌)	〃	〃	

* LC₅₀ (mg/m³, 4時間曝露)

スミチオンによる中毒は神経系のアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害に基づくアセチルコリンの過剰な蓄積に起因する。高用量のスミチオン投与により、AChE 阻害に基づく縮瞳、流涎、筋線維性収縮、振戦、間代性痙攣、呼吸困難などが観察されるが、数日以内に消失する。

刺激性およびアレルギー性試験

1. 刺激性試験

スミチオン原体 0.1 ml を 6 匹の New Zealand White 系ウサギに点眼すると、1時間後にごく軽度の結膜の充血を認めたが 24 時間後には回復していた。角膜や虹彩

には変化はなかった。点眼30秒後に洗眼した3匹の群では何ら刺激反応は認められなかった(住友化学1981年)。

スミチオン原体0.5mlを6匹のNew Zealand White系ウサギの背部の皮膚に24時間接触させたが、紅斑や浮腫などの反応は認められず皮膚刺激性はないと判定された(住友化学1981年)。

2. 皮膚感作性試験

スミチオンの1%, 5% コーンオイル液を各群6匹よりなるHartley系雄モルモットに0.1mlずつ隔日に10回皮内注射し、14日後に同濃度のコーンオイル液を皮内注射あるいはアセトン液を皮膚に塗布して誘発したが、いずれの場合も何ら皮膚反応は認められなかった。一方、陽性対照として用いた2,4-dinitrobenzeneでは充血、腫隆などの明らかな皮膚反応が認められた(住友化学1972年)。

3. 全身アナフィラキシー性試験

雌雄各15匹/群のHartley系モルモットを、225および688mg/m³の気中濃度のスミチオン原体に、1日2時間、連続7日間吸入曝露した。最終曝露の1週間後に再び同じ気中濃度にて吸入させ誘発したが、何ら異常な症状は認められなかった。一方、陽性対照として用いた細菌由来のα-アミラーゼでは呼吸困難、虚脱などの症状を示し全例が死亡した(住友化学1977年)。

遅延性神経毒性試験

急性試験においては500mg/kg(雄成鶏の急性経口LD₅₀値)のスミチオンを16羽/群の雄成鶏に3週間隔隔で2回経口投与し、投与直後にみられる中毒症状をatropineとpyridine-2-aldoxime methiodideで寛解させつつ試験した。陽性対照としてtri-O-cresyl phosphate(TOCP)を用いた。重急性試験では急性経口LD₅₀値の1/15量の33.4mg/kg/dayおよび1/30量の16.7mg/kg/dayのスミチオンを8羽/群の雄成鶏に連続4週間経口投与した。いずれの試験においてもスミチオン投与群で脚部麻痺などの不可逆的な遅延性神経毒性症状は認められず、坐骨神経、脊髄および脳のHematoxylin-Eosin染色、Luxol fast blue染色による病理組織学的検査においても異常は認められなかった。一方、TOCPを1回投与した鶏は投与10~14日後に著明な脚部麻痺症状を示して起立不能となり、病理組織学的にも坐骨神経および脊髄の変性、脱髄現象を認めた(住友化学1975年⁴⁾, 1977年)。

神経系にはneurotoxic esterase(NTE)と呼ばれる酵素が存在し、この酵素活性を75%以上阻害する化合物

は遅延性神経毒性を示すとされている。500mg/kgのスミチオンを雄成鶏に経口投与すると、2日後の脳のAchEは78%阻害されるが、NTEの阻害度は8%と比べて小さかった。一方、500mg/kgのTOCP投与によるAchE阻害度は14%と小さかったが、NTEは97%が阻害された(住友化学1979年)⁴⁾。

