

# 試 験 報 告 書

*KITASATO RESEARCH CENTER OF ENVIRONMENTAL SCIENCES*

財団法人 北里環境科学センター

〒228-0829 神奈川県相模原市北里1丁目15番1号  
TEL: 042(778)9208 FAX: 042(778)4551

\* \* \* 試験内容を公表する場合は、事前の承諾が必要です。 \* \* \*



株式会社 エム・アイ・シー 殿

## 試 験 報 告 書

PBM デオミストのインフルエンザウイルス不活化試験

北環発 21\_0142 号

平成 22 年 1 月 6 日

神奈川県相模原市北里 1 丁目 15 番 1 号

財団法人 北里環境科学センター

理事長 伊 藤 俊 洋

試験内容を公表する場合は、事前に当センターの承諾が必要です。

また、本報告書記載の試験結果は供試品に対するものであり

荷口（ロット）全体の品質を証明するものではありません。

## 1. 試験目的

貴社 PBM デオミストによる A 型インフルエンザウイルスの不活化効果を調べた。

## 2. 試験依頼者

名称：株式会社 エム・アイ・シー

所在地：神奈川県横浜市金沢区東朝比奈 2-2-15

## 3. 試験機関

財団法人 北里環境科学センター

所在地：神奈川県相模原市北里 1 丁目 15 番 1 号

試験担当者：微生物部ウイルス課 野島康弘

## 4. 試験期間

平成 21 年 11 月 13 日～平成 21 年 11 月 25 日

## 5. 供試ウイルス

*Influenza A virus* (H1N1) (A 型インフルエンザウイルス)

## 6. 試験品

貴社ご提供抗菌剤：PBM デオミスト

## 7. 作用時間

0 分、30 分、60 分

## 8. 試験方法

試験方法は貴社担当者との打ち合わせにより作成した試験仕様書に従って実施した。

### 1) 供試ウイルスの培養と調製方法

インフルエンザウイルスは発育鶏卵の漿尿膜腔に接種し、フラン器で培養後、漿尿液を採取し密度勾配遠心法により精製したウイルス液を供試ウイルス液とした。

### 2) 試験手順

A 型インフルエンザウイルスの不活化試験は以下の手順により行った。

試験管内に 0.9 mL の試験品と 0.1 mL の A 型インフルエンザウイルス液（感染価： $7.6 \times 10^9$  TCID<sub>50</sub>/mL）を加え、ボルテックスミキサーでよく混合した後、室温で所定の作用時間で反応させた後 0.1 mL サンプルングし、直ちに 9.9 mL のリン酸緩衝食塩水（phosphate buffered saline：PBS）で希釈してウイルス感染価の測定に使用する細胞に対する毒性を回避した。これをウイルス感染価測定用試料原液として感染価の測定

に用いた。なお、反応時間 0 分の試料は試験品を作用させる代わりにウイルス液を PBS に混合して直ちに回収したものをを用いた。

### 3) ウイルス感染価の測定

ウイルス感染価測定用試料原液を PBS で 10 倍段階希釈した後、測定用試料原液または希釈液 50 $\mu$ L と 5% FBS を含む Dulbecco's modified Eagle's Medium (DMEM) に懸濁した Madin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞 50  $\mu$ L を 96 穴ウエルプレートに植え込んだ。その後、炭酸ガスふ卵器で 4 日間培養を行った。培養後、顕微鏡下で細胞変性効果 (cytopathogenic effect : CPE) を確認し、Reed-Muench 法を用いてウイルス感染価 (TCID<sub>50</sub>/mL) を求めた。

## 9. 試験結果

貴社ご提供 PBM デオミストの A 型インフルエンザウイルスに対する不活化効果を表-1、表-2 に示した。

コントロールにおいては 30 分、60 分作用後のウイルス感染価は、 $2.9 \times 10^5$ TCID<sub>50</sub>/mL、 $3.1 \times 10^5$ TCID<sub>50</sub>/mL となり、初期 (0 分 :  $2.9 \times 10^5$ TCID<sub>50</sub>/mL) とほとんど変化なかった。

PBM デオミストに感染価  $2.9 \times 10^5$ TCID<sub>50</sub>/mL のウイルスを作用させた場合、30 分で検出限界値 ( $6.3 \times 10^4$ TCID<sub>50</sub>/mL) 以下となり、 $3.7 \log_{10}$  以上のウイルス感染価減少が認められた。

## 10. コメント

今回の試験では貴社ご提供 PBM デオミストによる A 型インフルエンザウイルスの不活化効果を検討した。

本試験で用いた試験品は抗菌剤であるため消毒剤に類するものではないと考えられるが、米国 EPA (環境保健省) の報告では<sup>1)</sup>、消毒効果の判定指標として感染価の対数減少値を  $4 \log_{10}$ 、またウイルス感染価の測定用細胞に対して細胞毒性のあるものでは少なくとも  $3 \log_{10}$  を推奨している。

