

# ハキユート 各種エビデンス



## 試験データ①

オープンパッチテスト

# 報 告 書

## およびコントロール品 2 種のオープンパッチテスト

試験記号 : 144902\_to-28308  
試験期間 : 2020 年 4 月 21 日～2020 年 4 月 22 日  
報告日 : 2020 年 5 月 8 日

株式会社  K E N  
〒105-0013 東京都港区浜松町 1-2-10 DaiwaA 浜松町ビル 3 階  
TEL : 03-5408-1  FAX : 03-5408-0576

《社外秘》

目次

1.	試験概要.....	1
2.	試験表題および試験番号.....	2
3.	試験体制.....	2
4.	被験者（対象者）.....	3
5.	被験者の同意.....	3
6.	試験デザイン.....	4
7.	パッチテストに用いる被験品.....	4
8.	パッチテスト方法（観察場所：前腕内側部）.....	5
9.	参考文献.....	7
10.	試験中止および脱落症例の基準.....	7
11.	有害事象.....	7
12.	被験者の補償.....	9
13.	解析対象からの除外基準.....	9
14.	検査データの変更・欠損.....	9
15.	倫理.....	9
16.	試験結果.....	10
17.	まとめ.....	16

《社外秘》

## 1. 試験概要

表題	オープンパッチテスト コントロール品2種のオ
被験品名	・試験品  ・コントロール品 生理食塩水、白色ワセリン
対象被験者	同意取得時の年齢が20歳以上60歳以下の日本人男性および女性
被験者数	20名
試験デザイン	オープンパッチテスト ・「皮膚刺激性・感作性試験の実施法と皮膚性状計測および評価」 第1章 皮膚刺激性試験 第3節 ヒトパッチテスト (p29) に準じた手法にて実施。
判定基準	・「皮膚刺激性・感作性試験の実施法と皮膚性状計測および評価」 第1章 皮膚刺激性試験 第3節 ヒトパッチテスト (p29) に準じた皮膚判定基準にて実施。
塗布法・塗布量	・適量 (約20 $\mu$ l) を前腕内側部に塗布
塗布部位	前腕内側部
評価方法	医師が判定基準に従って評価 (塗布60分後、塗布24時間後)
試験統括医師	芝パレスクリニック 院長 小池田 崇史
試験実施機関	芝パレスクリニック 〒105-0013 東京都港区浜松町1-9-10 DaiwaA浜松町ビル6階 TEL : 03-5408-1599 / FAX : 03-5408-0059  SOUKEN 臨床試験室 〒105-0013 東京都港区浜松町1-9-10 DaiwaA浜松町ビル6階 TEL : 03-5408-1555 / FAX : 03-5408-0576
試験委託者	
倫理的配慮	本試験は、試験実施計画書並びに「ヘルシンキ宣言」に基づく倫理的原則を遵守して実施した。

《社外秘》

2. 試験表題および試験番号

試験表題：

コントロール品 2 種のオープンパ

ッチテスト

試験番号：144902\_to-28308

3. 試験体制

1) 試験委託者

2) 試験受託者

株式会社 SOUKEN 本社

〒105-0013 東京都港区浜松町 1-9-10 DaiwaA 浜松町ビル 3 階

TEL：03-5408-1555/FAX：03-5408-0576

事務局担当：金子 美和

3) 試験統括医師

芝パレスクリニック 院長 小池田 崇史

〒105-0013 東京都港区浜松町 1-9-10 DaiwaA 浜松町ビル 6 階

TEL：03-5408-1599/FAX：03-5408-0059

4) 試験実施機関

芝パレスクリニック

〒105-0013 東京都港区浜松町 1-9-10 DaiwaA 浜松町ビル 6 階

TEL：03-5408-1599/FAX：03-5408-0059

SOUKEN 臨床試験室

〒105-0013 東京都港区浜松町 1-9-10 DaiwaA 浜松町ビル 6 階

TEL：03-5408-1555/FAX：03-5408-0576

5) 相談窓口

芝パレスクリニック

〒105-0013 東京都港区浜松町 1-9-10 DaiwaA 浜松町ビル 6 階

TEL：03-5408-1599/FAX：03-5408-0059

担当：小池田 崇史

《社外秘》

#### 4. 被験者（対象者）

SOUKEN 登録被験者から、下記の選択基準を満たし、除外基準に抵触しない被験者 20 名を選抜し本試験対象者とした。

##### 1) 選択基準

- ① 同意取得時の年齢が 20 歳以上 60 歳以下の日本人男性および女性
- ② 来院予定日に指定の施設に来られる者

##### 2) 除外基準

- ① 皮膚過敏症の者
- ② 接触性アレルギーのある者またはアレルギー症状を示す恐れのある者
- ③ 検査結果に影響する可能性のあると思われる薬を服用または塗布している者
- ④ 現在、皮膚科に通っている者
- ⑤ 妊娠中または妊娠している可能性のある者、および授乳中の者
- ⑥ 被験品貼付箇所に、ニキビ・吹き出物（広範囲）・シミ（広範囲）・傷・刺青・イボ・火傷痕等があることによってパッチテストの被験者として適さない者
- ⑦ 本パッチテストに不相当と思われる既往症および現病症を有する者
- ⑧ 他者の介助の必要があり、自立歩行が不可能な者

#### 5. 被験者の同意

試験受託者は、試験開始前に被験者に対して、試験内容、この試験への参加は自由意思であること、同意しなくても不利益を受けない事等を十分説明し、試験への参加について電子的記録で同意を得た。

- ① 本試験の目的および方法について
- ② 被験品の説明、作用、予想される発現副作用
- ③ 試験実施期間中は被験者を医師の十分な管理下に置くこと（試験期間中の禁止事項を遵守するよう指導する）
- ④ 被験者は試験の参加に同意しない場合があっても不利益を受けないこと
- ⑤ 被験者が試験への参加に同意した後でも随時これを撤回できること
- ⑥ 本試験に関する健康被害が発生した場合に被験者が受けることのできる適切な処置および治療
- ⑦ 本試験への参加の継続について被験者の意思に影響を与える可能性のある情報が得られた場合には速やかに被験者に伝えられること
- ⑧ その他、被験者の人権保護および被験者の情報開示に関し必要な事項
- ⑨ 本試験の結果が公表される場合であっても、被験者のプライバシーは保全されること
- ⑩ 被験者が守るべき事項（全体スケジュール、来院日時、など）
- ⑪ 被験者が本試験および被験者の権利に関してさらに情報が欲しい場合、または本試験に関連する健康被害が生じた場合に照会すべき医療機関の相談窓口の設置
- ⑫ 被験者への交通費および協力費について
- ⑬ 被験者の秘密が保全されることを条件に、試験委託者が原資料を閲覧できること。また、試験への参加に同意することによって閲覧を認めたことになること

《社外秘》

## 6. 試験デザイン

オープンパッチテスト

「皮膚刺激性・感作性試験の実施法と皮膚性状計測および評価」

第1章 皮膚刺激性試験 第3節 ヒトパッチテスト (p.29) に準じた手法にて実施

## 7. パッチテストに用いる被験品

### 1) 被験品

本試験に使用する被験品は、試験品1種および生理食塩水、白色ワセリンの計3種とし、厳重に管理し保管した。

### 2) 被験品担当者

株式会社 SOUKEN 宮脇 浩平

### 3) 被験品の管理及び保管

被験品は試験機関（株式会社 SOUKEN）が室温で適切に保管した。

### 4) 余剰被験品

本試験終了後、試験に使用せず余った被験品は、試験機関が適切に廃棄した。

### 5) 被験品の成分

①
アルカリ剤、キレート剤、非イオン系界面活性剤、水

※試験に際して、試験機関（株式会社 SOUKEN）において  
を精製水で20倍（5%水溶液）に希釈し、試験品とした。

②生理食塩水
--------

③白色ワセリン
---------

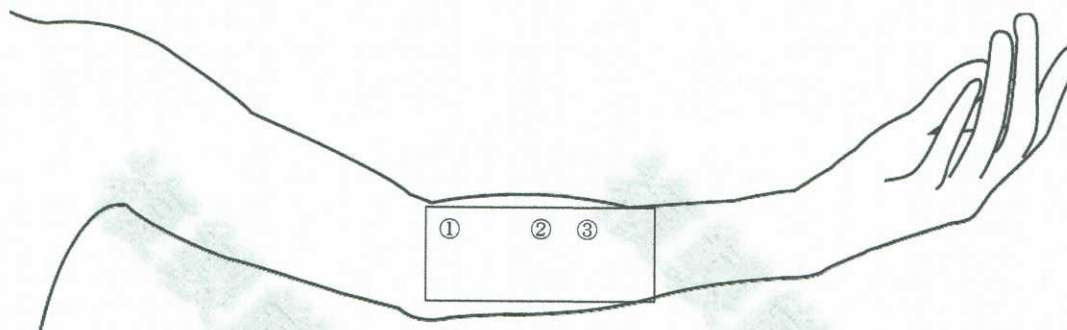


《社外秘》

8. パッチテスト方法（観察場所：前腕内側部）

1) 試験スケジュール

以下のスケジュールにて実施した。



【塗布日】

- ・ 集合後、被験者の予定塗布部位を見て適格性について確認を行った。
- ・ 予定塗布部位に被験品を適量（ $20\mu\text{l}$ を目安）塗布し、塗布 60 分後に医師による判定後、帰宅させた。

