

株式会社 栄光社 殿

試験報告書

浮遊ウイルス除去試験 (200 L 試験チャンバー)

北環発 2020_0634 号

2021年3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 山田 陽城



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、ホームページに収載しております。
(http://www.kitasato-e.or.jp/?page_id=87)

1. 表題

浮遊ウイルス除去試験（200 L 試験チャンバー）

2. 試験番号

依頼書番号：20207126 号

報告書番号：北環発 2020_0634 号

3. 目的

試験チャンバー内に貴社ご提供試験品を設置することにより浮遊ウイルスがどの程度抑制されるかを 200 L 試験チャンバーを用いて評価した。

4. 依頼者

株式会社 栄光社

〒607-8141 京都府京都市山科区東野北井ノ上町 7-1

5. 試験機関

一般財団法人 北里環境科学センター ウィルス部ウィルス課

〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1

6. 試験実施期間

2021 年 3 月 9 日～2021 年 3 月 13 日

7. 試験品および芳香器

1) 試験品

F-118 含有ゲルカートリッジ（消臭ウッディ）

2) 芳香器

ファン式芳香器（アドバンス II）

8. 供試ウイルス

A 型インフルエンザウイルス

(Influenza A virus, H1N1, A/PR/8/34, ATCC VR-1469)

感染価測定用細胞：イヌ腎臓由来細胞（MDCK ; Madin-Darby Canine Kidney）

9. 試薬および機器・機材

1) 主な試薬・培地

- (1) リン酸緩衝生理食塩水 (PBS : phosphate buffered saline、日本製薬)
- (2) 細胞培養培地 (DMEM : Dulbecco's Modified Eagle's Medium、シグマ)
- (3) ウシ胎児血清 (FBS : Fetal Bovine Serum、シグマ)
- (4) トリプシン-EDTA (ライフテクノロジーズ)
- (5) SCDLP 培地 (栄研)
- (6) 消泡剤 SI (和光、生化学用)

2) 主な機材・機器

- (1) 200L 試験チャンバー (50 cm × 40 cm × 100 cm、特注品)
- (2) ネブライザーキット (NE-C16、オムロン)
- (3) ガラス製ミゼットインピングジャー (特注品)
- (4) 温湿度計 (TR-72wf、T&D)
- (5) CO₂ インキュベータ (MCO-20AIC、三洋)
- (6) マイクロピペット P-1000、P-200 (ギルソン)
- (7) 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)

10. 供試ウイルスの調製方法

ウイルスを MDCK 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 -30°C の冷凍庫に凍結保存した。その後、凍結融解操作を行い、3,000 × g で 10 分間遠心した上澄みを採取し、孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過したウイルス液を供試ウイルス液とした。ウイルス液は、使用するまで -80°C の冷凍庫に保存した。

11. 試験方法

1) 試験チャンバー

塩化ビニル製 200 L (50 cm × 40 cm × 100 cm) 試験チャンバーを安全キャビネット (BHC-1903 IIB2、エアーテック社) 内に設置した。試験チャンバー内に試験品をセットした芳香器、攪拌ファン、温湿度計、UV ランプ (チャンバー内清浄化用) を設置した (図-1)。

