

試験報告書

依頼者 株式会社 国際メディカル研究所



検体 瞬間キラ〜+速効消臭くん

表題 ウイルス不活化試験

2012年(平成24年)02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。

本報告書を後に掲載するときは当センターの掲載版を必ず取りください。

日本食品分析センター

ウイルス不活化試験

- 1 依頼者
株式会社 国際メディカル研究所
- 2 検体
瞬間キラ〜+速効消臭くん
- 3 試験目的
検体のウイルスに対する不活化試験を行う。
- 4 試験概要
検体にアデノウイルス又はヒトヘルペス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、30及び60秒後に作用液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
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。

日本食品分析センター

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	15秒後	30秒後	60秒後
アデノウイルス	検体	5.3	2.5	2.7	2.7
	対照	5.3	—	—	6.0
ヒトヘルペスウイルス	検体	6.0	<1.5	<1.5	<1.5
	対照	6.0	—	—	6.0

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

* 作用液1 mL当たりのTCID₅₀の対数値

開始時: 作用開始直後の対照のTCID₅₀を測定し、開始時とした。

対照: 精製水

作用温度: 室温

<1.5: 検出せず

—: 実施せず

6 試験方法

- 1) 試験ウイルス
アデノウイルス5型
ヒトヘルペスウイルス: Human herpesvirus 1 KOS ATCC VR-1493
- 2) 使用細胞
HEp-2細胞 ATCC CCL-23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 %加えたものを使用した。
 - 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2 %加えたものを使用した。
- 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

- 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 °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、30及び60秒後に細胞維持培地を用いて10倍に希釈した。
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60秒後に測定を行った。
- 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、10倍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 ±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(アデノウイルスは7~14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、Read-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。

以上

日本食品分析センター

試験報告書

依頼者 株式会社 国際メディカル研究所



検体 瞬間キラ〜 + 速効消臭くん

表題 殺菌効果試験

2011年(平成23年)12月21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。

本報告書を転記・複製するときは当センターの同意を得る必要があります。

日本食品分析センター

殺菌効果試験

1 依頼者
株式会社 国際メディカル研究所

2 検体
瞬間キラ〜 + 速効消臭くん

3 試験目的
検体の細菌に対する殺菌効果を試験する。

4 試験概要
検体に枯草菌(芽胞)、大腸菌(血清型O157:H7, ペロ毒素I及びII型産生株)又は黄色ブドウ球菌の菌液を接種後(以下「試験液」という。), 室温で保存し, 経時的に試験液中の生菌数を測定した。
なお, あらかじめ予備試験を行い, 生菌数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, 試験液をSCDLP培地で10倍に希釈することにより, 検体の影響を受けずに生菌数が測定できることを予備試験により確認した。

日本食品分析センター

表-1 試験液1 mL当たりの生菌数測定結果

試験菌	対象	生菌数 (/mL)				
		開始時*	1分後	5分後	15分後	20分後
枯草菌 (芽胞)	検体	8.6×10^8	9.8×10^8	1.4×10^9	<10	<10
	対照	8.6×10^8	9.0×10^8	8.5×10^8	6.8×10^8	7.1×10^8
大腸菌 (O157:H7)	検体	3.1×10^6	<10	—	—	—
	対照	3.1×10^6	5.0×10^6	—	—	—
黄色 ブドウ球菌	検体	8.4×10^8	<10	—	—	—
	対照	8.4×10^8	7.2×10^8	—	—	—

<10: 検出せず

—: 実施せず

対照: 精製水(黄色ブドウ球菌は生理食塩水)

保存温度: 室温

* 菌液接種直後の対照の生菌数を測定し, 開始時とした。

日本食品分析センター

6 試験方法

1) 試験菌

- ① *Bacillus subtilis* NBRC 3134(枯草菌)
- ② *Escherichia coli* ATCC 43895(大腸菌, 血清型O157:H7, ペロ毒素I及びII型産生株)
- ③ *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* NBRC 12732(黄色ブドウ球菌)

2) 菌数測定用培地及び培養条件

SCDLP寒天培地[日本製薬株式会社], 湿積平板培養法, 35℃±1℃, 2日間

3) 試験菌液の調製

試験菌①

ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地[栄研化学株式会社]で

30℃±1℃, 7~10日間培養した試験菌の菌体を生理食塩水に懸濁させ, 70℃±1℃, 20分間加熱し, 栄養細胞を死滅させた。この懸濁液を遠心分離して上澄み液を除いた後, 菌体を生理食塩水に懸濁させ, 菌数が $10^8 \sim 10^9$ /mLとなるように調製し, 試験菌液とした。

試験菌②及び③

試験菌を普通寒天培地[栄研化学株式会社]で35℃±1℃, 18~24時間培養した後, 生理食塩水に浮遊させ, 菌数が $10^8 \sim 10^9$ /mLとなるように調製し, 試験菌液とした。

4) 試験操作

検体10 mLに試験菌液を0.1 mL接種し, 試験液とした。室温で保存し, 1分後(試験菌①は1, 5, 15及び20分後)に試験液をSCDLP培地[日本製薬株式会社]で直ちに10倍に希釈し, 試験液中の生菌数を菌数測定用培地を用いて測定した。

なお, 対照として精製水(試験菌③は生理食塩水)を用いて同様に試験し, 開始時についても生菌数を測定した。

以上

日本食品分析センター