【塗布 24 時間後】

- ・ 集合後、被験品塗布 24 時間後の肌状態について医師による判定後、帰宅させた。

		4/21	4/22
	契約締結後 2 週間以内 (被験品納品済)	塗布日/ 塗布 60 分後	塗布 24 時間後
エントリー開始日・被験者決定	○	—	—
パッチテスト開始日・同意取得	—	○	—
医師による判定	—	○	○

《社外秘》

## 2) 判定基準

「皮膚刺激性・感作性試験の実施法と皮膚性状計測および評価」(p.30)

ヒトパッチ判定基準・皮膚刺激指数

判定基準	判定	評点
反応なし	陰性 (-)	0
わずかな紅斑	弱陽性 (±)	0.5
明らかな紅斑	陽性 (+)	1.0
紅斑+浮腫、丘疹	強陽性 (++)	2.0
紅斑+浮腫・丘疹+小水疱	強陽性 (+++)	3.0
大水疱	強陽性 (++++)	4.0

※強陽性(++)の刺激反応が出た場合は、試験統括医師の判断によりその被験品に関する本試験を中止する場合があることとしたが、本試験において中止となった被験者は認められなかった。

皮膚刺激指数値	分類
5.0 以下	安全品
5.0 超 15.0 以下	許容品
15.0 超 30.0 未満	要改良品
30.0 以上	危険品

※皮膚刺激指数 = (被験品塗布 60 分後あるいは 24 時間後の反応の強い方の総評点 / 被験者数) × 100

## 3) 試験実施場所

芝パレスクリニック

〒105-0013 東京都港区浜松町 1-9-10 Daiwa A 浜松町ビル 6 階

TEL : 03-5408-1599 / FAX : 03-5408-0059

SOUKEN 臨床試験室

〒105-0013 東京都港区浜松町 1-9-10 Daiwa A 浜松町ビル 3 階・6 階

TEL : 03-5408-1557 / FAX : 03-5408-0576

## 4) 被験者管理事項

- ① 塗布期間中の入浴等については特に禁止しないが、塗布部位を擦らないようにした。
- ② 試験期間中(塗布日から塗布 24 時間後)は、不規則な生活(睡眠不足、暴飲暴食など)を禁止した。
- ③ 試験期間中(塗布日から塗布 24 時間後)は、発汗を伴う激しい運動を禁止した。
- ④ 塗布 24 時間後の観察まで、観察部位に触れることを禁止した。

〈社外秘〉

## 9. 参考文献

- The Association of the British Pharmaceutical Industry, Guidelines for phase 1 clinical trials, 2012 edition
- 薬事審査研究会『化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブック 2011-12』, 薬事日報社, 2011年
- 日本化粧品工業連合会『化粧品の安全性に関する指針 2008』, 薬事日報社, 2008年
- 技術情報協会編『皮膚刺激性・感作性試験の実施法と皮膚性状計測および評価』, p. 29-33 技術情報協会, 1999年
- 技術情報協会編『皮膚の測定・評価法バイブル』, p.373-378, 技術情報協会, 2013年
- 川村太郎ほか「貼布試験標準化の基礎的研究」, 『日皮会誌』, 第80巻 第5号, p.301-314, 日本皮膚科学会, 1970年

## 10. 試験中止および脱落症例の基準

以下に示す事項があった場合は医師の医学的または倫理的判断により試験を打ち切ることとした。また、①の事象が確認された場合、被験者への適切な医療提供を行うことで被験者の安全を確保することとした。なお、被験者より中止の希望があった場合は、直ちに試験を中止し、被験者の不利益にならぬように配慮することとした。

- ① 重篤な副作用・自他覚症状が発現した場合
- ② 他の疾患の併発、または合併疾患の悪化により試験を継続する事が困難な場合
- ③ 観察および判定が困難となった場合
- ④ その他、医師が試験中止の必要を認めた場合

## 11. 有害事象

### 1) 有害事象の定義

有害事象とは、被験品を適用した被験者に生じたすべての疾病又はその徴候をいう。ただし、試験検体適用部位における皮膚反応（紅斑等）は有害事象として取り扱わない。また、パッチテスターの接着部分及びパッチテスター固定用テープに生じた絆創膏皮膚炎様症状は、有害事象として取り扱うが副作用とはしない。

### 2) 有害事象の調査・判断

1) の定義に基づく有害事象が認められた場合には、直ちに医師により、必要かつ適切な処置を取るとともに有害事象の評価を行い、被験品との因果関係を調査および判断することとした。

医師は、必要に応じて、当該被験者の試験継続中止を決定し、『有害事象報告書』に下記事項について記載するとともに被験品との因果関係を調査および判断することとした。

- ① 有害事象の種類  
有害事象の名称（症状）を記載する。
- ② 発現日  
発現した日、あるいは発現を確認した日を記載する。可能であれば、発現時刻も記載する。試験開始前より認められる症状については増悪した日とする。

《社外秘》

- ③ 重症度  
有害事象の「症状の程度」を以下(a)～(c)の3段階で判定し、『有害事象報告書』に記載する。同一の有害事象が複数回発現した場合には最も重い時期の重症度とする。
- (a) 軽度：何ら処置をせず、試験の継続が可能なもの
  - (b) 中等度：何らかの処置を要するもので、試験継続が可能なもの
  - (c) 重度：何らかの処置を要するもので、試験継続が不可能なもの
- ④ 重篤性の有無  
有害事象で「重度」と判定された場合には重篤な有害事象が「あり」と判断し、文書により試験委託者および倫理委員会に報告する。
- ⑤ 重篤度の内容  
重篤な有害事象が「あり」の場合、重篤な有害事象の内容を以下の(a)～(g)の7段階で判定し、『有害事象報告書』に記載する。
- (a) 死亡
  - (b) 障害
  - (c) 死亡につながるおそれのある症例
  - (d) 障害につながるおそれのある症例
  - (e) 治療のために病院又は診療所への入院又は入院期間の延長が必要とされる症例
  - (f) (a)から(e)までに掲げる症例に準じて重篤である症例
  - (g) 後世代における先天性の疾病又は異常
- ⑥ 処置  
発現した有害事象に対して、新たに実施した処置の有無を記載する。「あり」の場合、処置の内容を記載する。
- (a) 被験品摂取の一時中止
  - (b) 試験の中止
  - (c) 加療、入院
  - (d) その他
- ⑦ 追跡調査  
追跡調査を実施し、その結果内容を記載する。
- ⑧ 転帰  
転帰内容を下記の基準で分類して記載するとともに、転帰確認日を記載する。
- (a) 回復
  - (b) 軽快
  - (c) 未回復
  - (d) 後遺症
  - (e) その他

《社外秘》

⑨ 因果関係

被験品と有害事象との因果関係を以下の(a)～(e)の5段階で判断する。

- (a) 関連なし：有害事象の直接的原因が被験品とは全く考えられない場合
- (b) 多分関連なし：時間的に被験品との関連性がほとんどない場合
- (c) 多分関連あり：時間的に被験品との関連性が考えられる場合
- (d) 関連あり：時間的に被験品との明白な関連性があり、かつ被験品以外の直接の要因が考えられない場合
- (e) 不明：因果関係評価のための情報不足により判定が不可能な場合  
有害事象のうち当該被験品との因果関係が否定できないもの（上記(b)から(e)に該当するもの）を副作用として取り扱う。

