

クリアミストプラスのインフルエンザウイルスに対する不活化効果試験

—試験報告書—

試験番号：217042N

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

クリアミストプラスのインフルエンザウイルスに対する不活化効果試験

2. 試験番号

No.217042N

3. 目的

試験資材であるクリアミストプラス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。

(試験は ISO 18184 及び ISO21702 を参考とした)

4. 試験管理組織

試験依頼者

名称 株式会社 ハセガワ

所在地 〒142-0063 東京都品川区荏原 1-24-36

実施機関

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

遠藤 昇里

5. 試験スケジュール

試験受託日 2021年4月16日

試験開始日 2021年6月24日

試験終了日 2021年7月20日

6. 試験資材

クリアミストプラス

※試験資材は無加工ガラス片(5cm×5cm)に満遍なく塗布し、1週間及び1か月間自然乾燥したものを試験片として使用した。また、対照資材として無

処理の無加工ガラス片を対照片として使用した。

## 7. 供試ウイルス

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	処理	検査時点	反復数
			ウイルス
対照区	対照片にウイルス液 0.4mL 添加	0、2 時間	1
試験区 1	塗布後 1 週間の試験片にウイルス液 0.4mL 添加	2 時間	1
試験区 2	塗布後 1 か月の試験片にウイルス液 0.4mL 添加	2 時間	1

## 9. ウイルス液調製方法

- 1) インフルエンザウイルスを MDCK 細胞に接種した。
- 2) 37 °C で 1 時間吸着後、接種ウイルス液を除去し、滅菌 PBS で 2 回洗浄した。
- 3) MEM 培地を加え、37 °C、5 %CO<sub>2</sub> 下で培養した。
- 4) 70～80 %程度の細胞変性効果（以下、CPE）が観察された時点で、培養上清を回収した。
- 5) 回収した培養上清を、3000 rpm で 30 分間遠心後、遠心上清を分注し、-70 °C 以下で保存したものを供試ウイルス液とした。

## 10. 試験手順及び方法

### (1) ウイルス液の接種及びウイルス力価測定

試験実施前に、試験資材塗布ガラス片（試験片）を細胞維持培地 20mL で洗い出し後、さらに 10 倍段階希釈し、各希釈液を MDCK 細胞に接種し、37 °C、5 %CO<sub>2</sub> 下で 5 日間培養した。MDCK 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だと判定し、本試験では細胞毒性が確認された希釈倍率を試験から除外した。

その結果、洗い出し液原液で細胞毒性は確認されなかったため、本試験における検出下限は試験片あたりの濃度として 10<sup>1.5</sup> TCID<sub>50</sub>/ 試験片とした。

- ① 対照片及び試験片にウイルス液を 0.4mL 添加し、上から滅菌フィルムを被覆してシャーレに入れて密封した。
- ② 室温下で試験設定に従い静置し感作時間とした。
- ③ 感作時間経過後、対照片、試験片のそれぞれを滅菌バッグにフィルムごと

移し、細胞維持培地 10mL を添加しよく混合してウイルスを洗い出した。  
また、感作開始直後の対照片についても同様の操作を行い、初期値とした。

- ④ 洗い出し液について、さらに細胞維持培地で 10 倍段階希釈を行い、各希釈液を 96well マイクロプレートの培養細胞に接種し、5%CO<sub>2</sub> ガス存在下で 37℃、5 日間培養した。
- ⑤ 培養後の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。

## (2) 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。

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

## 11. 結果

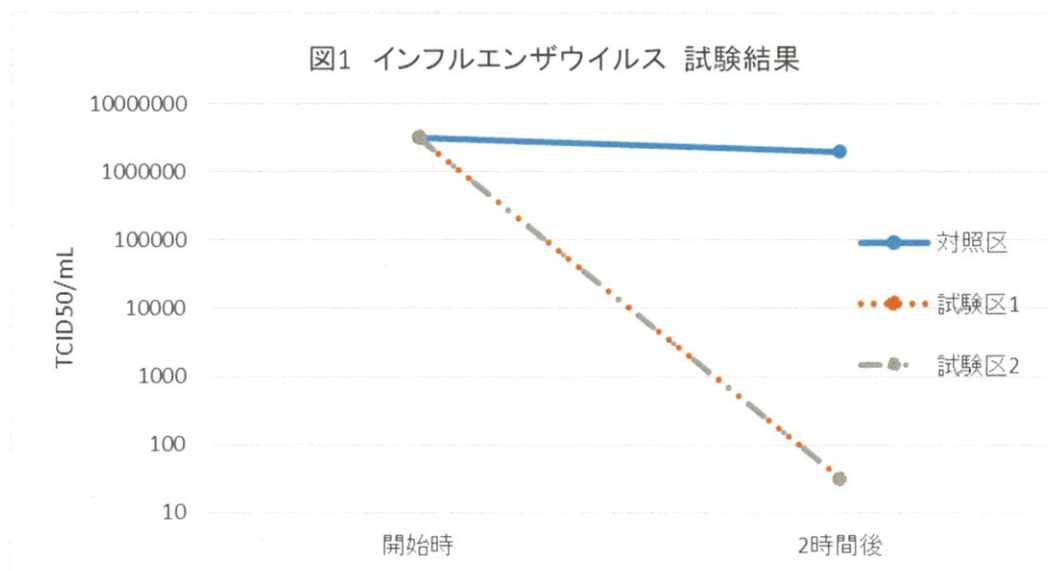
結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区では試験開始から、開始後 2 時間までの間にウイルス量の自然減衰が見られた( $10^{6.5} \sim 10^{6.3}$ TCID<sub>50</sub>/試験片)。

試験区 1 及び試験区 2 では開始後 2 時間において $<10^{1.5}$  (TCID<sub>50</sub>/試験片)で検出下限未満：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 (TCID<sub>50</sub>/試験片)

区	試験開始時	2 時間後
対照区		$10^{6.3}$ (2000000)
試験区 1	$10^{6.5}$	$<10^{1.5}$ ( $<32$ )
試験区 2		$<10^{1.5}$ ( $<32$ )



## 12. 考察

試験の結果、ガラス片に塗布して1週間及び1か月乾燥静置した試験資材において、インフルエンザウイルスを2時間接触させることで、99.99%以上のウイルス減少効果がみられるものと判定された。