

試験報告書

試験番号：N20364-3

表 題：無機系抗菌抗ウイルスコートのもルモットにおける皮膚感作性試験

試験結果報告日

2021年03月11日

試験施設の名称および所在地

株式会社 薬物安全性試験センター・吉見研究所
〒355-0166 埼玉県比企郡吉見町黒岩 25-1

1. 表題

無機系抗菌抗ウイルスコートのモルモットにおける皮膚感作性試験

2. 試験番号

N20364-3

3. ガイドライン

本試験は、「SIAA 品質と安全性に関する自主規格」(一般社団法人抗菌製品技術協議会定款 諸規定 6 制定日 平成 10 年 6 月 24 日、改訂日 令和 2 年 5 月 18 日)および Guidance Document on Skin Sensitisation, Guideline No. 406. (OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, Skin Sensitisation (Adopted: 17 July 1992.)) を参考に実施した。

4. 試験委託者の名称および所在地

名称: 株式会社トライアクシス

所在地: 東京都荒川区南千住 8-5-7 白鬚西共同工場 1F (〒116-0003)

委託責任者: 山先 浩雅

5. 試験施設の名称および所在地

名称: 株式会社薬物安全性試験センター・吉見研究所

所在地: 埼玉県比企郡吉見町黒岩 25-1 (〒355-0166)

運営管理者: 高橋 寛人

6. 試験責任者の氏名および所属

氏名: 山本 健太郎

所属: 株式会社薬物安全性試験センター 第一研究部

7. 試験期間

動物入荷日: 2020 年 11 月 24 日 (予備試験)

2021 年 01 月 12 日 (本試験)

予備開始日: 2020 年 12 月 01 日

感作開始日: 2021 年 01 月 19 日

惹起日: 2021 年 02 月 09 日

最終判定日: 2021 年 02 月 12 日

8. 試験資料の保存

試験報告書作成後 3 年間とする。保存期間満了後は試験委託者に連絡の上、廃棄とする。

9. 動物の適正使用について

動物の飼育、取り扱いおよび安楽致死は、「動物の愛護及び管理に関する法律」（昭和48年10月1日 法律第105号、最終改正 令和元年6月19日 法律第39号）、「動物の殺処分方法に関する指針」（平成7年7月4日 総理府告示第40号、一部改正 平成12年12月1日 環境省告示第59号、平成19年11月12日 環境省告示第105号）ならびに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成18年4月28日 環境省告示第88号、最終改正 平成25年8月30日 環境省告示第84号）および「株式会社薬物安全性試験センター 動物実験倫理規程」（平成20年9月1日、最終改正 令和元年11月11日）に従い、適正に実施した（DSTC 動物実験倫理委員会承認番号：IACUCN20364-3）。

本試験は下記の者の責任において実施されたものであり、本報告書は、その結果を正しく記載したものである。

試験責任者： 山本 健太郎

2021年3月11日

I. 要 約

無機系抗菌抗ウイルスコートの皮膚感作性について、モルモットを用いて Guinea Pig Maximization Test 法で検討した。

試験動物として、予備試験 4 匹、感作群 10 匹、対照群 5 匹の合計 19 匹を用いた。

感作群の皮内感作は、0 日目（感作開始日）に a：フロイントの完全アジュバント（FCA）と生理食塩液の等量乳化物、b：被験物質の 50 w/w% 液（媒体：注射用水）、c：被験物質の 100% 液と FCA の等量乳化物を頸部皮膚に 0.1 mL×2 か所皮内投与した。接触感作は、感作開始 7 日目にリント布に被験物質の 100% 液を 0.2 mL 含浸させ、皮内投与部位に 48 時間閉塞貼付した。なお、感作開始 6 日目に感作処置部位に 10% SDS のワセリン混合物を開放塗布し、感作開始 7 日目にエタノールで除去した。対照群の感作は、生理食塩液および注射用水を用いて同様に処置を行った。