⑩ コメント

被験品との因果関係を判断した理由を『有害事象報告書』に記載する。

12. 被験者の補償

試験期間中に、本試験が原因で被験者に損害が生じた場合、もしくは、被験者が本試験を原因とする損害の賠償を求めて提訴した場合、医師は、直ちに試験委託者に通知することとした。実施機関の故意または過失により生じた健康被害については実施機関が損害賠償を負うこととしたが、被験品が原因となって健康被害が生じた場合は、試験委託者が全面的に責任を持って補償することとした。但し、被験者からの虚偽の報告または被験者の故意によって健康被害が発生した場合はこの限りではない。

13. 解析対象からの除外基準

以下に示す事項があった場合は、医師、試験受託者および委託者協議の上、該当被験者を試験解析対象から除外することとした。

- ① 観察日に来院しなかった場合
- ② 試験期間中に試験期間中の禁止事項における指示に反した事実が判明した場合
- ③ 検査上のトラブルなどでデータの信頼性に大きな問題が生じた場合
- ④ その他、脱落扱いすることが適当と考えられる明らかな理由がある場合

14. 検査データの変更・欠損

被験者の健康状態および希望で止むを得ず検査データの測定の遅延または欠損が生じた場合、ヘルシンキ宣言の主旨に従い被験者の健康状態および希望を優先することとした。本試験とは無関係の事象において止むを得ず一部のデータ採取が不可能となった場合、統計解析上問題のない範囲で欠損データとして処理することとした。

15. 倫理

遵守・準拠事項

本試験は、ヘルシンキ宣言（2013年フォルタレザ総会で修正）の精神に基づき、倫理的配慮のもとに実施した。

《社外秘》

## 16. 試験結果

※以下では、被験者 20 名にて行ったパッチテストの集計結果を示した。

表1 被験者背景

女性（人）	14
女性（歳）	49.2 ± 7.4
男性（人）	6
男性（歳）	44.5 ± 7.4

平均値±標準偏差

《社外秘》

表2 所見集計表

n=20

被験品	判定	塗布60分後	塗布24時間後
		人数	人数
	陰 性 (－)	20	20
	弱陽性 (±)	0	0
	陽 性 (+)	0	0
	強陽性 (++)	0	0
	強陽性 (+++)	0	0
	強陽性 (++++)	0	0
生理食塩水	陰 性 (－)	20	20
	弱陽性 (±)	0	0
	陽 性 (+)	0	0
	強陽性 (++)	0	0
	強陽性 (+++)	0	0
	強陽性 (++++)	0	0
白色ワセリン	陰 性 (－)	20	20
	弱陽性 (±)	0	0
	陽 性 (+)	0	0
	強陽性 (++)	0	0
	強陽性 (+++)	0	0
	強陽性 (++++)	0	0

《社外秘》

表3 皮膚刺激指数

< 結果 >

被験品	皮膚刺激指数	評価
	0.0	安全品



《社外秘》

表4-1 個人データ

n= 20

皮膚刺激指数			—	—	0.0
No.	性別	年齢			
			塗布60分後	塗布24時間後	採用
819	女	52	0.0	0.0	0.0
11439	女	47	0.0	0.0	0.0
11899	女	51	0.0	0.0	0.0
22618	女	44	0.0	0.0	0.0
25850	女	39	0.0	0.0	0.0
42609	女	55	0.0	0.0	0.0
46139	男	55	0.0	0.0	0.0
46166	女	59	0.0	0.0	0.0
167207	女	52	0.0	0.0	0.0
610398	男	39	0.0	0.0	0.0
918597	女	46	0.0	0.0	0.0
1257064	女	39	0.0	0.0	0.0
1268172	女	56	0.0	0.0	0.0
1283735	女	60	0.0	0.0	0.0
1297855	女	37	0.0	0.0	0.0
1309981	女	52	0.0	0.0	0.0
1325768	男	44	0.0	0.0	0.0
1326720	男	51	0.0	0.0	0.0
1364602	男	43	0.0	0.0	0.0
1389917	男	35	0.0	0.0	0.0

《社外秘》

表4-2 個人データ

n= 20

皮膚刺激指数			—	—	0.0
No.	性別	年齢	生理食塩水		
			塗布60分後	塗布24時間後	採用
819	女	52	0.0	0.0	0.0
11439	女	47	0.0	0.0	0.0
11899	女	51	0.0	0.0	0.0
22618	女	44	0.0	0.0	0.0
25850	女	39	0.0	0.0	0.0
42609	女	55	0.0	0.0	0.0
46139	男	55	0.0	0.0	0.0
46166	女	59	0.0	0.0	0.0
167207	女	52	0.0	0.0	0.0
610398	男	39	0.0	0.0	0.0
918597	女	46	0.0	0.0	0.0
1257064	女	39	0.0	0.0	0.0
1268172	女	56	0.0	0.0	0.0
1283735	女	60	0.0	0.0	0.0
1297855	女	37	0.0	0.0	0.0
1309981	女	52	0.0	0.0	0.0
1325768	男	44	0.0	0.0	0.0
1326720	男	51	0.0	0.0	0.0
1364602	男	43	0.0	0.0	0.0
1389917	男	35	0.0	0.0	0.0

《社外秘》

表4-3 個人データ

n= 20

皮膚刺激指数			—	—	0.0
No.	性別	年齢	白色ワセリン		
			塗布60分後	塗布24時間後	採用
819	女	52	0.0	0.0	0.0
11439	女	47	0.0	0.0	0.0
11899	女	51	0.0	0.0	0.0
22618	女	44	0.0	0.0	0.0
25850	女	39	0.0	0.0	0.0
42609	女	55	0.0	0.0	0.0
46139	男	55	0.0	0.0	0.0
46166	女	59	0.0	0.0	0.0
167207	女	52	0.0	0.0	0.0
610398	男	39	0.0	0.0	0.0
918597	女	46	0.0	0.0	0.0
1257064	女	39	0.0	0.0	0.0
1268172	女	56	0.0	0.0	0.0
1283735	女	60	0.0	0.0	0.0
1297855	女	37	0.0	0.0	0.0
1309981	女	52	0.0	0.0	0.0
1325768	男	44	0.0	0.0	0.0
1326720	男	51	0.0	0.0	0.0
1364602	男	43	0.0	0.0	0.0
1389917	男	35	0.0	0.0	0.0

《社外秘》

## 17. まとめ

本試験では、同意取得時の年齢が20歳以上60歳以下の日本人男性および女性を対象として、試験品1種、コントロール2種のオープンパッチテストを行った。

における所見では、塗布60分後および塗布24時間後に、20名が陰性（-）であった。

以上の結果から、オープンパッチテストにおける皮膚刺激指数は、  
については、0.0であり、安全品であった。

以上

試験統括医師：

小池田 崇史

## 試験データ②

### 消臭性試験

アンモニア、酢酸、アセトアルデヒド、  
イソ吉草酸、ノネナール

# 品質試験報告書

試験番号 20218021407-1 (1/1)

2018年 7月 17日

品名・品番

一般財団法人 **ボーケン品質評価機構**

**BOKEN**

大阪事業所

〒552-0021 大阪市淀川区

TEL 06-6577-0200 FAX

試験項目：消臭性試験

試験結果：

項目	区分	1	2	3	4
消臭性	減少率(%)				
	アンモニア	67			
	酢酸	99			
	アセトアルデヒド	40			
	イソ吉草酸	≥99			
	ノネナール	21			

消臭性試験方法：(一社)繊維評価技術協議会 SEKマーク繊維製品認証基準 準用  
21. 消臭性試験(検知管法、ガスクロマトグラフ法)

ガス初発濃度：アンモニア 100 ppm  
酢酸 30 ppm  
アセトアルデヒド 14 ppm  
イソ吉草酸 約 38 ppm  
ノネナール 約 14 ppm

試験試料：検知管法、ガスクロマトグラフ法 2.7 ml

測定時間：2時間後

1	2	3	4
見本は貼付 できません			

本試験結果はご提出の試料に対するものであって、荷口を代表するものではありません。  
本報告書の全部または一部の無断転載・転用は固くお断りします。  
公印の無い報告書は正式なものではありません。



\*20218021407\*

## 試験データ③

ウイルスに対する効果確認試験

豚コロナウイルス

資材のウイルスに対する効果確認試験

試験報告書

試験番号：207008N①

株式会社食環境衛生研究所

〒379-2107

群馬県前橋市荒口町 561-21

TEL027-230-3411 FAX027-230-3412

作成日：2020年5月27日



## 1. 表題

資材のウイルスに対する効果確認試験

## 2. 目的

資材のウイルスに対する効果を確認するために実施した。

## 3. 試験依頼者

名称 :

所在地 :

