

ザントモナス キャンペストリスのヒトに対する安全性試験の概要

日本たばこ産業株式会社アグリ事業部
(平成12年2月20日受理)

薬剤の概要

ザントモナス キャンペストリスは日本たばこ産業株式会社と米国マイコジェン社の共同で開発された微生物除草剤である。本剤はスズメノカタビラ (*Poa annua* L.) を選択的に萎凋、枯死させるもので、その作用は、本剤の導管内における増殖および増殖と共に生産される粘性多糖質による導管の物理的閉塞に起因するものと考えられている。なお、本剤はスズメノカタビラの傷口から侵入し効果を現すため、ゴルフ場、競技場、公園等、常時刈り込みの行われる芝地で使用できる。

本剤の芝地 (コウライシバ、ベントグラス) におけるスズメノカタビラ防除剤としての公的効果試験は1994年より (財) 日本植物調節剤研究協会を通じて開始された。その結果、本剤の実用性が確認されると共に芝に対する極めて高い安全性も評価され、同協会から実用化可能の判定を受けた。

本剤はスズメノカタビラに対して選択的に効果を示し、その作用は遅効的であるため、密集したスズメノカタビラ群落で用いても裸地化することなく徐々に有用芝草に遷移するという効果も期待できる。

また、本剤は植物病原細菌の宿主特異性を利用していることから、散布後は宿主であるスズメノカタビラの枯死に伴い死滅して行くと考えられる。さらに淡水魚をはじめとする環境生物に対する影響も非常に小さい。このように環境に対する負荷が極めて低いことも本剤の大きな特長である。

本剤の名称および生物学的性質等を以下に示す。

一般名：ザントモナス キャンペストリス

学名： *Xanthomonas campestris* pv. *poae*

分類学上の位置

界： Procaryotae

門： Gracilicutes

綱： Scotobacteria

科： Pseudomonadaceae

属： *Xanthomonas*

種： *campestris*

病原型 (pathovar) : *poae*

株： P-482

生育条件

生育温度範囲：5.8～38 °C

生育最適温度：30～31 °C

生育初発pH範囲：5.5～9

生育最適初発pH：6～6.5

外観：黄色水溶性懸濁液体

比重：1.05

製剤：1mlあたり生菌を 2×10^{11} 個含有する

(2×10^{11} CFU/ml, CFU: Colony Forming Unit) 液剤

保存：冷凍保存 (-18 °C 1か月)

試験の概要

以下に記す一連の試験は「微生物農薬の安全性評価に関する基準」に準じて実施された。なお、試験には製剤を用いた。

1. 単回投与毒性試験

1.1 単回経口投与試験

本剤の1000倍希釈液をSD系ラット（5週齢）の雌雄各24例に、1匹あたり1.0mlの用量で経口投与し、感染性、病原性、体内生残性および毒性について検討した。なお、いずれの試験においても生残性を調査する際は、体内の器官、糞便、尿等から本剤を選択的に検出しうる培地を利用した。

その結果、全観察期間を通して死亡は認められず、一般状態観察、体重測定、剖検においても全例で異常は認められなかった。

糞便、尿検査および体内生残性検査の結果、本剤は投与後1～2日に糞と共にすみやかに排泄され、消化管内の生菌も投与後7日には消失し、その他の主要器官および尿中にも認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下では本剤の感染性、病原性、体内生残性および毒性は認められないものと判断された。（（株）三菱化学安全科学研究所，1996年）

1.2 単回経皮投与試験

本剤の1000倍希釈液をSD系ラットの雌雄各5例に、1匹あたり1mlの用量で経皮投与し、影響を検討した。

全観察期間を通して、死亡例、投与部位の皮膚異常は認められず、一般状態観察、体重測定および剖検においても全例で異常は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下では本剤の皮膚刺激性、病原性、感染性および毒性は認められないものと判断された。（（株）三菱化学安全科学研究所，1996年）

1.3 単回経気道投与試験

本剤の200倍希釈液をSD系ラット（5週齢）の雌雄各11例に，1匹あたり0.1mlの用量で経気道投与し，感染性，病原性，体内生残性および毒性について検討した．

投与の結果，呼吸音異常と体重増加抑制が認められたが，一過性の変化であったことから，気管内への異物投与に起因した変化と判断された．

また，投与後1日に雄1例で死亡が認められた．死因は，肺の炎症及び水腫に伴う呼吸障害であった．他の投与動物の剖検の結果，感染を疑わせる変化は認められなかったこと，全器官および血液中には本剤の生残性が認められなかったことから，気管内への異物投与による呼吸器障害が悪化し死亡に至ったものと判断された．

以上の結果より，本試験条件下では本剤の感染性，病原性，体内生残性および毒性は認められないものと判断された．（（株）三菱化学安全科学研究所，1996年）

1.4 単回静脈内投与試験

本剤の1000倍希釈液をSD系ラット（5週齢）の雌雄各17例に1匹あたり0.3mlの用量で静脈内投与し，感染性，病原性，体内生残性および毒性について検討した．

全観察期間を通して死亡は認められなかった．

体重に関しては，投与後1日に雌雄で減少が認められたが，投与後3日には増加に転じた．また，雄では投与後7日以降に増加抑制傾向が認められた．しかし，オートクレーブにより不活化した被験試料投与群でも同様の変化が認められており，本変化は高濃度の異物を静脈内に投与したことによるものと判断された．

一般状態観察，剖検においては全例で本剤投与に起因した変化は認められず，体内生残性検査においても本剤は投与後主要臓器中から急速に減少し，投与後21日には消失していた．

