

平成19年度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)

注

本報告書の作成にあたっては調査対象とした文献資料の原文を収録していますが、著作権上の理由により、ホームページへの掲載にあたっては当該部分を割愛して掲載しています。このため、ページ番号が連続していない箇所がありますがご了承ください。

(環境省農薬環境管理室)

平成20年3月

財団法人残留農薬研究所

目次

I 調査業務の概要	I-1
II 毒性部会の設置及び運営	II-1
1. 緒言	II-1
2. 毒性部会委員	II-1
3. 開催実績	II-1
(1) 第1回毒性部会(平成19年6月5日、法曹会館)議事報告	II-3
(2) 第2回毒性部会(平成19年8月9日、糖業会館)議事報告	II-49
(3) 第3回毒性部会(平成20年3月11日、糖業会館)議事報告	II-71
III 農薬の吸入毒性等に係る情報の収集	III-1
1. 緒言	III-1
2. 農薬の毒性に係る最近の知見	III-1
(1) 農薬の毒性について	III-1
(2) 諸外国における農薬吸入毒性のリスク評価・管理手法について	III-2
文献和訳(和文要約)及び原文リスト	III-6
文献9-1 有機リン毒性の最近の問題について(総説)	III-9
文献9-2 農耕地に居住する24ヶ月齢の子供における早期環境暴露と 細胞内Th1/Th2 サイトカインプロファイル	III-25
文献9-3 非職業性暴露人口集団における殺虫剤の尿中代謝物	III-35
文献9-4 農薬暴露と神経障害および神経疾患との関係(総説)	III-65
文献9-5 幼児期に有機リン農薬に暴露された学童の運動阻害および 学習障害	III-77
文献9-6 化学物質過敏症:刺激試験結果の総合解析	III-85
文献9-7 コリン作動薬高感受性ラットモデルにおける喘息と 化学物質過敏症との関係(総説)	III-95
文献9-8 職業暴露リスクアセスメントにおける経口から吸入への外挿: アセスメント法の見直し	III-103
文献9-9 神経障害標的エステラーゼおよびアセチルコリン エステラーゼに比べて脂肪酸アミド加水分解酵素を選択的に 阻害する物質:毒性学的関わりについて	III-113
IV 調査業務実施体制	IV-1

I 調査業務の概要

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、曝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ている。

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。

毒性部会は平成19年度中に3回開催され、吸入毒性試験の試験計画について、モデル農薬の選定や、吸入曝露の方法、観察・測定項目等について具体的な検討を行った。モデル農薬としては、街路樹や公園等の市街地で使用実績の多い5農薬を優先的に評価するものとして選定するとともに、まず、トリクロロホン（DEP）及びエトフェンプロックスについて、被験物質を適切に曝露させるための方法に関する予備検討結果を検証し、次年度以降に吸入毒性試験を実施するための技術的課題について検討した。なお、フェニトロチオン（MEP）については、別途入手された亜急性吸入毒性、アレルギー性等に関する試験成績資料の毒性評価への利用可能性等について検討を行った。また、吸入毒性試験における観察・測定項目として、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の低下率の測定、アレルギー性の影響を検査するためのリンパ球サブセットの測定、血中被験物質濃度の測定等の必要性について検討を行った。

また、農薬の吸入毒性等に係る情報の調査・収集として、農薬の毒性に係る最近の知見について文献調査を実施するとともに、米国環境保護庁（EPA）を中心に諸外国における農薬吸入毒性のリスク評価・管理手法についての調査を行った。なお、調査・収集した情報の一部は適宜、毒性部会の資料とした。

本報告書はこの成果をとりまとめたものである。

I Overview on the survey project

In fiscal year 2005, the Ministry of the Environment (MOE) initiated a project entitled **A Survey and Establishment of Methods for the Risk Assessment of Pesticide Spray Drift**, and has been developing methods for human health risk assessment and the management of the spray drift of pesticides used in the urban environment such as street pavements, verges or parks.

In order to establish effective methods for risk assessment and management of spray drift, it is important to practice appropriate risk management for each pesticide based on the results of not only exposure level assessments but also toxicological studies.

For the purpose of defining appropriate risk management techniques, since fiscal year 2007, MOE has pursued the establishment of procedures to assess the inhalation toxicity of specific pesticides by conducting inhalation toxicity studies on some pesticides typically used in the urban environment.

In the current project, a toxicology working group (TWG) consisting of academic experts for the **Review and Establishment of Methods for the Assessment of Inhalation Toxicity of Pesticides** was set up to design the protocols of inhalation toxicity studies and to validate and assess the results of the studies performed at the request of MOE. In addition, other relevant information on the known toxicity of inhaled pesticides was compiled and collated.

The TWG was convened 3 times during fiscal year 2007 for practical discussion of inhalation toxicity studies, selection of typical pesticides in common use in the urban environment, inhalation exposure methods, and test observations and measurements relevant to the risk assessment of pesticide spray drift. As typical pesticides, the 5 most frequently applied pesticides in the urban area were preferentially selected to be assessed. Firstly, the results of pilot tests on trichlorfon (DEP) and etofenprox were reviewed with respect to the validity and adequacy of the aerosol generation methods employed, and potential technical issues in the conduct of inhalation toxicity studies scheduled in the next fiscal year or later were discussed. Regarding fenitrothion (MEP), separately submitted test reports and articles relevant to the sub-acute inhalation toxicity and potential immunotoxicity of the chemical were discussed. There was further discussion on the desirability of routinely including additional measurements/analyses

in the inhalation toxicity studies: (1) acetylcholinesterase activity in the brain, peripheral blood plasma or red blood cells, (2) lymphocyte subsets for detection of potential immunotoxicity, and (3) pesticide concentration in the peripheral blood.

In addition, a literature search was performed on the risk assessment and management strategies for inhalable pesticides employed in foreign countries, especially by the United States Environmental Protection Agency (EPA), as well as a search for the most recent advances in the understanding of the inhalation toxicity of pesticides.

This report addresses the progress made in achieving the objectives of the project.

II 毒性部会の設置及び運営

1. 緒言

農薬の吸入毒性評価手法の確立を図ることを目的に、平成19年度から実施を予定している吸入毒性試験に係る試験計画の策定及び試験結果の検証・評価について、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）を設置し、平成19年度中に3回開催した。

2. 毒性部会委員（敬称略）

氏名	所属 / 肩書き
井上 達	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
坂部 貢	北里大学薬学部教授
佐藤 洋	東北大学大学院医学系研究科教授
鈴木 勝士	日本獣医生命科学大学獣医学部教授
原田 孝則	財団法人残留農薬研究所理事・毒性部長
福島 哲仁	福島県立医科大学医学部教授
森田 昌敏	愛媛大学農学部教授

3. 開催実績

- (1) 第1回毒性部会（平成19年6月5日、法曹会館）
- (2) 第2回毒性部会（平成19年8月9日、糖業会館）
- (3) 第3回毒性部会（平成20年3月11日、糖業会館）

以下、3回の毒性部会の開催について報告する。

(1) 第 1 回毒性部会 (平成 1 9 年 6 月 5 日、法曹会館) 議事報告

平成 1 9 年 6 月 5 日、法曹会館において第 1 回毒性部会を開催した。議事次第、出席者名簿、配布資料一覧および配布資料を II-9 頁以降に添付する。

配布資料に基づく討議の結果、部会の開催要領が決定され、部会長として森田昌敏委員が選出された。また、農薬吸入毒性評価手法について、今後の事業の進め方、モデル農薬選定の考え方、動物を用いた吸入毒性試験の試験計画等について議論が行われた。次頁以降に議事概要を示す。

農薬吸入毒性評価手法等確立調査部会（平成19年度第1回） 議事概要

1 開催日時及び開催場所

日 時：平成19年6月5日（火）10:00～12:00

場 所：法曹会館（高砂の間）

2 出席委員（敬称略）

井上達、坂部貢、佐藤洋、原田孝則、福島哲仁、森田昌敏（部会長）

3 会議の概要

（1）部会の設置等について

環境省より、資料1に従い、部会設置の目的等について説明が行われた。
また、資料3の開催要領（案）について、原案のとおり決定された。

（2）部会長の選出について

開催要領に従い、委員の互選により、部会長として森田昌敏委員が選出された。

（3）農薬吸入毒性評価手法について

環境省より、資料4の事業計画（案）に従い、今後3年間の事業の進め方等について説明が行われた。

その後、委員による議論が行われ（主な論点は以下の通り）、議論の結果を考慮の上、予算や事業期間の制約なども勘案しながら進めることで了承された。

農地からの農薬の飛散リスクについても本事業における評価対象に含めるかについて確認があり、環境省から、本事業における成果は、街路樹や公園等の市街地における農薬の飛散リスクの管理に活用することを目的としていることから、毒性評価の対象としても街路樹や公園等の場面で用いられる農薬の種類や農薬の散布方法を想定している旨が説明された。周辺住民等の曝露期間は、農薬散布後の気中濃度モニタリングの結果等から最大数十日間という想定であるが、動物を用いた吸入毒性試験における曝露期間の設定にあたっては、ヒトと動物における時間スケールの違いを考慮するとともに、既存の吸入毒性試験を参照する場合はその曝露期間の位置付けについて留意するよう指摘があった。

曝露状況は気温などの条件で異なると考えられるので、曝露シナリオの想定にあたっては、農薬の散布される時期も考慮するよう指摘があった。

農薬の気中濃度の測定場所として、子どもの曝露を想定した地上0.2メートルの高さが例示されているが、何歳ぐらいまでの子どもを想定しているかについて質問があり、環境省から、主に乳幼児を想定しており、子どもが寝ころんだりした場合等も考慮して0.2メートルに設定している旨が説明された。

引き続き、環境省より、資料5の吸入毒性試験実施計画(案)に従い、モデル農薬選定の考え方、動物を用いた吸入毒性試験の試験計画等について説明が行われた。

その後、委員による議論が行われ、以下の点について事務局で再度案を作成し、次回の部会で引き続き検討することとされた。

供試動物はラットで問題ないと思われるが、フェニトロチオンを被検物質とする場合は、動物体内における代謝物(オキソン体)の生成量によって毒性発現が異なる可能性があるため、系統の選択にあたっては、代謝能の違いについても考慮すること。

農薬の毒性に係る最近の知見を踏まえ、幼齢ラットを用いた発達毒性や発達神経毒性を評価できる試験を別途実施する必要性について検討すること。

曝露方法として全身曝露と鼻部曝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こと。

曝露期間について、毎日(週7日)曝露させるのは試験技術的に難しい点を考慮すること。なお、試験実施機関の作業能力にもよるが、週末(土日)の曝露が困難であれば、週5日間の曝露でも評価は可能である。

検査項目として、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こと。

アセチルコリンエステラーゼ活性を検査する場合は、脳の活性が10%低下する用量(BMD₁₀)をとらえることができるよう検討すること。

曝露のエビデンスとして、尿中代謝物を測定することの必要性について検討すること。

毒性評価の結果をなるべく汎用的に活用できるよう、基本的に既存のテストガイドラインを利用した試験を実施すること。吸入毒性試験の目的が独自のテストガイドラインの策定にあるのか、あるいは数種類の農薬についてデータをとることにあるのか、事業のコンセプトを明確にすること。

被検物質をガス状態で曝露させる場合は、純品を用いることで問題ないが、ミスト状で曝露させる場合は、有効成分だけではなく、製剤化の過程で添加される成分（展着剤等）が影響を及ぼす可能性についても考慮する必要があること。

（４）その他

次回の部会の開催について、事務局より、７～８月に開催を予定している旨が報告された。

（以上）

第1回 毒性部会 配布資料

平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会（第1回）議事次第

出席者名簿

配布資料一覧

資料

- 資料1 農薬吸入毒性評価手法確立調査部会の設置について
- 資料2 平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会委員名簿
- 資料3 平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会
開催要領（案）
- 資料4 農薬吸入毒性評価手法確立調査 事業計画（案）
- 資料5 吸入毒性試験実施計画（案）

参考資料

- 参考資料1 農薬取締法の体系
- 参考資料2 農薬の登録申請時に提出が要求される毒性試験について
- 参考資料3 農薬を使用する者が遵守すべき基準（関係法令）
- 参考資料4 「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」
の結果について（概要版）
- 参考資料5 住宅地等における農薬使用について
- 参考資料6 航空防除農薬環境影響評価検討会報告書（抜粋）
- 参考資料7 農薬の毒性に係る最近の知見
- 参考資料8 環境省農薬残留対策総合調査における気中濃度測定結果
について
- 参考資料9 その他の研究機関における気中濃度測定結果について

参考資料は、紙幅の都合により添付を省略するが、環境省ホームページの
下記サイトより入手可能である。

http://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/hisan_risk/hyoka_tih/index.html

農薬吸入毒性評価手法確立調査部会（平成19年度第1回）

議事次第

日時：平成19年6月5日（火）10：00～12：00

場所：法曹会館（高砂の間）

- 1．開会
- 2．挨拶
- 3．委員紹介
- 4．配布資料確認
- 5．議 題
 - （1）部会の設置等について
 - （2）部会長の選出について
 - （3）農薬吸入毒性評価手法について
 - （4）その他
- 6．閉会

