

事 務 連 絡

平成 2 4 年 7 月 4 日

内閣府

食品安全委員会事務局評価課 御中

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課

食品健康影響評価に係る資料の提出等について

平成 2 4 年 5 月 1 8 日付け厚生労働発食安 0 5 1 8 第 1 号により食品安全委員会に意見を求めている過酸化水素の食品添加物としての規格基準の設定に関し、別紙 1 のとおり「過酸化水素のマウスを用いた小核試験」に関する報告書を提出します。なお、当該報告書について別紙 2 のとおり、マスキング処理を行った箇所を除き、公開で取り扱いいただいて差し支えありません。公開の場での取扱い及び開示について特段の御配慮をお願いします。



M-1396



最終報告書

試験名：過酸化水素のマウスを用いた小核試験

試験番号：M-1396

試験期間：2010年6月8日-2010年9月9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

国立医薬品食品衛生研究所
〒158-8501 東京都世田谷区用賀 1-18-1

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

本資料は原本から複写したものに相違ありません。

株式会社 ボゾリサーチセンター

試験責任者： XXXXXXXXXX

日付： 2010 年 12 月 29 日

M-1396

1. GLP 陳述書

試験番号 : M-1396

試験表題 : 過酸化水素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)

2010 年 9 月 9 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	試験従事者.....	7
3.10	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
3.11	資料保存	7
3.12	試験責任者の記名・なつ印	8
4.	要約	9
5.	緒言	10
6.	試験材料及び方法.....	11
6.1	被験物質、媒体及び陽性対照物質.....	11
6.1.1	被験物質	11
6.1.2	媒体.....	11
6.1.3	陽性対照物質.....	12
6.2	媒体、投与液及び陽性対照物質の調製	12
6.2.1	媒体の調製	12
6.2.1.1	調製方法	12
6.2.1.2	保存方法	12
6.2.2	投与液の調製.....	12
6.2.2.1	調製方法	12
6.2.2.2	保存方法	12
6.2.2.3	安定性.....	12
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	14
6.3	試験動物種及び系統の選択理由.....	14
6.4	試験動物	15
6.5	飼育条件	15
6.6	飼料、飲料水及び床敷中の混入物質	15

6.7	動物の識別及びケージへの表示.....	15
6.8	群分け.....	16
6.9	投与経路、投与方法及びそれらの選択理由.....	16
6.10	投与量及びその設定根拠並びに群構成.....	16
6.10.1	予備試験.....	16
6.10.2	本試験.....	17
6.11	観察及び検査の方法.....	17
6.11.1	一般状態の観察.....	17
6.11.2	体重測定.....	17
6.11.3	骨髓塗抹標本の作製.....	17
6.11.4	骨髓塗抹標本の観察.....	18
6.11.5	観察結果の判定.....	18
7.	試験結果.....	19
7.1	予備試験.....	19
7.1.1	一般状態.....	19
7.1.2	体重.....	19
7.2	本試験.....	19
7.2.1	一般状態.....	19
7.2.2	体重.....	19
7.2.3	骨髓塗抹標本の観察結果.....	19
8.	考察.....	21
9.	参考文献.....	22

M-1396

添付資料

添付資料 1

試験成績書（被験液中過酸化水素の安定性）

添付資料 2

試験成績書（被験液中過酸化水素の濃度）

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-1396

3. 試験実施概要

3.1 試験計画書

試験番号 : M-1396
試験表題 : 過酸化水素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、過酸化水素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

国立医薬品食品衛生研究所
〒158-8501 東京都世田谷区用賀 1-18-1

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
運営管理者 : XXXXXXXXXX (2010年8月25日まで)
(2010年8月26日以降)

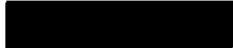
3.6 試験日程

試験開始日 : 2010年 6月 8日
被験物質受領日 : 2010年 2月 1日
試験責任者への被験物質配布日 : 2010年 6月 9日
予備試験
動物入荷日 : 2010年 6月 14日
実験開始日 (予備試験1回目の投与日)
: 2010年 6月 21日 (1回目投与日)
2010年 6月 22日 (2回目投与日)
本試験
動物入荷日 : 2010年 7月 7日
投与日 : 2010年 7月 14日 (1回目投与日)
2010年 7月 15日 (2回目投与日)

