

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

- 1 . 「フェニトロチオンのラットにおける 4 週間反復吸入毒性試験」(翻訳文)
(実施機関 : 住友化学、実施年 : 2003 年 GLP)

- 2 . 「Sumithion の毒性 モルモットによる皮膚アレルギー試験」
(実施機関 : 住友化学、実施年 : 1972 年)

- 3 . 「モルモットにおけるスミチオン 22% 乳剤の吸入によるアレルギー性喘息についての検討」(翻訳文)
(実施機関 : 住友化学、実施年 : 1977 年)

- 4 . Immunotoxicological Insignificance of Fenitrothion in Mice and Rats.
Fundamental and Applied Toxicology 33, 246-253 (1996)

フェニトロチオンの亜急性吸入毒性および免疫系に対する影響について

1. 吸入毒性

方法	結果	出典
方法：鼻部曝露 (1日6時間、週5日間、4週間曝露) 設定濃度：0、2、4、8 mg/m ³ (実測濃度：2.0、3.8、7.4 mg/m ³)	無毒性量：4 mg/m ³ (コリンエステラーゼ 阻害に基づく)	住友化学技術報告 (2003年)

2. アレルギー性

(1) 皮膚感作性試験(モルモット)：獲得免疫(細胞性)

方法	結果	出典
Landsteiner-Draize's method (皮内投与)	陰性	住友化学技術報告 (1972年)

(2) 吸入感作性(モルモット)(抗原性)：獲得免疫(液性)

方法	結果	出典
全身曝露(226, 688 mg/m ³) 感作：2 hr/day × 7 days 誘発：1 hr (最終感作7日後)	陰性	住友化学技術報告 (1977年)

3. 免疫毒性(免疫抑制/亢進)：生体の免疫反応/バランスの変動

投与量×期間：マウス 10, 20, 40 mg/kg, po × 14日間

ラット 0.3, 3, 30 mg/kg, po × 14日間

(Systemic ChE activity に基づいて設定, 高用量は LD50 値の 1/25)

分類	試験種	動物種	結果
獲得免疫(液性)	T細胞依存性抗体産生(TDAR)試験	ラット・マウス	陰性
獲得免疫(液性)	Arthus 反応	ラット	陰性
獲得免疫(細胞性)	遅延型過敏(DTH)反応	ラット	陰性
獲得免疫(細胞性)	リンパ球幼若化(B細胞およびT細胞)	ラット	陰性
獲得免疫(細胞性)	リンパ球混合培養(MLA)	マウス	陰性
自然免疫	NK細胞活性検査	ラット	陰性
自然免疫	マクロファージ貪食能	ラット	陰性
-	リンパ球サブセット解析(CD4, CD8)	ラット	陰性

出典) Fundamental and Applied Toxicology 33, 246-253 (1996)

最終報告書

表題

フェニトロチオンのラットにおける4週間反復吸入毒性試験

試験番号

3839

試験完了日

平成15年8月29日

試験施設

住友化学株式会社 生物環境科学研究所

注) 翻訳文作成にあたり、個人情報等に係わる内容を省略した。

試験表題： フェニトロチオンのラットにおける 4 週間反復吸入毒性試験

試験番号： 3839

本試験は、以下の GLP に従って実施したものであります。

日本国農林水産省「農薬の毒性に関する試験の適正実施に係る基準」 11 農産 6283 号、
農産園芸局長通知

OECD Principles of Good Laboratory Practice

試験の信頼性もしくは整合性あるいは本報告書の結果の解釈に影響を及ぼす上記規則からの逸脱はなかった。

試験責任者

日付

(署名)

平成 15 年 8 月 29 日

住友化学株式会社
生物環境科学研究所

信頼性保証書

原文 P. 3

試験表題： フェニトロチオンのラットにおける4週間反復吸入毒性試験
 試験番号： 3839

本試験の検閲を当施設の信頼性保証部門に関する標準操作手順書に従って実施した。検閲日および検閲結果の運営管理者および試験責任者への報告日は次の通りである。

検閲項目	検閲日	報告日	
	QAU	試験責任者	運営管理者
試験計画書	平成 15 年 2 月 28 日	平成 15 年 2 月 28 日	平成 15 年 3 月 3 日
試験計画書変更書	平成 15 年 4 月 11 日	平成 15 年 4 月 14 日	平成 15 年 4 月 15 日
動物飼育	平成 15 年 3 月 11 日	平成 15 年 3 月 11 日	平成 15 年 3 月 12 日
検疫	平成 15 年 3 月 11 日	平成 15 年 3 月 11 日	平成 15 年 3 月 12 日
体重	平成 15 年 3 月 11 日	平成 15 年 3 月 11 日	平成 15 年 3 月 12 日
動物飼育	平成 15 年 3 月 19 日	平成 15 年 3 月 20 日	平成 15 年 3 月 20 日
曝露	平成 15 年 3 月 19 日	平成 15 年 3 月 20 日	平成 15 年 3 月 20 日
摂餌量	平成 15 年 3 月 19 日	平成 15 年 3 月 20 日	平成 15 年 3 月 20 日
気中濃度測定	平成 15 年 3 月 19 日	平成 15 年 3 月 20 日	平成 15 年 3 月 20 日
粒子径測定	平成 15 年 3 月 19 日	平成 15 年 3 月 20 日	平成 15 年 3 月 20 日
被験物質溶液調製	平成 15 年 3 月 24 日	平成 15 年 3 月 25 日	平成 15 年 3 月 25 日
動物飼育	平成 15 年 4 月 11 日	平成 15 年 4 月 14 日	平成 15 年 4 月 16 日
曝露	平成 15 年 4 月 11 日	平成 15 年 4 月 14 日	平成 15 年 4 月 16 日
摂餌量	平成 15 年 4 月 11 日	平成 15 年 4 月 14 日	平成 15 年 4 月 16 日
眼科学的検査	平成 15 年 4 月 11 日	平成 15 年 4 月 14 日	平成 15 年 4 月 16 日
気中濃度測定	平成 15 年 4 月 11 日	平成 15 年 4 月 14 日	平成 15 年 4 月 16 日
剖検	平成 15 年 4 月 14 日	平成 15 年 4 月 15 日	平成 15 年 4 月 15 日
臓器重量	平成 15 年 4 月 14 日	平成 15 年 4 月 15 日	平成 15 年 4 月 15 日
病理組織学的検査	平成 15 年 4 月 18 日	平成 15 年 4 月 21 日	平成 15 年 4 月 23 日
生データ	平成 15 年 7 月 8 日 ～7 月 16 日	平成 15 年 7 月 18 日	平成 15 年 7 月 22 日
報告書草案	平成 15 年 8 月 26 日	平成 15 年 8 月 28 日	平成 15 年 9 月 2 日
最終報告書	平成 15 年 9 月 1 日	平成 15 年 9 月 2 日	平成 15 年 9 月 2 日

本報告書は試験に用いた方法および手順を正確に記述しており、報告された結果は試験の生データを正確に反映している。

信頼性保証責任者

日付

(署名)

平成 15 年 9 月 2 日

住友化学株式会社
 生物環境科学研究所

試験日程

原文 P. 4

試験開始日	: 平成 15 年 2 月 28 日
動物入荷日	: 平成 15 年 3 月 4 日
保定チューブ馴化期間	: 平成 15 年 3 月 15 日～3 月 18 日
群分け日	: 平成 15 年 3 月 18 日
実験開始日 (曝露開始日)	: 平成 15 年 3 月 19 日 (曝露 1 日目)
曝露期間終了日	: 平成 15 年 4 月 13 日 (曝露最終日)
解剖日	: 平成 15 年 4 月 14 日
実験終了日 (病理組織学的検査終了日)	: 平成 15 年 6 月 17 日
試験完了日	: 平成 15 年 8 月 29 日

試験責任者および試験従事者

(省略)

目次

原文 P. 7

	<u>原文頁</u>	<u>翻訳頁</u>
要約	9	7
目的	11	8
材料および方法	12	8
結果	23	18
考察および結論	26	21
引用文献	28	23
Figures		<u>原文頁</u>
1. Diagram of mist generator and animal exposure system for nose only inhalation toxicity study		29
2-1. Body weights (Male)		30
2-2. Body weights (Female)		31
Tables		<u>原文頁</u>
1. Nominal aerial concentration		32
2-1. Actual aerial concentration – Chemical analysis data		36
2-2. Actual aerial concentration – Gravimetric analysis data		37
3. Particle size distribution		41
4. Temperature in exposure chamber		45
5. Relative humidity in exposure chamber		46
6. Oxygen concentration in exposure chamber		47
7. Clinical signs – summary of findings		48
8. Body weights – group mean values		60
9. Incremental body weight gains – group mean values		62
10. Food consumption – group mean values		64
11. Urinalysis – summary of findings		66
12. Ophthalmology – summary of findings		70
13. Hematology – group mean values		74
14. Blood biochemistry – group mean values		80
15. Change of cholinesterase activity – group mean values		86
16. Absolute organ weights – group mean values		88
17. Relative organ weights – group mean values		92
18. Gross pathology – summary of findings		96
19. Histopathology – summary of findings		98
Appendices		<u>原文頁</u>
1. Chemical analysis report		108
2. Clinical signs – individual findings		127
3. Body weights – individual values		141

