OECD/OCDE

2025/06/25

試験ガイドライン No.491

i）眼に対する重篤な損傷性を引き起こす化学物質、およびii）眼刺激性または眼に対する重篤な損傷性への分類が不要な化学物質を同定するための、*in vitro* 短時間曝露試験法

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.

Reference:

OECD (2025), Test No. 491: Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264242432-en.

©OECD (2025)

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

Adopted:
28 July 2015

化学物質の試験に関する OECD ガイドライン

i）眼に対する重篤な損傷性を引き起こす化学品、および ii）眼刺激性または眼に対する重篤な損傷性に分類する必要のない化学品を同定するための、*In Vitro* 短時間曝露法

はじめに

1. 短時間曝露（STE）試験法は *in vitro* 試験法の一種であり、国際連合（UN）の化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）（1）で定義されている、眼に対する重篤な損傷性を誘発する、および眼に対する重篤な損傷性にも眼刺激性にも分類する必要のない化学品（物質または混合物）の有害性の分類や表示に、特定の条件で制限付きで用いられる。

2. 長年、眼に対する化学品の有害性は、主に *in vivo* ウサギ眼試験（TG 405）を用いて評価されてきた。異なる化学品の種類について眼に対する重篤な損傷性／眼刺激性反応のすべての強度を予測する *in vivo* ウサギ眼試験は、当面の間 1 つの *in vitro* 代替試験法だけでは完全には代替できないと一般的に認められている。ただし、階層的試験戦略で用いられる代替試験法を計画的に組み合わせることによって、ウサギ眼試験を完全に代替できる場合がある（2）。トップダウン方式は、既存の情報に基づき、強い眼刺激性がある、または眼に対する重篤な損傷性を誘発することが予想される化学品の試験を意図して設計されている。逆に、ボトムアップ方式は、既存の情報に基づき、刺激性物質と分類するほどの刺激性を起こさないと予想される化学品の試験を意図して設計されている。STE 試験法は、*in vivo* ウサギ眼試験の完全な代替法であるとは考えらないが、（i）眼に対する重篤な損傷性を誘発する化学品（UN GHS 区分 1）、および（ii）眼に対する重篤な損傷性にも眼刺激性にも分類する必要のない（揮発性の高い物質および界面活性剤以外のすべての固体化学品を除く）化学品（UN GHS 区分外）を、追加試験を行わずに同定するためのトップダウン／ボトムアップ方式のような、規制上の分類や表示に階層的試験戦略の一部として用いるのに適している（1）（2）。ただし、STE 試験法を用いた結果、眼に対する重篤な損傷性（UN GHS 区分 1）を引き起こすと予測されず、UN GHS 区分外（眼に対する重篤な損傷性も眼刺激性も誘発しない）とも予想されない化学品については、最終的な分類を行うための追加試験が必要になる。なお、UN GHS 分類以外の分類法に基づいて、ボトムアップ方式で STE 試験法を用いる場合は、その前に、しかるべき規制当局に相談すべきである。

3. 本試験法ガイドライン（TG）の目的は、眼に対する被験物質の有害性を短時間曝露法で細胞毒性を誘発する能力に基づき評価するのに用いる手順について、説明することにある。

© OECD, (2015)

本資料は、個人的な非営利目的であれば、出典を適切に明記するという条件で、OECD に事前の承諾を得ることなく自由に使用してよい。本資料を商業的に利用する場合は、必ず OECD の書面による承諾を得なければならない。

角膜上皮細胞に対する化学品の細胞毒性作用は、角膜上皮の損傷および眼刺激性につながる重要な作用機序（mode of action : MOA）である。STE 試験法では、生体染色色素 MTT（3-（4,5-ジメチルチアゾール-2-イル）-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド、別名チアゾリルブルーテトラゾリウムブロミド）が生細胞において酵素的転化されて得られるブルーホルマザン塩を細胞から抽出し、定量的に測定して細胞生存率を評価する（3）。得られた細胞生存率は、溶媒対照群と比較（相対生存率）し、眼に対する被験物質の有害性を推定するのに用いる。5%および 0.05%の両濃度の細胞生存率の結果が 70%以下の場合、被験物質は UN GHS 区分 1 に分類される。逆に、70%を超える場合は、UN GHS 区分外の化学品と予測される。