骨髄採取日 : 2010年 7月 16日
実験終了日 (本試験の標本観察終了日)
: 2010年 7月 20日
試験終了日 : 2010年 9月 9日

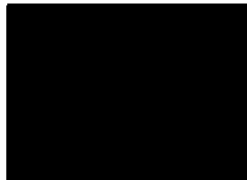
3.7 試験責任者

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所 研究部



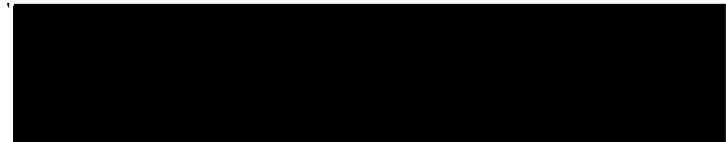
3.8 試験担当者

被験物質保存責任者 :
試験主担当者 :
化学分析責任者 :
統計解析責任者 :



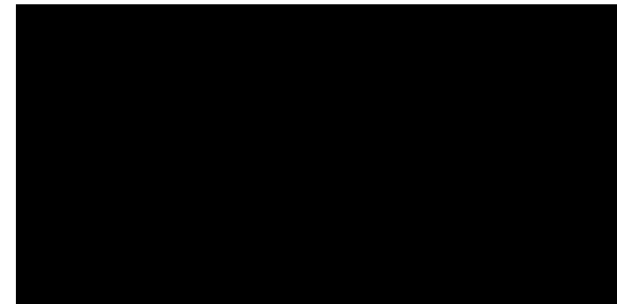
3.9 試験従事者

検疫・馴化 :



群分け :
投与液及び陽性対照物質の調製

:
濃度測定 :
投与 :
一般状態の観察 :
体重測定 :
標本作製及び観察 :
統計解析 :



3.10 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

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はなかった。

3.11 資料保存

試験計画書原本 (試験計画書変更書を含む)、記録文書、生データ及び報告書類 (最終報告書は原本) は株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所の資料保存施設に保存する。保存期間は最終報告書提出後 10 年間とする。期間終了後の保存については、国立医薬品食品衛生研究所に連絡し国立医薬品食品衛生研究所と株式会社ボゾリサーチセンター間で協議し、その処置を決定する。

M-1396

3.12 試験責任者の記名・なつ印

■■■■■■■■■■

2010 年 9 月 9 日

■■■■■■■■■■

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

4. 要約

過酸化水素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。

過酸化水素の 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、陰性対照として注射用水、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 $\text{Mean} \pm 3\text{S.D.}$ 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、過酸化水素は本試験条件下で CrIj: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

国立医薬品食品衛生研究所からの委託により、過酸化水素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)

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)
- ・ 「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針について」
(衛化第 29 号：平成 8 年 3 月 22 日付厚生省生活衛生局長通知)

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

被験物質過酸化水素は[REDACTED]より提供された。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。なお、以下の情報は供給者において、非 GLP 下の試験によって得られたものである。

名称	: 過酸化水素
英名	: Hydrogen Peroxide
CAS 番号	: 7722-84-1
入手量	: 100g
ロット番号	: 300102
構造式	: H-O-O-H
分子式	: H_2O_2
分子量	: 34.01
濃度	: 35.5w/w% (規格値: 35.0~36.0w/w%)
蒸発残分	: 0.007% (規格値: 0.02%以下)
遊離酸 (H_2SO_4 として)	: 0.002% (規格値: 0.01%以下)
安定度	: 99.2% (規格値: 98.0%以上)
リン酸塩 (PO_4)	: 0.005%以下 (規格値: 0.005%以下)
重金属 (Pb として)	: 0.00001%以下 (規格値: 0.00001%以下)
ひ素 (As_2O_3 として)	: 0.000001%以下 (規格値: 0.000001%以下)
保存方法	: 冷所 (冷蔵庫内、許容値: 1~10°C、実測値: 3~8°C)、遮光
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

動物試験終了後の残量は全て供給者に返却した。

6.1.2 媒体

名称	: 注射用水
規格	: 日本薬局方
メーカー	: 株式会社大塚製薬工場
ロット番号	: 9J93
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 : 本被験物質は水に可溶であることから注射用水を選択した。

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 : 538AHI
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

注射用水をそのまま用いた。

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℃、実測値：3~5℃）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、注射用水を加えて溶解し、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℃、実測値：3~5℃（予備試験、本試験とも）〕に保存し、調製後 7 日以内に使用した。