変異原性試験

1. 遺伝子突然変異性試験

1) Ames試験

*Salmonella typhimurium*のTA1535, TA100, TA1537, TA1538, TA98の各株および大腸菌*Escherichia coli*のWP2 *hcr*株を用い、PCBで誘導したラット肝薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下もしくは非存在下に濃度10~5000μg/plateでスミチオンが惹起する各菌株の復帰変異体数を調べた。その結果、スミチオンはS-9 Mixの存在の有無にかかわらずTA100以外の菌株では復帰変異体数を増加させず、突然変異性を示さなかった。TA100株においては、とくにS-9 Mixの存在下でわずかな復帰変異体数の増加(約140 revertants/μmol)が認められた(住友化学1983年)。この増加はスミチオン分子のニトロ基がTA100株バクテリアのnitroreductaseによって還元され、その結果生ずる代謝産物に起因する可能性が考えられたので、以下の実験を行なった。Nitroreductase活性を欠き、かつ種々の既知変異原物質に対して感受性を示すTA100株の変異株を作成し、この変異株を用いてスミチオンの突然変異性を調べると、S-9 Mix存在の有無にかかわらず陰性であった。このことからTA100株で観察された復帰変異体数の増加はTA100株が持つnitroreductaseに起因すると考えられた(住友化学1983年)。

2) 哺乳動物培養細胞

チャイニーズ・ハムスター肺由来の培養細胞(V79)を用い、6-thioguanine耐性細胞の出現率を指標として濃度10⁻⁶~3×10⁻⁴Mでスミチオンが示す遺伝子突然変異性を調べたところ、S-9 Mix存在の有無にかかわらず陰性であった(住友化学1986年)。

2. 染色体異常誘発性試験

1) In vivo 染色体異常試験

6匹/群のICR系雄マウスに200, 400, 800mg/kgのスミチオンを腹腔内投与し6, 24, 48時間後に、6匹/群のSD系雄ラットに100, 400, 800mg/kgのスミチオンを経口投与し6, 24, 48時間後に、さらに、20, 40, 80mg/kg/dayのスミチオンを連続5日間、SD系雄ラットに経口投与し最終投与から6時間後に、それぞれ骨髓

塗抹標本を作製し染色体異常出現頻度を調べたが、いずれの場合にも溶媒対照群と比べ有意な染色体異常の増加は認められなかった（住友化学 1982年）。

2) 小核試験

200, 400, 800 mg/kg のスミチオンを6匹/群の ICR 系雄マウスに腹腔内投与し、24時間後に骨髄塗抹標本を作製し精査した。その結果、スミチオンには小核誘発能は認められなかった（住友化学 1982年）。

3) 優性致死試験

スミチオンを ICR 系マウス (12匹) に 20, 200 mg/kg/day の用量で、また、SD 系雄ラット (12匹) に 2, 7, 20 mg/kg/day の用量で連続5日間、経口投与した。その後8週間にわたって成熟した雄と1:3 (マウス) または1:2 (ラット) の割合で交配させた。その結果、いずれの群においても妊娠率、黄体数、早期・後期死胎数、優性致死率は対照群と同等であり、スミチオンには優性致死作用は認められなかった（住友化学 1975年）。

3. DNA 損傷性

1) Rec-assay

Bacillus subtilis の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、濃度 0.26~26 mg/disk でスミチオンが示す DNA 損傷性を、rec-assay 法で検討した。その結果、いずれの濃度においても両菌株に生育阻害帯は認められなかった（(財)残留農薬研究所 1983年）。

2) 姉妹染色分体交換試験

ICR 系マウスの胎仔腹部より得た細胞を 10^{-6} ~ 10^{-4} M のスミチオンで S-9 Mix 存在下あるいは非存在下で3時間処理し、以後染色して姉妹染色分体交換の出現頻度を調べた。その結果、スミチオンはこの頻度を上昇させなかった（住友化学 1980年）。

催奇形性試験

各群 20~24 匹の SD 系妊娠ラットに 3, 8 および 25 mg/kg のスミチオンを妊娠6日から15日まで毎日経口投与し、妊娠20日目に胎仔の外形、内臓および骨格異常を検査した。その結果、スミチオン投与のいずれの群においても着床率、胚仔死亡率、性比および胎仔体重などのパラメーターは対照群と同等で、外形、内臓および骨格の異常の種類と出現率にも差はなかった。なお、25 mg/kg のスミチオンを投与した母鼠では振戦や粗毛などの中毒症状を示し、体重増加量が抑制された。（Hazleton Laboratories 1987年）。

