

# 拡張一世代繁殖毒性試験の試験法の概要および

## 海外評価機関における要求状況の調査

勝山真多，齊藤陽子，大森正和

独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

拡張一世代繁殖毒性試験は，OECDで2011年7月にテストガイドライン（TG）が採択された繁殖毒性を評価するための新規の試験法である。この試験では繁殖毒性だけでなく，発達神経毒性および発達免疫毒性も同一試験で評価することが可能である。また，毒性の程度によって二世代目を作成し，影響を評価する等試験項目を選択することができるという特徴を持っている。従来の手法より試験動物の有効活用（使用動物数の削減）や開発コストの軽減が見込めるため，当該試験を今後農薬登録申請における要求試験とすることについて検討がなされるものと考えられる。当該検討に資するため，OECDから公表されているテストガイドライン<sup>1)</sup>をもとにその試験方法を調査したので，概要を紹介する。また，米国およびEUにおける当該試験の要求・評価状況についての調査も実施したので併せて紹介する。

Keywords：拡張一世代繁殖毒性試験，繁殖毒性，発達神経毒性，発達免疫毒性，OECD TG443，ガイダンス文書 117，コホート，EPA，EFSA，REACH

### 緒 言

拡張一世代繁殖毒性試験（TG443）は，Cooper等が2006年に発表した“ライフステージ試験への段階的アプローチ”を改良したもので，TGは2011年7月にOECDで採択された。本試験は，供試動物数の削減を図り動物愛護に資する試験である。

2016年に行われたOECD-WNT(Working Group of the National Coordinators of the Test Guidelines Programme)において，将来的に二世代繁殖毒性試験（TG416）<sup>2)</sup>を廃止し，拡張一世代繁殖毒性試験に置き換えることが提案されており，この結果によっては「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知）の大幅な見直しが必要となるが見込まれる。

このため，本調査では①拡張一世代繁殖毒性試験の内容，②従来法である二世代繁殖毒性試験との差異および③EUおよび米国の要求・評価状況を調査し，拡張一世代繁殖毒性試験を導入する際の課題を整理した。

### 1. 拡張一世代繁殖毒性試験の試験方法

#### 1. 1. 目的

繁殖毒性試験は主にラットを用いて行われ，妊娠発育期における被験物質暴露の影響を評価するとともに，妊娠および授乳期の雌および出生した児動物への全身毒性の評価に資することができる。また，被験物質が雌雄の生殖器系の健全性および繁殖能（性周期・精子パラメータに対する影響，受胎率，胎児の生存率等）に与える影響についても確認できる。

拡張一世代繁殖毒性試験ではこれらに加え，児動物の一部を用いて，胎児～生後発達期の神経系（脳，脊髄，末梢神経等）の構造および運動・感覚機能に対する毒性である「発達神経毒性」，同時期のIgM抗体反応等の免疫系に対する毒性である「発達免疫毒性」も同時に評価することが可能である。

#### 1. 2. 試験系

##### 1. 2. 1. 動物種

背景データの充実，一般毒性試験との同等性の観点からラットが推奨されている。性的に成熟した雌雄を用い，雌は未経産・非妊娠とする。

### 1. 2. 2. 試験群

通常、少なくとも3段階の用量群と1つの対照群を設けなければならない。各群に対し妊娠した母動物20匹を得るために、十分な数の雌雄を割り当てる。

適切な用量を選定するため、他試験から得られた投与情報、妊娠または非妊娠動物の体内動態データ、乳汁への移行程度およびヒトでの暴露推定など入手可能な全ての情報を考慮する必要がある。最高投与量は体内動態において飽和状態にならない用量、もしくは当該動物に死亡や著しい苦痛を与えず、いくらかの全身毒性を引き起こす用量を選択する。

### 1. 2. 3. 投与

投与期間中は毎日混餌（混水）または強制経口投与により被験物質を投与する。

#### 親世代 (P)

両性に対して2週間の交配前投与が求められる。この期間は雌では3~4回の発情周期、雄では精巣上体上での成熟精子の移動に必要な時間に等しく、性周期への影響および精子形成障害を検出することができる。

