

ウイルス不活化試験

1 依頼者

株式会社

2 検体

フォトクリンAV (MEK-01)

3 試験目的

検体のネコカリシウイルスに対する不活化試験を行う。

4 試験概要

検体にネコカリシウイルスのウイルス浮遊液を添加，混合し，作用液とした。室温で作用させ，30分及び6時間後に作用液のウイルス感染価を測定した。また，あらかじめ予備試験を行い，ウイルス感染価の測定方法について検討した。

なお，ネコカリシウイルスは，細胞培養が不可能なノロウイルスの代替ウイルスとして広く使用されている。

5 試験結果

結果を表-1に示した。

なお，細胞維持培地で作用液を10000倍に希釈することにより，検体の影響を受けずにウイルス感染価が測定できることを予備試験により確認した。

表-1 作用液のウイルス感染価測定結果

試験 ウイルス	対 象	log TCID ₅₀ /ml*1		
		開始時	30分後	6時間後
ネコカリシ ウイルス*2	検 体	8.0	<4.5	<4.5
	対 照	8.0	7.7	7.3

TCID₅₀: median tissue culture infectious dose, 50 %組織培養感染量

*1 作用液1 ml当たりのTCID₅₀の対数値

*2 ノロウイルスの代替ウイルス

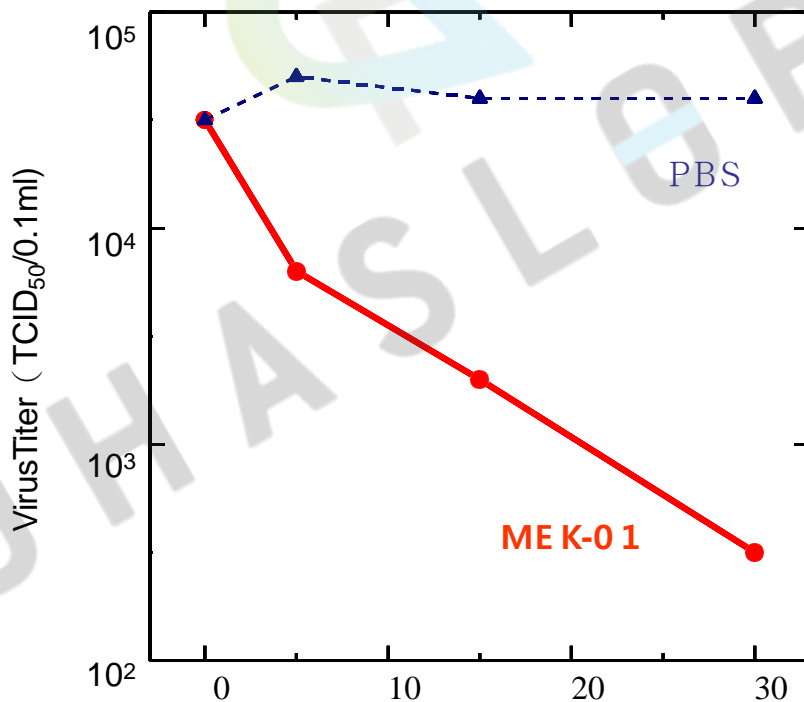
開始時: 作用開始直後の対照のTCID₅₀を測定し，開始時とした。

対照: 精製水

作用温度: 室温

<4.5: 検出せず

試験名	MEK-01によるトリインフルエンザウィルス試験
試験機関	鹿児島大学農学部 獣医学科 家畜微生物学教室
試験方法	<p>試験菌株 A/Turkey/Ontario/7732/66 (N5N9) ($10^{5.5}$TCID₅₀ /100 μl:約31万個/100 μl)</p> <p>試験操作 トリインフルエンザウィルスと1%MEK-01 PBS0.9ml混合し、ローテーターで混合した。 0、5、15、30分後にサンプリングし、1万回転遠心分離5分後、上清のウィルス量を測定した。 上清のウィルス量は、MDCK細胞を用い50%感染価(TCID₅₀:Tissue Culture Infectious Dose 50%)をもって測定した。 ※ PBS … 細菌類を殺さないように保持する溶液</p>



試験結果	<p>MEK-01を乳鉢で十分砕いた後、PBSで1%懸濁液を作製した。 約300,000個のウィルスが、30分間1%MEK-01懸濁液と混合することで、 約297,000個のウィルスが不活性化された。</p>
------	---