原文 P. 8

4.	Incremental body weight gains – individual values	143
5.	Food consumption – cage mean values	145
6.	Urinalysis – individual values	147
7.	Ophthalmology – individual values	149
8.	Hematology – individual values	157
9.	Blood biochemistry – individual values	163
10.	Changes of cholinesterase activity – individual values	169
11.	Absolute organ weights – individual values	171
12.	Relative organ weights – individual values	175
13.	Gross pathology – individual findings	179
14.	Histopathology – individual findings	187
A.	Rack and cage arrangement	213
B.	Animal allocation	214
C.	Allowance levels of contaminants in rodent diet and drinking water	215
D.	Certificate of Quality – Test substance	217

要約

原文 P. 9

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。

原文 P. 10

目的

原文 P. 11

フェニトロチオンは有機リン系化合物の 1 つであり、住友化学株式会社によって合成されている。

フェニトロチオンの安全性評価の一環として、雌雄の SD 系ラットにフェニトロチオンを 0、2、4 および 8 mg/m³ の濃度で 4 週間曝露し、その亜急性毒性を検討した。

本試験は、OECD の試験ガイドライン「OECD 412 Guidelines for testing of chemicals, 1981 年 5 月 12 日採択」に準じて実施した。

材料および方法

原文 P. 12

1. 被験物質

本試験に用いたフェニトロチオン (Lot No. : 20622G、純度 : 95.5%、性状 : 液体、有効期限 : 2006 年 4 月 10 日) は住友化学株式会社から入手した。本被験物質は被験物質保管室 (436 号室) の冷蔵庫 (識別番号 S098) に保管した。被験物質の保管中の温度は 4~7℃ であった。

2. 試験動物

4 週齢の Crj : CD (SD) 雌雄ラット 60 匹 (雄 30 匹、雌 30 匹) を日本チャールス・リバー株式会社 (日野飼育センター、滋賀) から購入した。試験動物としての Crj : CD (SD) ラットの選択は、以下のいくつかの根拠に基づいた : 当該試験のガイドラインで特定された動物種のひとつであること、その遺伝学および微生物学的統御が明確であること、また当該試験施設にはこの系統の背景データが十分にあること。7 日間の検疫期間後、8 日間の馴化期間を設けた。馴化期間中、曝露開始前 4 日間については、1 日目は 1 時間、2 日目は 2 時間、3 日目は 4 時間および 4 日目は 6 時間、動物を保定チューブに收容した。検疫および馴化期間中は一般症状を 1 日 1 回、ただし曝露開始前の馴化 4 日間においてはチューブへの保定前後の 1 日 2 回の頻度で観察した。体重測定は、入荷翌日、検疫終了日および群分け時に行った。検疫期間終了時に全動物について眼科学的検査を実施し、両眼の角膜、虹彩、結膜、水晶体、硝子体および眼底を観察した。全ての動物は、検疫期間中の一般症状、体重、眼科学的検査から正常と判定された。しかしながら、馴化期間の最終日に、雌 1 例 (馴化動物番号 2008) の頸背部に痂皮がみられた。一般症状、体重、眼科学的検査に基づき正常な雌雄各 20 匹を群分けに用い、試験動物として供した。曝露直前に統計学的解析を行い、各群の平均体重は群間に有意差はなく、動物体重の変動は全動物の平均体重の 20% 以内であることを確認した。曝露開始時の週齢は雌雄とも 6 週齢、体重範囲は雄 179~211 g、

雌 139～163 g であった。

3. 動物飼育

原文 P. 13

動物は室温 22～26℃、相対湿度 40～70%、換気回数 10 回以上/時間および明暗サイクルを 12 時間明期 (8:00～20:00)、12 時間暗期 (20:00～8:00) に自動制御された封鎖方式による動物室 (429 号室および 432 号室) で飼育した。429 号室および 432 号室の室温の実測値はそれぞれ 23.8～24.1℃および 23.7～24.3℃、相対湿度の実測値はそれぞれ 54.0～61.7%および 48.1～63.6%であった。前面および床面が金網の懸垂式アルミニウム製ケージ (224W × 419D × 200H mm、ヤマト科学株式会社、東京) (Appendix B) に 1 ケージあたり 2～3 匹収容した。ケージは、収納ケージ数 25 (5 段、5 列) のアルミニウム製ケージ棚 (ヤマト科学株式会社) (Appendix A) に収納した。ケージの下にはアルミニウム製のケージ用受皿 (ヤマト科学株式会社) を置いた。ケージ棚は群分け日に高圧蒸気滅菌済のものとの交換した。ケージは週 1 回、高圧蒸気滅菌済のものとの交換した。受皿は週 2～3 回の頻度で、高圧蒸気滅菌済のものとの交換した。

4. 飼料および飲料水

⁶⁰Co 照射滅菌済 (30 kGy) 固型飼料 CRF-1 (オリエンタル酵母工業株式会社、東京) をアルミニウム製給餌器 (ヤマト科学株式会社) から自由に摂取させた。濾過済み水道水を自動給水装置 (ラボ・エンジニアリング株式会社、静岡) のノズルを介して、自由に摂取させた。動物を保定チューブに馴化している時間中および曝露時間中は、飼料および飲水を与えなかった。給餌器は週 1 回の頻度で、ノズルは群分け日に、高圧蒸気滅菌済のものとの交換した。

本試験に使用した飼料 (Lot No. 030110) については、供給源であるオリエンタル酵母工業株式会社が実施したロットの品質検査結果を入手した。当試験施設で採取した飲料水の定期的水質検査結果を入手した (分析機関：株式会社田岡化学分析センター、大阪市淀川区西三国 4 丁目 2-11)。

飼料および飲料水のいずれの項目についても、夾雑物の濃度は当研究所標準操作手順書に定める許容範囲内であった (Appendix C)。

5. 試験構成

(1) 群分け

群分け日に体重を測定後、コンピュータ・プログラムを用いて、各動物の体重を指標とする層別無作為抽出法で各群の平均体重がほぼ等しくなるように各群に割り付けた。雌 1 例 (馴化動物番号 2008) は一般症状における異常のため群分けより除外した。曝露開始日
原文 P. 14
の曝露前に体重を測定し、群間で平均体重に有意差がないことを確認するために一元配置分散分析を実施した。群間で平均体重に統計学的有意差がないことを再度確認した後では、各動物の体重は全動物の平均体重の±20%の範囲内であった。試験に用いなかった動物 (雄

10 例、雌 10 例) は暴露初日 (平成 15 年 3 月 19 日) に安楽死させた。

(2) 動物とケージの識別

検疫、飼育および馴化期間中の個体識別は、各動物の尾に油性インクで付けた検疫動物番号の下 2 桁により行った。各ケージには、ケージ番号、検疫動物番号を記入したカードを添付した。群分けの後は、各動物の識別は、尾に油性インクで付けた動物番号で行った。各ケージに、試験番号、試験略称、群名、性別、ケージ番号および動物番号を記入した色分けしたカードを添付した。カードは各群異なる色とした。

(3) 曝露濃度および群構成

フェニトロチオンの曝露濃度は 2、4 および 8 mg/m³ とした。溶媒対照としては、コーンオイルのみを曝露した。各群には雌雄各 5 匹を使用した。群構成を以下に示す。

Text table 1.

