

試験目的

Aldh2^{-/-}マウスのアセトアルデヒドに対する感受性を半致死量(LD₅₀ 値)により比較検討した。比較対照には、遺伝的背景が同じである C57BL/6N Crj を使用した。

試験材料および方法

1. 被験物質

被験物質として、産業医科大学より提供された 5%アセトアルデヒド溶液 (SUPELCO、ロット番号: LB08892) を使用した。本被験物質は無色透明の揮発性の溶液であり、密栓したバイアルに入れて冷蔵保存した。投与使用後は、使用前後の濃度が許容範囲内(規定濃度の±5%以内)であったことを HSGC-MS 法で確認した。

2. 使用動物および飼育条件

C57BL/6N Crj (日本チャールス・リバー株式会社) を雌雄各 55 匹購入し、約 1 週間の検疫馴化を行った。また、Aldh2^{-/-}マウス(産業医科大学)を雄 48 匹、雌 46 匹入手し、約 1~2 週間の検疫馴化を行った。この間、両系統の全例について、一般状態の観察および体重測定を実施し、異常がないことを確認した。投与前日に、体重の偏りが少ないように層別連続無作為化法で 1 群雌雄各 8 匹(本試験 1 では雌雄各 5 匹、本試験 2 では雌雄各 3 匹)を選び、5 週齢で試験に使用した。飼育室は、温度 24 ± 2 °C (許容範囲 21 ~ 27 °C)、湿度 55 ± 10 % (許容範囲 35 ~ 75 %)、照明 12 時間 (午前 7 時点灯、午後 7 時消灯) および換気回数 13 ~ 15 回/時に設定したバリアーシステム B 区域内の飼育室 12 番を使用した。動物は、床敷(ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社)を入れたポリカーボネイト製ケージ(W215×H140×D320 mm)に、1 ケージ当たり 2~3 匹ずつ収容して飼育した。飼料は、固型飼料(CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社)を、飲水は次亜塩素酸ナトリウムを添加(約 2ppm)した井戸水を給水瓶により自由に摂取させた。飼育器材、床敷および飼料は高圧蒸気滅菌したものを使用した。ケージは週 2 回交換し、ケージ架台およびケージ蓋は群分け時に 1 回交換した。飼育室は毎日清掃し、消毒薬を浸したモップで清拭した。

3. 試験群構成、投与量設定の根拠および群分け

試験群構成を下表に示した。

C57BL/6N Crj (比較対照)

| 試験群 | 投与量 (mg/kg) | 濃度 (%) | 投与容量 (mL/kg) | 性別 | 動物数 | 動物番号 |
|-----|----------------|-----------|-----------------|----|-----|--|
| I | 515 | 5 | 10.30 | ♂ | 8 | 101~105 ¹⁾ 、106~108 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 201~205 ¹⁾ 、206~208 ²⁾ |
| II | 556 | 5 | 11.12 | ♂ | 8 | 109~113 ¹⁾ 、114~116 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 209~213 ¹⁾ 、214~216 ²⁾ |
| III | 600 | 5 | 12.00 | ♂ | 8 | 117~121 ¹⁾ 、122~124 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 217~221 ¹⁾ 、222~224 ²⁾ |
| IV | 648 | 5 | 12.96 | ♂ | 8 | 125~129 ¹⁾ 、130~132 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 225~229 ¹⁾ 、230~232 ²⁾ |
| V | 700 | 5 | 14.00 | ♂ | 8 | 133~137 ¹⁾ 、138~140 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 233~237 ¹⁾ 、238~240 ²⁾ |

1) 本試験1、2) 本試験2

Aldh2^{-/-}マウス

| 試験群 | 投与量 (mg/kg) | 濃度 (%) | 投与容量 (mL/kg) | 性別 | 動物数 | 動物番号 |
|-----|----------------|-----------|-----------------|----|-----|--|
| 1 | 515 | 5 | 10.30 | ♂ | 8 | 301~305 ¹⁾ 、306~308 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 401~405 ¹⁾ 、406~408 ²⁾ |
| 2 | 556 | 5 | 11.12 | ♂ | 8 | 309~313 ¹⁾ 、314~316 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 409~413 ¹⁾ 、414~416 ²⁾ |
| 3 | 600 | 5 | 12.00 | ♂ | 8 | 317~321 ¹⁾ 、322~324 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 417~421 ¹⁾ 、422~424 ²⁾ |
| 4 | 648 | 5 | 12.96 | ♂ | 8 | 325~329 ¹⁾ 、330~332 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 425~429 ¹⁾ 、430~432 ²⁾ |
| 5 | 700 | 5 | 14.00 | ♂ | 8 | 333~337 ¹⁾ 、338~340 ²⁾ |
| | | | | ♀ | 8 | 433~437 ¹⁾ 、438~440 ²⁾ |