出席者名簿

1. 委員

井上 達	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
坂部 貢	北里大学薬学部教授
佐藤 洋	東北大学大学院医学系研究科教授
原田 孝則	財団法人残留農薬研究所理事・毒性部長
福島 哲仁	福島県立医科大学医学部教授
森田 昌敏	愛媛大学農学部教授

(欠席)

鈴木 勝士	日本獣医生命科学大学獣医学部教授
-------	------------------

2. 環境省水・大気環境局土壌環境課農薬環境管理室

大友 哲也	室長
小出 純	室長補佐
松倉 裕二	農薬企画・調査係
吉田 礼子	環境専門員

3. 事務局((財)残留農薬研究所)

森田 利夫	常務理事・総務部長
志賀 直史	参事
海老野耕一	毒性部副部長
皆藤 篤志	試験事業部情報資料課

配付資料一覧

- 資料 1 農薬吸入毒性評価手法確立調査部会の設置について
- 資料 2 平成 19 年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会 委員名簿
- 資料 3 平成 19 年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会 開催要領（案）
- 資料 4 農薬吸入毒性評価手法確立調査 事業計画（案）
- 資料 5 吸入毒性試験実施計画（案）

- 参考資料 1 農薬取締法の体系
- 参考資料 2 農薬の登録申請時に提出が要求される毒性試験について
- 参考資料 3 農薬を使用する者が遵守すべき基準（関係法令）
- 参考資料 4 「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」の結果について（概要版）
- 参考資料 5 住宅地等における農薬使用について
- 参考資料 6 航空防除農薬環境影響評価検討会報告書（抜粋）
- 参考資料 7 農薬の毒性に係る最近の知見
- 参考資料 8 環境省農薬残留対策総合調査における気中濃度測定結果について
- 参考資料 9 その他の研究機関における気中濃度測定結果について

農薬吸入毒性評価手法確立調査部会の設置について

平成 19 年 6 月 5 日
環境省水・大気環境局
農薬環境管理室

1. 部会設置の目的

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（近隣住民等への健康影響）の評価・管理手法の確立のため、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事業」を開始し、農薬散布後の気中濃度モニタリング等を通じた曝露量の評価・管理手法の検討を行っているところである。

適切な飛散リスクの評価・管理手法を確立するためには、上記の曝露評価に加え、適切な毒性評価手法を確立することが重要である。

このため平成 19 年度からは「農薬吸入毒性評価手法確立調査事業」を開始し、市街地での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吸入毒性評価手法の確立を図ることとし、学識経験者で構成する農薬吸入毒性評価手法確立調査部会（以下、「毒性部会」という。）を設置することとする。

2. 事業成果のイメージ

- (1) 農薬の毒性に係る最近の知見を踏まえた吸入毒性評価手法を確立する。
- (2) 公園等の市街地での使用実績が多い農薬等をモデルとして、飛散リスク管理の目安となる農薬の気中濃度指針値（以下、「指針値」という。）を設定する。なお、指針値については、「農薬飛散リスク評価手法等確立調査事業」において作成予定の病害虫・雑草管理に関するマニュアルに活用する。

3. 事業実施予定期間

平成 19 ~ 21 年度

4.平成19年度の事業計画

(1) 毒性部会の開催

吸入毒性試験の適切な実施及び吸入毒性評価手法の検討を行うため、毒性部会を4回程度開催する。

(2) 吸入毒性試験の実施

公園等の市街地での使用実績が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とし、試験計画の策定及び試験結果の評価・検証を行う。

試験を実施する請負業者は、別途選定する。

(3) 国内外における動向、文献等の調査

農薬等の化学物質の吸入に係る毒性、毒性評価手法、リスク管理手法（指針値の設定等）その他必要事項について、国内外における動向や文献等の調査を行う。

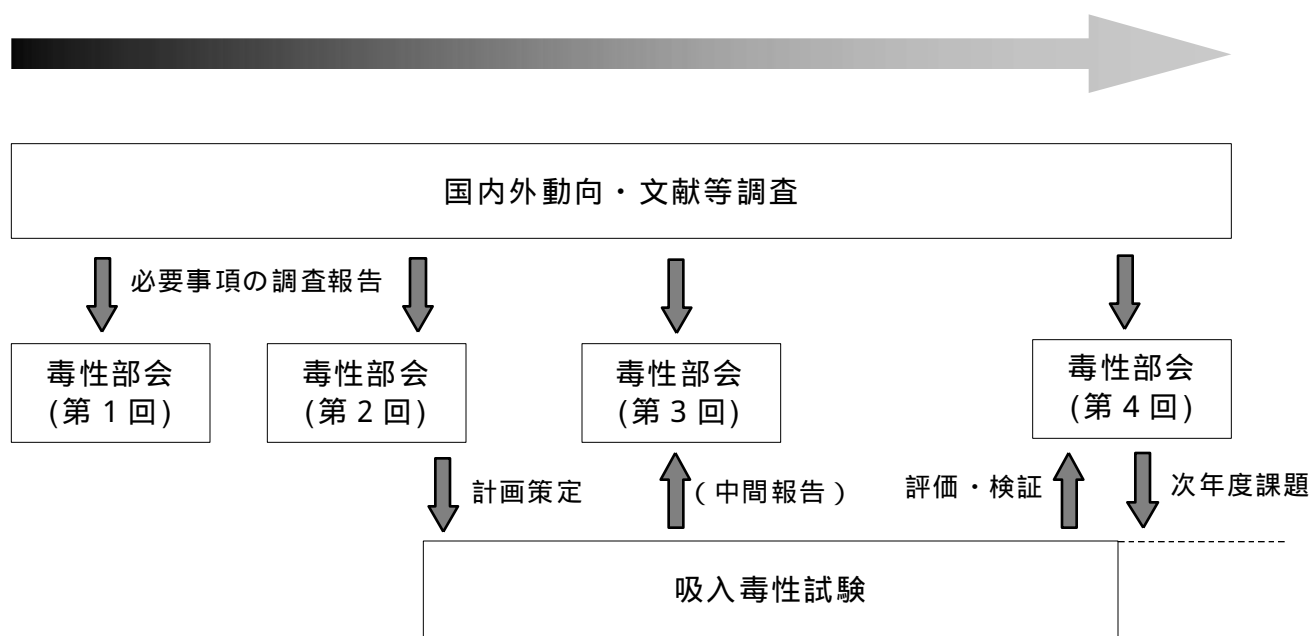
【スケジュール】（予定）

第1回毒性部会：平成19年 6月

第2回毒性部会：平成19年7～8月

第3回毒性部会：平成19年9～10月

第4回毒性部会：平成20年2～3月



平成 19 年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会 委員名簿

平成 19 年 6 月 5 日

氏 名	所 属
井上 達	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
坂部 貢	北里大学薬学部教授
佐藤 洋	東北大学大学院医学系研究科教授
鈴木 勝士	日本獣医生命科学大学獣医学部教授
原田 孝則	財団法人残留農薬研究所理事・毒性部長
福島 哲仁	福島県立医科大学医学部教授
森田 昌敏	愛媛大学農学部教授

五十音順、敬称略

平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会 開催要領（案）

平成19年6月5日
部 会 決 定

1．部会の目的

農薬の飛散リスクの評価・管理手法の開発に資するため、市街地での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吸入毒性評価手法の確立を図ることとする。

2．調査・検討事項

- (1) 農薬の吸入毒性及び吸入毒性評価手法に係る知見の調査・検討
- (2) 吸入毒性試験に係る試験計画の策定及び試験結果の評価・検証
- (3) モデル農薬等を対象とした、飛散リスク管理の目安となる気中濃度指針値の設定
- (4) その他農薬の吸入毒性評価手法の確立に必要な事項の検討

3．部会の構成

部会は、農薬等の毒性及び毒性評価に係る学識経験者をもって構成する。

4．部会の運営について

- (1) 部会に部会長を置き、委員の互選によりこれを定める。
- (2) 部会長は、議長として、部会の議事を整理する。
- (3) 部会の議決は、出席した委員（下記5の規定により、議決に参加できない委員を除く。）の過半数をもって決し、可否同数のときは、部会長の決するところによる。

5．部会の審議にあたっての留意事項

- (1) 特定の物質に係る毒性試験結果の評価又は気中濃度指針値の設定に係る審議を行う場合にあっては、以下のアからエのいずれかの場合に該当する

ことが判明した委員は、その旨を部会長に申し出た上で、当該審議が行われている間は会議場から退室するものとする。ただし、当該委員の発言が特に必要であると部会長が判断した場合に限り、当該委員は出席し、意見を述べるができるが、議決には参加できない。

ア．当該物質を有効成分とする農薬に関し、農薬取締法に基づく農林水産大臣の登録を現に受け、又は申請中である者（以下、「登録保有者等」という。）である場合

イ．登録保有者等の役員等に就任していた、又は就任している場合

ウ．登録保有者等から研究費を受けている場合（ただし、所属する研究機関等に対して供与された研究費を間接的に受けている場合であって当該研究費の使用者を登録保有者等が指定していない場合等、登録保有者等との特別の利害関係を有しないと判断される場合を除く。）

エ．その他審議の公平さに疑念を生じさせると考えられる、登録保有者等との特別の利害関係を有する場合

(2) 特定の物質に係る毒性試験結果の評価又は気中濃度指針値の設定に係る審議を行う場合であって、当該物質の毒性試験結果報告書その他当該物質の毒性に係る資料（ただし、当該物質に限定しない一般的な物質の毒性に係る資料は除く。）を用いる場合にあっては、当該資料の作成者又は作成に協力した者であることが判明した委員は、その旨を部会長に申し出た上で、当該資料については発言することはできない。ただし、当該委員の発言が特に必要であると部会長が判断した場合に限り、当該委員は意見を述べることができる。

6．部会の公開について

(1) 部会は、原則として公開するものとする。ただし、公開することにより、率直な意見の交換が制限され公正かつ中立な審議に著しい支障を及ぼすおそれがある場合、又は企業の知的財産等が開示され特定の者に不当な利益若しくは不利益をもたらすおそれがある場合には非公開とするものとする。

(2) 部会の資料及び議事概要は、原則として環境省のホームページで公開する。

農薬吸入毒性評価手法確立調査

- 事業計画（案） -

平成19年6月5日

1. 目的

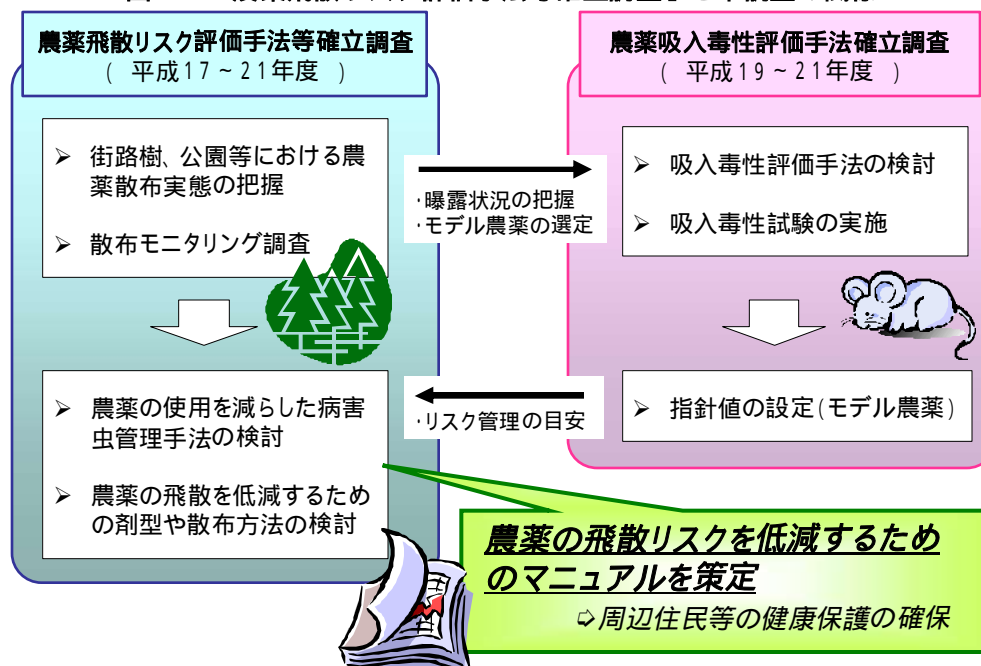
街路樹や公園等の市街地において使用される農薬の飛散リスク（周辺住民等への健康影響）の評価・管理手法の開発に資するため、市街地での使用実績の多い農薬等をモデルとした吸入毒性試験を実施すること等により吸入毒性評価手法の確立を図ることとする。

2. 事業成果のイメージ

- (1) 農薬の毒性に係る最近の知見を踏まえた吸入毒性評価手法を確立する。
- (2) 街路樹や公園等の市街地における使用実績が多い農薬等をモデルとして、飛散リスク管理の目安となる農薬の気中濃度指針値（以下、「指針値」という。）を設定する。

