

ジクロロメタンのラットに対する催奇形性

著者	西尾 晃, 矢島 純夫, 矢矧 守, 佐々木 幸良, 沢野 芳範, 宮尾 陟
雑誌名	鹿児島大学農学部學術報告=Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University
巻	34
ページ	95-103
別言語のタイトル	Studies on the Teratogenicity of Dichloromethane in Rats
URL	http://hdl.handle.net/10232/1685

ジクロロメタンのラットに対する催奇形性

西尾 晃・矢島純夫・矢矧 守・佐々木幸良
沢野芳範・宮尾 陟
(家畜薬理学研究室)
昭和58年7月30日 受理

Studies on the Teratogenicity of Dichloromethane in Rats

Akira NISHIO, Sumio YAJIMA, Mamoru YAHAGI, Yukiyooshi SASAKI,
Yoshinori SAWANO and Noboru MIYAO
(Laboratory of Veterinary Pharmacology)

緒 言

ジクロロメタンは低毒性の工業用溶剤¹⁾として広く使用されており、不燃性のため家庭用エアゾル製品にも応用されている。

塩素化炭化水素のうち、とくにクロロホルムや四塩化炭素は肝臓や腎臓に毒作用を示すが、ジクロロメタンの上記臓器に対する毒作用はきわめて弱いと報告されている^{6,7)}。また、ジクロロメタンの催奇形性も吸入実験では認められないとの報告がある^{4,10)}。

しかし、ジクロロメタンは *Salmonella typhimurium* に対して変異原性を示し⁸⁾、また鶏胎仔に催奇形性を示す²⁾との報告もあるため、なお詳細な研究が必要と思われる。

著者らは、ラットを用いてジクロロメタンの催奇形作用をさまざまな濃度で詳細に検討した。

材 料 と 方 法

1. 使用動物

Wistar 系ラット (株式会社 九動より購入) を室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 40~60%、明暗 12 時間サイクル (7:00~19:00 が明) に調節した動物室にて飼育した。飼料 (クレア固型飼料 CE-2) と水道水は自由に摂取させた。

体重 210 g 前後の成熟処女ラットを同系の雄ラットと 1 対 1 で夕刻より同居させ、翌朝膣栓および膣内に精子の認められたものを妊娠とみなし、この日を妊娠 0 日として、分離して個別ケージで飼育した。

2. 薬物の投与

急性毒性試験にはジクロロメタン (石津製薬株式会社) を 1% トラガント液に均一に懸濁し、経口ゾンデ

を用いて雄または雌ラットに 1 回あるいは 6 日間 1 日 1 回強制経口投与を行い、投与 7 日までの体重とその他の一般症状を観察したのち、各群のラットを放血致死させ、内部諸臓器を剖検後、臓器重量を測定した。なお、対照群には 1% トラガント液を同様に投与した。

催奇形性試験には、ジクロロメタンを 4, 0.4 および 0.04% となるように粉末飼料 (クレア CE-2) に添加混合し、癌研式給飼器により妊娠 0 日から 20 日まで毎日与え、この間の飼料摂取量よりジクロロメタンの摂取量を算出した。なお、対照群としてジクロロメタン無添加の粉末飼料 (クレア CE-2) を同様に与えた。

3. 母ラットの観察

妊娠ラットにジクロロメタンを与え、妊娠 20 日に屠殺して諸臓器と着床所見を肉眼的に観察した。母ラットの体重測定および一般症状の観察は妊娠中の毎日、また一部の妊娠ラットについては自然分娩させた後の 1 週間毎に行った。自然分娩した母ラットについては分娩後 21 日に屠殺して剖検後、着床痕数などを記録した。

4. 妊娠末期胎仔の観察

妊娠ラットを妊娠 20 日に屠殺し、胎仔の生死数および吸収胚数を調べ、生存胎仔については外表異常の有無を検査したのち、雌雄を判別し、体重測定を行った。生存胎仔の約半数は内臓を除去し、99% エタノールで固定後 Dawson の変法¹¹⁾によりアリザリン赤 S で染色し、骨格異常の有無の検索用に供した。

