

# インフルエンザウイルスを用いた代替消毒候補物資の 有効性評価にかかる検証試験の結果について

令和2年4月30日

独立行政法人製品評価技術基盤機構

# 第 1 回委員会を確認された事項

### <本委員会のミッション>

新型コロナウイルス対応で需給が逼迫している消毒用アルコール等の状況を踏まえ、一般家庭等で入手可能なもののうち一定の消毒効果を有し得る候補物資について、本委員会の下で文献情報を収集分析し、さらに実際に検証試験を実施することで、消毒方法に関する緊急的な有効性評価を行う。その際、「科学的な客観性の確保」、「迅速な対応」、「国民にわかりやすい整理」のバランスに配慮した検討を行う。

### <消毒効果を有する可能性のある候補物資>

新型コロナウイルスへの消毒方法の評価に関する文献情報は現時点では見当たらない。このため、新型コロナウイルスと同様のRNA型エンベロープウイルスである他のコロナウイルスなどに関する文献情報をもとに評価を行う。新型コロナウイルスと同様のRNA型エンベロープウイルスである他のコロナウイルス（SARSコロナウイルス等）やインフルエンザウイルスに対する抗ウイルス効果に関する文献情報をもとに新型コロナウイルスに対する効果の可能性を類推すると、新型コロナウイルスに対しても一定の消毒効果を有する可能性のある候補物資として下記の物資が考えられる。

- ①界面活性剤（台所用洗剤など）
- ②次亜塩素酸水（電気分解法で生成したもの）
- ③第4級アンモニウム塩

加熱・アルコール消毒・次亜塩素酸ナトリウム消毒は既に一般的に広く認識されているため、上記検討には含めていない。なお、消毒効果を有する可能性のある物資は上記以外にもあり得るが、現行の状況下でも継続的な供給ができるとの観点で検討を行ったものとなる。また、上記①～③の候補物資については、その性質上、原則として物品に対する消毒を想定したものとなる。

### <候補物資の検証試験>

これらの候補物資について、実際にウイルスを用いた検証試験を行うことが必要である。直ちに新型コロナウイルスによる検証試験を行うことが望ましいが、実施に当たり相応の期間を要すると考えられるため、当面のオプションとして短期間で検証の実施が可能な他のウイルスを用いた検証試験を緊急的に行うことが有効と考える。これと並行して、新型コロナウイルスによる検証試験の準備を進める。

### <代替使用が可能なウイルスによる検証試験の実施>

#### (代替使用が可能なウイルスによる検証の有効性)

代替使用が可能なウイルスとして、A型インフルエンザウイルスを用いて直ちに検証試験を実施する。A型インフルエンザウイルスは、新型コロナウイルスと同様にエンベロープを有するRNA型ウイルスに分類されることから、インフルエンザウイルスによる検証試験結果から新型コロナウイルスに対する効果を推測することは、一定程度の意味を有すると考える。

#### (検証試験を行う候補物資の選定)

候補物資の中から、以下のものについて検証試験を開始する。

- ・界面活性剤：代表的な界面活性剤8種を選定
- ・次亜塩素酸水：電気分解法で生成したもので、殺菌効果があり食品添加物（殺菌料）として指定されている強酸性電解水、弱酸性電解水、微酸性電解水から4種を選定
- ・第4級アンモニウム塩：代表的な化合物として塩化ベンザルコニウムを選定。

