

陳 述 書

表 題 : 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸のマウスを用いる小核試験

試験番号 : 7817 (115-182)

本試験は、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）および OECD Principles of Good Laboratory Practice (Revised 1997, Issued Jan. 1998) [Decision of the Council Concerning Mutual Acceptance of Data in the Assessment of Chemicals, ENV/MC/CHEM(98)17] に従って実施されたものである。

平成 17 年 2 月 28 日

所属 : 財団法人
食品農医薬品安全性評価センター
試験責任者

氏名 :



信 頼 性 保 証 書

表 題：3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸のマウスを用いる小核試験

試験番号：7817 (115-182)

本試験は、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，環境企発第 031121004 号）および OECD Principles of Good Laboratory Practice (Revised 1997, Issued Jan. 1998) [Decision of the Council Concerning Mutual Acceptance of Data in the Assessment of Chemicals, ENV/MC/CHEM(98)17]に従って実施され，本最終報告書に記載された成績は，試験の生データを正確に反映していることを保証する。

なお，本試験の信頼性保証部門による調査記録を次頁に示す。

平成 17 年 2 月 28 日

所属：財団法人

食品農医薬品安全性評価センター

信頼性保証部門責任者

氏名：



調 査 記 録

調査項目	調査実施日	試験責任者および 運営管理者への報告日	調査 担当者
試験計画書	平成 16 年 5 月 17 日	平成 16 年 5 月 17 日	
試験計画書の変更書 (Ⅰ)	平成 16 年 6 月 7 日	平成 16 年 6 月 7 日	
投与液の調製および投与 (1 日目)	平成 16 年 6 月 7 日	平成 16 年 6 月 7 日	
骨髓標本作製	平成 16 年 6 月 9 日	平成 16 年 6 月 9 日	
鏡検	平成 16 年 6 月 22 日	平成 16 年 6 月 22 日	
試験計画書の変更書 (Ⅱ)	平成 16 年 8 月 23 日	平成 16 年 8 月 23 日	
試験計画書の変更書 (Ⅲ)	平成 16 年 9 月 1 日	平成 16 年 9 月 3 日	
生データおよび最終報告 書草案	平成 16 年 9 月 7, 8 日	平成 16 年 9 月 9 日	
生データおよび最終報告 書	平成 17 年 2 月 28 日	平成 17 年 2 月 28 日	

最 終 報 告 書

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸のマウスを用いる小核試験

試験番号 : 7817 (115-182)

平成 17 年 2 月 28 日

試験委託者
厚生労働省 医薬食品局

食品農医薬品安全センター

目 次

1. 要約.....	4
2. 表題.....	5
3. 試験目的.....	5
4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP.....	5
5. 試験番号.....	5
6. 試験施設.....	5
7. 試験委託者	6
8. 試験責任者	6
9. 試験責任者の署名および日付	6
10. 被験物質管理責任者	6
11. 分担責任者および試験従事者	7
12. 試験日程.....	7
13. 被験物質.....	8
14. 試験材料および方法.....	10
15. 試験結果.....	17
16. 考察および結論	18
17. 参考文献.....	19
18. 参考とした資料.....	19
19. 試験関係資料の保存.....	19
20. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 および試験計画書に従わなかったこと	20

Figure

Figure 1	Dose-effect relationship for 3-Hydroxy-2-naphthoic acid obtained in the micronucleus assay [male mice receiving two doses]	21
----------	---	----

Tables

Table 1	Mortality in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [male mice receiving two doses]	22
Table 2	Mortality in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [female mice receiving two doses]	23

Table 3	Micronucleus assay with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [male mice receiving two doses]	24
Appendices		
Appendix 1	Body weight in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [male mice receiving two doses].....	25
Appendix 2	Body weight in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [female mice receiving two doses].....	26
Appendix 3	Clinical observations in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [male mice receiving two doses].....	27
Appendix 4	Clinical observations in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [female mice receiving two doses].....	28
Appendix 5	Frequency of MNPCE in mice treated with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [male mice receiving two doses].....	29
Appendix 6	Body weight in the micronucleus assay with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [male mice receiving two doses].....	30
Appendix 7	Clinical observations in the micronucleus assay with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid [male mice receiving two doses]	32
Appendix 8	Historical control data (micronucleus assay on BDF ₁ mice).....	33
Reference data		
Reference data 1	Analysis of contaminants in ALPHA-dri TM	34
Reference data 2	Analysis of contaminants in diet	37
Reference data 3	Analysis of contaminants in tap water	39

1. 要約

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸の変異原性について、小核多染性赤血球誘発性の有無を検討するため、BDF₁系雄マウスを用いた*in vivo*小核試験を実施した。

用量設定試験の結果、雄の 700 mg/kg で 1 例の死亡がみられたが、毒性兆候の発現に明確な性差は認められなかった。したがって最大耐量付近と考えられる 500 mg/kg を高用量とした 250 および 125 mg/kg の 3 用量を 1 日 1 回、2 日間連続して 1 群当たり 6 匹の雄マウスに強制経口投与し、そのうち 5 匹について小核誘発性を検討した。

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸投与群における小核多染性赤血球 (MNPCE) 出現頻度は陰性対照群と同等の値を示し、統計学的に有意な増加は認められなかった。また、観察全赤血球中の多染性赤血球 (PCE) の割合については明確な減少傾向は認められなかった。

なお、陽性対照マイトマイシン C 腹腔内投与群 (投与量 0.5 mg/kg) においては、全個体とも MNPCE の出現頻度が上昇しており、陰性対照と比較して統計学的に有意 ($p \leq 0.025$) な増加を示した。

したがって、本試験条件下では 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸はマウス骨髓細胞に対して小核を誘発しないもの (陰性) と判断した。

2. 表題

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸のマウスを用いる小核試験

3. 試験目的

被験物質の *in vivo* における小核赤血球誘発性を検討した。

4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP

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)
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals 474 (21st July 1997: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test)

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)
- OECD Principles of Good Laboratory Practice (Revised 1997, Issued Jan. 1998) [Decision of the Council Concerning Mutual Acceptance of Data in the Assessment of Chemicals, ENV/MC/CHEM(98)17]

5. 試験番号

7817 (115-182)

6. 試験施設

郵便番号 437-1213

静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜 582-2

財団法人食品農医薬品安全性評価センター (略称 安評センター)

運営管理者

電話番号 0538-58-1266 Fax 番号 0538-58-1393

7. 試験委託者

郵便番号 100-8916

東京都千代田区霞が関一丁目 2 番 2 号

厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室

電話番号 03-3595-2298 Fax 番号 03-3593-8913

8. 試験責任者

郵便番号 437-1213

静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜 582-2

財団法人食品農医薬品安全性評価センター



電話番号 0538-58-3573 Fax 番号 0538-58-1368

9. 試験責任者の署名および日付

平成 17 年 2 月 28 日

所属：財団法人

食品農医薬品安全性評価センター

試験責任者

氏名：



10. 被験物質管理責任者



(薬理薬効グループ) (平成 16 年 8 月 10 日まで)

(第二試験部) (平成 16 年 8 月 11 日から)

