

除菌洗淨剤ジョキンメイト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：207614N-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

除菌洗浄剤ジョキンメイトのウイルスに対する不活化効果試験

2. 試験番号

No.207614N-2

3. 目的

除菌洗浄剤ジョキンメイトと豚コロナウイルス（PEDV）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 株式会社 フィルドサイエンス

所在地 〒800-0113 福岡県北九州市門司区新門司北 2 丁目 2-9

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 2020 年 12 月 11 日

試験開始日 2021 年 3 月 5 日

試験終了日 2021 年 4 月 6 日

6. 試験資材

除菌洗浄剤ジョキンメイト

※除菌洗浄剤ジョキンメイトは 60℃の加温した精製水で溶解し、1%になるよう希釈して使用した。また、対照資材として滅菌リン酸緩衝液を使用した。

7. 供試微生物

PED ウイルス : Porcine epidemic diarrhea virus P-5V 株

※豚感染性のコロナウイルス

培養細胞 : vero 細胞 (アフリカミドリザルの腎臓上皮由来株化細胞)

8. 区の設定

区	処置	感作時間
対照区	リン酸緩衝液 1mL にウイルス液 0.1mL 添加	試験開始後 0 分、10 分
試験区	除菌洗浄剤ジョキンメイト (濃度 1%) 1mL にウイルス液 0.1mL 添加	試験開始後 10 分

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、除菌洗浄剤ジョキンメイトが培養細胞に与える影響 (細胞毒性) を調査した。

除菌洗浄剤ジョキンメイトをリン酸緩衝液で 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、除菌洗浄剤ジョキンメイト 100 倍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、除菌洗浄剤ジョキンメイトとウイルス液の混合液を 100 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。

②本試験・試験液混合 :

試験区分に従い、除菌洗浄剤ジョキンメイト及びリン酸緩衝液の各 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. 試験結果

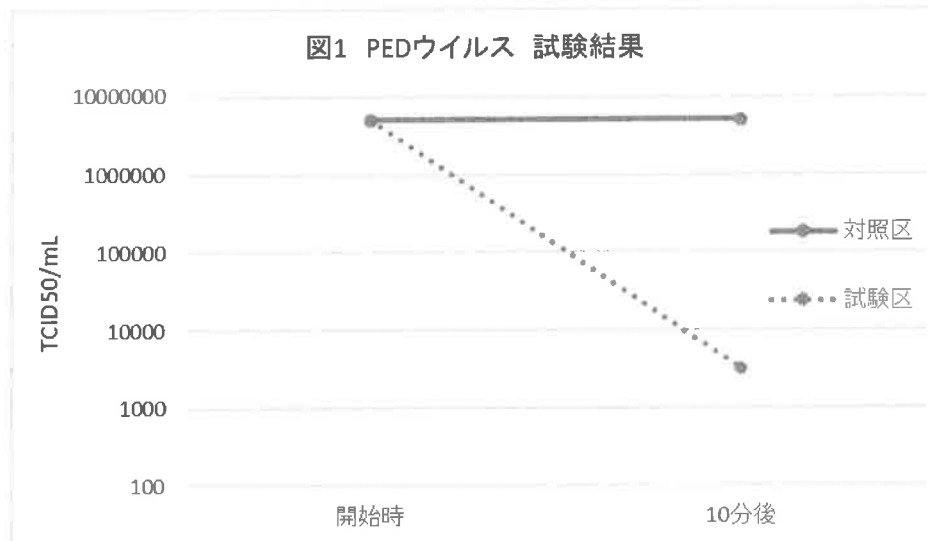
結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区では試験開始後から、試験開始後 10 分までの間にウイルス量の変化は見られなかった($10^{6.7}$ TCID₅₀/mL)。

試験区では開始後 10 分で $<10^{3.5}$ TCID₅₀/mL (検出限界未満 : 99.93%以上減少) となった。

表 1 PED ウイルス試験結果(TCID₅₀/mL)

区	試験開始時	開始後 10 分
対照区 無処理	$10^{6.7}$	$10^{6.7}$ (5000000)
試験区 除菌洗浄剤 ジョキンメイト		$<10^{3.5}$ (<3200)



12. 考察

今回、除菌洗浄剤ジョキンメイトの PED ウイルス（豚感染コロナウイルス）に対する不活化効果試験を実施した。

その結果、10 分の接触で 99.93%以上の不活化効果が確認された。