

眼刺激性試験代替法の評価報告書

In vitro 短時間曝露法
(Short Time Exposure *In Vitro* Test Method: STE 法)

眼刺激性代替法資料編纂委員会

2015年9月29日

眼刺激性代替法資料編纂委員会

竹内 小苗 (P&G イノベーション合同会社)
小坂 忠司 (一般財団法人 残留農薬研究所)
佐々木 正治 (アッヴィ合同会社)
森村 智美 (一般財団法人 食品薬品安全センター)
吉村 功 (東京理科大学名誉教授)

略語

AD: Applicable Domain

BCOP: Bovine Corneal Opacity and Permeability

CAS: Chemical Abstracts Services

CM: Cytosensor Microphysiometer

DMSO: Dimethyl Sulfoxide

ETDA: Ethylenediaminetetraacetic Acid

FL: Fluorescein Leakage

GHS: Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals

ICCVAM: Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods

ICE: Isolated Chicken Eye

JaCVAM: Japanese Center for the Validation of Alternative Methods

kPa: kiloPascals

MTT: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

NICEATM: National Toxicology Program (NTP) Interagency Center for the Evaluation of
Alternative Toxicological Methods

OD: Optical Density

OECD: Organization for Economic Co-operation and Development

SD: Standard Deviation

SRD: Summary Review Document

SIRC: Statens Seruminstitut Rabbit Cornea

SLS: Sodium Lauryl Sulfate

STE: Short Time Exposure *In Vitro* Test

TG: Test Guideline

UN: United Nations

要旨

in vitro 短時間曝露法（Short Time Exposure *In Vitro* Test Method : STE 法）は、ウサギ由来の角膜上皮細胞に対する化学物質の細胞毒性を指標に用いて眼刺激性を評価する試験法である。トップダウン方式において UN GHS 区分 1 物質を検出する方法、およびボトムアップ方式において UN GHS 区分外物質を検出する方法としてバリデーションが行われ、2015 年に OECD のテストガイドライン TG 491 として採択された。本報告書は、ICCVAM/NICEATM の SRD や発表論文などをもとに、採択された STE 法の概要を説明し、JaCVAM 眼刺激性代替法資料編纂委員会の意見を述べたものである。

ウサギを用いた Draize 眼刺激性試験と比較したとき、STE 法のトップダウン方式およびボトムアップ方式における一致度は 83.2% および 84.6%、偽陽性率は 1.2% および 19.3%、偽陰性率は 51.3% および 12.3% であった。ボトムアップ方式において適用除外物質を除いた場合は、一致度、偽陽性率、偽陰性率が 90.2%、18.8%、1.9% であった。施設内・施設間再現性、技術移転性に関しては、懸念される結果がなかった。

TG 491 に準拠して実施すれば、STE 法はトップダウン方式で UN GHS 区分 1 物質を検出する方法、およびボトムアップ方式で UN GHS 区分外物質を検出する方法として用いることができると本委員会は考える。

1. まえおき

化学物質の眼刺激性を評価する方法としては、ウサギの眼を用いた **Draize** 眼刺激性試験が従来使用されてきた。しかし、近年の動物福祉に対する関心の高まりや欧州における法規制改正により、その代替法の開発が進められ・バリデーションが行われてきた。現在 **OECD** によりテストガイドラインとして採択された代替法は、ウシ摘出角膜の混濁および透過性試験 (**BCOP** 法、**TG 437**)、ニワトリ摘出眼球を用いた眼刺激性試験法 (**ICE** 法、**TG 438**)、およびフルオレセイン漏出試験法 (**FL** 法、**TG 460**) の3試験法である。**BCOP** 法と **ICE** 法は食用などの目的で処分された動物より摘出した器官・組織を用いて化学物質の曝露により生じる角膜の物理的特性の変化を指標に眼刺激性を評価する試験法で、トップダウン方式において重篤な眼の傷害を起こす (すなわち、**UN GHS** 区分1) 物質を検出する方法として、またボトムアップ方式において眼に対する重篤な損傷性を有する物質および眼刺激性物質とは分類されない (すなわち、**UN GHS** 区分外) 物質を検出する方法として用いられる。**FL** 法は単層培養した尿細管上皮細胞を用いて化学物質の曝露により生じる細胞間結合の傷害を指標に眼刺激性を評価する試験法で、トップダウン方式でのみ用いられる。

