

表1. ASTM、ENに例示されるウイルス種と細胞。( )内はATCCにおけるカタログ番号。各ウイルスはそれぞれ感受性のある培養細胞が限定されるので、使用するウイルスと細胞の組み合わせは基本的に変更できない。

	ウイルス種	細胞
ノンエンベロープ ウイルス	アデノウイルス2型(VR-846) 5型(VR-5)	A549(CCL-185) Hep-2(CCL-23) Vero(CCL-81)
	イヌパルボウイルス(VR-2017)	A-72(CRL-1542)
	ネコカリシウイルス(VR-782)	CRFK(CCL-94)
	A型肝炎ウイルス(VR-2093)	FRhK-4(CRL-1688)
	マウスノロウイルス	RAW 264.7(TIB-71)
	ロタウイルス(VR-2018)	MA-104(CRL-2378) CV-1(CCL-70)
	ライノウイルス14型(VR-284) 37型(VR-1607)	MRC-5(CCL-171) WI-38(CCL-75) HeLa T
エンベロープウイ ルス	サイトメガロウイルス(VR-538)	MRC-5(CCL-171) WI-38(CCL-75)
	単純ヘルペスウイルス(VR-733)	Vero(CCL-81) Hep-2(CCL-23)
	インフルエンザA/Hong Kong/8/68(VR-544) A/PR/9/34(VR-95)	MDCK(CCL-34) LLC-MK2(CCL-7)
	RSウイルス(VR-26)	Hep-2(CCL-23) MRC-5(CCL-171)
	ワクシニアウイルス(VR-119)	Vero(CCL-81) Hep-2(CCL-23)

表2. TCID<sub>50</sub>法、プラーク法、リアルタイムPCRによる遺伝子定量値の比較。新型コロナウイルスを50°Cで、5分間または30分間保持し、生残ウイルスの力価をTCID<sub>50</sub>法、プラーク法で測定した。またリアルタイムPCRによって遺伝子定量を行った。

	ウイルス力価		
	TCID <sub>50</sub> /mL	プラーク PFU/mL	リアルタイムPCR (コピー/mL)
未加熱	3.2 x 10 <sup>6</sup>	1.2 x 10 <sup>6</sup>	6 x 10 <sup>8</sup>
50°C 30分	Not detected	Not detected	3 x 10 <sup>8</sup>
90°C 5分	Not detected	Not detected	5 x 10 <sup>7</sup>