#### (試験プロトコル、妥当性検証等)

検証試験のプロトコルは、委員会事務局から提案された方法で進める。

検証試験の結果を受け、本委員会としてその結果の妥当性や代替消毒方法の有効性等を逐次検証し、公表する。

# 検証試験の結果について

# インフルエンザウイルスを用いて検証試験を実施した対象物資

資料 3

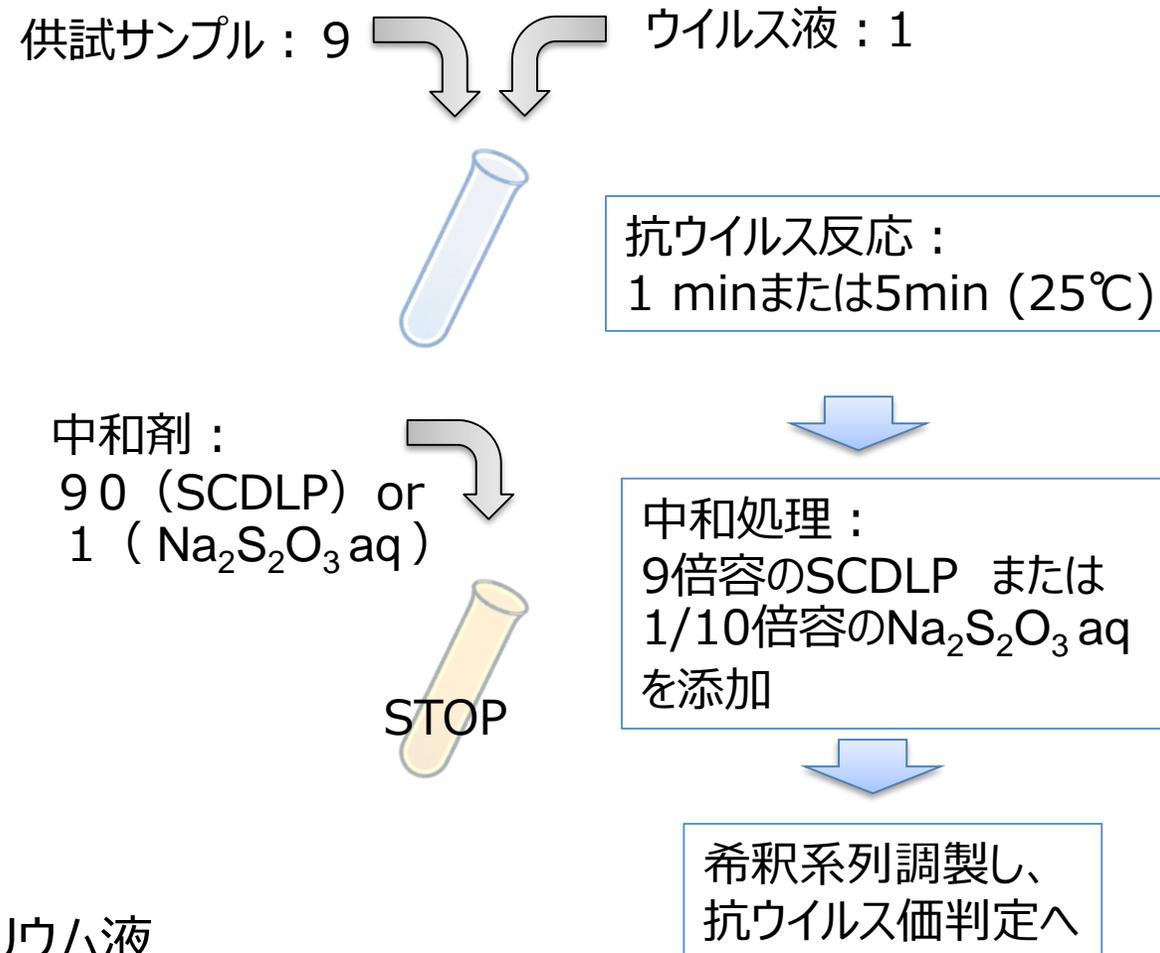
サンプル番号	界面活性剤の種類の名称を示す用語	界面活性剤の区分
界面活性剤①	純石けん分(脂肪酸カリウム)	陰イオン系界面活性剤
界面活性剤②	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム	
界面活性剤③	アルキルグリコシド	非イオン系界面活性剤
界面活性剤④	脂肪酸アルカノールアミド	
界面活性剤⑤	ポリオキシエチレンアルキルエーテル	
界面活性剤⑥	アルキルベタイン	両性イオン系界面活性剤
界面活性剤⑦	アルキルアミノオキシド	
界面活性剤⑧ 第4級アンモニウム塩①	塩化ベンザルコニウム	陽イオン系界面活性剤

サンプル番号	名称	電解質	pH	有効塩素濃度 (ppm)
次亜塩素酸水①	強酸性電解水	食塩	~2.7	40
次亜塩素酸水②	弱酸性電解水	食塩	2.7~5.0	30
次亜塩素酸水③	微酸性電解水	塩酸	5.0~6.5	30
次亜塩素酸水④	微酸性電解水	塩酸 + 食塩	5.0~6.5	40

