p-オクチルフェノール の
細菌を用いる
復帰変異試験

厚生省生活衛生局　委託

財団法人食品薬品安全センター
秦　野　研　究　所

目　　次

頁

要　　約 …… 1

緒　　言 …… 2

材料および試験方法 …… 3

試験結果および考察 …… 7

参　考　文　献 …… 9

表　　1～6

要　　約

p-オクチルフェノールの変異原性の有無について、細菌を用いる復帰変異試験を実施することにより検討した。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用いた。用量設定試験においては、直接試験および代謝活性化試験のいずれも、50～5000 μg/プレート の用量で試験を行ったが、すべての検定菌において抗菌性が認められた。抗菌性は *S. typhimurium* の 4 検定菌の直接試験において強く認められた。そのため、*S. typhimurium* の 4 検定菌について、TA100 と TA98 では 20～200 μg/プレート、TA1535 および TA1537 では 10～100 μg/プレート の用量で直接試験のみについて再試験を実施したが、いずれの検定菌においても抗菌性は強く認められた。

本試験は、*S. typhimurium* の 4 検定菌では直接試験を 1.56～50 μg/プレート、代謝活性化試験を 6.25～200 μg/プレート の用量で、WP2 については直接試験および代謝活性化試験のいずれも 125～2000 μg/プレート の用量で実施した。

その結果、2 回の本試験ともに、用いた 5 種類の検定菌について、いずれの用量でも復帰変異コロニー数の増加が認められなかったことから、*p*-オクチルフェノールは、用いた試験系において変異原性を有しない（陰性）と判定された。

緒　　言

ＯＥＣＤ既存化学物質安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、日本が独自に選定した既存化学物質の１つである、p-ｵｸﾁﾙﾌｪﾉｰﾙについて、細菌を用いる復帰変異試験をプレート法により実施した。

この試験は、サルモネラ（ネズミチフス菌）におけるヒスチジン要求性から非要求性への復帰変異[(1)]、ならびに大腸菌におけるトリプトファン要求性から非要求性への復帰変異[(2)]を指標とした変異原の検出系である。

試験は、被験物質をそのまま検定菌に作用させる直接試験と、哺乳動物のもつ薬物代謝酵素（S9 混液）によって産生される被験物質の代謝物の変異原性を試験する代謝活性化試験とからなっている。

本試験は、「新規化学物質に係る試験の方法について」（昭和62年３月31日、環保業第237号、薬発第306号、62基局第303号）およびOECD化学品試験法ガイドライン：471，472 に準拠し、化学物質GLP（昭和59年３月31日，環保業第39号，薬発第229号，59基局第85号，改訂昭和63年11月18日，環企研第233号，衛生第38号，63基局第823号）に基づいて実施した。

材料および試験方法

〔検　定　菌〕

Salmonella typhimurium TA100
Salmonella typhimurium TA1535
Escherichia coli WP2 *uvrA*
Salmonella typhimurium TA98
Salmonella typhimurium TA1537

S. typhimurium の4菌株は1975年10月31日にアメリカ合衆国、

の　　から分与を受けた。

E. coli WP2 *uvrA* 株は1979年5月9日に　　の　　から分与を受けた。

検定菌は、-80℃以下で凍結保存した。

試験に際して、0.5%塩化ナトリウム添加ニュートリエントブロス（Difco）を入れたL字型試験管に種菌を接種し、37℃、10時間往復振とう培養したものを検定菌液とした。

〔被験物質〕

p-オクチルフェノール（CAS No. 3780-50-5、以下ＯＰと略）は、分子量 206.33、融点79～82℃、沸点175℃の白色結晶状固体である。純度97%以上のもの（ロット番号：　　）を　　から供与された。被験物質は、使用時まで室温で遮光して保存した。ＯＰは、ジメチルスルホキシド（ロット番号：DSL 5887、和光純薬、以下DMSOと略）を用いて 50 あるいは 20 mg/mℓ になるように調製した後、同溶媒で更に公比2ないし3で希釈したものを、速やかに試験に用いた。

