



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

第 14026705001-01 号 page 1/4

2014年(平成26年)04月15日

# 試験報告書

依頼者 株式会社 ワークソリューション

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 ソルパット除菌装置 (試験用)

表題 ウイルス不活化試験

2014年(平成26年)03月19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 ワークソリューション

### 2 検体

ソルパット除菌装置（試験用）

### 3 試験目的

検体のネコカリシウイルスに対する不活化試験を行う。

### 4 試験概要

プラスチックシャーレにネコカリシウイルスのウイルス浮遊液を滴下したものを試料とした。依頼者指定の方法により試料を検体内に設置し、所定時間検体を照射させ、ウイルス感染価を測定した。

なお、ネコカリシウイルスは、細胞培養が不可能なノロウイルスの代替ウイルスとして広く使用されている。

### 5 試験結果

結果を表-1に示した。

表-1 試料の感染価測定結果

試験ウイルス	区分		log TCID <sub>50</sub> /個*1
ネコカリシ ウイルス*2	検体照射前	—	5.7
	検体照射後	約4秒間	<1.5
		約6秒間	<1.5
		約8秒間	<1.5
		約10秒間	<1.5

TCID<sub>50</sub>: median tissue culture infectious dose, 50 %組織培養感染量

ウイルス浮遊液: 精製水で10倍に希釈したもの

<1.5: 検出せず

\*1 試料1個当たりのTCID<sub>50</sub>の対数値

\*2 ノロウイルスの代替ウイルス

## 6 試験方法

### 1) 試験ウイルス

*Feline calicivirus* F-9 ATCC VR-782(ネコカリシウイルス)

### 2) 使用細胞

CRFK細胞[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

イーグルMEM培地「ニッスイ」①に牛胎仔血清を2%加えたものを使用した。

### 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(CO<sub>2</sub>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)が起こっていることを確認した。次に、培養液を遠心分離(3000 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

プラスチックシャーレ(φ60 mm)内にウイルス浮遊液0.1 mLを滴下したものを試料とした。依頼者指定の方法により試料を検体内に設置し、検体を約4, 6, 8及び10秒間照射させた。照射後、細胞維持培地1 mLを用いて試料中からウイルス浮遊液を洗い出し、ウイルス感染価を測定した。

なお、検体未照射の試料についても同様にウイルス感染価を測定し、検体照射前とした。

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、試料洗い出し液を細胞維持培地を用いて10倍段階希釈した。試料洗い出し液及びその希釈液0.1 mLを4穴ずつに接種し、37 °C±1 °Cの炭酸ガスインキュベーター(CO<sub>2</sub>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(TCID<sub>50</sub>)を算出して試料1個当たりのウイルス感染価に換算した。

以 上