



試験報告書

依頼者 コーベビオケミア株式会社

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 OXPro-P ピンマイク型除菌剤

表題 ウイルス不活化試験

2010年(平成22年)04月16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

コーベピオケミア株式会社

2 検 体

OXPro-P ピンマイク型除菌剤

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

シャーレ(φ60 mm)にインフルエンザウイルス浮遊液を2 mL入れ、試料とした。専用容器に検体1錠を入れ、密閉容器(容量:9 L)の蓋の内側に貼り付けた。この容器内の底部に試料を設置し、室温で作用させ、作用1及び24時間後にウイルス感染価を測定した。

5 試験結果

結果を表-1に示した。

表-1 検体を作用させながら室温で保存した試料の感染価測定結果

試験ウイルス	測定	試料	Log TCID ₅₀ /mL ^{*1}
インフルエンザ ウイルス	作用前	対照	5.8
		検体 ^{*2}	3.5
	作用 1時間後	対照	5.3
		検体 ^{*2}	<1.5
	作用 24時間後	対照	5.0
		検体 ^{*2}	<1.5

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

*1 試料1 mL当たりのTCID₅₀の対数値

*2 専用容器に検体1錠を入れ、密閉容器(容量: 9 L)の蓋の内側に貼り付けた。

この容器内の底部に試料1個を設置した。

試料: ウイルス浮遊液(精製水を用いて10倍に希釈したもの)2 mLをシャーレ(φ 60 mm)に入れたもの

対照: 検体を設置しない密閉容器内で保存した試料

<1.5: 検出せず

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。

データの説明



表-1 検体を作用させながら室温で保存した試料の感染価測定結果

試験ウイルス	測定	試料	Log TCID ₅₀ /mL*1
インフルエンザウイルス	作用前	対照	5.8
	作用1時間後	検体*2	3.5
		対照	5.3
	作用24時間後	検体*2	<1.5
		対照	5.0

10 の 5.8 乗=630,957.3
(100%)

10 の 3.5 乗=3,162.2
(0.5%に低減)

10 の <1.5 乗=0.0
(検出されず)

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

*1 試料1 mL当たりのTCID₅₀の対数値

*2 専用容器に検体1錠を入れ、密閉容器(容量: 9 L)の蓋の内側に貼り付けた。
この容器内の底部に試料1個を設置した。

試料: ウイルス浮遊液(精製水を用いて10倍に希釈したもの)2 mLをシャーレ(φ 60 mm)に入れたもの

対照: 検体を設置しない密閉容器内で保存した試料

<1.5: 検出せず

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	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

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

シャーレ(φ60 mm)にウイルス浮遊液を2 mL入れ、試料とした。専用容器に検体1錠を入れ、密閉容器(容量：9 L)の蓋の内側に貼り付けた。この容器内の底部に試料1個を設置し、室温で1及び24時間作用させた。

なお、検体を設置しない密閉容器内で保存した試料について同様に試験し、対照とした。

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)を算出して試料1 mL当たりのウイルス感染価に換算した。

以 上