また、残りの約半数の胎仔は Bouin 液で固定したのち Wilson 法¹¹⁾による内臓異常の有無の検索用に供した。

5. 自然分娩仔の観察

粉末飼料にジクロロメタンを 0.4% および 0.04%

になるように添加混合して与えた群および対照群の妊娠ラットを自然分娩させ、新生仔を得た。分娩日（生後0日）に分娩仔数とその生死を調べ、生存仔については外表異常の有無を検査し、雌雄別に番号を付したのち体重を測定した。生後0日に1腹当りの生存仔数を8匹（雄4匹、雌4匹）に調整した。生存仔の体重測定およびその他の一般症状の観察は生後4日と7日後、それ以降は1週毎に行った。生後21日に仔を離乳し、雌雄を分離して8週齢まで飼育した。生後8週に屠殺して剖検後、肝臓と腎臓の重量を測定した。

6. その他

その他の必要な事項については、それぞれの個所に記載した。数値の有意性の検討は Student's *t*-test により、危険率5%以下を有意とした。

結 果

1. 急性毒性試験

1群5匹の雄ラットに各種濃度のジクロロメタンを1回強制経口投与したときの体重変化を Fig. 1 のA

に示した。600 mg/kg を1回強制経口投与すると体重は2日目より5日目まで減少したが6日目から回復傾向を示した。300 mg/kg の1回強制経口投与では体重増加は3日目まで抑制されたが4日目から回復傾向を示した。150 mg/kg を1回強制経口投与した場合の体重増加は対照群とほとんど差がみられなかった。また、いずれの群にも死亡例はみられなかった。投与7日目に各群のラットを屠殺し、剖検後、臓器重量を測定した。その結果を Table 1 に示した。各臓器の比体重重量では、300 mg/kg 投与群の胃および600 mg/kg 投与群の副腎と精巣では対照群との間に有意差がみられた。

つぎに、1群4~5匹の雌ラットに300、150、75および37.5 mg/kg のジクロロメタンを1日1回6日間連続強制経口投与した。そのときの体重変化を Fig. 1 のBに示した。37.5および75 mg/kg 投与群では対照群とほとんど差はなかったが、150および300 mg/kg 投与群では投与2日目以降に体重減少がみられた。しかし、いずれの群でも死亡例はなかった。また、投与