11. 分担責任者および試験従事者
遺伝毒性実験：

統計解析：



12. 試験日程

試験開始日：	平成 16 年 5 月 12 日
【用量設定試験】	
動物入荷日：	平成 16 年 5 月 17 日
被験物質液調製日：	平成 16 年 5 月 24, 25 日
実験開始日：	平成 16 年 5 月 24 日
投与開始日：	平成 16 年 5 月 24 日
動物観察終了日：	平成 16 年 5 月 26 日
【小核試験】	
動物入荷日：	平成 16 年 5 月 31 日
被験物質液調製日：	平成 16 年 6 月 7, 8 日
投与開始日：	平成 16 年 6 月 7 日
骨髓標本作製日：	平成 16 年 6 月 9 日
小核観察終了日：	平成 16 年 6 月 30 日
実験終了日：	平成 16 年 6 月 30 日
試験終了日：	平成 17 年 2 月 28 日

13. 被験物質

13.1. 被験物質名

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 (英名 : 3-Hydroxy-2-naphthoic acid)

13.2. ロット番号

DC0201

13.3. 純度

99.2%

13.4. 製造元

XXXXXXXXXX

13.5. 保存条件

冷暗所

13.6. 保存場所

安評センター被験物質保管庫 (C-1 : 4.9～7.3℃ ; 平成 16 年 5 月 21 日～平成 16 年 7 月 15 日)

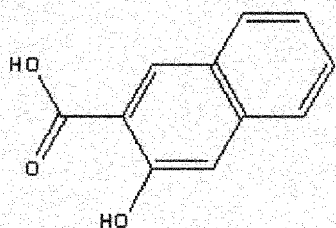
13.7. CAS No.

92-70-6

13.8. 化学名

ベタオキシナフトエ酸 (BON)

13.9. 構造式



13.10. 分子量

188.18

13.11. 分子式

$C_{11}H_8O_3$

13.12. 物質の状態

黄色粉末

13.13. 溶解性

水 : 0.05 g/L (25°C)

アルコール, エーテルに易溶.

クロロホルム, ベンゼンに可溶.

13.14. 安定性

光, 空気中にて比較的安定. アルカリ物質と反応し発熱する.

13.15. 融点

222~223°C

13.16. 残余被験物質の処理

被験物質の一部 (約 2 g) を保存した後, 残りは品質試験等の実施のため
被験物質提供元へ返却した.

14. 試験材料および方法

14.1. 試験動物

14.1.1. 種

マウス

14.1.2. 系統

BDF₁ (C57BL/6 × DBA/2) [SPF]

14.1.3. 購入先

日本エスエルシー株式会社

14.1.4. 週齢および体重

購入時：8 週齢

投与時：9 週齢（用量設定試験：【雄】 25.5～27.4 g 【雌】 19.4～22.0 g，小核試験：【雄】 24.9～28.5 g）

14.1.5. 試験動物数

用量設定試験：雄 15 匹，雌 15 匹（購入数）；雄 16 匹，雌 16 匹（入荷数）

小核試験：雄 38 匹（購入数）；雄 40 匹（入荷数）

14.1.6. 使用動物数

各試験群雄雌各 3 匹，4 試験群，計 24 匹（用量設定試験）

各試験群雄 6 匹，5 試験群，計 30 匹（小核試験）

14.1.7. 種・系統選択理由

安全性試験ならびに小核試験で広く利用されており，入手のし易さ等を考慮して本系統のマウスを使用した。

14.2. 飼育管理

14.2.1. 飼育環境

温度ならびに湿度を制御したマウス飼育室 [801 号室] (W 3.5 × D 5.5 × H 2.5 m, 48.1 m³) で動物を飼育した。試験期間中の温度は，23.5～24.6℃（用量設定試験）および 23.4～24.3℃（小核試験），相対湿度は 52～64%（用量設定試験）および 54～67%（小核試験）であった。換気回数 1 時間当たり 18 回，照明 12 時間（午前 7 時点灯，午後 7 時消灯）に設定した。

自動給水装置を取り付けた Micro-IsolatorTM System (Lab Products Inc.) ラックを使用し，zyfone 製飼育ケージ (W 19.0 × D 32.7 × H 14.2 cm，飼育スぺー

ス 8822 cm³) に床敷き (ALPHA-driTM: Shepherd Specialty Papers, Inc.; Lot No. 02104) を入れ, 動物を検疫期間中は 2 匹, 群分け後は 3 匹ずつ収容した. 使用した床敷きの分析値が日本実験動物飼料協会/コンタミナント分析基準案の許容基準値内であることを確認し, その分析結果を最終報告書に添付した (Reference data 1).

14.2.2. 飼料

動物には固型飼料 (MF: オリエンタル酵母工業株式会社; Lot No. 040310) を自由に摂取させた.

使用した飼料の汚染物質に関する分析をロット毎に, 財団法人日本食品分析センターで行った. 分析値が日本実験動物飼料協会案の許容基準値内であることを確認し, その分析結果を最終報告書に添付した (Reference data 2).

14.2.3. 給水

動物には水道水を自動給水ノズルから自由に摂取させた.

水道法に基づいた水道水の分析を 3 ヶ月に 1 回, 株式会社エコプロ・リサーチで実施した. 検査値が上水道水質基準 (平成 15 年 5 月 30 日厚生労働省令第 101 号) の基準値内であることを確認し, その検査結果を最終報告書に添付した (Reference data 3).

14.3. 検疫および馴化

各動物について疾病の有無を 7 日観察すると共に, その間動物を飼育環境に馴化させた. 検疫・馴化期間中の観察において, 用量設定試験では, 1 例 (仮動物番号雌 14 番) が検疫・馴化期間中の体重増加量が規定値に満たなかったことから, 群分け対象動物から除外した. その他, 体重あるいは健康状態に異常を示した動物はみられなかった.

14.4. 個体識別および群分け

検疫期間中はケージに付した仮動物番号と, 動物の毛刈により個体の識別を行った.

1 回目の投与当日に動物を体重により層別化し, 無作為抽出法を用いて各試験群 (用量設定試験で 3 匹/群, 小核試験で 6 匹/群) を構成するように分けた. 各動物は, フェルトペンで尾部に識別マークを記入し識別した. 群分け後のケージには試験番号, 動物番号等を記入したラベルを装着した.

なお, 余剰動物については炭酸ガスを用いて安楽死させた.