惹起は、感作開始 21 日目に、感作群および対照群ともに被験物質の 100% 液、50 および 25 w/w% 液（媒体：注射用水）を 1.5×1.5 cm 大のリント布に 0.1 mL 含浸させたものを、側腹部に 24 時間閉塞貼付して行った。

皮膚反応の判定は惹起貼付除去 24 および 48 時間後に行った。

その結果、試験期間中の一般状態に異常はみられず、体重も増加を示した。

皮膚反応（惹起貼付除去 24 時間後）は下記のとおりであった。

投与試料	惹起濃度 (w/w%)	感作群		対照群	
		陽性率(%)	平均評点	陽性率(%)	平均評点
無機系抗菌抗ウイルス コート	100	0	0	0	0
	50	0	0	0	0
	25	0	0	0	0

以上の結果より、本試験条件下において、本被験物質に皮膚感作性は認められなかった。

Ⅱ. 試 験 目 的

本被験物質の皮膚感作性についてモルモットを用いて検討し、安全性を評価した。

Ⅲ. 試 験 材 料 お よ び 方 法

1. 被験物質および試験材料

1) 被験物質

(1) 名称

無機系抗菌抗ウイルスコート

(2) 純度

有効成分は通常品の2倍

(3) ロット番号

511101

(4) 常温における性状

微黄色透明液体

(5) 比重

1.0±0.05

(6) 有効期限

2021年06月15日

(7) 保管条件

室温、暗所

(8) 取扱注意事項等

マスク、手袋を着用する。

0℃以下になるとゲル化する。

2) 試験材料

(1) フロイント完全アジュバント (FCA : DIFCO LABORATORIES、Lot No. 8341686)

(2) 生理食塩液 (日本薬局方、(株)大塚製薬工場、Lot No. K0C00)

(3) 注射用水 (日本薬局方、(株)大塚製薬工場、Lot No. K0C79)

(4) ドデシル硫酸ナトリウム (SDS : 和光一級、富士フイルム和光純薬(株)、Lot No. SKQ2691)

(5) 白色ワセリン (生化学用、富士フイルム和光純薬(株)、Lot No. PTG5440)

(6) エタノール (試薬特級、富士フイルム和光純薬(株)、Lot No. ESL3631)

2. 試験系

1) 種、系統および微生物学的統御レベル

モルモット、Hartley 系 (Slc : Hartley)、SPF

2) 入荷時週齢、性別および動物数

(1) 予備試験： 4 週齢、雌 4 匹

(2) 本試験： 4 週齢、雌 15 匹

3) 供給源

日本エスエルシー(株) 中伊豆支所

4) 試験系選択理由

本動物は感作性試験に多く使用されているため。

5) 識別方法

油性インクを用いて被毛の一部を着色することにより識別した。各ケージには識別ラベルを貼付した。

6) 検疫・馴化

入荷後 7 日間飼育環境に馴化させ、その間に検疫を行った。

7) 投与開始時週齢

5 週齢

8) 動物の群分け

本試験動物は、検疫馴化期間終了後に健常で皮膚に異常がないことを確認し、体重を測定して、群分けソフト (StatLight#11 群分け、Yukms Co., Ltd.) を用いた乱塊法により、10 匹×1 群、5 匹×1 群に振り分けた。なお、予備試験動物は 2 匹×2 群に振り分けた。

9) 飼育環境

飼育室名： 予備試験

2 棟 3 号室

本試験

検疫・馴化期間：コンベ 3 号室

馴化・試験実施期間：コンベ 2 号室

温度： 設定値 23℃ (許容範囲：20～26℃)

相対湿度： 設定値 50% (許容範囲：30～70%)

換気回数： 12 回/時間

照明時間： 12 時/日 (午前 6 時点灯、午後 6 時消灯)

ケージ： ステンレス製ケージ (W350×D400×H230 mm、(株)夏目製作所)

架台： ステンレス製自動水洗架台 (株)夏目製作所)

