

試験報告書

抗菌・抗ウイルス剤のラットにおける急性経口毒性試験

試験番号: N21142-1

試験責任者: 藤澤 紘

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

株式会社姫路鍍金工業所
兵庫県姫路市北条北河原 978 (〒670-0947)
試験委託責任者: 中筋 隆

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

藤澤 紘 (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。

試験責任者: 藤澤 紘 2021年 7月 29日

1. 表題

抗菌・抗ウイルス剤のラットにおける急性経口毒性試験

2. 試験番号

N21142-1

3. 試験の目的

本被験物質をラットに単回経口投与して毒性を明らかにし、安全性を評価する。

4. ガイドライン

本試験は、「SIAA 品質と安全性に関する自主規格」（一般社団法人抗菌製品技術協議会 定款 諸規定 7 制定日 平成 10 年 6 月 24 日）および OECD Test Guideline No. 423. (OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method. Adopted: 17th December 2001.) を参考にして実施した。

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）、「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: IACUCN21142-1)。

6. 試験の日程

動物入荷日:	2021 年 06 月 24 日
実験開始日:	2021 年 06 月 29 日
第 1 回投与日:	2021 年 06 月 29 日
第 2 回投与日:	2021 年 07 月 01 日
最終剖検日:	2021 年 07 月 15 日
実験終了日:	2021 年 07 月 15 日
試験終了日:	2021 年 07 月 29 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

抗菌・抗ウイルス剤の急性経口毒性について8週齢のラット, Crl:CD(SD), SPFの雌性を用いて検討を実施した。

試験方法は, OECD Test Guideline No. 423. を参考にして, 第1回投与群として2000 mg/kg用量を3匹に投与し, 死亡例が認められないことを確認後, 第2回投与群として同用量を3匹に投与した。供試動物は各群を含め, 計6匹とした。

その結果, 2000 mg/kg用量で死亡は認められなかった。

体重および剖検所見では, いずれも特記すべき変化は認められなかった。

被験物質の影響を示唆する変化として, 一般状態では下痢が認められた。

以上の結果, 本試験条件下において本被験物質をラットに単回経口投与したときのLD₅₀は雌性において2000 mg/kgを超えるものと推察され, GHS区分は“区分5または区分外”に分類されることが推察された。

9. 被験物質

名称:	抗菌・抗ウイルス剤
純度:	0.88ppm
ロット番号:	製造日: 2021-05-20
常温における性状:	無色透明
比重:	1
pH:	7
有効期限:	6か月
保管条件:	室温
取扱注意事項:	マスクおよび手袋を着用する。

10. 試験系

10.1. 種, 系統および微生物学的統御レベル

ラット, Crl: CD (SD), SPF

10.2. 入荷時週齢, 性別および動物数 (体重範囲)

7週齢, 雌7匹 (146 - 164 g)

10.3. 供給源

日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター

10.4. 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。

10.5. 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, 検疫馴化期間 (赤色) および試験期間 (紫色) で色を変えた。

検疫馴化期間中は, 試験番号, 性別, 被験物質名, ケージ番号, 管理番号, 試験の種類, 試験責任者名, 検疫又は馴化期間を示す検疫/馴化中ラベルを, また, 試験期間中は, 試

験番号, 被験物質名, ケージ番号, 動物番号, 群名, 性別, 試験の種類, 試験責任者名, 試験実施期間を示す試験中ラベルを, 各ケージに貼付した。

10.6. 検疫・馴化

入荷後 5-7 日間, 飼育環境に馴化させ, その間に検疫を行った。

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

10.7. 動物の群分け

各投与前日に体重測定し, 体重の大きい順に 3 匹を選抜した。なお, 余剰動物は試験から除外した。

10.8. 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:	検疫・馴化中: 1 ケージ当たり 1-4 匹 試験期間中: 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。

10.9. 飼料の分析

オリエンタル酵母工業㈱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。

10.10. 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。

10.11. 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。

10.12. 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。

11. 試験方法

11.1. 投与量の設定理由

OECD Test Guideline No. 423. (OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method. Adopted: 17th December 2001.) を参考にして、試験委託者からの依頼に基づき投与開始用量は 2000 mg/kg とした。