14.5. 被験物質液の調製

被験物質を 0.5 w/v% メチルセルロース溶液 (0.5 w/v% MC, 400cP 溶液 : 和光純薬工業株式会社 ; Lot No. PKG2104) に懸濁させた。

用量設定試験では投与直前に 70.0 mg/mL 液を準備した後, 使用媒体で順次希釈し 49.0, 34.3 および 24.0 mg/mL 液を調製した。各調製液は, 投与初日ならびに投与 2 日目の用時に調製した。

小核試験では 50.0 mg/mL 液を準備した後, 使用媒体で順次希釈し 25.0 および 12.5 mg/mL 溶液を調製した。調製後速やかに投与に用いた。各調製液は, 投与初日ならびに投与 2 日目の用時に調製した。

14.6. 対照群

14.6.1. 陰性 (媒体) 対照

使用媒体 (0.5 w/v% MC) を投与した。

14.6.2. 陽性対照

マイトマイシン C (MMC : 協和醗酵工業株式会社 ; 2 mg 力価 ; Lot No. 415ACF) を 5 mL の注射用水 (日本薬局方注射用水 : 株式会社大塚製薬工場 ; Lot No. K3G77) に溶解し, さらに生理食塩液 (日本薬局方生理食塩液 : 株式会社大塚製薬工場 ; Lot No. K3I70) を用いて 8 倍に希釈 (0.05 mg/mL) した後, 0.5 mg/kg の用量を投与した。投与直前に調製した。

14.7. 用量設定試験 (予備試験)

14.7.1. 用量

化学物質等安全データシート (MSDS : 上野製薬株式会社提供) によると, マウスを用いた単回経口投与での LD₅₀ 値は 800 mg/kg と示されている。本結果を基に 700 mg/kg を最高用量とし, 以下 490, 343 および 240 mg/kg の計 4 用量を被験物質処理群として設定した。雄雌の両性で実施した。

14.7.2. 試験群の構成

試験群	性	試験用量 (mg/kg)	動物数	動物番号
3-ヒドロキシ-2- ナフトエ酸	雄	240	3	1101～1103
		343	3	1201～1203
		490	3	1301～1303
		700	3	1401～1403
	雌	240	3	2101～2103
		343	3	2201～2203
		490	3	2301～2303
		700	3	2401～2403

14.7.3. 投与方法および投与回数

ガイドラインに従って被験物質の投与経路は経口投与とし、ディスポーザブルシリンジとテフロン製ゾンデを用いて1日1回、24時間間隔で2日間連続投与した。投与容量は体重10g当たり0.1mLとし、群分け時の体重から投与液量(mL)を求めた。

14.7.4. 体重測定および一般状態観察

動物搬入時、検疫期間終了時(群分け時)および最終投与後24時間に電子天秤(PG802-S: Mettler Toledo AG)を用いて体重を測定した。また、死亡動物については死亡発見時に体重を測定した。

初回投与後0, 1および23.5時間、最終投与後0, 1および24時間に動物の一般状態を観察し、各用量の最終投与後24時間での生存率を求めた。

観察終了後、生存動物については炭酸ガスを用いて安楽死させた。

14.8. 小核試験(本試験)

14.8.1. 用量

用量設定試験の結果、最大耐量付近と考えられる500mg/kgを高用量に250および125mg/kgの3用量を小核試験の用量に設定した。また、雄雌の毒性発現に顕著な差が認められなかったため、小核試験は雄のみで実施した。

14.8.2. 試験群の構成

試験群	用量 (mg/kg)	動物数		動物番号
		投与数	評価数	
陰性対照	0	6	5	3001～3006
3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸	125	6	5	3101～3106
	250	6	5	3201～3206
	500	6	5	3301～3306
陽性対照*	0.5	6	5	3401～3406

* : MMC

14.8.3. 投与動物数

評価数 5 匹を確保するため、いずれの試験群とも 6 匹に投与した。死亡が 1 匹（動物番号：3201）認められた 250 mg/kg 投与群では、生存例 5 匹について標本作製し、評価に使用した。死亡ならびに評価に不適切な動物が認められなかったその他の群では、全てのマウスについて標本作製し、動物番号の小さい順に 5 匹について評価に使用した。

14.8.4. 投与方法および投与回数

媒体および被験物質の投与方法等については 14.7.3. に記載した方法に準じた。

陽性対照物質の場合、小核試験で通常用いられていることから腹腔内投与とし、マイクロシリンジと 25G 注射針を用いて 1 回投与した。

投与容量は体重 10 g 当たり 0.1 mL とし、群分け時の体重から投与液量 (mL) を求めた。

14.8.5. 体重測定および一般状態観察

動物搬入時、検疫期間終了時（群分け時）および標本作製直前に電子天秤（PG802-S あるいは PG2002）を用いて体重を測定した。

初回投与後 1, 22 時間および最終投与後 0, 1 時間ならびに標本作製時に動物の一般状態を観察した。陽性対照群については、投与後 0, 1 時間ならびに標本作製時に一般状態を観察した。

14.8.6. 骨髓塗抹標本の作製

最終投与後 24 時間（陽性対照群は投与後 24 時間）に動物を炭酸ガス吸入法で安楽死させた。大腿骨を摘出し少量の非働化（56℃, 30 分）済みウ

シ胎児血清 (Invitrogen Corp. ; Lot No. 1165723) を用いて骨髓細胞を洗い出し、遠心分離法により余剰血清を除いた後、各動物につき3枚の塗抹標本を作製した。十分に乾燥させた塗抹標本をメタノールで固定した。その後、各動物につき2枚の塗抹標本を3%ギムザ液 (Merck KGaA ; Lot No. OB279210) で30分間染色した。1/100 mol/L ナトリウム・リン酸緩衝液 (Merck KGaA ; pH 6.8; Lot No. TP601374) および精製水で洗浄し、乾燥させた。さらに0.01% クエン酸水溶液および精製水で洗浄した後、再び乾燥させた。

生存動物全例について骨髓塗抹標本を作製した。

14.8.7. 小核を有する多染性赤血球 (小核多染性赤血球) の観察

全ての標本をコード化した後、マスキング法で観察した。

動物1匹当たり2000個の多染性赤血球 (polychromatic erythrocyte : PCE) を顕微鏡下 (×1000) で観察した。小核多染性赤血球 (micronucleated polychromatic erythrocyte : MNPCE) 数を計測するとともに、骨髓に対する影響を調べるため観察赤血球500個中の多染性赤血球数についても計測した。

14.8.8. 観察赤血球中の多染性赤血球の割合の算出

観察全赤血球に対する多染性赤血球の割合は次式を用いて算出した。

$$\text{多染性赤血球の割合 (\%)} = \frac{\text{多染性赤血球数}}{\text{観察全赤血球数}} \times 100$$

14.8.9. 小核多染性赤血球出現頻度の算出

小核多染性赤血球の出現頻度は次式を用いて算出した。

$$\text{小核多染性赤血球出現頻度 (\%)} = \frac{\text{小核多染性赤血球数}}{\text{観察全多染性赤血球数}} \times 100$$

14.9. 結果の解析

各試験群の小核多染性赤血球の出現頻度は陰性対照群と他の群 (陽性対照群を含む) において、条件付き二項検定 (Kastenbaum and Bowman の推計学的方法 : 有意水準上側 0.025) を行った。

観察赤血球中の多染性赤血球の割合は、陰性対照群と他の群 (陽性対照群を含まない) において Dunnett の多重比較 (有意水準 : 両側 0.05) を行い、

陰性対照群と陽性対照群においては Aspin-Welch の t 検定 (有意水準: 両側 0.05) を実施した.

陰性対照群と比較し, 被験物質処理群あるいは陽性対照群において統計学的な有意差が認められた場合, 陽性と判定した.

15. 試験結果

15.1. 用量設定試験

試験結果を Table 1～2 および Appendix 1～4 に示した.

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸投与により, 雄の最高用量である 700 mg/kg で 2 回目投与後 1 時間以内に 1 例の死亡が認められた. 雌ではいずれの投与群においても死亡は認められなかった.

