OECD/OCDE

2017/10/09

試験ガイドライン No.402

急性経皮毒性試験：固定用量法

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.

Original work:

OECD (2017), Test No. 402: Acute Dermal Toxicity, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264070585-en.

©OECD (2017)

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

OECD/OCDE

402

採択

2017 年 10 月 9 日

OECD テストガイドライン

急性経皮毒性試験：固定用量法

緒言

1. OECD 化学物質テストガイドラインは、科学の進歩および動物福祉の観点から定期的に再検討がなされる。急性経皮毒性試験に関する最初のガイドライン TG402 が採択されたのは 1987 年である。近年になって発表された多くの論文により、数百種類の農薬の有効成分および数千種類の工業化学物質について急性経口毒性試験および急性経皮毒性試験の結果の解析がなされている。急性経口毒性試験のデータを基にした規制上の分類は、急性経皮毒性試験のデータによる分類と比較して 98%を超える事例で同等か、より重度であることが明らかになっており、この評価項目に対するルーチン試験の価値について疑問が提起されている（1-6）。OECD の「哺乳類を用いた急性毒性試験の免除またはブリッジング」に関するガイダンス文書 237（7）には急性経皮毒性試験の免除基準が規定されていることから、当該試験の実施にあたっては、その評価項目における動物を用いた新規試験の実施を科学的に説得力のある根拠を有する例外的な状況に限るため、試験の実施を決定する前に免除基準について検証しなければならない。本文書は、ヒトの健康評価のための急性毒性試験の利用に焦点を絞っている。試験結果を生態学的リスクなどの他の評価領域に利用する予定がある場合は、試験の実施について慎重に検討しなければならない。

2. いくつかの専門家会議の勧告に基づき、化学物質の分類のための LD_{50} の統一カットオフ値については国際合意に達している。TG 402 の改訂は、i）一般的に片性（通常は雌）試験で十分であると考えられること、ii）意味のある点推定を得るため、推定信頼区間（CI）を得る必要があることから、適時に検討が行われた（8）（13）。用量を適切に区切ることによって、毒性の点推定値なしに、化学物質を分類するための世界調和システム（GHS）に従って有害性分類を目的とした被験化学物質の等級付けが可能となる（10）。

3. 最新の TG 402 に最適な試験デザインを選択するため、生物測定学的分析を実施して急性経皮毒性の複数の試験デザインについてその性能の評価および比較が行われた（11）。TG 402 による試験デザイン（OECD, 1987）、固定用量法（FDP）の変法 4 種（12）、修正急性毒性等級法（ATC）の試験デザイン（9）および上げ下げ法（UDP）（13）について生物測定学的評価を実施した。

© OECD, (2017)

本資料は、http://www.oecd.org/termsandconditions/に掲載されている諸条件に従って自由に使用することができる。

本ガイドラインは、手順書に従い、OECD 理事会により 2017 年 10 月 9 日付けにて採択されたものである［C(2017)97］。

化学物質の有害性を正確に分類する点において、上げ下げ法の他に、TG 402（OECD, 1987）の性能が最も優れていたものの、経皮毒性について化学物質を安全に分類する点では固定用量法が他のすべての方法より優れていた。さらに、経皮毒性の固定用量法の試験デザインでは、TG 402（OECD, 1987）または上げ下げ法と比較して使用する動物数が少なかった。したがって、OECD 試験ガイドライン 402 の段階的手順については、段階ごとに片性にて最大 3 匹の動物を使用し、OECD 試験ガイドライン 420 に明記されている急性毒性等級法および固定用量法から適用された（12）。動物の死亡および／または瀕死状態がある場合、被験化学物質の急性毒性を判断するためにさらなる段階が必要となることもある。この段階的手順は再現性があり、使用動物数が非常に少なく、他の急性毒性試験法（試験ガイドライン 425 など［13］）と同様に被験化学物質の等級付けが可能である（14）。

