

2020年11月28日

## 第三次报告

# 新型冠状病毒（SARS-CoV-2）

## 灭活（去除）效果确认试验报告（4）

亚氯酸水制剂的低浓度（ $\times 40$ 倍稀释剂[游离氯浓度（Cl = 35.45）5mg/L：计算值、含量氯酸（HClO<sub>2</sub> = 68.46）为 200ppm：计算值]），反应时间1 分钟的短时间灭活（去除）效果。

### 试验条件

试验标本	亚氯酸水制剂中的亚氯酸（HClO <sub>2</sub> -68.46） 含量为 0.8%（8.000ppm）[制造时] 游离氯浓度（以 Cl-35.45 计）200mg / L 以上
病毒株	SARS-CoV-2 (2019-nCoV/Japan/AI/I-004/2020) 株
宿主细胞	VeroE6/TMPRSS2细胞 (JCRB1819)
病毒溶液中 FBS 浓度	0%
病毒培养时的培养基	Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)
病毒检测方法	TCID <sub>50</sub>
病毒溶液：样品溶液反应溶液比例	1：9
初始病毒浓度	大约 $1.1 \times 10^7$ TCID <sub>50</sub> /mL

## 试验方法

测试样品：使用聚苯乙烯管用蒸馏水稀释亚氯酸水制剂。与病毒的反应也在聚苯乙烯管中进行。

病毒溶液制备：将病毒溶液接种到VeroE6/TMPRSS2细胞（10cm培养皿），使 moi 约为0.01。1小时后，将接种物吸出并去除，然后加入DMEM（5ml）进行培养。当细胞病变作用扩散到整个细胞并且细胞开始剥离时，收集培养上清液，通过低速离心和用5um过滤器将细胞完全除去以制备病毒溶液。

试验方法：病毒溶液和试剂以（1：9）的比例混合，在室温下反应预定时间后，在50μl测试溶液中，加入含有10%FBS的DMEM450μl，停止反应（稀释10倍），进一步稀释至 $10^{-8}$ 。在VeroE6/TMPRSS2细胞（96孔板）的4个孔中，用50μl/well接种，一小时后通过吸入去除100μl/well的DMEM进行培养。3天后判断有无感染，用Behrens-Karber法计算50%感染稀释，求出病毒感染值[50% Tissue culture infectious dose（TCID<sub>50</sub>）/ml]。

### 病毒灭活（去除）效果确认试验大纲（4）（有机物非存在下）

宿主细胞培养和病毒培养

病毒培养时的 FBS 浓度：

0%

供试样品的制备

将亚氯酸水制剂和游离氯  
浓度（CI=35.45）用蒸馏水  
按不同量设定

抗病毒反应

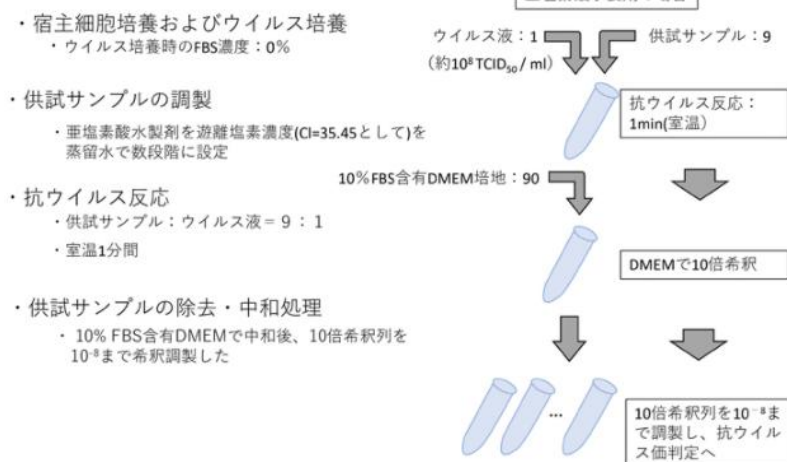
供试样品：病毒液= 9：1

室温 10分钟

供试用品的去除・中和处理

含有10%FBS的DMEM中和后，停止反应（稀释10倍），进一步稀释至 $10^{-8}$ 。

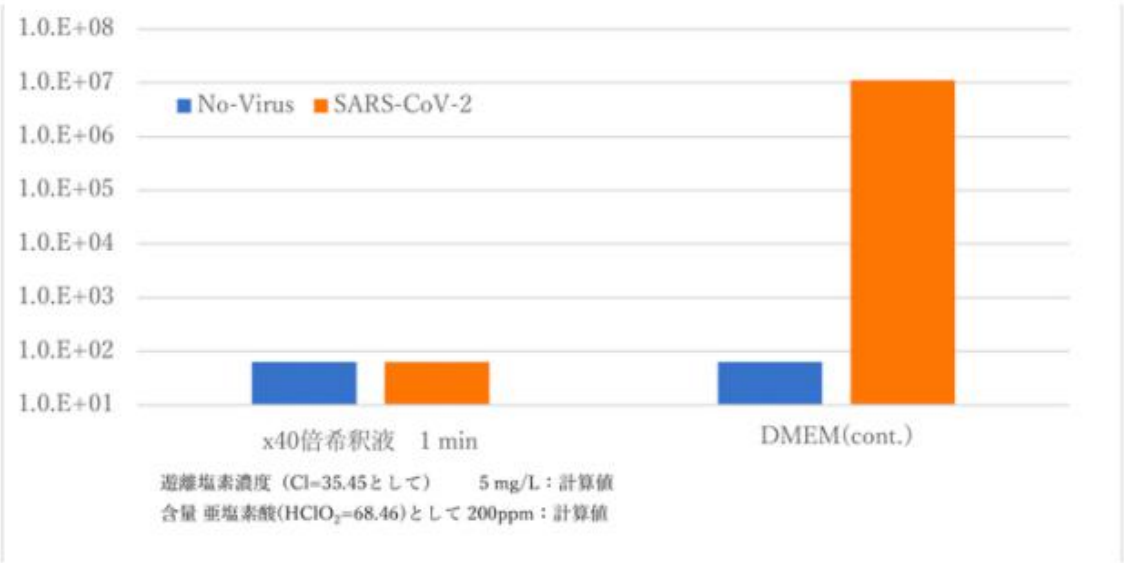
#### ウイルス不活化（除去）効果確認試験アウトライン(4)<有機物非存在下>



結果

有机物非存在条件下，固定反应时间新型冠状病毒杀灭效果确认实验

試験試薬		反応時間 (min)	感染価 (TCID <sub>50</sub> /mL) No-Virus (Blank)    SARS-CoV-2		Δ log	減少率 (%)
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 <sub>2</sub> =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	—



亜氯酸水制剂的1/40稀释液[游离氯浓度（CI = 35.45）5mg / L：计算值，含量氯酸（HClO 2 = 68.46）200ppm：计算值]病毒感染值在接触时间1分钟被降低到检测限制（去除99.999%以上）。