

『アセチルクエン酸トリブチルの細菌を用いる復帰突然変異試験』

PROJECT No. H-00348

平成 13 年 3 月 30 日

群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸 3303-58

株式会社 実医研

細菌を用いる復帰突然変異試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)		アセチルクエン酸トリブチル				
別 名						
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合は、その製法の概要)		<div>$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{COOC}_4\text{H}_9 \\ \\ \text{CH}_3\text{COO}-\text{C}-\text{COOC}_4\text{H}_9 \\ \\ \text{CH}_2\text{COOC}_4\text{H}_9 \end{array}$</div> <div>$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_8$</div>				
試験に供した新規 化学物質の純度	98.8%	試験に供した新規 化学物質の Lot No.				
不純物の名称及び濃度						
C A S 番 号	77-90-7	蒸 気 圧				
分 子 量	402.49	分 配 係 数				
融 点	-80℃	常温における性状	無色～わずかにうすい黄色、 澄明な液体			
沸 点	173℃					
安 定 性						
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	不溶	安定	DMSO	—	—
	アセトン	溶解	—	その他 ()	—	—

2. 試験に用いた菌株

菌株名	入 手 先	入手年月日
TA98	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	2000 年 8 月 22 日
TA100	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	2000 年 8 月 22 日
TA1535	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	2000 年 8 月 22 日
TA1537	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	2000 年 8 月 22 日
WP2uvrA	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	2000 年 8 月 22 日

3.S9 mix

(1) S9 の入手方法等

自製・購入の別	1.自製 ②.購入（製造年月日：キッコーマン株式会社）
製造年月日	2000 年 9 月 1 日
購入の場合の Lot No.	RAA-432
保存温度	-80℃以下（設定温度；-85℃）

(2) S9 の調製方法

使用動物		誘導物質	
種・系統	ラット・SD 系	名 称	PB および 5,6-BF
性	雄	投与方法	腹腔内投与
週 令	7 週	投与期間及び投与量 (g/kg 体重)	PB 0.03g/kg 1 回
体 重	198~231g		PB 0.06g/kg 3 回
			5,6-BF 0.08g/kg 1 回

(3) S9mix の組成

成 分	S9mix 1mL 中の量	成 分	S9mix 1mL 中の量
S9	0.1 mL	NADPH	4 μmol
MgCl ₂	8 μmol	NADH	4 μmol
KCl	33 μmol	Na-リン酸緩衝液	100 μmol
グルコース-6-リン酸	5 μmol	その他 ()	—

4.被験物質溶液の調製

使用溶媒	名称	製造元	Lot No.	グレード	純度 (%)
	DMSO	和光純薬工業株式会社	SEH4223	特級	99.0
溶媒選択の理由	事前に DMSO での溶解性を目視により確認した結果、溶解し、かつ、発熱、発泡、着色が認められなかったため安定であると判断したことから DMSO を選択した。				
被験物質溶液の性状	溶解 懸濁 その他 ()				
被験物質が難溶性の場合における懸濁の方法	—				
溶液の調製から使用までの 保存時間と温度	0 時間 00 分 (用時調製) 室温				
純度換算の有無	有 無				

5.前培養の条件等

(1) 条件

ニュートリエントブロス	名称	製造元	Lot No.
	Nutrient broth No.2	OXOID 社	028 59355
前 培 養 時 間	10 時間 00 分		
培養容器 (形状・容量)	L 字型試験管・15×80×180mm		
培 養 液 量	12mL	接 種 菌 量	24 μL

(2) 前培養終了時の生菌数等

菌 株 名		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
生菌数 ($\times 10^9/\text{mL}$)	用 量 設 定 試 験	1.3	1.5	2.9	2.1	1.5
	本 試 験	1.2	1.4	2.5	1.8	1.2
	確 認 試 験	1.3	1.5	2.7	2.1	1.4
測 定 方 法		①.O.D.値より換算 2.段階希釈法 3.その他 ()				

6.最小グルコース寒天平板培地

自 製 ・ 購 入 の 別	1.自製 ②.購入（製造元：極東製薬工業株式会社）
製 造 年 月 日	2000 年 11 月 16 日 製造
購 入 の 場 合 の Lot No.	DZA1BG01
使用寒天の名称・製造元・Lot No.	Agar、OXOID、Lot No.802714

7.試験の方法

(1) 試験方法とその選択理由

採用した試験方法	①.ブレインキュベーション法 ②.プレート法 3.その他 ()
その他の場合はその選択理由	

(2) 試験条件

組 成	菌 懸 濁 液	0.1 mL
	被 験 物 質 溶 液	0.1 mL
	Na・リン酸緩衝液（直接法による場合）	0.5 mL
	S9mix（代謝活性化法による場合）	0.5 mL
	ト ッ プ ア ガ ー	2.0 mL
	そ の 他 ()	
ブレインキュベーション	温 度	37 °C
	時 間	20 分
インキュベーション	温 度	37 °C
	時 間	48 時間