1) 本試験1、2) 本試験2

C57BL6N Crj マウスを用いた予備試験の結果、雄では、550 mg/kg 群の 0/3 例、600 mg/kg 群の 2/3 例、650 mg/kg 群の 3/3 例が死亡し、雌では、550 mg/kg 群の 0/3 例、650 mg/kg 群の 2/3 例、700 mg/kg 群の 3/3 例が死亡した。したがって、本試験1、2の投与量は、雌雄ともに、确实致死量と考え

られる700 mg/kgを最高用量とし、以下、公比1.08で徐した648、600、556、515を設定した。なお、Aldh2^{-/-}マウスについては、以前に実施した予備的検討試験(P020830、(株)パナファーム・ラボラトリーズ)において、遺伝的背景が同じC57BL6N Crj マウスとの急性致死量に明らかな差はなかったことから、C57BL6N Crj マウスと同じ投与量に設定した。

動物数は、両系統ともに、1群雌雄各8匹とした。群分け後の動物は、黒色の油性フェルトペンによる尾への番号付けおよび耳パンチにより個体識別した。また、各ケージには試験番号、系統名、動物番号、投与量および性別を表示したラベルを各ケージの前面に付けた。群分け後の残余動物は、試験から除外した。

4. 投与経路および投与方法

マイジェクターシリンジ(29G×1/2針、0.5mL、テルモ株式会社)を用いて1回腹腔内投与した。注射筒および投与液は、投与液の揮発を抑えるため氷冷して使用した。なお、個体ごとの投与量は投与日の体重を基に算出した。

5. 観察、検査および測定の頻度および方法

1) 一般状態の観察

観察期間は投与後14日間とした。投与日は投与前、投与直後(0~1分)、投与後5分(1~5分)、15分(5~15分)、30分(15~30分)、45分(30~45分)、1時間(45~60分)、2時間、3時間および6時間に、一般状態の観察および生死の確認を行った。また、投与翌日から投与後14日までは1日2回、一般状態の観察および生死の確認を行った。

2) 体重測定

投与日の投与前(投与0日)、並びに投与後1、3、5、7、10および14日に測定した。

3) 病理学的検査

観察期間中に死亡した動物は、その都度剖検し、肝臓および肉眼的異常器官・組織は、摘出して10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定して保存した。

生存動物は、14日間の観察期間終了後、エーテル麻酔下で放血致死させ剖検した。肝臓および肉眼的異常器官・組織は、摘出して10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定して保存した。ただし、代表例については、肝臓の一部(外側左葉以外)を液体窒素で凍結保存し、ドライアイス凍結保存

下で試験委託者に送付した。また、上記代表例の肝臓(外側左葉)、腎臓、心臓、肺、食道、胃、結腸、脾臓、卵巣および精巣を摘出して 10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定して保存した。代表例の保存した湿標本は、3 日以内に切り出し包埋ブロックを作製し、1 ブロックから 11 枚の連続切片(1.5~2 μ)を作製した。作製した連続切片のうち一枚を HE 染色した。HE 染色標本、未染色標本、包埋ブロックおよび湿標本は、試験委託者に送付した。

7. 統計学的処理

投与後 14 日間の累積死亡動物数から、Probit 法により C57BL/6N Cj (比較対照) および Aldh2^{-/-} マウスの半致死量(LD₅₀ 値)を求め、Aldh2^{-/-} マウスのアセトアルデヒドに対する感受性を半致死量(LD₅₀ 値)により比較検討した。C57BL/6N Cj (比較対照) と Aldh2^{-/-} マウスとの比較は、Student の t 検定を行った。いずれの場合も有意水準を 1 および 5%とした。体重は、各群ごとに平均値と標準偏差を求めた。

試験成績

1. 死亡状況および半致死量(LD₅₀ 値)

死亡状況および半致死量(LD₅₀ 値)を Table 1 に示した。

C57BL/6N マウスでは、556 mg/kg 群の雌 2 例、600 mg/kg 群の雄 5 例および雌 2 例、648 mg/kg 群の雄 7 例および雌 8 例、700 mg/kg 群の雌雄 8 例に認められ、LD₅₀ 値は、雄 602 mg/kg (95%信頼限界 577~624 mg/kg)、雌 598 mg/kg (95%信頼限界 575~625 mg/kg)であった。

一方、Aldh2^{-/-} マウスでは、556 mg/kg 群の雌雄 3 例、600 mg/kg 群の雄 7 例および雌 4 例、648 mg/kg 群の雌雄 8 例、700 mg/kg 群の雌雄 8 例に認められ、LD₅₀ 値は、雄 567 mg/kg (95%信頼限界 545~589 mg/kg)および雌 587 mg/kg (95%信頼限界 564~616 mg/kg)であった。

