

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：217684N

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

作成日：2022年6月1日

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.217684N
3. 目的
試験資材と新型コロナウイルス（デルタ株）（SARS-CoV-2 δ）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 アイフィールド
所在地 〒631-0004 奈良県奈良市登美ヶ丘 6-4-13
5. 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
6. 試験実施責任者の氏名
上谷 智英
7. 試験担当者の氏名
遠藤 昇里
8. 試験スケジュール
試験受託日 2022年3月1日
試験開始日 2022年5月10日
試験終了日 2022年5月30日

9. 試験資材

試験資材①：ラ・キューブ原液

試験資材②：ラ・キューブ原液を 3 倍希釈して使用した。

試験資材③：ラ・キューブ原液を 5 倍希釈して使用した。

※対照資材として滅菌リン酸緩衝液を使用した。

10. 供試微生物

SARS-CoV-2（新型コロナウイルス デルタ株）

※人由来分離株：唾液より Vero 細胞を用いて分離培養後、リアルタイム PCR を用いて SARS-CoV-2 遺伝子の増幅の確認（厚生労働省通知法）及び N501Y（-）,L452R（+）の変更確認を行ったウイルス株

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）

11. 区の設定

区	処置	感作時間
対照区	リン酸緩衝液 10mL にウイルス液 1mL 添加	試験開始後 0、30、60 秒
試験区 1	試験資材①10mL にウイルス液 1mL 添加	試験開始後 30 秒
試験区 2	試験資材②10mL にウイルス液 1mL 添加	試験開始後 30 秒
試験区 3	試験資材③10mL にウイルス液 1mL 添加	試験開始後 30、60 秒

12. 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。

13. 試験手順

①予備試験：

試験実施前に、各資材を 10 倍段階希釈後、培養細胞に接種し、37℃、5%CO₂ 下で 5 日間培養した。培養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判定から除外した。その結果、10 倍希釈液で細胞毒性は確認されなかった。このため、本試験における検出限界は 10^{1.5}TCID₅₀/mL 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 10mL をそれぞれ分取し、ウイルス液 1mL を添加した。

ウイルス液 1mL 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：

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 $^{\circ}$ 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。

④評価：

試験結果において、検査時点ごとに、対照区に対する試験区の減少率（%）を算出し、効果を確認した。

なお、本試験において減少率は以下の式で算出した。

$$\text{減少率（\%）} = \frac{\text{対照区} - \text{試験区}}{\text{対照区}} \times 100$$

14. 結果

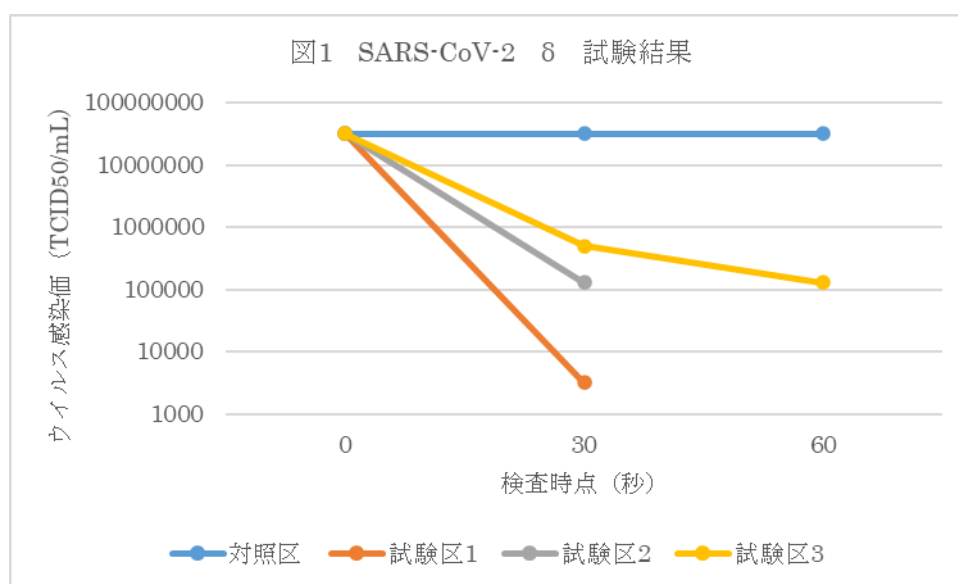
SARS-CoV-2（デルタ株）に対する試験結果を表1及び図1に示した。

対照区では試験開始から、開始後60秒までの間にウイルス量の変化は見られなかった（ $10^{7.5}$ TCID₅₀/mL）。

試験区1では開始後30秒で $10^{3.5}$ TCID₅₀/mL（減少率：99.99%）、試験区2では開始後30秒で $10^{5.1}$ TCID₅₀/mL（減少率：99.59%）、試験区3では開始後30秒で $10^{5.7}$ TCID₅₀/mL（減少率：98.43%）、60秒で $10^{5.1}$ TCID₅₀/mL（減少率：99.59%）となった。

表1 SARS-CoV-2（デルタ株） 試験結果(TCID₅₀/mL)

区	試験開始時	30秒後	60秒後
対照区		$10^{7.5}$ (32000000)	$10^{7.5}$ (32000000)
試験区1	$10^{7.5}$	$10^{3.5}$ (3200)	-
試験区2		$10^{5.1}$ (130000)	-
試験区3		$10^{5.7}$ (500000)	$10^{5.1}$ (130000)



15. 考察

今回、試験資材の SARS-CoV-2（デルタ株）に対する不活化効果試験を実施した。
その結果、試験資材①において、30 秒で 99.99%、試験資材②において、30 秒で 99.59%、試験資材③において、60 秒で 99.59%の不活化効果があることが判明した。