

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：207378N

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

資材のインフルエンザ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9月1日

試験終了日 : 2020年10月23日

7. 供試ウイルス

インフルエンザウイルス : swine influenza virus H1N1 IOWA 株

培養細胞 : MDCK 細胞 (イヌ腎臓由来株化細胞)

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) インフルエンザウイルスを MDCK 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 %CO<sub>2</sub> 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、MDCK 細胞に接種し、37 °C、5 % CO<sub>2</sub> 下で 5 日間培養した。MDCK 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<sup>2.5</sup> TCID<sub>50</sub> / mL とした。

- ① 検体 0.9 mL を試験管内に用意した。
- ② 検体の中にインフルエンザウイルス液を 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 %CO<sub>2</sub> 下で 5 日間培養した。
- ⑥ CPE の有無及び各ウェル内の培養上清による赤血球凝集反応によりウイルスの増殖の有無を確認し、ウイルス力価 (TCID<sub>50</sub>) 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

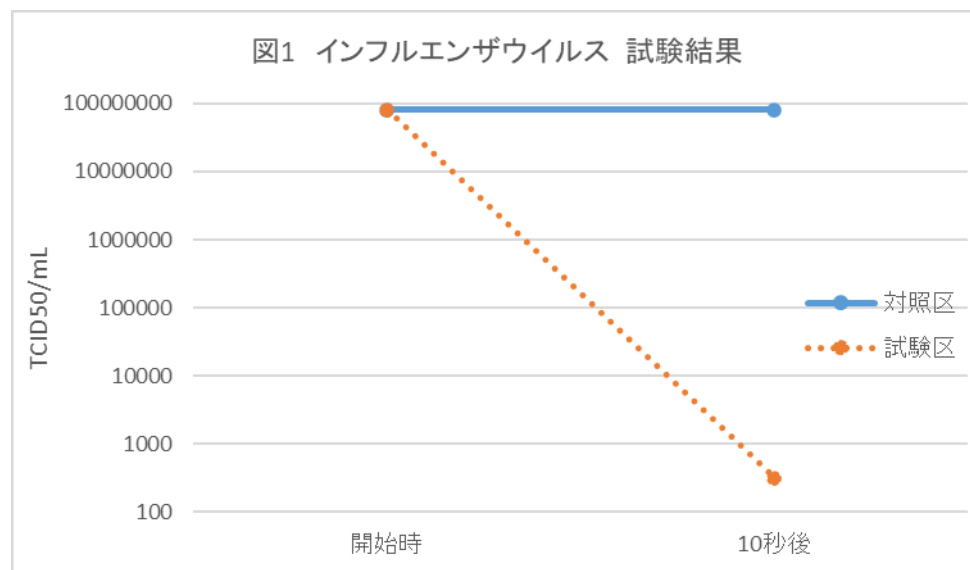
結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区のウイルス力価について、試験開始時及び試験開始後 10 秒で同数となり、 $10^{7.9}$  TCID<sub>50</sub> / 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  $<10^{2.5}$  TCID<sub>50</sub> / mL (測定限界未満、99.999%以上減少) であった。

表 1 インフルエンザウイルス 試験結果

区	試験開始時	開始後 10 秒
対照区	$10^{7.9}$	$10^{7.9}$ (80000000)
試験区		$<10^{2.5}$ ( $<320$ )



### 13. 考察

本試験は、試験資材のインフルエンザ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、インフルエンザウイルスに対し、10 秒以上の接触で、99.999%以上の顕著なウイルス不活化効果が確認された。