

品名：ガラス板：未加工品1点
ガラス板：Si-Shield加工品1点
試験項目：SARS-CoV-2抗ウイルス性試験

○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：1 ガラス板 (未加工品)

・試験サンプル：2 ガラス板 Si-Shield (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：ブランク測定法

○備考・試験前処理方法 (耐水・耐光処理) は抗菌製品技術協議会持続性基準による。

○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℃、1,000xgで15分間遠心分離した上清を試験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、1~5×10⁷PFU/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0.4mL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10mL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. ブ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10mLを加え、本試験と同様に洗い出し操作を行なう。

2. ブ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10mL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5mL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4~6×10⁶PFU/mLに調製し、その懸濁液0.05mLを2.の洗い出し液に加える。

4. 25℃で30分間静置する。

5. ブ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： 2.7×10^7 PFU/ml

i) 試験前処理方法：耐水処理【区分0】

| 検体 | | ウイルス感染価 (PFU/cm ²) ^(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ガラス板 Si-Shield (未加工品) ^(注1) | 接種直後 【U ₀ 】 | n1 | 5.94 | 5.89 | |
| | | n2 | 5.84 | | |
| | | n3 | 5.89 | | |
| | 24時間放置後 【U ₁ 】 | n1 | 4.67 | 4.80 | |
| | | n2 | 4.93 | | |
| | | n3 | 4.82 | | |
| ②ガラス板 Si-Shield (加工品) | 24時間放置後 【A ₁ 】 | n1 | < 0.80 | < 0.80 | ≥ 4.0 |
| | | n2 | < 0.80 | | |
| | | n3 | < 0.80 | | |

ii) 試験前処理方法：耐光処理【区分1】

| 検体 | | ウイルス感染価 (PFU/cm ²) ^(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ガラス板 Si-Shield (未加工品) ^(注1) | 接種直後 【U ₀ 】 | n1 | 5.77 | 5.91 | |
| | | n2 | 6.04 | | |
| | | n3 | 5.93 | | |
| | 24時間放置後 【U ₁ 】 | n1 | 5.00 | 4.97 | |
| | | n2 | 4.94 | | |
| | | n3 | 4.97 | | |
| ②ガラス板 Si-Shield (加工品) | 24時間放置後 【A ₁ 】 | n1 | < 0.80 | < 0.80 | ≥ 4.2 |
| | | n2 | < 0.80 | | |
| | | n3 | < 0.80 | | |

(注1) 対照試料として、①ガラス板 Si-Shield (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 $R = U_0 - A_1$

*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。

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： 6.0×10^4 PFU/ml

i) 試験前処理方法：耐水処理【区分0】

| 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) ^(注2) 常用対数平均値 | | 試験成立 の判定 |
|---|-----------------------|---|---------|-------------|
| | | [S _u] | 常用対数平均値 | |
| ①ガラス板 Si-Shield (未加工品) ^(注1) | 無 | [S _u] | 2.78 | 成立 |
| ②ガラス板 Si-Shield (加工品) | 無 | [S _t] | 2.78 | 成立 |
| 陰性対照 ^(注4) | 無 | [S _n] | 2.78 | |

ii) 試験前処理方法：耐光処理【区分1】

| 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) ^(注2) 常用対数平均値 | | 試験成立 の判定 |
|---|-----------------------|---|---------|-------------|
| | | [S _u] | 常用対数平均値 | |
| ①ガラス板 Si-Shield (未加工品) ^(注1) | 無 | [S _u] | 2.77 | 成立 |
| ②ガラス板 Si-Shield (加工品) | 無 | [S _t] | 2.77 | 成立 |
| 陰性対照 ^(注4) | 無 | [S _n] | 2.78 | |

(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 $|S_n - S_t| \leq 0.5$

*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。