## 4. 試験実施施設

名称 : 株式会社食環境衛生研究所

所在地 : 群馬県前橋市荒口町 561-21

運営管理者 : 久保 一弘

## 5. 試験実施者

試験責任者 : 松本 彰平

試験担当者 : 近藤 実紀

## 6. 試験日程概要

試験開始日 : 2020年4月6日

試験終了日 : 2020年5月27日

## 7. 供試ウイルス

株式会社食環境衛生研究所にて保有している1ウイルス種を試験に供試した。

## 1) Porcine epidemic diarrhea virus P-5V株 (以下、PEDV)

※豚感染性のコロナウイルス

培養細胞 : vero細胞 (アフリカミドリザルの腎臓上皮由来株化細胞)

## 8. 試験資材

名称 :

※試験資材は原液を5%濃度(20倍)で使用した。

## 9. 区の設定

区	検体	検査時点 (分)	反復数
			ウイルス
対照	滅菌生理食塩水	0、10	1
試験	試験資材	1、5、10	1

## 10. ウイルス液調製方法

- 1) PEDV を vero 細胞に接種した。
- 2) 37 °C で 1 時間吸着後、接種ウイルス液を除去し、滅菌 PBS で 2 回洗浄した。
- 3) MEM 培地を加え、37 °C、5 %CO<sub>2</sub> 下で培養した。
- 4) 70~80 % 程度の細胞変性効果 (以下、CPE) が観察された時点で、培養上清を回収した。
- 5) 回収した培養上清を、3000 rpm で 30 分間遠心後、遠心上清を分注し、-70 °C 以下で保存したものを供試ウイルス液とした。

## 11. 試験手順及び方法

## (1) ウイルス液の接種及びウイルス力価測定

試験実施前に、資材を 10 倍階段希釈後、vero 細胞に接種し、37 °C、5 % CO<sub>2</sub> 下で 5 日間培養した。vero 細胞が正常な形状を示さなかった場合、資材による細胞毒性有りと判定し、本試験では細胞毒性が確認された希釈倍率を試験から除外した。

その結果、10 倍希釈液で細胞毒性が確認されたため、本試験における検出限界は 10<sup>1.5</sup> TCID<sub>50</sub> / mL とした。

- ① 検体 1 mL を試験管内に用意した。
- ② 検体の中に PEDV 液を 0.1 mL 接種した。なお、接種直後はボルテックスミキサーにより 1 秒間攪拌を行い、その後検体は 25°C で静置した。
- ③ 対照区は、接種後 0 分 (直後) 及び 10 分の時点において、検体を試験管から採取して別の容器に分注し、MEM 培地で 10 倍階段希釈した。
- ④ 試験区は、接種後 1、5、10 分の時点において、検体を試験管から採取して別の容器に分注し、MEM 培地で 10 倍階段希釈した。
- ⑤ 希釈液を vero 細胞に接種後、37 °C、5 %CO<sub>2</sub> 下で 5 日間培養した。
- ⑥ CPE の有無から、ウイルス力価 (TCID<sub>50</sub>) を測定した。

13. 考察

本試験は、試験資材の PED ウイルスに対する効果を確認するために実施した。

試験の結果、PED ウイルスにおいて、対照区と比較して1分後における試験区の感染性ウイルス数の顕著な減少がみられた。

## 12. 結果

## 1) PEDV

結果を表1及び図1に示した。

試験区のウイルス力価について、接種後1分で $<10^{1.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL（検出限界未満）であった。

対照区に対して試験区の減少率は、接種後1分で99.99%以上であった。

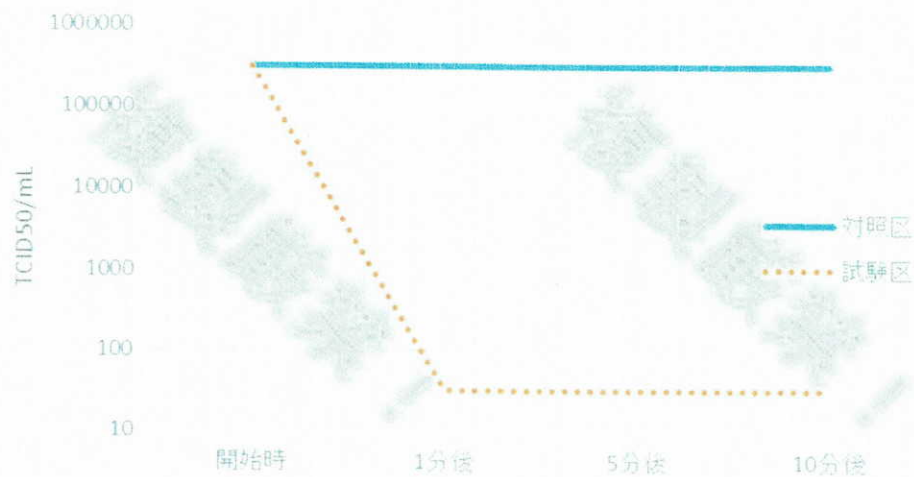
表1 PEDV ウイルス力価測定結果

時間 (分)	対照区	試験区	減少率 (%)
0	$10^{5.5}$	-	-
1	-	$<10^{1.5}$	99.99<
5	-	$<10^{1.5}$	99.99<
10	$10^{5.5}$	$<10^{1.5}$	99.99< <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>: 接種後10分の対照区と比較した際の減少率

単位; TCID<sub>50</sub>/mL

図1 PEDウイルス 試験結果



## (2) 評価

菌及びウイルスの試験結果において、検査時点ごとに、対照区に対して試験区の減少率（%）を算出し、効果を確認した。菌の試験結果については、3反復の平均値で算出した。

なお、本試験において減少率は以下の式で算出した。

$$\text{減少率（\%）} = \frac{\text{対照区} - \text{試験区}}{\text{対照区}} \times 100$$

## 試験データ④

### 殺菌効果試験

大腸菌、レジオネラ、サルモネラ

# 試験報告書

依頼者

検体

表題 殺菌効果試験

2020 年 04 月 21 日当センターに提出された上記検体について試験した結果をご報告いたします。

一般財団法人

日本食品分析センター

東京都渋谷区元代々木町52番1号



## 殺菌効果試験

### 1 依頼者

### 2 検体

### 3 試験概要

検体に試験菌液を接種後(以下「試験液」という。), 所定時間後に試験液中の生菌数を測定した。また, あらかじめ予備試験(中和条件の確認)を行い, 検体の影響を受けずに生菌数を測定できる条件を確認した。

### 4 試験結果

結果を表-1, 試験条件を表-2に示した。また, 培養後の生菌数測定平板を写真-1~15に示した。

なお, 試験液をSCDLP培地で希釈する中和条件により, 検体の影響を受けずに生菌数の測定ができることを確認した。

表-1 試験液の生菌数測定結果

試験菌	対象	生菌数(/mL)			
		開始時	1分後	5分後	15分後
大腸菌 (O157:H7)	検体	—	$1.2 \times 10^3$	<10	<10
	対照	$5.5 \times 10^5$	—	—	$5.6 \times 10^5$
レジオネラ	検体	—	$1.4 \times 10^6$	$1.1 \times 10^3$	<100
	対照	$9.6 \times 10^6$	—	—	$9.2 \times 10^6$
サルモネラ	検体	—	<10	<10	<10
	対照	$8.7 \times 10^5$	—	—	$9.3 \times 10^5$

<10及び<100: 検出せず

保存温度: 25 °C

対照: 精製水



表-2 試験条件

試験菌液	試験菌	① <i>Escherichia coli</i> ATCC 43895 (大腸菌, 血清型O157:H7, ベロ毒素 I 及び II 型産生株) ② <i>Legionella pneumophila</i> GIFU 9134(レジオネラ) ③ <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> NBRC 3313 (サルモネラ)
	試験菌①及び③	前培養: 普通寒天培地[栄研化学株式会社], 35 °C ± 1 °C, 18~24時間 菌液調製溶液: 精製水 菌数: 10 <sup>7</sup> ~10 <sup>8</sup> /mL
	試験菌②	前培養: B-CYE α 寒天培地[栄研化学株式会社], 35 °C ± 1 °C, 2~3日間 菌液調製溶液: 精製水 菌数: 10 <sup>8</sup> ~10 <sup>9</sup> /mL
試験液	検体 10 mL に試験菌液 0.1 mL を接種	
保存条件	1分, 5分, 15分 (25 ± 1 °C)	
中和条件	SCDLP培地[日本製薬株式会社]で10倍希釈	
対照	精製水	
生菌数測定	試験菌①及び③ SCDLP寒天培地[日本製薬株式会社], 混釈平板培養法	35 °C ± 1 °C, 2日間
	試験菌② B-CYE α 寒天培地, 平板塗抹培養法	35 °C ± 1 °C, 7日間