交配前投与、交配期間2週間を経て、雄には第一世代 (F<sub>1</sub>) の離乳まで（投与開始から最低10週間）、雌には妊娠、哺育を経てF<sub>1</sub>の離乳まで（投与開始から8~10週間）投与を継続する。

#### 第一世代 (F<sub>1</sub>)

離乳から成熟まで被験物質を投与する。第二世代 (F<sub>2</sub>) を評価する場合は、F<sub>2</sub>の離乳まで、または試験の終了まで投与を継続する。

投与スケジュールを図1に示す。

### 1. 2. 4. 交配, 出生児の調整

P世代の雌は同じ投与群から無作為に選択された血縁のない単独の雄と共に、交尾の証拠（陰栓あるいは精子）が見られるまで、あるいは2週間が経過するまで同居させる。

F<sub>1</sub>は出生より4日後、それぞれの同腹児の数を、雌雄各5匹に近づくよう、過剰な児動物を無作為に選択して除外することで調整する。

### 1. 2. 5. コホートへの割付け

選抜したF<sub>1</sub>は離乳時に、特定のサブグループ（コホート1~3）に割付け、各種検討を行う（詳細は後述）。

### 1. 2. 6. 試験項目の選択

規制当局の要求や被験物質に関する既知の情報をもとにF<sub>2</sub>の評価を行うかどうか、発達神経毒性コホートや発達免疫毒性コホートを省略するかどうかを決定する。

F<sub>1</sub>までの評価結果からF<sub>2</sub>評価を行うかどうかをどのように判断するかについては、米国およびカナダにおける運用をもとに作成された別のガイダンス文書117<sup>3)</sup>に記載されている（後述）。



図1. 投与スケジュール

### 1. 3. 離乳後試験のための児動物の振り分け

離乳時に選抜されたF<sub>1</sub>を無作為にコホート1から3に振り分ける。

- コホート1 (1A および 1B) : 繁殖毒性試験
- コホート2 (2A および 2B) : 発達神経毒性試験
- コホート3 : 発達免疫毒性試験

コホート1A (20匹/性/群) : 生殖器官への影響、一般毒性の評価用。最優先で振り分ける。

コホート1B (20匹/性/群) : 必要な場合、F<sub>2</sub>作出に用いる。繁殖毒性/内分泌毒性の疑いがある場合またはコホート1Aの結果があいまいな場合に追加の病理組織学的データを得るのにも使用する。

コホート2A (10匹/性/群) : 神経行動学的/神経病理組織学的評価用。

コホート2B (10匹/性/群) : 離乳時神経病理組織学的評価用。匹数が足りない場合2Aを優先。

コホート3 (10匹/性/群) : T細胞依存性抗体産生検査 (TDAR) 用。陽性対照のため、対照群から追加の児動物が必要な場合がある。

各コホートの概要を表1に示す。

すべてのコホートに供給するだけの同腹中の児動物数が不十分な場合には、コホート1が優先する。被験物質に神経毒性、免疫毒性または繁殖毒性の疑いがある場合など、特別な懸念がある場合は追加の児動物をどのコホートに振り分けてもよい。これらの児動物は別の時点での検査に用いるか、または補足の評価指標の評価に用いてもよい。

コホートに振り分けられなかった児動物は血液生化学的検査および剖検にあてられる。

表1. 各コホートへの振り分け

親世代	コホート	用途	動物数/群	剖検時のおおよその週齢	性的成熟
母動物 20匹/群	1A	繁殖毒性	雌雄各 20匹	13	済
	1B	繁殖毒性	雌雄各 20匹	14 (F <sub>2</sub> の評価を実施する場合 20~25)	済
	2A	神経毒性	雌雄各 10匹	11~12	済
	2B	神経毒性	雌雄各 10匹	3	未
	3	免疫毒性	雌雄各 10匹	8	済
	余剰	予備		3	未