群	動物数 (動物番号)	
	雄	雌
溶媒対照	5 (1~5)	5 (51~55)
フェニトロチオン 2 mg/m ³	5 (6~10)	5 (56~60)
フェニトロチオン 4 mg/m ³	5 (11~15)	5 (61~65)
フェニトロチオン 8 mg/m ³	5 (16~20)	5 (66~70)

6. 曝露方法

(1) 曝露経路選択の根拠

ヒトにおいて曝露の可能性のある経路の 1 つであることから吸入経路を選択した。鼻部曝露は吸入毒性試験に通常用いられる。

(2) 曝露装置

曝露装置の概要を Figure. 1 に示した。

曝露中は、動物を保定チューブ (直径：9.4 cm、高さ：32 cm、1 匹/保定チューブ、ADG Developments 社、英国) に 1 匹ずつ収容した。動物を収容した保定チューブを鼻部曝露チャンバー (内容積：0.03 m³、ADG Developments 社、英国) に装着し、曝露を開始した。曝露時間中は動物に飼料および飲水を与えなかった。被験物質をマイクロシリンジポンプ

原文 P. 15

(Model 230、ニューロサイエンス株式会社、東京) を用いて自動的にガラス製ネブライザー (Radleys、英国) に注入し、0.3 Mpa の圧縮空気圧および 20 L/min の空気流量で被験物質を噴射し、鼻部曝露チャンバー内に各濃度のミストエアロゾルを発生させた。チャンバーからの排気はブローポンプを用いて制御した -10~-100 mmH₂O の範囲の陰圧下で行った。曝露時間中のチャンバー内の温度、湿度および通気量は曝露開始時より約 1 時間毎に確認

した。酸素濃度の測定は曝露中に2回行った。

(3) 被験物質の調製

1次希釈液(13.3%)に必要な被験物質を秤量してフラスコに入れた。秤量した被験物質を溶媒(コーンオイル)とよく混合して目標の希釈を行った。被験物質とコーンオイルの入ったフラスコを十分に振とうした。1次希釈液を濃度1.33%の溶液(8 mg/m³)に希釈した。この2次希釈液を希釈して0.67%(4 mg/m³)および0.33%(2 mg/m³)の溶液を調製した。4週間の曝露期間中における各濃度の溶液の調製は5日間分を1週間に1回の頻度で行った。噴射液中のフェニトロチオンの安定性については、「噴射液中のフェニトロチオンの安定性分析(試験番号:JCL99712)¹⁾」において、フェニトロチオンは冷蔵庫内(4~7℃)で7日間あるいは室温で8時間安定であることが確認された。したがって、被験物質調製後は、噴射液は密封して4~7℃で使用時まで保管した。噴射液は調製後5日以内に使用した。使用せずに保管していた調製溶液部分は、その使用期間の終了後に廃棄した。

(4) 曝露期間

OECD Guideline 412に従い、曝露は1日連続6時間、週に連続5日間とした。

7. 気中濃度の測定

曝露期間中に全ての曝露群の気中濃度を1日に3回測定した。ガラスフィルター(GF-75、直径47 mm、アドバンテック東洋株式会社、大阪)をセットしたサンプリングホルダー(CR Equipment SA社、スイス)をFigure 1に示すサンプリングラインに接続し、フローメーター付エアサンプラー(CR Equipment SA社、スイスおよび株式会社北浜製作所、大阪)を用いて曝露チャンバー内の空気10 Lを1 L/minの速度で吸引した。気中濃度はガラスフィルターに捕集された被験物質の重量分析により算出した。ガラスフィルターに捕集された被験物質の化学分析は曝露開始日、曝露8日目、15日目および22日目に株式会社住化分析センター(大阪市此花区春日出中3丁目1番135号)で行った。

原文 P. 16

8. 粒子径の測定

全ての曝露群についての粒子径の測定を曝露期間中に1回実施した。微量用カスケードインパクター(Marple model 296、柴田科学器械工業株式会社、東京)を用いてFigure 1に示すサンプリングラインを通して、全ての群について曝露チャンバー内のミストエアロゾルを1 L/minの速度で4 L吸引した。微量用カスケードインパクターに採取したミストエアロゾルの重量を測定した。ミスト粒子の空気力学的直径の分布に基づき、Probit法により空気力学的中位径(MMAD)および幾何学的標準偏差(GSD)を算出した。

9. 酸素濃度測定

酸素濃度は曝露期間中に2回測定した。曝露チャンバー内の酸素濃度は酸素濃度計測装

置 (OMR-K6R、株式会社ジコー、東京) を用いて Figure 1 に示すサンプリングラインから測定した。

10. 観察および測定項目

(1) 一般症状

曝露期間中は、曝露前、曝露中、曝露後に全動物の一般症状の観察を行った。曝露を行わなかった日の一般症状観察は1日1回行った。

(2) 体重

全動物の体重を1日目(曝露開始日)、8、15、22 および 26 日目の曝露開始前に測定した。全動物の最終体重の測定は屠殺日に行った。体重増加量は、個々の動物について前回の体重からの差(増減)を算出した。

(3) 摂餌量

曝露期間中に週1回の頻度で、体重測定日を含む2日間の摂餌量をケージ毎に測定した。1日1匹当たりの摂餌量は以下の方法に従って計算した。

原文 P. 17

$$\text{摂餌量 (g/匹/日)} = \frac{\text{測定期間の消費量 (g)}}{\text{測定期間 (日)} \times \text{ケージ内生存動物数}}$$

(4) 尿検査

曝露 4 週目の午前中(曝露前)に、腹部圧迫によって全動物から新鮮尿を採取した。マルチスティックス(バイエル・メディカル株式会社、東京)を用いてText table 2に示した項目について検査を実施した。

Text table 2. 尿検査

項目	単位または程度	方法	機器
PH	5.0~9.0 ≤	試験紙	A
糖	--~+3	試験紙	A
蛋白	--~+3	試験紙	A
潜血	--~+3	試験紙	A
ケトン体	--~+3	試験紙	A
ビリルビン	--~+3	試験紙	A
ウロビリノーゲン	0.1~8.0 ≤	試験紙	A

マルチスティックス
(バイエル・
メディカル株式
会社、東京)

A: Clinitek 200+ (バイエル・メディカル株式会社、東京)

(5) 眼科学的検査

曝露 4 週目に全動物の両眼の角膜、虹彩、結膜、水晶体、硝子体および眼底を眼底カメ

ラを用いて観察した。散瞳剤にはミドリンP（参天製薬株式会社、大阪）を用い、Table text 3 に示した項目について検査した。

Text table 3. 眼科学的検査

項目	方法
結膜	眼底カメラ Genesis (興和オプチメド株式会社、東京)
角膜	
虹彩	
水晶体	
硝子体	
眼底	

(6) 血液学的検査

曝露終了時の屠殺前の16時間、全動物を絶食させた。ただし、飲料水は与えた。腹部大動脈より採血し、動物を放血致死させた。約1 mLの血液試料を抗凝固剤のEDTA-2Kで処理し、Text table 4 に示す凝血関連以外の項目について検査した。メイ・ギムザ染色した血液塗沫標本を全動物について作製したが、ADVIA 120 を用いた測定において異常がなかったため検査はしなかった。

原文 P. 18

また、3.8%クエン酸ナトリウムを抗凝固剤として添加した血液約2 mLを処理して血漿を得て、Text table 4 に示す凝血関連項目について測定した。

Text table 4. 血液学的検査

項目	単位	方法	機器
赤血球数	$\times 10^6/\mu\text{L}$	Differential light scattering cytometry	A
血色素量	g/dL	Cyanmethemoglobin method	A
ヘマトクリット値	%	Calculated from RBC and MCV; $\text{RBC} \times \text{MCV}/10$	A
平均赤血球容積	fL	Differential light scattering cytometry	A
平均赤血球色素量	pg	Calculated from RBC and HGB; $\text{HGB}/\text{RBC} \times 10$	A
平均赤血球色素濃度	g/dL	Calculated from HGB, RBC and MCV; $\text{HGB}/(\text{RBC} \times \text{MCV}) \times 10^3$	A
網赤血球数	$\times 10^4/\mu\text{L}$	RNA staining cytometry & Differential light scattering cytometry	A
白血球数	$\times 10^3/\mu\text{L}$	Differential light scattering cytometry	A
好中球数	$\times 10^3/\mu\text{L}$	Enzyme cytometry	A
リンパ球数	$\times 10^3/\mu\text{L}$	Enzyme cytometry	A
単球数	$\times 10^3/\mu\text{L}$	Enzyme cytometry	A
好酸球数	$\times 10^3/\mu\text{L}$	Enzyme cytometry	A

項目	単位	方法	機器
好塩基球数	$\times 10^3/\mu\text{L}$	Differential light scattering cytometry	A
血小板数	$\times 10^3/\mu\text{L}$	Differential light scattering cytometry	A
プロトンピン時間	sec	Light scattering detection method	B
活性部分トロンボプラスチン時間	sec	Light scattering detection method	B
フィブリノーゲン量	mg/dL	Light scattering detection method	B

A: Hematology System ADVIA120 (Bayer Diagnostics Manufacturing Ltd., Berkshire, 英国)

B: Automated Blood Coagulation Analyzer CA-5000 (シスメックス株式会社、兵庫)

(7) 血液生化学的検査

前項(6)に示した方法で採取した血液のうち血液学的検査に用いなかった約2 mLを抗凝固剤のヘパリンナトリウムで処理して血漿を得て、Text table 5に示す項目について測定した。