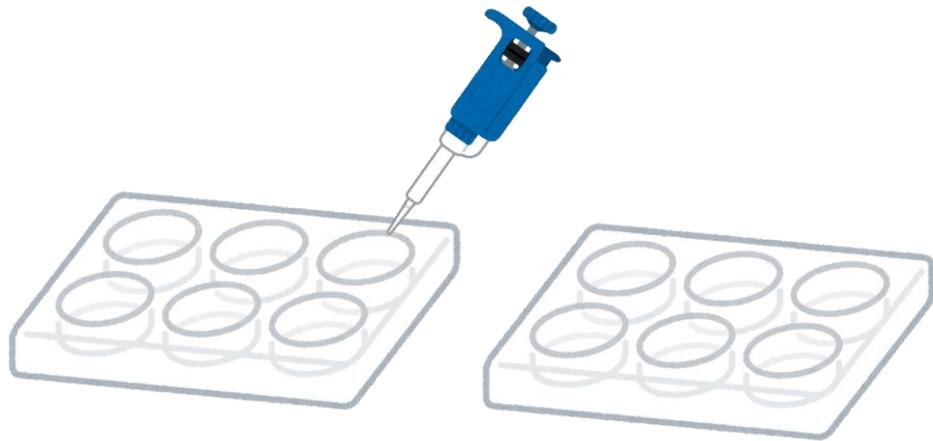
# 抗ウイルス評価手法アウトライン

- 宿主細胞培養およびウイルス培養（JIS規格）
- 供試サンプルの希釈
  - 界面活性剤を滅菌水にて 0.1~0.5%の濃度に希釈
  - 次亜塩素酸水は希釈不要
- 抗ウイルス反応（ASTM規格）
  - 供試サンプル希釈液：ウイルス液 = 9 : 1
  - 反応時間：1分、5分（25℃）
- 中和処理（ASTM規格、JIS規格）
  - 界面活性剤の場合：9倍容のSCDLP（ASTM規格）
  - 次亜塩素酸水の場合：1/10倍容の0.012Mチオ硫酸ナトリウム液（JIS規格）
- 中和後の反応液を希釈して宿主細胞に感染（JIS規格）
- 評価法：プラーク法もしくはTCID<sub>50</sub>法（JIS規格）

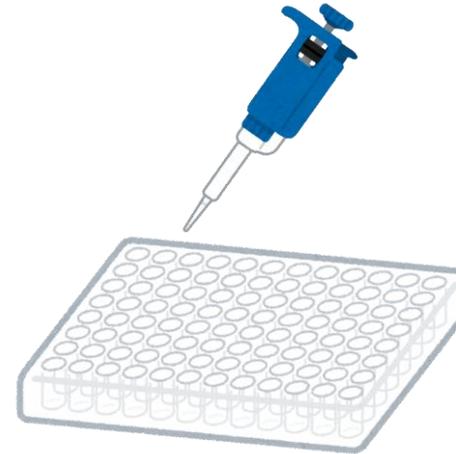
- 宿主細胞培養およびウイルス培養（JIS規格）
- 供試サンプルの希釈
  - 界面活性剤を滅菌水にて（0.1~0.5%）に希釈
  - 次亜塩素酸水は希釈不要
- 抗ウイルス反応（ASTM規格）
  - 供試サンプル希釈液：ウイルス液 = 9 : 1
  - 25℃、1分、5分
- 中和処理（ASTM規格、JIS規格）
  - 界面活性剤：9倍容のSCDLP
  - 次亜塩素酸水：1/10倍容の0.012Mチオ硫酸ナトリウム液



