

# 新型コロナ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（第3報）

令和2年6月25日

独立行政法人製品評価技術基盤機構

# 第 4 回委員会を確認された事項

## 第4回委員会で確認された事項

### ＜新型コロナウイルスを用いた代替消毒候補物資の有効性評価に係る検証試験の途中経過＞

第2回委員会（4月30日開催）で選定した対象物資のうち、界面活性剤11種（第4級アンモニウム塩3種を含む）、過炭酸ナトリウム、及び次亜塩素酸水（電気分解で生成したもの）について、前回の委員会に続き、新型コロナウイルスを用いて試験プロトコルに沿って実施された検証試験の途中経過が報告された。

（検証試験の中間結果）

- 今回報告された検証試験結果について検討を行い、委員会として現時点では、新型コロナウイルスに対する除去効果について、現時点では、国立感染症研究所で99.99%以上の感染価減少率を示した物資及び北里大学で不活化効果ありとされた物資を有効と判断することとした。また、いずれかの機関において上記の基準を満たす物資についても有効性の判断を行うべき物資と考えられるため、個々の検証結果を精査した上で委員会として判断を行うこととした。
- 今回の試験結果から、前回の委員会で有効と判断した界面活性剤5種に加えて、塩化ベンゼトニウム（0.05%）、塩化ジアルキルジメチルアンモニウム（0.01%）について、新型コロナウイルスに対して有効と判断した。
- 今回の試験結果では、次亜塩素酸水（電気分解法により生成したもの）についての有効性は判断できないため、引き続き評価を進めることとした。
- 上記以外の物資（純石けん分（脂肪酸カリウム、脂肪酸ナトリウム））、アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム、脂肪酸アルカノールアミド、次亜塩素酸水（電気分解法以外で生成したもの））については、引き続き評価を進めることとされた。

## (代替消毒候補物資の広報及び注意喚起)

- 検証試験によって新型コロナウイルスに対する除去効果が確認された界面活性剤については、実際に代替消毒方法として活用するにあたっては安全性や適正な使用法への配慮について十分に留意し、国民に向けた広報・注意喚起を行う必要がある。

## <今後の検証試験の計画>

- 第2回委員会で選定した対象物資のうち有効性判断が得られていない物資、及び第3回委員会で選定した次亜塩素酸水（電気分解法以外で生成したもの）について、引き続き検証試験を実施することとする。
- その他の候補物資については、現段階での追加は行わない。

# 検証試験の中間結果について (第3報)

# 新型コロナウイルスを用いた検証試験の概要

- 第2回及び第3回検討委員会で選定された対象物資について、国立感染症研究所及び北里大学に御協力をいただき、両機関がそれぞれ保有する評価系を用いて、並行して検証試験を実施した。
- 上記2機関に加えて、帯広畜産大学、鳥取大学、一般財団法人日本繊維製品品質技術センター（以下、QTECと略）に御協力をいただき、それぞれの機関が保有する評価系を用いて検証試験を実施した。
- 検証試験の対象物資は次ページのとおり。
- 次亜塩素酸水（電気分解法以外で生成したもの）については、複数の製品を購入し、ブラインド化した上でpHと有効塩素濃度を測定し、今回の検証試験の目的に合致するサンプルを選定し、検証試験に供した。ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムについては市販の試薬を購入した。

# 新型コロナウイルスを用いた検証試験における対象物資 - 1

(第3回検討委員会資料より抜粋)

赤字は今回報告する物資

サンプル番号	名称 <sup>1)</sup>	備考
界面活性剤①	純石けん分(脂肪酸カリウム、脂肪酸ナトリウム)	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	アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム	
界面活性剤④	アルキルグリコシド	非イオン系界面活性剤
界面活性剤⑤	脂肪酸アルカノールアミド	
界面活性剤⑥	ポリオキシエチレンアルキルエーテル	
界面活性剤⑦	アルキルベタイン	両性イオン系界面活性剤
界面活性剤⑧	アルキルアミノオキシド	
界面活性剤⑨ 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
界面活性剤⑩ 第4級アンモニウム塩②	塩化ベンゼトニウム	
界面活性剤⑪ 第4級アンモニウム塩③	塩化ジアルキルジメチルアンモニウム	
過炭酸ナトリウム①	過炭酸ナトリウム	酸素系漂白剤

<sup>1)</sup> 界面活性剤については家庭用品品質表示法に基づく表記

(第3回検討委員会資料より抜粋)

## 次亜塩素酸水（電気分解法で生成したもの）⇒今回報告

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	食塩水	~2.7	20~60
次亜塩素酸水②	弱酸性電解水	食塩水	2.7~5.0	10~60
次亜塩素酸水③	微酸性電解水	塩酸	5.0~6.5	10~80
次亜塩素酸水④	微酸性電解水	塩酸 + 食塩水	5.0~6.5	10~80

## 次亜塩素酸水（電気分解法以外で生成したもの）⇒今回報告

サンプル番号	製法	原料	pH*	有効塩素濃度* (ppm)
次亜塩素酸水⑤	二液混合	次亜塩素酸ナトリウム + 塩酸	5.0~6.5	100~300
次亜塩素酸水⑥	二液混合	次亜塩素酸ナトリウム + 炭酸	5.0~6.5	100~300
次亜塩素酸水⑦	二液混合	次亜塩素酸ナトリウム + 酢酸	5.0~6.5	100~300
次亜塩素酸水⑧	イオン交換	次亜塩素酸ナトリウム	5.0~6.5	100~300
次亜塩素酸水⑨	粉末・錠剤	ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム	5.0~6.5	100~300

注：試験の進捗、サンプルの準備状況その他に応じ、適宜選択する。なお、塩酸を用いたタイプ（⑤）が最も基本的な製法とみられ、種類も多い。

\* pH、有効塩素濃度は、サンプルの上限・下限を示したものを。検証試験の際にはサンプルを実測する。

## 次亜塩素酸水（電解型）

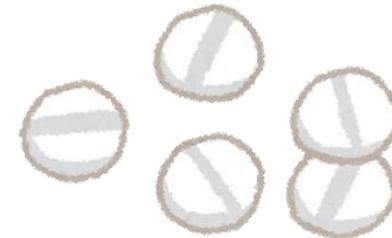
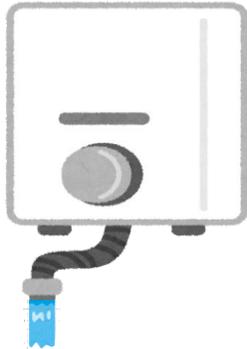
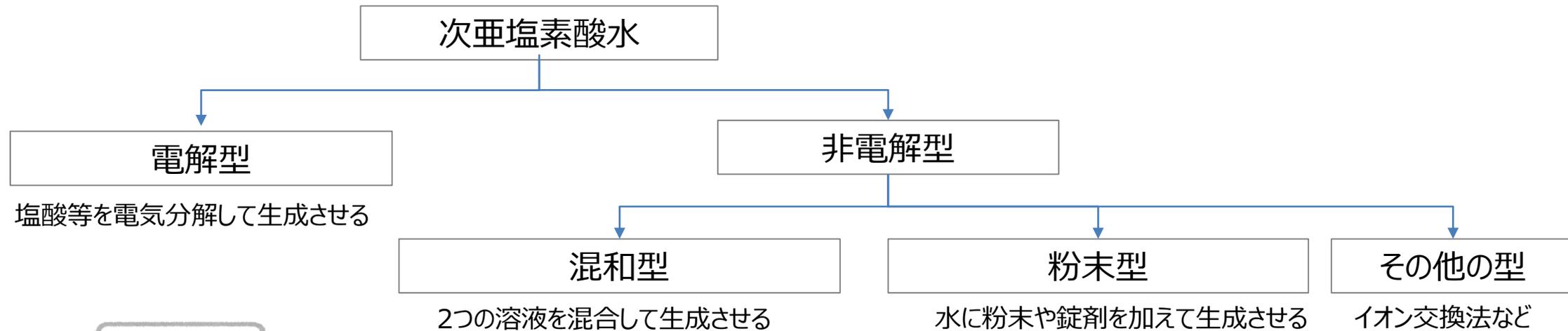
サンプル番号	国立感染症研究所	帯広畜産大学
次亜塩素酸水①	✓	✓
次亜塩素酸水②	✓	
次亜塩素酸水③		✓
次亜塩素酸水④	✓	

✓ 今回（第5回）の委員会で結果報告

## 次亜塩素酸水（非電解型）

サンプル番号	国立感染症研究所	帯広畜産大学	鳥取大学	QTEC
次亜塩素酸水⑤～⑧ のいずれか		✓	✓	✓
次亜塩素酸水⑨ (ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム)	✓	✓		

市場において「次亜塩素酸水」名で製造・販売されているものは多様であり、必ずしも確立した定義がない。本検証においては、「次亜塩素酸を主成分とする酸性の溶液」を評価することとする。具体的には電気分解法で生成したもの（以下「電解型」という）、及び電気分解法以外で生成したもの（次亜塩素酸ナトリウムと酸の二液混合、イオン交換樹脂による化学反応、粉末・錠剤を水に溶かしたもの。以下、まとめて「非電解型」という）を検証試験の対象とする。

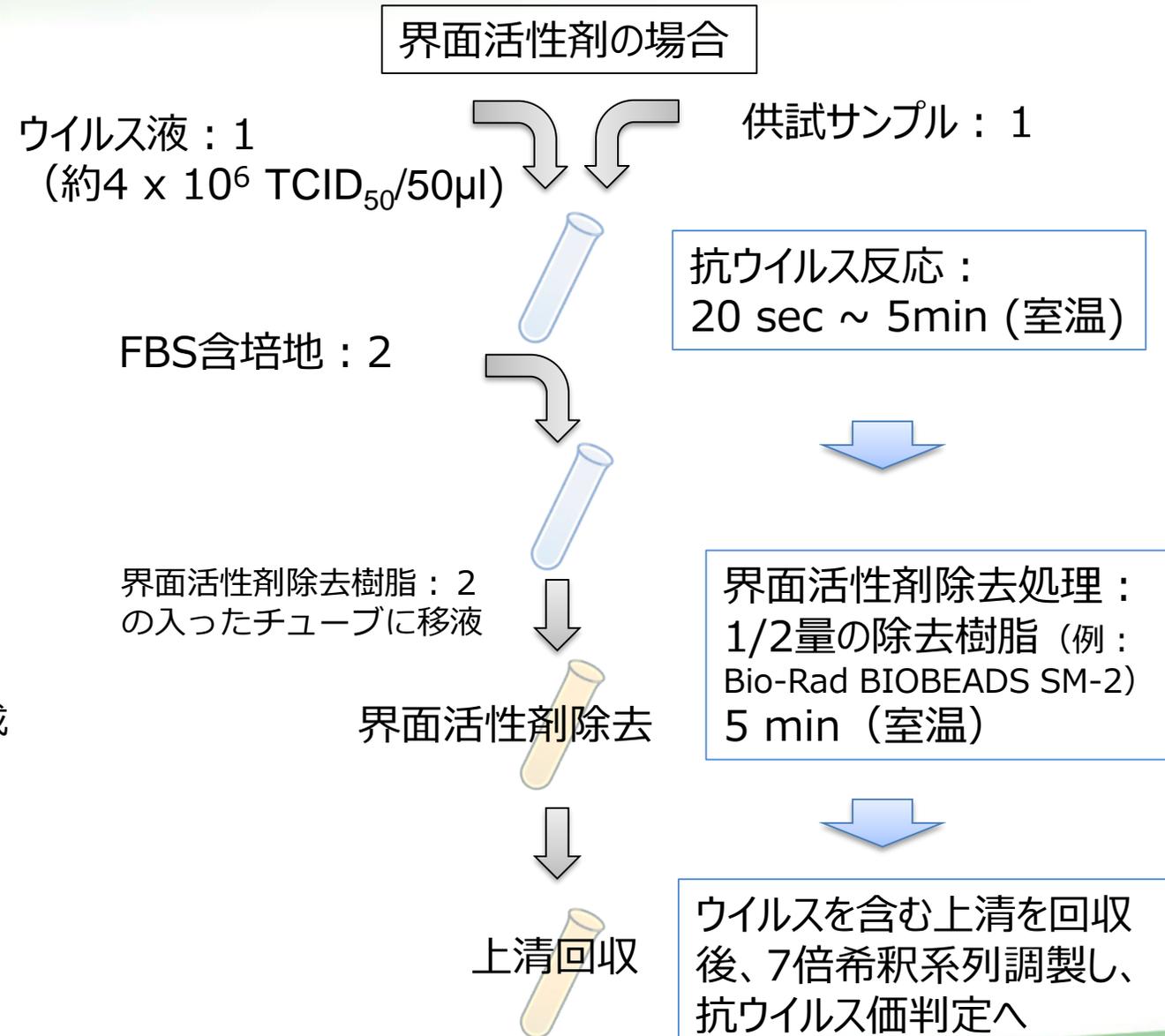


# 検証試験の結果について

## 界面活性剤

# 国立感染症研究所における抗ウイルス評価試験アウトライン

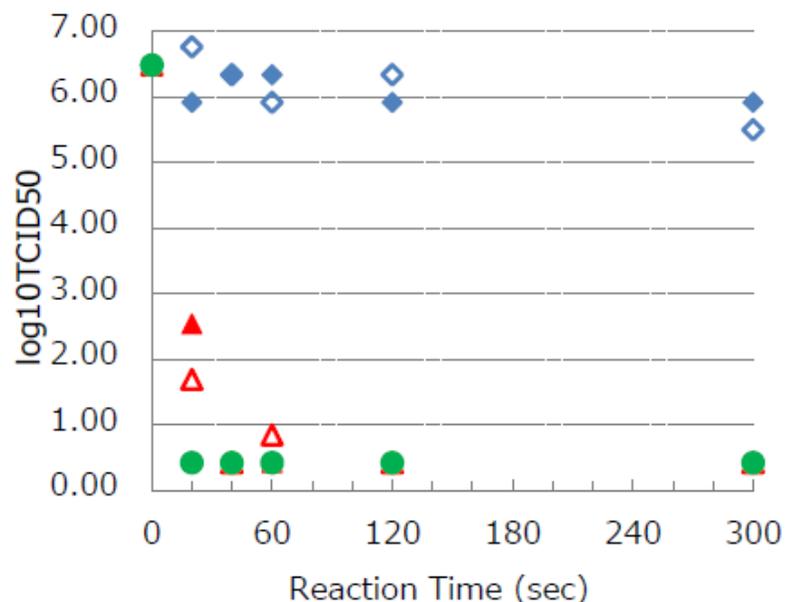
- 宿主細胞培養およびウイルス培養
  - ウイルス培養時のFBS濃度：5%
- 供試サンプルの調製
  - 界面活性剤を滅菌水にて数段階に希釈
  - 次亜塩素酸水は有効塩素濃度を数段階に設定
- 抗ウイルス反応
  - ウイルス液:供試サンプル（界面活性剤） = 1:1
  - 室温、20、40秒、1、2、5分
- 供試サンプルの除去・中和処理
  - 界面活性剤：除去樹脂にて除去後、7倍希釈系列作成
  - 次亜塩素酸水：0.01Mチオ硫酸ナトリウム含有培地にて7倍希釈(7<sup>-1</sup>) →以下希釈系列作成



# 純石けん分（脂肪酸塩）による SARS-CoV-2不活性化効果(反応液比率 1:1)

(純石けん分（脂肪酸塩）の代表的な化合物として、ラウリン酸カリウム及びラウリン酸ナトリウムを評価した)

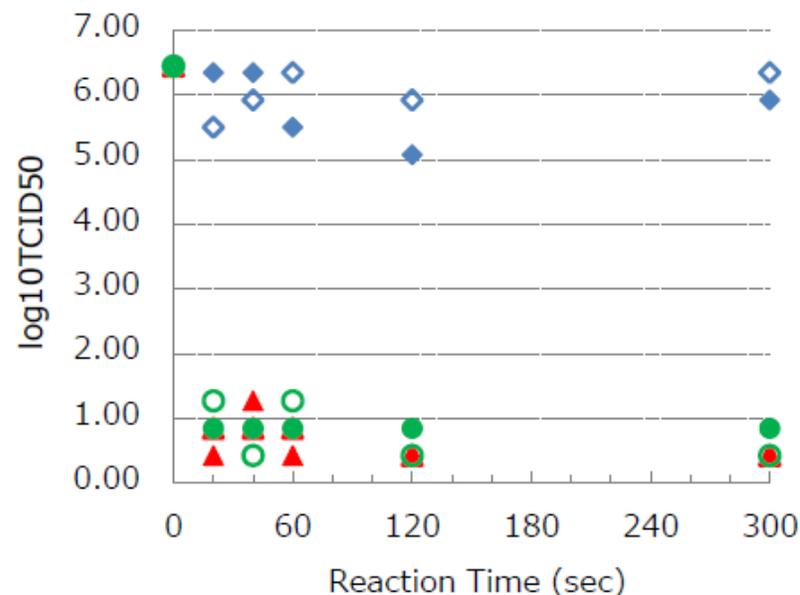
## 脂肪酸カリウム (ラウリン酸カリウム)



- ◆ Lau-K\_5mM①      ◆ Lau-K\_5mM②
- ▲ Lau-K\_10mM①    ▲ Lau-K\_10mM②
- Lau-K\_20mM①    ○ Lau-K\_20mM②

供試した試薬の純度から  
計算した成分の濃度は  
5mM 0.12%  
10mM 0.24%  
20mM 0.48%

## 脂肪酸ナトリウム (ラウリン酸ナトリウム)

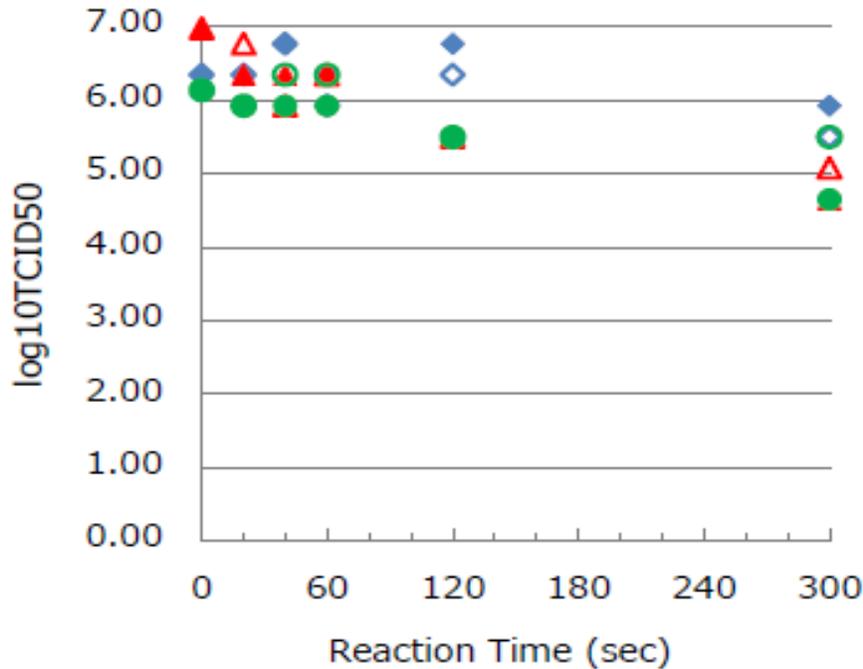


- ◆ Lau-Na\_5mM①      ◆ Lau-Na\_5mM②
- ▲ Lau-Na\_10mM①    ▲ Lau-Na\_10mM②
- Lau-Na\_20mM①    ○ Lau-Na\_20mM②

供試した試薬の純度から  
計算した成分の濃度は  
5mM 0.11%  
10mM 0.22%  
20mM 0.44%

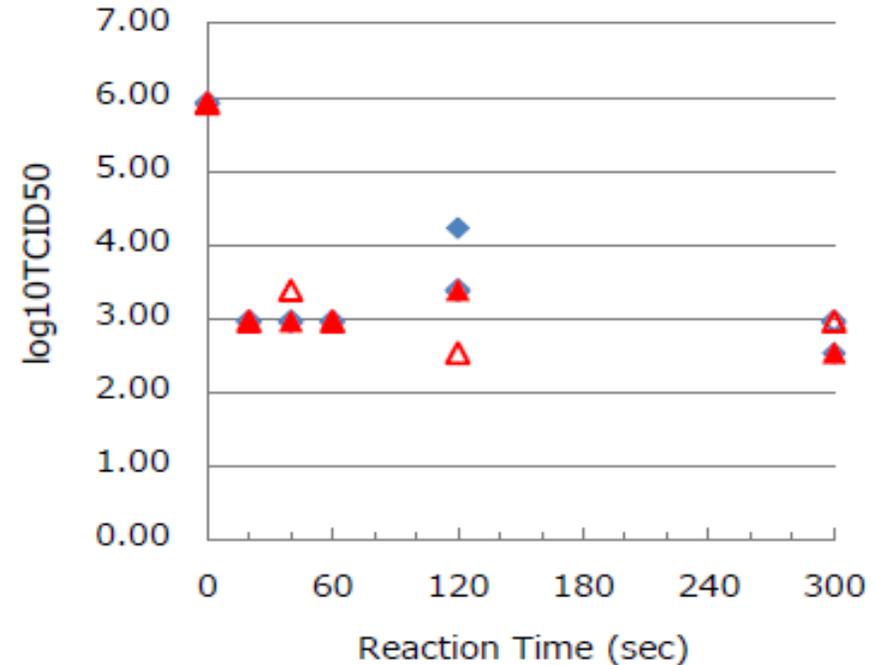
# 界面活性剤（アルキルエーテル硫酸ナトリウム、脂肪酸アルカノールアミド）による SARS-CoV-2不活性化効果(反応液比率 1:1)

## アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム (AES)



◆ AES\_0.1%①   ◆ AES\_0.1%②   ▲ AES\_0.2%①  
 ▲ AES\_0.2%②   ● AES\_0.5%①   ○ AES\_0.5%②

## 脂肪酸アルカノールアミド (FAA)

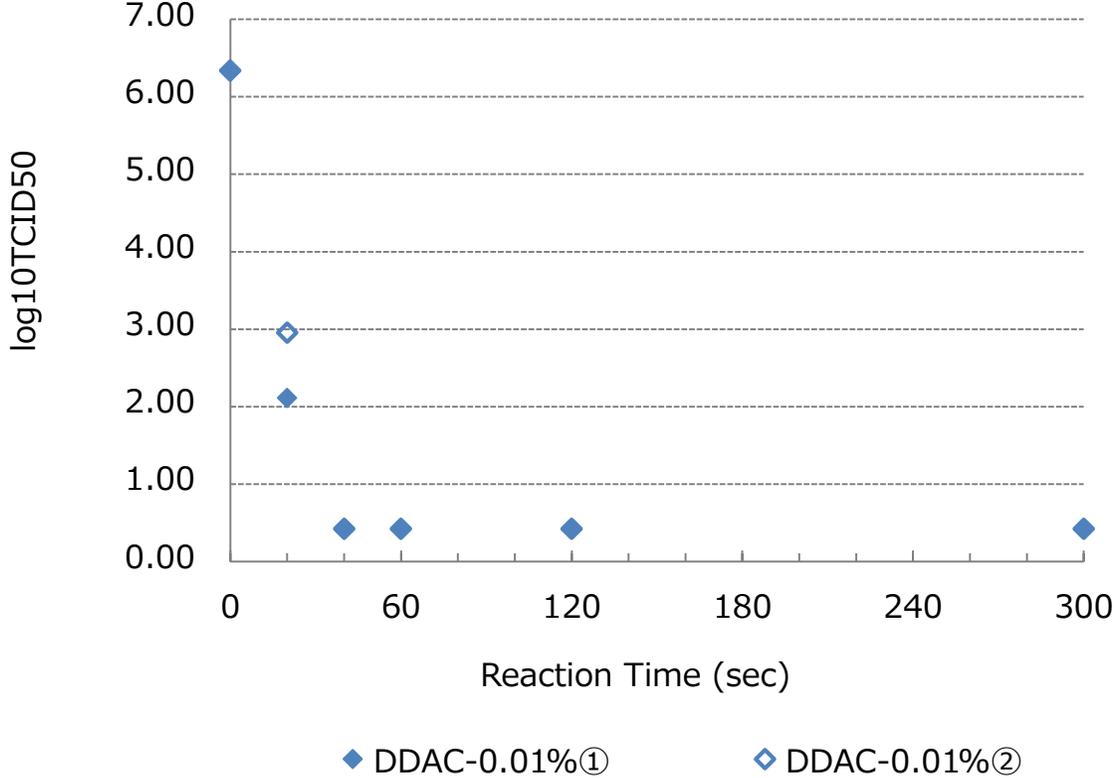


◆ FAA\_0.1%①   ◆ FAA\_0.1%②  
 ▲ FAA\_0.2%①   ▲ FAA\_0.2%②

FAA 0.5% は試験系に影響が認められ、試験不成立となった。

# 低濃度塩化ジアルキルジメチルアンモニウム(0.01%)による SARS-CoV-2不活性化効果(反応液比率 1:1)

### 塩化ジアルキルジメチルアンモニウム (DDAC)



# 界面活性剤の結果のまとめ

## (第4回委員会以降の検証試験の結果まとめ)

- 純石けん分（脂肪酸カリウム0.12%（5分））及び純石けん分（脂肪酸ナトリウム0.11%（5分））については、国立感染症研究所での検証試験において、いずれも99%未満の感染価減少率であった。一方、純石けん分（脂肪酸カリウム0.24%（1分））及び純石けん分（脂肪酸ナトリウム0.22%（20秒））については、国立感染症研究所での検証試験において、いずれも99.999%以上の感染価減少率であった。

なお、純石けん分（脂肪酸カリウム0.1%（5分））及び純石けん分（脂肪酸ナトリウム0.1%（10分））については、北里大学での検証試験においていずれも不活化効果が認められなかったことが第3回及び第4回の委員会で報告されている。
- 国立感染症研究所での検証試験において、アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム（0.5%（5分））及び脂肪酸アルカノールアミド（0.5%（5分））については、いずれも99.9%未満の感染価減少率であった。

なお、アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム（0.1%（5分））及び脂肪酸アルカノールアミド（0.1%（5分））については、北里大学での検証試験においていずれも不活化効果が認められなかったことが第3回委員会で報告されている。
- 国立感染症研究所での検証試験において、塩化ジアルキルジメチルアンモニウム（0.01%（40秒））については、99.999%以上の感染価減少率であった。

なお、塩化ジアルキルジメチルアンモニウムについては、国立感染症研究所での検証試験において、0.025%（1分）において99.99%以上の感染価減少率、北里大学での検証試験において0.01%（5分）で不活化効果がそれぞれ認められたことが、第4回及び第3回の委員会で報告されている。

➡ 純石けん分 2 種、アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム、脂肪酸アルカノールアミドの委員会としての有効性判断をご審議ください。加えて、塩化ジアルキルジメチルアンモニウムの従来の有効性判断の妥当性についてご確認下さい。

# 界面活性剤の有効性評価（事務局案）

## （検証試験の結果に対する委員会判断（案））

- 界面活性剤の新型コロナウイルスに対する除去効果について、これまでの委員会判断を踏襲し、国立感染症研究所で99.99%以上の感染価減少率を示した物資及び北里大学で不活化効果ありとされた物資を有効と判断する。また、いずれかの機関において上記の基準を満たす物資についても有効性の判断を行うべき物資と考えられるため、個々の検証結果を精査した上で委員会として判断を行うこととする。
- 純石けん分（脂肪酸塩2種）について、国立感染症研究所では純石けん分（脂肪酸カリウム）（0.12%）及び純石けん分（脂肪酸ナトリウム）（0.11%）は99%未満の感染価減少率、北里大学では両物資ともに0.1%で不活化効果なしとの判定であったが、国立感染症研究所において純石けん分（脂肪酸カリウム）（0.24%（1分））及び純石けん分（脂肪酸ナトリウム）（0.22%（20秒））に99.999%以上の感染価減少が認められたことから、純石けん分（脂肪酸カリウム）（0.24%以上）及び純石けん分（脂肪酸ナトリウム）（0.22%以上）の2種について、新型コロナウイルスに対して有効と判断できる。
- 第4回委員会において、塩化ジアルキルジメチルアンモニウム（0.01%以上）が有効と判断されている。今回の試験結果から、国立感染症研究所での検証試験において、0.01%（40秒）において99.999%以上の感染価減少が認められたことから、第4回委員会での塩化ジアルキルジメチルアンモニウム（0.01%以上）の有効性判断の妥当性が確認された。

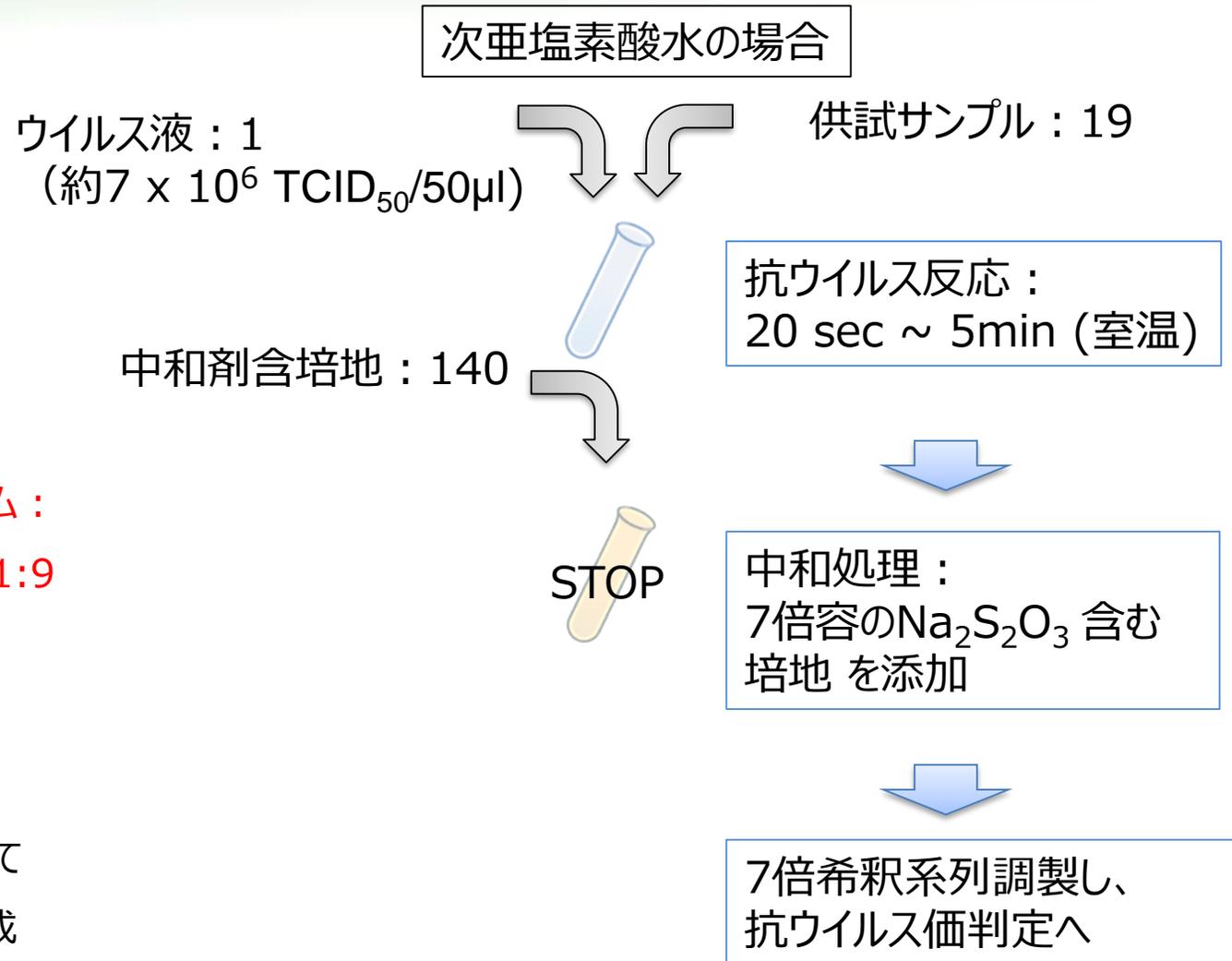
# 検証試験の結果について

## 次亜塩素酸水

# 国立感染症研究所での検証試験結果

# 国立感染症研究所における抗ウイルス評価試験アウトライン

- 宿主細胞培養およびウイルス培養
  - ウイルス培養時のFBS濃度：5%
- 供試サンプルの調製
  - 次亜塩素酸水は有効塩素濃度を数段階に設定
- 抗ウイルス反応
  - 次亜塩素酸水： ウイルス液:供試水 = 1:19
  - ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム及び次亜塩素酸ナトリウム：  
ウイルス液:供試サンプル液 = 1:9
  - 室温、20、40秒、1、2、5分
- 供試サンプルの除去・中和処理
  - 次亜塩素酸水：0.01Mチオ硫酸ナトリウム含有培地にて  
7倍希釈( $7^{-1}$ ) →以下希釈系列作成



## 次亜塩素酸水（電気分解法で生成したもの、以下、電解型）

カテゴリー	電解質	pH 実測値	有効塩素濃度 実測値(ppm)	報告
強酸性電解水	NaCl	2.4	19	前回報告
強酸性電解水	NaCl	2.4	35	今回報告
強酸性電解水	NaCl	2.5	40	前回報告 <sup>2)</sup>
弱酸性電解水	NaCl	2.9	26	前回報告
弱酸性電解水	NaCl	3.5	44	今回報告
弱酸性電解水	NaCl	3.8	51	今回報告
弱酸性電解水	NaCl	4.2	24	前回報告
弱酸性電解水	NaCl	4.3	43	前回報告 <sup>2)</sup>
微酸性電解水 <sup>1)</sup>	HCl+NaCl	4.9	39	前回報告 <sup>2)</sup>
微酸性電解水 <sup>1)</sup>	HCl+NaCl	4.9	54	今回報告
微酸性電解水	HCl	5.0	49	前回報告
微酸性電解水	HCl+NaCl	5.9	50	今回報告

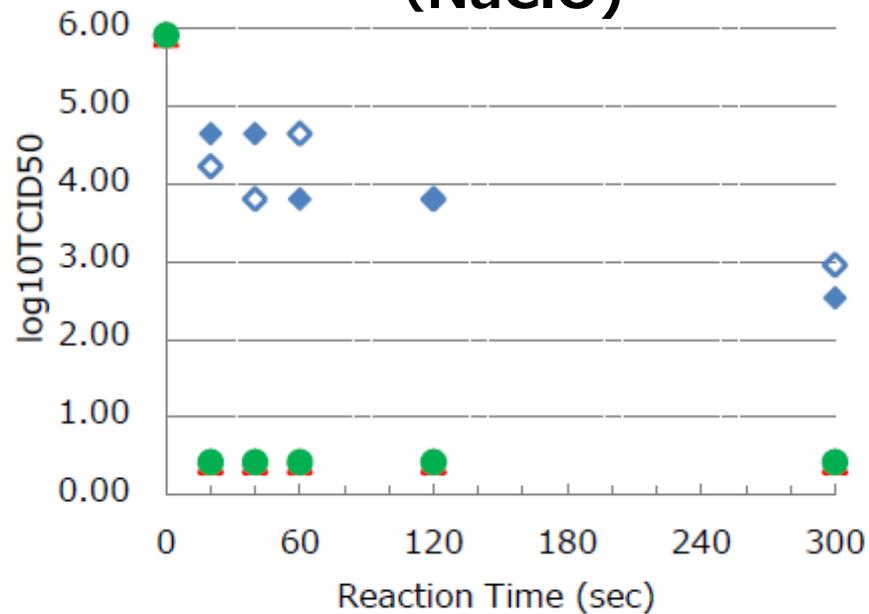
## 次亜塩素酸水（電気分解法以外で生成したもの、以下、非電解型）

カテゴリー	pH 実測値	有効塩素濃度 実測値(ppm)
ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム水溶液	6.0	100~300

- 1) 微酸性電解水を生成しpHを測定したところ4.9（弱酸性電解水の領域）であった。
- 2) 前回の委員会において、これらの群のサンプルに問題がある可能性が指摘されたため、今回の試験においてサンプルを再作製し実験を行った。

# 次亜塩素酸ナトリウム（陽性対照）及びジクロロイソシアヌル酸ナトリウム（DiCLISC） によるSARS-CoV-2不活性化効果(反応液比率 1:9)

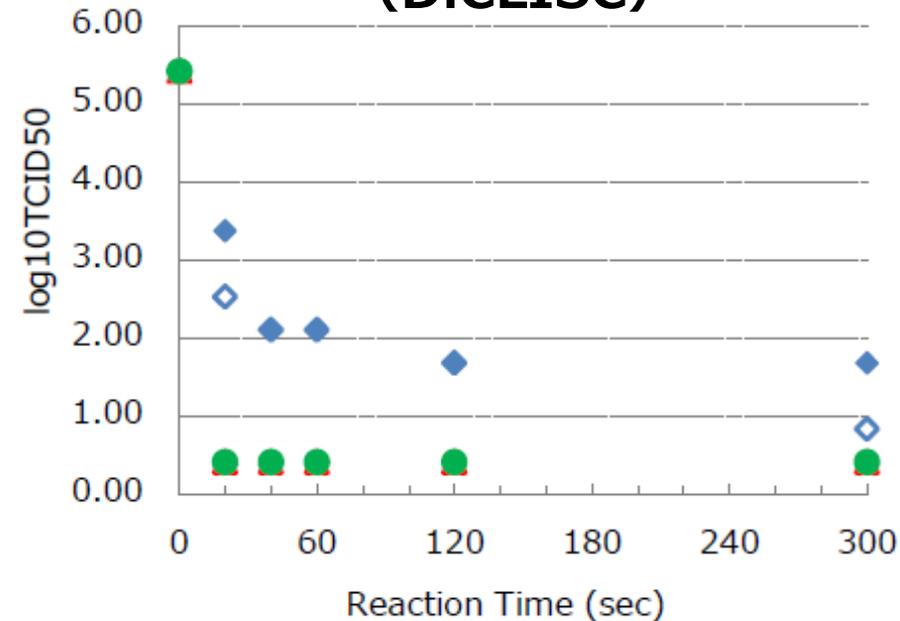
## 次亜塩素酸ナトリウム (NaClO)



- ◆ NaClO-100ppm①
- ◆ NaClO-100ppm②
- ▲ NaClO-200ppm①
- ▲ NaClO-200ppm②
- NaClO-300ppm①
- NaClO-300ppm②

陽性対照物質として試験した次亜塩素酸ナトリウムは20秒以上の反応により200ppm以上で99.999%以上の感染価低下を示した。  
反応条件：ウイルス液 5%FBS、反応液比率 1:9

## ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム (DiCLISC)



- ◆ DiCLISC-100ppm①
- ◆ DiCLISC-100ppm②
- ▲ DiCLISC-200ppm①
- ▲ DiCLISC-200ppm②
- DiCLISC-300ppm①
- DiCLISC-300ppm②

ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムは1分間の反応において200ppm以上で99.999%以上、100ppmで99.9%以上の感染価低下を示した。  
反応条件：ウイルス液 5%FBS、反応液比率 1:9

# 次亜塩素酸水（電解型）による SARS-CoV-2不活性化効果\_再試(1)

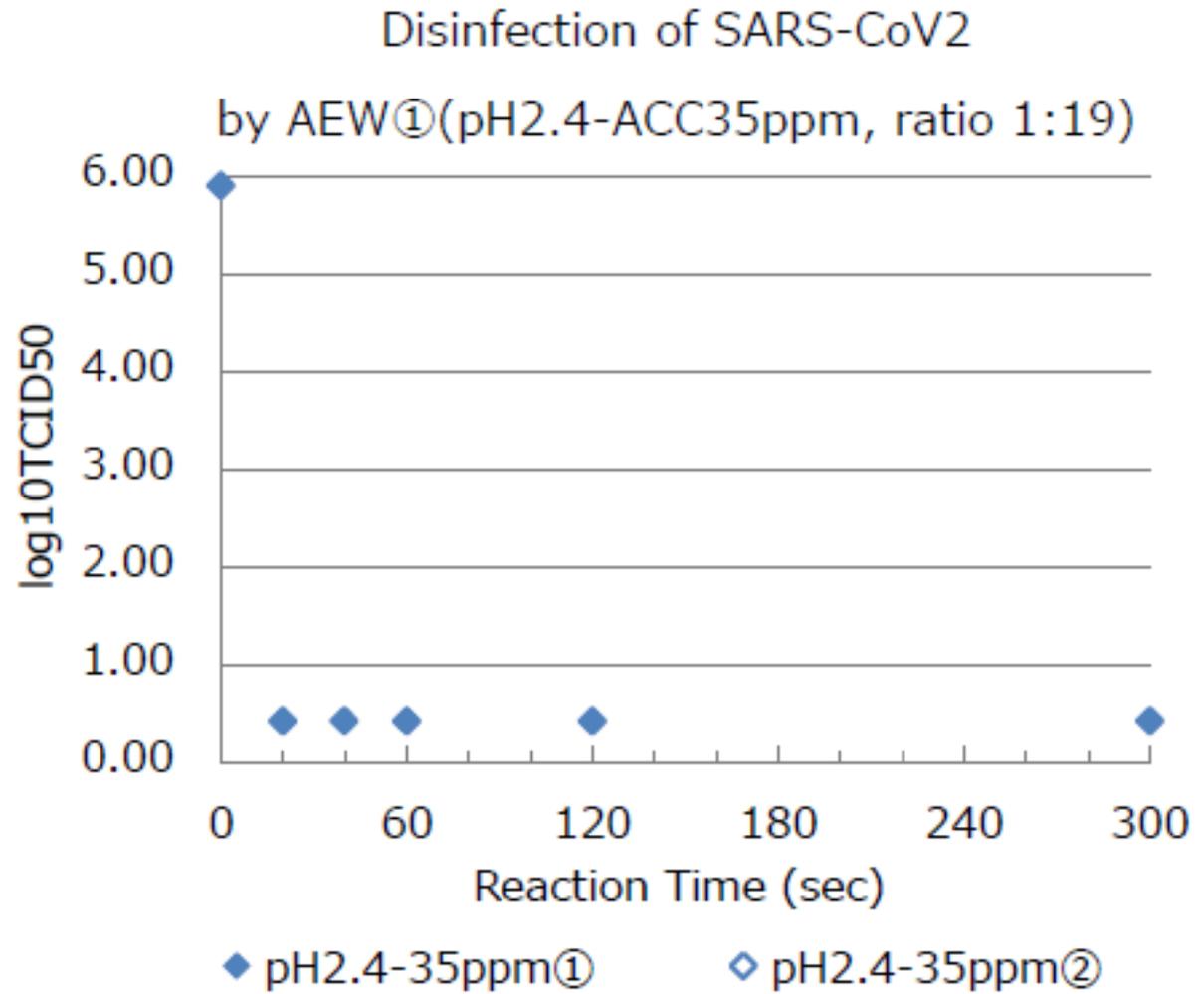
- 生成条件

生成装置 バッチ式生成装置JED-007

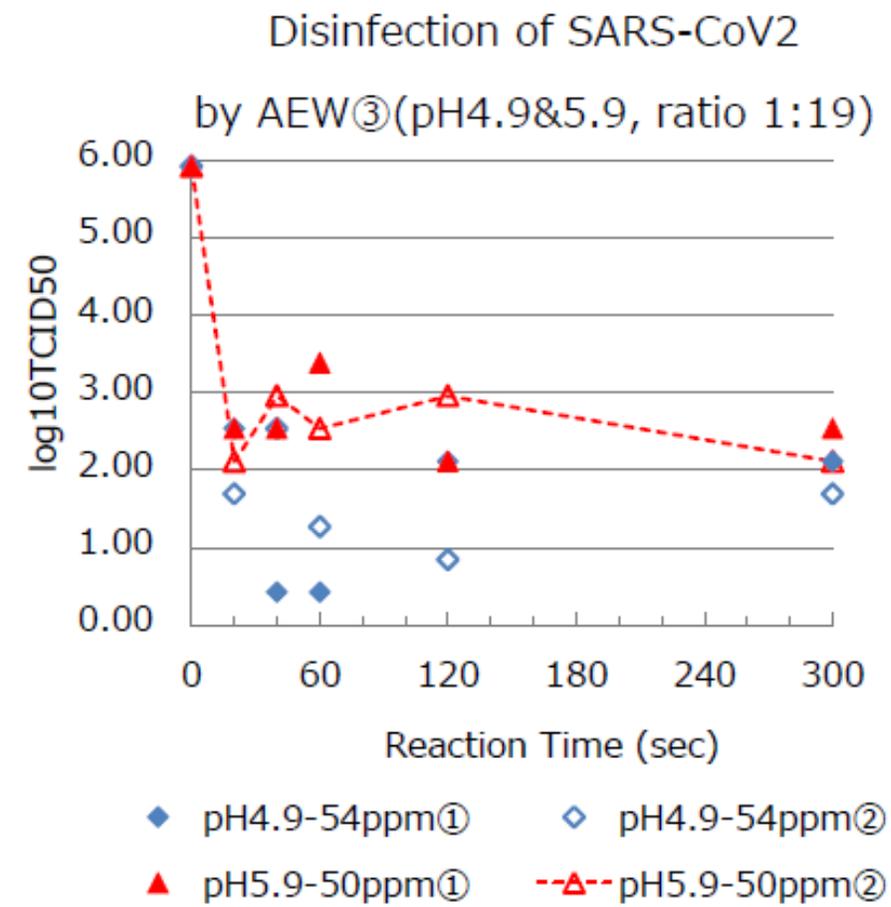
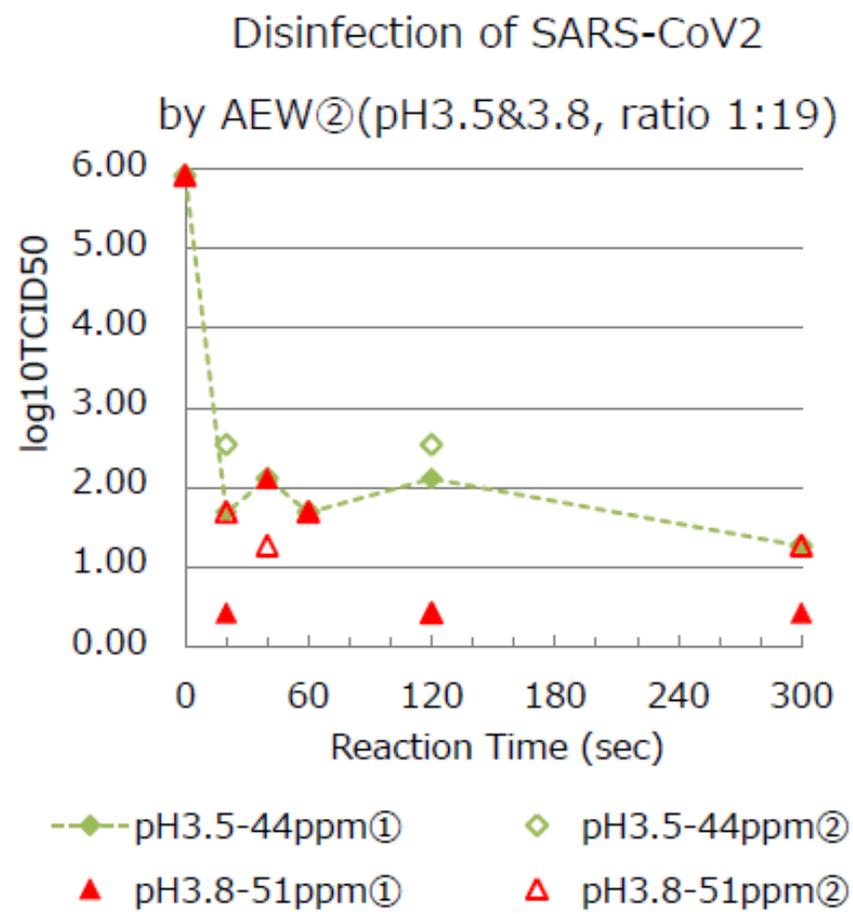
感染研 村山庁舎 水道水をベースに生成