8.コロニー計測の方法

計 測 方 法	①.マニュアル計測 ②.機器計測
補 正 の 有 無	①.無 2.有（補正の方法）

9. 結果の判定及び参考事項

(1) 試験結果は別表および図による

(2) 結果の判定

判 定 (いずれかを○で囲むこと)	陽性	陰性
<p>判定の理由</p> <p>本被験物質の復帰変異コロニー数は用量設定試験、本試験および確認試験ともに用量依存性ならびに陰性対照群の2倍以上の増加を認めなかった。また、生育阻害は認められなかった。被験物質の沈澱は各試験菌株で認められ、その濃度は代謝活性化によらない場合では2500 μg/plate以上、代謝活性化による場合では5000 μg/plateであった。</p> <p>一方、各試験菌株の陽性対照群の復帰変異コロニー数はいずれも陰性対照群と比較して顕著な増加が認められた。</p> <p>以上の結果より、当該試験条件下におけるアセチルクエン酸トリブチルの変異原性は陰性と判断された。</p> <p>データの統計学的処理はしていない。</p> <p>その他、試験の信頼性に影響を及ぼした要因はない。</p>		

(3) 考事項

<p>本被験物質は、用量設定試験（プレート法）の結果、生育阻害は認められなかった。被験物質の沈澱は各試験菌株で認められ、その濃度は代謝活性化系の有無に関わらず5000 μg/plateであった。このことから、本試験の最高用量を5000 μg/plateに設定し、以下公比2で2500、1250、625、312.5および156.3 μg/plateの計6用量で実施した。</p> <p>本試験（プレート法）の結果、各試験菌株の被験物質群の復帰変異コロニー数は用量依存性ならびに陰性対照群の2倍以上の増加を認めなかったことから陰性と判定した。</p> <p>本試験の結果が陰性であった場合には、別の方法で再現性を確認する必要があるため、確認試験をプレインキュベーション法で実施した。確認試験では本試験とほぼ同様な結果が得られ、再現性が確認された。</p> <p>各陰性対照群および陽性対照群の復帰変異コロニー数は、用量設定試験および本試験のいずれもバックグラウンドデータ（添付資料 1、2）の近似値であったことから、当該試験が適正な条件下で実施されたことが確認された。</p> <p>用量設定試験および本試験で実施した無菌試験では、雑菌の汚染は認められなかった。</p>	
--	--

10. その他

試験実施施設	名称	株式会社 実医研 榛名試験所
	所在地	群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸 3303-58 電話 0279 (69) 2216 FAX (0279) 2851
試験責任者	職氏名	████████████████████
	経験年数	████████████████████
試験期間	平成 13 年 12 月 21 日 より 平成 13 年 3 月 30 日	
試験番号	H-00348	

[別 表 1]

用量設定試験結果表

被験物質の名称 : アセチルクエン酸トリブチル

試験実施期間		2000年12月21日より2000年12月25日					
代謝活性 化 系 の 有 無		被験物質の用量 (μg /プレート)	復 帰 変 異 数 (コロニー数/プレート)				
			塩 基 対 置 換 型			フ レ ー ム シ フ ト 型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
-S9 mix	陰 性 対 照 (DMSO)	152 133 (143)	17 18 (18)	38 39 (39)	24 38 (31)	12 10 (11)	
	5	122 151 (137)	9 11 (10)	27 29 (28)	28 25 (27)	11 12 (12)	
	10	141 143 (142)	16 12 (14)	36 41 (39)	28 37 (33)	14 13 (14)	
	50	147 152 (150)	20 17 (19)	48 34 (41)	29 27 (28)	11 11 (11)	
	100	136 129 (133)	8 15 (12)	45 35 (40)	27 33 (30)	8 14 (11)	
	500	139 161 (150)	18 13 (16)	33 40 (37)	27 30 (29)	10 14 (12)	
	1000	134 156 (145)	19 15 (17)	37 33 (35)	22 26 (24)	9 13 (11)	
	5000 †	159 142 (151)	10 14 (12)	42 27 (35)	31 37 (34)	9 11 (10)	
	+S9 mix	陰 性 対 照 (DMSO)	165 151 (158)	15 16 (16)	36 40 (38)	42 30 (36)	15 15 (15)
5		141 135 (138)	15 20 (18)	44 37 (41)	37 47 (42)	21 17 (19)	
10		167 135 (151)	20 19 (20)	35 43 (39)	32 35 (34)	11 15 (13)	
50		163 159 (161)	16 18 (17)	49 37 (43)	41 41 (41)	20 13 (17)	
100		156 169 (163)	19 14 (17)	46 39 (43)	42 38 (40)	20 24 (22)	
500		147 146 (147)	22 19 (21)	40 43 (42)	43 39 (41)	17 13 (15)	
1000		150 150 (150)	19 24 (22)	52 46 (49)	39 35 (37)	16 16 (16)	
5000 †		144 150 (147)	17 17 (17)	34 38 (36)	32 47 (40)	17 16 (17)	
陽 性 対 照		S9mix を必要と しないもの	名 称	AF-2	SA	AF-2	AF-2
	用量(μg /プレート)		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数 /プレート		476 493 (485)	476 454 (465)	197 226 (212)	590 593 (592)	687 562 (625)
	S9mix を必要と するもの	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		用量(μg /プレート)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数 /プレート	1069 1172 (1121)	187 205 (196)	1030 1140 (1085)	515 544 (530)	304 234 (269)

