

研究報告書

「次亜塩素酸精製水による ヒトインフルエンザウイルスの 不活化作用の検討」

2005年2月28日

北里大学医療衛生学部

微生物学研究室

教授 北里 英郎

材料と方法

ウイルス：インフルエンザウイルスPR8株をニワトリ受精卵（10日卵）の漿尿膜腔に接種し、2日間培養後漿尿液を採取した。感染価は 4.0×10^8 pfu/ml ものをを用いた。

細胞：インフルエンザウイルスの感染価測定用細胞は、ヒト大腸癌由来 CaCo2 細胞を用いた。

インフルエンザウイルスの感染価測定：CaCo2 細胞を用いてプラック感染価測定法で行った。

消毒剤（次亜塩素酸水）の不活化効果の検定：

- ① 次亜塩素酸水の原液（400 ppm）を最終希釈濃度 10～100 ppm になるように滅菌蒸留水で希釈（4～40 倍希釈）した。
- ② その 10～100 ppm 希釈溶液 450 μ l にウイルス原液 50 μ l を加え 1～5 分間室温で反応させた。
- ③ 反応後、10%(W/V)チオ硫酸ナトリウムを加え反応を停止させた。
- ④ イルスを含む次亜塩素酸溶液を PBS で 10 倍段階希釈し、0.1 ml づつをそれぞれ 4 ウェルの CaCo2 細胞に接種し、37℃、60 分吸着させた。
- ⑤ 吸着後、CaCo2 細胞に 0.8%寒天を含む培養液を加え 72 時間培養した。
- ⑥ 培養 72 時間後にメタノールで固定し、0.1%クリスタルバイオレットを含む 20%エタノール液を加え、プラックを算定し感染価を算出した。消毒剤の検定実験は 2 回行った。

この次亜塩素酸水のヒトインフルエンザウイルスに対する不活化効果の測定は、再現性のある事を確認した。成績はその代表的なものである。

結果

次亜塩素酸精製水のインフルエンザウイルスに対する不活化活性を検討し、その結果以下の成績を得た。

1) 次亜塩素酸水：10ppm

作用時間 (分)	感染価 (pfu/ml)	ウイルス残存率 (%)
—	4.0×10^7	—
1	3.8×10^7	95.0
3	3.0×10^6	7.5
5	8.5×10^5	2.1

2) 次亜塩素酸水：50ppm

作用時間 (分)	感染価 (pfu/ml)	ウイルス残存率 (%)
—	4.0×10^7	—
1	7.5×10^6	18.7
3	2.7×10^5	0.7
5	5.0×10^4	0.1

3) 次亜塩素酸水：100ppm

作用時間 (分)	感染価 (pfu/ml)	ウイルス残存率 (%)
—	4.0×10^7	—
1	3.0×10^4	0.08
3	$<1.0 \times 10^4$	<0.03

ヒトインフルエンザウイルスに対して、次亜塩素酸水溶液 10 ppm 3 分間 97.9%、50 ppm 3 分間で 99.3%、100 ppm 溶液では 1 分間、50 ppm 3 分間、10 ppm 5 分間で 99.9～99.92%の感染価の低下が認められた。

この結果により次亜塩素酸水は、ヒトインフルエンザウイルスの不活化に対して非常に有効と考えられる。