	NaCl (%)	HCl (mM)	電解時間 (min)	pH (4°C, O/N)	ACC_ppm (4°C, O/N)
①強酸性	0.1	-	7	2.4	35
②弱酸性01	0.2	1.7	12	3.5	44
③弱酸性02	0.175	1.5	15	3.8	51
④微酸性01	0.2	1.5	12	4.9	54
⑤微酸性02	0.2	1.2	12	5.9	50

# 次亜塩素酸水（電解型）による SARS-CoV-2不活性化効果\_再試(2)



# 次亜塩素酸水（電解型）による SARS-CoV-2不活性化効果\_再試(3)



# 帯広畜産大学での検証試験結果

## 次亜塩素酸水（電解型）

カテゴリー	電解質	pH	有効塩素濃度 (ppm)
強酸性電解水	NaCl	~ 2.7	50
微酸性電解水	HCl	5.0~6.5	50
微酸性電解水	HCl	5.0~6.5	30

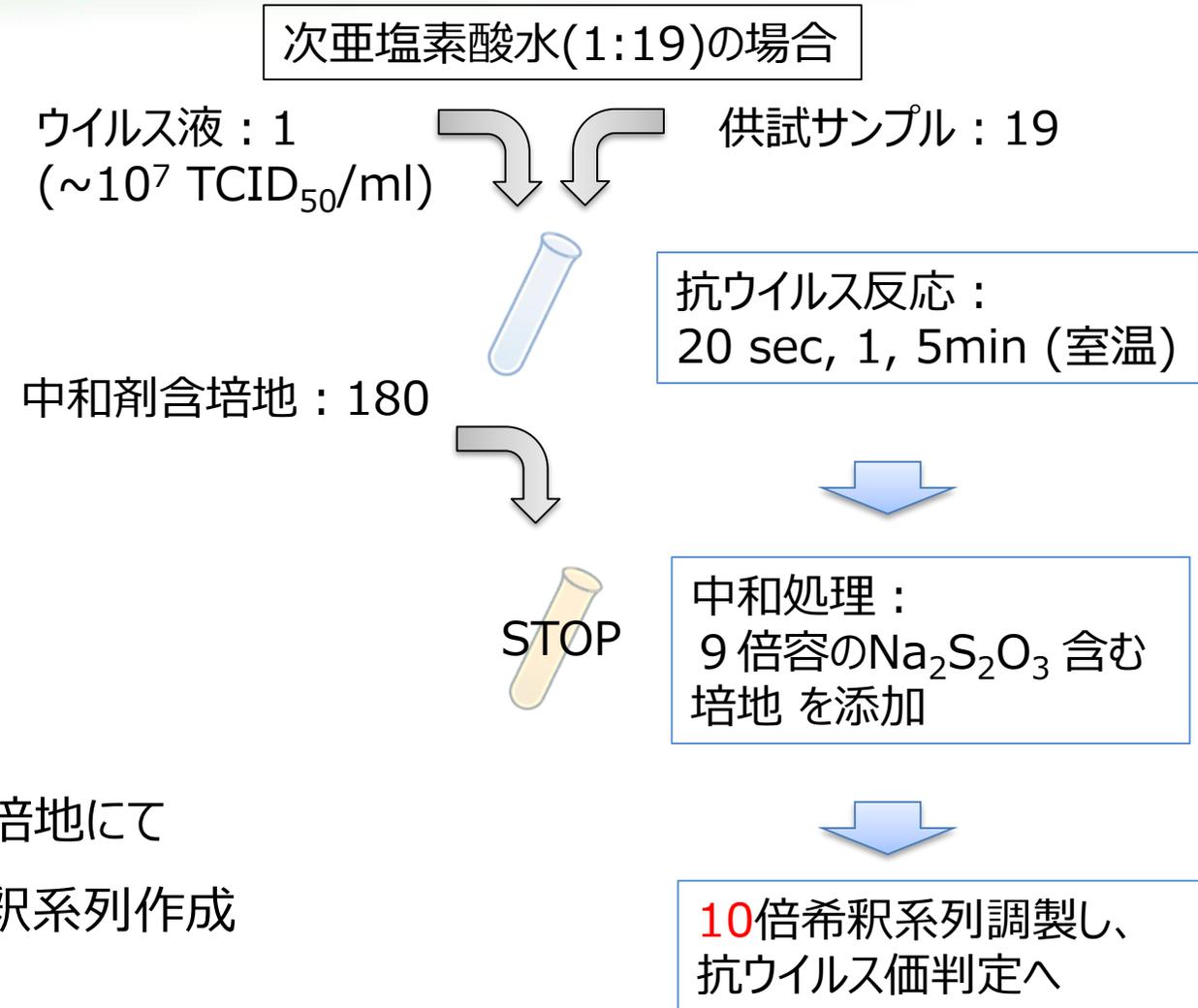
## 次亜塩素酸水（非電解型）

カテゴリー	pH	有効塩素濃度 (ppm)
サンプルA	5.0~6.5	50~200
サンプルB	5.0~6.5	50~200
サンプルC	5.0~6.5	50~200
サンプルD	5.0~6.5	50~150
ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム水溶液	5.0~6.5	50~300

- いずれのサンプルも抗ウイルス試験実施直前にpH及び有効塩素濃度を測定（グラフに実測値を記載）
- 選定した次亜塩素酸水（非電解型）は、原液あるいは原液を蒸留水で所定濃度に希釈して試験に供した

# 帯広畜産大学における抗ウイルス評価試験アウトライン

- 宿主細胞培養およびウイルス培養
  - ウイルス培養時のFBS濃度1%
- 供試サンプルの調製
  - 次亜塩素酸水は有効塩素濃度を数段階に設定
- 抗ウイルス反応
  - 次亜塩素酸水 ; ウイルス液:試験水 = 1:19
  - 室温、20秒、1、5分
- 供試サンプルの中和処理
  - 次亜塩素酸水 : 0.01Mチオ硫酸ナトリウム含有培地にて  
10倍希釈( $10^{-1}$ ) →以下希釈系列作成

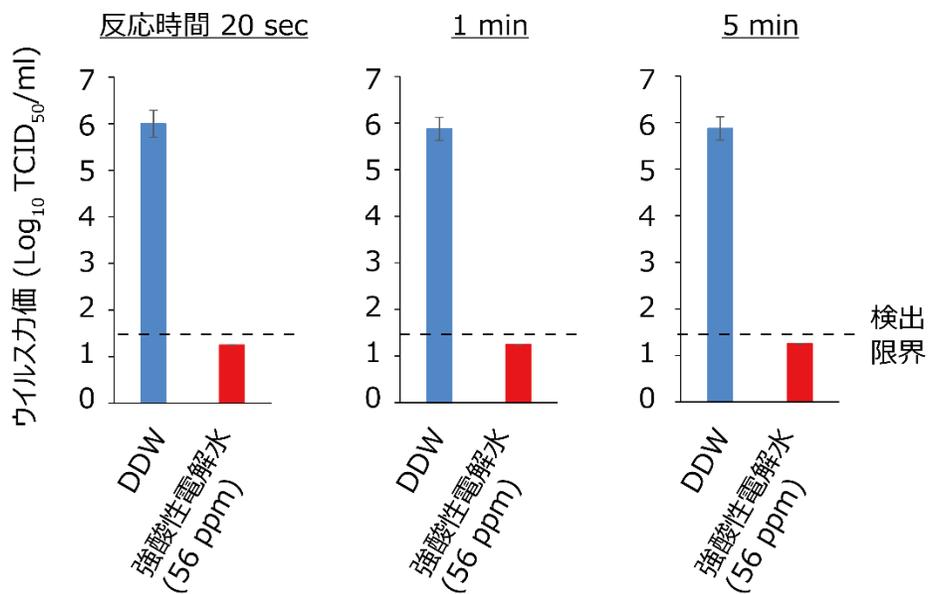


# 次亜塩素酸水（強酸性電解水） （電解質：食塩、50ppm, ~pH2.7）

1 回目(実測値：ACC 56 ppm, pH 2.53)

(2 回目もほぼ同様の結果)

ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:19



反応時間		20 sec		1 min		5 min	
試験液		DDW	強酸性電解水	DDW	強酸性電解水	DDW	強酸性電解水
ウイルス力価 (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /ml)	Tube 1	6.25	≦1.25	5.75	≦1.25	5.75	≦1.25
	Tube 2	5.75	≦1.25	5.75	≦1.25	5.75	≦1.25
	Tube 3	5.75	≦1.25	5.75	≦1.25	6.25	≦1.25
	Tube 4	6.25	≦1.25	6.25	≦1.25	5.75	≦1.25
	平均値 ± 標準偏差	6.0 ± 0.29	≦1.25 ± 0	5.875 ± 0.25	≦1.25 ± 0	5.875 ± 0.25	≦1.25 ± 0
	DDW 群との 平均値の差	-	≧4.75	-	≧4.625	-	≧4.625
ウイルス不活化率 (%)		-	≧99.9982	-	≧99.9976	-	≧99.9976

ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水 (陰性対照)

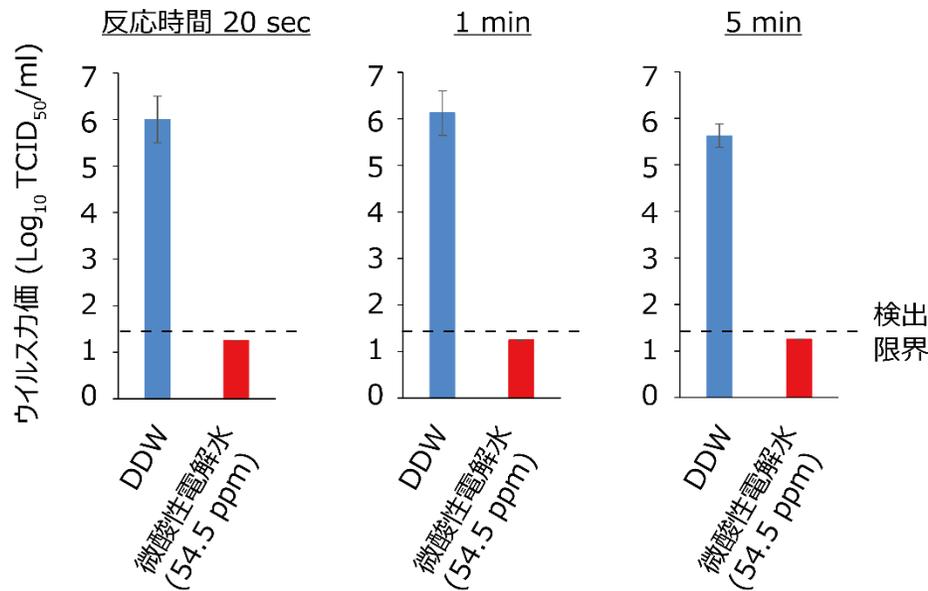
≦1.25:検出限界以下

FBS1%/1:19の条件では短時間でのウイルス不活化効果が認められた

# 次亜塩素酸水（微酸性電解水） （電解質：塩酸、50ppm, pH5.0~6.5）

1回目(実測値：ACC 54.5 ppm, pH 5.16)  
（2回目もほぼ同様の結果）

ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:19



反応時間0		20 sec		1 min		5 min	
試験液		DDW	微酸性電解水	DDW	微酸性電解水	DDW	微酸性電解水
ウイルスカ値 (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /ml)	Tube 1	6.25	≤1.25	6.25	≤1.25	5.25	≤1.25
	Tube 2	6.25	≤1.25	5.75	≤1.25	5.75	≤1.25
	Tube 3	6.25	≤1.25	5.75	≤1.25	5.75	≤1.25
	Tube 4	5.25	≤1.25	6.75	≤1.25	5.75	≤1.25
	平均値 ± 標準偏差	6.0 ± 0.5	≤1.25 ± 0	6.125 ± 0.48	≤1.25 ± 0	5.625 ± 0.25	≤1.25 ± 0
	DDW 群との 平均値の差	-	≥4.75	-	≥4.875	-	≥4.375
ウイルス不活化率 (%)		-	≥99.9982	-	≥99.9987	-	≥99.9958

ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水（陰性対照）

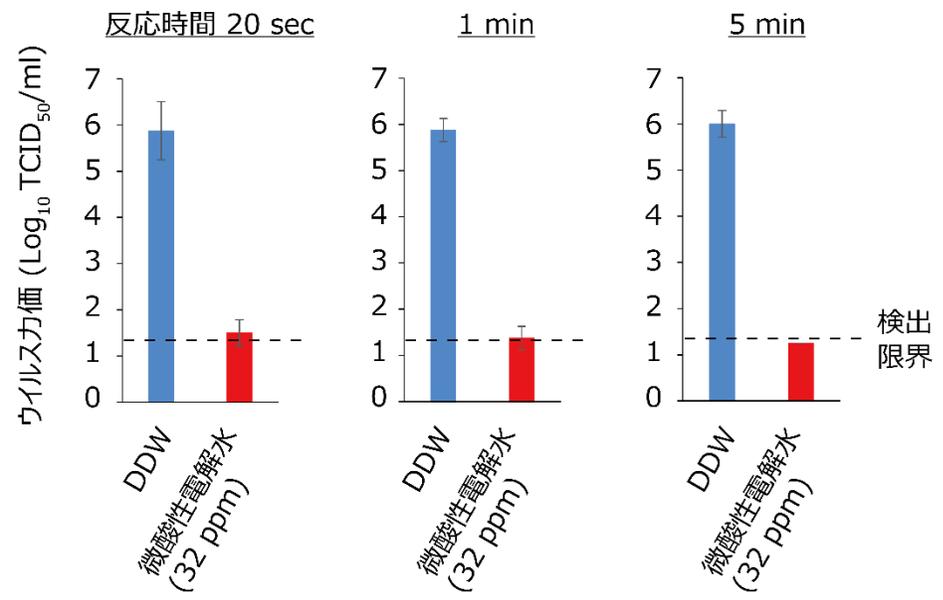
≤1.25:検出限界以下

FBS1%/1:19の条件では微酸性でも短時間でのウイルス不活化効果が認められた

# 次亜塩素酸水（微酸性電解水） （電解質：塩酸、30ppm, pH5.0~6.5）

1回目(実測値：ACC 32 ppm, pH 5.3)  
(2回目もほぼ同様の結果)

ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:19



反応時間		20 sec		1 min		5 min	
試験液		DDW	微酸性電解水 (32 ppm)	DDW	微酸性電解水 (32 ppm)	DDW	微酸性電解水 (32 ppm)
ウイルススリカ値 (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /ml)	Tube 1	5.25	≤1.25	5.75	≤1.25	6.25	≤1.25
	Tube 2	5.75	≤1.75	5.75	≤1.25	5.75	≤1.25
	Tube 3	5.75	≤1.25	6.25	≤1.25	5.75	≤1.25
	Tube 4	6.75	≤1.75	5.75	≤1.75	6.25	≤1.25
	平均値	5.88	≤1.5	5.88	≤1.37	6.0	≤1.25
	± 標準偏差	± 0.63	± 0.29	± 0.25	± 0.25	± 0.29	± 0
DDW群との平均値の差		-	≥4.375	-	≥4.5	-	≥4.75
ウイルス不活化率 (%)		-	≥99.9958	-	≥99.9968	-	≥99.9982

ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水 (陰性対照)

≤1.25:検出限界以下

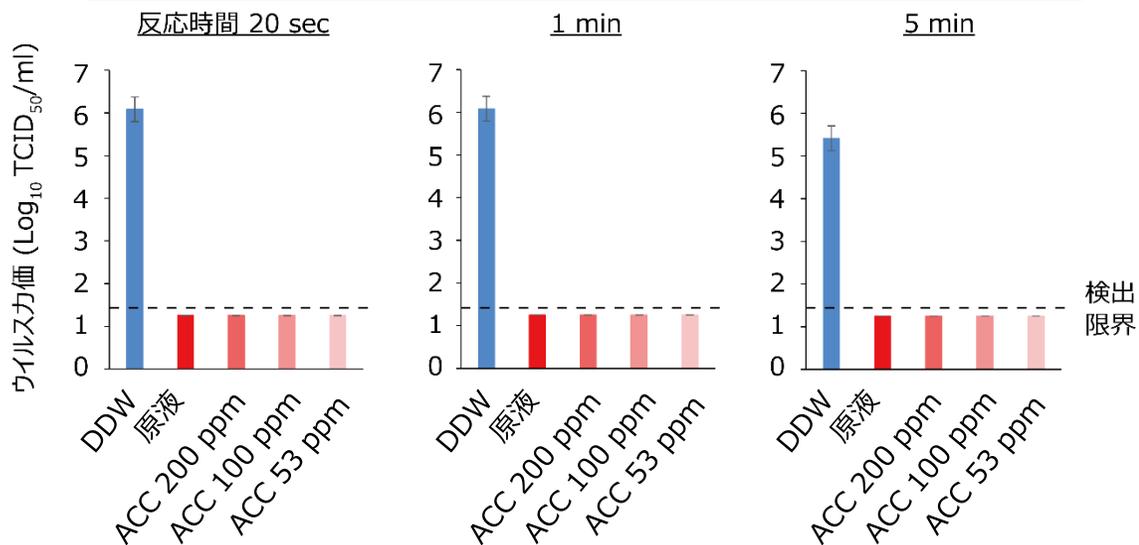
32ppmでもFBS1%/1:19の条件ではウイルス不活化効果が認められた

# 次亜塩素酸水（非電解型） サンプルA

## 1 回目(原液pH6.0 (実測値) )

( 2 回目もほぼ同様の結果)

ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:19



サンプルA

## 反応時間20秒における各反応チューブの結果

試験液		DDW	A (原液)	A (200 ppm)	A (100 ppm)	A (53 ppm)
ウイルスカバ値 (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /ml)	Tube 1	6.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25
	Tube 2	5.75	≤1.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25
	Tube 3	6.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25
	平均値 ± 標準偏差	6.0833 ± 0.29	≤1.25 ± 0	≤1.25 ± 0	≤1.25 ± 0	≤1.25 ± 0
	DDW 群との平均値の差	-	≥4.8333	≥4.8333	≥4.8333	≥4.8333
ウイルス不活化率 (%)		-	≥99.9985	≥99.9985	≥99.9985	≥99.9985

水色ハイライトは軽度の細胞傷害性が認められた検体である

≤1.25: 検出限界以下

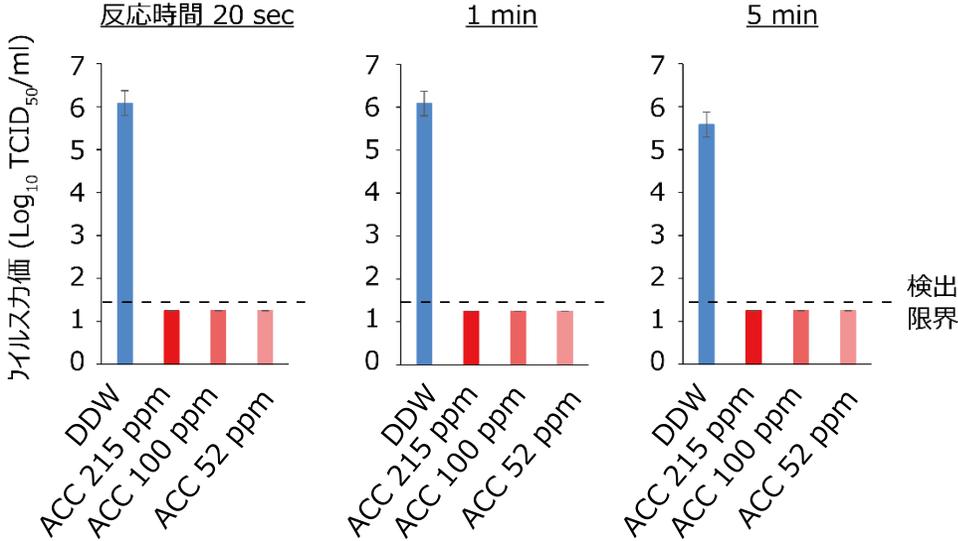
ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水 (陰性対照)

