

試験報告書

A型インフルエンザウイルスを用いて
「ファッション」の抗ウイルス効果を調査

北環発 2015_0050 号

平成 2015 年 12 月 18 日



神奈川県相模原市南区北里 1 丁目 15 番 1 号

一般財団法人 北里環境科学センター

理事長 伊藤 俊洋



試験内容を公表する際は、結果の表記等について専門的な立場から確認させていただいております。なお、確認目的と申込様式は、ホームページに掲載しております。
(http://www.kitasato-e.or.jp/?page_id=87)

1.試験目的

貴社貸与、イオン発生器「ファッション」の A 型インフルエンザウイルスに対する抗ウイルス効果を評価した。

2.依頼者

名 称：産電子工業株式会社

所在地：〒370-0518 群馬県邑楽郡大泉町城之内 5 丁目 34 番 1 号

3.試験機関

名 称：一般財団法人 北里環境科学センター

所在地：〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1 丁目 15 番 1 号

担 当：ウイルス部ウイルス課

4.試験期間

2015 年 11 月 19 日～2015 年 11 月 24 日

5.試験品

イオン発生器「ファッション」、型番 KS-24-TN

6.試験条件

作用時間：0（初期）、2、5、24 時間

作用温度：室温（23 ± 2℃）

試験空間：400 L

試験品と試験片の距離：30 cm

7.供試ウイルスとウイルス液の調製方法

A 型インフルエンザウイルス (*Influenza A virus*, H1N1, A/PR/8/34, ATCC® VR-95™)

ウイルスは発育鶏卵の漿尿膜腔に接種し、ふ卵器で培養後、漿尿液を採取し密度勾配遠心法により精製したウイルス液を供試ウイルス液とした。

8.使用培地および試薬

8-1.培地

DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) - シグマアルドリッチ、ダルベッコ
改変イーグル培地 (高グルコース)、D6429

FBS (Fetal Bovine Serum) - シグマアルドリッチ、牛胎児血清、172012-500ML

8-2. 試薬

PBS (リン酸緩衝生理食塩水)・日水製薬、PBS (-) 粉末「ニッスイ」、05913
蒸留水・大塚製薬、注射用水

9. 使用機器および器材

9-1. 機器

貴社貸与イオン発生器・ファッション、KS-24-TN
貴社貸与オゾン測定器・オゾンモニタ、EG-700 (株式会社 荏原製作所 校正品)
貴社貸与シャーレ置き台
温湿度ロガー - T&D、温度・湿度データロガーUSB タイプ、TR-72Ui
400 L チャンバー・アズワン、デシケーター (弊社加工品)

9-2. 器材

直径 60 mm 滅菌シャーレ・AGC テクノガラス、組織培養用ディッシュ、3010-060

10. 試験方法

1) ウイルス不活化試験

ウイルスの不活化試験は以下の手順により行った。

供試ウイルス液を蒸留水で 10 倍希釈し、試験ウイルス液とした。ウイルス液 0.1 mL を直径 60 mm の滅菌シャーレに塗布し、室温で 30 分間風乾させ試験片とした。イオン発生器とオゾン測定器は貴社担当者によりあらかじめ動作確認を行い、オゾンが発生している状態で試験を開始した。試験片を試験品から 30 cm 離れたシャーレ置き台に設置した (写真-1、図-2、3)。室温で所定時間作用後、0.2% FBS を添加した DMEM を 1 mL シャーレに加え、10 回ピペッティングしウイルスの塗布面を洗いだすことにより、ウイルスを回収した。この液をウイルス感染価測定用試料原液としてウイルス感染価を測定した。なお、試験開始後直ちにウイルス回収作業を行ったものを作用時間 0 時間 (初期) とした。また、「対照」は試験品を設置しない密閉容器に試験片を入れ、室温で所定時間静置後、同様の方法でウイルスを回収したものを用いた。