各群 13~16 匹の New Zealand White 系妊娠ウサギにスミチオンを 3, 10 および 30 mg/kg の用量で妊娠7日から19日まで毎日経口投与した。妊娠29日目に胎仔の

外形、内臓および骨格の異常を検査した。その結果、スミチオン投与のいずれの群においても着床率、胚仔死亡率、性比および胎仔体重などのパラメーターに異常はなく、また胎仔の外形、内臓および骨格異常の種類と出現率は対照群と同等であった。なお、30 mg/kg 投与群の母鼠に体重増加の抑制および流産、呼吸困難、振戦などの中毒症状が認められた（Hazleton Laboratories 1987年）。

以上のようにラットとウサギを用いた試験で、スミチオンの母鼠に対する毒性が明らかに認められる用量においても催奇形性、胚仔致死作用および胎仔の発育抑制作用は認められなかった。

繁殖性試験

SD 系ラットの雌雄に 10, 30 および 100 ppm のスミチオンを含む飼料を摂取させ、3世代の繁殖性試験を行った。各世代ごとに2回の交配を行ない、第2回目の交配より得た仔動物の一部を次世代の親動物として用いた (F_{1A} を得るための P_0 では各群とも雄15匹と雌30匹を用い、それ以後の P_0 , P_1 , P_2 では雄10匹と雌20匹を用いた。また F_{1A} を得る場合のみ、スミチオンの最高投与量は 150 ppm とした)。 P_0 , P_1 , P_2 については死亡率、体重、摂食量、外観、挙動を記録するほか、妊娠率、分娩率を調べ、 F_{1A} ~ F_{3A} については出生数、24時間後の生存率、離乳時の生存率（哺育率）、体重（生後24時間および離乳時）を調べた。また F_{1A} ~ F_{3A} の約1/3, F_{2B} の約1/2 については離乳時に剖検するとともに最高用量群と対照群の雌雄各5匹については病理組織学的検査を行なった。その結果、 P_0 と P_1 では最高用量群に体重の増加抑制傾向が認められたが、外観、挙動に異常はなかった。また、妊娠率、分娩率、仔の数、24時間後の仔の生存率、仔の外観などには各世代を通じてスミチオン投与による影響は認められなかった。しかし、哺育率は最高用量群で全世代 (F_{1A} ~ F_{3A}) を通じて有意に低く、また離乳時の体重が最高用量群の雄 (F_{1A} , F_{2B} , F_{3A}) と雌 (F_{1A} , F_{2A}) において有意に低く、 F_{2B} の雄と雌においても低い傾向が認められた。一方、離乳仔の剖検および F_{3B} の最高用量群の主要な17種類の臓器・組織の病理組織学的検査においてはスミチオン投与に起因する変化は認められなかった。以上の結果から、スミチオンは親世代の体重増加が抑制される 100 ppm もしくは 150 ppm の濃度では次世代に若干の影響を与えるが、30 ppm 以下では次世代に影響を及ぼさないと結論された（Hazleton Laboratories 1974年）。

亜急性毒性試験

1. 吸 入

各群 10~12 匹/性の ICR 系マウスおよび SD 系ラットにスミチオンのミストを 2, 7, 15, 62 mg/m³ の気中濃度で 1 日 2 時間, 週 6 日間, 4 週間曝露した。62 mg/m³ 群の雌雄のラットにのみ軽度の流涎と尿失禁が認められ, 15 mg/m³ 以上においては血漿, 血球および脳のコリンエステラーゼ (chE) の阻害が認められたが, 体重, 血液学, 血液生化学および病理組織学の各検査では異常は認められなかった。chE 阻害を指標として無影響量は 7 mg/m³ と考えられた (住友化学 1975 年)。