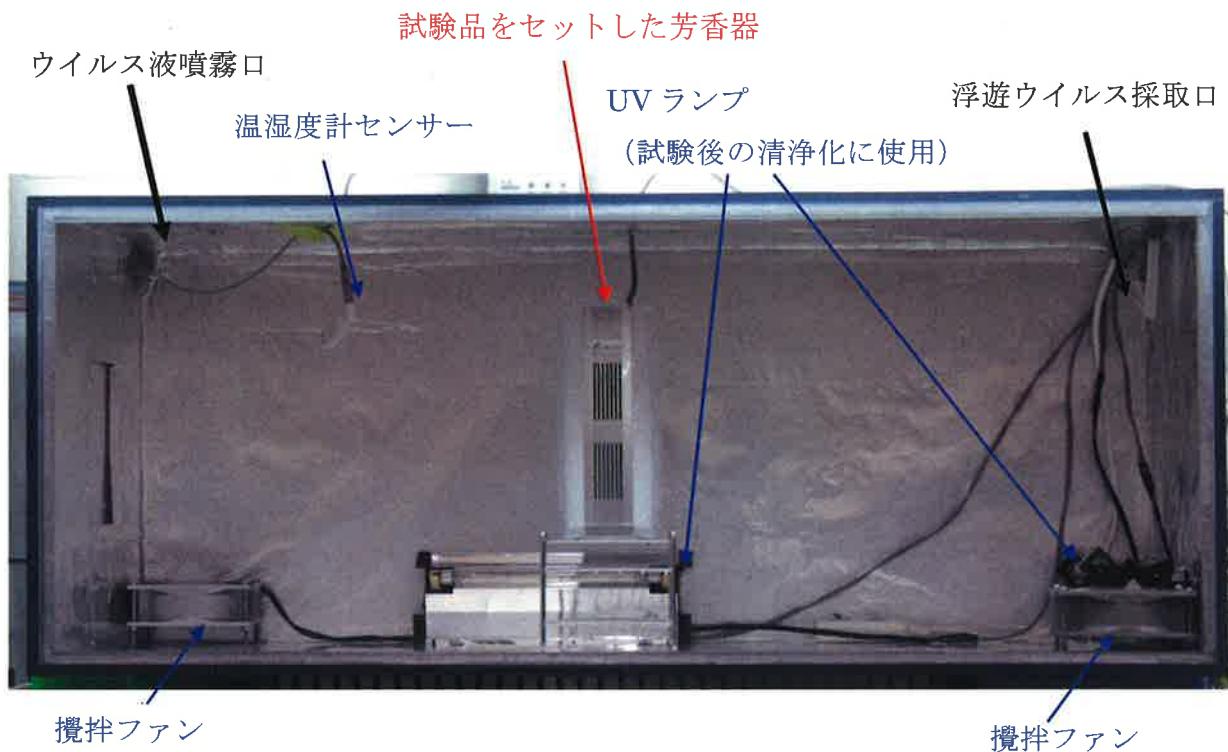


図-1 試験系概要

2) 浮遊ウイルスの除去試験

試験チャンバーの側面に浮遊ウイルス採取のためのシリコン製チューブ（内径8mm）を設置し、ウイルス捕集器具として、インピングジャーを用いた。浮遊ウイルス液の回収は、表-1に示した試験条件で採取し、図-2に示す工程表に従って実施した。攪拌ファンを作動させたチャンバー内にネブライザーキット（オムロン NE-C16）を用いて供試ウイルスを毎分0.2 mLで5分間噴霧した。噴霧後1分間攪拌して均一にした後、毎分10 Lで3分間空気を吸引し、0.1%消泡剤添加SCDLP培地20 mLを入れたインピングジャーに浮遊ウイルスを捕集した。この時間を0分として芳香器の運転を開始した。15分後、30分後および60分後に毎分10 Lで3分間試験チャンバー内の空気を採取し、浮遊ウイルスを捕集した。ウイルスを捕集後のインピングジャー内の捕集液を感染価測定用試料の原液とした。

対照として、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。

表-1 試験条件

試験条件	浮遊ウイルスの捕集時間			
	0 (初期)	15 分間	30 分間	60 分間
対照（自然減衰）	●	●	●	●
試験品	●	●	●	●

条件	装置	経過時間					
		9分	3分	0分	15分	30分	60分
ウイルス液噴霧 (0.2mL/分 × 5分間)	ネプライザー	■■■■■→					
チャンバー内空気攪拌 (2箇所)	攪拌ファン (2箇所)		⊗				→
F-118 カートリッジ 試験品	芳香器			1分間攪拌 均質化	■■■■■→		
空気回収 (10L/分 × 3分間)	インピングジャー		■■→		→	→	→

図-2 試験工程

3) ウィルス感染価の測定

ウィルス感染価測定用試料原液を PBS で 10 倍段階希釈した後、あらかじめ 96 ウエルプレートに単層培養しておいた MDCK 細胞に測定用試料原液または希釈ウイルス液を 1 ウエルあたり 25 μL を接種し、CO₂ インキュベータ内で 1 時間細胞に感染させた。1 時間後、接種液を除去し、0.42% BSA および 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ トリプシン加 MEM を 1 ウエルあたり 0.1 mL 加え、37°C の CO₂ インキュベータで 4 日間培養した。培養後、ウイルスの増殖により生じた CPE を顕微鏡で観察し、Reed-Muench 法を用いてウイルス感染価 (TCID₅₀/mL) を求めた。感染価は捕集液量 (20 mL) より回収空気あたりの感染価 (TCID₅₀/30L-air) に換算した。

