

消臭抗菌液「ナノセンス」の抗ウイルス効果

2009/3/30 (月)

NPO 法人 バイオメディカルサイエンス研究会

目的：アールイージー社の製品消臭抗菌液「ナノセンス」のインフルエンザウイルスに対する不活化効果を調べた。

材料と装置：

被験液：消臭抗菌液「ナノセンス」

噴霧装置：株式会社キートロン製 あへんシュットアトマイザー (容量 0.25mL)

試験装置：グローブボックス (容積 120L)

湿度調整：シリカゲル

湿度測定：神栄 k k 製ハイグロログー

使用細胞：MDCK

ウイルス：インフルエンザ (H3N2)

方法

試験— (1)：「ナノセンス」とウイルスを直接作用させその不活化効果を調べる。作用時間は60分1点とする。

- ①小チューブに被験液 0.4mL を取り、そこにインフルエンザウイルスを等量の 0.4mL 加え、室温 (22 °C) で60分間静置する。対照として被験液の代わりに MEM を使用し同様に置く。
- ②60分後直ちに対照及び被験液を希釈し、細胞に接種する。

試験— (2)：「ナノセンス」をスプレーとして乾燥したウイルスに使用したときの効果を調べる。

- ①サージカルマスク (HOGY) を50mm角に切り取り、90mmのシャーレに入れる。これを被験液用と対照用の3枚作る。被験液は2枚、対照は1枚とする。
- ②インフルエンザウイルスをアトマイザーで2枚のマスクに 0.25mL (2回) 噴霧し、シリカゲルの入ったチャンバー内で低湿度 (1.5%) に保ち (40) 分間乾燥させる。
- ③乾燥した被験用マスクには「ナノセンス」をアトマイザーに入れ5回噴霧する。また対照用マスクはそのまま保つ。
- ④60分室温 (20°C) で静置した後、各シャーレに MEM 10 mL を加え、攪拌してウイルスを回収し、ブラック測定まで 4°C に保つ。

ウイルス量測定 (ブラックアセイ) ⇒試験日の終了後直ちに行なう。

ウイルス定量は通常行われているブラック法により測定する (別記)。簡単に述べると MDCK 細胞を6穴プレートにまき、3日後細胞が confluent になったところで使用する。

- ① 被験ウイルス液を血清 (-) の MEM で 10 倍階段希釈する。
- ② プレートの液を除去し、上記希釈したウイルス液を 100 μ L/well, 希釈あたり 2well 接種する。
- ③ 34°C CO₂ 恒温器に 1 時間ウイルスを吸着させる。時々接種ウイルス液を細胞面にならす。
- ④ 1 時間後、各 well に寒天培地を 3 ml /well 加える。

寒天培地は以下の組成にする。(120 ml つくるとして)

A MEM培地

5倍濃縮MEM	24ml
Distilled water	36ml
トリプシン	0.18mL
7.5%重曹液	2.4ml
DEAE dextran	2% dextran を 0.6ml

B 寒天0.75%

寒天パウダー	0.9 g
--------	-------

Distilled water 60ml

- ⑥ プレートを逆さにして 34°C 3 日間培養する。
- ⑦ プレートを恒温器からだし、約 3 %ホルマリン液を各 well に 2 mL ずつ加え 1 時間以上室温に静置し、細胞を固定する。
- ⑧ 固定した後、寒天培地を流水で流し、メチレンブルー染色液を 2 mL を加え 1 時間以上室温に静置し、その後水で流し去り、乾燥させてからブラックを数える。

成績： 下表の成績を得た。

検体名		ラベル	感染価(ウイルス量) PFU/0.1mL	備考
T-1	ナノセンス	A	3.9×10^5	等量混合
	対照	B	2.0×10^7	等量混合
T-2	ナノセンス	C 1	$<10^2$	吹き付け
	ナノセンス	C 2	$<10^2$	吹き付け
	対照	D	2.3×10^6	吹き付け

考察：

インフルエンザウイルスと検体液とを等量混合するとウイルス量が 99 % 減少した。一方インフルエンザウイルスをマスクにしみ込ませその後に検体を噴霧するとウイルス量は 99.99 % 以上に減少した。消臭抗菌液「ナノセンス」は布等に付着したインフルエンザウイルスを不活化する効果が高いと考えられる。

抗菌効果について

表 1 ナノセンスと他社製品 A の抗菌効果比較

	阻止円 半径 (cm)*		
	大腸菌	黄色ブドウ球菌	サルモネラ
ナノセンス	-	1.72	1.20
他社商品	0.93	1.25	0.95

*：寒天穿孔法

大腸菌（グラム陰性菌）、黄色ブドウ球菌（グラム陽性菌）、カビ（真菌）に対しても効果。

大腸菌による抗菌試験

ナノセンスは広範囲で大腸菌の繁殖を抑えていることが分かります。



表 2 ナノセンスの細菌に対する抗菌試験結果

試験菌	対象	試験液 1ml 当たりの生菌数	試験液 1ml 当たりの生菌数	
			開始時*	1 時間後
大腸菌	検体 ナノセンス	4.5×10^4	4.5×10^4	< 10
	対照 -	4.5×10^4	4.5×10^4	6.7×10^4
黄色ブドウ球菌	検体 ナノセンス	5.2×10^5	5.2×10^5	< 10
	対照 -	5.2×10^5	5.2×10^5	7.6×10^5

<10：検出せず、 対照：蒸留水、 *：菌接種直後の対照の生菌数を測定し、開始時とした。

表 3 ナノセンスのカビ（真菌）に対する抗菌試験結果

試験菌	対象	試験液 1ml 当たりの生菌数	試験液 1ml 当たりの生菌数	
			開始時*	1 時間後
黒カビ	検体 ナノセンス	7.5×10^1	7.5×10^1	< 10
	対照 -	7.5×10^1	7.5×10^1	6.0×10^1

<10：検出せず、 対照：蒸留水、 *：菌接種直後の対照の生菌数を測定し、開始時とした。

さらに、ナノセンスを超音波ミスト発生器で連続噴霧し、空中浮遊菌数を測定しましたところ、水を連続噴霧した場合に比べて、1時間後では45%、2時間後では20%に空中浮遊菌数が減少することを確認しております（表4）。

空中浮遊菌に対する効果

表4 ナノセンス連続噴霧時の空中浮遊菌数の推移(%)

対象		空中浮遊菌数(%)	
		1時間後	2時間後
検体	ナノセンス	45	20
対照	—	100	100

対照：滅菌蒸留水

実験：アスכולバイオ研究所