非電解型のサンプルAでは、FBS1%/1:19の条件で短時間でのウイルス不活化効果が認められた

# 次亜塩素酸水（非電解型） サンプルB

## 1 回目(原液pH6.2 (実測値) ) ( 2 回目もほぼ同様の結果)

試験液：ウイルス液 = 19:1



サンプルB

非電解型のサンプルBでも、FBS1%/1:19の条件で短時間でのウイルス不活化効果が認められた

## 反応時間20秒における各反応チューブの結果

試験液		DDW	B (215 ppm)	B (100 ppm)	B (52 ppm)
ウイルスカカ値 (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /ml)	Tube 1	6.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25
	Tube 2	6.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25
	Tube 3	5.75	≤1.25	≤1.25	≤1.25
	平均値 ± 標準偏差	6.08 ± 0.29	≤1.25 ± 0	≤1.25 ± 0	≤1.25 ± 0
	DDW 群との平均値の差	-	≥4.83	≥4.83	≥4.83
ウイルス不活化率 (%)		-	≥99.9985	≥99.9985	≥99.9985

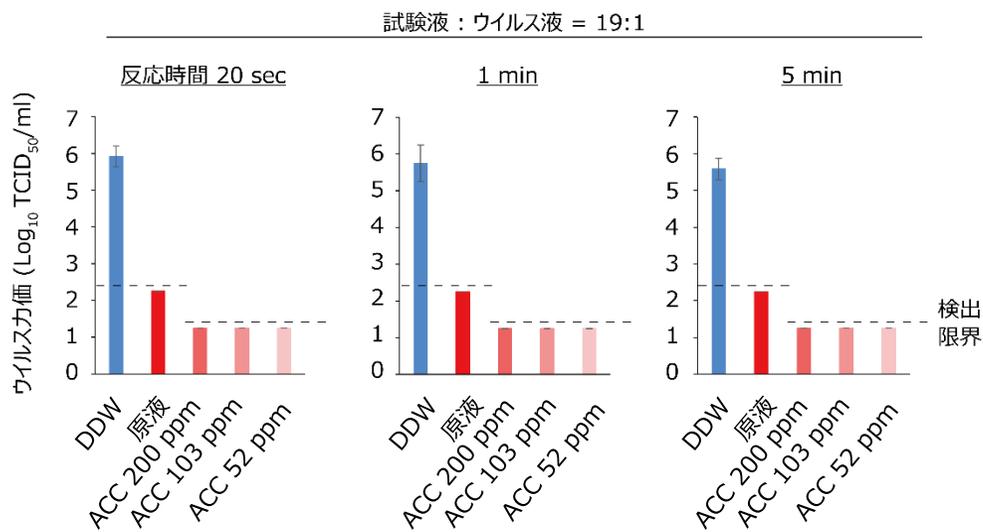
215 ppmでは1分と5分で軽度の細胞傷害が観察された。 ≤1.25:検出限界以下

ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水 (陰性対照)

# 次亜塩素酸水（非電解型） サンプルC

## 1 回目(原液pH5.2 (実測値) ) ( 2 回目もほぼ同様の結果)

### 反応時間20秒における各反応チューブの結果



試験液		DDW	C (原液)	C (200 ppm)	C (103 ppm)	C (52 ppm)
ウイルスカ価 (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /ml)	Tube 1	6.25	≤2.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25
	Tube 2	5.75	≤2.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25
	Tube 3	5.75	≤2.25	≤1.25	≤1.25	≤1.25
	平均値 ± 標準偏差	5.92 ± 0.29	≤2.25 ± 0	≤1.25 ± 0	≤1.25 ± 0	≤1.25 ± 0
	DDW 群との 平均値の差	-	≥3.67	≥4.67	≥4.67	≥4.67
ウイルス不活化率 (%)		-	≥99.9785	≥99.9979	≥99.9979	≥99.9979

灰色は広範囲に、水色ハイライトは軽度の細胞傷害性が認められた検体である      ≤1.25:検出限界以下

サンプルC

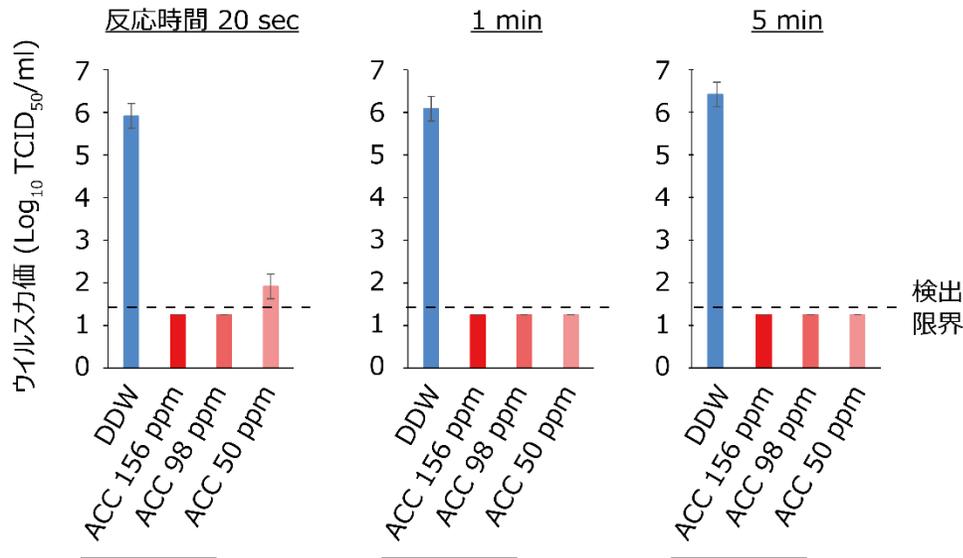
ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水 (陰性対照)

非電解型のサンプルCでも、FBS1%/1:19の条件で短時間でのウイルス不活化効果が認められた

# 次亜塩素酸水（非電解型） サンプルD

## 1 回目(原液pH5.9 (実測値) ) ( 2 回目もほぼ同様の結果)

試験液 : ウイルス液 = 19:1



サンプルD

## 反応時間20秒における各反応チューブの結果

試験液	DDW	D (156ppm)	D (98 ppm)	D (50 ppm)	
ウイルス力価 (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /ml)	Tube 1	5.75	≦1.25	≦1.25	≦1.75
	Tube 2	6.25	≦1.25	≦1.25	≦1.75
	Tube 3	5.75	≦1.25	≦1.25	2.25
	平均値	5.92	≦1.25	≦1.25	≦1.92
	± 標準偏差	± 0.29	± 0	± 0	± 0.29
DDW 群との平均値の差	-	≧4.67	≧4.67	≧4	
ウイルス不活化率 (%)	-	≧99.9979	≧99.9979	≧99.99	

≦1.25:検出限界以下

ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水 (陰性対照)

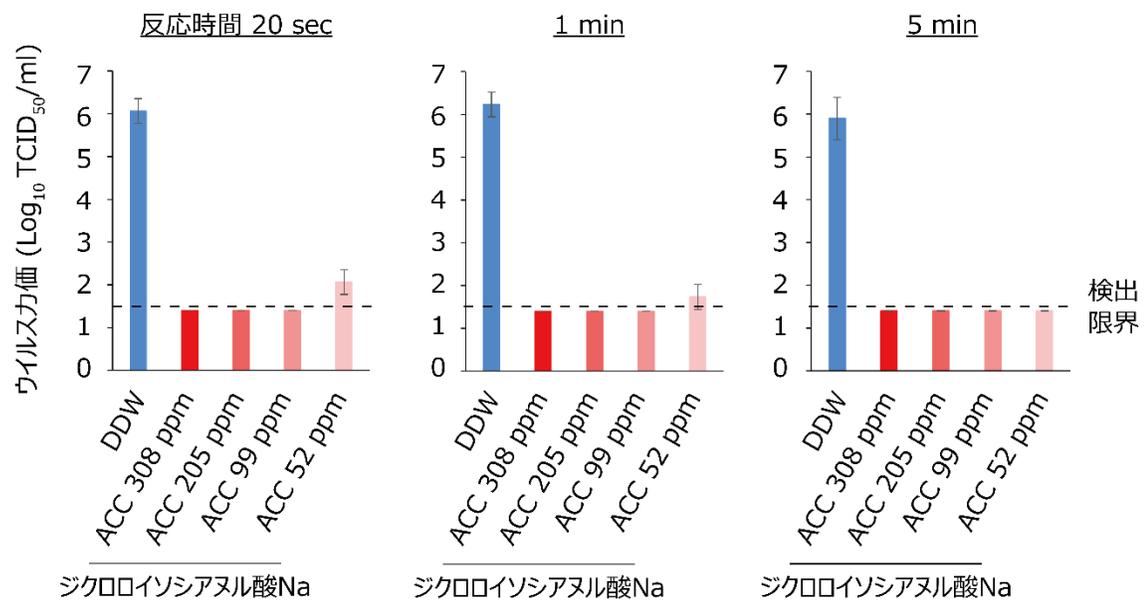
非電解型のサンプルDでも、FBS1%/1:19の条件で短時間でのウイルス不活化効果が認められた

# 次亜塩素酸水（非電解型）

## ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム

1 回目(原液pH6.2 (実測値) )  
 ( 2 回目もほぼ同様の結果)

ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:19



反応時間20秒における各反応チューブの結果

試験液	DDW	ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム				
		308 ppm	205 ppm	99 ppm	52 ppm	
ウイルスカバ値 (log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /ml)	Tube 1	6.4	≤1.4	≤1.4	≤1.4	2.4
	Tube 2	5.9	≤1.4	≤1.4	≤1.4	≤1.9
	Tube 3	5.9	≤1.4	≤1.4	≤1.4	≤1.9
	平均値 ± 標準偏差	6.07 ± 0.29	≤1.4 ± 0	≤1.4 ± 0	≤1.4 ± 0	≤2.07 ± 0.29
	DDW群との平均値の差	-	≥4.667	≥4.667	≥4.667	≥4
ウイルス不活化率 (%)	-	≥99.9979	≥99.9979	≥99.9979	≥99.99	

水色ハイライトは軽度の細胞傷害性が認められた検体である

≤1.4:検出限界以下

ACC, 有効塩素濃度  
 DDW, 蒸留水 (陰性対照)

ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムは1%FBS/1:19の条件でウイルス不活化効果が確認できた。

## 次亜塩素酸水（電解型）

サンプル	有効塩素濃度 実測値(ppm)	pH実測値	感染価減少 (20秒、1分、5分)
強酸性電解水	56/56	2.53/2.83	<b>4桁以上</b>
微酸性電解水	54.5/56	5.16/5.23	<b>4桁以上</b>
微酸性電解水	32/32	5.3/5.3	<b>4桁以上</b>

### 反応条件

- ・ウイルス液：1%FBS
- ・反応液比率：1:19

## 次亜塩素酸水（非電解型）

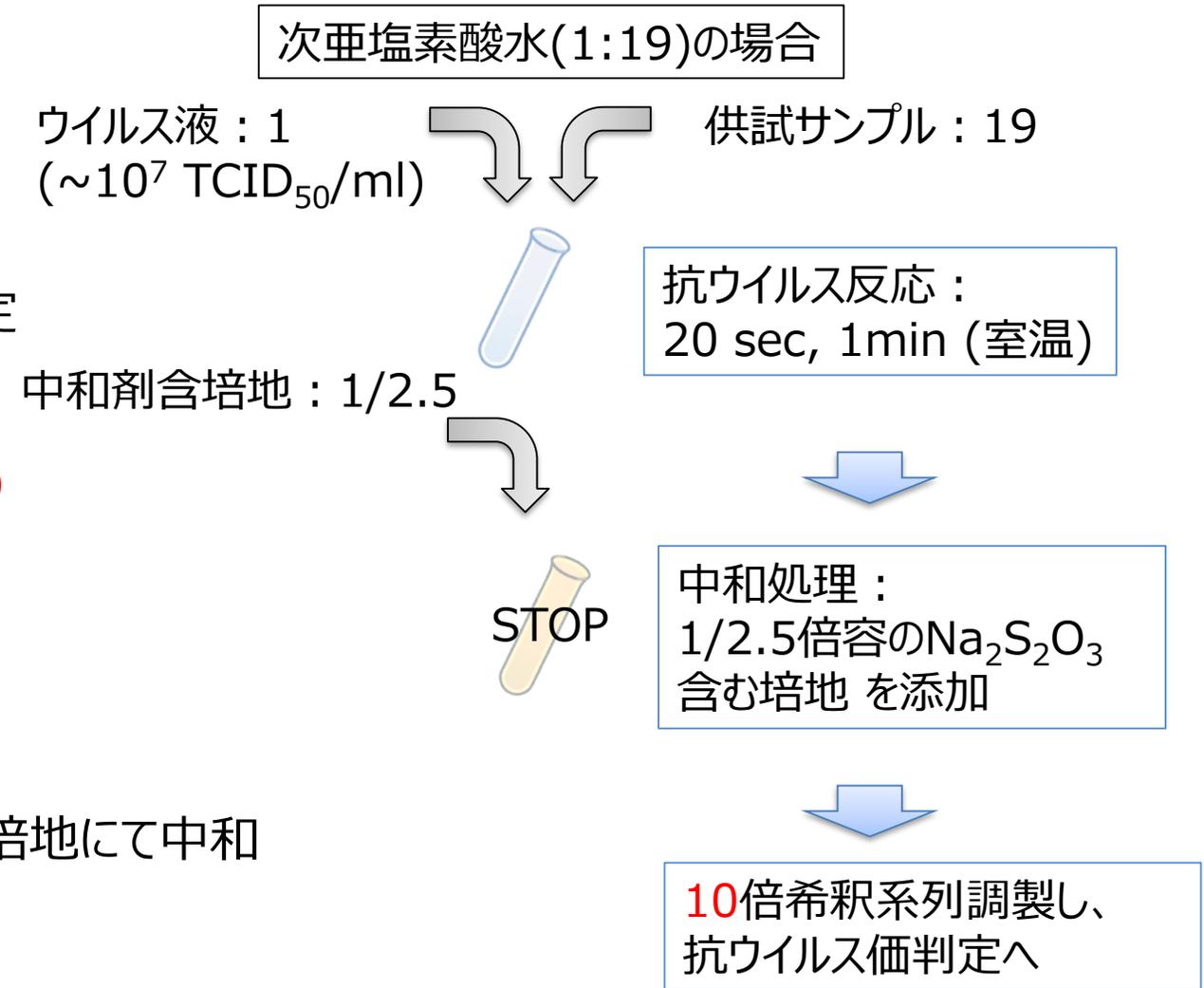
サンプル	有効塩素濃度 実測値(ppm)	pH実測値	感染価減少 (20秒、1分、5分)
サンプルA	200 <sup>2)</sup>	6	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	100 <sup>2)</sup>	6	<b>4桁以上</b>
	53	6	<b>4桁以上</b>
サンプルB	215	6.2	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	100	6.1	<b>4桁以上</b>
	52	6.1	<b>4桁以上</b>
サンプルC	200 <sup>2)</sup>	5.3	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	100 <sup>2)</sup>	5.2	<b>4桁以上</b>
	52	5.2	<b>4桁以上</b>
サンプルD	156/158	5.9/6.3	<b>4桁以上</b>
	98/98	5.9/6.1	<b>4桁以上</b>
	50/51	5.9/5.9	<b>4桁以上</b>
ジクロロイソシア ヌル酸Na <sup>1)</sup>	300	6.0	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	200	6.0	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	100	6.0	<b>4桁以上</b>
	50	6.0	<b>4桁以上</b>

- 1) 粉末を溶解し、当該有効塩素濃度になるように希釈して調製
- 2) 原液の実測値をもとに試験直前に当該濃度になるように希釈して調製  
(希釈液の実測値は測定していない)
- 3) 軽度の細胞障害を観察

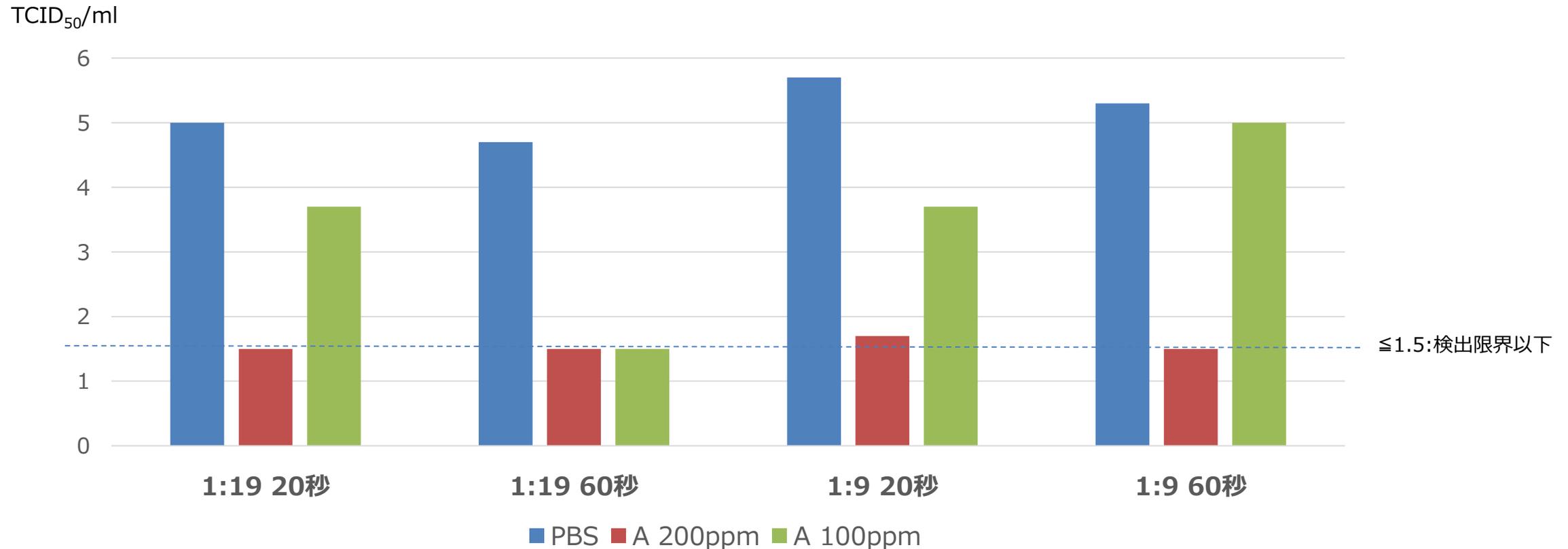
# 鳥取大学での検証試験結果

## 鳥取大学における抗ウイルス評価試験アウトライン

- 宿主細胞培養およびウイルス培養
  - ウイルス培養時のFBS濃度5%
- 供試サンプルの調製
  - 次亜塩素酸水は有効塩素濃度を数段階に設定
- 抗ウイルス反応
  - 次亜塩素酸水 ; ウイルス液:試験水 = 1:19  
(条件設定試験においては、1:9も実施)
  - 室温、20秒、1分
- 供試サンプルの中和処理
  - 次亜塩素酸水 : 0.3Mチオ硫酸ナトリウム含有培地にて中和  
以下10倍希釈系列作成



# 鳥取大学での試験結果 - 次亜塩素酸水（非電解型） サンプルA



実験条件：

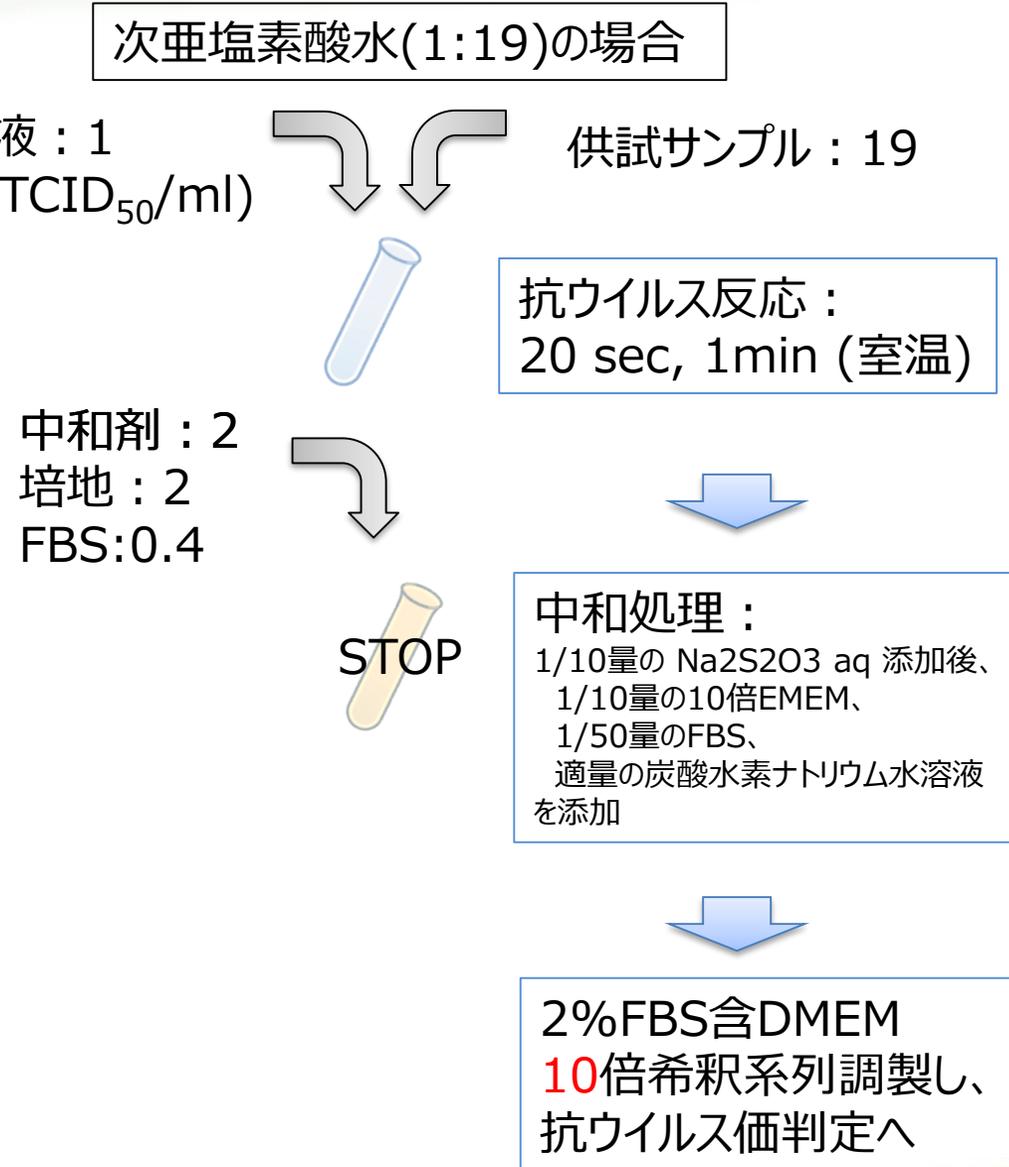
- ・ウイルス液：**5%FBS含有DMEM培地**
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： $10^{6.8}$ TCID<sub>50</sub>/mL
- ・ウイルス液：サンプル液比率：1:19 あるいは 1:9
- ・各群の例数：N=4
- ・陰性対照：PBS（リン酸緩衝液）