[備考]

() : 復帰変異コロニー数の平均値

† : 被験物質の沈殿

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、SA : Sodium azide、9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

DMSO : Dimethyl sulfoxide

PROJECT No. H-00348

被験物質の名称 : アセチルクエン酸トリブチル

試験実施期間		2001年2月13日より2001年2月16日					
代謝活性 化 系 の 有 無	被験物質の用量 (μg /プレート)	復帰変異数 (コロニー数/プレート)					
		塩 基 対 置 換 型			フ レ ー ム シ フ ト 型		
		TA 100	TA 1535	WP 2 uvrA	TA 98	TA 1537	
-S9 mix	陰 性 対 照 (DMSO)	147	13	25	31	15	
		155 (148)	11 (13)	29 (27)	31 (30)	13 (14)	
		143	15	27	28	14	
	156.3	132	10	26	30	15	
		148 (146)	11 (10)	25 (24)	36 (32)	12 (13)	
		157	9	21	30	11	
	312.5	147	9	23	35	11	
		159 (148)	14 (13)	33 (28)	35 (36)	10 (12)	
		139	15	28	38	16	
	625	114	13	24	35	9	
		122 (128)	16 (14)	34 (29)	31 (32)	10 (10)	
		149	12	29	30	10	
	1250	125	9	30	30	11	
		128 (136)	12 (13)	26 (32)	34 (34)	14 (11)	
		154	17	40	39	8	
2500 †	116	10	24	34	7		
	120 (123)	12 (12)	28 (30)	32 (35)	9 (8)		
	132	15	37	39	8		
5000 †	116	16	27	39	9		
	122 (122)	14 (13)	28 (26)	31 (35)	13 (10)		
	128	9	23	36	7		
+S9 mix	陰 性 対 照 (DMSO)	157	12	30	49	10	
		169 (156)	15 (14)	35 (32)	42 (45)	8 (10)	
		141	15	30	45	12	
	156.3	144	17	34	47	8	
		156 (155)	17 (17)	27 (32)	49 (45)	11 (10)	
		165	16	34	40	10	
	312.5	145	19	31	37	10	
		163 (151)	13 (15)	32 (32)	45 (42)	8 (11)	
		144	12	32	44	16	
	625	152	16	36	45	11	
		157 (155)	21 (20)	34 (36)	42 (45)	14 (13)	
		156	24	38	47	14	
	1250	159	12	34	42	9	
		156 (153)	13 (12)	35 (35)	44 (43)	11 (12)	
		145	12	35	43	17	
2500	170	15	26	45	12		
	156 (166)	20 (17)	27 (28)	45 (47)	10 (10)		
	171	17	32	50	8		
5000 †	138	18	27	40	8		
	143 (138)	13 (16)	33 (30)	43 (41)	7 (9)		
	133	16	31	39	11		
陽 性 対 照	S9mix を必要とし ないもの	名 称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
		用量(μg /プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数 /プレート	411 491 (479) 534	470 455 (475) 499	208 209 (195) 167	472 556 (513) 510	463 455 (497) 573
	S9mix を必要と するもの	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		用量(μg /プレート)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数 /プレート	1125 1150 (1130) 1115	273 254 (271) 285	997 955 (1054) 1211	679 665 (655) 620	152 206 (180) 183

[備考]

() : 復帰変異コロニー数の平均値

† : 被験物質の沈殿

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA : Sodium azide、9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

