

目 次

	ページ
1 適用範囲.....	1
2 引用規格.....	1
3 用語及び定義.....	1
4 試験の種類.....	2
5 試験の準備.....	3
5.1 試薬.....	3
5.2 材料及び器具.....	3
5.3 ダニ培地の準備.....	4
6 試験条件.....	4
7 試料.....	4
7.1 採取方法.....	4
7.2 無加工試料.....	5
7.3 前処理.....	5
7.4 保管.....	5
8 忌避試験.....	5
8.1 侵入阻止法.....	5
8.2 ガラス管法.....	7
9 増殖抑制試験.....	9
10 特異な試料に対する試験方法の対応.....	12
11 試験報告書.....	12
附属書 A (規定) 試験に用いるダニ.....	13
附属書 B (規定) ダニの計数方法.....	14

まえがき

この規格は、工業標準化法第 12 条第 1 項の規定に基づき、日本カーペット工業組合(JCMA)及び財団法人日本規格協会(JSA)から、工業標準原案を具して日本工業規格を制定すべきとの申出があり、日本工業標準調査会の審議を経て、経済産業大臣が制定した日本工業規格である。

この規格は、著作権法で保護対象となっている著作物である。

この規格の一部が、特許権、出願公開後の特許出願、実用新案権又は出願公開後の実用新案登録出願に抵触する可能性があることに注意を喚起する。経済産業大臣及び日本工業標準調査会は、このような特許権、出願公開後の特許出願、実用新案権又は出願公開後の実用新案登録出願に係る確認について、責任はもたない。

繊維製品の防ダニ性能試験方法

Testing methods for efficacy against house dust mite of textiles

1 適用範囲

この規格は、防ダニ加工が施された繊維製品の室内じん（塵）性ダニに対する性能試験方法について規定する。

なお、この規格における防ダニ性能は、忌避及び増殖抑制を対象とする。

2 引用規格

次に掲げる規格は、この規格に引用されることによって、この規格の規定の一部を構成する。これらの引用規格は、その最新版（追補を含む。）を適用する。

- JIS B 7139 双眼実体顕微鏡
- JIS K 0050 化学分析方法通則
- JIS K 8102 エタノール (95) (試薬)
- JIS K 8150 塩化ナトリウム (試薬)
- JIS L 0105 繊維製品の物理試験方法通則
- JIS L 0217 繊維製品の取扱いに関する表示記号及びその表示方法
- JIS L 0803 染色堅ろう度試験用添付白布
- JIS L 1096 一般織物試験方法
- JIS L 1903 羽毛試験方法
- JIS L 4406 タイルカーペット
- JIS P 3801 ろ紙 (化学分析用)
- JIS R 3503 化学分析用ガラス器具
- JIS R 3644 ガラス管類
- JIS Z 1539 包装用ポリプロピレン粘着テープ
- JIS Z 1701 ゴムバンド
- JIS Z 8401 数値の丸め方
- JIS Z 8801-1 試験用ふるい—第1部：金属製網ふるい

3 用語及び定義

この規格で用いる主な用語及び定義は、次による。

3.1

室内じん（塵）性ダニ

床面、カーペット、寝装品などに室内じんとともにみられるダニの総称で、その優占種は世界共通して

チリダニ類である。

3.2

忌避率

無加工品の生存ダニ数に対する加工品の生存ダニ数を百分率（％）で示し、加工品の忌避性能を表したものの[式(3)及び式(4)参照]。

3.3

増殖抑制率

無加工品の生存ダニ数に対する加工品の生存ダニ数を百分率（％）で示し、加工品の増殖抑制の度合いを表したものの[式(8)参照]。

3.4

ダニ培地

ダニを繁殖させた飼育飼料。

3.5

生存ダニ

外部からの刺激に対して反応を示すダニで、卵を除く幼虫、若虫（前若虫及び後若虫）及び成虫のすべてのステージを含む。

3.6

ダニ密度

ダニ培地中の生存ダニの度合い又はダニ培地 1 g 中の生存ダニ数。

3.7

静止期

幼虫、前若虫及び後若虫の各発育期の後半期にみられる、活動がほとんど停止している状態の期間。

3.8

接種用ダニ培地

ダニ密度を調整した培地。

4 試験の種類

防ダニ加工を施した繊維製品の室内じん性ダニに対する性能によって、次に示すいずれかの試験を選択する。

a) **忌避試験** 室内じん性ダニに対して忌避性能をもたせた繊維製品に対して行う試験方法で、繊維製品の種類又は形状から次に示すいずれかの試験方法によって行う。

1) **侵入阻止法** カーペット、ふとん側地、カバー・シーツ類、毛布などに適用する。ただし、その厚さが 15 mm を超えないものに限る。

2) **ガラス管法** ふとんわたなどに適用する。その材質から次のいずれかによる。

2.1) **A 法** 綿、羊毛、合成繊維などに適用する。

2.2) **B 法** 羽毛に適用する。

b) **増殖抑制試験** 室内じん性ダニに対して増殖抑制性能をもたせた繊維製品に対する試験方法で、繊維製品の種類又は形状から次のどちらかの試験方法によって行う。

1) **A 法** カーペット、ふとん側地、カバー・シーツ類、毛布などに適用する。ただし、その厚さが 15 mm を超えないものに限る。

2) B 法 ふとんわたなどに適用する。

5 試験の準備

5.1 試薬

試薬は、次による。

- a) 塩化ナトリウム JIS K 8150 に規定する特級のもの。
- b) エタノール JIS K 8102 に規定する特級又は 1 級のもの。
- c) 精製水 第十五改正日本薬局方の基準に適合するもの。
- d) 水 第十五改正日本薬局方の常水の基準に適合するもの。
- e) 乾燥酵母 第十五改正日本薬局方の基準に適合するもので、ダニの飼育飼料として使用する。
- f) 非イオン界面活性剤 ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート [ポリソルベート 80 (Tween 80)]。
- g) 飽和食塩水 塩化ナトリウム(NaCl) 392 g を精製水 1 000 ml に加熱溶解させた後、その上澄み液を使用したもの。ダニの飼育及び試験時に湿度調整のために使用する。また、飽和食塩水浮遊法においても使用する。
- h) 非イオン界面活性剤溶液 非イオン界面活性剤 0.1 g を精製水 100 ml に溶解させたもの。ダニの回収作業時に湿潤剤として使用する。
- i) 着色液 着色用試薬¹⁾ 6.0 g をエタノール(C_2H_5OH) 100 ml に溶解させた後、精製水で全量を 1 000 ml にしたもの²⁾。ろ紙又はダニ以外のきょう(夾) 雑物を染色するために使用する。

