

臺灣地區環境衛生用藥及環境微生物製劑
毒理之管理與安全評估

王 順 成 博 士

臺灣省農業藥物毒物試驗所應用毒理系

Abstract

Wang, S. C. 1997. Toxicology Regulatory Control and Safety Evaluation of Environmental Sanitation Chemicals and Microbial Agents in Taiwan

The main emphasize of this paper is to review the development of toxicology of Environmental sanitation chemicals and microbial agents in Taiwan . The approach issues of mammalian toxicology on environmental sanitation chemicals include acute toxicity test, subchronic toxicity test, rapid carcinogenicity, reproductive toxicity, teratogenicity, and avian toxicity test are discussed. Also, the study of mammalian toxicology on environmental sanitation microbial agents as oral toxicity/infectivity, pulmonary toxicity/infectivity, eye and skin irritation, skin sensitization and avian oral toxicity/infectivity are well elucidated . Some further prospects to expect a clear picture are mentioned for toxicology research in of environmental sanitation chemicals and microbial agents in the future in Taiwan.

摘要

本文主要論及臺灣地區環境衛生用藥及環境微生物製劑對溫血動物毒理研究現況，其中環境衛生用藥對溫血動物毒理研究之項目包括急毒性、亞急毒性、慢毒性之快速致癌性、生殖毒性及致畸胎性、二年慢毒性及環境衛生用藥對禽類毒性之安全評估等研究。環境微生物製劑對溫血動物毒理研究包括口服急毒性/致病性、肺急毒性/致病性、眼及皮膚刺激性、皮膚過敏性之毒理研究及環境微生物製劑對禽類口服急毒性/致病性毒理研究。

文後就環境衛生用藥及環境微生物製劑對溫血動物毒理研究做一綜合性探討並對未來環境衛生用藥及環境微生物製劑對溫血動物毒理研究展望做綜合性之建議。

前言

台灣地區藥劑如農藥毒理之研究早期著重於藥劑對環境中殘留量之分析，安全容許量之訂定及有機氯烴劑在水域、土壤等環境中之殘存情形，直至1983年台灣植物保護中心之農藥毒理系為配合農藥管理法之施行與管理，開始進行農藥及環境衛生用藥對小白鼠之口服急毒性及皮膚急毒性之探討，其中包括實驗規範訂定、毒性標準之制定等。1985年至1990年，台灣陸續完成農藥及環境衛生用藥對溫血動物其他急毒性試驗項目如農藥及環境衛生用藥對眼及皮膚刺激、皮膚過敏性等毒理測試評估。1987年本所並進行農藥及環境衛生用藥對溫血動物之亞慢毒性之90天標準測試方法之建立，此項方法於1990年完成，1990年國內著手建立農藥及環境衛生用藥對溫血動物快速誘導致肝癌法之測試流程。此項試驗於1993年已獲完全確立並加以應用。1993年國內並開始進行農藥及環境衛生用藥對溫血動物之生殖毒性及致胚胎毒性之動物模式建立。此項研究工作於已1995年完成確立動物測試模式。1994年至1995年國內且進行農藥及環境衛生用藥對溫血動物二年慢毒性測試之程序，已在目前獲得良好結果，大體而言，農藥及環境衛生用藥對溫血動物研究已有相當良好而健全之毒性及毒理測試體系(24)，唯其中較值得加強是農藥及環境衛生用藥於溫血動物中代謝、流佈等研究項目。

1993年國內農用及環境微生物製劑因消費大眾對環保意識之提高，受到極大之重視。環境微生物製劑之開發應用，不僅使國外之環境微生物製劑大量植入國內，且本國自行開發研究環境微生物製劑亦應之而起，因此自1993年國內開始建立農用及環境微生物製劑對溫血動物毒理研究模式，其中研究重點大部分依照美國環保署1989年公佈之微生物製劑對溫血動物之試驗準則為規範，自

1993年至1995年三年內本國大抵完成美國環境微生物製劑對溫血動物安全評估之第一階 (Tier I) 之所有之安全評估之項目，其細節將於文中加以敘述。

綜觀臺灣地區農用及環境衛生用藥對溫血動物毒理研究雖較歐美及日本等國家為晚，但在環境微生物製劑對溫血動物毒理之研究上，目前已可與歐美國家並駕齊驅(3,16,19)，且可能超越日本之趨勢。本文之目的即綜合敘述台灣地區環境衛生用藥及環境微生物製劑毒理研究之發展，以促使國內外相同領域或相關技術可加入此研究方向，加速溫血動物毒理整體研究之發展。

環境衛生用藥毒理安全評估與管理

一、環境衛生用藥之急毒性安全評估與管理(1,2,4,13)