収容： 検疫馴化期間中および試験実施期間中ともに予備試験は 1 ケージに 4 匹、本試験は 1 ケージに 5 匹ずつ収容した。

飼料： 固型飼料 LRC4 (オリエンタル酵母工業(株)) を自由に摂取させた。

飲水： 町営水道水を 5 μm カートリッジフィルターに通過させたものを自動給水装置により自由に摂取させた。

10) 飼料の分析

オリエンタル酵母工業㈱からロットごとに分析した分析報告書を入手し、適正なものであることを確認した。

11) 飲水の分析

一般社団法人埼玉県環境検査研究協会に依頼し、水道法水質基準（1回/年）および浄水水質検査（1回/月）を行い、適正なものであることを確認した。

12) 清掃および消毒

飼育室は両性界面活性型殺菌消毒剤（ニッサンアノン、日油㈱）を用いて、休日を除く毎日清掃および消毒した。

3. 試験方法

Guinea Pig Maximization Test 法に準拠して行った。

1) 群構成および動物数（動物番号）

(1) 予備試験： 皮内投与群 2 匹（No. 1、2）、閉塞貼付群 2 匹（No. 3、4）

(2) 本試験： 感作群 10 匹（No. 1～10）、対照群 5 匹（No. 11～15）

2) 投与試料

下記の濃度に用時調製した。

(1) 予備試験

① 皮内投与

被験物質の 50、30、10、5、3、1、0.5 および 0.3 w/w%液（媒体：注射用水）

② 閉塞貼付

被験物質の 100%液、50、30、10、5 および 3 w/w%液（媒体：注射用水）

(2) 本試験

① 感作

a： FCA と生理食塩液の等量 (v/v) 乳化物

b： 被験物質の 50 w/w%液（媒体：注射用水）

c： 被験物質の 100%液と FCA の等量 (v/v) 乳化物

d： 生理食塩液

e： 被験物質の 100%液

f： 注射用水

② 惹起

g： 被験物質の 100%液、50 および 25 w/w%液（媒体：注射用水）

3) 予備試験

(1) 皮内投与

投与部位は除毛した側腹部とし、投与試料を 0.1 mL ずつ投与した。

(2) 閉塞貼付

FCA 乳化物処置動物（閉塞貼付 1 週間前に後背部左右対称 4 か所に 0.1 mL ずつ皮内投与）

を試験に供した。投与部位は除毛した側腹部とし、各投与試料を 1.5×1.5 cm のリント布（ピップ糊）に 0.1 mL ずつ含浸させ、無浸透性絆創膏（ブレンダーーム、3M）を用いて 24 時間閉塞貼付を行った。密着性を良くするために無浸透性絆創膏の外側を更に粘着性スポンジ絆創膏（マイクロフォーム、3M）と粘着性伸縮包帯（シルキーテックス 5 号、アルケア糊）で固定した。なお、試料の投与部位による反応を平均化させるために、投与部位は動物ごとに变化させた。

4) 感作方法

(1) 皮内感作

① 投与部位

除毛した頸部背側皮膚（Fig. 1）とした。なお、除毛は電気バリカンを用いて感作日までに行い、感作日にシェーバーにて剃毛した。

② 投与試料

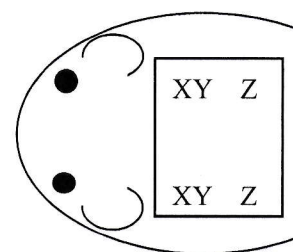
- a： FCA と生理食塩液の等量 (v/v) 乳化物
- b： 被験物質の 50 w/w% 液（媒体：注射用水）
- c： 被験物質の 100% と FCA の等量 (v/v) 乳化物
- d： 生理食塩液

