

最終報告書



試験名：2-ニトロ-*p*-クレゾールのマウスを用いた小核試験

試験番号：M-1455

試験期間：2010年12月8日-2011年3月24日

試験実施施設

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど 1284

試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

試験受託者

株式会社ボゾリサーチセンター
〒151-0065 東京都渋谷区大山町 36-7

M-1455

1. GLP 陳述書

試験番号 : M-1455

試験表題 : 2-ニトロ-*p*-クレゾールのマウスを用いた小核試験

本試験は以下の GLP 基準を遵守して実施したものです。

- 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」
(平成 15 年 11 月 21 日 : 薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環
保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日最終改正)
- 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」
(OECD 理事会 : 1997 年 11 月 26 日)

2011 年 3 月 24 日

試験責任者
株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

2. 目次

1.	GLP 陳述書.....	2
2.	目次.....	3
3.	試験実施概要.....	6
3.1	試験計画書.....	6
3.2	試験目的.....	6
3.3	試験委託者.....	6
3.4	試験受託者.....	6
3.5	試験実施施設.....	6
3.6	試験日程.....	6
3.7	試験責任者.....	7
3.8	試験担当者.....	7
3.9	試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因.....	7
3.10	資料保存.....	7
3.11	試験責任者の記名・なつ印.....	7
4.	要約.....	8
5.	緒言.....	9
6.	試験材料及び方法.....	10
6.1	被験物質、媒体及び陽性対照物質.....	10
6.1.1	被験物質.....	10
6.1.2	媒体.....	10
6.1.3	陽性対照物質.....	11
6.2	媒体、投与液及び陽性対照物質の調製.....	11
6.2.1	媒体の調製.....	11
6.2.1.1	調製方法.....	11
6.2.1.2	保存方法.....	11
6.2.2	投与液の調製.....	11
6.2.2.1	調製方法.....	11
6.2.2.2	保存方法.....	11
6.2.2.3	安定性.....	11
6.2.2.4	被験液の濃度確認.....	12
6.2.3	陽性対照物質の調製.....	13
6.3	試験動物種及び系統の選択理由.....	13
6.4	試験動物.....	13
6.5	飼育条件.....	14
6.6	飼料、飲料水及び床敷中の混入物質.....	14
6.7	動物の識別及びケージへの表示.....	14

6.8	群分け	15
6.9	投与経路、投与方法及びそれらの選択理由	15
6.10	投与量及びその設定根拠並びに群構成	15
6.10.1	予備試験	15
6.10.2	本試験	15
6.11	観察及び検査の方法	16
6.11.1	一般状態の観察	16
6.11.2	体重測定	16
6.11.3	骨髄塗抹標本の作製	16
6.11.4	骨髄塗抹標本の観察	17
6.11.5	観察結果の判定	17
7.	試験結果	18
7.1	予備試験	18
7.1.1	一般状態	18
7.1.2	体重	18
7.2	本試験	18
7.2.1	一般状態	18
7.2.2	体重	18
7.2.3	骨髄塗抹標本の観察結果	18
8.	考察	20
9.	参考文献	21

M-1455

添付資料

添付資料 1

試験成績書 (2-ニトロ-*p*-クレゾールの安定性)

添付資料 2

試験成績書 (被験液中 2-ニトロ-*p*-クレゾールの濃度)

表

Table 1

Clinical signs

Table 2

Body weight

Table 3

Observation of bone marrow smears

(About 24 hours after the 2nd administration)

付表

Appendix 1-1、1-2

Clinical signs (Preliminary study)

Appendix 2-1、2-2

Body weight (Preliminary study)

Appendix 3

Clinical signs

Appendix 4

Body weight

Appendix 5

Observation of bone marrow smears

(About 24 hours after the 2nd administration)

信頼性保証書

M-1455

3. 試験実施概要

3.1 試験計画書

試験番号 : M-1455
試験表題 : 2-ニトロ-*p*-クレゾールのマウスを用いた小核試験

3.2 試験目的

マウス骨髄細胞を用いて、2-ニトロ-*p*-クレゾールの染色体異常誘発性の有無を明らかにした。なお、本試験は株式会社ボゾリサーチセンター動物実験委員会の承認を受けている。

3.3 試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

3.4 試験受託者

株式会社ボゾリサーチセンター
〒151-0065 東京都渋谷区大山町 36-7

3.5 試験実施施設

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど 1284

3.6 試験日程

試験開始日 : 2010年 12月 8日
被験物質受領日 : 2010年 11月 25日
被験物質出庫日 : 2010年 12月 14日
予備試験
動物入荷日 : 2010年 12月 15日
実験開始日 (予備試験1回目の投与日)
: 2010年 12月 22日 (1回目投与日)
2010年 12月 23日 (2回目投与日)
本試験
動物入荷日 : 2011年 2月 7日
投与日 : 2011年 2月 14日 (1回目投与日)
2011年 2月 15日 (2回目投与日)
骨髄採取日 : 2011年 2月 16日
実験終了日 (本試験の標本観察終了日)

4. 要約

2-ニトロ-*p*-クレゾールの染色体異常誘発能の有無を検討するため、Crlj:CD1(ICR)SPF マウスを用いた小核試験を実施した。

2-ニトロ-*p*-クレゾールの250、500及び1000mg/kg/日を約24時間間隔で2回経口投与し、2回目投与後約24時間に骨髓塗抹標本を作製した。また、陰性対照としてオリブ油を被験物質投与群と同じ頻度で投与し、陽性対照としてマイトマイシンCの1mg/kgを1回投与する群を設定した。

その結果、各被験物質投与群の小核を有する幼若赤血球の出現頻度は、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加を示さず、用量依存的な変化も認められなかった。

また、各被験物質投与群における全赤血球200個中に占める幼若赤血球の出現頻度も、陰性対照群と比較して、統計学的に有意な変化を示さなかった。

なお、陰性対照群と陽性対照群の小核を有する幼若赤血球の出現頻度は、当研究所における各々の背景データの平均値 $\pm 3S.D.$ の範囲内であったことから、試験は適切に実施されたものと考えられた。

以上の結果から、2-ニトロ-*p*-クレゾールは本試験条件下でCrlj:CD1(ICR)SPF マウスの骨髓において、染色体異常誘発能は無いと判定した。

5. 緒言

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室からの委託により、2-ニトロ-*p*-クレゾールの安全性評価の一環として、マウスを用いた小核試験を実施したので、その成績を報告する。なお、本試験は以下の基準を遵守し、ガイドラインに準じて行った。