- 中和後の反応液を希釈して宿主細胞に感染（JIS規格）
- 評価法：プラーク法もしくはTCID<sub>50</sub>法（JIS規格）



プラーク法：  
各希釈段階につき2ウェルを使用し、出てきた  
プラーク数からウイルスの減少数を計算



TCID<sub>50</sub>法：  
各希釈段階につき4ウェル以上を使用し、ウイルス感染した細胞  
のウェル数からウイルスの減少数を計算

# 検証試験の分担

		試験機関			
		A	B	C	D
界面活性剤の区分	界面活性剤の種類の名称を示す用語	ブランク法	ブランク法	ブランク法	TCID50
		H3N2 (A/HongKong/8/68) ATCC VR-1679	H3N2 (A/HongKong/8/68) ATCC VR-1679	H3N2 (A/HongKong/8/68) ATCC VR-1679	H1N1 (A/PR/8/34) ATCC VR-1469
陰イオン系界面活性剤	純石けん分(脂肪酸カリウム)				○
	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム	○	○	○	
非イオン系界面活性剤	アルキルグリコシド	○		○	
	脂肪酸アルカノールアミド	○	○		○
	ポリオキシエチレンアルキルエーテル	○			○
両性イオン系界面活性剤	アルキルベタイン	○	○		○
	アルキルアミノオキシド	○	○	○	
陽イオン系界面活性剤	塩化ベンザルコニウム		○		○
次亜塩素酸水の区分	電解質と有効塩素濃度				
強酸性電解水	電解質：食塩、40ppm				○
弱酸性電解水	電解質：食塩、30ppm				○
微酸性電解水①	電解質：塩酸、30ppm				○
微酸性電解水②	電解質：食塩 + 塩酸、40ppm				○

○は試験実施

界面活性剤8種、次亜塩素酸水4種について、4機関で分担し試験を実施

# 試験機関Aの結果

	接触時間	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 ナトリウム			アルキルグリコシド			脂肪酸アルカノールアミド			ポジコン EtOH	ネガコン PBS
		0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	70% w/v	
1回目	1 min	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	4.29	4.52	4.85	< 2	7
	5 min	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2.74	3.11	3.93	< 2	7
2回目	1 min	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	4.37	4.76	5.04	< 2	7
	5 min	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2.60	3.10	4.02	< 2	7



ブランク法による結果 (N=2)

抗ウイルス反応時間：1分と5分

数字：感染価の常用対数値

	接触時間	ポリオキシエチレン アルキルエーテル			アルキルベタイン			アルキルアミノキシド			ポジコン EtOH	ネガコン PBS
		0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	70% w/v	
1回目	1 min	2.74	2.40	< 2	6.88	6.81	7.19	< 3	< 2	< 2	< 2	7
	5 min	2.48	2.48	< 2	6.85	6.81	7.02	< 3	< 2	< 2	< 2	7
2回目	1 min	2.85	2.65	< 2	6.88	6.85	6.85	< 3	< 2	< 2	< 2	7
	5 min	< 2	2.18	< 2	6.78	6.78	6.78	< 3	< 2	< 2	< 2	7

- 細胞毒性は確認されなかった
- 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム、アルキルグリコシド、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、アルキルアミノキシドは感染価を4桁以上減少させた
- アルキルベタインでは感染価の減少は認められなかった
- 脂肪酸アルカノールアミドにおける感染価の減少の程度は濃度や反応時間により異なった

# 試験機関Bの結果

想定ウイルス濃度 pfu/0.1ml	希釈	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 ナトリウム			脂肪酸アルカノールアミド			アルキルアミノオキシド		
		0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%
10 <sup>4</sup>	中和後原液	0	0	0	2	8	多数	0	0	0
10 <sup>3</sup>	10 <sup>1</sup>	0	0	0	0	1	10	0	0	0
10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	2	0	0	0
10	10 <sup>3</sup>	0	0	0	0	0	1	0	0	0
—	培地のみ	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.



プラーク法による結果 (N=2、左表はうち1例のデータ)

抗ウイルス反応時間：5分のみ

数字：プラーク数 (多数: 60以上)

—：ウイルス未接種

N.T.: Not tested

陽性対照：局方消毒用エタノール (83% v/v)

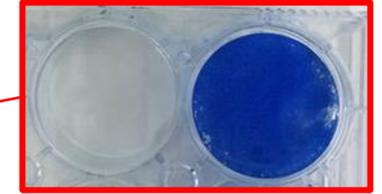
陰性対照：リン酸緩衝生理食塩水

想定ウイルス濃度 pfu/0.1ml	希釈	アルキルベタイン			塩化ベンザルコニウム			ポジコン EtOH	ネガコン PBS
		0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	局方消毒用	
10 <sup>4</sup>	中和後原液	多数	多数	多数	多数	多数	多数	0	多数
10 <sup>3</sup>	10 <sup>1</sup>	多数	多数	多数	13	13	17	0	多数
10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	多数	多数	多数	1	3	2	0	多数
10	10 <sup>3</sup>	18	20	19	0	0	0	0	27
—	培地のみ	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.