③ 投与方法

感作開始日（第 0 日目）に、次表に従って各投与試料を 0.1 mL ずつ左右対称に皮内投与した（但し、X と Y の投与間隔を縮める）。

<投与部位および投与試料>

皮内投与部位	X	Y	Z
感作群	投与試料 a	投与試料 b	投与試料 c
対照群	投与試料 a	投与試料 d	投与試料 a



<Fig. 1>

(2) 接触感作

① 投与部位

除毛した皮内投与部位（Fig. 2）とした。なお、感作日にシェーバーにて剃毛した。

② 投与試料

- e： 被験物質の 100% 液
- f： 注射用水

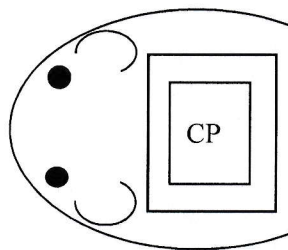
③ 投与方法

第 7 日目に、感作群は 2×4 cm のリント布に、被験物質の原液（100%）を 0.2 mL 含浸させて投与部位に貼付し、無浸透性絆創膏および粘着性伸縮包帯（シルキーテックス 3 号）で固定して 48 時間閉塞貼付を行った。対照群は 2×4 cm のリント布に注射用水を 0.2 mL 含浸させ、同様に 48 時間閉塞貼付を行った。なお、閉塞貼付 24 時間前に 10% ドデシル硫酸

ナトリウムのワセリン混合物約 0.5 g を皮内投与部位に開放塗布し、7 日目にエタノールを用いて除去後に閉塞貼付を行った。

<投与部位および投与試料>

投与試料貼付部位	CP
感作群	投与試料 e
対照群	投与試料 f



<Fig. 2>

5) 惹起方法

(1) 惹起部位

除毛した側腹部皮膚 (Fig. 3) とした。除毛は電気バリカンを用いて惹起日までに行い、惹起日にシェーバーにて剃毛した。

(2) 投与試料

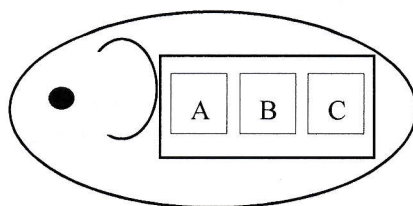
g: 被験物質の 100%液、50 および 25 w/w%液 (媒体: 注射用水)

(3) 投与方法

第 21 日目に、投与試料 g を 1.5×1.5 cm のリント布に 0.1 mL ずつ含浸させ、無浸透性絆創膏を用いて投与部位に 24 時間閉塞貼付した。密着性を良くするために無浸透性絆創膏の外側を更に粘着性スポンジ絆創膏と粘着性伸縮包帯で固定した。投与部位による反応を平均化させるため、次表のとおり動物ごとに投与部位を変えた。

<ローテーション>

動物番号	投与試料貼付部位		
	A	B	C
1、11	100%液	50 w/w%	25 w/w%
2、12	25 w/w%	100%液	50 w/w%
3、13	50 w/w%	25 w/w%	100%液
4、14	100%液	50 w/w%	25 w/w%
5、15	25 w/w%	100%液	50 w/w%
6	50 w/w%	25 w/w%	100%液
7	100%液	50 w/w%	25 w/w%
8	25 w/w%	100%液	50 w/w%
9	50 w/w%	25 w/w%	100%液
10	100%液	50 w/w%	25 w/w%



<Fig. 3>

6) 判定方法

貼付除去 24 および 48 時間後に下記の基準で判定した。

<紅斑・痂皮形成>

- 0：紅斑なし
- 1：ごく軽度の紅斑（かすかに認められる程度）
- 2：明らかな紅斑
- 3：中等度から強い紅斑
- 4：深紅色の強い紅斑に軽い痂皮形成（傷害は深部に及ぶ）

<浮腫形成>

- 0：浮腫なし
- 1：ごく軽度の浮腫（かすかに認められる程度）
- 2：軽度の浮腫（周囲と明らかに区分可能）
- 3：中等度の浮腫（1 mm 程盛り上がっている）
- 4：強い浮腫（1 mm 以上盛り上がり、周囲にも広がる）

