

## オレアアスファ水・エビデンス及び研究実験資料

- 1、培養細胞を用いたコロニー形成阻害試験・200ppm、日本食品分析センター
- 2、変異原性試験・200ppm、日本食品分析センター
- 3、雄マウスを用いた急性経口毒性試験・200ppm、日本食品分析センター
- 4、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験・200ppm、日本食品分析センター
- 5、ウサギを用いた眼刺激性試験・200ppm・日本食品分析センター
- 6、殺菌効果試験・次亜塩素酸ナトリウム50, 80ppm、アスファ水50ppm  
生菌数測定比較結果「枯草菌、芽胞、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、クロカワカビ、  
サッカロミセス、大腸菌」、日本食品分析センター
- 7、ウイルス不活化試験、100ppm・日本食品分析センター
- 8、殺菌効果試験・200ppm (Botryotinia「灰色かび病」, Trichohyton[  
真菌、新型白癬菌] 日本食品分析センター
- 9、塩素ガス発生試験、200ppm・(株)分析センター
- 10、アスファ水溶液の抗菌作用、50ppm (インフルエンザ球菌、黄色ブドウ球  
菌、大腸菌、肺炎球菌、緑膿菌) 埼玉県立小児医療センター、目白大学クリニック)  
噴霧器でスライドガラスに塗抹し上記菌体の噴霧試験
- 11、内閣府からの要請を受け厚労省、日赤の指導で東日本大震災の避難所へアスファ  
水を提供・宮城県名取市の避難所で実態調査を坂田英明医師他8名にて
- 12、ウイルス受託研究及び、アスファ水での委託試験 (インフルエンザ100ppm  
鳥インフルエンザ50ppm、ヘルペスウイルス、ネコカリシウイルス「ノロウ  
イルスの代替え50ppm、北里学園大学
- 13、殺菌水噴霧による鶏飼養環境保全技術実験・埼玉農林総合研究センター
- 14、実験レベルに於ける噴霧消毒に有効な資材・三重県科学技術振興センター
- 15、口蹄疫ウイルスへの検証・独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構
- 16、抗菌測定試験報告書 (黄色ブドウ球菌、大腸菌、緑膿菌、カンジタアルピカンス、  
肺炎連鎖球菌) SGS台湾、
- 17、堅牢度試験証明書、50, 100ppm (ポリエステル、毛、麻、シルク、  
綿) 日本繊維検査協会
- 18、殺菌効果試験、100ppm (ゆで卵生菌数検査) ユーロンフィン(株)
- 19、検査試験評価結果報告書、手指、生野菜、(株)消費科学研究所
- 20、経時変化分析試験、日本食品分析センター
- 21、安全データー、(株)オレア
- 22、これまでの、アスファニュース



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 102061420-004号  
2002年(平成14年)07月25日

依頼者 株式会社 オレア

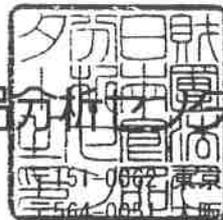
検体 アスファ水(200ppm)

表題 培養細胞を用いたコロニー形成阻害試験

2002年(平成14年)06月20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は次のとおりです。

特許商標  
登録商標

日本食品分析センター



東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番

## 培養細胞を用いたコロニー形成阻害試験

### 要 約

アスファ水 (200ppm) を検体として、「医療用具の製造(輸入)承認申請に必要な生物学的試験のガイドラインについて」(平成7年薬機第99号)の別添「医療用具及び医用材料の基礎的な生物学的試験のガイドライン」に準拠して、V79細胞を用いてコロニー形成阻害試験(直接曝露法及び培養液混合法)を行った。その結果、直接曝露法では、濃度依存的にコロニー形成を阻害し、その50%コロニー形成阻害濃度(IC50)は試験-1では約0.26%, 試験-2では約0.21%であった。また、培養液混合法でも、検体試験液は濃度依存的にコロニー形成を阻害し、その50%コロニー形成阻害濃度(IC50)は試験-1では約1.0%, 試験-2では約2.8%であった。

### 依 頼 者

株式会社 オレア  
東京都渋谷区神南1丁目10番8 エfビル8F

### 検 体

アスファ水(200ppm)

### 試験実施期間

平成14年6月25日～平成14年7月29日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
安全性試験部 安全性試験課  
勝田 真一

### 試験実施者

弓野 仁子 , 武田 直子 , 奥田 幸子 , 計良 有生恵 , 川本 康晴

### 1 試験目的

検体を用いて、「医療用具の製造(輸入)承認申請に必要な生物学的試験のガイドラインについて」(平成7年薬機第99号)の別添「医療用具及び医用材料の基礎的な生物学的試験のガイドライン」に準拠して、V79細胞を用いてコロニー形成阻害試験を行う。

### 2 検 体

アスファ水 (200ppm)

性状：無色透明液体、軽い塩素臭がする

### 3 試験方法

#### 1) 細胞の種類及び培養条件

|              |  |              |                    |        |
|--------------|--|--------------|--------------------|--------|
| 細胞名          | V79  | 入手先          | 理化学研究所             |        |
| 種            | チャイニーズ・ハムスター   | 入手年月日        | 2000年5月10日         |        |
| 培養液(ME10)    | イーグルMEM①*  | 製造元          | 日水製薬株式会社           |        |
| 血清(濃度)       | 牛胎児血清(10 vol%)   | 製造元(Lot No.) | ICN(6215C)         |        |
| 細胞倍加時間       | 約16時間  | 凍結条件         | 液体窒素               |        |
| 試験に用いた細胞の継代数 | 直接曝露法：17及び19代目<br>培養液混合法：15及び17代目                      | 培養条件         | 容器                 | プラスチック |
|              |  |              | 温度                 | 37℃    |
|              |  |              | CO <sub>2</sub> 濃度 | 5%     |
| 継代間隔         | 3~4日間  |              |                    |        |
| 備考           | * Eagle's Minimum Essential Medium, 0.06 mg/mLカナマイシン含有 |              |                    |        |

#### 2) 試験実施時の培養液(M05), 血清及び培養容器

|           |        |                                  |       |  |        |
|-----------|--------|----------------------------------|-------|--|--------|
| 培養液       | MEMアール | 製造元                              |       | コージン・バイオ株式会社                                   |        |
|           |        | 備考                               |       | 非必須アミノ酸含有, 1 mmol/Lピルビン酸及び0.05 mg/mLカナマイシンを添加。 |        |
| 血清        | 牛胎児血清  | 製造元                              | ICN   | 添加濃度   | 5 vol% |
|           |        | Lot No.                          | 6215C |  |        |
| 培養容器[製造元] |        | ファルコン組織培養用プラスチックプレート24穴[ベクトリックス] |       |  |        |

3) 試験に用いた試薬の組成

① 細胞の播種に用いる試薬

| リン酸緩衝生理食塩液 [PBS(-)] (1 L)        |      |   | トリプシン溶液 [PBS(-) 中]                     |              |
|----------------------------------|------|---|--|--------------|
| NaCl                             | 8.0  | g | 2.5 %トリプシン (1:250) 溶液<br>[コスモ・バイオ株式会社] | 0.05<br>vol% |
| KCl                              | 0.2  | g |  |              |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 1.15 | g | EDTA                                   | 0.02         |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>  | 0.2  | g | (Ethylenediaminetetraacetic acid)      | vol%         |

② 細胞の固定及び染色に用いる試薬

| 10 %中性リン酸緩衝ホルマリン溶液 (1 L)                             |     |    | 0.1 %メチレンブルー溶液 (1 L)               |       |
|--|-----|----|------------------------------------|-------|
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O | 4.4 | g  |                                    |       |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                     | 6.5 | g  | Methylene blue · 4H <sub>2</sub> O | 1.0 g |
| ホルマリン液   | 100 | mL |                                    |       |

③ 標準物質

| 名称   |                                    | 製造元        | グレード | ロット     |
|------|------------------------------------|------------|------|---------|
| 標準物質 | Zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) | 東京化成工業株式会社 | 1級   | FBV01   |
|      | Zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC) | 和光純薬工業株式会社 | 1級   | PDL1635 |

4) 試験液の調製

① 直接曝露法

検体と10倍濃度のPBS(-)を9:1の割合で混合したものを調製して、試験原液(100%)とし、PBS(-)を用いて希釈し、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5及び1%の計6濃度の検体試験液を調製した。また、陰性対照試験液としてはPBS(-)を、無処理試験液としてはM05培地を用いた。

② 培養液混合法

検体と2倍濃度のM05培地を等量混合したものを調製して、試験原液(50%)とし、M05培地を用いて以下のように希釈し、それぞれ計6濃度の検体試験液を調製した。また、無処理試験液としてはM05培地を用いた。

調製した検体試験液の濃度

試験-1 : 0.1、0.5、1、5、10及び50 %

試験-2 : 0.156、0.313、0.625、1.25、2.5及び5 %

## 5) 試験操作法

単層に増殖したV79細胞をトリプシン処理によりはく離し、M05培地を用いて100個/mLの細胞浮遊液を調製した。この細胞浮遊液を組織培養用プレートの各ウエルに0.5 mLずつ播種し、37℃の5%CO<sub>2</sub>インキュベーター中で約6時間培養した後、以下の方法で試験を実施した。

### ① 直接曝露法

培養後、細胞がウエルの底面に接着していることを確認してから培地を除き、各濃度の検体試験液、陰性対照試験液及び無処理試験液を各々4個のウエルに0.5 mLずつ加え、37℃の5%CO<sub>2</sub>インキュベーター中で30分間培養した。培養後、すべてのウエルを新しい培養液に交換し、37℃の5%CO<sub>2</sub>インキュベーター中で6日間培養した。培養終了後、各ウエルを10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で30分間固定し、0.1%メチレンブルー溶液で15分間染色して、細胞数50個以上のコロニーを計数した。

なお、試験は2回繰り返して行い、それぞれ試験-1及び2とした。

### ② 培養液混合法

培養後、細胞がウエルの底面に接着していることを確認してから培地を除き、各濃度の検体試験液及び無処理試験液を各々4個のウエルに0.5 mLずつ加え、37℃の5%CO<sub>2</sub>インキュベーター中で6日間培養した。培養終了後、各ウエルを10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で30分間固定し、0.1%メチレンブルー溶液で15分間染色して、細胞数50個以上のコロニーを計数した。

なお、試験は2回繰り返して行い、それぞれ試験-1及び2とした。

#### 4 試験結果及び考察

試験結果を表-1及び2, 図-1及び2並びに写真-1及び2に示した。

直接曝露法では, 検体試験液は濃度依存的にコロニーの形成を阻害し, 陰性対照試験液におけるコロニー形成率を100%とした時, Van der Waerden法で計算した50%コロニー形成阻害濃度(IC50)は, 試験-1では約0.26%, 試験-2では約0.21%であった。また, 0.1%濃度以上の試験区で形成されたコロニーは, 無処理試験液及び陰性対照試験液中で形成されたものに比べて小さかった。陰性対照試験液におけるコロニー形成率は, 無処理試験液に比べると低下していた。

培養液混合法でも, 検体試験液は濃度依存的にコロニーの形成を阻害し, Van der Waerden法で計算した50%コロニー形成阻害濃度(IC50)は, 試験-1では約1.0%, 試験-2では約2.8%であった。また, 試験-1では0.1%濃度以上, 試験-2では1.25%濃度以上の試験区で形成されたコロニーは, 無処理試験液中で形成されたものに比べて小さかった。

直接曝露法と培養液混合法のIC50値を比較すると約10倍の差が見られる。このことは, 検体中に含まれる細胞毒性物質は, 培養液の成分と反応して減少する, 又は, 細胞毒性活性が減弱することを示している。検体中には次亜塩素酸が含まれており, これが細胞毒性の主たる原因と考えられ, この次亜塩素酸が培養液中のタンパク質と反応して減少したことで, 培養液混合法では細胞毒性が弱くなったものと考えられた。

直接曝露法における陰性対照試験液は, 細胞毒性を示さないリン酸緩衝生理食塩液であることから, 陰性対照試験液でのコロニー形成率が無処理試験液に比べて低下した理由として, ①細胞がウェル底面に接着して間もない時期に培養液の交換が行われたため, 物理的に細胞がはがれた, ②接着後間もない時期に栄養を含まない塩類溶液に交換されたため, 接着不完全の細胞が浮き上がってしまった, などの要因が考えられた。

以上のことから, 本試験条件下において, 検体には濃度依存的な細胞毒性が認められた。

なお, 標準物質を用いてコロニー形成阻害試験を行った結果を表-3~5及び図-3~5に示した。

表-1 検体のコロニー形成阻害試験の結果(直接曝露法)

| 濃度 (%)      | コロニー数/ウエル |    |    |    | 平均   | コロニー形成率 (%)<br>(陰性対照=100) | IC50 (%) |      |
|-------------|-----------|----|----|----|------|---------------------------|----------|------|
| 試験-1        | 0.005     | 37 | 44 | 31 | 38   | 37.5                      | 90.8     | 0.26 |
|             | 0.01      | 41 | 40 | 44 | 47   | 43.0                      | 104.1    |      |
|             | 0.05      | 49 | 39 | 32 | 50   | 42.5                      | 102.9    |      |
|             | 0.1       | 36 | 27 | 39 | 41   | 35.8                      | 86.7     |      |
|             | 0.5       | 13 | 15 | 15 | 12   | 13.8                      | 33.4     |      |
|             | 1         | 0  | 0  | 0  | 0    | 0.0                       | 0.0      |      |
| 陰性対照<br>無処理 | 47        | 45 | 37 | 36 | 41.3 | 100.0                     |          |      |
|             | 49        | 41 | 56 | 49 | 48.8 | -                         |          |      |
| 試験-2        | 0.005     | 32 | 41 | 31 | 49   | 38.3                      | 92.3     | 0.21 |
|             | 0.01      | 46 | 45 | 38 | 47   | 44.0                      | 106.0    |      |
|             | 0.05      | 42 | 58 | 49 | 38   | 46.8                      | 112.8    |      |
|             | 0.1       | 45 | 41 | 40 | 41   | 41.8                      | 100.7    |      |
|             | 0.5       | 0  | 0  | 0  | 0    | 0.0                       | 0.0      |      |
|             | 1         | 0  | 0  | 0  | 0    | 0.0                       | 0.0      |      |
| 陰性対照<br>無処理 | 36        | 41 | 47 | 42 | 41.5 | 100.0                     |          |      |
|             | 49        | 53 | 49 | 42 | 48.3 | -                         |          |      |

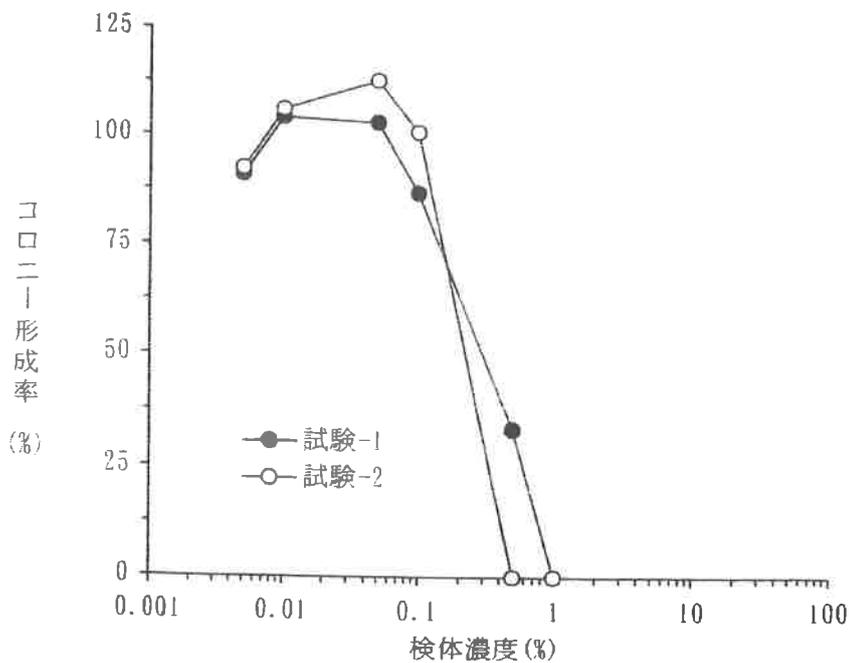


図-1 検体の用量反応

表-2 検体のコロニー形成阻害試験の結果(培養液混合法)

| 濃度 (%) | コロニー数/ウエル |    |    |    | 平均   | コロニー形成率 (%)<br>(無処理=100) | IC50 (%) |     |
|--------|-----------|----|----|----|------|--------------------------|----------|-----|
| 試験-1   | 0.1       | 44 | 43 | 50 | 47   | 46.0                     | 98.3     | 1.0 |
|        | 0.5       | 40 | 41 | 35 | 39   | 38.8                     | 82.9     |     |
|        | 1         | 36 | 14 | 17 | 26   | 23.3                     | 49.8     |     |
|        | 5         | 0  | 0  | 0  | 0    | 0.0                      | 0.0      |     |
|        | 10        | 0  | 0  | 0  | 0    | 0.0                      | 0.0      |     |
|        | 50        | 0  | 0  | 0  | 0    | 0.0                      | 0.0      |     |
| 無処理    | 45        | 43 | 45 | 54 | 46.8 | 100.0                    |          |     |
| 試験-2   | 0.156     | 40 | 58 | 51 | 51   | 50.0                     | 100.0    | 2.8 |
|        | 0.313     | 54 | 53 | 47 | 45   | 49.8                     | 99.6     |     |
|        | 0.625     | 45 | 46 | 46 | 46   | 45.8                     | 91.6     |     |
|        | 1.25      | 42 | 42 | 45 | 47   | 44.0                     | 88.0     |     |
|        | 2.5       | 41 | 41 | 38 | 42   | 40.5                     | 81.0     |     |
|        | 5         | 5  | 3  | 4  | 5    | 4.3                      | 8.6      |     |
| 無処理    | 50        | 49 | 46 | 55 | 50.0 | 100.0                    |          |     |

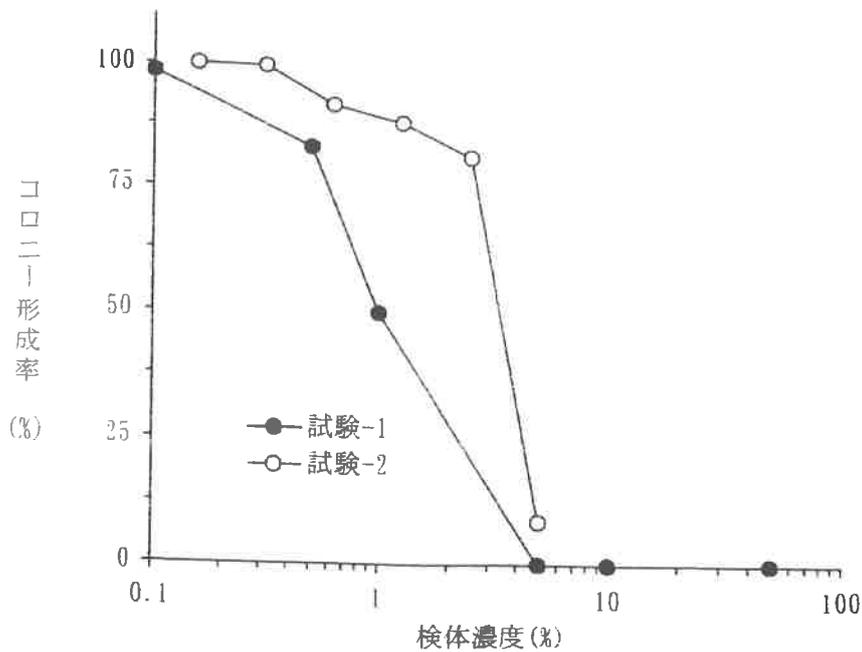


図-2 検体の用量反応



写真-1 コロニーの肉眼像(直接曝露法)



写真-2 コロニーの肉眼像(培養液混合法)

表-3 標準物質を用いたコロニー形成阻害試験の結果(15代目)

| 濃度(μg/mL) | コロニー数/ウエル |    |    | 平均   | コロニー形成率<br>(%)<br>(無処理=100) | IC50<br>(μg/mL) |
|-----------|-----------|----|----|------|-----------------------------|-----------------|
| ZDEC      | 0.005     | 50 | 48 | 38   | 45.3                        | 105.3           |
|           | 0.01      | 30 | 39 | 33   | 34.0                        | 79.1            |
|           | 0.02      | 0  | 0  | 0    | 0.0                         | 0.0             |
| ZDBC      | 1         | 43 | 40 | 47   | 43.3                        | 100.7           |
|           | 2         | 7  | 10 | 14   | 10.3                        | 24.0            |
|           | 5         | 0  | 0  | 0    | 0.0                         | 0.0             |
| 無処理       | 42        | 42 | 45 | 43.0 | 100.0                       |                 |

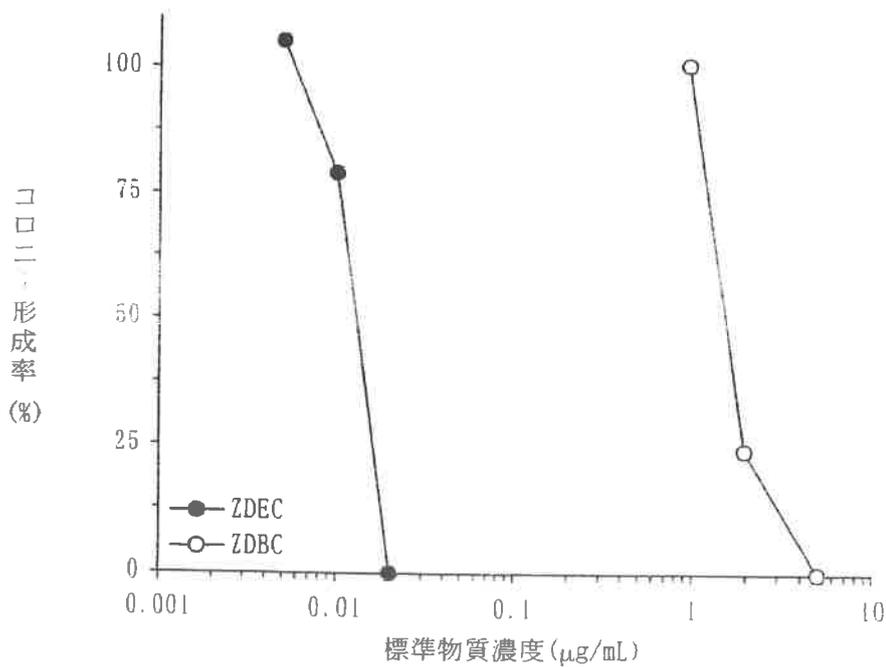


図-3 標準物質の用量反応

表-4 標準物質を用いたコロニー形成阻害試験の結果(17代目)

| 濃度(μg/mL) | コロニー数/ウエル |    |    | 平均   | コロニー形成率<br>(%)<br>(無処理=100) | IC50<br>(μg/mL) |
|-----------|-----------|----|----|------|-----------------------------|-----------------|
| ZDEC      | 0.005     | 43 | 52 | 44   | 46.3                        | 98.5            |
|           | 0.01      | 35 | 36 | 37   | 36.0                        | 76.6            |
|           | 0.02      | 0  | 0  | 0    | 0.0                         | 0.0             |
| ZDBC      | 1         | 52 | 41 | 47   | 46.7                        | 99.4            |
|           | 2         | 6  | 13 | 12   | 10.3                        | 21.9            |
|           | 5         | 0  | 0  | 0    | 0.0                         | 0.0             |
| 無処理       | 47        | 49 | 45 | 47.0 | 100.0                       |                 |

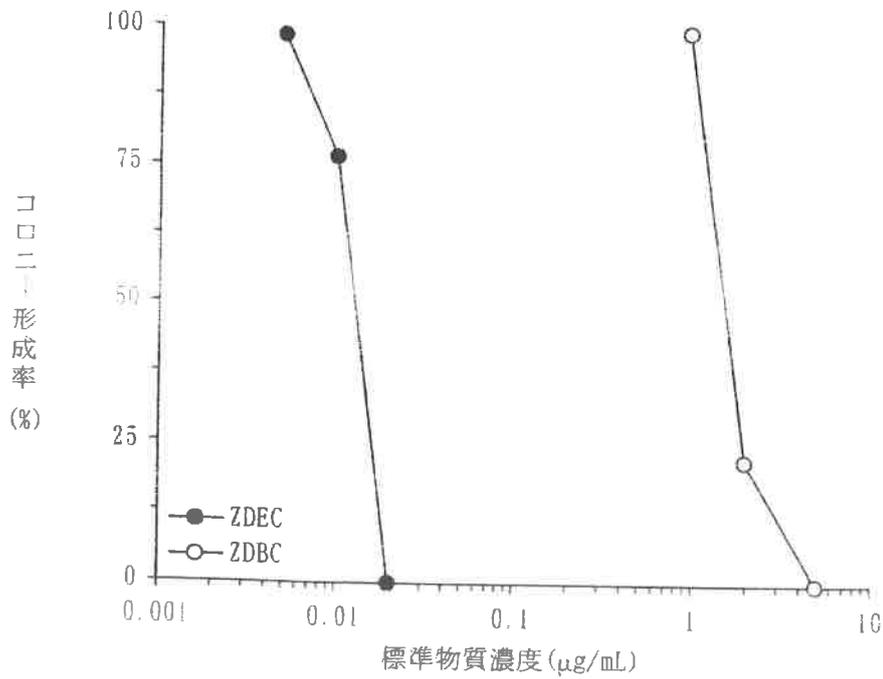


図-4 標準物質の用量反応

表-5 標準物質を用いたコロニー形成阻害試験の結果(19代目)

| 濃度(μg/mL) | コロニー数/ウエル |    |    | 平均   | コロニー形成率<br>(%)<br>(無処理=100) | IC50<br>(μg/mL) |
|-----------|-----------|----|----|------|-----------------------------|-----------------|
| ZDEC      | 0.005     | 50 | 51 | 48   | 49.7                        | 97.5            |
|           | 0.01      | 30 | 33 | 26   | 29.7                        | 58.2            |
|           | 0.02      | 0  | 0  | 0    | 0.0                         | 0.0             |
| ZDBC      | 1         | 34 | 44 | 41   | 39.7                        | 77.8            |
|           | 2         | 24 | 13 | 12   | 16.3                        | 32.0            |
|           | 5         | 0  | 0  | 0    | 0.0                         | 0.0             |
| 無処理       | 47        | 51 | 55 | 51.0 | 100.0                       |                 |

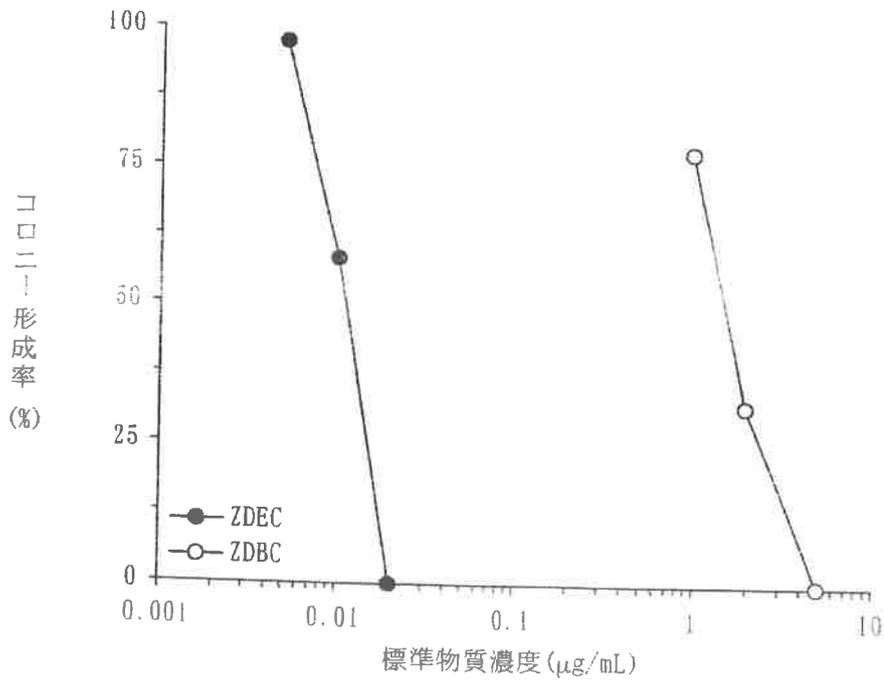
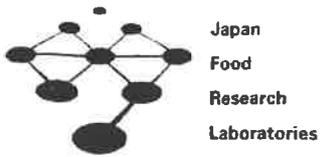


図-5 標準物質の用量反応

以 上



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 102061420-003 号  
2002年(平成14年)07月29日

依頼者 株式会社 オレア

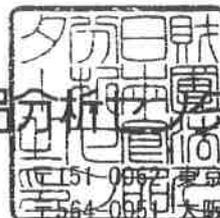
検体 アスファ水 (200ppm)

表題 変異原性試験

2002年(平成14年)06月20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は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター



東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番

## 変異原性試験

### 要 約

アスファホ (200ppm) の突然変異誘起性を調べる目的で労働省告示第77号 (昭和63年9月1日) に準じ試験を実施した。

検体について、*Escherichia coli* WP2 *uvrA*株及び*Salmonella typhimurium* TA系4菌株を用いて代謝活性化を含む復帰突然変異試験を12.5~500  $\mu$ L/プレートの用量で行ったところ、いずれの場合においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。以上のことから、本試験条件下における検体の突然変異誘起性は陰性と結論した。

### 依 頼 者

株式会社 オレア

### 検 体

アスファホ (200ppm)

### 試験実施期間

平成14年6月27日~平成14年7月29日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
安全性試験部 安全性試験課  
勝田 真一

### 試験実施者

金氏 由樹子 , 松下 佳代

## 1 試験目的

検体の突然変異誘起性を調べるため、労働省告示第77号(昭和63年9月1日)に準じ、*Escherichia coli* WP2 *uvrA*株及び*Salmonella typhimurium* TA系4菌株を用いて、代謝活性化を含む復帰突然変異試験を行う。

## 2 検 体

アスファ水 (200ppm)

性状：無色透明液体，軽い塩素臭がする

## 3 試験方法

### 1) 試験液の調製

検体を直接試験液とした。50  $\mu\text{L}$ /プレート以下の用量は，検体を注射用水[日本薬局方，大塚製薬株式会社，製造番号1L77P]を用いて適宜希釈し，試験に供した。陰性対照は試験液の調製に用いた注射用水とした。

### 2) 試験用量

用量設定試験

代謝活性化法によらない場合

400, 200, 100, 50, 25及び12.5  $\mu\text{L}$ /プレート

代謝活性化法による場合

500, 400, 300, 200及び100  $\mu\text{L}$ /プレート

本試験

代謝活性化法によらない場合

*S. typhimurium* TA100, TA1535及び*E. coli* WP2 *uvrA*株

400, 300, 200, 100, 50及び25  $\mu\text{L}$ /プレート

*S. typhimurium* TA98及びTA1537株

300, 200, 100, 50, 25及び12.5  $\mu\text{L}$ /プレート

代謝活性化法による場合

500, 400, 300, 200及び100  $\mu\text{L}$ /プレート

3) 陽性対照物質及び陽性対照物質を溶解する溶媒

① 陽性対照物質と用量

| S9(-)           |        |  | S9(+)           |        |  |
|-----------------|--------|--|-----------------|--------|--|
| 菌株              | 陽性対照物質 | 用量<br>( $\mu\text{g}/7^\circ\text{プレート}$ ) | 菌株              | 陽性対照物質 | 用量<br>( $\mu\text{g}/7^\circ\text{プレート}$ ) |
| TA100           | AF-2   | 0.01                                       | TA100           | 2-AA   | 1  |
| TA98            | AF-2   | 0.1  | TA98            | 2-AA   | 0.5  |
| TA1535          | ENNG   | 5  | TA1535          | 2-AA   | 2  |
| TA1537          | 9-AA   | 80   | TA1537          | 2-AA   | 2  |
| WP2 <i>uvrA</i> | AF-2   | 0.01                                       | WP2 <i>uvrA</i> | 2-AA   | 10   |

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

ENNG : *N*-ethyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine

9-AA : 9-aminoacridine

2-AA : 2-aminoanthracene

② 陽性対照物質及び陽性対照物質を溶解する溶媒

|      | 物質名   | 製造元           | Lot No.              | グレード    | 純度(%)  | 溶媒名   |
|------|-------|---------------|----------------------|---------|--------|-------|
| 陽性対照 | AF-2  | NIHSから分与されたもの | —                    | —       | —      | DMSO  |
|      | ENNG  | ナカライテスク株式会社   | V0R8925              | —       | 97     | エタノール |
|      | 9-AA  | Aldrich       | TT00220M             | —       | 93     | DMSO  |
|      | 2-AA  | 和光純薬工業株式会社    | AWL2898              | —       | 90     | DMSO  |
| 溶媒   | DMSO  | 和光純薬工業株式会社    | TCQ2620              | 生化学用    | 99.5以上 | —     |
|      | エタノール | 関東化学株式会社      | 309F1284<br>403F1540 | 残留農薬試験用 | 99.5以上 | —     |

陽性対照物質溶液の調製保存等 ; 分注保存 (保存温度  $-20^\circ\text{C}$ )

NIHS : 国立医薬品食品衛生研究所

Aldrich : Aldrich Chemical Company, Inc.