PROJECT No. H-00348

被験物質の名称 : アセチルクエン酸トリブチル

試験実施期間		2001年2月22日より2001年2月26日				
代謝活性 化 系 の 有 無	被験物質の用量 (μ g/プレート)	復帰変異数 (コロニー数/プレート)				
		塩 基 対 置 換 型			フ レ ー ム シ フ ト 型	
		TA 100	TA 1535	WP 2 uvrA	TA 98	TA 1537
-S9 mix	陰 性 対 照 (DMSO)	140	15	33	30	9
		149 (145)	12 (13)	28 (29)	28 (31)	13 (11)
		146	11	26	36	11
	156.3	164	16	24	29	13
		158 (159)	5 (10)	26 (25)	26 (28)	9 (12)
		155	10	25	30	14
	312.5	159	13	26	36	13
		152 (157)	12 (12)	23 (27)	29 (34)	13 (13)
		160	11	31	36	14
	625	149	14	37	26	13
		158 (148)	21 (16)	27 (35)	33 (28)	11 (13)
		136	13	40	25	15
	1250	154	14	26	38	7
		149 (149)	19 (16)	30 (30)	34 (34)	12 (11)
		145	14	33	31	15
+S9 mix	陰 性 対 照 (DMSO)	140	11	28	32	15
		148 (146)	15 (13)	29 (29)	31 (29)	13 (13)
		150	14	29	25	10
	156.3	139	11	23	22	11
		131 (136)	9 (11)	32 (28)	28 (26)	13 (11)
		139	12	30	27	9
	312.5	162	22	37	48	16
		157 (160)	20 (19)	33 (34)	37 (41)	18 (17)
		161	14	31	38	18
	625	150	20	30	38	17
		162 (154)	18 (19)	31 (32)	48 (43)	14 (16)
		151	20	36	44	17
	1250	141	12	34	41	13
		150 (147)	12 (13)	39 (35)	33 (38)	18 (15)
		149	14	31	41	14
陽 性 対 照	S9 mix を必要と しないもの	145	14	46	38	20
		134 (141)	13 (15)	32 (39)	32 (34)	16 (17)
		143	17	40	32	16
	S9 mix を必要と するもの	149	15	34	45	19
		146 (146)	20 (17)	36 (35)	44 (40)	17 (18)
		144	16	36	30	18
	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		用量(μ g/プレート)	1	2	10	0.5
		コロニー数 /プレート	1030	279	971	572
	名 称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
		用量(μ g/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1
		コロニー数 /プレート	509	401	211	474
	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		用量(μ g/プレート)	1	2	10	0.5
		コロニー数 /プレート	1030	279	971	572

[備考]

() : 復帰変異コロニー数の平均値

† : 被験物質の沈殿

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA : Sodium azide, 9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