写真-1 大腸菌(O157:H7) 対照 開始時  
(試験液 0.1 mL)

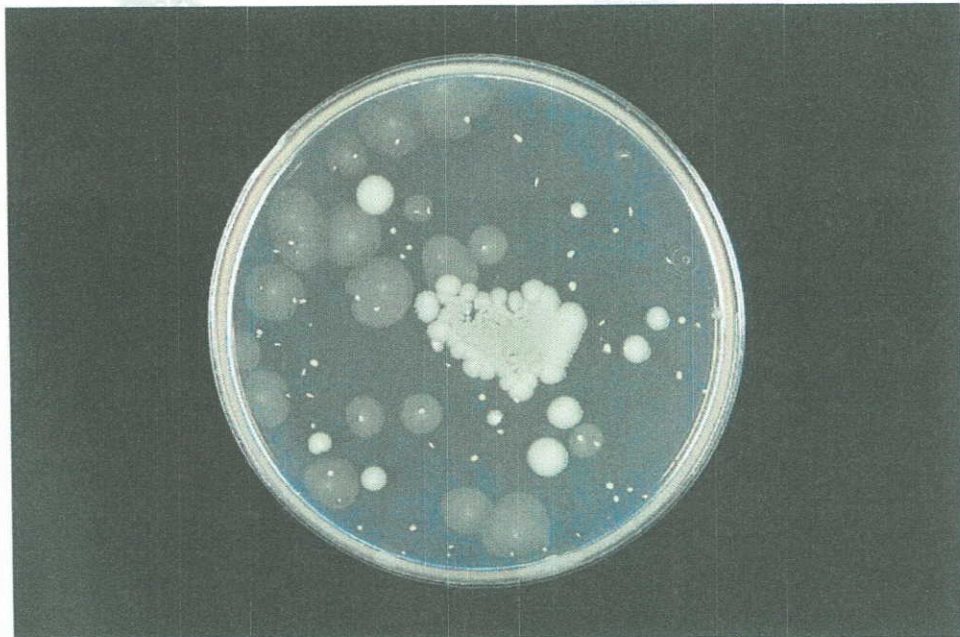


写真-2 大腸菌(O157:H7) 検体 1分後  
(試験液 0.1 mL)

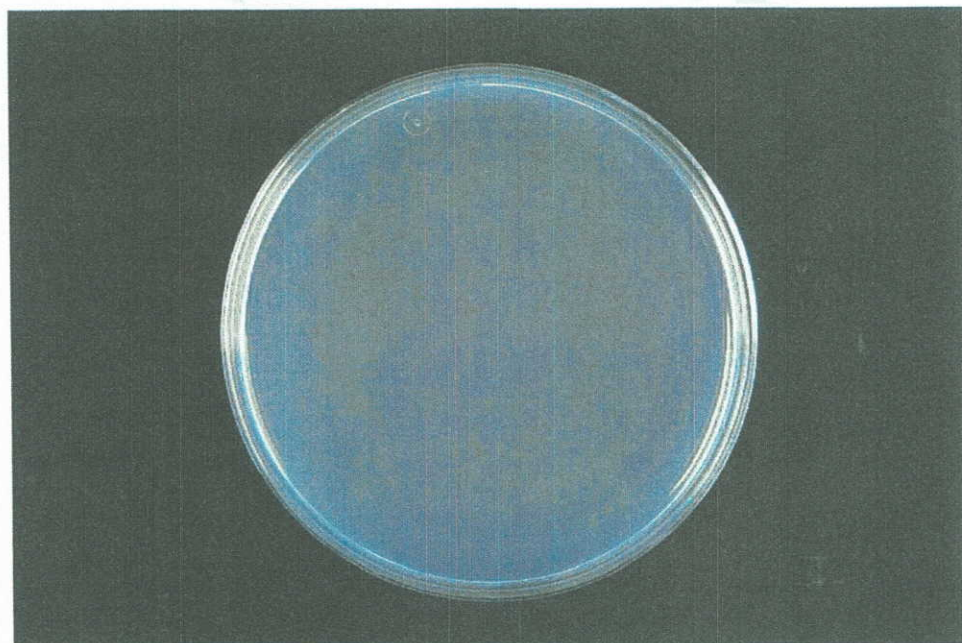


写真-3 大腸菌(O157:H7) 検体 5分後  
(試験液 0.1 mL)

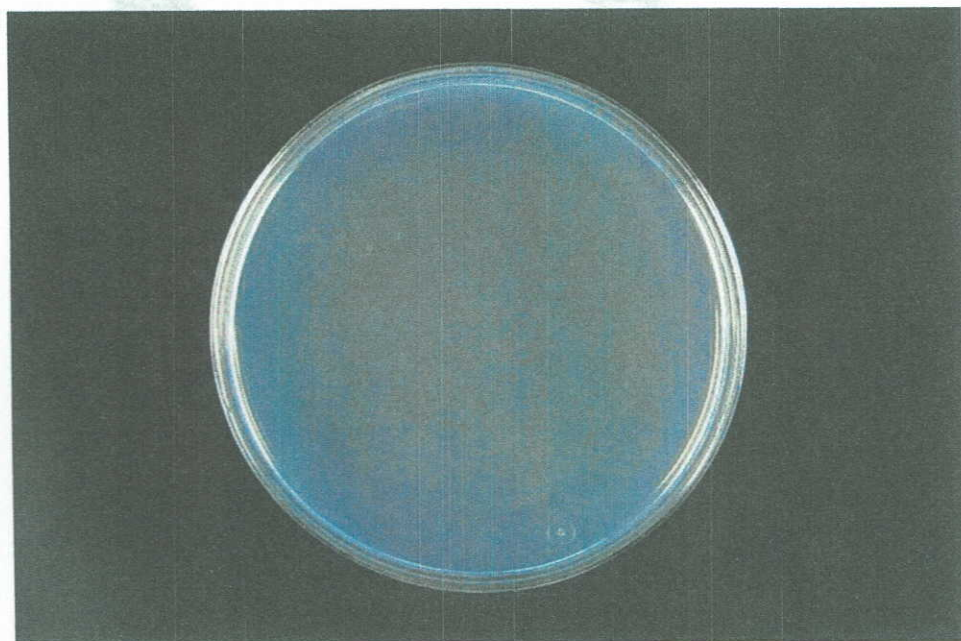


写真-4 大腸菌(O157:H7) 検体 15分後  
(試験液 0.1 mL)



写真-5 大腸菌(O157:H7) 対照 15分後  
(試験液 0.1 mL)



写真-6 レジオネラ 対照 開始時  
(試験液 0.01 mL)

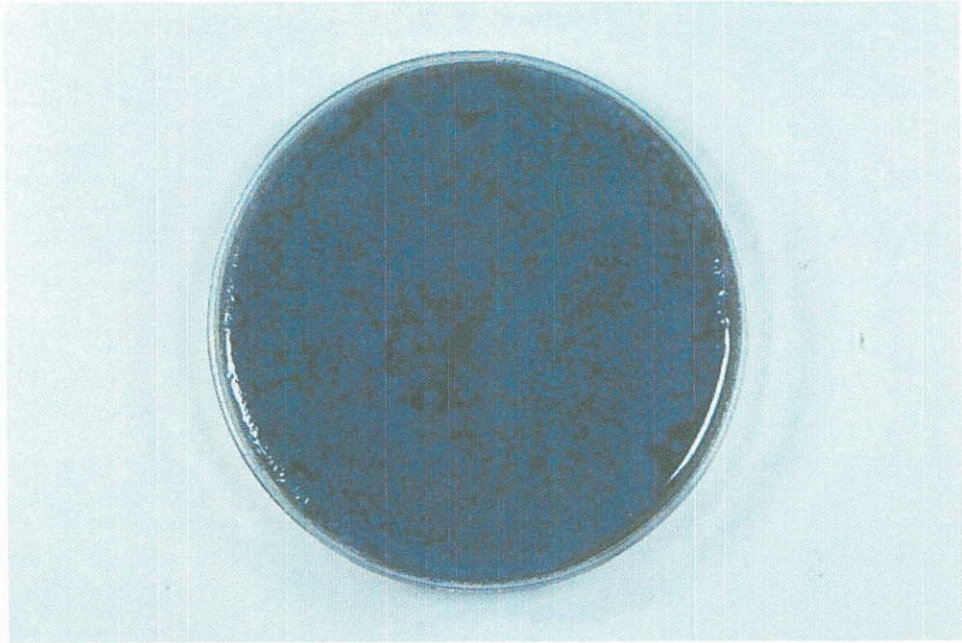


写真-7 レジオネラ 検体 1分後  
(試験液 0.01 mL)

