

새로운 합성 농약인 KH-502의 급성 지연성 신경독성 시험에 관한 연구

박재학¹ · 서광원² · 남기환² · 한상섭³ · 이영순²

¹서울대학교 수의과대학 실험동물의학교실, ²공중보건학교실, ³한국화학연구소

A Study on Acute Delayed Neurotoxicity of KH-502, A Newly Synthesized Insecticide

JH Park¹, KW Seo², KH Nam², SS Han³ and YS Lee²

¹Laboratory Animal Medicine and ²Public Health, ³College of Veterinary Medicine,
Seoul National University, Korea Institute of Chemical Research

(Received August 4, 1997)

(Accepted October 2, 1997)

ABSTRACT : Acute delayed neurotoxicity of KH-502 [O,O-Diethyl O-(1-phenyl-3-trifluoromethyl-5-pyrazoyl) thiophosphoric acid ester], an insecticide synthesized newly in Korea, was studied in White Leghorn hens. The doses were determined on the basis of preliminary LD₅₀ study. High, middle and low doses were determined to be 1123 mg/kg, 762 mg/kg and 518 mg/kg, respectively. The animals were pretreated with atropine (30 mg/kg) prior to administration of KH-502. The chemical was administered at the first and 21st day of the study. As positive controls, animals were administered with triorthocresylphosphate (TOCP 1000 mg/kg and 500 mg/kg). Animals administered with TOCP or KH-502 were sacrificed by perfusion-fixation at 21st and 42nd day of the study, respectively. The central and peripheral nerve tissues were routinely treated for microscopic observation. As results, eight, three, one, and one chickens died within 2 day after administration with signs of cholinergic acute toxicity in high, middle low and TOCP dose-group (500 mg/kg), respectively. No abnormal clinical signs were observed in the survived chickens administered with KH-502 in the duration of the study. The chickens in positive control groups showed ataxia and incoordination at the 14th day after administration of TOCP. From necropsy, macroscopic changes were not observed in all groups including positive control groups. Histopathologically, axonal swelling with myelin loss, focal gliosis, distention around axonal space were observed in the spinal cords of the chickens administered with TOCP 1000 mg/kg. The lesions were distinct in the dorsal and lateral funiculi of cervical spinal cord, in the lateral and ventral funiculi of thoracic spinal cord and in ventral funiculi of lumbosacral spinal cord. Axonal swelling and microgliosis were infrequently observed in the chickens of other groups including negative control one. However, they were nonspecifically distributed in the spinal cords. In this study, we concluded that the new chemical, KH-502 did not have acute delayed neurotoxicity in White Leghorn hens.

Key Words : Acute delayed neurotoxicity, White leghorn hens, Axonal swelling

I. 서 론

지연성 신경독성은 어떤 약제를 투여한 후, 그 약제에 기인하는 신경증상 내지는 신경 병변의 발현까지 일정한 시간을 필요로 한다(Cavanagh, 1973; Abou-Donia and Graham, 1979). 마우스나 랫드를 이용하는 일반 독성 시험에서는 이와 같은 종류의 신경독성유무를 확인하는 것이 곤란하기 때문에 미국의 EPA, 유럽의 OECD, 일본의 농림수산성의 독성시험가이드라인에서는 이러한 지연성 신경독성을 일으킬 가능성이 있

는 화합물(아세틸콜린에스테라제 저해제, 유기인제, 메칠 카바메이드와 디메틸 카바메이드이외의 카바마이드제, 지연성 신경독성을 유발하는 물질과 구조적으로 유사한 약제등)에 대하여는 신경 독성에 감수성이 높은 닭을 이용한 해당 시험을 행하도록 규정되어있다(三森國敏, 1988).

본 시험에서는 국내에서 새로 개발한 유기인제 농약인 KH-502에 대하여 지연성 신경독성 유발 유무를 알아보고자 일본농림수산성 가이드라인에 따라 시험을 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

한국에서 새롭게 합성한 살충제인 KH-502 [O,O-Diethyl O-(1-phenyl-3-trifluoromethyl-5-pyrazoyl) thiophosphoric acid ester]를 냉장상태에서 보관하며 시험에 공시하였다. 시험물질은 무색의 액상제제로 비중은 1.27(10°C)였다.

