



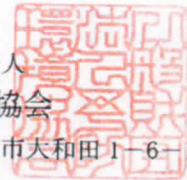
第 SPE150106-1R 号

2015 年 1 月 6 日

試験報告書

マッキンリーネクスト株式会社 様
エコーテック株式会社 様
本多電子株式会社 様

一般財団法人
予防環境協会
埼玉県新座市大和田 1-6-15



試験名 試験室による浮遊細菌（表皮ぶどう球菌）の除菌効果

平成 26 年 11 月 27 日に検査依頼のありました試験結果を報告致します。

殺菌液噴射装置

殺菌液噴射装置

密閉ドア

ウイルス放出
エアースプレー

陰圧管理HEPA

陰圧管理HEPA

天井
HEPA

UV殺菌灯

UV殺菌灯

天井
HEPA

密閉ドア

サーキュ
レーター

大型クリーンチャンバー
《陰圧管理 実験室 26 m³》

2990

4259

温度・湿度管理

サンリング

エア-回収
スキャン

UV殺菌灯

検体設置

サーキュ
レーター

陰圧管理
HEPA

天井
HEPA

3960 (H2210)

陰圧管理HEPA

殺菌液噴射装置

6250 (H2410)

殺菌液噴射装置

試験室検査

ウイルス検査



試験室による浮遊細菌（表皮ぶどう球菌）の除菌効果

1. 依頼者

マッキンリーネクスト株式会社

エコーテック株式会社

本多電子株式会社

2. 検体

CELA 水（マッキンリーネクスト）

3. 試験目的

検体の空間噴霧による浮遊細菌の除菌効果を試験する。

4. 試験概要

大型クリーンチャンバー（以下、試験室）内に菌液を噴霧・飛散させた後、検体を噴霧し、その除菌効果を試験した。すなわち、菌液を噴霧・飛散させた後、検体を超音波霧化器で同空間に噴霧した。エアサンプラーで経時的に室内の空気採取・培養し、菌数の変化を測定することで、検体の浮遊細菌に対する除菌効果を試験した。

5. 試験方法

1) 使用施設

（一財）予防環境協会室内空間研究所バイオクリーンルーム内に設置された試験室（約 26m³）。試験室内部には、細菌飛散用ファンを設置した。

2) 使用機器

超音波霧化器 JIA-MIST JM-1000（エコーテック）を用いた。風量および霧化量は最大で、試験した。

3) 試験室内空気の採取

SAS SUPER ISO100 エアサンプラー（International pbi）を用いて、試験室外部から採取した。

4) 供試菌株

表皮ぶどう球菌 *Staphylococcus epidermidis* NBRC12993



5) 使用培地

試験菌の増殖：ハートインフュージョンブイヨン培地(栄研化学)

検出用培地：ハートインフュージョン寒天培地(栄研化学)

6) 菌液の調整

菌液を滅菌リン酸緩衝液で約 1×10^6 CFU/mL に希釈調製した。

(CFU : Colony Forming Unite 細菌数の単位)

7) 噴霧細菌の菌数確認

調製菌液を滅菌リン酸緩衝液で 10 倍連続希釈し、ハートインフュージョン寒天培地を用いた混釈平板培養法 ($35^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、2 日間培養) により、噴霧菌数を測定した。

8) 試験操作

初めに試験室を陰圧管理した後、表皮ぶどう球菌約 1×10^6 CFU/mL の調製菌液 2mL に滅菌リン酸緩衝液 1mL を加えた菌液 (3mL) を試験室内に設置された噴霧ノズルから約 3 分間で噴霧した。噴霧後 1 分間、試験室内を攪拌した後に室内空気を採取し、これを 0 分とした。続いて超音波霧化器を稼働させ、検体の噴霧を開始した。10 分、20 分、30 分、そして 40 分後に室内空気をそれぞれ採取し、浮遊細菌数を測定した。

