

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：207306N

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.207306N

3. 目的

資材とインフルエンザウイルス、豚コロナウイルス（PEDV、新型コロナウイルス代替として）、ネコカリシウイルス（ノロウイルス代替）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 株式会社ナイスシーズ

代表取締役 中尾正二郎

所在地 〒263-0051 千葉県千葉市稲毛区園生町 138-11 T&I ビル

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 8 月 6 日

試験開始日 2020 年 11 月 18 日

試験終了日 2020 年 12 月 28 日

6. 試験資材

Sae 微酸性電解水（pH：6.05、塩素濃度：46ppm）

※試験資材は原液で使用した。また、対照資材として滅菌リン酸緩衝液を使

用した。

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）

ネコカリシウイルス：feline calicivirus F9 株

培養細胞：CRFK 細胞（ネコ腎臓由来株化細胞）

8. 区の設定

区	処置	感作時間
対照区	リン酸緩衝液 1mL にウイルス液 0.1mL 添加	試験開始後 0 分、5 分
試験区	試験資材 1mL にウイルス液 0.1mL 添加	試験開始後 5 分

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

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。試験資材をリン酸緩衝液で 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、細胞毒性について、いずれの細胞に対しても試験資材 10 倍液において細胞の発育不良は確認されなかった。このため、ウイルス添加濃度は 10^5 TCID₅₀/mL 以上とした。

②本試験・試験液混合：

試験区分に従い、試験資材及びリン酸緩衝液の各 1mL をそれぞれ分取し、予備試験で決定した濃度にウイルス液を添加した。ウイルス液添加後、混合液として室温（25℃）にて所定の時間静置した。

③本試験・細胞接種及び菌数測定：

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 μ L 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 ウイルス及びネコカリシウイルスの場合は、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。

11. 結果

①インフルエンザウイルス

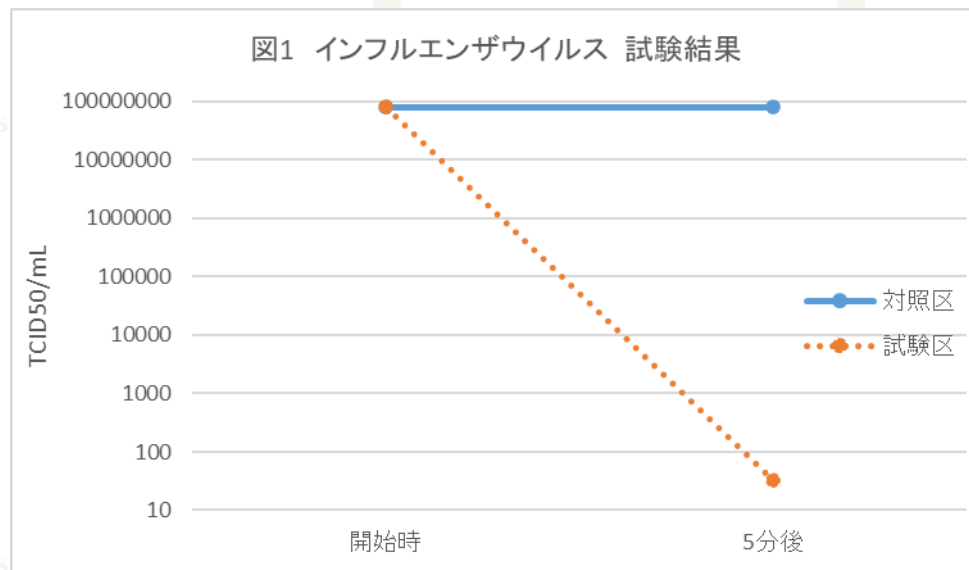
インフルエンザウイルスに対する試験結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区では試験開始後から、試験開始後 5 分までの間にウイルス量の変化は見られなかった($10^{7.9}$ TCID₅₀/mL)。

試験区では開始後 5 分で $<10^{1.5}$ TCID₅₀/mL (検出限界未満：99.999%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/mL)

区	試験開始時	開始後 5 分
対照区	$10^{7.9}$	$10^{7.9}$ (80000000)
試験区	$10^{7.9}$	$<10^{1.5}$ (<32)



