最終報告書

四臭化エタンのラットを用いる単回経口投与毒性試験

（試験番号：００－２５６）

財団法人　畜産生物科学安全研究所

目次

要約----------1
目的----------2
材料および方法----------2
結果----------4
考察----------5

添付資料

Figure 1&2　用量-反応曲線----------6

群別平均表

Table 1　死亡率----------7
Tables 2&3　一般状態----------8
Table 4　体重----------10
Tables 5&6　剖検----------11

個体別表等

Appendix 1　被験物質の特性----------13
Appendix 2　被験物質の安定性----------14
Appendix 3　動物室の温度・湿度----------15
Appendix 4　飼料中汚染物質の分析結果----------16
Appendix 5　飲料水水質検査の結果----------20
Appendices 6&7　一般状態----------21
Appendices 8&9　体重----------27
Appendices 10&11　剖検----------29

要　約

四臭化エタンの急性毒性を調べるために，雌雄それぞれ 1 群 5 匹の SD 系[Crj:CD(SD)IGS]ラットに， 0，612，722，852，1005，1186 および 1400mg/kg 用量を単回経口投与した．

投与後，自発運動の低下および腹臥位がみられ，少数に振戦も観察された．さらに死亡例では，深大呼吸を呈す例もみられた．死亡は，雄で 722mg/kg 以上，雌で 852mg/kg 以上の群でみられ，大部分は，投与後 1 時間以降から 24 時間までの間に死亡した．生存例の症状は，観察 2 日には概ね回復した．観察 4 日の体重測定において，雌雄とも用量依存的な体重増加の抑制傾向がみられた．剖検においては，死亡例で膀胱の尿貯溜が認められた．生存例では異常は認められなかった．

以上の結果より，四臭化エタンのラットの経口投与における LD_{50} 値(95%信頼限界)は，雄 924(792-1070)mg/kg，雌 925(775-1105)mg/kg であった．

目　的

四臭化エタンについて，ラットの経口投与における急性毒性を明らかにする．

材料および方法

1．被験物質

四臭化エタン（CAS No. 79-27-6）は，油に可溶な無色または淡黄色の透明な液体である．試験には，　　から入手したロット番号　　（純度　99.2%）を，冷暗（4℃）条件下で保管し，使用した．本被験物質の詳細は，Appendix 1 に示す．試験に使用した被験物質は，試験終了後に分析し，試験期間中安定であったことを確認した（Appendix 2）．分析は，　　に委託して実施した．

2．供試動物および飼育条件

SD 系[Crj:CD(SD)IGS]の SPF ラットを日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県厚木市下古沢 795）より搬入（4 週齢の雌雄各 41 匹）し，5 日間試験環境に馴化させ，その間に検疫を行い，一般状態の良好な雌雄各 35 匹を，雌雄とも 5 週齢で試験に供した．投与時の平均体重（体重の範囲）は，雄 116(109～123)g，雌 100(93～106)g であった．

動物は，馴化期間および投与後の観察期間とも，室温 22±3℃，湿度 55±10%，換気回数 10 回以上／時（オールフレッシュエアー方式），照明 12 時間／日（午前 7 時点灯，午後 7 時消灯）に設定されたバリアーシステム動物室（第 6 室）で，ステンレス製金網ケージ（260W×380D×180Hmm）に，馴化期間中は 3 匹，投与後は 2 ないし 3 匹ずつ収容して飼育した．飼料（固型飼料ラボMRストック，日本農産工業株式会社，Lot. No. 010461）と飲料水（孔径 1 μm のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水）は，自由に摂取させた．

なお，動物の飼育期間中，動物室の温度は 22.0～22.4℃，湿度は 55～59%の範囲で推移（Appendix 3）し，また飼料および飲料水の汚染物質の分析値（Appendices 4&5）は，当研究所が定めた基準値以下であることが確認された．従って，動物の飼育期間を通じて，試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化はなかったものと判断された．