PROJECT No. H-00348

被験物質の名称：アセチルクエン酸トリブチル

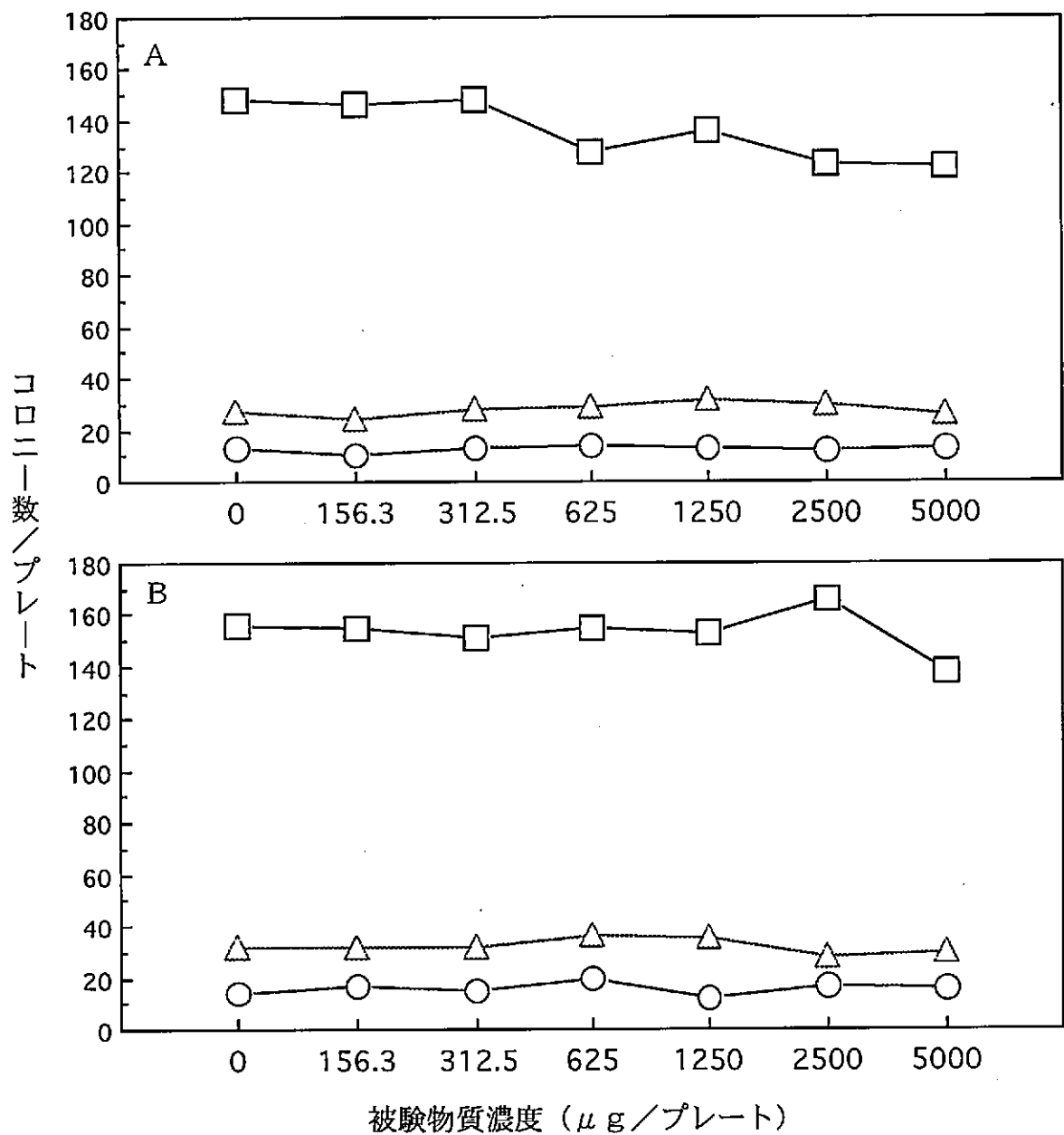


図1 用量—反応曲線（塩基対置換型菌株，本試験）

A：代謝活性化によらない場合（-S9）

B：代謝活性化による場合（+S9）

□：TA100；○：TA1535；△：WP2uvrA

PROJECT No. H-00348

被験物質の名称：アセチルクエン酸トリブチル

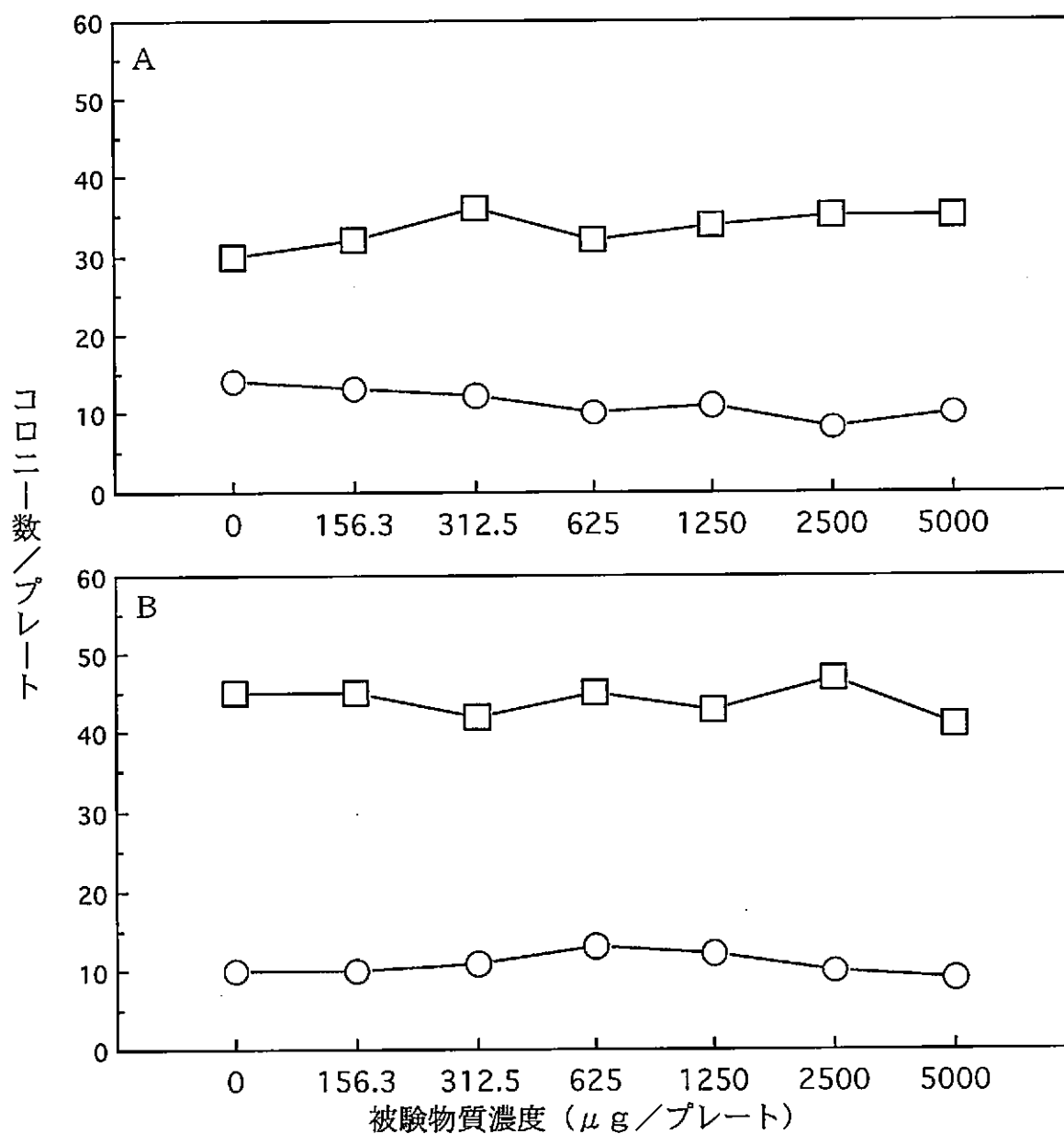


図2 用量-反応曲線 (フレームシフト型菌株, 本試験)

A: 代謝活性化によらない場合 (-S9)

B: 代謝活性化による場合 (+S9)