2) ウイルス感染価の測定

ウイルス感染価測定用試料原液を PBS で 10 倍段階希釈後 (希釈ウイルス液と記す)、感染価測定用試料原液または希釈ウイルス液 50 μ L および 5% FBS を添加した DMEM 50 μ L に懸濁した MDCK (Madin-Darby canine kidney) 細胞を 96 ウエルプレートに植え込んだ。その後、炭酸ガスふ卵器において 37°C、5% CO₂ 条件下で 4 日間培養した。4 日間培養後、ウイルスの増殖による細胞変性効果 (CPE: cytopathic effect) を観察して

Reed-Muench 法を用いてウイルス感染価 (TCID₅₀/mL) を求めた。

3) オゾン濃度の測定

オゾン濃度は、オゾン測定器の読み値の記録を行った。

11. 試験結果

対照の感染価と試験品作用後の感染価対数値の差から求めたウイルス感染価対数減少値(LRV: log reduction value) を表-1 に記載した。時間経過によるウイルス感染価の変化を図-1 に記載した。試験時の温湿度を参考データとして図-4、5 に示した。オゾン濃度の測定結果を表-2 に記載した。

初期ウイルス感染価は、 8.4×10^5 TCID₅₀/mL であった。「対照 (試験品なし)」の 2、5、24 時間後のウイルス感染価はそれぞれ、 5.6×10^5 TCID₅₀/mL、 5.6×10^5 TCID₅₀/mL、 5.4×10^4 TCID₅₀/mL であり時間の経過とともに減少した。一方「ファッション」の 2、5、24 時間後のウイルス感染価はそれぞれ、 1.7×10^5 TCID₅₀/mL、 2.9×10^4 TCID₅₀/mL、 7.1×10^3 TCID₅₀/mL となり、LRV は対照と比べて 5 時間後に最大 1.2 log₁₀ (1.2 桁) となった。

12. コメント

本試験では、貴社提供イオン発生器「ファッション」の A 型インフルエンザウイルスに対する抗ウイルス効果を検討した。対照と比べて LRV は 5 時間で最大 1.2 log₁₀ を示し、「ファッション」によりウイルス感染価の減少が見られた。

貴社提供のオゾン測定器の読み値は、2、5、24 時間でそれぞれ、0.01、0.02、0.01 ppm であった。本試験条件において、5 時間の作用で A 型インフルエンザウイルスが最大 1.2 log₁₀ 減少することが分かった。

以上

表-1 「ファッション」による抗ウイルス効果

試験品	作用時間 (hrs)			
	0 (初期)	2	5	24
対照 (試験品なし)	8.4×10^5	5.6×10^5	5.6×10^5	5.4×10^4
「ファッション」		1.7×10^5	2.9×10^4	7.1×10^3
LRV		0.5	1.2	0.8

使用ウイルス : *Influenza A virus*, H1N1, A/PR/8/34, ATCC® VR-95™

感染価単位 : TCID₅₀/mL

ウイルス液の感染価 : 8.4×10^7 TCID₅₀/mL

検出限界値 : 6.3 TCID₅₀/mL

LRV (log reduction value) : \log_{10} (対照の感染価 ÷ 試験品の感染価)

(LRV は小数第 2 位を切り捨てて表記した。)