7) 評価方法

各判定時における紅斑・痂皮形成および浮腫形成の合計評点が 1 以上を陽性反応とし、陽性率を求めた。感作群の陽性率と対照群の陽性率の差を感作率とし、感作性評価区分¹⁾は下記基準に従い、最高感作率で評価した。ただし、感作率が 0% の場合は感作性なしとした。また平均評点についても算出した。

<陽性率>

$$\text{陽性率 (\%)} = \frac{\text{陽性反応動物数}}{\text{動物数}} \times 100$$

<感作率>

$$\text{感作率 (\%)} = \text{感作群の陽性率} - \text{対照群の陽性率}$$

<平均評点の算出方法>

$$\text{平均評点} = \frac{\text{紅斑・痂皮形成および浮腫形成の評点合計}}{\text{動物数}}$$

<感作性評価区分>

Sensitization rate (%)	Grade	Classification
0 ～ 8	I	Weak
9 ～ 28	II	Mild
29 ～ 64	III	Moderate
65 ～ 80	IV	Strong
81 ～ 100	V	Extreme

8) 一般状態の観察および体重測定

一般状態は毎日観察し、体重は感作開始日、惹起日、最終判定日に測定した。

9) 試験終了後の動物処理

CO₂ 吸入により安楽致死させた。

IV. 試験結果

1. 予備試験

皮内投与の結果を表 1、閉塞貼付の結果を表 2 に示した。

1) 皮内投与

被験物質の 50、30、10、5、3、1、0.5 および 0.3 w/w%液を投与したところ、最高評点として 50、30、10、5 および 3 w/w%液で評点 2 の浮腫を伴った評点 2 の紅斑、1 w/w%液で評点 2 の紅斑、0.5 および 0.3 w/w%液で評点 1 の紅斑がみられた。

これらの刺激域値濃度および委託者との協議により、皮内感作濃度は 50 w/w%とした。

2) 閉塞貼付

被験物質の 100%液、50、30、10、5 および 3 w/w%液を投与したところ、いずれの濃度においても皮膚反応はみられなかった。

これらの刺激域値濃度および委託者との協議により、接触感作濃度は 100%、惹起濃度は 100%、50 および 25 w/w%とした。

2. 皮膚反応

皮膚反応の総括を表 3、皮膚反応評点（個体別）を表 4 に示した。また、貼付除去 24 時間後の皮膚反応を写真 1、2 に示した。

1) 100%液

感作群ならびに対照群ともに、いずれの判定時においても皮膚反応はみられず、陽性率（平均評点）は 0%（0）であった。したがって、感作率は 0%となった。

2) 50 w/w%液

感作群ならびに対照群ともに、いずれの判定時においても皮膚反応はみられず、陽性率（平均評点）は0%（0）であった。したがって、感作率は0%となった。

3) 25 w/w%液

感作群ならびに対照群ともに、いずれの判定時においても皮膚反応はみられず、陽性率（平均評点）は0%（0）であった。したがって、感作率は0%となった。

3. 体重および一般状態

結果を表5に示した。

試験期間中、一般状態に異常はみられず、体重は増加を示した。

V. 考察および結論

無機系抗菌抗ウイルスコートの皮膚感作性についてモルモットを用いて Maximization Test 法で検討した。

試験動物として、予備試験4匹、感作群10匹、対照群5匹の計19匹を試験に供した。

感作群の皮内感作は被験物質の50 w/w%液、接触感作は被験物質の100%液とし、対照群は生理食塩液および注射用水を用いた。惹起は被験物質の100%液、50および25 w/w%液とした。

その結果、感作群および対照群ともに、いずれの惹起投与試料においても皮膚反応はみられず、感作率は0%であった。

試験期間中の一般状態に異常はみられず、体重も増加を示した。

以上の結果より、本試験条件下において、本被験物質に皮膚感作性は認められなかった。

<参考文献>

- 1) Magnusson, B.; Kligman, A.M.: The identification of contact allergens by animal assay, The Guinea Pig Maximization Test method, J. invest. Derm. 52: 268-276, (1969).

