

帯電微粒子水によるウイルス・細菌抑制効果

Suppression Effect of Nano-Sized Electrostatic Atomized Water Particles on Viruses and Bacteria

浅野 幸康* · 須田 洋* · 大江 純平* · 前川 哲也** · 山内 俊幸*
Yukiyasu Asano Hiroshi Suda Junpei Oue Tetsuya Maekawa Toshiyuki Yamauchi

帯電微粒子水によるウイルスと病原性細菌の抑制効果について検証した。その結果、新型インフルエンザウイルス（A/H1N1pdm）に対しては6時間暴露で99%、季節性インフルエンザウイルス（A/H1N1）および鳥インフルエンザウイルス（A/H5N1, A/H9N2）に対しては4時間暴露でいずれも99.9%、犬ジステンパーウイルスに対しては4時間暴露で98.2%の抑制効果がそれぞれ確認された。また、腸管出血大腸菌およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対しては1時間暴露でいずれも99.99%の抑制効果が確認された。これらは、帯電微粒子水に含まれる種々のラジカル種によりウイルスや細菌の表面たんぱく質が変異することによって抑制されるものと考えているが、その詳細メカニズムの解明は今後の課題である。

帯電微粒子水によるこれらの抑制効果は、静電霧化装置の応用機器を開発するうえで大いに期待される。

We have verified the suppression effect of nano-sized electrostatic atomized water particles on viruses and pathogenic bacteria. The result confirmed a suppression effect of 99% on the new influenza viruses (A/H1N1pdm) after six hours of exposure, 99.9% on seasonal influenza viruses (A/H1N1) and avian influenza viruses (A/H5N1, A/H9N2) after four hours of exposure, and 98.2% on canine distemper viruses after four hours of exposure. In addition, a 99.99% suppression effect was confirmed with the enterohemorrhagic *Escherichia coli* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after one hour of exposure. These suppression effects are presumed to come from the mutation of the surface protein of viruses and bacteria caused by the radicals contained in the nano-sized electrostatic atomized water particles; however, the precise mechanism will be clarified in the future.

These suppression effects of nano-sized electrostatic atomized water particles have big potential in the development of applications of electrostatic atomizing devices.

1. ま え が き

これまで、帯電微粒子水による空質分野での効果として付着臭脱臭や花粉、ダニなどのアレル物質の不活化などを検証して報告してきた^{1)~3)}。今回、毎年秋から冬にかけて多くの感染者が発生する季節性インフルエンザウイルス、近年国内外で感染が広がっている新型インフルエンザウイルスや鳥インフルエンザウイルス、犬ジステンパーウイルス、腸管出血性大腸菌（O157:H7）、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）に対する帯電微粒子水による抑制効果を検証したので報告する。

2. 帯電微粒子水について

帯電微粒子水は図1に示す静電霧化装置などで生成される。その原理は、ペルチェ素子で冷却した霧化電極に空気中の水分を結露させ、霧化電極と対向電極間に数kVの電圧を印加することで結露した水が静電霧化現象により微細化（レイリー分裂）され、ナノサイズの帯電微粒子水が生成される^{4)~8)}。

静電霧化装置によって生成される帯電微粒子水にはラジカル種としてスーパーオキシドラジカル、ヒドロキシラジカルや一酸化窒素ラジカルなどが含まれていることが検証されており、付着臭の脱臭効果やアレル物質の不活化効果

* 電器事業本部 電器R&Dセンター Research & Development Center, Home Appliances Manufacturing Business Unit

** 新規商品創出技術開発部 New Product technologies Development Department

は活性度の高いラジカル，およびイオンによるものと推測している⁹⁾。

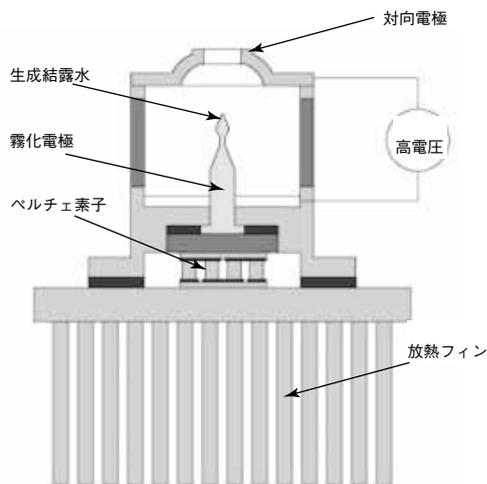


図1 静電霧化装置

3. 効果検証

試験では，バイオセーフティーレベル2あるいはレベル3の実験室内の安全キャビネットに設置できるボックス（外寸350×350×400mm，容積約45L）を選定する。これは，感染性のウイルスや細菌の試験に対し，実験室のバイオセーフティー指針を遵守するためである^{9), 10), 11)}。また，ボックス内に静電霧化装置を設置し，帯電微粒子水をウイルス液や菌液に所定の時間暴露してその効果を検証する。

