

試験の名称：安定型二酸化塩素製剤の抗ウイルス・抗菌評価試験

依頼者：株式会社キルコートジャパン

受託者：特定非営利法人バイオメディカルサイエンス研究会

試験主任者：常任理事 水越幹雄

資料保管場所：千葉県習志野市 浜 1-12-3

特定非営利法人バイオメディカルサイエンス研究会習志野実験施設

報告書作成日：令和 3 年 4 月 19 日

報告書作成者：常任理事 水越幹雄

**安定型二酸化塩素製剤のインフルエンザ・ネコカリシ・ヒトコロナ  
各ウイルス不活化評価**

目的：安定型二酸化塩素検体のインフルエンザ・ネコカリシ・ヒトコロナ各ウイルス不活化評価を検証する。

材料

1 被試物質（サンプル）

安定型二酸化塩素（7倍希釈・280ppm）

冷蔵保存1ヶ月後の安定型二酸化塩素（7倍希釈・280ppm）

2

①使用ウイルス：Influenza virus H1N1

使用細胞：MDCK（イヌ腎臓由来）細胞

②使用ウイルス：ネコカリシウイルス F9 株

使用細胞：CRFK（猫腎臓由来）細胞

③使用ウイルス：Human Coronairus 229E（ATCC VR-740）

使用細胞：MRC-5 Lang Fibroblast (ATCC171)

試験方法（NITE 法準拠）

1 3種のウイルス液の作成

上記被試物質に共する3種のウイルスを各使用細胞中で増やし、各ウイルス液にする

2 本試験

① 被試物質7倍希釈液10mlに各ウイルス液1mlを加え、25℃にて反応させ、1分・5分・30分で0.1mlを採取し、9mlのSCDP培地に加え、ヴォルテックスで1分×3回混合する。

② 感染価側定：プラーク法またはTC1050法でウイルス量を測定する。

成績：成績は下表のようであった。

反応時間	インフルエンザウイルス 感染価 (PFU/0.1ml) 不活率	ネコカリシウイルス 感染価 (PFU/0.1ml) 不活率	ヒトコロナウイルス 感染価 (PFU/0.1ml) 不活率
ブランク	$4.1 \times 10^5$	$2.1 \times 10^5$	$4.1 \times 10^5$
1分間	$<10^0$ 99.99%	$<10^2$ 99.25%	$<10^0$ 99.99%
5分間	$<10^0$ 99.99%	$<10^0$ 99.99%	$<10^0$ 99.99%
30分間	$<10^0$ 99.99%	$<10^0$ 99.99%	$<10^0$ 99.99%
1ヶ月保存 1分間	$<10^0$ 99.99%	$<10^3$ 98.70%	$<10^0$ 99.99%
1ヶ月保存 5分間	$<10^0$ 99.99%	$<10^0$ 99.99%	$<10^0$ 99.99%
1ヶ月保存 30分間	$<10^0$ 99.99%	$<10^0$ 99.99%	$<10^0$ 99.99%

考察：上記の成績のとおり、安定型二酸化塩素検体は、インフルエンザ・ネコカリシ・ヒトコロナ各ウイルスに対していずれも不活化活性があった。1ヶ月間冷蔵保存後も同様の不活活性を示した。

## 安定型二酸化塩素製剤の大腸菌 0-157、カンピロバクター に対する死滅効果評価

目的：安定型二酸化塩素検体の大腸菌 0-157、カンピロバクターに対する死滅効果評価を検証する。

材料

### 1 被試物質（サンプル）

安定型二酸化塩素（7倍希釈・280ppm）

冷蔵保存1ヶ月後の安定型二酸化塩素（7倍希釈・280ppm）

### 2

① 使用バクテリア：Escherichia coli 0-157（RIMP 05091896株）

使用培地：普通ブイヨン（栄研 Lot65001株）

② 使用バクテリア：Campylobacter jejuni（RIMP 0366026株）

使用培地：普通ブイヨン日研生物 プチットカンピロ培地

試験方法（NITE法準拠）

### 1 中和試験

普通ブイヨン 10ml に被試物質 1ml を加え、その後菌液 100ml 接種し、混和する。そこから 100ml 分取し、ブイヨンに採取し、37℃48 時間培養する。菌の発育を確認できた。したがって、被試物質は普通ブイヨンにより中和されることを確認した。

### 2 本試験

① 被試物質 7 倍希釈液 10ml に各菌液を 1ml 加え、ヴォルテックスで混合する。1 分・5 分・30 分にて 100ml

採取し、普通ブイヨン培地に接種する。

② 37℃にて 24 時間培養し、培養を判定する。

成績：成績は下表のようであった。

反応時間	大腸菌 0-157	カンピロバクター
ブランク	$1.5 \times 10^5$	$7.0 \times 10^5$
1 分間	$< 10^0$ 99.99%	$< 10^0$ 99.99%
5 分間	$< 10^0$ 99.99%	$< 10^0$ 99.99%
30 分間	$< 10^0$ 99.99%	$< 10^0$ 99.99%
1 か月冷蔵保存 1 分間	$< 10^0$ 99.99%	$< 10^0$ 99.99%
1 か月冷蔵保存 5 分間	$< 10^0$ 99.99%	$< 10^0$ 99.99%
1 か月冷蔵保存 30 分間	$< 10^0$ 99.99%	$< 10^0$ 99.99%

考察：上記の成績のとおり、安定型二酸化塩素検体は、大腸菌 0-157、カンピロバクターに対していずれも死滅効果があった。1ヶ月間冷蔵保存後も同様の効果があった。