

株式会社 ビーティエヌ
社長 市川 洋征 様

報告書

平成 25 年 3 月 13 日

課題

「クイックシャットのノロ代替えウイルス（ネコカリシウイルス）
に対する抗ウイルス活性の検討」

NPO法人バイオメディカルサイエンス研究会
研究主幹 医学博士 中山幹男

材料と方法

サンプル

1. クイックシャット 100ppm
2. クイックシャット 50ppm
- 3 次亜塩素酸ナトリウム 400ppm
- 4.次亜塩素酸ナトリウム 200ppm
- 5.次亜塩素酸ナトリウム 100ppm

ウイルス：ネコカリシウイルス (FCV) F9 株 CrFK 細胞上で 55 時間培養増殖させ、培養上清を回収し 3000RPM,30 分遠心したその上清をウイルス原液とした。
ウイルス：諾如ウイルス (細胞培養55時間)
繁殖ウイルス後、回収培養物上清液、以3000 RPM離心30分

細胞： ネコ腎臓細胞 (CrFK) 細胞:猫腎細胞 (CrFK)

方法：

1. CrFK 細胞を 10%牛胎児血清を含む MEM 培地に浮遊させ、6 穴プレートに播き、4 日間 5%CO₂, 37℃インキュベーターで培養した。
2. サンプルの次亜塩素酸ナトリウムは、滅菌蒸留水にて 400ppm、200ppm、100ppm に希釈した。
3. クイックシャットはそのままの濃度で希釈を行わずに試験に使用した。
4. サンプル 450μl にウイルス原液 50μl 加え、60 秒後、10 分後に 0.1M チオ硫酸ナトリウムを 500μl 加え反応を停止させた。
5. ウイルスコントロールは、PBS(pH7.2,10mM 磷酸ナトリウム食塩液)をサンプルの替わりに 450μ をとり、ウイルスを 50μl 加え、60 秒後、10 分後に 0.1M チオ硫酸ナトリウムを 500μl 加えた。
6. 反応を停止させたサンプル・ウイルス混合液は、牛胎児血清を含まない MEM 培地で 10⁻¹~10⁻⁵に 10 倍階段希釈を行い、6 穴プレート上の CrFK 細胞に 100 接種した。
7. ウイルス吸着後、0.7%寒天培地で重層し 37℃、5%CO₂ インキュベーターで 55 時間培養後、10%ホルマリン固定、メチレンブルーによる染色を行い、形成されたブラックをカウントし感染価を算出した。

方法：

1. 將CrFK細胞放在含有10%胎牛血清的MEM培養基中，並在5%CO₂，37°C的培養箱中培養4天。

2. 用無菌蒸餾水將次氯酸鈉樣品稀釋至400ppm，200ppm和100ppm。

3. 在試驗中使用了快速軸，而不進行直接濃度稀釋。

4. 將50μl的病毒溶液添加至450μl的樣品中，並在60秒之後，10分鐘之後，添加500μl 0.1M硫代硫酸鈉，令反應停止。

5. 取450μl的PBS (pH 7.2, 10 mM磷酸鈉氯化鈉溶液) 代替樣品，加入50 μl病毒，然後60秒，10分鐘後，加入500μl的0.1 M硫代硫酸鈉。

6. 用不含胎牛血清的MEM培養基，將終止反應的樣品-病毒混合物連續稀釋10倍至10⁻⁵，並接種100 CrFK細胞。

7. 吸附病毒後，用0.7%瓊脂培養基覆蓋，在37°C，5%CO₂孵育箱中孵育55小時，用10%福爾馬林固定並用亞甲藍染色，計數形成的噬菌斑併計算感染滴度。

サンプル		反応時間での感染価(logPFU/0.1ml)	
		60 秒	10 分
クイックシャット	100ppm	< 1	< 1
クイックシャット	50ppm	5 × 10 ³	< 1
次亜塩素酸ナトリウム	400ppm	< 1	
次亜塩素酸ナトリウム	200ppm	< 1	
次亜塩素酸ナトリウム	100ppm	3 × 10 ⁴	
ウイルスコントロール		1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵

結果と考察

- クイックシャット 100ppm は、ノロウイルスの代替えウイルスネコカリシウイルスを反応時間 60 秒で完全に不活化した。
- クイックシャット 50ppm は、ノロウイルスの代替えウイルスネコカリシウイルスを反応時間 60 秒では十分な抗ウイルス活性を示さなかったが、10 分間の反応時間では完全に不活化した。
- 次亜塩素酸ナトリウムは、60 秒反応 200ppm でウイルスを完全に不活化したが 100ppm 濃度では不十分であった。
- 以上の成績からクイックシャット 100ppm は次亜塩素酸ナトリウム 200ppm に匹敵する抗ウイルス活性を示す事が明らかとなった。

1. 消毒液100ppm・完全使諾如病毒失去活動能力・時間為60秒。

2. 50ppm在60秒的反應時間沒有表現出對諾如病毒有足夠的抗病毒活性，在10分鐘的反應時間才完全滅活。

3. 次氯酸鈉在200ppm在60秒內令病毒抗活性，但100ppm濃度不足。

4. 從以上結果可以看出，100 ppm的消毒液具有與200 ppm的次氯酸鈉相當的抗病毒活性。

以上