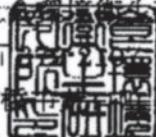


資材のウイルスに対する効果確認試験

試験報告書

試験番号：197290N

株式会社
環境微生物研究所



群馬県前橋市大手町1-561-21

TEL027 230 3411 FAX027 230 8412

作成日：2020年3月30日

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 :

所在地 :

委託責任者 :

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 : 宮崎 翔太

試験担当者 : 近藤 寛紀

6. 試験日程概要

試験開始日 : 2020年1月8日 (試験品受領日)

報告書提出日 : 2020年3月17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2つのウイルスを試験に供試した。

1) *Swine influenza virus H1N1 IOWA* 株 (以下、SIV)

2) *Feline calicivirus F-9* 株 (以下、FCV)

8. 試験資材

名称 :

9 区の設定

供試ウイルス	区	検体	検査時点 (分)
SIV	対照	滅菌生理食塩水	0, 1
	試験	試験資材	0, 1
FCV	対照	滅菌生理食塩水	0, 1
	試験	試験資材	0, 1

上記のとおり、ウイルス種ごとに2つの区を設定した。

10. ウイルス液調製方法

- 1) SIV を MDCK 細胞に、FCV を CRFK 細胞にそれぞれ接種した。
- 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各供試ウイルス液とした。

11. 試験手順及び方法

1) 試験方法：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倍階段希釈後、MDCK 細胞及び CRFK 細胞に接種し、37 °C、5 %CO₂下で5日間培養した。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、両細胞とも10倍希釈ま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 1 mL を試験管内に用意した。
- ② 検体の中にウイルス液を 0.1 mL 接種した。
- ③ 接種直後（0分）及び1分の時点において、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倍階段希釈した。
なお、1分経過直後に、試験管内に 0.1M チオ硫酸ナトリウム 0.1mL を加え中和し、反応を停止させた。
- ④ ③で調製した液を細胞に接種後、37 °C、5 %CO₂ 下で5日間培養した。
- ⑤ 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、測定時間ごとに、対照区に対して試験区の減少率(%)を算出した。

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

1) SIV

結果を表1及び図1に示した。

対照区のウイルス力値について、接種直後(0分)で $10^{6.5}$ TCID₅₀/mL、接種後1分で $10^{5.2}$ TCID₅₀/mLであった。

試験区のウイルス力値について、接種直後(0分)及び接種後1分で $<10^{2.5}$ TCID₅₀/mL(検出限界未満)であった。

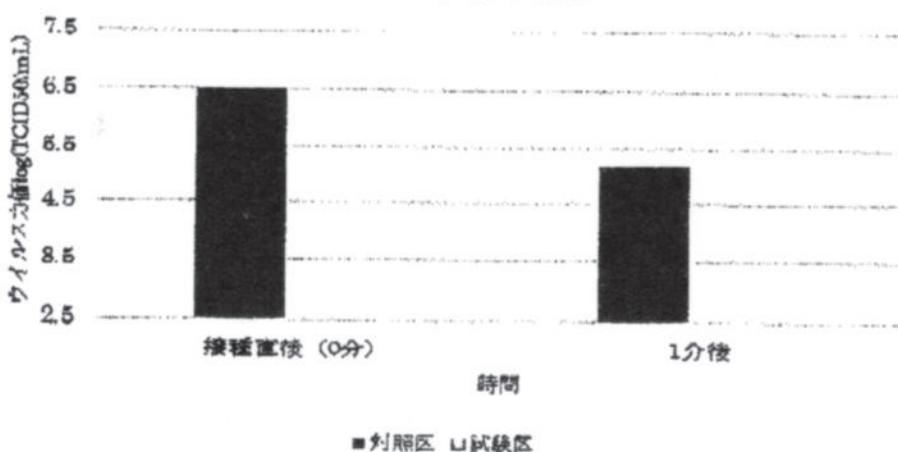
対照区に対して試験区の減少率は、接種直後(0分)で $>99.99\%$ 、接種後1分で $>99.8\%$ であった。

表1 SIVウイルス力値測定結果

時間(分)	対照区	試験区	減少率(%)
0	$10^{6.5}$	$<10^{2.5}$	>99.99
1	$10^{5.2}$	$<10^{2.5}$	>99.8

単位:TCID₅₀/mL

図1 SIVウイルス力値



2) FCV

結果を表2及び図2に示した。

対照区のウイルス力値について、接種直後(0分)で $10^{8.5}$ TCID₅₀/mL、接種後1分で $10^{6.4}$ TCID₅₀/mLであった。

試験区のウイルス力値について、接種直後(0分)で $10^{2.8}$ TCID₅₀/mL、接種後1分で $<10^{2.5}$ TCID₅₀/mL(検出限界未満)であった。

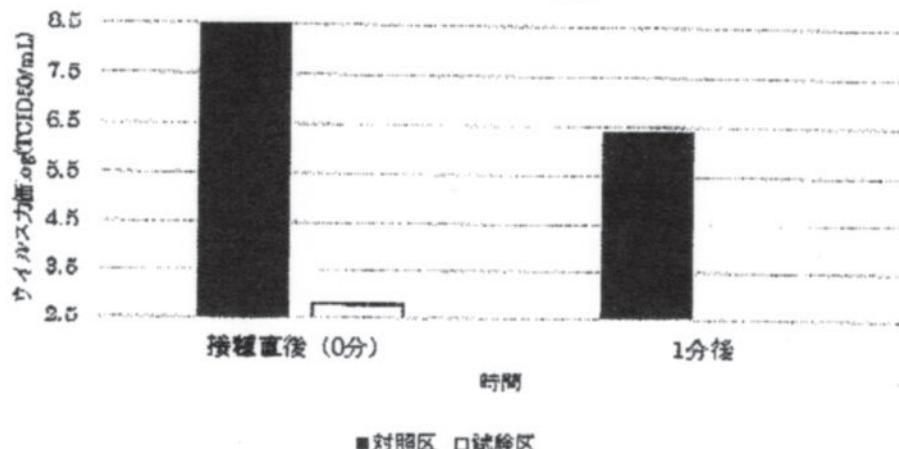
対照区に対して試験区の減少率は、接種直後(0分)で $>99.999\%$ 、接種後1分で $>99.9\%$ であった。

表2 FCVウイルス力値測定結果

時間(分)	対照区	試験区	減少率(%)
0	$10^{8.5}$	$10^{2.8}$	>99.999
1	$10^{6.4}$	$<10^{2.5}$	>99.9

単位:TCID₅₀/mL

図2 FCVウイルス力値



13. 考察

本試験は、試験資材 のウイルスに対する効果を確認するために実施した。
試験の結果、対照区と比較した際の試験区の減少率は、SIVにおいて接種直後（0
分）で> 99.99%、FCVにおいて接種直後（0 分）で> 99.999%であった。

2020年3月30日

試験責任者： 宮崎 翔太