試験の開始に先立って、秦野研究所においてＯＰのDMSO溶液中での安定性試験を行った。本試験における最高濃度（20 mg/mℓ）および最低濃度以下の濃度(12.5 μg/mℓ）について、室温遮光条件下で、実施した。その結果、調製後3時間における各

3サンプルの平均含量は、それぞれ初期値（0時間）に対して、101および 102%であった。これらの値は当研究所の標準操作手順書の基準（初回の測定平均値の90%以上）を満たしていた（Appendix 1）。

また、本試験に用いた調製検体について、含量測定試験を行った結果、20 mg/mℓ 溶液については、92.6～97.6%、15.6 μg/mℓ 溶液については、103～104%の回収率が得られた。これらの値は、当研究所の標準操作手順書の基準（平均含量は添加量の 85%以上）を満たしていた（Appendix 2）。

以上の結果から、ＯＰはDMSO溶液中では安定であり、また調製液中の被験物質の含量は所定の値の範囲内にあることが確認された。

〔陽性対照物質〕

用いた陽性対照物質およびその溶媒は以下のとおりである。

AF-2：フリルフラマイド	（上野製薬㈱	ロット番号 46,	純度99.9%）
SA　：アジ化ナトリウム	（和光純薬工業㈱	ロット番号 TLN5556,	純度>90%）
9-AA：9-アミノアクリジン	（東京化成工業㈱	ロット番号 AM 01,	純度>98%）
2-AA：2-アミノアントラセン	（和光純薬工業㈱	ロット番号 EDE7881,	純度>90%）

AF-2, 9-AA, 2-AA は DMSO（和光純薬工業㈱ ロット番号 DSL5887およびECJ7001）に、SA は蒸留水に溶解して試験に用いた。

〔培地および S9 混液の組成〕

1）トップアガー（TA菌株用）

下記の水溶液（A）および（B）を容量比 10:1 の割合で混合した。

(A) ﾊﾞｸﾄ･ｱｶﾞｰ (Difco)	0.6%	(B) L-ﾋｽﾁｼﾞﾝ*	0.5 mM
塩化ﾅﾄﾘｳﾑ	0.5%	ﾋﾞｵﾁﾝ	0.5 mM

＊ ： WP2 用には、0.5 mM L-トリプトファン水溶液を用いた。

2）合成培地

培地は、日清製粉株式会社製の最少寒天培地（用量設定試験では、ロット番号：DJ050GG,および DJ060IG, 1991年7月9日および 9月3日製造, 本試験においては、ロット番号：DJ070JG,1991年10月21日製造）を用いた。なお、培地1 ℓあたりの組成は下記のとおりである。

硫酸ﾏｸﾞﾈｼｳﾑ・7水和物	0.2 g	ﾘﾝ酸水素ｱﾝﾓﾆｳﾑﾅﾄﾘｳﾑ・4水和物	3.5 g
ｸｴﾝ酸・1水和物	2 g	ｸﾞﾙｺｰｽ	20 g
ﾘﾝ酸水素二ｶﾘｳﾑ	10 g	ﾊﾞｸﾄ・ｱｶﾞｰ (Difco)	15 g

径 90 mm のシャーレ1枚あたり 30 ml を流して固めてある。

3） S9 混液（1 ml中下記の成分を含む）

S9**	0.1 ml	NADH	4 μmole
塩化ﾏｸﾞﾈｼｳﾑ	8 μmole	NADPH	4 μmole
塩化ｶﾘｳﾑ	33 μmole	0.2M リン酸緩衝液 (pH 7.4)	0.5 ml
ｸﾞﾙｺｰｽ・6ﾘﾝ酸	5 μmole		

** ：7週齢の Sprague-Dawley 系雄ラットをフェノバルビタール(PB)および5、6-ベンゾフラボン(BF)の併用投与で酵素誘導して作製した S9（キッコーマン㈱、ロット番号 RAA-258、1991年8月23日製造）を用いた。PBおよびBFの投与量は1日目 PB 30 mg/kg、2日目 PB 60 mg/kg、3日目 PB 60 mg/kg および BF 80 mg/kg、4日目 PB 60 mg/kg であり、いずれも腹腔内投与したものである。

