



3

Cascade Desins, Inc. requested that BioVir
Test the “MIOX” tm disinfection pen to
Demonstrate disinfection efficacy

「BioVir 研究報告書（2）」

(Cascade Desins, Inc.が BioVir 社に
マイオックスペン型殺菌液製造装置の殺菌効果
の実証を依頼した報告書)



BioVir Laboratories, Inc.

COPY

685 Stone Road, Unit 6 • Benicia, CA 94510 • (707) 747-5806 • 1-800-GIARDIA • FAX (707) 747-1751 • WEB: www.biovir.com

April 18, 2003

Lisa Lange
 Clean Water Products for Cascade Designs, Inc.
 4000 1st Ave. South
 Seattle, WA 98134
 (206)676-1467

Dear Ms. Lange,

Please find below and attached the results of the evaluation of the MIOX™ disinfection pen.

Introduction. Cascade Designs, Inc. requested that BioVir test the MIOX™ disinfection pen to demonstrate disinfection efficacy. The purpose of this challenge study was to test the disinfection pens according to the US EPA Guide Standard and Protocol for Testing Microbiological Water Purifiers relative to General Test Water #2. The organisms used in the challenge were *Cryptosporidium* oocysts; polio- and rota-viruses; and, *Klebsiella terrigena*. The effectiveness of the disinfectant was measured by tissue culture for *Cryptosporidium* oocysts and the viruses; and, bacteriological culture for the *K. terrigena*. The goal of the challenge study was to demonstrate at least a three and a half log reduction in *Cryptosporidium* oocysts; at least a four-log reduction in viruses; and, at least a six-log reduction in *K. terrigena*. All of these goals were demonstrated.

Discussion. The MIOX device creates a disinfectant solution from a salt water concentrate that is added to a specified amount of receiving water. Two units were used to achieve a free available chlorine (FAC) dose of 4 mg/L to 10 mg/L in one liter containers. Manufacturer's instructions (attached) were followed to generate the disinfectant. The challenge water used was dechlorinated City of Benicia tap water prepared as challenge test water # 2 (GTW 2).

Description of Challenge Organisms.

Cryptosporidium parvum oocysts, Lot # 30210-15, Iowa, Harley Moon strain, were acquired from the Sterling Parasitology Laboratory, University of Arizona, (Tucson, AZ).

Poliovirus Vaccine Strain 1 (LSa) ATTC # VR-59; and Rotavirus SA-11 ATTC # VR-899.

Viruses were propagated on BGMK cell line.

Klebsiella terrigena, ATTC # 33257. Propagated in trypticase soy broth and onto trypticase soy agar plates and slants.

Protocol. See Attached.

Results. The results from the challenge tests are presented below in Tables 1 - 3. The bacterial spike was greater than anticipated, however, the disinfectant proved to be able to reduce the population by almost 9 log in both doses and pens. Virus reduction was observed to be > 4 log with 8 or 10 doses exposed for 15 min. *Cryptosporidium parvum* infectivity was reduced by an indicated number of at least 4 log. An indicated number is based upon the results of an assay where the number of oocysts counted in each sample are diluted to achieve a target concentration and then are applied to the tissue culture test system. The results are then

compared to results achieved by assay of positive oocysts controls applied to the tissue culture test system at the same concentrations.

The raw data is attached as well, including the results of monitoring chlorine with the provided test strips. In addition, I have included the follow-up *Cryptosporidium* assays on the exposures to 8 and 10 pen doses at other various times.

Please contact me if you have any questions regarding this information.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Rick Danielson". The signature is fluid and cursive, with a long horizontal stroke at the end.

Rick Danielson, Ph.D.
V.P. / Laboratory Director

SUMMARY OF RESULTS

TABLE 1

Sample ID	Source ID 030387	Results cfu/100 mL	Log Reduction
Bacteria Results			
GTW 2 T=0	Influent	1.10E+09	
GTW 2 PEN 1 8 Doses 30 min	Effluent	1.3	8.89
GTW 2 PEN 1 10 Doses 30 min	Effluent	0.3	> 9.0
GTW 2 PEN 2 8 Doses 30 min	Effluent	1.3	8.89
GTW 2 PEN 2 10 Doses 30 min	Effluent	0.3	> 9.0
Stock Positive Control			
	<i>K. terrigena</i>	2.20E+10	per mL
Negative Controls			
	Post Filtration	<1	
	Agar	<1	
	Diluent	<1	

Values are of replicate dilutions. All effluent samples in triplicate.

TABLE 2

Sample ID	Source ID 030387	Results pfu/ mL	Log Reduction
Virus Results			
GTW 2 T=0	Influent	1.2 x 10 ⁶	
GTW 2 PEN 1 8 Doses 15 min	Effluent	< 1	> 4.1
GTW 2 PEN 1 10 Doses 15 min	Effluent	< 1	> 4.1
GTW 2 PEN 2 8 Doses 15 min	Effluent	< 1	> 4.1
GTW 2 PEN 2 10 Doses 15 min	Effluent	< 1	> 4.1
GTW 2 PEN 1 8 Doses 30 min	Effluent	< 1	> 4.1
GTW 2 PEN 1 10 Doses 30 min	Effluent	<1	> 4.1
GTW 2 PEN 2 8 Doses 30 min	Effluent	<1	> 4.1
GTW 2 PEN 2 10 Doses 30 min	Effluent	<1	> 4.1
Stock Positive Control			
	Poliovirus	3.8 x 10 ⁶	per mL
	Rotavirus	3.2 x 10 ⁴	per mL
Negative Controls			
	Cells	<1	
	Agarose	<1	
	Diluent	<1	

All values are the average of multiple dilutions within each sample. Virus results represent a combined reduction of Poliovirus and Rotavirus.