6.2.2.3 安定性

1mg/mL 及び 200mg/mL 濃度液について、冷所（冷蔵庫内）7 日間＋室温 24 時間、安定であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（試験番号：A-2248、添付資料 1）。

6.2.2.4 被験液の濃度確認

本試験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97.2~104.4%で表示値を100として $\pm 10\%$ 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) 被験液希釈液の調製

25、50及び100mg/mL被験液からそれぞれ $n=1$ で採取し、以下の表に従い、被験液希釈液を用時調製した。

濃度 (mg/mL)	1次希釈		2次希釈		3次希釈		希釈率
	採取量 (mL)	定容量 (mL)	採取量 (mL)	定容量 (mL)	採取量 (mL)	定容量 (mL)	
25	1	100	2	25	1	10	12500
50	1	100	1	25	1	10	25000
100	1	100	1	50	1	10	50000

溶媒：注射用水

2) 測定実測試料の調製

対照試料溶液（注射用水）、LStd-1、-2、-3及び被験液希釈液を以下の手順で前処理し、測定実測試料を調製した。

各試料を0.1mL採取した。

対照試料溶液： $n=1$

システム適合性用としてLStd-2： $n=1$

LStd-1、-2、-3：それぞれ $n=2$

被験液希釈液：それぞれ $n=1$

↓

反応試薬を1mL添加・混合した。

↓

室温に30分以上放置。

↓

測定実測試料

なお、調製した測定実測試料は以下のように称した。

- ・ 対照試料溶液から調製した試料：対照試料
- ・ システム適合性用として調製した試料：SS
- ・ LStd-1、-2、-3から調製した試料：LStdS-1、-2、-3（検量線濃度として、それぞれ1、2、3 $\mu\text{g/mL}$ ）
- ・ 被験液希釈液から調製した試料を：被験液測定試料

3) 測定条件

測定波長	:	560nm
リファレンス	:	対照試料
セル	:	1 cm プラスチックセル
ゼロ補正	:	測定実施前に、対照セル (R) 及びサンプルセル (S) に対照試料を入れ、ゼロ補正を実施した。
測定	:	対照セル (R) に対照試料を入れ、サンプルセル (S) に各測定実測試料を順次入れて吸光度 (ABS) を測定した。なお、測定実測試料は反応後 12 時間以内に測定した。

4) システム適合性

測定開始時に LStdS-2 を 3 回連続測定し、過酸化水素の吸光度の再現性を確認した結果 0.0%であった。

判定基準 : 吸光度の相対標準偏差 (RSD) が 5%以下。

5) 被験液中過酸化水素濃度の算出

定量計算は Excel を用いた。各 LStdS の吸光度を求め、検量線濃度 (X) と平均吸光度 (Y) との関係から最小二乗法 (重みなし) により、直線回帰式 ($Y=aX+b$) を作成した。これに被験液測定試料から得られた吸光度を当てはめ、希釈率を乗じて被験液中の過酸化水素濃度を求めた。

なお、検量線については、相関係数は 0.9999、直線回帰式からの逆計算値の相対誤差は -0.7~0.5%であった。

採用基準 : 相関係数が 0.99 以上、直線回帰式からの相対誤差が $\pm 10\%$ 以内。

$$\text{相対誤差 (\%)} = \frac{\text{逆計算値} - \text{調製濃度}}{\text{調製濃度}} \times 100$$

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 (関大塚製薬工場、ロット番号: 9J93)

注 2: 日本薬局方 (関大塚製薬工場、ロット番号: 0B91)

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 [Crj: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 31 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 32.7~35.6g、雌 24.8~28.3g、本試験が雄 30.9~35.6g であった。1 回目の投与日に試験から除外された動物数は、予備試験が雌雄各 4 匹、本試験が雄 6 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 30 匹であったが、実際には雄 31 匹が納入された。

6.5 飼育条件

動物は温度（許容範囲 23±3℃）が予備試験 23~24℃、本試験 23~24℃、相対湿度（許容範囲 50±20%）が予備試験 47~54%、本試験 47~54%、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、本試験ともに 101 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：100203（予備試験）、100302（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 2010 年 4 月に分析したデータを 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東芝機械環境センター株式会社に定期的（年 4 回）に依頼し、試験期間を保証するデータを入手し、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 798~829、本試験では 935~965 の番号が刻印された耳標を入荷時に装着した。 |
| 動物番号 | : | 群分け後は群ごとに 1 から始まる番号をつけた。
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。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）の体重により層別化し、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）により行った。群分け後の余剰動物は、1 回目の投与日に予備試験は炭酸ガスで、本試験はエーテル深麻酔下で安楽死させた。