DMSO : ジメチルスルホキシド

4) 使用菌株

① 入手方法等

| 菌株              | 入手先           | 入手年月日       | 試験に使用した保存ロットの特性検査日 |
|-----------------|---------------|-------------|--------------------|
| TA100           | Bruce N. Ames | 昭和55年12月11日 | 平成14年5月20日         |
| TA98            | Bruce N. Ames | 昭和55年12月11日 | 平成14年5月27日         |
| TA1535          | Bruce N. Ames | 昭和55年12月11日 | 平成14年6月17日         |
| TA1537          | Bruce N. Ames | 昭和55年12月11日 | 平成14年6月3日          |
| WP2 <i>uvrA</i> | 東京大学医科学研究所    | 昭和56年1月12日  | 平成14年5月20日         |

② 保存方法

|       |                         |       |      |         |
|-------|-------------------------|-------|------|---------|
| 保存方法  | 分注凍結                    | 保存液組成 | 菌懸濁液 | 0.8 mL  |
| 保存温度  | -80 °C                  |       | DMSO | 0.07 mL |
| 保存機器名 | 超低温フリーザー サンヨー MDF-291AT |       |      |         |

5) 菌の前培養

Nutrient broth No.2(OXOID, Lot No.232622)を10 mL分注したL字型試験管に、菌分注凍結保存液を解凍して20  $\mu$ L接種した。菌を接種したL字型試験管は振とうを始めるまで氷冷し、試験開始までに37 °Cで約10時間振とう培養した。菌懸濁液は分光光度計で吸光度を計測し、所定の範囲に到達したところで培養を止めた。

|                    |   |
|--------------------|---|
| 振とう培養装置の型式及び製造元    | ユニットシェーカーモノシンII <sup>A</sup><br>タイテック株式会社 |
| 振とう方法(振とう型式・振とう数等) | モノー型式・36回/分                               |
| 培養容器(形状・容量・栓)      | L字管・30 mL・モルトン栓                           |

6) S9及びS9Mix

① S9の入手先, 保存方法等

|         |            |                |                            |
|---------|------------|----------------|----------------------------|
| 製造元     | キッコーマン株式会社 | 保存温度           | -80 ℃                      |
| 製造年月日   | 平成14年4月12日 | 保存機器名<br>及び型式名 | 超低温フリーザー<br>サンヨー MDF-291AT |
| 購入年月日   | 平成14年5月23日 |                |                            |
| Lot No. | RAA-462    |                |                            |

② S9の調製方法

| 使用動物  |           | 誘導物質                       |   |
|-------|-----------|----------------------------|---|
| 種・系統性 | ラット・SD系雄  | 名称                         | フェノバルビタール(PB)<br>5,6-ベンゾフラボン(5,6-BF)  |
| 週齢    | 7週        | 投与方法                       | 腹腔内投与   |
| 体重    | 207~237 g | 投与期間<br>及び投与量<br>(mg/kg体重) | 1日目: PB30 mg/kg, 2日目: PB60 mg/kg<br>3日目: PB60 mg/kg+5,6-BF30 mg/kg<br>4日目: PB60 mg/kg |

③ S9Mixの組成

| 成分                | S9Mix(1 mL)中の量 | 成分                   | S9Mix(1 mL)中の量 |
|-------------------|----------------|----------------------|----------------|
| S9                | 0.1 mL         | NADH                 | 4 μmol         |
| MgCl <sub>2</sub> | 8 μmol         | NADPH                | 4 μmol         |
| KCl               | 33 μmol        | Na-リン酸緩衝液<br>(pH7.4) | 100 μmol       |
| G-6-P             | 5 μmol         |                      |                |

7) 最少グルコース寒天平板培地

| 名称                                      | クリメディアAM-N培地   |  |             |
|---|----------------|--|-------------|
| 製造元                                     | オリエンタル酵母工業株式会社 | 使用寒天   |             |
| 製造年月日                                   | 平成14年4月11日     | 名称   | 伊那寒天 BA-30A |
| 購入年月日                                   | 平成14年4月26日     | 製造元  | 伊那食品工業株式会社  |
| Lot No.                                 | ANI210DR       | Lot No.  | 10301       |
| 備考: 直径100 mmの滅菌平板1枚当たり30 mLを分注して固化させたもの |                |  |             |
| 組成(培地1 L当たり)                            |                |  |             |
| MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O    | 0.2 g          | クエン酸·H <sub>2</sub> O                          | 2 g         |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>         | 10 g           | NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | 1.92 g      |
| NaOH                                    | 0.66 g         | グルコース  | 20 g        |
| 寒天                                      | 15 g           |  |             |

8) トップアガールの組成

|                                    |       |
|------------------------------------|-------|
| Bacto agar [DIFCO, Lot No.1045001] | 0.6 % |
| NaCl                               | 0.5 % |

9) 試験操作法

プレインキュベーション法(代謝活性化法によらない場合及び代謝活性化法による場合の両条件)により試験を行った。

所定の濃度に調製した試験液0.1 mL(200, 300, 400及び500 µL/プレートの試験用量では、0.2, 0.3, 0.4及び0.5 mL)、S9Mix又は0.1 mol/L Na-リン酸緩衝液(pH7.4)0.5 mL及び菌懸濁液0.1 mLを順次滅菌小試験管に加えた。37 °Cの恒温槽中で20分間振とう(プレインキュベーション)した後、これにトップアガー2 mL(*S. typhimurium* TA系4菌株については、別に滅菌した0.5 mmol/L L-ヒスチジン-0.5 mmol/L D-ビオチン溶液を1/10容量、また、*E. coli* WP2 *uvrA*株については、0.5 mmol/L L-トリプトファン溶液を1/10容量加えたもの。)を加え混合して、最少グルコース寒天平板培地上に一様に広げ固化させた。37 °Cの恒温器中で48時間培養し、復帰突然変異により出現したコロニーを計数した。

① 自動コロニーカウンターの計数方法(陽性対照のプレートのみ計測した。)

機種：コロニーカウンター 0L-502A[吉川工業株式会社]

測定面積5,027.5の条件で、プレート当たりのコロニー数が約1,500までは面積補正として係数1.1を用いた。1,500以上では、数え落としが認められたので係数1.2を用いた。

② 菌の生育阻害のチェック方法

- 復帰変異コロニー数の減少の有無
- 目視によるバックグラウンドの観察
- 実体顕微鏡によるバックグラウンドの観察

10) 無菌試験

試験液は0.1 mL、S9Mixは0.5 mLを滅菌小試験管にそれぞれ2本分注し、トップアガー2 mLを加え混合して、最少グルコース寒天平板培地上に一様に広げ固化させた。37 °Cの恒温器中で48時間培養し、菌の発育の有無を観察した。

11) 統計処理

実施しなかった。

12) 判定基準

コロニー数の平均値が、陰性対照と比較して試験区で2倍以上に増加し、かつ、その増加に用量依存性が認められた場合に陽性と判定する。

#### 4 試験結果

試験結果を試験結果表1及び2に示した。検体は、用量設定試験及び本試験のいずれの場合においても、陰性対照に比べ復帰変異コロニー数を増加させなかった。以上のことから、本試験条件下における検体の突然変異誘起性は陰性であると結論した。

なお、試験結果表に示す試験用量で、菌の生育阻害が認められた。

無菌試験では試験液及びS9Mixともに菌の発育は観察されなかった。

陽性対照として用いた2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, *N*-ethyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine及び9-aminoacridineでは、陰性対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を認めた。また、2-aminoanthraceneはS9Mix存在下で、著明な復帰変異を誘起した。

試験結果表1(用量設定試験)

検体の名称: アスファ水(200ppm)

| 代謝活性化系の有無     | 検体の用量<br>(μL/プレート) | 復帰変異数(コロニー数/プレート) |                   |                  |                   |                   |                 |
|---------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
|               |                    | 塩基対置換型            |                   |                  | フレームシフト型          |                   |                 |
|               |                    | TA100             | TA1535            | WP2 <i>uvrA</i>  | TA98              | TA1537            |                 |
| S9Mix (-)     | 陰性対照               | 90<br>98 (94)     | 8<br>7 (8)        | 25<br>23 (24)    | 23<br>25 (24)     | 12<br>20 (16)     |                 |
|               | 12.5               | 89<br>92 (91)     | 11<br>10 (11)     | 23<br>56 (40)    | 18<br>21 (20)     | 8<br>14 (11)      |                 |
|               |                    | 25                | 81<br>92 (87)     | 4<br>10 (7)      | 18<br>19 (19)     | 16<br>25 (21)     | 9<br>12 (11)    |
|               | 50                 |                   | 89<br>97 (93)     | 6<br>10 (8)      | 25<br>17 (21)     | 19<br>16 (18)     | 11<br>8 (10)    |
|               |                    | 100               | 97<br>83 (90)     | 9<br>13 (11)     | 26<br>29 (28)     | 22<br>18 (20)     | 11<br>14 (13)   |
|               | 200                |                   | 112<br>121 (117)  | 9<br>12 (11)     | 27<br>27 (27)     | 18 *<br>10 * (14) | 16 *<br>2 * (9) |
|               |                    | 400               | 74 *<br>74 * (74) | 12 *<br>1 * (7)  | 24 *<br>12 * (18) | 0 *<br>0 * (0)    | 4 *<br>2 * (3)  |
|               | S9Mix (+)          |                   | 陰性対照              | 95<br>105 (100)  | 14<br>4 (9)       | 37<br>32 (35)     | 37<br>28 (33)   |
|               |                    | 100               | 90<br>99 (95)     | 10<br>10 (10)    | 23<br>50 (37)     | 26<br>34 (30)     | 24<br>27 (26)   |
|               |                    |                   | 200               | 105<br>106 (106) | 10<br>7 (9)       | 28<br>32 (30)     | 33<br>34 (34)   |
|               |                    | 300               |                   | 91<br>94 (93)    | 10<br>13 (12)     | 15<br>26 (21)     | 25<br>30 (28)   |
|               |                    |                   | 400               | 97<br>98 (98)    | 13<br>11 (12)     | 25<br>24 (25)     | 28<br>33 (31)   |
|               |                    | 500               |                   | 109<br>104 (107) | 11<br>7 (9)       | 25<br>26 (26)     | 34<br>30 (32)   |
|               |                    |                   | 陽性                | 名称               | AF-2              | ENNG              | AF-2            |
| 用量(μg/プレート)   |                    | 0.01              |                   | 5                | 0.01              | 0.1               | 80              |
| 対照            |                    | 名称                | 2-AA              | 2-AA             | 2-AA              | 2-AA              | 2-AA            |
|               |                    | 用量(μg/プレート)       | 1                 | 2                | 10                | 0.5               | 2               |
| S9Mixを必要とするもの |                    | コロニー数             | 454               | 5103             | 145               | 421               | 916             |
|               |                    | /プレート             | 435 (445)         | 4747 (4925)      | 124 (135)         | 569 (495)         | 338 (627)       |
| S9Mixを必要とするもの |                    | コロニー数             | 874               | 250              | 424               | 360               | 166             |
|               |                    | /プレート             | 855 (865)         | 214 (232)        | 873 (649)         | 364 (362)         | 178 (172)       |

2-AA: 2-aminoanthracene  
 AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide  
 ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine  
 9-AA: 9-aminoacridine

括弧内は各プレートのコロニー数の平均値を示す。  
 陰性対照: 試験液の調製に用いた溶媒  
 \*: 菌の生育阻害が認められたことを示す。

試験結果表 2 (本試験)

検体の名称: アスファ水(200ppm)

| 代謝活性化系の有無      | 検体の用量 (μL/プレート) | 復帰変異数(コロニー数/プレート) |           |                 |           |         |
|----------------|-----------------|-------------------|-----------|-----------------|-----------|---------|
|                |                 | 塩基対置換型            |           |                 | フレームシフト型  |         |
|                |                 | TA100             | TA1535    | WP2 <i>uvrA</i> | TA98      | TA1537  |
| S9Mix (-)      | 陰性対照            | 70                | 5         | 16              | 13        | 8       |
|                | 12.5            | 37 (79)           | 8 (6)     | 36 (26)         | 25 (19)   | 7 (8)   |
|                | 25              | 79                | 6         | 20              | 12        | 8       |
|                |                 | 81 (80)           | 5 (6)     | 25 (23)         | 18 (15)   | 9 (9)   |
|                | 50              | 75                | 10        | 17              | 21        | 15      |
|                |                 | 89 (82)           | 8 (9)     | 30 (24)         | 25 (23)   | 9 (12)  |
|                | 100             | 93                | 8         | 28              | 17        | 10      |
|                |                 | 92 (93)           | 10 (9)    | 29 (29)         | 27 (22)   | 2 (6)   |
|                | 200             | 108               | 2         | 27              | 10 *      | 6       |
|                |                 | 79 (94)           | 5 (4)     | 26 (27)         | 19 * (15) | 5 * (6) |
| 300            | 89              | 3 *               | 22        | 10 *            | 6 *       |         |
|                | 101 (95)        | 10 * (7)          | 21 (22)   | 7 * (9)         | 5 * (6)   |         |
| 400            | 63 *            | 1 *               | 9 *       |                 |           |         |
|                | 70 * (67)       | 5 * (3)           | 19 * (14) |                 |           |         |
| S9Mix (+)      | 陰性対照            | 93                | 6         | 43              | 30        | 27      |
|                | 100             | 97 (95)           | 9 (8)     | 23 (33)         | 30 (30)   | 32 (30) |
|                |                 | 91                | 12        | 25              | 24        | 37      |
|                |                 | 86 (89)           | 11 (12)   | 22 (24)         | 22 (23)   | 15 (26) |
|                | 200             | 93                | 13        | 27              | 21        | 24      |
|                |                 | 116 (105)         | 10 (12)   | 26 (27)         | 26 (24)   | 24 (24) |
|                | 300             | 81                | 4         | 41              | 25        | 17      |
|                |                 | 86 (84)           | 8 (6)     | 27 (34)         | 25 (25)   | 20 (19) |
|                | 400             | 95                | 7         | 30              | 26        | 15      |
|                |                 | 102 (99)          | 10 (9)    | 35 (33)         | 23 (25)   | 19 (17) |
| 500            | 101             | 7                 | 29        | 34              | 22        |         |
|                | 99 (100)        | 11 (9)            | 27 (28)   | 30 (32)         | 16 (19)   |         |
| 陽性対照           | 名称              | AF-2              | ENNG      | AF-2            | AF-2      | 9-AA    |
|                | 用量(μg/プレート)     | 0.01              | 5         | 0.01            | 0.1       | 80      |
| S9Mixを必要とするもの  | 名称              | 2-AA              | 2-AA      | 2-AA            | 2-AA      | 2-AA    |
|                | 用量(μg/プレート)     | 1                 | 2         | 10              | 0.5       | 2       |
| S9Mixを必要としないもの | 名称              | AF-2              | ENNG      | AF-2            | AF-2      | 9-AA    |
|                | 用量(μg/プレート)     | 0.01              | 5         | 0.01            | 0.1       | 80      |
| S9Mixを必要とするもの  | 名称              | 2-AA              | 2-AA      | 2-AA            | 2-AA      | 2-AA    |
|                | 用量(μg/プレート)     | 1                 | 2         | 10              | 0.5       | 2       |
| S9Mixを必要としないもの | 名称              | AF-2              | ENNG      | AF-2            | AF-2      | 9-AA    |
|                | 用量(μg/プレート)     | 0.01              | 5         | 0.01            | 0.1       | 80      |

2-AA: 2-aminoanthracene  
 AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide  
 ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine  
 9-AA: 9-aminoacridine

括弧内は各プレートのコロニー数の平均値を示す。  
 陰性対照: 試験液の調製に用いた溶媒  
 \*: 菌の生育阻害が認められたことを示す。

## 5 参考文献

- Yahagi, T., Degawa, M., Seino, Y., Matsushima, T., Nagao, M., Sugimura, T. and Hashimoto, Y. : *Cancer Lett.*, 1, 91-96 (1975).
- Maron, D. M. and Ames, B. N. : *Mutat. Res.*, 113, 173-215 (1983).
- 労働省化学物質調査課編 : “安衛法における変異原性試験” (1991) 中央労働災害防止協会。

以 上



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 508070583-001 号  
2008年(平成20年)08月29日

依頼者 株式会社 オレア

検体 オレア水溶液 200ppm

表題 雌マウスを用いた急性経口毒性試験

2008年(平成20年)07月23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は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター



東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番  
彩都研究所 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

## 雌マウスを用いた急性経口毒性試験

### 要 約

オレア水溶液 200ppmを検体として、雌マウスを用いた急性経口毒性試験(限度試験)を行った。試験群には20 mL/kgの用量の検体原液を、対照群には注射用水を雌マウスに単回経口投与し、14日間観察を行った。その結果、観察期間中に異常及び死亡例は認められなかった。このことから、検体のマウスにおける単回経口投与によるLD50値は、雌では20 mL/kg以上であるものと考えられた。

### 依 頼 者

株式会社 オレア

### 検 体

オレア水溶液 200ppm

### 試験実施期間

平成20年08月06日～平成20年08月29日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
安全性試験部 安全性試験課  
川本 康晴

### 試験実施者

永井 武 ， 小澤 美来 ， 鈴木 美そら

本資料は、私(他3名)が実施した試験に基づいて作成されたものに相違ありません。

平成20年08月29日

川本康晴 

## 1 試験目的

検体について、雌マウスにおける急性経口毒性を調べる。

## 2 検 体

オレア水溶液 200ppm

性状：無色透明液体

## 3 試験動物

5週齢のICR系雌マウスを日本エスエルシー株式会社から購入し、約1週間の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、試験に使用した。試験動物はポリカーボネート製ケージに各5匹収容し、室温23℃±2℃、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料[マウス、ラット用固型飼料；ラボMRストック、日本農産工業株式会社]及び飲料水(水道水)は自由に摂取させた。

## 4 試験方法

検体原液を投与する試験群及び対照として注射用水を投与する対照群を設定し、各群につきそれぞれ5匹を用いた。

投与前に約4時間試験動物を絶食させた。体重を測定した後、試験群には検体原液、対照群には注射用水をそれぞれ20 mL/kgの投与容量で胃ゾンデを用いて強制単回経口投与した。

観察期間は14日間とし、投与日は頻回、翌日から1日1回の観察を行った。投与後7及び14日に体重を測定し、t-検定により有意水準5%で群間の比較を行った。観察期間終了時に動物すべてを剖検した。

## 5 試験結果

### 1) 死亡例

いずれの投与群においても、観察期間中に死亡例は認められなかった。

### 2) 一般状態

いずれの投与群においても、観察期間中に異常は見られなかった。

### 3) 体重変化(表-1)

投与後7及び14日の体重測定において、試験群は対照群と比べ体重値に差は見られなかった。

### 4) 剖検所見

観察期間終了時の剖検では、すべての試験動物に異常は見られなかった。

## 6 考 察

検体について、雌マウスを用いた急性経口毒性試験(限度試験)を実施した。

検体原液を20 mL/kgの用量で単回経口投与した結果、観察期間中に異常及び死亡例は認められなかった。したがって、検体のマウスにおける単回経口投与によるLD50値は、雌では20 mL/kg以上であるものと考えられた。

## 7 参考文献

- OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 420(2001)

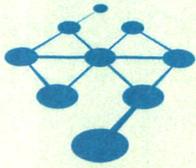
表-1 体重変化

| 投与群 | 投与前          | 投与後(日)       |              |
|-----|--------------|--------------|--------------|
|     |              | 7            | 14           |
| 試験群 | 26.6±1.3 (5) | 28.8±1.8 (5) | 31.5±2.7 (5) |
| 対照群 | 26.7±1.7 (5) | 29.1±1.7 (5) | 30.6±2.3 (5) |

体重は平均値±標準偏差で表した(単位:g)。

括弧内に動物数を示した。

以 上



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試 験 報 告 書

第 508070583-003 号  
2008年(平成20年)09月10日

依 頼 者                    株式会社 オレア

検 体                      オレア水溶液 200ppm

表 題                      ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

2008年(平成20年)07月23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は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番  
彩都研究所 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

## ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

### 要 約

オレア水溶液 200ppmを検体として、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 404(2002)に準拠し、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験を行った。

検体をウサギ3匹の無傷及び有傷皮膚に4時間閉鎖適用した。その結果、除去後1時間に全例で非常に軽度～はっきりした紅斑が見られたが、24時間に消失した。

Federal Register(1972)に準拠して求めた一次刺激性インデックス(P.I.I.)は0.4となり、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験において、検体は「無刺激性」の範疇に入るものと評価された。

### 依 頼 者

株式会社 オレア

### 検 体

オレア水溶液 200ppm

### 試験実施期間

平成20年08月11日～平成20年09月10日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
安全性試験部 安全性試験課  
川本 康晴

### 試験実施者

永井 武 , 小澤 美来 , 鈴木 美そら

本資料は、私(他3名)が実施した試験に基づいて作成されたものに相違ありません。

平成20年09月10日

川本康晴 

## 1 試験目的

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 404(2002)に準拠し、ウサギにおける皮膚一次刺激性を調べる。

## 2 検 体

オレア水溶液 200ppm

性状：無色透明液体

## 3 試験動物

日本白色種雄ウサギを北山ラベス株式会社から購入し、1週間以上の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、3匹を試験に使用した。試験動物はFRP製ケージに個別に収容し、室温22℃±2℃、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料はウサギ・モルモット用固型飼料[LRC4、オリエンタル酵母工業株式会社]を制限給与し、飲料水は水道水を自由摂取させた。

## 4 試験方法

各々の試験動物の体幹背部被毛を試験の約24時間前に剪毛した。

試験動物1匹につき、約6 cm<sup>2</sup>の面積で4箇所を設定し、そのうち2箇所には18ゲージの注射針を用いて、真皮までは達しないように角化層に井げた状のすり傷を付け(有傷皮膚)、他の2箇所を無処置(無傷皮膚)とした。

約2 cm×3 cmに裁断したガーゼパッチに検体0.5 mLを均一に塗布し、無傷及び有傷皮膚の各1箇所ずつに適用した後、ヤールバンHY[ニチバン株式会社]で固定した。また、パッチが皮膚と接触するように、更にブレンダーームサージカルテープ[スリーエムヘルスケア株式会社]で保持した。残りの無傷及び有傷皮膚は対照とした。

適用時間は4時間とし、その後パッチを取り除き、適用部位を純水で清拭した。除去後1、24、48及び72時間に観察を行い、表-1に従って刺激反応の採点を実施した。

また、Federal Register(1972)に準拠して、パッチ除去後1、24及び48時間の採点値を合計して6で除し、更に各試験動物の平均を算出して一次刺激性インデックス(P.I.I.)とし、表-2に示したISO 10993-10の基準に基づき、検体の刺激性の評価を行った。

なお、試験開始時及び試験終了時に試験動物の体重を測定した。

## 5 試験結果(表-3及び4)

除去後1時間に2例(試験動物①及び③)の無傷及び有傷皮膚で非常に軽度な紅斑(点数1)、残る適用部位ではっきりした紅斑(点数2)が見られたが、24時間に消失し、その後刺激反応は見られなかった。

採点結果から算出したP. I. I.は、0.4となった。

なお、無処置の無傷及び有傷皮膚においては、観察期間を通して刺激反応は見られなかった。

## 6 結 論

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 404(2002)に準拠し、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験を行った。

その結果、除去後1時間に全例で非常に軽度～はっきりした紅斑が見られたが、24時間に消失した。

Federal Register(1972)に準拠して求めた一次刺激性インデックス(P. I. I.)は0.4となり、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験において、検体は「無刺激性」の範疇に入るものと評価された。

## 7 参考文献

- ・ Federal Register, 37 (244), December, 19, 1972, §191.11 Test for Primary Skin Irritants.
- ・ ISO 10993-10 Biological Evaluation of Medical Devices-Part 10: Tests for irritation and delayed-type hypersensitivity 6.3 Animal skin irritation test (2002).

表-1 皮膚反応の評価

紅斑及び痂皮の形成

|                         |    |
|-------------------------|----|
| 紅斑なし                    | 0  |
| 非常に軽度な紅斑(かろうじて識別できる)    | 1  |
| はっきりした紅斑                | 2  |
| 中等度ないし高度紅斑              | 3  |
| 高度紅斑からわずかな痂皮の形成(深部損傷まで) | 4* |

[最高点4]

\* 出血、潰瘍及び壊死は深部損傷として点数4に分類した。

浮腫の形成

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| 浮腫なし                        | 0 |
| 非常に軽度な浮腫(かろうじて識別できる)        | 1 |
| 軽度浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる) | 2 |
| 中等度浮腫(約1 mmの膨隆)             | 3 |
| 高度浮腫(1 mm以上の膨隆と曝露範囲を超えた広がり) | 4 |

[最高点4]

表-2 ウサギにおける一次刺激反応のカテゴリー

| 反応のカテゴリー | P. I. I. |
|----------|----------|
| 無刺激性     | 0~0.4    |
| 弱い刺激性    | 0.5~1.9  |
| 中等度の刺激性  | 2~4.9    |
| 強い刺激性    | 5~8      |

表-3 試験動物の体重(kg)

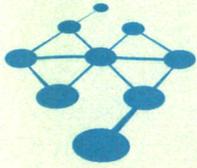
| 試験動物 | 試験開始時 | 試験終了時 |
|------|-------|-------|
| ①    | 3.36  | 3.49  |
| ②    | 3.13  | 3.10  |
| ③    | 2.79  | 2.88  |

表-4 皮膚反応の採点結果

| 観察時間<br>(時間) | 試験動物① |     | 試験動物② |     | 試験動物③ |     |
|--------------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
|              | 無傷    | 有傷  | 無傷    | 有傷  | 無傷    | 有傷  |
| 1            | 1/0   | 1/0 | 2/0   | 2/0 | 1/0   | 1/0 |
| 24           | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 |
| 48           | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 |
| 72           | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 |

結果は紅斑・痂皮/浮腫の順に示した。

以 上



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試 験 報 告 書

第 508070583-002 号

2008年(平成20年)08月29日

依 頼 者            株式会社 オレア

検 体                オレア水溶液 200ppm

表 題                ウサギを用いた眼刺激性試験

2008年(平成20年)07月23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は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター



東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府茨田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番  
彩都研究所 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

## ウサギを用いた眼刺激性試験

### 要 約

オレア水溶液 200ppmを検体として、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 405(2002)に準拠し、ウサギを用いた眼刺激性試験を行った。

ウサギ3匹の片眼に検体を0.1 mL点眼した結果、点眼後1時間に1例で眼瞼結膜の発赤が見られたが、24時間に消失した。

Draize法に従って算出した観察期間中の平均合計評点の最高値は0.7(点眼後1時間)であった。

以上の結果から、ウサギを用いた眼刺激性試験において、検体は「無刺激物」の範疇にあるものと評価された。

### 依 頼 者

株式会社 オレア

### 検 体

オレア水溶液 200ppm

### 試験実施期間

平成20年07月28日～平成20年08月29日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
安全性試験部 安全性試験課  
川本 康晴

### 試験実施者

永井 武 ， 小澤 美来 ， 鈴木 美そら

本資料は、私(他3名)が実施した試験に基づいて作成されたものに相違ありません。

平成20年08月29日

川本康晴 

## 1 試験目的

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 405(2002)に準拠し、ウサギにおける眼刺激性を調べる。

## 2 検 体

オレア水溶液 200ppm

性状：無色透明液体

## 3 試験動物

日本白色種雄ウサギを北山ラバス株式会社から購入し、1週間以上の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、3匹を試験に使用した。試験動物はFRP製ケージに個別に収容し、室温22℃±2℃、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料はウサギ・モルモット用固型飼料[LRC4、オリエンタル酵母工業株式会社]を制限給与し、飲料水は水道水を自由摂取させた。

## 4 試験方法

各試験動物の両眼の前眼部を試験開始当日に検査し、異常のないことを確かめた。

体重測定後、各試験動物の片眼結膜嚢内に検体を0.1 mL点眼し、約1秒間上下眼瞼を穏やかに合わせ保持した。他眼は無処置の対照とした。点眼後1, 24, 48及び72時間に、スリットランプ(×10)[興和株式会社]を用いて角膜、虹彩、結膜などの観察を行い、表-1に示したDraize法の基準に従って眼刺激性の程度を採点した。

なお、点眼後1時間を除く各観察時間にフルオレセインナトリウムを用いて、角膜上皮障害の有無と程度を詳細に観察した。

得られた採点値を用いて各試験動物の合計評点を表-2に示した式から計算し、観察時間ごとに3匹の平均合計評点を求めた。観察期間中の平均合計評点の最高値から、表-3に示した基準に基づき、検体の眼刺激性について評価を行った。

## 5 試験結果(表-4~8)

試験眼では、点眼後1時間に1例(試験動物③)で眼瞼結膜の発赤(点数1)が見られたが、24時間に消失し、その後刺激反応は見られなかった。残る2例では、観察期間を通して刺激反応は見られなかった。対照眼では、全例で観察期間を通して刺激反応は見られなかった。また、試験眼及び対照眼について、フルオレセインナトリウムによる検査を行ったところ、すべての観察時間においていずれも染色は見られなかった。

観察期間中の平均合計評点の最高値は、試験眼では0.7(点眼後1時間)、対照眼では0であった。

## 6 評価

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 405(2002)に準拠し、ウサギを用いた眼刺激性試験を行った。

ウサギ3匹の片眼に検体を0.1 mL点眼した結果、点眼後1時間に1例で眼瞼結膜の発赤が見られたが、24時間に消失した。

Draize法に従って算出した観察期間中の平均合計評点の最高値は0.7(点眼後1時間)であった。

以上の結果から、ウサギを用いた眼刺激性試験において、検体は「無刺激物」の範疇にあるものと評価された。

## 7 参考文献

- “Appraisal of the Safety of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics” (1959)  
The Association of Food and Drug Officials of the United States.

表-1 眼障害の評価

(1) 角 膜

(A) 混濁の程度(最も濃い領域を判定する)

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| 透明, 混濁なし                    | 0 |
| 散在性及びび慢性混濁, 虹彩細部は明瞭に認める     | 1 |
| 半透明で容易に識別可, 虹彩細部はやや不明瞭      | 2 |
| 乳濁, 虹彩紋理認めず, 瞳孔の大きさをやっとな認める | 3 |
| 白濁, 虹彩は認めない                 | 4 |

(B) 角膜混濁部の面積(S)

|                    |   |
|--------------------|---|
| $0 < S \leq 1/4$   | 1 |
| $1/4 < S \leq 1/2$ | 2 |
| $1/2 < S \leq 3/4$ | 3 |
| $3/4 < S \leq 4/4$ | 4 |

[評点 = A × B × 5 最高評点 …… 80]

(2) 虹 彩

(A) 正 常

|   |   |
|---|---|
| 正常以上のひだ, うっ血, 腫脹, 角膜周囲充血の1つ<br>又はいくつかを認めるが, 多少とも対光反射はある | 1 |
| 対光反射なし, 出血, 著しい組織破壊の1つ又は<br>いくつかを認める                    | 2 |

[評点 = A × 5 最高評点 …… 10]

(3) 結 膜

(A) 眼瞼結膜及び眼球結膜の発赤

|                       |   |
|-----------------------|---|
| 血管は正常                 | 0 |
| 明らかに血管充血              | 1 |
| び慢性, 深紅色で個々の血管は識別しにくい | 2 |
| び慢性の牛肉様の赤色            | 3 |

(B) 結膜の浮腫

|                 |   |
|-----------------|---|
| 腫脹なし            | 0 |
| いくぶん腫脹(瞬膜を含む)   | 1 |
| 明らかな腫脹, 眼瞼が少し外反 | 2 |
| 腫脹, 眼瞼半分閉じる     | 3 |
| 腫脹, 眼瞼半分以上閉じる   | 4 |

(C) 分泌物

|                        |   |
|------------------------|---|
| 認めない                   | 0 |
| 少し認める                  | 1 |
| 分泌物で眼瞼とそのすぐ近くの毛を濡らす    | 2 |
| 分泌物で眼瞼と周囲の毛のかなりの部分を濡らす | 3 |

[評点 = (A + B + C) × 2 最高評点 …… 20]

表-2 合計評点の算出方法

| 部 位                     | 計 算 式                  | 最高評点 |
|-------------------------|------------------------|------|
| (1) 角 膜                 | $A \times B \times 5$  | 80   |
| (2) 虹 彩                 | $A \times 5$           | 10   |
| (3) 結 膜                 | $(A + B + C) \times 2$ | 20   |
| (1) + (2) + (3) = 合計評点* |                        | 110  |

A, B及びCは、表-1における(A), (B)及び(C)の採点値を示す。

\* 観察時間ごとに算出する。

表-3 眼刺激性の評価

| 平均合計評点の最高値   | 区 分     |
|--------------|---------|
| 0 ~ 5.0      | 無刺激物    |
| 5.1 ~ 15.0   | 軽度刺激物   |
| 15.1 ~ 30.0  | 刺激物     |
| 30.1 ~ 60.0  | 中等度刺激物  |
| 60.1 ~ 80.0  | 中～強度刺激物 |
| 80.1 ~ 110.0 | 強度刺激物   |

表-4 試験動物の体重(試験開始時)

| 試験動物 | 体重(kg) |
|------|--------|
| ①    | 2.70   |
| ②    | 2.68   |
| ③    | 2.84   |

表-5 合計評点の経時的推移及び眼刺激性の評価

| 試験動物    | 各観察時間における合計評点 |       |       |       |
|---------|---------------|-------|-------|-------|
|         | 1時間           | 24時間  | 48時間  | 72時間  |
| ①       | 0 (0)         | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| ②       | 0 (0)         | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| ③       | 2 (0)         | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 平均合計評点  | 0.7 (0)       | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 眼刺激性の評価 | 無刺激物          |       |       |       |

括弧内に対照眼の結果を示した。

表-6 試験動物①の採点結果

| 観察部位                           |           | 採点結果  |       |       |       |
|--------------------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|
|                                |           | 1時間   | 24時間  | 48時間  | 72時間  |
| (1)角膜                          | 混濁の程度 (A) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
|                                | 混濁部面積 (B) | - (-) | - (-) | - (-) | - (-) |
| (2)虹彩                          | (A)       | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| (3)結膜                          | 発赤 (A)    | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
|                                | 浮腫 (B)    | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
|                                | 分泌物 (C)   | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 評点(1) = $A \times B \times 5$  |           | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 評点(2) = $A \times 5$           |           | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 評点(3) = $(A + B + C) \times 2$ |           | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 合計評点 [(1) + (2) + (3)]         |           | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-7 試験動物②の採点結果

| 観察部位                           |          | 採点結果 |      |      |      |
|--------------------------------|----------|------|------|------|------|
|                                |          | 1時間  | 24時間 | 48時間 | 72時間 |
| (1)角膜                          | 混濁の程度(A) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 混濁部面積(B) | -(-) | -(-) | -(-) | -(-) |
| (2)虹彩                          | (A)      | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| (3)結膜                          | 発赤(A)    | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 浮腫(B)    | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 分泌物(C)   | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(1) = $A \times B \times 5$  |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(2) = $A \times 5$           |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(3) = $(A + B + C) \times 2$ |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 合計評点 [(1) + (2) + (3)]         |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-8 試験動物③の採点結果

| 観察部位                           |          | 採点結果 |      |      |      |
|--------------------------------|----------|------|------|------|------|
|                                |          | 1時間  | 24時間 | 48時間 | 72時間 |
| (1)角膜                          | 混濁の程度(A) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 混濁部面積(B) | -(-) | -(-) | -(-) | -(-) |
| (2)虹彩                          | (A)      | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| (3)結膜                          | 発赤(A)    | 1(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 浮腫(B)    | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 分泌物(C)   | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(1) = $A \times B \times 5$  |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(2) = $A \times 5$           |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(3) = $(A + B + C) \times 2$ |          | 2(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 合計評点 [(1) + (2) + (3)]         |          | 2(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

以 上

2005年(平成16年)04月20日

## 試験報告書

依頼者 株式会社 オレア



検体 オレア水溶液 50ppm

表題 殺菌・酵母・カビ不活化試験

2005年(平成05年)3月25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致します。

## 細菌・酵母・カビ不活化試験

### 1 依頼者

株式会社 オレア

### 2 検体

オレアアスファ水50ppm

### 3 試験目的

検体の細菌、酵母、カビに対するアスファ水と次亜塩素酸ナトリウム溶液との比較試験及び不活化試験を行う。

#### 1) 検体

アスファ水50ppm・・・検体1

次亜塩素酸ナトリウム50ppm・・・検体2

次亜塩素酸ナトリウム80ppm・・・検体3

### 4 試験概要

検体に細菌、酵母、カビ浮遊液を添加、混合し、作用液とした。室温で作用させ、なお、あらかじめ予備試験を行い、検体49mlと菌体1mlを混合し、20℃で10秒、30秒、60秒、5分、10分作用させた後、培養液で10倍に希釈した希釈液の菌数を培養により測定し、試験液1ml当りに概算した。

### 5 試験結果

結果を表-1に示した。

〈10:検出せず

作用温度:20°

添加物菌液の生菌数を測定し、試験液1ml当りに概算した。

### 6 試験方法

#### 1) 試験菌

① *Bacillus subtilis* subsp *Subtilia* IFO03134

表-1 試験液の生菌数測定結果

| 試験菌     | 試験液  | 生菌数(/ml)          |                   |                   |                   |                   |                   |
|---------|------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|         |      | 開始時※              | 10秒後              | 30秒後              | 50秒後              | 5分後               | 10分後              |
| 枯草菌(芽胞) | 検体1) | $2.8 \times 10^7$ | $1.8 \times 10^7$ | $1.6 \times 10^7$ | $1.9 \times 10^7$ | $8.9 \times 10^5$ | $1.9 \times 10^3$ |
|         | 検体2) | $2.8 \times 10^7$ | $3.1 \times 10^7$ | $1.6 \times 10^7$ | $1.5 \times 10^7$ | $2.0 \times 10^7$ | $2.4 \times 10^7$ |
|         | 検体3) | $2.8 \times 10^7$ | $1.6 \times 10^7$ | $1.9 \times 10^7$ | $2.1 \times 10^7$ | $1.4 \times 10^7$ | $6.7 \times 10^6$ |
| 枯草菌     | 検体1) | $3.2 \times 10^7$ | $2.1 \times 10^6$ | $2.1 \times 10^6$ | $1.7 \times 10^6$ | $5.5 \times 10^5$ | $1.1 \times 10^3$ |
|         | 検体2) | $3.2 \times 10^7$ | $2.4 \times 10^6$ | $2.0 \times 10^6$ | $2.6 \times 10^6$ | $1.8 \times 10^6$ | $2.1 \times 10^6$ |
|         | 検体3) | $3.2 \times 10^7$ | $2.6 \times 10^6$ | $2.2 \times 10^6$ | $2.2 \times 10^6$ | $1.5 \times 10^6$ | $5.5 \times 10^5$ |
| 大腸菌     | 検体1) | $1.0 \times 10^8$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $1.0 \times 10^8$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $1.0 \times 10^8$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
| 緑膿菌     | 検体1) | $1.5 \times 10^8$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $1.5 \times 10^8$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $1.5 \times 10^8$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
| 黄色ブドウ球菌 | 検体1) | $5.8 \times 10^7$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $5.8 \times 10^7$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $5.8 \times 10^7$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
| サッカロミセス | 検体1) | $2.4 \times 10^6$ | $1.8 \times 10^2$ | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $2.4 \times 10^6$ | $3.2 \times 10^6$ | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $2.4 \times 10^6$ | $1.5 \times 10^5$ | <10               | <10               | <10               | <10               |
| クロカワカビ  | 検体1) | $2.6 \times 10^5$ | $4.7 \times 10^5$ | $8.4 \times 10^3$ | $1.1 \times 10^2$ | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $2.6 \times 10^5$ | $1.7 \times 10^6$ | $4.1 \times 10^5$ | $4.3 \times 10^4$ | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $2.6 \times 10^5$ | $1.2 \times 10^6$ | $6.5 \times 10^4$ | $3.3 \times 10^3$ | <10               | <10               |

<10 : 検出せず

作用温度 : 20°C

※ 添加菌液の生菌数を測定し、試験液1mlあたりに換算した。

## 7 試験方法

### 1) 試験菌

- ① *Escherichia coli* IFO3972
  - ② *Pseudomonas aeruginosa* IFO13275
  - ③ *Staphylococcus aureus* IFO12732
- Yeast
- ④ *Saccharomyces cerevisiae* IFO1950
- Zygomycota
- ⑤ *Cladosporium cladosporioides* IFO6348

### 2) 菌数測定用培地及び培地条件

GPLP寒天培地[日本製薬株式会社]、混釈平板培養法 $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、

### 3) 試験菌液の調製

試験菌をPotato Dextrose Agar(Difco)で $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、7日～14日間培地、検体①～⑥と菌体に浮遊液を添加、混合し浮遊させ、不織布フィルターでろ過した後、菌数が $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ /mLとなるように調製し、試験液とした。

### 4) 試験操作

検体49mLに試験菌液1mL接種し、試験液とした。温室で作用させ、 $20^{\circ}\text{C}$ で10秒、30秒、60秒、5分、10分作用させた後、試験液をSODLP培地[日本製薬株式会社]で直ちに10倍に希釈し、試験液中の生菌数を菌数測定用培地を用いて測定した。

### 5) 有用性

オレアアスファ水溶液50/mg pH50ppm

1) 有効性及び次亜塩素酸ナトリウム溶液(添加物)検体1、検体2との効果の比較  
オレアアスファ水溶液50/mg pH50ppmにすることで有芽胞菌に対する有効性が認められた。枯草菌・枯草菌(芽胞)

### 6) 各種微生物についての殺菌効果

培養した大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、サッカロミセス、クロカワカビ、各種の微生物をオレアアスファ水溶液(pH6,8/50/mg)に添加し生菌数を測定し、殺菌効果を見たところ、これらの微生物に関しては約10秒程で殆んどが死滅した。

8 ⑥ *Bacillus subtilis* IFO03134 (枯草菌・芽胞)

試験方法

1) 芽胞液原液に負荷血清を添加し、滅菌イオン交換水で $10^7$ CFU/mLに希釈したものを試験菌液とした。

2) あらかじめ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ に保持した試験品を10mLを50mL容量の遠心管に分取し試験菌液0, 1mLを接種、混合して所定時間作用させた。所定時間作用させた。所定時間作用後に1mLを拭き取り、不活性剤9mLにいれ、試験品の殺菌成分を不活化したものを菌数測定用試料液として菌数を測定した。  
また、試験品の代わりに滅菌生理食塩液を用いて同様に作用したものを対照とした  
※試験品「オレア水溶液」については有効性を確認した。

3) 菌数測定

菌数測定用試料液を原液として、菌数生理食塩液で10倍段階希釈列を作製し、試料液または希釈液の各1mLを無菌的にシャーレに移しTryptic Soy Agar培地20mLと混合後、固化させた。また試料液原液の残り全量を孔径0, 45  $\mu\text{m}$ のメンブランフィルターでろ過し、MFをTSA培地に貼り付けた。 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で40～48時間培養後、培地上またはMF上に発育した集落を数えて、試験品1mLあたりの試験菌数を求めた。

9 次亜塩素酸ナトリウム溶液と次亜塩素酸

次亜塩素酸ナトリウム溶液は、医用器材や血清・液体分泌液などを消毒する際にも使用される抗微生物スペクトルが最も広い消毒薬の一種である。更に、次亜塩素酸ナトリウムは希塩酸等の酸性溶液を加え弱酸性領域(pH5, 5～6, 8)にする事によって塩素化学種のほとんどが、強い殺菌効果を持つ次亜塩素酸(HClO)として存在する事が知られている。本試験「オレア水溶液」は、弱酸性領域(pH6, 8)に調整された次亜塩素酸(HClO)である為、殺芽胞に60分以上必要である0, 5%次亜塩素酸ナトリウム溶液と比較すると、短時間作用(1分間)で優れた殺芽胞効果があることが確認された。

以上、



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 109072095-001 号  
2009年(平成21年)08月24日

依頼者 株式会社 オレア

検体 オレア水溶液 100ppm

表題 ウイルス不活化試験

2009年(平成21年)07月10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は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番  
彩都研究所 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

## ウイルス不活化試験

### 1 依頼者

株式会社 オレア

### 2 検 体

オレア水溶液 100ppm

### 3 試験目的

検体のインフルエンザウイルスに対する不活化試験を行う。

### 4 試験概要

検体にインフルエンザウイルス浮遊液を添加，混合し，作用液とした。室温で作用させ，1及び3分後に作用液のウイルス感染価を測定した。

なお，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。

### 5 試験結果

結果を表-1に示した。

なお，細胞維持培地で作用液を100倍に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予備試験により確認した。

