

試験報告書

SK ニュートラルのラットにおける急性経口毒性試験

試験番号: N22010

株式会社薬物安全性試験センター 吉見研究所

埼玉県比企郡吉見町黒岩 25-1 (〒355-0166)



試験委託者の名称および所在地

有限会社旭

福岡県春日市紅葉ヶ丘東8丁目160-1 (〒816-0833)

試験委託責任者: 松田 松太郎

試験施設の名称および所在地

株式会社薬物安全性試験センター 吉見研究所

埼玉県比企郡吉見町黒岩25-1 (〒355-0166)

運営管理者: 高橋 寛人

試験責任者

大勝 玲奈 (株式会社薬物安全性試験センター 第一研究部)

本試験は下記の者の責任において実施されたものであり、本報告書は、その結果を正しく記載したものである。

2022年 3 月 15 日 大勝 玲奈

1. 表題

SK ニュートラルのラットにおける急性経口毒性試験

2. 試験番号

N22010

3. 試験の目的

本被験物質の急性経口毒性についてラットを用いて検討し、安全性を評価した。

4. ガイドライン

本試験は、OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method. (OECD Test Guideline No. 423. Adopted: 17th December 2001.) を参考に実施した。

5. 動物の適正使用について

動物の飼育、取り扱いおよび安楽致死は、「動物の愛護及び管理に関する法律」(昭和 48 年 10 月 1 日 法律第 105 号, 最終改正 令和元年 6 月 19 日 法律第 39 号), 「動物の殺処分方法に関する指針」(平成 7 年 7 月 4 日 総理府告示第 40 号, 一部改正 平成 12 年 12 月 1 日 環境省告示第 59 号, 平成 19 年 11 月 12 日 環境省告示第 105 号) ならびに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成 18 年 4 月 28 日 環境省告示第 88 号, 最終改正 平成 25 年 8 月 30 日 環境省告示第 84 号) および「株式会社薬物安全性試験センター動物実験倫理規程」(平成 20 年 9 月 1 日, 最終改正 令和元年 11 月 11 日) に従い、適正に実施した (DSTC 動物実験倫理委員会承認番号: IACUCN22010)。

6. 試験の日程

動物入荷日:	2022 年 01 月 27 日
投与日:	2022 年 02 月 01 日 (第 1 回投与群) 2022 年 02 月 03 日 (第 2 回投与群)
剖検日:	2022 年 02 月 15 日 (第 1 回投与群) 2022 年 02 月 17 日 (第 2 回投与群)
試験終了日:	2022 年 03 月 15 日

7. 試験資料の保存

試験報告書作成後 3 年間とする。保存期間満了後は試験委託者に連絡の上、廃棄とする。

8. 要約

SK ニュートラルの急性経口毒性について SD ラットの雌 6 匹を用いて検討した。

被験物質は無色透明液体であり、媒体に精製水を用いて 20 w/v%液に調製したものを投与試料とし、金属製胃ゾンデを用いて強制経口的に単回投与した。

試験方法は OECD Test Guideline No. 423 (OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method. Adopted: 17th December 2001.) に従い、2000 mg/kg 用量を開始用量とした。2000 mg/kg 用量の第 1 回投与群で死亡がみられなかったため、第 2 回投与群として同用量を 3 匹に追加投与した。生死および一般状態の観察を投与後 14 日間行い、その間に体重を測定した。観察期間終了後に剖検を行い、諸臓器の肉眼的観察を行った。

その結果、死亡例はみられず、一般状態においても異常はみられなかった。体重は投与 1 日後から順調な増加推移を示した。剖検においても変化はみられなかった。

以上の結果より、本試験条件下において、本被験物質は $LD_{50} > 2000$ mg/kg、GHS 分類は”区分 5/区分外”であると結論された。

9. 材料および方法

9.1. 被験物質および媒体

9.1.1. 被験物質

名称: SK ニュートラル
純度: 製品として 100%
Lot No.: 20220120
常温における性状: 無色透明液体
有効期限: 2022 年 07 月
保管条件: 室温, 暗所

9.1.2. 媒体

名称: 精製水 (日本薬局方, 吉田製薬株式会社, Lot No. Y20553)
保管条件: 室温

9.2. 試験系

9.2.1. 種, 系統および微生物学的統御レベル

ラット, SD 系 [CrI: CD (SD)], SPF

9.2.2. 入荷時週齢, 性別および動物数 (体重範囲)

7 週齢, 雌 6 匹 (144 ~ 159 g)