以上の方法で、超音波霧化器の稼働無 (自然減衰)、水道水噴霧、検体噴霧について試験した。

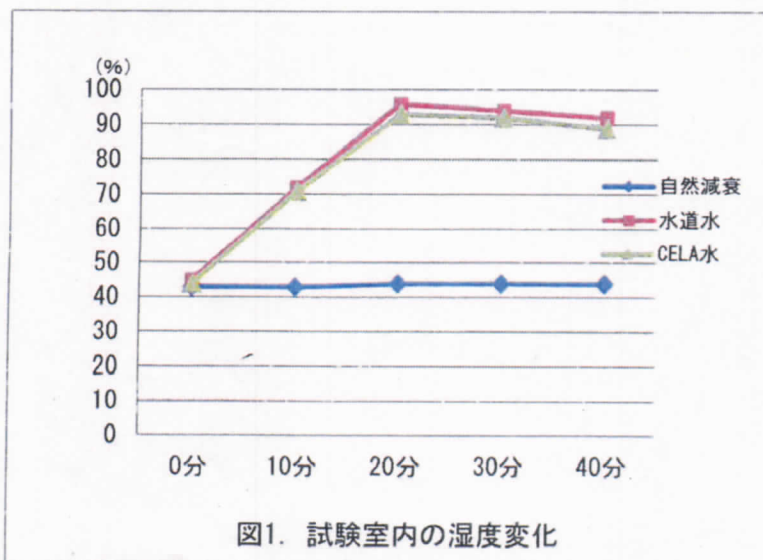
6. 試験結果

1.6×10⁶CFU/mL 濃度の細菌液 2mL (3.2×10⁶CFU/2mL) を噴霧ノズルから約 3 分間噴霧飛散させた。1 分間試験室内空気を攪拌した後、室内空気を採取した(0 分)。超音波霧化器を稼働させ 10 分、20 分、30 分、そして 40 分後に室内空気をエアサンプラーで採取し、浮遊細菌数を測定した。

検体噴霧による試験室内の湿度変化を表 1 および図 1 に示した。自然減衰において湿度変化は、認められなかった。しかし、水道水噴霧および検体噴霧では、噴霧開始と共に湿度が上昇した。15 分前後で湿度 90%を超えたため、霧化器を停止した。噴霧量は、約 250mL 前後であった。試験室内の温度は、試験中試験条件に係わらず 21.5±1℃であった。

表 1. 試験室内の湿度変化 (%)

	自然減衰	水道水	CELA 水
0 分	43	45	44
10 分	43	72	71
20 分	44	96	93
30 分	44	94	92
40 分	44	92	89



浮遊細菌の経時変化を表 2 および図 2 に示した。自然減衰（稼働無）では、細菌噴霧・拡散後 0 分では、3800CFU/100L 検出された。10 分後 1827CFU/100L、20 分後 1410CFU/100L、30 分後 860CFU/100L そして 40 分後には 610CFU/100L となだらかな減衰を示した。

加湿対照の水道水噴霧では、細菌噴霧・拡散 0 分では、3180CFU/100L 検出された。10 分後 1485CFU/100L、20 分後 802CFU/100L、30 分後には 412CFU/100L そして 40 分後には 228CFU/100L と自然減衰同様なだらかな減衰を示した。水道水による細菌飛散への影響は認められなかった。

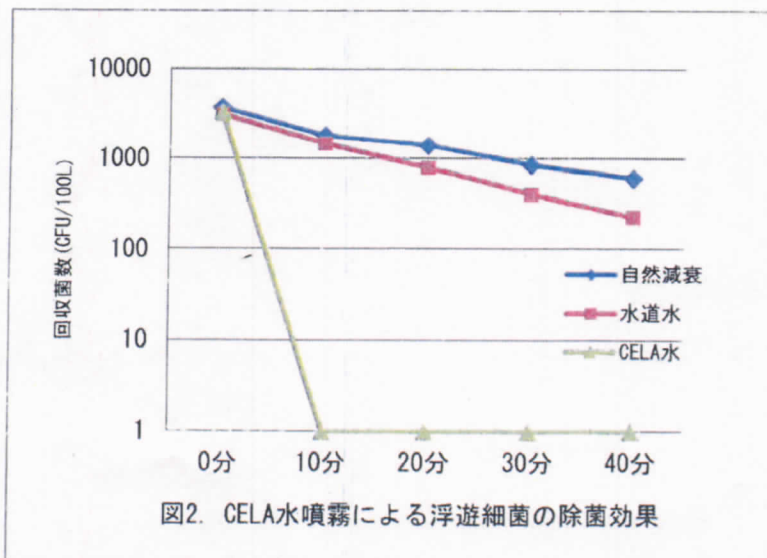
検体噴霧では、細菌噴霧・拡散後 0 分では、3410CFU/100L 検出された。しかし、10 分後には検出されなかった。