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、陰性対照群には注射用水を同様に投与した。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炭酸ガスにより安楽死させた。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 雌	3 3	101~103 111~113
中用量	500	50	10	2	雄 雌	3 3	201~203 211~213
高用量	1000	100	10	2	雄 雌	3 3	301~303 311~313
最高用量	2000	200	10	2	雄 雌	3 3	401~403 411~413

6.10.2 本試験

予備試験において、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、2000mg/kg/日投与群の雌雄で腹部膨満がみられた。体重では、減少傾向を示す動物が散見された。

したがって、本試験における投与量は、予備試験における高用量である 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 群当たりの動物数は 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は見られなかったことから、雄動物のみで実施した。

なお、MMC の投与量は MNPCE 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）の観察を実施した。

6.11.2 体重測定

予備試験では、各投与日と 2 回目投与翌日に 1 日 1 回測定した（9:09~9:35）。

本試験では、陰性対照群及び被験物質投与群については、各投与日と 2 回目投与翌日の骨髄採取日（8:51~10:06）に 1 日 1 回測定した。また、陽性対照群については、投与前日、投与日及び投与翌日の骨髄採取日（8:51~10:08）に 1 日 1 回測定した。

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該当する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 ディスポーザブル注射筒と 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：494548）で骨髓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髓細胞と牛胎児血清を混和して細胞をほぐし、1000 rpm 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：KWP4454）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 骨髓塗抹標本の観察

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グラス1枚を選択した。骨髓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グラスにスライドグラスを載せた。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PCE数と2000個のPCEに対するMNPCE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の出現率が当研究所の背景データのMean $\pm$ 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

過酸化水素の 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部膨満がみられた。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、減少傾向を示す動物が散見された。

7.2 本試験

過酸化水素の 250、500 及び 1000mg/kg/日、陰性対照として注射用水、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。

陰性対照群、各被験物質投与群及び陽性対照群において、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。

各被験物質投与群で軽度の減少傾向を示す動物がみられたが、陰性対照群と比較して、各被験物質投与群及び陽性対照群の体重推移に異常はみられなかった。

7.2.3 骨髓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 $0.12 \pm 0.10\%$ 、500mg/kg/日投与群で $0.10 \pm 0.04\%$ 、1000mg/kg/日投与群で $0.12 \pm 0.04\%$ を示した。これらの値を陰性対照群の $0.13 \pm 0.07\%$ と比較した結果、いずれの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-1396.

背景データの $\text{Mean} \pm 3\text{S.D.}$ の範囲内であった。

8. 考察

過酸化水素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、2000mg/kg/日投与群の雌雄で腹部膨満がみられた。体重では、減少傾向を示す動物が散見された。

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 時間に骨髓の採取を行った。また、陰性対照として注射用水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。本試験において被験物質投与による骨髓細胞での暴露の証明は得られなかったが、最大耐量と思われる 1000mg/kg/日で試験されており毒性（染色体異常誘発能）を評価する上で問題はないと考えられた。

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 Mean $\pm$ 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。

なお、Ishidate⁹⁾らは細菌を用いた遺伝子突然変異試験で変異原性がないことを報告している。

以上の結果から、過酸化水素は本試験条件下で CrIj: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。

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) Ishidate MJr., *et al.*, (1981): Mutagenicity & Toxicity., 4, 10-19.

試験番号 : A-2248

試験成績書
(被験液中過酸化水素の安定性)

被験物質 : 過酸化水素 (ロット番号 ; 300102)
 形態 (媒体) : 溶液 (注射用水)
 評価基準
 安定性 : 残存率 [調製直後の被験液濃度の平均値 (100) に対する保存後の被験液濃度の平均値の割合] が $100 \pm 10\%$ 以内。

結果 :

調製濃度 (mg/mL)	測定濃度 (mg/mL)	
	調製直後	冷所 7 日間+ 室温 24 時間保存後
1.00	1.02	1.08
	0.983	1.12
	1.06	1.11
平均値	1.02	1.10
残存率 (%)	-	107.8
200	209	222
	197	226
	198	203
平均値	201	217
残存率 (%)	-	108.0