2. 공시동물

13개월령 암닭(White Leghorn hens) 75마리를 서울대학교 부속목장과 파천연구소로부터 입수하여 실험실에 1주간 순화사육하며, 그 기간중 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 사용하였다. 용량설정을 위한 급성 경구투여에 8마리를, 본시험에 52마리를 공시하였다. 본시험에서는 각군당 10마리씩 공시하였으며, 양성 대조군 중 고용량군인 TOCP(triorthocresylphosphate) 1000 mg 투여군은 2마리로 하였다. 투여개시시 13개월령으로 체중범위는 1.5-2.2 kg이었다.

3. 식별법

군분리는 무작위법으로 하였으며 군의 식별은 사육상자별 tag표시법을 이용하고 사육상자별로 시험번호, 표제, 동물실, 시험기간, 시험책임자명을 기재한 label을 첨부하였다.

4. 사육환경

공시동물의 사육은 서울대학교 농과대학 부속목장 계류사에서 닭 사육용 철망케이지(35(W)×27.5(L)×35(H)cm)를 이용하였고 온도 15±3°C, 상대습도 40±10%, 환기 회수 10-12회/hr, 형광등 조명에 의한 명암 cycle은 12시간주기(07:00 점등-19:00 소등), 조도 150-300 lux의 환경하에서 사육하였다. 산란중계용 닭사료(현대사료 주식회사)와 상수도수는 자유급여하였다.

5. 시험물질의 투여

본 실험에 앞서 atropine을 투여하지 않은 급성경구독성시험을 실시하였는데, 일본 독성 시험법을 참고로 하여 LD₅₀이상의 용량군을 2군 설정하였으며 참고로 LD₅₀이하의 용량을 1군 설정하였고, 모든 투여물질의 볼륨

은 10 ml/kg의 부피가 되도록 corn oil로 희석하여 투여직전의 체중을 기준으로 투여하였다. 대조군은 매체대조인 corn oil투여군과 양성대조군인 TOCP를 500 mg/kg로 투여하는 군과 1000 mg/kg로 투여하는 군을 두어 시험물질 투여군과 비교하였다. 시험물질은 시험개시일 및 21일째 각각 1회씩 투여하였다. 시험물질 투여 30분 전에 atropine(Sigma)을 30 mg/kg로 근육투여한 후 gastric tube를 이용하여 시험물질을 경구로 투여하였다.

6. 관찰 및 검사항목

1) 일반증상 관찰

투여 당일은 투여후 1시간, 2.5시간, 4시간에 일반상태를 관찰하였고, 투여 다음날부터 매일 관찰하여 21일까지 일반상태의 변화, 신경증상의 발현여부 및 폐사동물의 유무를 관찰하였으며, 투여 21일까지 뚜렷한 지연성 운동이상이가 관찰되지 않아 다시 같은 양을 투여한 후 같은 방법으로 다시 21일간을 더 관찰한 다음 부검하였다. 임상증상의 판정기준은 이상없음 (1), 운동량저하 (2), 침울 (3)과 같이 수치로 표현하였다.

2) 운동이상관찰

일주일에 2회씩 개방된 공간에서 강제로 운동을 시켜 수의 운동의 이상유무를 관찰하였으며 그 판정기준은 경도의 운동실조(T1:잘 못 걷고 다리가 미끄러진다), 중등도의 운동실조(T2:걷는 모양의 변화가 있고 다리운동의 조절장애를 보인다), 고도의 운동실조(T3:다리를 던지는 것처럼 걸으며, 굴신곤란), 운동마비 또는 운동실조(T4:못 걷고 웅크린다), 운동마비(기립불능, 호흡곤란)으로 하였다(三森國敏, 1988).

7. 부검

시험종료 1일전에 모든 개체에 대하여 절식을 실시하였다. 시험종료일에 체중을 측정한 후 헤파린(sigma)을 관류고정 20분전에 체중 kg당 130IU로 날개정맥으로 주사한 다음 케타민(유한양행)을 80 mg/kg의 양으로 투여한 후 ether로 추가마취를 실시하면서 복강 및 흉강을 절개하고 심외막을 제거한 후 관류관을 좌심실에 고정하였다. 우심실을 절개함과 동시에 생리식염수를 관류관으로 유입시켜 약 1-2분간 혈액을 제거한 후 10% 중성포르말린 고정액을 관류관에 80 mmHg의 압력으로 유입시켜 약 40분 후에 고정상태를 관찰한 후 관류고정이 잘 된 개체는 관류를 중단하고 흉강 및 복강 장기를 제거한 후 뇌를 분리하여 다시 중성 포르말

린에 고정하고 나머지 척추 및 근육을 중성 포르말린에 고정하였다.