- 細胞毒性は確認されなかった
- 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムとアルキルアミノオキシドは感染価を4桁以上減少させた
- 脂肪酸アルカノールアミドは感染価の減少は見られたもののサンプル濃度により程度が異なった
- アルキルベタインには感染価の減少は認められなかった
- 塩化ベンザルコニウムの感染価の減少は2桁であった

# 試験機関Cの結果

想定ウイルス濃度 pfu/0.1ml	希釈	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 ナトリウム			アルキルアミノオキシド			アルキルグリコシド			ポジコン EtOH	ネガコン PBS
		0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	83% v/v	
10 <sup>5</sup>	中和後原液	T	T	T	T	T	T	T	T	0	0	多数
10 <sup>4</sup>	10 <sup>1</sup>	T	T	0	T	T	0	0	0	0	0	多数
10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	多数
10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	多数
10	10 <sup>4</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
—	培地のみ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—



細胞  
毒性  
あり

細胞  
毒性  
なし

- 反応液の低希釈率群や高濃度サンプル添加群で細胞毒性が観察された
- 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム、アルキルアミノオキシド、アルキルグリコシドは0.1%濃度でいずれも4桁以上の感染価の減少が見られた



プラーク法による結果 (N=1)

抗ウイルス反応時間：5分のみ

数字：プラーク数

T: 細胞毒性があるためプラーク数測定不可

—: ウイルス未接種

陽性対照：局方消毒用エタノール (83% v/v)

陰性対照：リン酸緩衝生理食塩水



# 試験機関Dの結果

## 界面活性剤、第4級アンモニウム塩

	接触時間	脂肪酸カリウム			脂肪酸アルカノールアミド			ポリオキシエチレン アルキルエーテル		
		1.0%	0.5%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%
1回目	1 min	5.23	5.59	5.15	3.80	3.86	4.86	2.92	2.99	3.40
	5 min	4.59	3.40	3.15	2.40	2.92	4.80	2.30	2.54	2.80
2回目	1 min	5.30	5.08	5.15	4.00	4.59	4.92	3.80	3.00	3.23
	5 min	4.86	3.88	2.88	2.40	3.15	4.73	2.41	2.65	2.80



PBSを基準にした場合

4桁以上減少

3桁減少

2桁減少

1桁減少

効果なし

	接触時間	アルキルベタイン			塩化ベンザルコニウム			ポジコン EtOH	ネガコン PBS
		0.5%	0.3%	0.1%	0.5%	0.3%	0.1%	薬局方	
1回目	1 min	6.92	6.87	6.80	4.72	3.99	4.67	< 1	7
	5 min	6.86	7.15	6.87	3.15	2.92	3.59	< 1	7
2回目	1 min	7.04	7.00	6.95	4.08	4.46	4.15	< 1	7
	5 min	6.92	6.93	7.04	3.49	3.00	3.30	< 1	7

TCID50法での結果

抗ウイルス反応時間：1分と5分

値：感染価の常用対数値

陽性対照：局方消毒用エタノール (83% v/v)

陰性対照：リン酸緩衝生理食塩水

- 細胞毒性は脂肪酸カリウムと塩化ベンザルコニウムで確認された（中和原液群のみ）
- ポリオキシエチレンアルキルエーテル（0.1%）は5分の反応時間で感染価4桁以上の減少が見られた
- 脂肪酸アルカノールアミド（0.1%）は5分の反応時間で感染価2桁以上の減少が見られた
- 塩化ベンザルコニウム（0.1%）は5分の反応時間で3桁以上の感染価の低下が見られた
- アルキルベタインはいずれの濃度、反応時間においても感染価の低下を認めなかった

## 試験機関Dの結果

## 次亜塩素酸水（電気分解で生成したもの）

## 5. 不活化試験結果

## III-1-3. 試験液による抗ウイルス効果の確認（各種電解水によるウイルス不活化試験）

試験品	作用時間		
	0(初期)	1分間	5分間
対照(リン酸緩衝生理食塩水)	1.4E+07		8.2E+06
局方消毒用エタノール		< 6.3	< 6.3
強酸性電解水(食塩) pH 2.7、50ppm		< 6.3	< 6.3
弱酸性電解水(食塩) pH 3.5、42ppm		< 6.3	< 6.3
微酸性電解水(塩酸) pH 5.83、30ppm		< 6.3	< 6.3
微酸性電解水(塩酸+食塩) pH 5.35、40ppm		< 6.3	< 6.3

検出限界値：6.3 TCID50/mL

感染価対数減少値：Log10(初期÷各時間作用後の感染価)