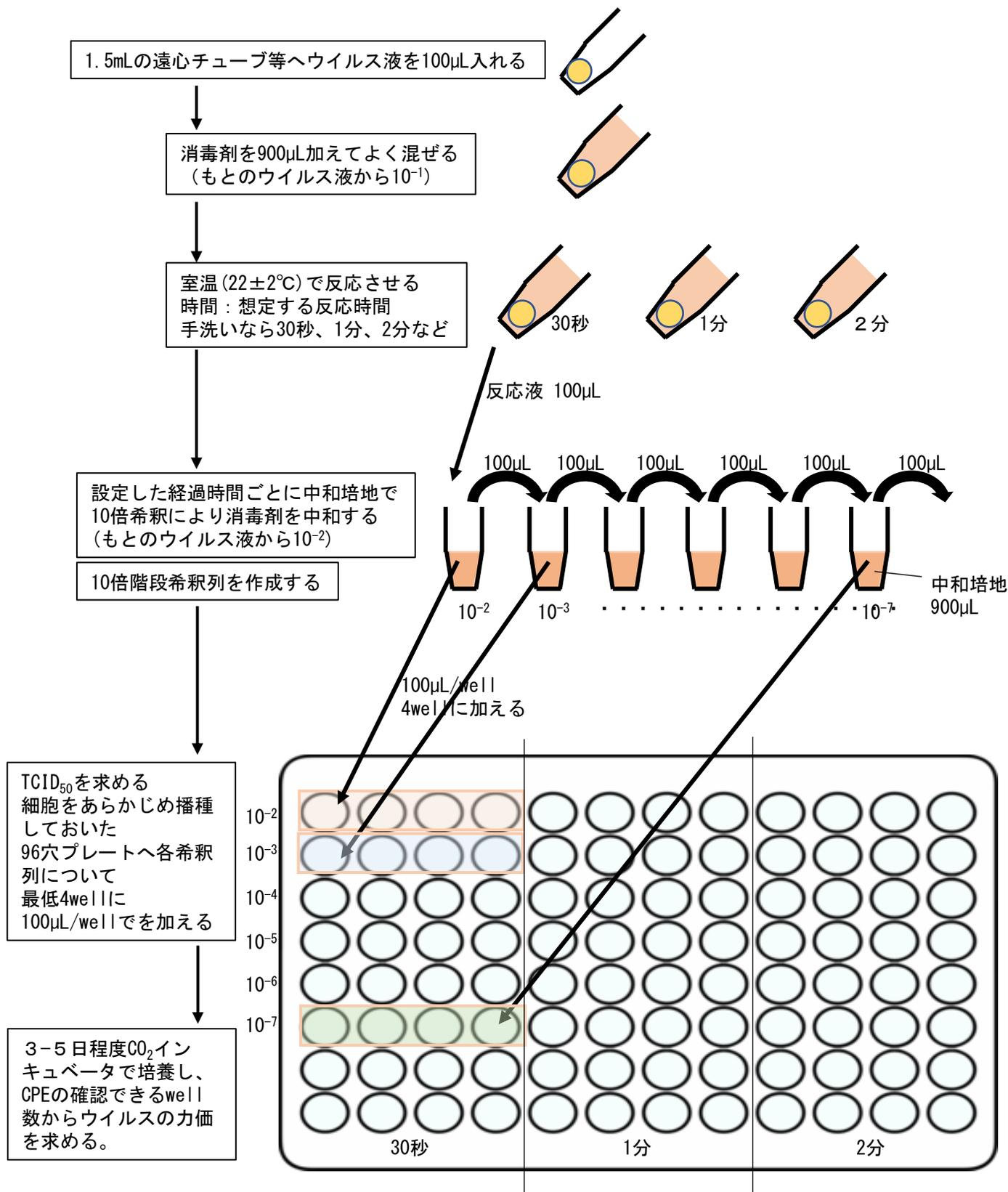


図1. 消毒剤等によるウイルス不活化評価試験の方法  
ウイルスと消毒剤の反応 例) ウイルス：消毒剤=1：9、反応時間 30秒、1分、2分の3点



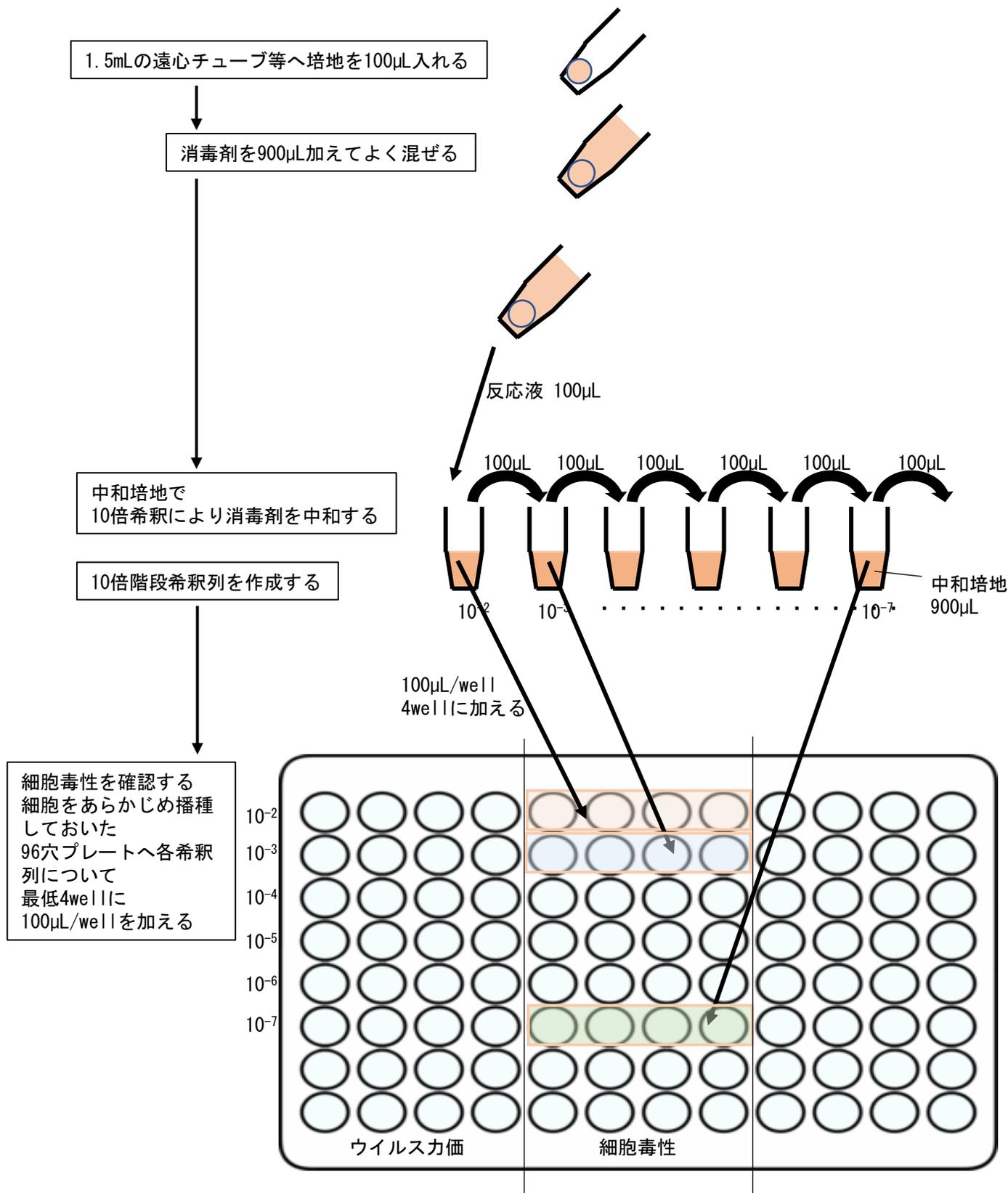


図3. 対照テストの実施方法：消毒剤そのもの、または中和した消毒剤による細胞毒性を評価する方法。ここでは、ウイルスは用いずに、培地と消毒剤を混合したのちに中和培地で反応を停止する。細胞に対する毒性は、細胞の形態観察のほか、MTTアッセイやLDHアッセイなどを用いて確認する。図1の不活化テストをウイルスを用いずに行うことになる。