判定 : 被験液中 (ガラスビン内) の過酸化水素は、冷所で 7 日間保存したのち、室温で 24 時間保存した条件下で安定であった。

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)

2010 年 6 月 22 日

試験責任者
 株式会社ボゾリサーチセンター 生化学部

試験番号 : M-1396

試験成績書
(被験液中過酸化水素の濃度)ステージ : 本試験
分析日 : 2010 年 7 月 8 日

測定試料

被験物質 : 過酸化水素 (ロット番号 ; 300102)
形態 (媒体) : 溶液 (注射用水)
調製日 : 2010 年 7 月 8 日

判定基準

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	26.1	104.4
50	48.6	97.2
100	97.5	97.5

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

2010 年 7 月 13 日

Table 1

A micronucleus test of Hydrogen Peroxide 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	5	5	5	5	5
Middle	500	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	5	5	5	5	5
High	1000	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormalities	5	5	5	5	5	5	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 Hydrogen Peroxide in mice

Body weight

Group	Dose (mg/kg/day)		1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Negative control	0	N	5	5	5
		Mean	32.6	32.3	32.7
		S.D.	1.2	1.6	1.6
Low	250	N	5	5	5
		Mean	32.4	31.9	32.2
		S.D.	0.8	0.5	0.6
Middle	500	N	5	5	5
		Mean	32.3	32.6	32.9
		S.D.	1.0	1.3	1.4
High	1000	N	5	5	5
		Mean	32.8	32.7	32.4
		S.D.	1.6	1.9	2.0
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	N	5	5	5
		Mean	32.7	32.9	32.7
		S.D.	1.6	1.4	1.6

Unit : g

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

Table 3

A micronucleus test of Hydrogen Peroxide 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 $\pm$ S.D.	3 $\pm$ 1	0.13 $\pm$ 0.07	116 $\pm$ 8	57.8 $\pm$ 4.2
		Min. / Max.		0.05 / 0.20		51.5 / 62.5
Low	250	N	5	5	5	5
		Mean $\pm$ S.D.	2 $\pm$ 2	0.12 $\pm$ 0.10	118 $\pm$ 9	59.2 $\pm$ 4.4
		Min. / Max.		0.05 / 0.25		56.0 / 64.5
Middle	500	N	5	5	5	5
		Mean $\pm$ S.D.	2 $\pm$ 1	0.10 $\pm$ 0.04	120 $\pm$ 11	59.9 $\pm$ 5.7
		Min. / Max.		0.05 / 0.15		54.5 / 69.5
High	1000	N	5	5	5	5
		Mean $\pm$ S.D.	2 $\pm$ 1	0.12 $\pm$ 0.04	115 $\pm$ 9	57.7 $\pm$ 4.3
		Min. / Max.		0.05 / 0.15		52.5 / 64.0
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	N	5	5	5	5
		Mean $\pm$ S.D.	40 $\pm$ 10	2.02 $\pm$ 0.48	117 $\pm$ 5	58.4 $\pm$ 2.4
		Min. / Max.		1.25 / 2.40		55.5 / 60.5

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 in any treated groups from negative control group.

Appendix 1-1

A micronucleus test of Hydrogen Peroxide 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	3	3
	Middle	500	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	High	1000	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	Highest	2000	Number of animals	3	3	3	2	2	2	2
			No abnormalities	3	3	2	2	2	0	0
			Abdominal distention	0	0	0	0	0	2	2
			Dead	0	0	1	0	0	0	0

Appendix 1-2

A micronucleus test of Hydrogen Peroxide 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	3	3	3	3	3
	Middle	500	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	High	1000	Number of animals	3	3	3	3	3	3	3
			No abnormalities	3	3	3	3	3	3	3
	Highest	2000	Number of animals	3	3	3	3	3	3	2
			No abnormalities	3	3	3	3	3	0	0
			Abdominal distention	0	0	0	0	0	2	2
			Dead	0	0	0	0	0	1	0

Appendix 2-1

A micronucleus test of Hydrogen Peroxide in mice

Body weight (Preliminary study).

Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st	2nd	1 day after the
			administration	administration	2nd administration
Male	Low	250	101	34.5	35.1
			102	35.3	35.8
			103	33.1	33.2
			Mean	34.3	34.7
			S.D.	1.1	1.3
	Middle	500	201	32.7	32.7
			202	35.2	35.4
			203	35.3	35.4
			Mean	34.4	34.5
			S.D.	1.5	1.6
	High	1000	301	35.4	37.0
			302	34.3	34.4
			303	33.3	33.5
			Mean	34.3	35.0
			S.D.	1.1	1.8
	Highest	2000	401	33.8	32.4
			402	35.6 Dead	
			403	34.1	33.3
			Mean	34.5	32.9
			S.D.	1.0	

Unit : g

Appendix 2-2

A micronucleus test of Hydrogen Peroxide in mice

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	25.4	25.5	24.6
			112	27.0	25.9	25.8
			113	27.5	25.3	24.4
			Mean	26.6	25.6	24.9
			S.D.	1.1	0.3	0.8
	Middle	500	211	27.2	26.5	26.6
			212	24.8	25.5	24.7
			213	27.1	26.8	26.4
			Mean	26.4	26.3	25.9
			S.D.	1.4	0.7	1.0
	High	1000	311	26.9	26.5	25.2
			312	26.9	25.0	23.3
			313	28.3	27.0	26.9
			Mean	27.4	26.2	25.1
			S.D.	0.8	1.0	1.8
	Highest	2000	411	27.3	26.6	24.9
			412	25.4	23.1	22.1
			413	27.0	24.2 Dead	
			Mean	26.6	24.6	23.5
			S.D.	1.0	1.8	

Unit : g

Appendix 3

A micronucleus test of Hydrogen Peroxide 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	-	-	-	-	-	-	-
		2003	-	-	-	-	-	-	-
		2004	-	-	-	-	-	-	-
		2005	-	-	-	-	-	-	-
Middle	500	3001	-	-	-	-	-	-	-
		3002	-	-	-	-	-	-	-
		3003	-	-	-	-	-	-	-
		3004	-	-	-	-	-	-	-
		3005	-	-	-	-	-	-	-
High	1000	4001	-	-	-	-	-	-	-
		4002	-	-	-	-	-	-	-
		4003	-	-	-	-	-	-	-
		4004	-	-	-	-	-	-	-
		4005	-	-	-	-	-	-	-
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	5001	-	/	/	-	-	-	-
		5002	-	/	/	-	-	-	-
		5003	-	/	/	-	-	-	-
		5004	-	/	/	-	-	-	-
		5005	-	/	/	-	-	-	-

- : No abnormalities

/ : No observation

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

Appendix 4

A micronucleus test of Hydrogen Peroxide in mice

Body weight

Group	Dose (mg/kg/day)	Animal number	1st administration	2nd administration	1 day after the 2nd administration
Negative control	0	1001	32.5	32.4	32.2
		1002	34.8	34.8	35.3
		1003	31.7	30.5	31.4
		1004	32.0	32.5	33.0
		1005	32.2	31.2	31.5
		Mean	32.6	32.3	32.7
		S.D.	1.2	1.6	1.6
Low	250	2001	33.6	32.7	32.9
		2002	32.0	31.5	32.0
		2003	32.1	31.5	31.3
		2004	31.5	31.8	32.7
		2005	32.9	32.2	32.2
		Mean	32.4	31.9	32.2
		S.D.	0.8	0.5	0.6
Middle	500	3001	33.4	34.3	34.5
		3002	30.9	31.6	31.3
		3003	33.1	33.6	34.4
		3004	32.1	31.7	32.5
		3005	32.0	31.7	32.0
		Mean	32.3	32.6	32.9
		S.D.	1.0	1.3	1.4
High	1000	4001	31.7	32.1	31.7
		4002	32.4	32.4	32.2
		4003	35.6	36.0	35.9
		4004	31.7	31.2	31.0
		4005	32.5	31.9	31.4
		Mean	32.8	32.7	32.4
		S.D.	1.6	1.9	2.0
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	5001	35.5	35.2	35.4
		5002	32.2	32.3	32.3
		5003	31.7	32.9	32.5
		5004	31.8	31.5	31.1
		5005	32.5	32.7	32.2
		Mean	32.7	32.9	32.7
		S.D.	1.6	1.4	1.6

