

Japan Food Research Laboratories

試験報告書 第 200811303-001 号 2008年(平成20年)12月23日

依頼者 清水建設株式会社(環境・衛生洗浄研究会)

検体 ハイパワー酸化水(ジアムーバー) 50ppm

表題 ウイルス不活化試験

2008年(平成20年)11月20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。

日本食品分析センター

東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 大田区 千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター

第 200811303-001 号 page 1/2

ウイルス不活化試験

1 依頼者 清水建設株式会社(環境・衛生洗浄研究会)

2 検体 ハイパワー酸化水(ジアムーバー) 50ppm

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 検体にインフルエンザ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、15、60及び180秒後に作用液のウイルス感染性を測定した。なお、あらかじめ予備試験を行い、ウイルス感染性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、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性が測定できることを予備試験により確認した。

表-1 作用液のウイルス感染性測定結果

試験ウイルス	対象	開始時	15秒後	60秒後	180秒後
インフルエンザウイルス	検体	6.7	<1.5	<1.5	<1.5
	対照	6.7	***	***	***

TCID<sub>50</sub>: median tissue culture infectious dose, 50% 組織培養感染量  
 \* 作用液1 ml当たりのTCID<sub>50</sub>の対数値  
 開始時: 作用開始直後の対照のTCID<sub>50</sub>を測定し、開始時とした。  
 対照: 精製水  
 作用液: 室温  
 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  
 \*\*\*: 試験失敗せず

日本食品分析センター

Japan Food Research Laboratories

試験報告書 第 20081303-001 号 2008年(平成20年)04月04日

依頼者 清水建設株式会社(環境・衛生洗浄研究会)

検体 本報告書中

表題 ウイルス不活化試験

2008年(平成20年)02月18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。

日本食品分析センター

東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 大田区 千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター  
 東京都千代田区千代田1-10-10 日本食品分析センター

第 20081303-001 号 page 1/3

ウイルス不活化試験

1 依頼者 清水建設株式会社(環境・衛生洗浄研究会)

2 検体 1) ハイパワー酸化水(ジアムーバー) 50ppm  
2) ハイパワー酸化水(ジアムーバー) 100ppm

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、15、60及び180秒後に作用液のウイルス感染性を測定した。なお、あらかじめ予備試験を行い、ウイルス感染性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、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性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。

日本食品分析センター

第 200811303-001 号 page 2/2

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(O/N1)

2) 使用細胞 MDCK (MDCK-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(日本製薬株式会社)に牛胎仔血清を10%加入したものを使用した。  
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 1,000 ml  
10% FBS 10 ml  
L-グルタミン(30 mg/l) 9.9 ml  
100×MEM用ビタミン液 10 ml  
10% αブドウ糖 20 ml  
0.25% β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、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での炭酸ガスインキュベーター(CO<sub>2</sub>濃度: 5%)内で1~3日間培養した。  
③ ウイルス浮遊液の調製 培養後、倒立位相顕微鏡を用いて細胞の形態変化(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(3,000 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 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、15、60及び180秒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、開始時及び180秒後について測定を行った。

日本食品分析センター

第 200811303-001 号 page 3/3

6) ウイルス感染性の測定 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。次に、細胞増殖培地を除き細胞維持培地を0.1 mlずつ追加した。次に、作用液の希釈液0.1 mlを47穴ずつに接種し、37℃±1で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-Mench法により50%組織培養感染量(TCID<sub>50</sub>)を算出して作用液1 ml当たりのウイルス感染性を測定した。

以上

日本食品分析センター

第 20081303-001 号 page 2/2

6 試験方法

1) 試験ウイルス ノロウイルス(代替ウイルス) Gifu 9131(レジオナ)

2) 菌数測定用培地 B-CFE (大日本製薬株式会社) 単層培養培地、35℃±1で、7日間培養した。

3) 作用液の調製 検体10 mlにウイルス浮遊液0.1 mlを添加、混合し、作用液とした。20℃±1で保存し、15、60及び180秒後に作用液を10倍に希釈し、試験液中のウイルス感染性を測定した。なお、対照として精製水を用いて同様に試験し、開始時及び180秒後に生菌数を測定した。

以上

日本食品分析センター

第 20081303-001 号 page 2/3

表-1 作用液のウイルス感染性測定結果

試験ウイルス	対象	開始時	15秒後	60秒後	180秒後
ネコカリシウイルス*	検体1)	7.0	<1.5	<1.5	<1.5
	検体2)	7.0	<1.5	<1.5	<1.5
	対照	7.0	***	***	6.7

TCID<sub>50</sub>: median tissue culture infectious dose, 50% 組織培養感染量  
 \*1 作用液1 ml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  
 開始時: 作用開始直後の対照のTCID<sub>50</sub>を測定し、開始時とした。  
 対照: 精製水  
 作用液: 室温  
 ウイルス浮遊液: 精製水で10倍に希釈したもの  
 \*\*\*: 試験失敗せず

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 (F9)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(日本製薬株式会社)に牛胎仔血清を10%加入したものを使用した。  
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10%加入したものを使用した。

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。

日本食品分析センター