試験資材のウイルスに対する不活化効果試験 —試験報告書—

試験番号: 207418N-4

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

試験資材のウイルスに対する不活化効果試験

2. 試験番号

No.207418N-4

3. 目的

資材とウイルス (インフルエンザウイルス及び豚コロナウイルス (PEDV)) を反応させた時のウイルス不活化効果を確認するために実施した。

4. 試験管理組織

試験依頼者の名称及び所在地

名称 株式会社 ルミカ

所在地 〒811-3136 福岡県古賀市糸ケ浦 65

実施機関の名称、所在地及びその長の氏名

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

氏名 代表取締役 久保 一弘

試験実施責任者の氏名

松本 彰平

試験担当者の氏名

近藤 実紀

5. 試験スケジュール

試験受託日 2020年9月25日

試験開始日 2020年11月25日

試験終了日 2020年12月25日

6. 試験資材

二酸化塩素発生装置(ブレスレットタイプ)

7. 供試微生物

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)

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

※豚感染性のコロナウイルス

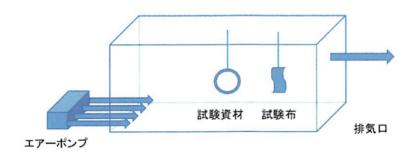
培養細胞: vero 細胞(アフリカミドリザルの腎臓上皮由来株化細胞)

※上記ウイルス培養液を、滅菌不織布(10cm×10cm)に 0.4mL 添加し、15 分間自然乾燥したものを試験布とした

8. 区の設定

区	処置
対照区	試験片をボックス中心から壁よりの中央付近に設置、24時間静置
試験区	試験資材を中心付近に懸架、試験布をボックス中心から壁よりの中央付近
	に設置、24 時間静置

設置模式図



9. 試験方法

「ウイルス実験学 総論 改訂二版 丸善株式会社 ウイルス中和試験法」を参考として実施した。

10. 試験手順

試験方法:

- ・試験環境として試験依頼者より提供された 100L のボックスを使用した。
- ・ボックス内は、ボックスの短側一面の 4 か所に直径約 8mm の穴を開けてボックス外にあるエアーポンプとチューブで接続し、さらに反対面の 1 か所に直径約 8mm の 排気口を設け、エアーポンプから約 480L/h の送気を行うことで、建築基準法で

定められる居室の換気基準である「0.5 回以上/h 換気」の条件を十分に保った状態とした。

- ・区の設定に従い試験資材を設置する試験区と、無処置の対照区を設け、ウイルス液を 付着させた試験布を設置して試験開始した。
- ・試験時間は24時間とした。
- ・試験開始時の試験布、試験終了時の対照区及び試験区の試験布について、それぞれ 滅菌バッグに移し、細胞維持培地 10mL で洗い出し、残存ウイルス濃度の測定を行っ た。

ウイルス濃度測定:

試験区分ごとに処理が終了した懸濁液をそれぞれ 10 倍段階希釈し、96well プレートに培養した細胞に 100μL ずつ接種した。

判定は、37℃、炭酸ガス培養(5%)で 5 日間培養した後、インフルエンザウイルスの場合は、各ウェル内の培養上清を回収し、赤血球凝集反応によりウイルスの増殖の有無を確認し、その濃度を算出した。また、PED ウイルスは、培養細胞を顕微鏡観察し、培養細胞に現れる CPE (細胞変性) をもってウイルス増殖の有無を確認し、その濃度を算出した。

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。

11. 結果

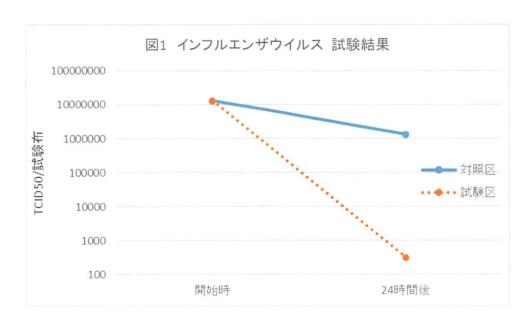
①インフルエンザウイルス

試験開始時においては 107.1 (TCID50/試験布) であった。

24 時間後では、対照区では自然減衰がみられ $10^{6.1}$ (TCID50/試験布)、試験区では $<10^{2.5}$ (TCID50/試験布) で 99.9%以上減少となった。

表 1 インフルエンザウイルス試験結果(TCID₅₀/試験布)

区	試験開始時	24 時間後
41.077 FZ	10 ^{7.1} -	106.1
対照区		(1300000)
社		<10 ^{2.5}
試験区		(<320)



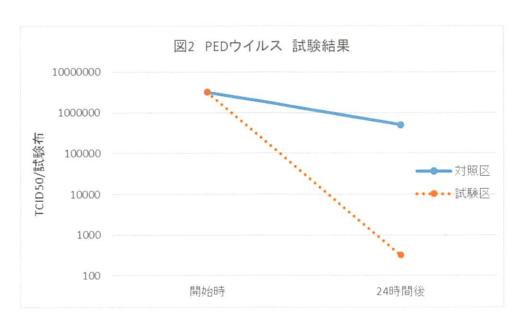
②PED ウイルス

試験開始時においては 10^{6.5} (TCID50/試験布) であった。

24 時間後では、対照区では自然減衰がみられ $10^{5.7}$ (TCID50/試験布)、試験区では $<10^{2.5}$ (TCID50/試験布) で 99.9%以上減少となった。

表 2 PED ウイルス試験結果(TCID₅₀/試験布)

区	試験開始時	24 時間後	
±1 m7 ⊏	10 ^{6.5}	$10^{5.7}$	
対照区		(500000)	
54EA EZ		<10 ^{2.5}	
試験区		(<320)	



12. 考察

今回、試験資材のインフルエンザウイルス及び PED ウイルス (豚感染コロナウイルス) に対する不活化効果試験を実施した。

その結果、インフルエンザウイルス及び PED ウイルスに対し、試験設定条件下で 24 時間処理により 99.9%以上の顕著な不活化効果があることが判明した。