4. 本ガイドラインの文脈にて用いている定義については、補遺 1 に定める。

最初に考慮すべき事項

5. 妥当な科学と動物福祉双方の観点から、被験化学物質の経皮毒性に関して入手可能なデータがすべて証拠の重み分析によって評価されるまで、*in vivo* 急性経皮毒性試験の実施を考慮してはならない。試験の実施前に被験化学物質に関する入手可能なすべての情報を検討する。その中には、被験化学物質の識別番号および化学構造、物理化学的性状、被験化学物質に関する他のすべての *in vitro* または *in vivo* 毒性試験結果、構造関連物質に関する入手可能な（Q）SAR データおよび毒性データ、予想される被験化学物質の使用法、関連するヒトへの曝露の可能性、ならびに得られたデータについて予想される利用法が含まれる。これらの情報は、本試験の実施の正当性と、また実施する場合には、適切な開始用量の選択を支援するものとなる。中等度の毒性が予想される用量のみを用いること、また致死量と考えられる用量の投与は避けることが試験方法の原則である。

6. 特定の目的において本試験方法を免除する場合についての指針は、「哺乳類を用いた急性毒性試験の免除またはブリッジング」に関するガイダンス文書（7）を参照されたい。本試験の免除にあたっての選択肢は、適用される法律の情報要件によって異なる。

7. 含まれる毒性範囲の推定が重視されるものの、「分類および表示」に関する判定基準に従って当該化学物質を分類するために、生成された情報が必要となる場合がある（10）。急性毒性試験から得られた情報は、不測の状況下で生じる可能性のある有害性を評価する上で特に重要ではあるが、そのような状況下で実際に必要とされるデータは、急性毒性試験の範囲外のデータである。試験の免除が科学的に正当化されない場合（7）、生成されるデータの価値または関連性について明確な根拠が示されるのであれば、場合に応じて急性経皮毒性の *in vivo* 試験を実施することができる。

8. 被験化学物質の投与にあたっては、腐食性または重度の刺激性を有する可能性があり、そのために疼痛および苦痛を著しく生ずることが分かっている用量にて行ってはならない。この目的において、被験化学物質の pH および緩衝能（酸予備／アルカリ予備）は有用な指標となる。被験化学物質の腐食性を確認するために *in vitro* 試験を実施するとよい場合もある。瀕死動物、

© OECD, (2017)

疼痛が明らかに認められる動物、または重度かつ持続的な苦痛の徴候を示す動物については人道的に屠殺し、試験結果の解釈に際しては試験中に死亡した動物と同様に扱う。瀕死または重度の苦痛を伴う動物の屠殺に関する判断基準、および死亡が予測可能である、または切迫していることの判断に関する指針については、他のガイダンス文書にて別途示す（15）。

9. 本試験を実施する場合、局所作用と全身作用の両方を検討することができる。経皮毒性試験において皮膚刺激性を示す明確な証拠（例えば、グレード 3 もしくは 4 の紅斑および／またはグレード 3 もしくは 4 の浮腫）が認められた場合、特異的な刺激性試験を実施する代わりに刺激性に関する情報として利用してもよい。

混合物または製剤化された最終製品：

10. 混合製剤（農薬、殺生物剤、その他の製剤化された製品を含む）の包括的評価が行われ（16）、その急性経皮毒性が急性経口毒性を上回ることはまれであることが示された。実際、ほとんどの場合において（99%）、経皮毒性の LD_{50} は 2000 mg/kg bw 以上である。したがって、不必要な試験を避けるために急性経口毒性試験のデータの免除基準を用いること（経口 LD_{50} が 2000 mg/kg bw を超える場合）が推奨される。さらに、*in vivo* データと GHS の算出方法との比較が行われている。第 3.1.3 章「混合物の分類基準」を参照されたい（10）。ここでは、混合物中の各成分の急性毒性推定値（ATE）に基づき、分類区分が算定されている。これらのデータが 98%を超える一致率を示している（過小予測、すなわち偽陰性を伴わない）ことも、経皮試験を免除する手段となりうる。一般的に、混合物の成分間の相乗効果は予想されないが、混合物全体で毒性を示す原因となりうる相互作用の可能性について考慮しなければならない。