今回の試験において、貴社ご提供 PBM デオミストは、作用時間 30 分で  $3.7 \log_{10}$  以上のウイルス感染価減少値を示し、ウイルス不活化効果があると判定される。

以上

### 参考文献

- 1) Antimicrobials Division U.S. EPA, Confirmatory Virucidal Effectiveness Test, Using Feline Calicivirus As Surrogate for Norovirus

表-1 PBM デオミストのインフルエンザウイルスに対する不活化効果

試験品	作用時間 (分)		
	0	30	60
PBM デオミスト	$2.9 \times 10^5$	$< 6.3 \times 10^1$	$< 6.3 \times 10^1$
コントロール (PBS)		$2.9 \times 10^5$	$3.1 \times 10^5$

検出限界 :  $6.3 \times 10^1$  TCID<sub>50</sub>/mL

N.T. : not tested

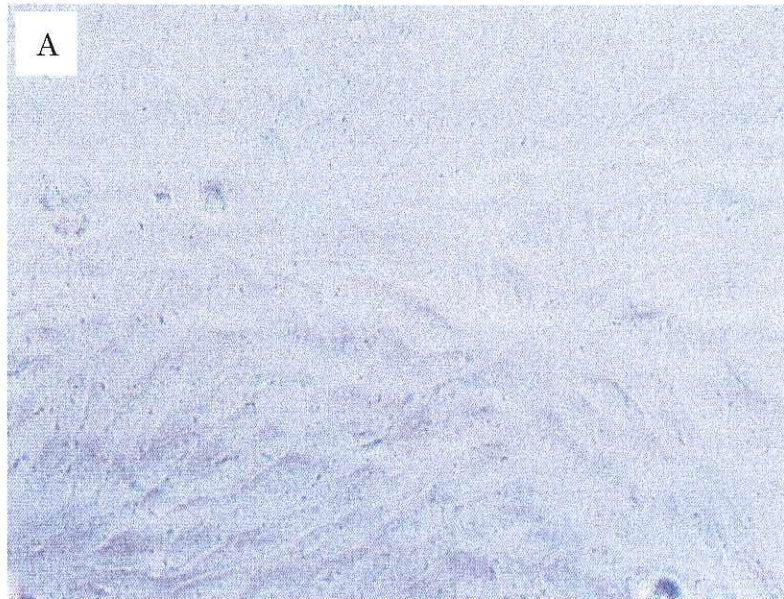
表-2 ウイルス感染価対数減少値の経時変化

試験品	作用時間 (分)	
	30	60
PBM デオミスト	$> 3.7$	$> 3.7$
コントロール (PBS)	0.0	0.0

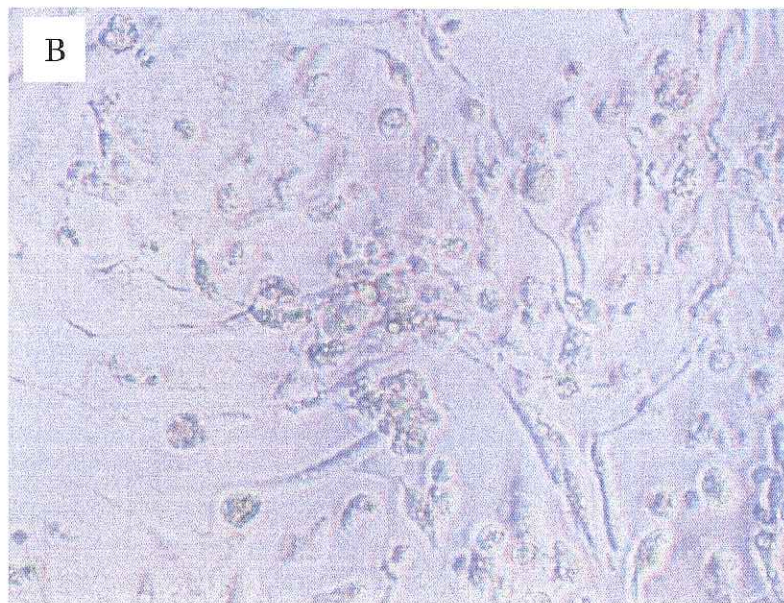
計算式 :  $\log_{10}$  (初期感染価 ( $2.9 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL)  $\div$  各作用時間の感染価)

参考データ

インフルエンザウイルス感染による細胞変性効果



ウイルス非感染 MDCK 細胞



ウイルス感染 MDCK 細胞 (培養 4 日目)

ウイルスに感染していない細胞はシート状に生育している (写真 A) が、ウイルスに感染した細胞は、ウイルスの増殖により形態変化 (細胞変性効果) を起こしている (写真 B)