〔試 験 方 法〕

プレート法により直接試験および代謝活性化試験を行った。

小試験管中にトップアガー2 ml、被験物質調製液 0.1 ml、リン酸緩衝液 0.5 ml（代謝活性化試験においては S9 混液 0.5 ml）、検定菌液 0.1 ml を混合したのち合成培地平板上に流して固めた。また、対照群として被験物質調製液の代わりに

DMSO、または数種の陽性対照物質溶液を用いた。各検定菌ごとの陽性対照物質の名称および用量は表中に示した。培養は37℃で48時間行い、生じた復帰変異コロニー数を算定した。用いた平板は用量設定試験においては、陰性および陽性対照群では3枚ずつ、各用量については1枚ずつとした。また、本試験においては両対照群および各用量につき、3枚ずつを用い、それぞれその平均値と標準偏差を求めた。用量設定試験は1回、本試験は同一用量について2回実施し、再現性の確認を行った。

〔判 定 基 準〕

被験物質を含有する平板上における復帰変異コロニー数が、陰性対照のそれに比べて2倍以上に増加し、かつ、その増加に再現性あるいは用量依存性が認められた場合に、当該被験物質は本試験系において変異原性を有する（陽性）と判定することとした。

試験結果および考察

試験の全過程を通して、信頼性に悪影響を及ぼすおそれのある予期し得なかった事態および試験計画書からの逸脱はなかった。

〔用量設定試験〕

50～5000 μg/プレート の範囲で試験を実施したところ、すべての検定菌の直接試験および代謝活性化試験において、抗菌性が強く認められた。抗菌性は、*S. typhimurium* の検定菌で WP2 より強く認められ、また直接試験において著しかった(表１）。そのため、*S. typhimurium* の４検定菌について、TA100 と TA98 では 20～200 μg/プレート、TA1535 と TA1537 は 10～100 μg/プレート の用量で直接試験のみについて追加試験を実施した。抗菌性はいずれの検定菌においても高用量の２～３用量群で認められた（表２）。

以上の結果から、本試験における最高用量を *S. typhimurium* の４検定菌の直接試験では 50 μg/プレート、代謝活性化試験では、200 μg/プレート 、WP2 については、直接試験、代謝活性化試験ともに 2000 μg/プレート とし、*S. typhimurium* の４検定菌においては６用量、WP2 については５用量を公比２で設けた。

〔本試験〕

本試験の結果を表３～６に示した。ＯＰについて、上記の用量範囲で試験を実施した。その結果、すべての検定菌において、直接試験および代謝活性化試験のいずれにおいても、高用量の１～２用量群において抗菌性が認められたものの、用量依存性のある変異コロニー数の増加は認められなかった。

ＯＰについて実施した試験において、陽性対照物質では、いずれの検定菌においても変異コロニー数の増加が認められ、陰性対照群とも計測された変異コロニー数

はヒストリカルコントロール値の範囲内であったことから、本試験に用いた各検定菌の感受性および各陽性対照物質の変異原活性についての安定性が確認された。

以上の結果に基づき、ＯＰは、用いた試験系において変異原性を有しないもの（陰性）と判定した。

参 考 文 献

(1) Maron, D. M. and Ames, B. N.: Mutation Research. 113: 173-215 (1983)

(2) Green, M. H.: in "Handbook of Mutagenicity Test Procedures." Kilby, B. J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C.(eds.)Elsevier Science Publisher, New York. (1984) pp.161-187.