試験空間 : 400 L

試験品と試験片の距離 : 30 cm

表-2 オゾン濃度

オゾン濃度 (ppm)	作用時間 (hrs)		
	2	5	24
オゾン測定器 (読み値)	0.01	0.02	0.01

オゾン測定器・オゾンモニタ、EG-700

表示単位：ppm

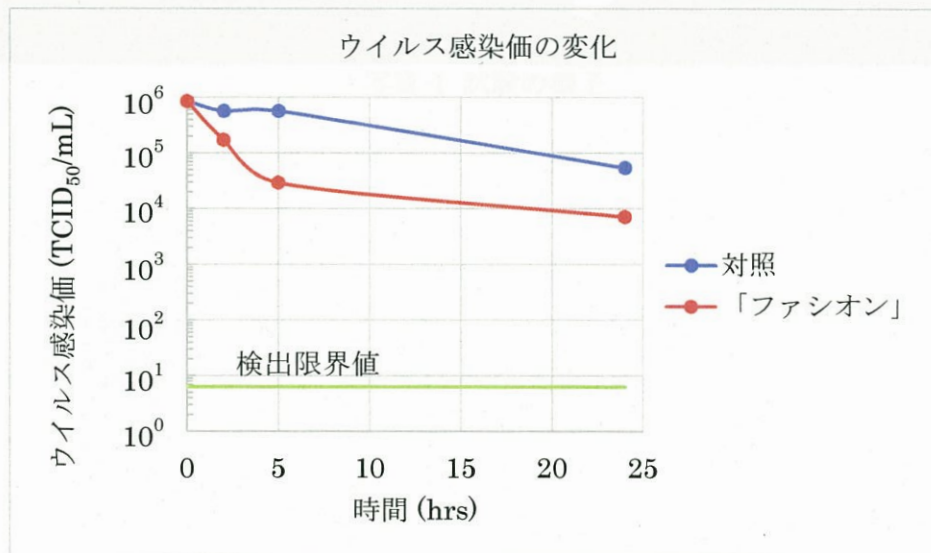