以上の結果より，本試験条件下では本剤の感染性，病原性，体内生残性および毒性は認められないものと判断された．（（株）三菱化学安全科学研究所，1996年）

上記各試験結果のまとめを表1に示す．

表1 単回投与毒性試験結果

検体	動物種	投与経路	性	LD ₅₀ 値または最大無作用量（CFU/kg）	試験機関 （報告書作成年）
製剤	ラット	経口		$> 1.7 \times 10^9$	（株）三菱化学安全科学 研究所（1996年）
	ラット	経皮		$> 7.8 \times 10^8$	
	ラット	経気道		$> 8.5 \times 10^8$	
	ラット	静脈内		$> 4.4 \times 10^8$	

2. 刺激性・感作性試験

2.1 眼一次刺激性試験

日本白色種の雄性ウサギを用いて本剤の眼一次刺激性試験を実施した。被験動物の左眼の結膜嚢内へ本剤の100倍希釈液を0.1ml投与し、約1秒間眼瞼をとじ合わせ、24時間放置後に洗眼を行う群（非洗眼群：6匹）および投与2分後から60秒間洗眼を行う群（洗眼群：3匹）を設けた。いずれも投与は左眼に対して行い、他方の眼を無処置対照とした。

投与7日後まで定期的に投与部位の眼の検査を行い、角膜の混濁程度、虹彩の損傷程度、結膜の発赤および浮腫の程度は農薬ガイドラインに記載された基準に、角膜の混濁範囲および分泌物についてはDraizeの基準に従い採点した。なお、この際併せて眼およびその周辺組織上における本剤の生残状況の調査も行った。

投与の結果、洗眼群の1例で投与後1時間に結膜の発赤が認められたが、これは翌日には消失する程度の軽度なものであり、非洗眼群のいずれの動物にも変化が認められなかったため、洗眼操作時の流水等による物理的な刺激によるものと判断された。

また、本剤の生残性については、投与24時間後に非洗眼群の1例の投与眼で被験微生物が認められたのみであり、投与後7日には全例で眼および周辺組織上に本剤は認められなかった。

以上のことから、本試験条件において本剤はウサギの眼に対して刺激性を示さず、眼およびその周辺組織上における生残性は極めて低いものと結論された。

（（株）三菱化学安全科学研究所，1995年）

2.2 皮膚一次刺激性試験

日本白色種の雄性ウサギ6匹を用いて本剤の皮膚一次刺激性試験を実施した。剪毛した被験動物の皮膚に本剤0.5mlを塗布したガーゼパッチを貼布、固定し4時間暴露した。暴露終了後パッチを除去して残存被験試料を拭き取った。パッチ除去後30分、1、24、48および72時間に投与部位の皮膚反応を観察し、農薬ガイドラインに記載された基準に従って紅斑、浮腫の程度を採点した。

その結果、全例で本剤投与に起因した変化は認められなかった。

従って本試験条件下で本剤はウサギの皮膚に対して刺激性を示さないものと判断された。

（（株）三菱化学安全科学研究所，1995年）

2.3 皮膚感作性試験（原液）

Hartley系の雄性モルモット40匹を用いて本剤の皮膚感作性試験を実施した。農薬の毒性試験法ガイドラインに示されたBuehler Testに準拠して、本剤0.4mlを木綿製フランネルパッチに塗布し、被験動物の左腹側部で前日刈毛した部位に6時間閉塞貼布し感作した。以上の処置を一週間間隔で3回実施した。第3回の感作暴露後14日に被験動物の右腹側部で前日刈毛した部位に感作暴露と同法で本剤を6時間閉塞貼布し惹起暴露を実施した。惹起暴露終了後（パッチ除去後）24および48時間に投与部位の皮膚反応を観察し採点を行った。

その結果、被験試料感作群では、惹起暴露後48時間までに65%の動物の皮膚に陽性反応

が認められた。

従って、本試験条件下では本剤はモルモットに対して皮膚感作性を示すものと判断された。（（株）三菱化学安全科学研究所，1995年）

2.4 皮膚感作性試験（実用濃度）

Hartley系の雄性モルモット40匹を用いて本剤の実用濃度における皮膚感作性試験を農薬の毒性試験法ガイドラインに示されたBuehler Testに準拠して実施した。本剤を実用濃度まで希釈（1000倍希釈）した液0.4mlを木綿製フランネルパッチに塗布し、被験動物の左腹側部で前日刈毛した部位に6時間閉塞貼布し感作した。以上の処置を一週間間隔で3回実施した。第3回の感作暴露後14日に被験動物の右腹側部で前日刈毛した部位に感作暴露と同法で被験試料を6時間閉塞貼布し惹起暴露を実施した。惹起暴露終了後（パッチ除去後）24および48時間に投与部位の皮膚反応を観察し採点を行った。

その結果、被験試料感作群、および滅菌精製水で感作を実施した被験試料対照群のいずれの動物においても陽性反応が認められなかった。なお、陽性対照物質（2,4 ジニトロクロロベンゼン）感作群では全例に陽性反応が認められた。

以上のことから、本試験条件下で本剤の実用濃度希釈（1000倍希釈）液はモルモットに対し皮膚感作性を示さないものと判断された。（（株）三菱化学安全科学研究所，1996年）

要 約

ザントモナス キャンペストリスの安全性を評価するため、各種試験を実施した。ラットに対する単回投与毒性は低く、全ての試験において、感染性、病原性、体内生残性は認められなかった。ウサギの眼および皮膚に対する刺激性も認められず、眼およびその周辺組織における生残性も極めて低いものと結論された。モルモットを用いた皮膚感作性試験においては、原液を投与した場合皮膚感作性を示したが、本剤を実用濃度まで希釈した被験液を投与した場合は皮膚感作性を示さなかった。

問合せ

日本たばこ産業株式会社・アグリ事業部

〒107 0052 東京都港区赤坂1 11 30 赤坂1丁目センタービル13階