表1 皮内投与の刺激性評点（予備試験）

動物 番号	皮膚反応（紅斑・痂皮/浮腫）																							
	投与24時間後								投与48時間後								投与72時間後							
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
1	2/2	2/2	2/1	2/1	2/1	1/0	1/0	1/0	2/2	2/0	2/0	2/0	2/0	1/0	1/0	1/0	2/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/0	0/0
2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/0	1/0	1/0	2/1	2/0	2/0	2/0	2/0	1/0	1/0	1/0	2/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/0	0/0	0/0

① 50 w/w% ② 30 w/w% ③ 10 w/w% ④ 5 w/w%
 ⑤ 3 w/w% ⑥ 1 w/w% ⑦ 0.5 w/w% ⑧ 0.3 w/w%

(媒体：注射用水)

表2 閉塞貼付による刺激性評点（予備試験）

動物 番号	皮膚反応（紅斑・痂皮/浮腫）											
	貼付除去 24 時間後						貼付除去 48 時間後					
	①	②	③	④	⑤	⑥	①	②	③	④	⑤	⑥
3	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
4	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

① 100 % ② 50 w/w% ③ 30 w/w% ④ 10 w/w% ⑤ 5 w/w% ⑥ 3 w/w%

(媒体：②～⑥注射用水)

表 3 総括

群	項目	貼付除去24時間後			貼付除去48時間後		
		100%	50 w/w%	25 w/w%	100%	50 w/w%	25 w/w%
感作群	平均評点	0	0	0	0	0	0
	陽性率 (%)	0	0	0	0	0	0
対照群	平均評点	0	0	0	0	0	0
	陽性率 (%)	0	0	0	0	0	0
感作率 (%)		0	0	0	0	0	0

表 4 皮膚反応評点（個体別）

群	動物 番号	皮膚反応（紅斑・痂皮 / 浮腫）					
		貼付除去24時間後			貼付除去48時間後		
		100%	50 w/w%	25 w/w%	100%	50 w/w%	25 w/w%
感作群	1	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	2	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	3	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	4	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	5	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	6	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	7	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	8	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	9	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	10	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
平均評点		0	0	0	0	0	0
陽性率(%)		0	0	0	0	0	0
対照群	11	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	12	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	13	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	14	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
	15	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
平均評点		0	0	0	0	0	0
陽性率(%)		0	0	0	0	0	0

表 5 体重および一般状態

群	動物番号	体 重 (g)			一 般 状 態			
		感作開始日	惹起日	最終判定日	0-5日	6-11日	12-17日	18-24日
感作群	1	301	428	429	-	-	-	-
	2	313	467	474	-	-	-	-
	3	317	438	450	-	-	-	-
	4	322	474	485	-	-	-	-
	5	324	501	506	-	-	-	-
	6	333	458	470	-	-	-	-
	7	340	542	559	-	-	-	-
	8	341	509	514	-	-	-	-
	9	362	487	510	-	-	-	-
	10	366	506	509	-	-	-	-
対照群	11	312	434	449	-	-	-	-
	12	318	502	509	-	-	-	-
	13	324	507	508	-	-	-	-
	14	353	482	484	-	-	-	-
	15	356	527	528	-	-	-	-