2. 経 皮

5 匹/性群の New Zealand White 系ウサギの背部皮膚に 10, 50, 250, 500 mg/kg のスミチオンを 1 日 6 時間, 連続 21 日間接触させた。500 mg/kg 群に嗜眠, 軟便, 下痢などの中毒症状, 投与後 5 日目以降からの死亡が認められたが, 皮膚反応, 体重, 摂餌量, 血液学的検査, 血液生化学的検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においてはスミチオン投与に起因する変化はなかった。血漿, 血球, 脳 chE 阻害を指標として無影響量は 50 mg/kg/day と判断された (Huntingdon Research Centre 1987 年)。

3. 経 口

各群雌雄 15 匹の Wistar 系ラットに 10, 30, 150 ppm のスミチオンを含む飼料を 6 か月間与えた。150 ppm のスミチオンを投与した直後に摂食量の減少に伴う一過性の体重増加抑制が認められた。一般症状, 摂餌量, 摂水量, 血液学的検査, 血液生化学的検査, 尿検査, 臓器重量, 病理組織学的検査においてはいずれの群にも化合物投与による変化は認められなかった。スミチオン投与により血漿 (全群), 血球 (30 ppm 以上) および脳 (30 ppm 以上) の chE が阻害されていた (住友化学 1975 年)⁴⁾。

慢性毒性試験

1. ラ ッ ト

SD 系ラットを用いたスミチオンの繁殖試験で得た F_{1A} (50~60 匹/性/群) に 10, 30, 100 ppm のスミチオンを含む飼料を 2 年間にわたって摂食させ, 慢性毒性と発癌性を調べた。一部の動物 (10 匹/性/群) は摂食開始 1 年後に中間検査を行なった。雄の 30 および 100 ppm 投与群に摂餌量の有意な低下と雄の 100 ppm 投与群に有意な体重増加抑制がともに最初の 52 週間において認められたが, 以後, 投与終了時まで対照群とは同等であった。死亡率, 一般症状, 13, 26, 52, 104 週に行なっ

た血液学的検査, 血液生化学的検査および尿検査, 81, 104 週に行なった眼科学的検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においては, スミチオン投与に起因する変化は認められず, また発癌性も認められなかった。一方, 0, 2, 4, 8, 13, 26, 92, 104 週で測定した血液 chE 活性ならびに 52, 104 週で測定した脳 chE 活性はスミチオン投与に相関して阻害が認められた。血漿 chE では全群に, 血球と脳の chE では 100 ppm 群にのみ阻害が認められた (Hasleton Laboratories 1974 年)。

スミチオンの chE 活性への影響を調べる目的で, 各群 15 匹/性/群の Wistar 系ラットに 2.5, 5, 10 ppm のスミチオンを含む飼料を 92 週間にわたって摂食させ, 投与開始後 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 42, 68, 92 週に血液の chE 活性を測定した。脳 chE 活性は 92 週に測定した。血漿 chE は 5 ppm 群で初期にごくわずかに阻害されたが, 以後回復した。10 ppm 群では明瞭な阻害が認められた。血球と脳の chE には, いずれの群でも阻害は認められなかった (住友化学 1975 年)⁶⁾。

2. マ ウ ス

各群雌雄それぞれ 50 匹の ICR 系マウスに 30, 100, 200 ppm (投与開始後 2 週間はそれぞれ 0, 30, 100 ppm) のスミチオンを含む飼料を 78 週間にわたって摂食させ, 発癌性を調べた。一般症状, 死亡率, 体重, 28 週および試験終了時に行なった眼科学的検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においては, スミチオン投与に関連する変化は見いだされず, 発癌性はないと結論された (Hasleton Laboratories 1975 年)。

3. イ ス

6 匹/性/群のビーグル犬に 5, 10, 50 ppm のスミチオンを含む飼料を 1 年間にわたって摂食させた。外観, 挙動, 死亡率, 体重, 摂餌量, 3, 6, 12 か月経過時に実施した眼科学的検査, 4, 8, 13, 17, 21, 26, 39, 52 週経過時に実施した血液学的検査, 血液生化学的検査および尿検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においてはスミチオン投与に関連した変化は認められなかった。一方, 4, 8, 13, 17, 21, 26, 39, 52 週経過時に実施した血液の chE 活性測定および試験終了時に実施した脳 chE 活性測定においては, 50 ppm 投与群の血漿 chE のみがスミチオンにより阻害されていた (International Research and Development Inc. 1986 年)。