2. 一般状態観察

観察結果を Table 2、3 および Appendix 1~4 に示した。

C57BL/6N および Aldh2^{-/-} マウスともに、雌雄の 515 mg/kg 以上の群で、投与直後(0~1 分)から活動性低下およびよろめき歩行が認められ、投与後 5 分から皮膚蒼白、腹臥位、昏睡および腹式の深大呼吸が認められた。死亡の発生は、C57BL/6N マウスでは、投与後 15 分から 30 分の間に認められ、Aldh2^{-/-} マウスでは、投与後 5 分から 15 分の間に認められた。死亡例では、C57BL/6N および Aldh2^{-/-} マウスともに、呼吸困難、喘鳴(クリック音)および体温低下が認められた。生存例では、

C57BL/6Nでは、投与後15分ないし45分より、うずくまり、呼吸緩徐、皮膚の紅潮および立毛が認められ、いずれの症状も投与後45分ないし2時間に消失した。また、Aldh2^{-/-}マウスでは、投与後30分ないし1時間より、うずくまり、呼吸緩徐、皮膚の紅潮および立毛が認められ、いずれの症状も投与後1時間ないし2時間に消失した。

3. 体重

体重の推移を Fig. 1、2、Table 4、5 および Appendix 5~8 に示した。

生存した C57BL/6N および Aldh2^{-/-}マウスのすべての投与群で、投与翌日に体重の減少が認められたが、投与後3日より順調な増加が認められた。

4. 剖検

(死亡例)

死亡例の剖検所見を Table 6~9 に示した。

C57BL/6N マウスでは、700 mg/kg 群の雌1例で腎盂拡張が認められたのみで、その他に異常は認められなかった。

Aldh2^{-/-} マウスでは、600 および 700 mg/kg 群の雄1例で腎盂拡張が認められたのみで、その他に異常は認められなかった。

(生存例)

生存例の剖検所見を Table 10~13 に示した。

雌雄の C57BL/6N および Aldh2^{-/-} マウスともに、肉眼的異常は認められなかった。

考 察

アセトアルデヒドを1群雌雄各8匹の C57BL/6N C_{rlj}(ワイルド、対照)および Aldh2^{-/-}(ノックアウトホモ)に515、556、600、648 および 700 mg/kg の用量で1回腹腔内投与し、両系統の半致死量(LD₅₀ 値)および急性毒性について比較検討した。

半致死量(LD₅₀ 値)の比較では、C57BL/6N マウスの LD₅₀ 値が、雄 602 mg/kg (95%信頼限界 577~624 mg/kg) および雌 598 mg/kg (95%信頼限界 575~625 mg/kg) に対して、Aldh2^{-/-} マウスでは、雄 567 mg/kg (95%信頼限界 545~589 mg/kg) および雌 587 mg/kg (95%信頼限界 564~616 mg/kg) であった。

急性中毒症状の比較では、C57BL/6N および Aldh2^{-/-} マウスともに、雌雄の 515 mg/kg 以上の群で、

投与直後(0~1分)から活動性低下およびよろめき歩行が認められ、投与後5分から皮膚蒼白、腹臥位、昏睡および腹式の深大呼吸が認められた。死亡の発生は、C57BL/6N マウスでは、投与後15分から30分の間に認められたのに対して、Aldh2^{-/-}マウスでは、投与後5分から15分の間に認められた。死亡例では、C57BL/6N および Aldh2^{-/-}マウスともに、呼吸困難、喘鳴(クリック音)および体温低下が認められた。生存例では、C57BL/6N では、投与後15分ないし45分より、うずくまり、呼吸緩徐、皮膚の紅潮および立毛が認められ、症状は投与後45分ないし2時間に消失したのに対して、Aldh2^{-/-}マウスでは、投与後30分ないし1時間より、うずくまり、呼吸緩徐、皮膚の紅潮および立毛が認められ、症状は投与後1時間ないし2時間に消失した。

生存例の剖検では、両系統ともに肉眼的異常は認められず、投与翌日の体重減少も早期に回復していることから、アセトアルデヒド投与による毒性学的変化は、両系統ともに早期に回復すると考えられた。なお、死亡例の剖検では、両系統の少数例に腎盂拡張が認められたが、C57BL/6 系マウスでは時折認められる変化であることから、自然発生的変化と考えられた。

以上のように、本試験条件下におけるAldh2^{-/-}マウスの半致死量(LD₅₀値)は、C57BL/6Nに比べてやや低く、急性中毒症状の消失(回復)時間はやや遅く、死亡の発生時間はやや早くなる傾向にあった。Aldh2^{-/-}マウスは、アセトアルデヒド代謝の主酵素であるAldh2遺伝子がノックアウトされているため代謝活性が消失している(試験委託者情報)。このため体内でのアセトアルデヒド消退速度が低下し、致死標的臓器でのアセトアルデヒド最高濃度に差を生じ、半致死量の低下、急性中毒症状の消失時間の遅延、死亡の発生時間がやや早まるなどの傾向が生じたと考えられた。