-: 異常なし

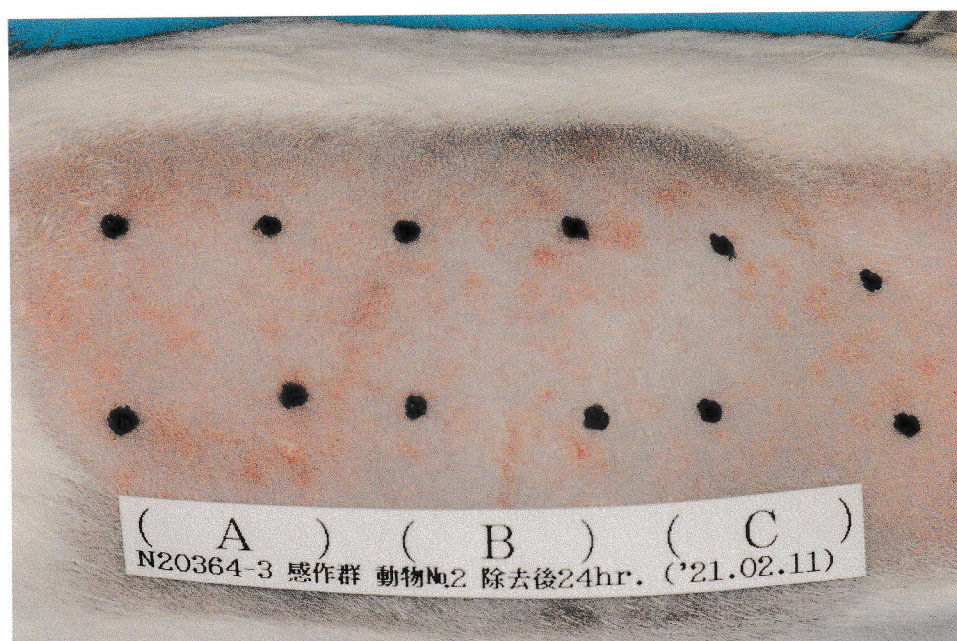


写真 1 感作群 動物番号 2 除去24時間後

(A) 25 w/w%液 :	紅斑 0 浮腫 0
(B) 100%液 :	紅斑 0 浮腫 0
(C) 50 w/w%液 :	紅斑 0 浮腫 0

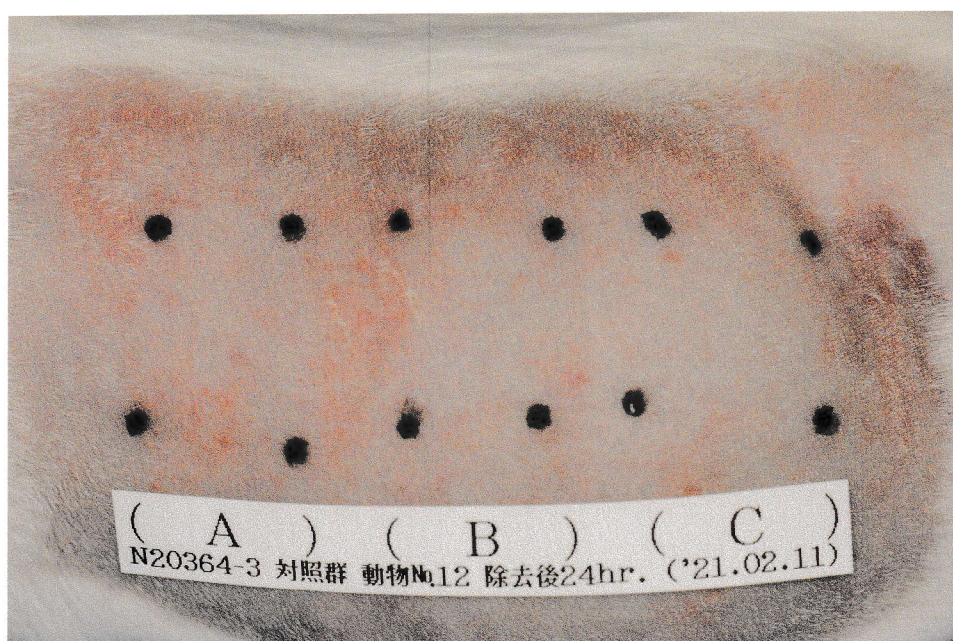


写真 2 対照群 動物番号12 除去24時間後

(A) 25 w/w%液 :	紅斑 0 浮腫 0
(B) 100%液 :	紅斑 0 浮腫 0
(C) 50 w/w%液 :	紅斑 0 浮腫 0