4) 浮遊ウイルス抑制性能の評価方法

初期 (0 分) のウイルス感染価と経過時間ごとのウイルス感染価から、対数減少値^{*1}を計算し、さらに、対照を差し引いた正味の対数減少値^{*2} (減少率^{*3}) を求め、試験品による浮遊ウイルスの抑制性能を求めた。

計算式を以下に示した。

*1 ; 対数減少値

$$= \log_{10} (\text{初期ウイルス感染価} \div \text{経過時間ごとのウイルス感染価})$$

*2 ; 正味の対数減少値 = 試験品運転時の対数減少値 - 対照の対数減少値

$$*3 ; \text{減少率 } (\%) = \left(1 - \frac{1}{10^{(\text{正味の対数減少値})}} \right) \times 100 \quad (\%)$$

12. 試験結果

本試験では、貴社ご提供試験品を 200 L 試験チャンバー内に設置して浮遊ウイルスの抑制性能を評価した。表-2 および図-3 に経過時間ごとのウイルス感染価を示した。表-3 に経過時間ごとの浮遊ウイルス感染価の対数減少値及び正味の対数減少値 (減少率) を示した。本試験によって得られた試験品噴霧による正味の対数減少値 (減少率) は、15 分間で 0.2 (36%)、30 分間で 1.1 (92%)、60 分間で 2.1 (99.2%)、であった。

参考データとして、試験中のチャンバー内の温度および湿度を図・4 及び 5 に示した。

13. コメント

本試験では、貴社ご提供の試験品を用いて、浮遊ウイルスの抑制性能を 200 L 試験チャンバーを用いて調べた*。芳香器に「F-118 含有ゲルカートリッジ（消臭ウッディ）」をセットした芳香器を運転すると 60 分間で正味の対数減少値が 2.0 以上となり、対照との差が認められ、“ウイルス抑制性能あり”と判定された。

* 評価基準の参考として日本電機工業会規格 JEM 1467:家庭用空気清浄機「空気清浄機の浮遊ウイルスに対する除去性能評価試験方法」があげられる。当該規格においては、「20~32 m³空間で 90 分以内の対数減少値が 2.0 以上のとき抑制効果あるものと判断する」と規定されている。

以上

表-2 経過時間ごとの浮遊ウイルス感染価の変化

試験条件	時間			
	0 (初期)	15分間	30分間	60分間
① 自然減衰 (対照)	1.8×10^7	4.1×10^6	6.6×10^6	1.9×10^6
② F-118 含有ゲルカートリッジ (消臭ウッディ)	1.0×10^7	1.8×10^6	3.4×10^5	8.0×10^3