GLP

- 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」
(平成 15 年 11 月 21 日：薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環
保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日最終改正)
- 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」
(OECD 理事会：1997 年 11 月 26 日)

毒性試験ガイドライン

- 「新規化学物質等に係る試験の方法について」
(平成 15 年 11 月 21 日：薬食発第 1121002 号、平成 15・11・13 製局第 2 号、環
保企発第 031121002 号、平成 18 年 11 月 20 日最終改正)
- 「OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 474」
(OECD 理事会：1997 年 7 月 21 日)

動物の福祉

- 「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：平成 18 年 6 月 2 日法律第 50 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)
- 「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」
(日本学術会議、平成 18 年 6 月 1 日)

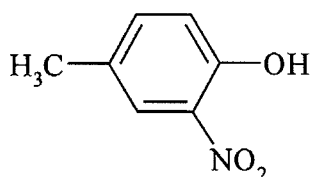
6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質、媒体及び陽性対照物質

6.1.1 被験物質

被験物質である2-ニトロ-*p*-クレゾールは東京化成工業株式会社より入手した。当試験に使用した被験物質のロット番号、性状等は次の通りである。

名称	:	2-ニトロ- <i>p</i> -クレゾール
英名	:	2-Nitro- <i>p</i> -cresol
CAS 番号	:	119-33-5
官報公示整理番号	:	(3)-790
構造式及び示性式	:	



		C ₇ H ₇ NO ₃
分子量	:	153.14
常温における性状	:	黄色の結晶
比重	:	1.24 (28.6°C)
蒸気圧	:	29.3hPa/125°C
ロット番号	:	FHD01
純度 (GC)	:	99.6%
不純物	:	不明
融点 (凝固点)	:	31.3°C
入手量	:	100 g (50×2 本)
保存方法	:	密栓、冷暗所〔冷暗所として冷蔵庫内(許容値:1~10°C、実測値:3~6°C)に保存した〕
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室、第1研究棟被験物質調製室及び生化学部標準物質保存場所
安定性	:	動物試験終了後、試験受託者で被験物質の安定性を確認し、動物試験期間中、安定であることが確認された(添付資料1)。
使用後の処理	:	動物試験終了後の残量はすべて廃棄した。

6.1.2 媒体

名称	:	オリブ油
規格	:	日本薬局方

M-1455

メーカー : 丸石製薬株式会社
ロット番号 : 0420、0929
保存方法 : 室温
保存場所 : 御殿場研究所 第1研究棟被験物質調製室
選択理由 : 被験物質はオリーブ油に溶解することから選択した。

6.1.3 陽性対照物質

名称 : マイトマイシン C (以下 MMC と記す。)
メーカー : 協和発酵キリン株式会社
ロット番号 : 547AIJ
力価 : 2mg/vial
保存方法 : 室温、遮光
保存場所 : 御殿場研究所 第1研究棟発癌性物質室温保存庫
選択理由 : MMC は小核試験に広く用いられ、背景データが豊富であり「毒性試験ガイドライン」に従って選択した。

6.2 媒体、投与液及び陽性対照物質の調製

6.2.1 媒体の調製

6.2.1.1 調製方法

オリーブ油をそのまま用いた。

6.2.1.2 保存方法

本試験において被験物質を秤取する前に、1日必要量分ずつを褐色ガラス瓶に分注し、冷所（冷蔵庫内、許容値：1~10°C、実測値：3~5°C）に保存した。

6.2.2 投与液の調製

6.2.2.1 調製方法

各濃度ごとに被験物質を秤取し、オリーブ油を加えて溶解し、所定量にメスアップした。

6.2.2.2 保存方法

1日必要量分ずつを褐色ガラス瓶に分注し、冷所〔冷蔵庫内、許容値：1~10°C、実測値：3~5°C（予備試験）、3~5°C（本試験）〕に保存し、調製後最大6日以内に使用した。

6.2.2.3 安定性

2及び200mg/mL濃度液は、7日間冷暗所保存（2~6°C）し、さらに、室温・遮光下で1日保存したものについて、安定であることが「2-ニトロ-p-クレゾールのラットを

用いる 28 日間反復経口投与毒性試験（財団法人畜産生物科学安全研究所、試験番号：06-085）」において確認されている。

6.2.2.4 被験液の濃度確認

本試験の投与に使用した各濃度の被験液より各 10mL 採取し、濃度を確認した結果、各濃度の表示値に対する濃度の割合は 100.6~103.2%で表示値を 100 として±10%以内であり問題はなかった（添付資料 2）。分析方法の概略は次の通りである。

分析方法の概略

1) 測定実測試料の調製

各濃度の被験液を転倒混和したのち、以下の表に従って n=1 で正確に採取した。溶媒を加えて希釈し、測定実測試料を用時調製した。

測定試料 (mg/mL)	1次希釈		2次希釈		希釈率
	採取量 (mL)	定容量 (mL)	採取量 (mL)	定容量 (mL)	
25	1	50	1	50	2500
50	1	50	1	100	5000
100	1	100	1	100	10000

溶媒：メタノール

2) HPLC 測定条件

カラム	:	L-column ODS (4.6mm I.D. × 150mm、5μm、 一般財団法人 化学物質評価研究機構)
カラム恒温槽設定温度	:	30°C
HPLC 移動相	:	アセトニトリル／精製水／TFA 混液 (700/300/1、v/v/v)
流速	:	1mL/min
検出	:	UV (測定波長 277nm)
オートサンプラー設定温度	:	10°C
注入量	:	5μL
注入順序	:	

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液 (システム適合性用)
2	3	標準溶液 (定量用)
3	1	測定実測試料 (25 mg/mL)
4	1	測定実測試料 (50 mg/mL)
5	1	測定実測試料 (100 mg/mL)

標準溶液及び測定実測試料の測定は、注入後 24 時間以内に実施し

た。(バリデーション試験で、オートサンプラー内における24時間保存後の安定性が確認されている。)

