

# 試験報告書

資材の浮遊インフルエンザウイルスに対する効果試験

( 試験番号 197320N )



株式会社食環境衛生研究所

作成日：2020年3月30日

1. 試験表題

資材の浮遊インフルエンザウイルスに対する効果試験

2. 試験番号

197320N

3. 試験目的

インフルエンザウイルスを浮遊させた空間で資材を稼働し、そのウイルス不活化効果を確認するため。

4. 試験委託者

名 称： 株式会社オーゾラ

所 在 地： 〒550-0013 大阪府大阪市西区新町 1-3-16 YOSA ビル 6 階

5. 試験実施施設

名 称： 株式会社食環境衛生研究所

所 在 地： 〒379-2107 群馬県前橋市荒口町 561-21

6. 試験責任者及び試験担当者の氏名及びその所属

1) 試験責任者

宮崎 翔太 (株式会社食環境衛生研究所 受託試験部)

2) 試験担当者

近藤 実紀 (株式会社食環境衛生研究所 動物衛生事業部)

7. 資材

オゾン水素発生器

8. 試験実施日

2020年2月7日～2020年3月18日

9. 供試ウイルス

インフルエンザウイルス (swine influenza virus) H1N1 IOWA 株

## 10. 試験設計

試験設計を表 1 に示す。

表 1：試験設計

区	資材の稼働	モード設定	測定時点
対照区	なし	なし	0 分（開始時）、5 分及び 30 分
試験区 1	あり	オゾン+水素モード	0 分（開始時）、5 分及び 30 分
試験区 2	あり	オゾンモード	0 分（開始時）、5 分及び 30 分

## 11. 試験方法

## 1) 対照区（自然減衰の確認）

- ① 試験室内に試験用チャンバー（1 m<sup>3</sup>）を配置した。
- ② 供試ウイルス液をネブライザーを用いてチャンバー内に噴霧した。
- ③ 噴霧終了後 30 秒間、攪拌用ファンを稼働させ、30 秒後停止させた。
- ④ ファンの停止後、エアースンプラーを用いて 70L の空気を吸引し、細胞培養液 15mL 中に浮遊ウイルスを回収した（0 分の回収）。
- ⑤ 0 分の回収終了時を起点とし、5 分及び 30 分に、④同様の操作により浮遊ウイルスを回収した。なお細胞培養液は回収ごとに新たなものを使用した。
- ⑥ 各回収液をウイルス力価の測定に用いた。

## 2) 試験区

- ① 試験室内に試験用チャンバー（1 m<sup>3</sup>）を配置し、チャンバー内に資材を設置した。
- ② 供試ウイルス液をネブライザーを用いてチャンバー内に噴霧した。
- ③ 噴霧終了後 30 秒間、攪拌用ファンを稼働させ、30 秒後停止させた。
- ④ ファンの停止後、エアースンプラーを用いて 70L の空気を吸引し、細胞培養液 15mL 中に浮遊ウイルスを回収した（0 分の回収）。
- ⑤ 0 分の回収終了直後、資材を所定のモードで稼働させた。なお資材は 30 分の回収が終了するまで、継続して稼働させた。
- ⑥ 0 分の回収終了時を起点とし、5 分及び 30 分に、④同様の操作により浮遊ウイルスを回収した。なお細胞培養液は回収ごとに新たなものを使用した。
- ⑦ 各回収液をウイルス力価の測定に用いた。

## 3) 細胞接種及びウイルス力価測定

- ① 各回収液について、それぞれ細胞培養液で 10 倍階段希釈し、各 100  $\mu$ L ずつ 96well プレートに細胞と同時に接種し培養した。
- ② 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 下で 5 日間培養後、細胞変性効果を観察し、ウイルスの増殖の有無を確認した。
- ③ ウイルス力価 (TCID<sub>50</sub>) を Behrens-Karber 法により算出した。なお回収液原液において全てのウェルに反応が確認されない場合、一段階前の希釈系列は全てのウェルが反応したと仮定し計算した (検出限界: 10<sup>0.5</sup>TCID<sub>50</sub>/mL)。

## 12. 試験結果

各区の試験結果を表 2 に、各区の 0 分 (開始時) のウイルス力価と比較したときの対数減少値を表 3 に、ウイルス力価の推移を図 1 に示す。

本試験の結果、対照区における各時点の回収液中のウイルス力価は、0 分 (開始時) で 10<sup>3.1</sup> TCID<sub>50</sub>/mL, 5 分で 10<sup>2.9</sup> TCID<sub>50</sub>/mL, 30 分で 10<sup>2.5</sup> TCID<sub>50</sub>/mL であった。また 0 分 (開始時) のウイルス力価と比較したときの対数減少値は 5 分で 0.2, 30 分で 0.6 であった。

試験区 1 における各時点の回収液中のウイルス力価は、0 分 (開始時) で 10<sup>3.1</sup> TCID<sub>50</sub>/mL, 5 分で 10<sup>2.5</sup> TCID<sub>50</sub>/mL, 30 分で検出限界未満 (<10<sup>0.5</sup> TCID<sub>50</sub>/mL) であった。また 0 分 (開始時) のウイルス力価と比較したときの対数減少値は 5 分で 0.6, 30 分で >2.6 であった。

試験区 2 における各時点の回収液中のウイルス力価は、0 分 (開始時) で 10<sup>2.9</sup> TCID<sub>50</sub>/mL, 5 分で 10<sup>2.5</sup> TCID<sub>50</sub>/mL, 30 分で検出限界未満 (<10<sup>0.5</sup> TCID<sub>50</sub>/mL) であった。また 0 分 (開始時) のウイルス力価と比較したときの対数減少値は 5 分で 0.4, 30 分で >2.4 であった。

対照区と各試験区の対数減少値を比較すると、試験区 1 の減少率は 5 分で 60.2%, 30 分で 99%以上、試験区 2 の減少率は 5 分で 36.9%, 30 分で 98.4%以上であった。

以上より、本試験において資材「オゾン水素発生器」は、インフルエンザウイルス (swine influenza virus) H1N1 IOWA 株に対し、稼働後 30 分以降においてオゾン + 水素モードで 99%以上、オゾンモードで 98.4%以上のウイルス不活化効果を有する可能性が示唆された。

表 2：各区の試験結果 (TCID<sub>50</sub>/mL)

区	資材の稼働	モード設定	測定時点		
			0分	5分	30分
対照区	なし	なし	10 <sup>3.1</sup>	10 <sup>2.9</sup>	10 <sup>2.5</sup>
試験区 1	あり	オゾン+水素モード	10 <sup>3.1</sup>	10 <sup>2.5</sup>	<10 <sup>0.5</sup>
試験区 2	あり	オゾンモード	10 <sup>2.9</sup>	10 <sup>2.5</sup>	<10 <sup>0.5</sup>

表 3：各区の 0 分（開始時）のウイルス力価と比較したときの対数減少値

区	資材の稼働	モード設定	測定時点		
			0分	5分	30分
対照区	なし	なし	-	0.2	0.6
試験区 1	あり	オゾン+水素モード	-	0.6	>2.6
試験区 2	あり	オゾンモード	-	0.4	>2.4

図 1：ウイルス力価の推移