60秒間の反応時間において、200ppmでは陰性対照群と比較して1:9及び1:19の反応液比率のいずれにおいても99.9%以上の感染力価の減少を示した。一方、100ppmでは1:19で99.9%以上であったが、1:9の条件では感染力価の減少はほぼ消失した。

# 一般財団法人日本繊維製品品質技術センター (以下、QTECと略) での検証試験結果

# QTECにおける抗ウイルス評価試験アウトライン

- 宿主細胞培養およびウイルス培養
  - ウイルス培養時のFBS濃度1%  
(条件設定試験においては抗ウイルス反応前に終濃度5%になるように添加して実施)
- 供試サンプルの調製
  - 次亜塩素酸水は有効塩素濃度を数段階に設定
- 抗ウイルス反応
  - 次亜塩素酸水； ウイルス液:試験水 = 1:19  
(条件設定試験においては、1:9も実施)
  - 室温、20秒、1分
- 供試サンプルの中和処理
  - 次亜塩素酸水：1/10量の0.1Mチオ硫酸ナトリウムを添加後、1/10量の10倍EMEM、1/50量のFBS、適量の炭酸水素ナトリウム水溶液を添加



# QTECでの試験結果 – 次亜塩素酸水（非電解型）

## サンプルA

試験サンプル：  
次亜塩素酸水（非電解型）

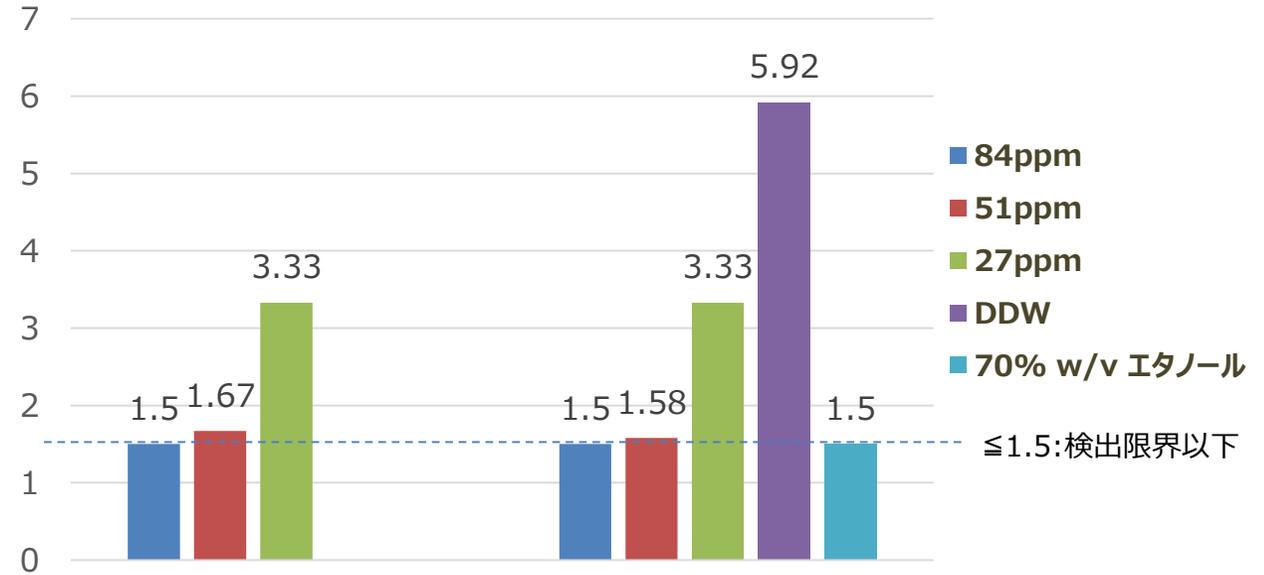
サンプル名	pH	有効塩素濃度	
		理論値 (ppm)	実測値 (ppm)
サンプル A	6.0	80	84
		50	51
		25	27

実験条件：

- ・ウイルス液：1%FBS含有DMEM培地
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： $1.8 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>/mL
- ・ウイルス液：サンプル液比率： 1 : 19
- ・各群の例数： N=3
- ・陰性対照：滅菌超純水（DDW）
- ・陽性対照：70%(w/v)エタノール

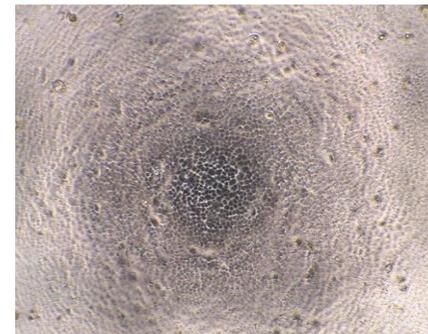
60秒間の反応時間において、84ppm及び51ppmでは陰性対照群と比較して99.99%以上の感染力価の減少が認められたが、27ppmでは99%以上の感染力価減少に留まった。

TCID<sub>50</sub>/ml 結果（ウイルス液（1%FBS）：試験サンプル液 = 1:19）



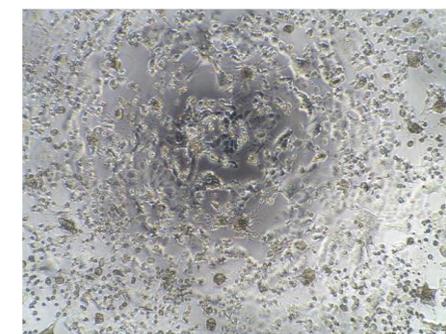
20 秒

細胞変性（CPE）なし



60 秒

細胞変性（CPE）あり



# QTECでの追加検証試験の結果

## 試験に供した次亜塩素酸水（非電解法）

カテゴリー	pH	有効塩素濃度	
		理論値 (ppm)	実測値 (ppm)
サンプル A	6.0	80	84
		50	51
		25	27

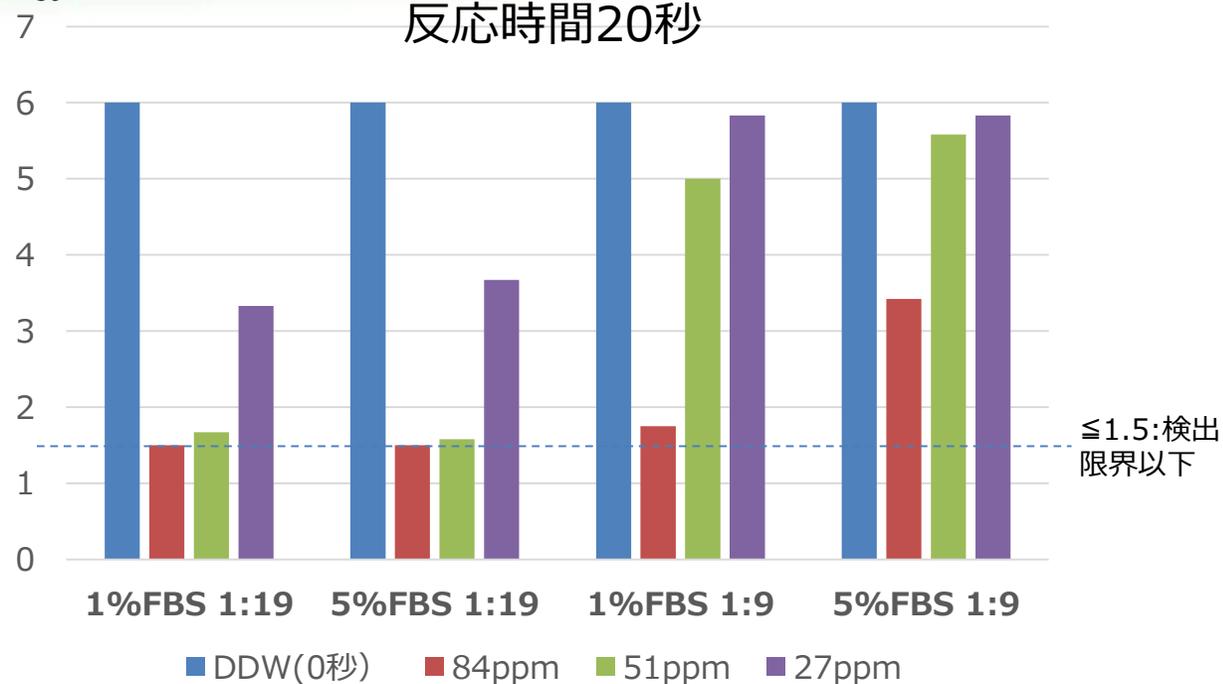
## 結果

反応時間 (秒)	有効塩素濃度実測値 (ppm)	陰性対照群に対する感染価減少値差 (log10)			
		1%-1:19	5%*-1:19	1%-1:9	5%*-1:9
20	84	4.42	4.42	4.25	2.67
	51	4.25	4.33	1.00	0.50
	27	2.58	2.25	0.17	0.25
60	84	4.42	4.42	4.25	3.43
	51	4.33	4.33	1.00	0.58
	27	2.58	2.33	0.17	0.25

%はウイルス液中のFBS濃度、1:9及び1:19はウイルス液と次亜塩素酸水の反応液比率  
 陰性対照は滅菌蒸留水（反応時間60秒）  
 \*ウイルス液（1%FBS/DMEM）にFBSを終濃度5%となるように添加して試験に供した

TCID<sub>50</sub>/ml

反応時間20秒



## 1%FBSの2群間の結果の比較（反応時間20秒）⇒60秒でも同様の傾向

有効塩素濃度実測値(ppm)	1%FBS 1:19	1%FBS 1:9	1:19から1:9に変更したことによる活性の変化
84	4.42	4.25	<b>1:9条件でも活性減弱無し</b>
51	4.25	1.00	1:9条件で活性が大幅に減弱
27	2.58	0.17	1:19で既に活性弱く、1:9で活性ほぼ消失

# 次亜塩素酸水 結果のまとめ

## (事務局資料)

## 次亜塩素酸水（電解型）

カテゴリー	電解質	報告 <sup>2)</sup>	pH 実測 値	有効塩素 濃度 実測値 (ppm)	感染価減少 <sup>3)</sup> (20秒)
強酸性電解水	NaCl	前回	2.4	19	<2桁、<3桁
強酸性電解水	NaCl	今回	2.4	35	≥5桁、≥5桁
弱酸性電解水	NaCl	前回	2.9	26	<1桁、<2桁
弱酸性電解水	NaCl	今回	3.5	44	≥3桁、≥4桁
弱酸性電解水	NaCl	今回	3.8	51	≥4桁、≥5桁
弱酸性電解水	NaCl	前回	4.2	24	<1桁、<1桁
微酸性電解水 <sup>1)</sup>	HCl+NaCl	今回	4.9	54	≥3桁、≥4桁
微酸性電解水	HCl	前回	5.0	49	≥3桁、≥5桁
微酸性電解水	HCl+NaCl	今回	5.9	50	≥3桁、≥3桁

**反応条件**  
 ・ウイルス液：5%FBS  
 ・反応液比率：1:19

- 1) 微酸性電解水を生成しpHを測定したところ4.9（弱酸性電解水の領域）であった。
- 2) 前回の委員会においてサンプルに問題がある可能性が指摘された3群については不採用とし、今回の試験で調製した電解水サンプルを用いて得られたデータに置き換えた。
- 3) 2例の結果

## 次亜塩素酸水（非電解型）

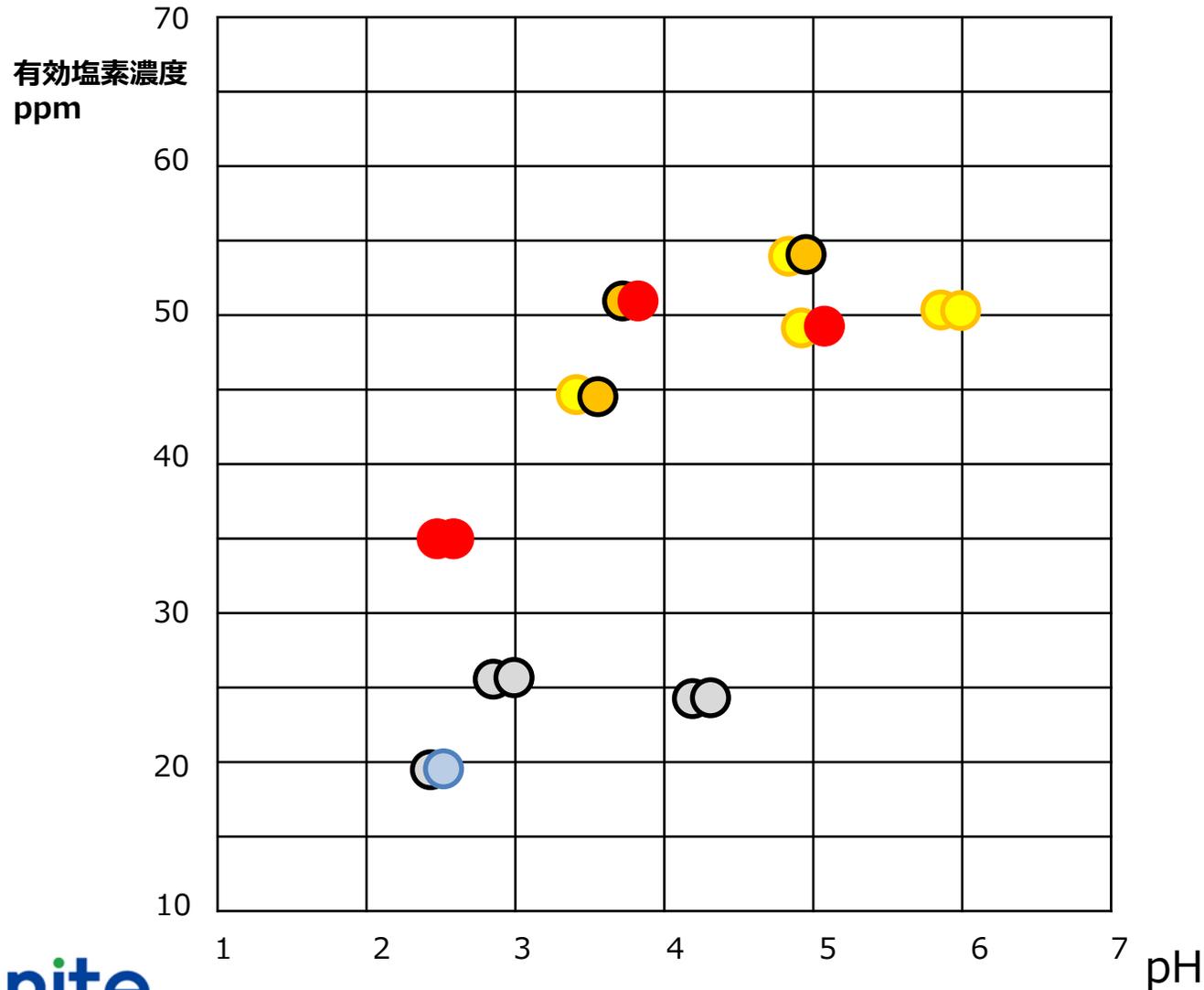
サンプル	有効塩素濃度 実測値(ppm)	pH実測値	感染価減少* (20秒)
ジクロロイソシア ヌル酸Na <sup>1)</sup>	300	6.0	≥5桁、≥5桁
	200	6.0	≥5桁、≥5桁
	100	6.0	<3桁、<3桁

**反応条件**  
 ・ウイルス液：5%FBS  
 ・反応液比率：1:9

\* 2例の結果

# 国立感染症研究所における検証試験の結果のまとめ

## 次亜塩素酸水（電解型）



### 反応時間20秒

試験条件	国立感染症研究所
ウイルス液中FBS濃度	5%
ウイルス液：物資液 反応液比率	1:19
ウイルスカ価測定法	TCID50法



# 北里大学の結果（まとめ）

（第4回委員会資料より抜粋）

次亜塩素酸水の区分	次亜塩素酸水のpH, ACC	1 min	5 min
微酸性電解水 (HCl)	5.0, 50	×	×
	6.0, 50	×	×
微酸性電解水 (HCl + NaCl)	5.0, 50	×	×
	6.0, 50	×	×

○, 約10,000個のウイルスがほぼ完全に消毒され、ウイルス増殖を認めない

×, ウイルスの増殖により細胞が死滅した

ウイルスの増殖は、qRT-PCRによって確認した。

試験品は、試験直前にACCを測定し、メーカー測定値と齟齬が無いことを確認して、試験を実施した。

全てのウェルでCPEが確認され、それら全てのウェルのRNA titerの上昇が上限値に達した。

なお、コントロールの70%エタノール処理群は、全てのウェルで細胞生存、PCR (-) であり、消毒効果は有効であった。

## 次亜塩素酸水（電解型）

サンプル	有効塩素濃度 実測値(ppm)	pH実測値	感染価減少 (20秒、1分、5分)
強酸性電解水	56/56	2.53/2.83	<b>4桁以上</b>
微酸性電解水	54.5/56	5.16/5.23	<b>4桁以上</b>
微酸性電解水	32/32	5.3/5.3	<b>4桁以上</b>

### 反応条件

- ・ウイルス液：1%FBS
- ・反応液比率：1:19

## 次亜塩素酸水（非電解型）

サンプル	有効塩素濃度 実測値(ppm)	pH実測値	感染価減少 (20秒、1分、5分)
サンプルA	200 <sup>2)</sup>	6.0	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	100 <sup>2)</sup>	6.0	<b>4桁以上</b>
	53	6.0	<b>4桁以上</b>
サンプルB	215	6.2	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	100	6.1	<b>4桁以上</b>
	52	6.1	<b>4桁以上</b>
サンプルC	200 <sup>2)</sup>	5.3	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	100 <sup>2)</sup>	5.2	<b>4桁以上</b>
	52	5.2	<b>4桁以上</b>
サンプルD	156/158	5.9/6.3	<b>4桁以上</b>
	98/98	5.9/6.1	<b>4桁以上</b>
	50/51	5.9/5.9	<b>4桁以上</b>
ジクロロイソシア ヌル酸Na <sup>1)</sup>	300	6.0	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	200	6.0	<b>4桁以上<sup>3)</sup></b>
	100	6.0	<b>4桁以上</b>
	50	6.0	<b>4桁以上</b>

- 1) 粉末を溶解し、当該有効塩素濃度になるように希釈して調製
- 2) 原液の実測値をもとに試験直前に当該濃度になるように希釈して調製  
(希釈液の実測値は測定していない)
- 3) 軽度の細胞傷害を観察

## 鳥取大学の結果（まとめ）

## 次亜塩素酸水（非電解型）

サンプル	有効塩素濃度 実測値(ppm)	pH実測値	陰性対照群に対する感染価 減少値差 (log10) (20秒/1分)
サンプルA	200	6.0	3桁以上/3桁以上
	100	6.0	1桁以上/3桁以上

## 反応条件

- ・ウイルス液：5%FBS
- ・反応液比率：1:19

【参考】ウイルス液と次亜塩素酸水の反応液比率がウイルス不活化効果に及ぼす影響  
(ウイルス液のFBS濃度 5%)

有効塩素濃度 実測値 (ppm)	陰性対照群に対する感染価減少値差 (log10)			
	反応時間 20秒		反応時間 1分	
	1:19	1:9	1:19	1:9
200	3桁以上	4桁以上	3桁以上	3桁以上
100	1桁以上	2桁以上	3桁以上	1桁未満

# QTECの結果（まとめ）

## 次亜塩素酸水（非電解型）

サンプル	有効塩素濃度 実測値(ppm)	pH実測値	陰性対照群に対する感染価 減少値差 (log10) (20秒、1分)
サンプルA	84	6.0	4桁以上
	51	6.0	4桁以上
	27	6.0	2桁以上
70%(w/v) エタノール*	—	—	4桁以上

\* 陽性対照

### 反応条件

- ・ウイルス液：1%FBS
- ・反応液比率：1:19

【参考】ウイルス液中のFBS濃度及び反応液比率がウイルス不活化効果に及ぼす影響  
(反応時間20秒)

有効塩素濃度 実測値(ppm)	陰性対照群に対する感染価減少値差 (log10)			
	1%FBS 1:19	1%FBS 1:9	5%FBS* 1:19	5%FBS* 1:9
84	4桁以上	4桁以上	4桁以上	2桁以上
51	4桁以上	1桁以上	4桁以上	1桁未満
27	2桁以上	1桁未満	2桁以上	1桁未満

\*ウイルス液（1%FBS/DMEM）にFBSを終濃度5%となるように添加して試験に供した

# 追加検証試験

# 各機関の検証試験の概要と試験条件の比較

	国立感染症研究所	北里大学	帯広畜産大学	鳥取大学	QTEC
ウイルス株	JPN/TY/WK-521	JPN/TY/WK-521 北里分離株	JPN/TY/WK-521	JPN/TY/WK-521	JPN/TY/WK-521
宿主細胞	VeroE6/TMPRSS2	VeroE6/TMPRSS2	VeroE6/TMPRSS2	VeroE6/TMPRSS2	VeroE6/TMPRSS2
ウイルス培養時の培地	DMEM	DMEM	DMEM	DMEM	DMEM
ウイルス力価検出法	TCID50法	CPE観察及び qRT-PCR法	TCID50法	TCID50法	TCID50法
ウイルス液中FBS*濃度	5%	2%	1%	5%	1%
ウイルス液：サンプル液 反応液比率	1:1 (界面活性剤) 1:9 (ジブチルシアリル酸Na) 1:19 (次亜塩素酸水)	1:9	1:9**, 1:19	1:9**, 1:19	1:9**, 1:19
初発ウイルス濃度	約7 x 10 <sup>6</sup> TCID50/50ul	10 <sup>4</sup> /ウェル以上	約7 log10 TCID50/ml	約7 log10 TCID50/ml	>7 log10 TCID50/ml
試験を実施した物資 (第4級アンモニウム塩は 界面活性剤に含まれる)	界面活性剤 次亜塩素酸水 (電気分解法 で生成したもの) 次亜塩素酸水 (電気分解法 以外で生成したもの)	界面活性剤 過炭酸ナトリウム 次亜塩素酸水 (電気分 解法で生成したもの)	次亜塩素酸水 (電気分解 法で生成したもの) 次亜塩素酸水 (電気分解 法以外で生成したもの)	次亜塩素酸水 (電気分解 法以外で生成したもの)	次亜塩素酸水 (電気分解 法以外で生成したもの)

\*FBS: ウシ胎仔血清  
\*\*追加検証時の条件

各機関の試験条件を比較した場合、ウイルス液中FBS濃度、ウイルス液とサンプル液の反応液比率が異なることが判明したことから、この2点に焦点を当てた追加検証試験を実施した。

# 帯広畜産大学で実施した 追加検証試験

# 帯広畜産大学における抗ウイルス評価追加検証試験アウトライン

## • 宿主細胞培養およびウイルス培養

- ウイルス培養時のFBS濃度1%

(条件設定試験においては抗ウイルス反応前に終濃度 5 / 25%になるように

添加して実施)