***In vivo* 試験の原則**

11. 片性の動物からなる各群を、補遺 2 に示した適切な固定用量にて段階的に被験化学物質に曝露する。被験化学物質について入手可能な証拠に応じて、用量設定試験が必要となる場合もある（情報がほとんどない、または全くない場合など）。初期用量は、重度の毒性作用や死亡を生じることなく明らかな毒性徴候を引き起こすと予想される濃度から選択する。毒性または死亡の徴候の有無に応じて、より高い、または低い固定用量にて動物群を追加して行ってもよい。毒性が認められる用量、もしくは死亡例が 1 例にとどまる用量まで、または最高用量で作用が認められない場合、もしくは最低用量で死亡例が認められる場合、本手順を継続する。

12. 被験化学物質は、1 群につき 1 用量とした段階的な用量にて供試動物の皮膚に塗布する。その後、作用および死亡について観察を行う。試験中に死亡した動物は剖検する。試験終了時に生存した動物は屠殺して剖検する。

13. 次に、観察された結果を基に被験化学物質の分類について決定する。

© OECD, (2017)

試験方法について

動物種の選択

14. 供試動物種は成熟ラットが望ましい。最適な性別について考えた場合、従来の急性経口投与毒性試験（17）および急性吸入毒性試験（18）の調査では（19）、通常、感受性に性差はほとんど認められないものの、性差が認められる場合では、概して雌動物の方がやや感受性が高いことが示されている。様々な製品について得られた経皮毒性データについて検証がなされた最近の研究では（16）、感受性には性差がないことを示すさらなるエビデンスが得られ、検証結果として性差がないとされている。以上のことから、通常は雌動物を使用するよう勧告する。ただし、構造に関連性が認められる化学物質の毒性学的特性またはトキシコキネティクスに関する知識から、雄動物の感受性が有意に高い可能性があることが示唆される場合は、雄動物を使用する。雄動物を用いて試験を実施する場合は、これを利用する正当性を示す妥当な根拠を示さなければならない。

15. 一般的に実験に用いられる系統の健康な若齢成熟動物を使用しなければならない。雌動物は、未経産かつ非妊娠個体を用いる。投与開始時、いずれの個体も試験の実施が容易な体格（200～300 g）の若齢成熟動物（最低 8～10 週齢）とし、体重については、先行投与した個体の平均体重の±20%の範囲内でなければならない。健康で無傷の皮膚を有する動物を選ぶ。

飼育および給餌条件

16. 試験動物室の温度は 22°C（±3°C）とする。相対湿度は目標値を 50～60%とし、30%以上、70%を超えないこと（飼育室清掃時を除く）が望ましい。照明については、人工照明とし、12 時間明、12 時間暗の周期とする。給餌に関しては、一般実験用飼料を用い、飲料水は自由に摂取させる。

供試動物の準備

17. 動物福祉の観点から群飼育により、試験開始前の少なくとも 5 日間、試験環境に馴化させる。試験に使用する動物を無作為に選び、個体識別ができるように印を付ける。

18. 被験化学物質投与の前日に、供試動物の背部／側腹部（すなわち、総体表面積の 10%以上）を入念に剪毛し、被毛をすべて除去する。動物の取り扱いを容易にし、ストレスを最小限に抑えるため、麻酔薬を使用してもよい。皮膚が損傷すると皮膚の透過性が変化する可能性があるので、傷つけないよう注意しなければならない。剪毛する範囲および被覆する範囲を決める際、動物の体重を考慮に入れる。

試験の手順

投与方法

19. 被験化学物質は、背部／側腹部の皮膚が露出した範囲（すなわち、総体表面積の 10%以上）に、できる限り均一に塗布しなければならない。高い毒性を有する被験化学物質を塗布するような場合には塗布面積はより小さくしてもよいが、塗布部全体をできるだけうすく均一な被膜で被う。被験化学物質は 24 時間の曝露時間を通して多孔性のガーゼで覆い、さらに非刺激性の

© OECD, (2017)

テープを用いて被験化学物質と皮膚との接触を保持する。適用部位はガーゼ包帯と被験化学物質とを保持するために適当な方法でさらに覆い、動物が被験化学物質を摂取できないようにする。そのために、必要に応じて保定器を使用してもよいが、動物を不動固定してはならない。24 時間の曝露期間中は、ケージ内の他の個体が被験化学物質を経口摂取しないよう、動物を個別にケージに収容してもよい。