②PED ウイルス

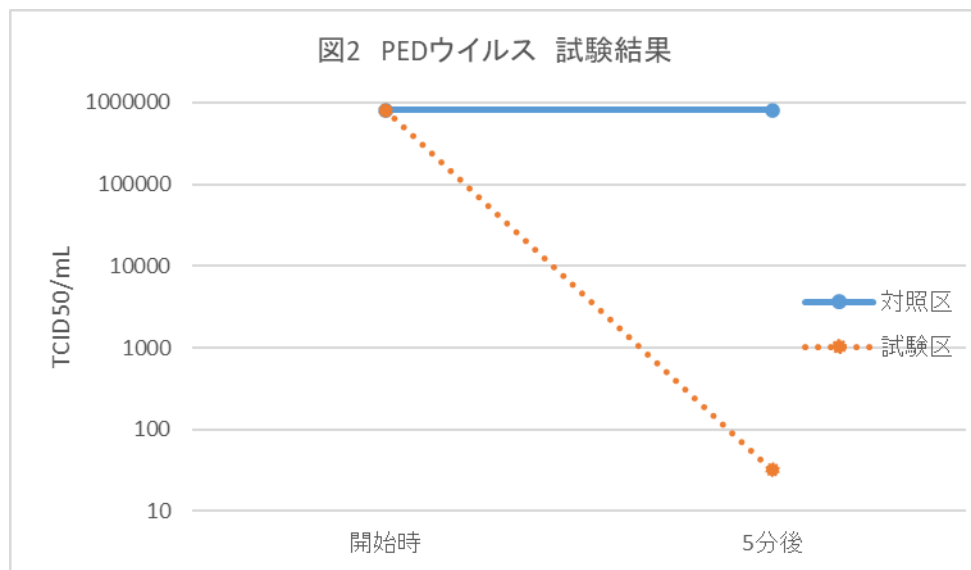
PED ウイルスに対する試験結果を表 2 及び図 2 に示した。

対照区では試験開始後から、試験開始後 5 分までの間にウイルス量の変化は見られなかった($10^{5.9}$ TCID₅₀/mL)。

試験区では開始後 5 分で $<10^{1.5}$ TCID₅₀/mL (検出限界未満：99.996%以上減少) となった。

表 2 PED ウイルス試験結果(TCID₅₀/mL)

区	試験開始時	開始後 5 分
対照区	$10^{5.9}$	$10^{5.9}$ (800000)
試験区	$10^{5.9}$	$<10^{1.5}$ (<32)



③ネコカリシウイルス

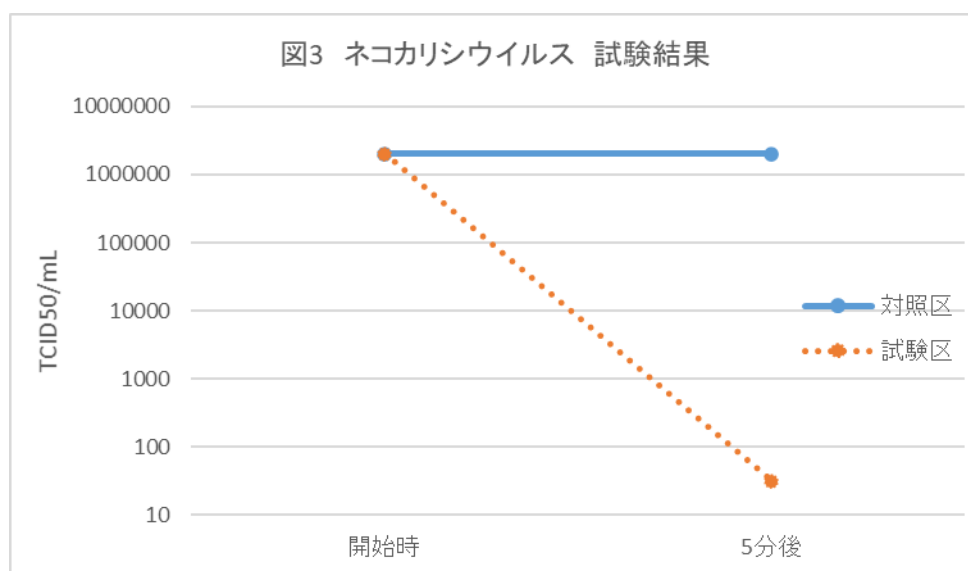
ネコカリシウイルスに対する試験結果を表 3 及び図 3 に示した。

対照区では試験開始後から、試験開始後 5 分までの間にウイルス量の変化は見られなかった($10^{6.3}$ TCID₅₀/mL)。

試験区では開始後 5 分で $<10^{1.5}$ TCID₅₀/mL (検出限界未満：99.998%以上減少) となった。

表 3 ネコカリシウイルス試験結果(TCID₅₀/mL)

区	試験開始時	開始後 5 分
対照区	$10^{6.3}$	$10^{6.3}$ (2000000)
試験区	$10^{6.3}$	$<10^{1.5}$ (<32)



12. 考察

今回、試験資材のインフルエンザウイルス、PED ウイルス（新型コロナウイルス代替として）及びネコカリシウイルス（ノロウイルス代替）に対する不活化効果試験を実施した。

その結果、5 分の接触で、対照区ではウイルスの量に変化は見られなかったが、試験区（Sae 微酸性電解水使用、pH:6.05、塩素濃度:46ppm）では、インフルエンザウイルスに対しては 99.999%以上、PED ウイルスに対しては、99.996%以上、ネコカリシウイルスに対しては 99.998%以上の即効的な不活化効果があることが判明した。

※試験結果に示すグラフについては、試験開始時と終了時（5 分）の時のウイルス量から作成したものです。この間の残存感染性ウイルス量の挙動は不明ですが、あくまで直線的な推移を示した場合を想定したグラフを作成しております。縦軸はウイルス量を表し、横軸は時間を表します。