Aldh2 マウスのアセトアルデヒド単回腹腔内投与
における半致死量(LD₅₀ 値)比較試験

Appendix

目次

頁

| | |
|------------|--|
| Appendix 1 | Individual clinical signs in male C57BL/6N mice |
| Appendix 2 | Individual clinical signs in female C57BL/6N mice |
| Appendix 3 | Individual clinical signs in male <i>Aldh2</i> ^{-/-} mice |
| Appendix 4 | Individual clinical signs in female <i>Aldh2</i> ^{-/-} mice |
| Appendix 5 | Individual body weights in male C57BL/6N mice |
| Appendix 6 | Individual body weights in female C57BL/6N mice |
| Appendix 7 | Individual body weights in male <i>Aldh2</i> ^{-/-} mice |
| Appendix 8 | Individual body weights in female <i>Aldh2</i> ^{-/-} mice |

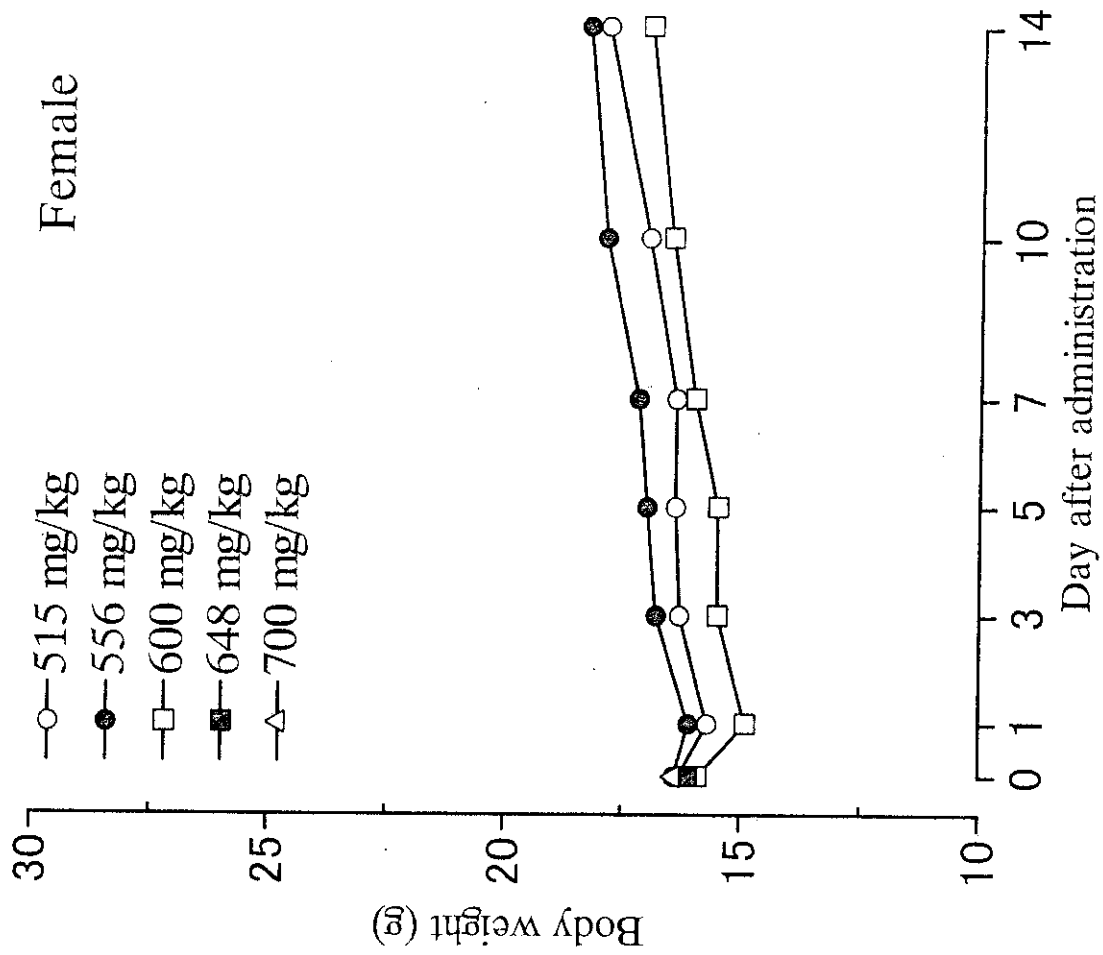
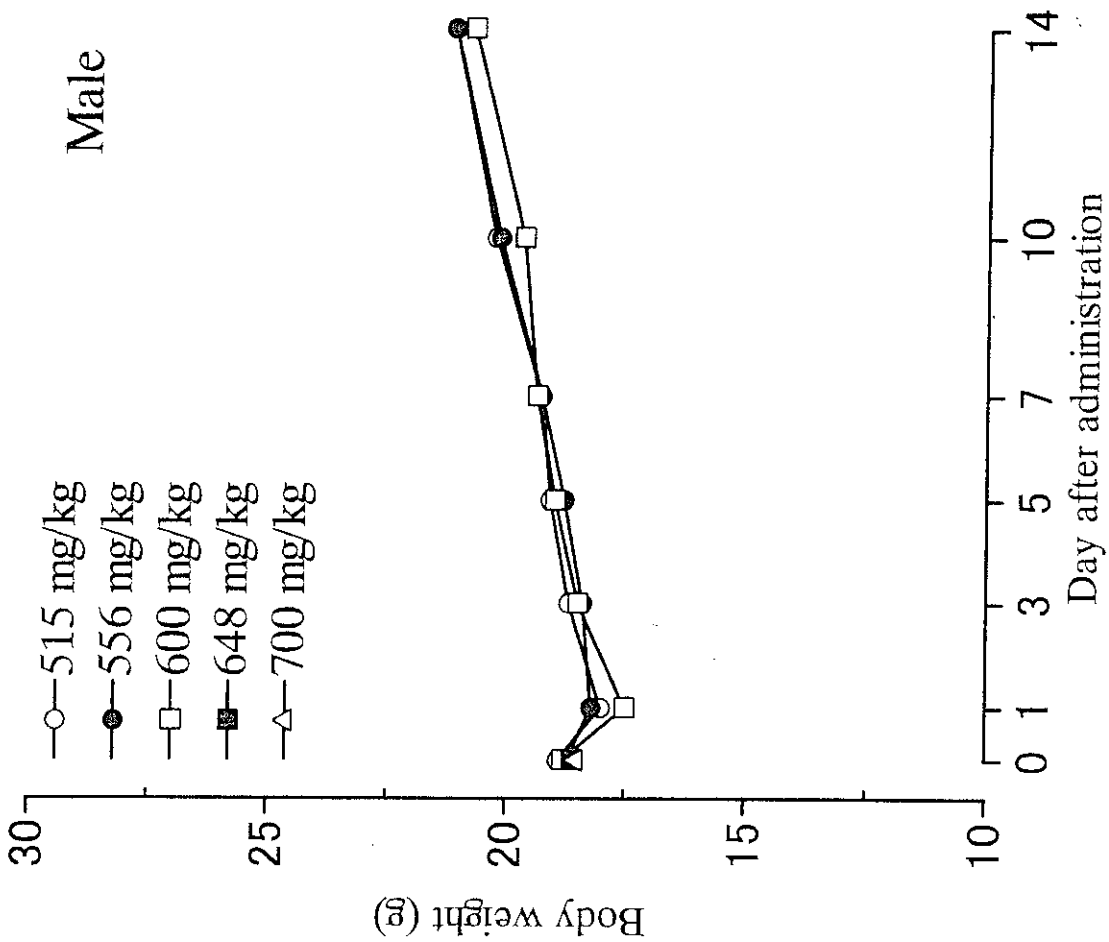