注¹⁾ 着色用試薬としてクリスタルバイオレット($C_{25}H_{30}ClN_3 \cdot 9H_2O$)又はメチレンブルー($C_{16}H_{18}N_3S \cdot Cl \cdot nH_2O$)を使用する。

²⁾ ろ紙に直接着色する場合は、この着色液を数倍に薄めたものを用いてもよい。その場合は、着色液によってダニが死亡又は着色するような高濃度のものを用いてはならない。

5.2 材料及び器具

- a) 循環式熱風乾燥機 温度 70 ± 2 °C に保てるもので、試料又は粉末飼料の前処理に使用する。
- b) 恒温器 (又は恒温室) 温度 25 ± 2 °C, 暗条件に保てるもので、ダニの飼育又は試験に使用する。
- c) 三角フラスコ JIS R 3503 に規定するもので、呼び容量が 50 ml のもので、飽和食塩水浮遊法に使用する。
- d) ビーカー (50 ml) JIS R 3503 に規定するもので、呼び容量が 50 ml のもので、飽和食塩水浮遊法に使用する。
- e) ビーカー (100 ml) JIS R 3503 に規定するもので、呼び容量が 100 ml のもので、全量展開法に使用する。
- f) シャーレ (大) JIS R 3503 に規定するもので、内径約 90 mm, 内高約 20 mm のもので、侵入阻止法に使用する。
- g) シャーレ (小) 外径約 45 mm, 内高約 15 mm のガラス製のもので、侵入阻止法又は増殖抑制試験 A 法に使用する。
- h) ガラス管 JIS R 3644 に規定する外径 22 ± 0.6 mm (肉厚 1.2 ± 0.2 mm), 長さ約 100 mm で硬質のもので、ガラス管法に使用する。
- i) ゴムバンド JIS Z 1701 に規定する呼びが 18 に相当するもので、ガラス管法に使用する。
- j) サンプル管瓶 ガラス製で、外径約 30 mm, 内高約 63 mm, 容量約 30 ml のもので、増殖抑制試験 B

法に使用する。

- k) **ろ紙** JIS P 3801 に規定する大きさが直径 70 mm 又は 90 mm の一般定性用のろ紙で、ダニ計数に使用する。

注記 ダニを重複して計数しないように 5～10 mm のます目を書き入れておく。

- l) **粘着テープ** JIS Z 1539 に規定するもので、ガラス管法に使用する。
- m) **粘着シート** は（這）い出したダニを固着するのに十分な粘着力があるもので、ダニの飼育及び侵入阻止法又は増殖抑制試験に使用する。
- n) **高密度織物** JIS L 1096 の A 法による通気度が $1 \sim 10 \text{ cm}^3/\text{cm}^2 \cdot \text{s}$ で、繊維の種類が綿 100 % のもので、ガラス管法に使用する。
- o) **標準布** JIS L 0803 に規定する染色堅ろう度試験用添付白布 単一繊維布“綿” 3-1 号。
- p) **密閉容器** 気密性のあるプラスチック製容器。ただし、抗菌剤などの化学物質を練込み、又は表面処理していないもの。

なお、密閉容器は、5.1 g) の飽和食塩水を内部容積の約 10 % 量入れた後、すのこ³⁾を敷き、この上にダニの飼育用の容器又は試験装置を置き、密閉容器のふたをする。試験装置を入れる場合は、密閉容器を試料区ごとに準備する。

注³⁾ ポリプロピレン製など試験に影響を与えないもの。

- q) **実験動物飼育用粉末飼料** マウス、ラット、ハムスターなどの飼育に用いるもので、ダニの飼育飼料として使用する。
- r) **天びん** JIS K 0050 に規定するもの。
- s) **実体顕微鏡** JIS B 7139 に規定するもので、落射式照明装置を備え、倍率が 20 倍程度のもの。
- t) **試験用ふるい** JIS Z 8801-1 に規定するもので、使用するふるいの目開きは、次による。
- 1) 洗い出し用 40～50 μm の範囲内のもの
 - 2) 洗い出し用 500～700 μm の範囲内のもの
 - 3) 飼料選別用 300 μm
- u) **吸引装置** 吸引瓶にプフナーロートを取り付けて、アスピレータ（又は吸引ポンプ）で吸引ろ過できるようにしたもの。必要があれば吸引力を調節するためのバイパスを入れる。
- v) **数取器** 0～9999 までカウントできるもの。

5.3 ダニ培地の準備

試験に用いるダニ培地を、**附属書 A** によって準備する。

6 試験条件

試験条件は、次による。

- a) **試験室** 温度 $25 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ 、相対湿度(65 ± 20) %
- なお、試験室とは、試料の採取、試験の準備など行う作業場所を示す。
- b) **試験環境** 温度 $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 、相対湿度(75 ± 5) %、暗条件
- なお、試験環境とは飼育又は試験中のダニの環境を示す。

7 試料

7.1 採取方法

試料が羽毛ふとんわた以外の繊維製品の場合は、JIS L 0105 に規定した方法に従い、カーペット等の製

品は 30 cm×30 cm 以上、ふとんわたについては 50 g 以上採取する。羽毛ふとんわたの場合は、JIS L 1903 に規定した方法によって 10 g 以上採取する。

7.2 無加工試料

試料がカーペット、合成繊維ふとんわた、ふとん側地及びカバー・シーツ類の場合で、加工試料に対する無加工試料が準備できない場合は、次に示したものを無加工試料として試験に用いてもよい。

- a) **カーペット** JIS L 4406 の“タイルカーペット”の 1 種に該当する原反⁴⁾を JIS L 0217 の 103 号に規定する方法によって洗濯⁵⁾し、遠心脱水後、水分を含んだ状態のものを温度 120±2 °C、30 分間加熱し、再度 JIS L 0217 の 103 号に規定する方法によって洗濯⁵⁾し、遠心脱水後、室温で乾燥させたもの。
- b) **合成繊維ふとんわた** 繊維の種類がポリエステル 100 %で繊維度が 5～8 デシテックス、繊維長が 51～75 mm のものを JIS L 0217 の 103 号に規定する方法によって洗濯⁶⁾し、遠心脱水後、室温で乾燥させたもの。
- c) **ふとん側地** 標準布を用いる。
- d) **カバー・シーツ類** 標準布を用いる。