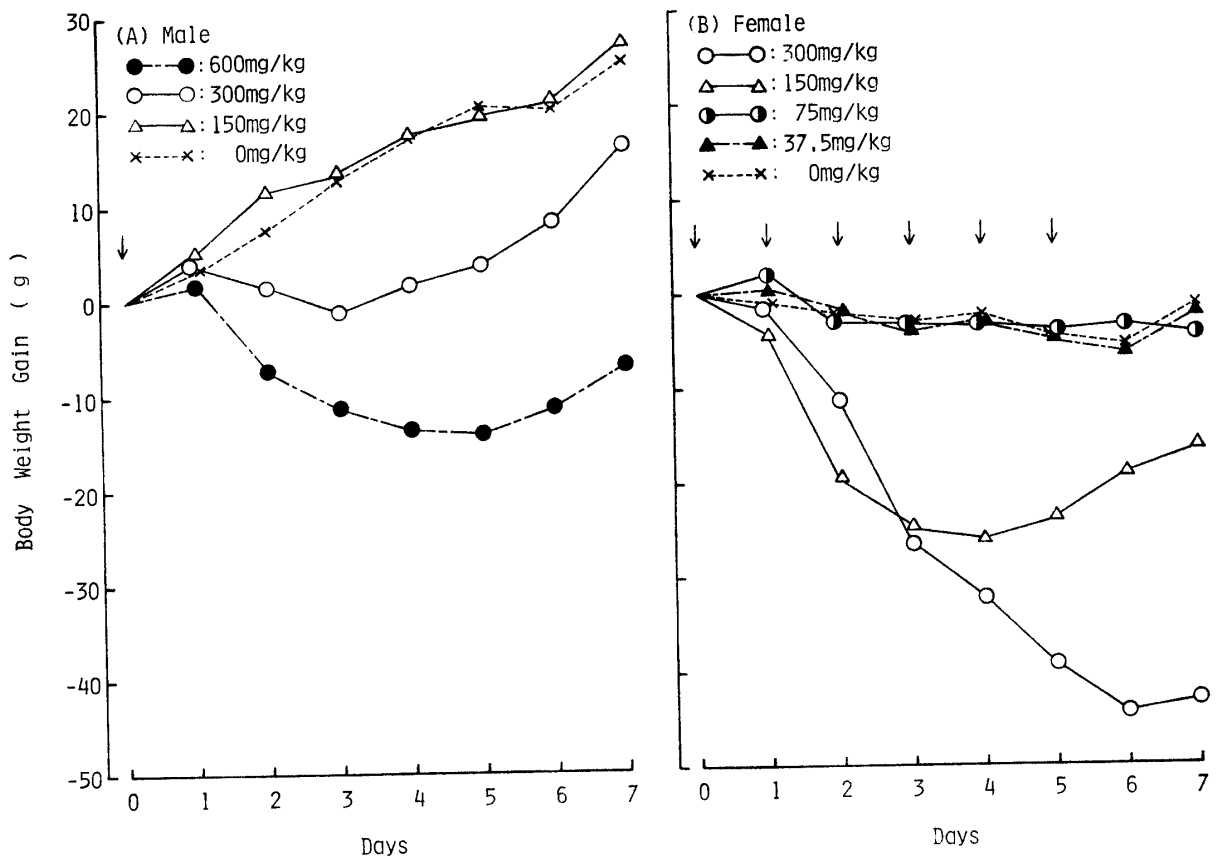


Fig. 1. Body weight gain of rats orally administered with various doses of dichloromethane. Each point represents the mean of four or five rats. Arrows show oral administration of dichloromethane.

Table 1. Average ratios of various organs to 100 g body weight in male rats after single oral administration of dichloromethane

Dose (mg/kg, P.O.)	No. of rats	Body wt. (g)	Relative organ wt. (g/100 g body wt., Mean±S.D.)									
			Brain	Heart	Lung	Stomach	Liver	Spleen	Kidney	Adrenal (mg)	Testis	
600	5	237±35	0.77±0.09	0.33±0.02	0.60±0.10	0.61±0.14	3.48±0.36	0.28±0.05	0.77±0.03	21.7±4.0*	1.35±0.13*	
300	5	255±40	0.71±0.09	0.31±0.02	0.52±0.13	0.58±0.05*	3.67±0.19	0.26±0.02	0.80±0.05	17.7±3.6	1.23±0.10	
150	5	263±33	0.68±0.07	0.31±0.02	0.51±0.13	0.47±0.04	3.58±0.33	0.22±0.03	0.74±0.09	18.0±1.3	1.23±0.09	
0	5	273±24	0.68±0.04	0.31±0.02	0.50±0.07	0.51±0.03	3.70±0.46	0.25±0.03	0.77±0.07	16.7±2.4	1.17±0.11	

* p<0.05

Table 2. Average ratios of various organs to 100 g body weight in female rats after oral administration of dichloromethane for 6 days

Dose (mg/kg, P.O.)	No. of rats	Body wt. (g)	Relative organ wt. (g/100 g body wt., Mean±S.D.)									
			Brain	Heart	Lung	Stomach	Liver	Spleen	Kidney	Adrenal (mg)	Uterus	
300	5	212±35	0.83±0.10	0.32±0.04	0.63±0.18	0.63±0.09	3.08±0.18*1	0.23±0.03	0.66±0.06	29.6±7.4	0.19±0.05	
150	4	238±24	0.78±0.08	0.29±0.03	0.63±0.15	0.53±0.04	2.87±0.17*2	0.24±0.04	0.57±0.06*1	22.5±3.9	0.22±0.08	
75	5	249±39	0.76±0.08	0.43±0.26	0.65±0.13	0.53±0.06	3.26±0.31	0.24±0.04	0.67±0.06	25.0±4.9	0.28±0.08	
37.5	5	243±17	0.78±0.09	0.29±0.03	0.54±0.13	0.48±0.05	3.03±0.08*2	0.23±0.03	0.63±0.03	23.2±1.9	0.20±0.02	
0	5	246±18	0.73±0.09	0.30±0.02	0.56±0.05	0.53±0.05	3.36±0.18	0.23±0.01	0.69±0.06	21.4±5.5	0.21±0.05	