Fig. 1 Body weight changes in C57BL/6N mice

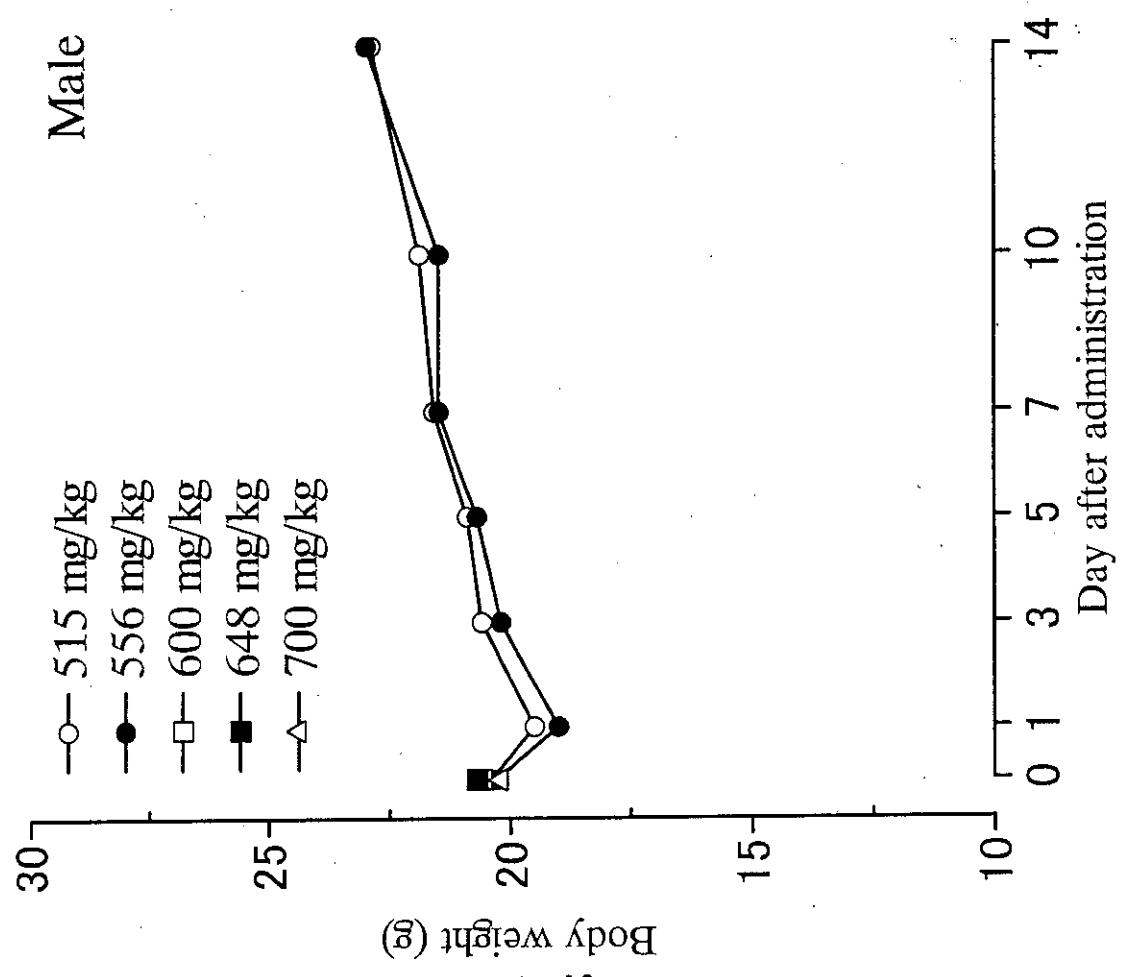
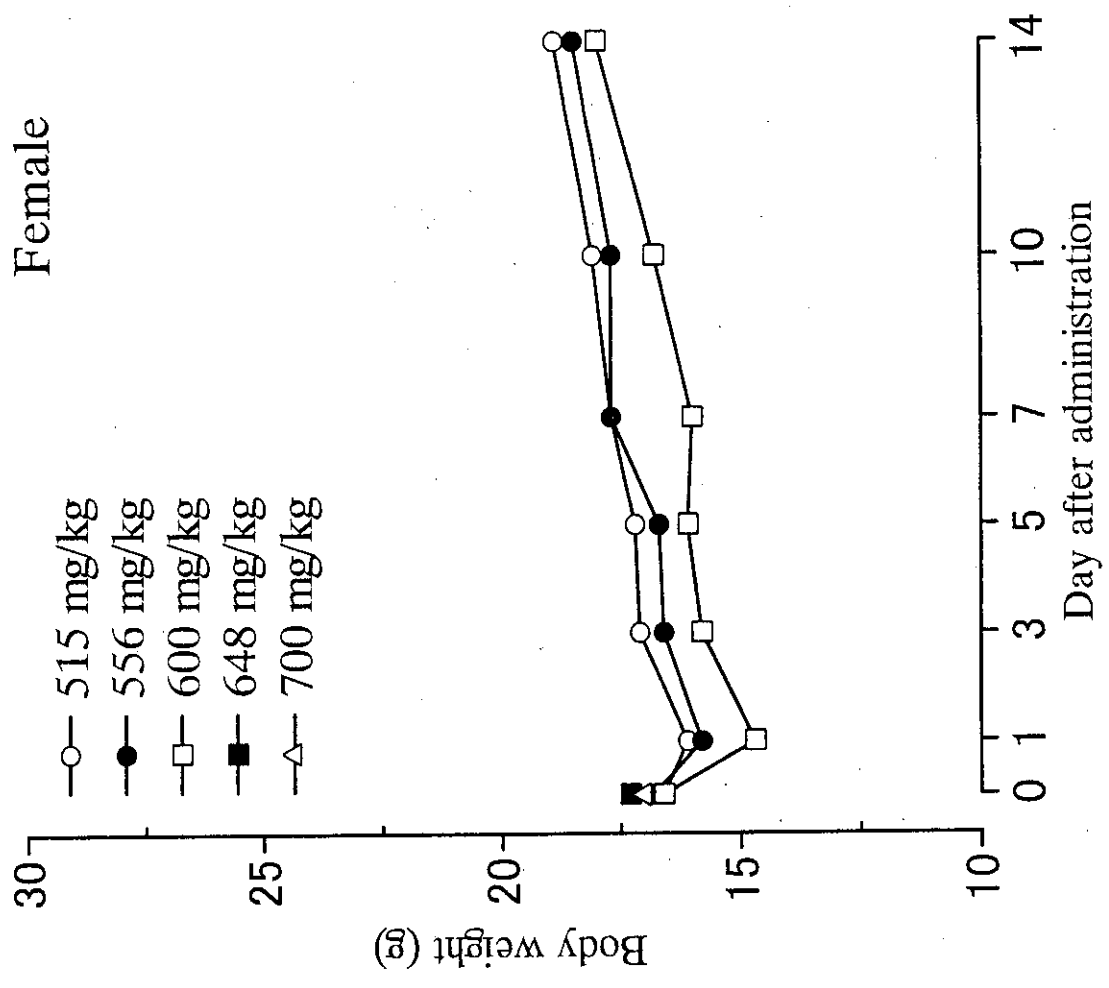