注⁴⁾ 裏打ち及びプレコート処理が施されておらず、基布は、ノーバインダータイプのもの。また、パイル素材は、ナイロンフィラメント糸で反染め又は湯通し後のもの。

⁵⁾ 洗剤を使用しない湯洗いとする。

⁶⁾ 洗濯用ネットに入れて、洗剤を使用しない湯洗いとする。

7.3 前処理

試験には、5.2 a)の循環式熱風乾燥機を用いて、70±2 °C、10 分間加熱処理を行った試料を使用する。

なお、加熱処理は、試料を適切な大きさのふた付ステンレスバットに入れて行う。また、2 種類以上の試料を加熱処理する場合は、試料別に加熱処理を行わなければならない。

7.4 保管

前処理を行った試料は、速やかに試験を行わなければならない。試験開始までやむを得ず保管する場合は、試料をポリエチレンフィルム製などの袋に入れ、密封して保管する。保管場所は、温度、直射光線、水分などが試料に影響を与えない場所とする。また、加工品に施した薬剤の影響を他の試料に与えないようにする。

8 忌避試験

8.1 侵入阻止法

a) 材料及び器具

- 1) **恒温器（又は恒温室）** 5.2 b)による。
- 2) **シャーレ（大）** 5.2 f)による。
- 3) **シャーレ（小）** 5.2 g)による。
- 4) **粘着シート** 5.2 m)による。
- 5) **密閉容器** 5.2 p)に規定したもので、内部容量が 5 L 以上で深さ 100 mm 以上のもの。
- 6) **天びん** 5.2 r)による。
- 7) **実体顕微鏡** 5.2 s)による。
- 8) **誘引用飼料** A.2 b)の飼育培地を用いる。
- 9) **ダニ培地** 5.3 によるもので、ダニ培地中の生存ダニ数が多く、かつ、培地からは（這）い出したダニも十分に確認できるもの。

b) 準備操作

- 1) 7.3 の前処理を行った試料から直径約 40 mm の試験片 5 枚採取する。
- 2) 試験片をそれぞれシャーレ（小）に敷き詰め、試料別に密閉容器に入れ 8 時間以上静置する。
- 3) ダニ培地 1 g 中の生存ダニ数を B.2 又は B.3 によって求める。生存ダニ数の測定は、試験開始前に行う。
- 4) ダニ培地 1 g 中の生存ダニ数及びダニ培地の供試量⁷⁾を、次の式(1)によって求める。

$$q = \frac{10\,000}{Nm} \dots\dots\dots (1)$$

ここに、 q : ダニ培地の供試量 (g)
 Nm : ダニ培地 1 g 中の生存ダニ数

注⁷⁾ 生存ダニ数 10 000 匹を含むダニ培地量に相当する。

c) 操作

- 1) 誘引用飼料 0.05 g をシャーレ（小）の中央部分に置く。ただし、直径 10 mm の範囲内とする。
- 2) ダニ培地を十分にかくはんした後、b)の 4)の式(1)から求めた供試量をはかりとる。
- 3) はかりとったダニ培地をシャーレ（大）に均一にばらまく。
- 4) シャーレ（大）の中央にシャーレ（小）を重ねて置き、これを試験装置とする⁸⁾（図 1 参照）。
- 5) 試験装置を粘着シート上に置き、これを密閉容器に入れ、箇条 6 の b)の条件下に 24±1 時間静置する。

注⁸⁾ 無加工試料についても同様に行う。

d) 観察方法

- 1) シャーレ（小）を取り出し、シャーレの外側をふき取る。
- 2) 誘引用飼料は B.2、試験片及びシャーレ内については B.4 又は B.5 を用いてそれぞれ生存ダニを計数し、その合計を侵入ダニ数とする。

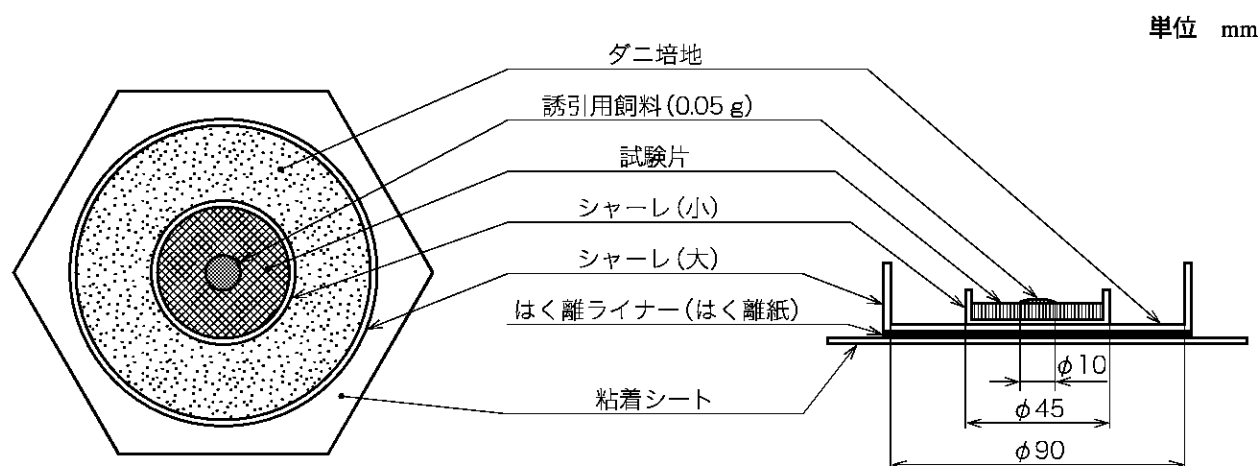


図 1—侵入阻止法（試験装置図）

e) 試験結果

- 1) 試験成立の判定 試験が成立するには、次の 1.1)及び 1.2)を満足しなければならない。成立しなかった場合は、再試験を行う。
- 1.1) 試験に用いたダニ培地中の生存ダニ数及び変動率を次の式(2)によって求める。変動率は、10 %未満とする。

$$C = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 / (n-1)}}{\bar{x}} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

ここに、
 C : 変動率 (%)
 x_i : ダニ培地 0.025 g (又は, 0.050 g) 中の生存ダニの各計数値
 $\bar{x}$: ダニ培地 0.025 g (又は, 0.050 g) 中の生存ダニの平均値
 n : ダニ培地の計数回数, $n=8$ (又は, $n=4$)