表-1 作用液のウイルス感染価測定結果

| 試験<br>ウイルス      | 対 象 | log TCID <sub>50</sub> /ml* |      |      |
|-----------------|-----|-----------------------------|------|------|
|                 |     | 開始時                         | 1分後  | 3分後  |
| インフルエンザ<br>ウイルス | 検 体 | 7.0                         | <2.5 | <2.5 |
|                 | 対 照 | 7.0                         | ***  | 7.0  |

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

\* 作用液1 ml当たりのTCID<sub>50</sub>の対数值

開始時: 作用開始直後の対照のTCID<sub>50</sub>を測定し，開始時とした。

対照: 精製水

作用温度: 室温

ウイルス浮遊液: 精製水で10倍に希釈したもの

<2.5: 検出せず

\*\*\*: 試験実施せず

## 6 試験方法

### 1) 試験ウイルス

インフルエンザウイルスA型(H1N1)

### 2) 使用細胞

MDCK(NBL-2)細胞 ATCC CCL-34株[大日本製薬株式会社]

### 3) 使用培地

#### ① 細胞増殖培地

イーグルMEM培地「ニッスイ」①[日水製薬株式会社]に牛胎仔血清を10%加えたものを使用した。

#### ② 細胞維持培地

以下の組成の培地を使用した。

|                       |          |
|-----------------------|----------|
| イーグルMEM培地「ニッスイ」①      | 1,000 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    |

### 4) ウイルス浮遊液の調製

#### ① 細胞の培養

細胞増殖培地を用い、使用細胞を組織培養用フラスコ内に単層培養した。

#### ② ウイルスの接種

単層培養後にフラスコ内から細胞増殖培地を除き、試験ウイルスを接種した。次に、細胞維持培地を加えて37℃±1℃の炭酸ガスインキュベーター(CO<sub>2</sub>濃度:5%)内で1~5日間培養した。

#### ③ ウイルス浮遊液の調製

培養後、倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態を観察し、細胞に形態変化(細胞変性効果)が起きていることを確認した。次に、培養液を遠心分離(3,000 r/min, 10分間)し、得られた上澄み液を精製水で10倍に希釈し、ウイルス浮遊液とした。

### 5) 試験操作

検体1 mlにウイルス浮遊液0.1 mlを添加、混合し、作用液とした。室温で作用させ、1及び3分後に細胞維持培地を用いて100倍に希釈した。

なお、精製水を対照として同様に試験し、開始時及び3分後について測定を行った。

6) ウイルス感染価の測定

細胞増殖培地を用い、使用細胞を組織培養用マイクロプレート(96穴)内で単層培養した後、細胞増殖培地を除き細胞維持培地を0.1 mlずつ加えた。次に、作用液の希釈液0.1 mlを4穴ずつに接種し、37℃±1℃の炭酸ガスインキュベーター(CO<sub>2</sub>濃度：5%)内で4～7日間培養した。培養後、倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態変化(細胞変性効果)の有無を観察し、Reed-Muench法により50%組織培養感染量(TCID<sub>50</sub>)を算出して作用液1 ml当たりのウイルス感染価に換算した。

以 上



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

第 11120726001-01 号 page 1/3

2012年(平成24年)01月24日

# 試験報告書

依頼者 株式会社 オレア

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



検体 オレア水溶液 200ppm

表題 殺菌効果試験

2011年(平成23年)12月15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。

## 殺菌効果試験

### 1 依頼者

株式会社 オレア

### 2 検体

オレア水溶液 200ppm

### 3 試験目的

検体のカビに対する殺菌効果を試験する。

### 4 試験概要

検体に *Botryotinia fuckeliana* 及び *Trichophyton tonsurans* の菌液を接種し、(以下「試験液」という。)、室温で保存し、1及び3分後に試験液中の生菌数を測定した。

なお、あらかじめ予備試験を行い、生菌数の測定方法について検討した。

### 5 試験結果

結果を表-1に示した。

なお、試験液をSCDLP培地で10倍に希釈することにより、検体の影響を受けずに生菌数が測定できることを予備試験により確認した。

表-1 試験液1 mL当たりの生菌数測定結果

| 試験菌                           | 対象 | 生菌数 (/mL)         |     |                   |
|-------------------------------|----|-------------------|-----|-------------------|
|                               |    | 開始時*              | 1分後 | 3分後               |
| <i>Botryotinia fuckeliana</i> | 検体 | $3.7 \times 10^4$ | <10 | <10               |
|                               | 対照 | $3.7 \times 10^4$ | —   | $2.4 \times 10^4$ |
| <i>Trichophyton tonsurans</i> | 検体 | $6.1 \times 10^5$ | <10 | <10               |
|                               | 対照 | $6.1 \times 10^5$ | —   | $6.4 \times 10^5$ |

<10：検出せず

—：実施せず

保存温度：室温

対照：精製水

\* 菌液接種直後の対照の生菌数を測定し、開始時とした。

## 6 試験方法

### 1) 試験菌

- ① *Botryotinia fuckeliana* NBRC 100717
- ② *Trichophyton tonsurans* var. *sulfureum* NBRC 5945

### 2) 菌数測定用培地及び培養条件

GPLP寒天培地[日本製菓株式会社]，混積平板培養法，25 °C ± 1 °C，7日間

### 3) 試験菌液の調製

試験菌をPotato Dextrose Agar(Difco)で25 °C ± 1 °C，10～14日間培養(試験菌①は紫外線ランプ照射下で培養)した後，胞子(分生子)を0.005 %スルホコハク酸ジオクチルナトリウム溶液に浮遊させ，不織布フィルターでろ過後，菌数が $10^6 \sim 10^7$ /mLとなるように調製し，試験菌液とした。

### 4) 試験操作

検体10 mLに試験菌液を0.1 mL接種し，試験液とした。室温で保存し，1及び3分後に試験液をSCDLP培地[日本製菓株式会社]で直ちに10倍に希釈し，試験液中の生菌数を菌数測定用培地を用いて測定した。

なお，対照として精製水を用いて同様に試験し，開始時及び3分後について生菌数を測定した。

以 上

株式会社 オレア 様

試験報告書

2012年11月28日

発行番号 第 12 - 2822 号

環境計量証明事業登録東京都 第560号  
作業環境測定機関登録厚生労働省 第13-43号  
環境省指定登録機関環 2003-1-68  
厚生労働省登録検査機関厚生労働省発関厚 第0227003号  
ISO/IEC17025試験所認定化学試験 RTL01360

株式会社 分析センター

本社 東京都千代田区三崎町3丁目4番9号  
〒101-0061 TEL 03-3265-1726 FAX 03-3265-1706  
第一技術研究所 東京都墨田区東向島1丁目12番2号  
〒131-0032 TEL 03-3616-1612 FAX 03-3616-1615

| 報告責任者   | 担当者   |
|---|-------|
|  | 佐藤 幸雄 |



ANALYSIS CENTER CO., LTD.

株式会社 オレア 様 御依頼により、除菌消臭水の塩素ガス発生試験を実施したので報告いたします。

## 1. 試 料

- ・ 試料 株式会社 オレア製 オレアアスファ  
品 名：除菌消臭水  
次亜塩素酸ナトリウム濃度を200mg/l に調整品



試料外観写真

## 2. 試 験 項 目

試料である除菌消臭水の塩素ガス発生量を測定する。

塩素ガス発生量試験は平成23年4月8日 内閣府告示20号「雑貨工業品品質表示規程」の住宅用又は家庭用の洗浄剤（酸、アルカリ又は酸化剤及び洗浄補助剤その他の添加剤から成り、その主たる洗浄の作用が酸、アルカリ又は酸化剤の化学作用によるものをいう。）に示す、別記二 塩素ガス発生試験（塩素系）により実施した。

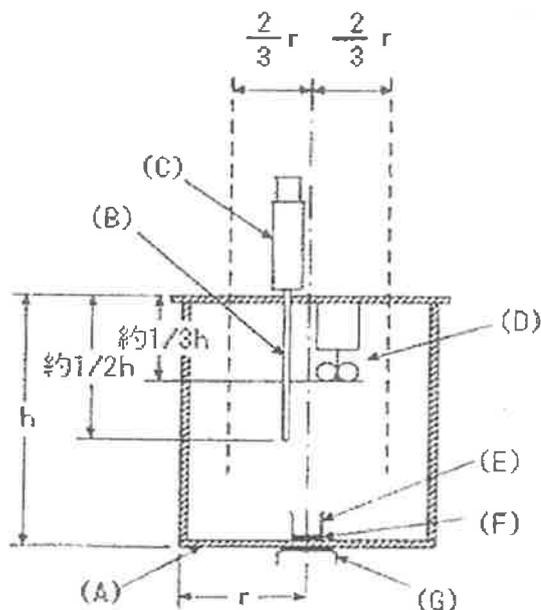
### ・ 試験概要

攪拌用ファンを付けた約20ℓ の容器内で3 mlの試料と3 mlの塩酸を5分間混合し、容器内に発生する塩素ガスを検知管で測定する。この測定塩素ガス濃度（ppm）を20ℓ 容器中における試料1 ml当たりの発生量に換算したものが塩素ガス濃度である。



・塩素ガス発生装置の概要

塩素ガス発生量測定装置  
(B)、(D)は中心より2/3の範囲内



(A) 合成樹脂容器

プラスチック製ふた付容器(丸形)、呼び容量20リットル(但し容量の許容差はプラス10パーセント、マイナス4パーセントとする。)。使用時にはシール等により密閉性を良くすること。

(B) 塩素ガス検知管

試料採取量100ミリリットル1回において塩素ガス濃度0.5~10ppm程度の範囲を測定できるもの。

(C) ガス採取器(100ミリリットル)

(D) 槽内攪拌用軸流ファン

羽根(数4~5枚、直径5~7センチメートル、片面面積220~320平方ミリメートル/枚で総面積1100~1300平方ミリメートルとなる角度付きのもの)、回転数50Hzで約2500rpm、60Hzで約3000rpm

(E) 10ミリリットルビーカー

(F) スターラーベース(長さ1センチメートル)

(G) マグネチックスターラー



### 3. 試験結果

塩素ガス発生試験結果を表-1に示します。

表-1 塩素ガス発生量試験結果表

| 試料名                | 測定塩素ガス濃度 (ppm) | 塩素ガス濃度 (ppm) |
|--------------------|----------------|--------------|
| 除菌消臭水              | 1回目            | 1.5          |
|                    | 2回目            | 1.2          |
|                    | 3回目            | 1.3          |
| 3回試験の平均塩素ガス発生量 ppm |                | 0.5          |

・使用合成樹脂容器内容量は21ℓであった。 \*測定時の室温17℃

この試験結果より、除菌消臭水から発生する塩素ガス濃度は基準値の1 ppmを下回っており、「塩素系」等の特別注意事項を表示する義務は無い。

以 上



## オレアアスファ水溶液の抗菌作用

### 1、検討菌株

- |                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| ①Haemophilus influenzae(ATCC49247)   | インフルエンザ球菌 |
| ②Staphylococcus aureus(ATCC25923)    | 黄色ブドウ球菌   |
| ③Escherichia(ATCC25922)              | 大腸菌       |
| ④Streptococcus pneumoniae(ATCC49619) | 肺炎球菌      |
| ⑤Pseudomonas aeruginosa(ATCC27853)   | 緑膿菌       |

### 2、試験方法

#### 混合法

- ①それぞれの菌を35℃で培養後、滅菌生食に浮遊させ、Mafarland標準液No. 0, 5に相当する濃度に調整した。
- ②50ppmのオレアアスファ水溶液2mlに、①で調整したそれぞれの菌液を100μlを混合した。
- ③混合後1分後の②で調整したそれぞれの菌液混合のオレア水溶液10μlを寒天平板に塗抹し、35℃で培養後の発育を観察した。

\* Mafarland標準液No. 0, 5・・・Escherichia coli(ATCC25922)株を $1\sim 2\times 10^8$  colny forming units/mlを含む濁りの程度を示します。

埼玉県立小児医療センター・細菌検査室

目白大学クリニック・細菌検査室、坂田英明教授  
現、埼玉医科大学教授・川越耳科学研究所・医院長

1 : *Haemophilus influenzae*(ATCC 49247) \* インフルエンザ球菌



対照(3+)



50ppm 1分 発育せず



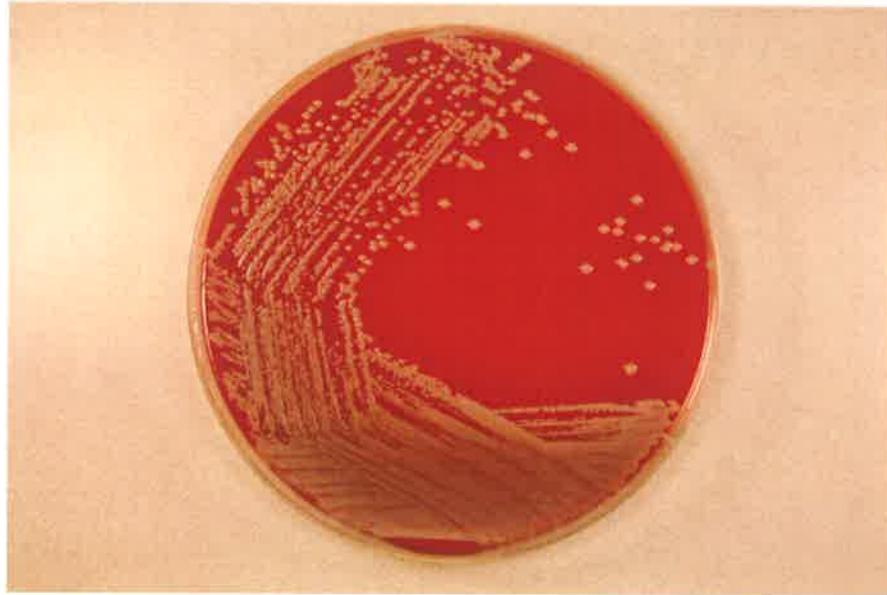
50ppm 5分 発育せず



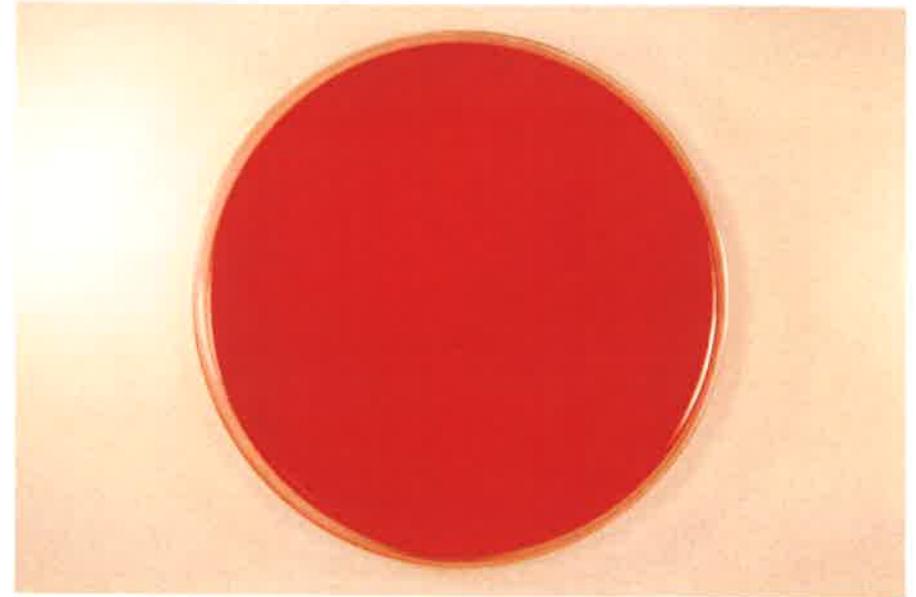
50ppm 10分 発育せず

2 : Staphylococcus aureus(ATCC 25923)

\* 黄色ブドウ球菌



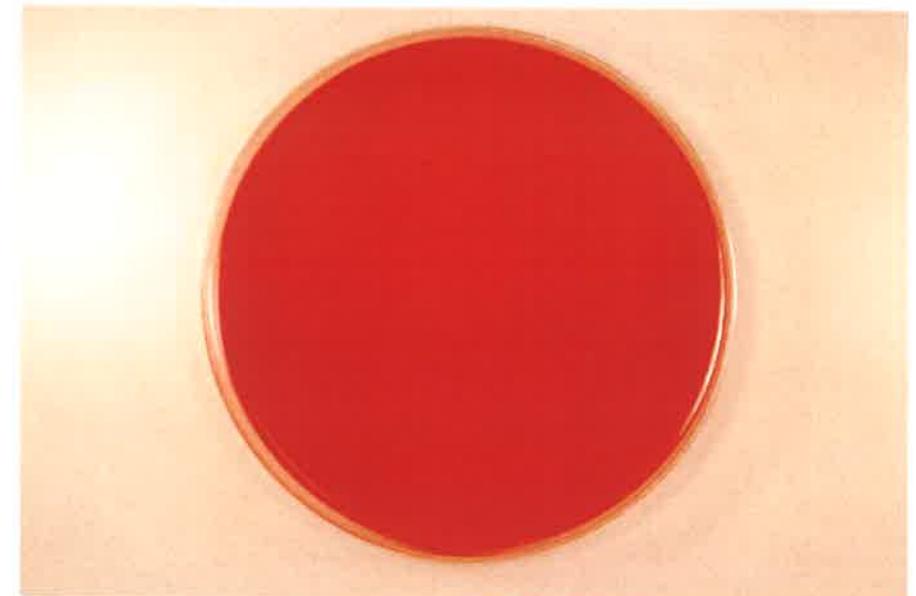
対照(3+)



50ppm 1分 発育せず



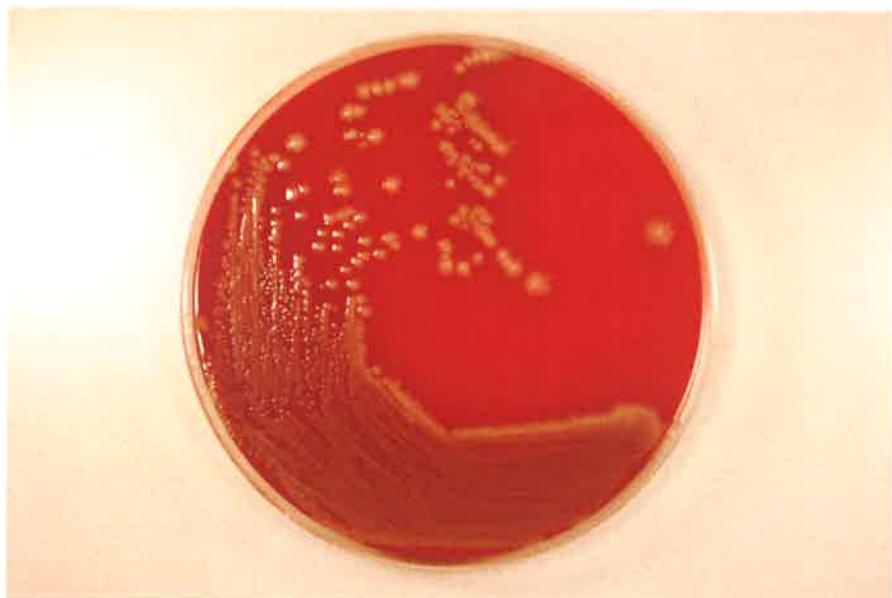
50ppm 5分 発育せず



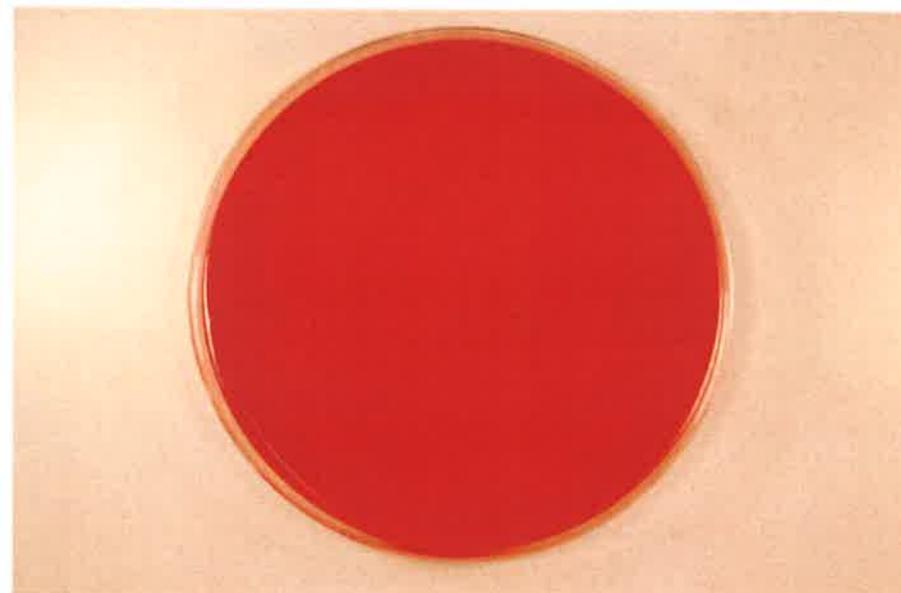
50ppm 10分 発育せず

3 : Escherichia coli(ATCC 25922)

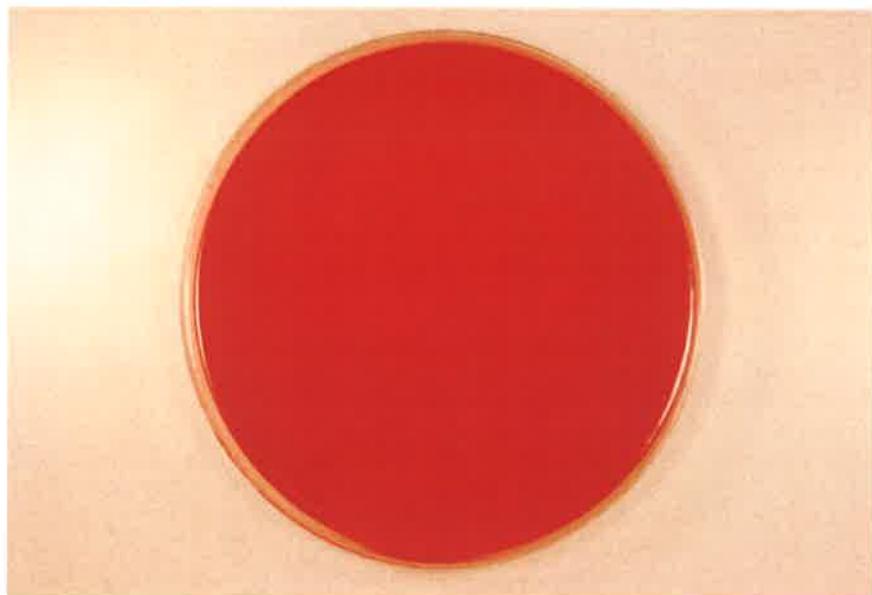
\*大腸菌



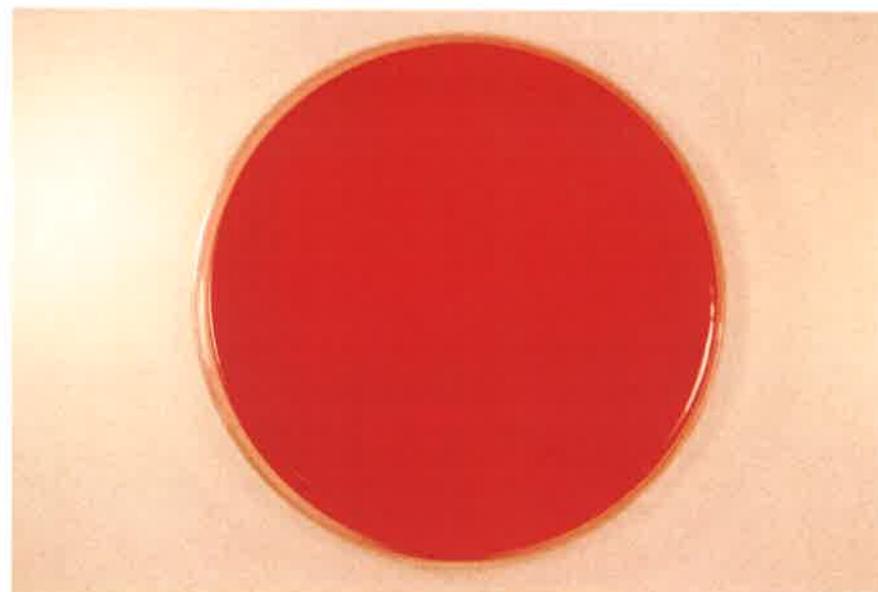
対照(3+)



50ppm 1分 発育せず



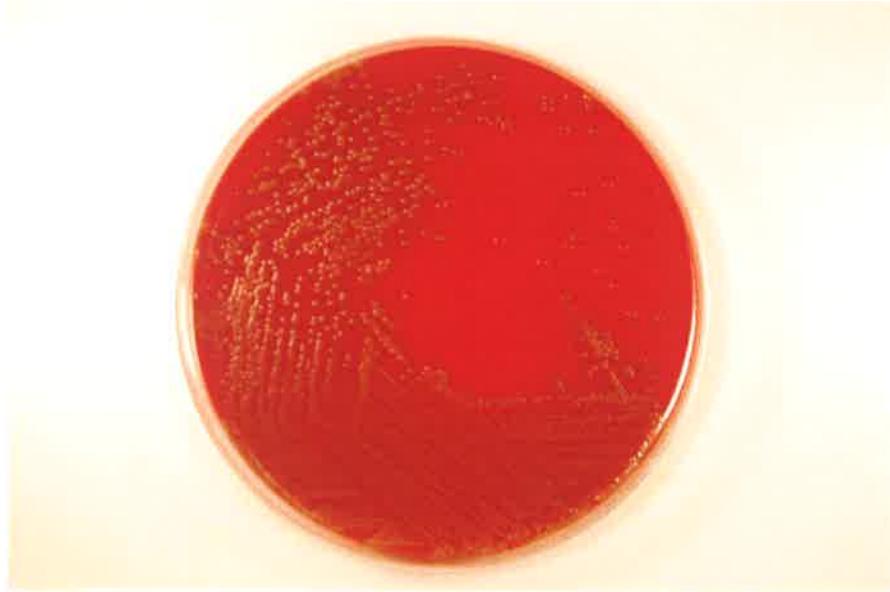
50ppm 5分 発育せず



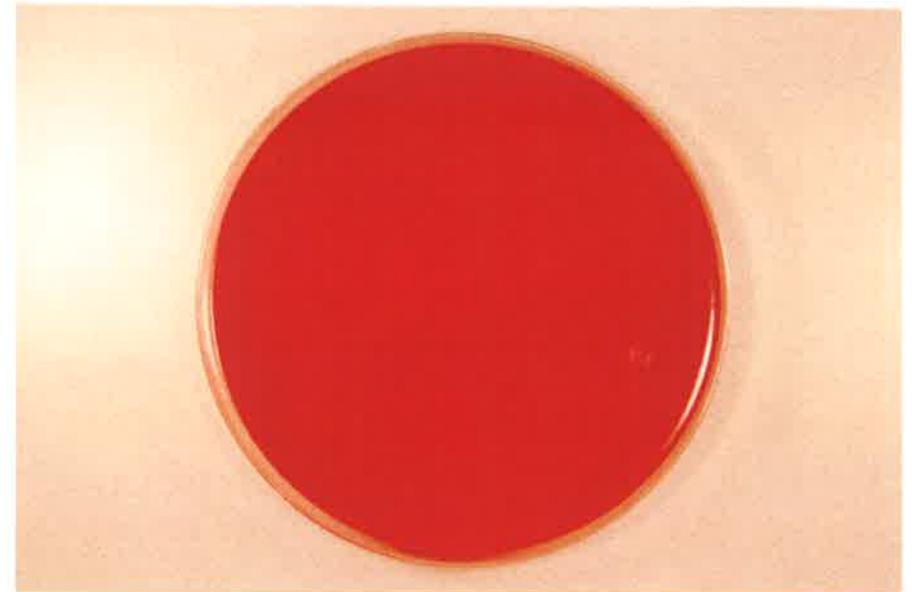
50ppm 10分 発育せず

4:Streptococcus pneumoniae(ATCC 49619)

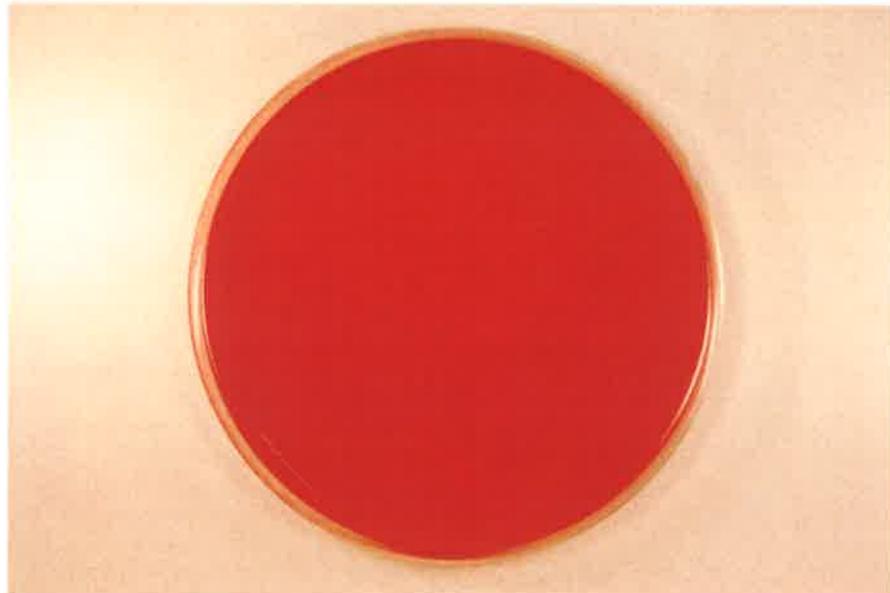
\* 肺炎球菌



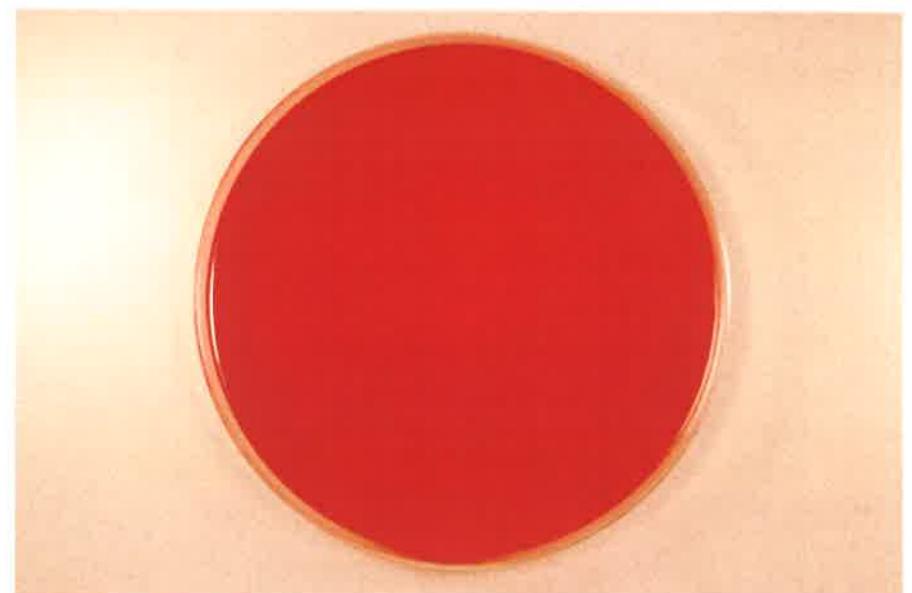
対照(3+)



50ppm 1分 発育せず



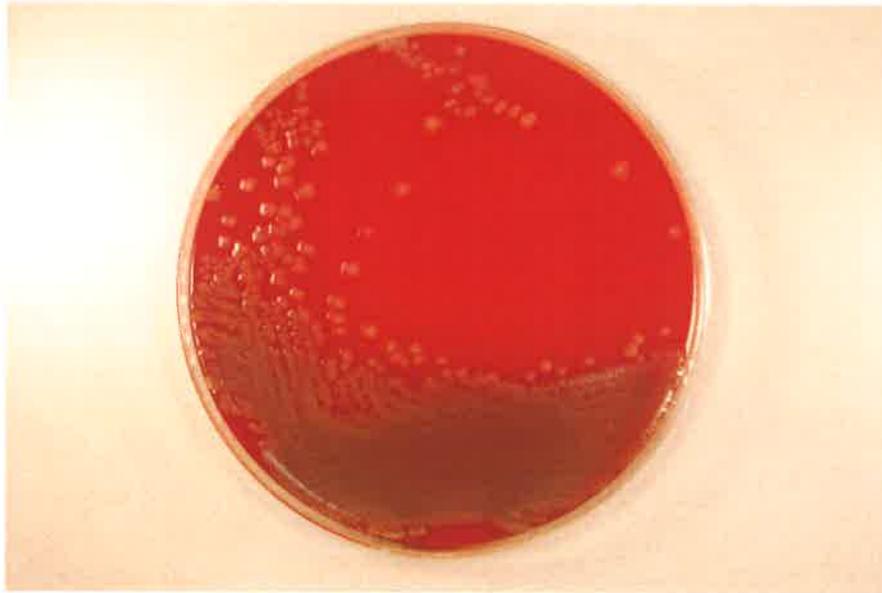
50ppm 5分 発育せず



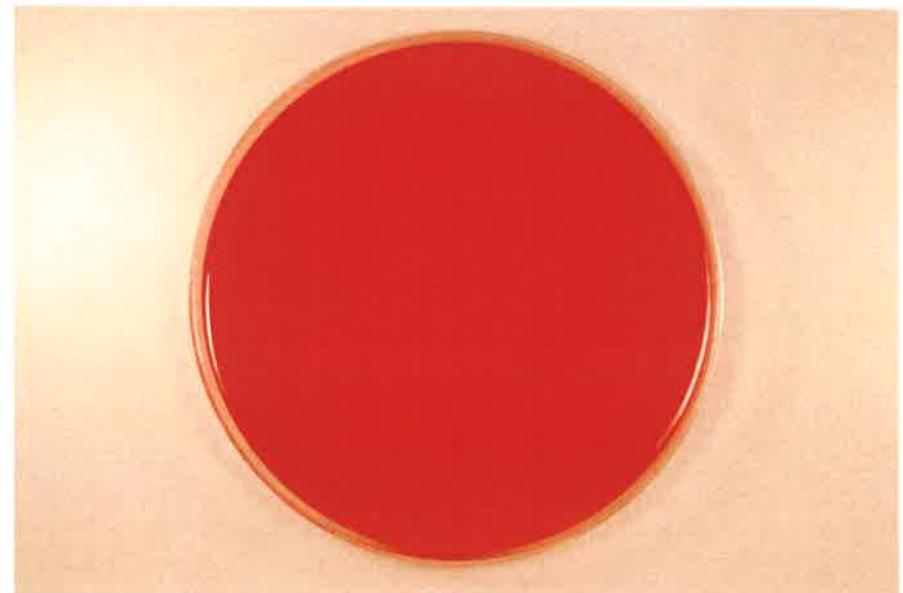
50ppm 10分 発育せず

5 : *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 27853)

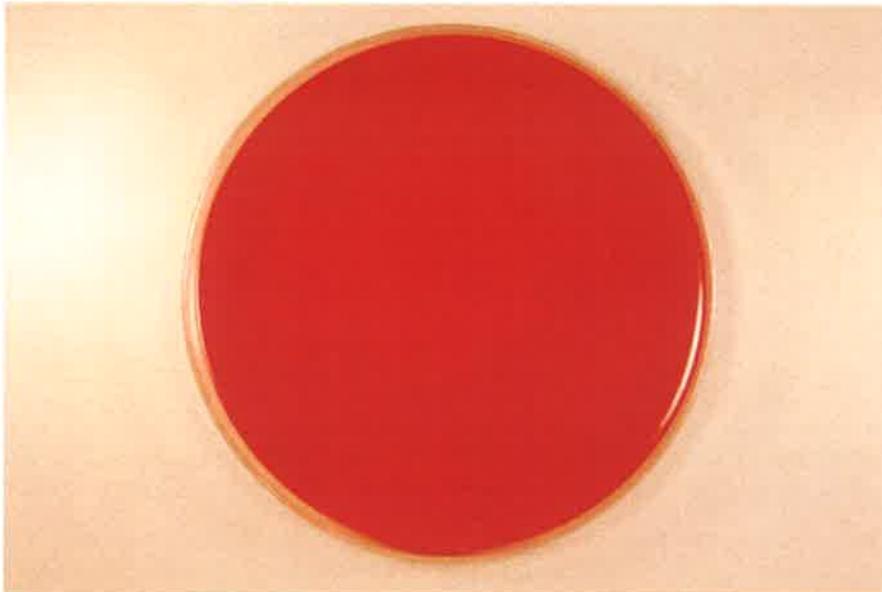
\* 緑膿菌



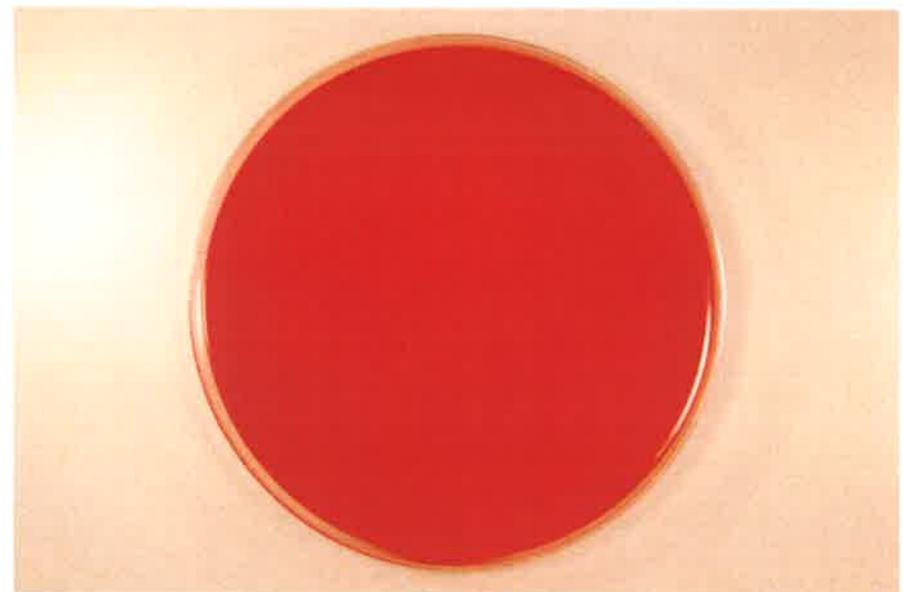
対照(3+)



50ppm 1分 発育せず



50ppm 5分 発育せず



50ppm 10分 発育せず

# オレアるどでの抗菌作用

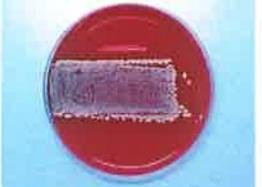
## I. 検討菌株

- ① Escherichia coli(ATCC 25922)
- ② Pseudomonas aeruginosa(ATCC 27853)
- ③ Staphylococcus aureus(ATCC 29213)
- ④ Streptococcus pneumoniae(ATCC 49619)