また，今回の検証では複数回の試験を行い，再現性を確認したのでその結果を報告する。

3.1 季節性インフルエンザウイルスへの効果

毎年，秋から冬にかけて流行し，多くの感染者が発生する季節性インフルエンザへの効果を確認する。

3.1.1 試験方法

試験方法の詳細は以下のとおりである。

(1) 試験対象

季節性インフルエンザウイルス（Influenza A／H1N1（Aソ連型））を選定する。

(2) 帯電微粒子水暴露時間

4時間暴露を行い，比較として非暴露（コントロール）を用意する。

(3) ウイルス液生成方法

単層培養した細胞にウイルスを接種し，細胞維持培地を加えて約37℃で1～5日間培養する。細胞の形態変化が起きていることを確認後，培養液を遠心分離し，上澄み液を得る。この上澄み液を精製水で10倍希釈して実験用のウイルス液として用いる。

(4) ウイルス力価の測定

ウイルス処理開始から4時間後にウイルス液を回収し，

回収したウイルス液とその希釈液を細胞の入った組織培養用マイクロプレートに接種し，約37℃で7～10日間培養する。培養後，細胞の形態変化の有無を観察してReed-Muench法によりウイルス力価（50%組織培養感染量：log TCID₅₀/1mL）を算出する。

なお，試験は2回行い，抑制率の低いほうを結果とし報告する。

3.1.2 結果

結果を表1に示す。帯電微粒子水に暴露した場合は，コントロールに比較してウイルス抑制率は4時間で99.9%となり，その効果が認められる。

なお，ウイルス抑制率は式（1）で表される。

$$\begin{aligned} \text{ウイルス抑制率}(\%) &= (1 - 0.1^{(\text{非暴露} - \text{暴露})}) \times 100 \quad (1) \\ &= (1 - 0.1^{(7.3 - 4.0)}) \times 100 = 99.9\% \end{aligned}$$

表1 季節性インフルエンザウイルスの抑制効果

| 試験条件 | ウイルス力価 (logTCID ₅₀ /1 mL) |
|--------------|--------------------------------------|
| コントロール (非暴露) | 7.3 |
| 帯電微粒子水 (暴露) | 4.0 |

3.2 新型インフルエンザウイルスへの効果

2009年，メキシコから世界各国に感染が拡大した新型インフルエンザウイルスに対する効果を検証する。

3.2.1 試験方法

試験方法の詳細は以下のとおりである。

(1) 試験対象

新型インフルエンザウイルス（Swine-origin influenza A／Narita／2009（H1N1）pdm）を選定する。

(2) 帯電微粒子水暴露時間

6時間暴露を行い，比較として非暴露（コントロール）を用意する。

(3) ウイルス液生成方法

ウイルスを発育鶏卵の尿膜腔内に接種し，約37℃で3日間培養後に尿腔液を回収する。この尿腔液を超純水で10倍希釈して実験用のウイルス液として用いる。

(4) ウイルス力価の測定

ウイルス処理開始から6時間後にウイルス液を回収し，燐酸緩衝生理食塩水で10倍階段希釈して発育鶏卵に接種し，約37℃で3日間培養する。これらの鶏卵から得られた尿腔液に観察された赤血球凝集反応をもとに，ウイルス力価（50%卵感染量：log EID₅₀/0.1 mL）を算出する。

3.2.2 結果

結果を表2に示す。帯電微粒子水に暴露した場合は，コントロールに比較してウイルス抑制率は6時間で99%となり，その効果が認められる。

表2 新型インフルエンザウイルスの抑制効果

| 試験条件 | ウイルス力価 (logEID ₅₀ /0.1 mL) |
|--------------|---------------------------------------|
| コントロール (非暴露) | 6.5 |
| 帯電微粒子水 (暴露) | 4.5 |

3.3 鳥インフルエンザウイルスへの効果

新型インフルエンザウイルスの感染が拡大する前から、アジアを中心に発生・拡大が懸念され、季節性のインフルエンザよりも致死率が高くなることが推測されている鳥インフルエンザウイルスの2種の亜型ウイルスに対する効果を検証する。

