

試験報告書

Test report

依頼者 株式会社 ワークソリューション
Requester Work Solution Co., Ltd.

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



General Incorporated Foundation
Japan Food Research Laboratories
52-1, Motoyoyogicho, Shibuya-ku, Tokyo

検体 ソルパット除菌装置 (試験用)
Specimen Solpat sterilizer (for testing)

表題 ウイルス不活化試験
title Virus inactivation test

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。

March 19, 2014 We would like to report the results of the tests on the above samples submitted to our center.

ウイルス不活化試験

Virus inactivation test

1 依頼者 Requester

株式会社 ワークソリューション Work Solution Co., Ltd.

2 検体 Specimen

ソルパット除菌装置 (試験用) Solpat sterilizer (for testing)

3 試験目的 Test purpose

検体のネコカリシウイルスに対する不活化試験を行う。

Perform an inactivation test for the sample feline calicivirus.

4 試験概要 Exam outline

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。

A sample was prepared by dropping a feline calicivirus virus suspension solution onto a plastic petri dish. The sample was placed in the sample by the method specified by the client, the sample was irradiated for a predetermined time, and the viral infectivity titer was measured. Feline calicivirus is widely used as a norovirus substitute virus that cannot be cultured in cells.

5 試験結果 Test results

結果を表-1に示した。 The results are shown in Table 1.

表-1 試料の感染価測定結果

Table-1 Sample infectious titer measurement results

試験ウイルス Test virus	区分 Classification		log TCID ₅₀ /個*1	
ネコカリシ ウイルス*2 Feline calicivirus	検体照射前 Before sample irradiation	—	5.7	
	検体照射後 After sample irradiation	約4秒間	<1.5	About 4 seconds
		約6秒間	<1.5	About 6 seconds
		約8秒間	<1.5	About 8 seconds
		約10秒間	<1.5	About 10 seconds

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

Tissue culture infection amount

ウイルス浮遊液: 精製水で10倍に希釈したもの

Virus suspension: diluted 10-fold with purified water

<1.5: 検出せず

<1.5: Not detected

*1 試料1個当たりのTCID₅₀の対数値 Log of TCID50 per sample

*2 ノロウイルスの代替ウイルス Norovirus alternative virus

6 試験方法 Test method

1) 試験ウイルス Test virus

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

2) 使用細胞 Cells used

CRFK細胞 [大日本製薬株式会社] CRFK cells [Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.]

3) 使用培地 Medium used

① 細胞増殖培地 Cell proliferation medium

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。 Eagle's MEM medium "Nissui" (1) [Nissui Pharmaceutical Co., Ltd.] with 10% fetal bovine serum added was used.

② 細胞維持培地 Cell maintenance medium

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。 Eagle's MEM medium [Nissui] (1) with 2% fetal bovine serum added was used.

4) ウイルス浮遊液の調製 Adjustment of virus suspension

① 細胞の培養 Cell culture

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。 The cells used were monolayer-cultured in a tissue culture flask using a cell proliferation medium.

② ウイルスの接種 Virus inoculation

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。 After monolayer culture, the cell proliferation medium was removed from the flask and inoculated with the test virus. Next, a cell maintenance medium was added, and the cells were cultured in a carbon dioxide incubator (CO₂ concentration: 5%) at 37°C. ± 1°C. for 1 to 5 days.

③ ウイルス浮遊液の調製 Adjustment of virus suspension

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(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。

After culturing, the morphology of the cells was observed using an inverted phase-contrast microscope, and it was confirmed that the cells had a morphological change (cytopathic effect).

Next, the culture solution was centrifuged (3000 r/min, 10 minutes), and the obtained supernatant was diluted 10-fold with purified water to prepare a virus suspension.

5) 試験操作

Method of operation

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。

A sample was prepared by dropping 0.1 mL of virus suspension into a plastic petri dish (diameter 60 mm).

The sample was placed in the sample by the method specified by the client, and the sample was irradiated for about 4, 6, 8 and 10 seconds.

After irradiation, the virus suspension was washed out from the sample using 1 mL of cell maintenance medium, and the virus infectivity titer was measured.

The virus infectivity titer was measured in the same manner for the sample not irradiated with the sample, and the sample was taken before the sample was irradiated.

6) ウイルス感染価の測定 Measurement of viral load titer

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(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)を算出して試料1個当たりのウイルス感染価に換算した。

The cells used were monolayer-cultured in a microplate for tissue culture (96 holes) using a cell proliferation medium, and then 0.1 mL of a cell maintenance medium was added by removing the cell proliferation medium.

The sample wash was then diluted 10-fold with cell maintenance medium.

The sample wash-out solution and 0.1 mL of its diluted solution were inoculated into 4 holes at a time, and cultured in a carbon dioxide incubator (CO₂ concentration: 5%) at 37 ° C. ± 1 ° C. for 4 to 7 days.

After culturing, observe the presence or absence of cell morphological changes (cytopathic effect) using an inverted phase-contrast microscope, calculate the 50% tissue culture infection amount (TCID₅₀) by the Reed-Muench method, and viral infection per sample. Converted to price.

以 上
that's all