

試験結果報告書

依頼者名 市岡株式会社 殿
品名 バス用シート生地 (ルーチェ TioTio プレミアム 2016-05) 1点
試験項目 抗ウイルス性試験

2021年8月23日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2021年11月26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

○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)
変異株 (デルタ株) ; hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021
* 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)
- ・無加工試料：標準布 (綿)
- ・試験試料：バス用シート生地 (ルーチェ TioTio プレミアム 2016-05)
- ・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℃、2 時間
- ・感染価測定法：プラーク測定法

○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°C で所定時間培養後、4°C、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. 各検体 0.4g に試験ウイルス懸濁液を 0.2 mL 接種する。
4. 25°C、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 ウイ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 $4\sim 6\times 10^4$ 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°C 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 変異株（デルタ株）；hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： 1.6×10^7 PFU/ml

試料		ウイルス感染価 (PFU/vial) ^(注2)		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	常用対数値平均値		
無加工試料 ^(注1)	接種直後 【lg(Va)】	n1	6.42	6.37	0.8
		n2	6.32		
		n3	6.36		
	2時間作用後 【lg(Vb)】	n1	5.54	5.54	
		n2	5.66		
		n3	5.40		
バス用シート生地 (ルーチェ TioTio プレミアム 2016-05)	2時間作用後 【lg(Vc)】	n1	< 2.30	< 2.30	—
		n2	< 2.30		
		n3	< 2.30		

(注1) 無加工試料：標準布（綿）、 (注2) PFU：plaque forming units

(注3) 抗ウイルス活性値【Mv】 = $\lg(Va) - \lg(Vc)$

(注4) 減少値【M】 = $\lg(Va) - \lg(Vb)$ (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 変異株（デルタ株）；hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： 5.5×10^4 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	2.71	成立
バス用シート生地 (ルーチェ TioTio プレミアム 2016-05)	無	2.64	

【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 変異株（デルタ株）；hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021
* 国立感染症研究所より分与
- ・ウイルス懸濁液濃度：>10⁸ 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# 056700）
（TOYOBO CO.,LTD. Biotech support Department）
- ・Primer/Probe：

【N501Y Mutation】

- ・501N Wild Type Primer & Probe Mixture
- ・N501Y Mutant Type Primer & Probe Mixture
（SARS-CoV-2 N501Y Mutation Detection Kit, Code No.287-35701; Lot# LEN9523,
FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation）

【L452R Mutation】

- ・452L Wild Type Primer & Probe Mixture
- ・L452R Mutant Type Primer & Probe Mixture
（SARS-CoV-2 E484K Mutation Detection Kit, Code No.287-36301; Lot# LEM9536,
FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation）

【E484Q Mutation】

- ・484E Wild Type Primer & Probe Mixture
- ・E484Q Mutant Type Primer & Probe Mixture
（SARS-CoV-2 E484K Mutation Detection Kit, Code No.283-36401; Lot# LEM9537,
FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation）

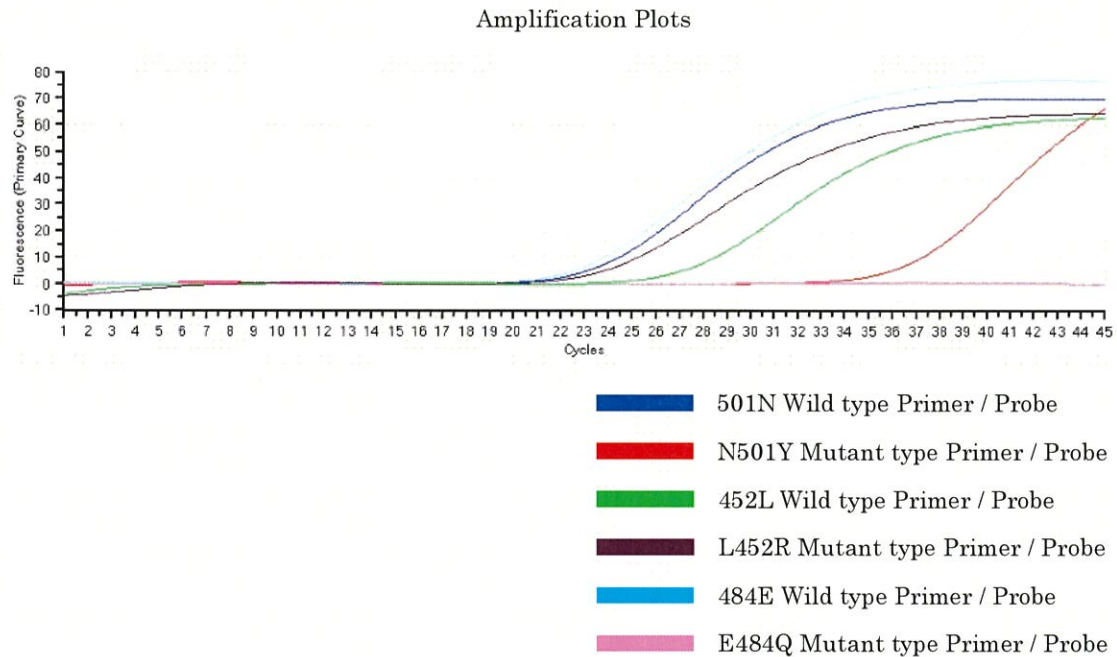
* この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。
* 本報告書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