雄雌とも 490 および 700 mg/kg で 1 g 以上の体重減少がみられた. また, 1 回目の投与直後に雄雌の 700 mg/kg ならびに 2 回目の投与直後では 490 および 700 mg/kg で腹臥位が散見され, 投与後 1 時間でも雌雄各 1 例で同症状が観察された.

15.2. 小核試験

試験結果を Figure 1, Table 3 および Appendix 5 に示した.

個体別に多染性赤血球 2000 個を観察した結果, 陰性対照群では小核 (MNPCE) が 3～5 個認められ, その出現頻度は 0.18%であった. また, 観察全赤血球中における多染性赤血球の割合 (PCE 比) は 53.4%であった.

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸投与による MNPCE の出現頻度は, 125 mg/kg で 0.26%, 250 mg/kg で 0.28%および 500 mg/kg で 0.19%であり, 陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった. また, 被験物質の骨髓細胞に対する影響の指標である PCE 比は, 125, 250 および 500 mg/kg 群でそれぞれ 56.6, 55.1 および 58.4%であった. 各投与群において陰性対照群に比べて有意な減少は認められなかった.

一方, 陽性対照群の MNPCE 出現頻度は 0.97% (多染性赤血球 2000 個中 16～22 個) と明確に増加し, 陰性対照群に比べ統計学的に有意 ($p \leq 0.025$) な増加を示した. さらに, PCE 比は 46.0%であった.

15.2.1. 体重および一般状態

試験結果を Appendix 6 および 7 に示した.

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸投与により, 250 mg/kg で 2 回目の投与直後に投与 6 匹中 1 例の死亡が認められた. なお, 500 mg/kg においては 2 回目の投与直後に 1 例で自発運動減少が, 2 例で腹臥位の毒性兆候が認められた. 明確な体重の増加抑制作用は観察されなかった.

16. 考察および結論

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸の変異原性、すなわち小核赤血球誘発性の有無を検討するため、雄マウスを用いて *in vivo* 小核試験を実施した。

用量設定試験結果を基に、最大耐量付近と考えられる 500 mg/kg を高用量に 250 および 125 mg/kg の 3 用量を設定した。また、雄雌の毒性発現に顕著な差が認められなかったことから、小核試験は雄のみで実施した。

3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸投与群における MNPCE 出現頻度は各処理群とも陰性対照群と同等の値を示し、統計学的に有意な増加は認められなかった。また、観察全赤血球中の PCE 比についても統計学的に有意な減少はみられなかった。

本被験物質 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 (3-Hydroxy-2-naphthoic acid) の遺伝毒性ならびに発がん性に関する報告はなかった。

類縁体である 2-ナフトール (2-Naphthol) についてはヒトリンパ球ならびにマウス骨髄での染色体異常試験で陰性¹⁾と報告されている。

類縁体であるナフタレン (Naphthalene)、 α -ナフチルアミン (α -Naphthylamine) は CHL 細胞を用いた染色体異常試験で陽性²⁾、1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウム (1-Naphthol-4-sulfonic acid sodium salt) は細菌を用いる復帰突然変異試験および CHL 細胞を用いた染色体異常試験で陰性²⁾との報告があった。

また、陰性対照の MNPCE 出現頻度、観察全赤血球中の PCE 比は背景データの範囲内 (Appendix 8) であり、かつ陽性対照は十分な反応を示していたことから、本試験が適切な条件下でなされたと判断された。

以上の試験結果から、本試験条件下において 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸のマウスに対する小核の誘発性、すなわち染色体の構造異常ないし数値的異常誘発性は、ないものと判定した。

17. 参考文献

- 1) Kalski A, Strozynski H. and Smok W.: Assessment of genotoxic activity of azo dye thiadiazole derivatives with the help of a structural chromosome aberration test. Med Pr. 1994, 45(2): 107-113.
- 2) [REDACTED] 化学物質毒性試験報告書 Vol. 9, 375-381, 2002

18. 参考とした資料

- Hayashi M, Sofuni T, Ishidate M Jr. A pilot experiment for the micronucleus test -The multi-sampling at multi-dose levels method. Mutat Res 1984; 141: 165-9.
- Schmid W. The micronucleus test. Mutat Res 1975; 31: 9-15.
- Schmid W. In: Hollaender A editor. The micronucleus test for cytogenetic analysis. Chemical Mutagens. Vol. 4. New York; Plenum press; 1976. p. 31-53.
- Salamone M, Heddle J, Stuart E, Katz M. Towards an improved micronucleus test. Studies on 3 model agents, mitomycin C, cyclophosphamide and dimethylbenzanthracene. Mutat Res 1980; 74: 347-56.
- Kastenbaum MA, Bowman KO. Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies. Mutat Res 1970; 9: 527-49.
- Dunnett, CW. New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 1964; 20: 482-91.

19. 試験関係資料の保存

本試験の下記資料は安評センターにて最終報告書提出後10年間保存する。その後の保存については試験委託者と安評センターで協議の上別途定める。

- 試験計画書（正本）
- 被験物質，被験物質に関する資料（使用記録，調製記録，その他）
- 生データ（投与記録，体重測定記録，症状観察記録，小核標本作製記録，小核試験観察記録，その他）
- 骨髓塗抹標本
- 最終報告書（正本）
- その他の試験関係資料

20. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書に従わなかったこと

1. 【内容】

平成 16 年 5 月 26 日, 12 時 42 分, 温度集中監視システムに通信異常が発生したため, 12 時 50 分から 13 時 10 分の間は安評センター被験物質保管庫 (C-1) の温度を記録することができなかった。

【判定】

当該期間中も被験物質保管冷蔵庫は問題なく稼動していた。また, 保管期間中の最低ならびに最高温度は基準値内であったことから, 本逸脱は試験の信頼性に影響を及ぼすことはないと判断した。

2. 【内容】

試験計画書の p. 12/15 「12.8.6. 骨髓塗抹標本の作製」には「0.001%クエン酸水溶液で洗浄」と記載されているが, 実際には 0.01%水溶液を用いてしまった。

【判定】

陰性対照群の PCE 比は判定基準内であったことから, 標本は適切に染色されていると考えられた。したがって, 本事象は試験結果に影響を及ぼすことはないと判断した。

3. 【内容】

試験計画書の p. 12/15 「12.9. 結果の解析」には「観察赤血球中の多染性赤血球の割合については Dunnett の多重比較法を用いて有意差 (有意水準 0.05) を判定する。」と記載されているが, 実際には Aspin-Welch の t 検定 (有意水準両側 0.05) を用いて有意差を判定した。

【判定】

陽性対照群は陰性対照群との二群間比較を実施すべきであることから, 試験計画書記載の多重比較は不適當であったと判断した。したがって, 本逸脱は試験の信頼性に影響を及ぼすことはないと判断した。

4. 【内容】

試験計画書の変更書 (I) の p. 1/4 「(1) p. 7/15 12.1.5. 試験動物数」には, 雄 36 匹と記載されているが, 実際には雄 38 匹であった。

