

「エーquick PRO」の殺菌効果試験

(ネコカリシウイルス 不活化試験)

1. 供試株

ネコカリシウイルス F9株 (CrFK細胞)

2. 供試薬剤

- 1) エーquickPRO (エタノール 55 w/w%)
- 2) 次亜塩素酸ナトリウム (濃度 400ppm, 800ppm, 1600ppm)

3. 試験方法

ウイルス原液にブイオン液を加え、蛋白質量 20mg/ml(反応時終濃度 1%)を含むウイルス液を製した。同様にウイルス原液に MEM(蛋白を含まない組織培養液)を加え蛋白量を含まない(0mg/ml)ウイルス液を調整した。

2種類のウイルス液に各検体を等量加え、室温 60 秒間反応後、ブイオン液(蛋白量 80mg/ml)で10倍に希釈し反応を停止させ、更に 10^{-6} まで10倍ずつ希釈を繰り返した。

各希釈液を培養ネコ腎臓細胞(CrFK)に各 100 μ l 接種し、MEM 寒天培地を重層した。34 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培養インキュベータにて 50 時間培養した。10%ホルマリンを用い数時間の固定後、寒天培地を除去し、メチレンブルー染色液を加え、染色後のブラック数をカウントした。

4. 試験結果 (単位(PFU/0.1ml))

検体	希釈倍率	タンパク質 0 (緩衝液)	タンパク質 20mg/ml
エーquick PRO	原液	N.D.	N.D.
次亜塩素酸 Na	400ppm (200ppm ^{*1})	N.D.	5.5×10^5
次亜塩素酸 Na	800ppm (400ppm ^{*1})	N.D.	3.5×10^5
次亜塩素酸 Na	1,600ppm (800ppm ^{*1})	N.D.	1.0×10^5
コントロール	(薬剤なし)	1.4×10^6	1.9×10^6

*1 検体(薬剤)とウイルス液を反応させる時の終濃度

N.D.: 不検出

(参考: 「エタノール60%(w/w)の不活化効果」 タンパク質0条件 4.0×10^6 (コントロール 1.6×10^7))

5. 試験機関

NPO法人 バイオメディカルサイエンス研究会(BMSA)

(BMSA 受託整理 No. 08-08-B)

エタノールの殺菌効果試験
(インフルエンザウイルスの不活化試験)

1. 供試菌株

季節性インフルエンザウイルスA香港型

(MDCK細胞)

2. 供試薬剤

1) エタノール水 (0%~80%、10%刻み、PBSで希釈)

3. 試験方法

サンプル液 900 μ l にウイルス液を 100 μ l 加え、室温 60 秒間反応後、ブイヨン培地 (蛋白質量 20mg/ml) で 10 倍に希釈し反応を止め、更に $10^1 \sim 10^4$ 倍段階希釈し、各希釈液を培養細胞に各 100 μ l 接種し、MEM 寒天培地を重層した。

37°C、5%CO₂ 培養インキュベータにて 72 時間培養した。10%ホルマリンを用い数時間の固定後、寒天培地を除去し、メチレンブルー染色液を加え、染色後のブラック数をカウントした。

4. 試験結果

単位: PFU/0.1ml

検体	希釈倍率	季節性インフルエンザ	
		A(H3N2)	
80%(w/w) エタノール	原液	N.D.	
70%(w/w) エタノール	原液	N.D.	
60%(w/w) エタノール	原液	N.D.	
50%(w/w) エタノール	原液	N.D.	
40%(w/w) エタノール	原液	N.D.	
30%(w/w) エタノール	原液	1.6 $\times 10^7$	
20%(w/w) エタノール	原液	2.0 $\times 10^7$	
コントロール (PBS)	—	2.5 $\times 10^7$	

検体のとの反応条件 60 秒、室温、液体容積比 検体 : ウイルス液 = 9 : 1

N.D. : 不検出 (10^3 未満)

「エークイック PRO」の殺菌効果試験
(インフルエンザウイルスの不活化試験)

1. 供試菌株

季節性インフルエンザウイルス3種 (MDCK細胞)

➢ インフルエンザウイルス A(H3N2)型、A(H1N1)型、B型

2. 供試薬剤

1) エークイックPRO (エタノール 55 w/w%)

2) 70%(w/w)アルコール

3. 試験方法

検体とウイルス液を等量加え、室温 60 秒間反応後、5 倍濃度のブイヨン液(蛋白量 80mg/ml) で 10 倍に希釈し反応を止め、更に 10 倍段階希釈し、各希釈液を培養細胞に各 100 μ l 接種し、MEM 寒天培地を重層した。

34 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培養インキュベータにて 60 時間培養した。10%ホルマリンを用い数時間の固定後、寒天培地を除去し、メチレンブルー染色液を加え、染色後のプラック数をカウントした。

4. 試験結果

単位:PFU/0.1ml

検体	希釈倍率	季節性インフルエンザ		
		A(H3N2)	A(H1N1)	B
エークイック	原液	N.D.	N.D.	N.D.
70%(w/w) EtOH	原液	N.D.	4.0 × 10 ¹	N.D.
コントロール(MEM培地)	—	1.9 × 10 ⁶	2.5 × 10 ⁶	1.3 × 10 ⁷