*1: p<0.05 *2: p<0.01

Table 3. Effects of dietary dichloromethane on rat fetuses and

Dose (%)	Dam			
	Dead/Total	Total intake of dichloromethane (mg, Mean±S.D.)	Body wt. gain (g, Mean±S.D.)	No. of implants
4	0/9	13626±1419	102±13* ²	117
0.4	0/17	1394± 134	119±13	232
0.04	0/14	134± 13	110± 9	189
0	0/17	0	116±17	228

*1: (No. of resorptions/No. of implants) × 100

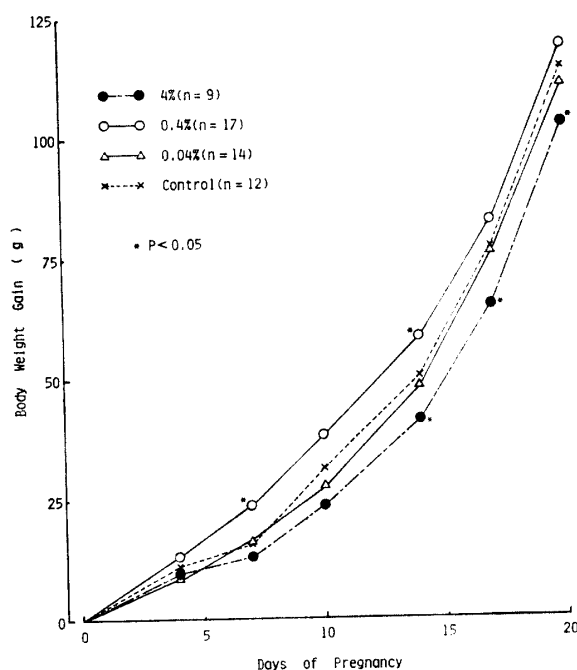


Fig. 2. Body weight gain of pregnant rats fed with dichloromethane from day 0 to 20 of pregnancy.

7日目に各群のラットを屠殺し、剖検後、臓器重量を測定した。Table 2 に示すように、肝臓と腎臓の比体重重量に投与群と対照群との間に有意差が散見された。

以上の成績より、ラットに対する最大安全量は1日当り 150 mg/kg よりも低い投与量であると考えられる。このことおよび妊娠中のラットの飼料摂取量より、催奇形性実験におけるジクロルメタンの飼料中への最大添加量は4%とした。

2. 妊娠中に各種濃度のジクロルメタンを与えられた母ラットの体重変化

妊娠0日から20日まで4, 0.4および0.04%のジクロルメタンを含む飼料を妊娠ラットに与えたときの体重変化を Fig. 2 に示した。すなわち、4%投与群は対照群に比べ妊娠の中期以降の体重増加が有意に抑制された。0.04%投与群は対照群との間に有意な差はみられなかったが、0.4%投与群では対照群に比べ体重増加の促進がみられた。いずれの群でも死亡例はなかった。

3. 妊娠中に各種濃度のジクロルメタンを与えられたラット胎仔の外表所見

妊娠中にジクロルメタンを4, 0.4および0.04%含む飼料を与えた前述の実験において、妊娠20日に各群のラットを屠殺し、着床所見、胎仔の性別と体重および外表異常の有無などを観察した。その結果を Table 3 に示した。すなわち、黄体数、着床数および吸収胚数において各群間に有意な差は認められなかった。しかし、生存胎仔の体重は0.4%投与群の雌では対照群に比して有意な低下がみられた。外表奇形胎仔はいずれの群にも1例も認められなかった。