3) システム適合性

測定開始時に標準溶液を3回連続注入し、2-ニトロ-*p*-クレゾールの保持時間及びピーク面積の再現性を確認した。

判定基準 : 保持時間及びピーク面積の相対標準偏差(RSD)が5%以下。

4) 測定試料中2-ニトロ-*p*-クレゾール濃度の算出

標準溶液を3回注入して2-ニトロ-*p*-クレゾールのピーク面積の平均値(Qs)を求めた。別に測定実測試料を1回注入して2-ニトロ-*p*-クレゾールのピーク面積(Qt)を求め、以下の式により被験液中の2-ニトロ-*p*-クレゾール濃度を求めた。

$$\text{被験液中の2-ニトロ-}p\text{-クレゾール濃度 (mg/mL)} = \frac{Q_t}{Q_s} \times A \times F \times \frac{1}{1000}$$

- Qt : 測定実測試料の2-ニトロ-*p*-クレゾールのピーク面積
 Qs : 標準溶液の2-ニトロ-*p*-クレゾールの平均ピーク面積
 A : 標準溶液中の2-ニトロ-*p*-クレゾール濃度 (μg/mL)
 F : 希釈率

6.2.3 陽性対照物質の調製

用時に、MMCの0.1mg/mL水溶液を調製した。すなわち、MMC(2mg/vial)1瓶を注射用水^{注1}5mLで溶解した後、2mLを採取して、生理食塩液^{注2}を6mL加えて8mLとした。

注1: 日本薬局方〔(株)大塚製薬工場、ロット番号:9K73〕

注2: 日本薬局方〔(株)大塚製薬工場、ロット番号:0G95〕

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

マウスは小核試験に広く用いられており、この試験に使用される系統のマウスは特性がよく知られ、背景資料が豊富であることから選択した。

6.4 試験動物

ICR系SPFマウス〔CrIj:CD1(ICR)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター〕を7週齢で、予備試験用として雌雄各16匹^{注3}、本試験用として雄30匹^{注4}を購入し、予備試験、本試験とも入荷日を1日と数え、8日間検疫・馴化飼育した。検疫・馴化飼育期間中には体重測定(入荷日、検疫終了日及び群分け日)及び体外表、栄養状態、行動などの一般状態を1日1回観察し、その結果をもとに異常のない動物(予備試験:雌雄各12匹、本試験:雄25匹)を選択し、8週齢で試験に供した。使

用した動物の投与日における体重範囲は、予備試験が雄 31.5~35.5g、雌 24.4~29.2g、本試験が雄 31.2~36.1g であった。試験から投与日に除外された動物数は、予備試験が雌雄各 4 匹、本試験が雄 5 匹であった。

注 3： 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 15 匹であったが、実際には雌雄各 16 匹が納入された。

注 4： 試験計画書に従い、注文匹数は雄 29 匹であったが、実際には雄 30 匹が納入された。

6.5 飼育条件

動物は温度（許容範囲 $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ ）が予備試験 $21\sim 23^{\circ}\text{C}$ 、本試験 $21\sim 23^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度（許容範囲 $50\pm 20\%$ ）が予備試験 $49\sim 57\%$ 、本試験 $47\sim 67\%$ 、換気回数 1 時間当たり 10~15 回、照明 1 日 12 時間（07:00~19:00）の飼育室（飼育室番号：予備試験 504 号室、本試験 102 号室）で床敷（ホワイトフレーク：日本チャールス・リバー株式会社）を入れたプラスチックケージ（W 155 × D 245 × H 150mm：日本クレア株式会社）に 1 匹ずつ収容し、固形飼料 CRF-1〔オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：100706（予備試験）、100907（本試験）〕及び飲料水（御殿場市営水道水：給水瓶使用）を自由に摂取させ飼育した。

6.6 飼料、飲料水及び床敷中の混入物質

飼料、飲料水及び床敷中の混入物質については、飼料は使用したロットごとに分析したデータを、床敷は試験期間を保證するデータを Eurofins Scientific Analytics からそれぞれ入手し、飲料水については、水道法に準拠した水質の分析を芝浦セムテック株式会社に定期的（年 4 回）に依頼し、試験期間を保證するデータを手し、それぞれ異常のないことを確認して、その写しを保存した。

6.7 動物の識別及びケージへの表示

- 小動物用耳標 : 予備試験では 411~442、本試験では 801~830 の番号が刻印された耳標を入荷時に装着した。
- 動物番号 : 予備試験では、100 の位は群、10 の位は性（雄は 0 番、雌は 1 番）、1 の位は個体番号とした。本試験では、投与量ごと（陰性対照群、低、中、高用量群及び陽性対照群の順）に 4 桁の番号をつけた。1000 の位は群、100 の位は性（雄は 0 番）、10 と 1 の位は個体番号とした。予備試験、本試験とも個体番号は 1 から始まる番号をつけた。各飼育ケージに用量（群）ごとに色分けしたケージラベルを付け、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号及び耳標番号を表示した。更に予備試験では動物試験終了日、本試験では骨髄採取日を明記した。

6.8 群分け

動物は、検疫・馴化期間中に、体重及び一般状態に異常がみられなかった個体を使用した。群分け当日（1回目投与日）の体重を基に、各群の平均体重ができるだけ均等になるよう各群を構成した。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割り当てた）により行い、動物配置図を作成した。また、群分け後の余剰動物は1回目の投与日に試験から除外し、予備試験及び本試験とも炭酸ガス吸引により安楽死させた。

6.9 投与経路、投与方法及びそれらの選択理由

投与経路は、毒性試験に一般的に用いられる経口投与とした。投与容量は10mL/kg体重とし、マウスにフレキシブル胃ゾンデを用いて、約24時間間隔で2回投与した。

個体ごとの投与液量は投与日の体重を基準に算出した。また、陰性対照群にはオリブ油を同様に投与した。陽性対照群にはマウス骨髄細胞に小核の誘発が報告されているMMCを25Gの注射針を用いて腹腔内に1回投与した。投与容量は10mL/kg体重とした。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

6.10.1 予備試験

予備試験の投与量は250、500、1000及び2000mg/kg/日の4用量を設定し、4群構成とした。また、2回目投与後の約24時間後の生存動物についてはイソフルラン麻酔下で開腹し、腹大動脈を切断し安楽死させた。群構成表を表1.に示す。

表 1. 予備試験群構成表

群	投与量 (mg/kg/日)	濃度 (mg/mL)	投与 容量 (mL/kg)	投与 回数	性	動物数	動物番号
低用量	250	25	10	2	雄	3	101~103
					雌	3	111~113
中用量	500	50	10	2	雄	3	201~203
					雌	3	211~213
高用量	1000	100	10	2	雄	3	301~303
					雌	3	311~313
最高用量	2000	200	10	2	雄	3	401~403
					雌	3	411~413