in vitro 短時間曝露法 (**Short Time Exposure In Vitro Test Method**、以下 **STE** 法) は、角膜上皮の損傷の作用機序である角膜上皮細胞に対する細胞毒性を指標に用いて、眼刺激性を評価する試験法である。すなわち **STE** 法では、ウサギ角膜由来株化細胞である **SIRC** 細胞に被験物質の希釈液を5分間曝露した後、**MTT** の取り込み量を基に細胞生存率を測定し (**MTT** 還元法)、被験物質 (未希釈) の眼刺激性を評価している (Takahashi et al. 2008)。

STE 法は日本動物実験代替法学会 (Sakaguchi et al. 2011) と **JaCVAM** (Kojima et al. 2013) のバリデーションを経て、トップダウン方式において **UN GHS** 区分1物質を検出する方法およびボトムアップ方式において **UN GHS** 区分外物質を検出する方法として **ICCVAM/NICEATM** により第三者評価を受け、その報告書 (**Summary Review Document: SRD**) が2013年6月に公表された。その後、2015年7月に **OECD** によりトップダウン・ボトムアップ両方式の眼刺激性試験代替法としてテストガイドラインに採択された (**TG 491**)。

本報告書は **ICCVAM/NICEATM** の **SRD** や発表論文などをもとに **OECD TG 491** に採択された **STE** 法の概要を説明し、本委員会の意見および評価を述べたものである。

2. 試験法の位置づけ

STE 法は、**UN GHS** 区分1物質である単一物質および混合物をトップダウン方式で検出する際に最初に用いる試験法である。また、**STE** 法は、**UN GHS** 区分外物質である単一物質および混合物をボトムアップ方式で検出する際に最初に用いる試験法でもある。

3. 試験法の原理

眼に異物が入った場合、眼の刺激性は最表面の細胞傷害から始まる。**STE** 法はこれに

注目して、角膜上皮細胞に対する細胞毒性を指標として眼刺激性を評価する試験法である。コンフルエントに単層培養した SIRC 細胞に被験物質希釈液を 5 分間曝露した後、MTT の取り込み量で測定した細胞生存率をエンドポイントに用いる。これは、MTT が脱水素酵素の基質となる性質を利用し、細胞内に取り込まれた MTT がミトコンドリア内脱水素酵素により還元され、生成されたホルマザン量が生存細胞数に比例することを利用して (MTT 還元法)。

眼に溶液が入った場合、ヒトではその大部分が 1~2 分で眼内から排出され、ウサギでは 3~4 分で 80% が排出されると報告されている。このような実際の曝露状況を考慮して、STE 法は通常の細胞毒性試験と比べて短時間曝露の試験として設計されている。