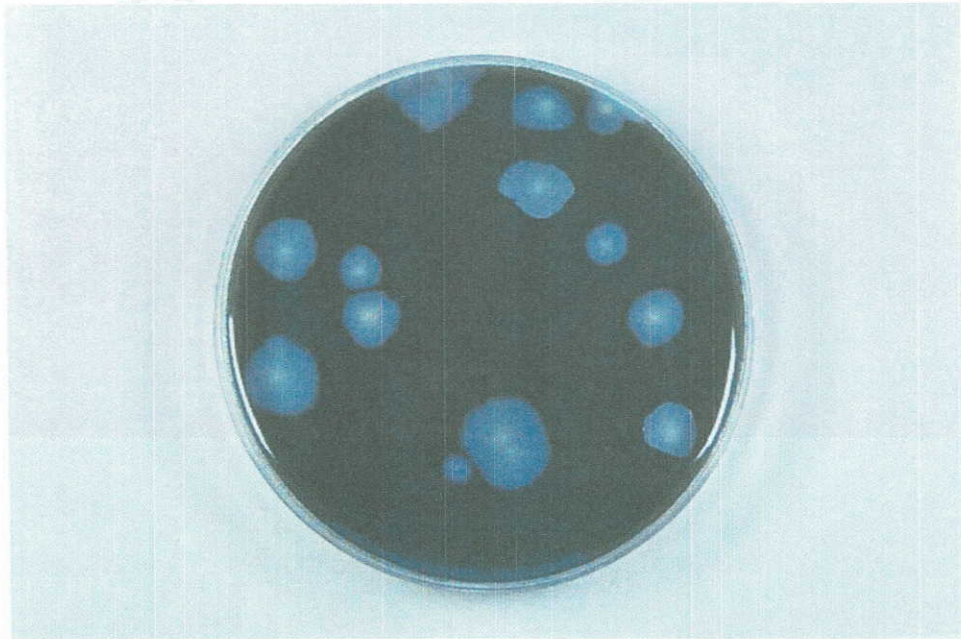


写真-8 レジオネラ 検体 5分後  
(試験液 0.01 mL)

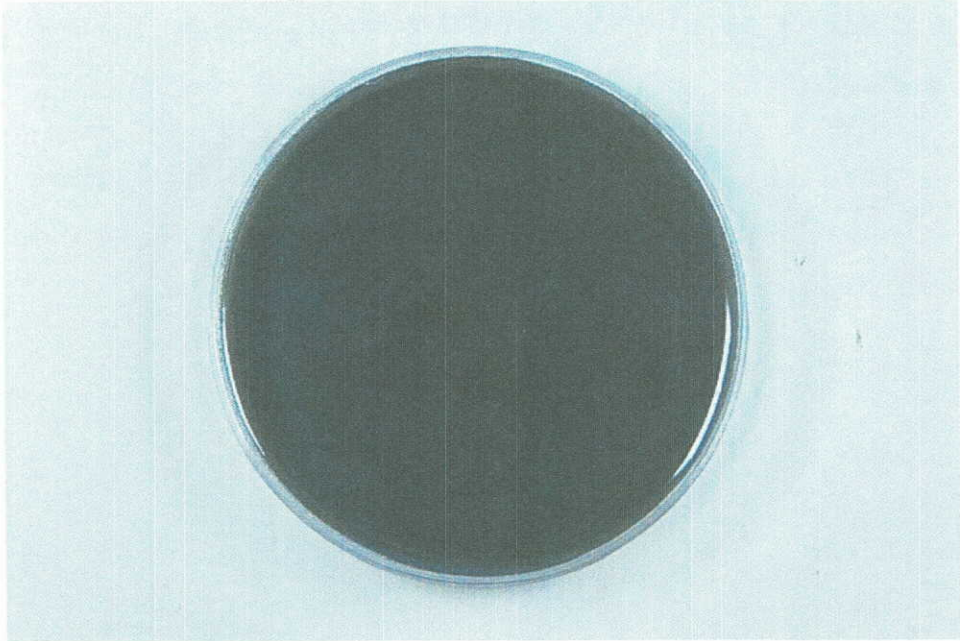


写真-9 レジオネラ 検体 15分後  
(試験液 0.01 mL)

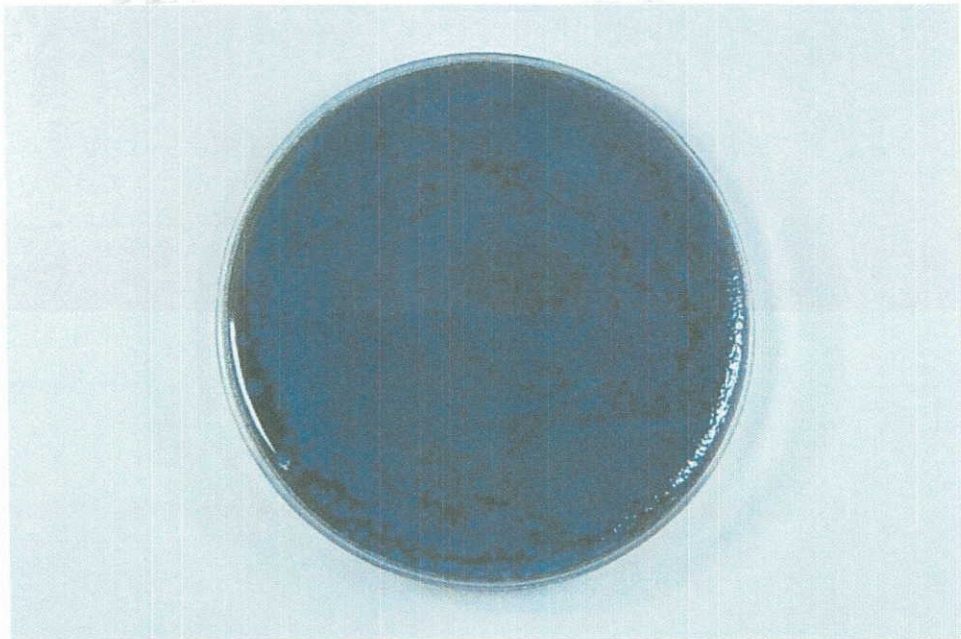


写真-10 レジオネラ 対照 15分後  
(試験液 0.01 mL)

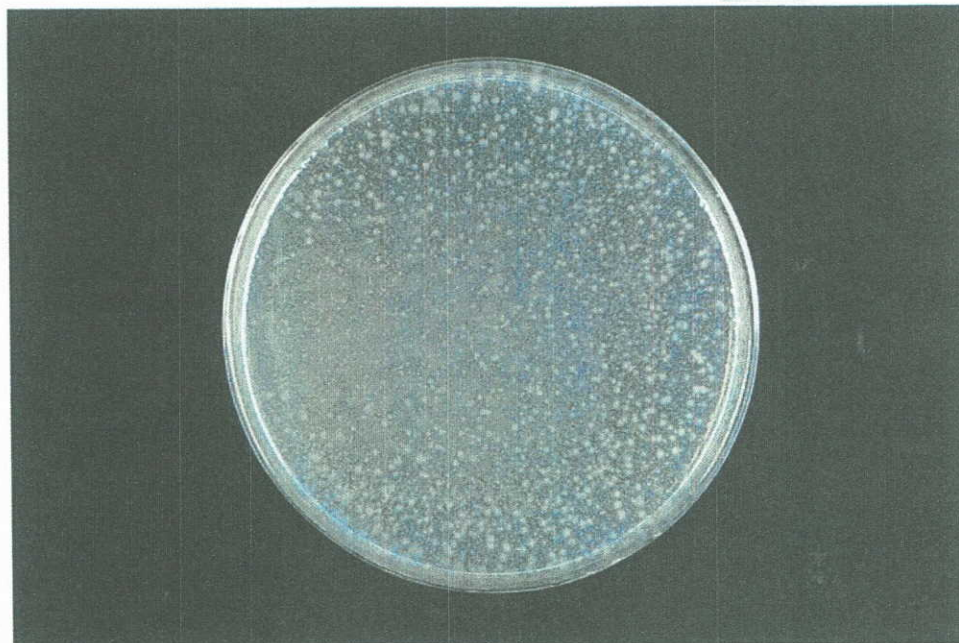


写真-11 サルモネラ 対照 開始時  
(試験液 0.1 mL)