表 2. CELA 水噴霧による浮遊細菌の除菌効果

	自然減衰	水噴霧	CELA 水
0 分	3800	3180	3410
10 分	1827	1485	nd
20 分	1410	802	nd
30 分	860	412	nd
40 分	610	228	nd

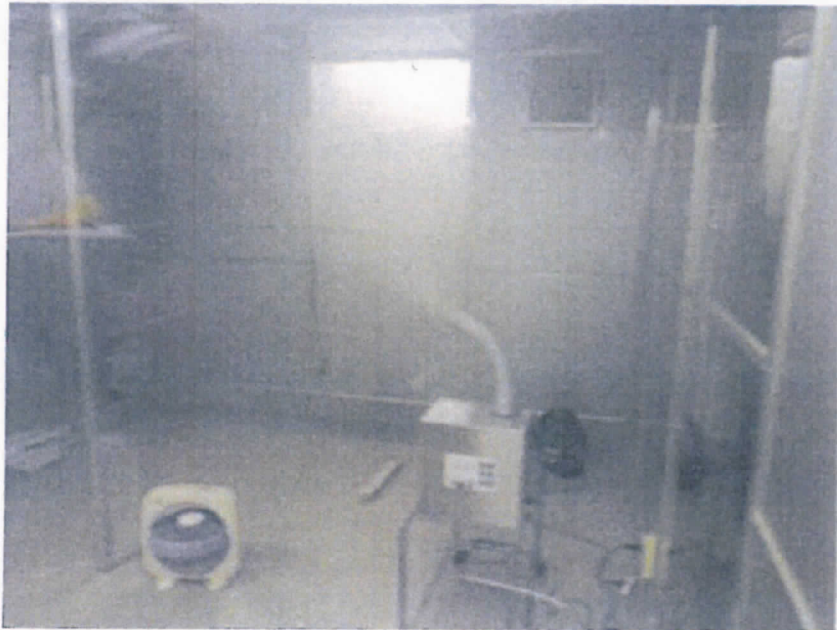
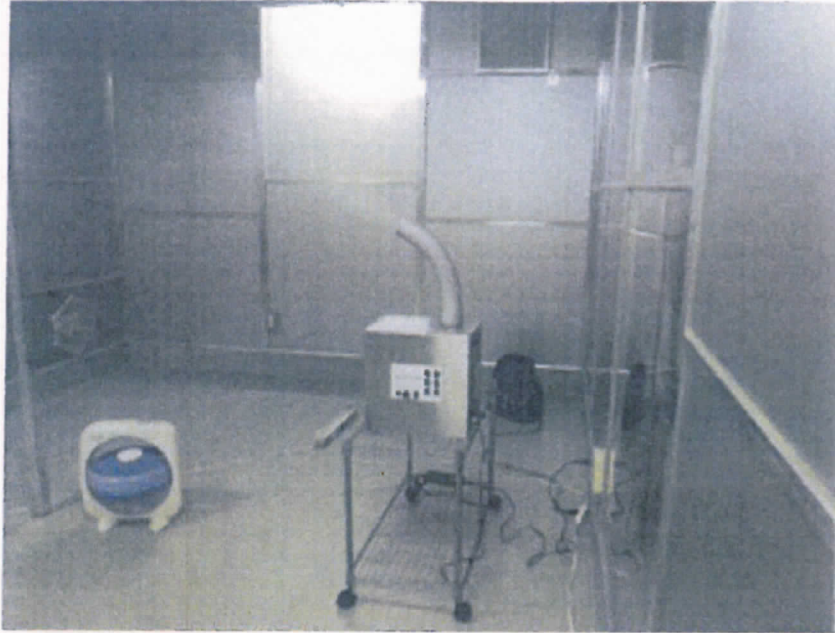
CFU/100L (Colony Forming Unite)