Text table 5. 血液生化学的検査

項目	単位	方法	機器
総蛋白	g/dL	Biuret method	C
アルブミン	g/dL	Bromcresol green method	C
アルブミン/グロブリン比	-	Calculated from TP and ALB (ALB/(TP-ALB))	C
血糖	mg/dL	Enzymatic method	C
総コレステロール	mg/dL	Enzymatic method	C
トリグリセライド	mg/dL	Enzymatic method	C
リン脂質	mg/dL	Enzymatic method	C
総ビリルビン	mg/dL	Enzymatic method	C
尿素窒素	mg/dL	Enzymatic method	C
クレアチニン	mg/dL	Enzymatic method	C
アルカリ性ホスファターゼ	U/L	JSCC recommended method	C
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	U/L	JSCC recommended method	C
アラニンアミノトランスフェラーゼ	U/L	JSCC recommended method	C
γ -グルタミルトランスペプチターゼ	U/L	JSCC recommended method	C
クレアチンホスホキナーゼ	U/L	JSCC recommended method	C
乳酸脱水素酵素	U/L	JSCC recommended method	C
ナトリウム	mEq/L	Electrode method	C
カリウム	mEq/L	Electrode method	C
クロール	mEq/L	Electrode method	C

原文 P. 19

項目	単位	方法	機器
カルシウム	mg/dL	o-cresolphthalein complexone method	C
無機リン	mg/dL	Enzymatic method	C

原文 P. 19

C : Clinical Biochemistry Analyzer JCA-BM1250 (日本電子株式会社、東京)

(8) コリンエステラーゼ活性

前項(7)に示した方法で得た、血漿試料と残った赤血球、および脳の右半球を、Text table 6 に示した項目の測定に用いた。

Text table 6. コリンエステラーゼ活性

項目	単位	方法	機器
血漿コリンエステラーゼ	U/L	DNB Method	C
脳コリンエステラーゼ	U/g	DNB Method	C
赤血球コリンエステラーゼ	U/L	DNB Method	C

C : Clinical Biochemistry Analyzer JCA-BM1250 (日本電子株式会社、東京)

(9) 剖検と固定

前項(6)に示した方法で放血致死させた全動物について、以下に示した器官および組織を摘出した。肉眼的検査を実施した後、10%中性緩衝ホルマリン液(眼球はダビットソン液、精巣は FSA 液で固定の後に、10%中性緩衝ホルマリン液で固定)で固定した。残体は病理組織学的検査の後に廃棄した。

原文 P. 20

肝臓	咽頭
腎臓	喉頭
脾臓	舌
心臓	胃
肺	小腸(十二指腸、空腸、回腸)
脳(延髄、橋、小脳、大脳)	大腸(盲腸、結腸、直腸)
胸腺	膵臓
前立腺	腸間膜リンパ節
精巣	胸部大動脈
下垂体	脊髓(胸部)
甲状腺および上皮小体	坐骨神経
副腎	大腿骨および胸骨(骨髓を含む)
卵巣	骨格筋(大腿部)
眼球(視神経を含む)	膀胱

ハーダー腺	腹部皮膚
外涙腺	精巣上体
唾液腺（顎下線、舌下線）	精囊（凝固腺を含む）
顎下リンパ節	子宮
鼻腔（頭部）	膣
気管	乳腺
食道	肉眼的異常部

(10) 臓器重量

剖検時に摘出した以下の器官、組織（*印の器官については、10%中性緩衝ホルマリン液で1日以上固定後）について重量を測定した。相対重量（体重比臓器重量）は屠殺時の体重に基づいて算出した。

肝臓	副腎*
腎臓	精巣
脾臓	卵巣*
心臓	下垂体
肺	前立腺
脳	甲状腺および上皮小体
胸腺	

原文 P. 21

(11) 病理組織学的検査

溶媒対照群およびフェニトロチオン 8 mg/m³ 群の雌雄について、第 10 (9) 項に示す全ての器官/組織の病理組織学的検査を行った。固定した器官/組織は脱水し、パラフィンに包埋した。その後、薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (H.E) 染色を行い、光学顕微鏡を用いて検査した。最高投与濃度で被験物質曝露に関連した所見が認められなかったことから、フェニトロチオンの 2 および 4 mg/m³ 群については雌雄いずれの器官についても病理組織学的検査は実施しなかった。

11. 統計学的解析方法

体重、体重増加量、摂餌量、尿検査（定量値）、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、臓器重量および体重比臓器重量について、まず Bartlett の等分散検定を行った。群間の有意差の検定には、等分散の場合は Dunnett の検定、不等分散の場合は Steel の検定を用いた。

剖検および程度を伴わない病理組織学的検査の所見については、Fisher の検定法によって解析した。尿検査（半定量値）および程度を伴う病理組織学的検査については、Mann-Whitney の U 検定を用いて、溶媒対照群とフェニトロチオン曝露の比較を行った。

いずれの検定においても両側検定を行った。有意水準 5%および 1%でもって有意差を評価した。

一般症状および眼科的検査については、統計学的解析は行わなかった。

12. 曝露日数の算出法

曝露の第 1 日目を「1 日目」と定義し、以降、1 日目を起算日として相対日数を示した。曝露開始週の 5 日間を「1 週目」と定義した。

原文 P. 22

13. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書からの逸脱

(1) 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態

① 剖検時に溶媒対照群の雌 1 例（動物番号：51）の右側甲状腺を紛失したため、甲状腺の重量測定はできなかった。

② それぞれ抗凝固剤である EDTA-2K および 3.8%クエン酸ナトリウムで処理した動物番号 68 の血液学的検査用試料の血小板およびフィブリンの凝集が認められたので、この試料における血小板数 (PLT)、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) およびフィブリノーゲン量 (FIB) の適切な測定はできなかった。

上記の予見することができなかった事態については、測定動物数は、試験計画書に記載の動物数を満たさなかった。しかしながら、データの欠落は動物 1 例についてのみであり、試験の評価に対して影響はないと考えられた。

(2) 試験計画書からの逸脱

本試験において、試験計画書からの逸脱はなかった。

14. 資料の保管

試験計画書、全ての標本、全ての生データ、関連する記録および最終報告書は当試験施設の資料保管施設に保管する。気中濃度の化学分析に関するデータは株式会社住化分析センター（大阪）の資料保管施設に保管する。

結果

原文 P. 23

1. 気中濃度 (Table 1、2-1、2-2、Appendix 1)

(1) 名目気中濃度 (Table 1)

各群における名目気中濃度および噴射量は以下に示す通りであった。

群	コーンオイルまたはフェニトロチオンの名目気中濃度	コーンオイルまたはフェニトロチオンの噴射量
溶媒対照 (コーンオイルのみ)	3.97 mg/m ³	28.56 g
フェニトロチオン 2 mg/m ³	9.69 mg/m ³	21.13 g
フェニトロチオン 4 mg/m ³	28.1 mg/m ³	30.22 g
フェニトロチオン 8 mg/m ³	43.6 mg/m ³	23.60 g

(2) 実測気中濃度 (Table 2-1、2-2、Appendix 1)

フェニトロチオン曝露群における実測気中濃度 (化学分析および重量分析) の平均値は以下に示す通りであった。

群	実測気中濃度	
	化学分析	重量分析
溶媒対照	-	619 mg/m ³
フェニトロチオン 2 mg/m ³	2.0 mg/m ³	2.06 mg/m ³
フェニトロチオン 4 mg/m ³	3.8 mg/m ³	4.01 mg/m ³
フェニトロチオン 8 mg/m ³	7.4 mg/m ³	8.01 mg/m ³

2. 粒子径 (Table 3)

各群におけるミストエアロゾルの空気力学的中位径 (MMAD) と幾何学的標準偏差 (GSD) は以下に示す通りであった。

群	MMAD (μm)	GSD
溶媒対照	2.67	2.14
フェニトロチオン 2 mg/m ³	2.25	2.10
フェニトロチオン 4 mg/m ³	3.04	2.09
フェニトロチオン 8 mg/m ³	2.20	2.29

3. チャンバー内の温度、湿度、通気量および酸素濃度 (Table 4、5、6)

チャンバー内の温度、湿度、通気量および酸素濃度は以下に示す通りであった。

原文 P. 24

群	温度 (C)	湿度 (%)	通気量 (L/min)	酸素濃度 (%)
溶媒対照	22.3~25.3	25.5~76.3	20	20.3~20.6
フェニトロチオン 2 mg/m ³	21.7~23.7	17.1~74.5	20	20.4~20.8
フェニトロチオン 4 mg/m ³	21.7~23.7	22.9~73.3	20	20.4~20.7
フェニトロチオン 8 mg/m ³	21.8~23.7	18.2~70.7	20	20.5~20.8