試験名	海水中におけるMEK-3の殺菌効果試験																																			
試験機関	三重大学 生物資源学部 海洋微生物学研究室																																			
試験方法	<p>(1) 試験菌株 <i>Escherichia coli</i> K-12 (大腸菌) <i>Enterococcus asini</i> (腸球菌)</p> <p>(2) 使用培地 普通培地(大腸菌の継体、培養用) MRS培地(腸球菌の継体、培養用) 共に37℃、振盪培養</p> <p>(3) 試験操作 ① 前培養し洗浄した菌体100μlを10ml試験管に接種した。 10ml試験管には最初からMEK-3溶液を入れておき、接種した時点を0day、24時間後を1dayその後は2, 3, 5, 7dayとし実験を進めた。 ② 菌数の計数は、マイクロプレートに接種しMPN法により行った。 ③ プレートを37℃で48時間培養した後に、MPN表による菌数の算出を行った。</p>																																			
①大腸菌 水道水(コントロール) 人口海水(コントロール) MEK-3 1g/L濃度の水道水 MEK-3 1g/L濃度の人口海水	<table border="1"> <caption>①大腸菌の殺菌効果試験結果 (log MPN/ml)</caption> <thead> <tr> <th>incubation day</th> <th>Tap water</th> <th>ASW</th> <th>Titanic mixture in Tap water</th> <th>Titanic mixture in ASW</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>8.0</td><td>8.0</td><td>8.0</td><td>8.0</td></tr> <tr><td>1</td><td>8.0</td><td>7.5</td><td>2.5</td><td>0.5</td></tr> <tr><td>2</td><td>7.5</td><td>8.0</td><td>0.5</td><td>0.5</td></tr> <tr><td>3</td><td>8.0</td><td>8.0</td><td>0.5</td><td>0.5</td></tr> <tr><td>5</td><td>7.5</td><td>8.0</td><td>0.5</td><td>0.5</td></tr> <tr><td>7</td><td>8.0</td><td>7.5</td><td>0.5</td><td>0.5</td></tr> </tbody> </table>	incubation day	Tap water	ASW	Titanic mixture in Tap water	Titanic mixture in ASW	0	8.0	8.0	8.0	8.0	1	8.0	7.5	2.5	0.5	2	7.5	8.0	0.5	0.5	3	8.0	8.0	0.5	0.5	5	7.5	8.0	0.5	0.5	7	8.0	7.5	0.5	0.5
incubation day	Tap water	ASW	Titanic mixture in Tap water	Titanic mixture in ASW																																
0	8.0	8.0	8.0	8.0																																
1	8.0	7.5	2.5	0.5																																
2	7.5	8.0	0.5	0.5																																
3	8.0	8.0	0.5	0.5																																
5	7.5	8.0	0.5	0.5																																
7	8.0	7.5	0.5	0.5																																
②腸球菌 水道水(コントロール) 人口海水(コントロール) MEK-3 1g/L濃度の水道水 MEK-3 1g/L濃度の人口海水	<table border="1"> <caption>②腸球菌の殺菌効果試験結果 (log MPN/ml)</caption> <thead> <tr> <th>incubation day</th> <th>Tap water</th> <th>ASW</th> <th>Titanic mixture in Tap water</th> <th>Titanic mixture in ASW</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>8.0</td><td>8.0</td><td>8.0</td><td>8.0</td></tr> <tr><td>1</td><td>8.0</td><td>8.0</td><td>8.0</td><td>0.5</td></tr> <tr><td>2</td><td>8.0</td><td>8.0</td><td>5.5</td><td>0.5</td></tr> <tr><td>3</td><td>8.0</td><td>7.5</td><td>3.0</td><td>0.5</td></tr> <tr><td>5</td><td>8.0</td><td>7.5</td><td>0.5</td><td>0.5</td></tr> <tr><td>7</td><td>7.5</td><td>7.0</td><td>0.5</td><td>0.5</td></tr> </tbody> </table>	incubation day	Tap water	ASW	Titanic mixture in Tap water	Titanic mixture in ASW	0	8.0	8.0	8.0	8.0	1	8.0	8.0	8.0	0.5	2	8.0	8.0	5.5	0.5	3	8.0	7.5	3.0	0.5	5	8.0	7.5	0.5	0.5	7	7.5	7.0	0.5	0.5
incubation day	Tap water	ASW	Titanic mixture in Tap water	Titanic mixture in ASW																																
0	8.0	8.0	8.0	8.0																																
1	8.0	8.0	8.0	0.5																																
2	8.0	8.0	5.5	0.5																																
3	8.0	7.5	3.0	0.5																																
5	8.0	7.5	0.5	0.5																																
7	7.5	7.0	0.5	0.5																																
試験結果	<p>MEK-3(1g/L)を溶かした溶液ではすべてにおいて菌数の減少が確認された。 人口海水では約10000000個の菌が早い段階(24時間以内)で殺菌された。</p>																																			