指針値は、並行して実施する「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」（平成17～21年度）で作成する病害虫・雑草管理に関するマニュアルに活用する予定。

図1. 「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」と本調査の関係



3 . 事業期間

平成 1 9 年度 ~ 平成 2 1 年度 (予定)

4 . 背景・経緯

農薬は、適正に使用されない場合、人畜及び周辺的生活環境に悪影響を及ぼすおそれがある。特に、学校、保育所、病院、公園等の公共施設内の植物、街路樹並びに住宅地に近接する農地及び森林等において農薬を使用するときは、農薬の飛散を原因とする住民、子ども等の健康被害が生じないように、飛散防止対策の徹底を図ることが求められている。

4 - 1 . 農薬取締法に基づく現状の規制等

(1) 登録段階における規制

農薬は、その使用による人畜や生態系への悪影響を登録段階で未然に防止するため、農薬取締法の規定に基づき、毒性、残留性等についての検査を経て農林水産大臣の登録を受けなければ製造、輸入等してはならないこととされている。(農薬取締法の体系については、参考資料 1 を参照。)

< 登録保留基準 >

登録を認めるか否かの判断基準 (登録保留基準) として以下の 4 項目の基準を環境大臣が定めており、当該基準に基づき登録検査が行われている。

図 2 . 環境大臣が定める登録保留基準

登録保留基準	登録を認めない場合
作物残留に係る基準)	農薬の使用による農作物等の汚染が生じ、汚染された農作物等の利用により人畜に被害を生ずるおそれがある場合
土壌残留に係る基準	農薬の使用による農地等の土壌汚染が生じ、それによって汚染された農作物等の利用により人畜に被害を生ずるおそれがある場合
水産動植物の被害防止に係る基準	農薬の使用に伴うと認められる水産動植物への著しい被害が発生するおそれがある場合
水質汚濁に係る基準	農薬の使用に伴うと認められる公共用水域の水質汚濁が生じ、人畜に被害を生ずるおそれがある場合

) 平成 18 年 5 月 29 日に、食品衛生法に基づく残留農薬に係るいわゆるポジティブリスト制度が導入されたことにより、現在、環境大臣が基準値を定めている農薬はない。

< 登録申請時に要求される試験について >

登録申請時に提出が要求される各種毒性試験として、「急性吸入毒性試験」及び「90日間反復吸入毒性試験」が定められているものの、これらの試験は主に使用者曝露を想定したものであり、「90日間反復吸入毒性試験」は必ずしもすべての農薬について実施はされていない。(参考資料2)

(2) 使用段階における規制等

< 農薬の使用基準 >

農薬の安全かつ適正な使用を確保するため、平成14年に農薬取締法を改正し、同法第12条第1項の規定に基づき、農薬を使用する者が遵守すべき基準を農林水産省令・環境省令で定めることとされた。(参考資料3)

< 住宅地等における農薬使用について >

住宅地等で農薬を使用する者が遵守すべき事項については、平成15年9月に農林水産省が関係機関へ通知を行ったものの、平成17年度に環境省が実施した「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」(参考資料4)によると、一部の自治体において、病虫害の発生状況に関わらず定期的に農薬を散布している等の不適正な事例がみられた。

この結果を受け、平成19年1月には、農薬の飛散が周辺住民、子ども等に健康被害を及ぼすことがないように、農薬使用者等の遵守事項等について定めた農林水産省と環境省の連名通知を自治体等の関係機関へ発出し、住宅地等における農薬の適正な使用についての再度の周知を図っている。(参考資料5)

< 農薬飛散リスク評価手法等確立調査 >

環境省では、平成17年度より「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」を開始し、農薬の飛散による周辺住民等への健康被害を防ぐためのより具体的かつ詳細な病虫害・雑草管理に関するマニュアルの作成を進めている。

(3) 農薬の気中濃度に係る指針

飛散リスクの管理にあたっては、リスク管理の目安となる農薬の気中濃度を適切に評価することが重要である。

< 航空防除用農薬環境影響評価検討会報告書(平成9年12月) >

航空防除による散布地周辺住民への健康影響を評価するため、10農薬について、人の健康への影響を評価する際の目安となる値(気中濃度評価値)を設定した。(参考資料6)

本報告書においては、亜急性毒性を想定して気中濃度評価値を設定しているが、モニタリング調査で得られた各農薬の平均気中濃度は、おおむね気中濃度評価値を下回っており、問題となるようなレベルのものではなかったとされている。

一方、農薬の健康影響評価に係る手法については、本報告書では、亜急性吸入毒性試験のデータが得られなかったため、経口毒性試験における最大無作用量から吸入毒性を予測する手法を用いているものの、腸管と肺における農薬の吸収率の差等について十分な知見が得られていない点等については今後の検討課題とされている。

4 - 2 . 農薬の毒性に係る最近の知見

近年、有機リン殺虫剤による慢性毒性や子どもへの発達神経毒性等の健康影響の懸念に関する報告等、農薬の毒性に係る新しい知見が報告されつつあることから、農薬の飛散リスクの評価・管理にあたっては、これらの知見についても検討を行う必要があると考えられる。（参考資料7）

5 . 調査の進め方

5 - 1 . 曝露シナリオの設定

本事業における吸入毒性評価手法の確立及びモデル農薬の指針値設定にあたって想定する曝露シナリオは、以下の通りとする。

(1) 被曝露者

農薬が使用される街路樹や公園等の場所の周辺住民等の第三者とし、農薬を使用する作業者は対象としない。

(2) 曝露経路

街路樹や公園等の市街地において散布等の方法により使用された農薬が飛散し、使用区域及び使用区域周辺の大気中に一定期間にわたって滞留した農薬を人が吸入することにより曝露する。

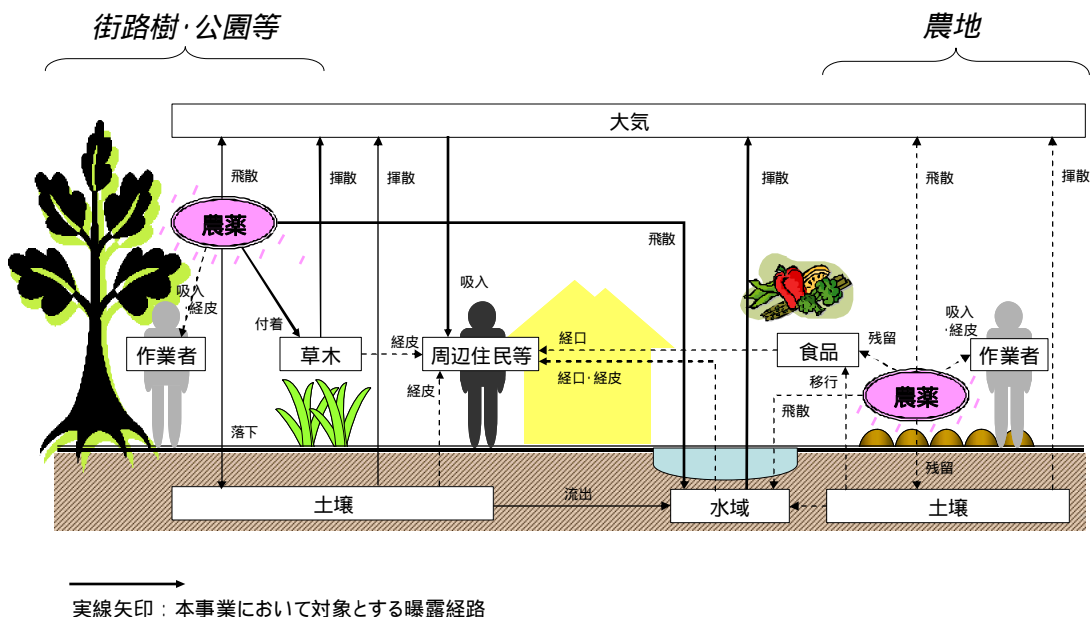
吸入の形態としては、

散布された粒子状の農薬を直接吸入する場合

散布された粒子状の農薬が直接揮散し又は草木や土壌に付着・落下した後揮散し、ガス状となった農薬を吸入する場合

が考えられるが、散布後の数日間にわたって、又は散布区域外の比較的広い範囲にわたって滞留する農薬は主に のガス状であると推定される。

図3 . 農薬の様々な曝露経路



(3) 曝露期間

農薬飛散リスク評価手法等確立調査検討会（平成18年度第2回）で使用した下記の資料によると、農薬散布後の気中濃度は、散布区域内及び散布区域外を含め、概ね数時間から十数日で検出限界以下にまで低減している。

- ・航空防除用農薬環境影響評価検討会報告書（参考資料6、P15～）
- ・環境省農薬残留対策総合調査における気中濃度測定結果（参考資料8）
- ・その他の研究機関における気中濃度測定結果（参考資料9）

また、「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」（参考資料4）のアンケート調査では、多くの自治体において、農薬の年間散布回数は概ね2～3回以内であるとの結果が得られている。

以上を踏まえると、本事業において一般に想定すべき曝露期間は、最大で数十日間程度であると考えられる。

5 - 2 . 調査項目及び調査方法

本事業の目的を達成するため、以下の項目について調査を行うものとする。

ただし、調査項目及び調査方法については、部会での検討を踏まえ、適宜、追加・変更するものとする。

(1) 吸入毒性評価手法の確立

亜急性吸入毒性の評価手法

【調査項目】

- ・テストガイドラインの策定（試験を要求する条件を含む。）
- ・毒性評価に係るエンドポイントの設定

【調査方法】

- ・国内外における動向及び一般文献を調査し、評価する。
- ・モデル農薬を対象に、動物を用いた亜急性吸入毒性試験を実施し、毒性評価を行うことで知見を得る。

< 補足 >

- ・5 - 1 . (3) の曝露期間を踏まえ、亜急性吸入毒性試験を実施する。
- ・試験の曝露期間を90日間とした場合は、各年度ごとに実施可能な試験数は1～2試験の予定である。
- ・評価対象とするモデル農薬については、年度ごとに異なる農薬を用い、3

年間で3～6程度の農薬について評価する方法、または、毎年度ごとにテストガイドラインを改善しつつ、同一の農薬を用いて評価する方法のいずれかを想定しており、調査の進捗状況にあわせて適宜判断するものとする。

吸入毒性予測手法

【調査項目】

- ・投与期間の違いについての外挿性の検討（短期間の吸入毒性試験の結果から長期間の吸入毒性を予測する手法）
- ・投与経路の違いについての外挿性の検討（経口毒性試験の結果から吸入毒性を予測する手法）

【調査方法】

- ・国内外における動向及び一般文献を調査し、評価する。
- ・必要に応じて動物等を用いた試験を実施し、知見を得る。

農薬に係る新しい毒性知見の検討

【調査項目】

- ・有機リン農薬の毒性（発達神経毒性、慢性毒性等）
- ・微量化学物質の吸入曝露による健康影響

【調査方法】

- ・国内外における動向及び一般文献を調査し、評価する。
- ・必要に応じて動物等を用いた試験を実施し、知見を得る。

（2）指針値の設定（モデル農薬）

指針値の設定方法

【調査項目】

- ・安全係数（不確実係数）の設定
- ・指針値に対応する気中濃度の測定場所、測定期間の設定

【調査方法】

- ・国内外における動向及び一般文献を調査・収集し、評価する。
- ・必要に応じて試験を実施し、知見を得る。
- ・「農薬飛散リスク評価手法等確立調査」における飛散モニタリング結果をふまえて検討する。

< 補足 >

- ・ (1) . で実際に毒性評価を行ったモデル農薬について気中濃度の指針値を設定する。
- ・ 測定場所、測定期間としては、例えば、以下のような設定が考えられる。

【測定場所】

屋外の地上 1 . 5 メートルの高さ (大人の曝露を想定)

屋外の地上 0 . 2 メートルの高さ (子どもの曝露を想定)

【測定期間】

大気を 1 時間毎に捕集して気中濃度を測定し、その 1 日平均値を気中濃度とする。

国内外における化学物質の気中濃度に係る基準、指針値等の調査

【調査項目】

- ・ 国内外における化学物質 (農薬以外の化学物質を含む。) の気中濃度に係る基準、指針値等

【調査方法】

- ・ 国内外における動向を調査し、収集する。

< 補足 >

- ・ 化学物質の気中濃度に係る基準、指針値等としては、例えば、以下のようなものがある。

大気環境基準、有害大気汚染物質に係る指針値 (環境基本法)

室内空気中濃度の指針値 (シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会)

Air quality guidelines (WHO)

