

試験結果報告書

依頼者名 株式会社グレビス 殿
品名 エマルンコート(美ラクル) : (GREC-001) 1点
試験項目 抗ウイルス性試験

2021年2月8日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2021年7月5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) (NICHIREI, Cat#174012)
- ・無加工試料 : 標準布 (綿)
- ・試験試料 : エマルンコート(美ラクル) : (GREC-001)
- ・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℃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. 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℃、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℃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： 3.5×10^7 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(Va)】	n1	6.56	6.51	0.7	
		n2	6.38			
		n3	6.58			
	2時間作用後 【lg(Vb)】	n1	5.83	5.80		
		n2	5.93			
		n3	5.64			
エマルンコート(美ラクル)： (GREC-001)	2時間作用後 【lg(Vc)】	n1	3.66	3.11	-	3.4
		n2	< 2.30			
		n3	3.38			

(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 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： 4.2×10^4 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	2.63	成立
エマルンコート(美ラクル)：(GREC-001)	無	2.60	

【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 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。

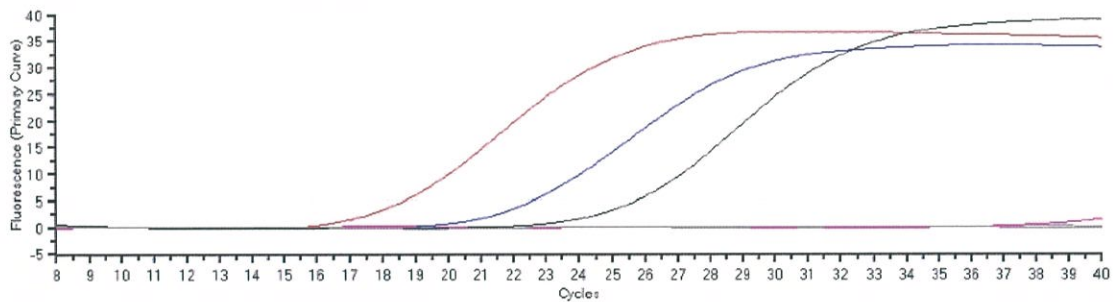


Fig.1. ウイルス懸濁液のリアルタイム RT-PCR 測定結果

- 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。