1.2) 無加工試料区の侵入ダニ数の平均値は, 1 000 匹以上とする。

2) **忌避率の計算** 試験が成立したものについて, 忌避率を, 次の式(3)によって求める。数値は, JIS Z 8401 によって小数点以下 1 けたに丸める。

$$Ev = \frac{\sum_{i=1}^n Cs_i - \sum_{i=1}^n Ts_i}{\sum_{i=1}^n Cs_i} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

ここに、
 Ev : 忌避率 (%)
 Cs_i : 無加工試料区における各侵入ダニ数
 Ts_i : 加工試料区における各侵入ダニ数
 n : 試験の繰り返し回数, $n=5$

8.2 ガラス管法

a) 材料及び器具

- 1) 恒温器 (又は恒温室) 5.2 b)による。
- 2) ガラス管 5.2 h)による。
- 3) ゴムバンド 5.2 i)による。
- 4) 粘着テープ 5.2 l)による。
- 5) 高密度織物 5.2 n)に規定したもので, 大きさが 100 mm×100 mm 程度のもの。
- 6) 密閉容器 5.2 p)に規定したもので, 内部容量が 2 L 以上で深さ 45 mm 以上のもの。
- 7) 天びん 5.2 r)による。
- 8) 実体顕微鏡 5.2 s)による。
- 9) ダニ計数用わた 7.2 b)の合成繊維ふとんわたを用いる。
- 10) 誘引用飼料 A.2 b)の飼育培地を用いる。
- 11) 固定具 ステンレス製の金網 (目開き約 1 mm) を直径約 20 mm の円形に切り取ったもの及び折り曲げて縁を付けた同径のもの。ただし, 固定具は, B 法に使用する。
- 12) **ダニ培地** 5.3 によるもので, 生存ダニ数が多く, かつ, 培地からは (這) い出したダニも十分に確認できるもの。

b) 準備操作

- 1) ガラス管の端の一方に粘着テープをはり付ける。
- 2) 誘引用飼料 0.01 g をガラス管に入れ, 粘着テープに均一に付着させる。
- 3) ダニ計数用わた 0.025 g をガラス管に入れた後, ガラス端から約 5 ± 1 mm の厚さに詰め, A 法の場合は 4)の操作に, B 法の場合は 5)の操作に移る。
- 4) 7.3 の前処理を行った試料 0.4 g を試料の厚さが 20 ± 2 mm になるようにガラス管に詰める (図 2 参照)。6) の操作に移る。

- 5) ガラス管に縁のない固定具を入れた後、7.3の前処理を行った試料 0.08 g を入れ、次いで、縁のある固定具を入れ、厚さが 20 ± 2 mm になるように詰める（図 3 参照）。6) の操作に移る。
- 6) 同様の操作を繰り返し、試料ごとにガラス管を 5 本ずつ準備する。
- 7) ガラス管を試料別に密閉容器に入れ、8 時間以上水平に静置する。
- 8) ダニ培地 1 g 中の生存ダニ数を、B.2 又は B.3 に従い求める。生存ダニ数の測定は、試験開始時に行う。
- 9) ダニ培地 1 g 中の生存ダニ数及びダニ培地の供試量⁸⁾を 8.1 b) 4) の式(1)によって求める。

単位 mm

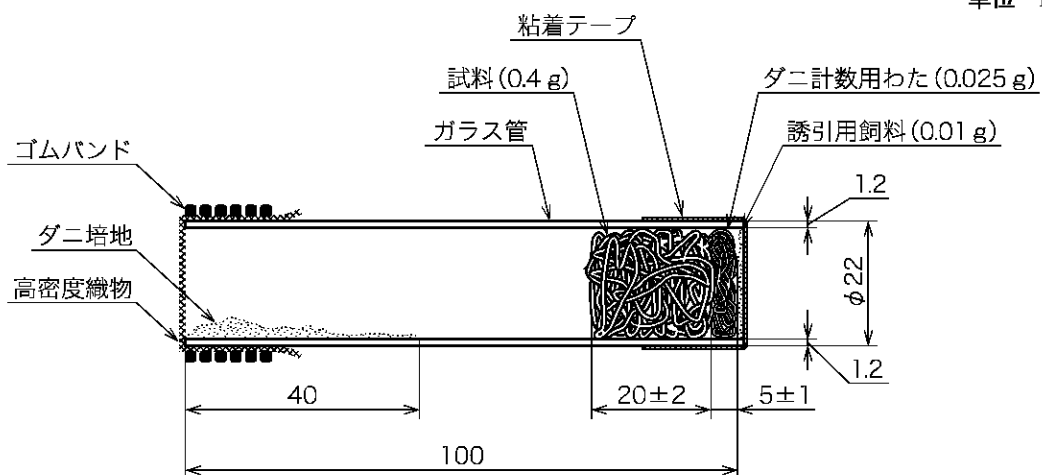


図 2—ガラス管 A 法 (試験装置図)

単位 mm

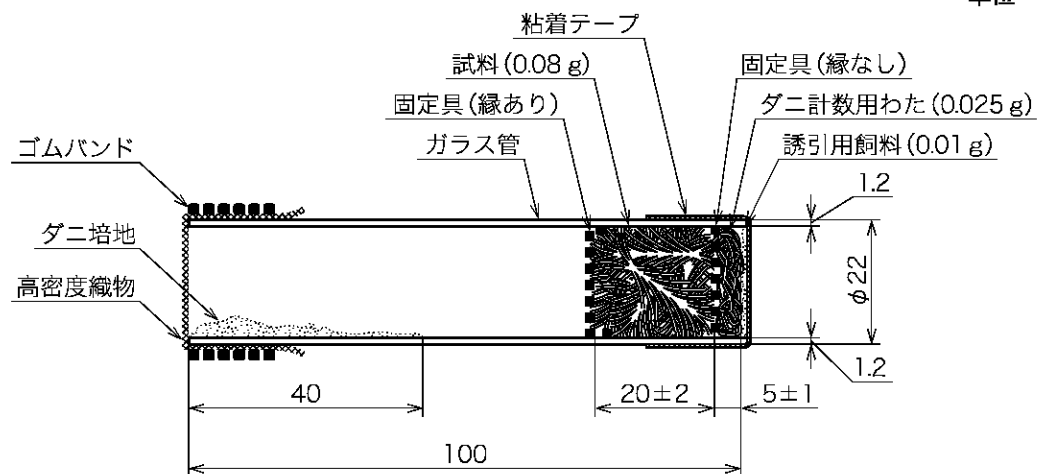


図 3—ガラス管 B 法 (試験装置図)

c) 操作

- 1) ダニ培地を十分にかくはんした後、b) 9)で求めた供試量をはかりとり、ガラス管に入れる。ただし、ダニ培地は、ガラス管の挿入口側の端から約 40 mm までの間とする。
- 2) ガラス管の挿入口を高密度織物とゴムバンドとでふさぎ、これを試験装置とする⁹⁾。
- 3) 試験装置を密閉容器に入れ、箇条 6 の b)の条件下に水平に 48±1 時間静置する。