## II. 方法

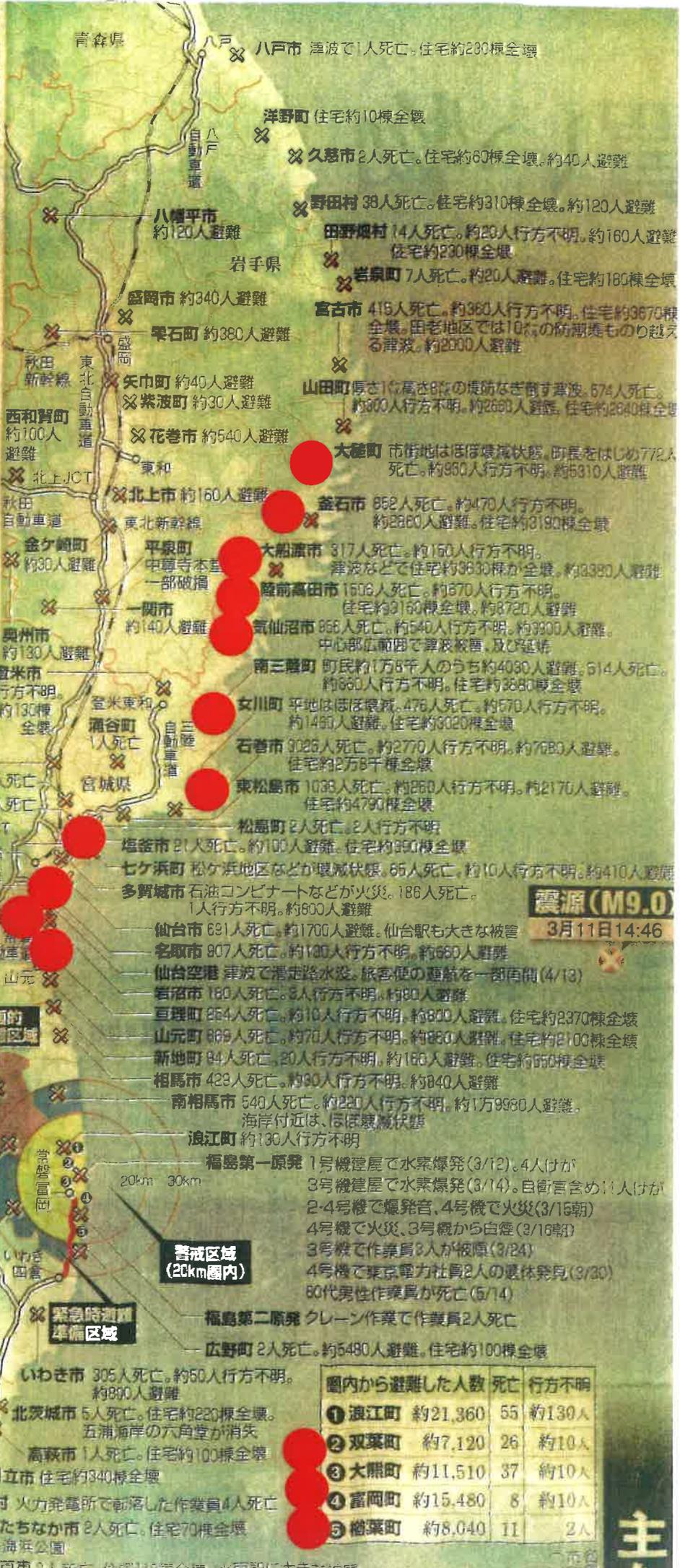
- ① それぞれの菌を35°C、20時間培養後、滅菌生食に浮遊させ、Mafarland標準液No0.5に相当する濃度に調整した。
- ② ①の菌液を滅菌スライドガラスに10 $\mu$ l 1塗抹し、乾燥した。
- ③ オレアるどでのノズルより、約0.5m、約1.0m、約1.5m、約2.0mの距離にスライドガラスを置きアスファ水溶液を噴霧した。噴霧時間は、約0.5mの距離では、15秒、約1.0m、約1.5m、約2.0mの距離では1分間とした。
- ④ ③のスライドガラスを血液寒天培地にスタンプし、35度、20時間培養した。

\*MaFarland標準液No0.5・・・Escherichia coli(ATCC 25922)株を1~2 $\times$ 10<sup>8</sup>colny colny forming units/mlを含む濁りの程度を示します。

|         | 対照  | 0.5m  | 1.0m   |
|---------|---|---|--|
| 大腸菌     | <br>対照   | <br>発育なし   | <br>1コロニー発育 |
| 緑膿菌     | <br>対照  | <br>発育なし  | <br>発育なし   |
| 黄色ブドウ球菌 | <br>対照 | <br>発育なし | <br>発育なし  |
| 肺炎球菌    | <br>対照 | <br>発育なし | <br>発育なし  |

被災者数 (28日現在、警察庁まとめ)

|             | 死亡     | 行方不明  | 避難      |
|-------------|--------|-------|---------|
| <b>全国合計</b> | 15,256 | 8,565 | 103,305 |
| 主な都道府県      |        |       |         |
| <b>北海道</b>  | 1      |       | 1,330   |
| <b>青森</b>   | 3      | 1     | 1,006   |
| <b>岩手</b>   | 4,499  | 2,919 | 27,279  |
| <b>宮城</b>   | 9,110  | 5,223 | 27,434  |
| <b>秋田</b>   |        |       | 741     |
| <b>山形</b>   | 2      |       | 336     |
| <b>福島</b>   | 1,582  | 419   | 24,156  |
| <b>茨城</b>   | 23     | 1     | 297     |
| <b>栃木</b>   | 4      |       | 472     |
| <b>群馬</b>   | 1      |       | 2,476   |
| <b>埼玉</b>   |        |       | 7,257   |
| <b>千葉</b>   | 19     | 2     | 950     |
| <b>東京</b>   | 7      |       | 934     |
| <b>神奈川</b>  | 4      |       | 1,522   |
| <b>新潟</b>   |        |       | 4,015   |



**震源 (M9.0)**  
3月11日 14:46

| 圈内から避難した人数 | 死亡      | 行方不明     |
|------------|---------|----------|
| ① 浪江町      | 約21,360 | 55 約130人 |
| ② 双葉町      | 約7,120  | 26 約10人  |
| ③ 大熊町      | 約11,510 | 37 約10人  |
| ④ 富岡町      | 約15,480 | 8 約10人   |
| ⑤ 楢葉町      | 約8,040  | 11 2人    |

日本赤十字社による消毒剤の配布について

- 4月21日以降、政府による物資の調達・搬送は終了しており、原則として県が物資の調達・搬送を行うこととなっている（政府は、県から支援要請があった場合のみ対応する。）。
- したがって、政府として支援物資を受け取り、又は搬送することは実際のところ難しい。また、個別の支援物資の申出について、自治体にニーズを照会することはしていない（申出者において、直接自治体に照会してもらうこととしている。）。
- 日本赤十字社は、既に様々な救援物資を調達・搬送しており、自ら対応することは十分可能であると考えられる。

<被災者再建支援チーム・志賀85460>…山下哲夫

<被災者再建支援チーム 志賀85460>…山下哲夫

副社長

大塚 義治

日本赤十字社



〒100-8916  
 医療保険、医政、医療・介護連携担当  
 東京都千代田区霞が関一丁目二番二号  
 電話(03)3501-2839  
 FAX(03)3504-1110  
 E-mail: karasawa-takeshi@nhlv.go.jp

唐澤 剛

厚生労働省

大臣官房審議官



〒100-8914  
 東京都千代田区永田町一六六一  
 電話(03)5253-2111(内線八二四二)  
 ファクス(03)5253-2178

山田 哲範

大臣官房総務課調査役



日本赤十字社

専業局 救護・福祉部次長

山口 繁

YAMAGUCHI SHIGERU

〒105-8521  
 東京都港区芝大門1丁目1番3号  
 TEL 03-3437-7084(ダイヤルイン)  
 FAX 03-3435-8509  
 s-yamaguchi@jrc.or.jp



日本財団

三浦 一郎

常勤監事

〒107-8404 東京都港区赤坂1-2-2  
 Tel:03-6229-5121 Fax:03-6229-5120  
 URL: http://www.nippon-foundation.or.jp/  
 E-mail: iimura@os.nippon-foundation.or.jp



日本財団が学生ボランティアを被災地へ派遣アスファ水を寄与

平成 23 年 4 月 26 日

NPO 法人第 8 神経を考える会理事長

目白大学教授

目白大学クリニック院長

坂田 英明



目白大学クリニック並びに NPO 法人第 8 神経を考える会による  
宮城県名取市避難所医療支援と調査について (ご報告)

去る平成 23 年 4 月 24 日 (日)、宮城県名取市医師会長からの要請を受け名取市議会大沼敏男議員のご尽力のもと NPO 法人第 8 神経を考える会、目白大学クリニックによる被災地医療支援に計 6 名にて参加しました。参加者は NPO2 名、協力団体 2 名、有志 1 名、]撮影 1 名です。当日は名取市議会大沼敏男議員に案内していただきました。

今回の目的は、三つありました。第一は長期化している集団生活での感染予防とその具体的対策です。避難所の出入り口に除菌装置を三台設置し未然に細菌やウイルスを防ぐ。また被災された方一人一人に除菌スプレーを提供し (3000 人分寄付)、我々が感染予防の話をし、被災された方々の避難所でのお話を伺いました。第二は地震酔いの調査であります。あまりに多い余震によりめまいや酔いを訴え不安で夜眠れないなどの不調の方の調査です。第三は PTSD の調査です。調査では予想より少ない感じでありましたが、現在米国での対策マニュアルをもとに独自のプログラムを作成中であります。

報道で目にするものとは全く比べ物にならない悲惨な情景でありました。その一方で普通に娯楽施設が営業している被災しなかったエリアや、仙台空港はアメリカ軍によりすでに一部運航が開始していました。しかし、沿岸部はまっさらの土地に均された恐ろしく広大な平野が広がっていました。人間には到底作り出せない不気味な光景で、それ自体が自然の脅威を物語っており愕然としました。

しかし、その様子以上に最も強く印象的だったのは皆さんの元気と笑顔でありました。日本人とは、これだけすべてを破碎され失い尽くしても、再び立ち上がる力を宿しているのかと深く感銘を受けました。支援どころかわれわれ自身が大きな成長の機会を与えられたひと時でありました。

訪問団：坂田英明 (NPO 理事長・目白大学教授)

福田邦宏 (NPO 副理事長)

松井知彦・鬼丸健 (ティーケールーム)

岡田裕之 (オレア)

細川隆平 (写真家)

## 高度な医療衛生国家として災害時の具体的緊急感染対策を要望します

スマトラ島沖地震では感染症による死者15万人と予想(WHO)

破傷風、ツツガムシ病、インフルエンザ、O-157、ノロウイルス、結核など

すべての感染症に対応できる除菌水が必要。

感染症が集団発生したら阻止できない。

日本のこれまでの経験や技術を駆使しいかなる災害が  
発生しても対応可能な対策を構築。

- ・ 長期化した避難所生活でストレスによる免疫力低下により感染症が発生。
- ・ 現在の感染対策はアルコール入り消毒剤の手指噴霧のみであり予防不可。
- ・ 感染対策マニュアルは手洗いとうがいの励行とあるのみで具体的でない。
- ・ 感染症は一度発生すると集団感染する。
- ・ 日本の経験・技術を駆使し高度な医療衛生国家として全ての災害に対応。

### 「具体的対策案」

○ 災害対策マニュアルに具体的感染対策を織り込む。

- ・ 小児から高齢者までの起こりうる各感染症の特徴明記
- ・ すべての避難所の行政による感染症発生の実態管理
- ・ 全ての人にoral care（口腔内乾燥予防）を指導
- ・ 全ての人に次亜鉛素酸水による滅菌指導
- ・ 集団生活の場所の出入り口に感染予防噴霧器設置
- ・

上記早期実現にご尽力いただけますよう各自治体に要望する次第であります。

|       |   |
|-------|---|
| 施設名   | 目白大学保健医療学部  |
|       | 教授 医学博士 坂田 英明  |
| 住 所   | 埼玉県さいたま市岩槻区浮谷 320   |
| 電 話   | 048-797-3341  |
| 電子メール | sakata@mejiro.ac.jp   |

## 1. 名取市立館腰小学校（避難者約 250 名）

高齢のご夫婦をお伺いした所、終始正座を崩さずようこそお越しくございましたと迎えて下さり頭の下がる思いがしました。その向こうでは不機嫌な高校生、独居老人と思われる老人が一人座られたりしていました。炊き出しのカレーをどうせ余るからぜひとすすめられ、皆さんと交流したかったのでありがたく頂戴し、膝を交えてまさに同じ釜の飯を食しました。予定にはない耳鼻科診療を市の職員から要請され行いました。直接アンケートを取って避難所をまわり、人々からの心身の不調について伺い、できる限りのアドバイスをさせていただきました。

## 2. 名取市民会館（避難者約 400 名）

ここは当初予定されていませんでしたが、大沼議員と相談し訪問することとなりました。しかし、「困るんだよね、突然こういうの」と押し売りがきたかのように断られました。現場指揮官が責任の所在地に固執しすぎて上役の上役から指示を待つて機敏な采配ができず、雑然と支援物資の箱が未開封のまま溢れ、日がたっているようでした。

炊き出しの昼食があり縁日の屋台のように出店が 5 店もありました。皆さんどれにしようかと悩んでいました。ある市の職員の話ですが、動ける人は受動的でなく自ら炊き出しを手伝うとか、具材は豊富にあるのだから調理するなどの自発的行動があってもよいのではないかと話されていました。支援される側と支援する側の立場や問題点が浮き彫りになっているようでした。

## 3. 名取市増田中学校（避難者約 80 名）・下増田小学校（避難者約 60 名）

物資を送り届けました。地震当日は瓦礫の下でうめき声や助けてほしいという声を耳にしたが、翌日はほとんどなくなっていたと話されていました。やはり PTSD への対応を急がなければならない、元気になっている皆さんの気力を維持していかなければならないと感じました。

## 4. 名取市沿岸地域

自衛隊の作業の続く瓦礫の街並みの丘に立つと、360 度何もない荒涼とした風景がどこまでも続いていました。報じられているように遺体混じりの瓦礫なので荒々しく片付けるわけにはいかないとのこと。田んぼに誰のものかわからない、お金という扱いを受けていない 1 万円札が瓦礫にまじって落ちていました。その向こうのアメリカ軍の作業後の仙台空港は瓦礫がきれいさっぱりなくなってまっさらな平野がひたすら続いていました。アメリカ軍のトモダチ作戦はかなり手際がよく圧巻であったとのこと。

## 5. 名取市訪問をふりかえって

災害がいつ起き、いつ被災者になるかは国民全員の問題であると感じました。そしてた

またま支援をうける側、支援をする側に分かれているものの、支援者側のこうしたい、見せたい、聞かせたいなどは支援される側では必ずしも、こうして欲しい、見たい、聞きたいことではないと痛感しました、同じ目的でも避難所や状況によってまったく正反対になってしまうからです。

今後長い年月をかけての復旧になりますが、生き延びた方々が仮設住宅を得て避難所生活から開放されるまでの時間を考えると今後は PTSD、感染症等への対応が急がれます。今後も機会をつくり、医師として人間として我々ができることを模索し続け、可能なかぎり行動を起こし活動したいと思っております。

## ■今回のスケジュール

| 時間       | 訪問地及び作業等            | 備考                 |              |
|----------|---------------------|--------------------|--------------|
| 4/23 (土) | レンタカー受取             |                    |              |
| 4/24 (日) | 目白大学集合              | 医療支援物資を搬入<br>支援団朝礼 |              |
| 5:30     |                     |                    |              |
| 6:20     | 出発                  | 高速(岩槻⇔仙台南)         |              |
| 10:30    | 休憩                  |                    |              |
| 11:00    | 館腰小学校着<br>避難者 250 名 | 訪問挨拶               | 大沼議員、市職員     |
|          |                     | 耳鼻科診療・感染予防説明       | 難聴、めまい、いびき   |
|          |                     | アンケート調査            |              |
|          |                     | 除菌水を 1 人に 1 本配布    | 被災状況を聞く      |
|          |                     | 河北新報取材             | 佐藤記者         |
|          |                     | 食事(炊出しカレー)         | 議員・市職員・被災者代表 |
| 12:40    | 市民会館                | 支援拒否               |              |
|          | 増田中学校<br>避難者 80 名   | 滅菌水を 1 人 1 本ずつ配布   |              |
|          | 下増田小学校<br>避難者 60 名  | 滅菌水を 1 人 1 本ずつ配布   |              |
|          | 沿岸部移動               |                    |              |
| 15:00    | 出発                  | 仙台空港→岩槻 IC         |              |
| 20:20    | レンタカー返却             |                    |              |
| 20:40    | 解散                  | 目白大学               |              |

以上

## 保育所における上気道感染症の 実態調査および対策について

目白大学保健医療学部  
目白大学クリニック耳鼻科

坂田英明 福田邦宏  
佐久間嘉子 遠藤まゆみ



### はじめに

- 保育所への入園年齢が低年齢化している
- 保育時間が長い
- 感染症が蔓延しやすい

本研究では上気道感染症の実態を調査し予防  
していく方法を考えることを目的とする

## 対象と方法

- 対 象: 一般保育所の2歳児園児 22名
- 方 法: 上咽頭のぬぐい液からの細菌検査

A群・B群に分け、流水と石鹼の手洗い後に次亜塩酸水を使用する群と、流水と石鹼のみの手洗い群に分ける。3カ月後に再度上咽頭からの細菌検査を行い細菌叢の比較を行い、臨床経過を調査する。

### 今回使用した微酸性次亜塩素酸水とミルトンの比較

|      | ミルトン                               | 微酸性次亜塩素酸水                         |
|------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 主成分  | 次亜塩素酸ナトリウム                         | 次亜塩素酸                             |
| PH領域 | 弱アルカリ領域                            | 中性領域                              |
| 殺菌効力 | 次亜塩素酸イオンが多いので殺菌速度が遅い               | 次亜塩素酸が芽胞をも分解し殺菌速度がミルトンの約80倍       |
| 濃度   | 11000PPM                           | 50PPM～200PPM(50単位で4段階)            |
| 使用方法 | 10～80倍希釈                           | 希釈せずそのまま                          |
| 安全性  | 残留性が高く原液のままでは危険であり、希釈に対してもかなり注意が必要 | 残留性がほとんどなく菌ウイルスに反応すると水道水以下の残留塩素濃度 |
| 安定性  | 紫外線や高温に極めて弱い                       | 有機物と接触しなければ安定                     |
| 浄化槽  | 影響あり(原液での場合)                       | 影響なし                              |
| 空間噴霧 | 可能であるが弊害が大きい(人体・環境にたいして)           | 可能であり、弊害がない。(人体・環境に対して)           |
| 価格   | 1Lあたり1500円                         | 2Lあたり2400円                        |

## 次亜塩素酸水抗菌作用(先行研究)

### I. 検討菌株

Haemophilus influenzae(ATCC 49247)  
Staphylococcus aureus(ATCC 25923)  
Escherichia coli(ATCC 25922)  
Streptococcus pneumoniae(ATCC 49619)  
Pseudomonas aeruginosa(ATCC 27853)

### II. 方法

#### 混合法

- ①それぞれの菌を35°Cで培養後、滅菌生食に浮遊させ、MaFarland標準液No 5.0に相当する濃度に調整した。
- ② 50ppmの次亜塩素酸水2mlに、①で調整したそれぞれの菌液100μl混合した。混合後1分、5分、10分毎に②で調整したそれぞれの菌液混合の次亜塩素酸水10μlを寒天平板に塗抹し、35°Cで培養後の発育を観察した。

Haemophilus influenzae  
インフルエンザ菌



対照(3+)



50PPM 1分 発育せず



50PPM 5分 発育せず



50PPM 10分 発育せず

Streptococcus pneumoniae  
肺炎球菌



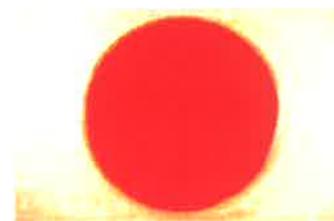
対照(3+)



50PPM 1分 発育せず



50PPM 5分 発育せず



50PPM 10分 発育せず

## 結果

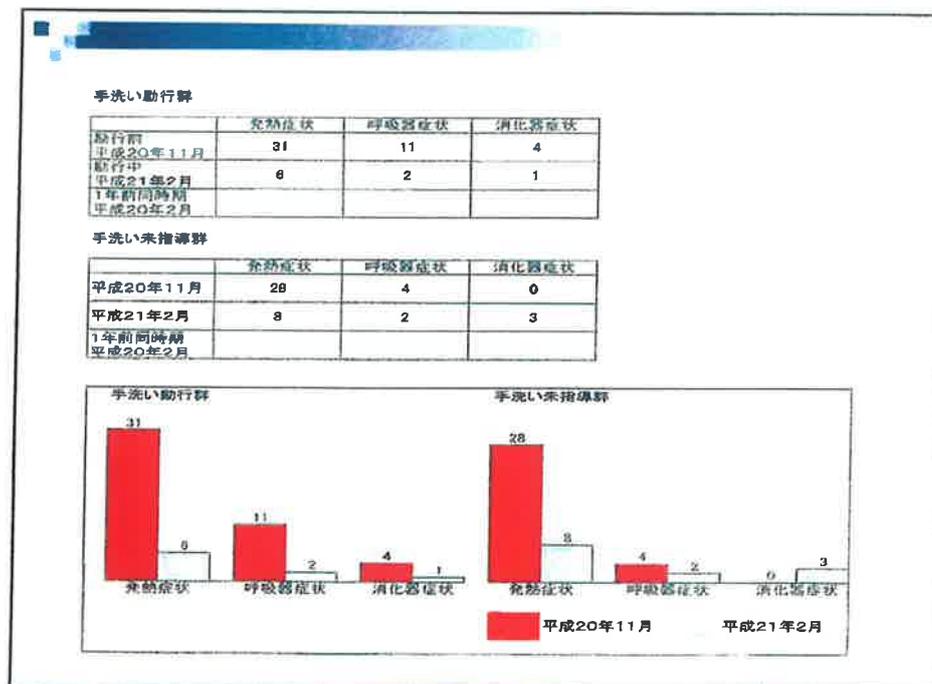
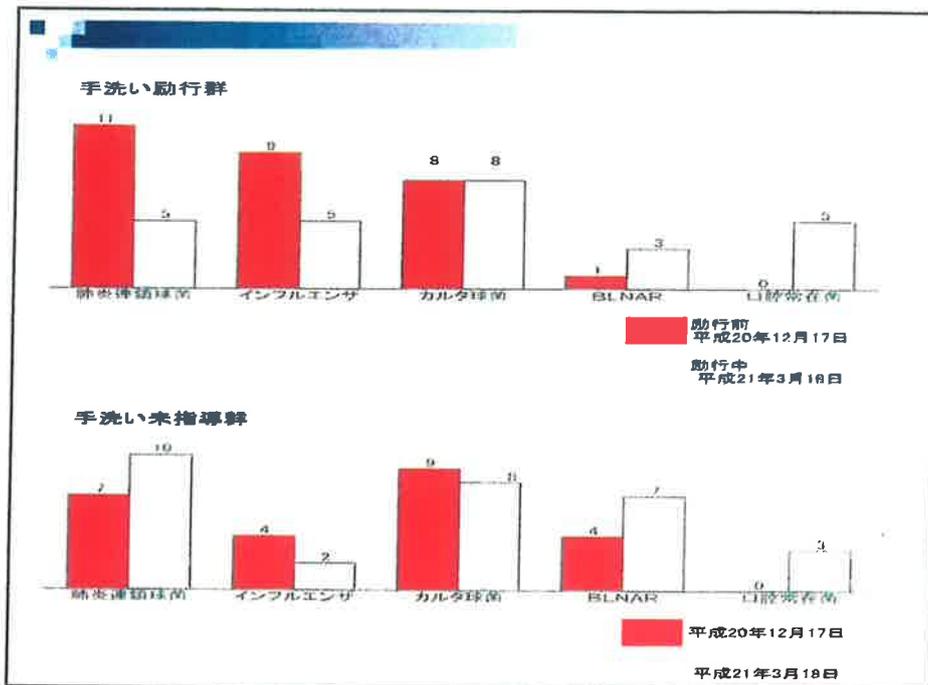
### A保育園一般細菌・真菌検査推移

#### 手洗い励行群

| 事前検査    |             | 使用中検査   |            |
|---------|-------------|---------|------------|
| 検査日     | 平成20年12月17日 | 検査日     | 平成21年3月18日 |
| 検査箇所    | 鼻腔          | 検査箇所    | 鼻腔         |
| 受検者     | 11名         | 受検者     | 10名        |
| 検出菌     | 人数          | 検出菌     | 人数         |
| 肺炎連鎖球菌  | 11          | 肺炎連鎖球菌  | 5          |
| インフルエンザ | 9           | インフルエンザ | 5          |
| カルタ球菌   | 8           | カルタ球菌   | 8          |
| BLNAR   | 1           | BLNAR   | 3          |
| 口腔常在菌   | 0           | 口腔常在菌   | 5          |

#### 手洗い未指導群

| 事前検査    |             | 使用中検査   |            |
|---------|-------------|---------|------------|
| 検査日     | 平成20年12月17日 | 検査日     | 平成21年3月18日 |
| 検査箇所    | 鼻腔          | 検査箇所    | 鼻腔         |
| 受検者     | 11名         | 受検者     | 10名        |
| 検出菌     | 人数          | 検出菌     | 人数         |
| 肺炎連鎖球菌  | 7           | 肺炎連鎖球菌  | 10         |
| インフルエンザ | 4           | インフルエンザ | 2          |
| カルタ球菌   | 9           | カルタ球菌   | 8          |
| BLNAR   | 4           | BLNAR   | 7          |
| 口腔常在菌   | 0           | 口腔常在菌   | 3          |
| モラクセラ   | 0           | モラクセラ   | 1          |



## 文献

- 2007: 武内 保育園入園1年間での上咽頭培養の変化  
2008: 伊藤 小児を取り巻く環境の変化  
2008: 木澤 金沢市保育所における感染症事業の取り組み  
2009: 坂田 次亜塩素酸による手洗い消毒の検証  
2010: 厚生労働省: 保育所の状況

## まとめ

一般保育所での上咽頭細菌叢は肺炎球菌とインフルエンザ菌が大多数であった。

手洗いを励行し、次亜鉛素酸水を使用した群では肺炎球菌とインフルエンザ菌の検出率低下、臨床症状の発症予防がみられた。

保育所など集団生活をする場合、日常でできる手洗いを徹底させることが感染症予防の第一歩であることが示唆された。

## オレア水溶液の抗菌作用

### I. 試験菌株

- ① *Haemophilus influenzae* (ATCC49247) b型インフルエンザ、非運動性で多形性を示す多くは人、哺乳類の上気道の常在菌
- ② *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) 黄色ブドウ球菌、化膿菌伝染性、膿瘍、溶血毒、コアグラーゼ
- ③ *Escherichia coli* (ATCC25922) 大腸菌 0-157
- ④ *Streptococcus pneumoniae* (ATCC49619) 肺炎連鎖球菌、肺炎双球菌
- ⑤ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) 緑膿菌

### II. 試験（検査）方法

#### A) ディスク法

- ① それぞれ菌を3.5℃で培養後、滅菌生食に浮遊させ、MaFarland標準液No0.5に相当する濃度に調整した。
- ② ①の菌液を塗抹した寒天平板、1cm四方の濾紙を4枚重ねて置き、50ppm, 100ppm, 200ppm, のオレア水溶液をそれぞれ100 $\mu$ l染み込ませ、3.5℃で培養し阻止円を観察した。

#### B) 混合法

- ① それぞれの菌を3.5℃で培養後、滅菌生食に浮遊させ、MaFarland標準液No0.5に相当する濃度に調整した。
- ② 50ppm, 100ppm, 200ppm, のオレア水溶液2mlに、①で調整したそれぞれの菌液を100 $\mu$ l混合した。
- ③ 混合後1分、5分、10分毎に②で調整したそれぞれの菌液混合オレア水溶液10 $\mu$ l, を寒天平板に塗抹し、3.5℃で培養後の発育を観察した。

※ MaFarland標準液No0.5・・・*Escherichia coli*(ATCC25922)株 $1 \sim 2 \times 10^8$  colony forming /mlを含む濁りの程度を示します。

2008年3月6日

埼玉県立小児医療センター細菌検査室  
耳鼻咽喉科長 坂田英明医学博士協力

# 北里大学研究報告書

トリインフルエンザウイルスに対するオレア・アスファ水の抗ウイルス作用

株式会社 オレア 御中

オレア・アスファ水の抗ウイルス作用を明らかにするため、屋外から分離されたトリインフルエンザウイルス株(H7N1)を用いて、当大学研究室で試験を行った。

オレア・アスファ水原液(塩素濃度200ppm)を生成水で希釈した後、ウイルス液と混合し、室温で5～60分間感作させた。その後、ウイルス液を培養細胞に加え、感染した細胞の割合から感染性のあるウイルスの量を推定した。

その結果、最終塩素濃度50ppm以上では5分の感作で、感染性のあるウイルスの量が検出限界(もとのウイルス量の一万分の1)未満まで減少したことが明らかとなった。

感染性のあるウイルスの量を著しく減少させられたことから、オレア・アスファ水はトリインフルエンザウイルス対策として有効であると考えられた。また、感作時間が5分と短いことは、消毒剤として利点になりうると思われた。

平成18年3月20日

北里大学獣医畜産学部獣医学科

人獣共通感染症学研究室

教授 中村政幸 農学博士

助教授 竹原一明 獣医学博士

助手 岡村雅史 獣医学博士

(署名)

中村政幸 

竹原一明 

岡村雅史 



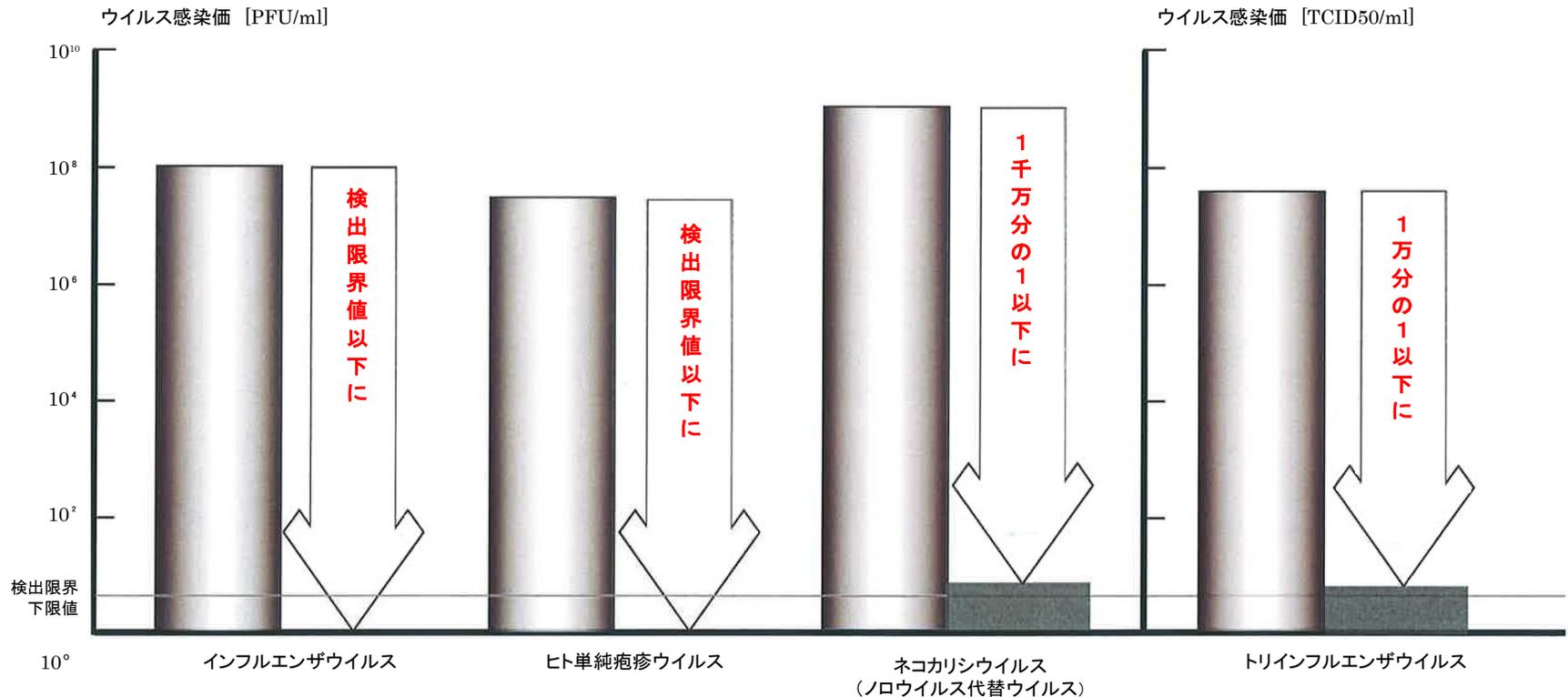
# ウイルス不活化効果

K大学委託試験

調査ウイルスと試験条件

| ウイルス                     | 遺伝情報物質 | エンベロープ | オレアスファ濃度 [ppm] | 時間 [分] |
|--------------------------|--------|--------|----------------|--------|
| インフルエンザウイルス              | RNA    | 有      | 100            | 3      |
| トリインフルエンザウイルス H7N1       | RNA    | 有      | 50             | 1      |
| ネコカリシウイルス (ノロウイルス代替ウイルス) | RNA    | 有      | 200            | 10     |
| ヒト単純疱疹ウイルス               | DNA    | 無      | 50             | 1      |

ウイルスは強いものと弱いものがありますが、いずれも濃度、作用時間および使用方法を適切にすれば効果的に不活化できます。



# 埼玉農林総合研究センター報告内容

pH6.5,有効塩素濃度 50 ppmのアスファ水を、噴霧間隔を変えながら噴霧し、浮遊菌数、舎内温度、鶏の斃死率等をモニタリングした。その結果、次のような結果が得られた。

- 1、8回の実験の内7回において、アスファ水の噴霧により浮遊菌は噴霧前よりも有意に減少し、アスファ水噴霧が浮遊菌の制御に有効であることが示された。
- 2、アスファ水を毎日10:00から16:00まで30分おきに噴霧したとこ高度に衛生的な状態が保たれることが示された。
- 3、1分間の噴霧により舎内の温度は0, 4℃低下し、10分後には噴霧前の室温に戻った。鶏への影響は小さかったと思われた。
- 4、噴霧期間中、鶏の斃死率、産卵率、受精率および孵化率に悪影響は認められなかった。
- 5、臭気抑制に関しては、冬季の試験であった為、効果が明瞭ではなかった。

平成17年度埼玉県農林水産受託試験事業実績報告書

農総研第50346号  
平成17年3月27日

株式会社  
代表取締役 様

埼玉県知事 上田 清司



平成17年10月17日付け農総研第50210号で契約した当該事業について、下記のとおり事業を実施したので、第8条の規定により、その実績を報告します。

記

- 1 事業の内容
  - (1) 調査項目等:別添
  - (2) 試験成績 :別添

- 2 収支決算
  - (1) 収入の部

| 予算の区分  | 決算額 | 備 | 考 |
|--------|-----|---|---|
| 受託事業収入 | ■   |   |   |

- (2) 支出の部

| 予算の区分         | 決算額 | 内             | 訳 |
|---------------|-----|---------------|---|
| 需用費<br>(消耗品等) | ■   | 寒天培地、消毒剤、飼料費他 |   |
| 計             | ■   |               |   |

埼玉県農林総合研究センター委託試験 (K-08-010)  
結果報告書

平成18年4月3日  
研究室 石井隆喜

○試験の目的

近年、鶏肉あるいは鶏卵を原因とする食中毒の発生、トリインフルエンザウイルスの流行など、養鶏産業に於いて大きな問題が生じている。これらの問題を通して、鶏の飼育現場で徹底した衛生管理がなされなければ食品の安全が保たれないことが明らかとなった。

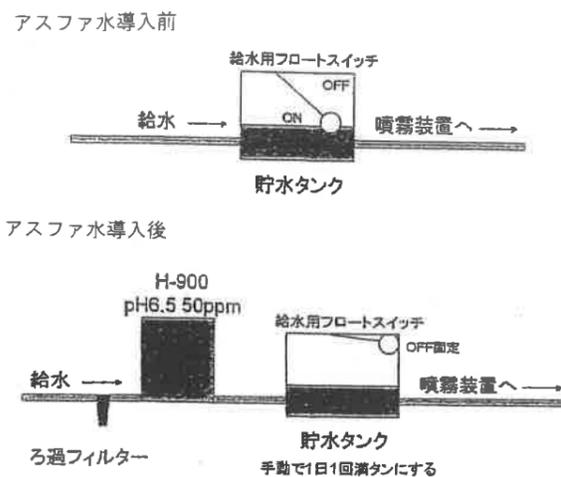
現在、養鶏は集団的に行なわれている。すなわち、一ヶ所で非常に多数の鶏が飼育されており、このことが流行病の蔓延あるいは悪臭発生の原因となっている。これらの危害を防止するため、養鶏現場でアスファ水を噴霧することが考えられる。アスファ水噴霧により、空間中の微生物を抑制し、また悪臭を軽減できるかもしれない。

このようなアスファ水の使用法を検討するため、平成17年度の研究事業の一環として、埼玉県農林総合研究センター畜産研究所 永井義隆 生産技術担当部長に研究を委託した。

○試験結果

詳しくは永井氏による報告書を参照のこと。本試験の成果の要約は以下の通り。

研究所内のウィンドウレス鶏舎 (6m×20m) の温度調節用水装置に、下図のようにH-900を導入した。



pH6.5、有効塩素濃度50ppmのアスファ水を、噴霧間隔を変えながら噴霧し、浮遊菌数、舎内温度、鶏の斃死率などをモニタリングした。その結果、次のような結果が得られた。

- 1、8回の実験のうち7回に於いて、アスファ水の噴霧により浮遊菌数は噴霧前よりも有意に減少し、アスファ水噴霧が浮遊菌の制御に有効であることが示された。
- 2、アスファ水を毎日10:00から16:00まで30分おきに噴霧したところ、日をおいて浮遊菌数が減少した。このことから、継続的な噴霧により、高度に衛生的な状態が保たれることが示された。
- 3、1分間の噴霧により舎内の温度は0.4℃低下し、10分後には噴霧前の室温に戻った。鶏への影響はほとんどないと思われた。
- 4、噴霧期間中、鶏の斃死率、産卵率、受精率および孵化率に悪影響は認められなかった。
- 5、臭気抑制に関しては、冬季の試験であった為、効果が明瞭ではなかった。

○考察と今後の展望

鶏の飼育密度が1.5羽/m<sup>3</sup>と低い為、浮遊菌数が低く、アスファ水噴霧の効果を確認するにはあまり適切ではなかったが、ほとんどの試験で浮遊菌数は統計学的に有意に減少したという良好な結果が得られた。また、鶏への悪影響も認められなかった。一方、臭気抑制に関しては本試験では明らかではなく、再検討の余地がある。