台灣有關環境衛生用藥對溫血動物急毒性之研究，首先於1983年建立口服急毒性測驗方法之規範及評估標準，1984年正式完成標準測試之程序。1984年起正式接受國內業界對於國內自行混合農藥上市前口服急毒性之毒理資料製備，口服急毒性是國內最早進行之環境衛生用藥對溫血動物毒性測試之項目，草創之初，限於當時國內動物飼育條件的限制及其他實驗環境之不週全，為配合當時藥劑管理之初步運作，僅規定口服急毒性之測試得以一種動物小白鼠，進行試驗。至1991年由於國內實驗動物之條件，漸趨成熟，在實驗動物之供應及對實驗動物準則之需求上，愈來愈嚴格。因此急毒性試驗（包括口服急毒性之試驗）偏向國際化。毒理資料及實驗之準則（Guideline）應運而生，口服急毒性之實驗亦改大白鼠為試驗動物，以配合藥劑管理法新規定之修改。國內由於1991年藥試所正式設立SPF（Specific pathogen free）之動物房，使國內藥劑動物毒理研究進入一新紀元，不僅研究品質提昇，實驗規範要求已與美國環保署所公佈之急毒性測試方法相似，同時毒理研究報告，亦獲得國際認可。目前國內環境衛生用藥之急毒性之測試大多以成品為對象。至於測試之化學藥劑急毒性分類之標準，環保署則1996年引用世界衛生組織標準將環境衛生用藥毒性歸類為四級，如表一。

表一、台灣地區環境衛生用藥急毒性之分類標準

Table 1.Toxicity rank of environmental sanitation chemicals in Taiwan

毒性分類	I (極毒)		II (劇毒)	III (中毒)	IV (輕毒)
	Extremely Hazardous	Hazardous	Highly Hazardous	Moderately Hazardous	Slightly Hazardous
口服急毒性(固體)	LD ₅₀ mg/kg(鼠)	5	5-50	50-500	> 500
(液體)	LD ₅₀ mg/kg (鼠)	20	20-200	200-2000	> 2000
皮膚急毒性(固體)	LD ₅₀ mg/kg(鼠)	10	10-100	100-1000	> 1000
(液體)	LD ₅₀ mg/kg(鼠)	40	40-400	400-4000	> 4000
呼吸急毒性	LC ₅₀ mg/L (鼠)	0.5	0.5-2.0	2-20	20-100

源自WHO (世界衛生組織) 之資料

由於台灣地區目前並無完整人體暴露於藥劑中實際暴露量資料，亦無實際流行病學之實驗，若欲建立本國之急毒性分類之標準，可能會遭遇到困難。故目前政府評估方式仍沿用世界衛生組織標準，往後為徹底而準確評估環境衛生用藥對台灣地區及人民健康之影響，以建立預警系統，建立自行毒性標準是必需的，目前台灣地區環境衛生用藥急毒性屬於第一類之劇毒性之藥劑，已建議不准登記上市。

除口服急毒性試驗、皮膚急毒性外，台灣地區成品環境衛生用藥安全評估上，皮膚刺激性及眼刺激性等毒性測試項目為環境衛生用藥之毒性測試之視情況需要項目，上述研究項目台灣於1986年至1987年均已陸續完成實驗規範準則及程序，且對上述之實驗加以標準化。皮膚急毒性主要以大白鼠為試驗對象，皮膚刺激性及眼刺激性之試驗則以大白兔為試驗動物。皮膚急毒性試驗劑量最高限界為2000mg/kg意即在2000mg/kg之使用劑量以上，即不必進行該項試驗。而皮膚急毒性之試驗主要是經由皮膚表面投與藥劑，此與口服急毒性試驗由胃管法投與方式不同，除投與藥劑方式不同及劑量限界不同外，其他觀察及結果之估算則大抵與口服急毒性者相似。至於環境衛生用藥對溫血動物皮膚急毒性之分類方法，如表一所示。

皮膚刺激性、眼刺激性之試驗主要均針對成品環境衛生用藥。其試驗目的的乃依據所得之試驗之數據做為商品上市時標籤上警告標語之用，並為往後消費者施用藥劑時採取安全防護措施之參考。至於此兩項試驗，若供試之藥劑之酸鹼值大於11.5或小於2時，因這些藥劑已為強酸或強鹼，顯然會對動物皮膚或眼睛造成強烈之傷害，故不必進行此項試驗即可知其傷害性，均禁止上市。目前國內完成之眼刺激性及皮膚刺激性之試驗安全評估方式中，眼刺激之評估等級主要是依1.角膜(Cornea) 2.虹膜(Iris) 3.結膜(conjunctivae)等受傷害程度等綜合評估以決定其眼受刺激程度。而皮膚刺激性程度則是根據：1.皮膚產生紅斑及痂皮之程度 2.皮膚產生浮腫形成程度之綜合判斷。