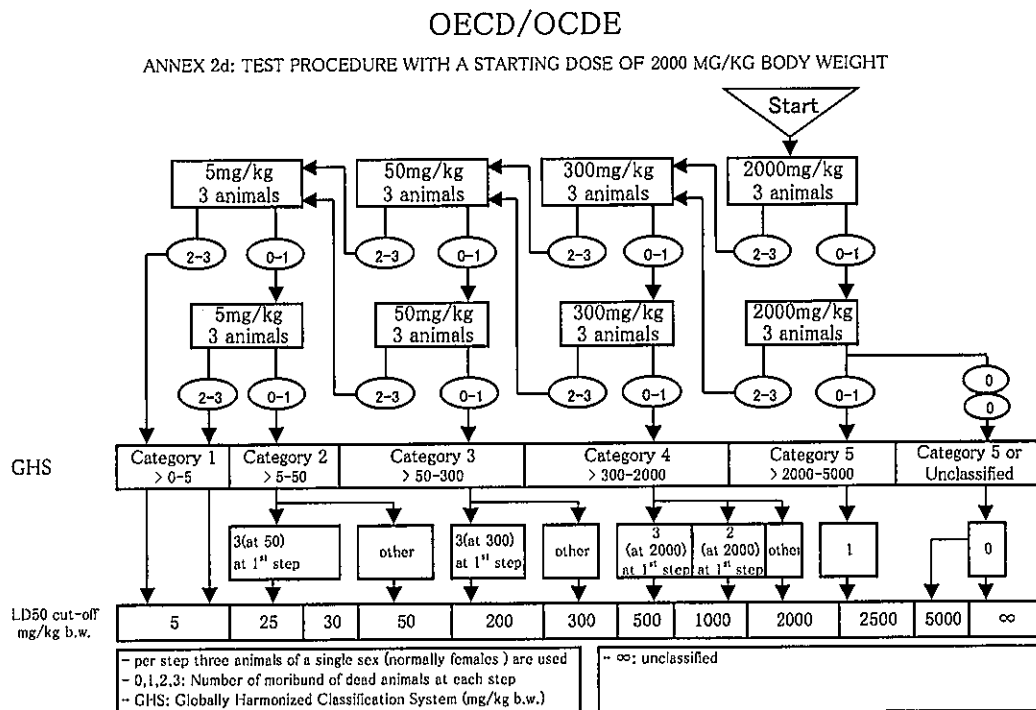
11.2. 群構成

群名称、動物数、動物番号を次に示す。

群名	動物数	動物番号
第 1 回投与群	3 匹	2001 - 2003
第 2 回投与群	3 匹	2004 - 2006

11.3. 投与用量および評価

初回投与以降の手順は OECD Test Guideline No. 423. (OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method. Adopted: 17th December 2001.) ANNEX 2d に従った。



11.4. 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 2 mL (比重 (1) から換算) とし、投与日に測定した体重を基に各個体の投与液量を小数 3 位で四捨五入し、小数第 2 位まで算出した。

11.5. 投与試料の調製

投与試料は、被験物質の原液とし調製は実施しなかった。

11.6. 投与

11.6.1. 絶食

投与前日の凡そ午後 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イト製平底ケージに移し、絶食を行った。

11.6.2. 投与时週齢 (投与时体重)

8 週齢 (164 - 173 g)

第 2 回投与群の動物の体重は、第 1 回投与群の動物の体重の±20%以内であり、差がないことを確認した。

11.6.3. 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 1 mL シリンジを用いて、午前 9 時 - 12 時の間に強制経口投与した。

11.7. 検査項目および検査方法

11.7.1. 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。

11.7.2. 一般状態の観察

投与後 14 日間にわたって動物の一般状態を観察し、異常の種類、発現日時および経過を記録した。投与日 (投与 0 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 (投与 1 日後) からは 1 日 1 回行った。

11.7.3. 体重

投与日 (0 日の投与前) および投与 1, 2, 3, 7, 14 日後に測定した。

11.7.4. 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の放血致死後、剖検して諸臓器の肉眼的観察を行った。

12. 試験結果

12.1. 死亡状況および死亡率

結果を表 1 に示した。

各群ともに死亡例は認められず、死亡率は 0%であった。

12.2. 一般状態

結果を表 2 に示した。

投与 1 日後に下痢が 3 例に認められた。

12.3. 体重

結果を表 3 に示した。

投与 2 日後に体重減少が 1 例に認められたものの、いずれの動物においても投与 1 日後から増加傾向で推移し、14 日間の増加量は 55 - 78 g であった。

12.4. 剖検所見

結果を表 4 に示した。

各群ともに異常は認められなかった。

13. 考察および結論

抗菌・抗ウイルス剤の急性経口毒性について 8 週齢のラット, Crl:CD(SD), SPF の雌性を用いて検討を実施した。

試験方法は, OECD Test Guideline No. 423. を参考にして, 第 1 回投与群として 2000 mg/kg 用量を 3 匹に投与し, 死亡例が認められないことを確認後, 第 2 回投与群として同用量を 3 匹に投与した。供試動物は各群を含め, 計 6 匹とした。

その結果, 2000 mg/kg 用量で死亡は認められなかった。

剖検所見ではいずれの動物においても異常は認められず, 体重では投与 1 日後から増加傾向で推移した。

被験物質の影響を示唆する変化として, 一般状態では投与 1 日後に下痢が認められた。

以上の結果, 本試験条件下において本被験物質をラットに単回経口投与したときの LD₅₀ は雌性において 2000 mg/kg を超えるものと推察され, GHS 区分は“区分 5 または区分外”に分類されることが推察された。

表 1. 死亡状況および死亡率

用量 (mg/kg)	群名	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	第1回投与群	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	第2回投与群	3	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)	群名	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	14
2000	第1回投与群	2001	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2002	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2003	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	第2回投与群	2004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-, 異常なし; A, 下痢

表 3. 体重

(単位, g)

用量 (mg/kg)	群名	動物 番号	投与後日数						体重 増加量
			0	1	2	3	7	14	
2000	第1回投与群	2001	173	190	197	206	220	241	68
		2002	170	193	196	200	214	248	78
		2003	171	195	204	210	224	237	66
	第2回投与群	2004	168	186	194	198	209	225	57
		2005	173	193	193	199	216	237	64
		2006	164	192	190	199	213	219	55

表 4. 剖検所見

用量 (mg/kg)	群名	動物 番号	観察項目					
			生死	外 観	頭蓋腔	胸 腔	腹 腔	リンパ節
2000	第1回投与群	2001	生存	-	-	-	-	-
		2002	生存	-	-	-	-	-
		2003	生存	-	-	-	-	-
	第2回投与群	2004	生存	-	-	-	-	-
		2005	生存	-	-	-	-	-
		2006	生存	-	-	-	-	-

-, 異常なし