



Japan
Food
Research
Laboratories

第 10087763001-01 号
2010年(平成22年)11月02日

試験報告書

依頼者 株式会社 片野工業



検体 空気清浄機(エアサクセスプロ)

表題 ウイルス不活化試験

2010年(平成22年)10月07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

株式会社 片野工業

2 検 体

空気清浄機(エアサクセスプロ)

なお、依頼者から試験ボックスの提供を受けた。

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のウイルス浮遊液を2 ml入れ、試料とした。検体を設置した試験ボックスの底部に試料1個を設置し、検体を作動させながら室温で作用させ、作用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試料の感染価測定結果

試験ウイルス	測定	対 象	log TCID ₅₀ /ml ^{*1}
インフルエンザ ウイルス	作用前	対 照	6.5
	作用 24時間後	検 体 ^{*2}	2.5
		対 照	6.5

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

*1 試料1 ml当たりのTCID₅₀の対数值

*2 検体を設置した試験ボックスの底部に試料1個を設置し、検体を作動させながら保存した。

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(φ60 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

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。検体を設置した試験ボックスの底部に試料1個を設置し、検体を作動させながら室温で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 °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 ml当たりのウイルス感染価に換算した。

以 上