

2020年11月28日

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）不活化（除去）効果試験報告書（4）

数多くのお問合せ頂いている内の1つであります、亜塩素酸水製剤の低濃度（×40倍希釈液 [遊離塩素濃度（Cl=35.45として）5 mg/L：計算値、含量 亜塩素酸(HClO₂=68.46)として 200ppm：計算値])で、反応時間としては1分間という短時間における不活化（除去）効果につきまして、追試致しましたので、その結果を以下にご報告させていただきます。

試験条件：※別添1参照

ウイルス不活化(除去)効果確認試験条件(4) <有機物非存在下>

試験検体	亜塩素酸水製剤 含量 (HClO ₂ =68.46)として 8,000 ppm (0.8%) [製造時] 遊離塩素濃度(Cl=35.45として) 200 mg / L以上
ウイルス株	SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2/JP/Hiroshima-46059T/2020株を使用)
宿主細胞	VeroE6/TMPRSS2細胞 (JCRB1819)
ウイルス液FBS濃度	0%
ウイルス培養時の培地	ダルベッコ改変イーグル培地 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)
ウイルス力価検出方法	TCID ₅₀ 法
ウイルス液：サンプル液 反応液比率	1:9
初発ウイルス濃度	約1.1×10 ⁷ TCID ₅₀ / mL

試験方法：試験検体：亜塩素酸水製剤をポリスチレンチューブを用いて蒸留水で希釈した。

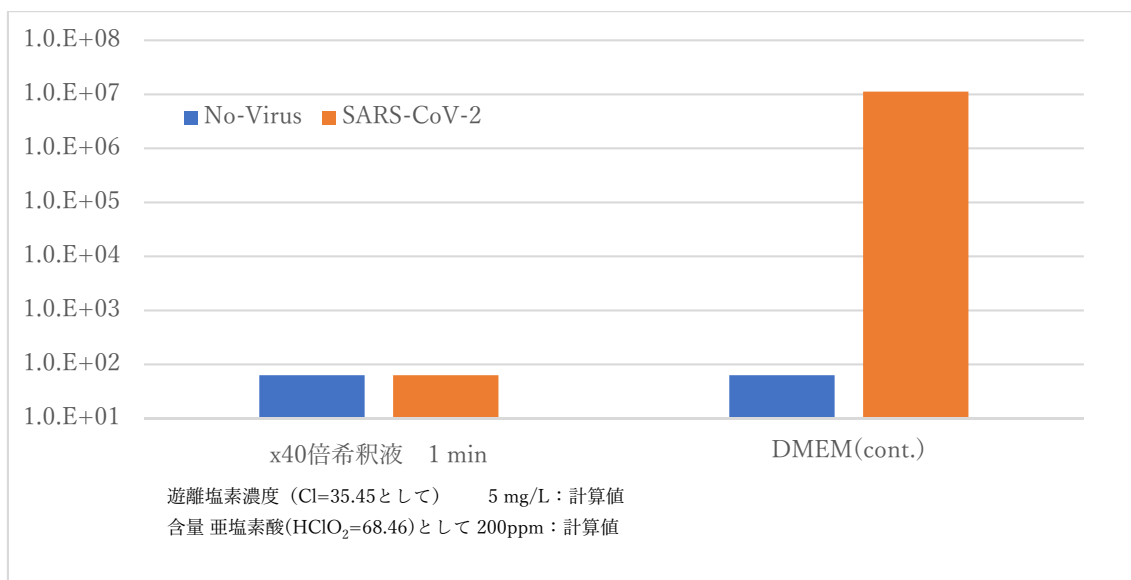
ウイルスとの反応もポリスチレンチューブ内で行った。

なお、ウイルス液の調製は以下のように行った。VeroE6/TMPRSS2細胞（10-cm ディッシュ）に m.o.i. が約 0.01 になるようにウイルス液を細胞に接種して、1時間後に接種液を吸引除去して DMEM (5 ml)を入れて培養した。細胞変性効果が細胞全体に広がって細胞がはがれ始めたところで培養上清を回収し、低速遠心と 5- μ m フィルターで細胞を完全に除いてウイルス液とした。抗ウイルス試験の方法は以下のように行った。ウイルス液と試薬を（1:9）の比率で混合し、室温で所定の時間反応させたのちに、50 μ L 被検液を 450 μ L の 10% FBS 含有 DMEM に添加し、反応を止めた(10倍希釈)。その後、さらに 10⁻⁸まで 10倍段階希釈をおこなった。VeroE6/ TMPRSS2細胞（96ウェルプレート）の4個のウェルに各希釈のウイルス液を 50 μ l/well で接種し、1時間後に吸引除去して 100 μ l/well の DMEM に置換して培養した。また、3日後に各ウェルの感染の有無を判定して、Behrens-Karber 法で 50%感染希釈を計算し、ウイルス感染価 [50% Tissue culture infectious dose (TCID₅₀)/ml]を求めた。

結果：

[有機物非存在条件下における反応時間によるウイルス不活化（除去）効果確認試験]

試験試薬	反応時間 (min)	感染価 (TCID ₅₀ /mL)	Δlog	減少率 (%)
		No-Virus (Blank) SARS-CoV-2		
Test 区 x 1/40 希釈(蒸留水)				
遊離塩素濃度(CI=35.45として)5 mg/L：計算値	1 min	6.3.E+01 6.3.E+01	≧5.3	≧99.999
含量 亜塩素酸(HClO ₂ =68.46)として 200 ppm：計算値				
Cont.区 血清非含有 DMEM	1 min	6.3.E+01 1.1.E+07	基準	—



亜塩素酸水製剤の 1/40 希釈液 [遊離塩素濃度 (CI=35.45 として) 5 mg/L：計算値、含量 亜塩素酸(HClO₂=68.46)として 200ppm：計算値] であっても 1 分間という接触時間でウイルス感染価は検出限界まで低減 (99.999%以上除去) されていた。

以上の結果は、広島大学大学院医系科学研究科ウイルス学研究室が実施された試験結果（未公表）に基づき、三慶グループが作成したものである。