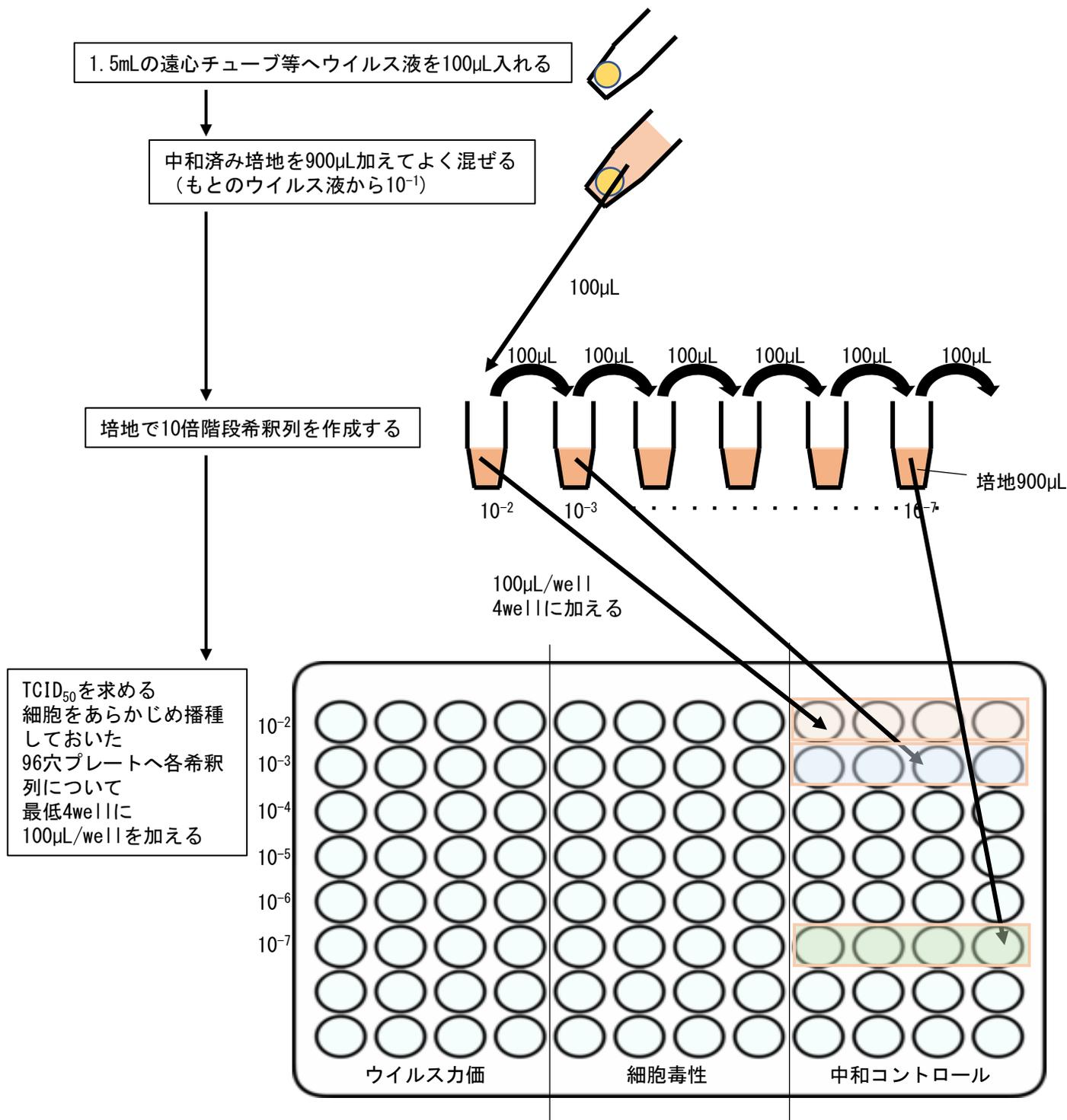
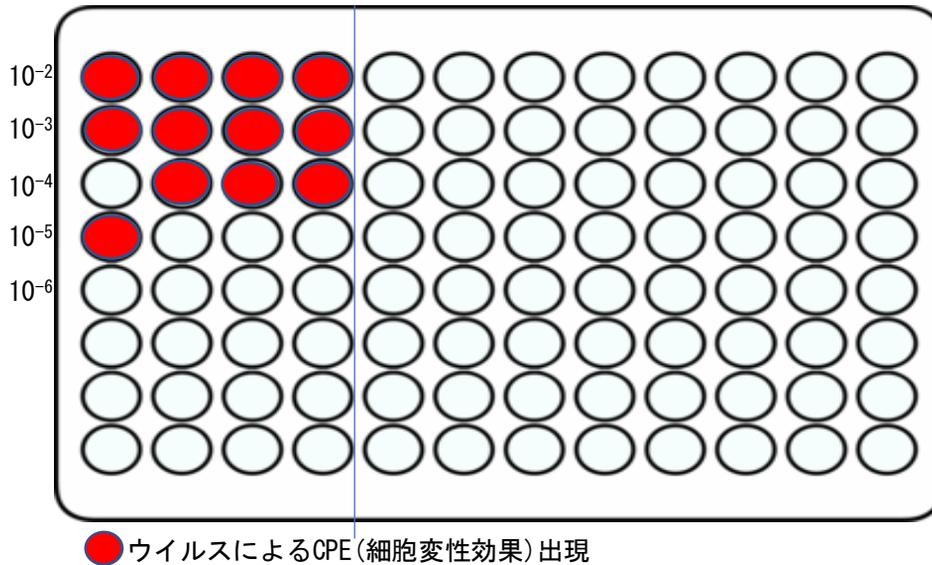


図4. 対照テスト：中和コントロールの試験方法。  
中和した培地をウイルス液と混合して、階段希釈によりウイルスカ価を求める。  
中和済みの消毒剤は抗ウイルス作用を示さないことが推測されるので、  
図2と同程度の力価となることが期待される。



(ウイルスの最大濃度の希釈倍率log) - [各希釈列の(陽性well/総well)の和] - 0.5] x (希釈倍率log)

$$-2 - \left[ \frac{4+4+4+3+4+1}{4} - 0.5 \right] \times 1 = -2 - [3] - 0.5 \times 1 = -4.5$$

$$\text{Log TCID}_{50} = 4.5 \quad (10^{4.5} \text{ LogTCID}_{50}/100\mu\text{L} = 10^{5.5} \text{ Log TCID}_{50}/\text{mL})$$

図5. ウイルスカ価の算出方法 (Spearman-Kärber法)

