

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：207371N-2

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.207371N-2

3. 目的

資材と豚コロナウイルス（PEDV）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 セレッティ株式会社

所在地 〒270-0017 千葉県松戸市幸谷 609

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9月3日

試験開始日 2020年12月11日

試験終了日 2021年1月28日

6. 試験資材

エアークーラー

※試験機材は赤及び青のランプを点灯させて実施した。

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	検体	検査時点 (時間)	反復
			ウイルス
対照	無処理	0、6	1
試験	試験資材	6	1

9. ウイルス液調製方法

- 1) PEDV を vero 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 %CO₂ 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

(1) 方法

- ① ウイルス液付着用の付着片として、滅菌プラスチック板を用意した。また、試験容器として 50cm 四方の亚克力ボックスを用意した。
- ② 各付着片にウイルス液を均一になるように 0.4mL 塗布して、試験片とした。
- ③ 対照区は、試験片を試験容器に入れて静置 (25°C)、試験区は試験片をあらかじめ試験資材を 1 時間稼働させておいた試験容器の中に入れて区の設定に従い処理をした。
- ④ 処理後の試験片をそれぞれ回収し、滅菌バッグ内で 10mL の MEM 培地で残存ウイルスを洗い出し、さらに MEM 培地で 10 倍段階希釈を行った。
- ⑤ 各希釈液を vero 細胞に接種後、37 °C、5 %CO₂ 下で 5 日間培養した。
- ⑥ CPE の有無から、ウイルス力価 (TCID₅₀) を測定した。

(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

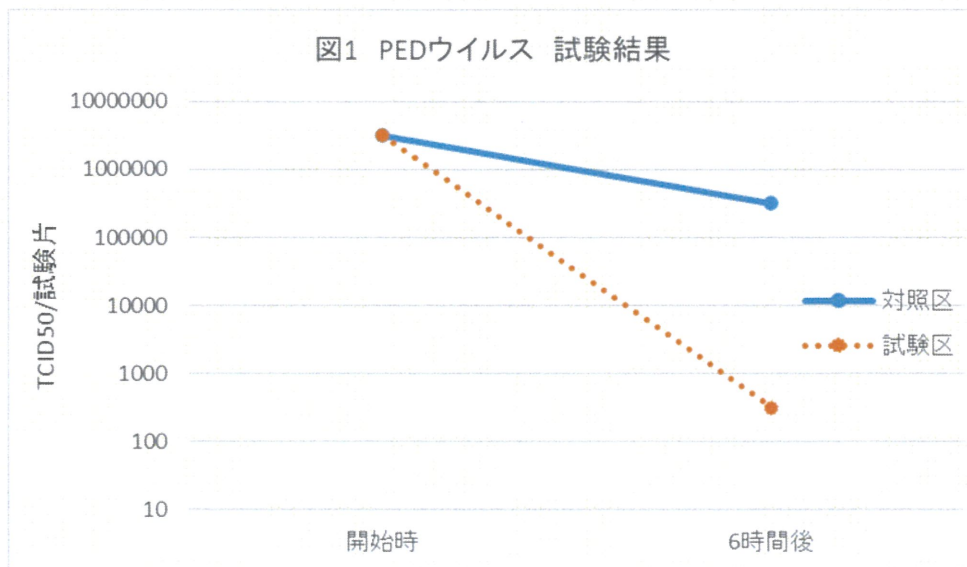
PED ウイルスに対する試験結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区では試験開始後から、開始後 6 時間までの間にウイルス量の自然減衰が見られた($10^{6.5} \rightarrow 10^{5.5}$ TCID₅₀/試験片)。

試験区では開始後 6 時間で $<10^{2.5}$ TCID₅₀/試験片 (検出限界未満 : 99.9%以上減少) となった。

表 1 PED ウイルス試験結果(TCID₅₀/試験片)

区	試験開始時	開始後 6 時間
対照区	$10^{6.5}$	$10^{5.5}$ (320000)
試験区		$<10^{2.5}$ (<320)



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、6 時間の反応で PED ウイルスに対し 99.9%以上の不活化効果があることが判明した。