呼吸毒性之測試為國內最困難發展之急毒性測試項目，主要由於此項試驗牽涉到複雜之儀器設備，其設定儀器之條件相當多，且影響試驗中條件如試驗中藥劑濃度，粒子分佈、氧氣供應、溫濕度之控制，皆可影響試驗之成敗，而空氣之流量及整個呼吸暴露箱之廢氣排除亦是試驗中相當重要的。歐、美、日等國，對呼吸毒性之要求品質相當高，試驗方法卻十分不一致。屬於全身暴露之呼吸毒測試儀器，其人力、物力及設備往往在百萬美元上，目前國內呼吸毒性所使用頭鼻式之呼吸儀(Head & nose only inhalation chamber)為呼吸毒性較簡單型式，儀器雖小，但已可涵蓋大部分試驗項目。目前此項儀器之相關配備如粒子分佈偵測儀及造粉機國內均於1995年完成配備，目前配合這些儀器的發展，短期內對環境衛生用藥呼吸毒性之測試或空氣污染及勞工工作環境之

工廠污染等安全性評估均可加以應用，此項試驗為目前國內最富潛力，最具應用價值之測試項目，亦為環境衛生用藥急需應用之項目。

皮膚過敏性之測試主要目的在測試動物對藥劑經由免疫系統造成之敏感程度。測試以成品環境衛生用藥為主。測試動物則以天竺鼠為對象，天竺鼠為動物中對藥劑過敏性之反應較敏感者，目前國際間發展出之測試過敏性方法非常多，其中七種為常用者：1 .Draize法 2 .Freund's Complete Adjuvant法 3. Mauer Optimisation法 4. Buehler法 5. Open Epicutaneous法 6. Maximisation法 7. Split Adjuvant方法。由於測試過敏性方法過於分歧，為適應國內現階段環境，以往實驗曾經利用 Freund's Complete Adjuvant (FCA) 及 Maximization方法比較相互間優劣，並評估國內藥劑利用此二方法後之評估結果（表二及表三）。由表二及表三分析結果，顯然在精確度上及動物使用量較少之原則下，FCA方法較佳，而Maximization方法在操作及處理手續較簡化，衡之國內目前環境衛生用藥之過敏性試驗，天竺鼠之供應困難，利用FCA較符合目前之狀況，就長期發展而言，而天竺鼠之供應穩定下建議利用 Maximization方法為佳。

遲發性神經毒性試驗 (Delayed neurotoxicity study) 此項試驗主要是針對某些有機磷劑及胺基甲酸鹽藥劑，由於此類藥劑可抑制神經毒之酯酶 (Neuropathy target esterase) 導致遠端神經軸突病變，故需進行此項試驗，尤其是有機磷劑中的含 thioate 或 thionate 之藥劑，尤需進行此類試驗。試驗以蛋雞 (hen) 為測試動物，觀察行為或檢查均需維持至 21 天或更久，目前國內此項實驗之程序大抵完成，完成此項試驗動物對急毒性試驗之完整性則十分重要。(24)

表二、不同化學物質對FCA及Maximization過敏試驗方法精確度之比較
Table2. Comparison of FCA and Maximisation method for contact sensitivity of chemicals in guinea pigs

Pesticide	FCA		Maximisation	
	Sensitisation Grade		Sensitisation Grade	
Captafol	60	III	80	IV
Cypermethrin	88	V	65	IV
Deltamethrin	11	II	0	I
Dichlorvos	60	III	80	IV
DNCB	100	V	100	V
Paraquate	10	II	10	I
Phosmet	100	V	80	IV

表三、比較FCA與Maximisation方法之優缺點

Table3. Comparison of FCA and maximisation method for practical use

	FCA	Maximisation
優點	1.動物數少 2.無需包紮	1.處理濃度少 2.操作步驟簡易 3.分析公式統一
缺點	1.操作步驟多 2.觀察時間長	1.動物量多 2.包紮步驟手續繁

二、環境衛生用藥之亞慢毒性安全評估與管理(1,2,4,13)

此項試驗之主要目的乃是於30天或90天內持續以餵食方法投藥，觀察試驗藥物毒性，以測知藥劑作用於動物器官及其體內可能累積之情形，並訂出其無作用劑量（No Observed Effect Level，簡稱NOEL）值。試驗之結果可用以決定慢毒性測試之劑量範圍及作用之標的器官。亞慢毒性之測試項目包括：1. 90天重覆投藥之口服毒性試驗 2.連續21天之亞急性皮膚毒性試驗 3.十三週亞慢性呼吸毒性試驗 4.十三週遲發神經毒性試驗。有關亞慢性之臨床病理檢驗項中，血液學及血清生化學之檢驗項目如表四。病理解剖學需觀察之項目如表五，其觀察及檢驗項目相當多，此項工作相當繁雜而艱鉅。國內對亞慢毒性試驗已完成多種有機磷劑及多種除蟲菊類之藥劑如 deltmethrin、 fenvalerate 及 permethrin 等之藥劑試驗，除蟲菊類藥劑一向被認為十分安全藥劑，根據 fenvalerate 亞慢毒性研究結果如表六所示，顯然除蟲菊類之藥劑所造成亞慢毒性體內臟器之變化，並沒有預期樂觀。