6 . 調査報告書の作成

各年度ごとに、調査結果を報告書として取りまとめる。また、最終年度には事業全体の調査結果について総括報告書を取りまとめる。

なお、報告書は環境省ホームページ等を利用し、原則として公表する。

吸入毒性試験実施計画（案）

平成19年6月5日

1. 目的

モデル農薬を被検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。

2. 基本的な考え方

本事業で想定する曝露シナリオを踏まえ、90日間の亜急性吸入毒性試験を実施する。

農薬の亜急性吸入毒性試験については、「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号）において、農薬の登録申請時に提出すべき試験成績の作成に係る指針として、「90日間反復吸入毒性試験」に係るテストガイドラインが定められていることから（参考資料2）、当該テストガイドラインを原案とし、本事業で想定する曝露シナリオ等を踏まえた適切な修正を加えることにより試験計画を定めるものとする。

3. 試験実施機関

試験を実施する請負業者の選定にあたっては、以下の要件を課すこととする。

本実施計画で定める亜急性吸入毒性試験を実施できる試験設備を有すること。

毒性試験分野に係る農薬G L P（Good Laboratory Practiceの略）（平成11年10月1日農林水産省農産園芸局長通達11農産第6283号）への適合確認を受けた機関であること。

その他、吸入毒性試験に係る十分な知見、技術を有していること。

4. モデル農薬の選定

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」（参考資料4）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（別紙1）の中から選定することとし、以下の観点を考慮の

上、平成19年度はフェニトロチオン及びトリクロルホンを選定することとする。

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

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

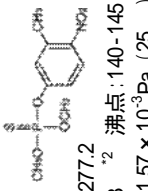

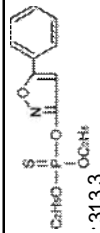
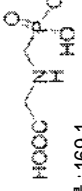
吸入毒性試験が技術的に可能なもの

なお、代謝物に係る吸入毒性試験の必要性については、農薬散布後の環境中における代謝物の生成等に係る知見を調査の上、検討することとする。

5. 試験計画

別紙2の試験計画に基づき、請負業者から詳細な試験計画を提出させ、最終的な試験計画を定めるものとする。

(別紙1) 街路樹、公園等の市街地における使用実態の多い5農薬

順位 (回答率)	農薬名	用途	構造式/物性 ¹⁾	空气中濃度評価値 ⁴⁾ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	散布後最高気中濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) ⁵⁾		吸入毒性	
					散布区域内	散布区域外	急性 (LC_{50}) ¹⁾	亜急性 (NOEL)
1 (64%)	フェニトロチオン (MEP)	殺虫剤 (有機リン系)	 <p>分子量: 277.2 融点: 0.3²⁾ 沸点: 140-145²⁾ で分解²⁾ 蒸気圧: 1.57×10^{-3} Pa (25)</p>	10	22 (散布後0~1h)	8.66 (散布後1日、50m)	>2210mg/m ³	7mg/m ³ *6
2 (60%)	トリクロルホン (DEF)	殺虫剤 (有機リン系)	 <p>分子量: 257.4 融点: 83-84²⁾ 沸点: 100²⁾ 蒸気圧: 2.1×10^{-4} Pa (20)</p>	-	2.23 (散布後当日)	1.30 (散布後当日)	533mg/m ³	12.7mg/m ³ *2
3 (24%)	エトフェンプロックス	殺虫剤 (ピレスロイド系)	<p>分子量: 376.5 融点: 37.4 ± 0.1 沸点: 200²⁾ で分解 蒸気圧: 8.13×10^{-7} Pa (25)</p>	-	0.20 (散布後当日)	0.54 (散布後、100m)	>5900mg/m ³	-
4 (24%)	イソキサチオン	殺虫剤 (有機リン系)	 <p>分子量: 313.3 融点: <25³⁾ 沸点: 160³⁾ 蒸気圧: 1.60×10^{-4} Pa (25)</p>	-	1.8 (散布後1~3h)	0.07 (散布後1~3h)	2040mg/m ³	-
5 (24%)	グリホサート	除草剤 (アミノ酸系)	 <p>分子量: 169.1 融点: 184.5²⁾ 沸点: 187²⁾ で分解²⁾ 蒸気圧: 1.31×10^{-6} Pa (25)</p>	-	-	-	>2470mg/m ³	-

[5]用元)

- *1(*2、*3を除く)農薬ハンドブック 2005年版 (社団法人日本植物防疫協会)
- *2 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 独立行政法人製品評価技術基盤機構 化学物質総合情報提供システム
- *4 航空防除用農薬環境影響評価検討会報告書 (平成9年12月環境庁水質保全局)
- *5 以下の資料より散布後の最高気中濃度を抜粋
 - ・航空防除用農薬環境影響評価検討会報告書 (平成9年13月環境庁水質保全局)
 - ・環境省農薬残留対策総合調査における気中濃度測定結果について (平成18年度第2回農薬飛散リスク評価手法等確率調査検討会 参考資料5)
 - ・その他の研究機関における気中濃度測定結果について (暫定版) (平成18年度第2回農薬飛散リスク評価手法等確率調査検討会 参考資料6)
- *6 フェニトロチオンの毒性試験の概要 (日本農薬学会誌 13, 401-405 (1988))

(別紙2)

90日間反復吸入毒性試験

<引用元>

農薬の登録申請に係る試験成績について(平成12年11月24日付け12農産第8147号)

「農薬の登録申請に係る試験成績について」の運用について(平成13年10月10日付け13生産第3986号)(斜字部分)

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用いる。

【論点】

- ・ 供試動物はラット1種としてよいか?
- ・ ラットの系統(SD, Wistar, Fischer等)について、優先的に指定すべき系統はあるか?

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。
 - ・ 全身暴露型又は鼻部暴露型吸入装置を用いる。
 - ・ 鼻部(頭部)暴露法は比較的少ない被験物質量で試験を実施できること、非吸入経路での吸収が少ないこと、試験実施者にとっても安全性が高いこと等の理由から、広く用いられるようになっている。

- (2) 曝露中、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。
- ・吸入装置内では3か月間の実測濃度の平均値が設定濃度の $\pm 20\%$ 以内となるように発生させる。
 - ・原則として、被験物質をそのまま曝露に供するが、被験物質を吸入装置内に適切に発生させるために、必要に応じて適当な溶媒に溶解又は懸濁したり、粉剤の粒子径をより小さくするために粉碎又は発生時点で媒体を使用する場合もある。
 - ・曝露濃度は、曝露期間中に3回以上実際に動物が吸入する領域からサンプリングし測定する。原則として化学分析を実施する。
 - ・吸入装置内濃度は連続してモニターし、曝露時間の起点は曝露を開始してから濃度が安定するまでの時間を考慮し決定する。
 - ・曝露中に吸入装置内が低酸素状態にならないように留意する。全身曝露では換気回数が12回以上/時間、鼻部曝露では動物の呼吸換気量の合計の2倍以上の空気流量が必要である。
 - ・曝露中の吸入装置内温湿度は飼育環境と同様であることが望ましい(高濃度の曝露を除く)。
- (3) 粒子径(空気力学的質量中位径)は、 $1\sim 4\mu\text{m}$ 又は実施可能な最小粒子径とする。
- ・粒子径は、曝露期間中に少なくとも1回実際に動物が吸入する領域からサンプリングして、重量分析又は化学分析を実施し、空気力学的質量中位径(MMAD)及び幾何標準偏差(GSあるいはg)を算出する。
 - ・吸入可能な粒子径として、以前は鼻腔に吸入される 10 又は $15\mu\text{m}$ が目安とされていたが、近年は気管支に到達するとされる $4\mu\text{m}$ が一つの基準となっている。MMADは $1\sim 4\mu\text{m}$ が望ましいが、被験物質によっては $4\mu\text{m}$ 以下にすることが難しい場合が考えられる。このような場合は、分析結果から、 $4\mu\text{m}$ 以下の粒子が含まれる割合(%)を算出する。
- (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。

【論点】

- ・1日あたり長時間の曝露を行う場合、全身曝露型吸入装置の方が望ましいか？
- ・周辺住民等に対して想定される曝露シナリオを踏まえ、被験物質はガス状態で曝露させることでよいか？(この場合、粒子径分布に係るモニタリングは当然不要となる。)

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。

【論点】

- ・周辺住民等の1日の曝露時間については個人差が大きいと考えられるものの、安全側に立って、曝露期間は6時間よりも長くすべきか？（試験技術上、最長何時間までの曝露が可能か？）
- ・また、毎週の曝露期間は、7日間（毎日）としてよいか？

5. 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匹以上とする。

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

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。

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。

- ・毒性徴候の回復状況等を観察するための衛星群を設けてもよい。なお、衛星群の規模は、雌雄各10匹以上とし、投与終了後もさらに28日間以上飼育する。

【論点】

- ・用量設定にあたっては、急性吸入毒性試験（必要に応じ、3～4週間の亜急性吸入毒性試験）を予備試験として実施し、その結果に基づいて3段階の用量を設定することでよいか？
- ・また、予備試験において、被検物質をガス状態にして曝露させるにあたり、試験技術上実施可能な最高用量においても急性毒性が観察されない場合は、当該用量を本試験における最高用量とすることでよいか？
- ・対照群は1群とし、通常の空気を曝露させることでよいか？
- ・衛星群を設け、毒性徴候の回復状況を観察する必要はあるか？

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

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。

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。

- ・一般状態の観察では、暴露部位が気道であるため呼吸の変化等に注意が必要である。

（２）血液検査

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。

検査前に一晩絶食させることが望ましい。

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

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。

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

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

・剖検では、被験物質の暴露部位である呼吸器系臓器に留意する。

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

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。

【論点】

- ・追加すべき検査項目として、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こととしてよいか？
- ・神経毒性及び遅発性神経毒性について、別添のテストガイドラインに定める「観察及び検査」の項目を実施すべきか？
- ・その他、追加すべき観察・検査項目はあるか？
- ・器官及び組織の保存期間については、本事業の実施予定期間を考慮し、試験終了後3年間とすることでよいか？

・結果の解析について

得られた成績を表又は図で示し、考察を加える。表示方法としては、全群の成績を概括する総括表を作成するほか、群ごとに個々の動物のデータを記した表も作成し、必要に応じて参照できるようにしておく。

観察結果は、適切な統計方法によって解析する。統計方法は、試験の計画段階で選択する。

・報告書について

報告書には原則として以下の内容が記載されていること。

(1) 被験物質に関する情報

被験物質の名称、略称又はコード番号、化学名、CAS 番号（既知の場合）、純度及び安定性等の物理化学的性質

溶媒等を用いた場合には、名称及び選択理由

(2) 供試動物に関する情報

動物種、系統、齢、性、供給源、1群当たりの匹数、開始時の個体別体重、飼育条件（飼育環境、飼料の品質及び水質）等

(3) 試験条件に関する情報

被験物質の調製方法、用量設定理由、暴露方法、暴露装置及び測定装置、濃度測定（実測濃度及び名目濃度の算出）、吸入装置内温湿度測定、吸入装置内の気流に関する情報（流量、換気回数等）、粒子径分布(MMAD, GS)、呼吸可能な粒子の割合等

(4) 試験結果

一般状態の種類・程度・持続時間、体重、摂餌量、性・用量ごとの死亡を含む毒性反応データ、可逆的又は非可逆的、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼

科学的検査、剖検所見、臓器重量、病理組織学的所見、その他検査所見、統計処理
方法・結果等

(5) 考察及び結論

(6) 参考文献

【論点】

- ・被検物質は純品とし、純度は原則として98%以上又は入手可能な最高純度の純品を用いることとしてよいか？（ただし、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。）
- ・不純物の組成についても分析の上、報告を求めることとしてよいか？

(別添)

反復経口投与神経毒性試験

<引用元>

農薬の登録申請に係る試験成績について(平成12年11月24日付け12農産第8147号) 網掛け部分は、神経毒性の観察及び検査に係る項目を示す。

1. 目的

本試験は、被験物質を反復経口投与したときに生じる神経系に対する毒性変化を明確にするるとともに毒性変化の認められない最高投与量(無毒性量)を求めることを目的とする。

なお、神経毒性と一般毒性を関連付けて評価するために、反復投与毒性試験と併合して行ってもよい。

2. 供試動物

(1) げっ歯類(通常、ラット)を用いる。

(2) 離乳後、馴化期間を経てできるだけ早い時期の同一週齢(通常5~6週齢)の動物を用いる。

(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用いる。

3. 投与方法

経口による連続投与とし、通常、混餌投与又は飲水投与により行う。ただし、混餌又は飲水投与が困難な場合は、強制投与を行ってもよい。

4. 投与期間

必要に応じて90日間又は1年間試験を実施する。

5. 動物数及び試験群の設定

(1) 動物数の設定

詳細な状態の観察及び機能検査のために必要な数を設定するものとし、各群雌雄ごとに10匹以上とし、その中から神経病理組織学的検査に必要な動物数を各群雌雄ごとに5匹以上を得る。

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。

他の試験と併合で実施する場合は、それぞれの試験の目的を踏まえ、動物数は適宜、調整するものとする。また、中間屠殺群及び回復群を設ける場合は、必要な数を追加設定する。なお、試験結果の評価を行うのに十分な動物数が確保できていなければならない。