4. 「被験物質」という用語は、本試験法ガイドラインにおいては、試験の対象となる物質のことをいい、物質および／または混合物を試験する STE 試験法に関しての適用範囲を規定するものではない。定義を補遺 I に示す。

最初に考慮すべき事項および限界

5. 本試験法ガイドラインは、花王株式会社が開発したプロトコル（4）に基づいている。同プロトコルは、2 つのバリデーション試験を受けている。ひとつは日本動物実験代替法学会（JSAAE）（5）によるもので、もうひとつは日本動物実験代替法評価センター（JaCVAM）（6）によるものである。第三者評価は、バリデーション試験報告書および試験法の Background Review Document に基づき代替法評価に関する毒性学プログラム省庁間センター（NICEATM）／米国動物実験代替法検証省庁間連絡委員会（ICCVAM）によって実施された（7）。

6. STE 試験法を眼に対する重篤な損傷性を引き起こす化学品（物質および混合物）（UN GHS 区分 1）（1）の同定に用いると、125 種の化学品（物質および混合物を含む）で得られたデータは、*in vivo* ウサギ眼試験法のデータと比較して、全体の正確度 83%（104/125）、偽陽性率 1%（1/86）、偽陰性率 51%（20/39）であった（7）。この場合の偽陰性率は、重要ではない。なぜなら、5%濃度で 70%以下、および 0.05%濃度で 70%超の細胞生存率を誘発する被験物質はすべて、規制要件に応じて、また現在推奨されている順次的な試験計画および証拠の重み付け方式に従って、十分にバリデートされた別の *in vitro* 試験法を用いて、また最終的手段として *in vivo* ウサギ眼試験を用いて、引き続き試験されることになるからである（1）（8）。混合物の試験に関しても限られた量のデータがあるが、主に単一成分物質が試験された。しかしながら、本試験法は、多成分物質および混合物の試験にも技術的には適用される。ただし、規制当局への提出を意図して混合物のデータを取得する場合は、本試験法ガイドラインを用いる前に、目的に合った適切な結果が示され得るか、また、示される場合その理由について検討すべきである。当該混合物の試験の規制要件がある場合には、こうした検討は不要である。UN GHS 区分 1 として被験物質を同定することに用い

© OECD, (2015)

る場合、STE 試験法にはその他の明らかな欠点は認めらない。この試験法を使用する場合、さらなる試験を行わない限り、UN GHS 区分 1 と分類される眼に対する重篤な損傷性を誘発する反応の指標として、5%および 0.05%の濃度で 70%以下の細胞生存率を受け入れるべきである。

7. STE 試験法を眼刺激性または眼に対する重篤な損傷性に分類する必要のない化学品（物質および混合物）（UN GHS 区分外）の同定に用いると、130 種の化学品（物質および混合物を含む）で得られたデータは、*in vivo* ウサギ眼試験法のデータと比較して、全体の正確度 85%（110/130）、偽陰性率 12%（9/73）、偽陽性率 19%（11/57）であった（7）。揮発性の高い物質および界面活性剤以外の固体物質をデータセットから除くと、全体の正確度 90%（92/102）、偽陰性率 2%（1/54）、偽陽性率 19%（9/48）と改善する（7）。結果として、i）蒸気圧が 6kPa を超える高い揮発性物質、および ii）界面活性剤または界面活性剤のみからなる混合物以外の固体化学品（物質および混合物）で偽陰性率が高いことが、眼刺激性や眼に対する重篤な損傷性に分類する必要のない被験物質（UN GHS 区分外）の同定における STE 試験法の欠点であると考えられる。このような化学品は、STE 試験法の適用範囲から除外する（7）。