4. 死亡および一般症状 (Table 7, Appendix 2)

—死亡—

途中死亡動物はなかった。

—一般症状—

曝露期間中に、汚れ、被毛の湿潤、脱毛あるいは痂皮がフェニトロチオン曝露群で認められたが、用量と対応した症状ではなく、また、その一部は溶媒対照群にも認められた症状であることから、いずれも投与に関連した症状とは考えられなかった。

5. 体重および体重増加量 (Figure 2-1, 2-2, Table 8, 9, Appendix 3, 4)

曝露期間中、投与に関連した変化は認められなかった。

6. 摂餌量 (Table 10, Appendix 5)

曝露期間中、投与に関連した変化は認められなかった。

7. 尿検査 (Table 11, Appendix 6)

雌雄いずれの検査項目にも有意差は認められなかった。

8. 眼科学的検査 (Table 12, Appendix 7)

投与に関連する所見は認められなかった。

9. 血液学的検査 (Table 13, Appendix 8)

統計学的に有意なリンパ球数の減少が 2 mg/m³ 群の雄に認められた。しかし、この変化は用量と対応したものではなく、投与に関連したものではなかった。

原文 P. 25

10. 血液生化学検査 (Table 14, Appendix 9)

8 mg/m³ において、雌ではトリグリセライドの有意な減少、雄ではクレアチンホスホキナーゼの有意な減少が認められた。

統計学的に有意な変化が以下の通り認められた：2 mg/m³ の雄における総蛋白およびアルブミンの増加、4 mg/m³ の雌におけるアルカリ性ホスファターゼの増加。しかし、これらの変化は用量と対応したものではなく、投与に関連したものではなかった。

11. コリンエステラーゼ活性 (Table 15, Appendix 10)

統計学的に有意な血漿コリンエステラーゼ活性の低下が、8 mg/m³の雄（対照群の値の81%）、4 mg/m³の雌（対照群の56%）および8 mg/m³の雌（対照群の29%）に認められた。

統計学的に有意な脳のコリンエステラーゼ活性の低下が、4 mg/m³の雄（対照群の値の93%）、8 mg/m³の雄（対照群の88%）および8 mg/m³の雌（対照群の68%）に認められた。

統計学的に有意な赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が、8 mg/m³の雄（対照群の値の74%）および8 mg/m³の雌（対照群の49%）に認められた。

12. 臓器重量 (Table 16, 17, Appendix 11, 12)

フェニトロチオン曝露群の雌雄ともに、溶媒対照群と比較して有意な差はなかった。

13. 剖検 (Table 18, Appendix 13)

被験物質の曝露に起因すると考えられる変化は認められなかった。

14. 病理組織学的検査 (Table 19, Appendix 14)

被験物質の曝露に起因すると考えられる変化は認められなかった。

考察および結論

原文 P. 26

フェニトロチオンの安全性評価の一環として、雌雄の Crj : CD (SD) ラットに 0、2、4 および 8 mg/m³ の用量で 1 日に 6 時間、週に 5 日間の 4 週間反復吸入毒性試験を実施し、その亜急性毒性を検討した。

フェニトロチオンの気中濃度を 2、4 および 8 mg/m³ (実測気中濃度：2.0、3.8 および 7.4 mg/m³) に設定し、ミストエアロゾルとして鼻部曝露を行った。ミストエアロゾルの空気力学的中位径 (MMAD) は 2 mg/m³ 群で 2.25 μm、4 mg/m³ 群で 3.04 μm、8 mg/m³ 群で 2.20 μm、幾何学的標準偏差 (GSD) は各群においてそれぞれ 2.10、2.09 および 2.29 であった。よって、各曝露チャンバーは実験期間を通じて適切な曝露条件となった。

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、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。

有機リン系の農薬は一般にコリンエステラーゼ活性を抑制することは既知である。本試験では、フェニトロチオン濃度が 4 mg/m³ 以上でコリンエステラーゼ活性の抑制がみられ、フェニトロチオンが生体内に吸収されることにより生物学的影響を生じたことが示された。FAO/WHO (JMPR) では脳と赤血球のコリンエステラーゼ活性の統計学的に有意な 20% 以上の阻害を明瞭な毒性学的影響とみなしている²⁾。この基準に従えば、本試験におけるフェニトロチオンによる毒性学的に意義のあるコリンエステラーゼ阻害レベルは 8 mg/m³ と解釈される。つまり、4 mg/m³ では毒性学的意義のある変化が認められなかったことから、無毒性量 (NOAEL) は 4 mg/m³ と考えられる。

血液生化学検査において 8 mg/m³ 群の雌にトリグリセライドの有意な減少が認められた。しかしながら、この変化は、総コレステロールあるいは肝臓の病理組織学的所見などの有意な変化を伴っていないことから、毒性学的意義は乏しいと考えられた。同様に、8 mg/m³ 群の雄でクレアチンホスホキナーゼの減少が認められたが、一般的にはクレアチンホスホキナーゼの上昇には毒性学的意義があるということから、また、心臓および骨格筋には病理組織学的変化が認められなかったことから、この変化の毒性学的意義はないと考えられた。

原文 P. 27

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は雌雄とも 4 mg/m^3 (化学分析による実測気中濃度平均値： 3.8 mg/m^3) と考えられた。

引用文献

- 1) Kimura E., Stability analysis of fenitrothion in injection solution (Study No.:JCL99712), (2000)
- 2) Pesticide residues, Guideline for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues, Geneva, (December 2000)

Figures 1、 2

Tables 1－19

注) 最終報告書(英文)の p29～p107

Appendices は添付を省略。

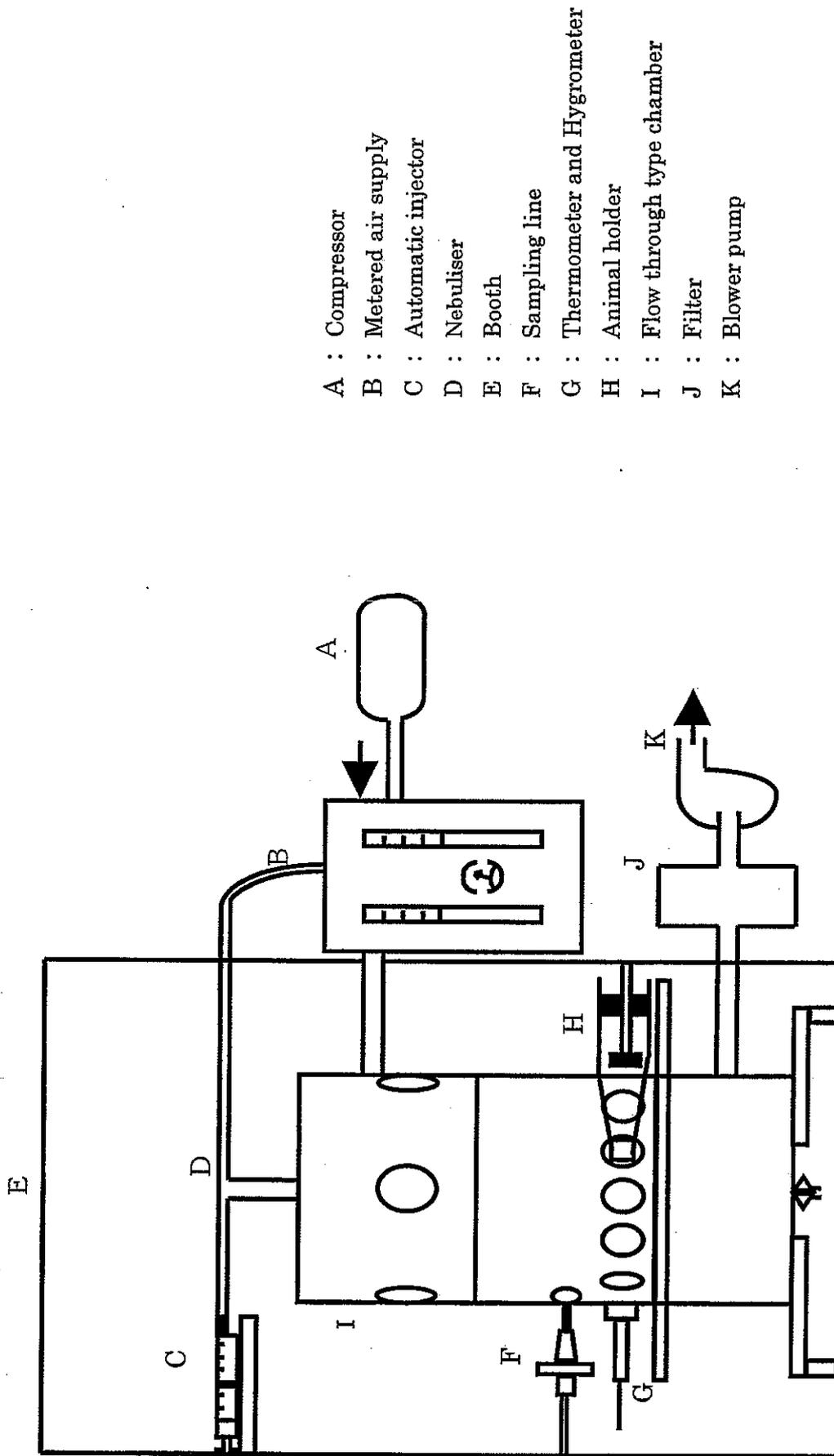


Figure 1. Diagram of mist generator and animal exposure system for nose only inhalation toxicity study

