

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：207254N

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.207254N

3. 目的

試験資材と豚感染コロナウイルスである PED 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 合同会社 前川商事

所在地 〒901-2204 沖縄県宜野湾市上原 1-3-5-104

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24日

試験開始日 2020年10月20日

試験終了日 2020年11月16日

6. 試験資材

次亜塩素酸水溶液(ジアゴールド)

※試験資材は原液のまま(80ppm)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

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)

## 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 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、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、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。この為、ウイルス添加濃度は  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/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°C) 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°C、炭酸ガス培養 (5%) で 5 日間培養した後、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

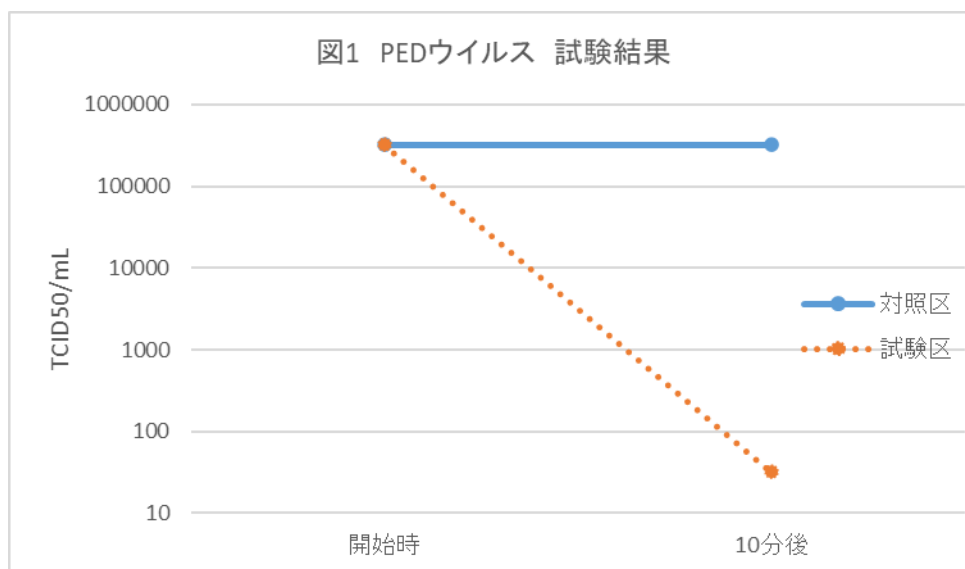
PED ウイルスに対する試験結果を表 1 及び図 1 に示した。

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の変化は見られなかった( $10^{5.5}$ TCID<sub>50</sub>/mL)。

試験区では開始後 10 分で $<10^{1.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL (検出限界未満 : 99.99%以上減少) となった。

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

区	試験開始時	開始後 10 分
対照区	$10^{5.5}$	$10^{5.5}$ (320000)
試験区		$<10^{1.5}$ ( $<32$ )



## 12. 考察

今回、試験資材の 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、10 分の接触で、99.99%以上の不活化効果があることが判明した。