

試験資材のウイルスに対する不活化効果試験

—試験報告書—

試験番号：227178N

株式会社 食環境衛生研究所  
  
群馬県前橋市荒口町 561-21  
Tel027-230-3411  
Fax027-230-3412

1. 表題

試験資材のウイルスに対する不活化効果試験

2. 試験番号

No.227178N

3. 目的

試験資材とネコカリシウイルス（ノロウイルス代替）を反応させた時のウイルス不活化効果を確認するために実施した。

4. 試験管理組織

試験依頼者の名称及び所在地

名称 山善製薬 株式会社 滋賀工場

所在地 〒523-0061 滋賀県近江八幡市江頭町 247-1

実施機関の名称、所在地及びその長の氏名

名称 株式会社 食環境衛生研究所

所在地 群馬県前橋市荒口町 561-21

氏名 代表取締役 久保 一弘

試験実施責任者の氏名

上谷 智英

試験担当者の氏名

遠藤 昇里

5. 試験スケジュール

試験受託日 2022年7月26日

試験開始日 2022年9月8日

試験終了日 2022年10月4日

6. 試験資材

消エタ VP ハンドローション

※試験資材は原液で使用した。また、対照資材として滅菌リン酸緩衝液を使用した。

## 7. 供試ウイルス

ネコカリシウイルス：feline calicivirus F9 株

培養細胞：CRFK 細胞（ネコ腎臓由来株化細胞）

## 8. 区の設定

区	処置	感作時間
対照区	リン酸緩衝液 10mL にウイルス液 1mL 添加	試験開始後 0、30、60 秒
試験区	試験資材 10mL にウイルス液 1mL 添加	試験開始後 30、60 秒

## 9. 試験方法

「ウイルス実験学 総論 改訂二版 丸善株式会社 ウイルス中和試験法」を参考として実施した。

## 10. 試験手順

## ①予備試験：

試験に先立って、試験資材が培養細胞に与える影響（細胞毒性）を調査した。試験資材をリン酸緩衝液で 10 倍段階希釈した後、培養細胞に接種し、培養後の細胞の正常な状態を示す最高濃度を確認し、試験に使用するウイルス濃度を決定した。その結果、細胞毒性について、試験資材 10 倍希釈液において細胞の発育不良が確認された。このため、試験に際しては、試験資材とウイルス液の混合液を 10 倍以上希釈した後細胞に接種する必要があると判明した。また、ウイルス添加濃度は  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/mL 以上とした。

## ②本試験・試験液混合：

試験区分に従い、試験資材及びリン酸緩衝液の各 10mL をそれぞれ分取し、予備試験で決定した濃度にウイルス液を 1mL 添加した。ウイルス液添加後、混合液として室温（25℃）にて所定の時間静置した。

## ③本試験・細胞接種：

試験区分ごとに感作が終了した混合液をそれぞれ 10 倍段階希釈し、96well プレートに培養した細胞に 100μL ずつ接種した。判定は、37℃、炭酸ガス培養（5%）で 5 日間培養した後、培養細胞を顕微鏡観察し、培養細胞に現れる CPE（細胞変性）をもってウイルス増殖の有無を確認し、その濃度を算出した。

④評価

試験結果において、検査時点ごとに、対照区に対する試験区の減少率（％）を算出し、効果を確認した。

なお、本試験において減少率は以下の式で算出した。

$$\text{減少率（％）} = \frac{\text{対照区} - \text{試験区}}{\text{対照区}} \times 100$$

## 11. 結果と考察

ネコカリシウイルスに対する試験結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区では試験開始後から、開始後秒後までの間にウイルス量の変化は見られなかった( $10^{7.3}$ TCID<sub>50</sub>/mL)。

試験区では開始後 30 秒で $<10^{2.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL (減少率：99.99%以上) となった。

以上の結果より、ネコカリシウイルスに対して 30 秒の反応で 99.99%以上の不活化効果があることが判明した。

表 1 ネコカリシウイルス試験結果(TCID<sub>50</sub>/mL)

区	試験開始時	30 秒後	60 秒後
対照区	$10^{7.3}$	$10^{7.3}$ (20000000)	$10^{7.3}$ (20000000)
試験区		$<10^{2.5}$ ( $<320$ )	$<10^{2.5}$ ( $<320$ )