4. 試験手順

STE 法の手順の詳細は TG 491 に書かれているが、概要は以下の通りである。

4-1. 細胞の準備

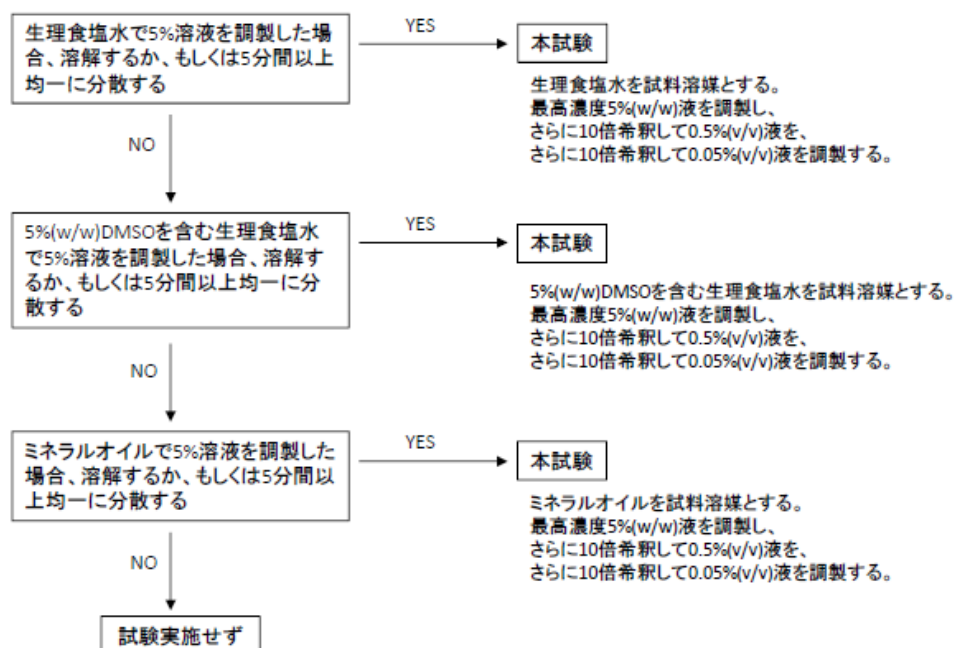
SIRC 細胞は 10% (v/v) ウシ胎児血清、2 mM L-グルタミン、50~100 unit/mL ペニシリン、50~100 µg/mL ストレプトマイシンを添加した Eagle 最小必須培地にて 37°C、5% CO₂ 存在下で培養する。コンフルエントになるまで培養した細胞をトリプシン EDTA 溶液により剥がし、継代用培養フラスコに播種する。試験には継代数 25 回までの細胞を使用する。

試験に用いる際は、試験実施時にコンフルエント (>80%) になるように、前培養期間が 4 日間ならばウェルあたり 6.0 × 10³ cells、5 日間ならばウェルあたり 3.0 × 10³ cells に調製し 96 ウェル平板プレートに 200 µL ずつ播種する。

4-2. 試験サンプルの調製

生理食塩水、5% (w/w) DMSO (CAS# 67-68-5) を含む生理食塩水、ミネラルオイル

図 1. 試験溶媒の選択方法



(CAS# 8042-47-5) の中から適切な溶媒を図 1 に従って選択する。

試験には被験物質の 5% および 0.05% 希釈液（溶液あるいは懸濁液）を供する。陽性対照には SLS の 0.01% 生理食塩水溶液を用いる。これに加えて、溶媒対照、操作対照（培地対照）およびブランク（細胞なし培地のみ）も設ける。

4-3. 曝露・細胞生存率の算出

SIRC 細胞を前培養してコンフルエントとなった 96 ウェル平板プレートを以下のように処理する。各ウェルから培地を除去し、被験物質希釈液（5%、0.05%）および対照物質をそれぞれ 200 μ L ずつ添加し 5 分間室温で曝露する。曝露終了後、試験サンプルを除去し、リン酸緩衝液 200 μ L で 2 回洗浄する。MTT 溶液を 200 μ L 添加し、37°C、5% CO₂ 存在下で 2 時間反応させる。反応後 MTT 溶液を除去し、ホルマザン抽出液を 200 μ L 添加し、1 時間室温暗所でホルマザンを抽出し、その吸光度をプレートリーダーにより 570 nm (OD₅₇₀) で測定する。

試験サンプル毎に 3 ウェルを用い、3 ウェルの平均 OD₅₇₀ を細胞生存率算出に用いる。

$$\text{細胞生存率} = \frac{\text{OD}_{570 \text{ 試験サンプル}} - \text{OD}_{570 \text{ ブランク}}}{\text{OD}_{570 \text{ 溶媒対照}} - \text{OD}_{570 \text{ ブランク}}} \times 100$$

