

試 験 報 告 書

Kitasato Research Center for Environmental Science
一般財団法人 北里環境科学センター

〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号
TEL: 042(778)9208 FAX: 042(778)4551

* * * 試験内容を公表する場合は、事前の承諾が必要です。* * *

株式会社 ビーガードジャパン 殿

試験報告書

次亜塩素酸水の噴霧による付着ウイルス

除去性能評価試験 (25 m³ 空間)

北環発 2015_0090 号

2016年2月25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. 目的

貴社ご提供、超微粒子「弱酸性次亜塩素酸水」噴霧装器によって、付着ウイルスをどの程度抑制できるかを、一般社団法人日本電気工業会規格 JEM1467「家庭用空気清浄機」の附属書 E「室内付着ウイルスに対する抑制性能評価試験」を参考として、6 畳の空間に相当する 25 m³試験チャンバーを用いて評価した。

2. 依頼者

名称：株式会社 ビーガードジャパン

所在地：〒163-0023 東京都新宿区西新宿 6-10-1

新宿オークシティ 日土地西新宿ビル 8 階

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 1-15-1

4. 試験実施期間

2016 年 1 月 18 日～2016 年 2 月 3 日

5. 試験品

ジアミスト「JiaMist-I-02」（霧化量：60 mL/h）・・・写真 1

次亜塩素酸タブレット（1 タブレットを滅菌蒸留水 4.15L に溶解して試験水を調製した）

有効塩素濃度：113mg/L

測定機器：柴田科学、水質計 AQUAB「残留塩素高濃度」AQ-102（ヨウ素試薬吸光度法）

6. ウイルス液付着素材

φ60 mm 親水性シャーレ（3010-060、IWAKI）

7. 供試ウイルス

1) ネコカリシウイルス

（*Feline calicivirus*, F-9, ATCC VR-782）

感染価測定用細胞：ネコ腎臓由来細胞（CRFK；Crandell-Rees Feline Kidney）

8. 試薬および機器・機材

1) 主な試薬・培地

・リン酸緩衝生理食塩水（PBS：phosphate buffered saline）

- ・細胞維持培地 (DMEM : Dulbecco's Modified Eagle's Medium)
- ・ウシ胎児血清 (FBS : fetal bovine serum)

2) 主な機材・機器

- ・ 25 m³ 試験チャンバー (3.3 × 3.5 × 2.2 m、アメニティテクノロジー)
- ・ 400L 試験チャンバー (約 0.5 × 0.5 × 1.6m、特注品、アズワン)
- ・ 温湿度計 (TR-72Ui、T&D)
- ・ ハンディ水質計 AQUAB AQ-102 (柴田科学)
- ・ CO₂ インキュベータ (MCO-20AIC、三洋)
- ・ マイクロピペット P-1000, P-200 (ギルソン)
- ・ 電動マルチチャンネルピペット (ザルトリウスバイオヒット)

9. 方法

1) 試験操作

試験系を写真-2 および、図-1、2 に示した。25 m³ 試験チャンバー内の側面中央に試験品を設置した。試験品から約 1.5 m 離れた高さ 1.2 m の位置に試験ウイルスを付着させたシャーレを設置し、試験品の運転を開始した。所定時間作用ごとにシャーレを回収し、それぞれのシャーレに 0.05% チオ硫酸ナトリウム加 DMEM を 1 mL 滴下してウイルスを洗い出し、TCID₅₀ 法によりウイルス感染価を測定した。

コントロールとして、400 L 試験チャンバーを用い、試験品を設置しない条件 (自然減衰) について同様に試験した。

2) 供試ウイルスの調製

ネコカリシウイルスを CRFK 細胞に感染させ、細胞培養面積の約 90% 以上が細胞変性効果 (CPE: cytopathic effect) を示したとき -80°C の冷凍庫に凍結保存した。その後、凍結融解操作を行い、3,500 rpm で 10 分間遠心した上澄みを採取し、限外ろ過膜で濃縮した後、ショ糖密度勾配遠心法で精製したウイルス液を PBS で 10 倍に希釈したものを試験ウイルス液とした。

3) 試験ウイルス付着シャーレの作製

シャーレに試験ウイルス液を 100 μL 滴下した後、全面に塗布し、安全キャビネット内で約 30 分間風乾させて試験ウイルス付着シャーレとした。

4) 付着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 倍段階希釈した後、測定用試料原液または PBS で 10 倍段階希釈したウイルス液 50 μL と 5 % FBS 加 DMEM に懸濁した