8. 조직병리학적 관찰

척추는 탈회액에 넣어 일주일간 탈회를 시킨 후 제 12번 경추와 14번 경추사이에서 양쪽의 신경절이 노출되도록 절단하여 파라핀 포매하였고 그 가운데 부분의 경수부분은 한번 횡단한 후 두조각의 경수중 하나는 다시 반을 절개하여 회질과 백질 부분이 모두 나오도록 파라핀 포매를 실시하였다. 흉추는 제3번흉추와 제5번 흉추사이에서 경추와 같은 요령으로 절개하였고, 요천추는 요천복합골에서 가장 넓은 부위를 중심으로 뒤로 약 1 cm 앞으로 약 2 cm되는 곳에서 신경절이 노출되도록 적출 하였으며 절개요령은 경추와 같았다. 뇌는 추가 고정이 끝난 부검후 약 1주일 후에 대뇌의 전두엽, 시교차, 시엽, 소뇌의 중간부분과 연수가 함께 보이도록 절개하였으며 연수의 일부는 다시 척수와 같은 요령으로 절개하여 파라핀으로 포매하였다. 말초신경으로는 좌골신경을 적출하여 중추신경과 같은 요령으로 파라핀 포매하였다. 각 조직으로부터 5 µm의 절편을 제작하여 Hematoxylin & Eosin 염색을 하여 관찰하였다. Hematoxylin & Eosin 염색에서 이상이 관찰된 조직에 대하여 Bielschowsky's method(paraffin 변법)로 축삭을 염색하였고, Klüver-Barrera's 염색을 실시하여 수초의 이상유무를 관찰하였다.

III. 결 과

1. KH-502의 경구급성 독성 시험

시험물질의 투여용량을 결정하기 위하여 atropine을 투여하지 않고 급성 경구독성시험을 실시하였던 바 762 mg/kg 투여군에서 2마리중 1마리가 폐사하여 LD₅₀ 근사치로 설정하였고 그 log 값에 0.168을 공차로 하여 1123 mg/kg을 최고 용량으로, 762 mg/kg을 중간용량으로, 518 mg/kg을 저용량으로 설정하였다(Table 1).

Table 1. Acute toxicity test of KH-502 in White Leghorn hens

| Dose(mg/kg) | Number of animals | Dead animals | Mortality |
|-------------|-------------------|--------------|-----------|
| 381 | 2 | 0 | 0/2 |
| 762 | 2 | 1 | 1/2 |
| 1524 | 2 | 2 | 2/2 |
| 3048 | 2 | 2 | 2/2 |

2. 시험물질 투여군의 폐사율

고용량군과 중간용량군에서 투여한 후 2일 내에 고용량군에서 8마리, 중간용량군에서 3마리, 저용량군과 양성대조군 500 mg/kg 투여군에서 각각 1마리가 시험 개시 2일이내에 폐사하였다.

3. 임상증상 및 운동측정

고용량군에서 처음투여시 투여후 2일까지 침울, 운동량저하 등의 증상이 관찰되었으며 재투여시에도 3일 후까지 비슷한 증상이 관찰되었으나 회복되어 뚜렷한 운동이상은 관찰되지 않았다.

중간용량군에서 처음 투여시는 투여후 3일까지 운동량저하, 침울 등의 증상이 관찰되었으며 재투여시에는 투여 2일 후까지 침울 등의 증상이 관찰되었으나 곧 회복되어 주 2회의 운동측정에서도 뚜렷한 이상을 관찰할 수 없었다.

