

## 試験結果報告書

依頼者名 株式会社ハドラス 殿  
品名 アクリル板 1点  
試験項目 抗ウイルス性試験

2020年11月19日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2021年3月31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



### 言記

#### ○試験方法

ISO21702

「Measurement of antiviral activity on plastics and other non-porous surfaces」

#### ○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) (NICHIREI, Cat#174012)
  
- ・密着フィルム：ポリエチレンフィルム
- ・対照サンプル：アクリル板（未加工品）
- ・試験サンプル：アクリル板（加工品）
- ・試験片の清浄化：実施なし
- ・試験ウイルス懸濁液接種量：0.4 mL
  
- ・試験条件：作用温度 25℃  
作用時間 24 時間  
(対照サンプルは接種直後もウイルス感染価を測定)
- ・洗い出し液：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。  
\* 本報告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、 $1\sim 5\times 10^7$  PFU/mL に調整したものを試験ウイルス懸濁液とする。
3. 滅菌済シャーレの底に加工面を上にして、各検体 (50mm×50mm) を置き、試験ウイルス懸濁液を 0.4 mL 接種する。
4. 密着フィルム (40mm×40mm) をかぶせ、試験ウイルス懸濁液がフィルム全体に行きわたるように軽く押さえつける。
5. シャーレの蓋をかぶせる。
6. 25℃で 24 時間、90%RH 以上の条件下で放置後、各試験検体に洗い出し液 10 mL を加える。
7. 各試験検体および密着フィルムの表面を擦り、ウイルスを洗い出す。
8. 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. 各試験検体に洗い出し液 10 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 ウイルスへの細胞の感受性確認試験

1. 各試験検体に洗い出し液 10 mL を加え、本試験と同様に洗い出し操作を行なう。
2. 上記 2. の溶液 5 mL を滅菌済試験管に採る。
3. EMEM を用いて試験ウイルス懸濁液を  $4\sim 6\times 10^4$  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。

## ○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： $3.7 \times 10^7$  PFU/ml

検 体		ウイルス感染価 (PFU/cm <sup>2</sup> )(注2) 常用対数値			抗ウイルス 活性値 【R】(注3)
		常用対数値	常用対数値平均値		
①アクリル板 (未加工品) (注1)	接種直後 【U <sub>0</sub> 】	n1	5.97	5.96	
		n2	6.00		
		n3	5.89		
	24時間放置後 【U <sub>t</sub> 】	n1	5.47	5.37	
		n2	5.27		
		n3	5.38		
②アクリル板 (加工品)	24時間放置後 【A <sub>t</sub> 】	n1	2.29	2.35	3.0
		n2	2.40		
		n3	2.35		

(注1) 対照試料として、アクリル板（未加工品）（依頼者提出）を用いた。

(注2) PFU：plaque forming units

(注3) 抗ウイルス活性値  $R = U_t - A_t$

## 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： $5.8 \times 10^4$  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2) 常用対数平均値		
①アクリル板 (未加工品) (注1)	無	【S <sub>u</sub> 】	2.75	成立
②アクリル板 (加工品)	無	【S <sub>t</sub> 】	2.73	成立
陰性対照 (注4)	無	【S <sub>n</sub> 】	2.76	

(注4) 陰性対照として SCDLP を 2% FBS 含 DMEM で 10 倍希釈した溶液を用いた。

## 【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： $|S_n - S_u| \leq 0.5$  および  $|S_n - S_t| \leq 0.5$

- \* 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。
- \* 本報告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。

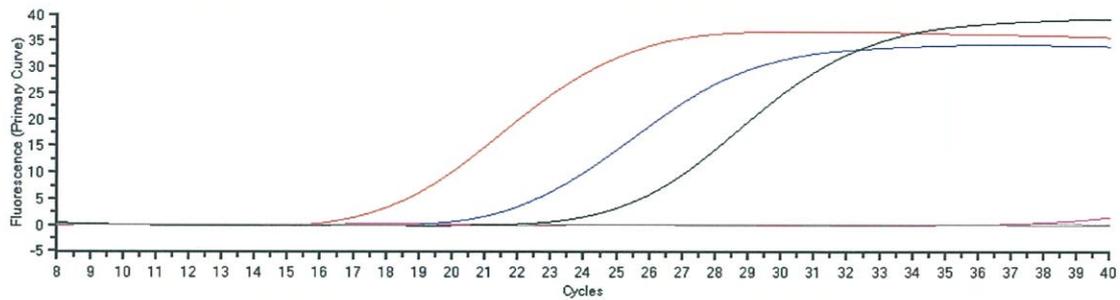


Fig.1. ウイルス懸濁液のリアルタイム RT-PCR 測定結果

- 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。  
\* 本報告書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。