3.3.1 試験方法

試験方法の詳細は以下のとおりである。

(1) 試験対象

高病原性H5N1亜型鳥インフルエンザウイルス、低病原性H9N2亜型鳥インフルエンザウイルスを選定する。

(2) 帯電微粒子水暴露時間

4時間暴露を行い、比較として非暴露(コントロール)を用意する。

(3) ウイルス液生成方法

発育鶏卵の尿膜腔内で増殖させ、得られた尿腔液(ウイルス原液)を超純水で10倍希釈して実験用ウイルス液として用いる。

(4) ウイルス力価の測定

ウイルス処理開始から4時間後に各ウイルス液を回収し、10倍階段希釈して培養細胞に接種する。その後4日目に観察された細胞変性効果をもとにウイルス力価(50%組織培養感染量: log TCID₅₀/0.1mL)を算出する。

3.3.2 結果

結果を表3、表4に示す。帯電微粒子水を暴露した場合は、コントロールに比較してウイルス抑制率は4時間で99.9%となり、その効果が認められる。

表3 鳥インフルエンザウイルス(H5N1)の抑制効果

| 試験条件 | ウイルス力価 (logTCID ₅₀ /0.1 mL) |
|--------------|--|
| コントロール (非暴露) | 6.00 |
| 帯電微粒子水 (暴露) | 2.50 |

表4 鳥インフルエンザウイルス(H9N2)の抑制効果

| 試験条件 | ウイルス力価 (logTCID ₅₀ /0.1 mL) |
|--------------|--|
| コントロール (非暴露) | 7.25 |
| 帯電微粒子水 (暴露) | 4.25 |

3.4 ペットウイルスへの効果

近年、国内のペットブームの高まりとともにペットの健康に配慮するニーズが高まっている。そこで、愛玩動物(ペット)に関連するウイルスに対する効果を検証する。

3.4.1 試験方法

試験方法の詳細は以下のとおりである。

(1) 試験対象

犬ジステンバーウイルスを選定する。

(2) 帯電微粒子水暴露時間

4時間暴露を行い、比較として非暴露(コントロール)を用意する。

(3) ウイルス液生成方法

培養細胞にウイルスを接種し、細胞維持培地を加えて3日間培養する。培養後培養液を遠心分離し、上澄み液を燐酸緩衝液で2倍に希釈して実験用ウイルス液とする。

(4) ウイルス力価の測定

ウイルス処理から4時間後にウイルス液を回収し、10倍階段希釈して培養細胞に接種する。その後5日目に観察された細胞変性効果をもとにウイルス力価(50%組織培養感染量: log TCID₅₀/50 μL)を算出する。

3.4.2 結果

結果を表5に示す。帯電微粒子水を暴露した場合は、コントロールに比較してウイルス抑制率は4時間で98.2%となり、その効果が認められる。

表5 犬ジステンバーウイルスの抑制効果

| 試験条件 | ウイルス力価 (logTCID ₅₀ /50 μL) |
|--------------|---------------------------------------|
| コントロール (非暴露) | 2.50 |
| 帯電微粒子水 (暴露) | 0.75 |

3.5 病原性細菌への効果

近年、院内感染が問題となっている代表的な病原性細菌に対する効果を検証する。

3.5.1 試験方法

試験方法の詳細は以下のとおりである。

(1) 試験対象

腸管出血大腸菌(血清型O157:H7, ペロ毒素IおよびII型産生株), メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)を選定する。

(2) 帯電微粒子水暴露時間

1時間暴露を行い、比較として非暴露(コントロール)を用意する。

(3) 菌液生成方法

試験株を普通寒天培地で35℃±1℃, 18~24時間培養した後、菌体を精製水に浮遊させて菌数が約10⁵/mLとなるように調整し、ガーゼに接種して試料とする。

(4) 菌数の測定

暴露処理後にサンプルを取り出し、SCDLP培地10mLを用いて洗い出す。洗い出し中の生菌数は菌数測定用培地を用いて測定する。

3.5.2 結果

結果を表6、表7に示す。帯電微粒子水を暴露した場合

は、コントロールに比較して細菌抑制率はそれぞれ1時間で99.99%となり、その効果が認められる。

なお、細菌抑制率は式(2)のとおりであり、帯電微粒子水暴露側は検出限界以下であったため、検出限界値10を用いて算出を行う。

$$\text{細菌抑制率 (\%)} = (1 - \text{暴露} / \text{非暴露}) \times 100 \quad (2)$$

表6 腸管出血大腸菌(O157)の抑制効果

| 試験条件 | 生菌数(個) |
|-------------|--------|
| コントロール(非暴露) | 160000 |
| 帯電微粒子水(暴露) | <10 |