4. 妊娠中に各種濃度のジクロルメタンを与えられたラット胎仔の骨格および内臓所見

各群の生存胎仔を Dawson の変法により骨格標本を作成し、骨格異常の検索を行った結果を Table 4 に示した。胸骨核化骨遅延例が対照群をはじめ各群にみられた。0.04%と0.4%投与群にはそれぞれ1例の頸椎化骨遅延例がみられた。0.4%投与群でみられた頸椎化骨遅延例の胎仔は、後頭骨の化骨も遅延していた。また、奇形例はいずれの群にも認められなかった。

dams, given from day 0 to 20 of pregnancy

No. of resorptions (%) ^{*1}	No. of dead fetuses	No. of live fetuses (Male/Female)	Fetal wt. (g. Mean±S.D.)	No. of fetuses with external malformations
4(3.4)	0	113 (54/59)	♂ 4.01±0.20 ♀ 3.80±0.13	0
5(2.2)	0	224 (122/102)	♂ 3.83±0.34 ♀ 3.55±0.30 ^{*2}	0
11(5.8)	0	178 (85/93)	♂ 3.93±0.28 ♀ 3.69±0.30	0
12(5.3)	0	216 (108/108)	♂ 3.94±0.34 ♀ 3.76±0.26	0

^{*2}: p<0.05

Table 4. Skeletal and visceral examinations of fetuses derived from the dams given dietary dichloromethane from day 0 to 20 of pregnancy

Dose (%)	4	0.4	0.04	0
Skeletal examination				
No. of fetuses examined	54	112	86	104
Delayed ossification				
Skull	0	1	0	0
Sternebra	25	63	46	26
Cervical vertebra	0	1	1	0
Visceral examination				
No. of fetuses examined	59	112	92	112
Dilatation of renal pelvis	0	3	0	1

Table 5. Effects of dietary dichloromethane on growth of rat neonate from dams, given from day 0 to 20 of pregnancy

Dose (%)	0.4	0.04	0
No. of dams	7	7	7
Day 0 (At birth)			
No. of live neonates	91	94	80
No. of dead neonates	5	3	3
% of neonatal death ^{*1}	5.2	3.1	3.6
Abnormality of neonate			
Short tail	0	1	0
Day 21 (At weaning)			
Survival rate (%) ^{*2}	100	98.0	100
Day 56			
Survival rate (%) ^{*2}	100	98.0	100

^{*1}: (No. of dead neonates at birth/No. of total neonates at birth)×100^{*2}: (No. of live neonates at weaning/No. of live neonates at day 4)×100