表四、亞慢毒性試驗臨床病理檢測項目

Tale 4. Items of clinical biochemistry in subchronic test

血液相學：	RBC count, WBC count, Platelet count, Hb., Hct. MCV
血清生化學：	ALT, AST, TP, LDH, CPK, ALK-P, Albumin, Glucose, BUN, Creatinine, GGT, Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻

表五、亞慢毒性臟器檢查項目

Table 5. Pathological items in subchronic test

Cerebrum,	Cerebellum,	Medulla, Kidney, Urinary bladder
Pituitary		
Sciatic nerve, Optic nerve		Testis, Prostate, Ovary, Uterus
Heart, Aorta		Thyroid, Parathyroid, Adrenal gland
Nose, Lung, Trachea		Mammary gland, Salivary gland
Esophagus,	Stomach,	Pancreas, Skeletal muscle, Skin, Eye, Adipose
Intestine		
Thymus, Lymphonode, Spleen		

表六、芬化利除蟲菊殺蟲劑對白鼠之90天亞慢毒性測試之病理病變結果

Table 6. Incidence of histopathological findings of rats treated with fenvalerate for 90 days

Lesion	Concentration (ppm)												
	Male						Female						
	0	0'	160	240	1000	1000'	0	0'	160	240	1000	1000'	
Liver													
	Vacuolization	0	0	4	4	5	5	0	0	0	0	0	0
Kidney													
	Nephritis & Cast	0	0	2	5	2	0	0	0	0	1	0	0
Heart													
	Myocarditis	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Testis													
	Giant cell formation	0	0	2	1	5	3	0	0	0	0	0	0
Thyroid													
	Focal necrosis	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0
Eye													
	Cataract	2	2	4	4	1	4	0	2	7	2	5	7

' : Satellite group

三、環境衛生用藥之慢毒性安全評估與管理：

慢毒性毒理之研究是毒理研究中最受重視也是困難的工作，需投資之人力，物力之大，通常需配合國家產業發展程序，才能決定慢毒性毒理研究成功與否，由於慢毒性毒理研究結果與消費者最息息相關，因此亦最受社會大眾所關注，唯慢毒理毒性因耗時甚鉅，以目前研究之環境，包括政府及研究主管機構很少願意主動是供長期支援，加上此慢毒性毒理研究需有良好實驗動物環境如前所提之SPF動物房之設施，否則無法進行，本國在1991年SPF動物房設施相繼完成，農藥及環境衛生用藥對慢毒性毒理之研究才陸續開展，其中最重要一項為快速致肝癌法之開發，依傳統方法研究農藥對動物致癌性，通常需耗時至少兩年以上，由於此法需耗龐大的財力及人力、且時間長，所需設備亦十分昂

貴，目前國內雖有良好之SPF動物房進行類似之慢毒性（Chronic test）測試，但實際執行上還存在相當大困難，因此國內於1991年引入1989年(6,7,8,14,15,17,18,22)日本所發展之快速致肝癌法以進行國內藥劑致癌性相關性研究，1993年(9,10,23)完成研究開發。此法優點為試驗時間短又具備活體試驗之優點，可補足目前國內慢毒性測試之缺失，又可縮短篩選時間，成效良好，已為國內動物致癌性之研究開創一新領域。表七為國內利用2-AAF所建立快速誘導致肝癌法所得部分結果，由以上之試驗結果可知快速誘發肝癌之方法在病理組織病變上已顯現出相當明顯之結果，充分呈現此方法之應用價值，目前所得之結果已推廣於醫學上之應用及其他化學物質致癌性之預測上，目前正結合基因研究結果，希望發展更快速致癌性偵測法。

表七、利用2-AFF建立之快速誘導肝癌法於鼠隻肝組織上之病理病變

Table7. Histopathological changes in the liver of rats treated by 2-AAF in different period

Time (week)	No.of Animal	Grade of bile- duct proliferation			Hyperplastic nodular	Cholangio- fibrosis	Hepatoma
		+	++	+++			
4	3	—	2	1	3	—	—
	4	3	1	—	3	—	—
6	4	—	—	—	—	3	3
	4	—	—	—	—	—	—
8	3	—	—	—	4	4	4
	4	—	—	—	—	—	—
10	5	—	—	—	5	5	5
	4	—	—	—	1	1	1
12	4	—	—	—	4	4	4
	5	—	—	—	—	—	—