Unit : g

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

Appendix 5

A micronucleus test of Hydrogen Peroxide 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	4	3 $\pm$ 1	0.20	0.13 $\pm$ 0.07 (0.05 / 0.20)	120	116 $\pm$ 8	60.0	57.8 $\pm$ 4.2 (51.5 / 62.5)
		1002	1		0.05		103		51.5	
		1003	2		0.10		125		62.5	
		1004	2		0.10		118		59.0	
		1005	4		0.20		112		56.0	
Low	250	2001	1	2 $\pm$ 2	0.05	0.12 $\pm$ 0.10 (0.05 / 0.25)	112	118 $\pm$ 9	56.0	59.2 $\pm$ 4.4 (56.0 / 64.5)
		2002	5		0.25		112		56.0	
		2003	1		0.05		127		63.5	
		2004	1		0.05		112		56.0	
		2005	4		0.20		129		64.5	
Middle	500	3001	2	2 $\pm$ 1	0.10	0.10 $\pm$ 0.04 (0.05 / 0.15)	109	120 $\pm$ 11	54.5	59.9 $\pm$ 5.7 (54.5 / 69.5)
		3002	2		0.10		117		58.5	
		3003	2		0.10		114		57.0	
		3004	1		0.05		139		69.5	
		3005	3		0.15		120		60.0	
High	1000	4001	3	2 $\pm$ 1	0.15	0.12 $\pm$ 0.04 (0.05 / 0.15)	111	115 $\pm$ 9	55.5	57.7 $\pm$ 4.3 (52.5 / 64.0)
		4002	3		0.15		119		59.5	
		4003	1		0.05		105		52.5	
		4004	2		0.10		114		57.0	
		4005	3		0.15		128		64.0	
Positive control ^{a)} (Mitomycin C)	1	5001	25	40 $\pm$ 10	1.25	2.02 $\pm$ 0.48 (1.25 / 2.40)	120	117 $\pm$ 5	60.0	58.4 $\pm$ 2.4 (55.5 / 60.5)
		5002	37		1.85		112		56.0	
		5003	45		2.25		120		60.0	
		5004	48		2.40		121		60.5	
		5005	47		2.35		111		55.5	

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

M-1396

信頼性保証書 (1/2)

試験番号 : M-1396

試験表題 : 過酸化水素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)

なお、調査は下記の通り実施致しました。

2010年 9月 9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

調 査 項 目	調査担当者	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 6 月 8 日	2010 年 6 月 8 日
試験計画書変更書 (1)		2010 年 6 月 14 日	2010 年 6 月 14 日
試験計画書変更書 (2)		2010 年 7 月 2 日	2010 年 7 月 2 日
コンピュータプロトコール		2010 年 7 月 3 日	2010 年 7 月 5 日
調製・保存 (被験物質)		2010 年 7 月 8 日	2010 年 7 月 8 日
被験液の濃度確認		2010 年 7 月 8 日	2010 年 7 月 8 日
群分け・投与・一般状態の観察		2010 年 7 月 14 日	2010 年 7 月 14 日
調製 (陽性対照物質)		2010 年 7 月 15 日	2010 年 7 月 16 日

信頼性保証書 (2/2)

調 査 項 目	調査担当者	調 査 日	試験責任者及び 運営管理者への 報告日
投与・一般状態の観察 (陽性対照物質)		2010年 7月 15日	2010年 7月 16日
骨髓塗抹標本の作製		2010年 7月 16日	2010年 7月 17日
骨髓塗抹標本の観察		2010年 7月 20日	2010年 7月 20日
生データ (入荷～終了、被験液の 濃度確認、飼育関係)		2010年 8月 17日	
		2010年 8月 18日	2010年 8月 18日
最終報告書草案 表 付表		2010年 8月 17日	
		2010年 8月 18日	2010年 8月 18日
試験計画書変更書 (3)		2010年 8月 31日	2010年 8月 31日
生データ (被験物質関係)		2010年 9月 2日	2010年 9月 3日
改善確認		2010年 9月 3日	2010年 9月 3日
最終報告書		2010年 9月 9日	2010年 9月 9日

プロセス調査

調 査 項 目	調査担当者	調 査 日	部門責任者及び 運営管理者への 報告日
動物入荷		2010年 8月 9日	2010年 8月 16日
検疫・馴化		2010年 8月 9日	2010年 8月 16日
		2010年 8月 16日	2010年 8月 16日
飼育管理		2010年 6月 18日	2010年 6月 18日
陽性対照物質の管理		2010年 7月 21日	2010年 7月 21日