□: TA98 ; ○: TA1537

PROJECT No. H-00348

被験物質の名称：アセチルクエン酸トリブチル

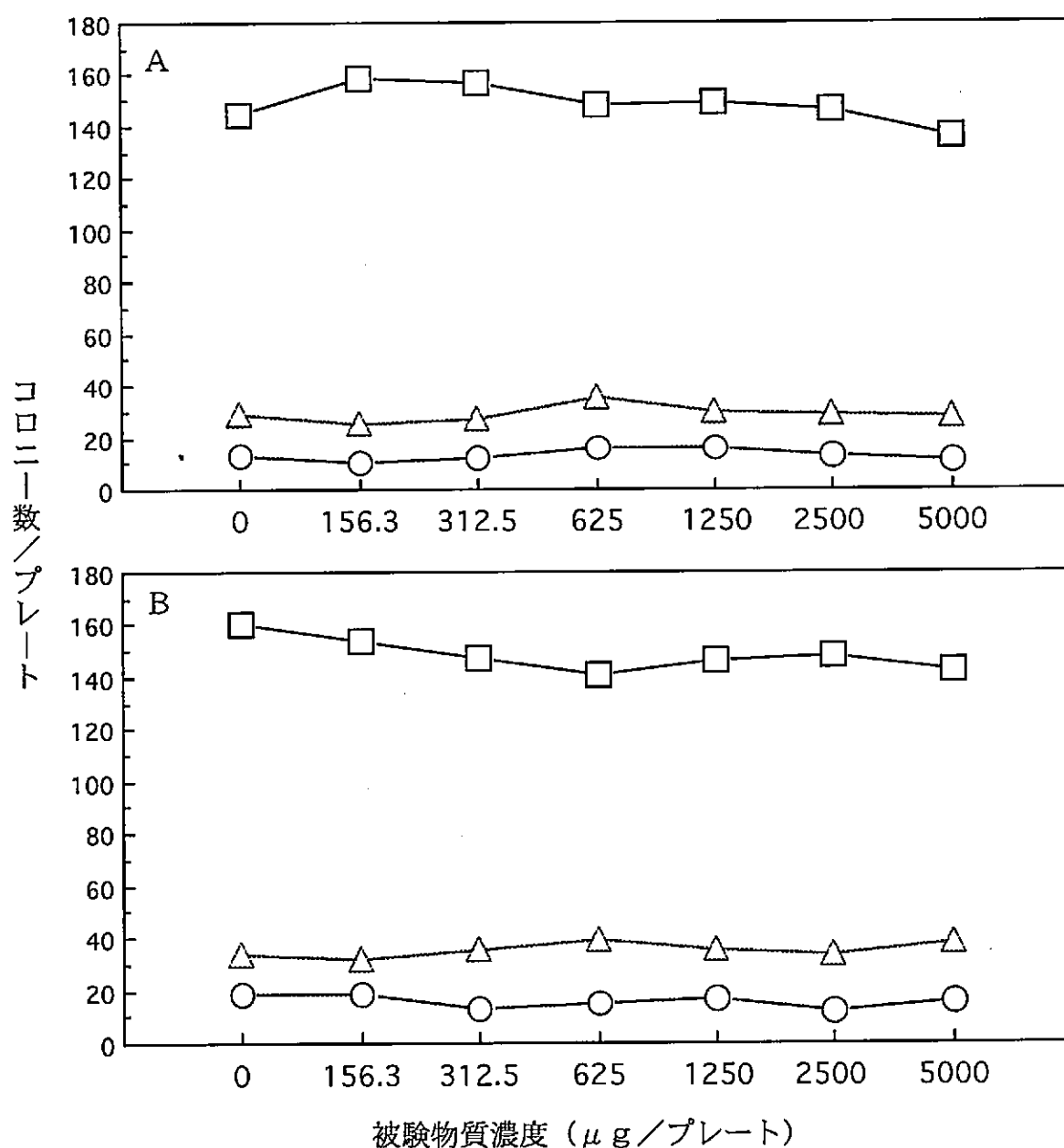


図3 用量-反応曲線（塩基対置換型菌株，確認試験）

A：代謝活性化によらない場合（-S9）

B：代謝活性化による場合（+S9）

□：TA100；○：TA1535；△：WP2uvrA

PROJECT No. H-00348