(2) 試験群の設定

被験物質投与群

- ア 少なくとも3段階の用量設定による被験物質投与群を設ける。
- 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引き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。
- ウ 用量設定に当たっては、本試験に先だって実施した毒性試験の結果等を参考とする。また、用量設定の根拠を示すこと。
- エ 技術的に投与可能な最大量又は1,000mg/kg 体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

対照群

- ア 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。
- ウ 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)～(6)の項目について実施する。

(1) 一般状態の観察

- すべての動物について、一般状態を毎日注意深く観察する。観察は全身状態、異常行動の有無及び死亡の有無を観察する。体重及び摂餌量(飲水投与の場合にあっては摂水量も測定する。以下同じ。)
- ア 90日間の試験では、すべての動物について投与開始前に1回、投与開始後は少なくとも週1回の割合で体重及び摂餌量を測定する。
- イ 1年間の試験では、すべての動物について投与開始前に1回、投与開始後3か月までは少なくとも週1回、それ以降は少なくとも4週に

1 回、体重及び摂餌量を測定する。

ウ 被験物質の摂取量を算出する。

(2) 詳細な状態の観察

対象となる各群雌雄それぞれ 10 匹以上の動物について行う。

検査の頻度は別表のとおりとする。

回復群を設ける場合は、回復期間終了時に行う。

観察は、飼育ケージ内及び観察台の上で行う。観察は、項目ごとに明確な判断準と尺度基準を定めた採点法を用い、標準的な手順により行う。

通常、次の項目について行う。

外観（皮膚、被毛、眼・眼球及び粘膜等の変化、分泌物の有無等）、体位、姿勢（円背位等）、自律神経系機能（流涙、立毛、瞳孔径、呼吸状態、排泄状態等）、運動協調性、歩行の異常、動物の取扱操作及び環境刺激に対する反応、神経系（振戦、痙攣、筋収縮性等）、探索行動の変化、常同行動（身づくろいの変化、くびふり、旋回等）、異常行動（自咬、後ずさり、異常発声等）、攻撃性等

(3) 機能検査

対象となる各群雌雄それぞれ 10 匹以上の動物について行う。

検査の頻度は別表のとおりとする。

回復群を設ける場合、可能な限り試験終了時に近い時点で行う。

通常、次の項目について行う。

種々の刺激（聴覚刺激、視覚刺激及び固有受容器刺激等）に対する感覚運動反応、握力、自発運動量（自動記録装置を用いる。）

他の毒性試験等で神経毒性が疑われた場合、疑われた神経毒性の精査に適した感覚機能、運動機能及び学習・記憶に関する試験を実施する。

(5) 眼科学的検査

少なくとも高用量群及び対照群について、投与開始前及び試験終了時に行う。被験物質投与による異常が発見された場合には、すべての動物について行う。

(6) 病理組織学的検査

対象となる各群雌雄それぞれ 5 匹以上について行う。

症状観察及び機能検査で特定の動物に異常が認められた場合は、その動物を検査する。

組織は、灌流固定その他の適当な方法により固定する。観察された肉眼的病理学的変化は、すべて記録する。

通常、組織標本はパラフィン包埋され、ヘマトキシリン・エオジン染色等の一般的な染色が施されるが、末梢神経系に神経障害が認められる

場合又は疑われる場合には、末梢神経系組織の樹脂包埋標本を作製し検査する。

症状観察等から、適宜、検査部位の追加及び特殊染色を実施する。

神経病理組織学的所見は、他の毒性試験及び行動学的影響と関連付けて評価する。

中枢神経系と末梢神経系の代表的な切片について、段階的に検査する。

はじめに最高用量群と対照群の切片を比較し、最高用量群に神経病理組織学的変化が認められなければ、それ以降の検査は必要ない。最高用量群に変化が認められた場合は、中間用量と最低用量の切片を順次検査する。

通常、以下の組織について行う。

前脳及び海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、視神経及び網膜を含む眼球、脊髄の頸膨大及び腰膨大、脊髄神経節、神経線維の前根及び後根、近位の坐骨神経、近位の脛骨神経（膝部）及び脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋（特に腓腹筋）。

脊髄及び末梢神経の切片は、横断面及び縦断面の両方を含める。

試験終了後も必要に応じて病理組織学的検査が実施できるように器官及び組織を保存する。

別表 詳細な状態観察と機能検査の頻度

検査の種類	対象動物	90日間試験	1年間試験
一般状態の観察	すべての動物	毎日	毎日
詳細な状態の観察	詳細な状態の観察のために選んだ動物	(1)投与開始前 (2)投与開始第1週又は第2週に1回 (3)投与開始後1か月ごと	(1)投与開始前 (2)投与開始1か月後に1回 (3)投与開始後3か月ごと
機能検査	機能検査のために選んだ動物	(1)投与開始前 (2)投与開始第1週又は第2週に1回 (3)投与開始後1か月ごと	(1)投与開始前 (2)投与開始1か月後に1回 (3)投与開始後3か月ごと

28日間反復投与遅発性神経毒性試験

< 引用元 >

農薬の登録申請に係る試験成績について（平成12年11月24日付け12農産第8147号） 網掛け部分は、遅発性神経毒性の観察及び検査に係る項目を示す。

1. 目的

本試験は、急性遅発性神経毒性試験で、その存在が確認されたか又は疑われる遅発性神経毒性をさらに検索するために、被験物質を28日間にわたって繰り返し投与した時に生じる毒性変化の内容及び毒性変化の認められない最高投与量（無毒性量）についての情報を得ることを目的とする。

2. 供試動物

- (1) 一般的な品種及び系統の雌のニワトリを使用する。
- (2) 月齢8～12か月の標準的な大きさの若齢成鶏が望ましい。
- (3) 実験結果に影響を及ぼすようなウイルス性疾患や薬物処理がなく、歩行異常のない健康な動物を用いる。

3. 投与方法

- (1) 経口による連続投与とし、通常、胃管、ゼラチンカプセル又はそれらに匹敵する方法を用いて強制的に投与する。
- (2) 液体は原液又は適切な溶媒に溶解し投与する。固体は可能な限り溶解し投与する。

4. 投与期間及び観察期間

投与期間は28日間とする。
最終投与終了後も14日間の観察を行う。

5. 動物数及び試験群の設定

(1) 動物数の設定

投与群、対照群とも、生化学的検査に必要な6羽及び試験終了時まで生存し、病理組織学的検査に用いることができる6羽を得るのに十分な数の動物を用いなければならない。

(2) 試験群の設定

被験物質投与群

- ア 少なくとも3段階の用量設定による投与群を設ける。
- イ 最高用量は毒性作用、可能な限り遅発性神経毒性がみられる用量で、かつ、動物が死亡したり著しい苦痛を示さない用量、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。
- ウ 用量設定に当たっては、急性遅発性神経毒性試験、その他の毒性試験の結果を考慮して設定する。また、用量設定の根拠を示すこと。
- エ 技術的に投与可能な最大量又は1,000mg/kg 体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

対照群

- ア 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等の投与を行う。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．試験動物の飼育上の注意

動物が自由に歩き回ることができ、歩行状態を容易に観察できるよう十分な大きさの飼育ケージ又は柵を用いる。

7．観察及び検査

次の(1)～(3)の項目について行う。

(1) 一般状態の観察

すべての動物について投与直後から観察を始める。投与期間中及び最終投与終了後14日間又は計画屠殺されるまでの間、毎日少なくとも1回注意深く観察する。

すべての毒性徴候について、その種類、発現時期、程度及び持続期間を記録すること。運動失調は、4段階以上からなる判定基準に基づき評価するものとする。

病理学的検査に用いる動物は、少なくとも週2回ケージの外に出し、軽微な毒性影響が観察できるようにするため、一定時間の強制運動を行う。

瀕死動物は速やかに屠殺、剖検し、肉眼的病理学的検査を行う。

すべての動物について、初回投与前及び初回投与後は週に1回の割合で体重測定を行う。

(2) 生化学的検査

投与群及び対照群から無作為に選択した各6羽を、最終投与後72時間以内に屠殺し、脳及び腰脊髄を採取しNTE (neuropathy target esterase 又は neurotoxic esterase) 活性を測定する。

通常、投与群及び対照群の各3羽については、最終投与後24時間目及び48時間目に屠殺して、脳及び腰脊髄を採取する。

急性遅発性神経毒性試験又はその他の試験成績から、遅発性神経毒性誘発能を検出するのに、より適切な間隔が考えられる場合には、最終投与後の適切な時点で、2回、各3羽を屠殺して、脳及び腰脊髄を採取することが望ましい。

NTE活性測定に供した動物について、当該組織(脳及び脳脊髄)のアセチルコリンエステラーゼ活性を測定することは評価の助けとなる。

(3) 病理学的検査

計画殺及び切迫殺した全動物について、脳及び脊髄の外観観察を含む肉眼的病理学的検査を実施する。

試験終了時において生存する各群6羽以上の動物から採取した神経組織について病理組織学的検査を行う。

組織は、灌流固定その他適当な方法により固定する。

ア 切片には、小脳(中央縦断面)、延髄、脊髄及び末梢神経を含める。

イ 脊髄切片は、上頸部、中胸部及び腰仙部から採取する。

ウ 脛骨神経の近位部、遠位部及び分岐部並びに坐骨神経を採取する。

切片は、髄鞘及び軸索を適切な手法で染色する。

(2) 第 2 回毒性部会 (平成 1 9 年 8 月 9 日、糖業会館) 議事報告

平成 1 9 年 8 月 9 日、糖業会館において第 2 回毒性部会を開催した。議事次第、出席者名簿、配布資料一覧および配布資料を II-55 頁以降に添付する。

配布資料の試験実施計画 (案) を討議の結果、目的、基本的考え方、試験実施機関及びモデル農薬の選定について、提案どおり了承された。また、実験計画について、委員による論議が行われた。次頁以降に議事概要を示す。

農薬吸入毒性評価手法等確立調査部会（平成19年度第2回） 議事概要

1 開催日時及び開催場所

日 時：平成19年8月9日（木）13:30～15:30

場 所：糖業会館（2階ホール）

2 出席委員（敬称略）

井上達、坂部貢、佐藤洋、鈴木勝士、原田孝則、森田昌敏（部会長）

3 会議の概要

（1）資料2の吸入毒性試験実施計画（案）について

環境省から説明が行われ、目的、基本的考え方、試験実施機関及びモデル農薬の選定については提案どおり了承された。その後、試験計画について委員による議論が行われ、以下の点について委員の確認を得た後、試験実施機関の選定を行うこととされた。

供試動物は提案どおり、ラットの若齢成獣を用い、系統はウィスター系など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。

曝露方法は、試験実施機関の設備にもよるが、原則として鼻部曝露型吸入装置を用いる。

曝露はガス状態で行うことを基本とするが、飼育温度における飽和濃度において毒性が現れないことも想定されるので、用いる蒸気発生装置（ジェネレーター）で事前に到達可能な最高濃度を検証し、既存データと比較し、必要により中間用量あるいは最高用量をミスト状態で曝露し、用量相関が得られるようにする。

飼育温度はOEC D改定案に従い原則として22度±2度とする。曝露中の流量、温湿度、被験物質濃度、粒子径（ミストの場合）等をモニタリングする。

曝露期間は28日間とする。1日の曝露時間は6時間で週5日間以上の曝露とする。

動物数は1群あたり雌雄各10匹以上、試験群は原則としてミストで3段階、ガスで1段階の4投与群並びに対照群を設ける。

観察及び検査項目は、OEC D改定案に従う他は以下のとおりとする。

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。急性神経毒性試験ガイドライン（2-1-7）で定めている「観察と検査」のうち、還流固定による組織の固定は一般的に本試験で用

いられる程度の曝露濃度範囲での有機リンでは形態変化が認められる可能性はきわめて少ないため行う必要はない。また、急性遅発性神経毒性試験ガイドライン(2-1-8)は試験生物がニワトリであり今回の試験で用いるラットには適していない。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。血中の被験物質濃度測定は供試動物に大きな負荷がかかることから今回の試験の中で行うことは適当でない。また、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曝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。アレルギーの指標として試験終了後の血漿中サイトカイン、及び脾臓並びに胸腺のリンパ球のサブセットを測定する。被験物質は純品とする。次年度の試験については次回以降の部会において事務局から提案する。

(2) その他

次回の部会について、事務局より予備試験の結果がまとまったところで開催する旨が報告された。

(以上)

第2回 毒性部会 配布資料

平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会（第2回）議事次第

出席者名簿

配布資料一覧

資料

- 資料1 平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会 委員名簿
- 資料2 吸入毒性試験実施計画（案）
 - （別紙1）街路樹、公園等の市街地における使用自体の多い5農薬
 - （別紙2）試験計画（案）

参考資料

- 参考資料1 農薬吸入毒性評価手法確立調査部会（平成19年度第1回）議事概要
- 参考資料2 農薬吸入毒性評価手法確立調査 - 事業計画 -
- 参考資料3 「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」の結果について（概要版）
- 参考資料4 90日間反復吸入毒性試験（2-1-11）
- 参考資料5 OECDテストガイドライン412
- 参考資料6 急性神経毒性試験（2-1-7）
- 参考資料7 急性遅発性神経毒性試験（2-1-8）

