

微生物を用いた変異原性試験結果報告書作成において留意すべき事項
(報告書チェックリスト)

項 目	項番	内 容	チェック
0. 安衛法様式全体に関すること	0-1	「微生物を用いた変異原性試験結果報告書」(以下、「安衛法様式」という。)と最終報告書(最終報告書又はその写しを所持している場合に限る。以下同じ。)の内容が整合している。	
	0-1-1	・ 安衛法様式と最終報告書が化学物質名称、CAS番号等の一般的なパラメータ(事業者の独自コードはこれに含まれない。)で適切に関連づけられている。	
	0-1-2	・ 最終報告書に記載のない事項(例;物性に関する情報、試験条件等)を安衛法様式に記載する場合には、その記載理由や資料の出所を、安衛法様式の「9. 試験の結果」の「(3)参考事項」の欄や安衛法様式の枠外に設けた備考欄等に記載している。	
	0-2	安衛法様式に記載する暦年表記は、西暦(例;2009年)表記又は和暦(例;平成〇〇年)表記のいずれかに統一している。	
1. 一般的事項	1-1	化学物質の名称が構造式と整合している。	
	1-2	高分子化合物において、モノマーの比率を適切に記載している。(a:b:c:d = x:y:z:u(x,y,z,u: 範囲でなく特定の数値)) ※新規化学物質製造(輸入)届への記載は範囲の記載で差し支えない。(記載例; a:b:c:d = x1~x2:y1~y2:z1~z2:u1~u2)	
	1-3	混合物については、各成分毎の比率を記載している。	
	1-4	被験物質の溶解度の確認(例;プレインキュベーション法を用いる場合に、水、DMSOにおける50 mg/mlでの可否、アセトンにおける100mg/mlでの可否)を行っている。	
	1-5	被験物質に加水分解性がある場合には、「水」の「溶媒中の安定性」の欄に「不安定」と記載している。	
3. S9mix	3-1	S9の製造年月日を記載している。	
	3-2	製造後6ヶ月以内のS9を使用している。	
	3-3	用量設定試験と本試験で用いるS9の使用動物系統、購入時期、ロット番号等が異なる場合、試験毎に区別して記載している。	
	3-4	S9mixの組成を記載する際に、単位を(誤りなく)記載している。	
4. 被験物質溶液の調製	4-1	被験物質が純度95%未満の場合には純度換算をしている。	
	4-2	被験物質の名称と純度換算の有無に整合性がある。(不整合の例; A(40%), B(30%), C(30%)の混合物の試験に当たり、名称はA(40%), B(30%), C(30%)の混合物となっており、純度換算は要しないにもかかわらず、A(40%), B(30%)の混合物を被験物質、C(30%)を不純物とみなして、純度換算を行っている。)	
	4-3	被験物質が溶解しない溶媒を使用する場合は、その理由を記載している。(被験物質を溶解する溶媒があるにもかかわらず、不溶の溶媒を用いた場合はその理由が必要。)	
	4-4	水、DMSO、アセトン以外の溶媒を使用する場合は、溶媒として使用できること示す文献またはデータ(使用した溶媒が試験実施中に試験菌株及びS9に悪影響を及ぼさないことを示したものをいう。)を示している。	
	4-5	「1. 一般的事項」の「溶媒に対する溶解度等」の記載と「4. 被験物質溶液の調製」の「被験物質溶液の性状」及び「被験物質が難溶性の場合における懸濁等の方法」の記載に整合性がある。(整合性がない場合は理由を記載している。)	
	4-6	被験物質や不純物に加水分解性がある場合、脱水した溶媒を用い、その旨を明記している。	

微生物を用いた変異原性試験結果報告書作成において留意すべき事項
(報告書チェックリスト)