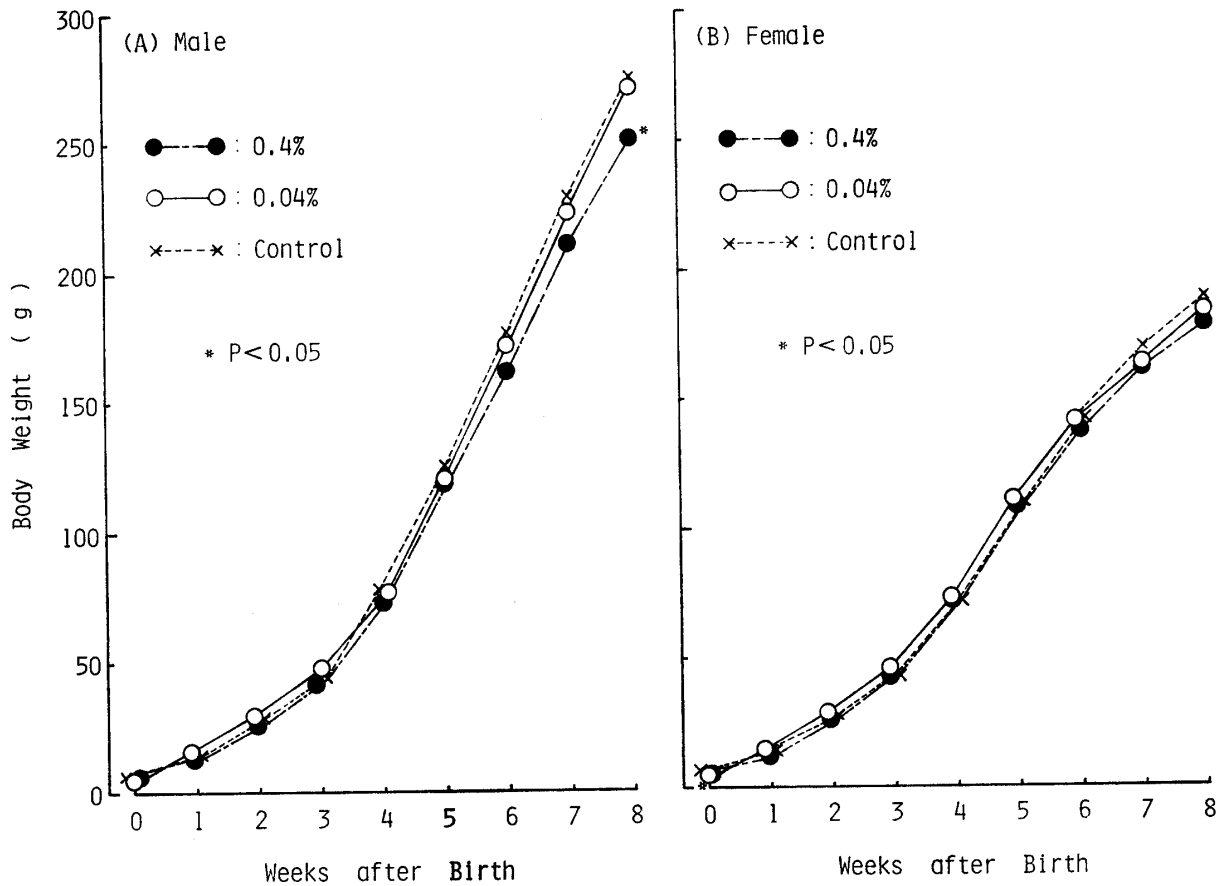


Fig. 3. Growth curve of rat neonates from the dams given dietary dichloromethane from day 0 to 20 of pregnancy. ● : 0.4% of dietary dichloromethane, ○ : 0.04% of dietary dichloromethane, × : Control. * : $p < 0.05$

Table 6. Organ weight of 56-day-old rats from the dams, given dietary dichloromethane from day 0 to 20 of pregnancy

Dose (%)	Sex	Absolute organ wt. (g)		Relative organ wt. (g/100 g body wt.)	
		Liver	Kidney	Liver	Kidney
0.4	Male	11.80±1.05*	2.08±0.36*	4.55±0.29	0.80±0.13
	Female	8.00±1.04	1.48±0.13	4.37±0.35	0.81±0.04
0.04	Male	12.99±2.05	2.35±0.26	4.89±0.39*	0.89±0.05
	Female	8.73±1.11	1.61±0.15	4.81±0.23*	0.88±0.03*
0	Male	12.95±1.05	2.39±0.23	4.55±0.26	0.84±0.09
	Female	8.49±0.57	1.57±0.10	4.40±0.19	0.82±0.05

Mean±S.D. * : $p < 0.05$

Wilson 法による内臓異常の検索結果も Table 4 に示した。腎盂拡大例が対照群に 1 例と 0.4% 投与群に 3 例みられたが、4% および 0.04% 投与群にはみられなかった。また、奇形例はいずれの群にも認められなかった。

5. 妊娠中に各種濃度のジクロロメタンを与えられた新生仔の生後発育所見

1 群 7 匹の妊娠ラットに 0.4% および 0.04% のジクロロメタンを含む飼料を与え、その後自然分娩させた。各群の新生仔は生後 0 日に 1 腹当りの仔数を 8 匹に調整した。出生時の仔の体重は、0.04% 投与群の雌の体重が対照群に比し有意に低いことと、1 例の短尾の新生仔がみられたことを除いては各群間に著明な差はみられなかった。生後 3 週における離乳までの結果

と、生後8週までの生存率を Table 5 に、また生後8週までの仔の体重の推移を Fig. 3 に示した。0.4% 投与群の雄の生後8週目の体重は対照群に比べ有意に低かった。しかし、新生仔の開眼および臍開口にいたるまでの日数は投与群と対照群の間に差は認められなかった。

8週齢における肝臓と腎臓の実重量と比体重重量を Table 6 に示した。すなわち、0.4% 投与群の雄の肝臓と腎臓の実重量値が対照群に比して有意に低かった。また、0.04% 投与群の雌雄の肝臓および雌の腎臓の比体重重量値が対照群に比し大きくなっていった。