【判定】

単純な記載ミスと考えられること, 適切な動物数を小核試験に確保できたことから, 本逸脱は試験の信頼性に影響を及ぼすことはないと判断した。

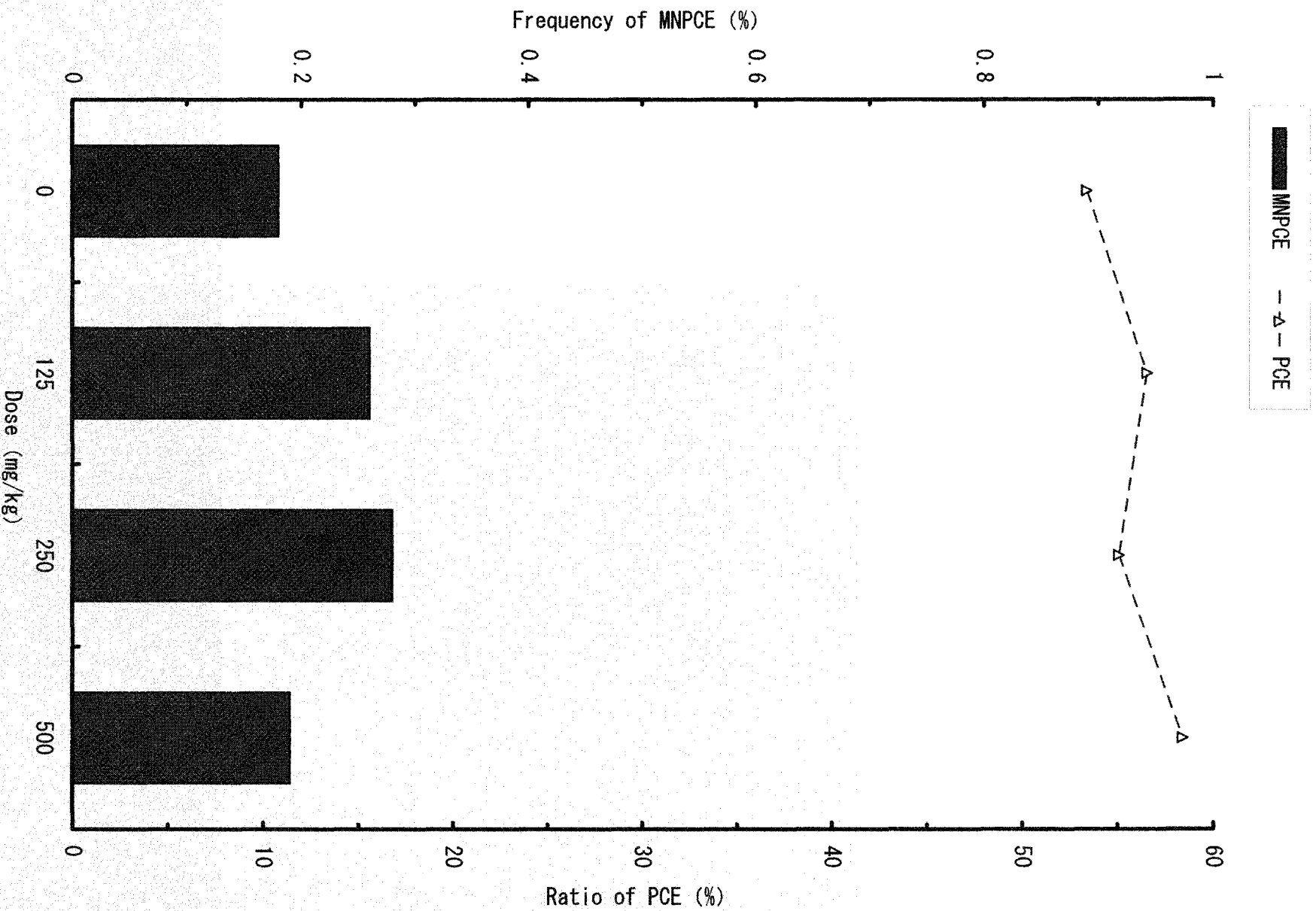


Figure 1. Dose-effect relationship for 3-Hydroxy-2-naphthoic acid obtained in the micronucleus assay [male mice receiving two doses]

Table 1. Mortality in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[male mice receiving two doses]

Exp. No. 7817 (115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Time after the administration						Mortality
			0 h	1 h	23.5 h	24 h*	25 h	48 h	
Test substance	240	1101	live	live	live	live	live	live	0 / 3
		1102	live	live	live	live	live	live	
		1103	live	live	live	live	live	live	
	343	1201	live	live	live	live	live	live	0 / 3
		1202	live	live	live	live	live	live	
		1203	live	live	live	live	live	live	
	490	1301	live	live	live	live	live	live	0 / 3
		1302	live	live	live	live	live	live	
		1303	live	live	live	live	live	live	
	700	1401	live	live	live	live	live	live	1 / 3
		1402	live	live	live	live	dead		
		1403	live	live	live	live	live	live	

* : just after the second dose

Table 2. Mortality in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[female mice receiving two doses]

Exp. No. 7817 (115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Time after the administration						Mortality
			0 h	1 h	23.5 h	24 h*	25 h	48 h	
Test substance	240	2101	live	live	live	live	live	live	0 / 3
		2102	live	live	live	live	live	live	
		2103	live	live	live	live	live	live	
	343	2201	live	live	live	live	live	live	0 / 3
		2202	live	live	live	live	live	live	
		2203	live	live	live	live	live	live	
	490	2301	live	live	live	live	live	live	0 / 3
		2302	live	live	live	live	live	live	
		2303	live	live	live	live	live	live	
	700	2401	live	live	live	live	live	live	0 / 3
		2402	live	live	live	live	live	live	
		2403	live	live	live	live	live	live	

* : just after the second dose

Table 3. Micronucleus assay with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[male mice receiving two doses]

Exp. No. 7817 (115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Number of animals	Frequency of MNPCE [%] (Mean $\pm$ S. D.)	Range of MNPCE/2000PCE (Min - Max)	Ratio of PCE [%] (Mean $\pm$ S. D.)
0.5 w/v% MC a)	0	5	0.18 $\pm$ 0.04	3 - 5	53.4 $\pm$ 7.1
Test substance	125	5	0.26 $\pm$ 0.11	3 - 8	56.6 $\pm$ 10.4
	250	5	0.28 $\pm$ 0.10	4 - 9	55.1 $\pm$ 9.4
	500	5	0.19 $\pm$ 0.11	1 - 6	58.4 $\pm$ 9.9
MMC b)	0.5	5	0.97 $\pm$ 0.12 *	16 - 22	46.0 $\pm$ 7.7

Significant difference from control : Kastenbaum and Bowman *p $\leq$ 0.025

a): Negative control (0.5 w/v% Methylcellulose solution)

b): Positive control (Mitomycin C)

Appendix 1. Body weight in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[male mice receiving two doses]

