

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：207221N②-6

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.207122N②-6

3. 目的

密閉空間における浮遊ウイルス（豚コロナウイルス（PEDV））と資材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、所在地及び担当者氏名

名称 有限会社 ケー・エス・ピー

所在地 〒463-0070 名古屋市守山区新守山 2108

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6月19日

試験開始日 2020年9月25日

試験終了日 2020年10月23日

6. 試験資材

M IJU

※スプレー容器

## 7. 試験環境

1m<sup>3</sup> アクリルボックスを試験空間として使用した。  
また、試験室は 25℃±1℃とした。

## 8. 供試微生物

○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)

## 9. 区の設定

区	処置	感作時間
試験区	1m <sup>3</sup> 空間にウイルス噴霧後、試験資材噴霧 12 秒	噴霧後 1・5・10・30 分
対照区	1m <sup>3</sup> 空間にウイルス噴霧	噴霧後 0・1・5・10・30 分

## 10. 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。

## 11. 試験手順

## ①予備試験 :

試験に先立って、試験資材が培養細胞に与える影響 (細胞毒性) を調査した。  
試験区の設定に従い試験品噴霧後 30 分で内部空気をインピンジャーで回収した回収液について、リン酸緩衝液で 10 倍段階希釈した後、培養細胞に接種し、培養後の細胞の正常な状態を示す最高濃度を確認し、試験に使用するウイルス濃度を決定した。

その結果、vero 細胞に細胞の発育不良は確認されなかった。この為、ウイルス噴霧濃度は 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub>/m<sup>3</sup> 以上とした。

## ②本試験・試験液噴霧 :

試験区分に従い、1m<sup>3</sup> ボックス内にウイルス液を 2mL 噴霧後、内部空気をサーキュレータで攪拌し、試験資材をボックス内部に満遍なく噴霧できるよう 1 秒ごとに噴霧角度を変えて 12 秒間噴霧して試験開始とした。

試験開始から設定どおりの時間経過後に、インピンジャーにて室内空気を 50L 吸引して細胞維持培地に浮遊ウイルスを捕集した。

なお、対照区はウイルス噴霧後内部を攪拌して試験開始とし、設定時間に従い室内空気を回収した。

③本試験・細胞接種：

試験区分ごとに感作が終了した混合液をそれぞれ 10 倍段階希釈し、96well プレートに培養した細胞に 100 $\mu$ L ずつ接種した。

判定は、37 $^{\circ}$ C、炭酸ガス培養（5%）で 5 日間培養した後、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。

## 12. 結果

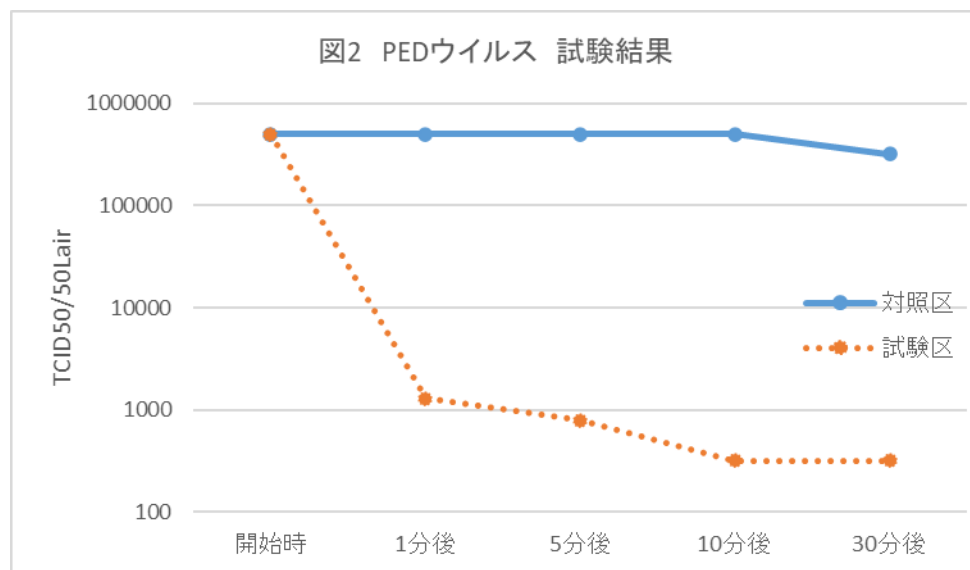
PED ウイルスに対する試験結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区では試験開始後から、試験開始後 30 分までの間にウイルス量は自然減衰がみられた。 $(10^{5.7} \rightarrow 10^{5.5} \text{TCID}_{50}/50\text{Lair})$ 。

試験区では開始後 1 分で  $10^{3.1} \text{TCID}_{50}/50\text{Lair}$  (99.7%減少)、開始後 5 分で  $10^{2.9} \text{TCID}_{50}/50\text{Lair}$  (99.8%減少)、開始後 10 分及び 30 分で  $<10^{2.5} \text{TCID}_{50}/50\text{Lair}$  (検出限界未満 : 99.9%以上減少) となった。

表 1 PED ウイルス試験結果(TCID<sub>50</sub>/50Lair)

区	試験開始時	1 分後	5 分後	10 分後	30 分後
対照区	$10^{5.7}$	$10^{5.7}$ (500000)	$10^{5.7}$ (500000)	$10^{5.7}$ (500000)	$10^{5.5}$ (320000)
試験区		$10^{3.1}$ (1300)	$10^{2.9}$ (800)	$<10^{2.5}$ ( $<320$ )	$<10^{2.5}$ ( $<320$ )



### 13. 考察

試験資材の浮遊ウイルス（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、抗ウイルス活性値（対照区のウイルス感染価対数値－試験区のウイルス感染価対数値）として、噴霧後 1 分で 2.6（99.7%減少）、5 分で 2.8（99.8%減少）、10 分以上で 3.2 以上（99.9%以上減少）の効果が確認された。