

## 研究成果報告書

平成22年7月12日

セパレーターシステム工業株式会社

代表取締役

松澤 皓三郎 様

学校法人京都産業大学

理事長

廣岡 正久



受託研究題目 『天然素材から生成された除菌・消臭液の鳥インフルエンザウイルスに対する有効性』

試験期間 平成21年11月1日 ～ 平成22年10月31日

上記の受託研究について、受託研究契約書第10条の規定により、下記の書類を添えて報告いたします。

### 記

1. 受託研究成果報告書 (別添) 1部

以上

平成 22 年 7 月 12 日

京都産業大学  
鳥インフルエンザ研究センター

高桑 弘樹

常國 良太

藤田 淑予

井上 瑞枝

大槻 公一

天然素材から生成させた除菌・消臭液のインフルエンザに対する有効性

**【目的】**

「バイオイオナース P」のインフルエンザウイルスに対する効果の検証を行う。

**【研究期間】**

平成 21 年 11 月 1 日ー平成 22 年 10 月 31 日

## 【実験材料】

- 1、被検試料: バイオイオナース P: セパレーターシステム工業株式会社より提供を受けた。
- 2、ウイルス: 鳥インフルエンザウイルス A/whistling swan/Shimane/499/83 (H5N3) 株  
1983年大槻らが島根県に飛来したコハクチョウの糞から分離した弱毒の H5 亜型ウイルスを用いた。本ウイルス株はヒナを継代することにより強毒化させることに成功している。本試験に用いたウイルスの力価は、 $10^{9.5}$  EID<sub>50</sub>/0.2ml である。
- 3、使用鶏卵: SPF10 日齢発育鶏卵  
栃木県青木種鶏場から SPF 有精卵を購入し、本研究センターで孵卵して実験に供した。

## 【方法】

バイオイオナース P を滅菌イオン交換水にて 8、4、2 および 1 mg/ml の濃度に溶解し、被検溶液とした。PBS にて  $10^{7.5}$  EID<sub>50</sub>/0.2ml に調整したウイルス液 400  $\mu$ l と各濃度の被検溶液 400  $\mu$ l を混合し、室温(25 $^{\circ}$ C)で静置した。また、陰性対照として被検溶液の代わりに滅菌イオン交換水を用い、ウイルス液と同様に混合した。10分または30分後、混合液を抗生物質入り PBS で 10 倍階段希釈し、10 日齢発育鶏卵漿尿膜腔内に 0.2 ml 宛接種した。これらの発育鶏卵をさらに 37 $^{\circ}$ C で 2 日間孵化を続行した後 4 $^{\circ}$ C に一夜置いた。漿尿液を採取し、HA 試験により漿尿液中のウイルスの増殖を判定した。ウイルス力価は Reed and Muench の方法により算出した。

## 【結果】

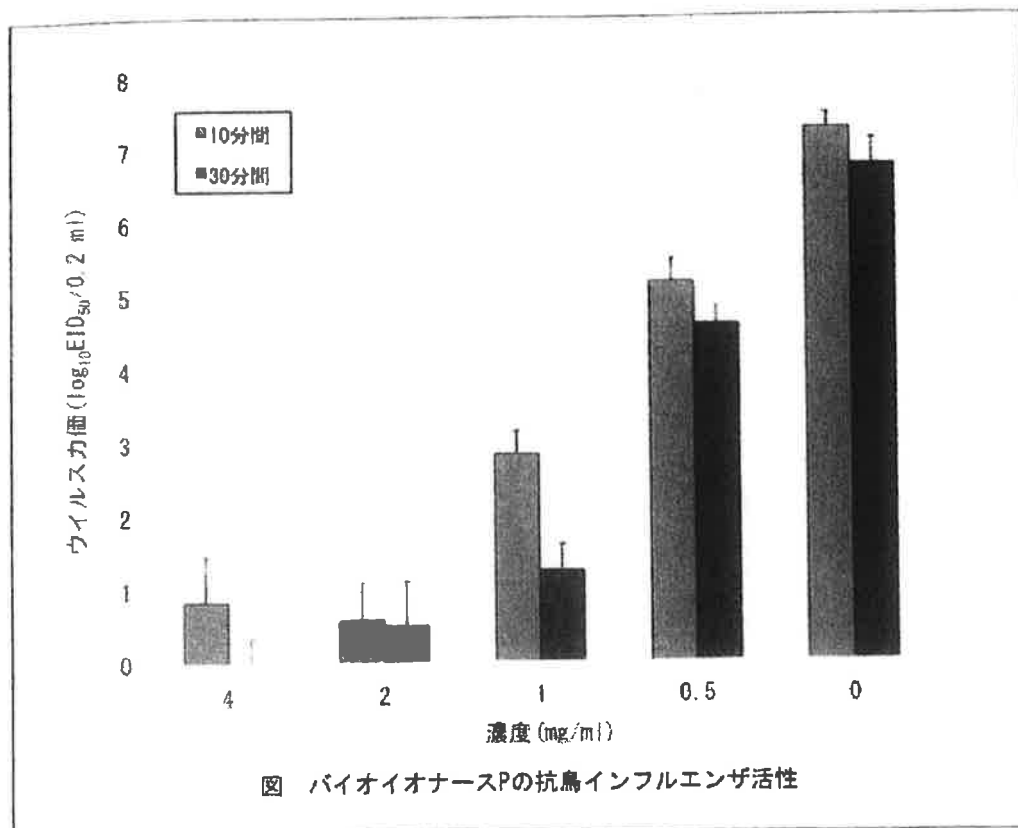
試験結果を表および図に示す。陰性対照としてウイルス液と滅菌イオン交換水を混合し、10 分間および 30 分間反応させた時の残存ウイルス力価は、それぞれ  $10^{7.25}$  EID<sub>50</sub>/0.2 ml および  $10^{6.75}$  EID<sub>50</sub>/0.2 ml であった。

被検溶液とウイルス液を 10 分間反応させた場合、反応液中の被検濃度が 2mg/ml 以上の時、残存ウイルス力価は  $10^{0.83}$  EID<sub>50</sub>/0.2 ml にまで大幅に減少していた。陰性対照のウイルス力価 ( $10^{7.25}$  EID<sub>50</sub>/0.2 ml) に比べると、1,000,000 分の 1 以下であった。また、被検体濃度が 1 mg/ml の場合も、 $10^{2.33}$  EID<sub>50</sub>/0.2 ml にまで減少していたが、0.5 mg/ml 濃度では、 $10^{3.17}$  EID<sub>50</sub>/0.2 ml のウイルスが生残していた。

被検溶液を 30 分間ウイルスに接触させた場合、さらに残存ウイルス力価は減少した。

表 バイオイオナースPの抗鳥インフルエンザウイルス活性

時間	残存ウイルス力価( $\log_{10}EID_{50}/0.2\text{ ml}$ )				
	バイオイオナースPの最終濃度(mg/ml)				
	4	2	1	0.5	0(対照)
10分	0.83	0.58	2.83	5.17	7.25
30分	-0.08	0.5	1.25	4.58	6.75



【結論】

バイオイオナースPは、H5N3 亜型鳥インフルエンザウイルスに対して、1 mg/ml以上の濃度で10分間接触させることによって明らかにウイルス不活化効果を示す。