## • 供試サンプルの調製

- 次亜塩素酸水は有効塩素濃度を数段階に設定

## • 抗ウイルス反応

- 次亜塩素酸水 ; ウイルス液:試験水=1:9 or 1:19

- 室温、20秒、1、5分

## • 供試サンプルの中和処理

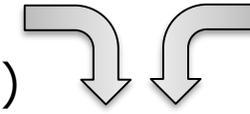
- 次亜塩素酸水 : 0.01Mチオ硫酸ナトリウム含有培地にて

10倍希釈( $10^{-1}$ ) →以下希釈系列作成

次亜塩素酸水(1:19)の場合

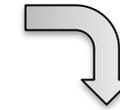
ウイルス液 : 1  
( $\sim 10^7$  TCID<sub>50</sub>/ml)

供試サンプル : 19



抗ウイルス反応 :  
20 sec, 1, 5min (室温)

中和剤含培地 : 180



中和処理 :  
9 倍容のNa<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 含む  
培地 を添加



10倍希釈系列調製し、  
抗ウイルス価判定へ

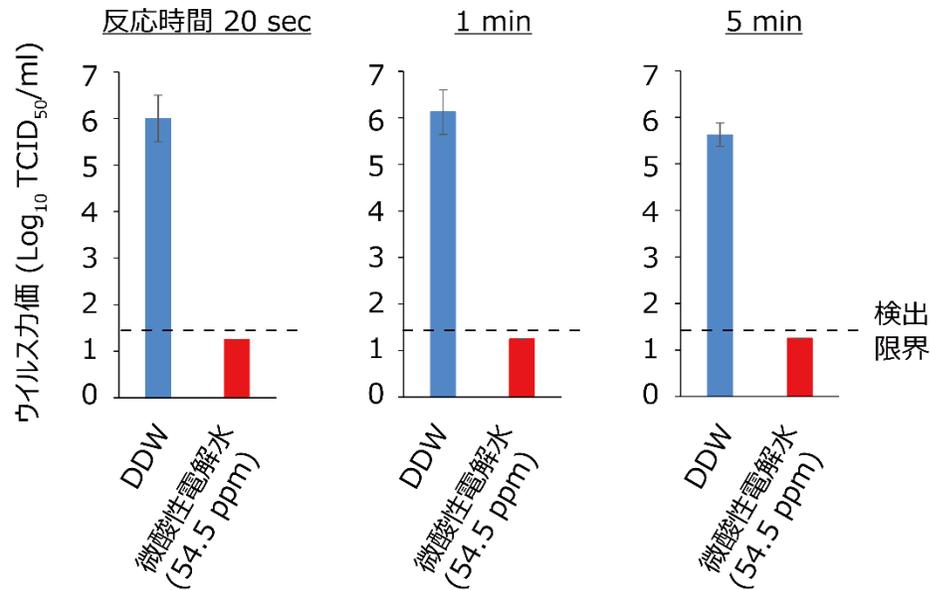
# 次亜塩素酸水（微酸性電解水） （電解質：塩酸、50ppm, pH5）

## ウイルス液（1%FBS）：試験水 = 1:19 vs. 1:9

### 1回目(実測値：ACC 54.5 ppm, pH 5.16)

（2回目もほぼ同様の結果）

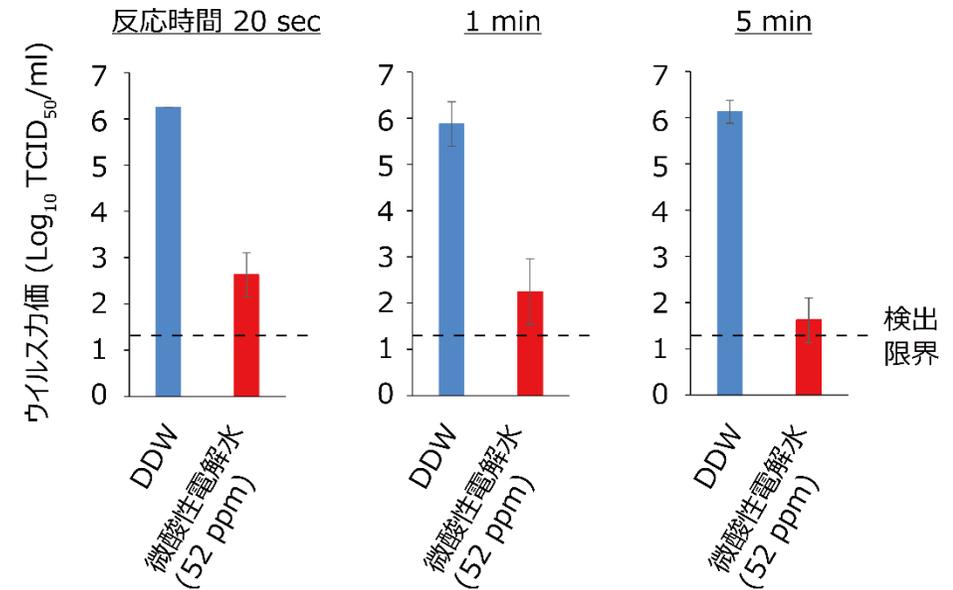
ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:19



### 1回目(実測値：ACC 52 ppm, pH 5.4)

（2回目もほぼ同様の結果）

ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:9



1%FBSでも1:9の条件ではウイルス不活化効果が弱いことが確認できる。

ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水（陰性対照）

# 次亜塩素酸水（微酸性電解水）

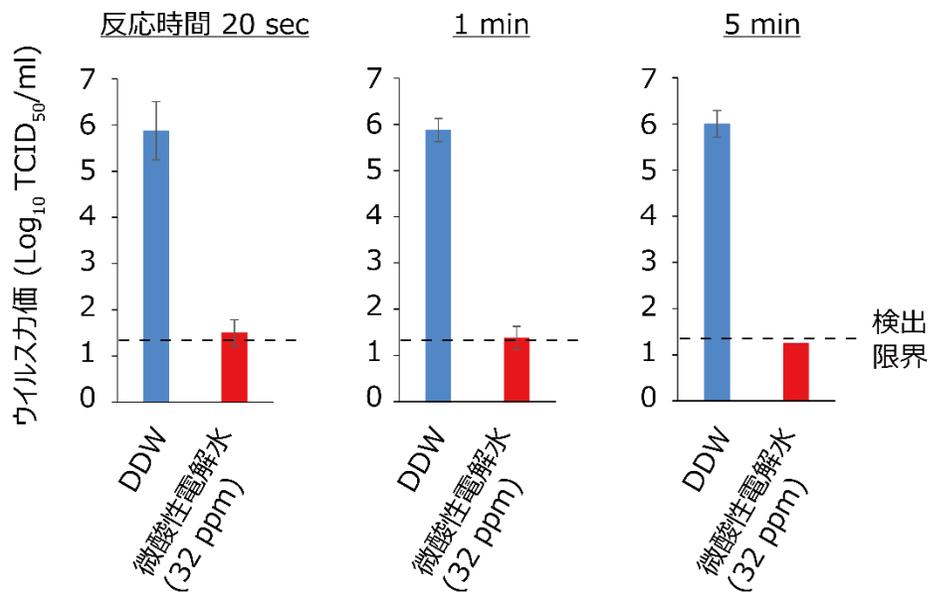
（電解質：塩酸、30ppm, pH5）

## ウイルス液（1%FBS）：試験水 = 1:19 vs. 1:9

### 1回目(実測値：ACC 32 ppm, pH 5.3)

（2回目もほぼ同様の結果）

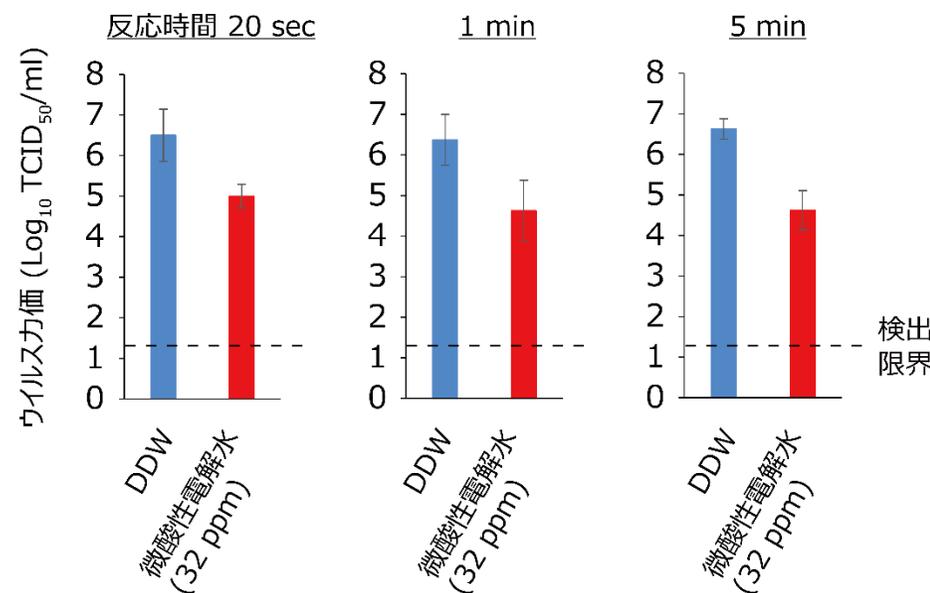
ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:19



### 1回目(実測値：ACC 32 ppm, pH 5.0)

（2回目もほぼ同様の結果）

ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:9



1%FBSでも1:9の条件では有効塩素濃度が低いとウイルス不活化効果がより弱いことが確認できる。

ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水（陰性対照）

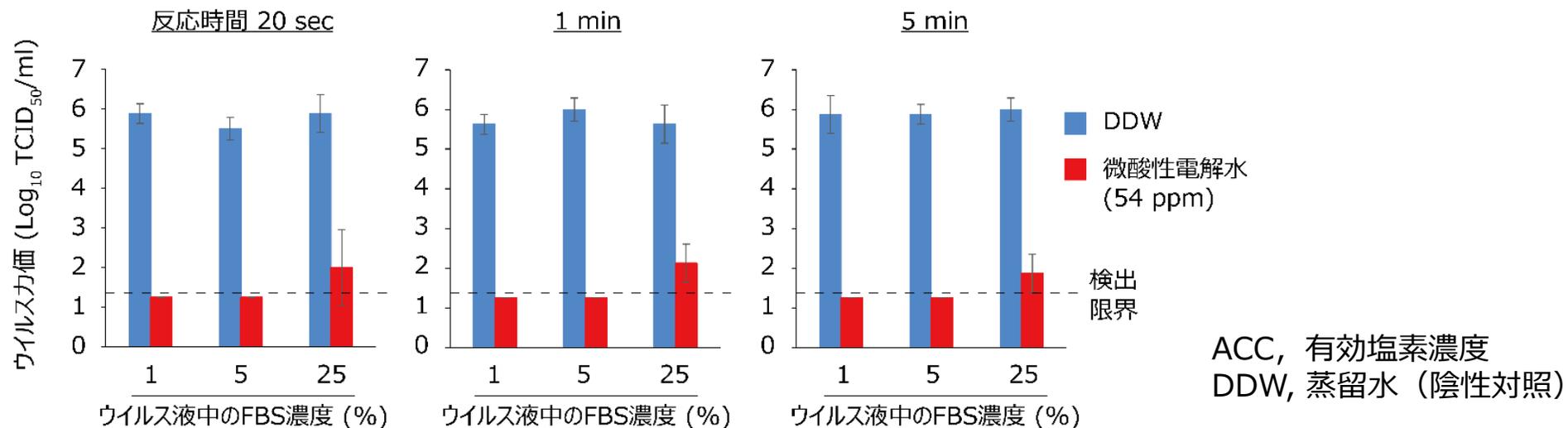
# 次亜塩素酸水（微酸性電解水）

（電解質：塩酸, 50ppm, pH5）

**ウイルス液（FBS1%, 5%, 25%）：試験水 = 1:19**

**1回目(実測値：ACC 57 ppm, pH 5.3)**

（2回目もほぼ同様の結果）



50ppmの微酸性電解水において、1:19の条件では、1, 5%FBSでウイルス不活化効果に差は無いが、25%FBSでは反応時間が5分でも検出限界以下にはならない。

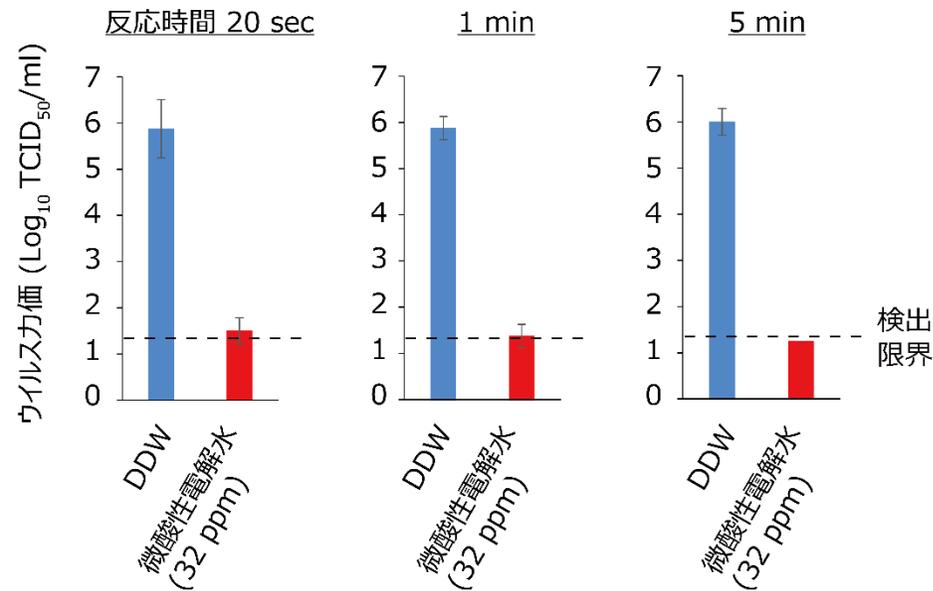
# 次亜塩素酸水（微酸性電解水） （電解質：塩酸、30ppm, pH5）

## ウイルス液（FBS 1% vs 5%）：試験水 = 1:19

### 1回目(実測値：ACC 32 ppm, pH 5.3)

（2回目もほぼ同様の結果）

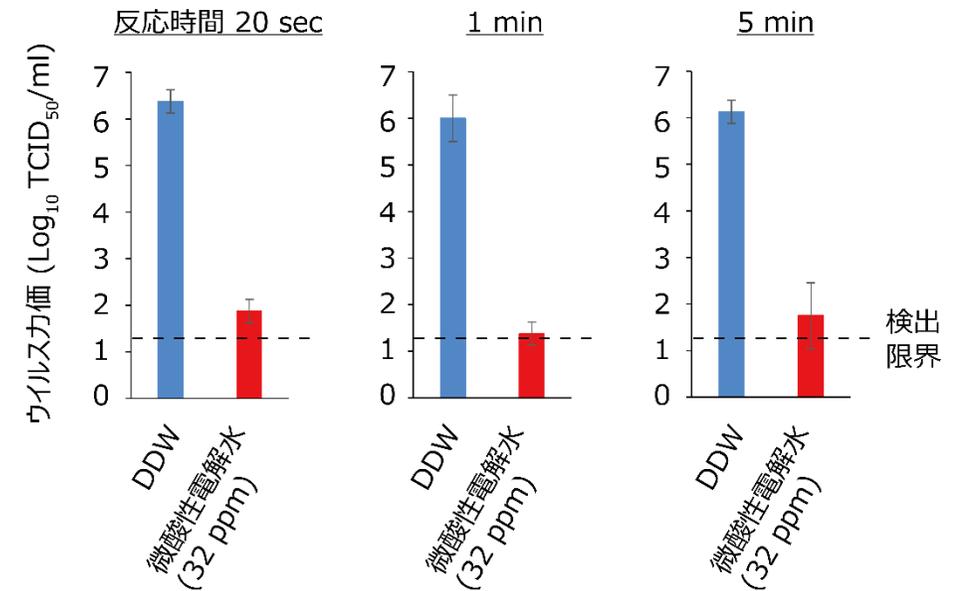
ウイルス液(1%FBS):試験水 = 1:19



### 1回目(実測値：ACC 32 ppm, pH 5.0)

（2回目もほぼ同様の結果）

ウイルス液(5%FBS):試験水 = 1:19



30ppmの微酸性電解水において、1:19の条件では、1%FBSと5%FBSの群の間でウイルス不活化効果に大きな差は認められなかった。

ACC, 有効塩素濃度  
DDW, 蒸留水（陰性対照）

# 帯広畜産大学での追加検証のまとめ（微酸性電解水）

1% FBS		有効塩素濃度 (ppm)	
反応時間：20秒		32/32	52/54.5
ウイルス液：試験水	1:9	1桁以上	3桁以上
	1:19	4桁以上	4桁以上

5% FBS		有効塩素濃度 (ppm)	
反応時間：20秒		32/32	57/54
ウイルス液：試験水	1:9	—	—
	1:19	4桁以上	4桁以上

—, 実施せず

- 微酸性電解水 (pH5.0)について、ウイルス液に含まれる夾雑物(有機物) がウイルス不活化効果に影響するかを調べるために追加検証を行った。
- 微酸性電解水32ppmにおいて、ウイルス液：試験水 = 1:9かつ反応時間20秒の条件では夾雑物（有機物）が比較的少ない 1% FBS でも不活効果が低い結果となった。ウイルス液：試験水 = 1:19では、1% FBS, 5% FBSともに高い不活化効果が見られた。有効塩素濃度だけで無く、微酸性電解水の量もウイルス不活化効果に影響があることが示唆された。

# 他機関で実施された試験結果

帯広畜産大学からのプレスリリースに掲載された試験結果  
北海道大学が実施した試験結果（公知資料）

（参考資料）

# 次亜塩素酸水の有効性評価について (事務局案)

# 次亜塩素酸水の結果のまとめ

- 国立感染症研究所での検証試験（反応時間20秒～5分）において、35～54ppm（pH2.4～5.9）の次亜塩素酸水（電解型）に99.9%以上の感染価の減少が見られた。一方、19～26ppm（pH2.4～4.2）のサンプルでは感染価減少は99.9%未満であった。
  - 北里大学での検証試験において、50ppm（pH5.0, 6.0）の次亜塩素酸水（電解型）は「不活化効果なし」であった（反応時間1分及び5分）。
  - 帯広畜産大学での検証試験（反応時間20秒、1分、5分）において、32ppm(pH5.3) 及び56ppm(pH2.5, pH5.2)の次亜塩素酸水（電解型）に99.99%以上の感染価の減少が認められた。
  - 帯広畜産大学の検証試験（反応時間20秒、1分、5分）において、50, 100, 150, 200ppm前後（pH5.2～6.2）の4種の次亜塩素酸水（非電解型）に99.99%以上の感染価の減少が認められた。
  - 鳥取大学の検証試験（反応時間20秒、1分）において、100ppm及び200ppm（pH6.0）の次亜塩素酸水（非電解型）に99.9%以上の感染価の減少が認められた。
  - QTECの検証試験（反応時間20秒、1分）において、51ppm（pH6.0）の次亜塩素酸水（非電解型）に99.99%以上の感染価の減少が認められた。一方、27ppm（pH6.0）の次亜塩素酸水（非電解型）の感染価減少は99.9%未満であった。
- 国立感染症研究所、帯広畜産大学、鳥取大学、QTECにおける検証試験は、50%細胞感染価(TCID50)算出法によりウイルスの感染価を何%以上減少できたかについて数値で記載。
  - 北里大学における検証試験では、約10,000個のウイルスをほぼ完全に不活化(検出限界以下まで)させた場合に「不活化効果あり」として判定。

上記の結果を得た際の  
試験条件は右表のとおり

	国立感染症研究所	北里大学	帯広畜産大学	鳥取大学	QTEC
ウイルス力価検出法	TCID50法	CPE, qRT-PCR法	TCID50法	TCID50法	TCID50法
ウイルス液中FBS濃度	5%	2%	1%	5%	1%
ウイルス液：サンプル液 反応液比率	1:19	1:9	1:19	1:19	1:19

# ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムの結果のまとめ

- 国立感染症研究所での検証試験（反応液比率 1:9）において、200ppm以上のジクロロイソシアヌル酸ナトリウムに99.999%以上の感染価の減少が見られたが、100ppmでは反応時間20秒を除き、99.9%以上の感染価減少であった。
- 帯広畜産大学での検証試験（反応液比率 1:19）において、50ppm以上のジクロロイソシアヌル酸ナトリウムに99.99%以上の感染価の減少が認められた。

委員会ではジクロロイソシアヌル酸ナトリウムを次亜塩素酸水（非電解型）に属する物資として扱っているが、本化合物の水溶液は、解離平衡反応によって生じる遊離塩素が有効性に関与する持続型の次亜塩素酸水と考えられ、遊離型の次亜塩素酸水と性質がやや異なることから、非電解型の次亜塩素酸水とは分けて記載した。

