

237029/23_0029-1

株式会社 バイオフェイス 殿

試験報告書

白金ナノ粒子溶液によるネコカリシウイルス不活化試験

北環発 23_0029-1 号
平成 23 年 9 月 15 日

神奈川県相模原市南区北里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確認が必要です。
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. 目的

貴社ご提供品「白金ナノ粒子溶液」(45 倍希釈液)によるネコカリシウイルス(ノロウイルス代替ウイルス)の不活化効果を評価した。

2. 依頼者

名称:株式会社 バイオフェイス

所在地:〒611-0026 京都府宇治市開町 39-2

3. 試験機関

名称:財団法人 北里環境科学センター

所在地:〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1

担当:ウイルス部ウイルス課

4. 実施日

平成 23 年 8 月 26 日～平成 23 年 9 月 2 日

5. 試験品

白金ナノ粒子溶液

貴社ご提供試験品を原液として、リン酸緩衝生理食塩水(PBS: phosphate buffered saline)で 45 倍に希釈したものをを用いた。

6. 作用時間

0 時間、2 時間

7. 供試ウイルス

Feline calicivirus (F-9 株)(ネコカリシウイルス(ノロウイルス代替ウイルス))

8. 試験方法

1) 供試ウイルスの培養方法

ネコカリシウイルスをネコ腎臓由来細胞(CRFK: Crandell-Reese feline kidney)に感染させ、細胞培養面積の約 90 % 以上が細胞変性効果(CPE: Cytopathic effect)を示したとき-80℃の冷凍庫に凍結保存した。その後、凍結融解操作を 2 回繰り返し、3,500rpm で 10 分間遠心した上澄みを採取し、限外ろ過膜で濃縮精製したウイルス液を供試ウイルスとした。

2) 試験手順

試験管内に 900 μL の試験品と試験ウイルス液 100 μL をそれぞれ加え、ボル

テックスミキサーでよく混合した後、室温で所定の時間反応させた。所定時間作用後、直ちにこの混合液 100 μ L を 0.2% のウシ胎児血清 (FBS : fetal bovine serum) を含む Dulbecco's modified Eagle's Medium (DMEM) 9.9 mL に添加し、100 倍に希釈して試験品の作用を停止させた。この液をウイルス感染価測定用試料原液としてウイルス感染価を測定した。なお、作用時間 0 時間の試料は試験品溶液の代わりに PBS を用いて実施した。

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ウイルス液 50 μ L と 5% FBS を含む DMEM に懸濁した CRFK 細胞 50 μ L を、96 穴マイクロプレートに植え込んだ。その後、37 $^{\circ}$ C の炭酸ガスふ卵器内で 4 日間培養を行った。培養後、倒立顕微鏡下でウイルスの増殖による CPE を観察して Reed-Muench 法を用いてウイルス感染価 (TCID₅₀/mL) を求めた。

9. 試験結果

貴社ご提供試験品、白金ナノ粒子溶液の 45 倍希釈液のネコカリシウイルスに対する不活化効果検討試験を行った。試験結果を表・1、図・1 に示した。初期感染価 5.6 \times 10⁴ TCID₅₀/mL のウイルスにコントロール (PBS) を 2 時間作用させた場合、感染価はほとんど変動しなかった。一方、試験品にウイルスを 2 時間作用させた場合の感染価は検出限界値 (6.3 TCID₅₀/mL) 以下となり、3.9 log₁₀ 以上のウイルス感染価対数減少値が認められた。

10. コメント

本試験では、貴社ご提供白金ナノ粒子溶液によるネコカリシウイルスに対する不活化効果を検討した。

本試験品は 2 時間の作用でウイルス感染価を 3.9 log₁₀ 以上減少させる効果が認められた。米国 EPA (環境保健省) の報告では、消毒効果の判定基準として感染価の対数減少値を 4 log₁₀、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 log₁₀ を推奨している。本試験品は消毒剤に類するものではないと考えられるが、消毒効果の判定基準を適用した場合、対数減少値が 3.9 log₁₀ 以上であることから、ウイルス不活化効果があると判断される。

参考文献

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

以上

表-1 試験品作用後のネコカリシウイルス感染価の変化

| 試験品 | 作用時間 | | 感染価 対数減少値 |
|------------------------|---------------------|---------------------|--------------|
| | 0(初期) | 2 時間 | |
| 白金ナノ粒子溶液 (45 倍希釈溶液) | 5.6×10 ⁴ | < 6.3 | > 3.9 |
| コントロール (PBS) | | 1.2×10 ⁵ | -0.3 |

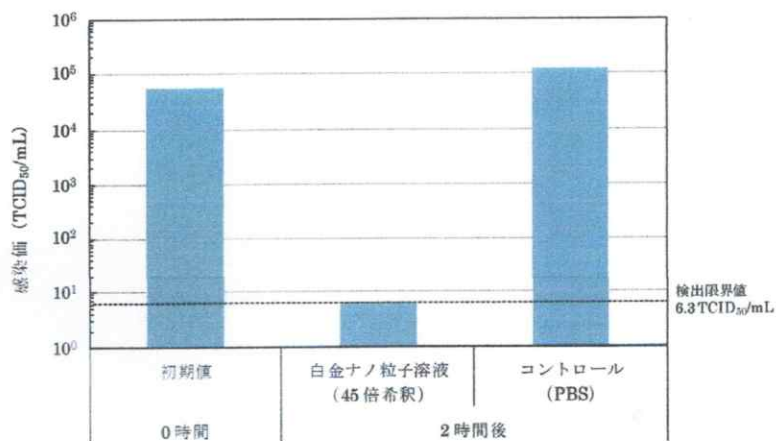
感染価単位：TCID₅₀/mL検出限界値：6.3 TCID₅₀/mL感染価対数減少値計算式：log₁₀（初期感染価 ÷ 2 時間作用後の感染価）

図-1 試験品作用後のネコカリシウイルス感染価の変化