Exp. No. 7817 (115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Body weight of each period (g)				Gain a) (g)
			Received	Allocated	Dead	Sacrificed	
Test substance	240	1101	22.9	26.2		26.5	0.3
		1102	23.1	25.9		25.7	-0.2
		1103	24.4	27.4		27.9	0.5
		Mean $\pm$ S. D.	23.5 $\pm$ 0.8	26.5 $\pm$ 0.8		26.7 $\pm$ 1.1	0.2 $\pm$ 0.4
	343	1201	21.8	26.1		24.8	-1.3
		1202	23.0	25.7		24.7	-1.0
		1203	23.4	26.7		26.7	0.0
		Mean $\pm$ S. D.	22.7 $\pm$ 0.8	26.2 $\pm$ 0.5		25.4 $\pm$ 1.1	-0.8 $\pm$ 0.7
	490	1301	23.8	27.2		26.5	-0.7
		1302	22.7	26.0		24.7	-1.3
		1303	22.1	25.8		24.5	-1.3
		Mean $\pm$ S. D.	22.9 $\pm$ 0.9	26.3 $\pm$ 0.8		25.2 $\pm$ 1.1	-1.1 $\pm$ 0.3
	700	1401	23.7	26.7		25.3	-1.4
		1402	21.6	25.5	24.1		
		1403	23.1	26.5		25.3	-1.2
		Mean $\pm$ S. D.	22.8 $\pm$ 1.1	26.2 $\pm$ 0.6		25.3 $\pm$ 0.0	-1.3 $\pm$ 0.1

a) : Gain=sacrificed-allocated

Appendix 2. Body weight in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[female mice receiving two doses]

Exp. No. 7817 (115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Body weight of each period (g)				Gain a) (g)
			Received	Allocated	Sacrificed		
Test substance	240	2101	17.6	19.9	19.5		-0.4
		2102	19.3	21.6	21.4		-0.2
		2103	18.7	20.1	19.9		-0.2
		Mean ± S.D.	18.5 ± 0.9	20.5 ± 0.9	20.3 ± 1.0		-0.3 ± 0.1
	343	2201	18.4	19.6	18.5		-1.1
		2202	20.6	21.9	22.0		0.1
		2203	18.1	19.9	20.7		0.8
		Mean ± S.D.	19.0 ± 1.4	20.5 ± 1.3	20.4 ± 1.8		-0.1 ± 1.0
	490	2301	18.3	20.4	12.2		-8.2
		2302	19.6	21.3	19.8		-1.5
		2303	18.5	19.4	19.7		0.3
		Mean ± S.D.	18.8 ± 0.7	20.4 ± 1.0	17.2 ± 4.4		-3.1 ± 4.5
	700	2401	18.3	21.1	19.4		-1.7
		2402	20.8	22.0	20.7		-1.3
		2403	18.8	19.4	18.6		-0.8
		Mean ± S.D.	19.3 ± 1.3	20.8 ± 1.3	19.6 ± 1.1		-1.3 ± 0.5

a) : Gain=sacrificed-allocated

Appendix 3. Clinical observations in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[male mice receiving two doses]

Exp. No. 7817(115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Time after the 1st administration					
			0 h	1 h	23.5 h	24 h*	25 h	48 h
Test substance	240	1101	normal	normal	normal	normal	normal	normal
		1102	normal	normal	normal	normal	normal	normal
		1103	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	343	1201	normal	normal	normal	normal	normal	normal
		1202	normal	normal	normal	normal	normal	normal
		1203	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	490	1301	normal	normal	normal	P	normal	normal
		1302	normal	normal	normal	P	normal	normal
		1303	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	700	1401	P	normal	normal	P	P	normal
		1402	P	normal	normal	P	dead	
		1403	P	normal	normal	P	normal	normal

P : Prone position

* : just after the second dose

Appendix 4. Clinical observations in the dose-finding study with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[female mice receiving two doses]

Exp. No. 7817(115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Time after the 1st administration					
			0 h	1 h	23.5 h	24 h*	25 h	48 h
Test substance	240	2101	normal	normal	normal	normal	normal	normal
		2102	normal	normal	normal	normal	normal	normal
		2103	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	343	2201	normal	normal	normal	normal	normal	normal
		2202	normal	normal	normal	normal	normal	normal
		2203	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	490	2301	normal	normal	normal	P	normal	normal
		2302	normal	normal	normal	P	normal	normal
		2303	normal	normal	normal	P	normal	normal
	700	2401	P	P, DLA	normal	P	normal	normal
		2402	normal	normal	normal	P	normal	normal
		2403	P	normal	normal	P	normal	normal

P : Prone position

DLA : Decrease in locomotor activity

* : just after the second dose

Appendix 5. Frequency of MNPCE in mice treated with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[male mice receiving two doses]

Exp. No. 7817 (115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Animal ID-No.	Animal ID-No.	Animal ID-No.	Animal ID-No.
0.5 w/v% MC a)	0	3001	3002	3003	3004	3005
	MNPCE (%) [PCE%]	0.15 [56.8]	0.15 [47.0]	0.20 [45.8]	0.15 [62.8]	0.25 [54.6]
Test substance	125	3101	3102	3103	3104	3105
	MNPCE (%) [PCE%]	0.35 [59.6]	0.20 [72.2]	0.20 [55.2]	0.40 [51.4]	0.15 [44.4]
	250	3202	3203	3204	3205	3206
	MNPCE (%) [PCE%]	0.45 [65.8]	0.20 [43.2]	0.25 [62.2]	0.20 [55.8]	0.30 [48.4]
	500	3301	3302	3303	3304	3305
	MNPCE (%) [PCE%]	0.30 [47.4]	0.05 [64.6]	0.25 [49.8]	0.25 [71.0]	0.10 [59.2]
MMC b)	0.5	3401	3402	3403	3404	3405
	MNPCE (%) [PCE%]	1.00 [58.2]	0.90 [43.6]	1.05 [38.2]	0.80 [48.2]	1.10 [41.8]

a): Negative control (0.5 w/v% Methylcellulose solution)

b): Positive control (Mitomycin C)

Appendix 6. Body weight in the micronucleus assay with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[male mice receiving two doses]

Exp. No. 7817 (115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Body weight of each period (g)				Gain b) (g)
			Received	Allocated	Dead	Sacrificed	
0.5 w/v% MC a)	0	3001	23.8	26.6		26.1	-0.5
		3002	23.3	26.1		25.5	-0.6
		3003	22.2	26.2		24.5	-1.7
		3004	24.5	27.7		27.0	-0.7
		3005	23.5	28.4		26.2	-2.2
		3006	23.4	25.4		24.6	-0.8
		Mean $\pm$ S.D.	23.5 $\pm$ 0.8	26.7 $\pm$ 1.1		25.7 $\pm$ 1.0	-1.1 $\pm$ 0.7
Test substance	125	3101	25.5	28.5		27.3	-1.2
		3102	23.5	25.9		25.1	-0.8
		3103	23.7	26.5		26.1	-0.4
		3104	23.5	26.1		25.8	-0.3
		3105	22.3	25.2		25.0	-0.2
		3106	23.5	27.8		26.8	-1.0
		Mean $\pm$ S.D.	23.7 $\pm$ 1.0	26.7 $\pm$ 1.2		26.0 $\pm$ 0.9	-0.7 $\pm$ 0.4
	250	3201	23.3	26.0	25.2		
		3202	23.2	27.8		26.1	-1.7
		3203	25.2	26.5		27.0	0.5
		3204	22.4	25.3		25.1	-0.2
		3205	24.0	27.4		27.5	0.1
		3206	23.0	25.9		25.4	-0.5
		Mean $\pm$ S.D.	23.5 $\pm$ 1.0	26.5 $\pm$ 1.0		26.2 $\pm$ 1.0	-0.4 $\pm$ 0.8

a): Negative control (0.5 w/v% Methylcellulose solution)