図-1 時間経過によるウイルス感染価の変化

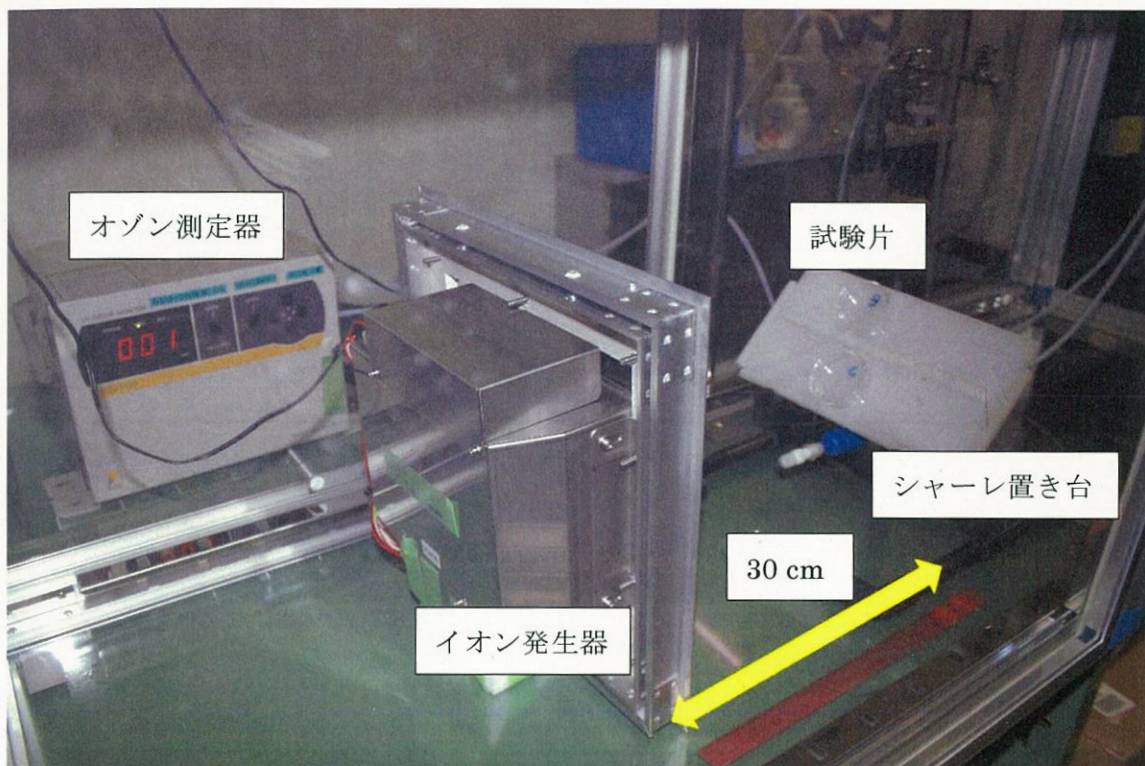


写真-1 試験の様子



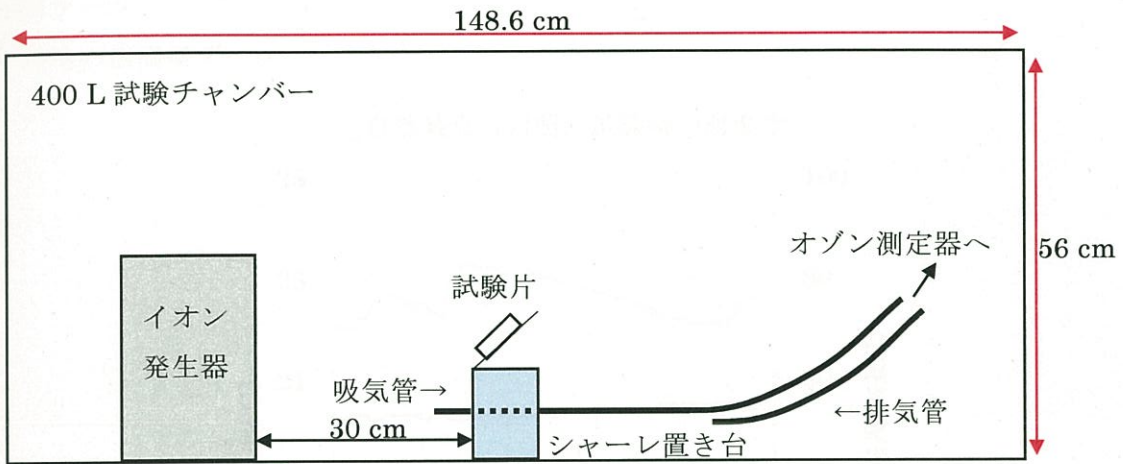


図-2 試験実施時の外観（側面図）

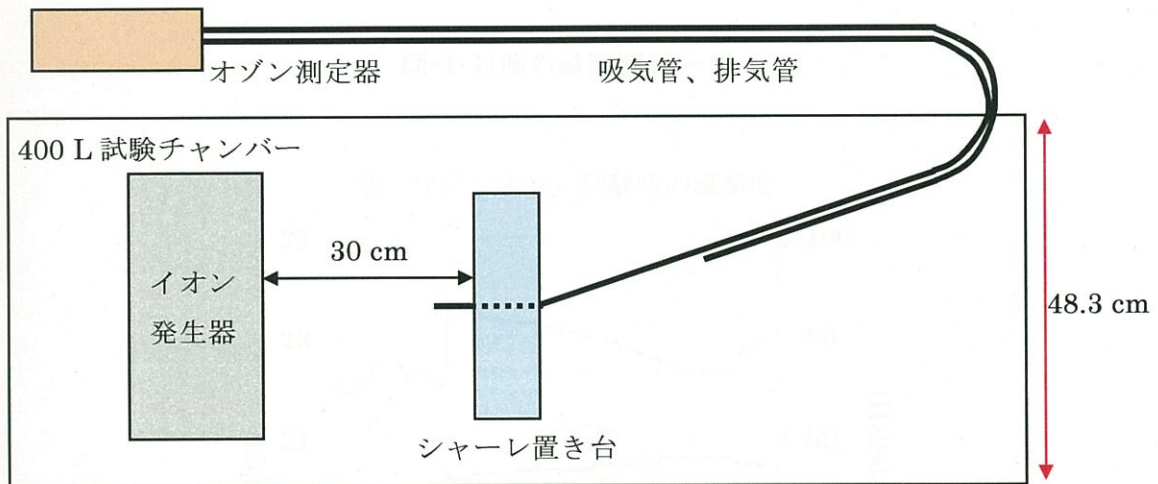


