OECD/OCDE

1981/05/12

試験ガイドライン No.401

急性経口毒性試験

ご利用に関する注意事項

本文書および本文書に掲載している翻訳は OECD による公式文書**ではありません。**本文書における翻訳と原文の間に用語ないし表現等の齟齬がある場合、**原文のみが有効とみなされます**。内容について疑義が生じた場合、もしくは研究に公的な認証を必要とする場合は、原文に準拠してください。

本翻訳を使用したことに起因する如何なる損害について、当所は一切責任を負いません。

This document and translation are NOT official work by OECD. In the event of any discrepancy between the original work and the translation, **only the text of the original work should be considered valid**. Refer to the original document when there is any doubt about the translation, or legal or official verification is needed for your study. NIHS takes no responsibility even if you get any damage by using this translation.

Reference:

OECD (1987), Test No. 401: Acute Oral Toxicity, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://www.oecd.org/content/dam/oecd/en/topics/policy-sub-issues/testing-of-chemicals/previous-test-guidelines/section-4/replaced-test-guidelines/replaced-test-guideline-401-1987.pdf

©OECD (1987)

You are free to use this material subject to the terms and conditions available at http://www.oecd.org/termsandconditions/

経済協力開発機構 （OECD）の化学物質の 試験に関するガイドライン Section 4 Health effects
邦訳: 国立医薬品食品衛生研究所(NIHS) 安全性予測評価部

急性経口毒性試験［401］

序　論

≪基礎的前提条件≫

固体または液状の被験物質
被験物質の化学的同定
被験物質の純度（不純物）
溶解性
融点/沸点
pH（適切な場合）

≪基準となる文書≫

適切な国際的基準はない．

試 験 法

① 緒言，目的，範囲，関連性，適応および限界

化学物質の毒性の判定や評価において急性経口毒性を測定することは，一般に初期の段階で行われる．それは，経口経路により短期間暴露することによって生じる可能性のある健康障害についての情報を与える．急性試験から得られるデータは，分類と標示の根拠として役立つ．また，亜慢性あるいは他の研究での用量決定のための最初の段階であり，化学物質の毒作用の形式についての最初の情報を与えるであろう．

≪定　義≫

急性経口毒性とは，化学物質を1回または24時間以内に数回経口的に投与したとき，短時間に現れる有害な影響をいう．

用量とは，投与される被験物質の量のことである．用量は，重量（g，mg）として，または試験動物の単位体重あたりの被験物質の重量（たとえばmg/kg）として表される．

LD_{50}（半数致死量）とは，経口経路で投与したとき，動物の50%に死亡を引き起こすと

期待される統計学的に得られた被験物質の1回投与量のことである．LD_{100} 値は試験動物の単位体重あたりの被験物質の重量（mg/kg）として表される．

投薬とは，用量とその頻度と投与時間に関する一般用語である．

用量-反応とは，用量と一定の効果を示す母集団での割合との関係をいう．

用量-効果とは，用量と個体あるいは母集団に起こる明らかな生物学的効果の大きさとの関係である．

≪試験法の原則≫

被験物質を，実験動物の数群に段階的に1群につき1用量を強制経口投与する．用量は予備試験の結果に基づいて選択する．その後，効果と死亡の観察を行う．試験期間中に死亡した動物は剖検する．試験終了時に生存している動物は，屠殺して剖検する．この指針は，主としてげっ歯類の試験について記述したが，非げっ歯類の試験にも適用できる．激しい持続的な苦痛の兆候を示す動物は，人道的に屠殺する必要があろう．腐食性または刺激性により著しい苦痛を起こすとわかっている方法での被験物質の投与は行う必要がない．

② 試験手順の解説

≪準　　備≫

健康な若い成熟動物を，試験に先立って少くとも5日間，環境に馴化させる．試験前に動物を無作為に群分けする．

必要に応じて，被験物質は適当な溶媒に溶解または懸濁させ，可能な限りまず水溶液を用いるよう考慮することをすすめる．続いて油（たとえばコーンオイル）に溶かすことを考慮し，それから他の溶媒の溶液について考慮する．非水性溶媒については，溶媒の毒性が既知であるべきであり，もし知られていなければ，試験の前に決定しておくべきである．1回に投与できる液の最高容量は動物の大きさによって決まる．げっ歯類においては，水溶液の場合の体重100gあたり2m*l*を除いては，液量は1m*l*/100gを越えるべきではない．濃度を調整することによって試験の液量変動を最小限に止めて，どの用量水準でも一定の液量を確保すべきである．

