

資材のウイルスに対する効果確認試験

試験報告書

試験番号：207162N

株式会社食環境衛生研究所

〒379-2107

群馬県前橋市荒口町 561-21

TEL027-230-3411 FAX027-230-3412

1. 表題

資材のウイルスに対する効果確認試験

2. 目的

資材のウイルスに対する効果を確認するために実施した。

3. 試験依頼者

名称 : 株式会社アクティブ・21

所在地 : 〒276-0023 千葉県八千代市勝田台 1-19-4 1F

4. 試験実施施設

名称 : 株式会社食環境衛生研究所

所在地 : 群馬県前橋市荒口町 561-21

運営管理者 : 久保 一弘

5. 試験実施者

試験責任者 : 松本 彰平

試験担当者 : 近藤 実紀

6. 試験日程概要

試験開始日 : 2020年6月1日

試験終了日 : 2020年9月1日

7. 供試ウイルス

PED ウイルス : Porcine epidemic diarrhea virus P-5V 株

※豚感染性のコロナウイルス

培養細胞 : vero 細胞 (アフリカミドリザルの腎臓上皮由来株化細胞)

8. 試験資材

名称 : ミクロキラー

※試験資材は原液を使用した。

9. 区の設定

| 区 | 検体 | 検査時点 (秒) | 反復数 |
|----|----------|----------|------|
| | | | ウイルス |
| 対照 | 滅菌リン酸緩衝液 | 0、10 | 1 |
| 試験 | 試験資材 | 10 | 1 |

10. ウイルス液調製方法

- 1) PEDV を vero 細胞に接種した。
- 2) 37 °C で 1 時間吸着後、接種ウイルス液を除去し、滅菌 PBS で 2 回洗浄した。
- 3) MEM 培地を加え、37 °C、5 %CO₂ 下で培養した。
- 4) 70～80 % 程度の細胞変性効果 (以下、CPE) が観察された時点で、培養上清を回収した。
- 5) 回収した培養上清を、3000 rpm で 30 分間遠心後、遠心上清を分注し、-70 °C 以下で保存したものを供試ウイルス液とした。

11. 試験手順及び方法

(1) ウイルス液の接種及びウイルス力価測定

試験実施前に、資材を 10 倍段階希釈後、vero 細胞に接種し、37 °C、5 % CO₂ 下で 5 日間培養した。vero 細胞が正常な形状を示さなかった場合、資材による細胞毒性有りと判定し、本試験では細胞毒性が確認された希釈倍率を試験から除外した。

その結果、10 倍希釈液で細胞毒性が確認されたため、本試験における検出限界は 10^{2.5} TCID₅₀ / mL とした。

- ① 検体 0.9 mL を試験管内に用意した。
- ② 検体の中に PEDV 液を 0.1 mL 接種した。なお、接種直後はボルテックスミキサーにより 1 秒間攪拌を行い、その後検体は 25°C で静置した。
- ③ 対照区は、接種後 0 分 (直後) 及び 10 秒の時点において、検体を試験管から採取して別の容器に分注し、MEM 培地で 10 倍段階希釈した。
- ④ 試験区は、接種後 10 秒の時点において、検体を試験管から採取して別の容器に分注し、MEM 培地で 10 倍段階希釈した。
- ⑤ 希釈液を vero 細胞に接種後、37 °C、5 %CO₂ 下で 5 日間培養した。
- ⑥ CPE の有無から、ウイルス力価 (TCID₅₀) を測定した。

(2) 評価

試験結果において、検査時点ごとに、対照区に対する試験区の減少率 (%) を算出し、効果を確認した。

なお、本試験において減少率は以下の式で算出した。

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

12. 結果

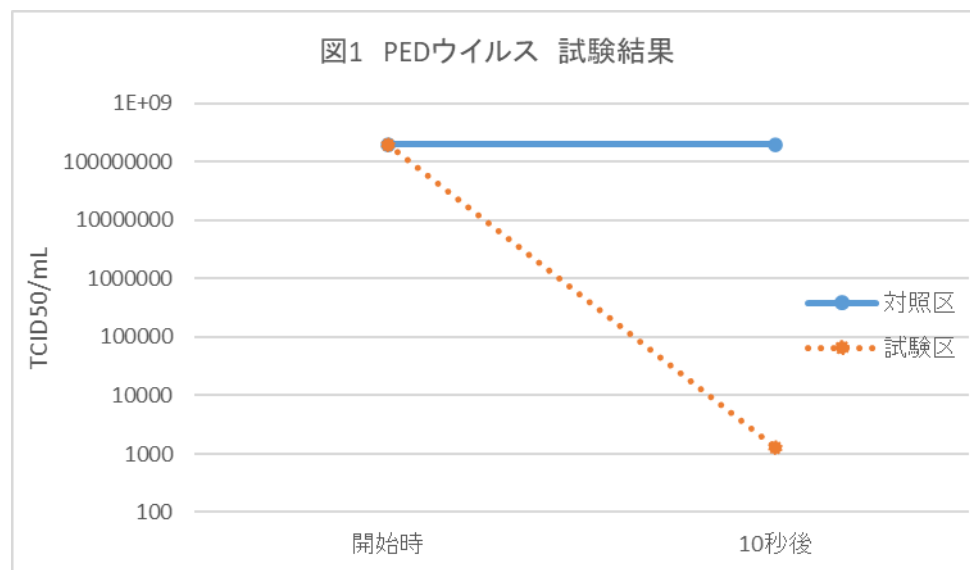
結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区のウイルス力価について、試験開始時および試験開始後 10 秒で同数となり、 $10^{8.3}$ TCID₅₀/mL であった。

試験区のウイルス力価について、試験開始後 10 秒で $10^{3.1}$ TCID₅₀/mL (99.999% 減少) であった。

表 1 PED ウイルス 試験結果

| 区 | 試験開始時 | 開始後 10 秒 |
|-----|------------|---------------------------|
| 対照区 | $10^{8.3}$ | $10^{8.3}$ (200000000) |
| 試験区 | | $10^{3.1}$ (1300) |



13. 考察

本試験は、試験資材の PED ウイルスに対する効果を確認するために実施した。
試験の結果、PED ウイルスに対し、10 秒以上の接触で、99.999%の顕著なウイルス不活化効果が確認された。