検体のとの反応条件 60 秒、室温、液体容積比 検体 : ウイルス液 = 1 : 1

N.D.: 不検出

「エークイック PRO」の殺菌効果試験

1. 供試菌株

大腸菌 (*Escherichia coli* K-12)

2. 供試薬剤

- 1) エークイックPRO (エタノール 55 w/w%)
- 2) 70%(w/w)アルコール
- 3) 次亜塩素酸ナトリウム

3. 試験方法

各薬剤にスラント培地で35°C、72時間培養した菌を 10^4 cfu/mlになるように投入し、0、5、10、15、30秒後に処理液の一部を取り、直ちに100倍量の滅菌水で希釈することで処理を停止し、その0.049mlをスパイラルプレーティング法によりMRS平板に塗布後、35°Cで72時間の培養をして、発生するコロニー数から生残菌数を求めた。

4. 試験結果

単位(cfu/ml)	希釈倍率	0sec	5sec	10sec	15sec	30sec
エークイック	原液	2.9×10^4	<20	<20	<20	<20
70%(w/w) EtOH	原液	2.9×10^4	<20	<20	<20	<20
次亜塩素酸 Na	200ppm	2.9×10^4	<20	<20	<20	<20
エークイック	2倍希釈	2.9×10^4	<20	<20	<20	<20
70%(w/w) EtOH	2倍希釈	2.9×10^4	6.2×10^2	6.4×10^2	1.6×10^2	<20
次亜塩素酸 Na	100ppm	2.9×10^4	<20	<20	<20	<20
エークイック	5倍希釈	2.9×10^4	<20	<20	<20	<20
70%(w/w) EtOH	5倍希釈	2.9×10^4	2.2×10^3	2.1×10^3	1.1×10^3	1.9×10^3
次亜塩素酸 Na	40ppm	2.9×10^4	40	<20	1.6×10^2	<20

(菌数/ml)

「エークイック PRO」の殺菌効果試験

1. 供試菌株

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* FDA 209P)

2. 供試薬剤

1) エークイックPRO (エタノール 55 w/w%)

2) 70%(w/w)アルコール

3) 次亜塩素酸ナトリウム

3. 試験方法

各薬剤にスラント培地で35℃、72時間培養した菌を 10^4 cfu/mlになるように投入し、0、5、10、15、30秒後に処理液の一部を取り、直ちに100倍量の滅菌水で希釈することで処理を停止し、その0.049mlをスパイラルプレート法によりMRS平板に塗布後、35℃で72時間の培養をして、発生するコロニー数から生残菌数を求めた。

4. 試験結果

単位(cfu/ml)	希釈倍率	0sec	5sec	10sec	15sec	30sec
エークイック	原液	1.0×10^4	<20	<20	<20	<20
70%(w/w) EtOH	原液	1.0×10^4	<20	<20	<20	<20
次亜塩素酸 Na	200ppm	1.0×10^4	<20	<20	<20	<20
エークイック	2倍希釈	1.0×10^4	<20	<20	<20	<20
70%(w/w) EtOH	2倍希釈	1.0×10^4	5.5×10^3	2.0×10^3	560	<20
次亜塩素酸 Na	100ppm	1.0×10^4	1.7×10^3	2.2×10^2	2.4×10^3	1.1×10^3
エークイック	5倍希釈	1.0×10^4	<20	<20	<20	<20
70%(w/w) EtOH	5倍希釈	1.0×10^4	4.8×10^4	3.2×10^4	4.5×10^4	1.4×10^4
次亜塩素酸 Na	40ppm	1.0×10^4	1.8×10^2	<20	<20	<20

(菌数/ml)

「エークイック PRO」の殺菌効果試験

1. 供試菌株

サルモネラ (*Salmonella enteritidis*)

2. 供試薬剤

- 1) エークイックPRO (エタノール 55 w/w%)
- 2) 70%(w/w)アルコール
- 3) 次亜塩素酸ナトリウム

3. 試験方法

各薬剤にスラント培地で35°C、72時間培養した菌を 10^4 cfu/mlになるように投入し、0、5、10、15、30秒後に処理液の一部を取り、直ちに100倍量の滅菌水で希釈することで処理を停止し、その0.049mlをスパイラルプレーティング法によりMRS平板に塗布後、35°Cで72時間の培養をして、発生するコロニー数から生残菌数を求めた。

4. 試験結果

単位(cfu/ml)	希釈倍率	0sec	5sec	10sec	15sec	30sec
エークイック	2倍希釈	3.9×10^4	<20	<20	<20	<20
70%(w/w) EtOH	2倍希釈	3.9×10^4	<20	<20	<20	<20
次亜塩素酸 Na	100ppm	3.9×10^4	<20	<20	<20	<20
エークイック	5倍希釈	3.9×10^4	<20	<20	<20	<20
70%(w/w) EtOH	5倍希釈	3.9×10^4	3.5×10^3	1.7×10^3	1.1×10^3	1.6×10^2
次亜塩素酸 Na	40ppm	3.9×10^4	<20	<20	<20	<20

(菌数/ml)