

試験報告書

依頼者 株式会社 ゼノン

一般財団法人

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 特殊アルカリ電解水(ピュアステラ pH12.5)

表 題 ウイルス不活化試験

2020年10月12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 ゼノン

2 検体

特殊アルカリ電解水(ピュアステラ pH12.5)

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液を添加，混合し(以下「作用液」という。)，所定時間後に作用液中のウイルス感染価を測定した。また，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

1) 予備試験(中和条件の確認)

細胞維持培地で作用液を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確認した。

2) ウイルス感染価の測定

結果を表-1に示した。また，使用細胞及び培地を表-2，試験条件を表-3に示した。

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		
		開始時	30秒後	60秒後
インフルエンザ ウイルス	検体	—	<1.5	<1.5
	対照(精製水)	6.5	—	6.5

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

作用温度: 室温

<1.5: 検出せず

表-2 使用細胞及び培地

使用細胞	MDCK (NBL-2) 細胞 JCRB 9029株	
細胞増殖培地	10 %牛胎仔血清加イーグルMEM培地「ニッスイ」①[日水製薬株式会社]	
細胞維持培地	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

表-3 試験条件

試験ウイルス	<i>Influenza A virus</i> (H1N1) A/PR/8/34 ATCC VR-1469 (インフルエンザウイルス)
ウイルス液	細胞培養後のウイルス培養液を遠心分離して得られた上澄み液
作用液	検体1 mLにウイルス液0.1 mLを添加
作用条件	30秒, 60秒(室温)
中和条件	細胞維持培地で10倍希釈
対照	精製水
感染価測定方法	TCID ₅₀ 法

以 上

ウイルス不活化試験補足

検体名

特殊アルカリ電解水(ピュアステラ pH12.5)

試験報告書第20083254001-0201号について補足する。

1) ウイルス液の調製

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ウイルス液とした。

2) 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、適宜希釈後の作用液及び対照を、細胞維持培地を用いて10倍段階希釈した。その希釈液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)を算出して作用液1 mL当たりのウイルス感染価に換算した。