

1. 表題

A 型インフルエンザウイルス減衰試験

2. 試験番号

依頼書番号：20197028 号

報告書番号：2019_0179 号

3. 目的

貴社ご提供試験品を稼働させることによって、浮遊ウイルスをどの程度除去できるかを、 0.2 m^3 試験チャンバーを用いて評価した。抑制効果の評価方法は日本電機工業会規格 JEM1467 「家庭用空気清浄機」の附属書 D 「浮遊ウイルスに対する除去性能評価試験」を参考とした。

4. 依頼者

名 称：株式会社フォレストウェル

所在地：〒230-0051 神奈川県横浜市鶴見区鶴見中央 5-8-5 2F

5. 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

6. 試験実施期間

2019年9月2日～2019年9月9日

7. 試験品

空間清浄機 j.air (写真-1)



写真-1 試験品

8. 試験条件

- ① 自然減衰（コントロール）；試験品を作動させない空間における試験ウイルス感染価の経時変化
- ② 試験品；試験品を作動させた空間における試験ウイルス感染価の経時変化

9. 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）
感染価測定用細胞は、10 % ウシ胎児血清加細胞維持培地で継代した。

10. 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

- ・0.2 m³ L 試験チャンバー（50cm × 40cm × 100cm、特注品）
- ・攪拌ファン（CN55B5、日本電産サーボ）
- ・ネブライザー（NE-C16、オムロン）
- ・温湿度計（TR-72wf、T&D）
- ・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 8 連マルチチャンネルピペット（50 ~ 1200 μL、ザルトリウス）

11. 方法

1) 試験ウイルス液の調製

インフルエンザウイルスを 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℃ の冷凍庫に凍結保存した。その後、凍結融解操作を行い、2,380 × g で 10 分間遠心した上澄みを採取し、試験ウイルスとした。

2) 試験操作

試験系を別紙写真-a および、図-a、b に示した。0.2 m³ 試験チャンバー内に試験品と攪拌ファン、温湿度計をそれぞれ設置した。試験チャンバーの一側面には、ウイルス液噴霧口と浮遊ウイルス捕集口を設け、それぞれウイルス液噴霧器具と浮遊ウイルス捕集器具を接続した。ウイルス液噴霧器具として、ウイルス液を入れたネブライザー

ーを使用した。浮遊ウイルス捕集器具として、捕集液を入れたインピンジャーを使用した。試験操作として別紙表・b の工程に従った。すなわち、試験チャンバー内に試験品を設置後、攪拌ファンを交流 20 V (風量：約 0.5 m³/分) で作動させながらウイルス液を 5 分間噴霧し、1 分攪拌した後に試験チャンバー内空気から初発 (0 分) の浮遊ウイルスを捕集した。その後 15、30 および 60 分後に浮遊ウイルスを捕集した。なお、自然減衰は別紙表・a の工程で実施し、コントロールとした。

3) 試験ウイルス液の噴霧

ウイルス液を入れたネブライザーに、コンプレッサーから圧縮空気を送り出し、ウイルス液を試験チャンバー内へ毎分約 0.2 mL で 5 分間噴霧して浮遊させた。

4) 浮遊ウイルスの捕集

捕集液として PBS 20 mL を入れたインピンジャーを用いた。1 回の捕集につき、試験チャンバー内の空気を毎分 10 L で 3 分間 (= 30 L) 吸引し、浮遊ウイルスを捕集した。この捕集液をウイルス感染価測定用試料の原液とした。

5) ウイルス感染価の測定

ウイルス感染価測定用試料の原液を PBS で 10 倍段階希釈した後、測定用試料原液または 10 倍段階希釈系列のウイルス液 50 μL と 5 % FBS 加 DMEM に懸濁した MDCK 細胞 50 μL を 96 ウェルプレートに植え込み、CO₂ インキュベータで 4 日間培養を行った。4 日後、顕微鏡下で CPE を観察し、Reed-Muench 法を用いてウイルス感染価 (TCID₅₀/mL) を求めた。感染価は捕集空気 (30 L) 当たりの感染価 (TCID₅₀/30L-air) に換算した。

6) 浮遊ウイルス抑制能の評価方法

日本電機工業会規格 JEM1467 の附属書 D では 20 ~ 32 m³ の試験空間において 90 分間で 2.0 桁の減少が求められている (添付資料に記載)。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、試験空間も 0.2 m³ と異なっていることから、参考として、以下の方法で評価を実施した。

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、コントロール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} (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 - コントロールの対数減少値

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

本試験方法によって得られる正味の対数減少値が 2.0 以上のとき試験品の浮遊ウイルスに対する抑制効果があるものと判断した (JEM 1467 附属書 D 除去効果の項を参考)。