表 1

用量設定試験結果表－1

被検物質：p-オクチルフェノール

M－91－187

物質	検体濃度 (μg/プレート)	S9Mix の有無	復帰変異 コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照		-	130 143 142 (138 ± 7.2)	14 13 10 (12 ± 2.1)	2 15 17 (11 ± 8.1)	23 28 27 (26 ± 2.6)	7 7 10 (8 ± 1.7)
検体	50	-	107	0*	18	23	0*
	150	-	36*	0*	15	15	0*
	500	-	0*	0*	10	0*	0*
	1500	-	0*	0*	9	0*	0*
	5000	-	0*	0*	0*	0*	0*
溶媒対照		+	138 146 132 (139 ± 7.0)	11 18 17 (15 ± 3.8)	16 17 13 (15 ± 2.1)	38 36 42 (39 ± 3.1)	10 9 13 (11 ± 2.1)
検体	50	+	140	19	13	34	17
	150	+	106	9*	18	33	6*
	500	+	0*	0*	13	10*	0*
	1500	+	0*	0*	5*	0*	0*
	5000	+	0*	0*	1*	0*	0*
陽性対照 S9Mix を必要としないもの	名称		AF2	SA	AF2	AF2	9AA
	濃度 (μg/プレート)		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/プレート		669 699 639 (669 ± 30.0)	306 313 338 (319 ± 16.8)	131 128 157 (139 ± 15.9)	556 548 578 (561 ± 15.5)	1945 2032 3009 (2329 ± 590.8)
陽性対照 S9Mix を必要とするもの	名称		2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
	濃度 (μg/プレート)		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/プレート		759 857 777 (798 ± 52.2)	248 238 249 (245 ± 6.1)	519 505 471 (498 ± 24.7)	196 201 169 (189 ± 17.2)	171 203 172 (182 ± 18.2)

*：検定菌の生育阻害

表 2
被験物質：p-オクチルフェノール

用量設定試験結果表－2

M－91－187

物質	検体濃度 (μg/プレート)	S9Mix の有無	復帰変異 コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照		－	125 124 133 (127 ± 4.9)	15 17 14 (15 ± 1.5)		20 19 25 (21 ± 3.2)	5 10 11 (9 ± 3.2)
検体	10	－		13			8
	20	－	128	14		19	0*
	50	－	109*	8*		17	0*
	100	－	0*	14*		26*	0*
	200	－	0*			16*	
溶媒対照		＋					
検体		＋					
		＋					
		＋					
		＋					
		＋					
陽性対照 S9Mix を必要としないもの	名称 / 濃度 (μg/プレート)		AF2 0.01	SA 0.5	AF2 0.01	AF2 0.1	9AA 80
	コロニー数/プレート		668 642 615 (642 ± 26.5)	198 207 213 (206 ± 7.5)		803 748 792 (781 ± 29.1)	3215 3318 2987 (3173 ± 169.4)
陽性対照 S9Mix を必要とするもの	名称 / 濃度 (μg/プレート)		2AA 1	2AA 2	2AA 10	2AA 0.5	2AA 2
	コロニー数/プレート						

＊：検定菌の生育阻害

表 3
被験物質：p-オクチルフェノール

復帰変異試験結果表Ⅰ－1

M-91-187

物質	検体濃度 (μg/プレート)	S9Mix の有無	復帰変異 コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照		-	123 132 117 (124 ± 7.5)	13 14 17 (15 ± 2.1)		19 22 25 (22 ± 3.0)	8 9 10 (9 ± 1.0)
検体	1.56	-	153 144 125 (141 ± 14.3)	15 15 13 (14 ± 1.2)		22 27 16 (22 ± 5.5)	9 7 9 (8 ± 1.2)
	3.13	-	128 132 140 (133 ± 6.1)	19 10 16 (15 ± 4.6)		30 15 25 (23 ± 7.6)	14 14 11 (13 ± 1.7)
	6.25	-	146 130 152 (143 ± 11.4)	14 20 11 (15 ± 4.6)		20 26 29 (25 ± 4.6)	15 12 9 (12 ± 3.0)
	12.5	-	133 112 127 (124 ± 10.8)	18 14 14 (15 ± 2.3)		27 20 18 (22 ± 4.7)	11 8 11 (10 ± 1.7)
	25	-	138 131 105 (125 ± 17.4)	15* 9* 10* (11 ± 3.2)		16 24 26 (22 ± 5.3)	10* 4* 10* (8 ± 3.5)
	50	-	109* 115* 127* (117 ± 9.2)	9* 9* 11* (10 ± 1.2)		16* 25* 27* (23 ± 5.9)	9* 2* 6* (6 ± 3.5)
溶媒対照		+	187 142 141 (157 ± 26.3)	15 10 14 (13 ± 2.6)		39 42 37 (39 ± 2.5)	11 13 19 (14 ± 4.2)
検体	6.25	+	148 154 145 (149 ± 4.6)	15 19 14 (16 ± 2.6)		50 48 45 (48 ± 2.5)	8 10 17 (12 ± 4.7)
	12.5	+	178 162 153 (164 ± 12.7)	14 19 21 (18 ± 3.6)		38 60 47 (48 ± 11.1)	13 6 8 (9 ± 3.6)
	25	+	143 145 139 (142 ± 3.1)	11 16 25 (17 ± 7.1)		33 36 39 (36 ± 3.0)	12 13 8 (11 ± 2.6)
	50	+	155 164 150 (156 ± 7.1)	14 15 15 (15 ± 0.6)		39 36 40 (38 ± 2.1)	14 7 10 (10 ± 3.5)
	100	+	146 131 156 (144 ± 12.6)	11 9 27 (16 ± 9.9)		38 31 41 (37 ± 5.1)	7 5 10 (7 ± 2.5)
	200	+	94* 91* 98* (94 ± 3.5)	16* 12* 8* (12 ± 4.0)		24* 31* 27* (27 ± 3.5)	4* 8* 4* (5 ± 2.3)
陽性対照 S9Mix を必要としないもの	名称		AF2 0.01	SA 0.5	AF2 0.01	AF2 0.1	9AA 80
	濃度 (μg/プレート)						
	コロニー数/プレート		649 618 611 (626 ± 20.2)	214 225 244 (228 ± 15.2)		572 607 501 (560 ± 54.0)	3360 3605 3635 (3533 ± 150.9)
陽性対照 S9Mix を必要とするもの	名称		2AA 1	2AA 2	2AA 10	2AA 0.5	2AA 2
	濃度 (μg/プレート)						
	コロニー数/プレート		725 748 777 (750 ± 26.1)	216 207 213 (212 ± 4.6)		286 275 322 (294 ± 24.6)	171 170 152 (164 ± 10.7)

