

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：257118N

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

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.257118N

3. 目的

試験資材と犬パルボウイルス（以下、CPV）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 株式会社トーカイ 代表取締役 鈴木一春

所在地 〒460-0022 愛知県名古屋市金山 5-5-15 4B

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

5. 試験スケジュール

試験受託日 2025年6月25日

試験開始日 2025年7月7日

試験終了日 2025年8月7日

6. 試験資材

Andrographis（センシンレン粉末）

※試験資材は精製水 10mL で 1200mg を溶解（24 時間攪拌）した原液を使用した。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

ウイルス：Canine parvovirus（犬パルボウイルス）：C-780916株

培養細胞：A-72細胞（犬腫瘍由来線維芽株化細胞）

## 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	試験開始時、2 時間後
試験区	試験資材 1mL にウイルス液 0.1mL 添加	2 時間後

## 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、3 時間前に準備した培養細胞に添加し、5 日間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 1000 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、試験資材とウイルス液の混合液を 1000 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 1mL をそれぞれ分取し、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：

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、3 時間前に 96well プレートに添加した培養細胞に、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

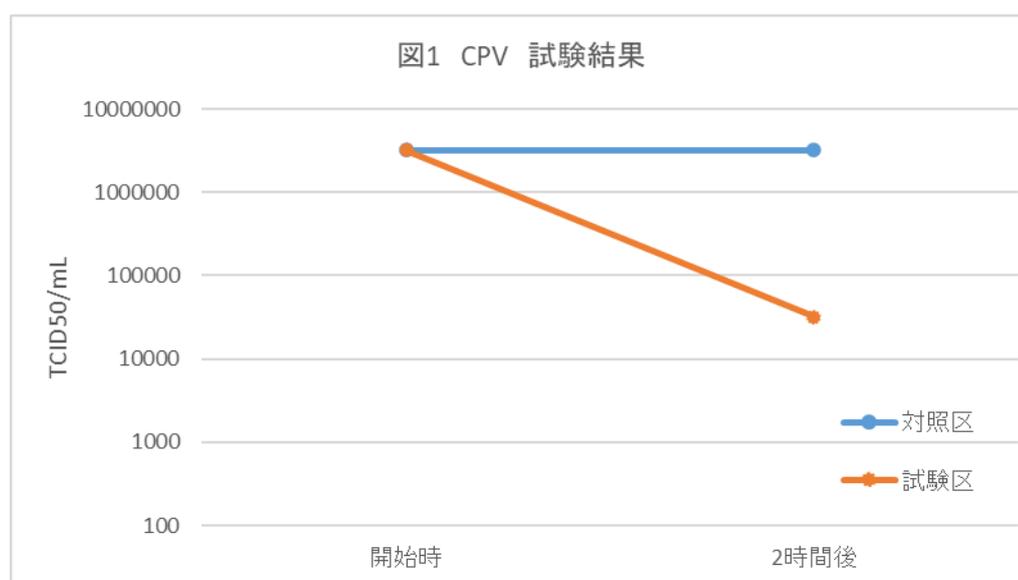
CPV に対する試験結果を表 1 及び図 1 に示した。

対照区では試験開始後から、試験開始後 2 時間までの間にウイルス量の変化はみられなかった ( $10^{6.5} \rightarrow 10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)。

試験区では開始後 2 時間で  $10^{4.5}$  未満 TCID<sub>50</sub>/mL (99.0%以上減少) となった。

表 1 CPV 試験結果(TCID<sub>50</sub>/mL)

区	試験開始時	開始後 2 時間
対照区	$10^{6.5}$	$10^{6.5}$ (3200000)
試験区		$< 10^{4.5}$ (32000 未満)



## 12. 考察

試験資材の CPV (犬パルボウイルス) に対する不活化効果試験を実施した結果、試験資材とウイルスを 2 時間接触させることで、99.0%以上の不活化効果が得られた。