



受託研究報告書

株式会社フジファインズ 様

オゾン水による新型コロナウイルスに対する
不活化効果の評価



2020年11月25日
公立大学法人
奈良県立医科大学医学部
微生物感染症学講座



この度、御社の受託研究における標記の件につきまして、ご報告申し上げます。

記

1. 研究目的

オゾン水が持つ抗ウイルス効果によって、新型コロナウイルスなどの不活化効果があるか明らかにすること。

2. 試験品

下記①、②のオゾン水生成器より発生したオゾン水（高さ 250 mm、直径 53 mm、重量約 300 g 円筒形スプレー付き）

①下位機種（型番：OY-FF60-S）

②上位機種（型番：OY-FF62-B）

3. 試験微生物：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）

新型コロナウイルスを VeroE6/TMPRSS2 細胞に感染させ、細胞変性効果が確認されたものを回収し、-80°Cのフリーザーに凍結保存した。凍結融解を 2 回繰り返したものを遠心分離し、上清を限外濾過膜で濃縮・精製した。これを試験ウイルス液とし、試験まで-80°C のフリーザーに凍結保存した。

なお、SARS-CoV-2 は国立感染症研究所より、VeroE6/TMPRSS2 細胞は国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB 細胞バンクよりそれぞれ入手した。

4. 試験内容

- オゾン水は、水道水 100 ml を本品に入れ、水の電気分解を開始し、下記条件のオゾンを生じた。
- 水の電気分解条件は、①下位機種では 3 回ボタンを押す 90 秒電解モード（電解直後の瓶内液体のオゾン濃度 2.2~2.7 ppm、噴霧後採取液 0.7 ppm）、②上位機種では 2 回ボタンを押す 210 秒電解モード（電源直後の瓶内液体オゾン濃度 4.2~4.6 ppm、噴霧後採取液 0.8 ppm）とした。
- ウイルス液 20 µl をシャーレ上に塗抹乾燥した。
- オゾン水生成器より発生したオゾン水を 10-20 cm の距離から新型コロナウイルスを塗抹させたシャーレに噴霧した（図 1）。
- 噴霧条件は表 1 の通りとした。
- 5 分間の反応後、チオ硫酸ナトリウム入り SCDLP 培地で反応を停止させた。
- 回収液を用いてウイルス感染価（PFU/mL）をプラーク法にて測定した。
- 各 3 回実施した。

不活化効果は以下のように算出した。

$$\begin{aligned} \text{不活化効果 (Mv)} &= \log(Ct/C_0) - \log(Nt/N_0) \\ &= \log Ct/Nt \end{aligned}$$

Ct: コントロール t 時間後の感染価

C₀: コントロール 0 時間後の感染価

Nt: 試験品 t 時間後の感染価

N₀: 試験品 0 時間後の感染価

減少率は対数減少値より次の通り算出した。

$$\text{減少率} = (1 - 1/10^{\text{対数減少値}}) \times 100\%$$

なお全試験は、本学内のバイオセーフティレベル 3 (BSL3) の実験施設において、適切な病原体封じ込め措置のもとに行なった。

表 1. 試験品の作用条件

試験品	オゾン濃度	作用条件		
		0分	3回噴霧 5分	5回噴霧 5分
コントロール (PBS)	0	○	○	○
①下位機種	0.7 ppm		○	
②上位機種	0.8 ppm		○	

