

日本の農薬登録における微生物農薬ガイドライン

農林水産省農薬検査所検査第二部生物課 き
むら
いげ
る
茂

はじめに

病害虫の防除に使用する農薬については、農薬の品質の適正化とその安全かつ適正な使用の確保を図り、もって農業生産の安定と国民の健康の保護及び環境の保全に寄与する目的で、農薬取締法に基づく登録制度により規制が行われている。現在、有効成分の数として約500種類、銘柄の数として約6,000種類の農薬が登録されているが、そのほとんどは化学物質を有効成分として利用したものである。

農薬取締法は、昭和23年制定され、昭和46年の法律改正により消費者保護、環境保護の観点が大幅に取り入れられ、化学物質である農薬の毒性評価や生活環境影響評価の体系が整備され現在に至っているところである。

微生物農薬は、昭和29年トリコデルマ菌が農薬登録されたのを皮切りに数種類が登録されているが、登録検査は、化学物質を前提にして整備されてきたガイドラインを準用しながら、微生物の特性を考慮しつつ、ケースバイケースで行ってきたところである。しかしながら、より環境に優しい農薬を指向する消費者意識等を受けて、「生きた微生物」を農薬として利用する機運が高まってきた。また、微生物農薬の開発を検討する企業等から、微生物を農薬として登録する際の明確なガイドラインの制定を望む声が上げられた。

これらのことから、農林水産省として、平成4年度から農薬検査所に微生物農薬ガイドライン検討委員会を設置し、検査過程の透明性や登録農薬の安全性の確保等を目的として技術的検討を進め、農薬取締法の共管官庁である環境庁もオブザーバーとして参加する農業資材審議会農薬部会で最終検討を経て、微生物農薬の安全性評価の基本的考え方と登録申請にあたり提出が必要な資料を定めた成案を得た。

このガイドラインは、「微生物農薬の登録申請に係る試験成績の取扱いについて」として平成9年8月29日付けで農林水産省農産園芸局長通達として関係各機関に通知された。これにより、微生物農薬の登録は、平成

10年4月1日から当該ガイドラインに従って取り扱われることとなる。

I 微生物農薬の安全性に関する基本姿勢とガイドラインの基本骨格

1 ガイドラインの適用範囲

ガイドラインを適用する微生物農薬の範囲については、ウイルス、細菌、真菌、原生動物、線虫（共生細菌のようなものを活性成分に持つものに限る）を生きた状態で農薬としての目的で製造又は輸入して販売しようとするものとし、寄生蜂、捕食虫等の天敵及び抗生物質等の微生物源農薬は対象としない。なお、遺伝子組換え微生物については当面本ガイドラインの対象の範囲に含めないものとしている。

2 微生物農薬の安全性評価の基本的考え方

化学農薬では登録申請に際し各種試験成績を一組のデータセットとして要求しているが、微生物農薬として利用される微生物は、多くの場合、自然界に比較的広く存在し、人畜に対して危害がなく、有用生物等に被害を起ささないことが経験的に知られているものが主体であることから、安全性に関する各種試験を段階性としている（図-1, 2）。なお、人畜及び環境等への影響に関する情報が十分でない場合にあっては、状況に応じさらに資料の提供を求めることとしている。

この段階的試験法では、供試動植物に最も影響を与えやすいと考えられる投与法により、環境中で考えられる最大の暴露を超える十分な投与量で試験（最大ハザード試験）を実施し、この試験結果で有害な影響が見られない場合は、次段階以降の試験を必要としないこととしている。

なお、ガイドラインに設定されている各種試験成績のうち、ヒトに対する安全性試験成績については、「農薬の毒性試験の適正実施に関する基準について」（昭和59年8月10日付け59農蚕第3850号農林水産省農蚕園芸局長通達）のGLP制度にのっとった試験成績であることを必要としている。

3 登録申請にあたり提出が必要な資料

登録申請にあたり提出が必要な資料は、表-1に定められている「微生物農薬の安全性評価資料の微生物別要求項目」とおりであるが、ヒトに対する安全性及び環

Guidelines for the Evaluation of Microbial Pesticide under the Pesticide Registration System in Japan. By Shigeru KIMURA

(キーワード：農薬登録, 微生物農薬, ガイドライン)