20. 被験化学物質が固体である場合、妥当であれば粉末状とし、皮膚とよく接触させるために、望ましくは水、または必要に応じて適切な媒体を用いて十分に湿らせる。媒体（水を除く）を使用するときは、被験化学物質の皮膚透過性に対する媒体の影響について考慮する。使用した媒体の量を記録する（一般的に 0.5～1 mL で十分である）。被験化学物質が液体の場合、通常は希釈しないで使用する。

21. 曝露期間の終了時、水や適当な溶媒を用いて、残存した被験化学物質をできる限り取り除く。個別に飼育する理由（他の個体と接触させると、毒性徴候の性質および重症度によりストレスを増大させる可能性、または皮膚局所作用の増悪につながる可能性が懸念されるなど）がない限り、動物を群飼育に戻す。ただし、個別に飼育する期間は最小限に抑える。

<u>供試動物数および投与量</u>

22. 主試験では、選択した各用量群に 2 匹ずつ使用し、各個体に対して被験化学物質を連続的に投与する。一般的に、免除基準に該当しないことから急性経皮毒性試験が必要である場合、急性経皮毒性は不明であるか、高い（LD_{50}：200 mg/kg bw 未満など）と予想される。

23. 被験化学物質に関する情報がないか不十分である場合、使用動物数を最小限に抑えて試験デザインを最適化するために、1 匹を用いて、開始用量を 200 mg/kg bw として用量設定試験を実施することを勧告する（用量設定試験のフローチャートについては補遺 2 を参照のこと）。用量設定試験の結果に基づき、補遺 2 に記載されている主試験のフローチャートの手順に従って、分類結果を確認するためにさらに 2 匹用いて主試験を実施してもよい。この手法は、多数の試験デザインとそれぞれの分類予測とを比較するために実施された生物測定学的評価（11）によって裏打ちされている。これは、正確に分類するための主試験に必要な供試動物は 2 匹のみとされている、勧告内の試験デザインの信頼性を保証するものである。

24. 被験化学物質に関する情報が入手可能ではあるものの免除が選択肢として入らない場合、GHS の急性経皮毒性の分類区分に基づき（10）、同じ手順（用量設定試験および主試験）に従いつつ、開始用量として 50、1000、2000 mg/kg bw（限界用量に近い）など他の用量を選択することができる。

25. 毒性徴候の発現、持続期間および重症度によって異なるが、各動物の実験期間として許容されるのは 48 時間以上である。次のレベルの用量の投与は、先に投与した動物の生存が確実視されるまで待つ。通常、すべての動物について少なくとも 14 日間観察しなければならない。

© OECD, (2017)

観察

26. 投与直後の 30 分間は少なくとも 1 回、最初の 24 時間は定期的に観察し、曝露期間開始から最初の 2～6 時間は特に注意する。その後は 1 日 1 回計 14 日間観察を行う。ただし、観察期間については固定せず、臨床徴候の性質および発現時期、ならびに回復期間の長さによって決定する。毒性徴候の出現および消失時間は、特に毒性徴候が遅れて起こる傾向がみられるときは重要となる（4）。すべての観察所見を系統的に記録し、個体ごとに記録をとる。瀕死状態で発見された動物および重度の疼痛が認められる動物および／または重度の苦痛の徴候が持続的に認められる動物は、遅滞なく人道的に屠殺しなければならない。人道的理由から動物を屠殺した場合、または死亡した状態で発見された場合は、できる限り正確な死亡時刻を記録する。

27. 皮膚および被毛、眼および眼粘膜、呼吸系、循環系、自律および中枢神経系、全身の運動性、ならびに行動パターンの変化を観察する。振戦、痙攣、流涎、下痢、嗜眠、睡眠および昏眠の観察には注意を払う。さらに、*in vivo* 皮膚刺激性試験を別途行う必要性を免除するのに有用であると考えられることから、被験化学物質除去後 24 時間、48 時間および 72 時間目に、Draize 基準に従って塗布部位を観察するとよい。