b): Gain=Sacrificed-Allocated

Appendix 6. -continued

Exp. No. 7817 (115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Body weight of each period (g)				Gain b) (g)
			Received	Allocated	Dead	Sacrificed	
Test substance	500	3301	22.9	25.4		24.5	-0.9
		3302	22.3	25.5		24.1	-1.4
		3303	24.6	27.1		26.8	-0.3
		3304	23.6	27.0		25.2	-1.8
		3305	25.1	28.2		26.9	-1.3
		3306	23.9	26.0		26.2	0.2
		Mean $\pm$ S.D.	23.7 $\pm$ 1.0	26.5 $\pm$ 1.1		25.6 $\pm$ 1.2	-0.9 $\pm$ 0.7
MMC c)	0.5	3401	23.0	24.9		24.5	-0.4
		3402	23.2	25.6		25.6	0.0
		3403	26.2	27.3		26.9	-0.4
		3404	23.8	27.1		25.6	-1.5
		3405	24.7	28.3		27.5	-0.8
		3406	23.7	25.7		25.2	-0.5
		Mean $\pm$ S.D.	24.1 $\pm$ 1.2	26.5 $\pm$ 1.3		25.9 $\pm$ 1.1	-0.6 $\pm$ 0.5

b): Gain=Sacrificed-Allocated

c): Positive control (Mitomycin C)

Appendix 7. Clinical observations in the micronucleus assay with 3-Hydroxy-2-naphthoic acid
[male mice receiving two doses]

Exp. No. 7817(115-182)

Compound	Dose (mg/kg)	Animal ID-No.	Time after the 1st administration *					
			0 h	1 h	22 h	24 h**	25 h	48 h
0.5 w/v% MC a)	0	3001		normal	normal	normal	normal	normal
		3002		normal	normal	normal	normal	normal
		3003		normal	normal	normal	normal	normal
		3004		normal	normal	normal	normal	normal
		3005		normal	normal	normal	normal	normal
		3006		normal	normal	normal	normal	normal
Test substance	125	3101		normal	normal	normal	normal	normal
		3102		normal	normal	normal	normal	normal
		3103		normal	normal	normal	normal	normal
		3104		normal	normal	normal	normal	normal
		3105		normal	normal	normal	normal	normal
		3106		normal	normal	normal	normal	normal
	250	3201		normal	normal	dead		
		3202		normal	normal	normal	normal	normal
		3203		normal	normal	normal	normal	normal
		3204		normal	normal	normal	normal	normal
		3205		normal	normal	normal	normal	normal
		3206		normal	normal	normal	normal	normal
	500	3301		normal	normal	normal	normal	normal
		3302		normal	normal	normal	normal	normal
		3303		normal	normal	normal	normal	normal
		3304		normal	normal	P	normal	normal
		3305		normal	normal	DLA, P	normal	normal
		3306		normal	normal	normal	normal	normal
MMC b)	0.5	3401	normal	normal		normal		
		3402	normal	normal		normal		
		3403	normal	normal		normal		
		3404	normal	normal		normal		
		3405	normal	normal		normal		
		3406	normal	normal		normal		

DLA : Decrease in locomotor activity

P : Prone position

* : In the positive control group, time after the administration

** : just after the second dose

a) : Negative control (0.5 w/v% Methylcellulose solution)

b) : Positive control (Mitomycin C)

Appendix 8. Historical control data (micronucleus assay on BDF₁ mice)

Historical control values of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE)					
Group	Dose (mg/kg)	n	Frequency of MNPCE [%] (Mean $\pm$ S.D.)	Acceptable range	
				Lower	Upper
Negative control	0	100	0.235 $\pm$ 0.101	0.00	0.54

Historical control values of ratio of polychromatic erythrocytes (PCE) to total erythrocytes					
Group	Dose (mg/kg)	n	Ratio of PCE [%] (Mean $\pm$ S.D.)	Acceptable range	
				Lower	Upper
Negative control	0	100	55.28 $\pm$ 7.05	34.1	76.4

Negative control: Including Saline, 0.5% CMC, 0.5% MC, *etc.*

The above are pooled data from June 20, 2001 to November 20, 2003.

The acceptable range was calculated by the control limit from Mean $\pm$ 3 $\times$ S.D.

Reference data 1 Analysis of contaminants in ALPHA-dri™

Exp No. 7817 (115-182)

輸入日 04:4:12



A Nestle Purina PetCare Company
Checkerboard Square • St. Louis, MO 63164

ANALYSIS REPORT

To: BARBARA SCHELL
SHEPHERD SPECIALTY PAPERS
PO BOX 64
WATERTOWN, TN 37184

CC:

Page 1 of 2

Sample No.: L0412694-1 Receipt Date: 02/19/2004
Report Date: 02/28/2004

ALPHA DRI CERTIFICATION NUMBER 02104

Test Code	Assay / Analyte	Result	Units	Low Lmt	Hi Lmt
ASF	Arsenic	Arsenic	< 0.200	ppm	
BI	Bismuth	Bismuth	< 2.50	ppm	
CDF	Cadmium	Cadmium	< 0.0500	ppm	
PB	Lead	Lead	< 0.0500	ppm	
MGF	Magnesium	Magnesium	78.91	ppm	
HGSP	Mercury	Mercury	< 0.025	ppm	
ZNF	Zinc	Zinc	< 1.00	ppm	
ORGP	Organophosphate pesticides	Diazinon	< 0.0200	ppm	
		Disulfoton	< 0.0200	ppm	
		Ethion	< 0.0200	ppm	
		Malathion	< 0.0200	ppm	
		Methyl Parathion	< 0.0200	ppm	
		Parathion	< 0.0200	ppm	
		Thimet	< 0.0200	ppm	

Person responsible for report content: Lynn Loudermilk, Director.

The test code located next to each assay is a method reference code. Results are for samples submitted only. This report shall not be reproduced, except in its entirety, without the written permission of NP Analytical Laboratories.

For additional information, contact Customer Services at 800-423-6832 or 314-982-1310.

The information contained in this document is being transmitted in confidence. If you have received this document in error, please notify NPAL and destroy the document. CH2004022819100041

The symbol "<" or the words "less than" signifies that no analyte was measured at or above the stated lower limit of quantitation of the procedure under the conditions employed. The use of the symbol "<" or the words "less than" does not imply that traces of the analyte were present. The symbol ">" or the term "greater than" signifies that the analyte was determined to be present in amount greater than the stated level. Samples submitted to NP Analytical Laboratories for testing are retained for a minimum of thirty (30) days after the analysis report is issued when sample stability permits. Requests for extended storage must be made to NP Analytical Laboratories prior to or at the time of sample submission.