nd: 検出されず





付記



湿度 90%以上



第 SPE150107-1R 号

2015 年 1 月 7 日

試験報告書

マッキンリーネクスト株式会社 様
エコーテック株式会社 様
本多電子株式会社 様

一般財団法人
予防環境協会
埼玉県新座市大和田 1-6-15



試験名 試験室による浮遊ウイルス（バクテリオファージ）の除去効果

平成 26 年 11 月 27 日に検査依頼のありました試験結果を報告致します。



試験室による浮遊ウイルス（バクテリオファージ）の除去効果

1. 依頼者

マッキンリーネクスト株式会社
エコーテック株式会社
本多電子株式会社

2. 検体

CELA 水（マッキンリーネクスト）

3. 試験目的

検体の空間噴霧による浮遊ウイルスの除去効果を試験する。

4. 試験概要

大型クリーンチャンパー（以下、試験室）内にウイルス液（バクテリオファージ、以下ファージと略）を噴霧飛散させた後、検体を噴霧し、その除去効果を試験した。すなわち、ファージ液を噴霧飛散させた後、検体を超音波霧化器で同空間に噴霧した。エアスキャンで経時的に室内の空気を採取・培養し、ファージ感染価の変化を測定することで、検体の浮遊ファージに対する除去効果を試験した。

5. 試験方法

1) 使用施設

（一財）予防環境協会室内空間研究所バイオクリーンルーム内に設置された試験室（約 26m³）。試験室内部には、ウイルス飛散用ファンを設置した。

2) 試験室内空気の採取

MD8 エアスキャン (Sartorius stedim biotech) とゼラチンフィルターを用いて、試験室外部から採取した。

3) 供試株/供試菌株

噴霧ウイルスは、バクテリオファージ *Bacteriophage* ϕ X174 NBRC 103405 を用いた。
ファージの培養には、宿主菌として *Escherichia coli* (Migula 1895) NBRC 13898 を用いた。

4) 使用培地

宿主菌の増殖には、普通ブイヨン培地（栄研）を用いた。ファージの培養には、普通ブイヨン培地（栄研）に細菌用寒天（栄研）を加えて用いた。

5) 供試ファージの調製

ファージは、宿主菌で増殖させた後、遠心分離し、さらに $0.2\mu\text{m}$ のフィルターで濾過・分注して、 4°C に保存したものをを用いた。滅菌リン酸緩衝液で調製したファージ 1mL に滅菌リン酸緩衝液を 2mL 加えたもの(計 3mL)を噴霧した。

6) 噴霧ファージの感染価確認

調製ファージ液を滅菌リン酸緩衝液で 10 倍連続希釈し、その 0.2mL を宿主菌添加普通寒天培地シャーレに接種した。 35°C で培養した後、形成されたプラーク数を計測することで、噴霧されたファージ感染価を算出した。

ファージ感染価は、PFU/100L (Plaque Forming Unite ファージ感染価の単位)で表した。

7) 回収された浮遊ファージの培養

エアスキャン($100\text{L}/2$ 分)で用いられたゼラチンフィルターは、滅菌リン酸緩衝液 10mL で、溶解され、その 0.2mL を宿主菌添加普通寒天培地シャーレに接種した。 35°C で培養した後、形成されたプラーク数を計測することで、回収された浮遊ファージ感染価を算出した。

ファージ感染価は、PFU/100L (Plaque Forming Unite ファージ感染価の単位)で表した。

8) 使用機器

超音波霧化器 JIA-MIST JM-1000 (エコーテック) をを用いた。風量および霧化量は最大で、試験した。

9) 試験操作

試験室内にファージ液(約 $1.0 \times 10^8 \text{PFU}/\text{mL}$)を附置噴霧ノズルから、約 3 分かけて噴霧・飛散させた。1 分間攪拌した後にエアスキャン(ゼラチンフィルター)で室内空気 100L ($50\text{L}/\text{分}$)を採取し、これを 0 分とした。検体を稼働させた後、エアスキャンで 10 分、20 分、30 分そして 40 分後に室内空気 100L を同様に採取した。ファージ採取に使用したゼラチンフィルターは、滅菌リン酸緩衝液 10mL で、溶解し、その 0.2mL を宿主菌添加普通寒天培地シャーレに接種した。 35°C で培養した後、形成されたプラーク数を測定することで、回収された浮遊ファージ感染価を算出した。