体重

28. 個体の体重測定は、被験化学物質の投与日、または投与直前に実施し、その後は少なくとも週 1 回測定する。実験終了時に、生存動物は体重を測定した後に人道的に屠殺する。

病理

29. 剖検はすべての供試動物（実験中に死亡した個体、または動物福祉上の理由により試験から除外された個体を含む）について実施しなければならない。すべての肉眼的病理変化を個体ごとに記録する。初回投与後 24 時間以上生存した動物において、明らかな肉眼的病変を示した器官、または塗布部位の顕微鏡検査からも有用な情報が得られる可能性があるため、これを検討してもよい。

データおよび報告

データ

30. データは個体ごとに提示しなければならない。さらに、すべてのデータを表形式にてまとめ、使用した動物数、毒性徴候を示した動物数、実験期間中に死亡が確認された、または人道的理由から屠殺した動物数、各個体の死亡時間、毒性作用とその可逆性についての説明および時間経過、ならびに剖検所見を試験群ごとに示さなければならない。

31. 補遺 2 に示した通り、被験化学物質の分類区分を決定する。当該フローチャートには、開始用量にて試験を実施した後の流れが示されている。用量設定試験を行った場合、1）結果を確認するため同一用量での実験、2）より高用量での実験、3）より低用量での実験のうちの 1 つが主試験で必要となる。用量設定試験において死亡が認められた用量については、動物を不必要な

© OECD, (2017)

苦痛から守るため、主試験で再検討する必要はない。主試験で 1 用量につき 2 匹を追加して結果が得られれば、妥当な有害性分類が確定され、さらに試験を行う必要はない。

試験報告書

32. 試験報告書には、必要に応じて下記の情報が含まれていなければならない。

In vivo 試験を実施する理論的根拠：既存の試験データの証拠の重み分析：

– 先行試験から入手可能な関連データの説明
– 試験戦略の各段階で得られたデータ
– *In vivo* 試験の実施に向けた証拠の重み分析

被験化学物質

- 入手先、ロット番号、入手可能であれば使用期限
- 既知であれば、被験化学物質自体の安定性
- 既知であれば、媒体中の被験化学物質の溶解度および安定性

単一成分物質：

- 外観およびその他の関連する物理化学的性状（酸予備／アルカリ予備など）
- IUPAC または CAS 名、CAS 番号、SMILES または InChI コード、構造式などの化学的識別情報
- 純度
- 該当する場合で現実的に可能であれば不純物の化学的識別情報など

多成分物質、UVCB 物質および混合物：

- 成分および混合物の化学的識別情報（上記参照）、定量的組成、ならびに関連のある物理化学的性状によって可能な限り特徴付けること

媒体（該当する場合）：

- 溶媒使用の妥当性および媒体選択の妥当性（水以外の場合）。

供試動物：

- 使用した動物種／系統
- 既知であれば、供試動物の微生物学的状態
- 動物数、週齢および性別（必要であれば、雌ではなく雄を用いた理由を含む）
- 入手先、飼育条件、飼料、背景データなど

© OECD, (2017)

- 飼料および飲料水の質に関する詳細（飼料の種類／供給元、給水源を含む）
- 個体選択の無作為化方法

試験条件：

- 投与した被験化学物質の物理的形状の詳細を含む被験化学物質製剤の詳細
- 投与容量、塗布面積および曝露時間を含む被験化学物質の投与および塗布部位の詳細
- 開始用量選択の理論的根拠

結果：

- 各個体の反応データおよび投与量の一覧表（すなわち、死亡率、ならびに作用の性質、重症度および持続期間を含む毒性徴候を示した動物）
- 体重および体重変化量の集計表
- 曝露日、その後は週 1 回、死亡時または安楽死時の各個体の体重 – 計画屠殺前に死亡した個体についてはその死亡日時
- 各個体の毒性徴候の発現の時間経過および可逆性の有無
- 所見があった場合、各個体の剖検所見および病理組織学的所見
- 実施した場合は Draize 基準の評価
- データの解釈方法

結果の解釈および考察

結論

© OECD, (2017)

参考文献

1. Thomas, H.D. and Dewhurst, I.C. (2007). What does a dermal acute toxicity study add to the information on a plant protection pesticide? Toxicol. **231**, 114-15.