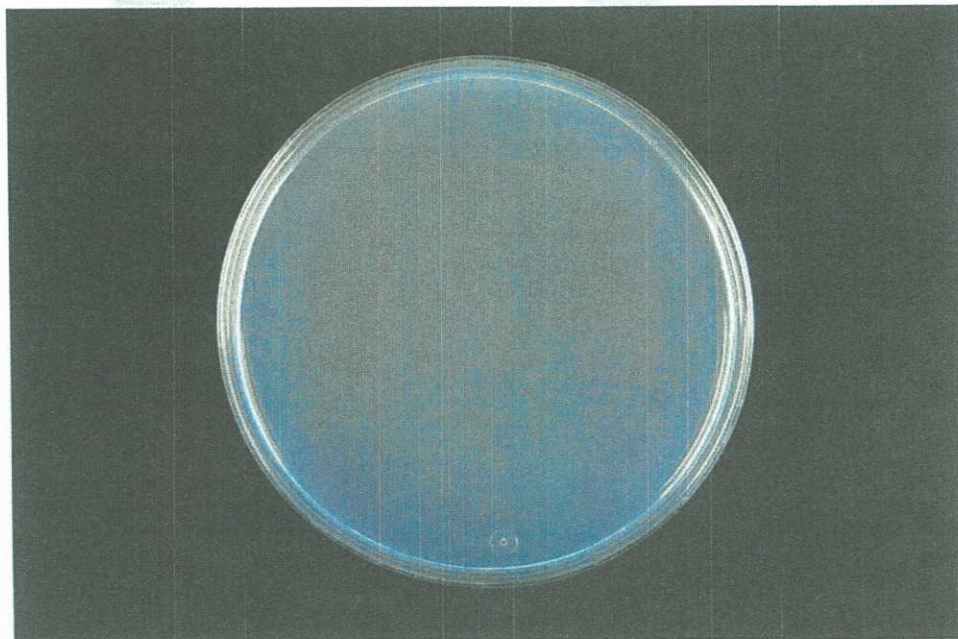


写真-12 サルモネラ 検体 1分後  
(試験液 0.1 mL)

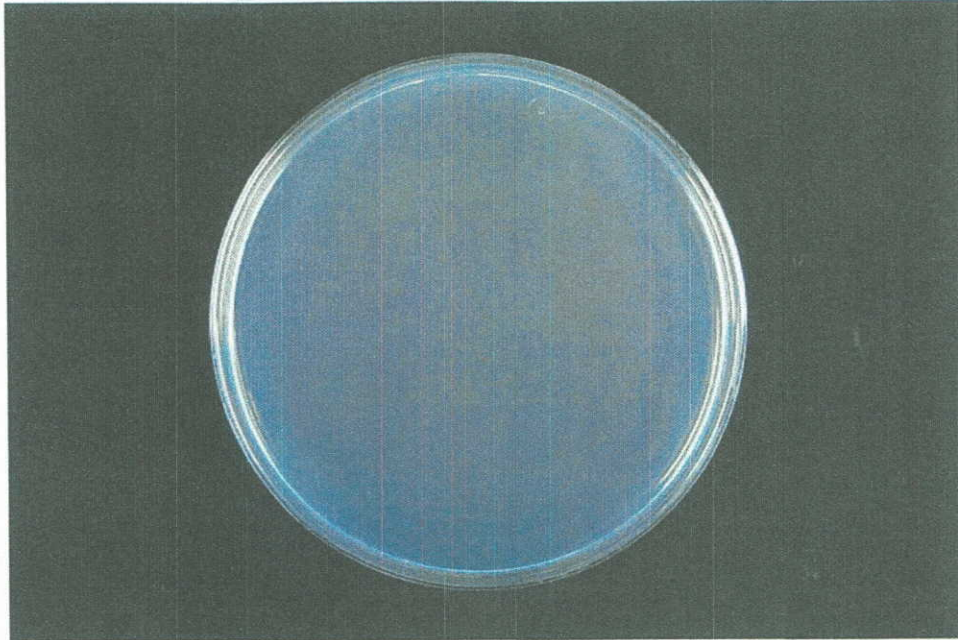


写真-13 サルモネラ 検体 5分後  
(試験液 0.1 mL)

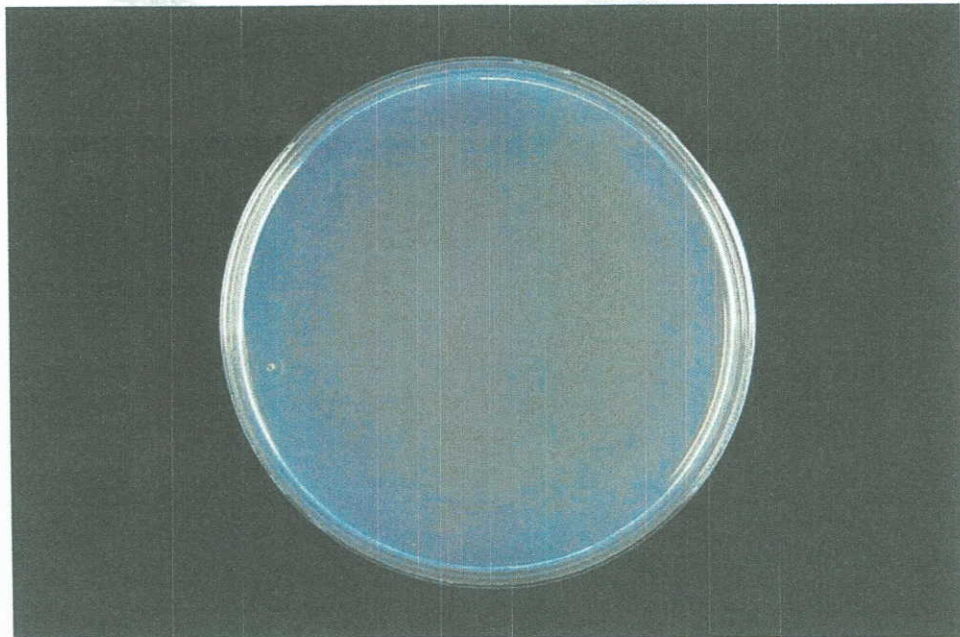


写真-14 サルモネラ 検体 15分後  
(試験液 0.1 mL)



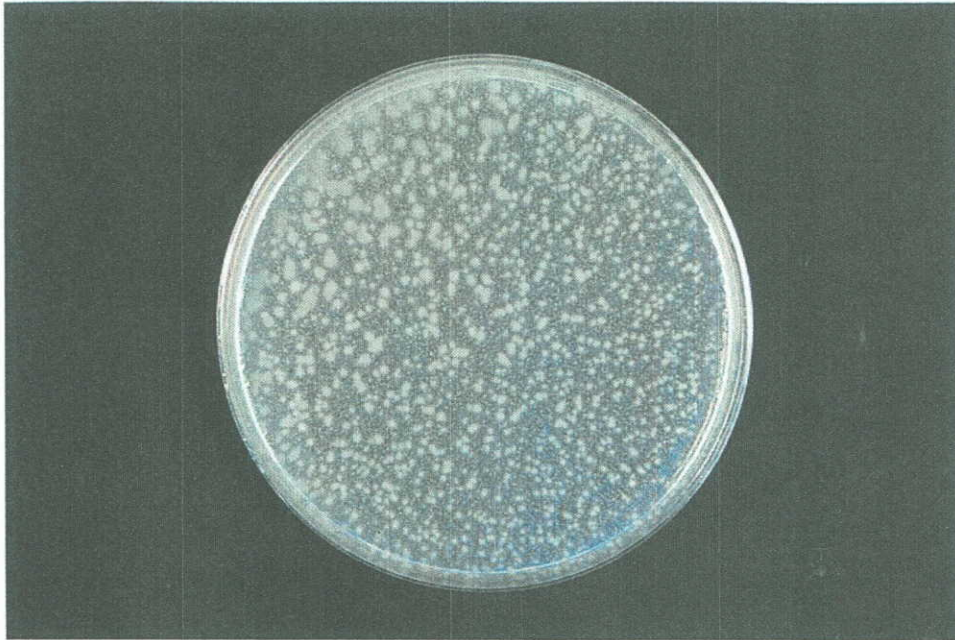


写真-15 サルモネラ 対照 15分後  
(試験液 0.1 mL)