CRFK 細胞 50 μ L を 96 ウェルプレートに植え込んだ。その後、CO₂ インキュベータで 4 日間培養を行った。培養後、顕微鏡下で CPE を確認し、Reed-Muench 法によりウイルス感染価 (TCID₅₀) を求めた。

5) 付着ウイルス抑制性能の評価方法

一般社団法人日本電機工業会規格 JEM1467「家庭用空気清浄機」の附属書 E「室内付着ウイルスに対する抑制性能評価試験」では 24 時間以内で対数減少値 2.0 以上が求められている。本試験品は家庭用空気清浄機に該当するものではないことから、参考として、以下の方法で評価を実施した。

本試験では、各条件でのウイルス感染価から対数値を算出し、初期値を基準とした時の 6 時間作用後の対数減少値 (以下 A とする) *1 を①自然減衰および、② JiaMist-I-02 それぞれについて算出した。この値を基に A (①自然減衰) を基準とした時の所定時間作用後の A (②JiaMist-I-02) の対数減少値 (以下 B とする) *2 を求め、B の値より減少率*3 を算出し、試験品の付着ウイルスに対する抑制性能を評価した。

※1; 初期値を基準とした時の対数減少値 A

$$A = \log_{10} (0 \text{ 分のウイルス数}) - \log_{10} (\text{所定時間作用後のウイルス数})$$

※2; A (①自然減衰) を基準とした時の所定時間作用後の A (②JiaMist-I-02) の対数減少値 B

$$B = A (\text{②JiaMist-I-02}) - A (\text{①自然減衰})$$

$$\text{※3; 減少率 (\%)} = \left[1 - \frac{1}{10^{(\text{対数減少値})}} \right] \times 100 (\%)$$

10. 試験結果

試験結果を、表 1~3 及び図-1 に示した。さらに、参考データとして、試験時における試験チャンバー内の温湿度を示した。

シャーレ付着ウイルスの感染価は、 6.3×10^4 TCID₅₀/mL であった。自然減衰 (コントロール) を基準としたとき、「JiaMist-I-02」のウイルス感染価の対数減少値 (減少率) は、6 時間で 3.0 (99.9%) であった。

11. コメント

本試験の結果、作用 6 時間後に対照との差が 2.0 以上 (3.0) となり、付着ウイルスに対する抑制効果が認められた。

以上

表-1 シャーレ付着ウイルスに対する試験結果

試験条件	時間 (分)	
	0 (初期)	6 時間
自然減衰	6.3×10^4	6.3×10^4
JiaMist-I-02		6.3×10^1

感染価単位：TCID₅₀/mL

検出限界値：6.3 TCID₅₀/mL

試験品：JiaMist-I-02 (加湿量：60 mL/h)

試験ウイルス：*Feline calicivirus* (F-9, ATCC VR-782)

試験ウイルス液滴下量：100 μL

ウイルス液付着素材：φ60 mm 親水性シャーレ (IWAKI 3010-060)

試験空間：25 m³

表-2 シャーレ付着感染価の対数値

試験条件	時間 (分)	
	0 (初期)	6 時間
自然減衰	4.79	4.79
JiaMist-I-02		1.79

感染価対数値：log₁₀ (表-1 の各感染価)

表-3 試験品の付着ウイルスに対する抑制能

試験条件	6 時間後	
	A	B
自然減衰 (コントロール)	0.0	
JiaMist-I-02	3.0	3.0 (99.9%)

- ・初期値を基準とした時の対数減少値 A

$$A = \log_{10} (\text{0 分のウイルス感染価}) - \log_{10} (\text{所定時間作用後のウイルス感染価})$$

- ・A (①自然減衰) を基準とした時の所定時間作用後の A (②JiaMist-I-02) の対数減少値 B

$$B = A (\text{②JiaMist-I-02}) - A (\text{①自然減衰})$$

- ・減少率 (%) = $\left[1 - \frac{1}{10^{(\text{対数減少値})}} \right] \times 100$ (%)