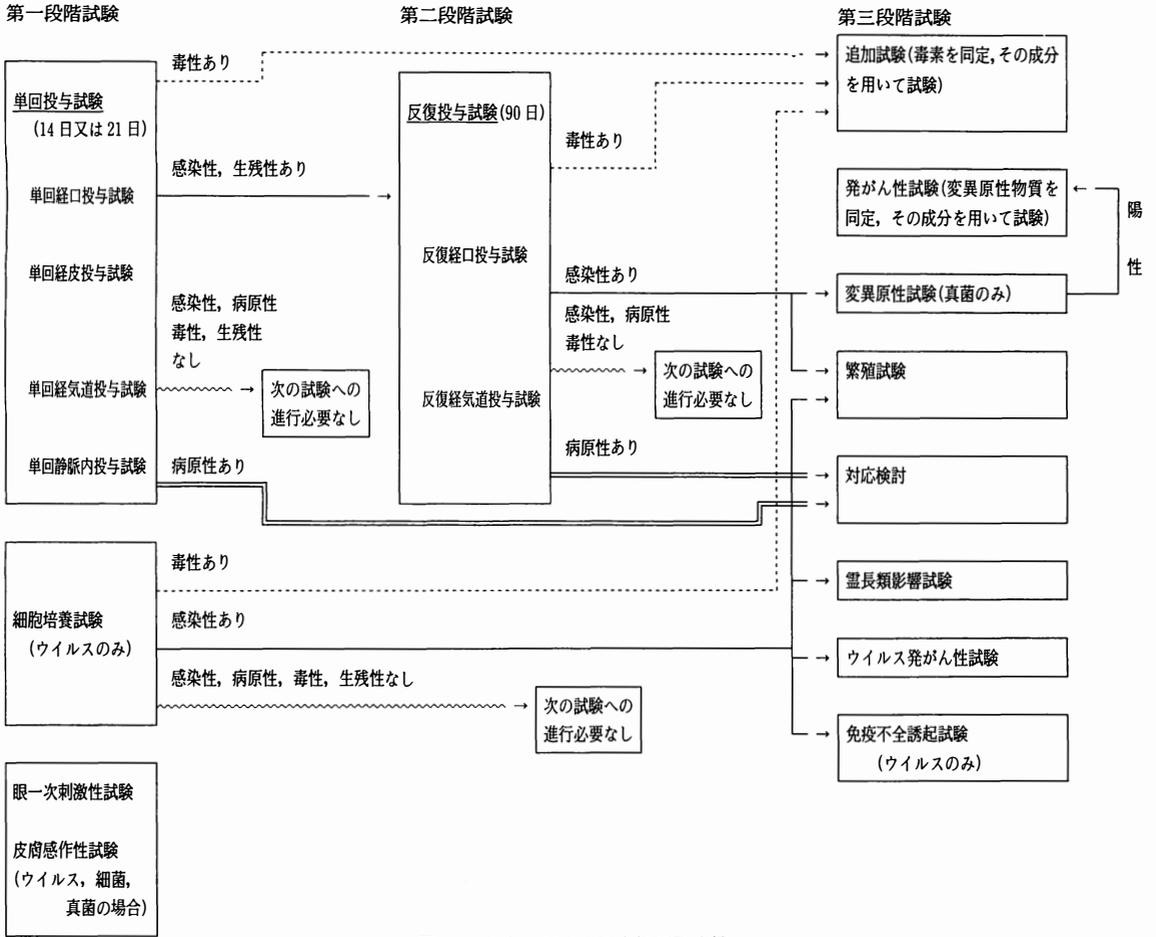
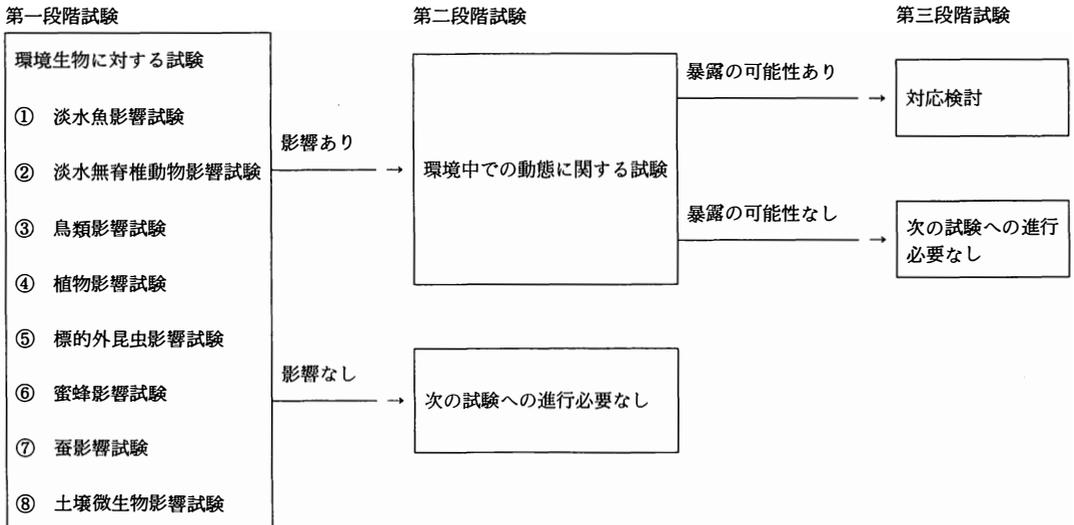