この工程を自然減衰、水道水噴霧そして検体噴霧について試験した。

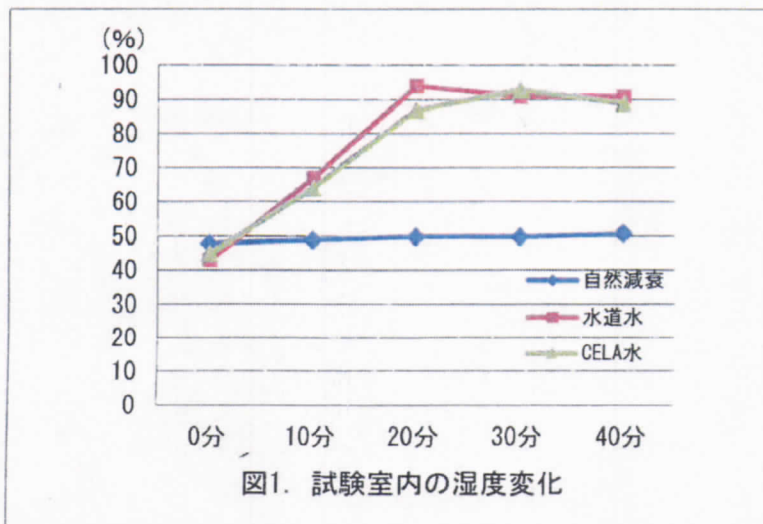
6. 試験結果

回収された浮遊ファージ感染価を測定することで、検体のファージ除去効果を試験した。使用したファージ液の感染価は、 2.0×10^8 PFU/mLであった。

検体噴霧による試験室内の湿度変化を表1および図1に示す。自然減衰において湿度変化は、認められなかった。しかし、水道水噴霧および検体噴霧では、噴霧開始と共に湿度が上昇した。15分前後で湿度90%を超えたため、霧化器を停止した。噴霧量は、約250mL前後であった。試験室内の温度は、試験中試験条件に係わらず $22 \pm 1^\circ\text{C}$ であった。

表1. 試験室内の湿度変化 (%)

	自然減衰	水道水	CELA水
0分	48	43	45
10分	49	67	64
20分	50	94	87
30分	50	91	93
40分	51	91	89



浮遊ファージの経時変化を表2および図2に示した。自然減衰（稼働無）では、ファージ噴霧・拡散0分では、 1.1×10^5 PFU/100L 検出された。

10分後 5.3×10^4 PFU/100L、20分後 7.0×10^4 PFU/100L、30分後 4.6×10^4 PFU/100Lそして40分後には 2.9×10^4 PFU/100L となだらかな減衰を示した。

加湿対照の水道水噴霧では、ファージ散布拡散 0 分には、 1.3×10^5 PFU/100L 検出された。10 分後 1.6×10^5 PFU/100L、20 分後 9.3×10^4 PFU/100L、30 分後には 5.8×10^4 PFU/100L そして 40 分後には 23.6×10^4 PFU/100L と自然減衰と同様になだらかな減衰を示した。これにより水道水噴霧によるファージ飛散への影響がないことは明らかとなった。

検体噴霧では、ファージ噴霧・拡散 0 分には、 1.1×10^5 PFU/100L 検出されたが、10 分後には検出されなかった。

表 2. CELA 水噴霧による浮遊ウイルスの除去効果

	自然減衰	水道水	CERA 水
0 分	1.1×10^5	1.3×10^5	1.1×10^5
10 分	5.3×10^4	1.6×10^5	nd
20 分	7.0×10^4	9.3×10^4	nd
30 分	4.6×10^4	5.8×10^4	nd
40 分	2.9×10^4	3.6×10^4	nd

PFU/100L (Plaque Forming Unite)