感染価対数減少値は、小数点以下 2桁を切り捨てて表記した。

感染価対数減少値	
1分後	5分後
	0.2
> 6.3	> 6.3
> 6.3	> 6.3
> 6.3	> 6.3
> 6.3	> 6.3
> 6.3	> 6.3
> 6.3	> 6.3
> 6.3	> 6.3

TCID50法での結果

抗ウイルス反応時間：1分と5分

各サンプルの値：感染価（TCID50/ml）

感染価対数減少値：表下の注釈参照

陽性対照：局方消毒用エタノール（83% v/v）

陰性対照：リン酸緩衝生理食塩水

今回の試験に供した4種の次亜塩素酸水は、1分、5分の反応時間で4桁以上のウイルス感染価の減少が見られた

# 試験結果のまとめ①

感染価低下の度合い	界面活性剤	電解水
	0.1%濃度, 5分で4桁以上	1分、5分で4桁以上
	0.1%濃度, 5分で3桁	
	0.1%濃度, 5分で2桁	
	0.1%濃度, 5分で2桁未満	

		試験機関			
界面活性剤の区分	界面活性剤の種類の名前を示す用語	A	B	C	D
		プラーク法 H3N2 (A/HongKong/8/68) ATCC VR-1679	プラーク法 H3N2 (A/HongKong/8/68) ATCC VR-1679	プラーク法 H3N2 (A/HongKong/8/68) ATCC VR-1679	TCID50 H1N1 (A/PR/8/34) ATCC VR-1469
陰イオン系界面活性剤	純石けん分(脂肪酸カリウム)				
	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム				
非イオン系界面活性剤	アルキルグリコシド				
	脂肪酸アルカノールアミド				
	ポリオキシエチレンアルキルエーテル				
両性イオン系界面活性剤	アルキルベタイン				
	アルキルアミノオキシド				
陽イオン系界面活性剤	塩化ベンザルコニウム				
次亜塩素酸水の区分	電解質と有効塩素濃度				
強酸性電解水	電解質：食塩、40ppm				
弱酸性電解水	電解質：食塩、30ppm				
微酸性電解水①	電解質：塩酸、30ppm				
微酸性電解水②	電解質：食塩 + 塩酸、40ppm				

- **界面活性剤（8種、第4級アンモニウム塩1種を含む）**

- 今回の検証試験ではアルキルベタインはどの機関の試験においてもウイルス感染価の減少は認められなかった
- 脂肪酸アルカノールアミドは、0.1% 濃度、5分の反応条件で2桁以上のウイルス感染価の減少が見られた
- 塩化ベンザルコニウム（第4級アンモニウム塩）は、0.1% 濃度、5分の反応条件で2桁以上のウイルス感染価の減少が見られた
- 脂肪酸カリウムは、0.1% 濃度、5分の反応条件で3桁以上のウイルス感染価の減少が認められた
- 上記以外の界面活性剤4種は、0.1%濃度、5分の反応条件で4桁以上のウイルス感染価の減少が認められた

- **次亜塩素酸水（電気分解法で生成したもの） 4種**

- 今回の試験に供した次亜塩素酸は、すべてのサンプルにおいて1分、5分の反応時間で4桁以上のウイルス感染価の減少が認められた

## ウイルス感染価の減少値

- 4桁以上
  - 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム、アルキルグリコシド、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、アルキルアミノオキシド
  - 次亜塩素酸水（電気分解法で生成したもの）
- 3桁以上
  - 脂肪酸カリウム
- 2桁以上
  - 脂肪酸アルカノールアミド、塩化ベンザルコニウム
- 効果なし
  - アルキルベタイン

どの程度の感染価の低下をもって  
抗ウイルス効果があるとの判断とすべきか

### 【参考】 ウイルス不活化効果や抗ウイルス効果の判定基準の例

- EN 14476:2013+A1 2015（消毒薬等の欧州標準試験規格）
  - 4log10以上減少： ウイルス不活化効果あり
- JIS L 1922、ISO 18184:2014（繊維製品の抗ウイルス性試験方法）
  - 3log10以上の減少： 十分な効果あり
  - 2log10以上 3log10未満の減少： 効果あり

(50音順)

地方独立行政法人 神奈川県立産業技術総合研究所

一般財団法人 北里環境科学センター

一般財団法人 日本繊維製品品質技術センター

一般財団法人 ボーケン品質評価機構

今回の分析にご協力いただきました機関に感謝致します