



Japan
Food
Research
Laboratories

第 09005417001-01 号
2009年(平成21年)11月05日

試験報告書

依頼者 株式会社 ガイア

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 ガイア光触媒加工マスク素材不織布

表 題 ウイルス不活化試験

2009年(平成21年)09月15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 ガイア

2 検 体

ガイア光触媒加工マスク素材不織布

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

約3 cm×3 cmの大きさに切断した検体(以下「試料」という。)にインフルエンザウイルスの浮遊液を滴下し、ブラックライト照射下及び遮光下で1及び6時間、室温保存した後、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、検体による細胞変性効果について検討した。

5 試験結果

結果を表-1に示した。

なお、試料の洗い出し液そのものについて、検体による細胞変性効果が認められないことを予備試験により確認した。

表-1 試料洗い出し液のウイルス感染価測定結果

試験ウイルス	測定	対 象	log TCID ₅₀ /ml ^{*1}	
			光照射下 ^{*2}	遮光下
インフルエンザ ウイルス	接種直後	対 照	5.7	5.7
		検 体	4.3	4.5
	1時間後 ^{*3}	対 照	5.3	5.3
		検 体	0.7	3.7
	6時間後 ^{*3}	対 照	5.3	5.5
		検 体		

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

接種直後: 光照射下及び遮光下共通

対照: プラスチックシャーレ

*1 洗い出し液1 ml当たりのTCID₅₀の対数值

*2 光照射条件: 約100 μW/cm²(ドーム型紫外線強度計測定値)

[ブラックライトブルーFL20S BL-B 20 W, 1本]

*3 室温保存

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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ の炭酸ガスインキュベーター(CO_2 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)が起き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浮遊液とした。

5) 試料の調製

検体を約3 cm×3 cmの大きさに切断した後、プラスチックシャーレに入れ、ブラックライト(ブラックライトブルー, FL20S BL-B 20 W)を12時間以上照射したものを試料とした。

6) 試験操作

試料にウイルス浮遊液を0.2 ml滴下し、ブラックライト照射下及び遮光下で室温保存した。

7) ウイルスの洗い出し

保存1及び6時間後、試料のウイルス浮遊液を細胞維持培地2 mlで洗い出した。

8) 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、洗い出し液及びその希釈液0.1 mlを4穴ずつに接種し、 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ の炭酸ガスインキュベーター(CO_2 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(TCID_{50})を算出して洗い出し液1 ml当たりのウイルス感染価に換算した。

なお、洗い出し液は遠心分離(3000 r/min, 10分間)し、得られた上澄み液についてウイルス感染価を測定した。

以 上