＊：検定菌の生育阻害

表 4

復帰変異試験結果表Ⅰ－2

被験物質：p-オクチルフェノール

M-91-187

物質	検体濃度 (μg/プレート)	S9Mix の有無	復帰変異 コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照		-			11 5 17 (11 ± 6.0)		
検体	125	-			13 10 14 (12 ± 2.1)		
	250	-			7 6 9 (7 ± 1.5)		
	500	-			8 8 7 (8 ± 0.6)		
	1000	-			2 0 6 (3 ± 3.1)		
	2000	-			8* 11* 10* (10 ± 1.5)		
溶媒対照		+			15 12 24 (17 ± 6.2)		
検体	125	+			14 15 18 (16 ± 2.1)		
	250	+			16 15 13 (15 ± 1.5)		
	500	+			12 9 8 (10 ± 2.1)		
	1000	+			7 3 2 (4 ± 2.6)		
	2000	+			7 7 9 (8 ± 1.2)		
陽性対照 S9Mix を必要としないもの	名称 / 濃度 (μg/プレート)		AF2 0.01	SA 0.5	AF2 0.01	AF2 0.1	9AA 80
	コロニー数/プレート				190 191 203 (195 ± 7.2)		
陽性対照 S9Mix を必要とするもの	名称 / 濃度 (μg/プレート)		2AA 1	2AA 2	2AA 10	2AA 0.5	2AA 2
	コロニー数/プレート				288 285 247 (273 ± 22.9)		