### 1. 4. 第二世代(F<sub>2</sub>)評価実施に関する判断基準(ガイダンス文書 117)

ガイダンス文書 117 は F<sub>2</sub> の評価が必要かどうかについて米国 (米国 EPA 農薬プログラム部) およびカナダの規制当局 (病虫害等管理規制庁) の判断

基準を示したものである。米国およびカナダが作成し、OECD-WNT で承認された後、拡張世代繁殖毒性試験と同時に公開された。表2に判断基準の概要を示す。

表2. F<sub>2</sub>評価を推奨する基準

評価エンドポイント	F <sub>2</sub> 評価が推奨される場合
成体	
P 受胎率 (着床, 妊娠率, 妊娠間隔)	受胎率の低下が見られるものの、それに付随した生物学的に関連性のある変化や用量依存性の変化が生殖組織に見られない場合
F <sub>1</sub> 発情周期評価	発情周期の長さに関連性のある変化や用量依存性の変化が見られ、母動物に強い毒性が見られない場合 <sup>a</sup>

幼体	
F <sub>1</sub> 同腹児パラメータ (同腹児の大きさ)	生物学的関連性および用量依存性の低下が見られ、母動物に強い毒性または致死性が見られない場合 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> 発達標識 (AGD, 乳頭保持率, 性成熟, PPS, VO)	体重変化の影響ではない生物学的関連性および用量依存性の作用が見られる場合
F <sub>1</sub> 出生後生存率低下	母動物に強い毒性が見られない場合 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> 奇形	母動物に強い毒性が見られない場合 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> 出生指数低下	母動物に強い毒性が見られない場合 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> 体重低下	生物学的関連性のある低下であり、母動物に体重減少が見られない場合

a 作用の種類, 発生率, 規模および重大性は, 母動物の毒性と関連付けて考慮される。

## 2. 二世世代繁殖毒性試験との比較

拡張一世代繁殖毒性試験の繁殖毒性試験部分と、既存の二世世代繁殖毒性試験を比較した。

F<sub>2</sub> 世代：13 匹／腹×20 腹×4 群 誕生  
 生後 4 日に雌雄各 5 匹／腹に調整（任意）  
 生後 21 日に離乳, 剖検

使用動物計 2240 匹

### 2.1. 動物数

交配させた全ての雌が妊娠し, 13 匹の児動物 (F<sub>1</sub>) を産むと仮定する (実際はより多くの動物数が必要)。

#### ① 拡張一世代繁殖毒性試験 (一世代繁殖)

P 世代：雌雄各 20 匹×4 群  
 (同時対照群+3 段階用量群)  
 F<sub>1</sub> 世代：13 匹／腹×20 腹×4 群 誕生  
 生後 4 日に雌雄各 5 匹／腹に調整 (任意)  
 生後 21 日に離乳, 調整後各コホートに振り分ける  
 コホート 1A：雄 1 匹と雌 1 匹／腹  
 (雌雄各 20 匹) ×4 群  
 コホート 1B：雄 1 匹と雌 1 匹／腹  
 (雌雄各 20 匹) ×4 群

使用動物計 1200 匹

#### ② 拡張一世代繁殖毒性試験 (二世代繁殖)

P 世代：雌雄各 20 匹×4 群  
 (同時対照群+3 段階用量群)  
 F<sub>1</sub> 世代：13 匹／腹×20 腹×4 群 誕生  
 生後 4 日に雌雄各 5 匹／腹に調整 (任意)  
 生後 21 日に離乳, 調整後各コホートに振り分ける  
 コホート 1A：雄 1 匹と雌 1 匹／腹  
 (雌雄各 20 匹) ×4 群  
 コホート 1B：雄 1 匹と雌 1 匹／腹  
 (雌雄各 20 匹) ×4 群→F<sub>2</sub> 作出

#### ③ 二世世代繁殖毒性試験

P 世代：雌雄各 20 匹×4 群  
 (同時対照群+3 段階用量群)  
 F<sub>1</sub> 世代：13 匹／腹×20 腹×4 群 誕生  
 生後 4 日に雌雄各 8 匹／腹に調整 (任意)  
 生後 21 日に離乳 雄 1 匹と雌 1 匹／腹  
 (雌雄各 20 匹) ×4 群→F<sub>2</sub> 作出  
 F<sub>2</sub> 世代：13 匹／腹×20 腹×4 群 誕生  
 生後 4 日に雌雄各 8 匹／腹に調整 (任意)  
 生後 21 日に離乳, 剖検