저용량투여군은 처음투여시와 재투여시 모두에서 어떠한 이상도 관찰되지 않았으며 운동측정에서도 이

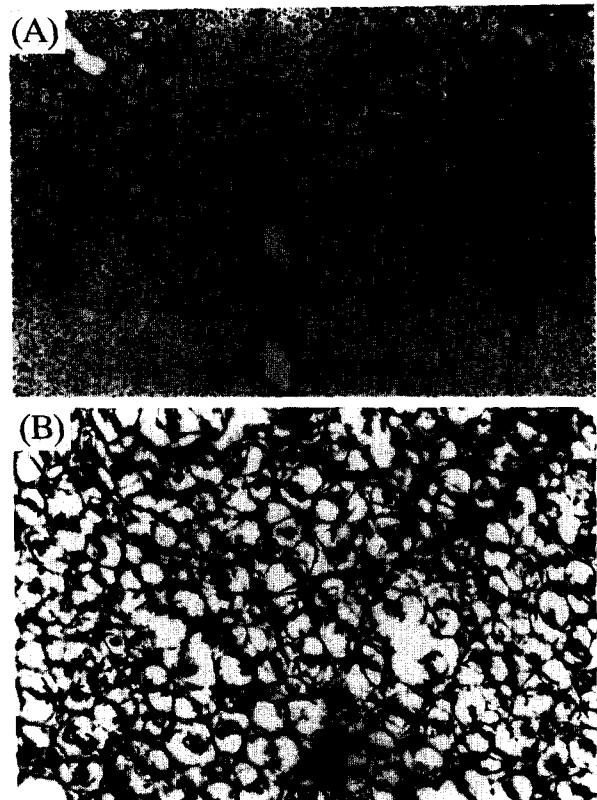


Fig. 1. Ventral funiculus of lumbar spinal cord. High-dose group (1122 mg/kg, KH-502). A: Axonal swelling is not seen. Bielschowsky's stain. X 150 B: Ventral funiculus of lumbar spinal cord. Myelin is well preserved. Klüver and Barrera's stain. X 600

상을 관찰할 수 없었다.

매체대조군에서도 처음투여와 재투여시 모두에서 어떠한 이상도 관찰되지 않았으며 운동측정에서도 이상을 관찰할 수 없었다.

양성대조군중 TOCP 500 mg/kg 투여의 경우 투여다음날 활동저하등이 관찰되었으나 시험종료시 까지 어떠한 운동이상도 관찰되지 않았다. 그러나 TOCP 1000 mg/kg 용량의 양성대조군의 경우 투여 14일경부터 운동측정시 2마리 모두 경도의 운동실조가 관찰되기 시

작하여 투여후 21일에는 중등도의 운동실조와 고도의 운동실조가 각각 관찰되었다.

4. 부검 및 병리 소견

부검시에 모든 투여군에서 육안적으로는 어떠한 이상도 관찰할 수 없었다. 조직병리학적검사 결과 고용량군의 2마리에서 경수부분의 배측 및 외측 섬유단에서 축삭공간의 확장, 축삭의 변성이 경도로 관찰되었다. 그러나 복측섬유단에서는 병변이 관찰되지 않았다 (Fig 1). 중간용량군의 7마리에서는 축삭팽창이 신경각과 신경섬유단에서 산발적으로 관찰되었으나 일정한 부위에 국한되지 않았다. 매체대조군에서도 관찰되었던 병변이외에 병변으로는 경수부분에서 배측 섬유단의 축삭팽창이 3예, 흉수부분에서 배측 섬유단에서 2예, 요천수부분에서 배측섬유단에서 축삭팽창이 3예가 관찰되었다. 저용량군에서 하나 혹은 두개의 축삭팽창이 신경각과 신경섬유단에서 산발적으로 관찰되었으나 이러한 병변과 해부학적 구조에 따른 일치성은 관찰되지 않았다. 매체대조군에서는 신경절에서 림프구의 침윤, 수초층의 단열, 신경섬유단의 미만성 혹은 국소적인 신경교증, 신경원의 중심성 염색질용해와 괴사 그리고 소뇌와 척수 신경절에서 혈관주위염, 산발적으로 신경각과 신경섬유단에서 축삭팽창이 관찰되었으며, 축삭의 변성과 축삭공간의 확장 등이 관찰되었으나 이들 병변은 산발적으로 또 그 정도는 경미하게 관찰되었다. 높은 용량의 양성대조군에서는 기초적인 병변외에 수초층의 분절, 신경교증과 함께 축삭팽창이 관찰되었으며 축삭공간의 확장, 수초탈락이 척수 소뇌로를 따라서 관찰되었다(Fig 2). 이들 병변은 경수 부분에서는 배측 및 외측 신경섬유단에 흉수부분에서는 배측과 외측과 섬유단에 요천수부분에서는 복측 신경섬유단에서 관찰되었다(Table 2).