感染価単位 : TCID₅₀/30 L·air検出限界値 : 2.5×10^2 TCID₅₀/30 L·air

試験ウイルス : Influenza A virus, H1N1, A/PR/8/34

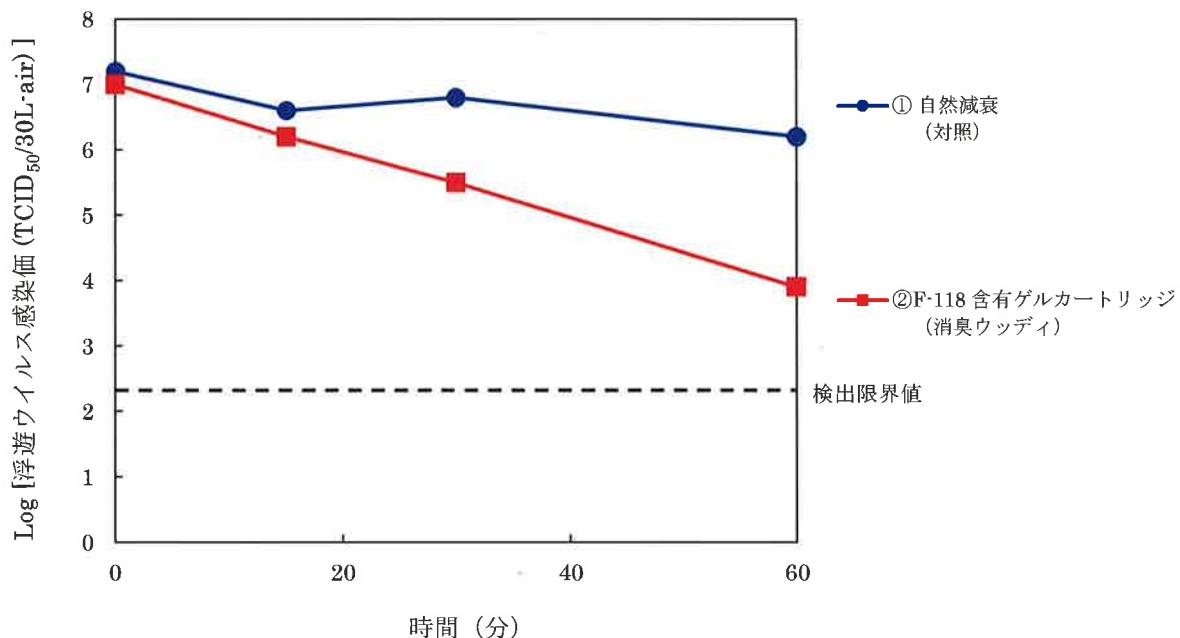


図-3 経過時間ごとの浮遊ウイルス感染価（対数値）の変化

表-3 浮遊ウイルスの対数減少値^{*1} 及び試験品の正味の対数減少値^{*2} (減少率^{*3})

試験条件	時間			
	15分間	30分間	60分間	
① 自然減衰 (対照)	対数減少値	0.6	0.4	1.0
② F-118 含有ゲルカートリッジ (消臭ウッディ)	対数減少値	0.8	1.5	3.1
	正味の対数減少値 (減少率)	0.2 (36 %)	1.1 (92 %)	2.1 (99.2 %)

*1 ; 対数減少値 = Log_{10} (初期ウイルス感染価 ÷ 経過時間ごとのウイルス感染価)

*2 ; 正味の対数減少値 = 試験品運転時の対数減少値 - 対照の対数減少値

$$*3 ; \text{減少率 } (\%) = \left(1 - \frac{1}{10^{(\text{正味の対数減少値})}} \right) \times 100 \quad (\%)$$