6.10.2 本試験

予備試験において、雌雄マウスに250、500、1000及び2000mg/kg/日を約24時間間隔で2回経口投与した結果、2回目投与翌日までに、2000mg/kg/日投与群の雌雄各1例の死亡が確認された。一般状態では、各投与群で着色尿がみられた。体重では、各投与群で被験物質投与に起因すると思われる減少がみられた。

したがって、本試験における投与量は、死亡例がみられず最大耐量と思われる1000mg/kg/日を高用量とし、以下公比2で除して、500及び250mg/kg/日の3用量を設定した。これに媒体を投与する陰性対照群及びMMCを投与する陽性対照群を加え、計5群とした。1群当りの動物数は5匹とした。

骨髄採取時期は、2回目投与後約24時間とした。また、毒性発現に明らかな性差が見られなかったため、雄のみで実施することとした。

なお、MMCの投与量は小核の誘発が報告されている1mg/kgとし、投与後約24時間に骨髄を採取した。群構成表を表2.に示す。

表2. 本試験群構成表

群	投与量 (mg/kg/日)	濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	投与 回数	性	動物数	動物番号	骨髄採取時間 (投与後)
陰性対照	0	0	10	2	雄	5	1001~1005	約24時間 ^{a)}
低用量	250	25	10	2	雄	5	2001~2005	約24時間 ^{a)}
中用量	500	50	10	2	雄	5	3001~3005	約24時間 ^{a)}
高用量	1000	100	10	2	雄	5	4001~4005	約24時間 ^{a)}
陽性対照	1*	0.1*	10	1	雄	5	5001~5005	約24時間

* : MMCの投与量及び濃度を示す。 a) : 2回目の投与時間から起算

6.11 観察及び検査の方法

6.11.1 一般状態の観察

予備試験及び本試験とも、投与日は投与前、投与直後、投与後約2時間、また、その他の日は1日1回、一般状態（体外表、栄養状態、行動及び排泄物など）の観察を実施した。

6.11.2 体重測定

予備試験では、1回目投与日から2回目投与翌日まで1日1回測定した(9:27~9:48)。本試験では、1回目投与日から2回目投与翌日まで（陽性対照群については投与前日にも測定）1日1回測定した(8:57~9:15)。

6.11.3 骨髄塗抹標本の作製

小核の観察のための標本を、Schmidの方法^{1,2)}に従って作製した。すなわち、投与後所定の時間に無作為に選び出したマウスを頸椎脱臼により安楽死させ、両側の大腿骨を摘出し両端を切断した。その後1mLディスプレイ注射筒と23G注射針を用いて、約0.1~0.2mLの牛胎児血清（GIBCO BRL、ロット番号：575322）で骨髄細胞を遠心管に洗い出した。次に、この注射筒及び注射針を用いて骨髄細胞と牛胎児血清を混和して細胞をほぐし、1000rpmで5分間遠心分離（トミー工業株式会社、卓上多本架遠心機LC-220）し、上清を捨て、沈殿物をミキサーでよく混和し、スライドグラスに塗抹した（塗抹標本は1匹につき左右大腿骨から各1枚を作製）。塗抹した標本は風乾させ、メタノール（和光純薬工業株式会社、ロット番号：EPN5568）で3分間固

定した後、再び風乾した。なお、標本の作製に際しては、動物番号と試料番号の対照表を作成し、標本には試験番号、ステージ、試料番号、試験の種類及び作製日を明記したラベルを付けた（盲検法）。

6.11.4 骨髄塗抹標本の観察

観察は盲検法で行うため試料番号をもとに、塗抹状態の良好なスライドガラス1枚を選択した。骨髄塗抹標本のアクリジンオレンジ蛍光染色及び観察は、Hayashiらの方法^{3,4)}に従った。予め40 μ g/mLアクリジンオレンジ水溶液を少量滴下したカバーガラスにスライドガラスを載せた。波長490nm付近の励起光、観察用フィルターとして515nm以上の波長を透過するものを備えた蛍光顕微鏡（システム生物顕微鏡 BX40：オリンパス株式会社、ユニバーサル落射蛍光装置 BX-FLA：オリンパス株式会社）を用いて、総合倍率600倍で観察した。

観察終了後の標本は廃棄した。また、観察に用いなかった標本は、全ての標本観察終了後廃棄した。

6.11.5 観察結果の判定

1個体について、全赤血球200個中の幼若赤血球（以下、PCEと記す）数及び正染色赤血球数と2000個のPCEに対する小核を有する幼若赤血球（以下、MNPCEと記す）数を計数し、それぞれの出現頻度（%）を求めた。

また、群ごとにMNPCE数とその出現頻度（%）、PCE数とその出現頻度（%）について平均値と標準偏差を算出し、各出現頻度（%）については最大値と最小値も記録した。

小核の出現頻度に対する有意性の判定は、陰性対照群と陽性対照群のMNPCEの出現頻度（%）が当研究所の背景データの平均値 $\pm 3S.D.$ 内であることを確認した後、陰性対照群と被験物質投与群とを比較し、2項分布に基づくKastenbaum&Bowmanの検定⁵⁾（有意水準：片側5%）並びにCochran Armitageの傾向検定⁶⁾（有意水準：両側1及び5%）を行った。更にPCEの出現頻度については、陰性対照群と各被験物質投与群との間でBartlettの検定⁷⁾を行い等分散性（有意水準：両側1%）を調べ、分散が均一であったためDunnettの検定⁸⁾（有意水準：両側1及び5%）を行った。

7. 試験結果

7.1 予備試験

2-ニトロ-*p*-クレゾールの 250、500、1000 及び 2000mg/kg/日を投与した。

7.1.1 一般状態

結果を Appendix 1-1、1-2 に示した。

一般状態では、2000mg/kg/日投与群の雌雄で腹臥・横臥がみられた。また、2 回目投与翌日までに、2000mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例の死亡が確認された。