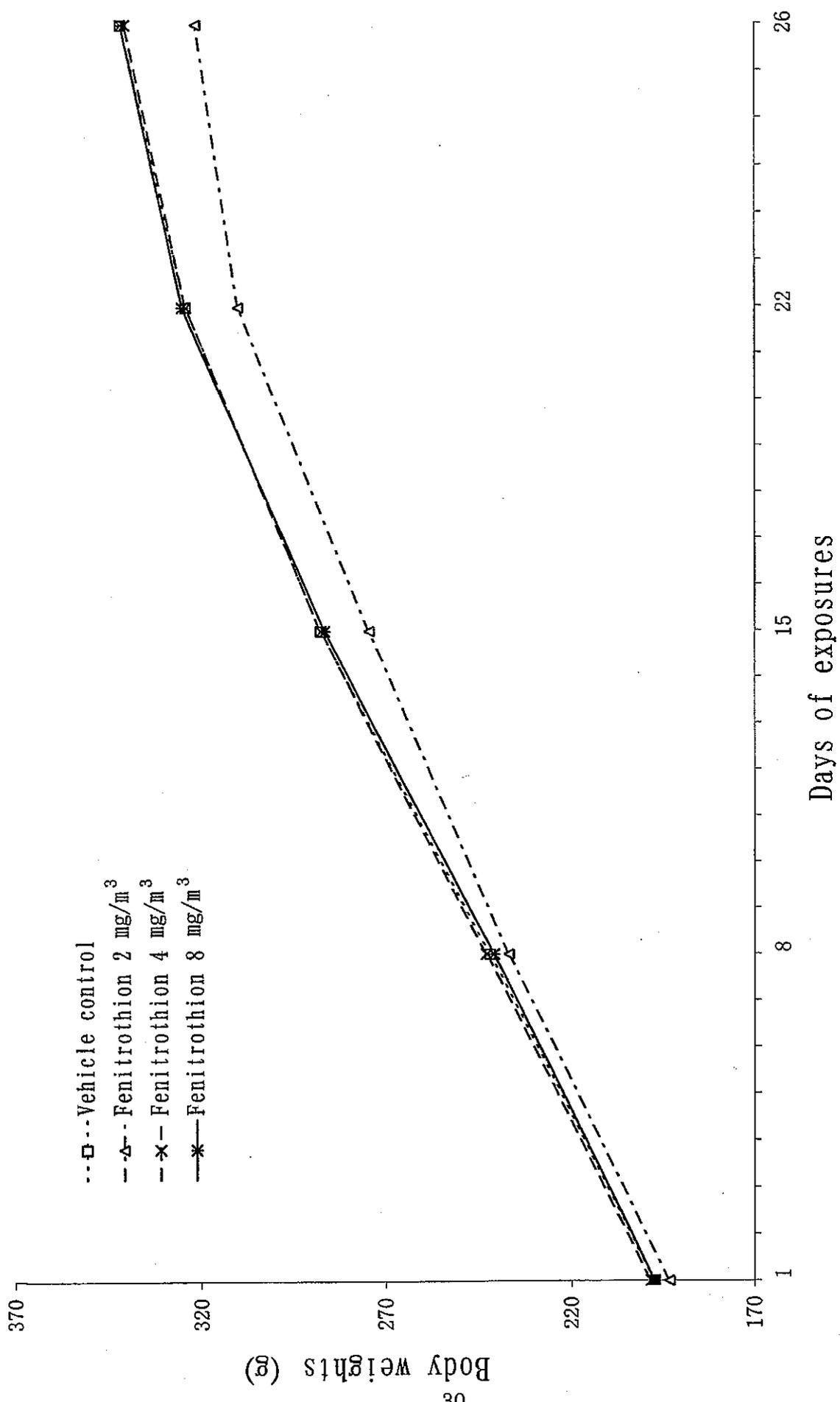


Figure 2-1. Body weights (Male)

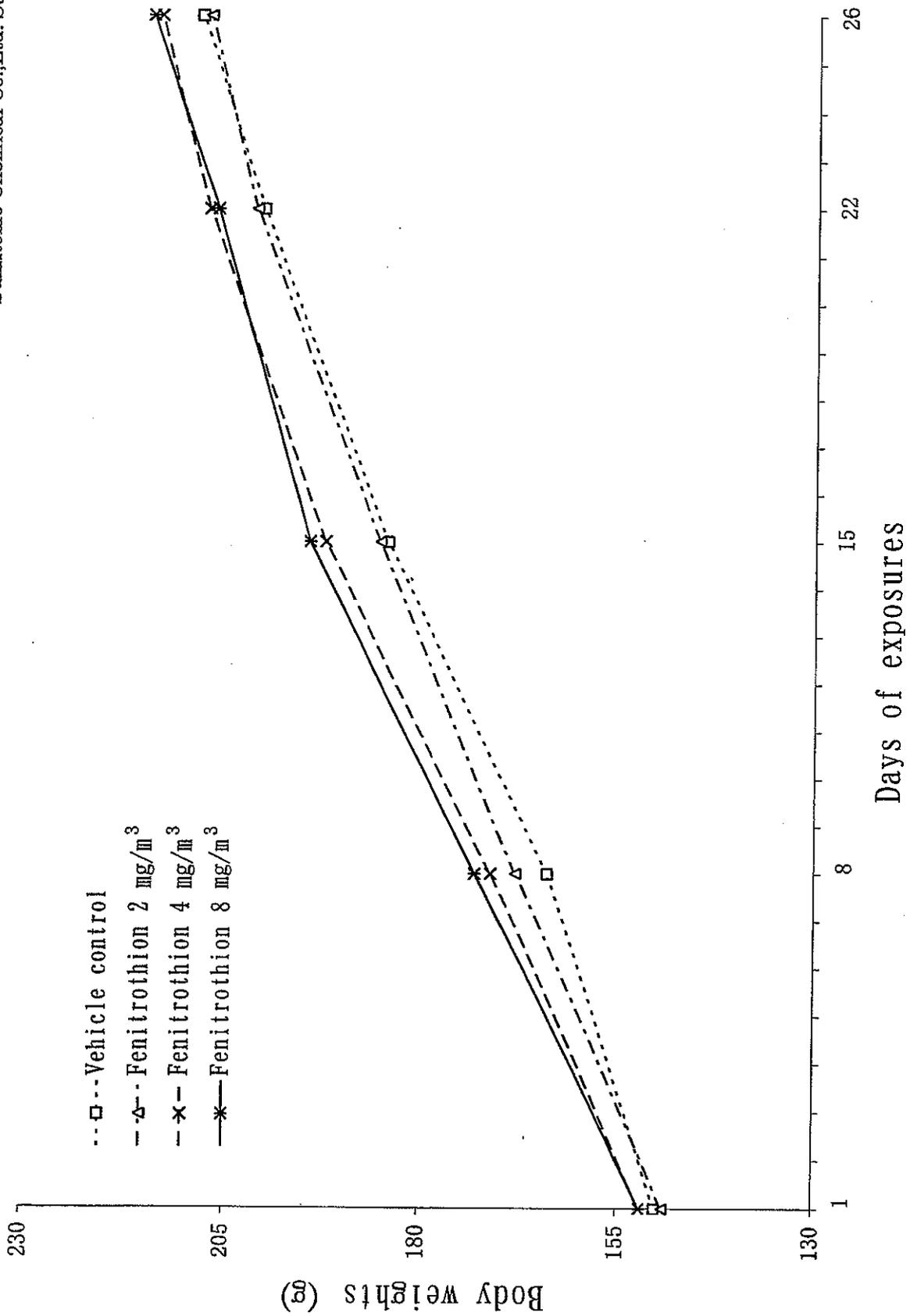


Figure 2-2. Body weights (Female)

