

Japan Food Research Laboratories

試験報告書

Experiment Report

依頼者

Client

株式会社Eプラン

E-Plan Co. Ltd.

検体

Test Sample

スーパーアルカリイオン水 e-wash(SAIW) pH12.5

Super Alkali Ion Water e-wash (SAIW) pH12.5

表題

Test virus

ウイルス不活化試験

Virus Inactivation Experiment

試験概要

Test Method

検体に A 型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。

Applied the *Influenza A virus* by adding and mixing it to the sample (will be referred as interaction fluid) and measure the Virus Infectivity Titer. Moreover, a pretest was done to consider the measurement methods of the Virus Infectivity Titer.

試験結果

Test result

1) 予備実験（中和条件の確認）

1) Pre-test (checking the neutralization conditions)

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（表 3 中和条件を参照）

By diluting the interaction fluid at the cell maintenance culture, it was able to measure the Virus Infectivity Titer without the sample being affected (Table 3 shows the neutralization conditions)

2) ウィルス感染価の測定

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。

2) Measurement of Virus Infectivity Titer

The results are shown on Table 1. Moreover, the used cells and culture are shown on Table 2 and the testing conditions are shown on Table 3.

Table 1

試験 ウィルス Test virus	対象 Object	log TCID ₅₀ /mL		
		開始時 Start	30 秒後 30 sec.	2 分後 2 min.
A 型インフ ルエンザウ ィルス <i>Influenza</i> <i>A virus</i>	検体 Sample	-	<1.5	<1.5
	対象 Object (精製水) (Purified water)	7.0	-	7.3

TCID₅₀: median tissue culture infectious dose

作用温度 Operative temperature

<1.5: 検出せず Not detected

Table 2

使用細胞 Used cell	MDCK (NBL-2) 細胞 JCRB 9029 株 MDCK (NBL-2) Cell JCRB 9029
細胞増殖培地 Cell growthculture	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] 10% fetal calf serum eagle MEM culture
細胞維持培地 Cell maintenance culture	イーグル MEM 培地「ニッスイ」 1000mL 10%NaHCO ₃ 14 mL L-グルタミン (30g/L) 9.8 mL 100XMEM 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 Eagle MEM culture 1000 mL 10%NaHCO ₃ 14 mL L-Glutamine (30g/L) 9.8 mL 100XMEM vitamin fluid 30 mL 10% Albumin 20 mL 0.25% Trypsin 20 mL

Table 3

試験ウイルス Test Virus	Influenza A virus (H1N1) A/PR/8/34 ATCC VR01469 (A型インフルエンザウイルス)
ウイルス液 Virus fluid	細胞培地後のウイルス培養液を遠心分離して得られた上澄み液 Supernatant obtained by centrifugation of virus culture medium mixed with cell culture
作用液 Interaction fluid	検体 1 mL にウイルス液 0.1 mL を添加 Add 0.1 mL of virus fluid to 1 mL of sample
作用条件 Stimulus condition	30 秒, 2 分 (室温) 30 sec., 2 min. (Room temperature)
中和条件 Neutralization condition	細胞維持培地で 10 倍希釈 Dilute it by 10 fold at the cell managing culture
対照 Object	精製水 Purified Water
感染価測定方法 Infectivity Measurement Method	TCID ₅₀ 法 Median tissue culture infectious dose (TCID ₅₀)

試験報告書

依頼者 株式会社 Eプラン

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 スーパーアルカリイオン水e-wash (SAIW) pH12.5

表 題 ウイルス不活化試験

2020 年 03 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 Eプラン

2 検 体

スーパーアルカリイオン水e-wash (SAIW) pH12.5

3 試験概要

検体にA型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。

4 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(表-3 中和条件を参照)。

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	2分後
A型インフルエンザ ウイルス	検 体	—	<1.5	<1.5
	対照(精製水)	7.0	—	7.3

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[日本製薬株式会社]	
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 (A型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, 2分(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