

試験結果報告書

依頼者名 エコシンフォニー株式会社 殿
品名 液剤 1点
試験項目 抗ウイルス性試験

2020年9月15日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2020年12月11日

一般財団法人 日本繊維製品品質技術センター
神戸試験センター 射本



記

○試験概要

- 試験ウイルス：Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)
NIID 分離株；JPN/TY/WK-521 (国立感染症研究所より分与)
- 宿主細胞：VeroE6/TMPRSS2 JCRB1819
- 細胞培養液：Dulbecco's modified Eagle's medium (low-glucose) ; DMEM
(SIGMA, Cat#D6046)
Minimum Essential Medium Eagle ; EMEM (SIGMA, Cat#M4655)
- ウシ胎児血清：Fetal Bovine Serum (FBS) (SIGMA, Cat#173012)
- 対照サンプル (Negative control)：Phosphate buffered saline (PBS)
- 試験サンプル：除菌剤ピエリモ (次亜塩素酸水溶液)
塩素濃度 100~120ppm、pH5.5~6.0
- 試験条件：

ウイルス懸濁液	ウイルス懸濁液：試験サンプル	試験液中の FBS の終濃度
1%FBS 含ウイルス懸濁液	1 : 9	0.1%

作用温度 25℃

作用時間 20 秒

(対照サンプル；Negative control のみ混合直後も測定)

- 薬剤不活化剤：SCDLP を 2% FBS 含 DMEM で 10 倍希釈した溶液
- 感染価測定法：プラーク測定法

* この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。
* 本証明書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

○試験方法

1) ウイルス懸濁液の調製:

宿主細胞にウイルスを感染させ、EMEM を加え 37℃ で所定時間培養後、4℃、1,000×g で 15 分間遠心分離した上清をウイルス懸濁液とする。ウイルス懸濁液に FBS の終濃度が 1% になるように FBS を添加したものを試験ウイルス懸濁液とする。

2) 宿主細胞検証試験:

2) - 1 細胞毒性確認試験

1. 試験サンプル 0.9 mL に 1%FBS 含 EMEM 0.1 mL を加え、十分に攪拌する。これを試験液とする。
2. 薬剤不活化剤 0.9ml に試験液 0.1ml を添加し、十分に攪拌する。
3. 2%FBS 含 DMEM を用いて、10 倍希釈系列を作製する。
4. プラーク測定法にて各希釈系列の細胞毒性の有無を確認する。

2) - 2 ウイルスへの細胞の感受性確認試験

1. 試験サンプル 0.9 mL に 1%FBS 含 EMEM 0.1 mL を加え、十分に攪拌する。これを試験液とする。
2. 薬剤不活化剤 4.5ml に試験液 0.5ml を添加し、十分に攪拌する。
3. 2%FBS 含 DMEM を用いて、10 倍希釈系列を作製する。
4. EMEM を用いて $4\sim 6\times 10^4$ PFU/mL に調製したウイルス懸濁液を 3. の各希釈系列の 1/100 量添加する。
5. 室温で 10 分間静置する。
6. プラーク測定法にて各希釈系列 1mL 当たりのウイルス感染価を測定し、ウイルスへの細胞の感受性を確認する。

* 宿主細胞検証試験は、以下の基準を満たすことを判定基準とする。

2) - 1 細胞毒性:無し

2) - 2 ウイルスへの細胞の感受性確認:

$$\lg(\text{PBS のウイルス感染価 (PFU/mL)}) - \lg(\text{Sample のウイルス感染価 (PFU/mL)}) \leq 0.5$$

3) 本試験:

1. 試験サンプル 0.9 mL に試験ウイルス懸濁液 0.1 mL を加え、十分に攪拌する。
2. 25℃ で 20 秒間、静置する。これを試験液とする。
3. 宿主細胞検証試験で不活化が確認された条件で試験液を不活化する。これを反応停止液とする。

* この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。

* 本証明書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

4. 上記3.の反応停止液を 10^0 として、2%FBS 含 DMEM で 10 倍希釈系列を製作し、反応停止液 0.1ml 当たりのウイルス感染価をプラーク測定法にて測定し、試験液 1ml 当たりのウイルス感染価を算出する。

○試験結果

2) 宿主細胞検証試験

- ・試験ウイルス：SARS-CoV-2 NIID 分離株；JPN/TY/WK-521（国立感染症研究所より分与）
- ・ウイルス懸濁液濃度： 5.1×10^4 PFU/ml

検 体	2) - 1 細胞毒性の有無	2) - 2
		ウイルスへの細胞の感受性確認 ウイルス感染価 (PFU/mL) 常用対数平均値
PBS (Negative control)	無	2.72
除菌剤ビエリモ (次亜塩素酸水溶液) 塩素濃度 100~120ppm、pH5.5~6.0	無	2.71

- * 試験液を薬剤不活化剤で 10 倍希釈することにより、検体の影響を受けずにウイルス感染価測定ができることを確認した。

○試験結果

3) 本試験

- ・試験ウイルス：SARS-CoV-2 NIID 分離株；JPN/TY/WK-521（国立感染症研究所より分与）
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： 1.3×10^8 PFU/ml

検 体		試験液 1ml 当たりの ウイルス感染価 (PFU/mL) の常用対数値			Negative control との常用対数値差
		常用対数値	常用対数値平均値		
PBS (Negative control)	混合直後	n1	7.13	7.11	/
		n2	7.10		
		n3	7.11		
	20 秒作用後	n1	7.10	7.10	
		n2	7.08		
		n3	7.11		
除菌剤ビエリモ (次亜塩素酸水溶液) 塩素濃度 100~120ppm、 pH5.5~6.0	20 秒作用後	n1	< 2.00	< 2.00	5.1
		n2	< 2.00		
		n3	< 2.00		
			< 2.00		

以上

- * この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。
- * 本証明書の一部又は全部の無断転用を固くお断りします。