Table 1. Nominal aerial concentration

Group and dose	Days of exposure	Amount of corn oil sprayed (g)	Nominal aerial concentration of corn oil (g/m ³)	
Vehicle control	1	26.17	3.63	
	2	28.67	3.98	
	3	28.54	3.96	
	4	28.48	3.96	
	5	28.71	3.99	
	8	28.51	3.96	
	9	28.69	3.98	
	10	28.62	3.98	
	11	28.41	3.95	
	12	28.69	3.98	
	15	28.59	3.97	
	16	28.57	3.97	
	17	28.67	3.98	
	18	28.63	3.98	
	19	28.61	3.97	
	22	30.14	4.19	
	23	28.83	4.00	
	24	28.60	3.97	
	25	28.70	3.99	
	26	28.44	3.95	
		Mean	28.56	3.97
		S.D.	0.667	0.093

$$\begin{aligned} \text{Nominal aerial concentration} &= \frac{\text{Amount of corn oil sprayed (g)}}{\text{Air flow rate} \times \text{Spraying time}} \\ &= \frac{\text{Amount of corn oil sprayed (g)}}{0.020(\text{m}^3/\text{min}) \times 360\text{min}} \end{aligned}$$

Table 1. Nominal aerial concentration (continued)

Group and dose	Days of exposure	Amount of Fenitrothion & corn oil sprayed (g)	Nominal aerial concentration of Fenitrothion (mg/m ³)	
Fenitrothion 2mg/m ³	1	19.21	8.81	
	2	20.45	9.37	
	3	20.14	9.24	
	4	20.15	9.24	
	5	20.51	9.41	
	8	20.22	9.27	
	9	20.17	9.24	
	10	20.23	9.27	
	11	20.09	9.21	
	12	20.27	9.31	
	15	20.23	9.27	
	16	22.82	10.5	
	17	22.11	10.1	
	18	22.11	10.1	
	19	22.81	10.5	
	22	22.29	10.2	
	23	22.17	10.2	
	24	22.10	10.1	
	25	22.54	10.3	
	26	22.02	10.1	
	Mean		21.13	9.69
	S.D.		1.156	0.530

$$\begin{aligned}
 \text{Nominal aerial concentration} &= \frac{\text{Amount of Fenitrothion \& Corn oil sprayed (g)}}{\text{Air flow rate} \times \text{Spraying time}} \times \text{Concentration of Fenitrothion} \times 1000 \\
 &= \frac{\text{Amount of Fenitrothion \& Corn oil sprayed (g)}}{0.020(\text{m}^3/\text{min}) \times 360\text{min}} \times \text{Concentration of Fenitrothion} \times 1000
 \end{aligned}$$

Table 1. Nominal aerial concentration (continued)

Group and dose	Days of exposure	Amount of Fenitrothion & corn oil sprayed (g)	Nominal aerial concentration of Fenitrothion (mg/m ³)	
Fenitrothion 4mg/m ³	1	25.79	24.0	
	2	30.51	28.4	
	3	30.25	28.1	
	4	30.27	28.1	
	5	30.43	28.3	
	8	30.10	28.0	
	9	30.11	28.0	
	10	30.29	28.2	
	11	30.03	27.9	
	12	30.33	28.2	
	15	30.11	28.0	
	16	30.16	28.1	
	17	30.41	28.3	
	18	30.14	28.1	
	19	29.95	27.9	
	22	30.97	28.8	
	23	31.77	29.5	
	24	31.73	29.5	
	25	31.91	29.7	
	26	29.10	27.1	
	Mean		30.22	28.1
	S.D.		1.242	1.15

$$\begin{aligned} \text{Nominal aerial concentration} &= \frac{\text{Amount of Fenitrothion \& Corn oil sprayed (g)}}{\text{Air flow rate} \times \text{Spraying time}} \times \text{Concentration of Fenitrothion} \times 1000 \\ &= \frac{\text{Amount of Fenitrothion \& Corn oil sprayed (g)}}{0.020(\text{m}^3/\text{min}) \times 360\text{min}} \times \text{Concentration of Fenitrothion} \times 1000 \end{aligned}$$

Table 1. Nominal aerial concentration (continued)

Group and dose	Days of exposure	Amount of Fenitrothion & corn oil sprayed (g)	Nominal aerial concentration of Fenitrothion (mg/m ³)	
Fenitrothion 8mg/m ³	1	23.20	42.8	
	2	23.75	43.9	
	3	23.50	43.4	
	4	23.56	43.5	
	5	23.83	44.0	
	8	23.57	43.5	
	9	23.85	44.0	
	10	23.45	43.4	
	11	23.42	43.2	
	12	23.73	43.9	
	15	23.58	43.6	
	16	23.50	43.4	
	17	23.87	44.2	
	18	23.52	43.5	
	19	23.44	43.4	
	22	23.67	43.8	
	23	23.51	43.5	
	24	23.68	43.8	
	25	23.88	44.2	
	26	23.47	43.4	
		Mean	23.60	43.6
		S.D.	0.179	0.35

$$\begin{aligned} \text{Nominal aerial concentration} &= \frac{\text{Amount of Fenitrothion \& Corn oil sprayed (g)}}{\text{Air flow rate} \times \text{Spraying time}} \times \text{Concentration of Fenitrothion} \times 1000 \\ &= \frac{\text{Amount of Fenitrothion \& Corn oil sprayed (g)}}{0.020(\text{m}^3/\text{min}) \times 360\text{min}} \times \text{Concentration of Fenitrothion} \times 1000 \end{aligned}$$

Table 2-1. Actual aerial concentration - Chemical analysis data

Group and dose	Concentration of Fenitrothion in test solution (%(wt/wt))	Days of exposure	Times	Analytical data ^{a)}	Actual aerial concentration ^{b)}		
				(mg/ filter)	(mg/m ³)		
Fenitrothion 2mg/m ³	0.33	1	1st	0.017	1.7		
			2nd	0.022	2.2		
		8	1st	0.019	1.9		
			2nd	0.020	2.0		
		15	1st	0.019	1.9		
			2nd	0.019	1.9		
		22	1st	0.019	1.9		
			2nd	0.021	2.1		
				Mean	0.020	2.0	
				S.D.	0.0015	0.15	
		Fenitrothion 4mg/m ³	0.67	1	1st	0.034	3.4
					2nd	0.037	3.7
8	1st			0.042	4.2		
	2nd			0.042	4.2		
15	1st			0.040	4.0		
	2nd			0.035	3.5		
22	1st			0.034	3.4		
	2nd			0.036	3.6		
				Mean	0.038	3.8	
				S.D.	0.0034	0.34	
Fenitrothion 8mg/m ³	1.33			1	1st	0.063	6.3
					2nd	0.078	7.8
		8	1st	0.074	7.4		
			2nd	0.078	7.8		
		15	1st	0.077	7.7		
			2nd	0.063	6.3		
		22	1st	0.076	7.6		
			2nd	0.079	7.9		
				Mean	0.074	7.4	
				S.D.	0.0067	0.67	

a) Amount of Fenitrothion in glass filter trapping air (10L) in the exposure chamber

b) Actual aerial concentration of Fenitrothion = Analytical data / Trapping air (10L) × 1000

Table 2-2. Actual aerial concentration - Gravimetric analysis data

Group and dose	Concentration of Fenitrothion in test solution (%(wt/wt))	Days of exposure	Times	Analytical data ^{a)}	Actual aerial concentration ^{b)}
				(mg/ filter)	(mg/m ³)
Vehicle control	0	1	1st	4.58	458
			2nd	5.12	512
			3rd	5.59	559
		2	1st	5.83	583
			2nd	5.76	576
			3rd	5.76	576
		3	1st	5.53	553
			2nd	5.60	560
			3rd	5.62	562
		4	1st	6.45	645
			2nd	6.90	690
			3rd	6.56	656
		5	1st	6.22	622
			2nd	6.15	615
			3rd	6.02	602
		8	1st	6.30	630
			2nd	6.17	617
			3rd	6.28	628
		9	1st	6.07	607
			2nd	6.51	651
			3rd	6.28	628
		10	1st	5.79	579
			2nd	6.21	621
			3rd	6.28	628
		11	1st	6.42	642
			2nd	6.82	682
			3rd	6.59	659
		12	1st	6.22	622
			2nd	6.59	659
			3rd	6.52	652
15	1st	5.61	561		
	2nd	6.24	624		
	3rd	6.43	643		
16	1st	6.70	670		
	2nd	6.89	689		
	3rd	6.89	689		
17	1st	6.53	653		
	2nd	6.53	653		
	3rd	6.47	647		
18	1st	6.98	698		
	2nd	6.16	616		
	3rd	6.38	638		
19	1st	6.24	624		
	2nd	6.64	664		
	3rd	6.62	662		
22	1st	5.26	526		
	2nd	5.36	536		
	3rd	5.87	587		
23	1st	7.40	740		
	2nd	6.49	649		
	3rd	4.32	432		
24	1st	6.43	643		
	2nd	6.10	610		
	3rd	6.00	600		
25	1st	6.45	645		
	2nd	6.27	627		
	3rd	6.32	632		
26	1st	6.43	643		
	2nd	6.45	645		
	3rd	6.34	634		
			Mean	6.19	619
			S.D.	0.547	54.7

a) Amount of corn oil in glass filter trapping air (10L) in the exposure chamber

b) Actual aerial concentration of corn oil = Analytical data / Trapping air (10L) × 1000