A Nestle Purina PetCare Company
Checkerboard Square • St. Louis, MO 63164

Sample No.: L0412694-1

Received: 02/19/2004

Page 2 of 2

Reported: 02/28/2004

ALPHA DRI CERTIFICATION NUMBER 02104

Test Code	Assay / Analyte	Result	Units	Low Lmt	Hi Lmt
DRGP	Organophosphate pesticides	Thiodan	< 0.0200		
		Triflotion	< 0.0200		
RSPB	Organochlorine pest.&PCB's	Heptachlor Epoxide	< 0.0200		
		Heptachlor	< 0.0200		
		DDE	< 0.0200		
		Lindane	< 0.0200		
		Endrin	< 0.0200		
		Mirex	< 0.0200		
		Alpha-BHC	< 0.0200		
		Delta-BHC	< 0.0200		
		Aldrin	< 0.0200		
		Dieldrin	< 0.0200		
		DDT	< 0.0200		
		Chlordane	< 0.0200		
		Methoxychlor	< 0.0200		
		Beta-BHC	< 0.0200		
		HCB	< 0.0200		
		PCB	< 0.150		
AFTC	Aflatoxin screen	Aflatoxins	< 5.00		
			ppb		

Person responsible for report content: Lynn Loudermilk, Director.

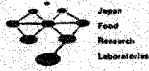
The test code located next to each assay is a method reference code. Results are for samples submitted only. This report shall not be reproduced, except in its entirety, without the written permission of NP Analytical Laboratories.

For additional information, contact Customer Services at 800-423-6832 or 314-982-1310.

The information contained in this document is being transmitted in confidence. If you have received this document in error, please notify NPAL and destroy the document. CH2004022815100042

The symbol "<" or the words "less than" signifies that no analyte was measured at or above the stated lower limit of quantitation of the procedure under the conditions employed. The use of the symbol ">" or the words "greater than" does not imply that traces of the analyte were present. The symbol ">" or the term "greater than" signifies that the analyte was determined to be present in a amount greater than the stated level. Samples submitted to NP Analytical Laboratories for testing are retained for a minimum of thirty (30) days after the analysis report is issued when sample stability permits. Requests for extended storage must be made to NP Analytical Laboratories prior to or at the time of sample submission.

Reference data 2 Analysis of contaminants in diet



分析試験成績書

第104032325-001号
2004年(平成16年)03月26日

依頼者 オリエンタル酵母工業株式会社

検体名 MF・MF粉末 Lot 040310

財団法人

日本食品

東京本部 〒150 元代々木町52番1号
大阪支所 〒566 豊津町3番1号
名古屋支所 〒466 大須4丁目5番13号
九州支所 〒812 下呉服町1番12号
多摩研究所 〒206 永山6丁目11番10号
千葉研究所 〒066 文京2丁目3番

2004年(平成16年)03月15日当センターに提出された上記検体について分析試験した結果は次のとおりです。

分析試験結果

分析試験項目	結 果	検 出 限 界	注	方 法
総水銀	0.03 ppm			還元酸化原子吸光光度法
カドミウム	0.05 ppm			原子吸光光度法
鉛	0.23 ppm			原子吸光光度法
ヒ素(Asとして)	0.2 ppm			原子吸光光度法
セレン	0.47 ppm			蛍光光度法
γ-BHC	検出せず	0.005 ppm		ガスクロマトグラフ法
DDT	検出せず	0.05 ppm		ガスクロマトグラフ法
アルドリン	検出せず	0.01 ppm		ガスクロマトグラフ法
デヒルドリン	検出せず	0.01 ppm		ガスクロマトグラフ法
エンドリン	検出せず	0.01 ppm		ガスクロマトグラフ法
ヘプタクロル	検出せず	0.01 ppm		ガスクロマトグラフ法
マラチオン(マラソン)	検出せず	0.05 ppm		ガスクロマトグラフ法
ハチロチン	検出せず	0.05 ppm		ガスクロマトグラフ法
アフラトキシンB ₁	検出せず	5 ppb		高速液体クロマトグラフ法
アフラトキシンB ₂	検出せず	5 ppb		高速液体クロマトグラフ法
アフラトキシンG ₁	検出せず	5 ppb		高速液体クロマトグラフ法
アフラトキシンG ₂	検出せず	5 ppb		高速液体クロマトグラフ法
PCB	検出せず	0.01 ppm		ガスクロマトグラフ法
エストロゲン	検出せず	0.01 ppm		高速液体クロマトグラフ法
ニトロソメチルアミン	検出せず	0.01 ppm		ガスクロマトグラフ法-TEA法
ニトロソエチルアミン	検出せず	0.01 ppm		ガスクロマトグラフ法-TEA法

以 上

本成績書を他に掲載するときは当センターの承認を受けて下さい。

財団法人 日本食品分析センター

Reference data 3 Analysis of contaminants in tap water



検査証明書

第041706-5号
平成16年 5月28日

財団法人
食品農医薬品安全性評価センター 様

事業者名 株式会社 [redacted] サーチ
124-0053 静岡県 [redacted] 00番地
8-5274
FAX 0543-47-7446

試料の受付

受付年月日	平成16年 4月28日	試料名	給水
試料採取日	平成16年 4月28日/ホルムアルデヒド5月19日	採取場所	遺伝毒性試験棟末端部 動物飼育室
天候	晴れ	気温	24.2℃
		水温	17.8℃
採取者	[redacted]		

ご依頼を受けました上記試料について検査した結果は下記の通りです。

検査の対象	検査結果	検査の対象	検査結果
一般細菌 個/ml	0	トリクロ酢酸 mg/L	0.009
大腸菌	陰性	プロモシクロメタン mg/L	0.0094
カドミウム mg/L	0.001未満	プロモホルム mg/L	0.0136
水銀 mg/L	0.0005未満	ホルムアルデヒド mg/L	0.012
セレン mg/L	0.001未満	亜鉛 mg/L	0.01未満
鉛 mg/L	0.001未満	アルミニウム mg/L	0.06
ヒ素 mg/L	0.001未満	鉄 mg/L	0.02
六価クロム mg/L	0.005未満	銅 mg/L	0.01未満
シアン mg/L	0.001未満	ナトリウム mg/L	10
硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素 mg/L	0.8	マンガン mg/L	0.005未満
フッ素 mg/L	0.08未満	塩素イオン mg/L	10
四塩化炭素 mg/L	0.0002未満	カルシウム・マグネシウム等(硬度) mg/L	41
1,4-ジオキサン mg/L	0.005未満	蒸発残留物 mg/L	90
1,1-ジクロロエチレン mg/L	0.002未満	陰イオン界面活性剤 mg/L	0.02未満
ジクロロメタン mg/L	0.002未満	非イオン界面活性剤 mg/L	0.005未満
シス-1,2-ジクロロエチレン mg/L	0.004未満	フェノール類 mg/L	0.005未満
テトラクロロエチレン mg/L	0.001未満	有機炭素(TOC) mg/L	0.5未満
トリクロロエチレン mg/L	0.003未満	pH値(15℃)	7.6
ベンゼン mg/L	0.001未満	味	異常なし
クロロ酢酸 mg/L	0.002未満	臭気	異常なし
クロホルム mg/L	0.0186	色度	1度未満
ジクロロ酢酸 mg/L	0.005	濁度	1度未満
ジプロモクロロメタン mg/L	0.0067	残留塩素 mg/L	0.3
臭素酸 mg/L	0.001	考察	
総トリハロメタン mg/L	0.0483	上記水質項目については水質基準に適合	

測定方法	平成15年度厚生労働省告示第261号 但し、塩素イオンは JIS K 0101 32.1	*ホルムアルデヒド 天気:雨 気温:24.0℃ 水温:22.6℃
検査責任者	環境計量士 登録 第5125号 [redacted]	