なお、試験サンプル処理群の細胞生存率がマイナスになった場合は、生存率をゼロとする。

4-4. 眼刺激性判定

以上の手順で実験を 3 回実施し、それぞれで得られた細胞生存率の平均を最終判定に用いる。眼刺激性 GHS 分類の判定は表 1 に示した通りである。

表 1. 眼刺激性 GHS 分類の判定

被験物質希釈濃度	平均生存率	被験物質の GHS 分類
0.05%	> 70%	区分外
5%	> 70%	
0.05%	> 70%	分類できない
5%	≤ 70%	
0.05%	≤ 70%	区分 1
5%	≤ 70%	

4-5. 結果の承認基準

以下の 4 条件を満たした場合、試験の結果を承認する。

- 1) 操作対照の吸光度がブランク減算後 0.3 以上であること。
- 2) 実験に用いた溶媒対照すべてにおいて、細胞生存率が操作対照の 80% 以上であること。

- 3) 陽性対照の細胞生存率が妥当な範囲^{注)}に収まること。
- 4) 3回の実験の細胞生存率のSDが被験物質5%、0.05%希釈液どちらでも15%未満であること。

1)~4)の条件のいずれかが満たされない場合にはデータをすべて破棄し、新たに独立した3回の実験を実施する。

5. 試験法の正確性

以下のバリデーション試験等の結果がSTE法の正確性の検討に用いられた。

- Takahashi et al. (2009) – プレバリデーション試験 I 44 物質
- Takahashi et al. (2010) – プレバリデーション試験 II 70 物質
- Sakaguchi et al. (2011) – バリデーション試験 I 25 物質
- Kojima et al. (2013) – バリデーション試験 II 40 物質
- 花王社内データ – Takahashi et al. (2011) および未発表社内データ 23 物質
- 花王社内データ (追加分) – 界面活性剤および界面活性剤含有の処方 52 物質
- Saito et al. (2015) – 混合物 40 物質

Saito et al.のデータを除く169物質のデータを用いてICCVAM/NICEATMによる正確性の検討が行われた。そのうち、GHSの眼刺激性分類を行うのに適切な動物試験のデータがない物質は正確性の検討対象から除かれた。1つの物質に対して複数の試験施設でのSTE法の判定がある場合は、試験施設数が最も多い判定を採用した。その試験施設数が同数になった場合は、刺激性の高い判定の方を採用した。なお、ICCVAM/NICEATMの検討ではMTTを直接還元する物質(ボトムアップ方式では区分外と判定された物質のみ)は検討対象から外されていたが、2次元細胞培養系を用いるSTE法においては洗浄により被験物質は十分取り除かれるので、以下の正確性の検討では採用した。

Saito et al.のデータは5%希釈の結果のみを含み、ボトムアップ方式での混合物の評価における正確性を検討している。

5-1. トップダウン方式—GHS区分1の物質の検出

トップダウン方式の正確性の検討には125物質のデータが用いられた(Appendix 1)。その結果は、正確度83.2%(104/125)、偽陽性率1.2%(1/86)、偽陰性率51.3%(20/39)であった。偽陰性を示した20物質のうち、アルコール類が8物質、カルボン酸類が5物質、また塩類が3物質あった。そのほか、エステル類やヘテロサイクリック化合物などで偽陰性を示した物質があった。偽陽性となった1物質は非イオン性界面活性剤であった。アルコール類やエステル類など動物試験で得られる眼刺激性分類と一致しない物質の割合が高かった化学物質群を除いても、正確性の数値に顕著な改善は見られなかった。

注) 実施施設の過去のデータから求められる平均細胞生存率 $\pm 2SD$ に収まること。上限・下限値は3ヶ月ごとに更新すべきである。実施実績が1ヶ月に1回未満の施設においては上限・下限値の更新は試験実施ごとに行うこと。過去のデータが不十分な施設においては、STE法開発施設が設定した上限・下限値(21.1%~62.3%)を用いて構わない。