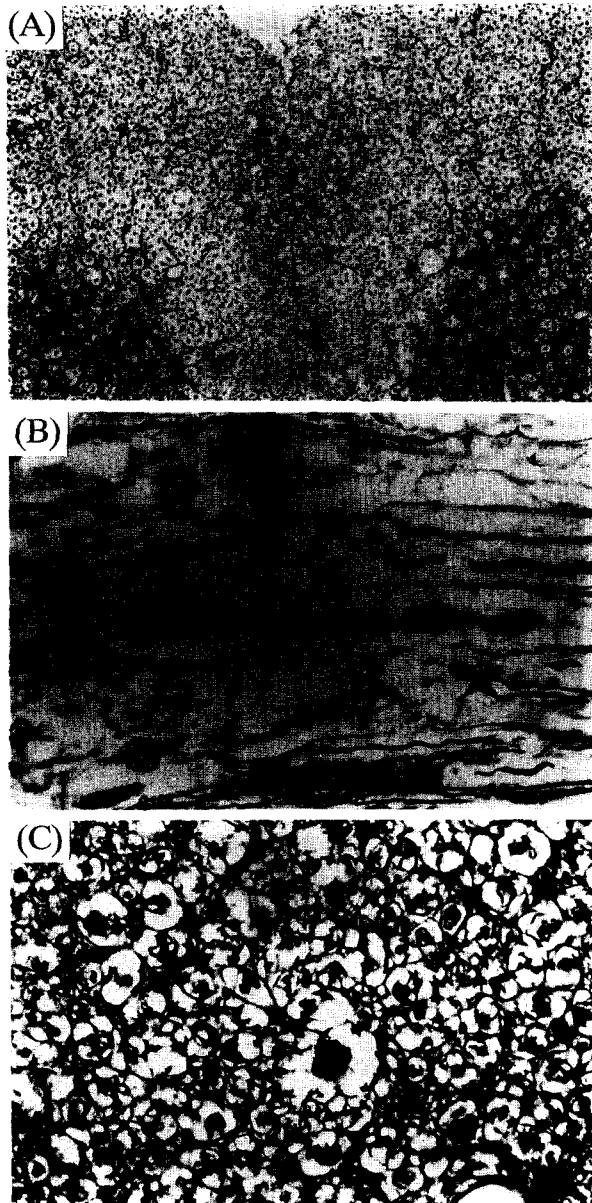


Fig. 2. Ventral funiculus of thoracic spinal cord. High-positive group(1000 mg/kg, TOCP). A: Transverse (A, X 150) and Cross (B, X 600) sections. Bielschowsky's stain. Some axons are swelling (Arrows). C: Fractionization of myelin is seen around a swelling axon. Klüver and Barrera's stain. X 600

IV. 고 찰

일반적으로 유기인제제 살충제로 중독된 동물은 중독의 급성기가 지나면, 회복은 완전하다. 그러나 닭에서는 사람에서와 유사하게 유기인제 농약에 의하여 지연성 신경독성이 나타난다. 유기인제 농약중(TOCP)에 의한 병변은 척수소뇌로를 따라 축색의 변성과 그에 따른 myelin의 Wallarian degeneration이 특징이다(Cavanagh, 1973). Leptophos(O-methyl phenylphosphonothioate)는 닭과 가축에서 지연성 신경독성을 유발하며(Abou-Donia et al., 1974; Abou-Donia and Preissig, 1976), EPN