図-1 ヒトに対する安全性試験成績



(注) 微生物の生物学的性質により、科学的な根拠がある場合及び使用方法から暴露の可能性がない場合には、試験を免除することがある。

図-2 環境生物に対する影響、環境中での動態に関する試験成績

表-1 微生物農薬の安全性評価資料の微生物別要求項目

要 求 項 目	微生物の種類		備 考
	ウイルス	その他	
1 農薬の規格性状に関する資料			
(1) 微生物の名称及び分類学上の位置	○	○	
(2) 微生物の生物学的性質	○	○	
(3) 農薬原体の組成	○	○	
(4) 農薬原体の製造方法	○	○	
(5) 製剤の組成	○	○	
(6) 製剤の製造方法	○	○	
2 使用方法に関する資料			
(1) 適用病害虫・雑草等及び 散布対象農作物	○	○	
(2) 使用方法及び使用量	○	○	
3 ヒトに対する安全性試験成績			
(1) 単回経口投与試験	○	○	
(2) 単回経皮投与試験	○	○	
(3) 単回経気道投与試験	○	○	
(4) 単回静脈内投与試験	○	○	
(5) 眼一次刺激性試験	○	○	
(6) 皮膚感作性試験	○	○	ウイルス、細菌、真菌においては、当該試験を実施する。
(7) 細胞培養試験	○	×	
(8) 反復投与試験	△	△	単回投与試験で、感染性又は生残性が認められた場合においては、当該試験を実施する。
(9) 変異原性試験	×	▲	真菌であって反復投与試験で、感染性が認められた場合においては、当該試験を実施する。
(10) 繁殖試験	▲	▲	反復投与試験で、感染性が認められた場合等においては、当該試験を実施する。
(11) ウイルス発がん性試験	▲	×	細胞培養試験で、哺乳動物細胞に感染性が認められた場合等においては、当該試験を実施する。
(12) 免疫不全誘起試験	▲	×	細胞培養試験で、哺乳動物細胞に感染性が認められた場合等においては、当該試験を実施する。
(13) 霊長類影響試験	▲	×	同上
4 製造、使用に際して発生した過敏性 反応等事例に関する資料	○	○	
5 作物生残性試験成績	△	△	食用作物に使用する場合にあって、ヒトに対する安全性試験の第一段階試験(眼一次刺激性試験及び皮膚感作性試験を除く。)で影響が認められた場合においては、当該試験を実施する。
6 環境生物に対する影響試験成績			
(1) 淡水魚影響試験	○	○	微生物の生物学的性質により科学的な根拠がある場合及び使用方法から暴露の可能性がない場合には当該試験を省略することがある。
(2) 淡水無脊椎動物影響試験	○	○	同上
(3) 鳥類影響試験	○	○	同上
(4) 植物影響試験	○	○	同上
(5) 標的外昆虫影響試験	○	○	同上
(6) 蜜蜂影響試験	○	○	同上
(7) 蚕影響試験	○	○	同上
(8) 土壌微生物影響試験	○	○	同上
7 環境中での動態に関する試験成績	△	△	環境生物に対する試験成績で影響が認められた場合においては、当該試験を実施する。

○：第一段階試験で要求，△：第二段階試験で要求，▲：第三段階試験で要求，×：不要

(注) 第一段階，第二段階，第三段階試験とは，第一段階試験の結果，いずれかで感染性等が認められた場合に第二段階試験へ，また，第三段階試験は，第二段階試験のいずれかで感染性等が認められた場合又は第一段階試験の細胞培養試験で感染性等が認められた場合に実施する。

