

試験報告書

依頼者 株式会社 テクノ菱和

一般財団法人

日本食品分析センター

東京都渋谷区元代々木町52番1号



検体 本報告書中

表題 ウイルス不活化試験

2023 年 01 月 17 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をご報告いたします。

ウイルス不活化試験

1 依頼者

株式会社 テクノ菱和

2 検体

- 1) 殺菌剤生成装置から採水した殺菌剤
- 2) 殺菌剤生成用原水 工業用精製水(冷却)
- 3) 殺菌剤生成用原水 工業用精製水(室温)

3 試験概要

検体にウイルス液を添加，混合し(以下「試験液」という。)，所定時間後に試験液中のウイルス感染価を測定した。また，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。

4 試験結果

1) 予備試験(中和条件の確認)

細胞維持培地で試験液を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確認した。

2) ウイルス感染価の測定

結果を表-1に示した。また，使用細胞及び培地を表-2，試験条件を表-3に示した。

表-1 試験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	5分後	10分後	30分後
ネコカリシ ウイルス*1, 2	検体1)	—	1.6	1.7	<1.5
	検体2)	—	—	—	4.3
	検体3)	—	—	—	4.5
	対照(精製水)	5.0	—	—	4.5
アデノウイルス*2	検体1)	—	3.0	2.8	1.7
	検体2)	—	—	—	5.5
	検体3)	—	—	—	4.7
	対照(精製水)	5.0	—	—	5.0
インフルエンザ ウイルス*3	検体1)	—	<1.5	<1.5	<1.5
	検体2)	—	—	—	3.5
	検体3)	—	—	—	4.7
	対照(精製水)	5.3	—	—	5.0

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

保存温度 : 室温

<1.5 : 検出せず

*1 ノロウイルスの代替ウイルス

*2 ウイルス液は培養液を精製水で1000倍に希釈したものを使用した。

*3 ウイルス液は培養液を精製水で100倍に希釈したものを使用した。

表-2 使用細胞及び培地

使用細胞	ネコカリシウイルス : CRFK細胞[大日本製薬株式会社] アデノウイルス : HEp-2細胞 HEp-2 03-108[大日本製薬株式会社] インフルエンザウイルス : MDCK (NBL-2)細胞 JCRB 9029株	
細胞増殖培地	10 %牛胎仔血清加イーグルMEM培地「ニッスイ」①[日水製薬株式会社]	
細胞維持培地	ネコカリシウイルス及びアデノウイルス 2 %牛胎仔血清加イーグルMEM培地「ニッスイ」① インフルエンザウイルス イーグルMEM培地「ニッスイ」①	1000 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

表-3 試験条件

試験ウイルス	<i>Feline calicivirus</i> F-9 ATCC VR-782(ネコカリシウイルス) <i>Human adenovirus</i> 5 adenoid 75 ATCC VR-5(アデノウイルス) <i>Influenza A virus</i> (H1N1) A/PR/8/34 ATCC VR-1469 (インフルエンザウイルス)
ウイルス液	ネコカリシウイルス及びアデノウイルス 細胞培養後のウイルス培養液を遠心分離して得られた上澄み液を精製水で1000倍希釈 インフルエンザウイルス 細胞培養後のウイルス培養液を遠心分離して得られた上澄み液を精製水で100倍希釈
試験液	検体1 mLにウイルス液0.1 mLを添加
保存条件	検体1) : 5, 10及び30分後(室温) 検体2)及び3) : 30分後(室温)
中和条件	細胞維持培地で10倍希釈
対照	精製水
感染価測定方法	TCID ₅₀ 法

以 上