SUMMARY OF RESULTS
Protozoan Disinfection Results

TABLE 3

Sample ID	Source ID 020219	Dose/Test	Results*	Log Reduction in GTW 2 (Indicated Number)
<i>Cryptosporidium parvum</i>				
GTW 2	Influent	100000	4 (+)	
		10000	4 (+)	
		1000	4 (+)	
		100	0 (+)	
GTW 2 PEN 1 8 Dose 4 hr	Effluent	100000	4 (-)	≥ 4
		10000	4 (-)	
		1000	4 (-)	
		100	4 (-)	
GTW 2 PEN 2 8 Dose 4 hr	Effluent	100000	4 (-)	≥ 4
		10000	4 (-)	
		1000	4 (-)	
		100	4 (-)	
Stock	Positive Control	100000	4 (+)	
		10000	4 (+)	
		1000	4 (+)	
		100	4 (+)	
Stock	Negative Control	100000	4 (-)	Pasteurized
Water			(-)	
<i>C. Parvum</i>	SporoGlo Control		(+)	Stain Control

* All Effluent sample dilutions run in quadruplicate.

BioVir 研究所報告書 (2)

(1) 本手紙はマイオックスペン型殺菌液製造装置の効果について Cascade Design社が BioVir Laboratories, INC (BioVir 研究所) にそのテストを依頼したもので BioVir が 2003 年 4 月 18 日にそのテスト結果を報告したものである。

(2) 手紙の内容は (翻訳) 下記の通り。

初めに: マイオックスペン型殺菌液製造装置の殺菌効果の実証について Cascade Design社が BioVir社に依頼した。この研究の目的は米国環境保護局 (USA EPA) の一般試験水 # 2 に関する微生物を含む水の浄化試験の標準規則に従ってマイオックスペン殺菌液製造装置をテストする事であった。

テストで使われた微生物はクリプトスポリジウム オーシスト (Cryptosporidium oocysts)、ポリオ・ロタウイルス (polio/rota virus) 及びクレブシーラ テリジーナ (Klebsiella Terrigena) の 3 種類である。殺菌液の効果はクリプトスポリジウム、ウイルスの組織培養及びテリジーナのバクテリア培養により計測された。この研究の最終目的はクリプトスポリジウムについては少なくとも 3.5 Log、ウイルスについては 4 Log、テリジーナについては 6 Log を夫々削減することであったがこれらの全ては実証された。

使用装置及び水: マイオックスペン型殺菌液製造装置は塩水から殺菌液を産出しこれを所定の量だけ水に注入するものであるがテストでは 2 台のユニットを使い 1 リッター容器に 4 mg/L から 10 mg/L の自由塩素を発生させた。殺菌液の産出についてはメーカーの指示に従った。

使用した水は塩素殺菌されていない Benecia 市の水道水を試験水 # 2 (GTW 2) として用意した水である。

微生物: クリプトスポリジウム オーシスト (Cryptosporidium oocysts)、Lot #30210-15, Iowa, Harley Moon Strain は Arizona 大学の Sterling Parasitology Laboratory のものを使った。ポリオウイルス ワクチン ストレイン 1 (Lsa) ATTC#VR-59 及びロタウイルス SA-11 ATTC#VR899 Virusses は BGMK セルラインで繁殖させた。クレブシーラ テリジーナ ATTC # 33257 は大豆液 (Soy broth) の中と培養基 (agar) の上で繁殖させた。

結果：結果は下記の表 1 - 3 に示す通りである。バクテリアのスパイクは思ったより大きかったが殺菌液は 2 本のペンも又 8mg/ℓ も 10mg/ℓ 共々に於いて 9 ログ削減することが出来た事が証明された。

ビールスの削減は 8mg/ℓ 及び 10mg/ℓ 注入液の 15 分間の暴露状態で 4 ログ以上であることが認められた。クリプトスポリジウムの感染は予定した通りの 4 ログ削減された。この 4 ログはサンプルの中で数えた囊子の数を予定した濃度に希釈し組織培養システムで分析した結果である。この結果はその後同じ濃度の組織培養システムに使われた+クリプト囊子を分析した結果と比較された。

テスト片も一緒に塩素の監視結果も含めて生のそのままのデータを添付して置く。

又色々な時間での 8mg/ℓ 及び 10mg/ℓ 後の暴露のクリプトスポリジウムの分析も添付して置く。

以下 表 1 はバクテリアの試験結果

表 2 はビールスの試験結果

表 3 は原生動物（クリプトスポリジウム）の試験結果を示している。