Table 2. Histopathological findings in White Leghorn hens treated with KH-502

| | Group Dose(mg/kg) No. of sample | corn oil | KH-502 | | | TOCP | | |
|-----------------------|---------------------------------------|--------------------|--------|-----|------|------|------|---|
| | | | 518 | 762 | 1123 | *500 | 1000 | |
| | | | 10 | 9 | 7 | 2 | 9 | 2 |
| Cerebellum | perivascular cuffing | * | | | * | * | | |
| Pons | axonal swelling | | * | | | | | |
| Medullar oblongata | axonal swelling | | | | | | * | |
| | gliosis | | | | | | * | |
| Optic lobe | microgliosis | | | | * | | * | |
| | encephalomalacia | | * | | | | | |
| Optic chiasm | microglial nodule | | | * | * | | | |
| Cervical spinal cord | perivascular cuffing | *** | ** | ** | * | | | |
| | axonal swelling in | | | | | | | |
| | dorsal horn | | * | | | | | |
| | ventral horn | | * | * | | * | | |
| | lateral horn | | | | | | | |
| | dorsal funiculus | ** | | * | | | * | |
| | ventral funiculus | ** | * | *** | | | | |
| | lateral funiculus | * | | | * | | | |
| | axonal degeneration | | | *** | * | | | |
| | dilatation of axonal space | | | * | * | | | |
| | Thoracic spinal cord | focal gliosis | *** | | *** | | | * |
| | | axonal swelling in | * | * | | | | |
| | | dorsal horn | | | | | | |
| | | ventral horn | * | ** | ** | | * | |
| | | lateral horn | | * | ** | | | |
| dorsal funiculus | | | | | | ** | ** | |
| ventral funiculus | | ** | ** | ** | | * | ** | |
| lateral funiculus | | | | | | * | ** | |
| pericascular cuffing | | *** | ** | *** | | * | * | |
| central chromatolysis | | | * | | | | * | |
| Lumbosacral cord | dilatation of axonal space | ** | | ** | | | * | |
| | axonal swelling in | | | | | | | |
| | dorsal horn | | ** | | | | | |
| | ventral horn | | *** | | | | | |
| | lateral horn | | * | * | | | | |
| | dorsal funiculus | | * | | | | | |
| | ventral funiculus | | * | *** | | * | | |
| | lateral funiculus | | ** | * | * | * | * | |

*mild, **moderate, ***marked

(O-ethyl O-4-nitrophenyl phenylphosphonothioate)는 닭에서 지연성 신경독성을 유발한다(Durham *et al.*, 1956; Frawley *et al.*, 1956). Leptophos와 EPN은 좌골신경, 척수 및 연수에 병변을 일으킨다(Preissig and Abou-Donia, 1976).

본 실험에서는 유기인제 화합물이 빈번하게 갖는 지연성 신경독성의 유무를 검정하고자 닭을 이용하여 지연성 신경독성시험을 수행하였다. 일반적으로 유기인제에 의한 지연성 신경독성에 대하여, 닭이외에 사람, 고양이, 개, 다람쥐, 원숭이, 말, 돼지 등도 감수성이 있다고 보고되어 있지만, 랫드, 마우스, 토끼, 기니픽, 햄스터등은 감수성이 없다고 보고되어 있다. 또 닭에 있어서도 어린닭보다도 성숙동물쪽이 신경독성 반응이 예민하다(Bursian *et al.*, 1983). 한편, 시험에 이용할 닭

에 대하여는 마레병, 뉴캐슬병, 닭 뇌척수염 등의 신경조직 침습성의 배경적 질환이 있는 닭을 공시하지 않는 것이 이상적이다. 본 실험에서는 성숙한 닭으로 마레, 뉴캐슬 백신을 접종한 동물을 선정하여 시험에 공시하였다. 이러한 성숙한 닭들이 갖는 배경적 병변의 조직 변화는 일반적으로 혈관주위성 세포침윤, 한국성 glia 세포증생, 신경세포의 중심성 호반응해, 백질의 공포화, Schwann세포의 증생(말초신경)이 고빈도로 나타나고, 지연성 신경독성의 중요한 지표인 축삭변성 및 신경섬유변성도 저빈도로 나타난다고 하였다(Bickford, 1983; 박 과 李, 1995).

EPA, OECD, 일본의 가이드라인 에서는, 피험물질의 투여량은 LD₅₀치 이상으로 그 균을 설정하도록 되어 있다. 본 실험에서는 LD₅₀ 이상 2군과 그 이하의 용량

군을 더하여 3군의 시험군을 설정하였다. 생존한 동물의 임상증상 및 운동관찰에 있어서 시험물질투여군과 양성 투여군은 시험물질투여후 약 3일 이내에 침울, 운동량저하등의 급성 신경증상이 나타났으나 이어 곧바로 회복되었다. 그러나 1000 mg/kg 높은 용량의 양성 투여군의 경우는 투여후 14일째부터 운동실조, 후구마비 등의 비콜린성 신경증상을 관찰할 수 있었다. 폐사율의 경우 LD₅₀이상의 고용량투여군의 경우 투여후 2일째까지 급성콜린성 신경증상을 수반하며 10마리중 8마리가 폐사하였고, LD₅₀정도의 용량인 중간용량군에서는 10마리중 3마리가 역시 같은 증상을 보이며 폐사하였다. 이러한 현상은 atropine이 본 시험물질에 대한 독성을 완전히 방어하지 못한 것으로 사료되며 최종 생존 동물수를 6마리 이상으로 규정하는 가이드라인에 미치지 못하였다. 생존한 동물들이 신경증상을 보이지 않았기 때문에 시험개시 21일째에 다시 투여 하였다. 이때에는 사망한 동물이 한마리도 없었으며 이러한 사실은 개체에 따라 급성 콜린성증상에 차이를 보이는 것으로 생각되었다. 그러나 생존례에 있어서는 어떠한 투여군도 비콜린성 지연성 신경증상을 보이는 개체를 발견할 수 없었다.