なお，ヒトに対する安全性試験成績については図-1，環境生物に対する影響試験成績(第一段階試験)及び環境中での動態に関する試験成績(第二段階試験)については図-2を参照のこと。

境生物等環境に対する影響については、いずれも科学的資料に基づき実証又は確認されなければならない。

なお、提出された資料に基づく評価の結果、微生物の生物学的性質、微生物農薬の使用手法等から安全性をさらに実証又は確認する必要がある場合は、追加資料の提出を求めることがある。

おのおの資料の概略は次のとおりである。

(1) 微生物農薬の規格性状に関する資料

当該微生物の分類学上の位置・生物学的性質等の基本的な情報を把握することは、安全性を検討する上で大きな役割を果たす。また、考察にあたっては重要な手がかりとして必要不可欠である。また、効果や安全性を担保するため製品の同一性が重要となることから、微生物農薬の製造方法等品質管理に関する事項について記載した微生物農薬の規格性状に関する資料を提出する必要がある。

(2) ヒトに対する安全性試験成績

① 第一段階

微生物のヒトの健康に対する影響を把握するためには、農薬微生物（微生物農薬の成分となっている微生物、以下同じ）を供試動物に投与し、供試動物に対する感染性、病原性、毒性、生残性の有無を確認する必要がある。そのため、単回投与試験及び刺激性・過敏性反応の有無の確認のため刺激性試験・感作性試験を実施する。

また、ウイルスについては、上記の試験に加え免疫機能への影響、発がん性の有無を明らかにする試験を実施する必要があることから、ほ乳類の培養細胞でのウイルスの感染性、形質転換等の有無を確認する細胞培養試験を実施する。

これらの試験は、最大ハザードで行い、影響が現れなければ次の段階の試験は必要がない。

② 第二段階、第三段階

第一段階で感染性、生残性が認められた場合は、その影響の内容を確定するため反復投与試験を第二段階として実施する。この試験で長期の感染性が認められた場合及び細胞培養試験で感染性が認められた場合は、その影響を明らかにするために繁殖試験、発がん性試験等を第三段階の試験として実施する。

③ 第一段階又は第二段階試験で毒性が認められた場合は、当該毒素を同定し、その成分について「農薬の登録申請に係る毒性試験成績の取扱いについて」（昭和60年1月28日付け59農蚕第4200号農林水産省農蚕園芸局植物防疫課長通達）に準じた試験を行う。

また、病原性が認められた場合は、その後の試験の実

施については農薬微生物の種類、使用状況等を考慮して、個別に検討するものとする。

(3) 生残性（残留性）試験

食用作物に使用される微生物農薬で、ヒトに対する安全性試験の第一段階で影響が認められた場合においては、ヒトが摂取する可能性について検討するため、食用作物での生残性についての試験を実施する。

(4) 環境生物に対する影響試験

陸生生物、土壌生物及び水棲生物について、農薬微生物の種類、微生物農薬の使用手法、使用場所による暴露の可能性、標的生物との近縁関係等を十分に考慮し、最も適した対象生物種を選定して試験を実施する。なお、微生物の生物学的性質により科学的な根拠がある場合又は微生物農薬の使用手法から環境生物に暴露の可能性がない場合には必ずしも試験を行う必要はない。

また、環境生物に対する影響試験を第一段階として実施した結果、環境生物への悪影響がないことが示された場合には、環境中での動態は安全性上大きな問題とならないと考えられることから、環境中での動態に関する試験（第二段階）は必要ない。

(5) 環境中での動態に関する試験

環境生物に対する影響試験の結果、いずれかの生物種に有害な影響があった場合には、当該生物種に対する暴露の可能性等を評価するため、農薬微生物の生物学的性質、微生物農薬の使用手法、環境生物に対する影響試験で影響が認められた生物の種類・生物学的性質等を十分勘案して、当該生物種に対する当該微生物農薬の環境中での暴露の可能性が十分評価できる適切な試験法により、農薬微生物の環境中での生残性、増殖性等の動態を明らかにする試験を実施する。