9.2.3. 供給源

ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社 厚木飼育センター

9.2.4. 試験系選択理由

齧歯類の急性毒性試験に多く使用され, ガイドラインで推奨されているために選択した。

9.2.5. 識別方法

油性インクを用いて尾に線を付す方法で個体識別を行った。なお, 検疫および馴化期間中は赤色, 試験実施期間中は青色を用いた。各ケージには識別ラベルを貼付した。

9.2.6. 検疫・馴化

検疫期間: 入荷後 4 日間
馴化期間: 入荷後 5 または 7 日間
一般状態: 1 日 1 回観察した。
体重測定: 動物入荷日, 入荷翌日, 検疫終了日および群分け日に行った。

検疫馴化期間中に一般状態の観察, 体重測定を行い, 健常であると判断した全ての動物を群分けに供した。

9.2.7. 動物の群分け

各投与前日に体重を測定して、体重の大きい順に3匹ずつ割り付けた。

9.2.8. 飼育環境

飼育室名:	クリーン 4-1 号室
温度:	設定値 23°C (許容範囲: 20 ~ 26°C)
相対湿度:	設定値 50% (許容範囲: 30 ~ 70%)
換気回数:	12 回/時間 (オールフレッシュエアー方式)
照明時間:	12 時間/日 (午前 6 時点灯, 午後 6 時消灯)
ケージ:	ポリカーボネイト製平底ケージ (W260 × D420 × H180 mm, 株式会社夏目製作所) 1 週間に 1 回以上の頻度で床敷とともに交換した。
ラック:	ステンレス製 5 段
給餌器:	ケージ蓋一体型ステンレス製給餌器
収容:	1 ケージ当たり 3 匹
飼料:	絶食期間を除き, 固型飼料 MF (オリエンタル酵母工業株式会社) を自由に摂取させた。
飲水:	町営水道水を 5 μm カートリッジフィルターに通過させ, さらに紫外線照射装置により殺菌したものを自動給水装置により自由に摂取させた。
床敷:	パルプ床敷ペーパークリーン (日本エスエルシー株式会社) なお, 絶食期間中は排除した。

9.2.9. 飼料の分析

オリエンタル酵母工業株式会社からロットごとに分析した結果を入手し, 適正なものであることを確認した。

9.2.10. 飲水の分析

一般社団法人埼玉県環境検査研究協会に依頼し, 水道法水質基準 (1 回/年) および浄水水質検査 (1 回/月) を行い, 適正なものであることを確認した。

9.2.11. 床敷の分析

床敷の分析は製造業者から分析試験成績書を入手し, 適正なものであることを確認した。

9.2.12. 清掃および消毒

飼育室は両性界面活性型殺菌消毒剤 (ニッサンアノン, 日油株式会社) を用いて, 休日を除く毎日, 清掃および消毒した。

9.3. 試験方法

9.3.1. 投与量の設定理由

OECD Test Guideline No. 423 に準拠し, 2000 mg/kg を投与開始用量とした。

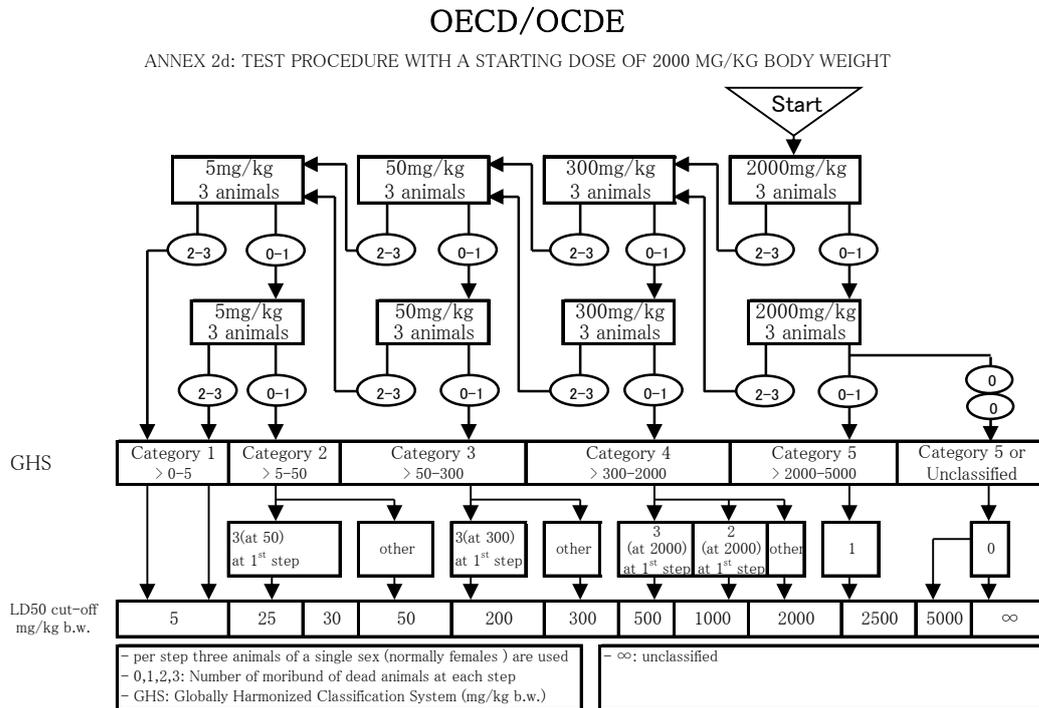
9.3.2. 群構成

群名, 投与用量, 動物数, 動物番号を次に示した.