図-3 試験実施時の外観（上面図）

参考データ

試験時の温湿度データ

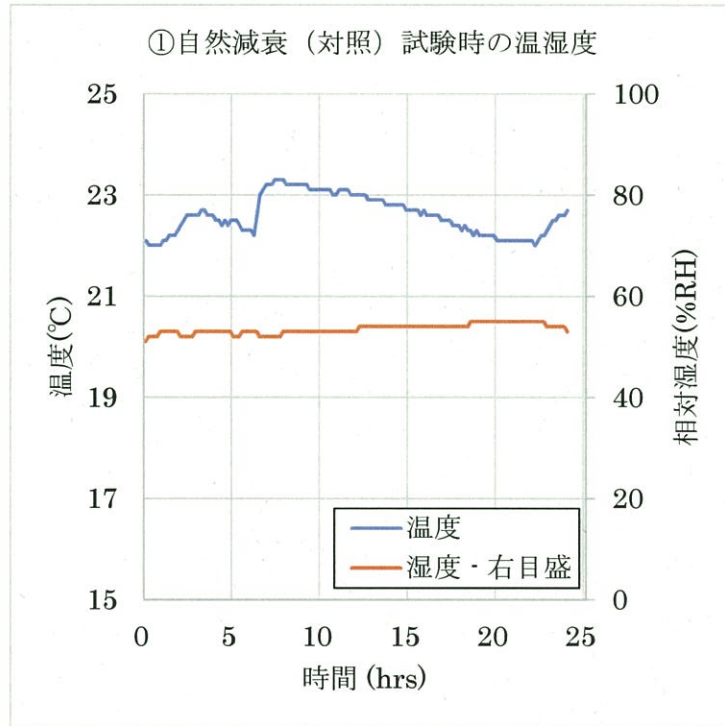


図-4 対照の温湿度データ

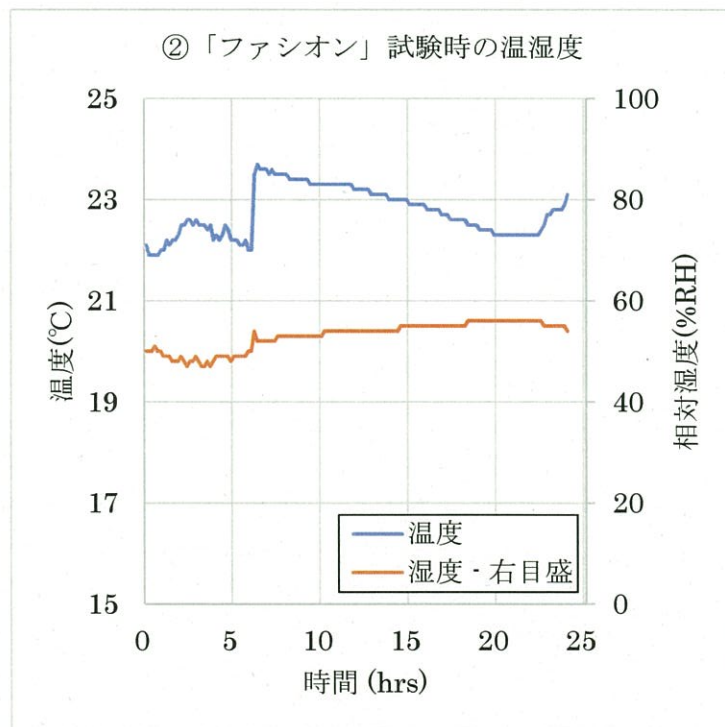


図-5 「ファッション」の温湿度データ

*測定は、温湿度ロガー（TR-72Ui、T&D）による