注⁹⁾ 無加工試料についても同様に行う。

- d) 観察方法 粘着テープ、誘引用飼料及びダニ計数用わたをダニ計数の対象として、B.4 又は B.5 に従いそれぞれ生存ダニ数を計数し、その合計を誘引ダニ数とする。

e) 試験結果

- 1) 試験成立の判定 試験が成立するには次の 1.1)及び 1.2)を満足しなければならない。成立しなかった場合は、再試験を行う。
- 1.1) 試験に用いたダニ培地中の生存ダニ数及び変動率を 8.1 e) 1.1)の式(2)によって求める。変動率は 10 %未満とする。
- 1.2) 無加工試料区の誘引ダニ数の平均値は、1 000 匹以上とする。
- 2) 忌避率の計算 試験が成立したものについて、忌避率を次の式(4)によって求める。数値は、JIS Z 8401 によって小数点以下 1 けたに丸める。

$$Ev = \frac{\sum_{i=1}^n Cg_i - \sum_{i=1}^n Tg_i}{\sum_{i=1}^n Cg_i} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

ここに、
 Ev : 忌避率 (%)
 Cg_i : 無加工試料区における各誘引ダニ数
 Tg_i : 加工試料区における各誘引ダニ数
 n : 試験の繰り返し回数, $n=5$

9 増殖抑制試験

a) 材料及び器具

- 1) 恒温器 (又は恒温室) 5.2 b)による。
- 2) シャーレ (小) 5.2 g)による。
- 3) サンプル管瓶 5.2 j)による。
- 4) 粘着シート 5.2 m)による。
- 5) 密閉容器 5.2 p)に規定したもので、内部容量が 5 L 以上で深さ 100 mm 以上のもの。
- 6) 天びん 5.2 r)による。
- 7) 実体顕微鏡 5.2 s)による。
- 8) 飼育培地 A.2 b)による。
- 9) ダニ培地 5.3 によるもので、十分繁殖し、生存ダニ数が多いものを用いる。

- b) 準備操作 A 法の場合 (図 4 参照) は 1)の操作から始め、B 法の場合 (図 5 参照) は 2)から始める。

- 1) 試料から直径約 40 mm の試験片 9 枚採取し、各々シャーレ (小) に敷き詰め、3)の操作に移る。
- 2) 試料から 1 g はかり取り、サンプル管瓶に詰める。これを各試料 9 本ずつ準備し、3)の操作に移る。
- 3) 試料別に密閉容器に入れ 8 時間以上静置する。

- 4) ダニ培地 1 g 中の生存ダニ数を, **B.2** 又は **B.3** に従い求める。生存ダニ数の測定は, 試験開始時に行う。
- 5) ダニ培地及び飼育培地の分取量を, 次の式(5)から式(7)によって求める。

$$S = \frac{Nm}{650} \dots\dots\dots (5)$$

$$Wm = \frac{Wt}{S} \dots\dots\dots (6)$$

$$Wf = Wt - Wm \dots\dots\dots (7)$$

ここに, Nm : ダニ培地 1 g 中の生存ダニ数

S : 希釈倍率

Wm : ダニ培地の分取量 (g)

Wf : 飼育培地の分取量 (g)

Wt : 接種用ダニ培地の調整量 (g)

- 6) 飼育培地及びダニ培地をそれぞれ十分にかくはんし, 5)で求めた分取量を各々はかりとり十分に混合し, これを接種用ダニ培地とする。接種用ダニ培地は, 調整後速やかに試験に用いる。
- 7) 0.1 g 中の接種用ダニ培地の生存ダニ数を **B.2** 又は **B.3** に従い求め, その数を初期ダニ密度とする。初期ダニ密度の平均値が 50~80 匹を外れた場合は, 6)の操作からやり直す。

注記 1 計算式 (5) の 650 は, 7)の初期ダニ密度の平均値 50~80 匹を満たすには分母が 500~800 の範囲内であればならないことから, その中央値 650 を採用した。

注記 2 計算式 (6) の Wt は, 試料数から求めた必要量では不足する場合が多いので, 多めに調整しなければならない。したがって, Wt を式で表すと次のようになる。

$$Wt > 0.1 \times 9 \times (n+1) + 0.3$$

なお, 式の $(n+1)$ は, 無加工試料を含む試料数を示し, “+0.3” は初期ダニ密度を計数するのに要する接種用ダニ培地の g 数を表す。

c) 操作

- 1) 十分にかくはんした接種用ダニ培地 0.1 g を表面にばらまき, これを試験装置とする¹⁰⁾。試料がカーペットの場合は, 接種用ダニ培地をパイルの深部に落とし込んで試験を開始する。ただし, その操作のときにシャーレから培地が飛び散らないように注意して行う。
- 2) 試験装置を粘着シート上に置き, これを密閉容器に入れ箇条 6 の b) の条件下に最長 8 週間静置する。

注¹⁰⁾ 無加工試料についても同様に行う。

- d) **観察** 試験開始 4 週間後及び 6 週間後に観察を行い, 必要ならば 3 回目の観察を試験開始 7 週間後から 8 週間後までの間に実施する。

なお, 試験の繰り返しを 3 回とし, 各観察時に各々試料又は試験片を 3 個ずつ生存ダニ数の計数を行う。

e) 観察方法

- 1) 試験装置を取り出し, 試験容器の外側をふきとる。
- 2) 接種用ダニ培地は **B.2**, 試験容器及び試料又は試験片は **B.4** 又は **B.5** に従いそれぞれ生存ダニ数を計数し, その合計を試験値とする。