7.1.2 体重

結果を Appendix 2-1、2-2 に示した。

体重では、各投与群で被験物質投与に起因すると思われる減少がみられた。

7.2 本試験

2-ニトロ-*p*-クレゾールの 250、500 及び 1000mg/kg/日、陰性対照としてオリーブ油、陽性対照として MMC の 1mg/kg を投与した。

7.2.1 一般状態

個体別の結果を Appendix 3 に、総括を Table 1 にそれぞれ示した。

各被験物質投与群において、着色尿がみられた。陰性対照群及び陽性対照群については、一般状態に変化はみられなかった。

7.2.2 体重

個体別の結果を Appendix 4 に、総括を Table 2 にそれぞれ示した。

陰性対照群と比較して、各被験物質投与群で減少傾向がみられた。陽性対照群については、体重推移に異常はみられなかった。

7.2.3 骨髄塗抹標本の観察結果

個体別の結果を Appendix 5 に、総括を Table 3 にそれぞれ示した。

被験物質投与群では MNPCE の出現頻度が 250mg/kg/日投与群で $0.13 \pm 0.06\%$ 、500mg/kg/日投与群で $0.16 \pm 0.04\%$ 、1000mg/kg/日投与群で $0.11 \pm 0.07\%$ を示した。これらの値を陰性対照群の $0.13 \pm 0.09\%$ と比較した結果、いずれの被験物質投与群も統計学的に有意な増加は示さず、用量依存的な変化も認められなかった。

また、各被験物質投与群の全赤血球 200 個中に占める PCE の出現頻度も、陰性対照群と比較して統計学的に有意な変化を示さなかった。

なお、陽性対照群の MNPCE の出現頻度は、陰性対照群と比べ顕著に増加した。さらに、陰性対照群及び陽性対照群の MNPCE の出現頻度は、当研究所における各々の

M-1455

背景データの平均値 $\pm 3S.D.$ の範囲内であった。

8. 考察

2-ニトロ-*p*-クレゾールの染色体異常誘発能の有無を検討するため、CrIj:CD1(ICR)SPF マウスを用いた小核試験を実施した。

投与量を決定するための予備試験では、マウスに 250、500、1000 及び 2000mg/kg/日を約 24 時間間隔で 2 回経口投与した結果、2 回目投与翌日までに、2000mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例の死亡が確認された。一般状態では、各投与群で着色尿がみられた。体重では、各投与群で被験物質投与に起因すると思われる減少がみられた。

この結果をもとに、本試験では予備試験において死亡例のみられなかった 1000mg/kg/日を高用量とし、以下公比 2 で除して 500 及び 250mg/kg/日を約 24 時間間隔で 2 回経口投与し、2 回目投与後約 24 時間に骨髄の採取を行った。また、陰性対照としてオリブ油を被験物質投与群と同じ頻度で投与し、陽性対照としてマイトマイシン C の 1mg/kg を 1 回投与する群を設定した。

その結果、MNPCE の出現頻度において、各被験物質投与群は陰性対照群に比べて統計学的に有意な増加は認められず、用量依存的な変化も認められなかった。

また、各被験物質投与群における全赤血球 200 個中に占める PCE の出現頻度は、陰性対照群と比較して統計学的に有意な変化を示さなかった。

なお、陰性対照群と陽性対照群の MNPCE の出現頻度は、当研究所における各々の背景データの平均値 \pm 3S.D.の範囲内であったことから、試験は適切に実施されたものと考えられた。

以上の結果から、2-ニトロ-*p*-クレゾールは本試験条件下で CrIj:CD1(ICR)SPF マウスの骨髄において、染色体異常誘発能は無いと判定した。

なお、2-ニトロ-*p*-クレゾールは、復帰突然変異試験で陰性、染色体異常試験では染色体の構造異常が誘発され、陽性の結果が得られている^{9,10}。

9. 参考文献

- 1) W. Schmid, Mutation Res. 31, 9-15 (1975).
- 2) W. Schmid, "Chemical Mutagens," Vol. 4, ed. by A. Hollaender, Plenum Press, N.Y., London, 1976, pp.76-78.
- 3) M. Hayashi, T. Sofuni, M. Jr. Ishidate, Mutat. Res., 120, 241(1983).
- 4) 林 真, "小核試験," サイエンティスト社, 東京, 1991, pp.44-55.
- 5) M.A.Kastenbaum and K.O.Bowman, Mutation Res. 9, 527-549 (1970).
- 6) 吉村 功 編, "毒性・薬効データの統計解析," サイエンティスト社, 東京, 1987, pp. 67-69.
- 7) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. 8th ed. Ames: Iowa State University Press (1989).
- 8) Dunnett CW. (1955): A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. Journal of the American Statistical Association, 50, 1096-1121.
- 9) ██████████ : 2-ニトロ-*p*-クレゾールを用いる復帰突然変異試験
(株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：T-0021、2007年)
- 10) ██████████ : 2-ニトロ-*p*-クレゾールのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験
(株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：M-1250、2007年)

試験成績書
(2-ニトロ-*p*-クレゾールの安定性)

ステージ : 動物試験終了後

測定日 : 2011年3月3日
2010年11月30日 [参照スペクトル (A-2348)]

被験物質 : 2-ニトロ-*p*-クレゾール
(ロット番号 ; FHD01)

試験項目 : 赤外吸収スペクトルの確認 (ATR 法)

判定基準 : 参照スペクトル (A-2348) と同様なスペクトルが得られること。

結果 : 参照スペクトル (A-2348) と同様なスペクトルが得られた。なお、赤外吸収スペクトルは次のページに示す。

判定 : 適

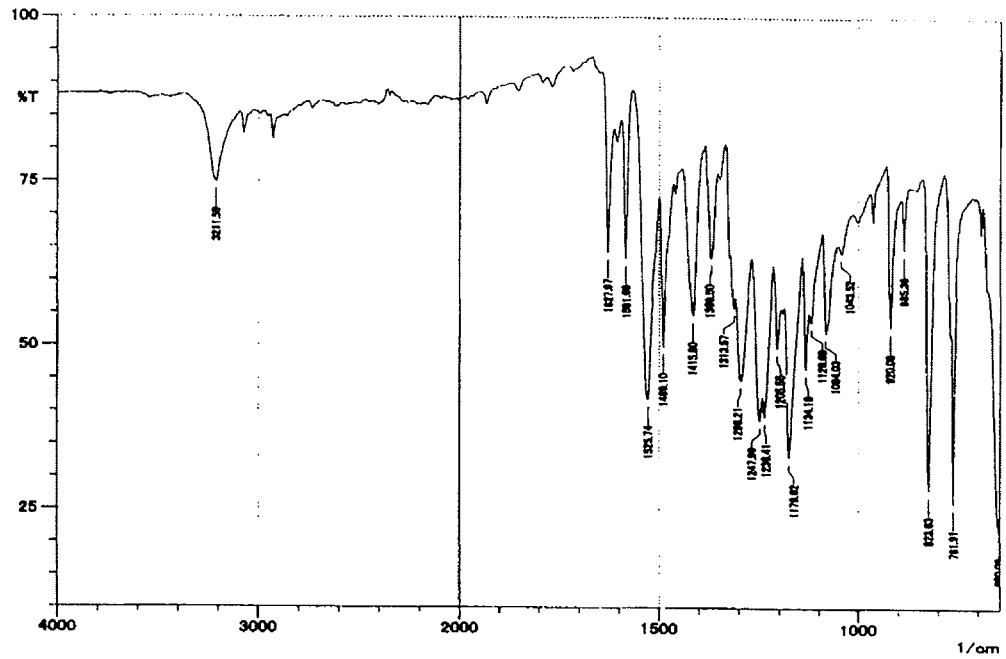
基準 : 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」 (平成 15 年 11 月 21 日薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日最終改正)