8. 段落 6 および 7 で述べた化学品に加え、STE 試験法で得られたデータセットは、40 種の混合物に関する社内データも含み、*in vivo* Draize 眼試験と比較した場合、UN GHS 分類システムにおける分類する必要のない混合物を予測する際の正確度 88%（35/40）、偽陽性率 50%（5/10）、偽陰性率 0%（0/30）を示した（9）。よって、STE 試験法はボトムアップ方式において、固体物質の限界の延長として、界面活性剤のみで構成さていない固体混合物を除いて、UN GHS 区分外の混合物の同定に適用できる。さらに、蒸気圧が 6kPa より高い物質を含有する混合物は、予測が過小にならないよう留意して評価し、ケースバイケースで根拠を示す。

9. UN GHS 区分 2、区分 2A（眼に対する刺激性）または、UN GHS 区分 2B（眼に対する軽度の刺激性）として被験物質を同定するのに STE 試験法を用いることはできない。なぜなら、実際は UN GHS 区分 1 であるのに、それより危険性の低い UN GHS 区分 2、2A、または 2B と予測された化学品や、実際は UN GHS 区分外であるのに、それより危険性の高い UN GHS 区分 2、2A、または 2B と予測された化学品がかなりの数に上っているためである（7）。このため、別の適切な方法による追加試験が必要な可能性がある。

10. STE 試験法は、生理食塩液、5%ジメチルスルホキシド（DMSO）を含む生理食塩水、またはミネラルオイルに溶解する、あるいは 5 分間以上均一に分散する被験物質に適しており、生理食塩液、5%DMSO を含む生理食塩水、またはミネラルオイルに不溶性または 5 分間以上均一に分散されない被験物質には適さない。短時間曝露のため、STE 試験法にミネラルオイルを用いることは可能である。そのため、STE 試験法は、前述の 3 つの溶媒の少なく

© OECD, (2015)

ともどれかに混和性を有すれば、水に対して不溶性の被験物質（たとえば、長鎖脂肪族アルコールまたはケトン）の眼に対する有害性を予測するのに適している（4）。

11. 「被験物質」という用語は、本試験法ガイドラインで用いる場合、試験の対象となる物質のことをいい[1]、被験物質が物質、および／または混合物であるかは STE 試験法への適用を規定するものではない [訳注：パラグラフ 4 と重複]。

試験の原理

11. STE 試験法は、ポリカーボネートの 96 ウェルマイクロプレート上で培養した Statens Seruminstitut Rabbit Cornea（SIRC）細胞のコンフルエントな単層を用いて行われる細胞毒性に基づく *in vitro* 試験である（4）。被験物質に 5 分間曝露した後、細胞毒性は MTT 試験を用いて SIRC 細胞の相対生存率から定量的に測定する（4）。細胞生存率の低下は、眼損傷につながる潜在的有害な影響を予測するのに用いる[訳注：パラグラフ番号”11”が重複]。

12. ヒトの眼に溶液を滴下した場合、80%を超える溶液が 1～2 分以内に排出されるのに対し、ウサギの眼に滴下した溶液の 80%は、3～4 分以内に結膜嚢を通じて排出されると報告されている（10）。STE 試験法は、これらの曝露時間に近い状況を考慮し、細胞毒性をエンドポイントとして、被験物質を 5 分間曝露した後の SIRC 細胞の損傷の程度を評価する。

習熟度の立証

13. 施設は、本試験法ガイドラインに示した STE 試験法を日常的に使用する前に習熟度を確認する必要があり、そのためには、表 1 で推奨する 11 種の物質について、正確に分類する必要がある。*in vivo* ウサギ眼試験（TG 405）の結果および UN GHS 分類システム（1）に基づいて、眼に対する重篤な損傷性や眼刺激性の反応すべての範囲を代表する物質が選択されている。また、市販されている化学品であること、高品質の *in vivo* 参照データが入手可能であること、および STE 試験法から高品質の *in vitro* データが得られることが選択基準として用いられた（3）。表 1 の物質が入手できない、または正当な理由がある場合、ここに記載されているのと同じ基準を使用するという条件で、適切な *in vivo* および *in vitro* 参照データが入手可能な他の物質を用いることができる。