2AAF: 2-acetylaminofluorene

農藥及環境衛生用藥致胚胎畸形（Teratogenicity）及致生殖毒性之研究，國內遲至1993年開始建立相關試驗方法，由於國內對農藥及環境衛生用藥致癌法開發成功，相對上述二種慢毒性研究進展頗有助益，1995年(11,12)上述二種方法之研究體系即因此快速完成。利用此二系統，目前對國內早期引進舊有農藥及環境衛生用藥缺乏致畸胎性及致生殖毒性資料者進行評估，其中農藥中之免賴得及貝芬替兩種農藥在高劑量下所誘發之致畸胎性是研究中發現最明顯之實例。上述二種慢毒性毒理系統之建立，國內農藥農藥及環境衛生用藥慢毒性之測試系統可說已趨於完整。

環境微生物製劑毒理安全評估與管理

本部分主要討論國內微生物製劑之安全性研究現況，內容包括微生物製劑對哺乳動物感染性、毒性及病原性之探討，以期對整個微生物製劑安全性進行層次性評估。目前各類微生物製劑申請在農藥及環境衛生用藥上市種類已日益

增加，由於微生物之變種或亞種菌株或品系不同，對標的害蟲及人體可能具有不同的致病性和毒性，因此微生物製劑上市前之安全性評估，值得加以重視。唯微生物製劑安全性評估與化學性製劑不同，化學藥劑可依劑量與生物效應進行結果評估，而微生物製劑之安全評估程序及評估項目則有其特殊性，主要係因微生物製劑其生物本質所造成。多數微生物製劑含有微生物活體，能自行生長繁殖，並可能具感染性，因此對動物及人體之安全性評估考慮層面考量自是不同。

一、環境微生物製劑之毒理資料要件需求：

- (一) 環境微生物製劑之毒理資料要件該規定主要係參考美國環保署對於微生物製劑之管理規定，並考慮國情而訂。所要求之資料僅為美國所要求之第一階之基本毒理試驗；包括口服急毒性/致病性、皮膚急毒性、肺急毒性/致病性、靜脈注射急毒性/致病性、眼刺激性/感染性、過敏反應及細胞培養試驗等對人體健康評估之急毒試驗；以及禽類、水生生物及非標的植物、非標的昆蟲、蜜蜂之急毒性/致病性等環境評估報告等；微生物之病毒因其屬於較特殊微生物，上述試驗中，細胞培養試驗僅病毒必需，靜脈注射急毒性/致病性如為病毒則不需提供。
- (二) 國內產製之環境微生物製劑，環保署1996年修法草案初步說明，若該微生物分離自國內自然環境，且未經人為誘變或遺傳基因改造者，僅需提供原體及成品口服急毒性/致病性及原體肺急毒性/致病性資料。
- (三) 環保署1996年修法草案初步亦說明國外產製品若其微生物種源自存在於國內自然環境，則經中央主管機關認可之試驗研究單位證明確為完全相同之菌系或品系，可比照國內產製之微生物製劑之毒理需求。

二、環境微生物製劑安全性之研究現況

本省微生物製劑之開發甚早，但大部分僅止於實驗室開發之階段並未生產上市，1990年國外蘇力菌大量引入國內應用，同時國內亦計畫研究開發微生物製劑，冀以取代化學藥劑於田間或環境中之應用。國內產製之環境微生物製劑，目前由於已有毒理資料支持及安全性評估等研究報告，部份行將上市。1996年國內環保署首度參照美國1989年環保署公告之微生物毒理研究之準則並針對國內現況加以修正，訂定微生物毒理研究第一階（Tier I）之項目，藥試所由以往之研究已配合研發出完整毒理研究內容，至1996年為止完成所有之環境微生物對溫血動物之測試體系，涵蓋環保署公告之環境微生物製劑安全測試之項目（20,21）。這是台灣地區微生物製劑對溫血動物安全評估最完整之體系。至於特殊環境微生物製劑如病毒類之細胞組織培養及免疫系統安全性之評估技術則正發展中，以配合政府對環境微生物製劑管理。

環境衛生用藥及環境微生物製劑未來展望

溫血動物毒理研究，由於應用層面甚廣，索涉的資源與環境較深，尤其台灣目前狀況與1980年國內早期發展情形已有很大之不同。現階段溫血動物毒理研究不僅可應用於環境衛生用藥及農用微生物藥劑之安全性評估及管理，同時對於醫學之研究，環保污染物之安全評估及化學工業產品之安全性之評估具有相同之應用價值，筆者認為台灣地區溫血動物毒理研究似應朝以下之方向加以規劃。

