



Japan
Food
Research
Laboratories

試験報告書

第 206041685-001 号
2006年(平成18年)06月23日

依頼者 株式会社 ホームクオリティ

検体 ステラブリーズ

表題 ウイルス不活化試験

2006年(平成18年)04月13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

ウイルス不活化試験

1 依頼者

株式会社 ホームクオリティ

2 検体

ステラプリーズ

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

シャーレにインフルエンザウイルス浮遊液を2 ml入れ、検体と共に容器(大きさ：531 mm×361 mm×265 mm)内に入れた。検体を作動させながら室温で保存し、保存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 検体を作動させながら室温で保存したウイルス浮遊液の感染価測定結果

試験ウイルス	対象	log TCID ₅₀ /ml*
		作動24時間後
インフルエンザ ウイルス	検体	2.5
	対照	7.7

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

* ウイルス浮遊液1 ml当たりのTCID₅₀の対数値

対照: 検体未処理

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

Eagle MEM(0.06 mg/mlカナマイシン含有)に新生コウシ血清を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。

Eagle MEM	1,000 ml
10 %NaHCO ₃	12~22 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、MDCK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2~5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、上澄み液を得た。これをりん酸緩衝生理食塩水で10倍に希釈し、ウイルス浮遊液とした。

5) 試験操作

ウイルス浮遊液2 mlを入れたシャーレを検体と共に容器(大きさ:531 mm×361 mm×265 mm)内に入れ,ランプがウイルス浮遊液に照射されないように設置した。検体を作動させながら室温で保存し,作動24時間後のウイルス浮遊液についてウイルス感染価の測定を行った。

なお,検体未処理のウイルス浮遊液について同様に試験し,対照とした。

また,保存時に精製水を入れたシャーレを容器内に共に設置し,保存を行った。

6) ウイルス感染価の測定

細胞増殖培地を用い,MDCK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,ウイルス浮遊液の希釈液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7~10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)を算出してウイルス浮遊液1 ml当たりのウイルス感染価に換算した。

以 上