

ドロマイト鉱石由来

「DEPLOT」のネコカリシウイルスの不活化効果試験

2008年5月

株式会社グリーングローブ

【試験概要】

試験表題 : ドロマイト鉱石由来「DEPLOT」のネコカリシウイルスの不活化効果試験

試験受託番号 : 08-04-B

試験委託者 : 株式会社グリーングローブ
所在地 : 東京都葛飾区細田 4-41-8-301

試験受託者 : NPO 法人バイオメディカルサイエンス研究会
所在地 : 東京都新宿区高田馬場 1-28-3 工新ビル 801 号室

試験施設 : NPO 法人バイオメディカルサイエンス研究会
新習志野実験室

所在地 : 千葉県習志野市茜浜 1-12-3
試験責任者 : 室長 中山幹男

試験期間 : 平成 20 年 3 月 21 日～平成 20 年 4 月 15 日

【試験目的】

「DEPLOT」のノロウイルスに対する不活化効果を確認するため、ノロウイルスと同じ属に分類されているネコカリシウイルスを用いてその効果を確認しました。

【試験方法および結果】

1. 細胞毒性試験

[DEPLOT]のネコカリシウイルスに対する不活化効果試験を実施する前に、本試験で使用する「ネコ腎臓継代細胞 (CrFK 株)」に対する「DEPLOT」の細胞毒性を確認するため、この細胞にウイルスの組織培養で一般的に用いられるMEM 培地で希釈した「DEPLOT」を接種して、3日間の細胞変性効果を観察しました。

その結果、「DEPLOT」には細胞毒性は認められませんでした。

2. 「DEPLOT」のネコカリシウイルスに対する不活化効果試験

次に、「DEPLOT」がネコカリシウイルスに対して不活化効果があるかを確認しました。

1) 遠心上清中のウイルス感染価

「DEPLOT」の原液および2倍希釈液にウイルスを等量混合し、5分間および20分間反応させることにより感染させ、それぞれを遠心分離し、その上清について、感染価を定量的に測定できるブラック法を用い試験を行いました。なお、MEM 培地にウイルスを等量混合し、同様に5分間および20分間感染させて感染価を測定したものを対照群としました。

その結果、「DEPLOT」の原液における5分後、20分後の遠心上清中では、ウイルスの感染価はいずれも検出限界以下でした。

また、2倍希釈した「DEPLOT」では、5分後 2.2×10^2 、20分後 1×10^0 の感染価を示し、対照群の5分後 (6.1×10^6) および20分後 (4.5×10^6) に比較して明らかに低い感染価を示しました。

反応時間	DEPLOT 濃度		
	原液	2倍希釈	Cont.
5分間	< 1	2.2×10^2	6.1×10^6
20分間	< 1	1.0×10^0	4.5×10^6

2) 「DEPLOT」の沈渣から遊離したウイルスの感染価

1) における「DEPLOT」のウイルス不活化効果のメカニズムを明らかにするため、1) で遠心分離した沈渣にブイオンを添加して液量を元に戻して細胞に再接種し、感染価を測定しました。

その結果、「DEPLOT」原液の5分後の沈渣では 3×10^2 、20分後の沈渣では 3×10^1 と感染ウイルスの増加が認められました。また、2倍希釈した5分後の沈渣では 1.5×10^4 、20分後の沈渣では 3×10^3 の感染価を示しました。

反応時間	DEPLOT 濃度	
	原液	2 倍希釈
5 分間	3.0×10^2	1.5×10^4
20 分間	3.0×10^1	3.0×10^3

【考 察】

細胞毒性試験は、急性毒性や亜急性毒性試験とよく相関し感度も高いことから、医薬品や化学物質の安全性試験の代替法として、広く用いられる試験です。

「DEPLOT」は、ネコ腎臓継代細胞に対して細胞毒性は認められず、このことから、食品添加物としても安全性の高い製品であることが裏付けられました。

また、ネコカリシウイルスは「DEPLOT」原液と接触することにより検出限界以下にまで減弱され、通常使用する2倍希釈濃度の「DEPLOT」においても、対照群に比較して大幅に減弱することが明らかになりました。

それらの作用メカニズムは、「DEPLOT」とウイルスの混合液の沈渣にブイオンを添加することにより、その感染価の増加がみられたことから、「DEPLOT」とウイルスとの吸着が大きく作用していることが明らかになりました。混合液にブイオンを添加したことによりたんぱく成分が増加し、「DEPLOT」の作用が減弱され、ウイルスとの吸着がはずれて感染価が増加したものと推察されます。

しかしこの感染価の増加は、対照群血清中の感染価に比較するとかなり低値であることから、「DEPLOT」がネコカリシウイルスに対して、直接的に作用していることも考えられます。

【結 論】

これらの結果から、「DEPLOT」はネコカリシウイルスと同じ属であるノロウイルスに対しても有効であるものと考えられます。

その作用は、ウイルスとの吸着による作用であることが今回の試験から明らかとなり、特にその作用を応用した食材の洗浄は、ノロウイルスからの感染防止に有効であるものと推察されます。

さらに、ウイルスの明らかな感染価の低下がみられたことから、ノロウイルスに対する直接的な消毒効果の可能性も示唆されました。