写真-1 試験品「JiaMist-I-02」

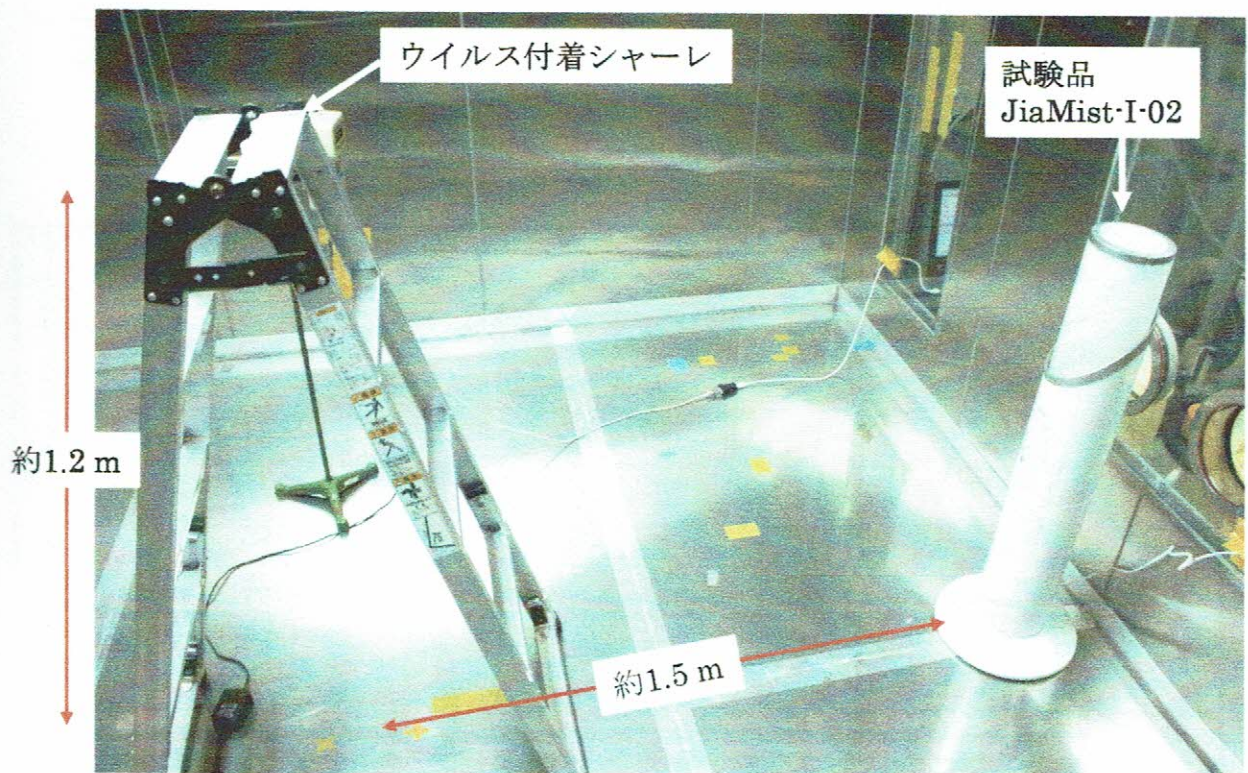


写真-2 25 m³ 試験チャンバーの様子

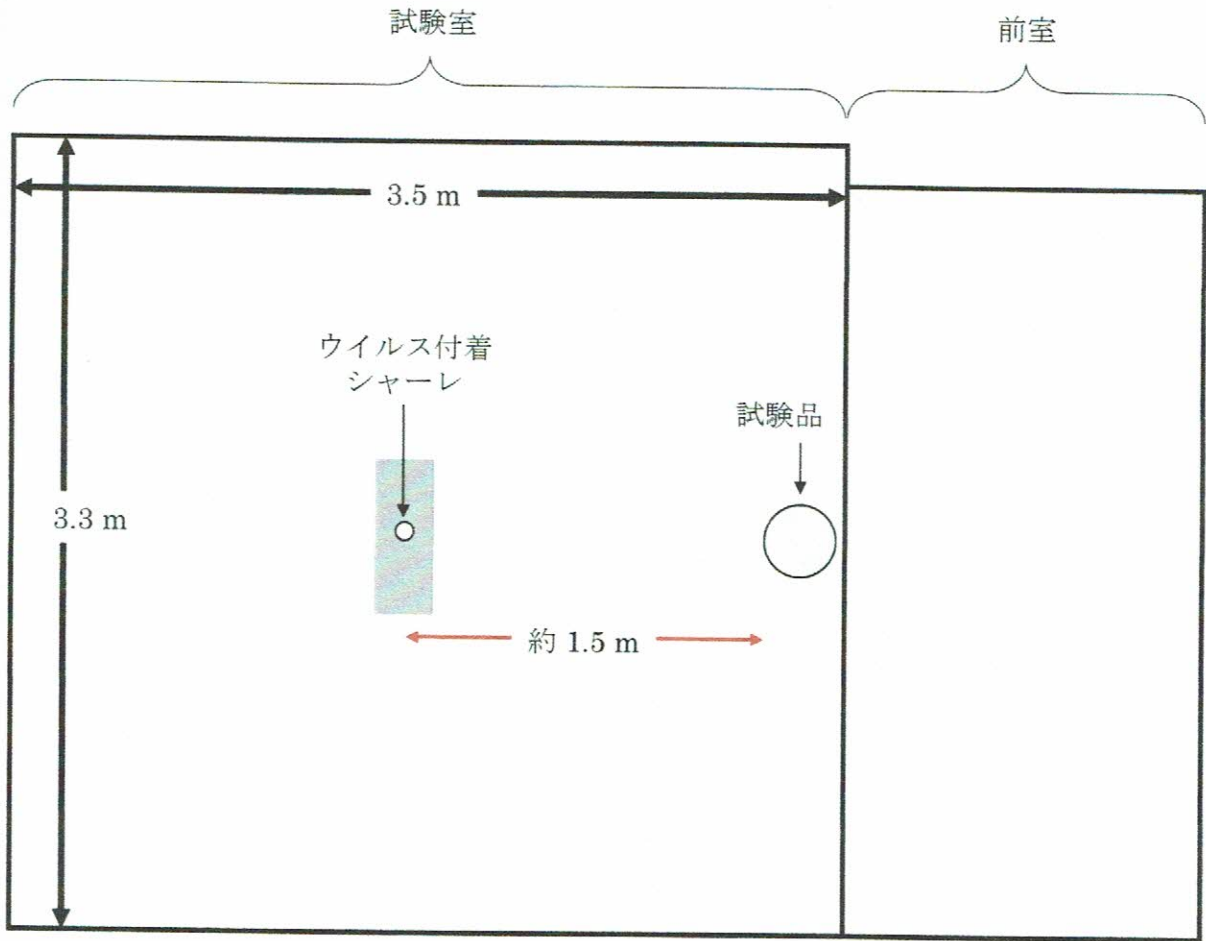