3．動物数および投与用量

動物は，雌雄とも1群5匹とし，各群への割りつけは，投与直前の体重に基づく層化無作為抽出法により行い，各群の体重分布が均一になるようにした．

投与用量については，予備試験の結果に基づいて設定した．すなわち雌雄各3匹のラットに，被験物質を630，819，1065，1385および1800mg/kgで単回経口投与した結果，それぞれ雄の各群の死亡率は0/3，3/3，2/3，3/3，3/3であり，雌の各群の死亡率は0/3，0/3，2/3，3/3，3/3であった．したがって，本試験の用量は死亡率が0および100%を含み，LD_{50}値が推測できると予測された612,722,852,1005,1186および1400mg/kgの6用量および対照群を設定した．

4．投与液調製および投与方法

本被験物質は水に不溶であるが，オリブ油に可溶なことから，投与液は局方オリブ油（宮澤薬品株式会社，Lot.No.HD18）を溶媒とし，所定の濃度（612mg/kg：6.12 w/v%，722mg/kg：7.22w/v%，852mg/kg：8.52w/v%，1005mg/kg：10.05w/v%，1186mg/kg:11.86w/v%および1400mg/kg:14.00w/v%）になるような溶液に調製した．調製は投与直前に実施した．投与液量は，体重100g当たり1mLとした．

投与方法は，テフロン製胃ゾンデを用い，動物の胃内に単回投与した．なお，動物は投与前日の午後5時から投与後3時間まで除餌し，飲料水のみを自由に摂取させた．投与は，午前中（10:39～11:22）に実施した．

5．観察事項

観察期間は投与後14日間とし，一般状態の観察および生死の確認は，観察1日（投与日）においては投与後1時間まで，1～3時間の間および3～6時間の間に少なくとも1回ずつ行った．観察2日は午前，午後の各1回，観察3日以降は午前中に1回行った．体重は，観察1（投与直前），4，8および15日に測定した．剖検は，死亡動物は発見後速やかに，生存動物は観察15日の観察終了後にエーテル麻酔により安楽死させ，内部器官を肉眼的に観察した．LD_{50}値は，観察終了時の死亡率からプロビット法で算出した．

結　果

1．死亡率およびLD_{50}値(Fig 1 & 2, Table 1)

死亡は雄で722mg/kg以上，雌で852mg/kg以上の群に認められた．雄の死亡率は722および852mg/kg群で20%，1005および1186mg/kg群で80%，1400mg/kgで100%であった．雌の死亡率は852mg/kg群で60%，1005mg/kg群で40%，1186ならびに1400mg/kg群で100%であった．これらの死亡率から算出されたLD_{50}値（95%信頼限界）は，雄924(792-1070)mg/kg，雌925(775-1105)mg/kgであった．

2．一般状態(Tables 2 & 3, Appendices 6 & 7)

被験物質各群の雌雄とも，投与後1時間以内に自発運動の低下および腹臥位がみられた．さらに，少数に振戦が認められた．死亡例では，上記の症状に加えて深大呼吸がみられ，ほとんどは投与後1時間以降から24時間までの間に，1400mg/kgの雄1例のみが観察2日に死亡した．生存例の症状は，観察2日には概ね回復した．なお，雌において，対照群を含む各群に，軟便が散見された．

3．体重推移(Table 4, Appendices 8 & 9)

観察4日の体重測定において，雌雄の612mg/kg以上の群で，用量依存的に体重増加の抑制傾向が認められた．観察8および15日の測定では，対照群と同様な体重増加を示した．

4．剖検(Tables 5 & 6, Appendices 10 & 11)

死亡例において，雄の852mg/kg以上の群および雌の1005mg/kg以上の群で，膀胱の尿貯溜が認められた．生存例では，雌雄とも，内部器官の肉眼的変化は認められなかった．

考　察

四臭化エタンをラットに，0，612，722，852，1005，1186 および 1400mg/kg 用量で単回経口投与し，急性毒性を調べた．

投与後，自発運動の低下，腹臥位および少数に振戦が観察された．さらに死亡例では，深大呼吸を呈す例もみられた．死亡は，雄で 722mg/kg 以上，雌で 852mg/kg 以上の群でみられ，大部分は投与後 1 時間以降から 24 時間までの間に死亡した．生存例の症状は，観察 2 日には概ね回復した．観察 4 日の体重測定において，雌雄の 612mg/kg 以上の群で，用量依存的な体重増加の抑制傾向がみられた．しかし，観察 8 および 15 日の測定では順調な体重増加がみられた．剖検においては，死亡例で膀胱の尿貯溜が認められたが，生存例では異常は認められなかった．