[1] 2013 年 6 月の合同会議において、可能な場合、新規および更新版の試験法ガイドラインでは、試験の対象となる物質を表現する「被験物質」という用語について、より一貫した使用を行うべきであることが合意された。

© OECD, (2015)

表 1：習熟度確認物質の一覧表

物質名	CAS RN	化学分類[1]	性状	*In Vivo UN GHS 区分*[2]	STE 試験での使用溶媒	STE UN GHS 区分
塩化ベンザルコニウム（10%、水性）	8001-54-5	オニウム化合物	液体	区分 1	生理食塩水	区分 1
トリトン X-100（100%）	9002-93-1	エーテル	液体	区分 1	生理食塩水	区分 1
アシッドレッド 92	18472-87-2	ヘテロサイクリック化合物；臭化化合物；塩素化合物	固体	区分 1	生理食塩水	区分 1
水酸化ナトリウム	1310-73-2	アルカリ；無機化学品	固体	区分 1[3]	生理食塩水	区分 1
ブチロラクトン	96-48-0	ラクトン；ヘテロサイクリック化合物	液体	区分 2A	生理食塩水	予測できない
1-オクタノール	111-87-5	アルコール	液体	区分 2A／B[4]	ミネラルオイル	予測できない
シクロペンタノール	96-41-3	アルコール；炭化水素（環状）	液体	区分 2A／B[5]	生理食塩水	予測できない
酢酸 2-エトキシエチル	111-15-9	アルコール；エーテル	液体	区分外	生理食塩水	区分外
ドデカン	112-40-3	炭化水素（非環状）	液体	区分外	ミネラルオイル	区分外
メチルイソブチルケトン	108-10-1	ケトン	液体	区分外	ミネラルオイル	区分外
n,n-ジメチルグアニジン硫酸塩	598-65-2	アミジン；硫黄化合物	固体	区分外	生理食塩水	区分外

略語：CAS RN = ケミカルアブストラクトサービス（CAS）登録番号

[1] 化学分類の割り当ては、これまでの NICEATM による公表文献から得た情報を用いて行い、情報が得られない場合は、米国の国立医学図書館（National Library of Medicine）の医学問題表題集（Medical Subject Headings：MeSH®）（国立医学図書館が提供するデータベース ChemIDplus® が http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/で閲覧できる）、および NICEATM による構造決定を用いて行った。

[2] UN GHS（1）を用い、*in vivo* ウサギ眼試験（OECD TG 405）の結果に基づく。

[3]100%水酸化ナトリウムの皮膚腐食性（OECD TG435 の皮膚腐食性習熟度確認物質に記載）、および UN GHS 区分 1 の基準に基づいて区分 1 と分類（1）。

[4] 区分 2A と区分 2B を区別するための UN GHS 基準の解釈、すなわち、区分 2A に分類するための条件を、7 日目に影響を有する個体が 6 匹中 2 匹の場合とするか、6 匹中 4 匹の場合とするかによって区分 2A または区分 2B と分類。*in vivo* データセットに用いられたのは 2 試験でそれぞれ 3 匹である。1 つ目の試験では、3 匹中 2 匹が区分 2A の分類を正当化する影響を 7 日目に示し（11）、2 つ目の試験では、すべてのエンドポイントが、3 匹とも 7 日目までに 2B の分類を正当化するスコア 0 に回復した（12）。