化学分析責任者

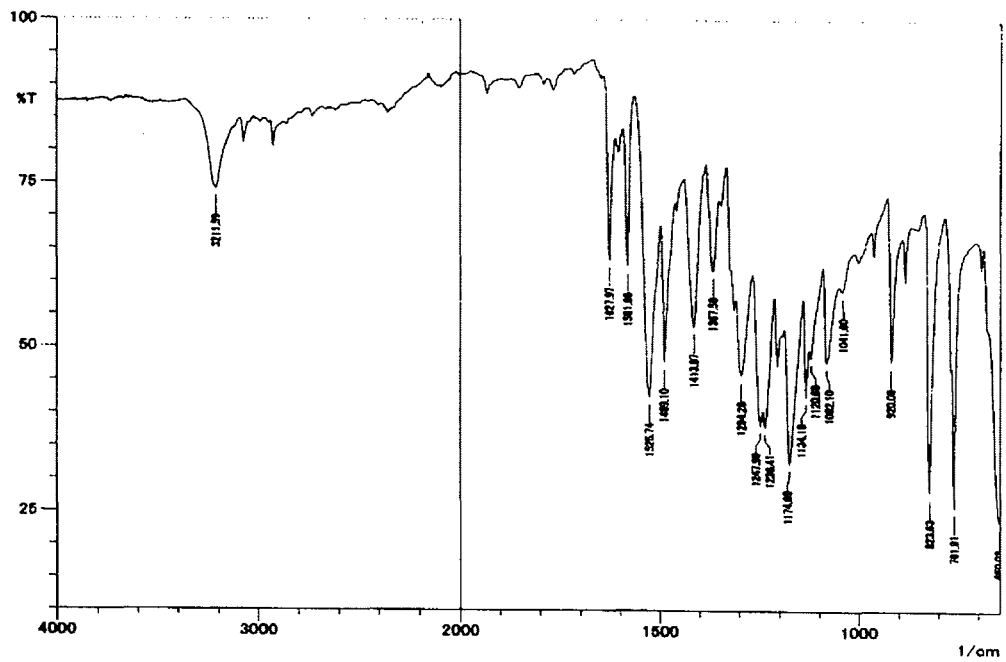
株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

2011年 3月 10日

結果 : 赤外吸収スペクトル



[参照スペクトル (A-2348)]



(動物試験終了後)

試験成績書
(被験液中 2-ニトロ-*p*-クレゾールの濃度)

ステージ : 本試験
分析日 : 2011年2月9日

測定試料

被験物質 : 2-ニトロ-*p*-クレゾール (ロット番号 ; FHD01)
形態 (媒体) : 溶液 (オリーブ油)
調製日 : 2011年2月9日

評価基準

濃度 : 表示値に対する割合 ; $100 \pm 10\%$

結果 :

表示値 (mg/mL)	測定濃度 (mg/mL)	表示値に 対する割合 (%)
25	25.8	103.2
50	50.3	100.6
100	101	101.0

判定 : 適

化学分析責任者
株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

2011年 2月 16日

Table 1

A micronucleus test of 2-Nitro-*p*-cresol in mice

Clinical signs

Group	Dose (mg/kg/day)		1st administration			2nd administration			1 day after the 2nd administration
			Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	
Negative control	0	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	5	5	5	5	5
Low	250	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	4	5	5	4	5
		Colored urine	0	0	1	0	0	1	0
Middle	500	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	2	0	5	3	3
		Colored urine	0	0	3	5	0	2	2
High	1000	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	0	0	5	2	0
		Colored urine	0	0	5	5	0	3	5
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	Number of animals	5	-	-	5	5	5	5
		No abnormalities	5	-	-	5	5	5	5

- : No observation

a) : Administration was done only once for the positive control group.

Table 2 A micronucleus test of 2-Nitro-*p*-cresol in mice

Group	Dose (mg/kg/day)	Body weight			
			1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Negative control	0	N	5	5	5
		Mean	33.4	32.8	32.7
		S.D.	1.6	1.3	1.2
Low	250	N	5	5	5
		Mean	33.4	33.4	32.8
		S.D.	1.8	1.4	1.4
Middle	500	N	5	5	5
		Mean	33.4	33.1	32.5
		S.D.	1.7	1.3	1.3
High	1000	N	5	5	5
		Mean	33.3	32.8	32.2
		S.D.	1.6	2.3	3.1
Positive control ^{a)} (MitomycinC)	1	N	5	5	5
		Mean	33.4	33.8	33.6
		S.D.	1.7	2.1	1.7

Unit : g

a) : Administration was done only once for the positive control group.