<10: 検出限界以下

表7 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の抑制効果

| 試験条件 | 生菌数(個) |
|-------------|--------|
| コントロール(非暴露) | 470000 |
| 帯電微粒子水(暴露) | <10 |

<10: 検出限界以下

4. あとがき

帯電微粒子水によるウイルスと病原性細菌の抑制効果に

ついて検証した。その結果、新型インフルエンザウイルス(A/H1N1pdm)に対しては6時間暴露で99%、季節性インフルエンザウイルス(A/H1N1)および鳥インフルエンザウイルス(A/H5N1, A/H9N2)に対しては4時間暴露でいずれも99.9%、犬ジステンバーウイルスに対しては4時間暴露で98.2%の抑制効果がそれぞれ確認された。また、腸管出血大腸菌およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対しては1時間暴露でいずれも99.99%の抑制効果が確認された。これらは、帯電微粒子水に含まれる種々のラジカル種によりウイルスや細菌の表面たんぱく質が変異することによって抑制されるものと考えているが、その詳細メカニズムの解明は今後の課題である。

帯電微粒子水によるこれらの抑制効果は、静電霧化装置の応用機器を開発するうえで大いに期待される。

なお、今回の試験は、国立大学法人 帯広畜産大学、学校法人 酪農学園 酪農学園大学、財団法人 日本食品分析センターの協力のもとに実施した。

本研究に際して貴重な助言および協力をいただいた帯広畜産大学 大動物特殊疾病研究センター 今井 邦俊 教授、小川 晴子 准教授、ならびに酪農学園大学 獣医学部 獣医学科 桐澤 力雄 教授に感謝の意を表します。

*参考文献

- 1) N. Iwamoto, H. Suda, Y. Matsui, T. Yamauchi, K. Okuyama : エアロゾル科学・技術研究討論会, p. 59-60 (2003)
- 2) 須田 洋, 岩本 成正, 小豆沢 茂和, 山内 俊幸, 奥山 喜久夫, 佐橋 紀男, 高橋 裕一, 安部 悦子: 静電霧化による付着臭の除去と花粉抗原の不活化, 第22回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会予稿集, p. 208-209 (2004)
- 3) 須田 洋, 中田 隆行, 小豆沢 茂和, 田中 友規, 山口 友宏, 山内 俊幸: 静電霧化技術応用空気清浄機の付着臭除去とアレルゲン不活化効果, 松下電工技報, Vol. 53, No. 3, p. 16-19 (2005)
- 4) H. Suda, N. Iwamoto, Y. Matsui, T. Yamauchi, K. Okuyama : 静電気学会講演論文集, p. 237-238 (2003)
- 5) K. Okuyama, M. Shimada, A. Okita, Y. Otani, S. J. Cho : エアロゾル研究, 13, p. 83-93 (1998)
- 6) M. Yamana, Y. Mitsutake, T. Maekawa, H. Suda, T. Yamauchi : エアロゾル科学・技術研究討論会, p. 145-146 (2006)
- 7) T. Maekawa, Y. Asano, T. Yamauchi, T. Seto, S. B. Kwon : エアロゾル科学・技術研究討論会, p. 5-6 (2006)
- 8) Y. Masuda, T. Maekawa, Y. Mitsutake, T. Yamauchi, K. Okuyama : エアロゾル科学・技術研究討論会, p. 171-172 (2007)
- 9) 下影 卓二, 才本 雅子, 奥本 佐登志, 宮田 隆弘, 山内 俊幸: 静電霧化による微粒子水の成分分析法, 松下電工技報, Vol. 53, No. 4, p. 11-16 (2005)
- 10) 国立感染症研究所: 病原体等安全管理規定 (2008)
- 11) 北村 敬, 小松 俊彦, 杉山 和良: 実験室バイオセーフティ指針 (WHO 第3版) (2006)

◆執筆者紹介



浅野 幸康
電器 R & D センター



須田 洋
電器 R & D センター



大江 純平
電器 R & D センター



前川 哲也
新規商品創出技術開発部



山内 俊幸
電器 R & D センター
博士 (工学)