被験物質の名称：アセチルクエン酸トリブチル

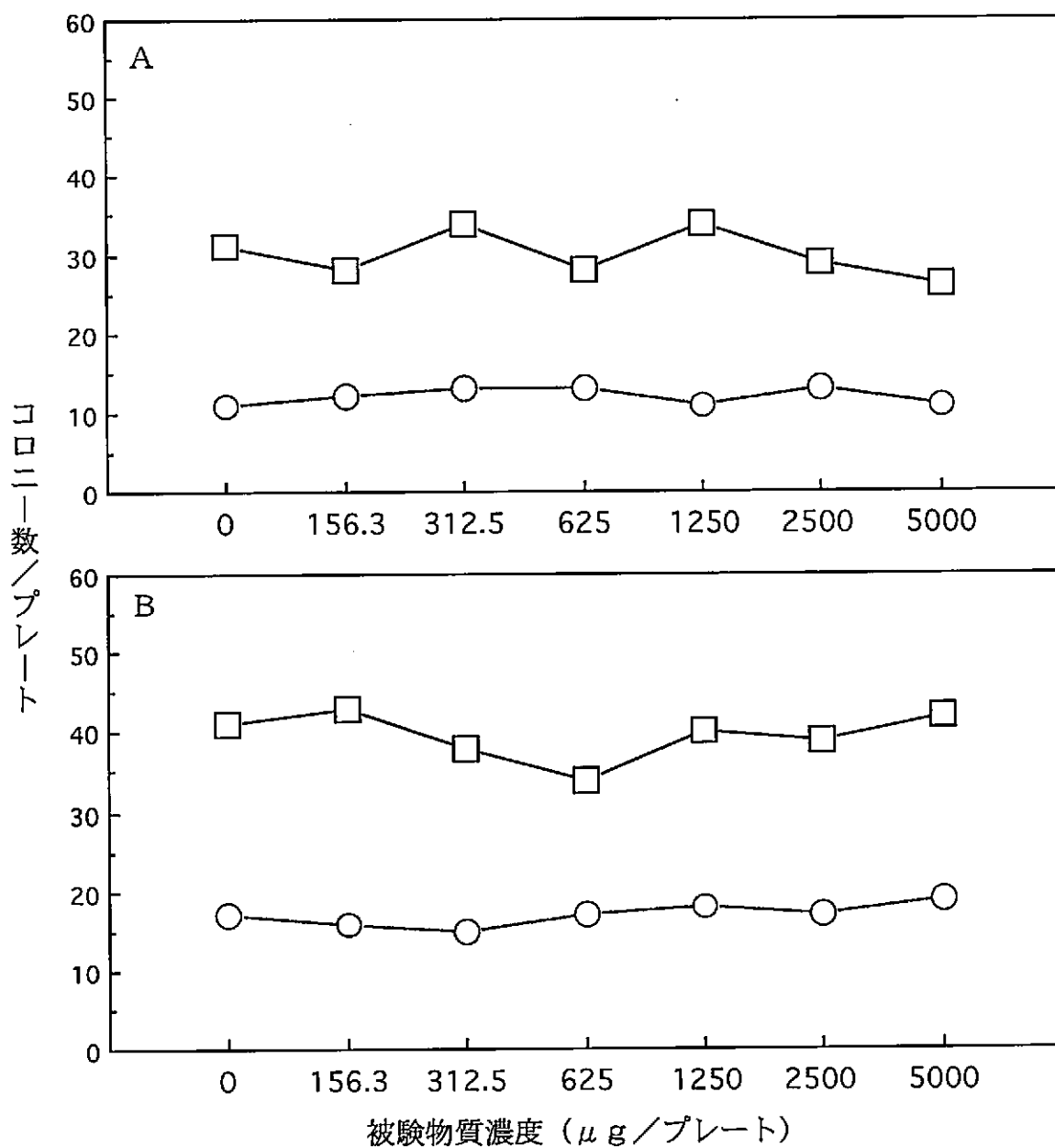


図4 用量-反応曲線 (フレームシフト型菌株, 確認試験)

A : 代謝活性化によらない場合 (-S9)

B : 代謝活性化による場合 (+S9)

□ : TA98 ; ○ : TA1537

PROJECT No. H-00348

添付資料 1

背景データ (Plate法)