図-1 25 m³ 試験チャンバーの外観（上面図）

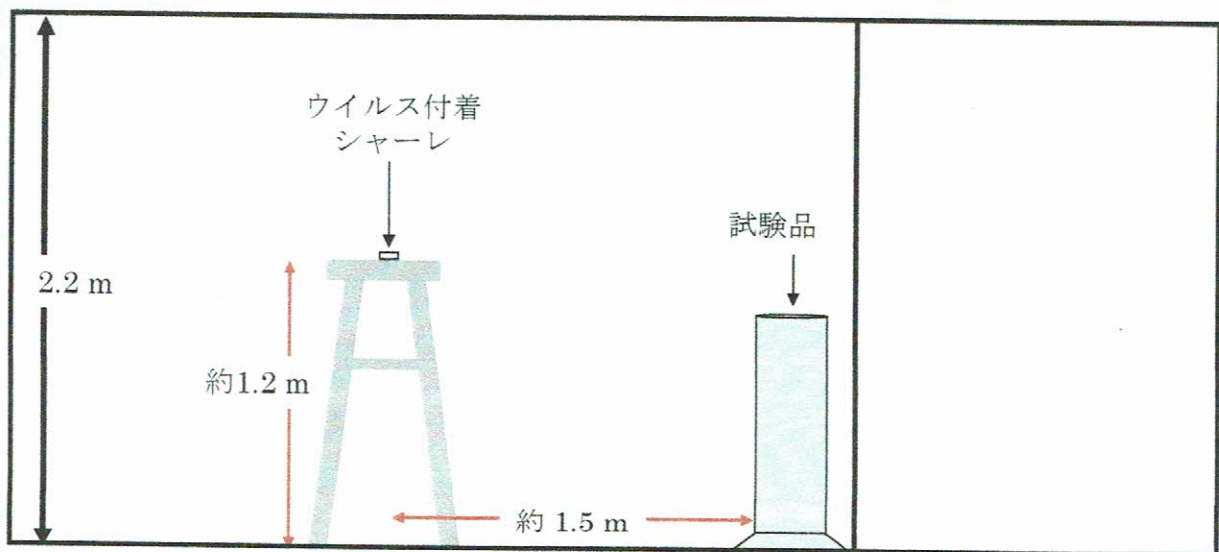
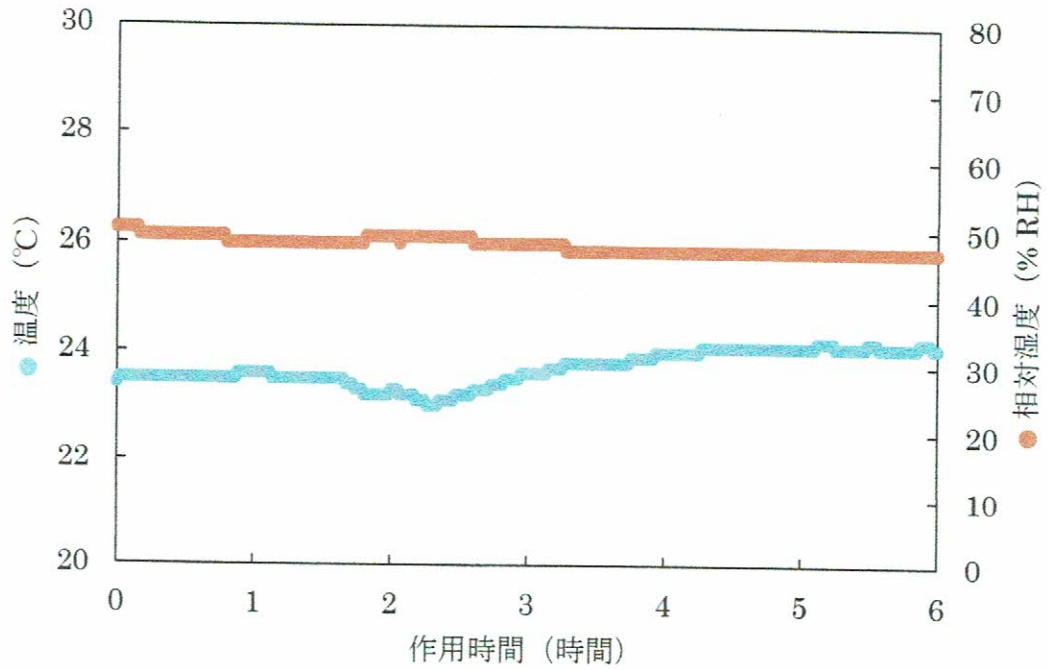