参考資料は、紙幅の都合により添付を省略するが、環境省ホームページの下記サイトより入手可能である。

http://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/hisan_risk/hyoka_tih/index.html

農薬吸入毒性評価手法確立調査部会（平成19年度第2回）

議事次第

日時：平成19年8月9日（木）13：30～15：30

場所：糖業会館（2階ホール）

- 1．開会
- 2．配布資料確認
- 3．議 題
 - （1）農薬吸入毒性試験実施計画（案）について
 - （2）その他
- 4．閉会

出席者名簿

1. 委員

井上 達	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
坂部 貢	北里大学薬学部教授
佐藤 洋	東北大学大学院医学系研究科教授
鈴木 勝士	日本獣医生命科学大学獣医学部教授
原田 孝則	財団法人残留農薬研究所理事・毒性部長
森田 昌敏	愛媛大学農学部教授

(欠席)

福島 哲仁	福島県立医科大学医学部教授
-------	---------------

2. 環境省水・大気環境局土壌環境課農薬環境管理室

大友 哲也	室長
小出 純	室長補佐
松倉 裕二	農薬企画・調査係
吉田 礼子	環境専門員

3. 事務局((財)残留農薬研究所)

森田 利夫	常務理事・総務部長
志賀 直史	参事
海老野耕一	毒性部副部長
皆藤 篤志	試験事業部情報資料課

配付資料一覧

資料1 平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会 委員名簿

資料2 吸入毒性試験実施計画(案)

(別紙1) 街路樹、公園等の市街地における使用自体の多い5農薬

(別紙2) 試験計画(案)

参考資料1 農薬吸入毒性評価手法確立調査部会(平成19年度第1回)議事概要

参考資料2 農薬吸入毒性評価手法確立調査-事業計画-

参考資料3 「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」の結果について(概要版)

参考資料4 90日間反復吸入毒性試験(2-1-11)

参考資料5 OECDテストガイドライン412

参考資料6 急性神経毒性試験(2-1-7)

参考資料7 急性遅発性神経毒性試験(2-1-8)

平成 19 年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会 委員名簿

平成 19 年 8 月 9 日

氏 名	所 属
井上 達	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
坂部 貢	北里大学薬学部教授
佐藤 洋	東北大学大学院医学系研究科教授
鈴木 勝士	日本獣医生命科学大学獣医学部教授
原田 孝則	財団法人残留農薬研究所理事・毒性部長
福島 哲仁	福島県立医科大学医学部教授
森田 昌敏	愛媛大学農学部教授

：部会長
五十音順、敬称略

吸入毒性試験実施計画（案）

平成19年8月9日

1．目的

街路樹や公園等の市街地における使用実績が多い農薬等をモデルとして吸入毒性試験を実施し、当該農薬の毒性評価を行うことにより、飛散リスク管理の目安となる農薬の気中濃度指針値の設定に資する。

2．基本的な考え方

本事業で想定する曝露シナリオ（参考資料2）を踏まえ、人に対するガス状態での亜急性吸入毒性を想定して動物試験を実施する。

なお、毒性評価の結果の信頼性及び汎用性を確保するため、試験の実施にあたっては既存の確立されたテストガイドラインを最大限活用することとする。

3．試験実施機関

試験を実施する請負業者の選定にあたっては、以下の要件を課すこととする。

本実施計画で定める吸入毒性試験を実施できる試験設備を有すること。

毒性試験分野に係る農薬G L P（Good Laboratory Practiceの略）（平成11年10月1日農林水産省農産園芸局長通達11農産第6283号）への適合確認を受けた機関であること。

その他、吸入毒性試験に係る十分な知見、技術を有していること。

4．モデル農薬の選定

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」（参考資料3）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（別紙1）の中から選定することとし、以下の観点を検討の上、平成19年度はフェニトロチオン及びトリクロルホンを選定することとする。

使用実態から現場での使用量が多いと予想され、その観点から優先的に評価すべきと考えられるもの

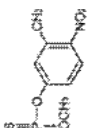
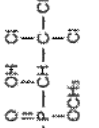
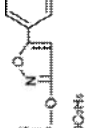

物性（蒸気圧等）から、気中濃度が高くなりうると予測されるもの
吸入毒性試験が技術的に可能なもの

なお、代謝物に係る吸入毒性試験の必要性については、農薬散布後の環境中における代謝物の生成等に係る知見を調査の上、検討することとする。

5．試験計画

別紙2の試験計画に基づき、請負業者から詳細な試験計画を提出させ、最終的な試験計画を定めるものとする。

(別紙1) 街路樹、公園等の市街地における使用実態の多い5農薬

順位 (回答率)	農薬名	用途	構造式/物性 ¹⁾	気中濃度評価値 ⁴⁾ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)		吸入毒性	
				散布後最高気中濃度($\mu\text{g}/\text{m}^3$) ⁵⁾ 散布区域内	散布区域外	急性(LC ₅₀) ¹⁾	亜急性(NOEL)
1 (64%)	フェニトロチオン (MEP)	殺虫剤 (有機リン系)	 分子量:277.2 融点:0.3 ²⁾ 沸点:140-145 ²⁾ で分解 ²⁾ 蒸気圧:1.57 x 10 ⁻³ Pa (25 ²⁾)	22 (散布後0~1h)	8.66 (散布後1日、50m)	>2210mg/m ³	7mg/m ³ *6 供試動物:ラット、 マウス 曝露期間:4週間
2 (60%)	トリクロルホン (DEP)	殺虫剤 (有機リン系)	 分子量:257.4 融点:83-84 ²⁾ 沸点:100 ²⁾ 蒸気圧:2.1 x 10 ⁻⁴ Pa (20 ²⁾)	2.23 (散布後当日)	1.30 (散布後当日)	533mg/m ³	12.7mg/m ³ *2 供試動物:ラット 曝露期間:3週間
3 (24%)	エトフェンプロックス	殺虫剤 (ピレスロイド系)	分子量:376.5 融点:37.4±0.1 沸点:200 ²⁾ で分解 蒸気圧:8.13 x 10 ⁻⁷ Pa (25 ²⁾)	0.20 (散布後当日)	0.54 (散布後、100m)	>5900mg/m ³	-
4 (24%)	イソキサチオン	殺虫剤 (有機リン系)	 分子量:313.3 融点:<25 ³⁾ 沸点:160 ³⁾ 蒸気圧:1.60 x 10 ⁻⁴ Pa (25 ²⁾)	1.8 (散布後1~3h)	0.07 (散布後1~3h)	2040mg/m ³	- 供試動物:ラット 曝露時間:-
5 (24%)	グリホサート	除草剤 (アミノ酸系)	 分子量:169.1 融点:184.5 ²⁾ 沸点:187 ²⁾ で分解 ²⁾ 蒸気圧:1.31 x 10 ⁻⁵ Pa (25 ²⁾)	-	-	>2470mg/m ³	- 供試動物:ラット 曝露時間:-

[引]用元)

- *1(*2、*3を除く)農薬ハンドブック2005年版(社団法人日本植物防疫協会)
- *2国際化学物質安全計画 環境保健クライテリア(<http://www.inchem.org/pages/ehc.html>)
- *3独立行政法人製品評価技術基盤機構 化学物質総合情報提供システム
- *4航空防除用農薬環境影響評価検討会報告書(平成9年12月環境庁水質保全局)
- *5以下の資料より散布後の最高気中濃度を抜粋
 - ・航空防除用農薬環境影響評価検討会報告書(平成9年13月環境庁水質保全局)
 - ・環境省農薬残留対策総合調査における気中濃度測定結果について(平成18年度第2回農薬飛散リスク評価手法等確率調査検討会 参考資料5)
 - ・その他の研究機関における気中濃度測定結果について(暫定版)(平成18年度第2回農薬飛散リスク評価手法等確率調査検討会 参考資料6)
- *6フェニトロチオンの毒性試験の概要(日本農薬学会誌 13, 401-405 (1988))

(別紙2) 試験計画(案)

(注) 本試験計画(案)の技術的要件等は、試験期間が28日間の場合は、OECDテストガイドライン412またはその改訂案(以下「OECD改定案」という。参考資料5)、90日間の場合は「90日間反復吸入毒性試験」(以下、「90日TG」という。参考資料4)を基本とする。

試験計画(案)

1. 目的

(省略)

2. 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。

【論点】

- ・文献情報との比較や試験の実施を容易にするため、広く使われている系統を選択することについて。
- ・フェニトロチオンが被験物質の場合、代謝物(オクソン体)の生成量によって毒性発現が異なる可能性があるとして、特別な代謝能を持つ系統を選択する必要性について。

3. 暴露方法

(1) 吸入による影響のみを適切に評価するため、原則として鼻部曝露型吸入装置を用いることとする。ただし、試験実施機関の試験設備の保有状況により鼻部曝露型吸入装置を用いることが困難と判断される場合には、全身曝露型吸入装置を用いてもよいこととする。

(OECD改定案：鼻部または頭部曝露型吸入装置を推奨)

(2) 被検物質は原則としてガス状態で曝露させることとする。曝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する。

【論点】

- ・曝露シナリオから、ガス状態での吸入毒性試験を行うこととする。その際の最高濃度は、飼育温度における当該成分の飽和濃度を原則とすることについて。
- ・飼育温度は、可能な範囲で夏期の温度環境を考慮した温度（東京における平年値：6月21.8度、7月25.4度、8月27.1度。3ヶ月平均24.7度）とすることについて。（OECD改定案：22度±2度）

- (3) 曝露中は、流量、被験物質の実際濃度、温度、湿度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曝露させることから、粒子径分布のモニタリングは実施しない。

4. 暴露期間

- (1) 亜急性の吸入毒性を評価する観点から、曝露期間は28日間または90日間とする。

【論点】

- ・本事業で想定する曝露シナリオにおいては、農薬散布による周辺住民等への曝露期間は最大で数十日間程度としている。この場合、動物試験における曝露期間を28日間または90日間で評価することについて。
- ・慢性的な影響をスクリーニングする目的がない場合の90日間の試験の必要性について。

- (2) 1日の暴露時間は原則6時間(OECD改定案)または6時間以上(90日TG)とし、毎週5日間以上、曝露させる。

【論点】

- ・周辺住民等の屋外における1日の曝露時間については、年齢、生活スタイル等により個人差が大きいと考えられるものの、具体的なデータが得られなかったことから、既存のテストガイドラインに従い6時間または6時間以上とすることについて。

5. 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5匹以上(OECD改定案)または雌雄各10匹以上(90日TG)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

3段階の被検物質投与群並びに対照群を設ける。

被検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、被検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。ただし、ガス状態で曝露可能な最高濃度（供試動物に支障を与えない範囲の温度、湿度において曝露可能な濃度に限る。）を用いても毒性影響が認められるか否か不明な場合は、当該濃度を最高投与量として設定する。

対照群は空気を曝露させることとし、被検物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被検物質投与群と同一の条件とする。

6. 観察及び検査

観察及び検査項目は、OECD改定案または90日TGに記述された項目に従う。

【論点】

- ・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ことを試験項目として追加することについて。
- ・神経毒性及び遅発性神経毒性を評価するため、テストガイドライン（参考資料6、7）に定める「観察及び検査」の項目を実施することについて。
- ・器官及び組織の保存期間について、本事業の実施予定期間を考慮し、試験終了後3年間とすることについて。
- ・試験における農薬の曝露実態を把握するため、尿中の代謝物の測定を追加することについて。鼻部曝露による試験の場合、この測定の必要性について。
- ・経口毒性結果から吸入毒性への外挿を検討する際の指標としてトキシコキネティクスを把握する観点から、農薬の血中濃度測定を実施することについて。また、そのもっとも効果的な実施方法について。
- ・アレルギー性の影響が判断できる検査項目を追加することについて。また、追加する場合に適切な項目について。

7. 被検物質

- (1) 被検物質は純品とし、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) 被検物質の組成については、分析の上、報告をすることとする。

以上

(注) 次年度以降の試験に関する論点

【論点】

- ・次年度以降、幼齢ラットを用いた発達毒性や発達神経毒性を評価できる試験を実施することについて。また、その優先度合いについて。

(3) 第 3 回 毒 性 部 会 (平 成 2 0 年 3 月 1 1 日 、 糖 業 会 館) 議 事 報 告

平成 2 0 年 3 月 1 1 日、糖業会館において第 3 回毒性部会を開催した。議事次第、出席者名簿、配布資料一覧および配布資料を II-77 頁以降に添付する。なお、委員名簿(資料 1)は、第 2 回配布資料の内容と同一のため、添付しなかった。

配布資料のうち、予備検討結果(資料 2)に関して、問題点への対処方法および具体的な試験条件や技術的課題等について、委員により討議が行われた。また、平成 2 0 年度吸入毒性試験実施計画ならびにフェニトロチオンの亜急性吸入毒性・アレルギー性等に関する資料(資料 4)の信頼性および試験内容について、討議が行われた。次頁以降に議事概要を示す。