使用動物計 2240 匹

繁殖毒性試験に限れば拡張一世代繁殖毒性試験で二世代にわたって評価する場合と従来の二世代繁殖毒性試験で使用する動物数は同等である。一方、毒性が低く、二世代目を評価する必要がない場合や発達神経毒性試験および発達免疫毒性試験を実施する必要がある場合には、拡張一世代繁殖毒性試験を選択することで、使用動物数およびコストを抑えることができる。

### 2.2. 試験期間

両試験において二世代繁殖を行う場合、P 世代交配後の期間に差はない。しかし、交配前投与期間は二世代繁殖毒性試験では 10 週間と定めているのに対し、拡張一世代繁殖毒性試験では 2 週間と定めていることから、拡張一世代繁殖毒性試験のほうが投与期間を短くすることができる。

## 2.3. 評価項目

両試験ガイドラインで要求されている一般毒性および繁殖毒性に関わる評価項目を以下に示す。

### ① 拡張一代繁殖毒性試験

P 世代：一般状態，体重，摂餌量，性周期，血液学的検査/血液生化学的検査，尿検査，精子パラメータ，肉眼的病理検査，着床痕，器官重量（生殖器官，脳，肝臓 etc.），病理組織学的検査（生殖器官，標的器官）

F<sub>1</sub> 世代（親/児）：一般状態，体重，摂餌量，母動物ごとの産児数，性，生存/死亡児数，肉眼的異常，肛門・生殖結節間距離，性成熟（陰開口・包皮分離），性周期，血液学的検査/血液生化学的検査，尿検査，精子パラメータ，肉眼的病理検査，（着床痕），器官重量（生殖器官，脳，肝臓 etc.），病理組織学的検査（生殖器官，標的器官）

(F<sub>2</sub> 世代)：体重，母動物ごとの産児数，性，生存/死亡児数，肉眼的異常，肛門・生殖結節間距離

### ② 二世世代繁殖毒性試験

P 世代：一般状態，体重，摂餌量，性周期，精子パラメータ，肉眼的病理検査，着床痕，器官重量（生殖器官，脳，肝臓 etc.），病理組織学的検査（生殖器官，標的器官）

F<sub>1</sub> 世代（親）：一般状態，体重，摂餌量，性周期，精子パラメータ，肉眼的病理検査，着床痕，器官重量（生殖器官，脳，肝臓 etc.），病理組織学的検査（生殖器官，標的器官）

F<sub>1</sub> 世代（児）：母動物ごとの産児数，性，生存/死亡児数，肉眼的異常，体重，身体的・行動異常，性成熟（陰開口・包皮分離），機能検査，肉眼的病理検査，器官重量（脳，脾臓，胸腺），病理組織学的検査（肉眼的異常組織，標的器官）

F<sub>2</sub> 世代：母動物ごとの産児数，性，生存/死亡児数，肉眼的異常，体重，身体的・行動異常，機能検査，（肛門・生殖結節間距離），肉眼的病理検査，器官重量（脳，脾臓，胸腺），病理組織学的検査（肉眼的異常組織，標的器官）

上記のように一般毒性および繁殖毒性に関しては，評価項目はほぼ同じである。拡張一代繁殖毒性試験では二世世代繁殖毒性試験に加え，血液学的/血液生化学的検査や尿検査などが追加で求められている。F<sub>2</sub>の具体的な評価項目に関しては定められていない。

## 3. 海外の試験要求および評価状況

### 3.1. 試験要求状況

#### ① EPA（米国）

連邦規則集（CFR Title 40, Chapter 1, Part158）<sup>4)</sup>では二世世代繁殖毒性試験および発達神経毒性試験が要求試験としてリストアップされており，それぞれのテストガイドラインが公開されている（OPPTS 870.3800<sup>5)</sup>，870.6300<sup>6)</sup>）。また，同規則集において発達神経毒性試験は繁殖毒性試験と組み合わせることが推奨されている。

一方，拡張一代繁殖毒性試験はリストアップされておらず，テストガイドラインも公開されていない。しかし，通常の二世世代繁殖毒性試験ガイドラインに従うか，拡張ガイドラインもしくは代替法を採用するかについては被験物質の情報をもとに決定されるという注釈がついており，試験開始前に試験プロトコルと科学的根拠を提出すれば代替法で行うことも可能とされている。

拡張一代繁殖毒性試験において二世代目を作成する基準（ガイダンス文書 117）が存在することから，当該試験はこの代替法の一つと考えられ，実施にあたっては具体的な試験方法（試験プロトコル）について EPA と事前協議がなされると考えられる。

#### ② EFSA（EU）

委員会規則（EU No 283/2013<sup>7)8)</sup>によると農薬では少なくとも二世世代以上のラットにおける繁殖毒性試験が要求されており，OECD の二世世代繁殖毒性試験を基にしたテストガイドラインが公開されている（Regulation(EC)No 440/2008<sup>9)</sup>）。また，拡張一代繁殖毒性試験についても代替法として言及されている。

化学物質全般の管理について定めた REACH（Registration, Evaluation, Authorisation

and Restriction of Chemicals) では、動物愛護等の観点から拡張一世代試験が推奨されている<sup>10)</sup>。被験物質の暴露量、他試験から得られた情報およびF<sub>1</sub>での結果を受け、F<sub>2</sub>の評価を申請者が提案もしくはECHA（欧州化学機関：European Chemicals Agency）から申請者に求めることとされている。

### 3. 2. 評価状況

近年我が国で登録となった農薬原体 50 成分について、EPA および EFSA での評価状況を調査した。

その結果、EPA では 24 成分、EFSA では 26 成分で評価がなされていたが、拡張一世代繁殖毒性試験の実施例については確認できなかった。

このことから、農薬分野において拡張一世代繁殖毒性試験の二世代繁殖毒性試験代替法としての利用は進んでいないといえる。

### 4. 導入における課題

①第二世代（F<sub>2</sub>）への影響に関する情報が得られなくなることについて

拡張一世代繁殖毒性試験においてF<sub>2</sub>評価を実施する場合は、既存の二世代繁殖毒性試験と得られる情報は大きく異ならないが、F<sub>2</sub>評価を行わない場合、F<sub>2</sub>への影響に関する情報は得られなくなる。このため、本試験を導入した場合、農薬の繁殖毒性を評価する上で十分な情報が得られるかについて、第二世代の実施に関する基準も含めて、評価機関等との十分な協議が必要と考える。

②発達神経毒性試験および発達免疫毒性試験について

拡張一世代繁殖毒性試験には発達神経毒性試験および発達免疫毒性試験が含まれているが、現行の国内ガイドラインでは、これらの試験は要求していない。拡張一世代繁殖毒性試験の導入に際しては、発達神経毒性試験および発達免疫毒性試験の要否に関しても併せて検討する必要がある。

③試験の円滑な実施について

拡張一世代繁殖毒性試験ではF<sub>2</sub>を評価するか、発達神経毒性コホート、発達免疫毒性コホートを省略するかについては規制当局の要

求や既存情報を反映することで決定される。これについて、米国ではガイダンス文書 117 のような基準を設け、EPA が判断している。我が国では登録・検査は農林水産省・FAMIC、リスク評価は食品安全委員会が行っているため、試験項目の選択に係る運用について関係機関との協議が必要と考えられる。

### おわりに

拡張一世代繁殖毒性試験の特徴として、大きく以下の二点が挙げられる。

①F<sub>1</sub>を3種のコホートに分けることで、繁殖毒性、発達神経毒性、発達免疫毒性をまとめて評価することができる。

②繁殖毒性におけるF<sub>2</sub>評価、発達神経毒性試験、発達免疫毒性試験の実施は規制当局の要請や既存情報により実施するかどうか選択することができる。

F<sub>2</sub>評価を実施しない場合、発達神経毒性試験、発達免疫毒性試験を別に実施する場合において、当該試験は従来の二世代繁殖毒性試験と比較して使用動物数を抑えることができる。

米国やEUでは農薬に関しては原則二世代繁殖毒性試験を要求試験としており、拡張一世代繁殖毒性試験は要求試験ではなく、また、評価事例は確認出来なかった。ただし、米国およびEUでは二世代繁殖毒性試験の代替法として認められている。

本稿は現在の要求試験である二世代繁殖毒性試験に代わるとされる拡張一世代繁殖毒性試験について、OECDのテストガイドライン等をもとに、当該試験の内容、従来法との比較、海外における要求および評価事例を調査し、導入における課題を取りまとめたものである。当該試験について代替法としての導入を検討する際に参考となることを期待する。

### 参考文献

(全URLのリンクについての確認は、2017年7月21日に実施。)

- 1) OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS Test No.443: Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study (2012 OECD)  
<http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9712211e.pdf?expires=1500597968&id=id&accname=guest&checksum=BF4E827367CC535C163040D06B00C964>

- 2) OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS Test No.416: Two-Generation Reproduction Toxicity Study (2001 OECD)  
<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/43965303.pdf>
- 3) GUIDANCE DOCUMENT 117 ON THE CURRENT IMPLEMENTATION OF INTERNAL TRIGGERS IN TEST GUIDELINE 443 FOR AN EXTENDED ONE GENERATION REPRODUCTIVETOXICITY STUDY, IN THE UNITED STATES AND CANADA (2011 OECD)  
[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2011\)21&docLanguage=En](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2011)21&docLanguage=En)
- 4) CODE OF FEDERAL REGULATIONS, Title40, Chapter 1, PART 158-DATA REQUIREMENTS FOR PESTICIDES(2007 Office of the Federal Register)  
[https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=1f3e01c0f6084c1db4047eee1828c05d&mc=true&node=pt40.26.158&rgn=div5#se40.26.158\\_133](https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=1f3e01c0f6084c1db4047eee1828c05d&mc=true&node=pt40.26.158&rgn=div5#se40.26.158_133)
- 5) Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.3800 Reproduction and Fertility Effects (1998 EPA)  
[https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/epa/epa\\_870\\_3800.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/epa/epa_870_3800.pdf)
- 6) Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.6300 Developmental Neurotoxicity Study (1998 EPA)  
<https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/P100G6UI.PDF?Dockey=P100G6UI.PDF>
- 7) COMMISSION REGULATION (EU) No 283/2013 of 1 March 2013 setting out the data requirements for active substances, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market  
<http://www.reach-compliance.eu/web/english/legislations/EU/pesticides/docs/EC-283-2013.pdf>
- 8) Commission Communication in the framework of the implementation of Commission Regulation (EU) No 283/2013 of 1 March 2013 setting out the data requirements for active substances, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market  
[http://ctgb.nl/docs/default-source/gewas.-toetsingskader/evaluation-manual-ppp-1107-2.0/commission\\_communication\\_2013\\_c95\\_01-data-requirements-for-plant-protection-products.pdf?sfvrsn=2](http://ctgb.nl/docs/default-source/gewas.-toetsingskader/evaluation-manual-ppp-1107-2.0/commission_communication_2013_c95_01-data-requirements-for-plant-protection-products.pdf?sfvrsn=2)
- 9) COUNCIL REGULATION (EC) No 440/2008 of 30 May 2008 laying down test methods pursuant to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH)  
<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R0440&qid=1500596592402&from=EN>
- 10) COMMISSION REGULATION (EU) 2015/282 of 20 February 2015 amending Annexes VIII, IX and X to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards the Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study  
[http://www.cea.adas.co.uk/Portals/0/EOGRTS%20Regulation%20EU%202015\\_282.pdf](http://www.cea.adas.co.uk/Portals/0/EOGRTS%20Regulation%20EU%202015_282.pdf)