(6) 製造、使用に際して発生した過敏性反応等事例

微生物農薬がヒトに過敏性反応を引き起こすか否かを評価するために、微生物農薬の開発や生産に係わったヒトにおける過敏性反応の発生の事例を調べる。

II 微生物農薬の安全性評価に必要な資料の作成方法、試験の実施方法

登録のために要求される資料の具体的な作成方法、試験の実施方法、過敏性反応等の事例の調査方法等については、平成9年8月29日付け農産園芸局植物防疫課長通達「微生物農薬の登録申請に係る試験成績の取扱いについて」の「微生物農薬の安全評価に必要な資料を作成するにあたっての指針」に述べられている。

1 本指針の基本的考え方

(1) この指針は、微生物農薬の登録申請にあたって

提出する安全性評価に必要な資料を作成する目安として示されている。

(2) 試験者は、安全性評価試験を実施する場合、本指針に厳密に従う必要はなく、農薬微生物の特性に応じ、試験の目的を満たすことができれば、試験方法に変更・改善を加えることができる。

2 被験試料について

(1) 原体を被験試料として用いる場合

① 原体を被験試料として用いる場合は、市販用微生物農薬の製剤原料としての原体と同等の成分組成であるものとする。

② 原体を被験試料としての試験の実施が困難な場合、原体に代え原体に含まれる微生物と同じ形態(栄養体、孢子、結晶等)の微生物を被験試料として用いることができる。

(2) 製剤を被験試料として用いる場合

① 製剤を被験試料として用いる場合は、原則として農薬使用時の安全性確保の観点から必要性の最も高いと考えられる製剤を被験試料として用いるものとする。

② 製剤を被験試料としての試験の実施が困難な場合は、製剤に代え原体を被験試料として用いることができる。

(3) 試験期間中、原則として同じロットの被験試料を用いるものとする。やむを得ず他のロットの被験試料を用いる場合は、引き続き試験に用いるロットは、先のロットの成分組成と十分近似しているものとする。なお、試験成績には、使用したロットの番号を明記する。

(4) 安全性評価試験に用いた被験試料の成分組成を個々の試験成績ごとに明記する。

(5) 被験試料の単位は、下記のとおりとする。

① 細菌の栄養体細胞の場合は、CFU(Colony Forming Unit)を単位とする。

② 原生動物、包埋体ウイルスの場合は、血球計算盤で計数したものとする。

③ 細菌の孢子、真菌の孢子の場合は、CFU又は血球計算盤で計数したものとする。

④ 真菌の菌糸の場合は、乾燥重量が 10^{-9} gを1単位とする。

⑤ 上記以外の単位については、微生物の種類に応じて最も適した方法で定量するものとする。

3 供試動植物について

微生物農薬の安全性評価を的確に行う観点から、各試験項目にわたり同一種、同一系統、同一条件の健全な動植物を用いる。また、環境生物に対する影響試験のための供試動植物の選択にあつては、農薬微生物の種類、微

生物農薬の使用法、使用場所による暴露の可能性、標的生物との近縁関係等を十分考慮して選択し、かつ、その理由を明らかにする必要がある。

4 農薬微生物の確認、検出について

農薬微生物の確認・検出には、微生物の種類に応じて選択性、感度及び信頼性の高い方法を用いる。

5 用語の定義について

このガイドラインで用いる用語は次のとおりとしている。

(1) 感染性

農薬微生物が供試動植物体内又は供試培養細胞内に侵入後、増殖した場合に感染性が認められるという。

(2) 病原性

農薬微生物が供試動植物に感染した結果、当該供試動植物に対して細胞組織レベルあるいは個体レベルで病気を起こさせた場合に病原性が認められるという。

(3) 毒性

農薬微生物が供試動植物又は供試培養細胞に感染はしないが、当該微生物の産生する毒素や毒物あるいは当該微生物の増殖に用いた基材が当該供試動植物又は当該供試培養細胞に対し有害な(生命維持に障害を与える)なんらかの反応を起こさせた場合に毒性が認められるという。

(4) 生残性

農薬微生物が供試動植物に感染はしないが、当該供試動植物体で、一定時間後も死滅することなく生残する場合又は土壤中などで一定時間後も死滅することなく生残する場合に生残性が認められるという。

6 試験の目的

各種試験の目的は、次のとおりである。

(1) ヒトに対する安全性試験成績

① 単回経口投与試験

ヒトが微生物農薬を吸入した場合、健康への影響の有無を評価するために、ラット又はマウスに高濃度の農薬微生物を1回経口投与し、発生する症状、体重、体内での生残性、微生物の排泄状況等を調べる。