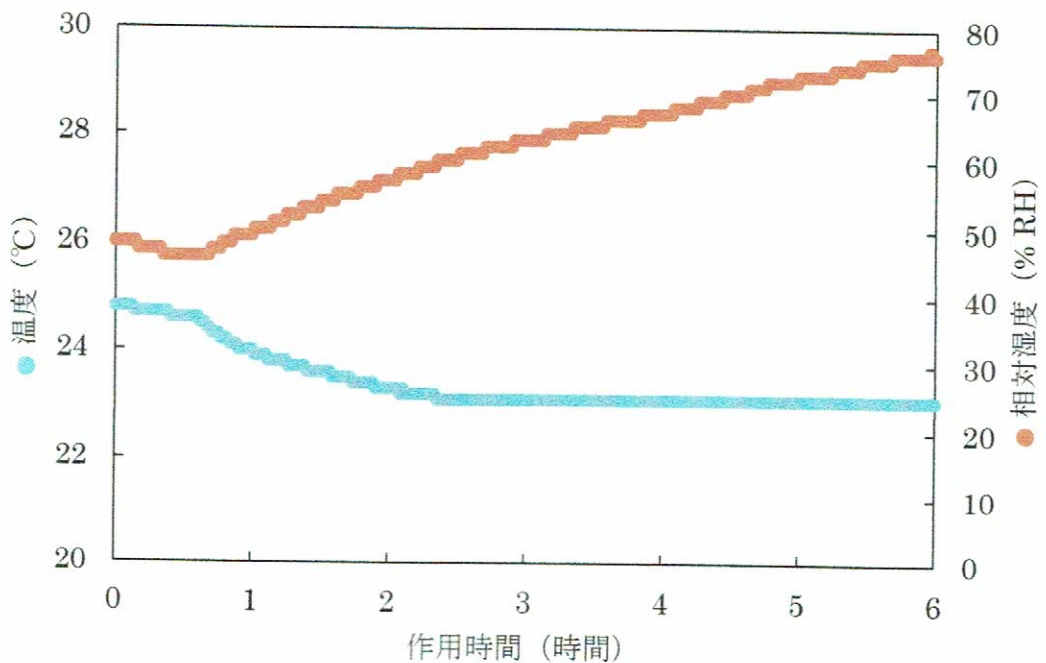
図-2 25 m³ 試験チャンバーの外観（側面図）

参考データ

試験時のチャンバー内の温湿度データ



自然減衰 (コントロール) 試験時のチャンバー内温湿度*



JiaMist-I-02 試験時のチャンバー内温湿度*

※測定は、温湿度カードロガー(TR-72Ui、T&D)による