- 各機関の試験条件は下表のとおり

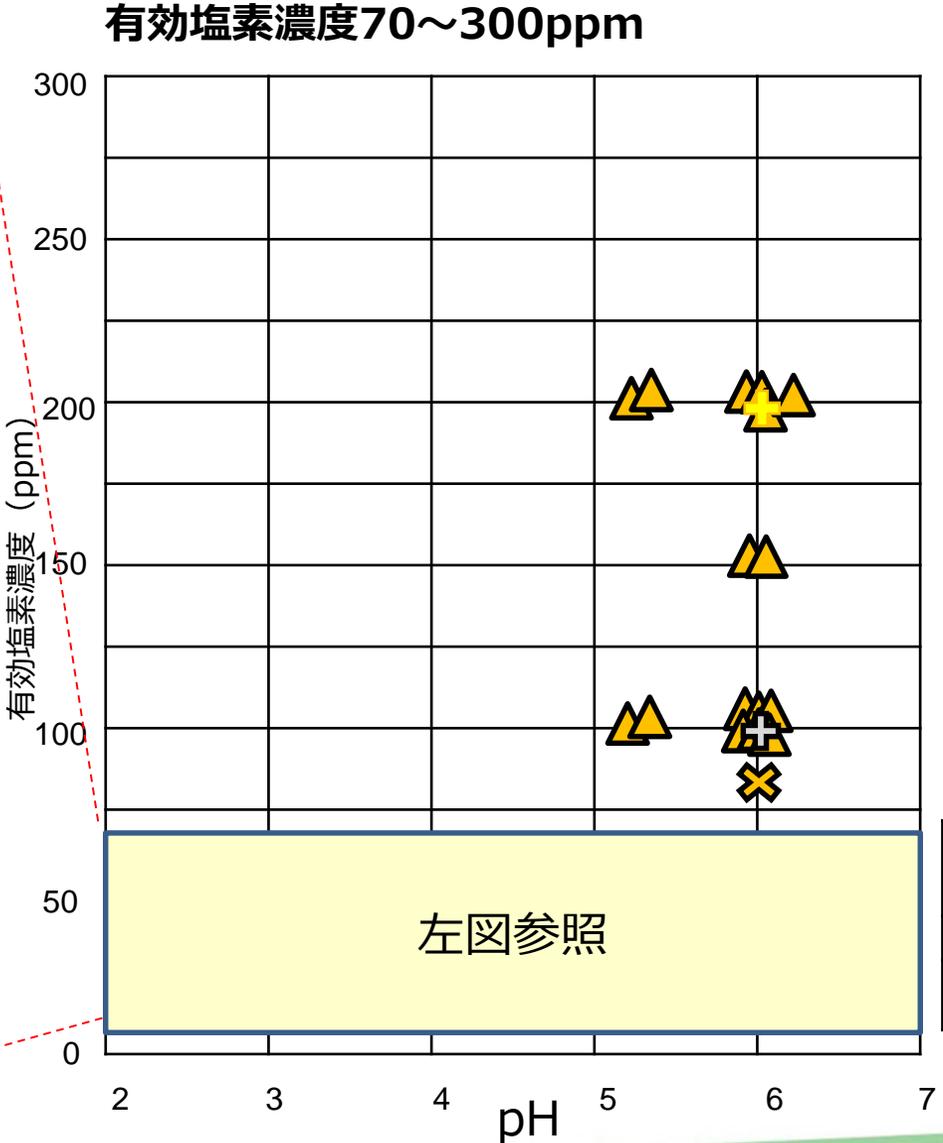
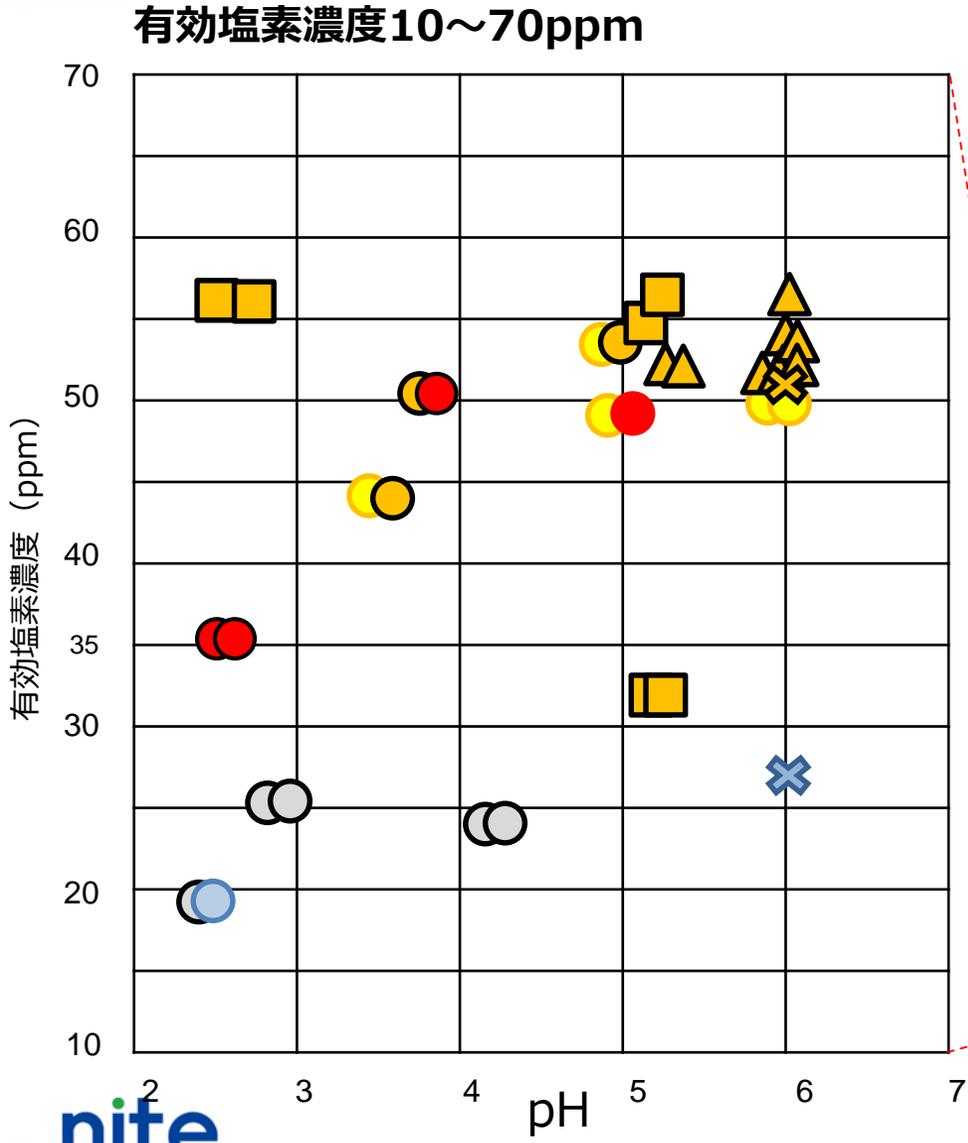
	国立感染症研究所	帯広畜産大学
ウイルス価検出法	TCID50法	TCID50法
ウイルス液中FBS濃度	5%	1%
ウイルス液：サンプル液 反応液比率	1:9	1:19

# 試験に供した次亜塩素酸水の結果のまとめ

(反応時間 20秒)

ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムを除く

国立感染症研究所データ 電解型○



北里大学データ(1、5分) 電解型☆

- ☆ 不活化効果あり
- ☆ 不活化効果なし

帯広畜産大学データ  
電解型□、非電解型△

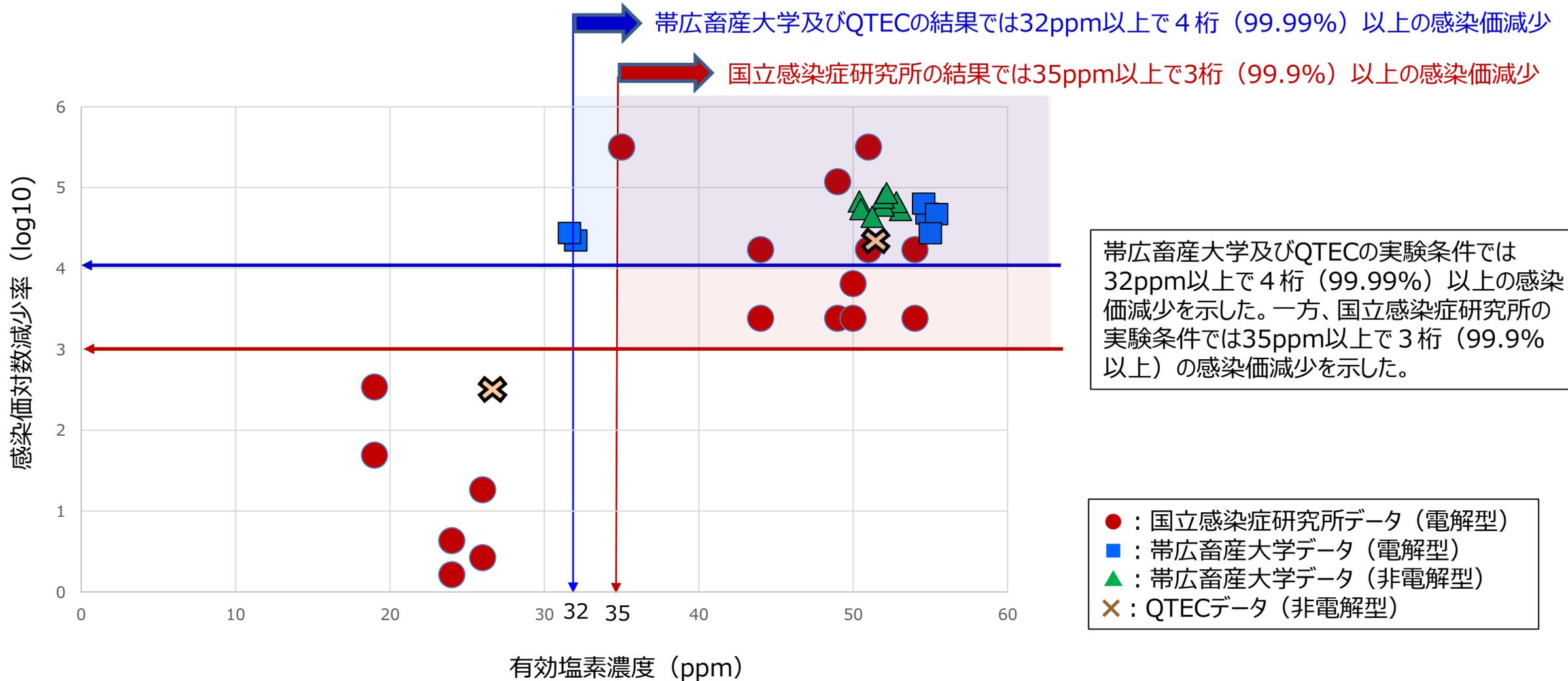
鳥取大学 (20秒、1分) 非電解型 +  
QTECデータ (20秒、1分) 非電解型 ×

- △ 4以上
- △ 3以上
- △ 2以上
- △ 2未満

試験条件	国立感染症研究所	北里大学	帯広畜産大学	鳥取大学	QTEC
FBS	5%	2%	1%	5%	1%
反応液比率	1:19	1:9	1:19	1:19	1:19

左図参照

# 試験に供した次亜塩素酸水の結果のまとめ (60ppm以下のサンプル、反応時間 20秒)

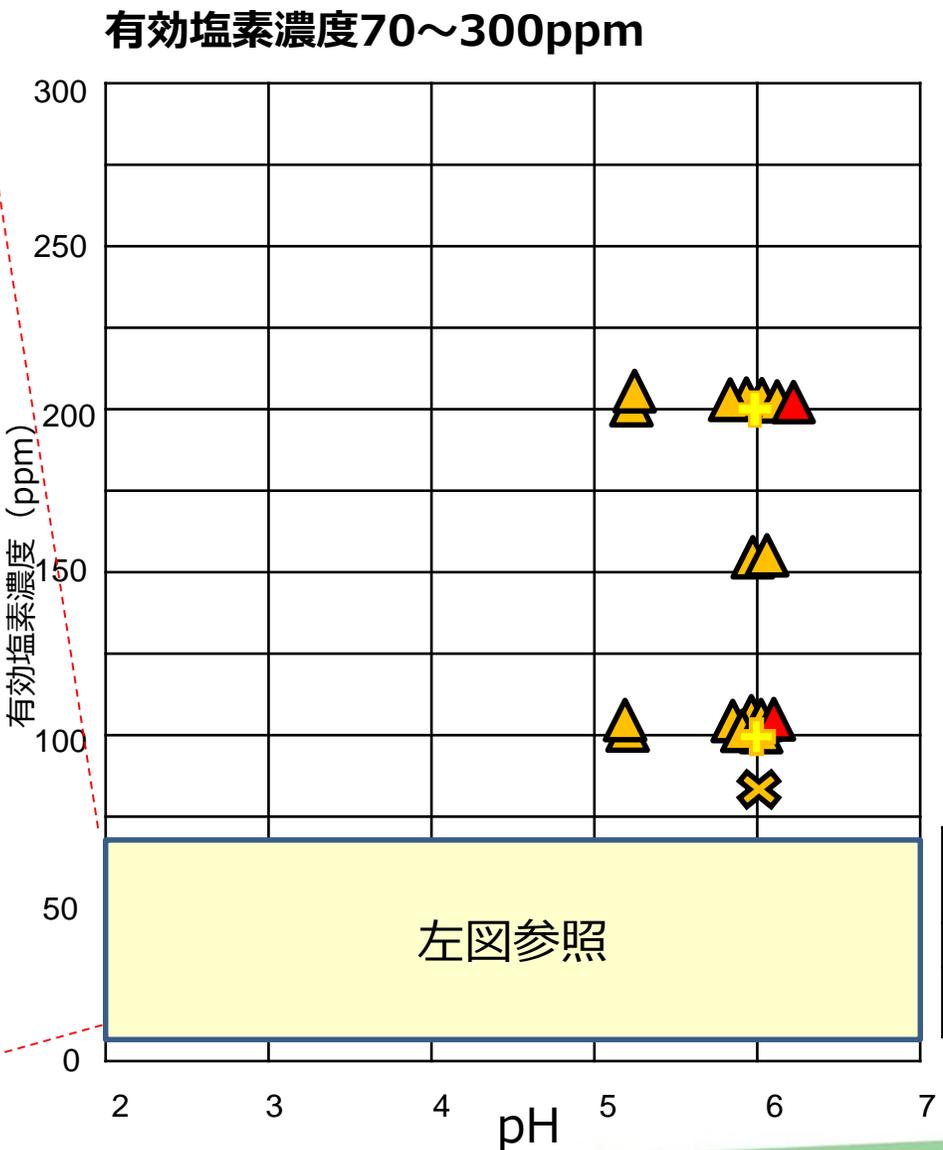
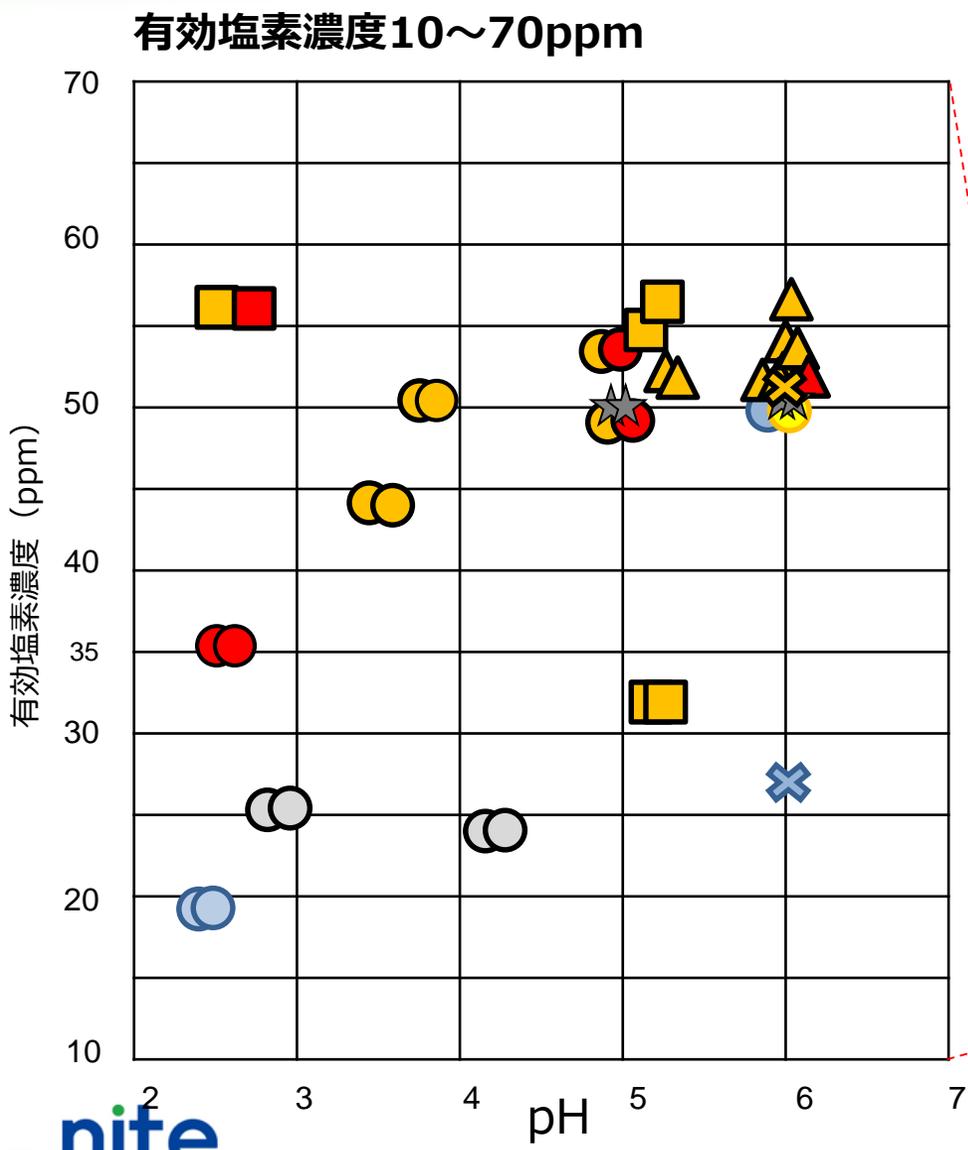


# 試験に供した次亜塩素酸水の結果のまとめ

(反応時間 1分)

ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムを除く

国立感染症研究所データ 電解型○



- 5桁以上
- 4桁以上
- 3桁以上
- 2桁以上
- 2桁未満

北里大学データ(1、5分) 電解型☆

- ★ 不活化効果あり
- ☆ 不活化効果なし

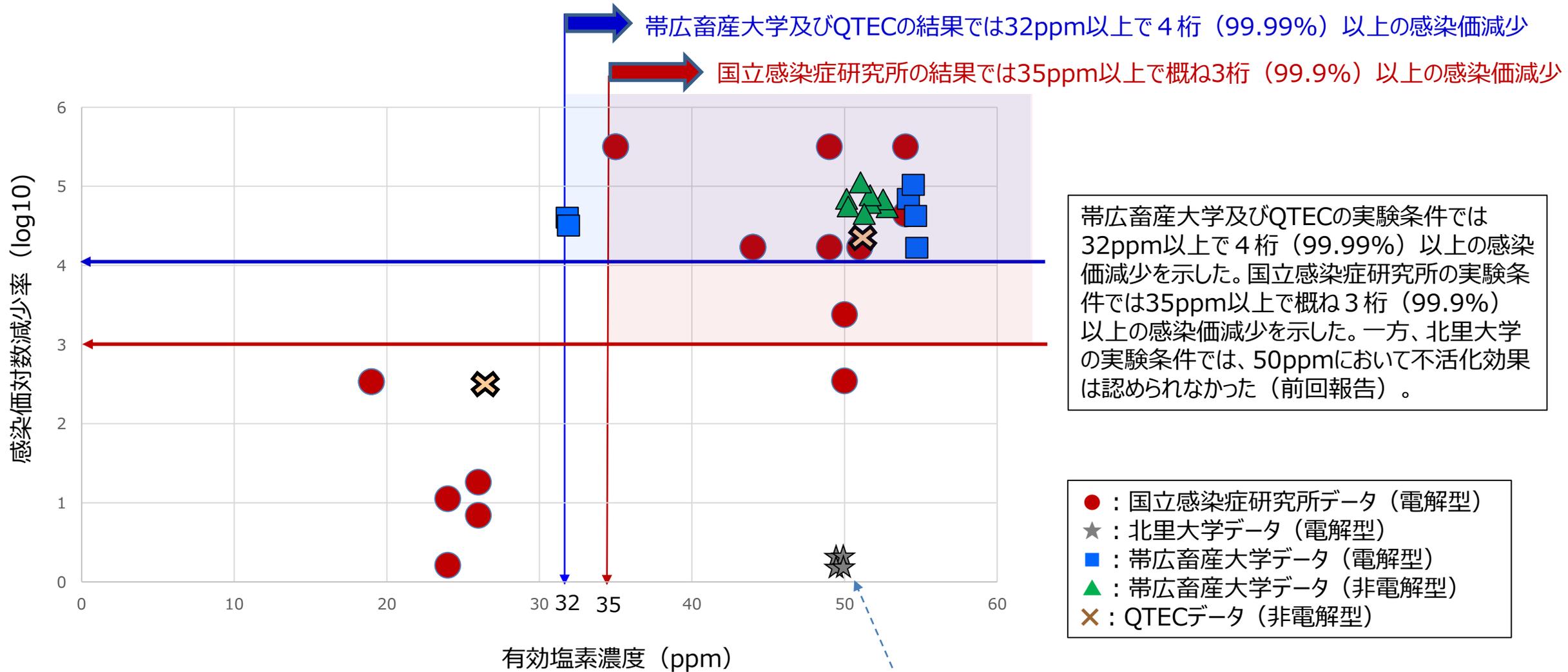
帯広畜産大学データ  
電解型□、非電解型△

鳥取大学 (20秒、1分) 非電解型 +  
QTECデータ (20秒、1分) 非電解型 ×

- ▲ + ✖ 4桁以上
- ▲ + ✖ 3桁以上
- ▲ + ✖ 2桁以上
- ▲ + ✖ 2桁未満

試験条件	国立感染症研究所	北里大学	帯広畜産大学	鳥取大学	QTEC
FBS	5%	2%	1%	5%	1%
反応液比率	1:19	1:9	1:19	1:19	1:19

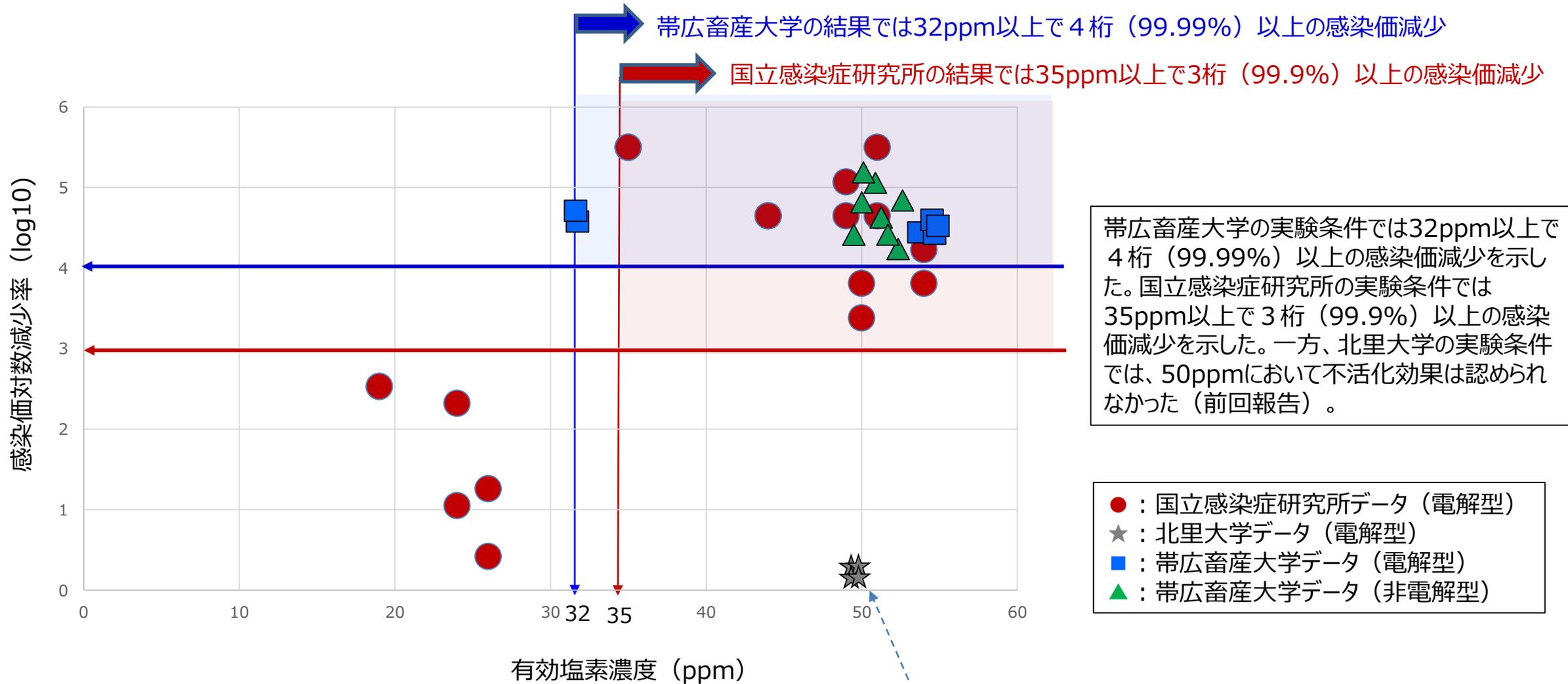
# 試験に供した次亜塩素酸水の結果のまとめ (60ppm以下のサンプル、反応時間 1分)



