

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：207217N

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.207217N

3. 目的

試験資材とインフルエンザウイルス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 有限会社タップクリーン

所在地 〒567-0851 大阪府茨木市真砂 1-1-31

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17日

試験開始日 2020年8月26日

試験終了日 2020年10月9日

6. 試験資材

ZERO のちから

※試験資材は 100 倍希釈液を使用した。

※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）

8. 区の設定

区	処置	感作時間
試験区	試験資材 1mL にウイルス液 0.1mL 添加	試験開始後 1 分、10 分
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、1 分、10 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、細胞毒性について試験資材を 10 倍希釈した試験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 10^4 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 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、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。

11. 結果

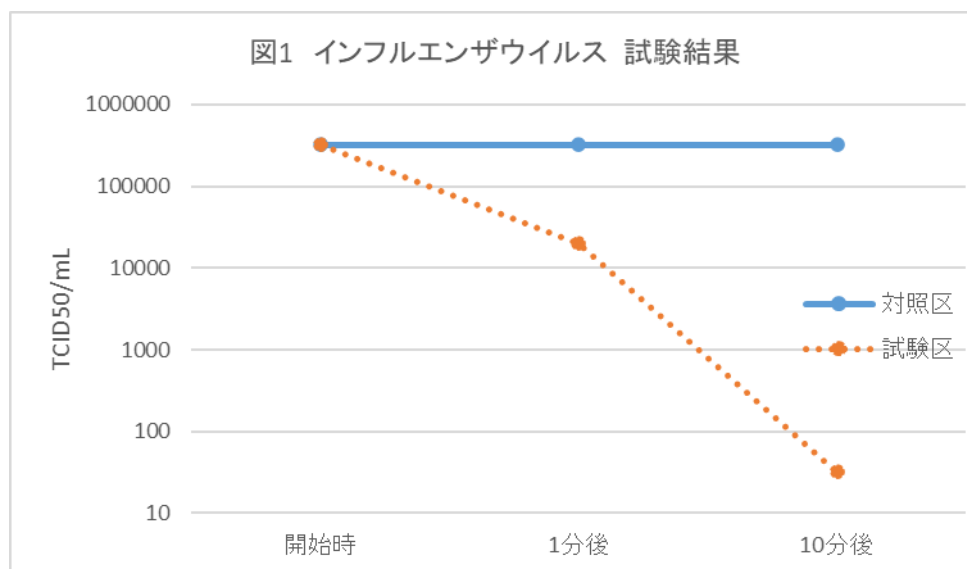
インフルエンザウイルスに対する試験結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区では試験開始後から、試験開始後 10 分までの間にウイルス量の変化は見られなかった($10^{5.5}$ TCID₅₀/mL)。

試験区では開始後 1 分で $10^{4.3}$ TCID₅₀/mL (93.75%減少)、開始後 10 分で $<10^{1.5}$ TCID₅₀/mL(検出限界未満、99.99%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 1 分	開始後 10 分
対照区	$10^{5.5}$	$10^{5.5}$ (320000)	$10^{5.5}$ (320000)
試験区		$10^{4.3}$ (20000)	$<10^{1.5}$ (<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に対して 10 分以上反応することで 99.99%以上の感染性ウイルスの減少がみられ、顕著な不活化効果があることが判明した。