今後の研究に関して特に考慮すべきことは、本試験では既存の散水装置を使用したため、天井付近など、アスファ水が届かない空間が残されたことである。このことが、噴霧後も浮遊菌がわずかに残る原因の一つと考えられた。したがって、今後の試験においては鶏舎の空間的構造を考慮に入れた改善法を用いるべきである。

## 殺菌水噴霧による鶏飼養環境保全技術の検討

埼玉県農林総合研究センター畜産研究所  
生産技術担当：永井 義隆  
株式会社オレア：石井 隆喜  
：岡田 裕之

### 1. 目的

ウインドウレス鶏舎において、次亜塩酸混合希釈水（以下殺菌水）を用いた浮遊細菌及び落下細菌に対する衛生管理システムを構築し、その効果を明らかにする。

### 2. 方法

- (1) 調査期間：05年12月～06年2月
- (2) 殺菌水：委託先から提供された殺菌水製造装置（pH：6.5、次亜塩酸ナトリウム濃度：50 ppm）を用いた。
- (3) 使用鶏舎：当研究所内ウインドウレス種鶏舎（6m×20m）、1段群飼ケージ（♂：1、♀：12羽収容）×14区。種鶏の飼養は当所の通常の方法により、また、換気については冬期のこともあり自然換気となった。
- (4) 噴霧方法：鶏舎既存細霧装置（鶏舎中央部1列配置、床面高さ2mの夏期暑熱対策用、水平噴霧）により噴霧。なお、噴霧条件については4区を設定し、噴霧時間はすべて1分間とした。
- (5) 効果判定：殺菌水の噴霧前後に、標準寒天培地（S）一般生菌用及び卵黄加マンニット食塩寒天培地（M）黄色ブドウ球菌用シャーレ（R：8.5 cm）を鶏舎通路中央部の中央、左、右側の3地点（床面約1m高さ）で20秒間開放し、24時間培養後シャーレ内コロニー数を測定した。
- (6) 統計処理：得られた菌数を対数変換し、測定口、測定位置、サンプリング時刻及びそれらの交互作用を要因として3元配置の分散分析を行った。有意性を示せなかった要因は除いた後、最終的な分析を行った。各要因の水準が持つ効果はt検定により分析した。
- (7) その他：DHL（腸内細菌）及びデスオキコレイト寒天培地（大腸菌群）は予備試験において、コロニーが検出されなかったことから除いた。

### 3. 結果

- (1) 噴霧条件1：噴霧回数1回／（10時・日）。細菌数測定は噴霧前及び噴霧後10分並びに1時間間隔の16時まで。  
1回の噴霧効果を見たもので表1に示すように、S及びM培地の浮遊細菌数は噴霧後2時間では噴霧前細菌数のほぼ1/3に減少、その後は若干増加し約1/2の水準で推移した。  
噴霧処理による菌数の減少は統計学的に有意（S培地： $F_{7, 47} = 3.01$ ,  $P < 0.05$ 、M培地： $F_{7, 37} = 6.10$ ,  $P < 0.0001$ ）、噴霧によって菌数が減少したことが認められた。
- (2) 噴霧条件2：噴霧回数3回／（10、12、14時・日）。細菌数測定は噴霧前及び各噴霧時間後10分並びに2時間間隔の16時まで。  
2時間間隔の噴霧による浮遊細菌数の推移を見たもので表2に示すように、S培地の細菌数は初回噴霧の10分後に約1/2に、2時間後にはほぼ1/3に減少したが、その後は2回の噴霧にかかわらず若干増加して1/2程度の水準で推移した。噴霧の効果調査日によってばらつくことがあったが（ $F_{3, 28} = 5.28$ ,  $P < 0.001$ ）、菌数を有意に減少させた（ $F_{4, 28} = 7.74$ ,  $P < 0.001$ ）。M培地では若干ばらつきは見られるものの、3回/日の噴霧により噴霧前細菌数1/2程度

の水準で推移した。菌数の減少は統計学的に有意であった（ $F_{7, 37} = 6.10$ ,  $P < 0.0001$ ）。

- (3) 噴霧条件3：噴霧回数5回／（10、11、12、13、14時・日）。細菌数測定は噴霧前及び各噴霧後1時間間隔の15時まで。  
1時間間隔の噴霧による浮遊細菌数の推移を見たもので表3に示すように、S培地では噴霧前細菌数8個に対して、噴霧後の細菌数の減少率は20～30%と小さかった。細菌数の変動に対する噴霧の影響は有意ではなかった（ $F_{5, 28} = 1.46$ ,  $P > 0.05$ ）。培地では5時間後まで噴霧前細菌数の約1/2の水準で推移した。噴霧の効果は測定位置によってばらつくことがあったが（ $F_{10, 38} = 2.14$ ,  $P < 0.05$ ）、菌数は有意に減少した（ $F_{5, 38} = 2.70$ ,  $P < 0.05$ ）。

- (4) 噴霧条件4：噴霧回数13回（30分間隔）/日（10～16時）、噴霧期間32日間（1月10日～2月10日）。細菌数測定は2回/（週・期間）毎日の噴霧前及び噴霧後の16時30分の2回。なお、初回噴霧前19日間は噴霧空白期間とした。

長期噴霧の影響を見るために32日間に渡って実施したもので、表4に示すように初回噴霧前のS培地の細菌数24.0個は、毎日の噴霧後16時30分の測定で概ね一桁前半の水準で推移し、噴霧の前後で菌数を比較した場合、統計学的に有意な菌数の減少が認められた（ $F_{1, 40} = 8.89$ ,  $P < 0.001$ ）。

また、各日毎の噴霧前細菌数も前日の噴霧の効果により低水準で推移し、全調査期間に渡って菌数は減少傾向にあり、その効果は有意であった（ $F_{9, 40} = 14.3$ ,  $P < 0.0001$ ）

M培地でも噴霧前細菌数23.7個は噴霧により、S培地同様一桁前半の水準で推移し、同一調査日で比較すると、噴霧後の菌数は噴霧前の菌数よりも有意に少なく（ $F_{1, 40} = 33.6$ ,  $P < 0.0001$ ）、また、全期間に渡って菌数が減少する傾向も認められた（ $F_{9, 40} = 5.04$ ,  $P < 0.0001$ ）。

- (5) 噴霧による舎内温度低下の影響について。

1分間1/回の噴霧による舎内温度の低下は約0.4℃、約10分後には噴霧前室温に戻ったことから、特に鶏への影響は小さいと思われた。

- (6) 噴霧による鶏体への影響について。

斃死率、産卵率、受精率及び孵化率は共に通常成績で、特に噴霧による悪影響は認められなかった。

- (7) 臭気対策について。

冬期のこともあり全体的に舎内臭気が弱く、噴霧による効果は明確ではなかった。

### 4. 考察

次亜塩酸混合希釈水（殺菌水）は殺菌・消臭に優れ、食品工場等のクリーン環境保全に広く用いられていることから、畜産分野、特にウインドウレスシステムの鶏舎での導入の可能性について検討を行った。

ウインドウレス鶏舎における殺菌水噴霧のクリーン効果について、2種類（標準寒天及び卵黄加マンニット食塩培地）の培地を用いて、当所種鶏舎の浮遊細菌数の低減効果を判定したところ、以下の結果を得た。

表5に示す通り、4種8通りの試験の内7通りで、殺菌水の噴霧により菌数が有意に減少することが確かめられた。

また、長期的に噴霧を行った試験では、噴霧前から噴霧終了時まで継続的に菌数が減少することが確認された。

なお、この噴霧方法による鶏体及び産卵性能等への悪影響は特に認められなかった。  
 また、今回使用した種鶏舎の飼養密度は小さく、また舎内天井高は約4m、噴霧装置は2m位  
 置で、なおかつ水平噴霧であることから未噴霧空間の問題もあり、このことがデータのばらつき  
 の原因と推察された。今後噴霧装置についての検討、また野外での検証も必要と思われた。

5. 具体的データ

(1) 条件-1

表1 浮遊細菌数 コロニー (個) /シャーレ

| 培地 | 噴霧前  | 噴霧後 |     |     |      |      |      |        |
|----|------|-----|-----|-----|------|------|------|--------|
|    |      | 10分 | 1   | 2   | 3    | 4    | 5    | 6 (時間) |
| S  | 20.0 | 7.9 | 4.6 | 6.5 | 9.5  | 11.5 | 12.2 | 10.4   |
| M  | 17.2 | 4.5 | 6.3 | 6.3 | 11.7 | 5.0  | 9.0  | 8.7    |

\* 2回実施した平均値

(2) 条件-2

表2 浮遊細菌数 コロニー (個) /シャーレ

| 培地 | 噴霧前  | 噴霧後 |     |     |       |
|----|------|-----|-----|-----|-------|
|    |      | 10分 | 2   | 4   | 6(時間) |
| S  | 14.7 | 7.2 | 4.6 | 7.1 | 8.8   |
| M  | 12.7 | 6.5 | 7.2 | 5.5 | 5.1   |

\* 3回実施した平均値

(3) 条件-3

表3 浮遊細菌数 コロニー (個) /シャーレ

| 培地 | 噴霧前  | 噴霧後 |     |     |     |        |
|----|------|-----|-----|-----|-----|--------|
|    |      | 1   | 2   | 3   | 4   | 5 (時間) |
| S  | 8.0  | 5.5 | 5.3 | 8.4 | 5.6 | 6.4    |
| M  | 11.9 | 5.1 | 4.3 | 5.7 | 4.7 | 4.7    |

\* 3回実施した平均値

(4) 条件-4

表4 浮遊細菌数 コロニー (個) /シャーレ

| 培地      | 噴霧後  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |  |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--|
|         | 1w-1 | 1w-1 | 1w-2 | 2w-1 | 2w-2 | 3w-1 | 3w-2 | 4w-1 | 4w-2 | 5w-1 | 5w-2 |  |
| S (噴霧前) | 24.0 |      | 5.0  | 4.7  | 4.3  | 4.0  | 2.0  | 1.0  | 6.3  | 4.3  | 2.3  |  |
| (噴霧後)   |      | 6.0  | 3.7  | 2.0  | 4.7  | 2.7  | 2.7  | 2.3  | 6.0  | 1.7  | 2.0  |  |
| M (噴霧前) | 23.7 |      | 5.0  | 3.7  | 6.3  | 4.0  | 2.4  | 1.7  | 5.7  | 4.7  | 2.3  |  |
| (噴霧後)   |      | 2.7  | 2.7  | 1.7  | 3.0  | 1.7  | 1.3  | 2.3  | 2.3  | 1.3  | 1.3  |  |

\* 3 2日間に渡って週2回測定した

(5) 実験結果の解析

表5 分散分析の要約

| 噴霧条件 | 培地 | 要 因           |      |                    |              |                 |
|------|----|---------------|------|--------------------|--------------|-----------------|
|      |    | 測定日<br>(日間変動) | 測定位置 | サブリック時刻<br>(噴霧の効果) | 測定日×<br>測定位置 | 測定日×<br>サブリック時刻 |
| 1    | S  |               |      | ○                  |              |                 |
|      | M  | ○             | ○    | ○                  |              |                 |
| 2    | S  |               |      | ○                  | ○            |                 |
|      | M  | ○             | ○    | ○                  |              |                 |
| 3    | S  | ○             |      |                    |              |                 |
|      | M  | ○             |      |                    |              |                 |
| 4    | S  | ○             |      |                    |              | ○               |
|      | M  | ○             |      |                    | ○            |                 |

\* 「○」記号は危険率0.05で有意であることを示す

実験室レベルにおける噴霧消毒に有効な消毒資材

[要約] 噴霧消毒に有効な消毒資材は次亜塩素酸ナトリウム・塩酸希釈混合水であり、*Salmonella Enteritidis*(SE)を試験管内で10秒以内で殺菌し、実験室内での噴霧消毒で*Staphylococcus aureus*(*Sta. aureus*)及び*Escherichia coli*(*E. coli*) に対して最も殺菌効果がある。

三重県科学技術振興センター  
農業技術センター（畜産）中小家畜グループ

連絡先 05984-2-2029

|     |         |    |      |    |     |    |    |
|-----|---------|----|------|----|-----|----|----|
| 部会名 | 畜産・草地部会 | 専門 | 飼育管理 | 対象 | 家禽類 | 分類 | 研究 |
|-----|---------|----|------|----|-----|----|----|

[背景・ねらい]

近年、鶏卵・鶏肉及びその加工品によるSE汚染に起因するサルモネラ食中毒が増加していることから、養鶏場におけるSE汚染防止対策が社会的な要請となっている。そこで、従来の鶏舎消毒とは異なる、鶏存在下で行える消毒方法として噴霧消毒について検討するため、実用化への予備試験として噴霧消毒に最適な消毒資材を実験室レベルで明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. SEに対する試験管内殺菌効果を弱酸性及び強酸性電解水（食塩・塩酸を少量含む水を電気分解した時生成する水）、次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水（12%次亜塩素酸Naと8.5%塩酸を混合しpHを7程度に調整した水）、焼成Ca飽和上清液、オゾン水、カテキン、ヒノキチオール、逆性石鹼（2種類）の計9種類の消毒資材で行ったところ、有機物存在下で10秒以内にSEを殺菌した消毒資材は、弱酸性及び強酸性電解水、次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水及び逆性石鹼Bの500倍液であった（表1）。
2. 1辺90cm立方体の閉鎖空間で床面に*Sta. aureus*及び*E. coli*をそれぞれ菌液を塗布したろ紙を置き、4種類の消毒資材50mlを噴霧後15分感作させ殺菌効果を測定すると次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水（残留塩素濃度90ppm）が蒸留水、逆性石鹼B500倍液、焼成Ca飽和上清液に比べ最も有効であった（表2）。
3. 1辺90cm立方体の閉鎖空間で*Sta. aureus*及び*E. coli*を含有した菌液40ml噴霧後、4種類の各消毒資材40mlを噴霧し、噴霧終了1分、5分、15分後に10秒間の落下細菌数を測定すると次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水（残留塩素濃度90ppm）が蒸留水、逆性石鹼B500倍液、焼成Ca飽和上清液に比べ最も有効であった（表3）。
4. 1辺90cm立方体の閉鎖空間で*Sta. aureus*を含有した菌液40ml噴霧後、次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水の残留塩素濃度及び噴霧量を変えて噴霧し、1分、5分、15分後の落下細菌数を測定すると残留塩素濃度が高く噴霧量の多い方が有効であった。なお、10CFU/mlレベルの菌量に対して次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水の残留塩素濃度50ppmを20ml又は90ppmを10ml噴霧することで殺菌できた（表4）。

[成果の活用と留意点]

1. 実験室レベルの成績であるため、鶏存在下の鶏舎で有効性を検討する必要がある。

[具体的データ]

表1. SEに対する各種消毒資材の試験管内殺菌効果

| 消毒資材            | 濃度     | 有機物   |       | 消毒資材    | 濃度       | 有機物   |       |       |
|-----------------|--------|-------|-------|---------|----------|-------|-------|-------|
|                 |        | 無     | 有     |         |          | 無     | 有     |       |
| 弱酸性電解水          | 50ppm  | 10秒以内 | 10秒以内 | カテキン    | 250ppm   | 効果なし  | 効果なし  |       |
|                 | 80ppm  | 10秒以内 | 10秒以内 |         | 500ppm   | 効果なし  | 効果なし  |       |
| 強酸性電解水          | 50ppm  | 10秒以内 | 10秒以内 | ヒノキチオール | 1000ppm  | 効果なし  | 効果なし  |       |
| 次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水 | 50ppm  | 10秒以内 | 10秒以内 |         | 10μg/ml  | 効果なし  | 効果なし  |       |
|                 | 200ppm | 10秒以内 | 10秒以内 |         | 50μg/ml  | 効果なし  | 効果なし  |       |
|                 | 焼成Ca   | 0.01% | 効果なし  | 効果なし    | 100μg/ml | 効果なし  | 効果なし  |       |
| オゾン水            | 4ppm   | 0.02% | 効果なし  | 効果なし    | 逆性石鹼A    | 500倍  | 10秒以内 | 60秒以内 |
|                 |        | 0.04% | 効果なし  | 効果なし    |          | 2000倍 | 60秒以内 | 60秒以内 |
|                 |        | 1ppm  | 効果なし  | 効果なし    | 逆性石鹼B    | 500倍  | 10秒以内 | 10秒以内 |
|                 |        |       |       |         | 2000倍    | 30秒以内 | 30秒以内 |       |

注) 効果なし: 作用時間5分間で殺菌できないもの

弱酸性電解機能水A・B及び次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水の濃度は、残留塩素濃度を表示

表2 噴霧殺菌効果 (I)

| 滴下菌   | <i>Sta. aureus</i> | <i>E. coli</i>     |
|-------|--------------------|--------------------|
| 菌数    | $2.29 \times 10^6$ | $1.61 \times 10^6$ |
| 蒸留水   | $1.49 \times 10^5$ | $3.21 \times 10^5$ |
| 機能水   | $2.24 \times 10^4$ | $4.40 \times 10^4$ |
| 逆性石鹼B | $2.16 \times 10^5$ | $2.72 \times 10^5$ |
| 焼成Ca  | $2.13 \times 10^5$ | $2.37 \times 10^5$ |
| 噴霧なし  | $1.81 \times 10^5$ | $3.32 \times 10^5$ |

菌液塗布ろ紙に薬液50ml噴霧 (CFU/ml)  
機能水: 次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水

表3 噴霧殺菌効果 (II)

| 噴霧菌   | <i>Sta. aureus</i> |    |     | <i>E. coli</i>     |    |     |
|-------|--------------------|----|-----|--------------------|----|-----|
| 菌数    | $5.00 \times 10^7$ |    |     | $4.76 \times 10^6$ |    |     |
| 経過時間  | 1分                 | 5分 | 15分 | 1分                 | 5分 | 15分 |
| 蒸留水   | 168                | 12 | 7   | 60                 | 10 | 1   |
| 機能水   | 8                  | 1  | 0   | 0                  | 0  | 0   |
| 逆性石鹼B | 177                | 12 | 3   | 87                 | 7  | 0   |
| 焼成Ca  | 140                | 13 | 7   | 30                 | 4  | 2   |

菌液40ml噴霧後薬液40ml噴霧 (CFU/20cm<sup>2</sup>)  
機能水: 次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水

表4 機能水(次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水)の噴霧殺菌効果

| 試験          | I                  |    |    |    | II                 |     |    |    | III                |    |    |    |
|-------------|--------------------|----|----|----|--------------------|-----|----|----|--------------------|----|----|----|
|             | <i>Sta. aureus</i> |    |    |    | <i>Sta. aureus</i> |     |    |    | <i>Sta. aureus</i> |    |    |    |
| 菌数 (CFU/ml) | $6.5 \times 10^5$  |    |    |    | $3.1 \times 10^6$  |     |    |    | $5.7 \times 10^5$  |    |    |    |
| 濃度 (ppm)    | 50                 | 50 | 90 | 90 | 50                 | 50  | 50 | 50 | 90                 | 90 | 90 | 90 |
| 量 (ml)      | 20                 | 40 | 20 | 40 | 0                  | 5   | 10 | 20 | 0                  | 10 | 20 | 40 |
| 1分          | 0                  | 0  | 0  | 0  | 1114               | 79  | 26 | 6  | 382                | 0  | 0  | 0  |
| 5分          | 0                  | 0  | 0  | 0  | 95                 | 13  | 7  | 9  | 34                 | 0  | 0  | 0  |
| 15分         | 0                  | 0  | 0  | 0  | 658                | 189 | 11 | 0  | 8                  | 0  | 0  | 0  |

菌液40ml噴霧後、次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水各量噴霧 (CFU/20cm<sup>2</sup>)

[その他]

研究課題名: 地域特産鶏肉・鶏卵の安全性確保のためのサルモネラ汚染防止技術の確立

予算区分: 国補 (地域実用化)

研究期間: 平成12年度 (平成11年~13年)

研究担当者: 巽俊彰, 伊藤英雄

wpaia

差出人: Yuji Takahashi [takaha@affrc.go.jp]  
送信日時: 2010年10月20日水曜日 16:06  
宛先: wpaia@tk2.so-net.ne.jp; m-araii@ca3.so-net.ne.jp  
件名: 「アスファ水」の口蹄疫ウイルスへの効果の検証について

オレア株式会社  
荒井様

「アスファ水」の口蹄疫ウイルスへの効果の検証について

回答が遅れまして申し訳ありませんでした。

ご存じの通り、口蹄疫ウイルスを用いる試験は日本では動物衛生研究所海外病研究施設（東京都小平市）でのみ行う事が出来ます。

優先順位として、国から依頼される病性鑑定がトップであり、現状でも依頼が無くなったわけではありません。

同様のお問い合わせが他からも多数来ておりますが、現段階では全てお断りしているところです。

送付いただいた資料の中で、

「アスファ水は、細菌、真菌、ウイルス、芽胞など薬剤に弱い菌から強い菌まで多くの微生物を死滅させる事が出来ます。」

「実際に、細菌（グラム陰性・グラム陽性・芽胞形成菌の芽胞）真菌（酵母および糸状菌）ウイルスの一部に対して効果がある事が日本食品分析センター他の試験で明らかになって居ります。」

と書かれておられ、データもあるのしょうから、畜産農家における口蹄疫の防疫対策・畜舎の消臭などの取り組みへの提案に口蹄疫への効果の実証試験データを付け加える必要はないかと思慮します。

仮に実証試験をするのであれば、口蹄疫ウイルスの類似ウイルスとしてライノウイルスがあります。

これは口蹄疫ウイルスと同じくピコルナウイルス科に属するRNAウイルスで、ヒトラインウイルスは風邪（普通感冒）の代表的な原因ウイルスとして知られています。

ライノウイルスは、ウイルスの分類や特性（pHに関する感受性）において口蹄疫ウイルスに類似しますが過去に口蹄疫ウイルスの代替として消毒薬の効果に利用されたという記述の文献は確認できていません。

このウイルスならば BSL2 施設と安全キャビネットが必要なだけであり、全国都道府県の衛生研究所等でも取扱いが可能です。

以上のような状況である事をご理解下さいますよう、よろしく申し上げます。

-----  
独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構  
動物衛生研究所 企画管理部業務推進室企画チーム  
企画チーム長 主任研究員  
高橋雄治 (Yuji Takahashi)  
〒305-0856 茨城県つくば市観音台 3-1-5  
TEL. 029-828-7895, FAX. 029-828-7907  
E-mail: [takaha@affrc.go.jp](mailto:takaha@affrc.go.jp)  
-----



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 508070583-001 号  
2008年(平成20年)08月29日

依頼者 株式会社 オレア

検体 オレア水溶液 200ppm

表題 雌マウスを用いた急性経口毒性試験

2008年(平成20年)07月23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は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター



|       |                               |
|-------|-------------------------------|
| 東京本部  | 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号    |
| 大阪支所  | 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号       |
| 名古屋支所 | 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号    |
| 九州支所  | 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号     |
| 多摩研究所 | 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号   |
| 千歳研究所 | 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番       |
| 彩都研究所 | 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号 |

## 雌マウスを用いた急性経口毒性試験

### 要 約

オレア水溶液 200ppmを検体として、雌マウスを用いた急性経口毒性試験(限度試験)を行った。試験群には20 mL/kgの用量の検体原液を、対照群には注射用水を雌マウスに単回経口投与し、14日間観察を行った。その結果、観察期間中に異常及び死亡例は認められなかった。このことから、検体のマウスにおける単回経口投与によるLD50値は、雌では20 mL/kg以上であるものと考えられた。

### 依 頼 者

株式会社 オレア

### 検 体

オレア水溶液 200ppm

### 試験実施期間

平成20年08月06日～平成20年08月29日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
安全性試験部 安全性試験課  
川本 康晴

### 試験実施者

永井 武 , 小澤 美来 , 鈴木 美そら

本資料は、私(他3名)が実施した試験に基づいて作成されたものに相違ありません。

平成20年08月29日  
川本康晴

## 1 試験目的

検体について、雌マウスにおける急性経口毒性を調べる。

## 2 検 体

オレア水溶液 200ppm

性状：無色透明液体

## 3 試験動物

5週齢のICR系雌マウスを日本エスエルシー株式会社から購入し、約1週間の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、試験に使用した。試験動物はポリカーボネート製ケージに各5匹収容し、室温23℃±2℃、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料[マウス、ラット用固型飼料；ラボMRストック、日本農産工業株式会社]及び飲料水(水道水)は自由に摂取させた。

## 4 試験方法

検体原液を投与する試験群及び対照として注射用水を投与する対照群を設定し、各群につきそれぞれ5匹を用いた。

投与前に約4時間試験動物を絶食させた。体重を測定した後、試験群には検体原液、対照群には注射用水をそれぞれ20 mL/kgの投与容量で胃ゾンデを用いて強制単回経口投与した。

観察期間は14日間とし、投与日は頻回、翌日から1日1回の観察を行った。投与後7及び14日に体重を測定し、t-検定により有意水準5%で群間の比較を行った。観察期間終了時に動物すべてを剖検した。

## 5 試験結果

### 1) 死亡例

いずれの投与群においても、観察期間中に死亡例は認められなかった。

### 2) 一般状態

いずれの投与群においても、観察期間中に異常は見られなかった。

### 3) 体重変化(表-1)

投与後7及び14日の体重測定において、試験群は対照群と比べ体重値に差は見られなかった。

### 4) 剖検所見

観察期間終了時の剖検では、すべての試験動物に異常は見られなかった。

## 6 考 察

検体について、雌マウスを用いた急性経口毒性試験(限度試験)を実施した。

検体原液を20 mL/kgの用量で単回経口投与した結果、観察期間中に異常及び死亡例は認められなかった。したがって、検体のマウスにおける単回経口投与によるLD50値は、雌では20 mL/kg以上であるものと考えられた。

## 7 参考文献

- OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 420(2001)

表-1 体重変化

| 投与群 | 投与前          | 投与後(日)       |              |
|-----|--------------|--------------|--------------|
|     |              | 7            | 14           |
| 試験群 | 26.6±1.3 (5) | 28.8±1.8 (5) | 31.5±2.7 (5) |
| 対照群 | 26.7±1.7 (5) | 29.1±1.7 (5) | 30.6±2.3 (5) |

体重は平均値±標準偏差で表した(単位:g)。

括弧内に動物数を示した。

以 上



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 508070583-003 号  
2008年(平成20年)09月10日

依頼者 株式会社 オレア

検体 オレア水溶液 200ppm

表題 ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

2008年(平成20年)07月23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は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番  
彩都研究所 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

## ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

### 要 約

オレア水溶液 200ppmを検体として、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 404(2002)に準拠し、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験を行った。

検体をウサギ3匹の無傷及び有傷皮膚に4時間閉鎖適用した。その結果、除去後1時間に全例で非常に軽度～はっきりした紅斑が見られたが、24時間に消失した。

Federal Register(1972)に準拠して求めた一次刺激性インデックス(P.I.I.)は0.4となり、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験において、検体は「無刺激性」の範疇に入るものと評価された。

### 依 頼 者

株式会社 オレア

### 検 体

オレア水溶液 200ppm

### 試験実施期間

平成20年08月11日～平成20年09月10日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
安全性試験部 安全性試験課  
川本 康晴

### 試験実施者

永井 武 , 小澤 美来 , 鈴木 美そら

本資料は、私(他3名)が実施した試験に基づいて作成されたものに相違ありません。

平成20年09月10日

川本康晴

## 1 試験目的

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 404(2002)に準拠し、ウサギにおける皮膚一次刺激性を調べる。

## 2 検 体

オレア水溶液 200ppm

性状：無色透明液体

## 3 試験動物

日本白色種雄ウサギを北山ラベス株式会社から購入し、1週間以上の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、3匹を試験に使用した。試験動物はFRP製ケージに個別に収容し、室温22℃±2℃、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料はウサギ・モルモット用固型飼料[LRC4、オリエンタル酵母工業株式会社]を制限給与し、飲料水は水道水を自由摂取させた。

## 4 試験方法

各々の試験動物の体幹背部被毛を試験の約24時間前に剪毛した。

試験動物1匹につき、約6 cm<sup>2</sup>の面積で4箇所を設定し、そのうち2箇所には18ゲージの注射針を用いて、真皮までは達しないように角化層に井げた状のすり傷を付け(有傷皮膚)、他の2箇所を無処置(無傷皮膚)とした。

約2 cm×3 cmに裁断したガーゼパッチに検体0.5 mLを均一に塗布し、無傷及び有傷皮膚の各1箇所ずつに適用した後、ヤールバンHY[ニチバン株式会社]で固定した。また、パッチが皮膚と接触するように、更にプレンダームサージカルテープ[スリーエムヘルスケア株式会社]で保持した。残りの無傷及び有傷皮膚は対照とした。

適用時間は4時間とし、その後パッチを取り除き、適用部位を純水で清拭した。除去後1、24、48及び72時間に観察を行い、表-1に従って刺激反応の採点を実施した。

また、Federal Register(1972)に準拠して、パッチ除去後1、24及び48時間の採点値を合計して6で除し、更に各試験動物の平均を算出して一次刺激性インデックス(P. I. I.)とし、表-2に示したISO 10993-10の基準に基づき、検体の刺激性の評価を行った。

なお、試験開始時及び試験終了時に試験動物の体重を測定した。

## 5 試験結果(表-3及び4)

除去後1時間に2例(試験動物①及び③)の無傷及び有傷皮膚で非常に軽度な紅斑(点数1), 残る適用部位ではっきりした紅斑(点数2)が見られたが, 24時間に消失し, その後刺激反応は見られなかった。

採点結果から算出したP. I. I. は, 0.4となった。

なお, 無処置の無傷及び有傷皮膚においては, 観察期間を通して刺激反応は見られなかった。

## 6 結 論

検体について, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 404(2002)に準拠し, ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験を行った。

その結果, 除去後1時間に全例で非常に軽度～はっきりした紅斑が見られたが, 24時間に消失した。

Federal Register(1972)に準拠して求めた一次刺激性インデックス(P. I. I.)は0.4となり, ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験において, 検体は「無刺激性」の範疇に入るものと評価された。

## 7 参考文献

- Federal Register, 37 (244), December, 19, 1972, § 191.11 Test for Primary Skin Irritants.
- ISO 10993-10 Biological Evaluation of Medical Devices-Part 10: Tests for irritation and delayed-type hypersensitivity 6.3 Animal skin irritation test (2002).

表-1 皮膚反応の評価

紅斑及び痂皮の形成

|                         |    |
|-------------------------|----|
| 紅斑なし                    | 0  |
| 非常に軽度な紅斑(かろうじて識別できる)    | 1  |
| はっきりした紅斑                | 2  |
| 中等度ないし高度紅斑              | 3  |
| 高度紅斑からわずかな痂皮の形成(深部損傷まで) | 4* |

[最高点4]

\* 出血、潰瘍及び壊死は深部損傷として点数4に分類した。

浮腫の形成

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| 浮腫なし                        | 0 |
| 非常に軽度な浮腫(かろうじて識別できる)        | 1 |
| 軽度浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる) | 2 |
| 中等度浮腫(約1 mmの膨隆)             | 3 |
| 高度浮腫(1 mm以上の膨隆と曝露範囲を超えた広がり) | 4 |

[最高点4]

表-2 ウサギにおける一次刺激反応のカテゴリー

| 反応のカテゴリー | P. I. I. |
|----------|----------|
| 無刺激性     | 0~0.4    |
| 弱い刺激性    | 0.5~1.9  |
| 中等度の刺激性  | 2~4.9    |
| 強い刺激性    | 5~8      |

表-3 試験動物の体重(kg)

| 試験動物 | 試験開始時 | 試験終了時 |
|------|-------|-------|
| ①    | 3.36  | 3.49  |
| ②    | 3.13  | 3.10  |
| ③    | 2.79  | 2.88  |

表-4 皮膚反応の採点結果

| 観察時間<br>(時間) | 試験動物① |     | 試験動物② |     | 試験動物③ |     |
|--------------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
|              | 無傷    | 有傷  | 無傷    | 有傷  | 無傷    | 有傷  |
| 1            | 1/0   | 1/0 | 2/0   | 2/0 | 1/0   | 1/0 |
| 24           | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 |
| 48           | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 |
| 72           | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 | 0/0   | 0/0 |

結果は紅斑・痂皮/浮腫の順に示した。

以 上



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 508070583-002号  
2008年(平成20年)08月29日

依頼者 株式会社 オレア

検体 オレア水溶液 200ppm

表題 ウサギを用いた眼刺激性試験

2008年(平成20年)07月23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は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番  
彩都研究所 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

## ウサギを用いた眼刺激性試験

### 要 約

オレア水溶液 200ppmを検体として、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 405(2002)に準拠し、ウサギを用いた眼刺激性試験を行った。

ウサギ3匹の片眼に検体を0.1 mL点眼した結果、点眼後1時間に1例で眼瞼結膜の発赤が見られたが、24時間に消失した。

Draize法に従って算出した観察期間中の平均合計評点の最高値は0.7(点眼後1時間)であった。

以上の結果から、ウサギを用いた眼刺激性試験において、検体は「無刺激物」の範疇にあるものと評価された。

### 依 頼 者

株式会社 オレア

### 検 体

オレア水溶液 200ppm

### 試験実施期間

平成20年07月28日～平成20年08月29日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
安全性試験部 安全性試験課  
川本 康晴

### 試験実施者

永井 武 , 小澤 美来 , 鈴木 美そら

本資料は、私(他3名)が実施した試験に基づいて作成されたものに相違ありません。

平成20年08月29日

川本康晴 印

## 1 試験目的

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 405(2002)に準拠し、ウサギにおける眼刺激性を調べる。

## 2 検 体

オレア水溶液 200ppm

性状：無色透明液体

## 3 試験動物

日本白色種雄ウサギを北山ラベス株式会社から購入し、1週間以上の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、3匹を試験に使用した。試験動物はFRP製ケージに個別に収容し、室温22℃±2℃、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料はウサギ・モルモット用固型飼料[LRC4、オリエンタル酵母工業株式会社]を制限給与し、飲料水は水道水を自由摂取させた。

## 4 試験方法

各試験動物の両眼の前眼部を試験開始当日に検査し、異常のないことを確かめた。

体重測定後、各試験動物の片眼結膜囊内に検体を0.1 mL点眼し、約1秒間上下眼瞼を穏やかに合わせ保持した。他眼は無処置の対照とした。点眼後1、24、48及び72時間に、スリットランプ(×10)[興和株式会社]を用いて角膜、虹彩、結膜などの観察を行い、表-1に示したDraize法の基準に従って眼刺激性の程度を採点した。

なお、点眼後1時間を除く各観察時間にフルオレセインナトリウムを用いて、角膜上皮障害の有無と程度を詳細に観察した。

得られた採点値を用いて各試験動物の合計評点を表-2に示した式から計算し、観察時間ごとに3匹の平均合計評点を求めた。観察期間中の平均合計評点の最高値から、表-3に示した基準に基づき、検体の眼刺激性について評価を行った。

## 5 試験結果(表-4~8)

試験眼では、点眼後1時間に1例(試験動物③)で眼瞼結膜の発赤(点数1)が見られたが、24時間に消失し、その後刺激反応は見られなかった。残る2例では、観察期間を通して刺激反応は見られなかった。対照眼では、全例で観察期間を通して刺激反応は見られなかった。また、試験眼及び対照眼について、フルオレセインナトリウムによる検査を行ったところ、すべての観察時間においていずれも染色は見られなかった。

観察期間中の平均合計評点の最高値は、試験眼では0.7(点眼後1時間)、対照眼では0であった。

## 6 評価

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 405(2002)に準拠し、ウサギを用いた眼刺激性試験を行った。

ウサギ3匹の片眼に検体を0.1 mL点眼した結果、点眼後1時間に1例で眼瞼結膜の発赤が見られたが、24時間に消失した。

Draize法に従って算出した観察期間中の平均合計評点の最高値は0.7(点眼後1時間)であった。

以上の結果から、ウサギを用いた眼刺激性試験において、検体は「無刺激物」の範疇にあるものと評価された。

## 7 参考文献

- ・ “Appraisal of the Safety of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics” (1959)  
The Association of Food and Drug Officials of the United States.

