

187017/18\_0017

リビングテクノロジー株式会社 殿

## 試 験 報 告 書

クロール水によるウイルス不活化評価試験

北環発 18\_0017 号  
平成 18 年 7 月 31 日

神奈川県相模原市北里 1 丁目 1 5 番 1 号  
財団法人 北里環境科学センター  
理事長 田 中 晴 雄

試験内容を公表する場合は、事前に当センターの承諾が必要です。  
また、本報告書記載の試験結果は供試品に対するものであり  
荷口（ロット）全体の品質を証明するものではありません。

## 1. 試験目的

貴社の食塩水電気分解装置『ミニクローラ』の生成水（以下、クローラ水）によるウイルスの不活化効果を評価する。

## 2. 供試ウイルス

① *Influenza virus A/ニューカト<sup>ノ</sup>=7/20/99*

② *Feline calicivirus F-9* 株

## 3. 試験品

最終有効塩素濃度※ 約 90ppm のクローラ水

：『ミニクローラ』を 30 分×2 回運転して生成したクローラ水(有効塩素濃度 約 180ppm)を用いて、ウイルス液と等量混合して作用させる。

※有効塩素濃度測定器：HACH 製 Pocket Colorimeter

## 4. 作用時間

0 分、15 分、30 分、120 分

## 5. 試験方法

### 1) 供試ウイルスの培養方法

①インフルエンザウイルスは発育鶏卵の奨尿液腔に接種し、フラン器で培養後、奨尿液を採取し、密度勾配遠心法により精製したウイルスを使用した。

②ネコカリシウイルスは、猫腎臓細胞（CRFK：Crandell-Ress feline kidney）に感染させ、90%以上の細胞が細胞変性効果（CPE：Cytopathogenic effect）を示したとき-80℃の冷凍庫に凍結保存した。その後凍結融解操作を2回繰り返した後、35,000 rpm で10分間遠心した上澄みを試験用ウイルスとして使用時まで-80℃に保存した。

### 2) 試験手順

試験管内において、400 $\mu$ lのクローラ水（試験品）若しくはPBS（対照）に、約 $10^6$  TCID<sub>50</sub>/mlの試験ウイルス液400 $\mu$ lをそれぞれ接種し、ボルテックスでよく混合して、室温で所定の作用時間反応させた。所定時間後、直ちに3%チオ硫酸ナトリウム生理食塩液を40 $\mu$ l添加して、反応を停止した。この溶液を試料原液としてウイルス感染価を測定した。なお、反応時間0分は、予めクローラ水にチオ硫酸ナトリウム生理食塩液を添加して中和した試料を用いた。

### 3) ウイルス感染価の測定

試料原液をPBSで10倍階段希釈を行い、96穴マイクロプレートに作製し

た細胞（：インフルエンザは MDCK 細胞、ネコカリシウイルスは CRFK 細胞を用いた）に、各積列毎に 10 穴ずつ、1 穴あたり 25  $\mu$ l の各希釈列ウイルス液を接種し、30 分吸着させた後、0.2%FBS 添加 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)を 1 穴あたり 100  $\mu$ l 加えて、37°C5%CO<sub>2</sub> フラン器で培養した。培養後、ウイルスを接種した細胞について、倒立顕微鏡で細胞変性効果(CPE) 有無の観察を行い、CPE の結果から Reed-Münch の方法から 50%ウイルス感染価 (TCID<sub>50</sub>/ml) を算出した。

## 6. 試験結果

結果を表-1 と図-1 に示す。

有効塩素濃度 90ppm のクロール水は、15 分作用で、インフルエンザウイルス、ネコカリシウイルス共に、 $>4 \log_{10}$  (検出限界以下) 不活化した。

試験担当者 ウイルス部 梶岡実雄、嶋崎典子

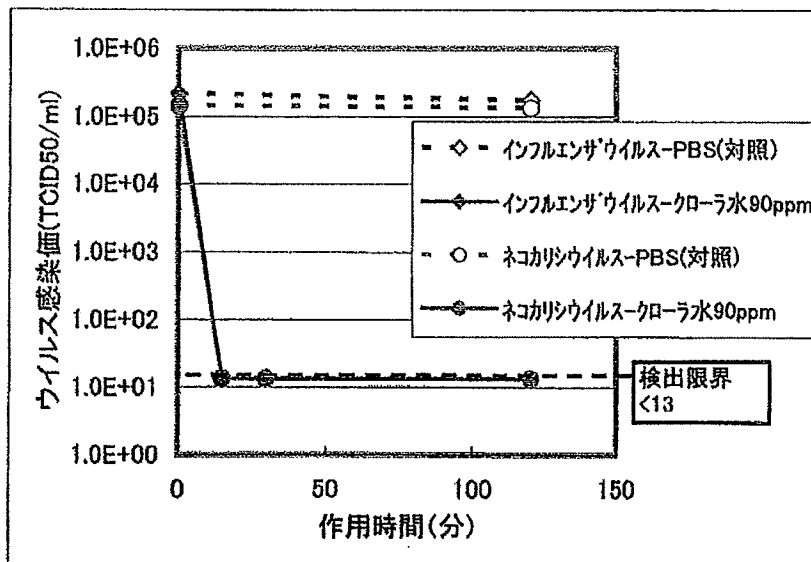
以上

表・1. 試験品の作用時間に対する各ウイルス感染価

試料名	作用時間(分)			
	0	15	30	120
インフルエンザウイルス-PBS(対照)	2.1E+05	/	/	1.7E+05
インフルエンザウイルス-クロラ水90ppm	2.1E+05	< 13	< 13	< 13
ネコカリシウイルス-PBS(対照)	1.4E+05	/	/	1.3E+05
ネコカリシウイルス-クロラ水90ppm	1.4E+05	< 13	< 13	< 13

単位: TCID<sub>50</sub>/ml

※ 検出限界:&lt;13



図・1 試験品の作用時間に対する各ウイルス感染価