

町工場の超水のウイルスに対する効果確認試験

試験報告書

試験番号：207091N

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

作成日：2020年6月24日

1. 表題

町工場の超水のウイルスに対する効果確認試験

2. 目的

町工場の超水のウイルスに対する効果を確認するために実施した。

3. 試験依頼者

名称 株式会社 山製作所  
所在地 埼玉県さいたま市中央区本町東 4-9-13

4. 試験実施施設

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  
運営管理者 : 久保 一弘

5. 試験実施者

試験責任者 : 松本 彰平  
試験担当者 : 近藤 実紀、宮崎 翔太

6. 試験日程概要

試験開始日 : 2020年5月7日  
報告書提出日 : 2020年6月24日

7. 供試ウイルス

株式会社食環境衛生研究所にて保有している1ウイルス種を試験に供試した。  
供試ウイルス : ネコカリシウイルス (以下 FCV) : feline calicivirus F9 株  
培養細胞 : CRFK 細胞 (ネコ腎臓由来株化細胞)

8. 試験資材

名称 : 町工場の超水  
※試験資材は原液で使用した。

## 9. 区の設定

区	検体	検査時点 (分)	反復数
			ウイルス
対照	滅菌生理食塩水	0、5	1
試験	試験資材	0、5	1

上記のとおり、2つの区を設定した。ウイルスについては1ウイルス種あたり1反復を実施した。

## 10. ウイルス液調製方法

- 1) FCV を CRFK 細胞に接種した。
- 2) 37 °C で 1 時間吸着後、接種ウイルス液を除去し、滅菌 PBS で 2 回洗浄した。
- 3) MEM 培地を加え、37 °C、5 %CO<sub>2</sub> 下で培養した。
- 4) 70～80 % 程度の細胞変性効果 (以下、CPE) が観察された時点で、培養上清を回収した。
- 5) 回収した培養上清を、3000 rpm で 30 分間遠心後、遠心上清を分注し、-70 °C 以下で保存したものを供試ウイルス液とした。

## 11. 試験手順及び方法

## 1) 試験方法

## (1) ウイルス液の接種及びウイルス力価測定

試験実施前に、資材を 10 倍階段希釈後、CRFK 細胞に接種し、37 °C、5 % CO<sub>2</sub> 下で 5 日間培養した。CRFK 細胞が正常な形状を示さなかった場合、資材による細胞毒性有りと判定し、本試験では細胞毒性が確認された希釈倍率を試験から除外することとした。

確認の結果、原液でも細胞毒性は確認されなかったため、本試験における検出限界は 10<sup>0.5</sup>TCID<sub>50</sub>/mL とした。

- ① 検体 1 mL を試験管内に用意した。
- ② 検体の中に FCV 液を 0.1 mL 接種した。  
なお、接種直後はボルテックスミキサーにより 1 秒間攪拌を行い、その後検体は 25°C で静置した。
- ③ 対照区は、接種後 0 分 (直後) 及び 5 分の時点において、検体を試験管から採取して別の容器に分注し、MEM 培地で 10 倍階段希釈した。
- ④ 試験区は、接種後 5 分の時点において、検体を試験管から採取して別の容器に分注し、MEM 培地で 10 倍階段希釈した。
- ⑤ 希釈液を CRFK 細胞に接種後、37 °C、5 %CO<sub>2</sub> 下で 5 日間培養した。

- ⑥ 培養後、ウイルス陽性である CPE 発生ウェルの濃度別の数を計数し、ウイルス力価 (TCID<sub>50</sub>) を測定した。

## 2) 評価

ウイルスの試験結果において、検査時点ごとに、対照区に対して試験区の減少率 (%) を算出し、効果を確認した。菌の試験結果については、3 反復の平均値で算出した。

なお、本試験において減少率は以下の式で算出した。

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

## 12. 結果

## 1) FCV

結果を表 1 及び図 1 に示した。

試験区のウイルス力価について、接種後 5 分で  $10^{0.5}$  未満 TCID<sub>50</sub> / mL であった。

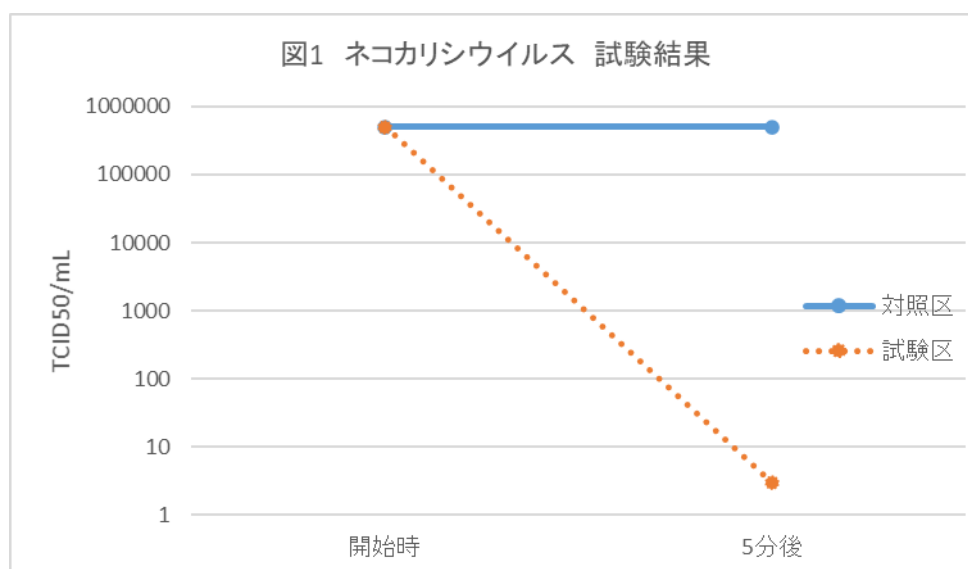
対照区に対して試験区の減少率は、接種後 5 分で > 99.999% であった。

表 1 FCV ウイルス力価測定結果

時間 (分)	対照区	試験区	減少率 (%)
0	$10^{5.5}$	-	-
5	$10^{5.5}$	$<10^{0.5}$	> 99.999

<sup>1)</sup>: 接種後 5 分の対照区と比較した際の減少率

単位; TCID<sub>50</sub>/mL



## 13. 考察

本試験は、資材(町工場の超水)のウイルスに対する効果を確認するために実施した。試験の結果、FCVにおいて、試験区では接種後5分で検出限界未満( $< 10^{0.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)であった。対照区と比較した際の試験区の減少率は、接種後5分で $> 99.999\%$ であった。