表-1 眼障害の評価

(1) 角 膜

(A) 混濁の程度(最も濃い領域を判定する)

|                           |   |
|---------------------------|---|
| 透明, 混濁なし                  | 0 |
| 散在性及びび慢性混濁, 虹彩細部は明瞭に認める   | 1 |
| 半透明で容易に識別可, 虹彩細部はやや不明瞭    | 2 |
| 乳濁, 虹彩紋理認めず, 瞳孔の大きさをやと認める | 3 |
| 白濁, 虹彩は認めない               | 4 |

(B) 角膜混濁部の面積(S)

|                    |   |
|--------------------|---|
| $0 < S \leq 1/4$   | 1 |
| $1/4 < S \leq 1/2$ | 2 |
| $1/2 < S \leq 3/4$ | 3 |
| $3/4 < S \leq 4/4$ | 4 |

[評点 = A × B × 5                      最高評点 ..... 80]

(2) 虹 彩

(A) 正 常 ..... 0

|   |   |
|---|---|
| 正常以上のひだ, うっ血, 腫脹, 角膜周囲充血の1つ<br>又はいくつかを認めるが, 多少とも対光反射はある | 1 |
| 対光反射なし, 出血, 著しい組織破壊の1つ又は<br>いくつかを認める                    | 2 |

[評点 = A × 5                      最高評点 ..... 10]

(3) 結 膜

(A) 眼瞼結膜及び眼球結膜の発赤

|                       |   |
|-----------------------|---|
| 血管は正常                 | 0 |
| 明らかに血管充血              | 1 |
| び慢性, 深紅色で個々の血管は識別しにくい | 2 |
| び慢性の牛肉様の赤色            | 3 |

(B) 結膜の浮腫

|                 |   |
|-----------------|---|
| 腫脹なし            | 0 |
| いくぶん腫脹(瞬膜を含む)   | 1 |
| 明らかな腫脹, 眼瞼が少し外反 | 2 |
| 腫脹, 眼瞼半分閉じる     | 3 |
| 腫脹, 眼瞼半分以上閉じる   | 4 |

(C) 分泌物

|                        |   |
|------------------------|---|
| 認めない                   | 0 |
| 少し認める                  | 1 |
| 分泌物で眼瞼とそのすぐ近くの毛を濡らす    | 2 |
| 分泌物で眼瞼と周囲の毛のかなりの部分を濡らす | 3 |

[評点 = (A + B + C) × 2                      最高評点 ..... 20]

表-2 合計評点の算出方法

| 部 位                     | 計算式                    | 最高評点 |
|-------------------------|------------------------|------|
| (1) 角 膜                 | $A \times B \times 5$  | 80   |
| (2) 虹 彩                 | $A \times 5$           | 10   |
| (3) 結 膜                 | $(A + B + C) \times 2$ | 20   |
| (1) + (2) + (3) = 合計評点* |                        | 110  |

A, B及びCは, 表-1における(A), (B)及び(C)の採点値を示す。

\* 観察時間ごとに算出する。

表-3 眼刺激性の評価

| 平均合計評点の最高値   | 区 分     |
|--------------|---------|
| 0 ~ 5.0      | 無刺激物    |
| 5.1 ~ 15.0   | 軽度刺激物   |
| 15.1 ~ 30.0  | 刺激物     |
| 30.1 ~ 60.0  | 中等度刺激物  |
| 60.1 ~ 80.0  | 中～強度刺激物 |
| 80.1 ~ 110.0 | 強度刺激物   |

表-4 試験動物の体重(試験開始時)

| 試験動物 | 体重(kg) |
|------|--------|
| ①    | 2.70   |
| ②    | 2.68   |
| ③    | 2.84   |

表-5 合計評点の経時的推移及び眼刺激性の評価

| 試験動物    | 各観察時間における合計評点 |       |       |       |
|---------|---------------|-------|-------|-------|
|         | 1時間           | 24時間  | 48時間  | 72時間  |
| ①       | 0 (0)         | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| ②       | 0 (0)         | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| ③       | 2 (0)         | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 平均合計評点  | 0.7 (0)       | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 眼刺激性の評価 | 無刺激物          |       |       |       |

括弧内に対照眼の結果を示した。

表-6 試験動物①の採点結果

| 観察部位               |           | 採点結果  |       |       |       |
|--------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|
|                    |           | 1時間   | 24時間  | 48時間  | 72時間  |
| (1) 角膜             | 混濁の程度 (A) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
|                    | 混濁部面積 (B) | - (-) | - (-) | - (-) | - (-) |
| (2) 虹彩             | (A)       | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| (3) 結膜             | 発赤 (A)    | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
|                    | 浮腫 (B)    | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
|                    | 分泌物 (C)   | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 評点(1) = A×B×5      |           | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 評点(2) = A×5        |           | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 評点(3) = (A+B+C)×2  |           | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 合計評点 [(1)+(2)+(3)] |           | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-7 試験動物②の採点結果

| 観察部位                           |          | 採点結果 |      |      |      |
|--------------------------------|----------|------|------|------|------|
|                                |          | 1時間  | 24時間 | 48時間 | 72時間 |
| (1)角膜                          | 混濁の程度(A) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 混濁部面積(B) | -(-) | -(-) | -(-) | -(-) |
| (2)虹彩                          | (A)      | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| (3)結膜                          | 発赤(A)    | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 浮腫(B)    | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 分泌物(C)   | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(1) = $A \times B \times 5$  |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(2) = $A \times 5$           |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(3) = $(A + B + C) \times 2$ |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 合計評点 [(1) + (2) + (3)]         |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-8 試験動物③の採点結果

| 観察部位                           |          | 採点結果 |      |      |      |
|--------------------------------|----------|------|------|------|------|
|                                |          | 1時間  | 24時間 | 48時間 | 72時間 |
| (1)角膜                          | 混濁の程度(A) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 混濁部面積(B) | -(-) | -(-) | -(-) | -(-) |
| (2)虹彩                          | (A)      | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| (3)結膜                          | 発赤(A)    | 1(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 浮腫(B)    | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
|                                | 分泌物(C)   | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(1) = $A \times B \times 5$  |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(2) = $A \times 5$           |          | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 評点(3) = $(A + B + C) \times 2$ |          | 2(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 合計評点 [(1) + (2) + (3)]         |          | 2(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

以 上



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 109072095-001 号  
2009年(平成21年)08月24日

依頼者 株式会社 オレア

検体 オレア水溶液 100ppm

表題 ウイルス不活化試験

2009年(平成21年)07月10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は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番  
彩都研究所 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

## ウイルス不活化試験

### 1 依頼者

株式会社 オレア

### 2 検体

オレア水溶液 100ppm

### 3 試験目的

検体のインフルエンザウイルスに対する不活化試験を行う。

### 4 試験概要

検体にインフルエンザウイルス浮遊液を添加，混合し，作用液とした。室温で作用させ，1及び3分後に作用液のウイルス感染価を測定した。

なお，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。

### 5 試験結果

結果を表-1に示した。

なお，細胞維持培地で作用液を100倍に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予備試験により確認した。

表-1 作用液のウイルス感染価測定結果

| 試験<br>ウイルス      | 対 象 | log TCID <sub>50</sub> /ml* |      |      |
|-----------------|-----|-----------------------------|------|------|
|                 |     | 開始時                         | 1分後  | 3分後  |
| インフルエンザ<br>ウイルス | 検 体 | 7.0                         | <2.5 | <2.5 |
|                 | 対 照 | 7.0                         | ***  | 7.0  |

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

\* 作用液1 ml当たりのTCID<sub>50</sub>の対数値

開始時: 作用開始直後の対照のTCID<sub>50</sub>を測定し，開始時とした。

対照: 精製水

作用温度: 室温

ウイルス浮遊液: 精製水で10倍に希釈したもの

<2.5: 検出せず

\*\*\*: 試験実施せず

## 6 試験方法

### 1) 試験ウイルス

インフルエンザウイルスA型 (H1N1)

### 2) 使用細胞

MDCK (NBL-2)細胞 ATCC CCL-34株[大日本製薬株式会社]

### 3) 使用培地

#### ① 細胞増殖培地

イーグルMEM培地「ニッスイ」①[日水製薬株式会社]に牛胎仔血清を10%加えたものを使用した。

#### ② 細胞維持培地

以下の組成の培地を使用した。

|                        |          |
|------------------------|----------|
| イーグルMEM培地「ニッスイ」①       | 1,000 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    |

### 4) ウイルス浮遊液の調製

#### ① 細胞の培養

細胞増殖培地を用い、使用細胞を組織培養用フラスコ内に単層培養した。

#### ② ウイルスの接種

単層培養後にフラスコ内から細胞増殖培地を除き、試験ウイルスを接種した。次に、細胞維持培地を加えて37℃±1℃の炭酸ガスインキュベーター(CO<sub>2</sub>濃度:5%)内で1~5日間培養した。

#### ③ ウイルス浮遊液の調製

培養後、倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態を観察し、細胞に形態変化(細胞変性効果)が起きていることを確認した。次に、培養液を遠心分離(3,000 r/min, 10分間)し、得られた上澄み液を精製水で10倍に希釈し、ウイルス浮遊液とした。

### 5) 試験操作

検体1 mlにウイルス浮遊液0.1 mlを添加、混合し、作用液とした。室温で作用させ、1及び3分後に細胞維持培地を用いて100倍に希釈した。

なお、精製水を対照として同様に試験し、開始時及び3分後について測定を行った。

6) ウイルス感染価の測定

細胞増殖培地を用い、使用細胞を組織培養用マイクロプレート(96穴)内で単層培養した後、細胞増殖培地を除き細胞維持培地を0.1 mlずつ加えた。次に、作用液の希釈液0.1 mlを4穴ずつに接種し、37℃±1℃の炭酸ガスインキュベーター(CO<sub>2</sub>濃度：5%)内で4～7日間培養した。培養後、倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態変化(細胞変性効果)の有無を観察し、Reed-Muench法により50%組織培養感染量(TCID<sub>50</sub>)を算出して作用液1 ml当たりのウイルス感染価に換算した。

以 上

## オレア水溶液の抗菌作用

### I. 検討菌株

- ① Haemophilus influenzae(ATCC 49247) イソフラエンザ球菌
- ② Staphylococcus aureus(ATCC 25923) 黄色ブドウ球菌
- ③ Escherichia coli(ATCC 25922) 大腸菌
- ④ Streptococcus pneumoniae(ATCC 49619) 肺炎球菌
- ⑤ Pseudomonas aeruginosa(ATCC 27853) 緑膿菌

### II. 方法

#### 混合法

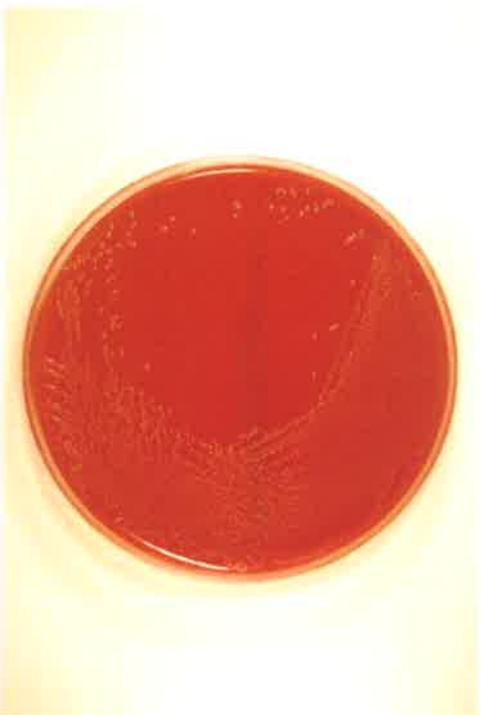
- ① それぞれの菌を 35℃で培養後、滅菌生食に浮遊させ、Mafarland 標準液 No.0.5 に相当する濃度に調整した。
- ② 50ppm のオレア水溶液 2ml に①で調整したそれぞれの菌液を 100  $\mu$ l混合した。
- ③ 混合後 1 分後の②で調整したそれぞれの菌液混合のオレア水溶液 10  $\mu$ lを寒天平板に塗抹し、35℃で培養後菌の発育を観察した。

Mafarland 標準液 No.0.5 . . . Escherichia coli(ATCC25922)株を  $1 \sim 2 \times 10^{(−)8}$

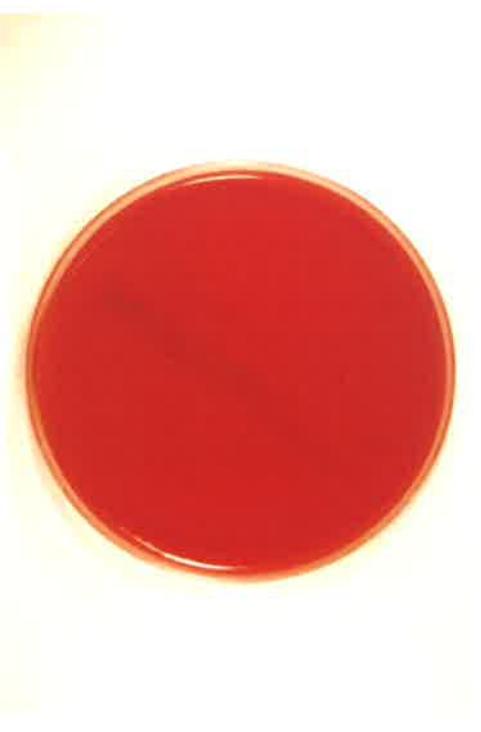
Colony forming units/mlを含む濁りの程度を示します。

埼玉県立小児医療センター細菌検査室  
目白大学クリニック、細菌検査室

1 : Haemophilus influenzae(ATCC 49247) ※インフルエンザ球菌



対照 (3+)



50ppm 1分 発育せず



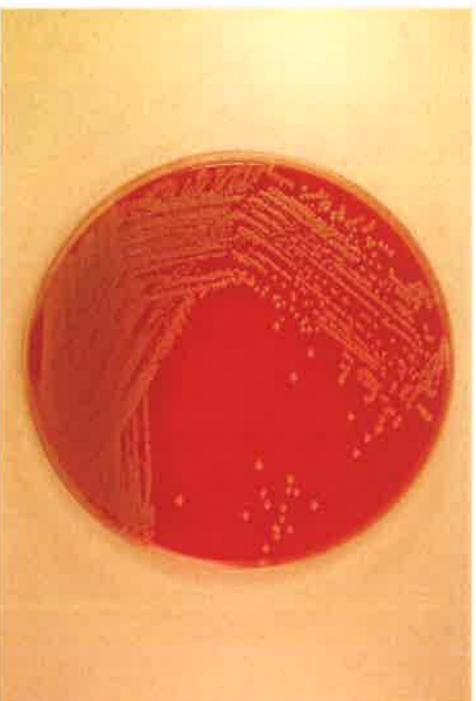
50ppm 5分 発育せず



50ppm 10分 発育せず

2 : *Staphylococcus aureus*(ATCC 25923)

※黄色ブドウ球菌



対照 (3+)



50ppm 1分 発育せず



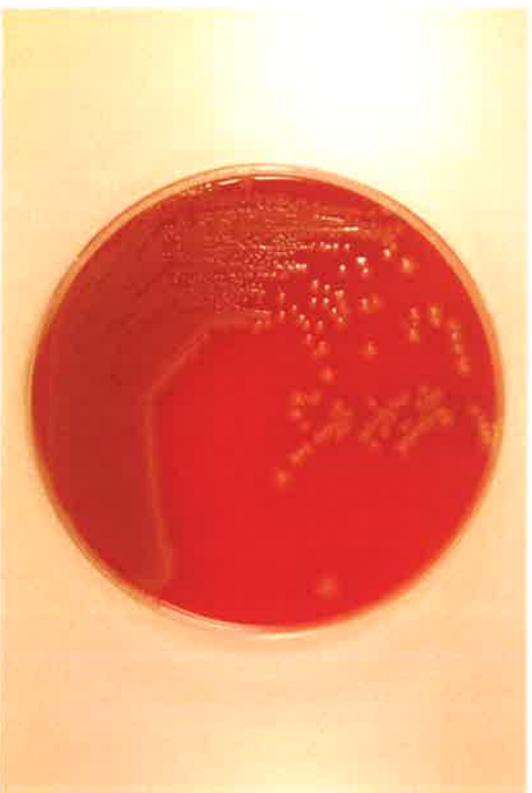
50ppm 5分 発育せず



50ppm 10分 発育せず

3 : *Escherichia coli*(ATCC25922)

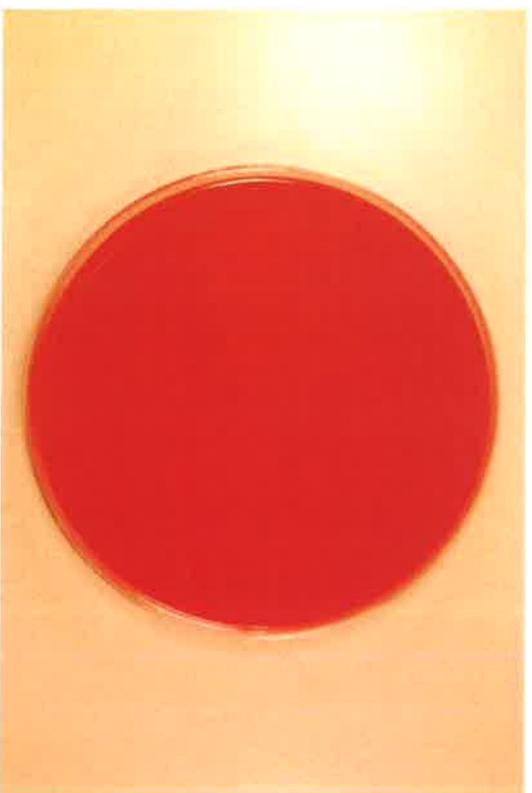
※大腸菌



対照 (3+)



50ppm 1分 発育せず



50ppm 5分 発育せず



50ppm 10分 発育せず

4 : Streptococcus pneumoniae(ATCC 49619)

※肺炎球菌



対照 (3+)



50ppm 1分 発育せず



50ppm 5分 発育せず



50ppm 10分 発育せず

5 : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853)

※緑膿菌



対照 (3+)



50ppm 1分 発育せず



50ppm 5分 発育せず



50ppm 10分 発育せず

# オレアるなどの抗菌作用

## I. 検討菌株

- ① *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- ② *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)
- ③ *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)
- ④ *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619)

## II. 方法

① それぞれの菌を35℃、20時間培養後、滅菌生食に浮遊させ、MaFarland標準液No0.5に相当する濃度に調整した。

② ①の菌液を滅菌スライドガラスに10μl 1塗抹し、乾燥した。

③ オレアるなどのノズルより、約0.5m、約1.0m、約1.5m、約2.0mの距離にスライドガラスを置きアスツァ水溶液を噴霧した。

噴霧時間は、約0.5mの距離では、15秒、約1.0m、約1.5m、約2.0mの距離では1分間とした。

④ ③のスライドガラスを血液寒天培地にスタンプし、35度、20時間培養した。

\*MaFarland標準液No0.5・・・*Escherichia coli* (ATCC 25922)株を $1 \sim 2 \times 10^8$ colony forming units/mlを含む濁りの程度を示します。

|         | 対照  | 0.5m  | 1.0m  |
|---------|---|---|---|
| 大腸菌     |  |  |  |
| 緑膿菌     |  |  |  |
| 黄色ブドウ球菌 |  |  |  |
| 肺炎球菌    |  |  |  |

発行NO 第40407256  
発行日 平成25年7月22日

## 検査結果報告書

依頼者 株式会社 オレア

ユーロヒン日本環境株式会社  
本社・事業所 横浜市金沢区幸浦2-1-13  
電話 045-781-3851  
計量証明 東京都知事登録 第1号  
検査責任者 高木 正浩



検体 オレア水溶液 100ppm

表題 殺菌効果試験

2013年(平成25年)7月22日ユーロヒン日本環境株式会社に提出された上記  
検体について試験した結果をご報告致します。







2005年(平成16年)04月20日

## 試験報告書

依頼者 株式会社 オレア

検体 オレア水溶液 50ppm

表題 殺菌・酵母・カビ不活化試験



2005年(平成15年)3月25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致します。

## 細菌・酵母・カビ不活化試験

### 1 依頼者

株式会社 オレア

### 2 検体

オレアアスファ水50ppm

### 3 試験目的

検体の細菌、酵母、カビに対するアスファ水と次亜塩素酸ナトリウム溶液との比較試験及び不活化試験を行う。

#### 1) 検体

アスファ水50ppm.....検体1

次亜塩素酸ナトリウム50ppm...検体2

次亜塩素酸ナトリウム80ppm...検体3

### 4 試験概要

検体に細菌、酵母、カビ浮遊液を添加、混合し、作用液とした。室温で作用させ、なお、あらかじめ予備試験を行い、検体49mlと菌体1mlを混合し、20℃で10秒、30秒、60秒、5分、10分作用させた後、培養液で10倍に希釈した希釈液の菌数を培養により測定し、試験液1ml当りに概算した。

### 5 試験結果

結果を表-1に示した。

〈10:検出せず

作用温度:20°

添加物菌液の生菌数を測定し、試験液1ml当りに概算した。

### 6 試験方法

#### 1) 試験菌

① *Bacillus subtilis* subsp *Subtilia* IFO03134

表-1 試験液の生菌数測定結果

| 試験菌     | 試験液  | 生菌数 (/ml)         |                   |                   |                   |                   |                   |
|---------|------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|         |      | 開始時※              | 10秒後              | 30秒後              | 50秒後              | 5分後               | 10分後              |
| 枯草菌(芽胞) | 検体1) | $2.8 \times 10^7$ | $1.8 \times 10^7$ | $1.6 \times 10^7$ | $1.9 \times 10^7$ | $8.9 \times 10^5$ | $1.9 \times 10^3$ |
|         | 検体2) | $2.8 \times 10^7$ | $3.1 \times 10^7$ | $1.6 \times 10^7$ | $1.5 \times 10^7$ | $2.0 \times 10^7$ | $2.4 \times 10^7$ |
|         | 検体3) | $2.8 \times 10^7$ | $1.6 \times 10^7$ | $1.9 \times 10^7$ | $2.1 \times 10^7$ | $1.4 \times 10^7$ | $6.7 \times 10^6$ |
| 枯草菌     | 検体1) | $3.2 \times 10^7$ | $2.1 \times 10^6$ | $2.1 \times 10^6$ | $1.7 \times 10^6$ | $5.5 \times 10^5$ | $1.1 \times 10^3$ |
|         | 検体2) | $3.2 \times 10^7$ | $2.4 \times 10^6$ | $2.0 \times 10^6$ | $2.6 \times 10^6$ | $1.8 \times 10^6$ | $2.1 \times 10^6$ |
|         | 検体3) | $3.2 \times 10^7$ | $2.6 \times 10^6$ | $2.2 \times 10^6$ | $2.2 \times 10^6$ | $1.5 \times 10^6$ | $5.5 \times 10^5$ |
| 大腸菌     | 検体1) | $1.0 \times 10^9$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $1.0 \times 10^9$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $1.0 \times 10^9$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
| 緑膿菌     | 検体1) | $1.5 \times 10^9$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $1.5 \times 10^9$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $1.5 \times 10^9$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
| 黄色ブドウ球菌 | 検体1) | $5.8 \times 10^7$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $5.8 \times 10^7$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $5.8 \times 10^7$ | <10               | <10               | <10               | <10               | <10               |
| サッカロミセス | 検体1) | $2.4 \times 10^6$ | $1.8 \times 10^2$ | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $2.4 \times 10^6$ | $3.2 \times 10^6$ | <10               | <10               | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $2.4 \times 10^6$ | $1.5 \times 10^5$ | <10               | <10               | <10               | <10               |
| クロカワカビ  | 検体1) | $2.6 \times 10^5$ | $4.7 \times 10^5$ | $8.4 \times 10^3$ | $1.1 \times 10^2$ | <10               | <10               |
|         | 検体2) | $2.6 \times 10^5$ | $1.7 \times 10^6$ | $4.1 \times 10^5$ | $4.3 \times 10^4$ | <10               | <10               |
|         | 検体3) | $2.6 \times 10^5$ | $1.2 \times 10^6$ | $6.5 \times 10^4$ | $3.3 \times 10^3$ | <10               | <10               |

<10 : 検出せず

作用温度 : 20°C

※ 添加菌液の生菌数を測定し、試験液1mlあたりに換算した。

## 7 試験方法

### 1) 試験菌

- ① *Escherichia coli* IFO3972
- ② *Pseudomonas aeruginosa* IFO13275
- ③ *Staphylococcus aureus* IFO12732
- Yeast
- ④ *Saccharomyces cerevisiae* IFO1950
- Zygomycota
- ⑤ *Cladosporium cladosporioides* IFO6348

### 2) 菌数測定用培地及び培地条件

GPLP寒天培地[日本製薬株式会社]、混釈平板培養法 $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、

### 3) 試験菌液の調製

試験菌をPotato Dextrose Agar (Difco)で $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、7日～14日間培地、検体①～⑥と菌体に浮遊液を添加、混合し浮遊させ、不織布フィルターでろ過した後、菌数が $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ /mLとなるように調製し、試験液とした。

### 4) 試験操作

検体49mLに試験菌液1mL接種し、試験液とした。温室で作用させ、 $20^{\circ}\text{C}$ で10秒、30秒、60秒、5分、10分作用させた後、試験液をSODLP培地[日本製薬株式会社]で直ちに10倍に希釈し、試験液中の生菌数を菌数測定用培地を用いて測定した。

### 5) 有用性

オレアアスファ水溶液50/mg pH50ppm

1) 有効性及び次亜塩素酸ナトリウム溶液(添加物)検体1、検体2との効果の比較  
オレアアスファ水溶液50/mg pH50ppmにすることで有芽胞菌に対する有効性が認められた。枯草菌・枯草菌(芽胞)

### 6) 各種微生物についての殺菌効果

培養した大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、サッカロミセス、クロカワカビ、各種の微生物をオレアアスファ水溶液(pH6,8/50/mg)に添加し生菌数を測定し、殺菌効果を見たところ、これらの微生物に関しては約10秒程で殆んどが死滅した。

8 ⑥ *Bacillus subtilis* IFO03134(枯草菌・芽胞)

試験方法

1) 芽胞液原液に負荷血清を添加し、滅菌イオン交換水で $10^7$ CFU/mLに希釈したものを試験菌液とした。

2) あらかじめ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ に保持した試験品を10mLを50mL容量の遠心管に分取し試験菌液0, 1mLを接種、混合して所定時間作用させた。所定時間作用させた。所定時間作用後に1mLを拭き取り、不活性剤9mLにいれ、試験品の殺菌成分を不活化したものを菌数測定用試料液として菌数を測定した。  
また、試験品の代わりに滅菌生理食塩液を用いて同様に作用したものを対照とした  
※試験品「オレア水溶液」については有効性を確認した。

3) 菌数測定

菌数測定用試料液を原液として、菌数生理食塩液で10倍段階希釈列を作製し、試料液または希釈液の各1mLを無菌的にシャーレに移しTryptic Soy Agar培地20mLと混合後、固化させた。また試料液原液の残り全量を孔径0,  $45 \mu\text{m}$ のメンブランフィルターでろ過し、MFをTSA培地に貼り付けた。 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で40～48時間培養後、培地上またはMF上に発育した集落を数えて、試験品1mLあたりの試験菌数を求めた。

9 次亜塩素酸ナトリウム溶液と次亜塩素酸

次亜塩素酸ナトリウム溶液は、医用器材や血清・液体分泌液などを消毒する際にも使用される抗微生物スペクトルが最も広い消毒薬の一種である。更に、次亜塩素酸ナトリウムは希塩酸等の酸性溶液を加え弱酸性領域(pH5, 5～6, 8)にする事によって塩素化学種のほとんどが、強い殺菌効果を持つ次亜塩素酸(HClO)として存在する事が知られている。本試験「オレア水溶液」は、弱酸性領域(pH6, 8)に調整された次亜塩素酸(HClO)である為、殺芽胞に60分以上必要である0, 5%次亜塩素酸ナトリウム溶液と比較すると、短時間作用(1分間)で優れた殺芽胞効果があることが確認された。

以上、

## 「アスファ水」の口蹄疫ウイルスへの効果の検証について

回答が遅れまして申し訳ありませんでした。

ご存じの通り、口蹄疫ウイルスを用いる試験は日本では動物衛生研究所海外病研究施設（東京都小平市）でのみ行う事が出来ます。

優先順位として、国から依頼される病院鑑定がトップであり、現状でも依頼が無くなったわけではありません。同様のお問い合わせが他からも多数来ておりますが、現段階では全てお断りあひているところです。

送付いただいた資料の中で、

「アスファ水は、細菌、真菌、ウイルス、芽胞など薬剤に弱い菌から強い菌まで多くの微生物を死滅させる事が出来ます。」

「実際に、細菌（グラム陰性・グラム陽性・芽胞形成菌の芽胞）真菌（酵母及び糸状菌）ウイルスの一部に対して効果がある事が日本食品分析センター他の試験で明らかになって居ります。」

と書かれておられ、データもあるのしょうから、畜産農家における口蹄疫の防疫対策・畜舎の消臭などの取り組みへの提案に口蹄疫への効果の実証試験データを付け加える必要はないかと思慮します。

仮に実証試験をするのであれば、口蹄疫ウイルスの類似ウイルスとしてライノウイルスがあります。

これは口蹄疫ウイルスと同じくピコルナウイルス科に属する RNA ウイルスで、ヒトライウイルスは、風邪（普通感冒）の代表的な原因ウイルスとして知られています。

ライノウイルスは、ウイルスの分類や特性（PH に関する感受性）において口蹄疫ウイルスに類似しますが過去に口蹄疫ウイルスの代替として消毒液の効果に利用されたという記述の文献は確認できていません。

このウイルスならば BSL2 施設と安全キャビネットが必要なだけであり、全国都道府県の衛生研究所でも取扱いが可能です。<sup>4</sup>

以上のような状況である事をご理解くださいます様、宜しく申し上げます。

独立法人農業・食品産業技術総合研究機構  
動物衛生研究所 全国管理部業務推進室企画チーム  
企画チーム長 主任研究員  
高橋雄治 (Yuji Takahashi)  
〒305-0856  
茨城県つくば市観音台 3-1-5  
TEL : 029-828-7895 FAX : 029-828-7907

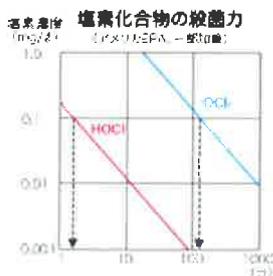
## オレオアスファ水

### ○病原菌に抗菌活性を示したもの

| 微生物      | 殺菌時間    |
|----------|---------|
| 黄色ブドウ球菌  | 10 秒以内  |
| MRSA     | 10 秒以内  |
| 大腸菌 O157 | 10 秒以内  |
| 緑膿菌      | 10 秒以内  |
| セラチア菌    | 10 秒以内  |
| サルモネラ菌   | 10 秒以内  |
| 腸炎ビブリオ菌  | 10 秒以内  |
| カンジタ菌    | 15 秒以内  |
| 結核菌      | 2.5 分以内 |
| セレウス菌    | 5 分以内   |

国立感染症研究所データ参照

### ○次亜塩素酸と次亜塩素酸イオンの殺菌力比較



E.Coli (大腸菌郡) を 99%殺菌するのに要する時間 (分)

[水温 2~6°C]

アメリカ環境保護局 EPA 検査

出典：技報堂出版「浄水の技術」抜粋

次亜塩素酸と次亜塩素酸イオンの含有比率を変化させ、次亜塩素酸の含有率を多くすることにより殺菌力が高まりますが、どの程度高くなるでしょうか。

上表は遊離有効塩素である次亜塩素酸(HOCl)と次亜塩素酸イオン(OCl-)が、大腸菌を殺菌するために必要とした時間を表しています。

(縦軸が有効遊離塩素濃度、横軸が大腸菌殺菌の所要時間)

例えば、塩素濃度 0.1mg/lの時、点線矢印の示す時間軸を見ると、大腸菌の殺菌に要した時間は、次亜塩素酸(HOCl)が 1.5 分なのに対し、次亜塩素酸イオン(OCl-)では 120 分ということが判ります。

つまり次亜塩素酸イオンは、次亜塩素酸の 80 倍の殺菌時間を要し、殺菌力は 80 分の 1 ということになります。



## 抗菌測定報告書

報告書番号: UB/2018・30075

期日: 2018年04月03日

測定結果:

| 菌株名称                                 | 原株菌数量<br>(CFU/mL)              | 作用時間 | 測定株数<br>(CFU/mL) | 減菌率R(%) |
|--------------------------------------|--------------------------------|------|------------------|---------|
| 黄色ブドウ球菌<br>(Staphylococcus aureus)   | $3.80 \times 10^5$<br>380,000株 | 1分   | <1               | >99.999 |
| 大腸菌<br>(Escherichia coli)            | $3.00 \times 10^5$<br>300,000株 | 1分   | <1               | >99.999 |
| 緑膿菌<br>(Pseudomonas aeruginosa)      | $4.05 \times 10^5$<br>405,000株 | 1分   | <1               | >99.999 |
| カンジタアルビカンス<br>(Candida albicans)     | $4.90 \times 10^5$<br>490,000株 | 1分   | <1               | >99.999 |
| 肺炎連鎖球菌<br>(Streptococcus pneumoniae) | $2.90 \times 10^5$             | 1分   | <1               | >99.999 |

測定方法: 米国薬局方微生物検査試験 / <51> 抗菌効果試験

SGS社はかっく法規制・業界標準に則した化学分析会社で検査・検証・試験及び認証業界において世界的にトップ企業です。また、品質や高潔性の面でも国際水準として認められています。現在では世界2600カ所にオフィス・研究所で97,000名を超える研究社員が居ります。1878年・フランス穀物出荷検査所から発足。1985年・フランス証券取引所(SWX)に株式を上場。2001年SGSに株式記名のみ登録。日本にもSGSジャパン株式会社、本社・神奈川県横浜市程土谷区に日本本社事務所が有ります。

Signed for and on behalf of  
SGS Taiwan LTD.



Shin-Jyh Chen  
Manager

超微量工業安全資試験

Test Report

REPORT NO : UB/2018/30075A-01 Date : 2018/04/03

| Organism                           | Original inoculum  | Contact | time(CFU) | Anti Micro Activity |
|------------------------------------|--------------------|---------|-----------|---------------------|
| Staphylococcus aureus<br>黄色ブドウ球菌   | $3.80 \times 10^5$ | 1min    | <1        | >99.999             |
| Escherichia Coli<br>大腸菌            | $3.00 \times 10^5$ | 1min    | <1        | >99.999             |
| Pseudomonas aeruginosa<br>緑膿菌      | $4.05 \times 10^5$ | 1min    | <1        | >99.999             |
| Candide albicans<br>カンジタ・アルビカンス    | $4.90 \times 10^5$ | 1min    | <1        | >99.999             |
| Streptococcus pneumoniae<br>肺炎連鎖球菌 | $2.90 \times 10^5$ | 1min    | <1        | >99.999             |

SGSは、世界中どここの国にも有って、検査、検証、試験及び認証業界において世界的にもトップ企業です、品質や高潔性の面においても国際的な水準として認められている。

NOTE:

1、The test report merely reflects the test results of the consigned matters of the client and is not a certification of the legitimacy of the related products.

2、The content of this report invalid it is not presented as the entire report.

3. Organism No:

Staphylococcus aureus BCRC 10451 ; ATCC 6538P  
 Escherichia coli BCRC 11634 ; ATCC 8739  
 Pseudomonas aeruginosa BCRC 11633 ; ATCC 9027  
 Candida albicana BCRC 21538 ; ATCC 10231  
 Streptococcus pneumoniae BCRC 14733 ; ATCC 33400

4. Anti Micro Activity R(<1%) represents no significant effect of Bacteriostasis/  
 Fungistasis.

### 試験証明書

依頼者 : シンコハンガー株式会社 殿  
品名 : アスファ水 50ppm・100ppm 生地 5点  
試験項目 : 次亜塩素酸水堅牢度

平成17年5月11日付けで当初に提出された試料の試験結果は、下記の通りであることを証明します。

財団法人

日本化学繊維検査協会  
大阪事務所

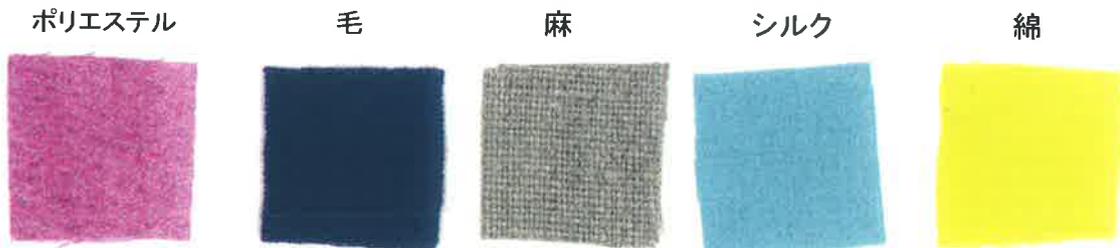
平成17年5月14日

記

#### 1. 試験結果

| 試験項目             | 試験結果   |     |     |     |     | 試験方法 |                                   |
|------------------|--------|-----|-----|-----|-----|------|-----------------------------------|
|                  | ポリエステル | 毛   | 麻   | シルク | 綿   |      |                                   |
| 次亜塩素酸水<br>堅牢度(級) | 変退色    | 4・5 | 4・5 | 2   | 2・3 | 3    | JIS L 0884 C法準用<br>50ppmのアスファ水使用  |
|                  | 変退色    | 4・5 | 4・5 | 1・2 | 1・2 | 1・2  | JIS L 0884 D法準用<br>100ppmのアスファ水使用 |

#### 2. 試料



以上

本証明書に記載の試験結果は供試々料に対するものであり、ロット全体の品質を証明するものではありません。

確認印のない証明書については、当会は一切責任を負いかねますので、念のため申し添えます。(16. 2. 10,000)

確認      作成



#### <試験方法>

財団法人 日本化学繊維検査協会にてアスファ水の堅牢度試験を上記の通り行いました。  
試験対象繊維はポリエステル、ウール(毛)、麻、シルク、綿の5種類を用い其々の対象物を試験ドラムに入れアスファ水50ppm、100ppmの水溶液で容器内を満たし30分間ドラム容器を回転させた後に容器から繊維を取り出し、初期物との色の变化を1～5の数値で評価した。(1=色落ち大 5=色落ち無し 1・2は1.5とする)

#### <考察>

試験官によると、ポリエステルを除く4種の繊維は染料の種類に大きく左右するが、水道水でも色落ちするものであることと、ppm(濃度)が下がることで色落ちも改善されていることから、アスファ水の使用法である噴霧作業では繊維に与える有効成分量は極微量にしかならないため漂白効果は殆ど無いと考えられる。

発行NO 第40407256  
発行日 平成25年7月22日

## 検査結果報告書

依頼者 株式会社 オレア

ユーロヒン日本環境株式会社  
本社・事業所 横浜市金沢区幸浦2-1-13  
電話 045-780-3851  
計量証明書 神奈川県知事登録 検度第1号  
検査責任者 高木 正浩



検体 オレア水溶液 100ppm

表題 殺菌効果試験

2013年(平成25年)7月22日ユーロヒン日本環境株式会社に提出された上記  
検体について試験した結果をご報告致します。







# 検査・試験・評価結果報告書

平成17年12月17日

|   |   |
|---|---|
| 頁 | 1 |
| 枚 | 2 |

ご依頼者

株式会社 オレア 様

株式会社 消費科学研究所  
〒559-0034 大阪市住之江区南港北1丁目1番10号  
ATCビル5F 560  
TEL(06)6615-5285 FAX(06)6615-5292  
(東京研究所)  
〒135-8510 東京都江東区木場2丁目1番10号  
大丸コアビル  
TEL(03)3828-7330 FAX(03)3828-7335

平成17年8月16日に受け付けました試供品の検査・試験・評価をご報告申し上げます。

言己

| 承認 | 試験担当 |
|----|------|
| 吉川 | 篠    |

## 1、試験品について、

・オレアアスファ水

製造・発売元:株式会社 オレア

概要: オレアアスファ水とは、オレアプロスト1200(生成機)により、次亜塩素酸ナトリウムと希塩酸を純水の中に希釈混合する事により生成する。次亜塩素酸ナトリウムと希塩酸は食品添加物の認定を受けているものを使用。

## 2、依頼内容

・オレアアスファ水の殺菌効果を調べてほしい。

## 3、試験方法

(1)手指に対する殺菌テスト(オレアアスファ水と消毒用エタノールの比較)

①石鹸を使用し30秒程度両手をこすりあわせながら洗う。

②流水(水道水)で石鹸を洗い流す。

③ペーパータオルで水分をふき取る。

④殺菌を行う。

・オレアアスファ水は4倍希釈液2Lに両手を30秒間漬ける。

・消毒用エタノールは5mLを両手にスプレーし良く揉み込む。

⑤ペーパータオルで殺菌液をふき取る。

⑥手形培地に10秒間手のひらを押し付ける。

⑦手形培地を35°Cで24時間培地後菌数を測定する。

消毒用エタノール: 日本薬局方消毒用エタノール・・・宮澤薬品株式会社

手形培地: パームスタンプチェック、一般細菌(SCDLP)寒天培地・・・(株)日研生物医学研究所

(2)生野菜(キュウリ)に対する殺菌効果テスト

(オレアアスファ水と次亜塩素酸ナトリウムの溶液の比較)

①キュウリ1本を流水(水道水)で30秒程度こすりながら洗う。

②殺菌を行う。

・オレアアスファ水は2倍希釈液2Lに10秒間漬ける。(100ppm)

・次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素5%以上のもの500倍に希釈した液)

本報告書を他に掲載するときは、弊社の承認を受けてください。

報告書番号 5034-03

- 2Lに10分間浸漬する。
- ③ペーパータオルで水分をふき取る。
- ④キュウリ1g中の細菌数を測定する。

3. 試験結果

(1) 手指に対する殺菌効果テスト (オレアスファ水と消毒用エタノールの比較)