陰性対照	DMSO									
S 9 mix	-					+				
菌株名	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
N	77	59	65	77	59	75	59	63	75	59
Mean	136	13	34	25	10	146	15	40	36	15
S.D.	9	3	6	5	2	10	3	6	5	3
2S.D.	18	6	12	10	4	20	6	12	10	6
Mean-2S.D.	118	7	22	15	6	126	9	28	26	9
Mean+2S.D.	154	19	46	35	14	166	21	52	46	21

陽性対照	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
S 9 mix	-					+				
菌株名	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
N	128	74	102	130	74	124	74	98	126	74
Mean	510	528	217	531	597	993	223	974	569	222
S.D.	42	47	35	37	60	97	29	103	47	37
2S.D.	84	94	70	74	120	194	58	206	94	74
Mean-2S.D.	426	434	147	457	477	799	165	768	475	148
Mean+2S.D.	594	622	287	605	717	1187	281	1180	663	296

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、SA : Sodium azide、9-AA : 9-Aminoacridine、

2-AA : 2-Aminoanthracene

収集期間 : 2000年1月 4日～2000年12月28日

PROJECT No. H-00348

陰性対照	DMSO									
S 9 mix	-					+				
菌株名	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
N	261	250	232	247	268	253	241	226	241	258
Mean	133	12	35	24	9	142	14	41	34	14
S.D.	11	3	6	4	2	10	3	6	5	3
2S.D.	22	6	12	8	4	20	6	12	10	6
Mean-2S.D.	111	6	23	16	5	122	8	29	24	8
Mean+2S.D.	155	18	47	32	13	162	20	53	44	20

陽性対照	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
S 9 mix	-					+				
菌株名	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
N	251	237	223	237	255	245	233	219	233	245
Mean	512	516	216	519	592	966	223	941	557	221
S.D.	40	63	30	31	56	95	33	91	43	32
2S.D.	80	126	60	62	112	190	66	182	86	64
Mean-2S.D.	432	390	156	457	480	776	157	759	471	157
Mean+2S.D.	592	642	276	581	704	1156	289	1123	643	285

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、SA : Sodium azide、9-AA : 9-Aminoacridine、

2-AA : 2-Aminoanthracene

DMSO: Dimethyl sulfoxide

収集期間： 2000年1月4日～2000年12月28日

PROJECT No. H-00348

GENETIC TOXICITY IN VITRO (BACTERIAL TEST)

TEST SUBSTANCE

- Identity: O-Acetyl-tributyl citrate (CAS No. 77-90-7)
- Remarks (source): Purity: 98.8%
Stored at 4°C in dark until use. Stability during the period of use was confirmed by HPLC.

METHOD

- Method/guideline: OECD #471 and #472
 - Type of test: Bacterial reverse mutation assay
 - GLP: Yes
 - Year (study performed): January 21, 2001 ~ February 26, 2001
 - Species/Strain: Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA98, TA1537
Escherichia coli Wp2uvrA
 - Metabolic activation:

Species and cell type:
Sprague-Dawley male rat liver homogenates (S9)
Quantity: The S9 of 50 μ L/plate was used.
Induced or not induced:
Induced with phenobarbital and 5,6-benzoflavone.
 - Concentrations tested:

- S9: 0, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 μ g/plate (five strains)
+ S9: 0, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 μ g/plate (five strains)
 - Statistical methods: No statistical method was followed.
- Remarks field for Test Conditions
- Test Design:
- Procedure
- (1) Plate incorporation test with and without S9 using five strains
- (2) Pre-incubation test with and without S9 using five strains
- Number of replicates: 2
- Plates/dose: 3
- Negative control: The solvent, dimethyl sulfoxide was used
- Positive controls:
- S9 mix; 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (TA100, TA98, WP2uvrA), sodium azide (TA1535) and 9-aminoacridine (TA1537)
- + S9 mix; 2-aminoanthracene (five strains).

Description of follow up repeat study:

A confirmation test was carried out in pre-incubation method as negative mutagenic effect (－) was noted in plate incorporation test.

Criteria for evaluating results:

The test substance was judged positive (+) when the number of revertant colonies in the test substance treated plates increased dose dependently and became two-fold or more compared to that of the negative control and this effect was reasonably reproducible or significant reproducible increase was noted at one or more concentrations at least in one strain with or without metabolic activation system and negative (－) when any of the above criteria were not fulfilled.

RESULTS

- Cytotoxic concentration:

Toxicity was not noted up to 5,000 μ g/plate in five strains with and without metabolic activation (S9 mix)

- Genotoxic effects:

- With metabolic activation
- Without metabolic activation

- Statistical analysis:

Statistical analysis was not done.

CONCLUSION

- Bacterial gene mutation:

- With metabolic activation
- Without metabolic activation

DATA QUALITY

- Reliabilities: Valid without restriction

Remarks field for Data Reliability

Well conducted study, carried out by Nippon Experimental Medical Research Institute Co. Ltd., Gunma, Japan.

REFERENCES

None

GENERAL REMARKS

None