なお，雌において，投与後軟便が散見されたが，被験物質投与との関連性は認められず，溶媒として用いたオリブ油の影響によるものと考えられた．

以上の結果から，四臭化エタンのラットへの単回経口投与における LD_{50} 値（95% 信頼限界）は，雄 924(792-1070)mg/kg，雌 925(775-1105)mg/kg であった．

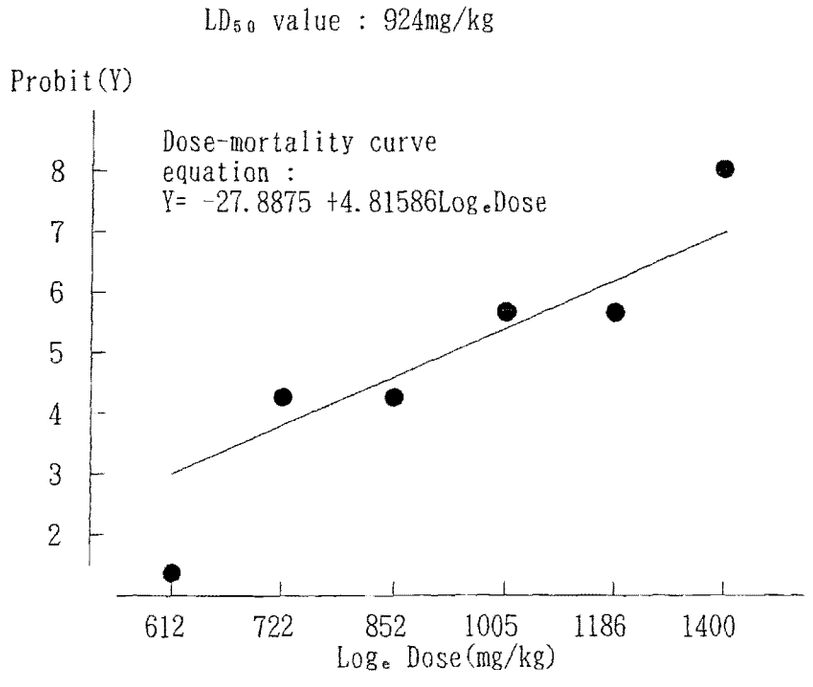

Fig. 1 Dose-mortality curve of acute toxicity in male rats

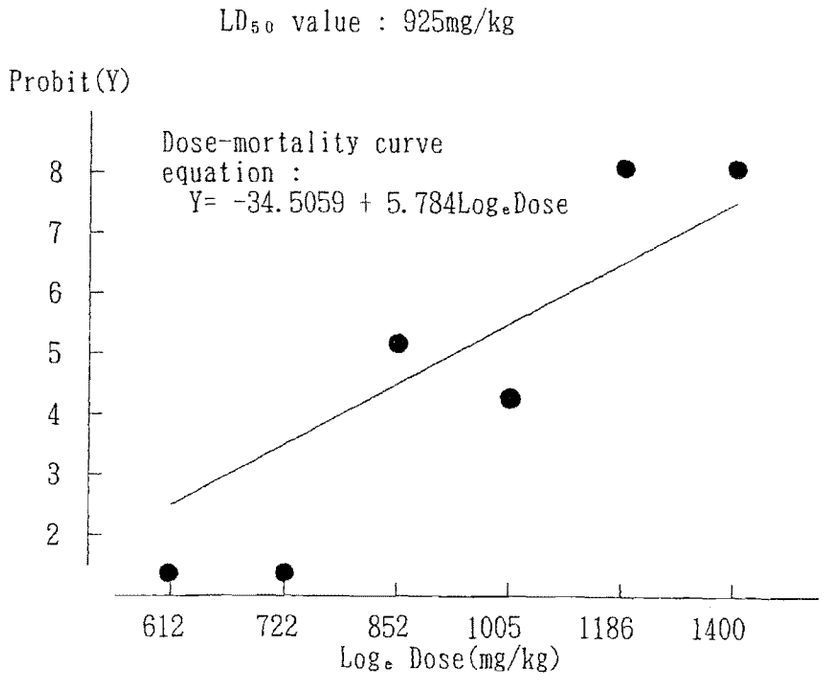

Fig. 2 Dose-mortality curve of acute toxicity in female rats

Table 1 Mortality of rats treated with tetrabromoethane in the single dose oral toxicity test

