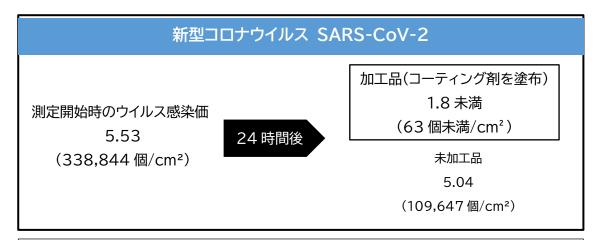
2021年1月12日 株式会社日本コーティング 兵庫県尼崎市西長洲町 2-5-3

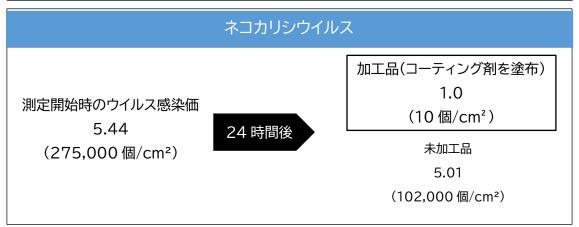
抗ウイルス試験結果報告書に関して、簡単にご説明差し上げます。

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)、A型インフルエンザウイルスとネコカリシウイルス(ノロウイルスに近い性質を持つ)3種類のウイルスを使用して、何もしない「未加工品」と<u>本製品を施工した「加工品」</u>を比較して24時間後のウイルス感染価(感染能力を持つウイルス量)を測定したものです。

試験結果は常用対数で示されるため、括弧内の数値が 1cm²辺りで検出されたウイルス量の実数となります(例: 感染価 5.73→実際のウイルス量は 537,000 個/ cm²)。



A 型インフルエンザウイルス 測定開始時のウイルス感染価 5.73 (537,000 個/cm²) 24 時間後 10.8 未満(検出限界以下) (6~7 個/cm²) 未加工品 4.81 (64,600 個/cm²)



Nihon Coating

試験結果報告書

(株)日本コーティング 依頼者名 殿

名 プレート 品

1点

試験項目 抗ウイルス性試験

2020年11月4日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2020年12月28日

一般財団法人 日本繊維製品品質技術

神戸試験センタ 射本

記

○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) (新型コロナウイルス) 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) (SIGMA, Cat#173012)
- ・密着フィルム:ポリエチレンフィルム
- ・対照サンプル: NCV1000 (未加工品)
- ・試験サンプル: NCV1000 (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:プラーク測定法
- 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。
- 本証明書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

○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、 1~5×107 PFU/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($50 \text{mm} \times 50 \text{mm}$)を置き、試験ウイルス懸濁液を 0.4 mL 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 10 mL 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. 2% FBS 含 DMEM を用いて、洗い出し液を 10 倍希釈する。
- 9. 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. 各試験検体に洗い出し液 10 mL を加え、本試験と同様に洗い出し操作を 行なう。
- 2. 2%FBS 含 DMEM を用いて、洗い出し液を 10 倍希釈する。
- 3. 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. 各試験検体に洗い出し液 10 mL を加え、本試験と同様に洗い出し操作を 行なう。
- 2. 2%FBS 含 DMEM を用いて、洗い出し液を 10 倍希釈する。
- 3. 上記 2. の溶液 5 mL を滅菌済試験管に採る。
- 4. EMEM を用いて試験ウイルス懸濁液を $4\sim6\times10^4$ 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。
- 5. 25℃で30分間静置する。
- 6. 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。
- * 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。
- * 本証明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: 1.2×107 PFU/ml

| 検 体 | | ウイルス感染価 (PFU/cm²) _(注 2) 常用対数値 | | | |
|--------------------------------|---------------------------------------|---|--------|----------|----------------------------------|
| | | 常用対数値 | | 常用対数値平均値 | |
| NCV1000 (未加工品) _(注1) | 接種直後【U ₀ 】 | n1 | 5.52 | 5.53 | 抗ウイルス 活性値 【 <i>R</i> 】(注3) |
| | | n2 | 5.52 | | |
| | | n3 | 5.55 | | |
| | 24 時間放置後 [<i>U</i> _t] | n1 | 5.04 | 5.04 | |
| | | n2 | 5.03 | | |
| | | n3 | 5.06 | | |
| NCV1000 (加工品) | 24 時間放置後 [A _t] | n1 | < 1.80 | < 1.80 | ≧3.2 |
| | | n2 | < 1.80 | | |
| | | n3 | < 1.80 | | |