Table 3

A micronucleus test of 2-Nitro-*p*-cresol in mice

Observation of bone marrow smears (About 24 hours after the 2nd administration)

Group	Dose (mg/kg/day)		No. of MNPCE in 2000 PCE	MNPCE(%) ^{b)}	No. of PCE in 200 erythrocytes	PCE(%) ^{c)}
Negative control	0	N	5	5	5	5
		Mean ± S.D.	3 ± 2	0.13 ± 0.09	117 ± 8	58.4 ± 3.8
		Min. / Max.		0.00 / 0.25		53.0 / 62.5
Low	250	N	5	5	5	5
		Mean ± S.D.	3 ± 1	0.13 ± 0.06	113 ± 11	56.7 ± 5.7
		Min. / Max.		0.05 / 0.20		50.0 / 63.5
Middle	500	N	5	5	5	5
		Mean ± S.D.	3 ± 1	0.16 ± 0.04	116 ± 7	58.1 ± 3.4
		Min. / Max.		0.10 / 0.20		54.5 / 62.5
High	1000	N	5	5	5	5
		Mean ± S.D.	2 ± 1	0.11 ± 0.07	110 ± 7	55.1 ± 3.6
		Min. / Max.		0.05 / 0.20		50.5 / 60.0
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	N	5	5	5	5
		Mean ± S.D.	51 ± 13	2.54 ± 0.65	110 ± 9	54.9 ± 4.7
		Min. / Max.		1.75 / 3.25		47.5 / 58.5

a) : Administration was done only once for the positive control group.

b): Proportion(%) of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE) per 2000 polychromatic erythrocytes (PCE)

c): Proportion(%) of polychromatic erythrocytes (PCE, including MNPCE) per 200 erythrocytes

No significant difference between the negative control group and any treated group.

A micronucleus test of 2-Nitro-*p*-cresol in mice

Clinical signs (Preliminary study)

Sex	Group	Dose (mg/kg/day)		1st administration			2nd administration			1 day after the 2nd administration
				Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	
Male	Low	250	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	2	3
			Colored urine	0	0	0	0	0	1	0
	Middle	500	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	1	2	3	2	0
			Colored urine	0	0	2	1	0	1	3
	High	1000	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	0	0	3	2	0
			Colored urine	0	0	3	3	0	1	3
	Highest	2000	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	2	0	3	2	0
			Colored urine	0	0	1	3	0	1	2
Dead			0	0	0	0	0	0	1	

A micronucleus test of 2-Nitro-*p*-cresol in mice

Clinical signs (Preliminary study)

Sex	Group	Dose (mg/kg/day)		1st administration			2nd administration			1 day after the 2nd administration
				Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	
Female	Low	250	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	2	2	3	3	1
			Colored urine	0	0	1	1	0	0	2
	Middle	500	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	0	3	2	0
			Colored urine	0	0	0	3	0	1	3
	High	1000	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	1	0	3	2	0
			Colored urine	0	0	2	3	0	1	3
	Highest	2000	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	2	0	3	2	0
			Colored urine	0	0	1	3	0	1	2
Dead			0	0	0	0	0	0	1	

Body weight (Preliminary study)

	Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Male	Low	250	101	32.6	32.2	32.3
			102	35.5	35.8	35.6
			103	33.0	32.4	32.0
			Mean	33.7	33.5	33.3
			S.D.	1.6	2.0	2.0
			<hr/>			
	Middle	500	201	34.3	34.4	34.6
			202	31.5	31.3	31.1
			203	33.5	32.7	31.0
			Mean	33.1	32.8	32.2
			S.D.	1.4	1.6	2.1
			<hr/>			
	High	1000	301	34.4	32.8	33.3
			302	33.3	32.6	33.5
			303	32.2	31.6	30.5
			Mean	33.3	32.3	32.4
			S.D.	1.1	0.6	1.7
			<hr/>			
Highest	2000	401	34.7	31.9	Dead	
		402	33.0	31.4	29.3	
		403	32.5	30.0	28.4	
		Mean	33.4	31.1	28.9	
		S.D.	1.2	1.0		
		<hr/>				

Unit : g

Body weight (Preliminary study)

Sex	Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Female	Low	250	111	27.2	27.7	28.5
			112	25.4	25.7	25.2
			113	24.7	25.1	26.2
			Mean	25.8	26.2	26.6
			S.D.	1.3	1.4	1.7
	Middle	500	211	25.3	24.6	25.3
			212	25.0	25.0	23.9
			213	29.2	29.4	26.5
			Mean	26.5	26.3	25.2
			S.D.	2.3	2.7	1.3
	High	1000	311	27.2	25.1	22.8
			312	24.7	24.9	23.0
			313	25.6	23.6	22.8
			Mean	25.8	24.5	22.9
			S.D.	1.3	0.8	0.1
	Highest	2000	411	26.5	24.8	22.8
			412	26.2	24.0	22.4
413			24.4	21.8	Dead	
Mean			25.7	23.5	22.6	
S.D.			1.1	1.6		

Unit : g

Appendix 3

A micronucleus test of 2-Nitro-*p*-cresol in mice

Clinical signs

Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st administration			2nd administration			1 day after the 2nd administration
			Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	
Negative control	0	1001	-	-	-	-	-	-	-
		1002	-	-	-	-	-	-	-
		1003	-	-	-	-	-	-	-
		1004	-	-	-	-	-	-	-
		1005	-	-	-	-	-	-	-
Low	250	2001	-	-	-	-	-	-	-
		2002	-	-	T	-	-	-	-
		2003	-	-	-	-	-	-	-
		2004	-	-	-	-	-	-	-
		2005	-	-	-	-	-	T	-
Middle	500	3001	-	-	T	T	-	T	-
		3002	-	-	T	T	-	T	-
		3003	-	-	T	T	-	-	T
		3004	-	-	-	T	-	-	T
		3005	-	-	-	T	-	-	-
High	1000	4001	-	-	T	T	-	T	T
		4002	-	-	T	T	-	-	T
		4003	-	-	T	T	-	-	T
		4004	-	-	T	T	-	T	T
		4005	-	-	T	T	-	T	T
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	5001	-	/	/	-	-	-	-
		5002	-	/	/	-	-	-	-
		5003	-	/	/	-	-	-	-
		5004	-	/	/	-	-	-	-
		5005	-	/	/	-	-	-	-

- : No abnormalities

/ : No observation

T: Colored urine

a) : Administration was done only once for the positive control group.