考 察

ジクロロメタンのラットに対する LD50 (p.o.) は 945mg/kg で、ヒトの経口摂取による最低致死量は 500 mg/kg とされている³⁾。本実験では、600 mg/kg の一回強制経口投与で体重減少はみられたが死亡例はなかった。また、300 mg/kg の6日間連続強制経口投与では、総投与量が 1800 mg/kg になるにもかかわらず死亡例はみられなかった。このことはジクロロメタンの蓄積作用は少ないことを示しているものと考えられる。

McKenna と Zempel⁹⁾ は ^{14}C CH₂Cl₂ を用いた実験で ^{14}C 物質の尿中への排泄は、50 mg/kg のジクロロメタンを経口投与した場合、24 時間後には投与量の 1% 以下になることを示しているが、肝臓への蓄積を示唆する成績をも示している。本実験でも、Table 2 に示したように、ジクロロメタンを連続強制経口投与されたラットの肝臓の比体重重量の低下がみられ、肝臓への影響が示唆された。

妊娠ラットにジクロロメタンを 4, 0.4 および 0.04% 含む飼料を妊娠0日から20日まで与えたとき、4% 投与群の体重増加の抑制がみられ、妊娠末期胎仔の体重も雌では対照群に比べて有意に低下していた。しかし、外表奇形例はみられなかった。なお、妊娠20日の母ラットの肝臓の実重量は対照群の平均 13.05 g に対し、4% 投与群で 12.51 g、0.4% 投与群で 12.80 g および 0.04% 投与群で 12.89 g といずれも対照群に比べ有意ではないが低い傾向を示し、Table 2 での成績と類似していた。

胎仔の骨格および内臓検査では、各群に若干の異常例を認めたが、いずれの群にも骨格および内臓の奇形と考えられる例は認められなかった。また、これらの母ラットより得た新生仔の生後観察においても仔の異常は認められなかった。しかし、0.4% 投与群の仔の生後発育が対照群に比し抑制される傾向がみられ、8

週齢では有意な抑制であった (Fig. 3)。また、8週齢の肝臓と腎臓の実重量は対照群のそれらに比べ有意に低い値を示した。この点についてはさらに機能的な検討が必要であると考えられる。

0.4% および 0.04% のジクロロメタンを含む飼料で飼育した群におけるジクロロメタンの総摂取量はそれぞれ約 1.39 g と 0.13 g となるが、これらの摂取量ではいずれも奇形発生が認められなかった。しかし、ジクロロメタンの揮発性を考慮に入れた検討も必要と考えられた。

要 約

ジクロロメタンの催奇形性を検討する目的で Wistar ラットを用いて、その急性経口毒性を検討したのち、妊娠ラットに各種濃度のジクロロメタンを飼料に添加して与え、末期胎仔ならびに新生仔の発育などについて検討し、以下の成績を得た。

1. 雄ラットに 150, 300 および 600 mg/kg のジクロロメタンを1回経口投与したとき、いずれの群にも死亡例はみられなかったが、300 mg/kg 投与群と 600 mg/kg 投与群では投与量にほぼ応じて体重減少もしくは体重増加率の抑制がみられた。また、雌ラットに 37.5, 75, 150 および 300 mg/kg のジクロロメタンを6日間連続経口投与すると、150 および 300 mg/kg 投与群では体重の著しい減少がみられ、肝重量の減少もみられた。しかし、いずれの群でも死亡例はみられなかった。

2. 妊娠0日から20日まで、4, 0.4 および 0.04% のジクロロメタンを含む飼料を与え、20日目の胎仔所見を検討したところ、4% 投与群の母ラットの体重増加が抑制された。また、0.4% 投与群の末期胎仔 (20日目) の雌の体重が対照群に比べ有意に低かった。しかし、いずれの群にも外表奇形例はみられなかった。

3. 上記の実験における胎仔の骨格検査の結果、各群に化骨遅延例が認められた。また、内臓検査の結果、0.4% 投与群と対照群に腎盂拡大例がみられた。

4. 0.4 および 0.04% のジクロロメタンを含む飼料を妊娠中に与えられた母ラットより得た新生仔の発育については、いずれも比較的良好な仔の発育がみられたが、0.4% 投与群の雄の8週齢時の体重が対照群に比べ抑制され、肝臓および腎臓の重量にも影響がみられた。