② 単回経皮投与試験

ヒトの皮膚に微生物農薬が接触した場合、健康への影響の有無を評価するために、ウサギの皮膚に高濃度の農薬微生物を1回塗布し、症状の発現、体重、皮膚刺激性等を調べる。

③ 単回経気道投与試験

微生物農薬が呼吸器系に入った場合のヒトの健康への影響の有無を評価するために、ラット又はマウスに高濃度の農薬微生物を1回経気道投与し、症状の発現、死亡

の有無、体重、生残性等を調べる。

④ 単回静脈内投与試験

微生物農薬が直接体内に侵入した場合のヒトの健康に対する影響の有無を評価するために、ラット又はマウスに高濃度の農薬微生物を1回静脈内投与し、症状の発現、死亡の有無、体重、生残性等を調べる。

⑤ 眼一次刺激性試験

ヒトの眼に微生物農薬が入った場合に生ずる刺激性を予測するために、微生物農薬をウサギの眼に1回滴下し、眼の症状及び損傷を調べる。

⑥ 皮膚感作性試験

微生物農薬が経皮、経気道を介し繰返し暴露した場合に生ずる感作性を予測するために、微生物農薬をモルモットに皮内注射し、感作性の有無を調べる。

本試験は、農薬微生物がウイルス、細菌及び真菌の場合に実施する。

⑦ 細胞培養試験

ウイルスを成分とする微生物農薬について、感染性、毒性、形質転換を有するか否かを評価するために、ウイルスを哺乳動物細胞に接種し、細胞変性、形質転換、コロニー形成への影響等を調べる。

⑧ 反復投与試験

単回投与試験において感染性又は生残性が認められた場合、農薬微生物の反復投与により、当該微生物農薬摂取に起因する影響を評価するために、単回投与試験で影響が認められた供試動物に高濃度の農薬微生物を毎日1回、90日以上にわたり投与し、その影響を調べる。

⑨ 変異原性試験

反復投与試験において感染性が認められた真菌を成分とする微生物農薬について、発がん性の危険性があるか否かを評価するために、復帰変異、染色体異常及び小核試験を実施する。

⑩ 繁殖試験

微生物農薬が哺乳動物の繁殖及び胎子の発達に及ぼす影響や新生仔への移行を評価するために、次のいずれかに該当する場合に農薬微生物を交配前の雌雄のラット又はマウスに投与するとともに、妊娠成立後は妊娠雌に継続投与し、繁殖及び胎子に対する影響及び新生仔への移行を調べる。

ア. 反復投与試験で供試動物に感染性が認められた場合。

イ. 農薬微生物が哺乳動物細胞に寄生性を有することが知られている微生物と近縁関係があると考えられる場合。

ウ. 農薬微生物が十分に分離、精製されておらず、哺

乳動物に寄生性を有する汚染微生物を含んでいる可能性がある場合。

エ. 農薬微生物がウイルスであって、細胞培養試験で哺乳動物細胞に感染性が認められた場合。

⑪ ウイルス発がん性試験

微生物農薬が発がん性を有するか否かを評価するために、次のいずれかに該当する場合に本試験を実施する。

ア. ウイルスに発がん性の疑いがあるか、あるいは発がん性のウイルスに近縁である場合。

イ. 細胞培養試験で哺乳動物細胞に対し感染性が認められた場合。

ウ. その他、ア.及びイ.に該当するウイルスが当該微生物農薬中に混入している可能性が否定できない場合。

⑫ 免疫不全誘起試験

ウイルスを成分とする微生物農薬について、当該ウイルスが免疫不全誘起作用を有するか否かを評価するために、ウイルスが次のいずれかに該当する場合に試験を実施する。

ア. 細胞培養試験で哺乳動物細胞に感染性が認められる場合。

イ. ウイルスが哺乳動物の免疫系に感染ないし病変を起こし、免疫不全状況を誘起することが知られている下記のウイルスに近縁である場合。

ネコ白血病ウイルス、マウスエイズウイルス、ウシ白血病ウイルス等のレトロウイルス、ヒトのサイトメガロウイルス等のヘルペスウイルス、等

⑬ 霊長類影響試験

微生物農薬が霊長類に感染性、病原性を有するか否かを評価するため、次のいずれかに該当する場合に農薬微生物をサル類に接種して感染性及び病原性を調べる。

ア. 農薬微生物がウイルスであって、細胞培養試験でいずれかの哺乳動物細胞に感染性が認められた場合。

イ. 農薬微生物が哺乳動物細胞に寄生性を有することが知られている微生物である場合。

ウ. 微生物農薬中に哺乳動物細胞に寄生性を有する汚染微生物が含まれている可能性が否定できない場合。

エ. 農薬微生物がその分類上の位置からヒトへの感染性、病原性を示すことが示唆される場合。

(2) 作物生残性試験成績

食用作物(特用作物、飼料用作物を含む。)に使用する微生物農薬について、ヒトに対する安全性試験の第一段階試験で影響が認められた場合に食用作物の安全性を確認するために、微生物農薬を使用して登録申請するすべての食用作物について生残性を調べる。