すでにトップダウン方式でのバリデーションが終了している他の代替法と STE 法の正確性の比較を表 2 にまとめた。

5-2. ボトムアップ方式—GHS 区分外の物質の検出

ボトムアップ方式の正確性の検討には 130 物質のデータが用いられた (Appendix 1)。その結果は、正確度 84.6% (110/130)、偽陽性率 19.3% (11/57)、偽陰性率 12.3% (9/73) であった。高い偽陰性率を示した物質は、塩類、炭化水素、アルコール類などがあった。また、固体 (13.5%) の方が液体 (4.3%) よりも偽陰性率が高かった。これらの化学物質群のデータをそれぞれ除いても、正確性の数値に顕著な改善は見られなかった。適用範囲として、蒸気圧が高い物質 (> 6 kPa) と界面活性剤ではない固体を除いた場合は、正確度 90.2% (92/102)、偽陽性率 18.8% (9/48)、偽陰性率 1.9% (1/54) であった。偽陰性を示した物質は動物試験での GHS 分類が区分 2B である Toluene であった。すでにボトムアップ方式でのバリデーションが終了している他の代替法と STE 法の正確性の比較を表 3 にまとめた。

表 2. トップダウン方式での STE 法とバリデーションが終了している代替法との正確性の比較

試験法	物質数	正確度		偽陽性率		偽陰性率	
		%	No.	%	No.	%	No.
STE	125	83.2	104/125	1.2	1/86	51.3	20/39
BCOP	188	79.3	149/188	23.6	29/123	15.4	10/65
ICE	144	83.3	120/144	7.9	9/114	50.0	15/30
CM	82	90.2	74/82	2.1	1/48	20.6	7/34
FL	151	77.5	117/151	6.8	7/103	56.3	27/48

表 3. ボトムアップ方式での STE 法とバリデーションが終了している代替法との正確性の比較

試験法	物質数	正確度		偽陽性率		偽陰性率	
		%	No.	%	No.	%	No.
STE	130	84.6	110/130	19.3	11/57	12.3	9/73
BCOP	188	66.5	125/188	69.2	63/91	0.0	0/97
ICE	152	82.2	125/152	32.9	26/79	1.4	1/73
CM	53	67.9	36/53	68.0	17/25	0.0	0/28
STE*	102	90.2	92/102	18.8	9/48	1.9	1/54

* 蒸気圧 > 6 kPa の物質、および、界面活性剤以外の固体を除いた場合

5-3. 混合物

前述の ICCVAM/NICEATM による正確性の検討には混合物が 10 物質含まれている。そのうち、区分 1 の 1 物質は分類不可と判定された。区分外の 4 物質中 3 物質は区分外と判定された。

ICCVAM/NICEATM による正確性の検討とは別に、Saito et al. の 40 混合物を用いたボトムアップ方式における正確性の検討によると、正確度 87.5% (35/40)、偽陽性率 50.0% (5/10)、偽陰性率 0.0% (0/30) であった。

6. 試験法の信頼性

以下のバリデーション試験の結果が STE 法の信頼性の検討に用いられた。

- Takahashi et al. (2009) – プレバリデーション試験 I
- Takahashi et al. (2010) – プレバリデーション試験 II
- Sakaguchi et al. (2011) – バリデーション試験 I
- Kojima et al. (2013) – バリデーション試験 II

6-1. 技術移転性

STE 法を実施するために必要な装置・器具は、一般的な無菌化の細胞培養に用いるもので、入手は容易である。手技も技術的に複雑なものではない。2 つのプレバリデーション試験においても技術移転性についての問題は指摘されていない。

6-2. 施設内再現性

STE 法は 1 つの試験で 3 つの独立した実験を行うため、個々の実験から得られた細胞生存率が施設内再現性の検討に用いられた。区分外と判定された物質の 5% 希釈液での細胞生存率の変動係数は 0.3~23.5% であった。区分外と判定されなかった物質では生存率が極めて低い値になるため、その変動係数は高い値を示した。陽性対照として用いられる 0.01% SLS の平均細胞生存率は 41.7% (n = 71) であり、変動係数は 24.7% であった。

