



Japan
Food
Research
Laboratories

試験報告書

第 209060133-001号

2009年(平成21年)10月02日

依頼者 エコシンフォニー株式会社

検体 除菌剤D1(次亜塩素酸水)

表題 ウイルス不活化試験

2009年(平成21年)06月02日当センターに提出された
上記検体について試験した結果は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番
彩都研究所 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目4番41号

ウイルス不活化試験

1 依頼者

エコシンフォニー株式会社

2 検体

除菌剤D1(次亜塩素酸水)

3 試験目的

検体のインフルエンザウイルスに対する不活化試験を行う。

4 試験概要

検体にインフルエンザウイルス浮遊液を添加、混合し、作用液とした。室温で作用させ、15及び30秒並びに1、3及び10分後に作用液のウイルス感染価を測定した。

なお、あらかじめ予備試験を行い、ウイルス感染価の測定方法について検討した。

5 試験結果

結果を表-1に示した。

なお、細胞維持培地で作用液を10倍に希釈することにより、検体の影響を受けずにウイルス感染価が測定できることを予備試験により確認した。

表-1 作用液のウイルス感染価測定結果

| 試験 ウイルス | 対象 | log TCID ₅₀ /ml* | | | | | |
|-----------------|----|-----------------------------|------|------|------|------|------|
| | | 開始時 | 15秒後 | 30秒後 | 1分後 | 3分後 | 10分後 |
| インフルエンザ ウイルス | 検体 | 6.5 | <1.5 | <1.5 | <1.5 | <1.5 | <1.5 |
| | 対照 | 6.5 | *** | *** | *** | *** | 6.7 |

TCID₅₀: median tissue culture infectious dose, 50 %組織培養感染量

* 作用液1 ml当たりのTCID₅₀の対数値

開始時: 作用開始直後の対照のTCID₅₀を測定し、開始時とした。

対照: 精製水

作用温度: 室温

<1.5: 検出せず

***: 試験実施せず

ウイルス浮遊液: 精製水で10倍に希釈したもの

6 試験方法

1) 試験ウイルス

インフルエンザウイルスA型(H1N1)

2) 使用細胞

MDCK(NBL-2)細胞 ATCC CCL-34株[大日本製薬株式会社]

3) 使用培地

① 細胞増殖培地

イーグルMEM培地「ニッスイ」①[日水製薬株式会社]に牛胎仔血清を10%加えたものを使用した。

② 細胞維持培地

以下の組成の培地を使用した。

| | |
|-----------------------|----------|
| イーグルMEM培地「ニッスイ」① | 1,000 ml |
| 10%NaHCO ₃ | 14 ml |
| L-グルタミン(30 g/l) | 9.8 ml |
| 100×MEM用ビタミン液 | 30 ml |
| 10%アルブミン | 20 ml |
| 0.25%トリプシン | 20 ml |

4) ウイルス浮遊液の調製

① 細胞の培養

細胞増殖培地を用い、使用細胞を組織培養用フラスコ内に単層培養した。

② ウイルスの接種

単層培養後にフラスコ内から細胞増殖培地を除き、試験ウイルスを接種した。次に、細胞維持培地を加えて37℃±1℃の炭酸ガスインキュベーター(CO₂濃度:5%)内で1~5日間培養した。

③ ウイルス浮遊液の調製

培養後、倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態を観察し、細胞に形態変化(細胞変性効果)が起きていることを確認した。次に、培養液を遠心分離(3,000 r/min, 10分間)し、得られた上澄み液を精製水で10倍に希釈し、ウイルス浮遊液とした。

5) 試験操作

検体1 mlにウイルス浮遊液0.1 mlを添加、混合し、作用液とした。室温で作用させ、15及び30秒並びに1, 3及び10分後に細胞維持培地を用いて10倍に希釈した。

なお、精製水を対照として同様に試験し、開始時及び10分後について測定を行った。

6) ウイルス感染価の測定

細胞増殖培地を用い、使用細胞を組織培養用マイクロプレート(96穴)内で単層培養した後、細胞増殖培地を除き細胞維持培地を0.1 mlずつ加えた。次に、作用液の希釈液0.1 mlを4穴ずつに接種し、37℃±1℃の炭酸ガスインキュベーター(CO₂濃度:5%)内で4~7日間培養した。培養後、倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態変化(細胞変性効果)の有無を観察し、Reed-Muench法により50%組織培養感染量(TCID₅₀)を算出して作用液1 ml当たりのウイルス感染価に換算した。

以 上