[5] 区分 2A と区分 2B を区別するための UN GHS 基準の解釈、すなわち、区分 2A に分類するための条件を、7 日目に影響を有する個体が 3 匹中 1 匹の場合とするか、3 匹中 2 匹の場合とするかによって区分 2A または区分 2B と分類。*in vivo* 試験に用いられたのは 3 匹である。1 匹は、角膜混濁および結膜発赤以外のすべてのエンドポイントが、7 日目までにスコア 0 に回復した。完全な回復が 7 日目にみられなかった 1 匹は、7 日目の角膜混濁および結膜発赤スコアが 1 で、14 日目には完全に回復した（11）。

手順

細胞の培養

© OECD, (2015)

14. STE 試験はウサギ角膜細胞株 SIRC を用いて実施する。使用する SIRC 細胞は ATCC（American Type Culture Collection）CCL60 のような十分な適正資格をもつ細胞バンクから得ることが望ましい。

15. SIRC 細胞は培養フラスコを用い、後述の培養液にて 37℃、5% CO_2 存在下で培養する。培養に用いる培地は、10%ウシ胎児血清（FBS）、2 mM L-グルタミン、50～100 単位/mL ペニシリン、および 50～100 μg/mL ストレプトマイシンを添加した Eagle MEM 培地とする。培養フラスコ内にコンフルエントになるまで培養した細胞を、必要に応じてセルスクレーパを使用し、トリプシン EDTA 溶液により剥がし、継代用の培養フラスコあるいは試験用の 96well 平底プレートに播種する。細胞の使用は、培養を開始して継代数 25 回までとする。

16. STE 試験への使用準備ができた細胞を適切な濃度に調製して 96 ウェルプレートに播種する。細胞播種の密度は、細胞播種から 4 日後に使用する場合は 1 ウェルあたり 200uL の培地に 6.0×10^3 個、5 日後に使用する場合は 200uL の培地に 3.0×10^3 個が推奨される。これにより、試験実施時、すなわち播種から 4 日または 5 日後に 80%を超えるコンフルエントになる。

被験物質の適用および対照物質

17. 被験物質を溶解または均一分散する溶媒として、はじめに生理食塩水を溶媒に被験物質 5%(w/w)液を調整し、溶解性を確認する。溶解するか 5 分間以上均一分散した場合には、試験溶媒を生理食塩水とする。被験物質が溶解しないか、均一分散しない場合は、第 2 の溶媒として 5% (w/w)DMSO（CAS#67-68-5）を含む生理食塩水を溶媒に 5%溶液を調整し、溶解性を確認する。5%DMSO 生理食塩水に溶解するか、均一分散した場合には、試験溶媒を 5%DMSO 生理食塩水とする。被験物質が溶解しないか、均一分散しない場合は、第 3 の溶媒としてミネラルオイル（CAS#8042-47-5）を溶媒に 5%溶液を調整し、溶解性を確認する。ミネラルオイルに溶解するか、均一分散した場合には、試験溶媒をミネラルオイルとする。

18. 被験物質は 5%（w/w）濃度で選択した溶媒に溶解、または均一に分散させて、さらに 10 倍希釈して 0.5%溶液、さらに 10 倍希釈して 0.05%溶液を調整し、試験に供する。前培養してコンフルエントとなった 96 ウェルプレートの SIRC 細胞に対し、プレートの培養液をアスピレーターにて除去する。除去後被験物質溶液を 200 μL/well で添加し、細胞に 5 分間曝露する。被験物質（単一成分物質、多成分物質、または混合物）は純粋な物質とみなし、純度に関わらず試験法に従って希釈または分散させる。

19. 段落 15 に記載の培養液は、各試験のプレートに操作対照として用いる。さらに、各試験のプレートに溶媒対照を用意して細胞に曝露させる。段落 17 に記載の溶媒は、SIRC 細胞の生存率に有害な影響を及ぼさないことが確認されている。

© OECD, (2015)