各群雌雄それぞれ 6 匹のビーグル犬に 30, 100, 200 ppm のスミチオンを含む飼料を 2 年間にわたって摂食させた。200 ppm 投与群の 1 匹の雌に体重増加抑制が認められたのみで, 一般症状, 死亡率, 体重, 0, 3, 6, 9, 12, 24 か月経過時に行なった血液学的検査, 血液生

化学的検査および尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査においてはスミチオン投与に関連する変化は認められなかった。一方、6, 12, 15, 18, 24か月経過時に測定した血液のchEおよび試験終了時に測定した脳chEにはスミチオン投与に関連した阻害が認められた。血漿chEではすべての投与群で、血球chEでは100 ppm以上の投与群で、脳chEでは200 ppm投与群で阻害がみられた (Industrial BIO-TEST Laboratories 1974年)。

要 約

スミチオンは哺乳動物の体内で速やかに代謝・分解され、容易に体外へ排泄される。スミチオンの急性毒性は比較的弱く、眼と皮膚に対する一次刺激性はそれぞれごく軽度および陰性であった。皮膚感作性や全身アナフィラキシー性は認められない。スミチオンには遅延性神経毒性は認められず、変異原性や催奇形性もない。繁殖性にもとくに問題はない。経口、経皮ならびに吸入曝露による亜急性毒性試験、およびラット、マウスならびにイスを用いた慢性毒性試験においても、chE阻害以外には、スミチオンによる影響は認められず、発癌性も認められない。

以上のようにスミチオンの長期投与の影響はchE阻害のみと考えられる。阻害は血漿chEに比較的強く認められたが、血漿chEは神経系のアセチルコリン伝達には何ら役割を果たしていないことが知られており、血漿chE阻害は化合物被曝の指標となりえても、毒性学的意味はないとされている。一方、血球chE活性は神経系のAChE活性を反映していることから血球chE阻害を有機リン化合物のような抗chE剤の毒性の指標にすべきであるとされている⁷⁾ (スミチオンについても、中毒症状発現は血漿chEではなくAChE阻害と相関していることが知られている¹²⁾。この観点から、NOEL (No-Observed-Adverse-Effect-Level) の概念が導入された⁸⁾。

したがって、スミチオンの慢性毒性試験におけるNOELはラットについては10 ppm (0.5 mg/kg/day 相当量)、イスについては30 ppm (0.75 mg/kg/day 相当量) と考えられる。

スミチオンは昭和36年12月に稲のメイチュウ等に登録を取得して以来、広範囲の作物および害虫に適用が拡大された。スミチオンの残留基準値は玄米、豆類、果実、野菜および茶に対して、いずれも0.2 ppmが設定されている。

スミチオンは代表的な殺虫剤の一つであり、その安全性、汎用性のゆえに農業および防疫用資材として不可欠な薬剤の一つとなっている。

問合せ

住友化学工業株式会社農業化学品管理室

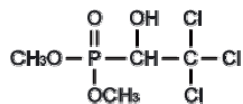
〒103 東京都中央区日本橋2-7-9 住友日本橋ビル

引用文献

- 1) J. Miyamoto: "Residue Reviews," ed. by F. A. Gunther, Vol. 25, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York, pp. 251-264, 1969
- 2) J. Miyamoto, K. Mihara & S. Hosokawa: *J. Pesticide Sci.* 1, 9 (1976)
- 3) Y. Okuno, Y. Misaki & J. Miyamoto: *J. Pesticide Sci.* 3, 233 (1978)
- 4) Y. Okuno & J. Miyamoto: 防虫科学 40, 49 (1975)
- 5) H. Ohshita & J. Miyamoto: *Biochem. Pharmacol.* 29, 2721 (1980)
- 6) H. Kohda & J. Miyamoto: 防虫科学 40, 38 (1975)
- 7) FAO/WHO: "Pesticide Residues in Food—1982," FAO Plant Production and Protection Paper 46, p. 6, 1983
- 8) FAO/WHO: "Pesticide Residues in Food—1986," FAO Plant Production and Protection Paper 77, p. 2, 1987