マイクロプレートに接種したウイルスの液量に合わせて算出する。

ウイルス液が100 $\mu$ Lであれば TCID<sub>50</sub>/100 $\mu$ L、50 $\mu$ LであればTCID<sub>50</sub>/50 $\mu$ Lとなり、1mLあたりに換算する場合は、それぞれ10倍、20倍する。

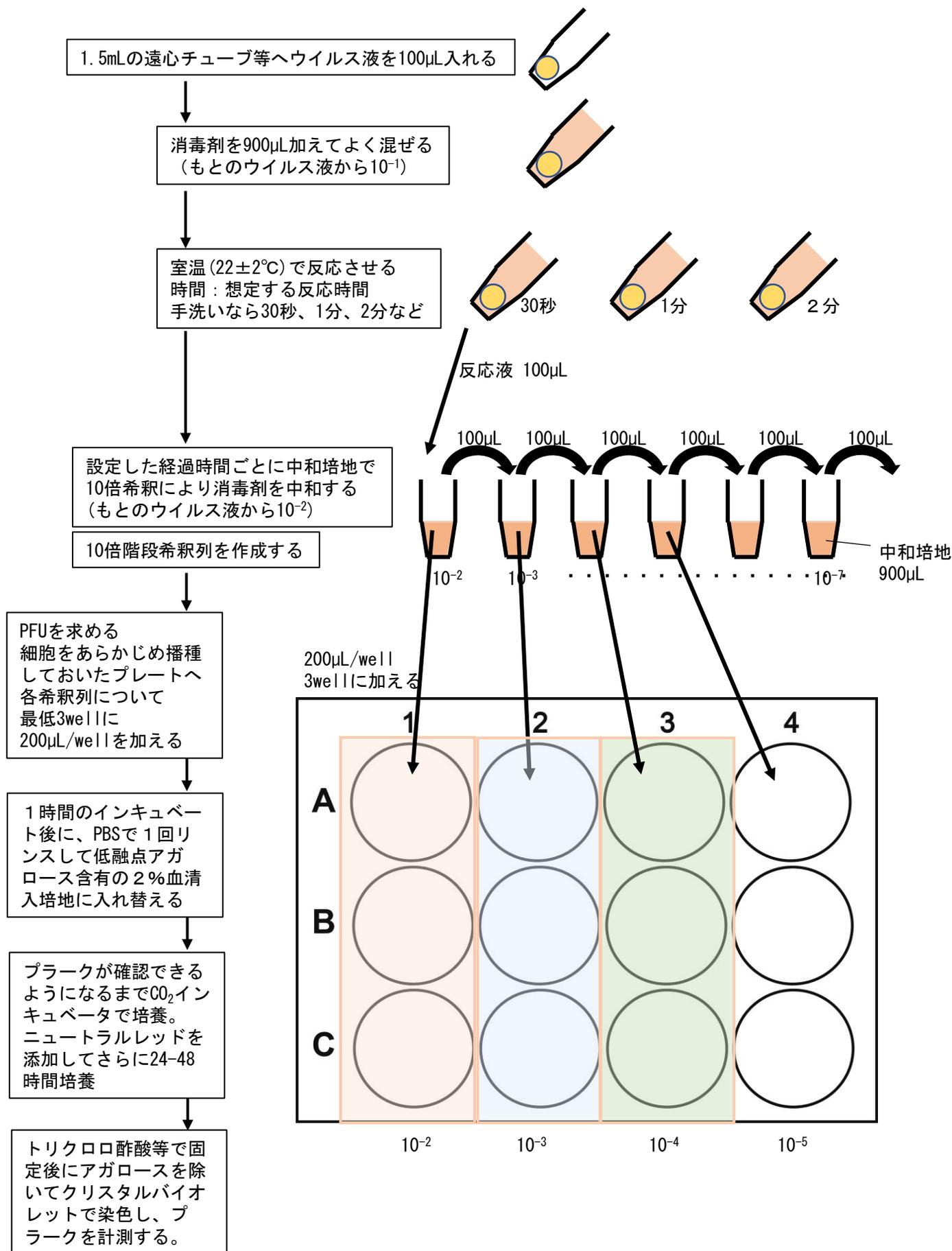


図6. プラークアッセイによるウイルス不活化テストの方法  
ウイルスと消毒剤を混合したのちに中和剤によって反応停止し、階段希釈を作成するまでは図1と同様の手順となる。12wellマイクロプレート等を用いて実施する。