＊：検定菌の生育阻害

表 5

復帰変異試験結果表Ⅱ－1

被検物質：p-オクチルフェノール

M－91－187

物質	検体濃度 (μg/プレート)	S9Mix の有無	復帰変異 コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
溶媒対照		−	168 141 142 (150 ± 15.3)	18 17 14 (16 ± 2.1)		20 22 21 (21 ± 1.0)	9 8 7 (8 ± 1.0)	
検体	1.56	−	162 172 130 (155 ± 21.9)	23 24 15 (21 ± 4.9)		25 32 31 (29 ± 3.8)	6 9 12 (9 ± 3.0)	
	3.13	−	156 141 160 (152 ± 10.0)	19 12 18 (16 ± 3.8)		15 23 25 (21 ± 5.3)	5 14 16 (12 ± 5.9)	
	6.25	−	151 138 141 (143 ± 6.8)	13 12 18 (14 ± 3.2)		21 32 26 (26 ± 5.5)	16 13 11 (13 ± 2.5)	
	12.5	−	149 150 145 (148 ± 2.6)	17 8 9 (11 ± 4.9)		36 23 26 (28 ± 6.8)	7 7 9 (8 ± 1.2)	
	25	−	139 142 147 (143 ± 4.0)	19 23 15 (19 ± 4.0)		17 23 31 (24 ± 7.0)	6* 10* 5* (7 ± 2.6)	
	50	−	123* 115* 105* (114 ± 9.0)	15* 17* 23* (18 ± 4.2)		23* 31* 22* (25 ± 4.9)	2* 5* 8* (5 ± 3.0)	
		−						
溶媒対照		+	169 141 170 (160 ± 16.5)	12 16 21 (16 ± 4.5)		56 46 48 (50 ± 5.3)	11 15 10 (12 ± 2.6)	
検体	6.25	+	149 153 147 (150 ± 3.1)	13 26 21 (20 ± 6.6)		41 43 38 (41 ± 2.5)	11 11 18 (13 ± 4.0)	
	12.5	+	197 161 160 (173 ± 21.1)	14 20 13 (16 ± 3.8)		45 57 44 (49 ± 7.2)	11 15 14 (13 ± 2.1)	
	25	+	167 132 174 (158 ± 22.5)	17 17 15 (16 ± 1.2)		38 52 50 (47 ± 7.6)	11 10 15 (12 ± 2.6)	
	50	+	156 167 155 (159 ± 6.7)	24 24 14 (21 ± 5.8)		58 41 44 (48 ± 9.1)	12 13 17 (14 ± 2.6)	
	100	+	151 151 167 (156 ± 9.2)	12 16 13 (14 ± 2.1)		38 46 31 (38 ± 7.5)	17* 14* 11* (14 ± 3.0)	
	200	+	120* 113* 114* (116 ± 3.8)	7* 13* 19* (13 ± 6.0)		34* 32* 31* (32 ± 1.5)	7* 11* 3* (7 ± 4.0)	
陽性対照 S9Mix を必要としないもの	名称		AF2	SA	AF2	AF2	9AA	
	濃度 (μg/プレート)		0.01	0.5	0.01	0.1	80	
	コロニー数/プレート		709 678 714 (700 ± 19.5)	178 185 163 (175 ± 11.2)		753 747 776 (759 ± 15.3)	4447 4216 3528 (4064 ± 478.1)	
陽性対照 S9Mix を必要とするもの	名称		2AA	2AA	2AA	2AA	2AA	
	濃度 (μg/プレート)		1	2	10	0.5	2	
	コロニー数/プレート		919 904 942 (922 ± 19.1)	241 213 229 (228 ± 14.0)		334 289 288 (304 ± 26.3)	196 208 204 (203 ± 6.1)	

＊：検定菌の生育阻害

表 8
被検物質：p-オクチルフェノール

復帰変異試験結果表Ⅱ－2

M－91－187

物質	検体濃度 (μg/プレート)	S9Mix の有無	復帰変異 コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照		－			15　19　11 (15 ± 4.0)		
検体	125	－			21　9　12 (14 ± 6.2)		
	250	－			7　12　11 (10 ± 2.6)		
	500	－			6　6　8 (7 ± 1.2)		
	1000	－			6　2　4 (4 ± 2.0)		
	2000	－			10*　11*　16* (12 ± 3.2)		
溶媒対照		＋			16　17　17 (17 ± 0.6)		
検体	125	＋			21　16　16 (18 ± 2.9)		
	250	＋			17　9　13 (13 ± 4.0)		
	500	＋			7　8　6 (7 ± 1.0)		
	1000	＋			7　4　6 (6 ± 1.5)		
	2000	＋			2*　3*　4* (3 ± 1.0)		
陽性対照 S9Mix を必要としないもの	名称		AF2	SA	AF2	AF2	9AA
	濃度 (μg/プレート)		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/プレート				174　157　154 (162 ± 10.8)		
陽性対照 S9Mix を必要とするもの	名称		2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
	濃度 (μg/プレート)		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/プレート				761　658　715 (711 ± 51.6)		

＊：検定菌の生育阻害