14. 参考データ

試験中チャンバー内の温度および湿度

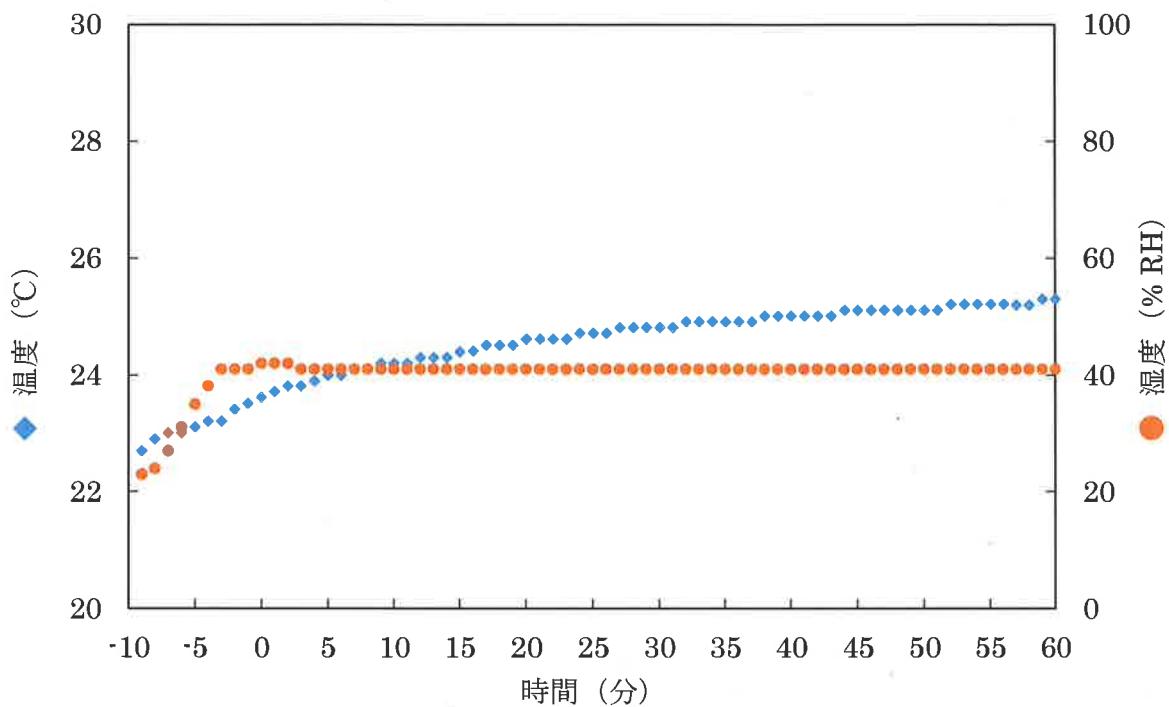


図-4 「自然減衰（対照）」試験時における試験チャンバー内の温湿度変動

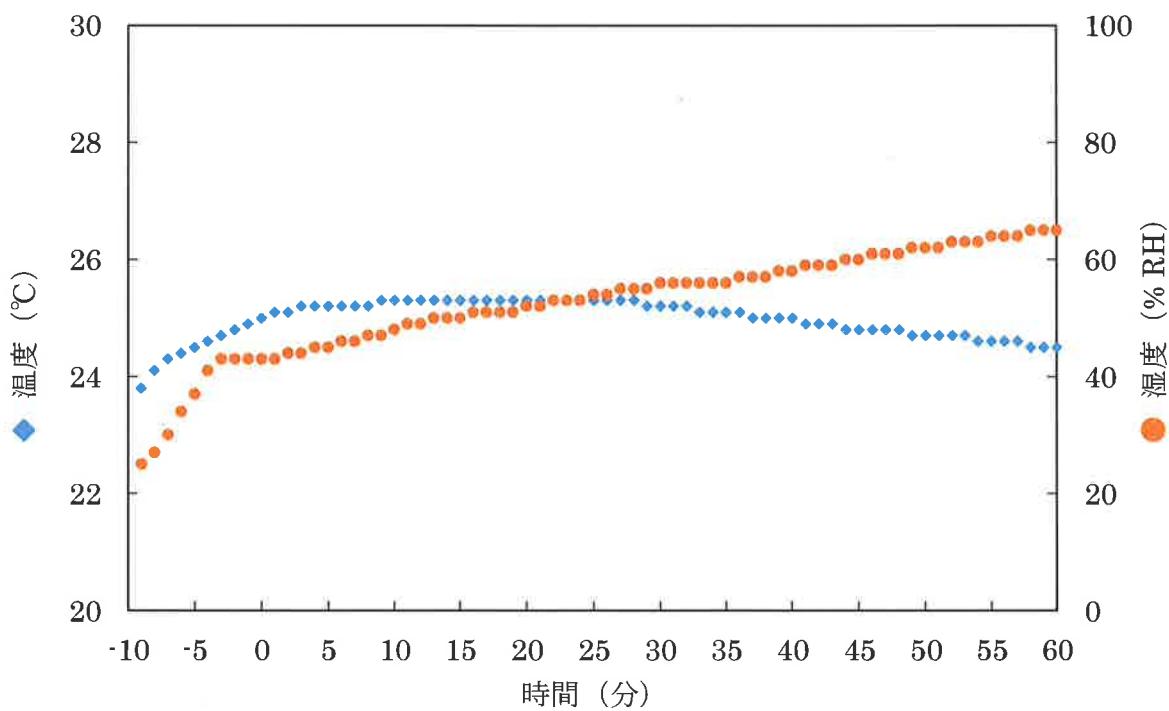


図-5 「F-118 含有ゲルカートリッジ（消臭ウッディ）」試験時における試験チャンバー内の温湿度変動