조직학적으로 양성대조군의 경우 운동실조등의 임상증상을 보인 개체에서 그 병변의 양상은 앞에서 언급한 바와 같이 축삭팽창과 축삭공간의 확장 그리고 수초탈락 등이 척수소뇌를 따라 척수로의 일정한 부위에 나타나는 것이 관찰되었다.

그러나 KH-502투여군의 경우는 다양한 비특이 병변이 나타났으며 이러한 병변은 용량 의존적이지 않았을 뿐만 아니라 병변이 나타난 정도 또한 미약하여 하나 혹은 두개의 축삭팽창정도만이 관찰되고 그에 수반하는 수초의 변화도 미약하였다. 이들 비특이 병변들은 척수로의 특정한 부위에 국한되어 나타나지 않고 산발적으로 나타났으며 대부분의 병변이 매체대조군에서도 나타난 것으로 서로 연관성이 없이 나타난 것으로 판단되며 또한 어떠한 임상증상도 보이지 않는 것으로 미루어보아 성숙한 닭에서 흔히 보이는 Background lesions으로 생각된다. 본 시험에 사용한 KH-502는 추정 LD₅₀이상인 1123 mg/kg이하의 용량으로 2회 경구투여시 급성 지연성신경독성을 나타내지 않는 것으로 사료된다.

참고문헌

- Abou-Donia, M.B., Othman, M.A., Khalil, A.Z., Tantawy, G. and Shaver, M.F. (1974): Neurotoxic effect of leptophos. *Experimentia* **30**, 63-64.
- Abou-Donia, M.B. and Preissig, S.H. (1976): Delayed neurotoxicity of leptophos: toxic effects on the nervous system of hens. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **35**, 269-282.
- Abou-Donia, M.B. and Graham, D.G. (1979): Delayed neurotoxicity of o-4-nitrophenyl phenylphosphonothionate: toxic effects of a single oral dose on the nervous system of hens. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **48**, 57-66.
- Bickford, A.A. and Sprague, G.L. (1983): The significance of background neurologic lesions in acute delayed neurotoxicity studies: a comparison of neurohistopathologic lesions induced in commercial hens by tri-o-tolyl phosphate (TOCP) with those observed in negative control hens. *Neurotoxicol.* **4**, 283-310
- Bursian, S.J., Brewster, J.S. and Ringer, R.K. (1983): Differential sensitivity to the delayed neurotoxin tri-o-tolyl phosphate in several avian species. *J. Toxicol. Environ. Health* **11**, 907-916.
- Cavanagh, J.B. (1973): Peripheral neuropathy caused by chemical agents. *CRC crit. Rev. Toxicol.* **2**, 365-417.
- Durham, W.F., Gaines, T.B. and Hayes, W.J., Jr (1956): Paralytic and related effects of organic phosphorous compound. *Arch. Industr. Health.* **30**, 326-330.
- Frawley, J.P. (1976): Test protocols and limitations for detection of neurotoxicity. In proceedings of a conference on pesticide-induced delayed neurotoxicity (R.L. Baron, ed.), PP. 234-263. Washington, D.C., National Technical Information Service, Springfield, Va.
- Preissig, S.H. and Abou-Donia, M.B. (1976): The chronologic effects of leptophos on spinal cord and sciatic nerve of hens. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* **35**, 303.
- 三森國敏(1988): 遲發性神經毒性試驗 in 新毒性試驗法 (白須泰彦, 吐山豊秋 eds, リアライズ社) pp 404-417.
- 朴在鶴, 李榮純 (1995): 鷄病病理學 칼라아틀라스, 도서출판 사론. pp 167