20. STE 試験法では、0.01%ラウリル硫酸ナトリウム（SLS）を含む生理食塩水を各試験のプレートに陽性対照として用いる。陽性対照の細胞生存率を算出するため、各試験のプレートは生理食塩水を溶媒対照として含めなければならない。

21. ブランクは、吸光度の補正するために必要であり、細胞を含まない培地のみのウェルで実施する。

22. 各サンプル（5%および 0.05%濃度の被験物質、操作対照、溶媒対照、および陽性対照）は、適切な被験物質または対照物質として 200 µL を 5 分間室温で細胞へ曝露し、この試験を 3 回繰り返すことにより実施する必要がある。

23. 特定の化学品や製品分類の未知な化学品について眼刺激性を評価する場合や、刺激反応の特定範囲内における眼刺激性の相対的な刺激性を評価する場合は基準物質が有用である。

細胞生存率測定

24. 曝露後、細胞を 200 µL の PBS で 2 度洗浄し、200 µL の MTT 溶液（0.5 mg MTT/mL の培養液）を添加する。インキュベータ（37°C、5% CO_2）において 2 時間反応させた後、MTT 溶液を除去し、60 分間室温暗所で 200 µL の 0.04 N 塩酸イソプロパノールを添加して MTT ホルマザンを抽出する。その MTT ホルマザン溶液の吸光度は、プレートリーダーにより 570 nm で測定する。STE 試験法で用いる 2 次元細胞培養には関連しないが、3 次元再構築ヒト角膜または再構築ヒト表皮組織の場合、曝露後の洗浄操作を行っても被験物質のかなりの量が試験系で保持される場合は、（着色料または MTT 還元剤により）MTT 試験への被験物質による干渉作用が生じる。

結果の解釈および予測モデル

25. 各被験物質における吸光度（OD）値を用い、溶媒対照の OD 値を細胞生存率 100%としたときの相対的な細胞生存率を算出する。相対的な細胞生存率は百分率で表し、被験物質と溶媒対照の OD からそれぞれブランクの OD を引き、被験物質の OD を溶媒対照の OD で割ることで得られる。

$$\text{細胞生存率（\%）} = \frac{(\text{被験物質の}OD_{570}) - (\text{ブランクの}OD_{570})}{(\text{溶媒対照の}OD_{570}) - (\text{ブランクの}OD_{570})} \times 100$$

同様に、各溶媒対照の相対細胞生存率は百分率で表し、それぞれの OD からブランクの OD を引き、各溶媒対照の OD を培地対照の OD で割ることで得られる。

© OECD, (2015)

26. それぞれ 3 つのウェルを含む 3 回の独立した試験（すなわち、n=9）を実施する。それぞれ独立した試験における各被験物質および溶媒対照ごとに算出した 3 ウェルの平均値は相対細胞生存率の平均値を算出するのに用いる。最終的な細胞生存率の平均値は独立した 3 回の試験から算出する。

27. 眼に対する重篤な損傷性を有する被験物質（UN GHS 区分 1）、および眼刺激性または眼に対する重篤な損傷性の分類を要しない被験物質（UN GHS 区分外）を同定するための細胞生存率のカットオフ値を以下に示す。

表 2：STE 試験法の予測モデル

細胞生存率		UN GHS 分類	適用性
5%濃度	0.05%濃度		
> 70%	> 70%	区分外	以下を除く物質および混合物 i） 蒸気圧が 6kPa[1] を超える高い揮発性物質 ii） 界面活性剤および界面活性剤のみからなる混合物以外の固体化学品（物質および混合物）
≤ 70%	> 70%	予測できない	適用外
≤ 70%	≤ 70%	区分 1	物質および混合物 [2]

[1] 蒸気圧が 6kPa より高い物質を含有する混合物は過小評価にならないよう留意し、ケースバイケースで根拠を示す。

[2] 主に単一成分物質が試験されたが、混合物の試験に関しても限られたデータがある。本試験法は多成分物質および混合物の試験にも技術的には適用できる。ただし、混合物について規制当局への提出を目的にデータを取得する場合、本試験法ガイドラインを用いる前に、目的に合った適切な結果が示され得るか、また、示される場合その理由について検討する必要がある。当該混合物の試験について規制要件がある場合には、こうした検討は不要である。