(注1)対照試料として、NCV1000 (未加工品)(依頼者提供)を用いた。

(注 2) PFU: plaque forming units、 (注 3) 抗ウイルス活性値 $R=U_{\mathrm{t}}-A_{\mathrm{t}}$

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: 4.9×10⁴ 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 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 |
|--------------------|----------------------|--|-------------|
| NCV1000 (未加工品)(注1) | 無 | [S _u] 2.68 | 成立 |
| NCV1000 (加工品) | 無 | [S _u] 2.69 | 成立 |
| 陰性対照 (注 4) | 無 | [S _n] 2.67 | |

(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: $|S_n - S_u| \le 0.5$ および $|S_n - S_t| \le 0.5$

- * 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。
- * 本証明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:>108 PFU/ml
- ・リアルタイム PCR 装置: Thermal Cycler Dice® Real Time SystemⅢ (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。

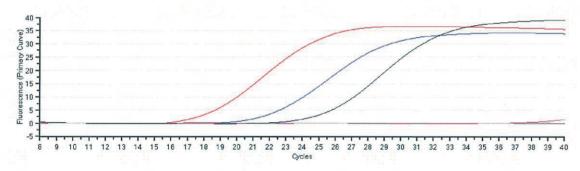


Fig.1. ウイルス懸濁液のリアルタイム RT-PCR 測定結果

グラフ:赤線 (ウイルス懸濁液濃度を PBS にて 10² 倍希釈) グラフ:青線 (ウイルス懸濁液濃度を PBS にて 10³ 倍希釈) グラフ:黒線 (ウイルス懸濁液濃度を PBS にて 10⁴ 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。

^{*} 本証明書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

試験結果報告書

依頼者名 ㈱日本コーティング 殿

品 名 プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL

(①未加工品、②加工品)

2 点

試験項目 抗ウイルス性試験

2020年5月15日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2020年7月31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 微生物ラボ 尾後

記

○試験内容

プレートの抗ウイルス性を評価する

○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: A型インフルエンザウイルス(H3N2)

A/Hong Kong/8/68;TC adapted ATCC VR-1679

- ・宿主細胞: MDCK 細胞(イヌ腎臓由来細胞)
- ・試験サンプル:①プレート アルコール系拭き上げタイプ:NCV1000AL(未加工品)

(control:依頼者提出試料)

②プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL (加工品)

- ・洗い出し液: SCDLP 培地
- ·放置条件 : 放置温度 25℃

放置時間 24 時間

(①プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL (未加工品) は 直後も測定)

- ・サンプルサイズ:5 cm×5 cm
- ・密着フィルム:ポリエチレン (4 cm×4 cm)
- ・試験ウイルス懸濁液接種量: 0.4 mL
- ・試験片の清浄化 :実施しなかった。

○試験操作

1) 本試験:

- 1. 宿主細胞にウイルスを感染させ、培養後、遠心分離によって細胞残渣を除去したもの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、 $1\sim5\times10^7$ PFU/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、各検体を置き、 試験ウイルス懸濁液を 0.4 mL 接種する。
- 4. 密着フィルムをかぶせ、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** 時間放置後、各試験検体に洗い出し液 10 mL 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. 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. 各試験検体に洗い出し液 10 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。

<u>2) -2 ウイルスへの細胞の感受性確認試験</u>

- 1. 各試験検体に洗い出し液 10 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. 試験ウイルス懸濁液を 4~6×10⁴ 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、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: A型インフルエンザウイルス(H3N2)

A/Hong Kong/8/68;TC adapted ATCC VR-1679

・試験ウイルス懸濁液濃度:3.4×10⁷ PFU/ml

| 検体 | ウイルス感染価 (PFU/cm²) (注 2) 常用対数平均値 | 抗ウイルス 活性値 [R] (注 3) | |
|---|------------------------------------|---------------------------|-------|
| ①プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL(未加工品) (注 1) | 接種直後[U 0] | 5.73 | |
| | 24 時間放置後[U t] | 4.81 | _ |
| ②プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL(加工品) | 24 時間放置後[A t] | < 0.80 | ≧ 4.0 |

(注 1) 対照試料として①プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL (未加工品)