項 目	項番	内 容	チェック
5. 前培養の条件等	5-1	生菌数の値を記録している。	
	5-2	前培養終了時の生菌数の測定方法を記載している。	
	5-3	前培養後の生菌数が 1.0×10^9 /mlを超えている菌懸濁液を使用している。	
	5-4	生菌数を別の日に測定した場合、「9 試験結果」の「(3)参考事項」の欄等に理由を示している。	
6. 最小グルコース寒天平板培地	6-1	最小グルコース寒天平板培地は有効期限内のものを使用している。	
7. 試験の方法	7-1	ブレインキュベーション法で、アセトン他被験物質を溶かす溶媒として用いる場合、毒性影響を踏まえ、1プレート当たりのアセトン量を0.05mlとして試験を実施している。	
8. コロニー計測の方法	8-1	コロニー数を機器計測する場合は、補正に関する記載をしている。(記載例;②. 有(補正の方法 面積及び数え落とし補正))	
9. 試験の結果			
(9-1 判定について)	以下のような場合において陽性と判定している。(これらの要件に合致しているにもかかわらず、陰性の評価となっているものについては、安全衛生部化学物質対策課化学物質評価室に予め相談すること。)		
	9-1-1	1つ以上の菌株において、化学物質の用量の増加とともに復帰変異コロニー数が明らかに増加しており、ある用量段階で陰性対照値の2倍以上となるという結果が、用量設定試験と本試験でともに得られた場合	
	9-1-2	1つ以上の菌株において、用量設定試験と本試験で試験結果が陽性と陰性に分かれた場合において、さらに確認試験で陽性となった場合	
(9-2 本試験の用量設定について)	9-2	用量設定試験の結果、1つ以上の菌株に生育阻害があり、かつ沈殿が発生した場合には、沈殿が発生した最も低い用量ではなく、生育阻害が見られた最も低い用量を最高用量とし、5段階以上の用量を設定して本試験を実施している。(ただし、用量設定試験で変異原性が認められた場合においては、生育阻害の有無にかかわらず、化学物質の用量の増加とともに復帰変異コロニー数が明らかに増加していることが確認でき、かつ最大比活性値を求めるための用量設定(用量設定試験において得られた最大比活性値を得た用量近辺での用量設定をいう。)を行うことでも差し支えない。)	
(9-3 不純物等の取扱いについて)	9-3	被験物質が分解するなどの理由により、溶媒が除去不可能な場合に、溶媒が試験に影響を及ぼさないことを示すデータ、若しくは文献を示している。(データ、文献がなく、溶媒により被験物質の試験結果に影響をうける可能性がある場合には、溶媒も被験物質の一部とし、被験物質の名称も溶媒が含まれるような表記としていること。)	
(9-4 比活性値の計算について)	9-4-1	物質全体の評価が陽性的の場合、用量設定試験及び本試験(確認試験等を実施した場合はそれを含む。)のそれぞれに、復帰変異コロニー数が陰性対照値の2倍を1用量(生育阻害が見られた最も低い用量もこれに含む。)以上超えた菌株について、当該用量での比活性値の計算を行い、安衛法様式に定める比活性値表に各菌株毎(代謝活性化の有無別)の最大比活性値を記載している。	
	9-4-2	計算すべき比活性値(復帰変異コロニー数が陰性対照値の2倍を超えた用量段階での比活性値)を誤りなく計算している。	
	9-4-3	最大比活性値を計算する場合に、コロニー数は安衛法様式に記載されている平均値を用いている。	
(9-5 対照物質の使用について)	9-5-1	陽性対照物質の濃度が用量設定試験と本試験で同じになっている。	

微生物を用いた変異原性試験結果報告書作成において留意すべき事項
(報告書チェックリスト)