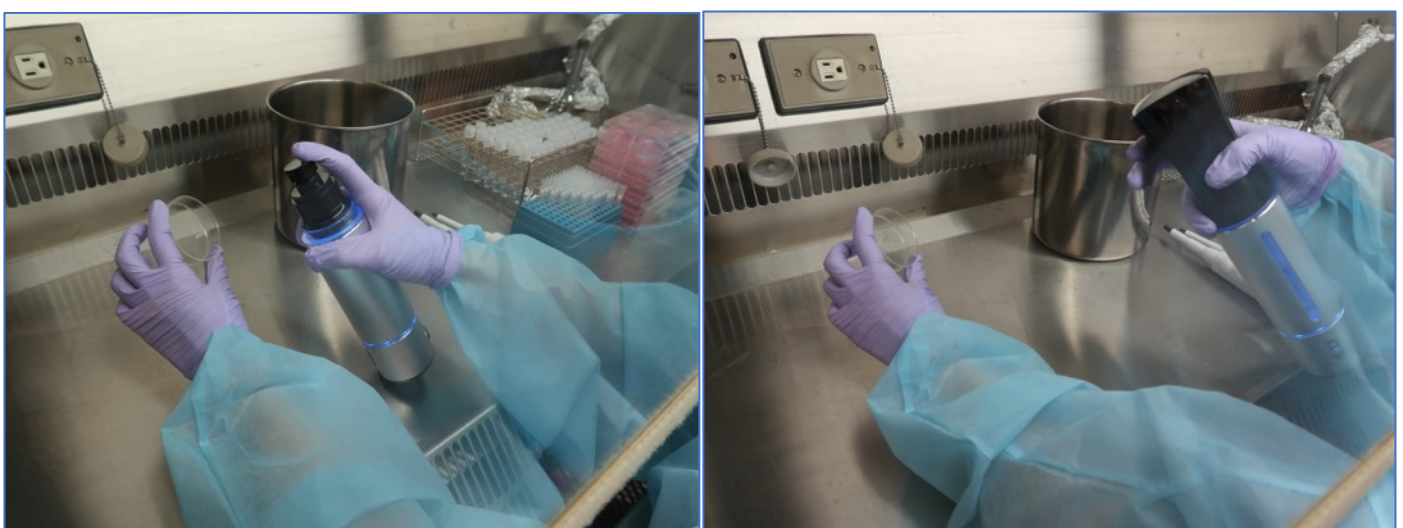


図 1. 新型コロナウイルスを塗抹させたシャーレへのオゾン水の噴霧 (左: 下位機種、右 上位機種)

5. 結果

結果を表 2～3 と図 2～3 に示した。

生成したオゾン水を 9.67×10^6 PFU/ml の新型コロナウイルスに噴霧することにより、5 分後に下位機種で 2.40×10^3 PFU/ml(減少率 99.974%)、上位機種で $< 1.50 \times 10^2$ PFU/ml(減少率 $> 99.998\%$)と検出限界まで感染価が減少した。

表 2. 試験品によるウイルス感染価の推移

試験品		0 分	5 分
コントロール	平均値	9.67E+06	9.50E+06
	標準偏差	1.53E+06	8.66E+05
① 下位機種	平均値	9.67E+06	2.40E+03
	標準偏差	1.53E+06	2.02E+03
② 上位機種	平均値	9.67E+06	$< 1.50E+02$
	標準偏差	1.53E+06	0

検出限界値： $< 1.50E+02$

表 3. 試験品によるウイルスの不活化効果と減少率

試験品		0 分	5 分
① 下位機種	不活化効果 (Mv)	-	3.60
	減少率 (%)	-	99.974%
② 上位機種	不活化効果 (Mv)	-	4.80
	減少率 (%)	-	$> 99.998\%$