- 一、溫血動物毒理技術，應儘速建立國家優良實驗操作規範（GLP）體系，以利國際交流認證及認同。
- 二、溫血動物毒理實驗領域，應做合理之規劃避免人力資源重覆浪費。
- 三、加速國內溫血動物毒理人材之培育及動物毒理基礎工作之發展。
- 四、擴大溫血動物毒理研究，以製作套裝（Package）毒理資料為目標，支援產業升級，配合產業拓展國際競爭力。

參考文獻

1. Brown, V. K. 1980. Acute toxicity in theory and practice with special reference to the toxicity.
2. Doll, J. 1980. Factors influencing toxicity. In : Casarett and Doull's Toxicity : The Basic Science of Poison : Edited by J. Doull, C. D. Klassen, and M. O. Amdur, pp. 70-83 MacMillan, New York.
3. El-Kadi, M. K., L. S. Xara, P. F. De Matos, J. V. N. Da Rocha, and D. P. De Oliveria 1983. Effect of the entomopathogen Metarhizium anisopliae on guinea pig and mice. Environ. Entomol. 12:37-42.
4. Hayes, A. W. 1994. Principles and methods of toxicology. Raven Press, New York.
5. Hadley, W. M., J. P. Thilsted, C. M. Hibbs, J. A. Days. Whorton, M. B. Friedman, and R. E. Stoll, 1987. Five-Month oral (diet) toxicity infectivity study of Bacillus thuringiensis insecticides in sheep. Fundam. Appl. Toxicol. 8:236-242.
6. Ito, N., T. Inoue, Y. Tagawa, T. Akoe, and M. Kagawa. 1986. Development of new rapid bioassay for carcinogen to predict the results of long-term carcinogenicity test. Carcinogenesis 9 (6) : 601-611.
7. Ito, N., H. Tsuda, M. Tatematsu, T. Inoue, Y. Tagawa, T. Aoke, S. Uwagawa, M. Kagawa, T. Ogiso, T. Masui, K. Imada, S. Fukushima, and M. Asamoto . 1988. Enhancing effect of various hepatocarcinogens on

- induction of preneoplastic glutathione S-transferase placental form positive foci in rats. *Carcinogenesis* 9:387-394.
8. Ito, N., K. Imaida, R. Hasegawa, and H. Tsuda. 1989. Rapid methods for carcinogens and modifiers of hepatocarcinogenesis. *CRC Critical Review in Toxicology* 19:385-390.
 9. Liao, J. W., S. C. Wang, and C. I. Liu. 1993. Effect of concentration on response in rapid bioassay for hepatocarcinogenesis in rats. *J. Chin. Soc. Vet. Sci.* 62:47-56.
 10. Liao, J.W., S. C. Wang, and C.I. Liu. 1993. Carcinogenesis for four pesticides evaluated by carcinogenesis bioassay model on rats. *Taiwan Ani. & Vet. Sci.* 62: 47-56.
 11. Lu, S. Y., H. W. Lin, and S. C. Wang. 1994. Teratogenic studies with Benomyl in rats. *J. Chin. Soc. Vet.* 20 (4) :348-356.
 12. Lu, S., H. W. Lin, and S. C. Wang. 1995. Evaluation on teratogenicity of Carbendazim in rats. *Plant Port. Bull.* 37:331-338.
 13. OECD test guidelines. 1980. OECD expert group on good laboratory practices, March 7, 1980, Paris.
 14. Ogiso, T., M. Tatematsu, S. Tamano, R. Hasegawa, and N. Ito. 1990. Correlation between medium-term liver bioassay system data and results of long-term testing in rats. *Carcinogenesis* 11:561-566.
 15. Plaa, L. G., and W. R. Hewitt. 1982. Detection and evaluation of chemically induced liver injury. *Principles and Methods of Toxicology* (A. Wallace Hayes ed.) . Raven Press. New York. pp. 407-445.
 16. Shadduck, J. A., D. W. Roberts, and S. Lause. 1982. Mammalian safety tests of Metarhizium anisopliae: Preliminary results: *Environ. Entomol.* 11:189-192.
 17. Shirai, T., K. Imaida, M. Ohshima, S. Fukushima, Mei-Sie Lee, M. C. King, N. Ito. 1985 : Different response to phenobarbital promotion in the development of γ -glutamyltranspeptidase-positive foci in the liver of rats initiated with diethylnitrosamine, N-acetylaminofluorene and aflatoxin B₁. *Jpn. Cancer Res. (Grann)* , 76:16-19
 18. Shirai, T., K. Hosoda, M. Hirose and N. Ito. 1985; Promoting effects of phenobarbital and 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene on the appearance of γ -glutamyl-transpeptidase positive foci in rat liver pretreated with varying dose of diethylnitrosamine. *Cancer Lett.* 28:127-133.

