

CONFIDENTIAL

試験報告書

クリーンエッグによる SARS-CoV-2 不活化作用評価試験

試験 NO. SK002

CONFIDENTIAL

宮城県仙台市青葉区星陵町 2-1
国立大学法人 東北大学



【目次】

1. 結果の要約
2. 試験内容
 - 2-1. 目的
 - 2-2-1. 試験機関
 - 2-2-2. 試験場所
 - 2-2-3. 責任者
 - 2- 実施者
 - 2-3 依頼者
 - 2-4. 被験品
 - 2-5. 試験期間
 - 2-6. 試験実施回数
 - 2-7. 試験方法
 - 2-7-1. 供試ウイルスおよび感染価測定用細胞
 - 2-7-2. SARS-CoV-2 不活化作用評価試験
3. 試験結果
 - 3-1. 試験結果まとめ
 - 3-2. データ



1. 結果の要約

ニイヌマ株式会社より提供されたクリーンエッグ 検体1、検体2について SARS-CoV-2 不活化能力に差はなく、どちらも SARS-CoV-2 の感染性を 10000 分の 1 以上に低下させ、ウイルス不活化能として 99.99%以上を有していると考えられる。

2. 試験内容

2-1. 目的

ニイヌマ株式会社より提供されたクリーンエッグ 検体1 検体2について SARS-CoV-2 の不活化作用を評価する

2-1-1. 試験機関

国立大学法人 東北大学 災害科学国際研究所
住所：〒980-8572 仙台市青葉区荒巻字青葉 468-1

2-2-2. 試験場所

東北大学医学部 1 号館 5 階 災害感染症学分野実験室
住所：〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町 2-1

2-2-3. 責任者

東北大学災害科学国際研究所 災害感染症学分野

2-2-4. 実施者

東北大学災害科学国際研究所 災害感染症学分野
河治 久実・笹野 美奈

2-3. 依頼者

ニイヌマ株式会社
住所：〒9 6-0 53 宮城県石巻市門脇字元浦屋敷 2-20
TEL：0225-95-1123 FAX：0225-95-2836

代表取締役 新沼 利英

2-4. 被験品

検体1：〔クリーンエッグ〕除菌・抗菌スプレーNS1

検体2：NPW 試験用 pH12.53 添加物なし



検体1



検体2

2-5. 試験期間

2021年2月9日～2021年2月25日

2-6. 試験実施回数

本試験を2回実施し、再現性確認をおこなった。

1回目試験：2021年2月9日～2021年2月12日

2回目試験：2021年2月22日～2021年2月25日



2-7. 試験方法

2-7-1. 供試ウイルスおよび感染価測定用細胞

供試ウイルス：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2: TY-WK-521 株）

感染価測定用細胞株：VeroE6/TMPRSS2 細胞

細胞株は 10%牛胎児血清（FCS）添 Du ecco's modified Eagle's medium（DM M）で継代培養を行い ウイルス感染時にはFC を1%にした。

2-7-2. SARS-CoV-2 不活化作用評価試験

- 1) SARS-CoV-2 ($10^{8.6}$ TCID₅₀/mL) 培養液 5 μ L に被験溶液 95 μ L を加え混和した。このとき、陽性コントロールには 0.05%次亜塩素酸ナトリウム水溶液、対照群には滅菌水を使用した。
- 2) 検体 1、検体 2、および次亜塩素酸ナトリウム水溶液群はウイルスとの作用時間を 30 秒および 3 分間に設定した 2 系列を用意した。それぞれ作用時間経過後、直ちに反応を停止させた。次亜塩素酸ナトリウム水溶液の反応停止には中和剤として 20 mM チオ硫酸ナトリウムを用いた。クリーンエッグは高 pH により抗ウイルス効果を得ていると考えられるため、反応後に加えた培養液の緩衝能により反応を停止した。
- 3) 反応を停止させた各反応液に 1% FCS-DMEM を加え総量 5000 μ L とし、この溶液を感染価測定用試料とした（ウイルス液はこの時点で 1000 倍希釈となる）。検体 1、検体 2、次亜塩素酸ナトリウム水溶液そのものが判定に影響がないか確認するための系列を用意した。
- 4) 各感染価測定用試料を 96 ウェルプレートに 111 μ L ずつ分注し、1% FCS-DMEM を用いて 100 μ L の系で 10 倍段階希釈する（ウイルス希釈倍率として $10^3 \sim 10^{11}$ まで作製）（各測定試料 n=3 で実施）。
- 5) VeroE6/TMPRSS2 細胞を 1% FCS-DMEM で 2×10^5 個/mL に調製し各ウェルに 100 μ L ずつ播種した。
- 6) CO₂ インキュベーターにて 3 日間培養後 ウイルス感染により生じた細胞変性の有無を顕微鏡下で観察し 対照群の感染価との比較により 各試料のウイルス不活化効果を求めた。