単位 mm

単位 mm

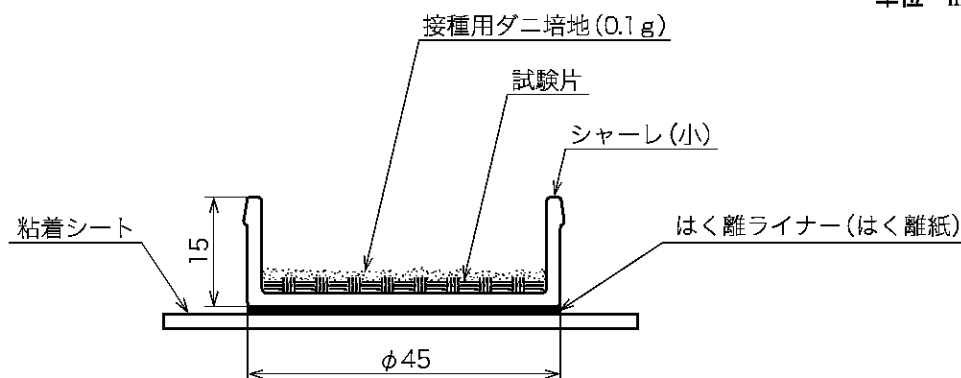


図 4—増殖抑制試験 A 法（試験装置図）

単位 mm

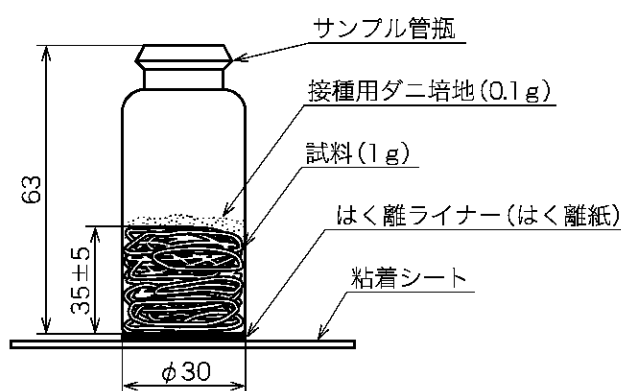


図 5—増殖抑制試験 B 法（試験装置図）

f) 試験結果

- 1) **試験成立の判定** 試験が成立するには次の 1.1)～1.3)を満足しなければならない。成立しなかった場合は、再試験を行う。
 - 1.1) 試験に用いたダニ培地中の生存ダニ数及び 8.1 e) 1.1)の式(2)を用いて求めた変動率は 10 %未満とする。
 - 1.2) b) 7)で求めた初期ダニ密度の平均値は 50～80 匹とする。
 - 1.3) 試験開始 4 週間後における無加工試料の生存ダニ数の平均値は初期ダニ密度の平均値の 3 倍以上とする。
- 2) **増殖抑制率の計算** 試験が成立したものについて、増殖抑制率を、次の式(8)によって求める。数値は、JIS Z 8401 によって小数点以下 1 けたに丸める。ただし、増殖抑制率は、各観察時それぞれについて求める。

$$R = \frac{\sum_{i=1}^n Cr_i - \sum_{i=1}^n Tr_i}{\sum_{i=1}^n Cr_i} \times 100 \dots\dots\dots (8)$$

ここに、
 R : 増殖抑制率 (%)
 Cr_i : 無加工試料区における各生存ダニ数
 Tr_i : 加工試料区における各生存ダニ数
 n : 試験の繰り返し回数, $n=3$

10 特異な試料に対する試験方法の対応

忌避試験及び増殖抑制試験において、次に挙げた場合に限り試験方法を変更しても良い。ただし、その場合は、それぞれ変更しなければならない理由及び試験方法の変更した事項¹⁾などを試験報告書に記載しなければならない。

- a) **侵入阻止法及び増殖抑制試験 A 法** 試料の厚さが 15 mm を超える場合でも、試験結果に影響しない部分をはく離又は裁断することによって、厚さを 15 mm 以下に調整できる場合は、その部分をはく離又は裁断してもよい。
- b) **ガラス管法** 試料の物理的原因で無加工試料区の誘引ダニ数の平均値が 1 000 匹未満になる場合は、試験に用いる試料の質量を調整してもよい。
- c) **増殖抑制試験 B 法** 試料 1 g をサンプル管瓶に詰めたときの厚さを 35 ± 5 mm にできない場合は、試料の質量を調整して試験を行ってもよい。ただし、サンプル管瓶に詰めたときの試料の厚さは、 35 ± 5 mm でなければならない。

注¹⁾ 試験報告書の記載事項の例を次に示す。

はく離又は裁断した部分の名称及びそれが試験に影響しない理由
試験に用いた試料の質量及び質量を変更した理由

11 試験報告書

試験報告書には、次の事項を記入する。

a) 共通事項（忌避試験及び増殖抑制試験）

- 1) 試験項目
- 2) 試験方法
- 3) 試験に用いたダニの種名（系統、出所、由来など）
- 4) 試料の種類
- 5) 試料の名称（商品名など）
- 6) ダニ培地のダニ密度の測定結果
- 7) ダニ培地 1 g 中の生存ダニ数
- 8) 試験方法に変更がある場合はその変更点及びその理由
- 9) その他、試験に関して必要な事項

b) 忌避試験の場合 忌避試験の場合、a)に加えて、次の事項を記入する。

- 1) 無加工試料区の侵入ダニ数（ガラス管法の場合は、誘引ダニ数）
- 2) 加工試料区の侵入ダニ数（ガラス管法の場合は、誘引ダニ数）
- 3) 忌避率

c) 増殖抑制試験の場合 増殖抑制試験の場合、a)に加えて、次の事項を記入する。

- 1) 接種用ダニ培地 0.1 g 中の生存ダニ数（初期ダニ密度）
- 2) 各観察時における無加工試料区の生存ダニ数
- 3) 各観察時における加工試料区の生存ダニ数
- 4) 各観察時における増殖抑制率

附属書 A (規定) 試験に用いるダニ

序文

この附属書は、試験に用いるダニについて規定する。

A.1 一般

累代飼育したヤケヒョウヒダニ(*Dermatophagoides pteronyssinus*)を試験に用いる。累代飼育の方法は、次による。

A.2 容器及び培地

ダニの飼育容器及び培地は、次による。

a) **飼育容器** 飼育用の容器としてシャーレなど適切な容量のものを用いる。

なお、飼育容器は、ガラス製が望ましい。

b) **飼育培地** ダニの飼育には、次の方法で調整した飼育培地を用いる。

なお、飼育培地は、試験時の誘引用飼料又はダニ密度の調整用としても用いる。

- 1) **粉末飼料** 5.2 q)の実験動物飼育用粉末飼料を 5.2 i) 3)のふるいを用いてふるい分けし、ふるいを通した微粉末を飼育培地用粉末飼料とする。
- 2) **調整** 飼育培地用粉末飼料と 5.1 e)の乾燥酵母とを質量比で 1 : 1 に混合する。
- 3) **前処理** 2)の飼料を a)の飼育容器に厚さ 10 mm 程度に広げ、5.2 a)の循環式熱風乾燥機で 70 ± 2 °C, 2 時間加熱処理した後、飼育容器とともに 5.2 p)の密閉容器内に 24~48 時間保管する。