2. Creton, S., Dewhurst, I.C., Earl, L.K. *et al*. (2010). Acute toxicity testing of chemicals—Opportunities to avoid redundant testing and use alternative approaches. *Crit. Rev. Toxicol*. **40**, 50-83.

3. Seidle, T., Prieto, P. and Bulgheroni, A. (2011). Examining the regulatory value of multi-route mammalian acute systemic toxicity studies. *ALTEX* **28**, 95-102.

4. Indans, I., Fry, T., Parsons, P., *et al*. (1998). Classification and labelling of new industrial chemicals for acute toxicity, skin and eye irritation. *Hum. Exp. Toxicol*. **17**, 529.

5. Seidle, T., Robinson, S., Holmes, T. *et al*. (2010). Cross-Sector Review of Drivers and Available 3Rs Approaches for Acute Systemic Toxicity Testing. *Tox. Sci.* **116**, 382-96.

6. Moore, N.P., Andrew, D.J., Bjerke, D. L. *et al*. (2013). Can acute dermal systemic toxicity tests be replaced with oral tests? A comparison of route-specific systemic toxicity and hazard classifications under the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). *Reg. Toxicol. Pharmacol.* **66**, 30–37.

7. OECD (2016). Guidance Document on Waiving or Bridging of Mammalian Acute Toxicity Tests. Draft dated January 2016. Series on Testing and Assessment No.237, Environment, Health and Safety Publications, OECD, Paris.

8. British Toxicology Society Working Party on Toxicity (1984). Special report: a new approach to the classification of substances and preparations on the basis of their acute toxicity. *Human Toxicol*. **3**, 85-92.

9. OECD (2002). OECD Guideline for Testing of Chemicals: Acute Toxic Class Method (No.423). OECD, Paris.

10. UN (2015). United Nations Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), Fifth Revised Edition, UN New York and Geneva. Available at: [http://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev05/05files_e.html].

11. Mielke H., Strickland J., Jacobs M.N., Mehta J.M. (2017) Biometrical Evaluation of the Performance of the Revised Test Guideline 402 for Assessing Acute Dermal Toxicity. *In press*. Regulatory Toxicology and Pharmacology.

12. OECD (2002). OECD Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity-Fixed Dose Procedure (No.420). OECD, Paris.

13. OECD (2008). OECD Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity - Up-and-Down Procedure (UDP) (No.425). OECD, Paris.

14. Stallard, N., Whitehead, A. and Indans, I. (2004). Statistical Modelling and Evaluation of an Acute Dermal Toxicity Test Using Dermal Fixed Dose Procedure. *Hum. Exp. Toxicol.* **23**(8), 405-12.

15. OECD (2000) Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment No. 19. OECD, Paris.

16. Corvaro, M., Gehen, S., Andrews, K. *et al*., (2016). GHS Additivity Formula: A true replacement

© OECD, (2017)

method for acute systemic toxicity of agrochemical formulations. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* **82**: 99-110 (available online, http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.10.007).

17. Lipnick, R. L, Cotruvo, J. A., Hill, R. N. *et al*. (1995). Comparison of the Up-and- Down, Conventional LD50 and Fixed Dose Acute Toxicity Procedures. *Fd. Chem. Toxicol*. **33**, 223-231.

18. Warbrick, E. V., Indans, I., Blackwell, M. *et al*. (2002). The reduction and refinement of animal use in acute inhalation toxicity testing. *Toxicol*. **192**, 92.

19. Price, Ch., Stallard, N., Creton, S. *et al*. (2010). A statistical evaluation of the effects of gender differences in assessment of acute inhalation toxicity. *Hum. Exp. Toxicol*. **30**(3), 217–238.