19. Siegel, J.P., and J.A. Shaddock. 1990. Clearance of Bacillus sphaericus and Bacillus thuringiensis ssp. Israelensis from mammals. *J. Econ. Entomol.* 83:347-355.
20. Tsai, S. F., J. W. Liao, W. K. Hung, and S. C. Wang. 1994. Acute Pathogenicity of Metarhizium anisopliae on rats. *Plant Prot. Bull.* 36: (2) 161-166
21. Tsai, S. F., J. W. Liao, and S. C. Wang. 1995. Clearance and distribution of Bacillus thuringiensis sub. Kurstaki from rat by oral administration. *Plant Prot. Bull.* 37: 265-270.
22. Tusda, H., R. Hasegawa, K. Imaida, T. Masu, M. A. Moore, and N. Ito. 1984. Modifying potential of thirty-one chemicals on the short-term development of -glutamyltranspeptidase positive foci in diethylnitrosamine initiated rat liver. *Gann.* 75:876-883.
23. Wang, S. C., and J. W. Liao. 1991. The rapid bioassay method for liver carcinogenesis on rat. *J. Chinese Vet. Med.* 17 (4) :133-140
24. Wang, S.C., and C.Y. Hsin. 1991. Toxicological study of pesticides on mammals in Taiwan. *Weed Science Bull.* 12: 93-102.

ABSTRACT

Among the three varieties of end-use products for household insecticides include high dose release devices such as spray-cans and slow-release devices, e.g. an evaporating system or mosquito coil. Regulating the use of household insecticides in Taiwan encounters the difficulty of evaluating the inhalation toxicity of such end-use products. In Taiwan, active ingredients within a spray-can comprise of twelve synthetic pyrethroids, one pyrethroid-like insecticide, i.e. etofeprox, and one carbamate, i.e. propoxur. To destabilize (NOTE: instead of "destabilize" how about "paralyze"?) and terminate the insects, forty four of the fifty six spray-can products contain two active ingredients; seven products contain three active ingredients; and only five products contain one active ingredient. Among those products containing multiple active ingredients, twenty one contain tetramethrin, and seventeen contain permethrin. Excluding those products which contain propoxur, active ingredients' contents range from 0.2 - 1% of composition; meanwhile, the propoxur generally constitutes 2.5% of

these compositions. A spraycan's vehicle (NOTE: what do you mean by "vehicle" ? Putting the words "spraycan" with "vehicle" looks kind of stange, unless it is a common technical term. "Vehicle" usually refers to a mean of transportation. "Contents" "Components" ?) consists of decane, kerosene and water, in which the ratio of composition (NOTE: instead of "ratio of composition" how about "composition ratios" ?) range from 6 - 56%, 11 - 54%, and 20 - 57%, respectively. Most spray cans contain 36.3- 64.5% of liquid petroleum gas; only two products use 99% liquid carbon dioxide instead of liquid petroleum gas. Some products also possess 0.05 - 1.24% of piperonyl butoxide, which functions as a synergist.

The evaporating system includes two product varieties: mosquito solution and mosquito mat. All fourteen mosquito solution-related products contain only one synthetic pyrethroide insecticide as an active ingredient. Six of them contain 0.85% prallethrin, 6 contain 1.5 - 3% s-bioallethrin, and the remaining two contain either 1.4% or 4.2% bioallethrin. The vehicle used in the mosquito solution includes decane and kerosene, which constitutes 94-99% of these compositions. All twenty mosquito mat-related products contain only one synthetic pyrethroide as an active ingredients well. Twelve of them contain 30 - 50 mg/piece d-allethrin; six contain 20 - 26 mg/piece s-bioallethrin; and the remaining two contain 40 mg/piece bioallethrin or 10 mg /piece prallethrin, respectively. Most mosquito mats contain 60 - 100 mg/piece decane as the vehicle. The decane concentration is 11 - 34 mg/piece in three products; however, those products also contain 42 - 49% white mineral oil or 30 mg/piece isopropyl myristate, respectively. All active ingredients used in mosquito coils are synthetic pyrethroids, including allethrin, d-allethrin, s-bioallethrin; their concentrations are 0.636 %, 0.15 - 0.3%, and 0.12 - 0.15%, respectively. All the mosquito coils produced locally use saw dust of unknown plants as the base of coil. All imported mosquito coils, i.e. eight from Malaysia and one from Indonesia, use a significant/substantial amount of coconut shell powder as the base. To form the mosquito coil, some starch and glue powder are use as adhesives, 0.18 - 0.3% malachite green is added as a dyestuff; sodium benzoate

is added as a preservative.