①オレアスファ水による殺菌

|     | 試験員A      |           |           | 試験員B      |           |           | 試験員C      |           |           |
|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|     | 洗浄<br>殺菌前 | 洗浄<br>殺菌後 | 洗浄<br>殺菌率 | 洗浄<br>殺菌前 | 洗浄<br>殺菌後 | 洗浄<br>殺菌率 | 洗浄<br>殺菌前 | 洗浄<br>殺菌後 | 洗浄<br>殺菌率 |
| 右手  | 400       | 13        | 97%       | 38        | 3         | 92%       | 200       | 8         | 96%       |
| 左手  | 226       | 9         | 96%       | 18        | 5         | 72%       | 183       | 15        | 91%       |
| 平均値 |           |           | 96%       | 平均値       |           | 86%       | 平均値       |           | 94%       |

②消毒用エタノールによる殺菌

|     | 試験員A      |           |           | 試験員B      |           |           | 試験員C      |           |           |
|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|     | 洗浄<br>殺菌前 | 洗浄<br>殺菌後 | 洗浄<br>殺菌率 | 洗浄<br>殺菌前 | 洗浄<br>殺菌後 | 洗浄<br>殺菌率 | 洗浄<br>殺菌前 | 洗浄<br>殺菌後 | 洗浄<br>殺菌率 |
| 右手  | 251       | 0         | 100%      | 59        | 11        | 81%       | 124       | 75        | 40%       |
| 左手  | 454       | 1         | 99%       | 40        | 13        | 68%       | 80        | 32        | 60%       |
| 平均値 |           |           | 99%       | 平均値       |           | 76%       | 平均値       |           | 47%       |

$$\text{洗浄殺菌率} = \frac{\text{洗浄殺菌前菌数} - \text{洗浄殺菌後菌数}}{\text{洗浄殺菌前菌数}} \times 100$$

(2) 生野菜 (キュウリ) に対する殺菌効果テスト

殺菌効果テストは2回実施した。

| キュウリ1g中の細菌数 | 未洗浄 | オレアスファ水<br>殺菌         | 次亜塩素酸<br>ナトリウム溶液      |
|-------------|-----|-----------------------|-----------------------|
|             |     | 9.0 × 10 <sup>2</sup> | 2.4 × 10 <sup>4</sup> |
|             |     | 4.8 × 10 <sup>2</sup> | 4.4 × 10 <sup>4</sup> |
| 平均値         |     | 6.9 × 10 <sup>2</sup> | 3.4 × 10 <sup>4</sup> |

—— 以上 ——

# 検査・試験・評価結果報告書

平成17年3月20日

|   |   |
|---|---|
| 頁 | 1 |
| 枚 | 2 |

株式会社・オレア 様

株式会社 消費科学研究所  
〒559-0034 大阪市住之江区南港北2丁目1番10号  
ATビル 605  
TEL (06) 6615-5285(代) ・ FAX (06) 6615-5291  
東京研究所  
〒135-8510 東京都江東区木場2丁目18番1号  
コアビル  
TEL (03) 3820-7330 ・ FAX (03) 3820-7335

平成17年3月10日に受け付けました試供品の検査・試験・評価の結果をご報告申し上げます。

記

| 承認  | 試験担当  |
|---|---|
|  |  |

## 1. 試験品

冷凍鯖

①皮付き5kgブロック（以下ブロックと言う。） ②さく形

## 2. 試験液（殺菌試験液・株式会社 オレアより入手したもの）

①アスファ水100ppm ②アスファ水50ppm ③アスファ水30ppm ④雑 5月現在  
の生成した水溶液使用（それぞれ約1.8%入手）

## 3. 試験方法

- ①試験品（2種類）を容器（容量8.5リットル）に入れ、試験品全体が試験液に浸かるまで試験液を入れる。
- ②5分後及び10分後に試験液を追加し、試験液は全量使用する。
- ③②の5分後（通算15分浸漬後）、試験品を取り出し細菌試験（細菌数、大腸菌群）を浸漬直後に実施する。
- ④試験品は密閉容器に入れ、4℃に設定したインキュベーターに保管し、翌日、翌々日にも細菌試験（細菌数、大腸菌群）を実施する。

本報告書を他に掲載するときは、弊社の承認を受けて下さい。

報告書番号

5053-20

4. 試験結果

①オレアスファ水100ppm

| 試験品  | 浸漬当日              |              | 翌日                   |              | 翌々日                  |              |
|------|-------------------|--------------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|
|      | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)         | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)         | 大腸菌<br>(1g中) |
| ブロック | $9.9 \times 10^2$ | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           |
| さく形  | $3.4 \times 10^2$ | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           |

② オレアスファ水50ppm

| 試験品  | 浸漬当日                 |              | 翌日                   |              | 翌々日               |              |
|------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|-------------------|--------------|
|      | 細菌数<br>(1g中)         | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)         | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) |
| ブロック | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           | $3.4 \times 10^2$ | 陰性           |
| さく形  | $1.1 \times 10^3$    | 陰性           | $7.4 \times 10^3$    | 陰性           | $4.1 \times 10^2$ | 陰性           |

③オレアスファ水30ppm

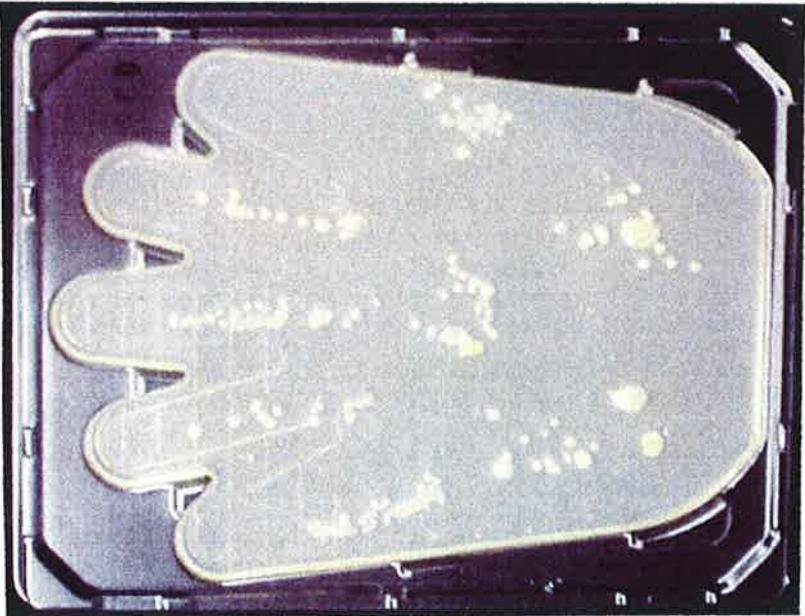
| 試験品  | 浸漬当日              |              | 翌日                |              | 翌々日               |              |
|------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|
|      | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) |
| ブロック | $9.0 \times 10^2$ | 陰性           | $2.3 \times 10^3$ | 陰性           | $1.3 \times 10^3$ | 陰性           |
| さく形  | $6.4 \times 10^3$ | 陰性           | $2.2 \times 10^3$ | 陰性           | $3.0 \times 10^3$ | 陰性           |

④脚 現在の使用液

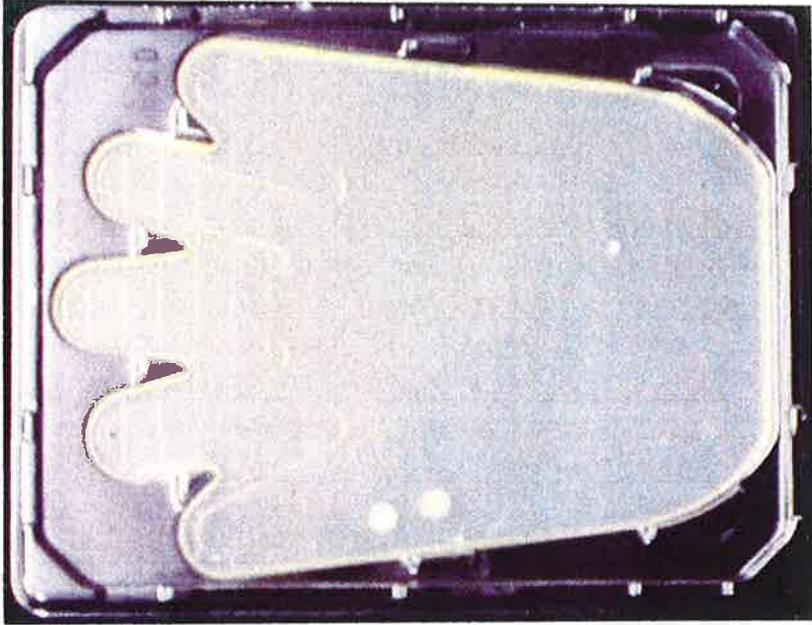
| 試験品  | 浸漬当日              |              | 翌日                |              | 翌々日               |              |
|------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|
|      | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) |
| ブロック | $2.2 \times 10^3$ | 陰性           | $4.9 \times 10^3$ | 陰性           | $1.2 \times 10^3$ | 陰性           |
| さく形  | $4.0 \times 10^4$ | 陰性           | $1.2 \times 10^4$ | 陰性           | $2.8 \times 10^3$ | 陰性           |

——以上——

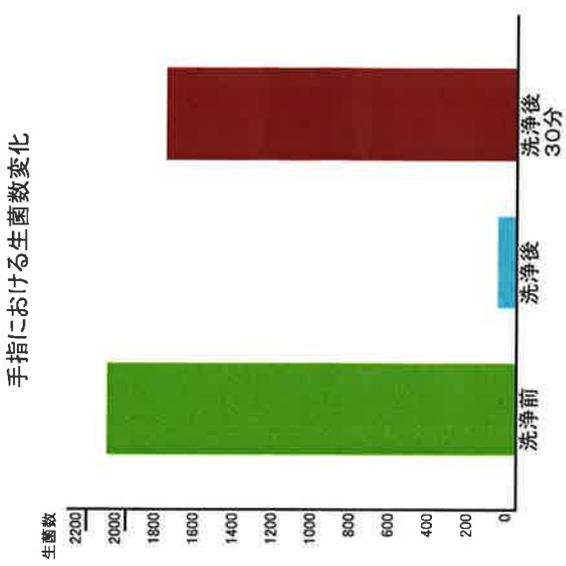
手指殺菌洗淨水（アスファア水）の殺菌効果と  
 静菌（持続）効果に及ぼす影響。



手洗い後のコロニー数  
 (消毒前)



手洗い後（アスファア水）に  
 浸漬（消毒後）コロニー数



洗淨（消毒）直後の菌数は大きく減少しているが、30分後に元の状態になると推定される、消毒液の静菌（持続）効果を過信せずに必要に応じて手指の洗淨を行う事が重要である。

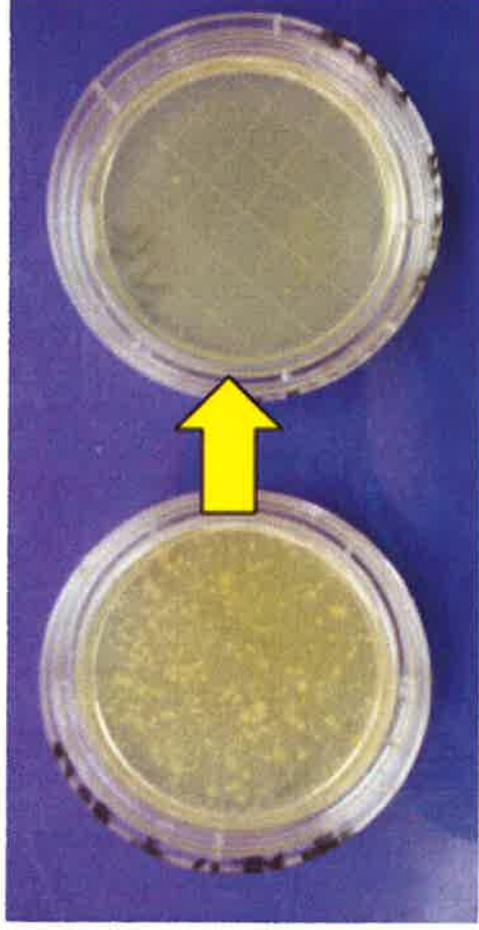
# Cフーズ(株)様・まな板での殺菌試験

アスファア水100ppm

平成17年12月8日

水道水で洗浄後

アスファア水1分間、浸漬後



アスファア水  
100ppm

## 【テスト内容】

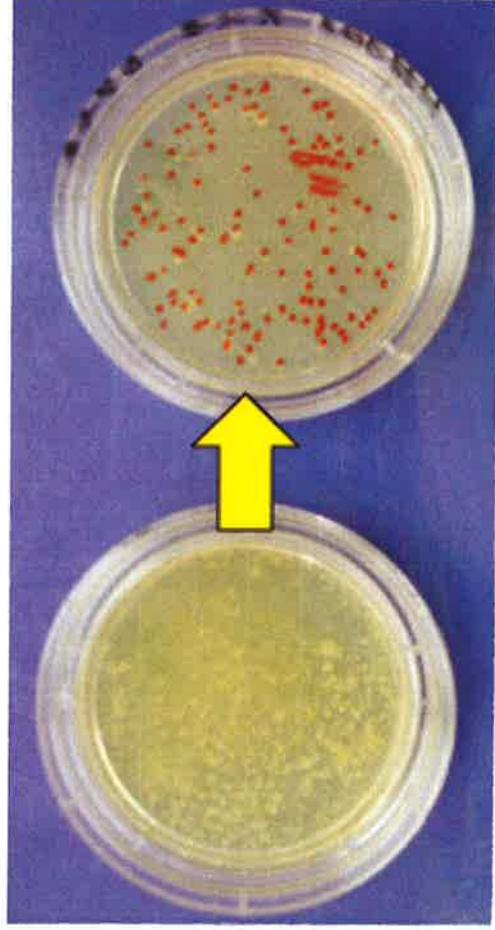
まな板を水道水で洗浄後  
アスファア水と塩素水に  
1分間浸漬し、菌の繁殖を  
比較測定した。

## 【テスト結果】

アスファア水に浸漬した  
まな板からは菌の繁殖は  
認められなかった。  
一方、塩素水に浸漬した  
まな板からは多数の菌が  
残存している事が認めら  
れた。

水道水で洗浄後

塩素水で1分、浸漬後



塩素水  
100ppm

この結果、アスファア水は  
塩素水に比べ殺菌効果  
が高い事が判明した。

# 分析試験成績書

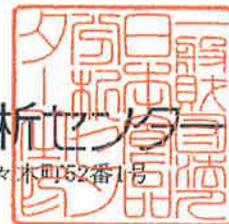
依頼者 株式会社 オレア

検体名 オレア アスファ水  
製造年月日 平成26年9月3日

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1-52番1号



2015年(平成27年)03月05日 当センターに提出された上記検体について分析試験した結果は次のとおりです。

## 分析試験結果

| 分析試験項目 | 結果          | 定量下限  | 注 | 方法     |
|--------|-------------|-------|---|--------|
| pH     | 6.5 (20 °C) | ..... |   | ガラス電極法 |
| 有効塩素   | 84 mg/L     | ..... |   | よう素滴定法 |

以上

# 分析試験成績書

依頼者 株式会社 オレア

検体名 オレア アスファ水  
製造年月日 平成26年12月3日

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1-152番1号



2015年(平成27年)03月05日 当センターに提出された上記検体について分析試験した結果は次のとおりです。

## 分析試験結果

| 分析試験項目 | 結果          | 定量下限  | 注 | 方法     |
|--------|-------------|-------|---|--------|
| pH     | 6.6 (20 °C) | ..... |   | ガラス電極法 |
| 有効塩素   | 91 mg/L     | ..... |   | よう素滴定法 |

以上

# 分析試験成績書

依頼者 株式会社 オレア

検体名 オレア アスファ水  
製造年月日 平成27年2月3日

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152番1号



2015年(平成27年)03月05日 当センターに提出された上記検体について分析試験した結果は次のとおりです。

## 分析試験結果

| 分析試験項目 | 結果          | 定量下限  | 注 | 方法     |
|--------|-------------|-------|---|--------|
| pH     | 6.7 (20 °C) | ..... |   | ガラス電極法 |
| 有効塩素   | 100 mg/L    | ..... |   | よう素滴定法 |

以上

# 分析試験成績書

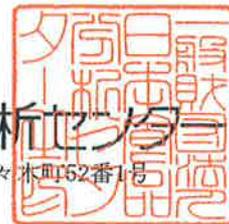
依頼者 株式会社 オレア

検体名 オレア アスファ水  
製造年月日 平成27年3月4日

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1-52番1号



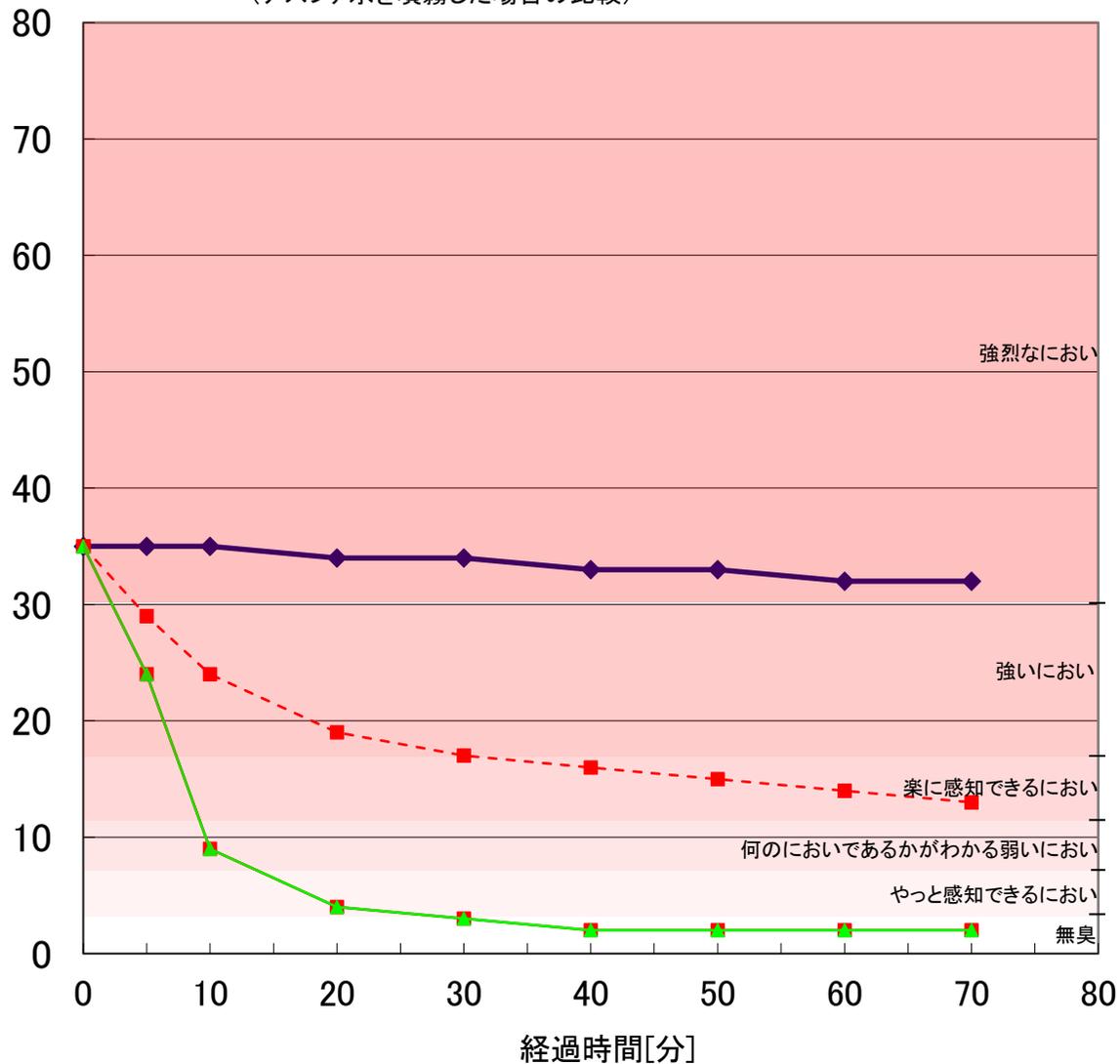
2015年(平成27年)03月05日 当センターに提出された上記検体について分析試験した結果は次のとおりです。

## 分析試験結果

| 分析試験項目 | 結果         | 定量下限  | 注 | 方法     |
|--------|------------|-------|---|--------|
| pH     | 6.8(20 °C) | ***** |   | ガラス電極法 |
| 有効塩素   | 100 mg/L   | ***** |   | よう素滴定法 |

以上

アンモニアの臭いレベルの比較  
(アスファ水を噴霧した場合の比較)



- ◆ 自然減衰
- アスファ水100ppm(中国製造)
- アスファ水100ppm(中国製造)をディレカに通した溶液
- ▲ アスファ水100ppm(日本製造)をディレカに通した溶液

|                     |   |
|---------------------|---|
| 測定日                 | 2018/7/12   |
| 室温/湿度               | 28°C/85%  |
| 測定環境                | 容積 108立方メートル(7.3m × 4.1m × 3.6m)  |
| 噴霧装置<br>および<br>噴霧設定 | 噴霧装置: SPY10-02(コンプレッサー式)<br>噴霧溶液: アスファ水(100ppm)<br>噴霧設定: 1回あたり10mLを10分間隔で噴霧 |
| 臭い源                 | アンモニア<br>50mL   |
| 測定器型式               | XP-329M   |

## DILEKA水の界面活性力測定結果

ご依頼先

株式会社 エポック環共技研 殿  
〒963-8025 福島県郡山市桑野1-5-16  
TEL:024(925)7447 FAX:024(925)7464

測定日時(2007年2月28日) 測定責任者: 松下和弘

|       |   |
|-------|---|
| 測定装置  | 日本電子株式会社製 JNM-EX400型 FT-NMR(フーリエ変換型核磁気共鳴)装置 |
| 測定核   | $^1\text{H}$ (水素原子核)                        |
| 測定周波数 | 400MHz                                      |
| 測定温度  | 室温(21. °C)                                  |

### 測定結果

| 試料水     | 水に溶けたサラダ油の量(mMol)                    |
|---------|--------------------------------------|
| DILEKA水 | 64.7(10.22mMol)<br>(武蔵野市水道水の2.4倍に相当) |

### 実験方法

試料水に2%量のサラダ油(オレイン酸のトリグリセリド)を添加し、1分間震盪攪拌した後、5分間経過させてから $^1\text{H}$ -NMRスペクトルを測定し、試料水に溶け込んだサラダ油の量を算出した。濃度の基準物質として、1mMolのTSP- $d_4$ (トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム) $(\text{CH}_3)_3\text{SiCD}_2\text{CD}_2\text{COONa}$ を加えた。

株式会社 生命の水研究所

〒180-0004 東京都武蔵野市吉祥寺本町1丁目36番12  
ドムール七井102

TEL:0422(20)6651 FAX:0422(20)6656

実験室レベルにおける噴霧消毒に有効な消毒資材

[要約] 噴霧消毒に有効な消毒資材は次亜塩素酸ナトリウム・塩酸希釈混合水であり、*Salmonella Enteritidis*(SE)を試験管内で10秒以内で殺菌し、実験室内での噴霧消毒で*Staphylococcus aureus*(*Sta. aureus*)及び*Escherichia coli*(*E. coli*) に対して最も殺菌効果がある。

|                                       |         |    |      |     |              |    |    |
|---------------------------------------|---------|----|------|-----|--------------|----|----|
| 三重県科学技術振興センター<br>農業技術センター（畜産）中小家畜グループ |         |    |      | 連絡先 | 05984-2-2029 |    |    |
| 部会名                                   | 畜産・草地部会 | 専門 | 飼育管理 | 対象  | 家禽類          | 分類 | 研究 |

[背景・ねらい]

近年、鶏卵・鶏肉及びその加工品によるSE汚染に起因するサルモネラ食中毒が増加していることから、養鶏場におけるSE汚染防止対策が社会的な要請となっている。そこで、従来の鶏舎消毒とは異なる、鶏存在下で行える消毒方法として噴霧消毒について検討するため、実用化への予備試験として噴霧消毒に最適な消毒資材を実験室レベルで明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. SEに対する試験管内殺菌効果を弱酸性及び強酸性電解水（食塩・塩酸を少量含む水を電気分解した時生成する水）、次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水（12%次亜塩素酸Naと8.5%塩酸を混合しpHを7程度に調整した水）、焼成Ca飽和上清液、オゾン水、カテキン、ヒノキチオール、逆性石鹼（2種類）の計9種類の消毒資材で行ったところ、有機物存在下で10秒以内にSEを殺菌した消毒資材は、弱酸性及び強酸性電解水、次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水及び逆性石鹼Bの500倍液であった（表1）。
2. 1辺90cm立方体の閉鎖空間で床面に*Sta. aureus*及び*E. coli*をそれぞれ菌液を塗布したろ紙を置き、4種類の消毒資材50mlを噴霧後15分感作させ殺菌効果を測定すると次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水（残留塩素濃度90ppm）が蒸留水、逆性石鹼B500倍液、焼成Ca飽和上清液に比べ最も有効であった（表2）。
3. 1辺90cm立方体の閉鎖空間で*Sta. aureus*及び*E. coli*を含有した菌液40ml噴霧後、4種類の各消毒資材40mlを噴霧し、噴霧終了1分、5分、15分後に10秒間の落下細菌数を測定すると次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水（残留塩素濃度90ppm）が蒸留水、逆性石鹼B500倍液、焼成Ca飽和上清液に比べ最も有効であった（表3）。
4. 1辺90cm立方体の閉鎖空間で*Sta. aureus*を含有した菌液40ml噴霧後、次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水の残留塩素濃度及び噴霧量を変えて噴霧し、1分、5分、15分後の落下細菌数を測定すると残留塩素濃度が高く噴霧量の多い方が有効であった。なお、10<sup>7</sup>CFU/mlレベルの菌量に対して次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水の残留塩素濃度50ppmを20ml又は90ppmを10ml噴霧することで殺菌できた（表4）。

[成果の活用と留意点]

1. 実験室レベルの成績であるため、鶏存在下の鶏舎で有効性を検討する必要がある。

[具体的データ]

表 1. SEに対する各種消毒資材の試験管内殺菌効果

| 消毒資材     | 濃度     | 有機物   |       | 消毒資材     | 濃度      | 有機物   |       |
|----------|--------|-------|-------|----------|---------|-------|-------|
|          |        | 無     | 有     |          |         | 無     | 有     |
| 弱酸性電解水   | 50ppm  | 10秒以内 | 10秒以内 | カテキン     | 250ppm  | 効果なし  | 効果なし  |
|          | 80ppm  | 10秒以内 | 10秒以内 |          | 500ppm  | 効果なし  | 効果なし  |
| 強酸性電解水   | 50ppm  | 10秒以内 | 10秒以内 | ヒノキアルコール | 1000ppm | 効果なし  | 効果なし  |
| 次亜塩素酸Na・ | 50ppm  | 10秒以内 | 10秒以内 |          | 10μg/ml | 効果なし  | 効果なし  |
| 塩酸希釈混合水  | 200ppm | 10秒以内 | 10秒以内 | 50μg/ml  | 効果なし    | 効果なし  |       |
| 焼成Ca     | 0.01%  | 効果なし  | 効果なし  | 100μg/ml | 効果なし    | 効果なし  |       |
|          | 0.02%  | 効果なし  | 効果なし  | 逆性石鹼A    | 500倍    | 10秒以内 | 60秒以内 |
|          | 0.04%  | 効果なし  | 効果なし  |          | 2000倍   | 60秒以内 | 60秒以内 |
| オゾン水     | 4ppm   | 効果なし  | 効果なし  | 逆性石鹼B    | 500倍    | 10秒以内 | 10秒以内 |
|          | 1ppm   | 効果なし  | 効果なし  |          | 2000倍   | 30秒以内 | 30秒以内 |

注) 効果なし:作用時間5分間で殺菌できないもの

弱酸性電解機能水 A・B 及び次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水の濃度は、残留塩素濃度を表示

表 2 噴霧殺菌効果 (I)

| 滴下菌   | <i>Sta. aureus</i> | <i>E. coli</i>     |
|-------|--------------------|--------------------|
| 菌数    | $2.29 \times 10^5$ | $1.61 \times 10^6$ |
| 蒸留水   | $1.49 \times 10^5$ | $3.21 \times 10^5$ |
| 機能水   | $2.24 \times 10^4$ | $4.40 \times 10^4$ |
| 逆性石鹼B | $2.16 \times 10^5$ | $2.72 \times 10^5$ |
| 焼成Ca  | $2.13 \times 10^5$ | $2.37 \times 10^5$ |
| 噴霧なし  | $1.81 \times 10^5$ | $3.32 \times 10^5$ |

菌液塗布ろ紙に薬液50ml噴霧 (CFU/ml)  
機能水:次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水

表 3 噴霧殺菌効果 (II)

| 噴霧菌   | <i>Sta. aureus</i> |    |     | <i>E. coli</i>     |    |     |
|-------|--------------------|----|-----|--------------------|----|-----|
| 菌数    | $5.00 \times 10^7$ |    |     | $4.76 \times 10^6$ |    |     |
| 経過時間  | 1分                 | 5分 | 15分 | 1分                 | 5分 | 15分 |
| 蒸留水   | 168                | 12 | 7   | 60                 | 10 | 1   |
| 機能水   | 8                  | 1  | 0   | 0                  | 0  | 0   |
| 逆性石鹼B | 177                | 12 | 3   | 87                 | 7  | 0   |
| 焼成Ca  | 140                | 13 | 7   | 30                 | 4  | 2   |

菌液40ml噴霧後薬液40ml噴霧 (CFU/20cm<sup>2</sup>)  
機能水:次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水

表 4 機能水(次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水)の噴霧殺菌効果

| 試験          | I                  |    |    |    | II                 |     |    |    | III                |    |    |    |
|-------------|--------------------|----|----|----|--------------------|-----|----|----|--------------------|----|----|----|
|             | <i>Sta. aureus</i> |    |    |    | <i>Sta. aureus</i> |     |    |    | <i>Sta. aureus</i> |    |    |    |
| 噴霧菌         | $6.5 \times 10^5$  |    |    |    | $3.1 \times 10^6$  |     |    |    | $5.7 \times 10^5$  |    |    |    |
| 菌数 (CFU/ml) | $6.5 \times 10^5$  |    |    |    | $3.1 \times 10^6$  |     |    |    | $5.7 \times 10^5$  |    |    |    |
| 濃度 (ppm)    | 50                 | 50 | 90 | 90 | 50                 | 50  | 50 | 50 | 90                 | 90 | 90 | 90 |
| 量 (ml)      | 20                 | 40 | 20 | 40 | 0                  | 5   | 10 | 20 | 0                  | 10 | 20 | 40 |
| 1分          | 0                  | 0  | 0  | 0  | 1114               | 79  | 26 | 6  | 382                | 0  | 0  | 0  |
| 5分          | 0                  | 0  | 0  | 0  | 95                 | 13  | 7  | 9  | 34                 | 0  | 0  | 0  |
| 15分         | 0                  | 0  | 0  | 0  | 658                | 189 | 11 | 0  | 8                  | 0  | 0  | 0  |

菌液40ml噴霧後、次亜塩素酸Na・塩酸希釈混合水各量噴霧 (CFU/20cm<sup>2</sup>)

[その他]

研究課題名: 地域特産鶏肉・鶏卵の安全性確保のためのサルモネラ汚染防止技術の確立

予算区分: 国補 (地域実用化)

研究期間: 平成12年度 (平成11年~13年)

研究担当者: 巽俊彰, 伊藤英雄

株式会社オレア

東京都渋谷区道玄坂1-16-6二葉ビル6A

TEL3464-2517・FAX3464-2518

山形市子育て推進部 宛

平成21年7月1日  
横浜市港南区上大岡西1-17-28  
上大岡・中央歯科  
医院長 澤田 久



オレア・アスファ水の当医院での使用状況に就いての報告、

当医院では「アスファ水」によって抜髄後の根管洗浄は勿論の事、感染根管及び歯肉溝からのろう孔形成時に於いても洗浄を繰り返す事により根尖病巣の消失や術後の感染予防をすることが出来る為、確実な効果を得ています。其ればかりでなく患者さんに対しての安全性が高くpH値が6.5~6.9である微酸性領域により生体に対する障害性が極めて低い為、口腔内に於いての取扱にとっても適している事が判ります。

「アスファ水」の粗性や実験データの見地からH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>や強酸性水等と比較して細菌を死滅する効果の違いは勿論の事、ウイルスに対しても高濃度の次亜塩素酸ナトリウムに四敵する事がわかります。但し、次亜塩素酸ナトリウムは人体には安全ではない為に「アスファ水」を使用しています。当医院では「アスファ水」100ppmにて使用して居りますが、各種実験データからは50ppmに於いても確実な効果が得られている事が判ります。理論上、歯科医療に於いての使用範囲の広さに驚いています。又、肝炎ウイルスやインフルエンザウイルス及びエイズウイルスに対しての効果も着目していて今後、我々医療従事者にとっても必然かつ十分になくてはならない物となる事が予想されます。

そして、待合室及び診療室に於いては「るど」小型噴霧器と「ブロー」中型噴霧器を使用しアスファ水を噴霧する事で、患者さん同士の感染予防や従業員に対しての安全も確保する事が出来て、とても安心して診療を行う事が出来ます。

当医院では約3年半噴霧して居ります、患者さんの中に子供の患者さんが多く診療に来られますが、今まで事故及びこの事に於いてのクレームは起きた事は一度もありません。

以上、

山形市宛

平成 21 年 7 月 6 日

神奈川県横浜市鶴見区生麦 1-1

生麦病院 医院長 岡田



今般、株式会社オレア様からの要請で当病院での噴霧器による空間除菌、消臭の使用状況(効果)について述べさせて戴きます。

当病院は開設から 72 年、地域医療の為に責任ある医療の向上に努めてまいりました。地域の環境も次第に変化し開設当初に比べ年々、悪化し病院に来られる患者様の病気の内容も多種多様に成ってまいりました。

近隣企業の産業医として患者様の健康増進に又、病院の従業員の健康を守る為にも、安心なお且つ安全な物を探していたところ、友人の医者仲間からオレアのアスファ水を、紹介して戴いたのがきっかけとなり、現在、噴霧器と共に待合室の所で使用しております。

#### 導入の理由

- 1、アスファ水に対して臨床、試験データが有る。
- 2、元々、厚生労働省の認定による、食品衛生法に基づいた、殺菌剤で（食品の材料、調理器具など）ある事（安全性）
- 3、理論上、安全性が担保されているので、医療従事者として、使用範囲が広がる。

現状で噴霧器を使用していて、何の問題も起きていません、寧ろ患者様及び従業員の評判が良いと報告が上がっております。

以上

企 第 118 号  
平成23年7月28日

各 位

大船渡市長 戸 田 公 明



東日本大震災に伴うご支援への御礼について  
時下、ますますご清祥のこととお喜び申し上げます。  
さて、去る3月11日に発生した東日本大震災により、本市におきましても、かつて経験したことの無い未曾有の被害を受け、多くの尊い市民の生命と財産が奪われました。

このような中、全国各地からさまざまな形でのご支援をいただき、誠に感謝に堪えません。絶望の淵に立った市民に、生きる力と、再び立ち上がる勇気を与えていただきました。皆様の心温まるご厚情に対し、市民を代表して心から御礼申し上げます。

あの震災から、早4ヶ月が経過し、水道や電気、通信網等のライフラインも一部の地域を除き復旧するとともに、がれきの撤去が順調に進み、また、仮設住宅への入居も終盤を迎えるなか、加えて、市内事業所の中には仮設店舗で業務を再開する動きも見られ、着実に、復旧から復興へと歩んでいるところであります。

現在、本市では、震災からの早期復興と市民が安心して生き生きと暮らすことができる新たな大船渡市を創るため、市民の皆さんとともに復興計画の策定に邁進しております。

復興への道のりは遠く険しいものと存じておりますが、本市は、過去において、明治三陸大津波（1896年）、昭和三陸地震津波（1933年）、チリ地震津波（1960年）など、幾多の大津波により甚大な被害を受けながらも、不撓不屈の精神で、危機を乗り越えてきました。

今回の震災による被害は、想像を絶するほど甚大なものでありますが、皆様のご支援を励みに、1日も早い復旧・復興に向け、必ずや皆様のご支援に応えられるよう、市民一丸となって取り組んでいく決意でありますので、変わらぬご支援をよろしくお願い申し上げます。

結びに、皆様の今後ますますのご健勝とご活躍を心より祈念申し上げ、御礼とさせていただきます。

特別養護老人施設、寝たきり老人の褥瘡・圧迫性壊疽にアスファ水を噴霧した結果



2日目



7日目

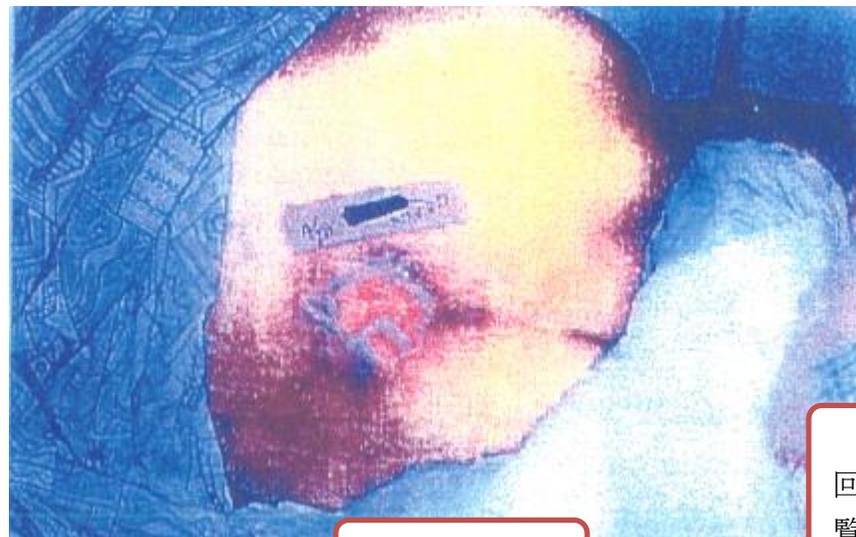


写真はアスファ水との因果関係を問われると医薬品ではない為、薬事法に抵触します。  
その為、外部に持ち出しは厳禁とします！！

特別養護老人施設、寝たきり老人の褥瘡・圧迫性壊疽にアスファ水を噴霧した結果



11日目



6日目

回  
覧  
用



写真はアスファ水との因果関係を問われると医薬品ではない為、薬事法に抵触します。  
その為、外部に持ち出しは厳禁とします！！

特別養護老人施設、寝たきり老人の褥瘡・圧迫性壊疽にアスファ水を噴霧した結果

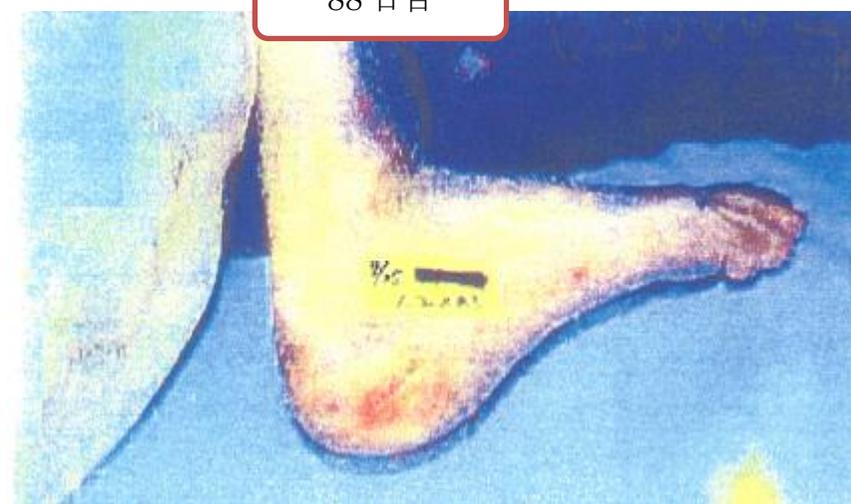


88 日目



86 日目

回  
覧  
用



写真はアスファ水との因果関係を問われると医薬品ではない為、薬事法に抵触します。  
その為、外部に持ち出しは厳禁とします！！

平成23年6月吉日

株式会社オレア

代表取締役社長 迎 日出丸 様

謹啓 梅雨の候、貴社ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

東日本大震災により被災された方々に、謹んでお見舞い申し上げます。

この度は、当財団の被災地支援に係るご協力の呼び掛けに迅速に心よく応じて頂き、深く御礼申し上げます。皆様からご提供賜りました物資は、被災者へ直接お届けしてご活用頂いたり、あるいはボランティア活動の現場で活用させて頂くなど、どの物資も一つも無駄にすることなく有効に使用させて頂いており、被災された方々にとって大きな力を与えるものとなりました。