群名 (投与用量)	動物数	動物番号
第 1 回投与群 (2000 mg/kg)	3 匹	2001 ~ 2003
第 2 回投与群 (2000 mg/kg)	3 匹	2004 ~ 2006

9.3.3. 試験の手順

初回投与以降の手順は OECD Test Guideline No. 423, ANNEX 2d に従った.



9.3.4. 投与試料

投与試料は被験物質の 20 w/v%液とした. 各投与日に被験物質を 2.000 g または 2.002 g 秤量し, 媒体を加えて 10 mL に定容し, よく混和して 20 w/v%液を調製した.

9.3.5. 投与容量および投与液量の算定

投与容量は体重 1 kg 当たり 10 mL とし, 投与日に測定した各個体の体重を基に投与液量を算出した.

9.3.6. 投与

9.3.6.1. 絶食

投与前日の午後 4 時より投与終了後 3 時間まで, 動物を床網のみを敷いたポリカーボネート製平底ケージに移し, 絶食を行った.

9.3.6.2. 投与時週齢 (投与時体重範囲)

8 週齢 (156 ~ 168 g)

9.3.6.3. 投与方法

投与日に測定した各個体の体重を基に算出した投与量を、金属製胃ゾンデを装着した 2.5 mL シリンジを用いて強制経口投与した。

9.3.7. 検査項目および検査方法

9.3.7.1. 死亡率

死亡率は投与動物数を分母とし、観察期間中の死亡数を分子として算出した。

9.3.7.2. 一般状態の観察

投与日は投与 1 時間後までは連続して観察、その後、2, 3, 4, 6 時間後とし、投与翌日からは 1 日 1 回行った。

9.3.7.3. 体重

投与日および投与 1, 2, 3, 7, 14 日後に測定した。

9.3.7.4. 剖検

観察期間終了後、ペントバルビタールナトリウム腹腔内投与による深麻酔下で放血致死させて剖検し、諸臓器の肉眼的観察を行った。

10. 試験結果

10.1. 死亡状況および死亡率

結果を表 1 に示した。

2000 mg/kg 用量で死亡例はみられず、死亡率は 0%であった。

10.2. 一般状態

結果を表 2 に示した。

いずれの動物においても異常は認められなかった。

10.3. 体重

結果を表 3 に示した。

いずれの動物においても投与 1 日後から増加推移を示し、14 日間の増加量は 59～71 g であった。

10.4. 剖検所見

結果を表 4 に示した。

いずれの動物においても異常はみられなかった。

11. 考察および結論

SK ニュートラルの急性経口毒性について SD ラットの雌 6 匹を用いて検討した。

試験方法は OECD Test Guideline No. 423 に従い、2000 mg/kg 用量を開始用量とした。2000 mg/kg 用量の第 1 回投与群 3 匹で死亡がみられなかったため、第 2 回投与群として同用量を 3 匹に追加投与した。

その結果、死亡例はみられず、一般状態においても異常はみられなかった。体重は投与 1 日後から順調な増加推移を示し、14 日間の増加量は 59～71 g で正常と考えられた。剖検においても変化はみられなかった。

以上の結果より、本試験条件下において、本被験物質は LD₅₀ > 2000 mg/kg, GHS 分類は”区分 5/区分外”であると結論された。

表 1 死亡状況および死亡率

用量 (mg/kg)	動物数	投与後日数														死亡率 (%)	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
2000	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2 一般状態

用量 (mg/kg)	動物 番号	観察日数																	
		hr.				Day													
		0~1	2	3	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
2000	2001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: 異常なし

表 3 体重

(単位: g)

用量 (mg/kg)	動物 番号	投与後日数						増加量
		0	1	2	3	7	14	
2000	2001	168	185	191	194	212	230	62
	2002	162	180	190	196	211	233	71
	2003	161	173	185	187	202	224	63
	2004	166	185	188	196	210	230	64
	2005	163	188	189	195	211	232	69
	2006	156	171	174	174	187	215	59

表 4 剖検所見

用量 (mg/kg)	動物 番号	観察項目					
		生死	外 観	頭蓋腔	胸 腔	腹 腔	リンパ節
2000	2001	生存	-	-	-	-	-
	2002	生存	-	-	-	-	-
	2003	生存	-	-	-	-	-
	2004	生存	-	-	-	-	-
	2005	生存	-	-	-	-	-
	2006	生存	-	-	-	-	-

-: 異常なし