試験成立条件

28. 以下の条件をすべて満たす場合、試験結果は許容できると判断される。

a） 細胞培養液を曝露する操作対照群の吸光度がブランク吸光度の減算後で 0.3 以上であること。

b） 操作対照群に対する溶媒対照群の細胞生存率が 80%以上であること。複数の溶媒対照が各試験で使用される場合、それらの溶媒で試験された被験物質を評価するために各溶媒対照が 80%を超える細胞生存率を示すこと。

c） 陽性対照（0.01% SLS）で得られる細胞生存率は、背景データ平均値から 2 標準偏差以内であること。陽性対照の許容上限値および下限値は定期的に更新する必要がある。

© OECD, (2015)

すなわち 3 カ月ごと、または試験頻度が低い（すなわち、月 1 回未満）施設では試験を行うごとに更新する。試験施設が統計的に頑健な陽性対照分布を確立するための十分な実験回数を実施していない場合、最初の定期的な試験期間中にその施設での陽性対照分布を確立する間は、試験法の開発企業により確立された許容上限値および下限値、すなわちその背景データの 21.1%～62.3%を用いてもよい。

d） 独立した 3 回の試験から算出された最終的な細胞生存率の標準偏差が、被験物質の 5%および 0.05%のいずれの濃度も 15%未満であること。

満たされない基準が 1 つ以上ある場合は、その結果を棄却し別の独立した 3 回の試験を行う。

データおよび報告

データ

29. 各試験の個々のウェルのデータ（例えば、細胞生存率）、ならびに全体の平均、標準偏差、および眼刺激性の分類を報告する。

試験報告書

30. 試験報告書には、以下の情報を含めること。

被験物質および対照物質

- 単一成分物質:化学的識別情報、例えば IUPAC または CAS 名、CAS 登録番号、SMILES または InChI コード、構造式やそれ以外の識別に有用な情報

- 多成分物質、UVCB 物質、混合物 : 入手可能な範囲の成分の化学的同定（上記参照）、純度、含有量および関連のある物理化学的性質（上記参照）などによるできる限りの特徴付け

- 入手可能な範囲で、試験実施に関連する物理的状態、揮発性、pH、LogP、分子量、化学的分類、およびその他の関連する物理化学的性質

- 純度、適切なデータが入手可能であれば不純物の化学的同定など

- 必要ならば、試験前の処理（例えば、加温、粉砕）

© OECD, (2015)

- 入手可能な範囲の保存条件および安定性

試験法の条件および手順

- 試験依頼者名、試験施設名、試験責任者名および住所
- 試験法の説明
- 細胞株、その供給元、試験に用いた細胞の継代数および試験時の細胞密度
- 用いた試験手順の詳細
- レプリケート並びに試験回数
- 用いた被験物質の濃度（推奨事項と異なる場合）
- 各被験物質についての溶媒選択の理由
- 被験物質への曝露の時間（推奨事項と異なる場合）
- 試験手順の修正があればその記述
- 評価および測定基準の記述
- 既存陽性対照の平均値と標準偏差（SD）の背景データ
- 本試験法実施の際、（例えば、習熟度評価用の物質の試験により）実施施設の習熟度の立証、または試験法の経時的な再現性の立証

結果

- 各被験物質および対照物質、ならびに各試験濃度について、ウェルにおける各試験の個々の OD 値、各独立した試験の算術平均 OD 値と細胞生存率（%）、および 3 回の試験による最終的な算術平均細胞生存率および SD 値の一覧表
- 適切な試験成立条件を示す培地、溶媒、および陽性対照の結果

© OECD, (2015)

- 観察された他の影響に関する説明

- 用いた予測モデルや判定基準に照らして導かれた最終的な分類

結果の考察

結論

© OECD, (2015)