

試験結果報告書

依頼者名 大原パラヂウム化学株 殿

品 名 生地 (パラファイン ANV-150GPF-7000 (洗濯 10 回後)) 1 点

試験項目 抗ウイルス性試験

2020 年 9 月 8 日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2020 年 10 月 30 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

言己

○試験方法

JIS L 1922 「繊維製品の抗ウイルス性試験方法」準用

○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)
- ・無加工試料 : 生地 (Blank) 0.4g
- ・試験試料 : 生地 (パラファイン ANV-150GPF-7000 (洗濯 10 回後)) 0.4g
- ・洗い出し液 : SCDLP を 2% FBS 含 DMEM で 10 倍希釈した溶液
- ・作用条件 : 25°C、2 時間
- ・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。

○試験操作

1) 本試験 :

1. 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。
2. 1. で得られたウイルス懸濁液を滅菌蒸留水を用いて 10 倍希釈し、 $1\sim5\times10^7$ PFU/mL に調整したものを試験ウイルス懸濁液とする。
3. 各検体に試験ウイルス懸濁液を 0.2 mL 接種する。
4. 25℃、2 時間作用後、洗い出し液を 20 mL 加え、ボルテックスミキサーで攪拌し、検体からウイルスを洗い出す。
5. プラーク測定法にてウイルス感染価を測定する。

2) 宿主細胞検証試験 :

2) - 1 細胞毒性確認試験

1. 各検体に洗い出し液 20 mL を加え、本試験と同様に洗い出し操作を行なう。
2. プラーク測定法と同様に細胞を染色し、細胞毒性の有無を確認する。

2) - 2 ウィルスへの細胞の感受性確認試験

1. 各検体に洗い出し液 20 mL を加え、本試験と同様に洗い出し操作を行なう。
2. 上記の洗い出し液 5 mL を滅菌済試験管に採る。
3. EMEM を用いてウイルス懸濁液を $4\sim6\times10^4$ PFU/mL に調製し、その懸濁液 0.05 mL を 2. の洗い出し液に加える。
4. 25℃で 30 分間静置する。
5. プラーク測定法にてウイルス感染価を測定し、洗い出し液 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。

* 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。

○試験結果

1) 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 : 2.6×10^7 PFU/ml

試 料	ウイルス感染価 (PFU/vial) ^(注 2) 常用対数値			減少値 【M】 ^(注 4)	抗ウイルス活性値 【Mv】 ^(注 3)		
	常用対数値	常用対数値平均値					
無加工試料 ^(注 1)	接種直後 【lg(V _a)】	n1 6.84	6.78	0.5	抗ウイルス活性値 【Mv】 ^(注 3)		
	n2 6.79						
	n3 6.72						
	2 時間作用後 【lg(V _b)】	n1 6.25	6.29				
	n2 6.29						
	n3 6.32						
生地 (パラファイン ANV-150GPF-7000 (洗濯 10 回後))	2 時間作用後 【lg(V _c)】	n1 4.16	4.04	—	2.7		
		n2 4.08					
		n3 3.87					

(注 1) 無加工試料 : 生地 (Blank)、 (注 2) PFU : plaque forming units

(注 3) 抗ウイルス活性値 【Mv】 = lg(V_a) - lg(V_b)(注 4) 減少値 【M】 = lg(V_a) - lg(V_b) (試験成立条件 : 減少値 【M】 ≤ 1.0)

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)
- ・試験ウイルス懸濁液濃度 : 4.5×10^4 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	試験成立の 判定
		ウイルス感染価 (PFU/mL) ^(注 1) 常用対数平均値	
無加工試料 ^(注 1)	無	2.65	
生地 (パラファイン ANV-150GPF-7000 (洗濯 10 回後))	無	2.66	成立

【試験成立条件】

2 - 1) 細胞毒性 : 無し

2 - 2) ウイルスへの細胞の感受性確認 :

$$\lg(\text{無加工試料のウイルス感染価 (PFU/mL)}) - \lg(\text{加工試料のウイルス感染価 (PFU/mL)}) \leq 0.5$$

* 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。

<参考情報>

○本試験に供したウイルス懸濁液のリアルタイム RT-PCR 測定

- ・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 : $>10^8$ PFU/ml
- ・リアルタイム PCR 装置 : Thermal Cycler Dice® Real Time System III (TaKaRa)
- ・検出キット : SARS-CoV-2 Detection Kit - N1 set - (Code NCV-301; Lot# 038200)
(TOYOBO CO., LTD. Biotech support Department)

○測定結果

リアルタイム RT-PCR 測定結果 (Fig.1.) より、ウイルス RNA の増幅が確認された。

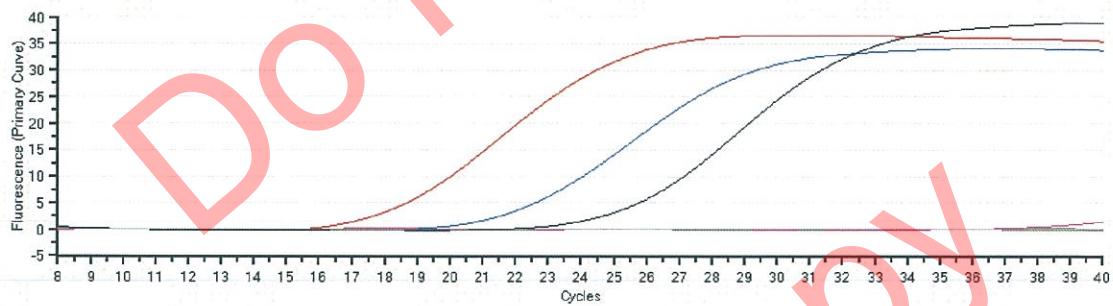


Fig.1. ウイルス懸濁液のリアルタイム RT-PCR 測定結果

グラフ : 赤線 (ウイルス懸濁液濃度を PBS にて 10^2 倍希釈)

グラフ : 青線 (ウイルス懸濁液濃度を PBS にて 10^3 倍希釈)

グラフ : 黒線 (ウイルス懸濁液濃度を PBS にて 10^4 倍希釈)

グラフ : ピンク線 (Negative control ; EMEM)

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。

* 本証明書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。