3. 2 トリクロロホン

3. 2. 1 構造式、物理化学的性質等の情報



分子量：257.4
融点：83-84℃* 沸点：100℃*
蒸気圧：2.1×10⁻⁴Pa (20℃)

3. 2. 2 試験結果

街路樹や公園等の市街地における使用実績が多いトリクロロホンをラットに 28 日間全身暴露（経気道投与）して、その生体影響を検索した。

本試験は、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、各群雌雄とも 10 匹とし、合計 80 匹を用いた。被験物質の投与は、トリクロロホン水溶液のミストを 1 日 6 時間、1 週 5 日間で 28 日間（4 週間）、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度は、雌雄とも 0（対照群）、10、30、100 mg/m³ とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、アセチルコリンエステラーゼ活性の測定、リンパ球サブセットの測定、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査及び血液中のトリクロロホン濃度（主要代謝物を含む）の測定を行った。

投与群（10 mg/m³ 群、30 mg/m³ 群、100 mg/m³ 群）の吸入チャンバー内トリクロロホン濃度の実測値は、10.0、30.2、101.0 mg/m³、ミスト粒子の空気力学的質量中位径（MMAD）と幾何標準偏差 σ_g は、1.8～2.8 μm 、1.9～2.1 であった。

トリクロロホンの暴露の結果、動物の死亡はみられず、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、リンパ球サブセットの測定、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査では、トリクロロホンの毒性影響と思われる変化はみられなかった。

赤血球、血漿中及び脳のアセチルコリンエステラーゼ活性の測定では、統計学的に有意な活性の低下が、雄では血漿で全投与群、脳と赤血球で 30 mg/m³ 以上の群に、雌では脳と血漿で 30 mg/m³ 以上の群にみられた。これらのうち、雄の 100 mg/m³ 群の赤血球アセチルコリンエステラーゼ活性では、統計学的に有意で、かつ 20%以上の阻害（25%の活性低下）がみられた。この変化を WHO のガイドラインで示された毒性影響と考え、本試験におけるトリクロロホンのラットに対する 4 週間吸入暴露による無毒性量（NOAEL）は、赤血球のアセチルコリンエステラーゼ活性への影響をエンドポイントとして 30 mg/m³ であると判断した。

血漿中のトリクロロホンは雄の 30 mg/m³ 以上の群、雌の全投与群から検出され、検出された動物数は雌の方が多かった。また、100 mg/m³ 群では雌雄とも全動物からトリクロロホンが検出されたが、検出濃度は雌の方が高値であった。主要代謝物である 2,2-ジクロロビニルジメチルホスフェイト（DDVP）は雌雄ともいずれの投与群からも検出されなかった。

* 国際化学物質安全性計画 環境保健クライテリア (<http://www.inchem.org/pages/ehc.html>)

3. 2. 3 毒性部会における検討

本毒性部会において計画され、結果が検討された中央労働災害防止協会日本バイオアッセイ研究センターによる SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた 28 日間反復吸入毒性試験（試験条件：1 日 6 時間、1 週 5 日間の全身暴露。暴露濃度：0、10、30 及び 100 mg/m³。観察・検査項目：生死及び一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、赤血球・血漿及び脳のアセチルコリンエステラーゼ活性、血液・胸腺及び脾臓のリンパ球サブセット、病理学的検査、血液中の被験物質濃度。2009 年。）において、100 mg/m³ 群の雄で赤血球コリンエステラーゼ活性に統計学的に有意で、かつ 20%以上の阻害が認められたことから、無毒性量を雄で 30 mg/m³、雌で 100 mg/m³とした。

なお、文献調査において妊娠動物や児動物への毒性影響は認められなかった（別紙 2 参照）。