(control:依頼者提出試料)を用いた。

(注 2) PFU : plaque forming units、(注 3) 抗ウイルス活性値 $R=U_{\rm t}-A_{\rm t}$

2) 宿主細胞検証試験

・試験ウイルス: A型インフルエンザウイルス(H3N2)

A/Hong Kong/8/68;TC adapted ATCC VR-1679

・試験ウイルス懸濁液濃度:4.3×10⁴ 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 |
|---|----------------------|----------------------------------|----------|
| | | ウイルス感染価 (PFU/mL)(注 2) 常用対数平均値 | の 判定 |
| ①プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL(未加工品) | 無 | [S u] 2.62 | 成立 |
| ②プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL(加工品) | 無 | [S ₁] 2.60 | 成立 |
| 陰性対照 (注 4) | 無 | [S _n] 2.60 | |

(注4) 陰性対照として SCDLP 培地を用いた。

【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: $|S_n - S_u| \le 0.5$ および $|S_n - S_t| \le 0.5$

試験結果報告書

依頼者名 (株)日本コーティング 殿

品 名 プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL

(①未加工品、②加工品)

2 点

試験項目 抗ウイルス性試験

2020年5月15日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2020年7月31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 微生物ラボ 尾後

言己

○試験内容

プレートの抗ウイルス性を評価する

○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:ネコカリシウイルス(F-9)

Feline calicivirus; Strain: F-9 ATCC VR-782

- ・宿主細胞: CRFK 細胞(ネコ腎臓由来細胞)
- ・試験サンプル: ①プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL(未加工品)(control: 依頼者提出試料)

②プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL (加工品)

- ・洗い出し液: Fetal Bovine Serum を終濃度 10%になるように添加した SCDLP 培地
- ·放置条件 : 放置温度 **25**℃

放置時間 24 時間

(①プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL (未加工品) は 直後も測定)

- ・サンプルサイズ:5 cm×5 cm
- ・密着フィルム:ポリエチレン(4 cm×4 cm)
- ・試験ウイルス懸濁液接種量:0.4 mL
- ・試験片の清浄化 :実施しなかった。

○試験操作

1) 本試験:

- 1. 宿主細胞にウイルスを感染させ、培養後、遠心分離によって細胞残渣を除去したもの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、 $1\sim5\times10^7$ PFU/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、各検体を置き、 試験ウイルス懸濁液を 0.4 mL 接種する。
- 4. 密着フィルムをかぶせ、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 時間放置後、各試験検体に洗い出し液 10 mL 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. 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. 各試験検体に洗い出し液 10 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. 各試験検体に洗い出し液 10 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. 試験ウイルス懸濁液を 4~6×10⁴ 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、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:ネコカリシウイルス(F-9)

Feline calicivirus; Strain: F-9 ATCC VR-782

・試験ウイルス懸濁液濃度: 2.5×10⁷ PFU/ml

| 検 体 | | ウイルス感染価 (PFU/cm²) (注 2) 常用対数平均値 | 抗ウイルス 活性値 [R] (注 3) |
|--|---------------|------------------------------------|---------------------------|
| ①プレート アルコール系拭き上げタイプ:NCV1000AL(未加工品) (注 1) | 接種直後[U] | 5.44 | |
| | 24 時間放置後[U t] | 5.01 | _ |
| ②プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL(加工品) | 24 時間放置後[A t] | 1.00 | 4.0 |

(注 1) 対照試料として①プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL (未加工品)

(control:依頼者提出試料)を用いた。

(注 2) PFU: plaque forming units、(注 3) 抗ウイルス活性値 $R = U_t - A_t$

2) 宿主細胞検証試験

・試験ウイルス:ネコカリシウイルス(F-9)

Feline calicivirus; Strain: F-9 ATCC VR-782

・試験ウイルス懸濁液濃度:4.2×10⁴ 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 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 |
|--|-----------------------|---|---------------------|
| ①プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL (未加工品) | 無 | [S _u] 2.54 | 成立 |
| ②プレート アルコール系拭き上げタイプ: NCV1000AL (加工品) | 無 | [S ₁] 2.20 | 成立 |
| 陰性対照 (注 4) | 無 | [S _n] 2.60 | |

(注 4) 陰性対照として Fetal Bovine Serum を終濃度 10%になるように添加した SCDLP 培地を用いた。

【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: $|S_n - S_u| \le 0.5$ および $|S_n - S_t| \le 0.5$