

紙(すき込み)の抗ウイルス性試験法 : S16

1 適用範囲

本試験方法は、抗ウイルス機能を付与された紙製品であり、容易に試験ウイルス液を吸収する製品に適用する。ただし、ニスやインクなどの印刷により、表面に抗ウイルス性を付与した紙は除外する。

2 試験ウイルス種¹

(1) *Influenza A virus* (H3N2) A/Hong Kong/8/68 ; TC adapted ATCC VR-1679

(2) *Feline calicivirus*; Strain: F-9 ATCC VR-782

3 宿主細胞¹

(1) MDCK cell ATCC CCL-34 (*Influenza A virus* (H3N2)の宿主細胞)

(2) CRFK cell ATCC CCL-94 (*Feline calicivirus*の宿主細胞)

4 試験準備

試験準備の詳細は、JIS L1922:2024「繊維製品の抗ウイルス性試験方法」の10.5に従って実施すること。ただし、以下に記載の事項が優先される。

4.1 試験片の準備

試験片は抗ウイルス加工品と無加工品から用意し、各試験片0.4gずつ採取する。²試験片の数は、抗ウイルス加工品を6検体、無加工品を9検体準備する。そのうち、抗ウイルス加工品の3検体及び無加工品の3検体は、対照試験に用いる。また、無加工品の3検体は、試験ウイルス懸濁液接種直後の感染価測定に用いる。残りの抗ウイルス加工品の3検体及び無加工品の3検体は、所定時間作用後のウイルス感染価の測定に用いる。試験片を採取後、高圧蒸気滅菌を行い、安全キャビネット内で60分またはそれ以上間風乾し、結露が無いことを確認する。

1 JIS L1922 : 2024 の附属書 A に記載されているウイルス株及び宿主細胞を用いる。

2 JIS L1922 : 2024 では、対照試料として JIS L0803 に規定する綿 100%の添付白布(3-1、3-2、3-3)としているが、本試験方法では同一素材の紙での抗ウイルス加工剤による性能を見るため、無加工品を対照試料として用いることとする。

3 抗ウイルス加工剤又は加工製品特性によって高圧蒸気滅菌が適さない場合は、他の適切な方法を選択しても良い。

5 対照試験

抗ウイルス加工剤が細胞毒性を示さないこと、ウイルスへの細胞の感受性の低下及び抗ウイルス加工剤の抗ウイルス活性の不活性化の確認を行うため、対照試験を実施し、以下の基準を満たすことを確認する。対照試験の詳細は、JIS L1922:2024「繊維製品の抗ウイルス性試験方法」の10.6に従って実施すること。ただし、以下に記載の事項が優先される。

5.1 ウイルスへの細胞の感受性及び抗ウイルス活性の不活性化の確認

無加工試験片又は抗ウイルス加工試験片 0.4g に SCDLP 培地 20mL を加えて、攪拌する。新しい試験管に洗い出し液 5mL を分注し、 $4\sim 6 \times 10^4$ PFU/mL に調製したウイルス懸濁液を 50 μ L 加える。25°C で 30 分間放置後、JIS L1922 : 2024 の附属書 B に従い、プレート測定法にてウイルス感染価の測定を行う。

また、陰性対照として、SCDLP 培地を用いることとする。

*対照試験の判定基準 4

1. 細胞毒性：無し
2. ウイルスへの細胞の感受性確認： $\log(\text{陰性対照のウイルス感染価 (PFU/mL)}) - \log(\text{無加工試験片又は抗ウイルス加工試験片のウイルス感染価 (PFU/mL)}) \leq 0.5$

6 試験操作

試験操作の詳細は、JIS L1922:2024「繊維製品の抗ウイルス性試験方法」の11.に従って、実施すること。ただし、以下に記載の事項が優先される。

6.1 試験片への試験ウイルス懸濁液の接種及び作用

JIS L1922:2024 の 11.2 及び 11.3 に従い、無加工試験片又は抗ウイルス加工試験片 0.4g に試験ウイルス懸濁液 0.2mL を接種する。試験ウイルス懸濁液接種後、25°C で 24 時間作用させる。⁵