以上の成績から、本実験の範囲内ではジクロロメタンのラットに対する催奇形性はないものと考えられた。

謝辞 本研究の遂行にあたり、有益な御教示を賜わった国立衛生試験所 加納晴三郎博士に厚く感謝いたします。なお、本研究は厚生省食品化学課の援助によって行った。深甚なる謝辞を表します。

文 献

- 1) Dawson, A.B.: A note on the staining of the skeleton of the cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.*, **1**, 123-124 (1926)
- 2) Elovaara, E., Hemminki, K. and Vainio, H.: Effects of methylene chloride, trichloroethane, trichloroethylene, tetrachloroethylene and toluene on the development of chick embryos. *Toxicology*, **12**, 111-119 (1979)
- 3) Fairchild, E.J., Lewis, R.J. Sr., and Tatkens, R.L. (eds.): Registry of Toxic Effects of Chemical Substances, Vol. II, p. 536-537, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Ohio (1977)
- 4) Hardin, B.D. and Manson, J.M.: Absence of dichloromethane teratogenicity with inhalation exposure in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **52**, 22-28 (1980)
- 5) Jongen, W.M.F., Alink, G.M. and Koeman, J.H.: Mutagenic effect of dichloromethane on *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.*, **56**, 245-248 (1978)
- 6) Klaassen, C.D. and Plaa, G.L.: Relative effects of various chlorinated hydrocarbons on liver and kidney function in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **9**, 139-151 (1966)
- 7) Klaassen, C.D. and Plaa, G.L.: Relative effects of various chlorinated hydrocarbons on liver and kidney function in dogs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **10**, 119-131 (1967)
- 8) Kutob, S.D. and Plaa, G.L.: A procedure for estimating the hepatotoxic potential of certain industrial solvents. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **4**, 354-361 (1962)
- 9) McKenna, M.J. and Zempel, J.A.: The dose-dependent metabolism of [¹⁴C]methylene chloride following oral administration to rats. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **19**, 73-78 (1981)
- 10) Schwetz, B.A., Leong, B.K.J. and Gehring, P.J.: The effect of maternally inhaled trichloroethylene, perchloroethylene, methyl chloroform, and methylene chloride on embryonal and fetal development in mice and rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **32**, 84-96 (1975)
- 11) Wilson, J.G.: Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals. "Teratology: Principles and Techniques", (Wilson, J.G. and Warkany, J. ed.), p. 262-277, University of Chicago Press (1965)

Summary

During the period from the 0 day to the 20th day of pregnancy some examinations were carried out on the teratogenic effects of dichloromethane in Wistar rats fed with the diet containing 4, 0.4 or 0.04% of dichloromethane, respectively.

Examinations were made on the effects on the fetuses on the 20th day of pregnancy as well as on the effects on the neonatal growth for eight weeks after birth.

Even in the case of acute oral toxicity, no lethal effect was shown by any single administration at the doses of 600, 300 or 150 mg/kg; while a slight reduction in the body weight gain was brought forth at the doses of 600 and 300 mg/kg, respectively. No lethal effect was shown either by the six administrations during six days at the doses of 300, 150, 75 and 37.5 mg/kg; while some significant inhibition of the body weight gain was brought forth at the doses of 300 and 150 mg/kg; on the other hand, some significant decreasing was brought forth in the relative weight of the liver in the experimental groups, excepting the group of 75 mg/kg.

In the teratological study, in case of 4% group, was brought forth some significant reduction in the maternal body weight. Concerning the numbers of implantations and resorptions, no significant differences were noted throughout all the groups, while some significant reduction was noted in the fetal weight of the females in case of the 0.4% group. In no group was observed any external malformation. By the skeletal and visceral observations of the fetuses it was indicated that between the control and the experimental groups no significant difference was observed both in the frequency of delayed ossifications and in the dilatation of renal pelvis.

In the case of 0.04% group, on the postnatal growth was observed no adverse effect, but in case of 0.4% group a decreasing in the body weight gain was observed in the 8th week in the male offspring. Also in the 0.4% group, some significant reduction in the absolute weight of liver was observed in the 8th week after birth in male.

Based on the above mentioned results, it was concluded that no teratogenic effect was to be noted in the rats fed with the diet containing dichloromethane ranging from 0.04 to 4% during gestation.