© OECD, (2017)

補遺 1

定義

急性経皮毒性とは、被験化学物質を短時間（24 時間以内）経皮塗布により単回持続曝露した後に生じる有害作用をいう。

用量とは、投与する被験化学物質の量をいう。供試動物の単位体重あたりの被験化学物質の重量（mg/kg bw など）として表す。

GHS：化学物質およびその混合物の分類に関する世界調和システム：化学物質の適正管理のための国際機関間プログラム（IOMC）によって調整されている、OECD（ヒトの健康と環境）、国連危険物輸送専門委員会（物理化学的性状）および ILO（危険有害性の情報伝達）による共同活動。

死亡が切迫している状態とは、計画されていた次の観察時点より前に瀕死状態となるか、死亡することが予測される場合をいう。げっ歯類でこの状態を示す徴候としては、痙攣、横臥、臥床、振戦などが挙げられる（詳細については、「人道的評価指標に関するガイダンス文書 No. 19［14］を参照のこと）。

LD_{50}（半数致死量）とは、所定の曝露経路によって投与された際に、供試動物の 50%が死亡すると予想される統計学的に導かれた化学物質の 1 回用量をいう。供試動物の単位体重あたりの被験化学物質の重量（mg/kg bw）として表す。

限度試験とは、用量の上限（2000 mg/kg bw）を参照するために実施する試験をいう。

瀕死状態とは、間もなく死に至る状況、または治療を行っても生存の可能性のない状況をいう。（詳細については、OECD の「人道的評価指標に関するガイダンス文書 No. 19［14］を参照のこと）。

死亡が予測可能である状態：一般状態の観察時に、計画されていた実験終了時よりも前の一定の時点に死亡することが示唆される徴候（飲料水または飼料まで辿りつくことができないなど）が認められる状態をいう。（詳細については、「人道的評価指標に関するガイダンス文書 No. 19［14］を参照のこと）。

被験化学物質：試験対象として指定された物質。

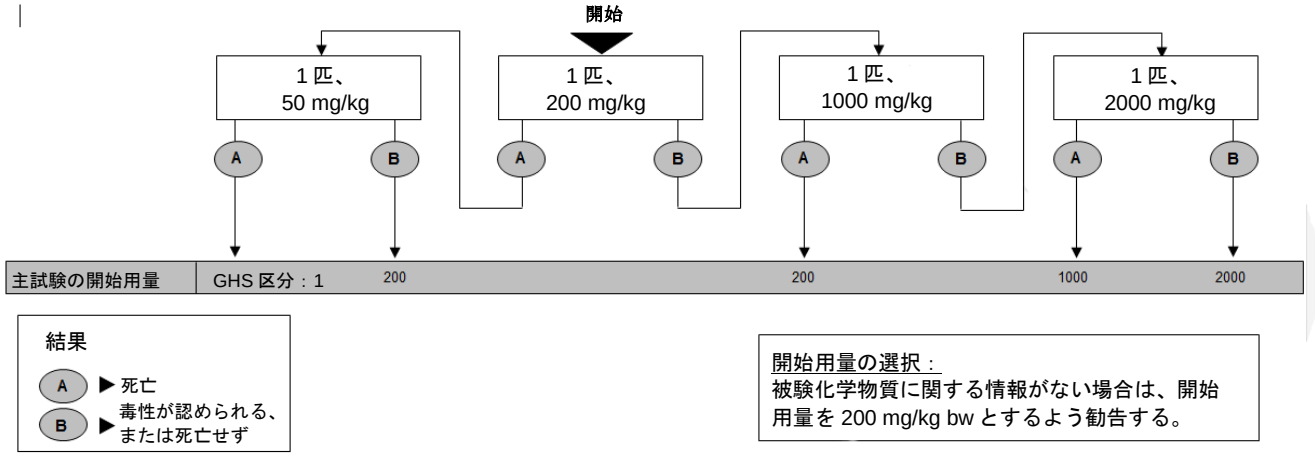
UVCB：組成が未知または変化する物質、複雑な反応生成物または生物材料。

© OECD, (2017)