4 対照試験の判定基準 2.の値が 0.5 を超える場合は、洗い出し液の組成を修正・変更するか、又は洗い出し液の増量を行う。洗い出し液の組成を修正・変更するか、又は洗い出し液の増量を行った場合は、同じ洗い出し液の条件を第 6 項に適用する。

5 JIS L1922 : 2024 では、作用時間は 2 時間と設定されており、依頼者と協議の上、24 時間を限度に変更してもよいこととなっている。本試験法では、抗ウイルス加工剤の効果

を確認するための時間として、作用時間を 24 時間に設定した。

6.2 接種直後及び作用時間後のウイルスの洗い出し

JIS L1922 : 2024 の 11.4 及び 11.5 に従い、上記 6.1 の試験片に 20mL の SCDLP 培地を加え、試験片からのウイルスの洗い出しを行う。ただし、試験成立条件を満たさず、既存の洗い出し方法では洗い出しが不十分と判断される場合は、適切な方法に変更しても良い。⁶

また、洗い出し時に試験片由来の残渣が発生し、ウイルス感染価の測定に影響があると判断される場合には、洗い出し後に残渣を取り除く操作を行うことができる。ただし、残渣除去の操作を加えた場合には、その旨を試験報告書に記載する。⁷

6.3 ウイルス感染価の測定

JIS L1922 : 2024 の附属書 B に従い、プラーク測定法にてウイルス感染価の測定を行い、試験片 0.4g 当たりのウイルス感染価を次式(1)、(2)、(3)によって算出する。

$$P = Z \times R \quad (1)$$

P : ウイルス感染価 (PFU/0.1mL)

Z : 2 ウェルのプラーク数の平均値(個)

R : 希釈倍率

$$W = P \times 10 \quad (2)$$

W : ウイルス感染価 (PFU/mL)

$$V_p = W \times C \quad (3)$$

V_p : ウイルス感染価 (PFU/試験片)

C : 洗い出し液量 (mL)

6 既存の洗い出し方法では洗い出しが不十分と判断される場合には、下記方法にて実施しても良い。

例) ストマッカー袋を用いた手もみ法による洗い出し

7 既存の洗い出し方法では試験片由来の残渣が発生する場合には、

下記方法にて実施しても良い。

例) フィルター付きストマッカー袋を用いた手もみ法による洗い出し及びろ過

7 試験成立条件

本試験方法では、下記の通り試験成立条件を定める。

- (1) JIS L1922 : 2024 の 10.4 に従い調製した試験ウイルス懸濁液のウイルス感染価が 10^7 PFU/mL 以上であること
- (2) JIS L1922 : 2024 の 10.6 「対照試験」に従い、試験片の加工剤活性の抑制効果が確認されていること
- (3) 無加工品の 24 時間作用後の各 3 検体のウイルス感染価がすべて 2.0×10^4 PFU/試験片以上であること。⁸

8 試験結果の表示

次式(4)により、「抗ウイルス活性値 (Mv)」を計算し、小数点以下 2 桁目を切捨て小数点以下 1 桁に丸めて表示する。

$$\text{抗ウイルス活性値}(Mv) = \log(Vb) - \log(Vc) \quad (4)$$

Mv : 抗ウイルス活性値

$\log(Vb)$: 無加工品の 24 時間後のウイルス感染価の常用対数値平均値

$\log(Vc)$: 抗ウイルス加工品の 24 時間後のウイルス感染価の常用対数値平均値

以上

-
- 8 無加工品の 24 時間作用後のウイルス感染価すべて 2.0×10^4 PFU/試験片以上とならない場合は、無加工品自体に抗ウイルス性があることになり、試験が成立しない。その場合には、無加工品への乾熱処理等の前処理あるいは試験ウイルス懸濁液へのタンパク質の添加などを行ってから再試験を実施しても良い。