12. 結果

噴霧した試験ウイルス液のウイルス感染価は、 3.5×10^7 TCID₅₀/mL であった。表-1 および、図-1 に経過時間ごとの浮遊ウイルス感染価を示した。表-2 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による 15 分後、30 分後および 60 分後の対数減少値 (減少率) はそれぞれ、 > 3.5 ($> 99.9\%$)、 > 3.2 ($> 99.9\%$) および > 2.0 ($> 99.0\%$) であった。

13. 参考情報

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。また、試験チャンバー内のオゾン濃度を示した。

14. コメント

本試験では、15 分後の対数減少値 (減少率) が > 3.5 ($> 99.9\%$) となり、 0.2 m^3 空間において浮遊ウイルスに対する抑制性能が確認された。

表-1 経過時間ごとの浮遊ウイルス感染価 (単位: TCID₅₀/30 L-air)

試験条件	時間 (分)			
	0 (初期)	15	30	60
① 自然減衰 (コントロール)	1.1×10^6	3.3×10^5	1.6×10^5	1.2×10^4
② 空間清浄器 j.air	1.3×10^6	$< 1.3 \times 10^2$	$< 1.3 \times 10^2$	$< 1.3 \times 10^2$

試験品: 空間清浄器 j.air

試験ウイルス: A 型インフルエンザウイルス (Influenza A virus, A/PR/8/34, ATCC VR-1469)

試験空間: 0.2 m³

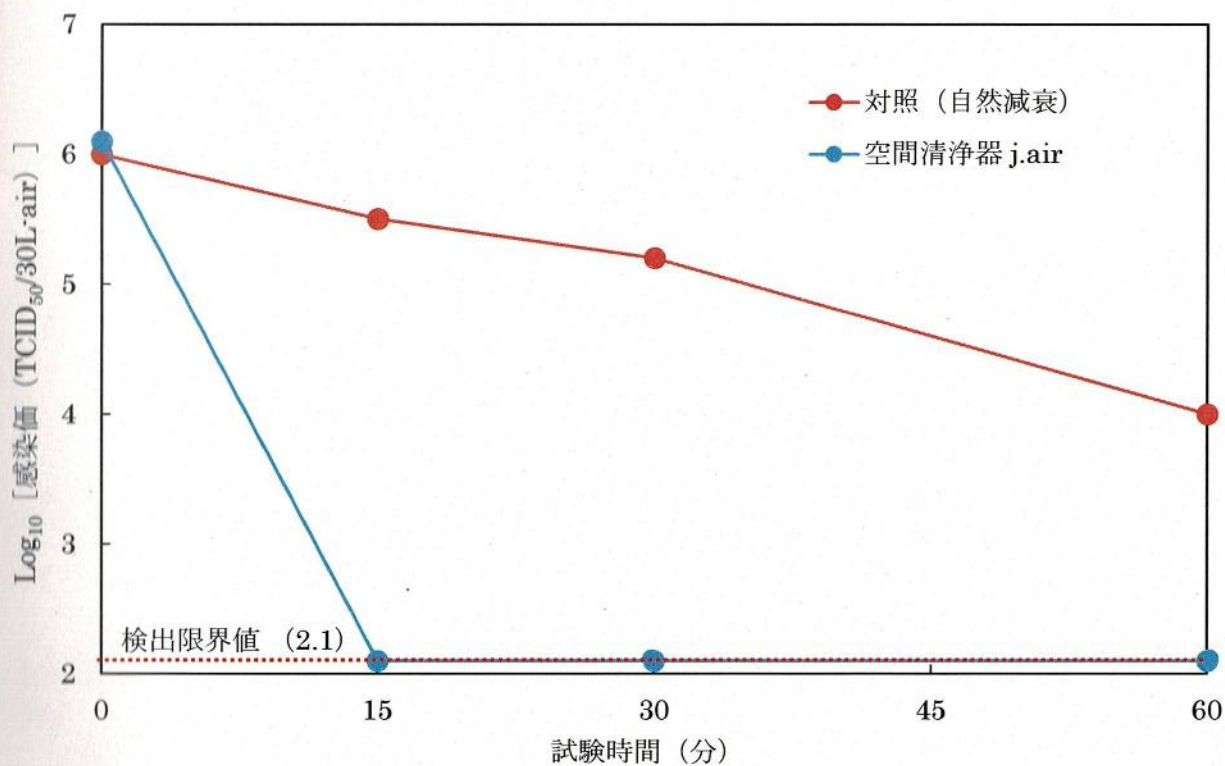


図-1 経過時間ごとの浮遊ウイルス感染価

表-2 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 (分)		
	15	30	60
① 自然減衰 (コントロール)	対数減少値 0.5	対数減少値 0.8	対数減少値 2.0
② 空間清浄器	対数減少値 > 4.0	対数減少値 > 4.0	対数減少値 > 4.0
j.air	正味の対数減少値 (減少率) > 3.5 (> 99.9%)	正味の対数減少値 (減少率) > 3.2 (> 99.9%)	正味の対数減少値 (減少率) > 2.0 (> 99.0%)

*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 - コントロールの対数減少値

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