nd:検出されず

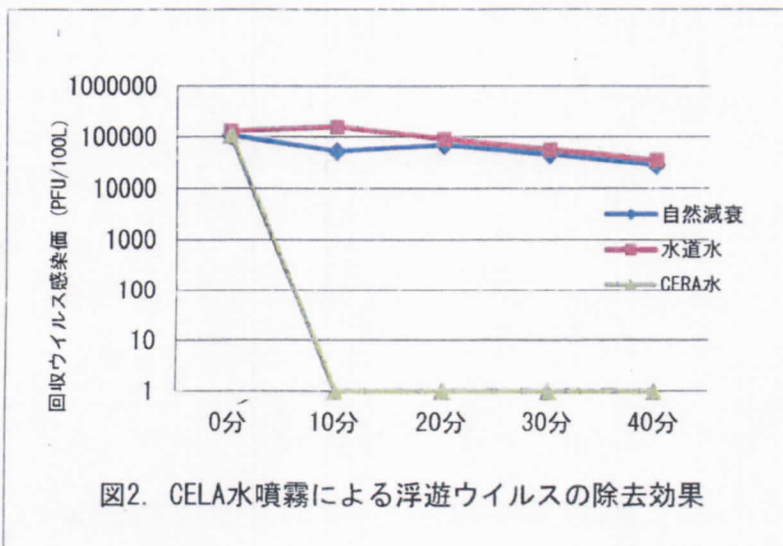
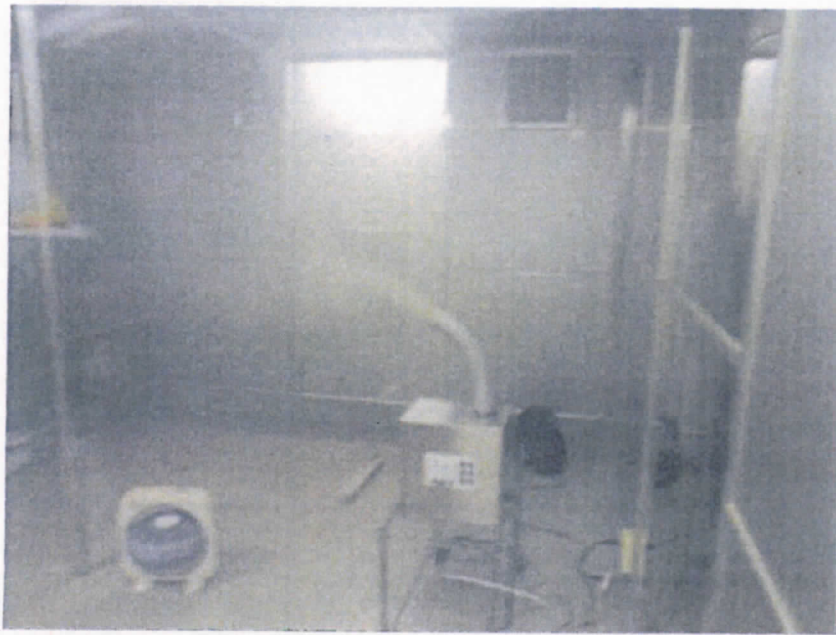
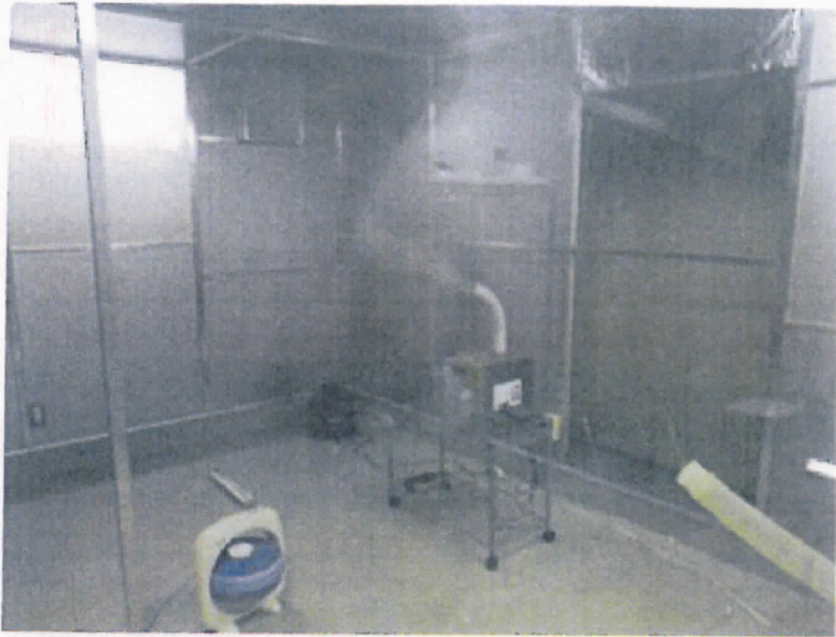


図2. CELA水噴霧による浮遊ウイルスの除去効果



付記



湿度 90%以上