北里大学のデータは「不活化効果なし」  
(定性的データにつき、感染価対数減少値では表されない)



# 試験に供した次亜塩素酸水の結果のまとめ (60ppm以下のサンプル、反応時間 5分)



北里大学のデータは「不活化効果なし」  
(定性的データにつき、感染価対数減少値では表されない)

# 次亜塩素酸水の有効性評価（事務局案）

## （検証試験の結果に対する委員会判断（案））

- 次亜塩素酸水の新型コロナウイルスに対する効果について、これまでの委員会判断を踏襲し、国立感染症研究所、帯広畜産大学、QTECの検証試験で99.99%以上の感染価減少率を示した物資及び北里大学で不活化効果ありとされた物資を有効と判断する。一方、いずれかの機関において上記の基準を満たす物資についても有効性の判断を行うべき物資と考えられるため、個々の機関の検証結果を精査した上で委員会として判断を行う。
- また、第3回委員会で確認された事項、「有効塩素濃度と溶液のpHが同等であれば消毒効果は同等と考えられることから、特定の製法で生成された次亜塩素酸水の検証結果に基づいて、他の製法で生成されたものの効果も同等とみなす。」に基づき、次亜塩素酸水（電解型）と次亜塩素酸水（非電解型）を同一の判断基準で扱うこととする。
- なお、委員会ではジクロロイソシアヌル酸ナトリウムを次亜塩素酸水（非電解型）に属する物資として扱っているが、本化合物の水溶液は、解離平衡反応によって生じる遊離塩素が有効性に関与する持続型の次亜塩素酸水と考えられ、遊離型の次亜塩素酸水と性質がやや異なることから、有効性についてその他の次亜塩素酸水とは分けて判断することとする。
- 上記の有効性評価の方針を前提として、次ページ以降に委員会判断（案）を記載した。

# 次亜塩素酸水の有効性評価（事務局案）

## （検証試験の結果に対する委員会判断（案））

- 帯広畜産大学及びQTECの検証試験において、次亜塩素酸水は32ppm以上で99.99%以上の感染価減少を認めたことから、委員会として有効性に期待が持てる物資として各機関における検証試験結果を以下のとおり精査した。
  - 帯広畜産大学及びQTECの検証試験において、次亜塩素酸水は32ppm以上で99.99%以上の感染価減少率を示した。国立感染症研究所及び鳥取大学の検証試験において、次亜塩素酸水は35ppm以上で概ね99.9%以上の感染価減少率を示したが、26ppm以下では99.9%未満であった。QTECの検証試験において51ppm以上の次亜塩素酸水は99.99%以上の感染価減少を示したが、27ppmでは感染価減少率は99.9%未満であった。北里大学の検証試験において、50ppmの次亜塩素酸水は「不活化効果なし」と判定された。
  - 北里大学の検証試験で50ppmの次亜塩素酸水が「不活化効果なし」と判定されたことについて、1:9の反応液比率を用いており、細胞変性及びqRT-PCR法での検出により約10,000個のウイルスをほぼ0にするレベルの効果がなければ不活化効果が見られないことから、供試したサンプルでは十分な不活化効果が得られなかったと推察する。
  - 帯広畜産大学（50ppm、30ppm）、鳥取大学（100ppm）、及びQTEC（51ppm、27ppm）における検証試験において、反応液比率を1:19から1:9に変更することで次亜塩素酸水の抗ウイルス活性は減弱した。ウイルスに対する次亜塩素酸水の量が十分でない場合、高い感染価減少を得るには、より高い濃度が必要となると推察する。

# 次亜塩素酸水の有効性評価（事務局案）

## （検証試験の結果に対する委員会判断（案））

- 鳥取大学における試験条件（ウイルス液中のFBS濃度 5%）において、200ppmの次亜塩素酸水では1:9の反応液比率でも活性が維持されていた。また、QTECにおける試験条件（ウイルス液中のFBS濃度 1%）においても、84ppmの次亜塩素酸水では1:9の反応液比率でも活性が維持されていた。より厳しい試験条件においては有効塩素濃度が高いサンプルの方がウイルス不活化効果が高い可能性が示唆された。
- 国立感染症研究所、帯広畜産大学、QTECの検証試験結果から、27ppm以下の次亜塩素酸水の感染価減少は99.9%未満であり、ウイルス不活化効果は弱いと考えられた。一方、帯広畜産大学の検証試験において次亜塩素酸水は32ppm以上で99.99%以上の感染価減少率を示した一方で、国立感染症研究所の検証試験では35ppm以上の次亜塩素酸水の感染価減少は99.9%以上であり、両機関で効果に差を認めた。帯広畜産大学と国立感染症研究所ではウイルス液の組成やウイルス液中の感染力価等の実験条件が異なっており、帯広畜産大学の実験条件の方がより次亜塩素酸水の効果が得られやすい条件であったことが推察された。この結果は、鳥取大学やQTECの検証試験結果でも概ね支持される。
- 次亜塩素酸水の有効成分である次亜塩素酸は蛋白質などの有機物と結合し、効果が減弱することが知られている。今回の追加検証試験の結果から両機関で実施した試験結果の差の原因は究明されていないが、反応液中の有機物の影響により効果に差が生じた可能性がある。次亜塩素酸水の特性を考慮すると、実験条件の差によって効力に差が生じうると考えられる。同様の現象は、次亜塩素酸水の除菌活性においても報告されている<sup>1)</sup>。

<sup>1)</sup> Scientific Reports (2019) 9:19955、Analytical Sciences (2000) 16: 365-369, Poultry Science (2015) 94:2838-2848

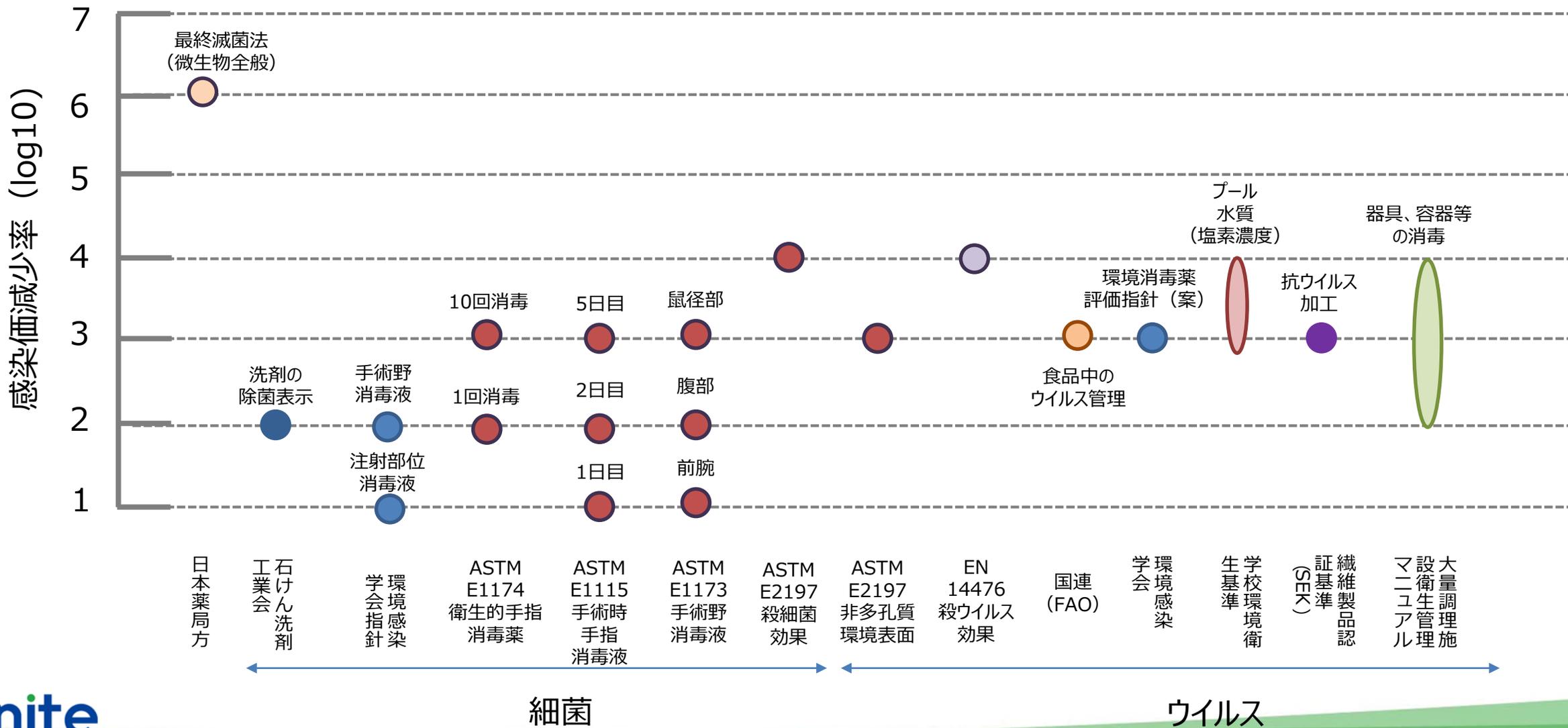
# 次亜塩素酸水の有効性評価（事務局案）

## （検証試験の結果に対する委員会判断（案））

- 今回実施した検証試験において、次亜塩素酸水についてpHと感染価減少の間に強い相関は認められなかった。
  - 有効性の判断を99.9%に置くことについて、一般的にウイルス不活化効果に関しては99.9%や99.99%等目的や用途別に応じて様々な基準設定がされており、この点も踏まえれば国立感染症研究所や鳥取大学の検証試験における99.9%以上の感染価減少も有効性判断において十分に考慮に入れる余地があると考えられる。（次ページ参考資料を参照）。
- 

- 以上の精査を踏まえ、委員会として次亜塩素酸水の有効性判断として、帯広畜産大学及びQTECの検証試験で99.99%以上のウイルス不活化効果を確認した32ppm以上のうち、国立感染症研究所及び鳥取大学の検証試験で99.9%以上の活性を確認している「35ppm以上」を有効と判断してはどうか。
- 各機関で実施した試験条件によってウイルス不活化効果に差が認められたこと、及びウイルス液に対する次亜塩素酸水の比率によっては効果が減弱するなど、次亜塩素酸水の新型コロナウイルスに対する効果は条件によって影響を受けやすいと考えられる。次亜塩素酸水の特性を十分理解した上で適切に使用することが重要である。

# 【参考】各種機関における感染価減少率の基準



## 【参考】引用情報のURL

基準等	URL
最終滅菌法による無菌医薬品の製造に関する指針（日本薬局方）	<a href="https://www.pmda.go.jp/files/000157068.pdf#search=%27%E6%97%A5%E6%9C%AC%E8%96%AC%E5%B1%80%E6%96%B9+%E6%9C%80%E7%B5%82%E6%BB%85%E8%8F%8C%E6%B3%95%27">https://www.pmda.go.jp/files/000157068.pdf#search=%27%E6%97%A5%E6%9C%AC%E8%96%AC%E5%B1%80%E6%96%B9+%E6%9C%80%E7%B5%82%E6%BB%85%E8%8F%8C%E6%B3%95%27</a>
学校環境衛生管理マニュアル（平成30年度改訂版）	<a href="https://www.mext.go.jp/component/a_menu/education/detail/__icsFiles/afieldfile/2018/07/31/1292465_01.pdf#search=%27%E9%A3%9F%E5%93%81%E8%A1%9B%E7%94%9F%E6%A4%9C%E6%9F%BB%E6%8C%87%E9%87%9D+%E6%84%9F%E6%9F%93%E4%BE%A1%E6%B8%9B%E5%B0%91+%E5%9F%BA%E6%BA%96%27">https://www.mext.go.jp/component/a_menu/education/detail/__icsFiles/afieldfile/2018/07/31/1292465_01.pdf#search=%27%E9%A3%9F%E5%93%81%E8%A1%9B%E7%94%9F%E6%A4%9C%E6%9F%BB%E6%8C%87%E9%87%9D+%E6%84%9F%E6%9F%93%E4%BE%A1%E6%B8%9B%E5%B0%91+%E5%9F%BA%E6%BA%96%27</a>
大量調理施設衛生管理マニュアル（平成28年7月1日）	<a href="http://www.alcohol.jp/download/0000130493.pdf#search=%27%E9%A3%9F%E5%93%81%E8%A1%9B%E7%94%9F%E6%A4%9C%E6%9F%BB%E6%8C%87%E9%87%9D+%E6%84%9F%E6%9F%93%E4%BE%A1%E6%B8%9B%E5%B0%91+%E5%9F%BA%E6%BA%96%27">http://www.alcohol.jp/download/0000130493.pdf#search=%27%E9%A3%9F%E5%93%81%E8%A1%9B%E7%94%9F%E6%A4%9C%E6%9F%BB%E6%8C%87%E9%87%9D+%E6%84%9F%E6%9F%93%E4%BE%A1%E6%B8%9B%E5%B0%91+%E5%9F%BA%E6%BA%96%27</a>
環境表面のウイルス除染ガイダンス（日本リスク学会）	<a href="https://www.sra-japan.jp/2019-ncov/fbox.php?eid=10651&amp;s=o">https://www.sra-japan.jp/2019-ncov/fbox.php?eid=10651&amp;s=o</a>
環境消毒薬の評価指針（案）2019（日本環境感染学会）※別表にASTM等の情報あり	<a href="http://www.kankyokansen.org/uploads/uploads/files/jsipc/kankyosyodokuyaku.pdf">http://www.kankyokansen.org/uploads/uploads/files/jsipc/kankyosyodokuyaku.pdf</a>
生体消毒薬有効性評価指針（日本環境感染学会）※ASTMの情報もあり	<a href="http://www.kankyokansen.org/modules/publication/index.php?content_id=15">http://www.kankyokansen.org/modules/publication/index.php?content_id=15</a>
SEKマーク繊維製品認証基準（2020年4月改訂版）	<a href="http://www.sengikyo.or.jp/sek/?eid=00004">http://www.sengikyo.or.jp/sek/?eid=00004</a>
除菌表示基準（日本石けん洗剤工業会）	<a href="https://jsda.org/w/03_shiki/a_yougo_2.html">https://jsda.org/w/03_shiki/a_yougo_2.html</a>
ウェットワイパー類の除菌自主基準（日本衛生材料工業連合会）	<a href="http://www.jhpia.or.jp/standard/wet_wiper/wet_wiper5.html">http://www.jhpia.or.jp/standard/wet_wiper/wet_wiper5.html</a>
食品中のウイルス管理への「食品衛生の一般原則」の適用に関するガイドライン（FAO）	<a href="https://www.mhlw.go.jp/topics/identshi/codex/06/dl/cac_gl79-2012.pdf#search=%27%E9%A3%9F%E5%93%81+%E6%B4%97%E6%B5%84+%E6%84%9F%E6%9F%93%E4%BE%A1+%E5%9F%BA%E6%BA%96%27">https://www.mhlw.go.jp/topics/identshi/codex/06/dl/cac_gl79-2012.pdf#search=%27%E9%A3%9F%E5%93%81+%E6%B4%97%E6%B5%84+%E6%84%9F%E6%9F%93%E4%BE%A1+%E5%9F%BA%E6%BA%96%27</a>

# ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムの有効性評価 (事務局案)

## (検証試験の結果に対する委員会判断 (案) )

- 帯広畜産大学での検証試験（反応液比率1:19）において、50ppm以上のジクロロイソシアヌル酸ナトリウムに99.99%以上の感染価の減少が認められた。一方、国立感染症研究所での検証試験（反応液比率1:9）において、200ppm以上のジクロロイソシアヌル酸ナトリウムに99.999%以上の感染価の減少が認められ、100ppmでは概ね99.9%以上の感染価減少であった。実験条件に差が認められるため、直接の比較は難しいものの、帯広畜産大学の結果を考慮すると、委員会として有効性に期待が持てる物資と判断される。国立感染症研究所の試験条件である1:9という反応液比率は、帯広畜産大学の実験条件と比較して厳しい条件であり、本条件で100ppmで99.9%以上の効果を示したことは考慮に値する。次亜塩素酸ナトリウムを陽性対照としており、次亜塩素酸ナトリウムと同様の使い方（浸漬による消毒）により効果が得られると考えられる。
- 以上を踏まえ、委員会としてジクロロイソシアヌル酸ナトリウムの有効性判断として、帯広畜産大学での検証試験で99.99%以上のウイルス不活化効果を確認した50ppm以上のうち、国立感染症研究所の検証試験で99.9%以上の活性を確認した「100ppm以上」を有効と判断してはどうか。

# 次亜塩素酸水の有効性評価に関する委員会結論 (事務局案)

## (検証試験の結果に対する委員会判断 (案、続き) )

○ 今回の結果を踏まえて、検証対象とした次亜塩素酸水 (pH 6.5 以下) について以下の条件で有効と判断する。

○ 次亜塩素酸水 (電解型、非電解型) : 35 ppm以上

○ ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム : 100 ppm以上

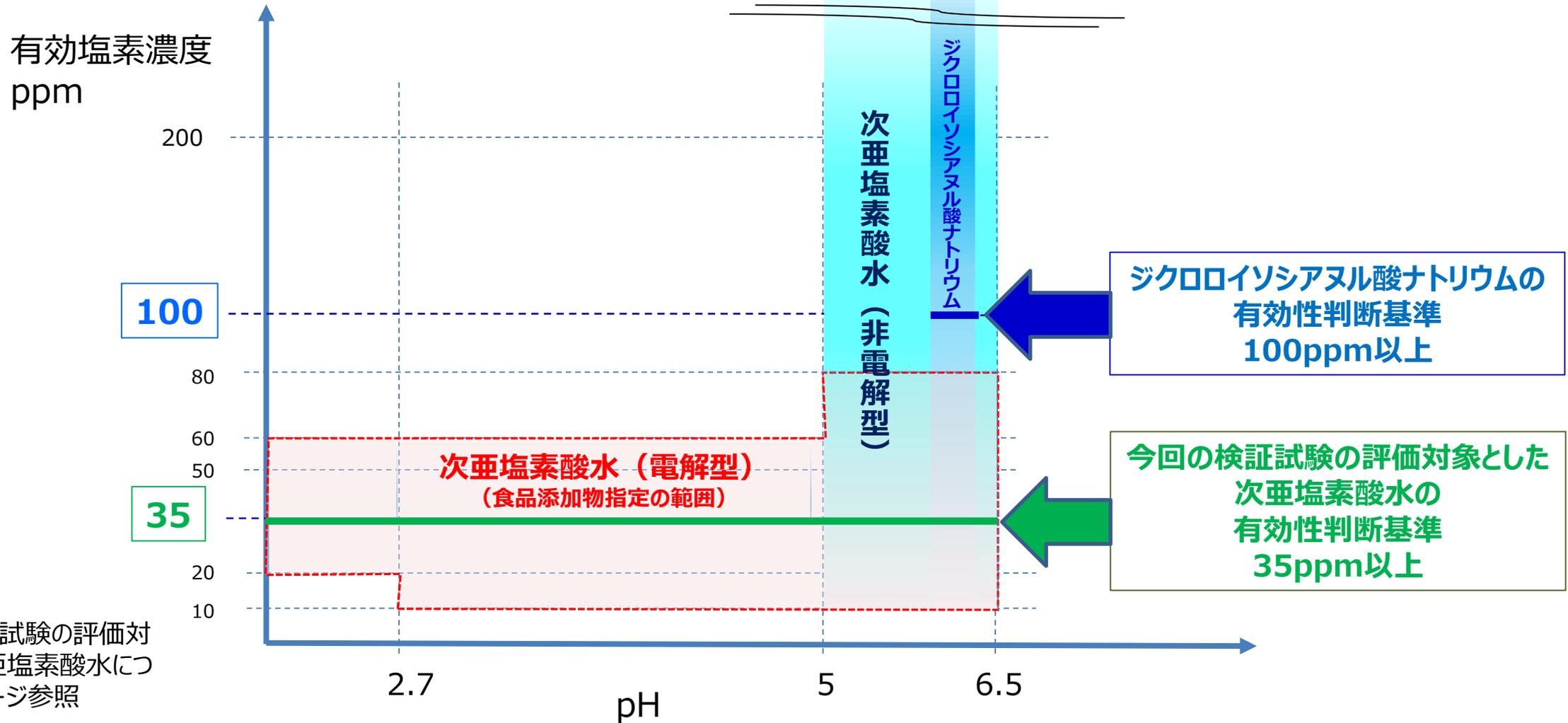
ジクロロイソシアヌル酸については、水溶液中で解離平衡反応によって生じる遊離塩素が有効性に関与する持続型の次亜塩素酸水と考えられ、遊離型の次亜塩素酸水と性質がやや異なることから、有効性についてその他の次亜塩素酸水とは分けて判断した。

なお、今回報告した検証試験の実施条件において「有効」と判断されていないことをもって、直ちに新型コロナウイルスに対する不活化効果がないという意味にはならないことに留意が必要である。

○ 各機関で実施した試験条件によってウイルス不活化効果に差が認められたこと、及びウイルス液に対する次亜塩素酸水の比率によっては効果が減弱するなど、次亜塩素酸水の新型コロナウイルスに対する効果は条件によって影響を受けやすいと考えられる。次亜塩素酸水の特性を十分理解した上で適切に使用することが重要である。

○ 一般的に、次亜塩素酸水の効果は汚れ等の有機物の影響を受けやすいことが論文等で報告されている。また、対象に対して十分な量を用いることが重要であり、少量では期待した効果が得られないことが知られている。以上を考慮し、ウイルス不活化効果を期待して次亜塩素酸水を物品に対する消毒を目的に使用する場合、事前に物品に付着している汚れ等を拭き取ったり、洗い流したりして清浄にした上で、仕上げに十分な量の次亜塩素酸水を用いるべきである。

# 次亜塩素酸水の有効性評価の基準（事務局案）



今回の検証試験の評価対象とした次亜塩素酸水については8ページ参照