

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：207092N①

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。
(試験は ISO 18184 及び ISO21702 を参考とした)

3. 試験依頼者

名称 : 株式会社サービステック
所在地 : 〒224-0033 横浜市都筑区茅ヶ崎東 2-2-10

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 5 月 7 日
試験終了日 : 2020 年 7 月 20 日

7. 供試ウイルス

株式会社食環境衛生研究所にて保有している 1 ウイルス種を試験に供試した。

Porcine epidemic diarrhea virus P-5V 株 (以下、PEDV)

※動物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

スーパー・アミアート F (アミノ酸生活) 処理布 5%溶液濃度

対照 : 未処理布

※各資材は 2cm 大の大きさにカットし、0.4g となるよう重ねて試験片とした。

9. 区の設定

区	検体	検査時点（時間）	反復数
			ウイルス
対照	対照資材	0、24	1
試験	試験資材	24	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、資材を細胞維持培地 20mL で洗い出し後、さらに 10 倍段階希釈し、各希釈液を 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、洗い出し液原液で細胞毒性は確認されなかったため、本試験における検出限界は洗い出し液中の濃度として 10^{1.5} TCID₅₀/ mL とした。

- ① 試験資材にウイルス液を 0.2mL 添加し、滅菌バイアルに入れて密封した。
- ② 室温下で 24 時間静置し感作時間とした。
- ③ 感作時間経過後、ガラスバイアル中に細胞維持培地 20mL を添加しよく混合してウイルスを洗い出した。
- ④ 洗い出し液について、さらに細胞維持培地で 10 倍段階希釈を行い、各希釈液を 96well マイクロプレートの培養細胞に接種し、5%CO₂ ガス存在下で 37°C、5 日間培養した。
- ⑤ 培養後の 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。

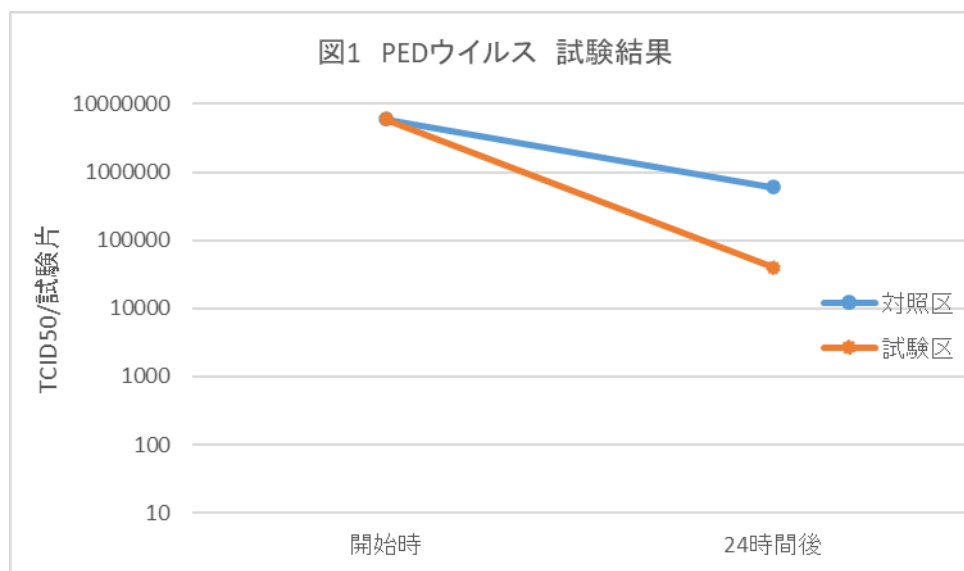
試験開始時においてはウイルス感染価で $2 \times 10^{6.5}$ (TCID₅₀/試験片) であった。

24 時間後では、対照区では自然減衰がみられ $2 \times 10^{5.5}$ (TCID₅₀/試験片)、試験区では $2 \times 10^{4.3}$ (TCID₅₀/試験片) で 93.3%減少となった。

※減少率は 24 時間後の対照区の感染価との比較

表 1 PED ウイルス試験結果 (TCID₅₀/試験片)

区	試験開始時	24 時間後
対照区	$2 \times 10^{6.5}$	$2 \times 10^{5.5}$ (600000)
試験区		$2 \times 10^{4.3}$ (40000)



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、24 時間接触させることで、93.3%のウイルス減少効果がみられるものと判定された。