A.3 ダニの飼育

ダニの飼育方法及び管理は、次による。

- a) **飼育方法** ダニ培地は、5.2 p)の密閉容器に入れ、箇条 6 の b)の条件下で飼育を行う。飼育期間中は、ダニ培地を随時かき混ぜ、他のダニ又は昆虫の混入の有無を確認する。ダニ培地中に他のダニ又は昆虫を確認した場合は、直ちにその培地の使用を中止し、培地を廃棄しなければならない。
- b) **ダニ培地の更新** ダニ培地のダニ密度が減少し始めたらダニ培地を c)に従い更新させる。
- c) **ダニの接種方法** ダニ培地を A.2 b)の飼育培地に直接混合するか、又はダニだけを飼育培地に接種する。

A.4 保管方法

実験動物用粉末飼料、飼育培地用粉末飼料及び乾燥酵母は、密封して、冷暗所に保管する。

附属書 B (規定) ダニの計数方法

序文

この附属書は、ダニの計数方法について規定する。

B.1 一般

ダニの計数は、試料の種類によって **B.2** の飽和食塩水浮遊法、**B.3** の全量展開法、**B.4** の洗出し法 1、又は **B.5** の洗出し法 2 のいずれかの方法によって行う。

B.2 飽和食塩水浮遊法

飽和食塩水浮遊法は、次による。

a) 試薬

- 1) 飽和食塩水 5.1 g)による。
- 2) 非イオン界面活性剤溶液 5.1 h)による。
- 3) 着色液 5.1 i)による。

b) 器具及び装置

- 1) 三角フラスコ 5.2 c)による。
- 2) ビーカー 5.2 d)に規定した呼び容量が 50 ml のもの。
- 3) ろ紙 5.2 k)による。
- 4) 実体顕微鏡 5.2 s)による。
- 5) 吸引装置 5.2 u)による。
- 6) 数取器 5.2 v)による。

c) 試料

ダニ培地、誘引用飼料、接種用ダニ培地及び **B.4** 又は **B.5** の洗出し法でふるい（目開き 40～50 μm ）上に残った繊維くずなどを試料の対象とする。

- 1) **ダニ培地** 十分にかくはんしたダニ培地を 0.025 g 又は 0.050 g はかりとり、生存ダニ数の計数を行う。ダニ培地 0.025 g 中の生存ダニ数の計数を行う場合はダニ計数を 8 回繰り返し、ダニ培地の分取量を 0.050 g とした場合は、繰り返しを 4 回とする。
- 2) **誘引用飼料** 適量に分けてダニの分離を行う。
- 3) **接種用ダニ培地** 接種用ダニ培地 0.1 g を適量に分けて生存ダニ数の計数を行う。接種用ダニ培地の生存ダニの計数は、繰り返しを 3 回とする。
- 4) **繊維くずなどの試料** 適量に分けてダニの分離を行う。

d) 操作

- 1) 試料を三角フラスコに入れる。
- 2) 三角フラスコに数滴の非イオン界面活性剤溶液と 1.0 ml 程度の着色液とを添加する¹⁾。
- 3) 適量の飽和食塩水を加え、十分にかくはんする。
- 4) 飽和食塩水を三角フラスコの口まで注ぎ、10 分間静置する。
- 5) 静置後、上層の飽和食塩水を吸引ろ過する。

- 6) ろ紙上の生存ダニを実体顕微鏡下で計数する²⁾。ただし、一つの試験試料に対してダニの計数作業を20分以内で終了させなければならない。時間内に計数を終了させることができない場合は、三角フラスコの上澄み液を容量50 mlのビーカーに移し、非イオン界面活性剤溶液数滴及び水を加え全量を約30～40 mlにし、順次速やかに計数作業を行う。

注¹⁾ 着色液は、吸引しながらろ紙を直接着色してもよい。

²⁾ 死亡ダニ又は静止期のダニは、計数の対象から除外する。

- e) **生存ダニ数の計算** ダニ培地1 g中の生存ダニ数は、計数した生存ダニ数及び次の式によって求める。

$$Nm = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{0.2}$$

ここに、

Nm : ダニ培地の生存ダニ数 (匹/g)

$x_1, x_2, \dots, x_n$: ダニ培地 0.025 g (又は、0.050 g) 中の各生存ダニ数

n : ダニ培地の測定回数, $n=8$ (又は, $n=4$)

B.3 全量展開法

全量展開法は、次による。

a) 試薬

- 1) 水 5.1 d)による。
- 2) 着色液 5.1 i)による。

b) 器具及び装置

- 1) ビーカー 5.2 e)による。
- 2) ろ紙 5.2 k)による。
- 3) 実体顕微鏡 5.2 s)による。
- 4) 吸引装置 5.2 u)による。
- 5) 数取器 5.2 v)による。

- c) **試料** ダニ培地又は接種用ダニ培地を試料の対象とする。

- 1) **ダニ培地** 十分にかくはんしたダニ培地を0.025 gはかりとり、生存ダニ数の計数を行う。ダニ培地0.025 g中の生存ダニ数の計数の繰返しを8回とする。
- 2) **接種用ダニ培地** 接種用ダニ培地0.1 gを適量に分けて生存ダニ数の計数を行う。接種用ダニ培地の生存ダニの計数は、繰返しを3回とする。

d) 操作

- 1) 試料をビーカーに入れ、水20～30 ml加える。
- 2) 着色液0.5～1.0 mlをビーカーに加え十分にかくはんする。
- 3) ビーカー内の液をすべて吸引ろ過する。
- 4) 水でビーカー内を洗浄後、その洗浄液もろ過し、ビーカー内のものをすべてろ紙に展開する¹⁾。
- 5) ろ紙上の生存ダニを実体顕微鏡下で計数する²⁾。