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals treated	Number of animals that died											Mortality	LD_{50} [95% Confidence limits] (mg/kg)
			1				2	3	4	5	6	7	8～15(days)		
			～1	～3	～6	～24 (hrs)									
Male	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$0^a/5^b$	
	612	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	722	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1/5	924
	852	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1/5	[792 -1070]
	1005	5	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	4/5	
	1186	5	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	4/5	
	1400	5	0	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	5/5	
Female	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	612	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	722	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	925
	852	5	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3/5	[775 - 1105]
	1005	5	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2/5	
	1186	5	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	5/5	
	1400	5	0	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	5/5	

a : Number of animals that died; b : Number of animals treated

Table 2 Clinical signs of male rats treated with tetrabromoethane in the single dose oral toxicity test

Dose (mg/kg)	Findings	Grade	1 ~1	1 ~3	1 ~6 (hrs)	2	3	4~15 (days)
0	Number of animal examined		5	5	5	5	5	5
	Abnormalities detected		0	0	0	0	0	0
612	Number of animal examined		5	5	5	5	5	5
	Decreased locomotor activity	1	1	5	5	0	0	0
		2	4	0	0	0	0	0
	Prone position	1	2	0	0	0	0	0
722	Number of animal examined		5	5	5	4	4	4
	Decreased locomotor activity	1	0	0	3	0	0	0
		2	5	5	2	0	0	0
852	Number of animal examined		5	5	5	4	4	4
	Decreased locomotor activity	1	1	2	2	1	0	0
		2	3	3	3	0	0	0
		3	1	0	0	0	0	0
	Prone position	1	1	2	2	0	0	0
	Tremor	1	0	2	0	0	0	0
1005	Number of animal examined		5	5	5	1	1	1
	Decreased locomotor activity	2	0	0	2	0	0	0
		3	5	5	3	0	0	0
	Prone position	1	5	5	2	0	0	0
	Tremor	1	0	0	1	0	0	0
1186	Number of animal examined		5	5	4	1	1	1
	Decreased locomotor activity	2	0	0	3	0	0	0
		3	5	5	1	0	0	0
	Prone position	1	4	5	1	0	0	0
	Deep respiration	2	1	0	1	0	0	0
1400	Number of animal examined		5	4	3	1	0	0
	Decreased locomotor activity	2	3	0	1	0		
		3	2	4	2	1		
	Prone position	1	2	2	1	1		
	Deep respiration	1	0	0	1	0		
	Tremor	1	0	2	1	1		

Grade, 1 : Slight; 2 : Moderate; 3 : Severe

Table 3 Clinical signs of female rats treated with tetrabromoethane in the single dose oral toxicity test

Dose (mg/kg)	Findings	Grade	1			2	3	4~15 (days)
			1	3	6			
0	Number of animal examined		5	5	5	5	5	5
	Loose stool	1	0	0	1	0	0	0
612	Number of animal examined		5	5	5	5	5	5
	Decreased locomotor activity	1	1	5	5	0	0	0
		2	4	0	0	0	0	0
	Prone position	1	2	0	0	0	0	0
	Loose stool	1	0	0	2	0	0	0
722	Number of animal examined		5	5	5	5	5	5
	Decreased locomotor activity	1	4	3	4	0	0	0
		2	1	2	1	0	0	0
	Loose stool	1	0	0	2	0	0	0
852	Number of animal examined		5	5	5	2	2	2
	Decreased locomotor activity	1	0	0	3	1	0	0
		2	4	5	2	0	0	0
		3	1	0	0	0	0	0
	Prone position	1	2	0	0	0	0	0
	Loose stool	1	0	0	1	0	0	0
1005	Number of animal examined		5	4	4	3	3	3
	Decreased locomotor activity	1	0	0	1	2	0	0
		2	5	4	1	0	0	0
		3	0	0	2	0	0	0
	Prone position	1	2	0	2	0	0	0
1186	Number of animal examined		5	5	3	0	0	0
	Decreased locomotor activity	2	1	3	1			
		3	4	2	2			
	Prone position	1	4	2	2			
	Tremor	1	0	1	-			
	Deep respiration	1	0	1	-			
1400	Number of animal examined		5	3	2	0	0	0
	Decreased locomotor activity	3	5	3	2			
	Prone position	1	4	1	1			
	Deep respiration	1	1	0	1			
	Tremor	1	0	1	0			