Body weight

Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Negative control	0	1001	33.1	32.8	32.2
		1002	34.2	33.0	32.8
		1003	31.8	31.6	31.7
		1004	35.8	34.8	34.7
		1005	32.3	31.8	32.3
		Mean	33.4	32.8	32.7
		S.D.	1.6	1.3	1.2
Low	250	2001	35.7	35.5	35.1
		2002	33.0	33.2	32.5
		2003	34.6	33.6	32.9
		2004	32.4	33.1	32.4
		2005	31.2	31.5	31.2
		Mean	33.4	33.4	32.8
		S.D.	1.8	1.4	1.4
Middle	500	3001	33.5	32.2	31.7
		3002	36.1	35.2	34.3
		3003	33.4	33.2	33.6
		3004	31.9	32.2	31.3
		3005	32.0	32.6	31.7
		Mean	33.4	33.1	32.5
		S.D.	1.7	1.3	1.3
High	1000	4001	35.8	35.9	35.9
		4002	31.9	30.7	29.8
		4003	33.3	32.0	33.1
		4004	33.6	34.3	33.8
		4005	32.1	30.9	28.4
		Mean	33.3	32.8	32.2
		S.D.	1.6	2.3	3.1
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	5001	31.2	31.2	31.7
		5002	32.7	33.3	33.6
		5003	35.5	36.5	36.1
		5004	34.7	35.3	33.9
		5005	32.7	32.8	32.6
		Mean	33.4	33.8	33.6
		S.D.	1.7	2.1	1.7

Unit : g

a) : Administration was done only once for the positive control group.

Appendix 5

A micronucleus test of 2-Nitro-*p*-cresol in mice

Observation of bone marrow smears (About 24 hours after the 2nd administration)

Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	No. of MNPCE in 2000 PCE	Mean \pm S.D.	MNPCE(%) ^{b)}	Mean \pm S.D. (Min / Max)	No. of PCE in 200 erythrocytes	Mean \pm S.D.	PCE(%) ^{c)}	Mean \pm S.D. (Min / Max)
Negative control	0	1001	2	3 \pm 2	0.10	0.13 \pm 0.09	125	117 \pm 8	62.5	58.4 \pm 3.8
		1002	5		0.25	(0.00 / 0.25)	123		61.5	(53.0 / 62.5)
		1003	3		0.15		106		53.0	
		1004	3		0.15		116		58.0	
		1005	0		0.00		114		57.0	
Low	250	2001	4	3 \pm 1	0.20	0.13 \pm 0.06	127	113 \pm 11	63.5	56.7 \pm 5.7
		2002	1		0.05	(0.05 / 0.20)	114		57.0	(50.0 / 63.5)
		2003	2		0.10		100		50.0	
		2004	3		0.15		104		52.0	
		2005	3		0.15		122		61.0	
Middle	500	3001	4	3 \pm 1	0.20	0.16 \pm 0.04	111	116 \pm 7	55.5	58.1 \pm 3.4
		3002	3		0.15	(0.10 / 0.20)	125		62.5	(54.5 / 62.5)
		3003	3		0.15		115		57.5	
		3004	2		0.10		121		60.5	
		3005	4		0.20		109		54.5	
High	1000	4001	3	2 \pm 1	0.15	0.11 \pm 0.07	101	110 \pm 7	50.5	55.1 \pm 3.6
		4002	1		0.05	(0.05 / 0.20)	120		60.0	(50.5 / 60.0)
		4003	1		0.05		106		53.0	
		4004	2		0.10		111		55.5	
		4005	4		0.20		113		56.5	
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	5001	41	51 \pm 13	2.05	2.54 \pm 0.65	116	110 \pm 9	58.0	54.9 \pm 4.7
		5002	65		3.25	(1.75 / 3.25)	95		47.5	(47.5 / 58.5)
		5003	35		1.75		117		58.5	
		5004	62		3.10		115		57.5	
		5005	51		2.55		106		53.0	

a): Administration was done only once for the positive control group.

b): Proportion(%) of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE) per 2000 polychromatic erythrocytes (PCE)

c): Proportion(%) of polychromatic erythrocytes (PCE, including MNPCE) per 200 erythrocytes

M-1455

信頼性保証書 (1/2)

試験番号 : M-1455

試験表題 : 2-ニトロ-*p*-クレゾールのマウスを用いた小核試験

本試験は以下に示す基準を遵守して実施されたことを保証致します。

- 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」
(平成 15 年 11 月 21 日 : 薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、
環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日最終改正)
- 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」
(OECD 理事会 : 1997 年 11 月 26 日)

なお、調査は下記の通り実施致しました。

2011 年 3 月 24 日
株式会社ボゾリサーチセンター
信頼性保証部門

試験における調査

項目	担当者	調査日	試験責任者及び 運営管理者への 報告日
試験計画書		2010 年 12 月 8 日	2010 年 12 月 8 日
コンピュータプロトコール		2011 年 2 月 3 日	2011 年 2 月 3 日
試験計画書変更書 (1)		2011 年 2 月 7 日	2011 年 2 月 8 日
調製・保存 (被験物質)		2011 年 2 月 8 日	2011 年 2 月 8 日
改善確認		2011 年 2 月 8 日	2011 年 2 月 8 日
被験液の濃度確認		2011 年 2 月 8 日	2011 年 2 月 8 日
調製 (被験物質) (再)		2011 年 2 月 9 日	2011 年 2 月 9 日
被験液の濃度確認 (再)		2011 年 2 月 9 日	2011 年 2 月 10 日
群分け・投与・一般状態の観察		2011 年 2 月 14 日	2011 年 2 月 14 日

信頼性保証書 (2/2)

項目	担当者	調査日	試験責任者及び 運営管理者への 報告日
調製（陽性対照物質）	[Redacted]	2011年 2月 15日	2011年 2月 15日
投与・一般状態の観察 （陽性対照物質）		2011年 2月 15日	2011年 2月 15日
骨髓塗抹標本の作製		2011年 2月 16日	2011年 2月 16日
骨髓塗抹標本の観察		2011年 2月 17日	2011年 2月 17日
被験物質の安定性		2011年 3月 3日	2011年 3月 3日
生データ		2011年 3月 17日	2011年 3月 18日
改善確認		2011年 3月 18日	2011年 3月 18日
最終報告書草案・表・付表		2011年 3月 17日	2011年 3月 18日
改善確認		2011年 3月 18日	2011年 3月 18日
最終報告書		2011年 3月 24日	2011年 3月 24日

プロセス調査

項目	試験番号	担当者	調査日	試験責任者あるいは 部門責任者及び 運営管理者への 報告日
動物入荷	M-1462	[Redacted]	2011年 1月 31日	2011年 1月 31日
検疫・馴化	M-1462		2011年 1月 31日	2011年 1月 31日
	M-1462		2011年 2月 7日	2011年 2月 7日
飼育管理	M-1462		2011年 2月 2日	2011年 2月 2日
陽性対照物質の管理	-		2011年 3月 17日	2011年 3月 18日

-：該当せず