項目	項番	内容	チェック
(9-6 試験結果表の記載について)	9-6-1	プレート毎の復帰変異コロニー数を記載するとともに、平均値を記載している。(平均値のみの記載となっていない。)	
	9-6-2	復帰変異コロニー数の平均値を誤りなく計算している。	
	9-6-3	別表の「試験結果表」に試験実施期間を記入している。	
	9-6-4	別表の「試験結果表」に記載する名称は、「1. 一般的事項」の「新規化学物質の名称(IUPAC命名法による)」又は「別名」を記載している。	
	9-6-5	陽性対照物質の記載が別表の「試験結果表」と試験施設が所有する「陰性・陽性対照物質における復帰変異コロニー数に係るヒストリカルデータ(過去に実施した試験を一定量蓄積したデータ。以下同じ。)の結果表」で同じである。	
(9-7 復帰変異コロニーの計測について)	9-7-1	沈殿や生育阻害がある場合に別表の「試験結果表」にその旨の記載をしている。(例;「数値の右の*印は、菌の生育阻害の、#印は沈殿の認められたものです。」)	
	9-7-2	数えられているコロニーが復帰変異コロニーである。(見分け方;生育阻害の程度によってバックグラウンドが疎又は透明になり、アミノ酸(ヒスチジン、トリプトファン)要求性の、未復帰変異の生存菌がプレート中に残存するアミノ酸を利用して目で観察できる大きさのコロニー(復帰変異コロニーよりも小さく透明感がある)を形成することがしばしばあるが、これは復帰変異コロニーではない。)	
(9-8 試験の有効性について)	9-8-1	用量設定試験と本試験の対照値(陽性(陰性)対照)がヒストリカルデータから計算した結果、有効となる範囲(試験機関により設定は異なるが、概ね「平均値±(試験機関毎に定められる定数)×標準偏差」となっている。)内に入っている。(ただし、有効となる範囲でも低すぎる数値(例;TA100の陰性対照の復帰変異コロニー数がプレート当たり100を大きく下回っている。過去の陽性(陰性)対照の復帰変異コロニー数に比べると明らかに減少している。)だと、菌株や陽性対照物質が劣化していることが考えられるので、注意が必要である。)	
(9-9 確認試験の実施について)	以下のような場合において確認試験を実施している。(又は確認試験の実施について検討したがしないこととした理由が明記されている。)		
	9-9-1	・それぞれの菌株について、用量設定試験と本試験の結果が陰性と陽性に分かれる場合(陽性か陰性かを判定するための確認試験を検討すべき。)	
	9-9-2	・化学物質の用量の増加とともに復帰変異コロニー数が明らかに増加しており、かつ復帰変異コロニー数の最大値が陰性対照と比較して2倍に近い値となる結果に用量設定試験と本試験から再現性があると認められる場合(ある用量で復帰変異コロニー数が陰性対照の2倍となる可能性があり、陽性か陰性かを判定するための確認試験を検討すべき。)	
	9-9-3	・用量設定試験及び本試験の結果からは陰性であるが、低用量になるにつれ復帰変異コロニー数が増加傾向にある場合(量・反応曲線がU字型を示す場合では、低用量で復帰変異コロニー数が陰性対照の2倍となると、最大比活性値が 10^3 revertant/mgを超える可能性があるため、確認試験を検討すべき。)	
	9-9-4	・比活性値が本試験における最低用量で一番大きくなっており、さらに低用量まで実施されていれば、本被験物質の最大比活性値が得られると考えられる場合。(試験結果からは陽性であるが、低用量で最大比活性値が 10^3 revertant/mgを超え、強い変異原性物質となる可能性があるため、確認試験を検討すべき。)	

微生物を用いた変異原性試験結果報告書作成において留意すべき事項
(報告書チェックリスト)

項 目	項番	内 容	チェック
(9-10 確認試験実施の留意点について)	9-10-1	確認試験の用量設定の根拠を参考事項に示している。(用量設定は、用量設定試験及び本試験における生育阻害の出現用量を考慮して行っていること。また、復帰変異コロニー数の上昇の有無が適切に評価できるような公比または公差で実施していること。)	
	9-10-2	代謝活性化法により試験を実施する場合、代謝活性化によらない場合の陰性対照試験と陽性対照試験を含めて実施している。	
(9-11 その他)	9-11	試験に影響を与える物性(光反応性等)に対しての対策(蛍光灯の取扱等)を示している。	
10. その他	10-1	「10.その他」の後に、安衛法様式を作成した責任者の所属を記載し、署名又は記名押印をしている。(当該試験を実施したGLP適合機関において安衛法様式を作成している場合(試験を実施した試験責任者が在籍中に安衛法届出様式を作成した場合に限る。)を除く。)	
補:コピー(3部)の作成について	補-1	陳述書、信頼性保証書及びGLP適合確認を受けたことを証する公的書面を添付している。	
	補-2	「10. その他」の「試験実施施設」の名称を残している。(届出者と試験施設が同一の場合を含む)	
	補-3	安衛法様式に試験施設が別途作成した表紙が添付された場合等に記載されている、届出事業者の名称を消している。	