Assessing and regulating the inhalation toxicity of end-use products of household insecticides have been of particular concern, primarily in the areas of evaluating the inhalation toxicity of newly active ingredients of insecticides and products containing more than two active ingredients. Governmental authorities mandate the submission of thorough/comprehensive reports involving the acute inhalation toxicity of end-use products prior to marketing in Taiwan. Therefore, in this study, we evaluate the inhalation toxicity of those products by setting up (according to the characteristics/features of different release devices in our laboratory) different assemblies of a head-nose exposure system which can produce a steady state exposure atmosphere. Owing to its ease in implementation, relatively low cost, and less contamination, the intratracheal instillation method may be appropriate for evaluating the inhalation toxicity of household products. In addition, the toxicity of the head-nose exposure method is compared with that of intratracheal instillation method. Recommendations are finally made on the basis of assessment made herein of the inhalation toxicity of household products.

ASSESSMENT OF INHALATION TOXICITY OF HOUSEHOLD INSECTICIDES IN TAIWAN

Shun-Cheng Wang and Kau-Hung Lu

Department of Applied Toxicology,

Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute,
11 Kwang Min Road, Wufeng, Taichung, Taiwan.

ABSTRACT

There are three kind end-use products of household insecticides, which includes high dose release devices such as spray-cans and slow-release devices such as evaporating system or mosquito coil. To evaluate the inhalation toxicity of the end-use products is the major problem for regulating the use of household insecticides in Taiwan. There are 12 synthetic pyrethroids, 1 pyrethroid-like insecticide, etofeprox, and 1 carbamate, propoxur, used as active ingredients of spray-can in Taiwan. To contain both knock-down and killing effects, 44 of 56 spray-can products contain 2 active ingredients, 7 products contain 3 active ingredients, and only 5 products contain 1 active ingredient. In the products containing multiple active ingredients, 21 products contain tetramethrin, and 17 products contain permethrin. Exclude products containing propoxur, the active ingredients contents ranged from 0.2 - 1% of composition, while the propoxur usually constitute 2.5% in these compositions. The vehicle used in spray-can includes decane, kerosene and water, the ratio of composition ranged from 6 - 56%, 11 - 54%, and 20 - 57% respectively. Most of the spray-can contains 36.3- 64.5% of liquid petroleum gas, only 2 products use 99% of liquid carbon dioxide instead of liquid petroleum gas. Some products also posed 0.05 - 1.24% of piperonyl butoxide as synergist.

The evaporating system includes two forms of products, mosquito solution and mosquito mat. All 14 products of mosquito solution contain only 1 synthetic pyrethroid insecticide as active ingredient. Six of them contain

0.85% prallethrin, 6 contain 1.5 - 3% s-bioallethrin, and the other two contain either 1.4% or 4.2% bioallethrin. The vehicle used in mosquito solution includes decane and kerosene that constitute 94-99% in these compositions. All the 20 products of mosquito mat contain only one synthetic pyrethroid as active ingredient, too. Twelve of them contain 30 - 50 mg/piece d-allethrin, 6 products contain 20 - 26 mg/piece s-bioallethrin, and the other two contain 40 mg/piece bioallethrin or 10 mg /piece prallethrin, respectively. Most of the mosquito mat contains 60 - 100 mg/piece decane as the vehicle. The concentration of decane is 11 - 34 mg/piece in 3 products, but they also contain 42 - 49% white mineral oil or 30 mg/piece isopropyl myristate, respectively.

All the active ingredients used in mosquito coil are synthetic pyrethroids, which include allethrin, d-allethrin, s-bioallethrin and the concentration of them are 0.636 %, 0.15 - 0.3%, 0.12 - 0.15% respectively. All the mosquito coil produced by local plants use saw dust of unknown plants as the base of coil. All imported mosquito coil, 8 from Malaysia and 1 from Indonesia, use a lot of coconut shell powder as the base. To form the mosquito coil, some starch and glue powder were used as adhesive, 0.18 - 0.3% malachite green was added as dyestuff and sodium benzoate were added as preservative.

To assess and to regulate the inhalation toxicity of end-use products of household insecticides, the main efforts were focused on evaluating the inhalation toxicity of new active ingredient insecticide and products containing more than two active ingredients. The complete reports of acute inhalation toxicity of end-use product will be requested by governmental authority before marketing in Taiwan. To evaluate the inhalation toxicity of those products, different assemblies of head-nose exposure system which can produce a steady-state exposure atmosphere were set up according to the characters of different release device in our laboratory. Since the intratracheal instillation method has the benefits such as easy to practice, economical, and less contaminate, it may be suitable for evaluating the inhalation toxicity of household products. The comparison between the toxicity of head-nose

exposure method and intratracheal instillation method is conducted in our laboratory. To harmonize these issues for assessing and evaluating the inhalation toxicity of household products, some recommendations for the future are proposed.