以 上

## 試験データ⑤

### 除菌効果試験

大腸菌、黄色ブドウ球菌

## 試験報告書

依頼者

検体

表題 除菌効果試験

2020 年 04 月 21 日当センターに提出された上記検体について試験した結果をご報告いたします。

一般財団法人

日本食品分析センター

東京都渋谷区元代々木町52番1号



## 除菌効果試験

## 1 依頼者

## 2 検体

## 3 試験概要

住宅用合成洗剤及び石けんの除菌活性試験方法(平成19年7月31日, 洗剤・石けん公正取引協議会)により, 検体の除菌効果試験を行った。

また, 試験試料に関する情報を表-1, 試験条件を表-2に示した。

表-1 試験試料

試験試料名	
ロット番号	不明
製造者	不明
試験試料受領日	2020年04月21日
試験試料の保管方法	室温

表-2 試験条件

試験菌	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> NBRC 12732(黄色ぶどう球菌) <i>Escherichia coli</i> NBRC 3972(大腸菌)
試験試料濃度	原液を試験に用いた。
試験試料量	0.1 mL(試験片1個当たり)
試験温度	25 °C±1 °C
汚れの種類及び濃度	Albumin from bovine serum, Minimum 96 % A2153[Sigma-Aldrich] 試験菌液中の濃度: 1.5 W/V%
不活性化剤の種類	SCDLP培地[日本製薬株式会社]

**4 試験実施場所及び試験従事者**
**1) 試験実施場所**

一般財団法人日本食品分析センター 彩都研究所  
大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

**2) 試験従事者**

一般財団法人日本食品分析センター 彩都研究所  
微生物部 微生物研究課  
川原 真理子

**5 試験実施期間**

2020年06月23日～2020年06月29日

**6 試験結果**

除菌効果試験結果を表-3、除菌活性値を表-4に示した。また、試験成立条件の確認を表-5に示した。

表-3 除菌効果試験結果

試験菌	測定	試験試料	試験片1個当たりの生菌数		
			測定-1	測定-2	測定-3
黄色 ぶどう 球菌	25℃ 5分間作用後	検体	$7.2 \times 10^5$	$4.9 \times 10^5$	$7.3 \times 10^5$
		対照	$1.4 \times 10^6$	$1.5 \times 10^6$	$1.7 \times 10^6$
大腸菌	25℃ 5分間作用後	検体	<10	<10	<10
		対照	$6.7 \times 10^5$	$2.8 \times 10^5$	$5.4 \times 10^5$

対照試料：0.05%ポリソルベート80溶液

<10：検出せず

表-4 除菌活性値

除菌活性値	
黄色ぶどう球菌	大腸菌
0.4	>4.7

表-5 試験成立条件の確認

項目	黄色ぶどう球菌	大腸菌
菌液の生菌数 (/mL) <sup>*1</sup>	$4.1 \times 10^8$	$3.9 \times 10^8$
対照試料の理論生菌数の対数值(試験片1個当たり)	6.3	6.3
対照試料でのばらつき[変動係数 $CV_c(\%)$ ] <sup>*2</sup>	1	3
試験試料でのばらつき[変動係数 $CV_j(\%)$ ] <sup>*3</sup>	***	***
不活性化剤の有効性 <sup>*1</sup>	有効	有効
不活性化剤の細菌に対する影響 <sup>*5</sup>	影響なし	影響なし
抽出操作の有効性 ( $AV_c - L_t$ ) <sup>*6</sup>	-0.1	-0.6

\*\*\* : 試験片1個当たりの生菌数が全ての繰り返しにおいて  $\leq 3.0 \times 10^2$ , または  $AV_j$  が1未満であったため, 適用せず。

[試験成立条件]

- \*1  $2.5 \times 10^8 \sim 12.5 \times 10^8 / \text{mL}$
- \*2  $CV_c(\%) \leq 10$
- \*3  $CV_j(\%) \leq 20$ (黄色ぶどう球菌),  $\leq 25$ (大腸菌)
- \*4 陰性対照と比べ  $\pm 50\%$  以内であること
- \*5 添加菌数と比べ  $\pm 50\%$  以内であること
- \*6  $-1.0 \leq AV_c - L_t \leq +0.5$

以 上

## 試験データ⑥

### ウイルス不活化試験

ノロウイルス（ネコカリシウイルス）  
インフルエンザウイルス

## 試験報告書

依頼者

検体

表題 ウイルス不活化試験

2020 年 04 月 21 日当センターに提出された上記検体について試験した結果をご報告いたします。

一般財団法人

日本食品分析センター

東京都渋谷区元代々木町52番1号





## ウイルス不活化試験

### 1 依頼者

### 2 検 体

### 3 試験概要

検体にネコカリシウイルス又はインフルエンザウイルスのウイルス液を添加，混合し(以下「作用液」という。)，所定時間後に作用液中のウイルス感染価を測定した。また，あらかじめ予備試験を行い，ウイルス感染価の測定方法について検討した。

なお，ネコカリシウイルスは，細胞培養が困難なノロウイルスの代替ウイルスとして広く使用されている。

### 4 試験結果

#### 1) 予備試験(中和条件の確認)

細胞維持培地で作用液を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が測定できることを確認した。

#### 2) ウイルス感染価の測定

結果を表-1に示した。また，使用細胞及び培地を表-2，試験条件を表-3に示した。

表-1 作用液のウイルス感染価測定結果

試験 ウイルス	対 象	log TCID <sub>50</sub> /mL			
		開始時	1分後	5分後	15分後
ネコカリシ ウイルス*	検 体	—	<2.5	<2.5	<2.5
	対照(精製水)	7.0	—	—	6.5
インフルエンザ ウイルス	検 体	—	<2.5	<2.5	<2.5
	対照(精製水)	6.5	—	—	6.5

TCID<sub>50</sub> : median tissue culture infectious dose, 50 %組織培養感染量

作用温度 : 室温

<2.5 : 検出せず

\* ノロウイルスの代替ウイルス

表-2 使用細胞及び培地

使用細胞	ネコカリシウイルス : CRFK細胞 [大日本製薬株式会社] インフルエンザウイルス : MDCK (NBL-2)細胞 JCRB 9029株	
細胞増殖培地	10 %牛胎仔血清加イーグルMEM培地「ニッスイ」① [日水製薬株式会社]	
細胞維持培地	ネコカリシウイルス : 2 %牛胎仔血清加イーグルMEM培地「ニッスイ」① インフルエンザウイルス : イーグルMEM培地「ニッスイ」①	1000 mL
	10 %NaHCO <sub>3</sub>	14 mL
	L-グルタミン (30 g/L)	9.8 mL
	100×MEM用ビタミン液	30 mL
	10 %アルブミン	20 mL
	0.25 %トリプシン	20 mL

表-3 試験条件

試験ウイルス	<i>Feline calicivirus</i> F-9 ATCC VR-782(ネコカリシウイルス) <i>Influenza A virus</i> (H1N1) A/PR/8/34 ATCC VR-1469 (インフルエンザウイルス)
ウイルス液	細胞培養後のウイルス培養液を遠心分離して得られた上澄み液
作用液	検体10 mLにウイルス液0.1 mLを添加
作用条件	1分, 5分, 15分(室温)
中和条件	細胞維持培地で100倍希釈
対照	精製水
感染価測定方法	TCID <sub>50</sub> 法

以 上

## 試験データ⑦

抗ウイルス性試験

新型コロナウイルス

## 試験結果報告書

品名 液剤 1点  
試験項目 抗ウイルス性試験

2020年9月16日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2020年11月30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：20倍 (5%)
- ・試験条件：  
ウイルス懸濁液：試験サンプル= 1：19  
作用温度 25℃  
作用時間 20秒、1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

○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 1.9 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 1.9 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 1.9 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 20 秒、1 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： $5.1 \times 10^4$  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)
20 倍 (5%)	無	2.71

- \* 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： $1.2 \times 10^8$  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	6.81	/	
		n2	6.78		
		n3	6.85		
	20 秒作用後	n1	6.82		6.81
		n2	6.79		
		n3	6.82		
	1 分作用後	n1	6.80		6.80
		n2	6.78		
		n3	6.81		
20 倍 (5%)	20 秒作用後	n1	< 2.00	4.8	
		n2	< 2.00		
		n3	< 2.00		
	1 分作用後	n1	< 2.00	< 2.00	
		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。
- \* 本証明書の一部又は全部の無断転用を固くお断りします。