【感染価測定試料内訳】

	ウイルス液	被験液	中和剤	培養液 (1%FCS-DMEM)
検体1	5	95	-	490
検体2	5	95	-	900
陽性コントロール	5	0.0 % 次亜塩素酸Na 5	20mM チオ硫酸Na 10	4890
対照		滅菌水 95	-	4900

単位: μ L

【被験群一覧】

- ① 検体 1 30 秒
- ② 検体 1 3 分
- ③ 検体 2 30 秒
- ④ 検体 2 3 分
- ⑤ 次亜塩素酸ナトリウム水溶液 30 秒
- ⑥ 次亜塩素酸ナトリウム水溶液 3 分
- ⑦ 対照 (滅菌水)
- ⑧ 検体 1 のみ
- ⑨ 検体 2 のみ
- ⑩ 次亜塩素酸ナトリウム水溶液のみ

3. 試験結果

3-1. 試験結果まとめ

ウイルス溶液を検体 1 および検体 2 に ARS-C V-2 不活化効果 は予備試験およびに本試験 (2 回) のどちらにおいても 同等にウイルス不活化効果を示した。ウイルス溶液を検体 1 溶液 検体 2 溶液に加え、3 分反応させるとウイルスの感染性を 10 万分の 1 以下に、30 秒であっても感染性を 1 万分の 1 に低下させ、十分な不活化効果を示した。0.05%次亜塩素酸は、30 秒でウイルス感染性を 10 万分の 1 以下にできたことから、次亜塩素酸と比較すると効果はやや低い可能性がある。



3-2. データ

本試験を2回行い、再現性が確認できた。

2021年2月9日～2021年2月12日のデータを示す。

【顕微鏡観察による各被験溶液のウイルス感染の有無】

(+) : ウイルスによる細胞変性が認められる

(-) : ウイルスによる細胞変性が認められない

① 検体1 30秒作用群

ウイルス希釈倍率									ウイルス未添加
10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹¹	
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ウイルス希釈倍率 10³において3ウェル中1ウェルに細胞変性が認められた

② 検体1 3分作用群

ウイルス希釈倍率									ウイルス未添加
10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹¹	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

全てのウイルス希釈系列で細胞変性なし

③ 検体2 30秒作用群

ウイルス希釈倍率									ウイルス未添加
10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	1	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ウイルス希釈倍率 10³において3ウェル中1ウェルに細胞変性が認められた



④ 検体2 3分作用群

ウイルス希釈倍率									ウイルス未添加
10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹¹	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

全てのウイルス希釈系列で細胞変性なし

⑤ 次亜塩素酸ナトリウム水溶液 30秒作用群

ウイルス希釈倍率									ウイルス未添加
10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹¹	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

全てのウイルス希釈系列で細胞変性なし

⑥ 次亜塩素酸ナトリウム水溶液 3分作用群

ウイルス希釈倍率									ウイルス未添加
10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹¹	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

全てのウイルス希釈系列で細胞変性なし

⑦ 対照作用群 (滅菌水)

ウイルス希釈倍率									ウイルス未添加
10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	0	
+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

ウイルス希釈倍率 10³~10¹⁰ において全てのウイルス希釈系列で細胞変性が認められ