○測定結果

・試験ウイルス：SARS-CoV-2 変異株（デルタ株）；hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021

*ウイルス懸濁液をPBSを用いて 10^2 倍希釈したものを検体とした。

*変異株（デルタ株）は、N501Y 遺伝子変異なし、L452R 遺伝子変異、E484Q 遺伝子変異なし、の特徴を持つことが報告されている。



< N501Y 変異 >

501N Wild type Primer / Probe の増幅曲線（■）が N501Y Mutant type Primer / Probe の増幅曲線（■）に比べ、早期に立ち上がっていることから、N501Y 変異を持たないことが確認された。

< L452R 変異 >

L452R Mutant type Primer / Probe の増幅曲線（■）が 452L Wild type Primer / Probe の増幅曲線（■）に比べ、早期に立ち上がっていることから、L452R 変異株であることが確認された。

< E484Q 変異 >

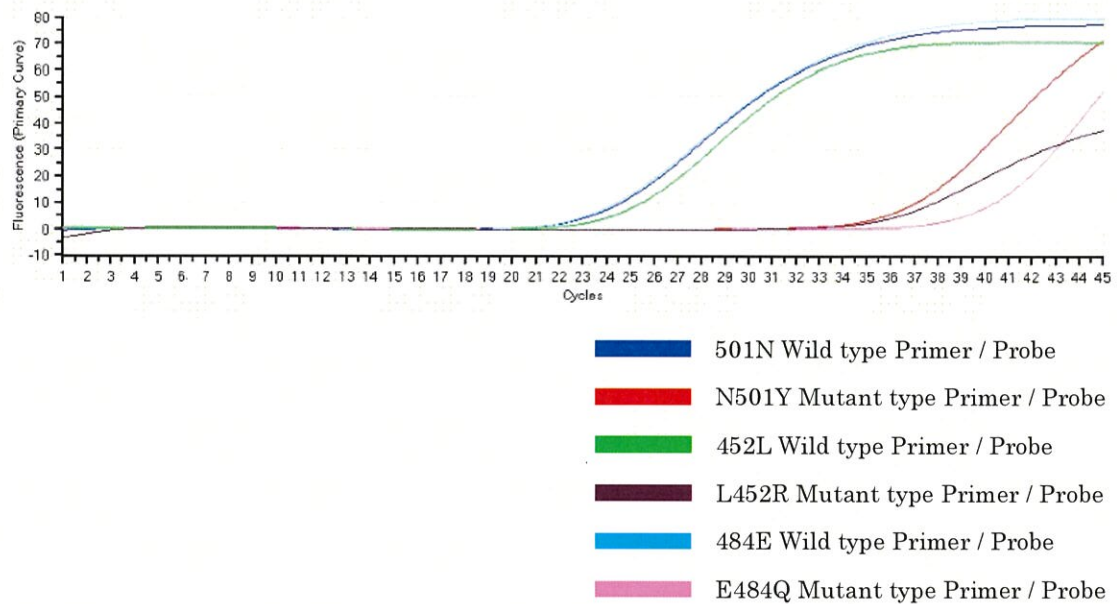
484E Wild type Primer / Probe の増幅曲線（■）が E484Q Mutant type Primer / Probe の増幅曲線（■）に比べ、早期に立ち上がっていることから、E484Q 変異を持たないことが確認された。

* 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。

本測定の妥当性を検証するため、従来株である SARS-CoV-2 (JPN/TY/WK-521) を同様の手法で測定した。

- ・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)
- ＊ウイルス懸濁液を PBS を用いて 10^2 倍希釈したものを検体とした。

Amplification Plots



< N501Y 変異 >

501N Wild type Primer / Probe の増幅曲線 (■) が N501Y Mutant type Primer / Probe の増幅曲線 (■) に比べ、早期に立ち上がっていることから、N501Y 変異を持たないことが確認された。

< L452R 変異 >

452L Wild type Primer / Probe の増幅曲線 (■) が L452R Mutant type Primer / Probe の増幅曲線 (■) に比べ、早期に立ち上がっていることから、L452R 変異を持たないことが確認された。

< E484Q 変異 >

484E Wild type Primer / Probe の増幅曲線 (■) が E484Q Mutant type Primer / Probe の増幅曲線 (■) に比べ、早期に立ち上がっていることから、E484Q 変異を持たないことが確認された。

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。