補遺 2

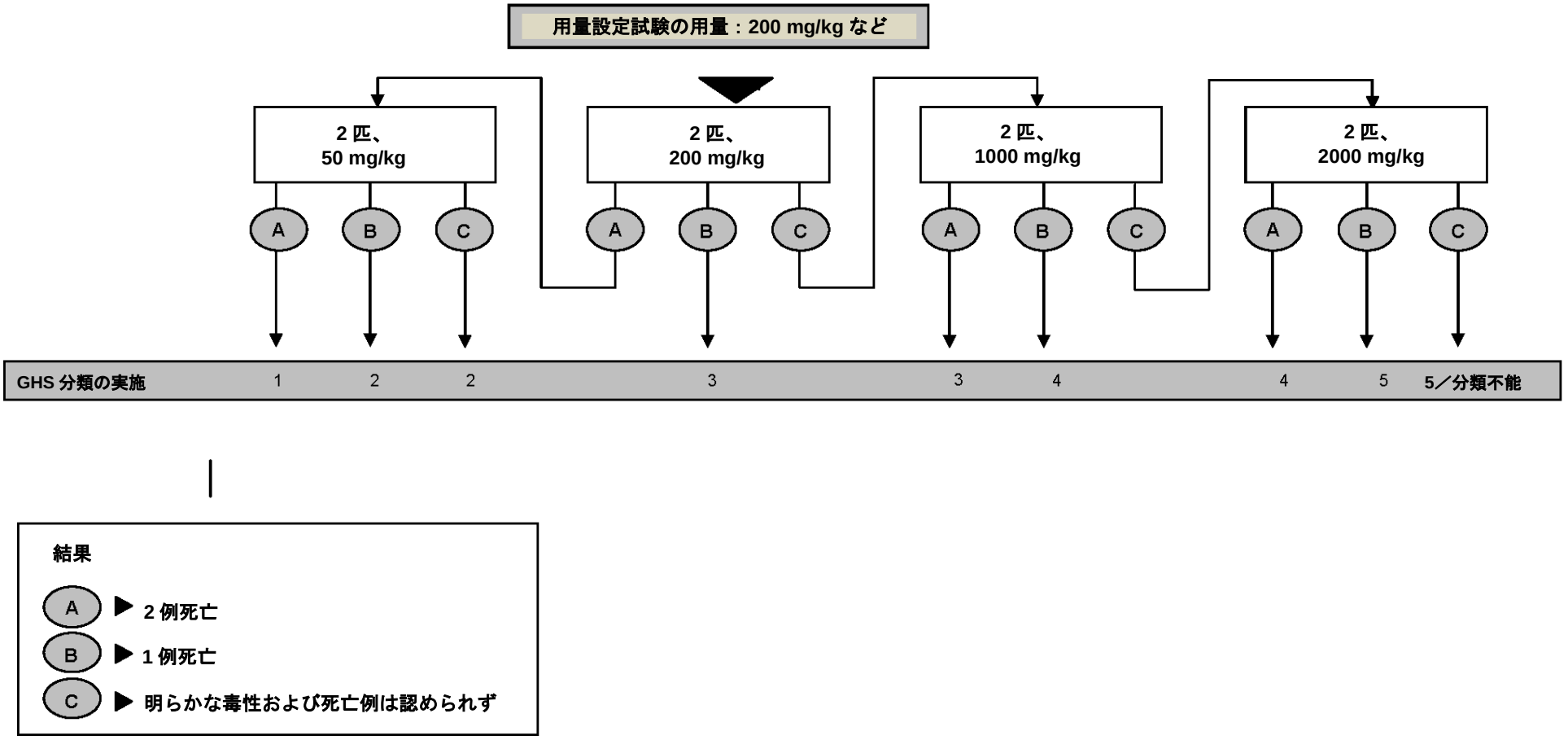
試験手順のフローチャート

用量設定試験



© OECD, (2017)

主試験


用量設定試験の用量：200 mg/kg など
2 匹、
50 mg/kg
2 匹、
200 mg/kg
2 匹、
1000 mg/kg
2 匹、
2000 mg/kg
A
B
C
GHS 分類の実施
1
2
2
3
3
4
4
5
5／分類不能
結果
A ▶ 2 例死亡
B ▶ 1 例死亡
C ▶ 明らかな毒性および死亡例は認められず