Grade, 1 : Slight; 2 : Moderate; 3 : Severe

Table 4 Body weights of rats treated with tetrabromoetane in the single dose oral toxicity test

Sex	Dose (mg/kg)	Body weight (g) Day 1	4	8	15 (days)
Male	0	116 ± 4 (5)	158 ± 6 [41] (5)	193 ± 7 [35] (5)	257 ± 16 [64] (5)
	612	116 ± 4 (5)	144 ± 11 [27] (5)	182 ± 15 [38] (5)	252 ± 20 [70] (5)
	722	117 ± 5 (5)	145 ± 10 [29] (4)	184 ± 14 [39] (4)	250 ± 20 [66] (4)
	852	116 ± 4 (5)	133 ± 10 [18] (4)	174 ± 13 [40] (4)	243 ± 19 [69] (4)
	1005	116 ± 4 (5)	137 [20] (1)	148 [11] (1)	210 [62] (1)
	1186	116 ± 5 (5)	137 [18] (1)	176 [39] (1)	245 [69] (1)
	1400	117 ± 4 (5)			
Female	0	100 ± 4 (5)	134 ± 5 [35] (5)	152 ± 8 [18] (5)	179 ± 11 [27] (5)
	612	100 ± 4 (5)	125 ± 7 [25] (5)	147 ± 10 [22] (5)	171 ± 13 [25] (5)
	722	100 ± 2 (5)	125 ± 3 [26] (5)	154 ± 6 [28] (5)	185 ± 15 [31] (5)
	852	99 ± 3 (5)	118 ± 4 [20] (2)	147 ± 2 [29] (2)	178 ± 5 [31] (2)
	1005	100 ± 3 (5)	118 ± 4 [20] (3)	146 ± 8 [28] (3)	179 ± 11 [33] (3)
	1186	100 ± 2 (5)			
	1400	100 ± 2 (5)			

Values represent mean body weight ± S.D.
[ ]:Mean increase from last body weight measured(g)
( ):Number of animals examined

Table 5 Incidence of necropsy findings of male rats treated with tetrabromoetane in the single dose oral toxicity test

Dose (mg/kg)	Findings	Grade	Fate	
			Terminal kill	Found dead
0	Number of animals examined		5	0
	No abnormalities detected		5	
612	Number of animals examined		5	0
	No abnormalities detected		5	
722	Number of animals examined		4	1
	No abnormalities detected		4	1
852	Number of animals examined		4	1
	No abnormalities detected		4	0
	Urinary bladder : Retention urine	1	0	1
1005	Number of animals examined		1	4
	No abnormalities detected		1	3
	Urinary bladder : Retention urine	2	0	1
1186	Number of animals examined		1	4
	No abnormalities detected		1	1
	Urinary bladder : Retention urine	2	0	3
1400	Number of animals examined		0	5
	No abnormalities detected			2
	Urinary bladder : Retention urine	1		2
		2		1

Grade, 1 : Slight; 2 : Moderate

Table 6 Incidence of necropsy findings of female rats treated with tetrabromoetane in the single dose oral toxicity test

Dose (mg/kg)	Findings	Grade	Fate	
			Terminal kill	Found dead
0	Number of animals examined		5	0
	No abnormalities detected		5	
612	Number of animals examined		5	0
	No abnormalities detected		5	
722	Number of animals examined		5	0
	No abnormalities detected		5	
852	Number of animals examined		2	3
	No abnormalities detected		2	3
1005	Number of animals examined		3	2
	No abnormalities detected		3	1
	Urinary bladder : Retention urine	1	0	1
1186	Number of animals examined		0	5
	No abnormalities detected			1
	Urinary bladder : Retention urine	1		4
1400	Number of animals examined		0	5
	No abnormalities detected			4
	Urinary bladder : Retention urine	1		1

Grade, 1: Slight