≪試験動物≫

動物種の選択：数種の哺乳動物を用いることができるが，げっ歯類ではラットが優先的に用いられる．通常用いられる系統を用いるべきである．試験に用いられる各動物の体重差は平均体重の±20%を越えるべきではない．

注　意：げっ歯類よりも高等な動物での急性毒性試験では，より少数の動物を使用するよう考慮すべきである．用量は慎重に選択すべきで，中度毒性の用量を超えるべきではない．このような試験では，被験物質の致死量の投与は避けるべきである．

動物数と性：げっ歯類では少なくとも各群に5匹を用いる．それらはすべて同性とすべきである．雌は未経産で妊娠していないものを用いるべきである．

飼育および給餌の条件：動物飼育室の温度は22°C（±3°C）で，相対湿度は30～70％にすべきである．動物は性別に分けてケージに収容するが，ケージあたりの数ははっきりと観察するのにじゃまにならない程度とする．被験物質の生物学的特性または毒性効果（たとえば罹病率や興奮性）によっては個別ケージで飼育する必要がある．人工照明ならば12時間間隔で点滅を行う．給餌については，通常の実験用の餌を与え，水は自由に摂取させる．

≪試験条件≫

用量水準：適切な間隔をおいて少なくとも3水準を採用し，試験群がある範囲の毒性作用と死亡率を示すようにすべきである．データは，用量-反応曲線および可能ならばLD_{50}を決定するのに十分であるべきである．

限度試験：げっ歯類を用いる場合，上記の手順を用いた雄5匹，雌5匹の1群において，少なくとも2,000mg/kg（体重）の1用量水準で一つの限度試験を行えばよい．化合物関連の死亡が現れる場合は，全面的な試験を考慮する必要がある．

観察期間：観察期間は，少なくとも14日間とすべきであるが，観察の継続時間は厳格に固定すべきではない．それは，毒性反応，発生率および回復期間の長さによって決めるべきであり，必要と考えられる場合は延長すべきである．死亡が遅れて起こる傾向のある場合にはとくに毒性兆候が現れる時期，消失する時期および死亡までの時間が重要である．

≪試験の実施≫

動物は，被験物質投与前は絶食させておくべきである．ラットでは餌料は1晩与えずにおく．代謝速度の高い他のげっ歯類ではさらに短い絶食時間が適当である．絶食期間後に動物の体重を測定し，胃チューブまたは適当な挿管を用いて群ごとに動物に被験物質を強制的に1回投与する．1回投与が不可能ならば24時間以内に少量ずつ投与する．被験物質の投与後，餌料は3～4時間与えずにおく．被験物質がある時間にわたり少量ずつ投与されたときには，その時間の長さに応じて餌料と水を動物に与える必要がある．投与後は観察を行い，個々の動物で得られた記録を系統的に記録する．

≪臨床検査≫

注意深い臨床的な観察を少なくとも毎日1回は行うべきである．試験における動物の損失を最小限にするために毎日適切な処置を行うべきであり，たとえば死亡を確認された動物は剖検または冷蔵保存し，瀕死の動物の場合は隔離するか屠殺する．ケージサイドの観察には，皮膚と毛，目と粘膜の変化，さらに呼吸系，循環系，自律神経系および中枢神経系，全身運動性および行動パターンも含めるべきである．振せん，けいれん，流涎，下痢，嗜眠，睡眠および昏睡について特別に配慮すべきである．死亡の時期はできるだけ正確に記録すべきである．個々の動物の体重は，被験物質投与直前と，その後毎週，さらに死亡時に測定する．1日以上生存したときには，体重の変化を計算し記録すべきである．実験終了時に生存している動物は，体重測定後屠殺する．

≪病　理≫

すべての動物を剖検に付し，すべての肉眼的病理変化を記録すべきである．24時間あるいはそれ以上生存した動物で，肉眼的に病理所見のあった器管については，有益な情報を提供することがあるので，顕微鏡的検査も考慮すべきである．

≪他の性における毒性のアセスメント≫

一つの性での試験を完了した後に，他の性の5匹の少なくとも一つの群に投与して，この性の動物が被験物質に対して顕著に鋭敏ではないことを確認する．個々の状況では，より少数の動物の使用で十分であろう．試験した性の動物が顕著に鋭敏であることを実証するに足る適切な情報が得られる場合は，他の性の動物の試験は行わなくてよい．