農薬吸入毒性評価手法確立調査部会（平成19年度第3回） 議事概要

1 開催日時及び開催場所

日 時：平成20年3月11日（火）14:30～16:30

場 所：糖業会館（2階ホール）

2 出席委員（敬称略）

井上達、坂部貢、佐藤洋、鈴木勝士、原田孝則、福島哲仁、森田昌敏（部会長）

3 会議の概要

（1）はじめに、環境省より今回の議題に関して、当初予定されていた被験物質を変更した経緯（フェニトロチオンについては、住友化学株式会社より吸入毒性試験に係る試験成績の提供があったことから、当該試験成績による毒性評価が可能かどうかをまず検討することとし、代わりにエトフェンプロックスを被験物質とすることとした。）、今年度の吸入毒性試験を時間的制約等により暴露手法に係る予備検討に変更した経緯等が説明され、引き続き試験（暴露手法に係る予備検討）実施事業者の日本バイオアッセイ研究センターより、資料1に沿って予備検討の結果が説明された。その後、委員による討議が行われ、エトフェンプロックスの高濃度ミストの発生に際し、排気用のフィルターが短時間で目詰まりを起こす点についての対処方法並びに一部の具体的な試験条件や技術的課題等に関して追加検討することで概ね了承された。

（2）平成20年度吸入毒性試験実施計画について、環境省より資料3に沿って、前回第2回部会からの変更内容、OECDテストガイドライン412改定案に追加する観察及び検査項目等が説明された。その後、委員により、アレルギー性に関する検査項目、臓器重量測定、血中濃度測定等に関して討議が行われ、事務局は出された意見や要望等を取りまとめ、メールにより委員の確認を得て、事業計画に反映させることとされた。

（3）住友化学株式会社より提供された、フェニトロチオンの亜急性吸入毒性・アレルギー性等に関する資料について、環境省より資料4に沿って説明された。その後、委員により資料の信頼性や試験内容について討議され、アレルギー性喘息の試験に関して陽性対照での免疫反応がやや低く見られる等追加調査の余地はあるものの、本資料はフェニトロチオンの気中濃度指針値の検討に充分利用可能であるとされた。

(4) その他

事務局より、本年度は今回の第3回部会で終了することが報告された。

(以上)

第3回 毒性部会 配布資料

平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会（第3回）議事次第

出席者名簿

配布資料一覧

資料

- 資料1 平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会 委員名簿
第2回毒性部会配布資料参照
- 資料2 吸入毒性試験に係る予備検討結果
- 資料3 吸入毒性試験実施計画（案）
（別紙1）街路樹、公園等の市街地における使用自体の多い5農薬
（別紙2）試験計画（案）
- 資料4 フェニトロチオンの亜急性吸入毒性・アレルギー性等に関する資料

参考資料

- 参考資料1 農薬吸入毒性評価手法確立調査部会（平成19年度第2回）議事概要
- 参考資料2 農薬吸入毒性評価手法確立調査 - 事業計画 -
- 参考資料3 「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」の結果について（概要版）
- 参考資料4 OECDテストガイドライン412
- 参考資料5 急性神経毒性試験（2-1-7）
- 参考資料6 急性遅発性神経毒性試験（2-1-8）

参考資料は、紙幅の都合により添付を省略するが、環境省ホームページの下記サイトより入手可能である。

http://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/hisan_risk/hyoka_tih/index.html

農業吸入毒性評価手法確立調査部会（平成19年度第3回）

議事次第

日時：平成20年3月11日(火)

14：30～16：30

場所：糖業会館（2階ホール）

1．開会

2．配布資料確認

3．議 題

(1) 平成19年度吸入毒性試験に係る予備検討結果について

(2) 平成20年度吸入毒性試験実施計画について

(3) フェニトロチオンの亜急性吸入毒性・アレルギー性等に関する資料について

(4) その他

4．閉会

出席者名簿

1. 委員

井上 達	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
坂部 貢	北里大学薬学部教授
佐藤 洋	東北大学大学院医学系研究科教授
鈴木 勝士	日本獣医生命科学大学獣医学部教授
原田 孝則	財団法人残留農薬研究所理事・毒性部長
福島 哲仁	福島県立医科大学医学部教授
森田 昌敏	愛媛大学農学部教授

2. 環境省水・大気環境局土壌環境課農薬環境管理室

大友 哲也	室長
小出 純	室長補佐
松倉 裕二	農薬企画・調査係
吉田 礼子	環境専門員

3. 試験実施事業者（日本バイオアッセイ研究センター）

長野 嘉介	副所長兼病理検査部長
西沢 共司	試験管理部長兼吸入試験室長
笠井 辰也	試験管理部吸入試験室長補佐
武 信	試験管理部分析室長補佐

4. 事務局（（財）残留農薬研究所）

森田 利夫	常務理事・総務部長
志賀 直史	参事
海老野耕一	毒性部副部長
皆藤 篤志	試験事業部情報資料課

配付資料一覧

- 資料1 平成19年度農薬吸入毒性評価手法確立調査部会委員名簿
 - 資料2 吸入毒性試験に係る予備検討結果
 - 資料3 吸入毒性試験実施計画(案)
(別紙1) 街路樹、公園等の市街地における使用自体の多い5農薬
(別紙2) 試験計画(案)
 - 資料4 フェニトロチオンの亜急性吸入毒性・アレルギー性等に関する資料
-
- 参考資料1 農薬吸入毒性評価手法確立調査部会(平成19年度第2回)議事概要
 - 参考資料2 農薬吸入毒性評価手法確立調査-事業計画-
 - 参考資料3 「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」の結果について(概要版)
 - 参考資料4 OECDテストガイドライン412
 - 参考資料5 急性神経毒性試験(2-1-7)
 - 参考資料6 急性遅発性神経毒性試験(2-1-8)

吸入毒性試験に係る予備検討結果

平成19年度 農薬吸入毒性評価手法確立調査（試験実施業務）

吸入毒性試験を実施するに当り、農薬を適切に暴露させるための具体的な方法を検討する。

今回ミストによる暴露方法を検討する。目標とするミストの粒径はOECDテストガイドライン412改訂版に従い空気力学的質量中位径1-4 μm 、標準偏差1.5-3.0とする。また、設定濃度に対する乖離は $\pm 10\%$ 以内を目標とする。

【被験物質】

エトフェンプロックス及びトリクロルホン

【検討項目】

使用する試験装置、被験物質の発生方法及び濃度制御法、被験物質の濃度測定及び粒径測定法等

1. エトフェンプロックスの吸入暴露法検討試験

[試験法概要]

1) 発生及び暴露方法

恒温槽内でエトフェンプロックス（固体）を加温下で液化し、流体ノズルによりミストを発生させ、吸入チャンバー（全身暴露型）へ一定量を送り込む。

2) 濃度制御法

吸入チャンバー内のエトフェンプロックスのミスト粒子濃度をデジタル粉塵計により測定し、粉塵計の上下限設定信号により吸入チャンバーへのミスト供給量を制御する。

3) 吸入チャンバー内エトフェンプロックスの濃度測定法

吸入チャンバー内空気を一定量ろ紙（テフロンバインダーフィルター）に通過させ、エトフェンプロックスミストをろ紙に捕集する。捕集したエトフェンプロックス量を液体クロマトグラフ（LC）により測定し、その値と捕集空気量より吸入チャンバー内のエトフェンプロックス濃度（ mg/m^3 ）を算出する。

4) 吸入チャンバー内ミストの粒子径測定

アンダーセンサンプラーを用い、吸入チャンバー内のミストの粒子径測定を行う。

5) 設定濃度

1000、500、200、100、50 mg / m³

【検討結果】

1) 発生及び暴露方法

加温下で液化し、流体ノズルによりミストを発生させる方法により、エトフェンブロックスのミストを安定的に投与する方法を確立した。この時の加温条件は 55 が最適であった。

2) エトフェンブロックスの濃度制御

デジタル粉塵計による発生制御システムによって、200、100、50 mg / m³ の設定濃度については、目標濃度の 10% 以内の乖離で 6 時間、安定して暴露できることがわかった。

500 mg / m³ 以上の濃度については、吸入チャンバーに設定した排気処理フィルター等に被験物質がつまり、6 時間の暴露は困難であることがわかった。

3) 濃度測定法

エトフェンブロックスの濃度測定については、LC により高感度で安定した測定ができることがわかった。また、吸入チャンバー内の濃度測定については、ろ紙捕集による重量測定による結果と LC 測定による結果が一致した。従って、LC 法及び重量法のいずれでも濃度測定は可能であることがわかった。

4) 吸入チャンバー内ミストの粒子径測定

200 mg / m³ 以下の濃度では空気力学的質量中位径約 1 μm (標準偏差 2) の条件で暴露できた。

2. トリクロロホルンの吸入暴露法検討試験

[試験法概要]

1) 暴露方法

トリクロロホルンの水溶液を作製し、恒温槽内に設置した流体ノズルによりミストを発生させ、吸入チャンバー(全身暴露型)へ一定量を送り込む。

2) 濃度制御法

吸入チャンバー内のトリクロロホルンのミスト粒子濃度をデジタル粉塵計により測定し、粉塵計の上下限設定信号により吸入チャンバーへのミスト供給量を制御する。

3) 吸入チャンバー内トリクロロホンの濃度測定法

吸入チャンバー内空気を一定量ろ紙（テフロンバインダーフィルター）に通過させ、トリクロロホンをろ紙に捕集する。捕集したトリクロロホンを液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MSMS）により測定し、その値と捕集空気量より吸入チャンバー内のトリクロロホン濃度（mg/m³）を算出する。

4) 吸入チャンバー内ミストの粒子径測定

アンダーセンサンプラーを用い、吸入チャンバー内のミストの粒子径測定を行う。

5) 設定濃度

100、30、10 mg / m³

【検討結果】

1) 発生及び暴露方法

トリクロロホンを水に溶解し、恒温槽内に設置した流体ノズルによりミストを発生させる方法により、トリクロロホンミストを安定的に投与方法を確立した。現在得られている最適発生条件は水溶液濃度が 7.5%、恒温槽温度が 25 である。

3) トリクロロホンの濃度制御

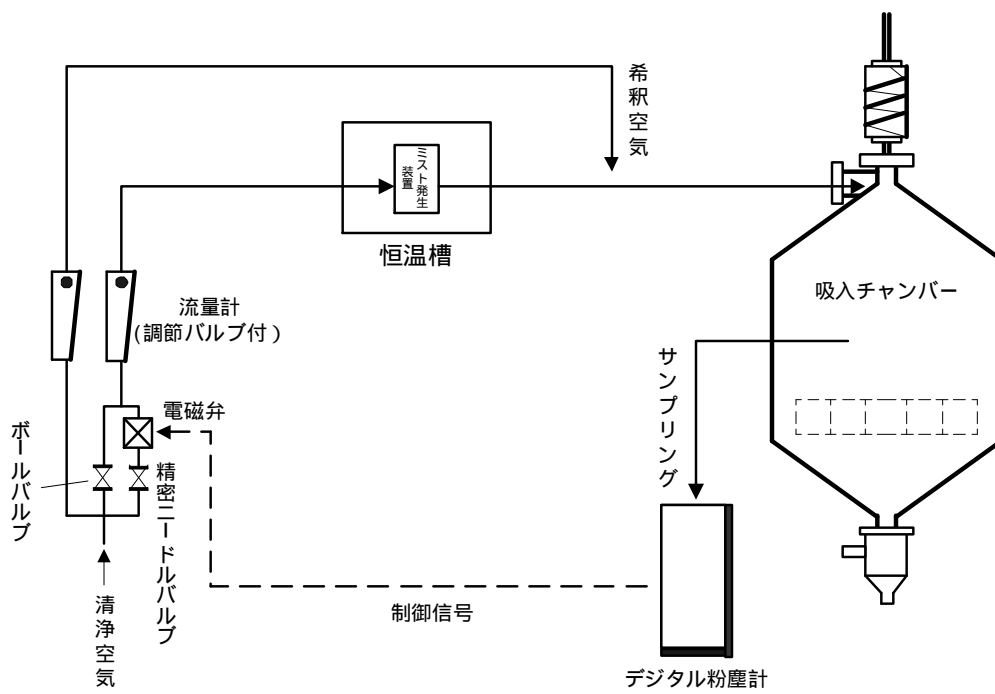
デジタル粉塵計による発生制御システムによって、100、30、10 mg / m³ の設定濃度については、目標濃度の 10% 以内の乖離で 6 時間、安定して暴露できることがわかった。