Fig. 2 Body weights change in Aldh2^{-/-} mice

Table 1 Mortality and LD₅₀ value in C57BL/6N mice and Aldh2^{-/-} mice

| Sex | Dose | C57BL/6N | | Aldh2 ^{-/-} | |
|--------|-----------|-----------------------|---|-----------------------|---|
| | | Dead/Number of animal | LD ₅₀ value (95% confidence limits) | Dead/Number of animal | LD ₅₀ value (95% confidence limits) |
| Male | 515 mg/kg | 0/8 | | 0/8 | |
| | 556 mg/kg | 0/8 | | 3/8 | |
| | 600 mg/kg | 5/8 | 602 mg/kg (577~624 mg/kg) | 7/8 | 567 mg/kg (545~589 mg/kg) |
| | 648 mg/kg | 7/8 | | 8/8 | |
| | 700 mg/kg | 8/8 | | 8/8 | |
| Female | 515 mg/kg | 0/8 | | 0/8 | |
| | 556 mg/kg | 2/8 | | 3/8 | |
| | 600 mg/kg | 2/8 | 598 mg/kg (575~625 mg/kg) | 4/8 | 587 mg/kg (564~616 mg/kg) |
| | 648 mg/kg | 8/8 | | 8/8 | |
| | 700 mg/kg | 8/8 | | 8/8 | |

Table 2 Clinical signs in C57BL/6N mice

| Sex | Group and dose | Clinical sign | Days | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|----------------|----------------------------|-----------|--------------------|-------|-------|-------|------|------|------|------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | JUS | 5min | 15min | 30min | 45min | 1 hr | 2 hr | 3 hr | 6 hr | 1 | 2 | 3 | | | | | | |
| Male | 515 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | | |
| | | No abnormality | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Hypoactivity | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Staggering gait | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Pale skin | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Prone position | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Coma | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Abdominal deep respiration | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Crouching | 0 | 0 | 5 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Bradypnea | 0 | 0 | 5 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Flushing | 0 | 0 | 5 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Piloerection | 0 | 0 | 5 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Male | 556 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | | | No abnormality | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | Hypoactivity | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Staggering gait | 8 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Pale skin | 0 | | | 8 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Prone position | 0 | | | 8 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Coma | 0 | | | 8 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Abdominal deep respiration | 0 | | | 8 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Crouching | 0 | | | 0 | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Bradypnea | 0 | | | 0 | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Flushing | 0 | | | 0 | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Piloerection | 0 | | | 0 | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |

Table 2 - continued Clinical signs in C57BL/6N mice

| Sex | Group and dose | Clinical sign | Days | | | | | | | | | |
|------|----------------|----------------------------|------|------|-------|-------|-------|------|------|------|------|--|
| | | | 0 | | | | | | | | | |
| | | | JUS | 5min | 15min | 30min | 45min | 1 hr | 2 hr | 3 hr | 6 hr | |
| Male | 700 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Hypoactivity | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Staggering gait | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Pale skin | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Prone position | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Coma | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Abdominal deep respiration | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Dyspnea | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Wheezing | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Hypothermia | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |

Table 2 - continued Clinical signs in C57BL/6N mice

Study No. P030002

| Sex | Group and dose | Clinical sign | Days | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|----------------|----------------------------|-----------|--------------------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|---|---|---|---|
| | | | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | | | | |
| Male | 515 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | |
| | | No abnormality | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Hypoactivity | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Staggering gait | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Pale skin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Prone position | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Coma | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Abdominal deep respiration | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Crouching | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Bradypnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Flushing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Piloerection | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 556 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| | | | | No abnormality | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| | | | | Hypoactivity | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Staggering gait | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Pale skin | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Prone position | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Coma | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Abdominal deep respiration | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Crouching | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Bradypnea | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Flushing | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Piloerection | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |

Table 2. - continued Clinical signs in C57BL/6N mice

| Sex | Group and dose | Clinical sign | Days | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|----------------|----------------------------|-----------|--------------------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|---|---|---|---|---|---|
| | | | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | | | | | | |
| Male | 600 mg/kg | Number of examined | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | |
| | | No abnormality | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Hypoactivity | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Staggering gait | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Pale skin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Prone position | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Coma | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Abdominal deep respiration | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Dyspnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Wheezing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Hypothermia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Crouching | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Bradypnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Flushing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Piloerection | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 648 mg/kg | Number of examined | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| No abnormality | 1 | | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| Dead | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hypoactivity | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Staggering gait | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pale skin | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Prone position | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Coma | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Abdominal deep respiration | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Dyspnea | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Wheezing | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hypothermia | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Crouching | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Bradypnea | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Flushing | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Piloerection | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Table 2 - continued Clinical signs in C57BL/6N mice

Study No. P030002

| Sex | Group and dose | Clinical sign | Days | | | | | | | | | | | | | |
|------|----------------|----------------------------|------|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|--|--|--|
| | | | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | | | |
| Male | 700 mg/kg | Number of examined | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Dead | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Hypoactivity | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Staggering gait | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Pale skin | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Prone position | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Coma | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Abdominal deep respiration | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Dyspnea | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Wheezing | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Hypothermia | | | | | | | | | | | | | | |

Table 2 - continued Clinical signs C57BL/6N mice

Study No. P030002

| Sex | Group and dose | Clinical sign | Days | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|----------------|----------------------------|-----------|--------------------|-------|-------|-------|------|------|------|------|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0 | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | JUS | 5min | 15min | 30min | 45min | 1 hr | 2 hr | 3 hr | 6 hr | 1 | 2 | 3 | | | |
| Female | 515 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | |
| | | No abnormality | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Hypoactivity | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Staggering gait | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Pale skin | 0 | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Prone position | 0 | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Coma | 0 | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Abdominal deep respiration | 0 | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Crouching | 0 | 0 | 6 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Bradypnea | 0 | 0 | 6 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Flushing | 0 | 0 | 6 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Piloerection | 0 | 0 | 6 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 556 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| | | | | No abnormality | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Dead | 0 | | | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Hypoactivity | 8 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Staggering gait | 8 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Pale skin | 0 | | | 8 | 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Prone position | 0 | | | 8 | 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Coma | 0 | | | 8 | 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Abdominal deep respiration | 0 | | | 8 | 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Dyspnea | 0 | | | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Wheezing | 0 | | | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Hypothermia | 0 | | | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Crouching | 0 | | | 0 | 0 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | |
| Bradypnea | 0 | | | 0 | 0 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | |
| Flushing | 0 | 0 | 0 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | | | |
| Piloerection | 0 | 0 | 0 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | | | |

Table 2 - continued Clinical signs C57BL/6N mice

Study No. P030002

| Sex | Group and dose | Clinical sign | Days | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|----------------|----------------------------|-----------|--------------------|-------|-------|-------|------|------|------|------|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0 | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | JUS | 5min | 15min | 30min | 45min | 1 hr | 2 hr | 3 hr | 6 hr | 1 | 2 | 3 | | | |
| Female | 600 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | | |
| | | No abnormality | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Hypoactivity | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Staggering gait | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Pale skin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Prone position | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Coma | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Abdominal deep respiration | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Dyspnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Wheezing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Hypothermia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Crouching | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Bradypnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Flushing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| Piloerection | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | 648 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | Hypoactivity | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Staggering gait | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Pale skin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Prone position | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Coma | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Abdominal deep respiration | 0 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Dyspnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Wheezing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Hypothermia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 700 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | Hypoactivity | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Staggering gait | 8 | | | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| Pale skin | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Prone position | 0 | | | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| Coma | 0 | | | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| Abdominal deep respiration | 0 | | | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| Dyspnea | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Wheezing | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Hypothermia | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Table 2 - continued Clinical signs C57BL/6N mice

| Sex | Group and dose | Clinical sign | Days | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|----------------|----------------------------|-----------|--------------------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|---|---|---|---|
| | | | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | | | | |
| Female | 515 mg/kg | Number of examined | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | |
| | | No abnormality | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| | | Hypoactivity | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Staggering gait | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Pale skin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Prone position | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Coma | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Abdominal deep respiration | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Crouching | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Bradypnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Flushing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Piloerection | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | 556 mg/kg | Number of examined | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | | | | No abnormality | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | | | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hypoactivity | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Staggering gait | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Pale skin | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Prone position | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Coma | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Abdominal deep respiration | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Dyspnea | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Wheezing | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Hypothermia | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Crouching | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Bradypnea | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Flushing | 0 | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Piloerection | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | |