

試験結果報告書

依頼者名 SEIWA Medical (株) 殿
品名 液剤 1点
試験項目 抗ウイルス性試験

2020年9月7日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2020年10月19日

一般財団法人 日本繊維製品品質技術センター
神戸試験センター 射本



記

○試験概要

- ・試験ウイルス：Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)
NIID 分離株；JPN/TY/WK-521 (国立感染症研究所より分与)
- ・宿主細胞：VeroE6/TMPRSS2 JCRB1819
- ・細胞培養液：Dulbecco's modified Eagle's medium (low-glucose)；DMEM
(SIGMA, Cat#D6046)
Minimum Essential Medium Eagle；EMEM (SIGMA, Cat#M4655)
- ・ウシ胎児血清：Fetal Bovine Serum (FBS) (SIGMA, Cat#173012)
- ・対照サンプル (Negative control)：Phosphate buffered saline (PBS)
- ・試験サンプル：液剤 (MION ミネラルイオン除菌剤)
- ・試験条件：
 - ウイルス懸濁液：試験サンプル = 1：9
 - 作用温度 25℃
 - 作用時間 15秒、5分
 - (対照サンプル；Negative controlのみ混合直後も測定)
- ・薬剤不活化剤：SCDLPを2% FBS含DMEMで10倍希釈した溶液
- ・感染価測定法：プラーク測定法

* この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。
* 本証明書は全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

○試験方法

1) ウイルス懸濁液の調製：

宿主細胞にウイルスを感染させ、EMEM を加え 37℃ で所定時間培養後、4℃、1,000×g で 15 分間遠心分離した上清を試験ウイルス懸濁液とする。

2) 宿主細胞検証試験：

2) - 1 細胞毒性確認試験

1. 試験サンプル 0.9 mL に EMEM 0.1 mL を加え、十分に攪拌する。
これを試験液とする。
2. 薬剤不活化剤 0.9ml に試験液 0.1ml を添加し、十分に攪拌する。
3. 2%FBS 含 DMEM を用いて、10 倍希釈系列を作製する。
4. プラーク測定法にて各希釈系列の細胞毒性の有無を確認する。

2) - 2 ウイルスへの細胞の感受性確認試験

1. 試験サンプル 0.9 mL に EMEM 0.1 mL を加え、十分に攪拌する。
これを試験液とする。
2. 薬剤不活化剤 4.5ml に試験液 0.5ml を添加し、十分に攪拌する。
3. 2%FBS 含 DMEM を用いて、10 倍希釈系列を作製する。
4. EMEM を用いて $4\sim 6\times 10^4$ PFU/mL に調製したウイルス懸濁液を 3. の各希釈系列の 1/100 量添加する。
5. 室温で 10 分間静置する。
6. プラーク測定法にて各希釈系列 1mL 当たりのウイルス感染価を測定し、ウイルスへの細胞の感受性を確認する。

* 宿主細胞検証試験は、以下の基準を満たすことを判定基準とする。

2) - 1 細胞毒性:無し

2) - 2 ウイルスへの細胞の感受性確認:

$$\lg(\text{PBS のウイルス感染価 (PFU/mL)}) - \lg(\text{Sample のウイルス感染価 (PFU/mL)}) \leq 0.5$$

3) 本試験：

1. 試験サンプル 0.9 mL に試験ウイルス懸濁液 0.1 mL を加え、十分に攪拌する。
2. 25℃ で 15 秒、5 分間静置する。これを試験液とする。
3. 宿主細胞検証試験で不活化が確認された条件で試験液を不活化する。
これを反応停止液とする。
4. 上記 3. の反応停止液を 10^0 として、2%FBS 含 DMEM で 10 倍希釈系列を作製し、反応停止液 0.1ml 当たりのウイルス感染価をプラーク測定法にて測定し、試験液 1ml 当たりのウイルス感染価を算出する。

* この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。

* 本証明書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

○試験結果

2) 宿主細胞検証試験

- ・試験ウイルス：SARS-CoV-2 NIID 分離株；JPN/TY/WK-521
(国立感染症研究所より分与)
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： 4.4×10^4 PFU/ml

検体	2) - 1 細胞毒性の有無	2) - 2 ウイルスへの細胞の感受性確認
		ウイルス感染価 (PFU/mL) 常用対数平均値
PBS (Negative control)	無	2.61
液剤 (MION ミネラルイオン除菌剤)	無	2.58

- * 試験液を薬剤不活化剤で 10 倍希釈することにより、検体の影響を受けずにウイルス感染価測定ができることを確認した。

3) 本試験

- ・試験ウイルス：SARS-CoV-2 NIID 分離株；JPN/TY/WK-521
(国立感染症研究所より分与)
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： 2.6×10^8 PFU/ml

検体		試験液 1ml 当たりの ウイルス感染価 (PFU/mL) の常用対数値			Negative control との常用対数値差	
		常用対数値		常用対数値平均値		
PBS (Negative control)	混合直後	n1	7.45	7.43	/	
		n2	7.45			
		n3	7.40			
	15 秒作用後	n1	7.37	7.43		
		n2	7.48			
		n3	7.43			
	5 分作用後	n1	7.36	7.41		
		n2	7.46			
		n3	7.42			
液剤 (MION ミネラル イオン除菌剤)	15 秒作用後	n1	5.57	5.65	1.8	
		n2	5.77			
		n3	5.62			
	5 分作用後	n1	< 2.00	< 2.00		5.4
		n2	< 2.00			
		n3	< 2.00			

以上

- * この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。
- * 本証明書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

一般財団法人 新医療財団 殿

試験報告書

「除菌剤」の試験菌に対する殺菌効力試験

北生発 2019_0233 号

2019年 11月 18日

神奈川県相模原市南区北里 1 丁目 15 番 1 号
一般財団法人 北里環境科学センター
理事長 山田 陽城

試験内容を公表する際は、結果の表記等について専門的な立場から確認させていただいております。なお確認目的と申込様式は、ホームページに掲載しております。

(http://www.kitasato-e.or.jp/?page_id=87)

1. 表題

「除菌剤」の試験菌に対する殺菌効力試験

2. 報告書番号

北生発 2019_0233 号

3. 目的

「除菌剤」の試験菌に対する殺菌効果を調べた。なお本試験は、試験品の基本的な殺菌効果を調べる試験系として、試験品に直接菌液を接種する方法を用いた。

4. 依頼者

名 称: 一般財団法人 新医療財団

所在地: 〒545-0053 大阪市阿倍野区松崎町 3-7-4

5. 試験機関

名 称: 一般財団法人 北里環境科学センター

所在地: 〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1

担 当: 微生物部バイオ技術課

6. 試験期間

2019年10月7日～2019年11月12日

7. 試験品

1) 試験品名

除菌剤 (液剤, Lot. 190829-DRC-2-17, pH2.38), 約 450 mL

原液を試験に供した。

2) 試験品受領日

2019年9月19日

8. 試験条件

1) 作用温度: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

2) 作用時間: 0 (初期, 対照のみ)、5分、30分 (腸炎ビブリオ, カンピロバクター以外の菌種のみ実施)

9. 使用培地および試薬

1) 培地

- ① Tryptic Soy Agar (Difco, 以下、TSA と記載)
- ② SCDLP ブイヨン培地 (栄研化学, 以下、SCDLP と記載)
- ③ ブルセラ寒天培地 (BBL, 以下、BA と記載)
- ④ ブルセラブロス (BBL, 以下、BB と記載)
- ⑤ ポテトデキストロース寒天培地 (日水, 以下、PDA と記載)

2) 試薬

- ① 塩化ナトリウム (和光純薬工業, 以下、0.85%溶液を生理食塩液と記載)
- ② 非働化ウマ血清 Horse Serum, Heat-Inactivated (GIBCO, 以下、ウマ血清)
- ③ KH_2PO_4 (和光純薬工業, 以下、3.4%溶液を水と 1:800 で混合したものをリン酸緩衝液と記載)
- ④ 大塚蒸留水 (大塚製薬, 日本薬局方 注射用水, 以下、滅菌水と記載)

10. 試験菌および試験菌液の調製

1) 試験菌

- ① *Escherichia coli* NBRC3972 (大腸菌)
- ② *Escherichia coli* (O157 : H7) RIMD0509939 (腸管出血性大腸菌 O157)
- ③ *Pseudomonas aeruginosa* NBRC13275 (緑膿菌)
- ④ *Salmonella enterica* subsp. *enterica* NBRC3313 (サルモネラ)
- ⑤ *Staphylococcus aureus* NBRC12732 (黄色ぶどう球菌)
- ⑥ *Staphylococcus aureus* (MRSA) IID1677 (メチシリン耐性黄色ぶどう球菌)
- ⑦ *Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711 (腸炎ビブリオ)
- ⑧ *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* JCM2013 (カンピロバクター)
- ⑨ *Candida albicans* NBRC1594 (カンジダ)

2) 試験菌液の調製

- ① 大腸菌, O157, 緑膿菌, サルモネラ, 黄色ぶどう球菌, MRSA

凍結保存された菌株を TSA に接種して、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で、24 時間培養した。さらに同培地に接種して、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で、18 時間培養後、発育した集落をかき取り、滅菌イオン交換水に懸濁して約 10^7 CFU/mL に調製し、これを試験菌液とした。

- ② 腸炎ビブリオ

凍結保存された菌株を 2.5%塩化ナトリウム加 TSA に接種して、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で、24 時間培養した。さらに同培地に接種して、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で、18 時間培養後、発育した集落をかき取り、3%塩化ナトリウム溶液に懸濁して約 10^7 CFU/mL に調製し、これを試験菌液とした。

③ カンピロバクター

凍結保存された菌株を 5%ウマ血清加 BA に接種し、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で 3 日間微好気培養した。発育した集落を 5%ウマ血清加 BB に接種して $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で 2 日間微好気条件下で静置培養した。培養後、リン酸緩衝液で約 10^7 CFU/mL に調製し、これを試験菌液とした。

④ カンジダ

凍結保存された菌株を PDA に接種し、 $26 \pm 2^\circ\text{C}$ で 2 日間培養した。発育した集落を滅菌イオン交換水に懸濁して約 10^7 CFU/mL に調製し、これを試験菌液とした。

11. 試験方法

1) 殺菌効力試験

試験品 10 mL に試験菌液 0.1 mL を加え、試験管ミキサーで混合して 0 (初期)、5 分間、菌種によっては 30 分間 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ で作用させた。所定時間作用後、試験品 1 mL を不活性化剤* 9 mL に添加して、試験菌に対する殺菌作用を停止させ、これを菌数測定用試料液とした。作用時間 0 (初期) および対照は、試験品の代わりに滅菌生理食塩液を、腸炎ビブリオには 3%塩化ナトリウム溶液を用いた。

※: 有効性を確認した SCDLP、腸炎ビブリオは 2.5%塩化ナトリウム加 SCDLP を用いた。試験品の不活性化剤としての有効性確認試験手順と結果を最終 15 項に示した。

2) 菌数測定

① 大腸菌, O157, 緑膿菌, サルモネラ, 黄色ぶどう球菌, MRSA

菌数測定用試料液を原液として、生理食塩液で 10 倍段階希釈列を作製し、試料原液および希釈液の各 1 mL をシャーレに移し、TSA 約 20 mL と混合後、固化させて $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で 43 時間培養した。培養後の発育集落を数えて、試験品 1 mL あたりの試験菌数を求めた (定量下限値: 10 CFU)。

② 腸炎ビブリオ

菌数測定用試料液を原液として、3%塩化ナトリウム溶液で 10 倍段階希釈列を作製し、試料原液および希釈液の各 1 mL をシャーレに移し、2.5%塩化ナトリウム加 TSA 約 20 mL と混合後、固化させて $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で 48 時間培養した。培養後の発育集落を数えて、試験品 1 mL あたりの試験菌数を求めた (定量下限値: 10 CFU)。

③ カンピロバクター

菌数測定用試料液を原液として、リン酸緩衝液で 10 倍段階希釈列を作製し、試料原液および希釈液の各 0.1 mL を 5%ウマ血清加 BA に塗抹し、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で 3 日間微好気条件下で培養した。培養後の発育集落を数えて、試験品 1 mL あたりの試験菌数を求めた (定量下限値: 100 CFU)。

④ カンジダ

菌数測定用試料液を原液として、生理食塩液で 10 倍段階希釈列を作製し、試料原液および希釈液の各 1 mL をシャーレに移し、PDA 約 20 mL と混合後、固化させて $26 \pm 2^\circ\text{C}$ で 4 日間培養した。培養後の発育集落を数えて、試験品 1 mL あたりの試験菌数を求めた (定量下限値: 10 CFU)。

3) 菌数対数減少値の算出

対照の初期菌数と試験品作用後の試験菌数から、下記式を用いて菌数対数減少値 (=LRV ; log reduction value) を算出した。なお、LRV は小数点以下 1 桁 (切り捨て) で表記した。

$$\text{LRV (菌数対数減少値)} : \log_{10}(\text{対照の初期菌数} \div \text{試験品作用後の菌数})$$

12. 試験結果

試験菌 9 種に対する試験結果を表 1~9 に示した。

試験品に 5 分間および 30 分間作用後の菌数は、全菌種において定量下限値未満 (<10 または <100 CFU/mL)、LRV は 3.3~4.8 となった。

なお、対照とした生理食塩液または 3%塩化ナトリウム溶液の 30 分間作用後までの菌数は、初期値 ($2.3 \sim 6.7 \times 10^5$ CFU/mL) から変動は無く、試験系に問題は無いと判断した。

13. コメント

本試験は、「除菌剤」の試験菌に対する殺菌効力を評価した。効力の有無を判断する参考として、第 17 改正日本薬局方の消毒剤の評価試験方法¹⁾があげられる。ここでは、消毒剤作用前後 (通例, 5~15 分間作用) における菌数対数減少値 (LRV) が、細菌および真菌では 3 以上をもって“効力あり”と規定している。そこで、本試験では LRV が 3 以上となった場合に、殺菌効力ありと判断した。

試験品「除菌剤」は、本試験菌 9 種に対して 5 分間作用で LRV が 3 以上であり、殺菌効力が認められた。

本試験は、試験品の基本的な殺菌効果を調べる試験系であり、有機物負荷の無い条件である。通常微生物は有機物 (炭水化物、油脂、タンパク質などの栄養有機物や唾液、鼻汁、糞便、吐しゃ物等) と一緒に存在する。そのため最終的な試験条件としては、有機物を負荷した EN 1276 : 2009 に準拠した効力試験や、実生活使用モデルに対する効果の検証が望まれる。

以上

14. 参考試験・参考文献

- 1) 第 17 改正日本薬局方, 参考情報, 消毒法及び除染法, 2414-2416.
- 2) EN 1276 : 2009.

191119Draft

表 1. 大腸菌に対する殺菌効力

試験条件	作用時間			LRV [※]	
	0分(初期)	5分	30分	5分	30分
対照 (生理食塩液)	5.2×10^5	4.5×10^5	4.3×10^5		
除菌剤		<10	<10	>4.7	>4.7

試験菌: *Escherichia coli* NBRC3972 (大腸菌)

表 2. O157 に対する殺菌効力

試験条件	作用時間			LRV [※]	
	0分(初期)	5分	30分	5分	30分
対照 (生理食塩液)	3.4×10^5	5.0×10^5	2.9×10^5		
除菌剤		<10	<10	>4.5	>4.5

試験菌: *Escherichia coli* (O157 : H7) RIMD0509939 (腸管出血性大腸菌 O157)

表 3. 緑膿菌に対する殺菌効力

試験条件	作用時間			LRV [※]	
	0分(初期)	5分	30分	5分	30分
対照 (生理食塩液)	5.4×10^5	6.6×10^5	5.1×10^5		
除菌剤		<10	<10	>4.7	>4.7

試験菌: *Pseudomonas aeruginosa* NBRC13275 (緑膿菌)

単位: CFU/mL

定量下限値: 10 CFU/mL

※: LRV (菌数対数減少値) : \log_{10} (対照の初期菌数 ÷ 試験品作用後の菌数)

表 4. サルモネラに対する殺菌効力

試験条件	作用時間			LRV [※]	
	0分(初期)	5分	30分	5分	30分
対照 (生理食塩液)	6.2×10^5	7.4×10^5	6.2×10^5		
除菌剤		<10	<10	>4.7	>4.7

試験菌: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* NBRC3313 (サルモネラ)

表 5. 黄色ぶどう球菌に対する殺菌効力

試験条件	作用時間			LRV [※]	
	0分(初期)	5分	30分	5分	30分
対照 (生理食塩液)	5.0×10^5	5.6×10^5	4.8×10^5		
除菌剤		<10	<10	>4.6	>4.6

試験菌: *Staphylococcus aureus* NBRC12732 (黄色ぶどう球菌)

表 6. MRSA に対する殺菌効力

試験条件	作用時間			LRV [※]	
	0分(初期)	5分	30分	5分	30分
対照 (生理食塩液)	5.9×10^5	4.4×10^5	3.4×10^5		
除菌剤		<10	<10	>4.7	>4.7

試験菌: *Staphylococcus aureus* (MRSA) IID1677 (メチシリン耐性黄色ぶどう球菌)

単位: CFU/mL

定量下限値: 10 CFU/mL

※: LRV (菌数対数減少値) : \log_{10} (対照の初期菌数 ÷ 試験品作用後の菌数)

表 7. 腸炎ビブリオに対する殺菌効力

試験条件	作用時間		LRV [※] 5分
	0分(初期)	5分	
対照 (3%NaCl液)	4.6×10^5	3.9×10^5	
除菌剤		<10	>4.6

試験菌: *Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711 (腸炎ビブリオ)

表 8. カンピロバクターに対する殺菌効力

試験条件	作用時間		LRV [※] 5分
	0分(初期)	5分	
対照 (生理食塩液)	2.3×10^5	2.0×10^5	
除菌剤		<100	>3.3

試験菌: *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* JCM2013 (カンピロバクター)

表 9. カンジダに対する殺菌効力

試験条件	作用時間			LRV [※]	
	0分(初期)	5分	30分	5分	30分
対照 (生理食塩液)	6.7×10^5	6.2×10^5	7.6×10^5		
除菌剤		<10	<10	>4.8	>4.8

試験菌: *Candida albicans* NBRC1594 (カンジダ)

単位: CFU/mL

定量下限値: 10 CFU/mL, カンピロバクターは 100 CFU/mL

※: LRV (菌数対数減少値) : \log_{10} (対照の初期菌数 ÷ 試験品作用後の菌数)

15. 不活性化剤の有効性確認試験

1) 目的

試験品による各試験菌に対する殺菌作用を停止させる目的で使用する不活性化剤の有効性を確認した。

2) 試験菌株および使用不活性化剤

2)-1. 試験菌株

Escherichia coli NBRC3972 (大腸菌)

Escherichia coli (O157 : H7) RIMD0509939 (腸管出血性大腸菌 O157)

Pseudomonas aeruginosa NBRC13275 (緑膿菌)

Salmonella enterica subsp. *enterica* NBRC3313 (サルモネラ)

Staphylococcus aureus NBRC12732 (黄色ぶどう球菌)

Staphylococcus aureus (MRSA) IID1677 (メチシリン耐性黄色ぶどう球菌)

Vibrio parahaemolyticus NBRC12711 (腸炎ビブリオ)

Campylobacter jejuni subsp. *jejuni* JCM2013 (カンピロバクター)

Candida albicans NBRC1594 (カンジダ)

2) -2. 使用不活性化剤

SCDLP, 腸炎ビブリオは 2.5%塩化ナトリウム加 SCDLP

3) 方法

不活性化剤 9 mL に試験品 1 mL を加え混合した。これに約 $10^{3\sim4}$ CFU/mL の菌液を 0.1 mL 接種し、常温で 20 分間作用させた後、この混合液の菌数を測定した (カンピロバクターは接種直後測定)。

なお、対照として、試験品のかわりに滅菌水を用いた。不活性化剤の有効性は、第十七改正日本薬局方 4.05 - I - 3.5 に準拠し、下記判定基準によって判定した。

判定基準： B (不活性化剤処理後の菌数) / A (対照の菌数) $\times 100 = 50 \sim 200\%$ 以内

4) 結果

試験結果を表 10 に示した。対照菌数との比率は 92~127% であり、15.3) 項に示した判定基準以内であった為、不活性化剤は試験品に対して有効と判定した。

表 10. 試験品に対する不活性化剤の有効性

試験菌	使用 不活性化剤 (試験品 希釈率)	菌数 (CFU/mL)		Aに対する 比率 ^{※1} (%)	有効性の 判定結果 ^{※2}
		対照 (A)	不活性化剤 (B)		
<i>Escherichia coli</i>	SCDLP または 2.5%塩化 ナトリウム 加 SCDLP (10倍)	8.5×10^1	8.6×10^1	101	有効
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)		6.6×10^1	7.3×10^1	111	有効
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		8.7×10^1	9.3×10^1	107	有効
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>		1.3×10^2	1.2×10^2	92	有効
<i>Staphylococcus aureus</i>		8.9×10^1	9.1×10^1	102	有効
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)		9.5×10^1	1.0×10^2	105	有効
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		7.2×10^1	8.6×10^1	119	有効
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>		2.2×10^2	2.8×10^2	127	有効
<i>Candida albicans</i>		1.4×10^2	1.4×10^2	100	有効

※1: $B / A \times 100$

※2: 第十七改正日本薬局方により判定基準を 50~200%以内とした

一般財団法人 新医療財団 殿

試験報告書

殺菌剤によるウイルス不活化試験

北環発 2019_0397 号

2020年3月17日

神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号
一般財団法人 北里環境科学センター
理事長 山田 陽城

試験内容を公表する際は、結果の表記等について専門的な立場から確認させていただいております。なお、確認目的と申込様式は、ホームページに掲載しております。

(http://www.kitasato-e.or.jp/?page_id=87)

1. 表題

殺菌剤によるウイルス不活化試験

2. 試験番号

依頼書番号：20197064 号

報告書番号：北環発 2019_0397 号

3. 目的

依頼者提供「殺菌剤」による、各種ウイルスに対する不活化効果を調べた。

4. 依頼者

名称：一般財団法人 新医療財団

所在地：〒545-0053 大阪市阿倍野区松崎町三丁目 7 番 4 号

5. 試験機関

名称：一般財団法人 北里環境科学センター

所在地：〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1

担当：ウイルス部ウイルス課

6. 試験期間

2020 年 1 月 15 日 ~ 2020 年 2 月 15 日

7. 試験品

1) 試験品名

殺菌剤 (190829-DRC-2-17) pH2.38 (以下、殺菌剤と記載した)

2) 受領日：2020 年 1 月 10 日

8. 試験条件

1) 作用温度：室温

2) 作用時間：対照；0 (初期)、5 分間

試験品；15 秒間および 5 分間

9. 使用培地、試薬および機材

1) 培地

① Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM、シグマアルドリッチ)

- ② イーグル MEM 培地「ニッスイ」① (MEM、日水製薬)
- ③ ダルベッコ変法イーグル培地「ニッスイ」② (DME、日水製薬)
- ④ SCDLP ブイヨン培地 (SCDLP、栄研化学)

2) 試薬

- ① ウシ胎児血清 (FBS : Fetal Bovine Serum、シグマアルドリッチ)
- ② Dulbecco's PBS (-) "Nissui" (PBS : Phosphate buffered saline、日水製薬)
- ③ ウシ血清アルブミン (BSA : Bovine Serum Albumin、シグマアルドリッチ)
- ④ トリプシン (シグマアルドリッチ)

3) 機材

- ① マイクロピペット 200 μ L、1000 μ L (ギルソン)
- ② 電動 8 連マルチチャンネルピペット (10 ~ 300 μ L、ザルトリウス)
- ③ 電動 8 連マルチチャンネルピペット (50 ~ 1200 μ L、ザルトリウス)
- ④ 安全キャビネット (BHC-1902 IIB、エアーテック)
- ⑤ CO₂ インキュベータ (MCO-20AIC、三洋)

10. 試験ウイルスおよび試験ウイルス液の調製

1) 試験ウイルスおよび感染価測定用細胞

- ① A 型インフルエンザウイルス (Influenza A virus, A/PR/8/34, ATCC VR-1469)
感染価測定用細胞: イヌ腎臓由来細胞株 (MDCK: Madin Darby-Canine Kidney)
- ② ネコカリシウイルス (Feline calicivirus, F-9, ATCC VR-782)
感染価測定用細胞: ネコ腎臓由来細胞株 (CRFK: Crandell-Rees Feline Kidney)
- ③ ヒトアデノウイルス 5 型 (Human adenovirus 5, Adenoid75, ATCC VR-5)
感染価測定用細胞: ヒト肺癌由来細胞株 (A549)
- ④ ヒトエンテロウイルス 71 型 (Human enterovirus 71, H, ATCC VR-1432)
感染価測定用細胞: サル腎臓由来細胞 (Vero)

2) 試験ウイルス液の調製

① A 型インフルエンザウイルス

ウイルスを孵化鶏卵に接種し、35.5℃で 2 日間培養後、漿尿液を回収し限外濾過膜で濃縮した後、ショ糖密度勾配遠心法 (遠心条件: 108,000 \times g、4℃、3

時間)によりウイルス液を精製し、保存ウイルス液とした。試験には、保存ウイルス液を PBS で 10 倍に希釈して用いた。

② ネコカリシウイルス

ウイルスを CRFK 細胞に感染させ、細胞培養面積の約 90 % 以上が細胞変性効果 (CPE: cytopathic effect) を示したとき -30°C の冷凍庫に凍結保存した。その後、凍結融解操作を行い、 $2,380 \times g$ で 10 分間遠心した上澄みを採取し、限外ろ過膜で濃縮したウイルス液をショ糖クッション法 (遠心条件: $108,000 \times g$, 4°C , 3 時間) さらに濃縮したウイルス液を保存ウイルス液とした。試験には、保存ウイルス液を PBS で 10 倍に希釈して用いた。

③ ヒトアデノウイルス 5 型

ウイルスを A549 細胞に感染させ、細胞培養面積の約 90 % 以上が CPE を示したとき -30°C の冷凍庫に凍結保存した。その後、凍結融解操作を行い、 $2,380 \times g$ で 10 分間遠心した上澄みを採取し、限外ろ過膜で濃縮したウイルス液を保存ウイルス液とした。試験には、保存ウイルス液を PBS で 10 倍に希釈して用いた。

④ エンテロウイルス 71 型

ウイルスを Vero 細胞に感染させ、細胞培養面積の約 90 % 以上が CPE を示したとき -30°C の冷凍庫に凍結保存した。その後、凍結融解操作を行い、 $2,380 \times g$ で 10 分間遠心した上澄みを採取し、限外ろ過膜で濃縮したウイルス液を保存ウイルス液とした。試験には、保存ウイルス液を原液で用いた。PBS で 10 倍に希釈して用いた。

11. 試験方法

1) ウイルス不活化試験

試験品を 5 mL 容量の試験管に 0.9 mL 分取したのち、試験ウイルス液 0.1 mL を加えて混合し、室温で所定時間作用させた。試験品の作用停止は作用液から 0.1 mL を採取し、作用停止液^{※1} 9.9 mL に添加して試験品を希釈する方法を採用した。これをウイルス感染価測定用試料の原液とした。なお、作用時間 0 (初期) および対照は、試験品の代わりに PBS を用いた。

※1 有効性を確認した SCDLP を用いた。試験品の作用停止液としての有効性確認試験手順と結果を 15 項に示した。

2) TCID₅₀ 法によるウイルス感染価測定

ウイルス感染価測定用の細胞をあらかじめ 96 ウェルプレートに播種して CO₂ インキュベータで 4 日間培養した。次いで、ウイルス感染価測定用試料の原液を PBS で 10 倍段階希釈した。培養液を除いた各ウェルに、感染価測定用試料の原液または PBS で 10 倍段階希釈した試料 25 μL を接種し、37°C で 1 時間、ウイルスを細胞に感染させた。1 時間後、接種したウイルス液を除去し、ウイルス培養用の培地^{※2} を 1 ウェルあたり 0.1 mL 加え、37°C の CO₂ インキュベータで培養した^{※3}。培養後、ウイルスの増殖により生じた CPE を顕微鏡で観察し、Reed-Muench 法によりウイルス感染価 (TCID₅₀/mL) を求めた。

なお、試験品の作用停止後の溶液が感染価測定用細胞に対し毒性を示す場合、感染価の測定が困難になり、検出限界値も変わるため、別途確認試験を行った。手順と結果を 16 項に示した。

※2 ウイルス培養用の培地は以下の通り

- ・ A 型インフルエンザウイルス ; 0.42 % BSA, 5 μg/mL トリプシン加 MEM
- ・ ネコカリシウイルス ; 1% FBS 加 DME
- ・ ヒトアデノウイルス 5 型 ; 0.2 % FBS 加 DMEM
- ・ エンテロウイルス 71 型 ; 1% FBS 加 DME

※3 培養期間は以下の通り

- ・ A 型インフルエンザウイルス ; 4 日間
- ・ ネコカリシウイルス ; 4 日間
- ・ ヒトアデノウイルス 5 型 ; 6 日間 (3 日目に培地交換を実施)
- ・ エンテロウイルス 71 型 ; 6 日間

3) 感染価対数減少値の算出

対照の初期感染価と試験品作用後の感染価から、下記式を用いて感染価対数減少値 (=LRV ; log reduction value) を算出した。なお、LRV は小数点以下 1 桁 (切り捨て) で表記した。不活化試験の結果、LRV が 4.0 以上のとき、ウイルス不活化効果ありと判定した。

$$\text{LRV (感染価対数減少値)} = \log_{10} (\text{対照の初期感染価} \div \text{試験品作用後の感染価})$$

12. 試験結果

試験結果を表-1~4 に示した。各ウイルスの試験結果を以下に示した。

1) A 型インフルエンザウイルスに対する不活化効果

「対照 (PBS)」にウイルスを作用させた初期および 5 分間作用後の感染価は、順に 8.9×10^6 TCID₅₀/mL および 2.4×10^6 TCID₅₀/mL であった。殺菌剤にウイルスを 15 秒間および 5 分間作用させた感染価は、それぞれの時間で検出限界値未満 (1.3×10^1 TCID₅₀/mL) となった。

初期感染価からの LRV を算出したところ、15 秒間および 5 分間作用後に共に > 5.8 となり、ウイルス不活化効果ありと判定された。

2) ネコカリシウイルスに対する不活化効果

「対照 (PBS)」にウイルスを作用させた初期および 5 分間作用後の感染価は、順に 1.1×10^7 TCID₅₀/mL および 1.5×10^7 TCID₅₀/mL であった。殺菌剤にウイルスを 15 秒間および 5 分間作用させた感染価は、それぞれ 1.9×10^2 TCID₅₀/mL および検出限界値未満 (1.3×10^1 TCID₅₀/mL) となった。

初期感染価からの LRV を算出したところ、15 秒間作用後に 4.7、5 分間作用後に > 5.9 となり、ウイルス不活化効果ありと判定された。

3) アデノウイルス 5 型に対する不活化効果

「対照 (PBS)」にウイルスを作用させた初期および 5 分間作用後の感染価は、順に 5.9×10^5 TCID₅₀/mL および 9.5×10^5 TCID₅₀/mL であった。殺菌剤にウイルスを 15 秒間および 5 分間作用させた感染価は、共に検出限界値未満 (1.3×10^1 TCID₅₀/mL) となった。

初期感染価からの LRV を算出したところ、15 秒間および 5 分間作用後において共に > 4.6 となり、ウイルス不活化効果ありと判定された。

4) エンテロウイルス 71 型に対する不活化効果

「対照 (PBS)」にウイルスを作用させた初期および 5 分間作用後の感染価は、共に 1.8×10^4 TCID₅₀/mL であった。殺菌剤にウイルスを 15 秒間および 5 分間作用させた感染価は、 1.5×10^4 TCID₅₀/mL および 2.7×10^3 TCID₅₀/mL となった。

初期感染価からの LRV を算出したところ、15 秒間作用後はほとんど減少が認められず、5 分間作用後は 0.8 となり、ウイルス不活化効果は認められなかった。

13. コメント

本試験は、貴財団ご提供「殺菌剤」の各種ウイルスに対する不活化効果を調べた。消毒薬などの欧州標準試験法である EN 14476:2013+A1:2015¹⁾ による消毒効果の判定基準は、初期感染価から 4.0 以上の LRV をもって不活化効果ありと判定している。本試験において、A 型インフルエンザウイルス、ネコカリシウイルスおよびアデノウイルス 5 型に対して LRV が 4.0 以上となり、不活化効果ありと判定された。

また、一般的に消毒効果は環境中に存在する有機物により影響を受けることが報告されており^{2,3)}、不活化効果の認められた試験品を用いる際にも用法や用量などを考慮することが重要であることが考えられる。

14. 参考資料

- 1) EN14476:2013+A1:2015 : Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area. Test method and requirements (Phase 2/Step 1)
- 2) E.Duizer et al., Inactivation of caliciviruses. Appl. Environ. Microbiol., 4538-4543: 2004.
- 3) 尾家重治 監修, 第五版 消毒剤マニュアルー消毒剤の特徴・使用法・使用上の留意点ー、健栄製薬株式会社、2012

以上

表-1 A型インフルエンザウイルスに対する不活化効果

試験品	感染価			感染価対数減少値 ^{a)}	
	0 (初期)	15 秒間	5 分間	15 秒後	5 分後
対照 (PBS)	8.9×10^6	—	2.4×10^6	—	0.5
殺菌剤	—	$< 1.3 \times 10^1$	$< 1.3 \times 10^1$	> 5.8	> 5.8

試験ウイルス：Influenza A virus, H1N1, A/PR/8/34, ATCC VR-1469

試験ウイルス液の感染価： 3.3×10^9 TCID₅₀/mL

検出限界値： 1.3×10^1 TCID₅₀/mL

- a) 感染価対数減少値： \log_{10} (初期感染価/所定時間作用後の感染価)
 数値は、小数点以下 2 桁を切り捨てて表記

表-2 ネコカリシウイルスに対する不活化効果

試験品	感染価			感染価対数減少値 ^{a)}	
	0 (初期)	15 秒間	5 分間	15 秒後	5 分後
対照 (PBS)	1.1×10^7	—	1.5×10^7	—	-0.1
殺菌剤	—	1.9×10^2	$< 1.3 \times 10^1$	4.7	> 5.9

試験ウイルス：Feline calicivirus, F-9, ATCC VR-782

試験ウイルス液の感染価： 8.3×10^9 TCID₅₀/mL

検出限界値： 1.3×10^1 TCID₅₀/mL

- a) 感染価対数減少値： \log_{10} (初期感染価/所定時間作用後の感染価)
 数値は、小数点以下 2 桁を切り捨てて表記

表-3 アデノウイルス 5 型に対する不活化効果

試験品	感染価			感染価対数減少値 ^{a)}	
	0 (初期)	15 秒間	5 分間	15 秒後	5 分後
対照 (PBS)	5.9×10^5	—	9.5×10^5	—	-0.2
殺菌剤	—	$< 1.3 \times 10^1$	$< 1.3 \times 10^1$	> 4.6	> 4.6

試験ウイルス：Human adenovirus 5, Adenoid75, ATCC VR-5

試験ウイルス液の感染価： 5.0×10^8 TCID₅₀/mL

検出限界値： 1.3×10^1 TCID₅₀/mL

a) 感染価対数減少値： \log_{10} (初期感染価/所定時間作用後の感染価)

数値は、小数点以下 2 桁を切り捨てて表記

表-4 エンテロウイルス 71 型に対する不活化効果

試験品	感染価			感染価対数減少値 ^{a)}	
	0 (初期)	15 秒間	5 分間	15 秒後	5 分後
対照 (PBS)	1.8×10^4	—	1.8×10^4	—	0
殺菌剤	—	1.5×10^4	2.7×10^3	0.0	0.8

試験ウイルス：Human enterovirus 71, H, ATCC VR-1432

試験ウイルス液の感染価： 1.1×10^7 TCID₅₀/mL

検出限界値： 1.3×10^1 TCID₅₀/mL

b) 感染価対数減少値： \log_{10} (初期感染価/所定時間作用後の感染価)

数値は、小数点以下 2 桁を切り捨てて表記

15. 作用停止液の有効性確認試験

1) 目的

試験品による供試ウイルスの不活化効果を停止させる目的で使用する作用停止液の有効性を確認した。

2) 方法

試験品の作用停止液として、SCDLP を用い、試験品とウイルスの作用液を 100 倍に希釈する方法を採用した。試験品 0.9 mL にウイルス液の代わりに、PBS 0.1 mL を加えたのち、作用停止液で 100 倍に希釈した液を「作用停止有効性の試験試料」とした。試験試料 0.9 mL にウイルス液 0.1 mL を接種し室温で 20 分間作用させた。この溶液を原液とし、ウイルス感染価を測定した。作用停止液の有効性は、対照 (PBS) と比較して、感染価が $0.5 \log_{10}$ 以上減少しない場合を有効と判定した。

3) 結果

結果を表-5 ～ 8 に示した。

「作用停止有効性の試験試料」にウイルスを作用させた時の感染価を「対照 (PBS)」と比較した場合、すべてのウイルスにおいて判定基準内であった。以上の結果から、作用停止液は試験品に対して有効であると判定した。

表-5 A 型インフルエンザウイルスに対する作用停止液の有効性確認

試験試料 ^{a)}	感染価	感染価の差 ^{b)}	作用停止の有効性 ^{c)}
殺菌剤	7.0×10^3	0.1	有効
対照 (PBS)	8.9×10^3	—	—

感染価単位：TCID₅₀/mL

a) 試験品 0.9 mL と PBS 0.1 mL を混合した液を SCDLP で 100 倍に希釈した液

b) \log_{10} (対照の感染価 ÷ 試験試料の感染価)

c) 対照に対し、 $0.5 \log_{10}$ 以上減少していない場合を有効と判定した

表-6 ネコカリシウイルスに対する作用停止液の有効性確認

試験試料 ^{a)}	感染価	感染価の差 ^{b)}	作用停止の有効性 ^{c)}
殺菌剤	1.1×10^4	0.0	有効
対照 (PBS)	1.0×10^4	—	—

感染価単位：TCID₅₀/mL

- a) 試験品 0.9 mL と PBS 0.1 mL を混合した液を SCDLP で 100 倍に希釈した液
- b) \log_{10} (対照の感染価 ÷ 試験試料の感染価)
- c) 対照に対し、 $0.5 \log_{10}$ 以上減少していない場合を有効と判定した

表-7 アデノウイルス 5 型に対する作用停止液の有効性確認

試験試料 ^{a)}	感染価	感染価の差 ^{b)}	作用停止の有効性 ^{c)}
殺菌剤	1.3×10^3	-0.2	有効
対照 (PBS)	1.5×10^3	—	—

感染価単位：TCID₅₀/mL

- a) 試験品 0.9 mL と PBS 0.1 mL を混合した液を SCDLP で 100 倍に希釈した液
- b) \log_{10} (対照の感染価 ÷ 試験試料の感染価)
- c) 対照に対し、 $0.5 \log_{10}$ 以上減少していない場合を有効と判定した

表-8 エンテロウイルス 71 型に対する作用停止液の有効性確認

試験試料 ^{a)}	感染価	感染価の差 ^{b)}	作用停止の有効性 ^{c)}
殺菌剤	2.1×10^3	-0.2	有効
対照 (PBS)	1.1×10^3	—	—

感染価単位：TCID₅₀/mL

- a) 試験品 0.9 mL と PBS 0.1 mL を混合した液を SCDLP で 100 倍に希釈した液
- b) \log_{10} (対照の感染価 ÷ 試験試料の感染価)
- c) 対照に対し、0.5 \log_{10} 以上減少していない場合を有効と判定した

16. 細胞毒性確認試験

1) 目的

試験品が供試ウイルスを培養する細胞に対して細胞毒性を示す場合、ウイルス感染価の測定が困難になるため、作用停止液で希釈後の試験品を用いて各ウイルスの感染価測定用細胞に対する毒性を確認し、本試験における検出限界値を調べた。

2) 方法

試験品 0.9 mL にウイルス液の代わりに、PBS 0.1 mL を加えたのち、作用停止液で 100 倍に希釈した液を「細胞毒性確認用試料」とした。この液をあらかじめ 96 ウェルプレートに単層培養しておいた感染価測定用細胞に測定用試料原液または PBS で 10 倍希釈した液を 1 ウェルあたり 25 μ L を接種し、37°C の CO₂ インキュベータで 1 時間静置した後、接種液を除き、感染価測定用培地を 1 ウェルあたり 0.1 mL ずつ加え、CO₂ インキュベータで培養した。培養後、細胞をクリスタルバイオレットで染色し、各ウェルの染色の度合いにより細胞毒性を確認した。細胞毒性は、PBS を加えて培養したものを生細胞率 100 % として、細胞毒性確認用試料を添加して培養した細胞の生細胞率 (%) を求め、50 % 未満となった場合、細胞毒性“あり”の目安とした。50 % 未満となった場合においても顕微鏡観察によりウイルスの CPE が判定できる場合は、細胞毒性なしと判定した。

3) 結果

試験結果を表-9 に示した。

「細胞毒性確認用試料」を添加して培養した細胞の生細胞率は 50 % 以上となり、感染価測定用細胞に対し細胞毒性なしと判定された。なお、A549 細胞は、「細胞毒性確認用試料」の原液は吸光度測定により生細胞率が 50 % 未満となったが、顕微鏡の観察したところ、ウイルス増殖による CPE が判定可能であった。そのため、細胞毒性なしと判定した。

また、「細胞毒性確認用試料」の原液で細胞毒性なしと判定したことから、検出限界値は、 1.3×10^1 TCID₅₀/mL であることが分かった。

表-9 細胞毒性確認用試料 a) の感染価測定用細胞に対する毒性

感染価測定用細胞 ^{b)}	生細胞率 (%) ^{c)} (平均値)		細胞毒性 の判定 ^{d)}
	原液	10 倍希釈液	
MDCK	114 ± 7	107 ± 4	毒性なし
CRFK	125 ± 4	106 ± 5	毒性なし
Vero	113 ± 6	120 ± 5	毒性なし
A549	113 ± 6	120 ± 5	毒性なし

- a) 試験品 0.9 mL と PBS 0.1 mL を混合した液を SCDLP で 100 倍に希釈した液
- b) 細胞とウイルスの組合せは以下の通り。MDCK 細胞；A 型インフルエンザウイルス、CRFK 細胞；ネコカリシウイルス、Vero 細胞；エンテロウイルス 71 型、A549 細胞；アデノウイルス 5 型
- c) 4 ウェルの平均値と標準偏差を示した
- d) 生細胞率が 50% 未満を細胞毒性“あり”と判定した

Appendix A

人体における影響や安全性をヒトパッチテストを用いて証明しています。

Appendix Table 1 滅菌剤 の判定結果

Sample No.32				
被験者番号	年齢	性別	塗布30分後	除去24時間後
1	59	F	—	—
2	29	F	—	—
3	27	M	—	—
4	56	M	—	—
5	39	F	—	—
6	50	F	—	—
7	41	F	—	—
8	44	F	—	—
9	43	F	—	—
10	28	M	—	—
11	40	F	—	—
12	46	F	—	—
13	47	F	—	—
14	58	F	—	—
15	50	F	—	—
16	48	F	—	—
17	50	F	—	—
18	38	F	—	—
19	36	F	—	—
20	56	F	—	—
21	40	F	—	—
22	28	M	—	—
23	29	F	—	—
24	43	F	—	—
25	36	F	—	—
26	28	M	—	—

オープンヒトパッチテスト

本報告書に記載された試験は、試験実施機関の SOP にしたがって実施されました。

試験実施責任者 試験部 安全性・紫外線試験グループ

高野 雅史

報告書作成者 試験部 安全性・紫外線試験グループ

大野 夏美

2019年 10月 3日

本試験報告書が正確に試験の実施と結果を記述していることを証します。

DRC 株式会社

大阪府大阪市北区東天満 2-10-31 第9 田淵ビル 3F

報告書承認者 品質保証室

佐野 裕美

年 月 日

第1版

本報告書に記載された試験の皮膚反応の判定を行った医師として記名捺印します。

試験判定医師 赤松 浩彦

目 次

1	要約	1
2	試験の目的	1
3	試験実施組織	1
3.1	試験依頼者	1
3.2	試験実施機関	1
4	方法	2
4.1	試験品の概要	2
4.2	試験方法	2
4.3	データの取り扱いおよび試験結果の集計	4
4.4	倫理的事項	4
5	結果	6
6	試験資料の保管	6
7	参考資料	6

1 要約

被験品「滅菌剤」について、成人男女 26 名を対象にオープンヒトパッチテストを実施した。その結果、被験品の塗布後に「+」以上の反応が認められた被験者は被験品「滅菌剤」ではいなかった。

2 試験の目的

成人男女を対象として、試験品を 30 分単回開放塗布した場合の皮膚反応を観察することを目的とした。

3 試験実施組織

3.1 試験依頼者

名称：新医療財団（SEIWA Medical 株式会社）

所在地：大阪府大阪市阿倍野区松崎町 3-7-4

TEL：06-6623-0266 FAX：06-6777-9749

担当者：真木 修一

3.2 試験実施機関

名称：DRC 株式会社

所在地：大阪府大阪市北区東天満 2-10-31 第 9 田淵ビル 3F

TEL：06-6882-8101 FAX：06-6948-6505

試験実施責任者：高野 雅史

試験担当者：道貫 比登美、美馬 葵、小倉 舞、大野 夏美、菊池 菜生、服部 未来

4 方法

4.1 試験品の概要

4.1.1 被験品

名称：滅菌剤

管理番号：Sample No.32

前処理：原体のまま試験に供した。

4.2 試験方法

4.2.1 試験スケジュール

同意を取得した被験者にアンケートおよび体調確認を行い、試験参加に適格な被験者を選択した。次いで、試験品貼付部位の観察および写真撮影を行った後に、試験品を塗布した。塗布 30 分後に除去し、除去後に、第 1 回目の観察および写真撮影を行い、皮膚反応を判定した。除去の 24 時間後に第 2 回目の観察および写真撮影を行い、皮膚反応を判定した。

試験スケジュールを Table 1 に示した。

Table 1 試験スケジュール

1 日目	同意取得 ↓ 被験者の適格性判定 ↓ 塗布部位の観察、写真撮影 ↓ 試験品の塗布 ↓ 30 分後に試験品の除去 第 1 回目の観察および写真撮影 ↓
2 日目	除去の 24 時間後に第 2 回目の観察および写真撮影

4.2.2 試験実施日

試験開始日 2019 年 9 月 10 日

試験終了日 2019 年 9 月 11 日

4.2.3 被験者

4.2.3.1 被験者数

被験者数は 26 名とした。

4.2.3.2 被験者の選択

以下の選択基準をすべて満たし、かつ除外基準に抵触しない者を被験者として選択した。

1) 選択基準

- (1) 年齢 20 歳以上 60 歳未満の健康な日本人男女
- (2) 試験の目的や方法などを理解し、試験参加についての同意が文書により得られる者

2) 除外基準

- (1) アトピー性皮膚炎や湿疹などの皮膚疾患を有する者
- (2) 試験品貼付部位（上腕部）に、本試験の評価に影響する皮膚異常が認められる者
- (3) 薬物アレルギーの既往のある者
- (4) 発疹や蕁麻疹などのアレルギーを起こしやすい体質の者
- (5) 疾病の治療や予防などのために医療機関などで処置（ホルモン補充療法、薬物療法、運動療法、食事療法、その他）を受けている者、あるいは治療が必要な状態と判断される者
- (6) 糖代謝、脂質代謝、肝機能、腎機能、心臓、循環器、呼吸器、内分泌系、神経系の重篤な疾患あるいは精神疾患の既往歴を有する者
- (7) アルコールおよび薬物依存の既往歴を有する者
- (8) 同意取得時に妊娠、授乳中の者、あるいは試験期間中に妊娠を希望する者
- (9) 試験開始前 2 週間以内に本試験の評価に影響する可能性のある薬剤を使用した者
- (10) 試験開始前 4 か月間以内にパッチテストに参加した者
- (11) 本試験開始時に他のヒト試験（化粧品、食品、医薬品、医薬部外品、医療機器などを用いたヒトを対象とする試験すべて）に参加している者、あるいは本試験の実施予定期間中に他のヒト試験に参加する予定がある者
- (12) その他、試験実施責任者などが試験参加に不相当と判断する者

4.2.3.3 制限事項および禁止事項

試験実施機関の担当者は被験者に対して、試験期間中は試験参加前の通常的生活を送るとともに、以下の制限事項を守るように指導した。

- (1) 試験 1 日目の試験品塗布後から 2 日目の検査終了までは、入浴（シャワーを含む）は禁止する。
- (2) 試験期間中は、試験参加前からの食事、運動、飲酒、喫煙、睡眠時間などの生活習慣を変えずに維持する。
- (3) 試験期間中は、できるだけ規則的な生活を心がけ、日常範囲を大きく逸脱する激しい運動（息が上がるようなランニング、水泳、登山など）、過度なアルコール摂取、ダイエットおよび暴飲暴食（宴会、食べ放題、バイキングなど）、夜更かし、および徹夜を避ける。
- (4) 試験期間中は、やむを得ない場合を除き、医薬品を使用しない。医薬品を使用した場合は試験実施責任者に報告する。

4.2.4 試験品の塗布および除去の方法

被験者の上腕部に試験品を、スパチュラで直径 2 cm の円形に塗布した。塗布回数は 1 回とした。

塗布 30 分後に注射用蒸留水（大塚製薬株式会社）を含ませたコットンで試験品を払拭後、乾いたティッシュでこすらないように軽く払拭した。

4.2.5 試験の中止基準

試験実施責任者は、被験者が以下に該当する場合、当該被験者の試験または試験全体を中止することとした。

- (1) 試験開始後に被験者が同意を撤回した場合
- (2) 試験開始後に被験者の都合で必要な観察の実施が不可能と判明した場合
- (3) 試験開始後に対象として不適格であることが判明した場合
- (4) 重篤な有害事象が発現し、試験の継続が困難な場合
- (5) 有害事象（併存疾患の悪化も含む）が発現し、中止すべきと判断した場合

4.2.6 評価方法および評価基準

試験判定医師は、除去により生ずる一過性の紅斑が認められた場合は消退した後に、試験品塗布部位の観察および Table 2 に示した判定基準¹⁾により皮膚反応の判定を行った（塗布 30 分後の判定）。さらに、除去の約 24 時間後に再度、塗布部位の観察および皮膚反応の判定を行った（除去 24 時間後の判定）。

Table 2 パッチテストの判定基準

本邦判定基準	
—	反応なし
±	軽度の紅斑
+	紅斑
++	紅斑＋浮腫、丘疹
+++	紅斑＋浮腫＋丘疹＋小水疱
++++	大水疱

4.3 データの取り扱いおよび試験結果の集計

試験判定医師が不適と判断した被験者および試験を中止した被験者の判定結果については、解析対象から除外した。

4.4 倫理的事項

4.4.1 ヘルシンキ宣言および倫理指針への対応

本試験は、ヘルシンキ宣言（世界医師会）ならびに人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（文部科学省、厚生労働省）に示された倫理規範を踏まえ、被験者の人権保護に配慮して実施した。

4.4.2 被験者への説明および同意の取得方法

試験実施責任者は、被験者が試験に参加する前に、説明文書を被験者に渡し、本試験の目的や内容などについて十分に説明を行い、被験者が内容を十分に理解し、納得したことを確認した上で、本試験への参加について自由意思による同意を被験者本人より文書で得た。

4.4.3 個人情報の保護

本試験で取得する被験者の個人情報を、本試験を実施する目的でのみ使用した。本試験に関与する者は、被験者の個人情報の保護およびプライバシーの保全に十分に配慮し、これを扱った。

被験者の年齢、性別、検査値、アンケートの回答結果などのデータ（試験データ）は、匿名化処理を講じられ、被験者の秘密を保全した。なお、試験データおよび被験者番号は試験実施機関の記録用紙およびコンピューターに適切な管理のもと、保存された。

5 結果

被験者は年齢 27 歳～59 歳（平均年齢 42 歳）の男性 5 名、女性 21 名であった。試験品の皮膚反応を Table 3 に示した。Appendix A に各試験品の被験者の年齢、性別および判定結果を、Appendix B に写真を示した。

Table 3 被験品の皮膚反応

被験品	Sample No.32 滅菌剤	
	塗布30分後	除去24時間後
判定時間 反応		
一例数	26/26	26/26
±例数	0/26	0/26
+例数	0/26	0/26
++例数	0/26	0/26
+++例数	0/26	0/26

6 試験資料の保管

試験報告書の正本を試験依頼者に提出し、副本（複写）を試験実施機関にて保管する。また、試験実施機関における保管期間は 5 年間とした。

7 参考資料

- 1) 日本皮膚科学会接触皮膚炎診療ガイドライン委員会, (2009) 接触皮膚炎診療ガイドライン, 日皮会誌, 119(9) : 1757-1793.

安全データシート

初版作成日: 2020 年 5 月 25 日
改訂日 (第 版) .

1. 製品および会社情報

1.1 製品の特定

製品の名称: ミネラルイオン除菌液

分類: 雑貨 (多目的除菌剤)

用途: 空間と物に対してのみ使用し、人体への使用及び、内服は行わないで下さい。

1.2 会社情報

会社名: SEIWA Medical 株式会社

住所: 大阪府大阪市天王寺区烏ヶ辻 1 丁目 5 番 7 号

電話番号: 06-6777-8600

FAX 番号: 06-6777-9749

担当者: 川端 遵

2. 危険有害性の要約

2.1 GHS分類

危険有害性分類: 区分外

2.2 GHSラベル要素

シンボル: GHS基準に基づいて危険物として分類されていないため、GHSラベルを付ける必要はない。

注意喚起語: 該当なし。

危険有害性情報: 該当なし。

2.3 注意書き

安全対策: 使用前に商品ラベルを確認すること。

すべての安全注意を読み理解するまで取り扱わないこと。

応急措置: セクション4の「応急措置」をご参照下さい。

保管: セクション7の「取り扱い及び保管」をご参照下さい。

廃棄: セクション13の「廃棄に関する情報」をご参照下さい。

3. 組成/成分情報

3.1 単一製品・混合物の区分: 混合物

3.2 含有成分及び含有量:

成分名又は一般名	CAS 番号	化管法	化番法	安衛法	毒劇法	配合量又は配合範囲 (%)
精製水	7732-18-5	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	残渣
塩化鉄(III)	7705-08-0	第一種	1-213	別 9-352	-	1%以下

(ミネラルイオン除菌液, SEIWA Medical 株式会社, 2020年5月25日)

硫酸亜鉛	44122-15-8	-	1-542	146	-	1%以下
硫酸ニッケル	7786-81-4	-	1-813	別 9-418	-	1%以下
L-システイン	52-90-4	-	9-1590	1460	-	1%以下
L-アスコルビン酸	50-81-7	-	5-62	-	-	1%以下
ソルビン酸カリウム	590-00-1	-	2-1076	-	-	1%以下
ドデシル硫酸ナトリウム	151-21-3	第一種	2-1679	-	-	1%以下
塩化水素	7647-01-0	-	1-215	別 9-98	劇物	1%以下

- ・化管法 特定化学物質の環境への排出量の把握及び管理の改善の促進に関する法律（PRTR 法）対象化学物質の政令番号
- ・化審法 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）官報公示整理番号
- ・安衛法 労働安全衛生法（安衛法）第 57 条の 2 第 1 項政令指定物質の政令番号
- ・毒劇法 毒物及び劇物取締法の別表一（毒物）、別表二（劇物）、別表三（特定劇物）、毒物及び劇物指定令

4. 応急措置

4.1 応急措置の説明

吸入：特記すべき症状は有りませんが、使用中に気分が悪くなった場合は、直ちに作業と中止し、速やかに通気の良い場所で安静にしてください。気分が回復しない場合は、医師の診断を受けて下さい。

皮膚に触れた場合：刺激が発生した場合、暖かい石鹼と水で十分にすすいで下さい。

眼に入った場合：目を擦らず直ちに清浄な水で少なくとも10分間以上すすぎ洗いして下さい。コンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外して洗浄を行って下さい。もし目の刺激が持続する場合は、医師の診断/手当を受けて下さい。

飲み込んだ場合：医師の指示がない限り、嘔吐させないで下さい。水で口の中をよくすすいで下さい。意識の無い人には絶対に口から物を与えないで下さい。気分が悪い場合は、医師の診断を受け、ラベルを提示して下さい。

4.2 急性および慢性の最も重要な症状および影響

特記すべき症状は有りません。

4.3 必要な緊急治療と特別処置の指示:

特別な救急処置を必要とする危険はありません。

症状が持続するか疑わしい場合は、医師に相談して下さい。

5. 火災時の処置

5.1 消火剤：

適切な消火剤：可燃性はありません。周囲の火災に適した消火剤を使用して下さい。

不適切な消火剤：該当なし。

物質または混合物から生じる特別な危険：知られていない。

難燃性分類：GHS基準では可燃性ではない。

危険な燃焼生成物：知られていない。

5.2 消防士のための特別な保護具および予備措置:

消防士用保護具：他の火災同様に、自給式呼吸装置、MSHA/NIOSH（認証品または同等品）および全身保護具を着用して下さい。

6. 漏出時の措置

人体に対する予防措置：通常の使用条件下ではなし。

環境：流出した製品が河川等に排出され、環境への影響を起こさないように注意する。漏出物を直接に河川や下水に流さないように注意する。

除去の方法：雑巾やモップ、吸収材（布、フリースなど）などで拭き取るか吸い取らせ乾燥させて下さい。

7. 取り扱い及び保管

7.1 取り扱い：

技術的対策/予防策：容器はしっかり閉めて、発火源から離しておく。禁煙。

安全取扱注意事項：発火源から離しておく。禁煙。静電気防止のための予防措置を講ずる。

7.2 保管：

技術的対策/保管条件：104°F (40°C)以下の温度で保管して下さい。極端な熱や発火源から離して保管して下さい。涼しく換気の良い場所で容器をしっかり閉めて保管して下さい。喫煙禁止。

7.3 混載禁止商品：

熱および発火源から遠ざける。強い酸化剤、強酸および塩基との接触を避ける。

8. 暴露防止及び保護措置

管理濃度：設定されていない。

許容濃度：設定されていない。

保護具：

呼吸器の保護具：特別な保護具を必要としない。

手の保護具：特別な保護具を必要としない。

目の保護具：特別な保護具を必要としない。

皮膚及び身体の保護具：特別な保護具を必要としない。

9. 物理的及び化学的性質

外観：透明な液体。

臭い：特有な匂い（基剤臭）。

pH（常温）：2.0 ～ 4.0

水への溶解性：完全溶解。

溶解度：メタノール、エタノール、塩素に融和する。

引火点：不燃性液体。

揮発分（重量%）：該当なし。

揮発性有機化合物：該当なし。

その他の物理的/化学的コメント：追加情報は有りません。

10. 安定性及び反応性

反応性：通常は反応しない。

化学的安定性：通常の下で安定。

(ミネラルイオン除菌液, SEIWA Medical 株式会社, 2020年5月25日)

危険な反応の可能性 : 危険な重合は起こらない。

避けるべき条件 : 熱および発火源。

不適合物質 : 強い酸と塩基。酸化剤。

危険な分解生成物 : 知られていない。

11. 有毒性情報

11.1 急性毒性 :

眼に入った場合 : データなし。通常の使用では危険はない。

皮膚に触れた場合 : データなし。通常の使用では危険はない。

飲み込んだ場合 : データなし。通常の使用では危険はない。

吸入 : データなし。通常の使用では危険はない。

生殖影響 : なし。

発がん性 : なし。

12. 環境情報

12.1 生態毒性 :

水生環境有害性 (急性) : 区分3。環境に直接放出されるべきではありません。

水生環境有害性 (長期間) : 区分3。長期継続的影響により水生生物に有害なため、必要な時以外は環境に直接放出されるべきではありません。

12.2 分解性 :

土壌移動性 : この製品自体はテストされていません。

持続性および分解性 : この製品自体はテストされていません。

生物蓄積性 : この製品自体はテストされていません。

その他の環境への悪影響 : 知られていません。

13. 廃棄に関する情報

処分のための取り扱い : 極めて労働衛生的で、安全に従って取り扱って下さい。セクション 7 と 8 に記載されている防護措置を参照してください。

廃棄方法 : 内容物/容器を、国際/国/都道府県/市町村の規則 (明示する) に従って廃棄して下さい。特定の規則については、地元当局にお問い合わせ下さい。

14. 輸送情報

国内規制 :

陸上輸送 : 労働安全衛生法に定められた輸送方法に従って下さい。

海上輸送 : 船舶安全法に定められた輸送方法に従って下さい。

航空輸送 : 航空法に定められた輸送方法に従って下さい。

国際規制 :

国連分類 : 国連勧告の定義上の危険物に該当しない。

国連番号 : 該当しない。

(ミネラルイオン除菌液, SEIWA Medical 株式会社, 2020 年 5 月 25 日)

容器等級 : 該当しない。

輸送の特定の 安全対策及び条件 : 出荷前に容器から破損、腐食、漏れがないことを確認してください。荷物の落下、落下、倒れを防止するために、貨物の損傷を防止して下さい。高温多湿、氷点下、直射日光での保管を避けて下さい。

15. 規制情報

薬機法 : 医薬品、医薬部外品、化粧品に該当しない。

化学物質排出把握管理促進法 : 非該当

化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 : 既存化学物質

労働安全衛生法 :

危険物 : 非該当

有機溶剤中毒防止法令 : 非該当

名称等を表示すべき危険物及び有害物 : 非該当

毒物及び劇物取締法 : 非該当

消防法 : 非該当

船舶安全法 : 非危険物

航空法 : 非危険物

16. その他の情報

この SDS に記載されている情報は、現時点で入手できる最新の資料、情報データに基づき作成しています。記載されている情報は、安全な取り扱い、使用、処理、保管、輸送、廃棄、および廃棄に関する指針としてのみ設計されており、保証や品質に関する基準ではありません。危険・有害性の評価は、必ずしも十分ではありませんので、取扱いには十分注意してください。この情報は新しい知見に基づいて改訂される可能性があります。

SDS : ミネラルイオン除菌液