

ウイルス不活化試験

1 依頼者

日飯工業株式会社
株式会社 マッキンリー
宝永電機株式会社
ミツヤテック株式会社

2 検 体

CELA水 pH6.5 50ppm

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

検体にネコカリシウイルス(ノロウイルスの代替ウイルス)の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，30秒並びに1及び5分後に作用液のウイルス感染価を測定した。

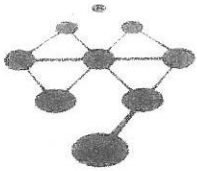
なお，あらかじめ予備試験を行い，ウイルス感染価の測定方法について検討した。

5 試験結果

結果を表-1に示した。

また，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。

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。



Japan
Food
Research
Laboratories

試験報告書

第 208092266-001 号
2008年(平成20年)11月07日

依頼者 日鋳工業株式会社
株式会社 マッキンリー
宝永電機株式会社
ミツヤテック株式会社

検体 CELA水 pH6.5 50ppm

表題 ウイルス不活化試験

2008年(平成20年)09月22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

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 ^{*1}			
		開始時	30秒後	1分後	5分後
ネコカリシ ウイルス ^{*2}	検 体	6.8	4.5	3.7	3.0
	対 照	6.8	7.3	6.7	6.8

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

*1 作用液1 ml当たりのTCID₅₀の対数値

*2 ノロウイルスの代替ウイルス

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

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 °C ± 1 °C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(3,000 r/min, 10分間)し、得られた上澄み液を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、30秒並びに1及び5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、開始時についても測定を行った。

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



Japan
Food
Research
Laboratories

試験報告書

第 208092266-002号
2008年(平成20年)11月11日

依頼者 日飯工業株式会社
株式会社 マッキンリー
宝永電機株式会社
ミツヤテック株式会社

検体 CELA水 pH6.5 50ppm

表題 殺菌効果試験

2008年(平成20年)09月22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

殺菌効果試験

1 依頼者

日飯工業株式会社
株式会社 マッキンリー
宝永電機株式会社
ミツヤテック株式会社

2 検 体

CELA水 pH6.5 50ppm

3 試験目的

検体の細菌に対する殺菌効果を試験する。

4 試験概要

検体に枯草菌(芽胞)、大腸菌(血清型O157:H7、ペロ毒素Ⅰ及びⅡ型産生株)又は黄色ブドウ球菌の菌液を接種後(以下「試験液」という。)、室温で保存し、経時的に試験液中の生菌数を測定した。

なお、あらかじめ予備試験を行い、生菌数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、試験液をSCDLP培地で10倍に希釈することにより、検体の影響を受けずに生菌数が測定できることを予備試験により確認した。

表-1 試験液1 ml当たりの生菌数測定結果

試験菌	対 象	生菌数 (/ml)				
		開始時*	1分後	5分後	15分後	20分後
枯草菌 (芽胞)	検 体	8.8×10^6	5.2×10^6	1.7×10^3	40	20
	対 照	8.8×10^6	5.1×10^6	7.6×10^6	5.5×10^6	7.6×10^6
大腸菌 (O157:H7)	検 体	2.4×10^6	<10	—	—	—
	対 照	2.4×10^6	3.2×10^6	—	—	—
黄色 ブドウ球菌	検 体	3.4×10^6	<10	—	—	—
	対 照	3.4×10^6	4.6×10^6	—	—	—

<10：検出せず

対照：精製水(黄色ブドウ球菌は生理食塩水)

保存温度：室温

* 添加菌液の生菌数を測定し、試験液1 mlあたりに換算した。

—：実施せず

6 試験方法

1) 試験菌

- ① *Bacillus subtilis* NBRC 3134(枯草菌)
- ② *Escherichia coli* ATCC 43895(大腸菌, 血清型O157:H7, ペロ毒素 I 及び II 型産生株)
- ③ *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* NBRC 12732(黄色ブドウ球菌)

2) 菌数測定用培地及び培養条件

SCDLP寒天培地[日本製菓株式会社], 混積平板培養法, 35 °C ± 1 °C, 2日間

3) 試験菌液の調製

試験菌①：

SCD寒天培地[栄研化学株式会社]で30 °C ± 1 °C, 7~10日間培養した試験菌の菌体を生理食塩水に懸濁させ, 70 °C ± 1 °C, 20分間加熱し, 栄養細胞を死滅させた。この懸濁液を遠心分離して上澄み液を除いた後, 菌体を精製水に懸濁させ, 菌数が約 10^8 /mlとなるように調製し, 試験菌液とした。

試験菌②及び③：

試験菌を普通寒天培地[栄研化学株式会社]で35 °C ± 1 °C, 18~24時間培養した後, 生理食塩水に浮遊させ, 菌数が約 10^8 /mlとなるように調製し, 試験菌液とした。

4) 試験操作

検体10 mlに試験菌液を0.1 ml接種し、試験液とした。室温で保存し、1分後(試験菌①は1, 5, 15及び20分後)に試験液をSCDLP培地[日本製薬株式会社]を用いて直ちに10倍に希釈した。この希釈液の生菌数を菌数測定用培地を用いて測定した。

なお、対照として、精製水(黄色ブドウ球菌は生理食塩水)を用いて同様に試験し、開始時についても生菌数を測定した。

以 上