Table 2-2. Actual aerial concentration - Gravimetric analysis data (continued)

Group and dose	Concentration of Fenitrothion in test solution (%(wt/wt))	Days of exposure	Times	Analytical data ^{a)}	Actual aerial concentration ^{b)}
				(mg/ filter)	(mg/m ³)
Fenitrothion 2mg/m ³	0.33	1	1st	5.81	1.92
			2nd	5.57	1.84
			3rd	6.27	2.07
		2	1st	6.48	2.14
			2nd	6.26	2.07
			3rd	6.25	2.06
		3	1st	6.10	2.01
			2nd	6.40	2.11
			3rd	6.16	2.03
		4	1st	5.83	1.92
			2nd	5.86	1.93
			3rd	6.20	2.05
		5	1st	6.35	2.10
			2nd	6.20	2.05
			3rd	6.32	2.09
		8	1st	5.82	1.92
			2nd	5.86	1.93
			3rd	5.99	1.98
		9	1st	6.07	2.00
			2nd	6.03	1.99
			3rd	6.29	2.08
		10	1st	6.31	2.08
			2nd	7.32	2.42
			3rd	6.02	1.99
		11	1st	5.80	1.91
			2nd	5.96	1.97
			3rd	6.18	2.04
		12	1st	6.12	2.02
			2nd	6.09	2.01
			3rd	6.11	2.02
		15	1st	5.85	1.93
			2nd	5.69	1.88
			3rd	5.64	1.86
		16	1st	6.87	2.27
			2nd	6.77	2.23
			3rd	6.64	2.19
		17	1st	6.99	2.31
			2nd	6.46	2.13
			3rd	6.72	2.22
		18	1st	6.19	2.04
			2nd	6.25	2.06
			3rd	6.12	2.02
		19	1st	6.57	2.17
			2nd	6.53	2.15
			3rd	6.48	2.14
		22	1st	6.50	2.15
			2nd	6.36	2.10
			3rd	6.47	2.14
23	1st	6.24	2.06		
	2nd	6.34	2.09		
	3rd	6.24	2.06		
24	1st	6.27	2.07		
	2nd	6.47	2.14		
	3rd	6.43	2.12		
25	1st	6.38	2.11		
	2nd	6.48	2.14		
	3rd	6.55	2.16		
26	1st	6.37	2.10		
	2nd	6.28	2.07		
	3rd	6.02	1.99		
			Mean	6.25	2.06
			S.D.	0.327	0.109

a) Amount of Fenitrothion&corn oil in glass filter trapping air (10L) in the exposure chamber

b) Actual aerial concentration of Fenitrothion = Analytical data × Concentration of Fenitrothion in test solution / Trapping air (10L) × 1000

Table 2-2. Actual aerial concentration - Gravimetric analysis data (continued)

Group and dose	Concentration of Fenitrothion in test solution (%wt/wt)	Days of exposure	Times	Analytical data ^{a)}	Actual aerial concentration ^{b)}
				(mg/ filter)	(mg/m ³)
Fenitrothion 4mg/m ³	0.67	1	1st	5.53	3.71
			2nd	5.43	3.64
			3rd	5.47	3.66
		2	1st	5.34	3.58
			2nd	6.33	4.24
			3rd	5.98	4.01
		3	1st	6.38	4.27
			2nd	6.30	4.22
			3rd	6.26	4.19
		4	1st	6.10	4.09
			2nd	5.98	4.01
			3rd	6.12	4.10
		5	1st	6.07	4.07
			2nd	5.95	3.99
			3rd	6.16	4.13
		8	1st	6.12	4.10
			2nd	6.18	4.14
			3rd	6.16	4.13
		9	1st	5.90	3.95
			2nd	6.01	4.03
			3rd	6.04	4.05
		10	1st	6.16	4.13
			2nd	6.09	4.08
			3rd	6.27	4.20
		11	1st	6.20	4.15
			2nd	6.00	4.02
			3rd	6.07	4.07
		12	1st	6.19	4.15
			2nd	6.17	4.13
			3rd	6.09	4.08
		15	1st	6.07	4.07
			2nd	5.96	3.99
			3rd	6.15	4.12
		16	1st	5.80	3.89
			2nd	5.80	3.89
			3rd	6.02	4.03
		17	1st	6.11	4.09
			2nd	6.12	4.10
			3rd	6.14	4.11
		18	1st	6.00	4.02
			2nd	5.67	3.80
			3rd	5.92	3.97
		19	1st	5.89	3.95
			2nd	5.60	3.75
			3rd	5.47	3.66
		22	1st	5.51	3.69
			2nd	5.50	3.69
			3rd	5.53	3.71
23	1st	6.26	4.19		
	2nd	6.04	4.05		
	3rd	6.06	4.06		
24	1st	6.41	4.29		
	2nd	5.92	3.97		
	3rd	5.91	3.96		
25	1st	6.42	4.30		
	2nd	6.69	4.48		
	3rd	7.03	4.71		
26	1st	5.22	3.50		
	2nd	5.42	3.63		
	3rd	5.48	3.67		
			Mean	5.99	4.01
			S.D.	0.336	0.224

a) Amount of Fenitrothion&corn oil in glass filter trapping air (10L) in the exposure chamber

b) Actual aerial concentration of Fenitrothion = Analytical data × Concentration of Fenitrothion in test solution / Trapping air (10L) × 1000

Table 2-2. Actual aerial concentration - Gravimetric analysis data (continued)

Group and dose	Concentration of Fenitrothion in test solution (%(wt/wt))	Days of exposure	Times	Analytical data ^{a)}	Actual aerial concentration ^{b)}
				(mg/ filter)	(mg/m ³)
Fenitrothion 8mg/m ³	1.33	1	1st	5.16	6.86
			2nd	5.94	7.90
			3rd	5.92	7.87
		2	1st	6.10	8.11
			2nd	6.02	8.01
			3rd	5.97	7.94
		3	1st	6.01	7.99
			2nd	6.20	8.25
			3rd	5.97	7.94
		4	1st	5.77	7.67
			2nd	5.86	7.79
			3rd	5.72	7.61
		5	1st	5.78	7.69
			2nd	5.92	7.87
			3rd	6.09	8.10
		8	1st	5.62	7.47
			2nd	5.81	7.73
			3rd	5.70	7.58
		9	1st	5.74	7.63
			2nd	5.81	7.73
			3rd	5.89	7.83
		10	1st	5.84	7.77
			2nd	5.81	7.73
			3rd	6.01	7.99
		11	1st	6.09	8.10
			2nd	6.07	8.07
			3rd	6.17	8.21
		12	1st	5.97	7.94
			2nd	6.04	8.03
			3rd	6.14	8.17
		15	1st	5.88	7.82
			2nd	5.84	7.77
			3rd	5.88	7.82
		16	1st	5.83	7.75
			2nd	5.97	7.94
			3rd	6.01	7.99
		17	1st	6.07	8.07
			2nd	6.00	7.98
			3rd	5.99	7.97
		18	1st	5.94	7.90
			2nd	5.96	7.93
			3rd	5.88	7.82
		19	1st	6.06	8.06
			2nd	6.10	8.11
			3rd	5.91	7.86
		22	1st	6.17	8.21
			2nd	6.18	8.22
			3rd	6.16	8.19
23	1st	6.29	8.37		
	2nd	6.59	8.76		
	3rd	6.58	8.75		
24	1st	6.50	8.65		
	2nd	6.47	8.61		
	3rd	6.40	8.51		
25	1st	6.20	8.25		
	2nd	5.89	7.83		
	3rd	6.13	8.15		
26	1st	6.34	8.43		
	2nd	6.53	8.68		
	3rd	6.37	8.47		
			Mean	6.02	8.01
			S.D.	0.250	0.333

a) Amount of Fenitrothion&corn oil in glass filter trapping air (10L) in the exposure chamber

b) Actual aerial concentration of Fenitrothion = Analytical data × Concentration of Fenitrothion in test solution / Trapping air (10L) × 1000