6-3. 施設間再現性

5 施設で行われた Sakaguchi et al. のバリデーション試験 I において、それぞれの施設で得られた希釈濃度ごとの 25 物質の平均細胞生存率の SD は 0.3~20.1% であった。SD は基本的に小さく、良好な施設間再現性が確認された。25 物質の GHS 分類の判定について 5 施設すべてで判定が一致したのは 21 物質、1 施設で判定が異なったのは 3 物質で、2 施設で判定が異なったのは 1 物質であった。

STE 法を実施する試験施設へ適切な技術移転が達成できたことを確かめるには、Appendix 2 の熟達度確認物質を用いる。

7. 試験法の適用範囲

STE 法の適用には試験法の性質上、また、正確性の観点から以下の制限が設けられる。

- 1) 生理食塩水、5% (w/w) DMSO を含む生理食塩水、およびミネラルオイルのいずれにも溶解しない、あるいはそれら溶媒中で均一分散している状態が 5 分以上保たれない物質は適用不可能である。
- 2) ボトムアップ方式を単一物質に適用する場合、蒸気圧が 6 kPa を超える物質および界面活性剤ではない固体は、これら物質群が高い偽陰性率を示すことから、適用か

ら除外される。固体混合物に適用する場合は、界面活性剤のみから構成される物質は対象にするが、それ以外の物質は除外する。また、蒸気圧の高い (> 6 kPa) 物質を含む混合物に適用する場合は眼刺激性が過小評価される可能性があるため、STE法を用いる正当性を個別に検討すべきである。

- 3) トップダウン方式では、単一物質を用いる場合は制限がなく、また、混合物についてもバリデーションデータは限られてはいるものの、適用から除外する必要はない。

8. 本委員会の結論

STE法は、すでにバリデーションが終了している他の代替法と比較した場合、正確性、再現性は同程度であった。

短時間で安価に実施でき、使用細胞の供給源に制限がなく、特殊な機材や試薬を必要とせず、必要な手技も複雑なものではないから、技術移転性は高いと判断できる。ガイドラインに示された熟達度確認物質を用いて、実施する試験施設へ適切な技術移転が達成できたことを確かめる必要がある。

使用溶媒に不溶な物質、あるいは均一に分散しない物質は試験に適さない。ボトムアップ方式では、界面活性剤以外の固体や蒸気圧の高い (> 6 kPa) 物質を除外することになっているが、その妥当性の確認は十分でない。

TG 491 に準拠して実施した場合、トップダウン方式で UN GHS 区分 1 物質を検出する方法、およびボトムアップ方式で UN GHS 区分外物質を検出する方法として用いることができるかと本委員会は考える。

9. 文献

ICCVAM (2013) Short Time Exposure (STE) Test Method Summary Review Document.

Kojima et al. (2013) Second-phase validation study of the short time exposure test for assessment of eye irritation potency of chemicals. *Toxicol In Vitro* 27(6): 1855-1869.

OECD (2012) Test Guideline 437. Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage.

OECD (2012) Test Guideline 438. Isolated Chicken Eye Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage.

OECD (2012) Test Guideline 460. Fluorescein Leakage Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants.

OECD (2015) Test Guideline 491. Short Time Exposure *In Vitro* Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage.

Saito et al. (2015) Predictive performance of the Short Time Exposure test for identifying eye irritation potential of chemical mixtures. *Toxicol In Vitro* 29(3): 617-620.

Sakaguchi et al. (2011) Validation study of the Short Time Exposure (STE) test to assess the eye irritation potential of chemicals. *Toxicol In Vitro* 25(4): 796-809.

Takahashi et al. (2010) An interlaboratory study of the short time exposure (STE) test using SIRC cells for predicting eye irritation potential. *Cutan Ocul Toxicol* 29(2): 77-90.