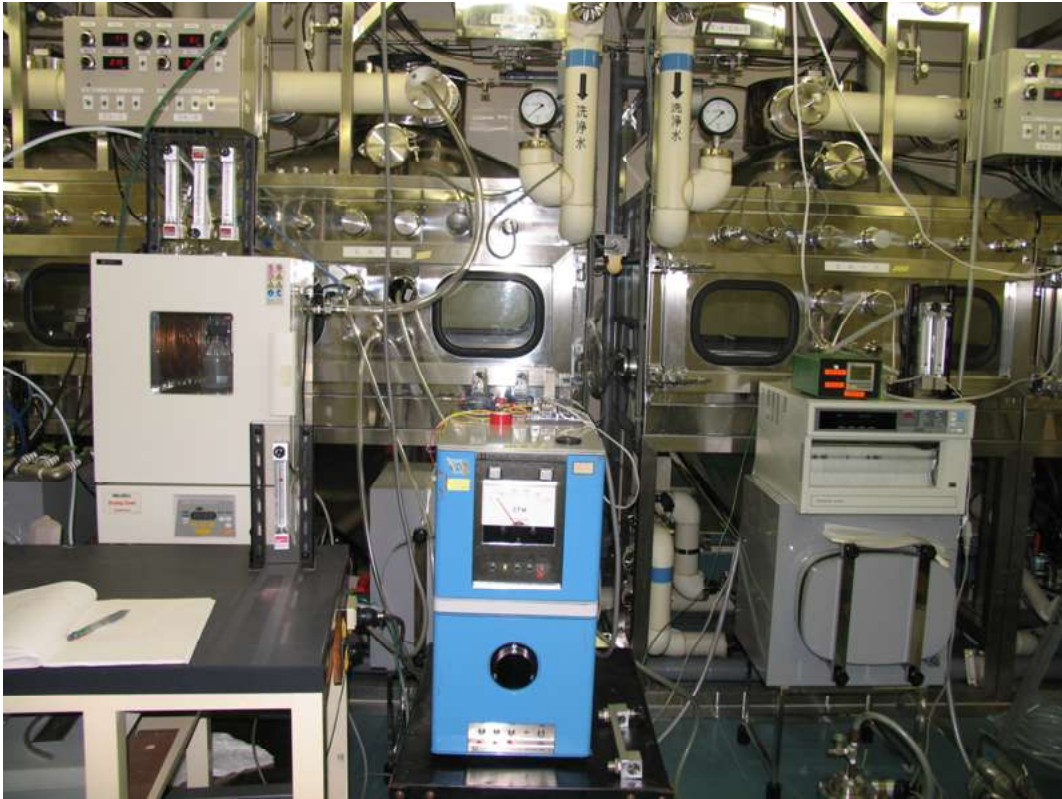
2) 濃度測定法

トリクロロホンの濃度測定については、LC-MSMS により測定できることがわかった。また、吸入チャンバー内のトリクロロホンの濃度測定については、ろ紙捕集による重量測定で安定した結果が得られている。

4) 吸入チャンバー内ミストの粒子径測定

すべての濃度で空気力学的質量中位径約 2 μm（標準偏差 2）の条件で暴露できた。

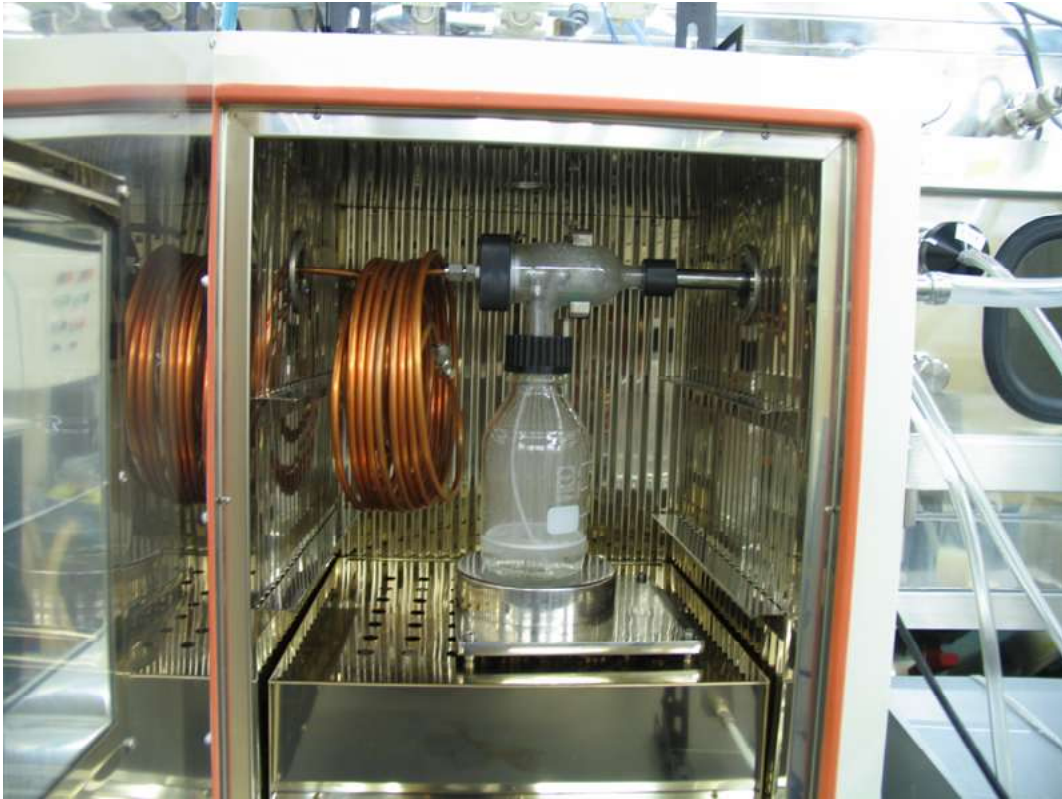




暴露システム概観



ミスト発生器概観



恒温槽内の発生器



デジタル粉塵計、柴田科学(株)製：AP383



暴露前チャンバー



500mg/m³ エトフェンプロックス暴露中チャンバー



100mg/m³ エトフェンプロックス暴露中チャンバー

平成 20 年度吸入毒性試験実施計画（案）

平成 20 年 3 月 11 日

1. 目的

街路樹や公園等の市街地における使用実績が多い農薬等をモデルとして吸入毒性試験を実施し、当該農薬の毒性評価を行うことにより、飛散リスク管理の目安となる農薬の気中濃度指針値の設定に資する。

2. 基本的な考え方

本事業で想定する曝露シナリオ（参考資料 2）を踏まえ、亜急性吸入毒性を想定して動物試験を実施する。ただし、試験を予定している剤（トリクロルホン及びエトフェンプロックス）では試験温度における飽和状態で毒性発現が見込めないため、十分粒径を小さくする前提で、ミスト又はダストによる試験とすることとする。

なお、毒性評価の結果の信頼性及び汎用性を確保するため、試験の実施にあたっては既存の確立されたテストガイドラインを最大限活用することとする。

3. 試験実施機関

試験を実施する請負業者の選定にあたっては、以下の要件を課すこととする。

本実施計画で定める吸入毒性試験を実施できる試験設備を有すること。

毒性試験分野に係る農薬 G L P（Good Laboratory Practice の略）（平成 11 年 10 月 1 日農林水産省農産園芸局長通達 11 農産第 6283 号）への適合確認を受けた機関であること。

その他、吸入毒性試験に係る十分な知見、技術を有していること。

4. モデル農薬の選定



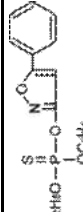

モデル農薬の選定にあたっては、「自治体における街路樹、公園緑地等での防除実態調査」（参考資料 3）に基づき、街路樹、公園等の市街地における使用実態の多い 5 農薬（別紙 1）を優先して選定することとし、平成 19 年度はトリクロルホン及びエトフェンプロックスを選定し、予備試験を行った。

平成 20 年度はこれらに対する予備試験の結果を利用して、動物試験を行うこととする。

5．試験計画

別紙2の試験計画に基づき、請負業者から詳細な試験計画を提出させ、最終的な試験計画を定めるものとする。

(別紙1) 街路樹、公園等の市街地における使用実態の多い5農薬

順位 (回答率)	農薬名	用途	構造式/物性 ¹⁾	気中濃度評価値 ⁴⁾ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)		吸入毒性	
				散布後最高気中濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) ⁵⁾	散布区域外	急性 (LC_{50}) ¹⁾	亜急性 (NOEL)
1 (64%)	フェニトロチオン (MEP)	殺虫剤 (有機リン系)	 <p>分子量: 277.2 融点: 0.3²⁾ 沸点: 140-145²⁾ で分解²⁾ 蒸気圧: 1.57×10^{-3} Pa (25²⁾)</p>	10	8.66 (散布後1日、50m)	>2210mg/m ³	7mg/m ³ ²⁾
2 (60%)	トリクロルホン (DEP)	殺虫剤 (有機リン系)	 <p>分子量: 257.4 融点: 83-84²⁾ 沸点: 100²⁾ 蒸気圧: 2.1×10^{-4} Pa (20²⁾)</p>	-	1.30 (散布後当日)	533mg/m ³	12.7mg/m ³ ²⁾
3 (24%)	エトフェンプロックス	殺虫剤 (ピレスロイド系)	<p>分子量: 376.5 融点: 37.4 ± 0.1 沸点: 200²⁾ で分解 蒸気圧: 8.13×10^{-7} Pa (25²⁾)</p>	-	0.54 (散布後、100m)	>5900mg/m ³	-
4 (24%)	イソキサチオン	殺虫剤 (有機リン系)	 <p>分子量: 313.3 融点: <25³⁾ 沸点: 160³⁾ 蒸気圧: 1.60×10^{-4} Pa (25²⁾)</p>	-	0.07 (散布後1~3h)	2040mg/m ³	-
5 (24%)	グリホサート	除草剤 (アミノ酸系)	 <p>分子量: 169.1 融点: 184.5²⁾ 沸点: 187²⁾ で分解²⁾ 蒸気圧: 1.31×10^{-3} Pa (25²⁾)</p>	-	-	>2470mg/m ³	-

[引用元]

- *1(*2、*3を除く) 農薬ハンドブック 2005年版 (社団法人日本植物防疫協会)
- *2 国際化学物質安全計画 環境保健クイテリア (http://www.inchem.org/pages/ehc.html)
- *3 国立行政法人製品評価技術基盤機構 化学物質総合情報提供システム
- *4 航空防除用農薬環境影響評価検討会報告書 (平成9年12月環境庁水質保全局)
- *5 以下の資料より散布後の最高気中濃度を抜粋
 - ・航空防除用農薬環境影響評価検討会報告書 (平成9年13月環境庁水質保全局)
 - ・環境省農薬残留対策総合調査における気中濃度測定結果について (平成18年度第2回農薬飛散リスク評価手法等確率調査検討会 参考資料5)
 - ・その他の研究機関における気中濃度測定結果について (暫定版) (平成18年度第2回農薬飛散リスク評価手法等確率調査検討会 参考資料6)
- *6 フェニトロチオンの毒性試験の概要 (日本農薬学会誌 13, 401-405 (1988))

(別紙2) 試験計画(案)

(注1) 第2回部会での検討結果等を踏まえ修正した。

(注2) 曝露方法について、試験機関の設備上の制限からガスでの試験ができない場合があることを考慮した。

試験計画(案)

1. 目的

(本試験計画の技術的要件等は、OECD テストガイドライン 412 またはその改訂案を基本とすること等を記述。)

2. 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。

3. 曝露方法

(1) 平成19年度に実施した予備試験の結果を踏まえ、原則として全身曝露型吸入装置を用いることとする。

(2) 被検物質は原則としてミスト又はダスト状態で曝露させることとし、可能な場合ガス状態でも曝露させることとする。曝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 改定案(22±3、30-70%)に従う。

(3) 曝露中は、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曝露させる場合は、粒子径分布のモニタリングは実施しない。

4. 曝露期間

(1) 亜急性の吸入毒性を評価する観点から、今回の試験では曝露期間は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、曝露させる。

5. 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

原則として、ミストまたはダストで3段階以上の被検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。

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。

対照群は空気を曝露させることとし、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。

【参考】

・資料3別紙1から計算したDEPのガスの飽和濃度及びミストでのNOEL:

	飽和濃度	NOEL
DEP	0.022mg/m ³	12.7mg/m ³

このため、ガスのみでは何ら影響を示さない可能性があると予想されるため、可能であればガスの飽和状態で1濃度区を設定するとともに、ミストまたはダストでの試験で用量反応関係を見ることを想定。

6. 観察及び検査

観察及び検査項目は、OECD改定案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（試験終了時に血漿中サイトカイン、胸腺、脾臓のリンパ球のサブセットを測定）する。

(注2:第2回部会での審議結果)

- ・急性神経毒性試験ガイドライン(2-1-7)で定めている「観察と検査」のうち、還流固定による組織の固定は行わない。
- ・急性遅発性神経毒性試験ガイドライン(2-1-8)による検査は実施しない。
- ・血中の被検物質濃度測定は実施しない。
- ・尿中の代謝物測定は行わない。

【論点】

- ・有機リン系農薬以外の成分について試験を行う場合に、上記「観察及び検査」に記述された検査項目を実施することについて。
- ・血漿中サイトカイン、脾臓並びに胸腺のリンパ球のサブセットの測定範囲について。

7. 被検物質

- (1) 被検物質は純品とし、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) 被検物質の組成については、分析の上、報告をすることとする。

以上