- e) **生存ダニ数の計算** ダニ培地1 g中の生存ダニ数は、計数した生存ダニ数及びB.2 e)の式によって求める。

B.4 洗出し法 1

洗出し法 1 は、次による（図 B.1 参照）。

a) 試薬

- 1) 飽和食塩水 5.1 g)による。
- 2) 着色液 5.1 i)による。

b) 器具及び装置

- 1) 三角フラスコ 5.2 c)による。
- 2) ろ紙 5.2 k)による。
- 3) 実体顕微鏡 5.2 s)による。
- 4) ふるい 5.2 t) 1)及び 2)による。
- 5) 吸引装置 5.2 u)による。
- 6) 数取器 5.2 v)による。

c) 試料 カーペットなど繊維製品を試料の対象とする。

d) 操作

- 1) 試料をふるい（目開き 500～700 μm ）上に置き、その下に洗浄液を受ける容器としてバットなどを置く。
- 2) 試料に水を吹き付け³⁾⁴⁾、容器内に洗浄液を貯める。
- 3) 洗浄液に繊維くずなどごみが少ない場合は 4)の操作に、ごみが多い場合は 6)の操作に移る。
- 4) 洗浄液を吸引ろ過する。
- 5) 容器内を十分に洗浄し、すべて吸引ろ過し⁵⁾ろ紙上の生存ダニを実体顕微鏡下で計数し、8)の操作に移る。
- 6) ふるい（目開き 500～700 μm ）の下にふるい（目開き 40～50 μm ）を重ね、これに洗浄液を通す⁶⁾。
- 7) ふるいを重ねたまま上から十分に洗い流し、ふるい（目開き 40～50 μm ）上に残ったものを B.2 の飽和食塩水浮遊法で生存ダニ数を計数し、8)の操作に移る。
- 8) 生存ダニが確認できなくなるまで 1)の操作からの作業を繰り返し、計数した合計値を試料中のダニ数とする。

注³⁾ 洗い出し用のノズルとしてマイクロピペットのチップの先端を平たんにつぶしたものなどを用いる。

⁴⁾ カーペットなど試料内部まで水が行き渡りにくい試験片については、軽く湾曲させた状態にして水を吹き付けて洗う。

⁵⁾ 洗浄液に着色液を添加し吸引ろ過を行うか、又はろ過終了後にろ紙を直接着色液で着色する。

⁶⁾ ふるいの目詰まりによる洗浄液のオーバーフローに注意しなければならない。

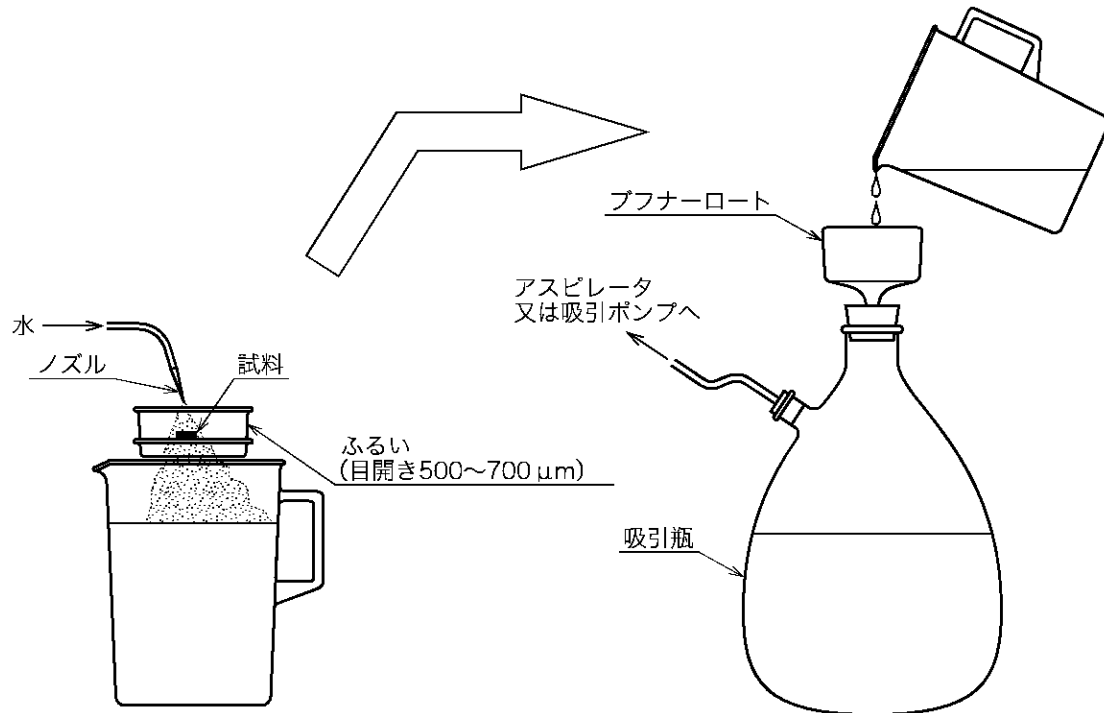


図 B.1－洗い出し法（方法 1）の装置図（一例）

B.5 洗出し法 2

洗出し法 2 は、次による。

a) 試薬

- 1) 飽和食塩水 5.1 g)による。
- 2) 着色液 5.1 i)による。

b) 器具及び装置

- 1) 三角フラスコ 5.2 c)による。
- 2) ろ紙 5.2 k)による。
- 3) 実体顕微鏡 5.2 s)による。
- 4) ふるい 5.2 t) 1)及び 2)による。
- 5) 吸引装置 5.2 u)による。
- 6) 数取器 5.2 v)による。

c) 試料 カーパーペットなど繊維製品を試料の対象とする。

d) 操作

- 1) ふるい（目開き 500～700 μm ）の下にふるい（目開き 40～50 μm ）を重ね、この上で試料に水を吹き付けて^{3) 4)}、その洗浄液をふるいですべて受ける⁶⁾。
- 2) 試料の洗浄が終了したら、ふるいを重ねたまま上から十分に洗い流す。
- 3) ふるいを外し、ふるい（目開き 40～50 μm ）上に飼育培地などが混じっていない場合は 4)の操作に、多い場合は 5)の操作に移る。
- 4) ふるい（目開き 40～50 μm ）上のものを水で洗浄し、その洗浄液を吸引ろ過し⁵⁾ろ紙上の生存ダニを実体顕微鏡下で計数し、6)の操作に移る。
- 5) ふるい（目開き 40～50 μm ）上のものを B.2 の飽和食塩水浮遊法で生存ダニ数を計数し、6)の操作

に移る。

- 6) 生存ダニが確認できなくなるまで 1) の操作からの作業を繰り返し、計数した合計値を試料中のダニ数とする。