試験成績および報告

≪結果の処理≫

成績は，各用量群での試験開始時の動物数，個々の動物の死亡時間，その他の毒性の徴候を示した動物数，毒性効果の記述および剖検所見を表に総括する．

化合物関連の苦痛のため人道的に屠殺した動物については，化合物関連の死亡と記録する．

LD_{50} は，一般的に容認されている方法，たとえば Bliss[7]，Litchfield and Wilcoxon[4]，Finney[8]，Weil[9]，Thompson[10]，Miller and Tainter[11] の方法によって求めることができる．

≪結果の評価≫

LD_{50} 値は，常に，観察された毒作用と剖検所見とともに考察すべきである．LD_{50} 値は，比較的大まかな測定値であり，分類と標示の目的のための参考値としてのみ有用であり，その摂取経路での被験物質の致死能の一つの表示であるにすぎない．LD_{50} 値が観測された試験動物の種を常に参照すべきである．評価には，被験物質に対する動物の暴露とすべての異常およびその強さとの間の関係を認めることができればこれを取り入れるべきであり，この中には行動と臨床的異常，肉眼的病変，体重変化，死亡率への影響およびその他の毒性も含まれる．

≪試験報告≫

試験報告書には，次の情報を含むものとする．

・使用した動物の種/系統/出所，環境的条件
・投与した動物の性別
・用量別による反応の成績の表（たとえば試験中に死亡または屠殺した動物の数，毒性徴候が発現した動物の数，投与された動物の数）
・投与の時間と投与後の死亡時間

・14 日目に決定した各性別の LD_{50} 値（測定に使用した方法を併記）

・LD_{50} 95% 信頼限界

・用量-死亡曲線と勾配（測定の方法によって可能な場合のみ）

・病理所見

・他の性での試験があればその結果

≪結果の解釈≫

経口急性毒性試験および LD_{50} の決定により，ある物質の相対的な毒性の推定評価が可能となる．

動物の急性経口毒性の結果および経口 LD_{50} 値の結果からヒトの場合に外挿することはきわめて限られた程度でのみ妥当である．

文　献

1) WHO Publication: Environmental Health Criteria 6, *Principles and Methods for Evaluating the Toxicity of Chemicals*. Part I, Geneva, 1978.

2) National Academy of Science, Committee for the Revision of NAS Publication 1138, *Principles and Procedures for Evaluating the Toxicity of Household Substances*, Washington, 1977.

3) Food Safety Council, *Proposed System for Food Safety Assessment*, Food and Cosmetic Toxicology, **16**, 2, 1978.

4) Litchfield, J. T. and Wilcoxon F., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **96**, 99～113, 1949.

5) Lingk, W., *A. European Community Study on an Intercomparison Exercise on the Determination of Single Dose Oral LD50 in Rats*, Commission of the European Communities, Health and Safety Directorate, 1978.

6) Hunter, W. J., Lingk, W., and Recht, P., *Intercomparison Study on the Determination of Single Administration Toxicity in Rats*, Commission of the European Communities, Health and Safety Directorate. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 62, 864～873, 1979.

7) Bliss, C. I., *Quart. J. Pharm. Pharmacol.*, **11**, 192～216, 1938.

8) Finney, D. G., *Probit Anylysis*. (3rd Edn.) London, Cambridge University Press 1971.

9) Weil, C. S., *Biometrics*, 8, 249～263, 1952.

10) Thompson, W., *Bact. Rev.*, **11**: 115～141, (1947).

11) Miller, L. C. and Tainter, M. L., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. NY*, **57**, 261～264, 1944.

12) Paget, G. E. (editor), *Methods in Toxicology*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1970.

OECD毒性試験ガイドライン

定価11,000円(本体10,680円・税320円)
送料390円(税込)

平成3年12月25日　発　行

監　修　厚生省生活衛生局企画課
生活化学安全対策室

発行人　武　田　正　三

発行所　株式会社 薬業時報社

東京都千代田区神田神保町2—36(北神ビル)
電　話　03 (3265) 7751 〒101
振　替　東京 3—48330
大阪支局　大阪市中央区道修町3-4-11(新芝川ビル)
電　話　06 (231) 7061 〒541

Printed in Japan　印刷　中央印刷

ISBN4-8407-1847-4