Takahashi et al. (2009) Inter-laboratory study of short time exposure (STE) test for predicting eye irritation potential of chemicals and correspondence to globally harmonized system (GHS) classification. *J Toxicol Sci* 34(6): 611-626.

Takahashi et al. (2008) Development of the short time exposure (STE) test: an in vitro eye irritation test using SIRC cells. *Toxicol In Vitro* 22(3): 760-770.

Appendix 1

SET 法の評価に用いられた物質（その 1）

	トップダウン方式	ボトムアップ方式	ボトムアップ方式 適用制限物質を除外
全体	125	130	102
化学物質区分			
アルコール類	39	40	36
アルデヒド類	2	2	0
アルカリ	1	1	0
アミン類	9	10	8
ホウ素化合物	4	4	2
カルボン酸類	23	24	19
塩素化合物	1	1	0
エステル類	17	18	17
エーテル類	16	16	16
製剤（混合物）	10	10	10
グリコール類	1	1	1
ヘテロサイクリック化合物	9	10	7
炭化水素	23	24	18
無機化合物	1	1	0
ケトン類	8	8	5
ラクトン	1	1	1
油類	5	7	6
ニトリル化合物	1	1	1
窒素化合物	1	1	1
オニウム化合物	11	12	11
フェノール類	1	1	0
多環式化合物	1	1	1
塩類	17	18	14
硫黄化合物	15	16	12

注) 物質によっては複数の化学物質区分にまたがっている場合もあるため、合計は物質総数とは一致しない。

Appendix 1

SET 法の評価に用いられた物質（その2）

	トップダウン方式	ボトムアップ方式	ボトムアップ方式 適用制限物質を除外
全体	125	130	102
物質の特性			
液体	92	93	79
蒸気圧 >6kPa	-	14	0
蒸気圧 ≤6kPa	-	61	61
蒸気圧 不明	-	18	18
固体	33	37	23
界面活性剤	-	23	23
非界面活性剤	-	14	0
蒸気圧 >6kPa	-	0	0
蒸気圧 ≤6kPa	-	23	10
蒸気圧 不明	-	14	13
製品区分			
界面活性剤	45	49	49
溶剤	34	35	26
化学中間産物	24	24	20
医薬品	20	20	13
香料	20	20	13
殺虫剤・抗菌剤・防腐剤	10	10	7
塗料	11	10	7

注) 製品区分は物質数の多いものを抽出した。物質によっては複数の製品区分にまたがっている場合もある。

Appendix 2

STE 法の熟達度確認物質

物質名	CAS 番号	化学分類	性状	GHS 分類	STE 法での 使用溶媒	STE 法 判定
Benzalkonium chloride (10% aqueous)	8001-54-5	オニウム化合物	液体	区分 1	生理食塩水	区分 1
Triton X-100 (100%)	9002-93-1	エーテル類	液体	区分 1	生理食塩水	区分 1
Acid Red 92	18472-87-2	ヘテロサイクリック化合物； 臭化化合物； 塩素化合物	固体	区分 1	生理食塩水	区分 1
Sodium hydroxide	1310-73-2	アルカリ； 無機化合物	固体	区分 1	生理食塩水	区分 1
Butyrolactone	96-48-0	ラクトン類； ヘテロサイクリック化合物	液体	区分 2A	生理食塩水	分類不可
1-Octanol	111-87-5	アルコール類	液体	区分 2A/B	ミネラルオイル	分類不可
Cyclopentanol	96-48-0	アルコール類； 炭化水素（環状）	液体	区分 2A/B	生理食塩水	分類不可
2-Ethoxyethyl acetate	111-15-9	アルコール類； エーテル類	液体	区分外	生理食塩水	区分外
Dodecane	112-40-3	炭化水素（非環状）	液体	区分外	ミネラルオイル	区分外
Methyl isobutyl ketone	108-10-1	ケトン類	液体	区分外	ミネラルオイル	区分外
n,n-Dimethylguanidine sulfate	598-65-2	アミジン類； 硫黄化合物	固体	区分外	生理食塩水	区分外