(3) 環境生物に対する影響試験成績

① 淡水魚影響試験

微生物農薬が淡水魚に及ぼす影響を評価するために、コイ又はニジマスに高濃度の農薬微生物を水中暴露させ、体重の変化、症状（外観、遊泳異常）、死亡等を調べる。

② 淡水無脊椎動物影響試験

微生物農薬が淡水無脊椎動物に及ぼす影響を評価するために、ミジンコ、セスジミジンコ、オオミジンコのうちの1種に高濃度の農薬微生物を水中暴露させ、症状（外観、遊泳異常）、死亡、繁殖能力等を調べる。

③ 鳥類影響試験

微生物農薬が鳥類に及ぼす影響を評価するために、ウズラ又はマガモに高濃度の農薬微生物を経口投与し、羽毛逆立、流涎、下痢、死亡等を調べる。

④ 植物影響試験

微生物農薬が標的外植物に及ぼす影響を評価するために、双子葉植物4科6種以上、単子葉植物2科4種以上の農作物を含む標的外植物に高濃度の農薬微生物を単回暴露させ、定期的に生育状況、病徴等を調べる。

⑤ 標的外昆虫影響試験

微生物農薬が標的外昆虫に及ぼす影響を評価するために、7目から2目3種以上の寄生性昆虫又は捕食性昆虫に高濃度の農薬微生物を単回暴露させ、定期的に蛹化までの日数、蛹化率、産卵率、生死数等を調べる。

⑥ 蜜蜂影響試験

微生物農薬が蜜蜂に及ぼす影響を評価するために、セイヨウミツバチに高濃度の農薬微生物を暴露させ、行

動、生死数等を調べる。

⑦ 蚕影響試験

微生物農薬が蚕に及ぼす影響を評価するために、4齡起蚕に高濃度の農薬微生物を暴露させ、4・5齡経過日数、化繭歩合、繭重量、中毒症状等を調べる。

⑧ 土壌微生物影響試験

微生物農薬が土壌微生物（細菌、放線菌、真菌）に及ぼす影響を評価するために、高濃度の農薬微生物を土壌に混和し、土壌微生物の増減について調べる。なお、必要に応じ土壌微生物の炭素代謝、窒素代謝に関する農薬微生物の影響を調べる。

(4) 環境中での動態に関する試験成績

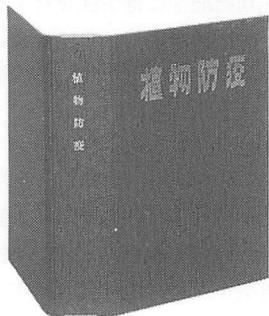
環境生物に対する影響試験において、いずれかの生物種に影響が認められた場合に、当該生物種に対する暴露の可能性等を評価するため、農薬微生物の環境中での生残性、増殖性等の動態を調べる。

7 試験の実施方法

指針では、試験の実施方法について、各試験ごとに目的、試験方法（被験試料、被暴方法、供試動植物、供試個体数・群構成、供試動植物の飼育・栽培条件、試験期間、検査項目等）、結果の整理、次の試験への進行の有無等が述べられている。

以上、簡単ではあるが、微生物農薬ガイドラインの概略を紹介した。詳細（特に試験方法）については、植物防疫課長通達を参照していただきたい。また、試験の実施にあたって不明な点がある場合には、農薬検査所に問い合わせていただきたい。

便利にご利用いただけます。『植物防疫』専用合本ファイル



本誌1年分(12冊)が簡単に製本できます。

〈本誌名金文字〉

本体 699 円(税別)

送料 390 円

- 書棚を飾る美しい外観
- 冊誌を傷めず保存ができる
- 取り外しが簡単にできる
- ビニールクロスで長期保存ができる

ご希望の方は、現金・郵便振替で直接本会へお申し込み下さい