当財団では、今後も引き続き役職員一同最大限の力を発揮するとともに、パートナーであるNPO法人、ボランティア団体との連携を一層高め、復興に向けた支援に取り組んで参る所存ですので、引き続き私どもの活動にご理解とご協力を賜りますようお願い申し上げます。

本来であれば拝眉の上御礼申し上げるべきところではございますが、まずは書中にて失礼いたします。貴台の益々のご健勝並びにご事業の一層のご発展をお祈り申し上げます。

謹言

公益財団法人 日本財団

会 長

谷川 陽 平

## 保育所における上気道感染の実態調査 ～次亜塩素酸による手洗い消毒の検証～

目白大学保健医療学部・目白大学クリニック耳鼻科  
坂田英明、佐久間嘉子

はじめに

最近の社会情勢を反映し集団保育の需要は年々増加している。保育所の絶対数が少ないことへの周辺環境は徐々に整備されてきているが十分ではない。とくに集団保育に関する感染対策をどのように行うかは、重要な問題であり各保育所で議論されているものの確立したものはない。

鼻水や咳、熱などのかぜ症状があった場合、休ませるか、病院に行くか、保育所に行かせるかなどは基準がなく難しい問題となる。とくに鼻水の原因菌は、手などを介し他の園児へ感染することとなり最も重要な指標となる。感染症を引き起こす菌には抗生剤などに耐性を持つ菌もあり、感染が伝播していくと重篤化し、他の病状を併発させる可能性が高い。とくに体力のない乳幼児は、免疫力が十分でないため感染に対する予防及び対策は早急に求められている。園児への集団感染の実態調査や対策については報告が少ない。

一般的に感染予防など衛生管理等は、アルコール系の商材、次亜塩素酸ナトリウム系の商材などが有効とされていますが手荒れ、発がん性、環境被害などの要素が含まれており慎重でなければならない。

今回われわれは、一般私立保育所において鼻水の原因菌として上咽頭の細菌叢を検査し、菌に対する抗菌性や安全性を重視し、希釈混合微酸性次亜塩素酸水を使用し感染対策に関する手洗い消毒の効果の検証を行ったので報告する。

対 象

対象は、埼玉県一般私立保育園における2～3歳の園児22名とした。研究への参加は保育所で検証を行う段階で園児の親族に主旨を十分説明し同意を得られた場合を対象とした。

方 法

方法は、平成20年12月17日、22名の園児から上咽頭のぬぐい液による細菌検査、手指より菌体を採取した。その後22名を2群に分けて約半年間臨床経過を観察した。A群は11名で、流水による手洗いの後に石鹼で手洗いし、さらに微酸性次亜塩素酸水を10秒使用する群とした。B群は11名で、流水による手洗いの後に石鹼で手洗いを行なった群とした。

その後、約3ヵ月後の平成21年3月11日に同様の検査を行った。さらに臨床経過として期間中の各群の発熱症状、呼吸器症状、消化器症状の発症数を比較検討した。

結 果

平成20年12月17日でのA群、B群の2群22名の園児からの上咽頭のぬぐい液による上咽頭細菌は、肺炎球菌、インフルエンザ菌、カタル球菌がほとんどであった。約3ヵ月後の平成21年3月11日での結果では次亜塩素酸水を使用し手洗い消毒を使用していたA群においては肺炎球菌の保菌者が1約半数に減少した。手洗いのみでのB群では、肺炎球菌保菌者は増加していた。インフルエンザ菌、カタル球菌についてはA群、B群で有意な差はなかった(表1、図1)。

臨床症状については、今回の研究前年の平成 20 年 11 月での A 群・B 群と、平成 21 年 3 月 11 日時点での A 群・B 群での発症状況を比較した。A 群では感染の多かった平成 20 年 11 月に比較し発熱症状は平成 21 年 3 月 11 日では約 75%、呼吸器症状は約 28%、消化器症状は約 25%であった。B 群では、発熱症状は約 20%、呼吸器症状は約 20%、消化器症状は約 25%に減少した (図 2)。

期間中、次亜塩素酸水を使用し手洗い消毒した群で、皮膚のアレルギーなどを含め不測の事態は生じなかった。

## 考 察

最近の社会情勢にともない保育所や幼稚園に子どもたちを預ける傾向は年々増加してきている。しかし、免疫力が未熟である乳幼児はきわめて感染しやすいためとくに低年齢化した集団保育ではその対策は急務である。

今回調査した上咽頭菌の細菌叢では、肺炎球菌やインフルエンザ菌が圧倒的に多く、これまでの報告とほぼ同様であった。また、われわれの先行実験では、細菌と次亜塩素酸水の菌液混合法による抗菌作用は 1 分で滅菌されており、きわめて抗菌作用が強いことが分かっている (図 3、4)。

肺炎球菌やインフルエンザ菌は、乳幼児の常在菌でありすぐに感染に結びつくわけではない。しかし、急性中耳炎の難治化の問題や耐性菌の増加などが取りざたされており、副鼻腔炎や中耳炎は避けなければならぬ。

現在行われている消毒の多くは、アルコールが含有されたものか、次亜塩素酸ナトリウムが主原料になっている商材 (ミルトン、ピューラックス、ハイターなど) などである。これらは、有機物 (菌やウイルスなど) を殺菌するのに時間がかかり残留塩素が人体、環境に悪影響を及ぼす危険がある。

しかし、食品添加物として認定されている次亜塩素酸ナトリウム (12%) と希塩酸 (8.5%) を濾過された純水で希釈混合した次亜塩素酸水は pH が 7 前後と中性であり、皮膚に対する刺激や口腔内などの粘膜毒性などがきわめて少ない (日本食品分析センターでの小動物を実験で安全性が立証)。

今回の検証に用いた、オレア社が製造しているオレア水 (次亜塩素酸水) は低濃度であるにもかかわらず、幅広い菌やウイルスに対し分解力があり反応すると自身が持っている塩素も分解してしまうため、残留塩素は消失することが証明されている。

以上のことから安全性が高く広く臨床現場で有用性が高い可能性がある。

## まとめ

最近の社会情勢により集団保育の需要は年々増加しまた低年齢化してきている。感染症を引き起こす肺炎球菌やインフルエンザ菌は、乳幼児の常在菌であるがひとたび感染症を引き起こすとやっかいである。近年の耐性菌の増加や感染症の難治化を考えると、乳幼児にとり低侵襲であり有効性の高い消毒剤が望まれる。

pH が 7 前後と中性である次亜塩素酸水は、安全性が高く今後広く臨床現場で有用性が高い可能性がありさらなる研究が望まれる。

平成 23 年 4 月 26 日

NPO 法人第 8 神経を考える会理事長

目白大学教授

目白大学クリニック院長

坂田 英明



目白大学クリニック並びに NPO 法人第 8 神経を考える会による  
宮城県名取市避難所医療支援と調査について（ご報告）

去る平成 23 年 4 月 24 日（日）、宮城県名取市医師会長からの要請を受け名取市議会大沼敏男議員のご尽力のもと NPO 法人第 8 神経を考える会、目白大学クリニックによる被災地医療支援に計 6 名にて参加しました。参加者は NPO2 名、協力団体 2 名、有志 1 名、]撮影 1 名です。当日は名取市議会大沼敏男議員に案内していただきました。

今回の目的は、三つありました。第一は長期化している集団生活での感染予防とその具体的対策です。避難所の出入り口に除菌装置を三台設置し未然に細菌やウイルスを防ぐ。また被災された方一人一人に除菌スプレーを提供し（3000 人分寄付）、我々が感染予防の話をし、被災された方々の避難所でのお話を伺いました。第二は地震酔いの調査であります。あまりに多い余震によりめまいや酔いを訴え不安で夜眠れないなどの不調の方の調査です。第三は PTSD の調査です。調査では予想より少ない感じでありましたが、現在米国での対策マニュアルをもとに独自のプログラムを作成中であります。

報道で目にするものとは全く比べ物にならない悲惨な情景でありました。その一方で普通に娯楽施設が営業している被災しなかったエリアや、仙台空港はアメリカ軍によりすでに一部運航が開始していました。しかし、沿岸部はまっさらの土地に均された恐ろしく広大な平野が広がっていました。人間には到底作り出せない不気味な光景で、それ自体が自然の脅威を物語っており愕然としました。

しかし、その様子以上に最も強く印象的だったのは皆さんの元気と笑顔でありました。日本人とは、これだけすべてを破砕され失い尽くしても、再び立ち上がる力を宿しているのかと深く感銘を受けました。支援どころかわれわれ自身が大きな成長の機会を与えられたひと時でありました。

訪問団：坂田英明（NPO 理事長・目白大学教授）

福田邦宏（NPO 副理事長）

松井知彦・鬼丸健（ティーケールーム）

岡田裕之（オレア）

細川隆平（写真家）

## 1.名取市立館腰小学校（避難者約 250 名）

高齢のご夫婦をお伺いした所、終始正座を崩さずようこそお越しくございましたと迎えて下さり頭の下がる思いがしました。その向こうでは不機嫌な高校生、独居老人と思われる老人が一人座られたりしていました。炊き出しのカレーをどうせ余るからぜひとすすめられ、皆さんと交流したかったのでありがたく頂戴し、膝を交えてまさに同じ釜の飯を食しました。予定にはない耳鼻科診療を市の職員から要請され行いました。直接アンケートを取って避難所をまわり、人々からの心身の不調について伺い、できる限りのアドバイスをさせていただきました。

## 2. 名取市民会館（避難者約 400 名）

ここは当初予定されていませんでしたが、大沼議員と相談し訪問することとなりました。しかし、「困るんだよね、突然こういうの」と押し売りがきたかのように断られました。現場指揮官が責任の所在地に固執しすぎて上役の上役から指示を待つ機敏な采配ができず、雑然と支援物資の箱が未開封のまま溢れ、日がたっているようでした。

炊き出しの昼食があり縁日の屋台のように出店が 5 店もありました。皆さんどれにしようかと悩んでいました。ある市の職員の話ですが、動ける人は受動的でなく自ら炊き出しを手伝うとか、具材は豊富にあるのだから調理するなどの自発的行動があってもよいのではないかと話されていました。支援される側と支援する側の立場や問題点が浮き彫りになっているようでした。

## 3.名取市増田中学校（避難者約 80 名）・下増田小学校（避難者約 60 名）

物資を送り届けました。地震当日は瓦礫の下でうめき声や助けてほしいという声を耳にしたが、翌日はほとんどなくなっていたと話されていました。やはり PTSD への対応を急がなければならない、元気にしている皆さんの気力を維持していかなければならないと感じました。

## 4. 名取市沿岸地域

自衛隊の作業の続く瓦礫の街並みの丘に立つと、360 度何もない荒涼とした風景がどこまでも続いていました。報じられているように遺体混じりの瓦礫なので荒々しく片付けるわけにはいかないとのこと。田んぼに誰のものかわからない、お金という扱いを受けていない 1 万円札が瓦礫にまじって落ちていました。その向こうのアメリカ軍の作業後の仙台空港は瓦礫がきれいさっぱりなくなってまっさらな平野がひたすら続いていました。アメリカ軍のトモダチ作戦はかなり手際がよく圧巻であったとのこと。

## 5. 名取市訪問をふりかえって

災害がいつ起き、いつ被災者になるかは国民全員の問題であると感じました。そしてた

またま支援をうける側、支援をする側に分かれているものの、支援者側のこうしたい、見せたい、聞かせたいなどは支援される側では必ずしも、こうして欲しい、見たい、聞きたいことではないと痛感しました、同じ目的でも避難所や状況によってまったく正反対になってしまうからです。

今後長い年月をかけての復旧になりますが、生き延びた方々が仮設住宅を得て避難所生活から開放されるまでの時間を考えると今後は PTSD、感染症等への対応が急がれます。今後も機会をつくり、医師として人間として我々ができることを模索し続け、可能なかぎり行動を起こし活動したいと思っております。

## ■今回のスケジュール

| 時間       | 訪問地及び作業等            |                    | 備考           |
|----------|---------------------|--------------------|--------------|
| 4/23 (土) | レンタカー受取             |                    |              |
| 4/24 (日) | 目白大学集合              | 医療支援物資を搬入<br>支援団朝礼 |              |
| 5 : 30   |                     |                    |              |
| 6 : 20   | 出発                  | 高速 (岩槻⇄仙台南)        |              |
| 10 : 30  | 休憩                  |                    |              |
| 11 : 00  | 館腰小学校着<br>避難者 250 名 | 訪問挨拶               | 大沼議員、市職員     |
|          |                     | 耳鼻科診療・感染予防説明       | 難聴、めまい、いびき   |
|          |                     | アンケート調査            |              |
|          |                     | 除菌水を 1 人に 1 本配布    | 被災状況を聞く      |
|          |                     | 河北新報取材             | 佐藤記者         |
|          |                     | 食事 (炊出しカレー)        | 議員・市職員・被災者代表 |
| 12 : 40  | 市民会館                | 支援拒否               |              |
|          | 増田中学校<br>避難者 80 名   | 滅菌水を 1 人 1 本ずつ配布   |              |
|          | 下増田小学校<br>避難者 60 名  | 滅菌水を 1 人 1 本ずつ配布   |              |
|          | 沿岸部移動               |                    |              |
| 15 : 00  | 出発                  | 仙台空港→岩槻 IC         |              |
| 20 : 20  | レンタカー返却             |                    |              |
| 20 : 40  | 解散                  | 目白大学               |              |

以上

## 高度な医療衛生国家として災害時の具体的緊急感染対策を要望します

スマトラ島沖地震では感染症による死者15万人と予想(WHO)  
破傷風、ツツガムシ病、インフルエンザ、O-157、ノロウイルス、結核など

すべての感染症に対応できる除菌水が必要。

感染症が集団発生したら阻止できない。

日本のこれまでの経験や技術を駆使しいかなる災害が  
発生しても対応可能な対策を構築。

- ・ 長期化した避難所生活でストレスによる免疫力低下により感染症が発生。
- ・ 現在の感染対策はアルコール入り消毒剤の手指噴霧のみであり予防不可。
- ・ 感染対策マニュアルは手洗いとうがいの励行とあるのみで具体的でない。
- ・ 感染症は一度発生すると集団感染する。
- ・ 日本の経験・技術を駆使し高度な医療衛生国家として全ての災害に対応。

### 「具体的対策案」

- 災害対策マニュアルに具体的感染対策を織り込む。
  - ・ 小児から高齢者までの起こりうる各感染症の特徴明記
  - ・ すべての避難所の行政による感染症発生の実態管理
  - ・ 全ての人にoral care（口腔内乾燥予防）を指導
  - ・ 全ての人に次亜鉛素酸水による滅菌指導
  - ・ 集団生活の場所の出入り口に感染予防噴霧器設置

上記早期実現にご尽力いただけますよう各自治体に要望する次第であります。

|       |   |
|-------|---|
| 施設名   | 目白大学保健医療学部  |
|       | 教授 医学博士 坂田 英明  |
| 住 所   | 埼玉県さいたま市岩槻区浮谷 320   |
| 電 話   | 048-797-3341  |
| 電子メール | sakata@mejiro.ac.jp   |

## 保育所における上気道感染症の 実態調査および対策について

目白大学保健医療学部  
目白大学クリニック耳鼻科

坂田英明 福田邦宏  
佐久間嘉子 遠藤まゆみ



### はじめに

- 保育所への入園年齢が低年齢化している
- 保育時間が長い
- 感染症が蔓延しやすい

本研究では上気道感染症の実態を調査し予防  
していく方法を考えることを目的とする

## 対象と方法

- 対 象: 一般保育所の2歳児園児 22名
- 方 法: 上咽頭のぬぐい液からの細菌検査

A群・B群に分け、流水と石鹼の手洗い後に次亜塩素酸水を使用する群と、流水と石鹼のみの手洗い群に分ける。3ヵ月後に再度上咽頭からの細菌検査を行い細菌叢の比較を行い、臨床経過を調査する。

### 今回使用した微酸性次亜塩素酸水とミルトンの比較

|      | ミルトン                               | 微酸性次亜塩素酸水                         |
|------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 主成分  | 次亜塩素酸ナトリウム                         | 次亜塩素酸                             |
| PH領域 | 弱アルカリ領域                            | 中性領域                              |
| 殺菌効力 | 次亜塩素酸イオンが多いので殺菌速度が遅い               | 次亜塩素酸が芽胞をも分解し殺菌速度がミルトンの約80倍       |
| 濃度   | 11000PPM                           | 50PPM～200PPM(50単位で4段階)            |
| 使用方法 | 10～80倍希釈                           | 希釈せずそのまま                          |
| 安全性  | 残留性が高く原液のままでは危険であり、希釈に対してもかなり注意が必要 | 残留性がほとんどなく菌ウイルスに反応すると水道水以下の残留塩素濃度 |
| 安定性  | 紫外線や高温に極めて弱い                       | 有機物と接触しなければ安定                     |
| 浄化槽  | 影響あり(原液での場合)                       | 影響なし                              |
| 空間噴霧 | 可能であるが弊害が大きい(人体・環境にたいして)           | 可能であり、弊害がない。(人体・環境に対して)           |
| 価格   | 1Lあたり1500円                         | 2Lあたり2400円                        |

## 次亜塩素酸水抗菌作用(先行研究)

### I. 検討菌株

Haemophilus influenzae(ATCC 49247)

Staphylococcus aureus(ATCC 25923)

Escherichia coli(ATCC 25922)

Streptococcus pneumoniae(ATCC 49619)

Pseudomonas aeruginosa(ATCC 27853)

### II. 方法

#### 混合法

- ①それぞれの菌を35°Cで培養後、滅菌生食に浮遊させ、MaFarland標準液No 5.0に相当する濃度に調整した。
- ② 50ppmの次亜塩素酸水2mlに、①で調整したそれぞれの菌液100 $\mu$ l混合した。混合後1分、5分、10分毎に②で調整したそれぞれの菌液混合の次亜塩素酸水10 $\mu$ lを寒天平板に塗抹し、35°Cで培養後の発育を観察した。

Haemophilus influenzae  
インフルエンザ菌



対照(3+)



50PPM 1分 発育せず



50PPM 5分 発育せず



50PPM 10分 発育せず

Streptococcus pneumoniae  
肺炎球菌



対照(3+)



50PPM 1分 発育せず



50PPM 5分 発育せず



50PPM 10分 発育せず

## 結果

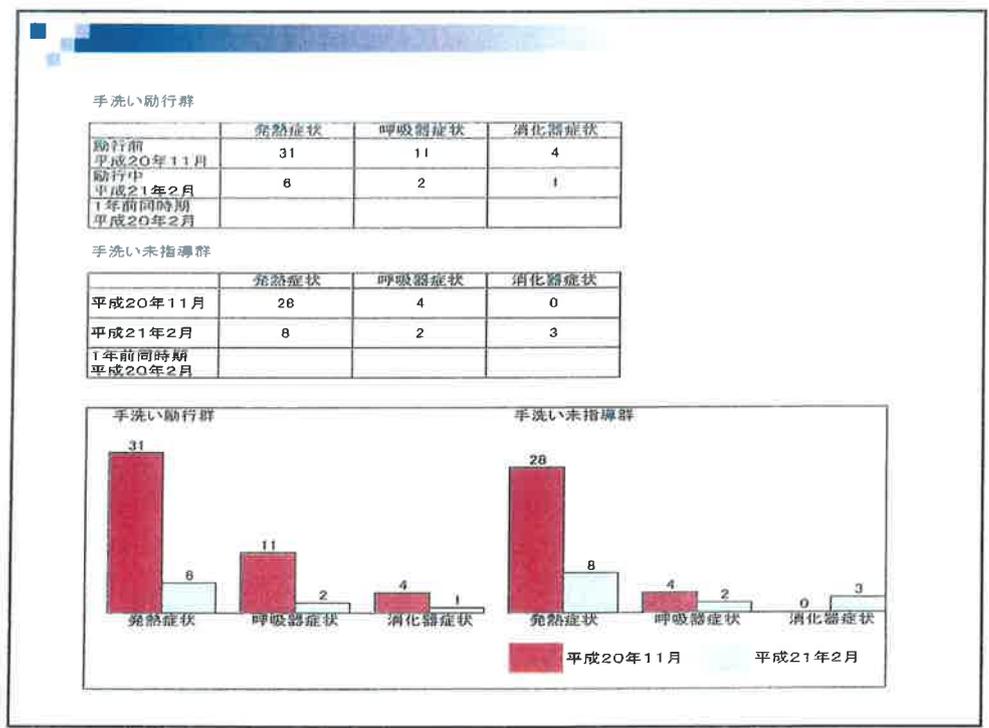
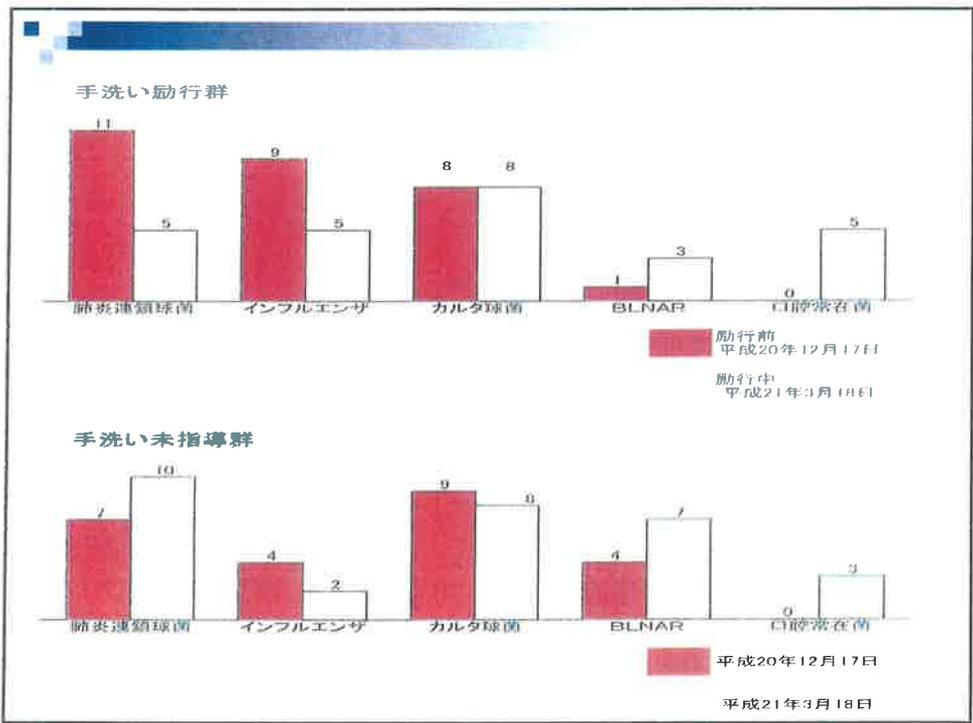
### A保育園一般細菌・真菌検査推移

#### 手洗い励行群

| 事前検査    |             | 使用中検査   |            |
|---------|-------------|---------|------------|
| 検査日     | 平成20年12月17日 | 検査日     | 平成21年3月18日 |
| 検査箇所    | 鼻腔          | 検査箇所    | 鼻腔         |
| 受検者     | 11名         | 受検者     | 10名        |
| 検出菌     | 人数          | 検出菌     | 人数         |
| 肺炎連鎖球菌  | 11          | 肺炎連鎖球菌  | 5          |
| インフルエンザ | 9           | インフルエンザ | 5          |
| カルタ球菌   | 8           | カルタ球菌   | 8          |
| BLNAR   | 1           | BLNAR   | 9          |
| 口腔常在菌   | 0           | 口腔常在菌   | 5          |

#### 手洗い未指導群

| 事前検査    |             | 使用中検査   |            |
|---------|-------------|---------|------------|
| 検査日     | 平成20年12月17日 | 検査日     | 平成21年3月18日 |
| 検査箇所    | 鼻腔          | 検査箇所    | 鼻腔         |
| 受検者     | 11名         | 受検者     | 10名        |
| 検出菌     | 人数          | 検出菌     | 人数         |
| 肺炎連鎖球菌  | 7           | 肺炎連鎖球菌  | 10         |
| インフルエンザ | 4           | インフルエンザ | 2          |
| カルタ球菌   | 9           | カルタ球菌   | 8          |
| BLNAR   | 4           | BLNAR   | 7          |
| 口腔常在菌   | 0           | 口腔常在菌   | 3          |
| モラクセラ   | 0           | モラクセラ   | 1          |



## 文献

- 2007: 武内 保育園入園1年間での上咽頭培養の変化  
2008: 伊藤 小児を取り巻く環境の変化  
2008: 木澤 金沢市保育所における感染症事業の取り組み  
2009: 坂田 次亜塩素酸による手洗い消毒の検証  
2010: 厚生労働省: 保育所の状況

## まとめ

一般保育所での上咽頭細菌叢は肺炎球菌とインフルエンザ菌が大多数であった。

手洗いを励行し、次亜鉛素酸水を使用した群では肺炎球菌とインフルエンザ菌の検出率低下、臨床症状の発症予防がみられた。

保育所など集団生活をする場合、日常でできる手洗いを徹底させることが感染症予防の第一歩であることが示唆された。

## オレア水溶液の抗菌作用

### I. 試験菌株

- ① *Haemophilus influenzae* (ATCC49247) b型インフルエンザ、非運動性で多形性を示す多くは人、哺乳類の上気道の常在菌
- ② *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) 黄色ブドウ球菌、化膿菌伝染性、眼痛疹、溶血毒、コアグラーゼ
- ③ *Escherichia coli* (ATCC25922) 大腸菌 O-157
- ④ *Streptococcus pneumoniae* (ATCC49619) 肺炎連鎖球菌、肺炎双球菌
- ⑤ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) 緑膿菌

### II. 試験（検査）方法

#### A) ディスク法

- ① それぞれ菌を 3.5℃で培養後、滅菌生食に浮遊させ、MaFarland標準液 No 0.5に相当する濃度に調整した。
- ② ①の菌液を塗抹した寒天平板、1cm四方の濾紙を4枚重ねて置き、50ppm, 100ppm, 200ppm, のオレア水溶液をそれぞれ100μl染み込ませ、3.5℃で培養し阻止円を観察した。

#### B) 混合法

- ① それぞれの菌を 3.5℃で培養後、滅菌生食に浮遊させ、MaFarland標準液 No 0.5に相当する濃度に調整した。
- ② 50ppm, 100ppm, 200ppm, のオレア水溶液 2mlに、①で調整したそれぞれの菌液を100μl混合した。
- ③ 混合後1分、5分、10分毎に②で調整したそれぞれの菌液混合オレア水溶液10μlを寒天平板に塗抹し、3.5℃で培養後の発育を観察した。

※ MaFarland標準液 No 0.5 . . . *Escherichia coli* (ATCC25922) 株  $1 \sim 2 \times 10^8$  colony forming /mlを含む濁りの程度を示します。

2008年3月6日

埼玉県立小児医療センター細菌検査室  
耳鼻咽喉科長 坂田英明 医学博士協力

## 保育所における細菌の実態調査と有効な感染予防法の検討について

**主 旨：** 今般、子供を保育所等に預け安心して親が働ける家庭が増えています。  
その中で、多少具合が悪くても子供を預けてしまう場合もあると思われます。  
また、突然病気等が発症してしまう場合もあります。  
保育所において感染予防など衛生管理等十分対策を考えておられると思いますが、  
より有効性があり、安全性が実証されている「次亜塩素酸水」での衛生管理を提案し、  
現場での細菌調査および感染予防調査を実施致したい所存でございます。

**目 的：** 保育所における玩具等共有物や児童の上咽頭常在菌、病原菌の実態調査と中耳炎、副鼻腔炎、  
上気道感染症などの予防として「次亜塩素酸」が含まれている水溶液を使用して抗菌力  
と感染症に対する有効性を検討します。

**使用商材：** 株式会社オレア製造 「オレア水溶液」 \*安全性、効力など詳細資料別途添付\*

**調査場所：** 保育所

**対 象：** 3歳以下の児童を同年代で使用する群と使用しない群の2群に分けます。

**期 間：** 平成20年10月下旬から平成21年3月末日までとする。

**調査内容：** ①共有物（玩具等）の細菌学的実態調査（オレア水溶液使用前後）  
②児童、先生の手指、上気道（上咽頭）の細菌学的検査（オレア水溶液使用前後）  
③専用噴霧器による定期的なオレア水溶液の噴霧による感染症発生数調査  
\*上記すべてにおいて使用している群と使用していない群との比較調査を実施します。  
\*③については過去の感染症発生数との比較も実施します。

**調査方法：** スケジュールおよび期間内の詳細については後頁

①共有物の細菌学的実態検査（玩具など）

玩具など児童がよく手で触る物を対象に「オレア水溶液」を吹きかける前後において菌数の  
変化を検査する。吹きかけた後においては1分、3分、5分で菌数の変化を検査する。

→ BML（検査機関）へ提出

②児童、先生の手指、上気道（上咽頭）の細菌学的検査

対象児童、先生の手指に「オレア水溶液」を吹きかける前後における菌数の変化を調査  
します。

→ BML（検査機関）へ提出

上気道（上咽頭）検査

③専用噴霧器による定期的なオレア水溶液の噴霧による感染症発生数調査

専用噴霧器を設置する部屋としない部屋（①の玩具、②の児童はすべて設置する部屋からとします。）で来年3月までの間、感染症発生数の比較調査をします。

インフォームドコンセント：

保育所において本実態調査、検査を行うにあたりあらかじめ保護者に説明し同意を得ます。万が一何らかの不足の事態が発生した場合は目白大学クリニックで対応いたします。

説明文書を合わせて添付いたします。

個人情報保護について：

調査により得られた個人情報はセキュリティーを強化し外部への漏洩を防ぎます。

共同研究責任者：日本環境衛生協議会

現場責任者：目白大学クリニック院長 坂田 英明



共同研究施設：保育所

埼玉県立小児医療センター細菌検査室

# 検査成績報告書



事業本部

愛媛県宇和島市

和歌山水産加工場

和歌山県海南市

被検体 製造年月日：平成 15 年 09 月 20 日  
 標記事項 被検体名：落下菌（生菌数）  
 加工形態：検査場所（下処理室内加工中）

上記製品の検査結果を下記にご報告致します

## 記

### 検査成績

| 検査結果 | 検査項目   | 検査結果 | 検出法  | 特記事項   |
|------|--|------|------|--------|
|      | 前室右 (噴霧前)  | 3    | コッホ法 | (1h開放) |
|      | " (噴霧後)  | 0    | 同上   | 同上     |
|      | 廊下側手洗い場 (噴霧前)  | 2    | 同上   | 同上     |
|      | " (噴霧後)  | 0    | 同上   | 同上     |
|      | 加工室間扉付近 (噴霧前)  | 1    | 同上   | 同上     |
|      | " (噴霧後)  | 0    | 同上   | 同上     |
|      | 原魚送込み口付近 (噴霧前)   | 2    | 同上   | 同上     |
|      | " (噴霧後)  | 1    | 同上   | 同上     |
|      | *寒天には標準寒天培地を使用<br>*シャーレ直径 8.6cm<br>*35.0℃で 48 時間培養<br>*計測場所については別紙参照 |      |      |        |

本成績書の内容を転載、公知とする場合には当社の承認を受けて下さい。

検査責任者



以上

# 検査・試験・評価結果報告書

平成17年3月20日

株式会社 オレア 様



株式会社 消費科学研究所  
〒550-0034 大阪府住之江区南船場  
AFCビル 8F  
TEL(06)5615-5285  
(東京研究所)  
〒135-8519 東京都江東区木場2丁目  
大丸コアビル  
TEL(03)3828-7330 FAX(03)3828-7335

平成17年3月10日に受け付けました試供品の検査・試験・評価の結果をご報告申し上げます。

## 記

| 承認 | 試験担当 |
|----|------|
| 吉川 | 篠    |

### 1. 試験品

冷凍鮭

①皮付き5Kgブロック(以下ブロックと言う。) ②さく形

### 2. 試験液(殺菌試験液・株式会社 オレアより入手したもの)

①アスファ水100ppm ②アスファ水50ppm ③アスファ水30ppm ④(株) 5月現在の生成した水溶液使用(それぞれ1.8%入手)

### 3. 試験方法

- ①試験品(2種類)を容器(容量8.5%)に入れ、試験品全体が試験液に浸かるまで試験液を入れる。
- ②5分後及び10分後に試験液を追加し、試験液は全量使用する。
- ③②の5分後(通算15分浸漬後)、試験品を取り出し細菌試験(細菌数、大腸菌群)を浸漬直後に実施する。
- ④試験品は密閉容器に入れ、4℃に設定したインキュベーターに保管し、翌日、翌々日にも細菌試験(細菌数、大腸菌群)を実施する。

本報告書を他に掲載するときには、弊社の承認を受けて下さい。

報告書番号

5053-20

4. 試験結果

①オレアスファ水100ppm

| 試験品  | 浸漬当日              |              | 翌日                   |              | 翌々日                  |              |
|------|-------------------|--------------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|
|      | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)         | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)         | 大腸菌<br>(1g中) |
| ブロック | $9.9 \times 10^2$ | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           |
| さく形  | $3.4 \times 10^2$ | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           |

② オレアスファ水50ppm

| 試験品  | 浸漬当日                 |              | 翌日                   |              | 翌々日               |              |
|------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|-------------------|--------------|
|      | 細菌数<br>(1g中)         | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)         | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) |
| ブロック | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           | $3.0 \times 10^2$ 以下 | 陰性           | $3.4 \times 10^2$ | 陰性           |
| さく形  | $1.1 \times 10^3$    | 陰性           | $7.4 \times 10^3$    | 陰性           | $4.1 \times 10^2$ | 陰性           |

③オレアスファ水30ppm

| 試験品  | 浸漬当日              |              | 翌日                |              | 翌々日               |              |
|------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|
|      | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) |
| ブロック | $9.0 \times 10^2$ | 陰性           | $2.3 \times 10^3$ | 陰性           | $1.3 \times 10^3$ | 陰性           |
| さく形  | $6.4 \times 10^3$ | 陰性           | $2.2 \times 10^3$ | 陰性           | $3.0 \times 10^3$ | 陰性           |

④併

現在の使用液

| 試験品  | 浸漬当日              |              | 翌日                |              | 翌々日               |              |
|------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|
|      | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) | 細菌数<br>(1g中)      | 大腸菌<br>(1g中) |
| ブロック | $2.2 \times 10^3$ | 陰性           | $4.9 \times 10^3$ | 陰性           | $1.2 \times 10^3$ | 陰性           |
| さく形  | $4.0 \times 10^3$ | 陰性           | $1.2 \times 10^4$ | 陰性           | $2.8 \times 10^3$ | 陰性           |

——以上——

平成 28 年 9 月 10 日

川越メディカルセンター(総合病院内・あさひ医科学研究所との共同研究の契約を締結)内科、皮膚科、耳鼻科、胃腸肛門科、小児科、循環器内科、眼科アレルギー科、整形外科、リハビリテーション科、等 10 病院の集合体が 2015 年にオープン致しました。本年月に総合院長、坂田英明先生の協力のもとで共同研究所でのアスファ水菌体検査及び、水素ガスエビデンスを取るために試験研究室をセンター内に設ける事ができました。埼玉県立小児医療センター、福島医大、市立横浜医大の先生方が来られ常在菌、落下菌試験、拭き取り等の菌体試験の開始主動することが出来ました。

第 1 回目の試験項目として生活習慣病や癌への関心が高まり、検診や人間ドックを受診する患者さんから喀痰(かくたん)検査を行いました。

※喀痰検査とは、痰を採取して、その中にどのような病的な成分が含まれているかを顕微鏡で観察する検査で、呼吸器の病気を診断する為には不可欠なものとなっています。

痰は呼吸器系の粘膜からしみ出る分泌物で、その成分には肺や気管支、咽喉頭などの気道からはがれた細胞も含まれます。異物(細菌、真菌、ウイルス、ほこり等)や血液成分が混じっていたりすると、痰に変化があらわれ肺や、呼吸器の様々な情報が得られます。

#### ○目的

オレア・アスファ水(100ppm、150ppm、200ppm)の細菌、真菌、ウイルス、に対する殺菌効果と生理食塩水、消毒薬との比較検査試験です。

#### ○方法

|    |                           |
|----|---------------------------|
| 検体 | アスファ水100ppm・・・・・・・・・・検体1  |
|    | アスファ水150ppm・・・・・・・・・・検体2  |
|    | アスファ水200ppm・・・・・・・・・・検体3  |
|    | 生理食塩水(NO1400AMZ00188・・検体4 |
|    | 消毒薬(抗生剤)・・・・・・・・・・検体5     |

#### ○試験菌

細菌、真菌、ウイルス、肺炎、抗酸菌症の原因菌を検査し検体1~5までを検査

○検査方法

喀痰が唾液であるか、膿が含まれた黄色い痰がないかを調べ検査し黄色(膿)部分の一部を検査用スライドガラスに塗りつけ菌を特殊染色液で染めて染色切片を検体を培地した

○結果

アスファ水100ppm30%、アスファ水150ppm60%、生理食塩水30%消毒液70%、アスファ水200ppmでは100%検出せず。作用温度：20℃

〒350-1122

埼玉県川越市脇田町 103 番

川越マイン・メディカルセンター2階

川越耳科学クリニック

医院長 坂田 英明

