

NPW のネコカリシウイルス(ノロウイルス代替ウイルス)に対する不活化効果試験

—試験報告書—

試験番号:197090N-2

株式会社 食環境衛生研究所

〒379-2107

群馬県前橋市荒口町 561-21

Tel027-230-3411

Fax027-230-3412

1. 表題

NPW のネコカリシウイルス(ノロウイルス代替ウイルス)に対する不活化効果試験

2. 試験番号

No.197090N-2

3. 目的

NPW(試験液)とネコカリシウイルス(ノロウイルス代替ウイルス)を反応させた時の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 ニイヌマ株式会社

所在地 〒986-0853 宮城県石巻市門脇字元浦屋敷 2-20

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

松本 彰平

試験担当者の氏名

近藤 実紀

5. 試験スケジュール

試験受託日 2019年6月28日

試験開始日 2019年7月8日

試験終了日 2019年7月31日

6. 試験資材

試験液 NPW

対照資材として滅菌リン酸緩衝液を用いた。

## 7. 供試微生物

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
試験区	試験資材 1.0mL に試験菌液 0.1mL 添加	試験開始後 (0 分)、30 分
対照区	対照資材 1.0mL に試験菌液 0.1mL 添加	試験開始後 0 分、30 分

( ) 内は対照区の数値を使用する。

## 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、CRFK 細胞においては試験資材を 10 倍まで希釈しても細胞の発育不良が確認された。このため、試験に際して、ネコカリシウイルスは 100 倍以上の希釈をもって実施する必要があることが判明した。この為、ウイルス添加濃度は  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/0.1mL 以上とした。

## ②本試験・試験液混合:

試験区分に従い、試験資材及び対照資材の各 1mL 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・細胞接種及び菌数測定:

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 CRFK 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)の確認をもってウイルス増殖の有無を判定し、その濃度を算出した。

## 11. 結果

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、試験開始後 30 分までの間にウイルス量の変化はほぼ見られなかった( $10^{7.7}$ TCID<sub>50</sub>/0.1mL→ $10^{7.5}$ TCID<sub>50</sub>/0.1mL)。

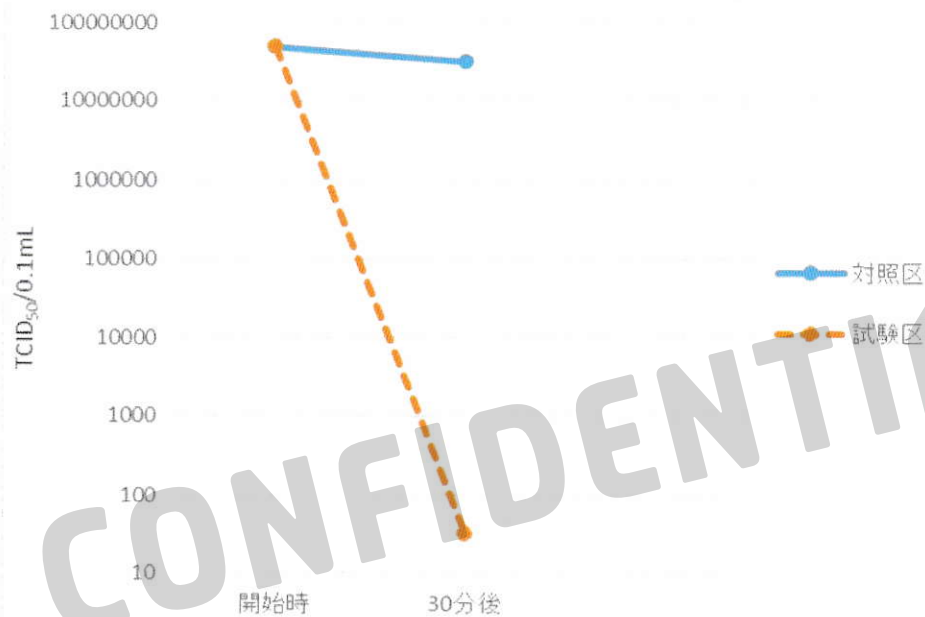
試験区では開始後 30 分で  $10^{1.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.1mL 未満(検出限界以下、99.9999%以上減少)となった。

表.1 ネコカリシウイルス試験結果(TCID<sub>50</sub>/0.1mL)

区	試験開始時	開始後 30 分
対照区	$10^{7.7}$	$10^{7.5}$ (32000000)
試験区		< $10^{1.5}$ (32 未満)

試験使用ウイルス濃度： $10^{8.5}$ TCID<sub>50</sub>/0.1mL

図1 ネコカリシウイルス試験結果



12. 考察

今回、試験液のネコカリシウイルス(ノロウイルス代替ウイルス)に対する不活化効果試験を実施した。

その結果、ネコカリシウイルスに対して、今回の試験範囲時間以上の反応で 99.999%以上の不活化効果があることが判明した。

以上の結果から、試験液はネコカリシウイルスに対して顕著な不活化効果が確認された。

CONFIDENTIAL

CONFIDENTIAL