減少率(%)は小数点第 4 位以下切り捨て

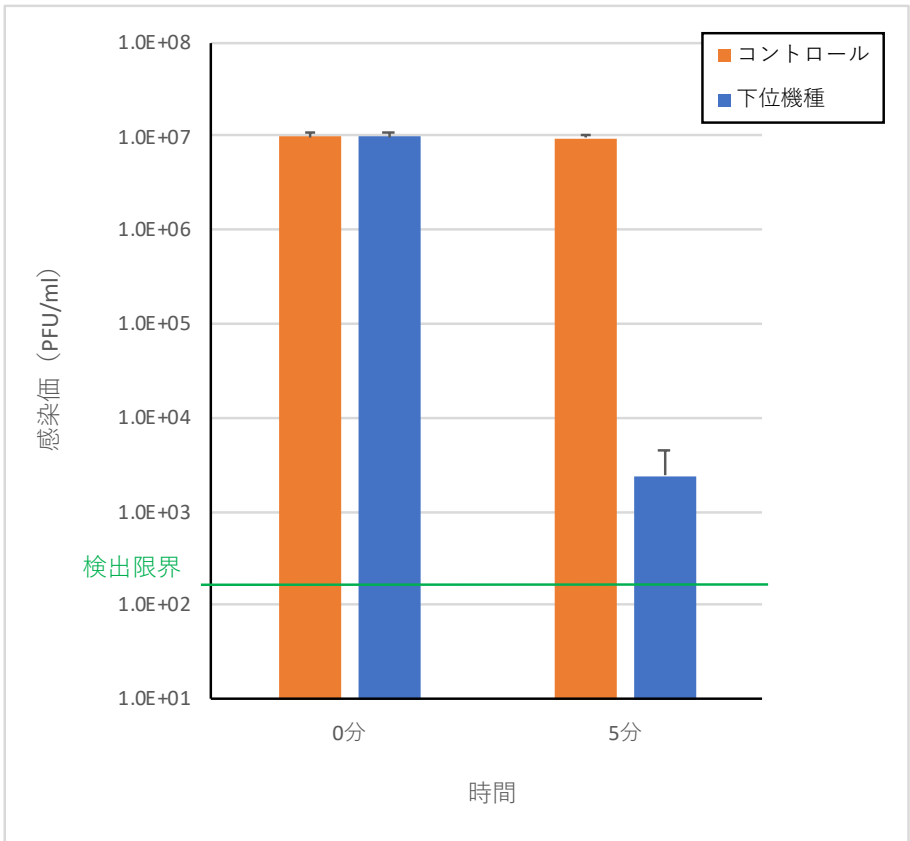


図2. 下位機種によるウイルス感染価の推移

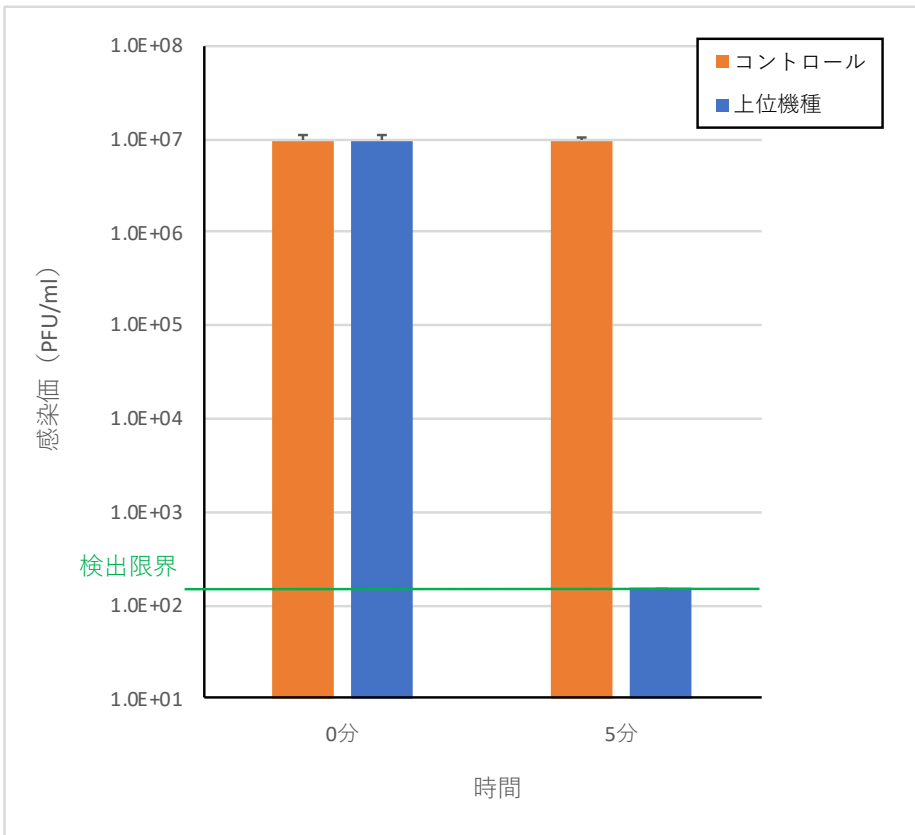


図3. 上位機種によるウイルス感染価の推移

6. まとめ

本試験で使用したオゾン水は新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を速やかに不活化することが判明した。本試験品を使用することにより、物質の表面についた新型コロナウイルスによる接触感染防止に有効である可能性が考えられた。なお、浮遊するウイルス、人体への影響については検証を行っていない。

本試験結果は本報告書の通りであることを証明いたします。

公立大学法人
奈良県立医科大学医学部
微生物感染症学講座

