



受託研究報告書

除菌剤による新型コロナウイルスに対する不活化効果の評価
(追加試験)



2021年4月5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、御社と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

PHMB（ポリヘキサメチレンピグアナイド）主成分の除菌剤によって、新型コロナウイルスの不活化効果があるか明らかにすること。

2. 試験品

- PHMB（ポリヘキサメチレンピグアナイド）500ppm「5ml」
- PHMB 500 ppm「5ml」+ 塩化ベンザルコニウム 0.5 ml + パンシル柿渋成分

3. 試験ウイルス：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）

新型コロナウイルスを VeroE6 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。

4. 試験内容

- 消毒剤の評価法 ASTM E1052 に準じて、次の手順で抗ウイルス効果を評価した。
- ウイルス液 1 に対して試験品 9 の割合で混合し、表 1 の作用時間で接触させた。
- 反応時間後に SCDLP で希釈し反応を停止させた。
- 回収液を用いて Vero E6 細胞に感染させ、ウイルス感染価をプラーク法にて測定した。

不活化効果は以下のように算出した。

$$\begin{aligned} \text{不活化効果 (Mv)} &= \log(\text{Ct}/\text{C}_0) - \log(\text{Nt}/\text{N}_0) \\ &= \log\text{Ct}/\text{Nt} \end{aligned}$$

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. 試験品に対する作用時間

試験品	作用時間		
	0分	5分	10分
PBS (コントロール)	○	○	○
PHMB 500ppm 「5ml」			○
PHMB 500 ppm 「5ml」 + 塩化ベンザルコニウム 0.5ml + パンシル柿渋成分		○	

○：測定 5 ポイント x 実施 2 回

5. 結果

結果を表 2~4 と図 1~2 に示した。

試験品を 7.50×10^6 PFU/ml の新型コロナウイルスに接触させると、PHMB 500 ppm 「5ml」では 10 分後の感染価は 1.18×10^6 PFU/ml (減少率 83.793%) であったが、PHMB 500 ppm 「5ml」 + 塩化ベンザルコニウム 0.5ml + パンシル柿渋成分では 5 分後に 1.50×10^3 PFU/ml (減少率 99.979%) へと感染価が減少した。

表 2. 試験品によるウイルス感染価の推移

	0分	5分	10分
PBS (コントロール)	7.50E+06	7.25E+06	7.25E+06
PHMB 500 ppm 「5ml」	7.50E+06	-	1.18E+06
PHMB 500 ppm 「5ml」 + 塩化ベンザルコニウム 0.5ml + パンシル柿渋成分	7.50E+06	1.50E+03	-

検出限界 < 5.00E+01 PFU/ml

表 3. PHMB 500ppm 「5ml」 によるウイルスの不活化効果

	0分	10分
不活化効果 (Mv)	-	0.79
減少率 (%)	-	83.793%

減少率(%)は小数点第4位以下切り捨て

表 4. PHMB 500 ppm 「5ml」 + 塩化ベンザルコニウム 0.5ml + パンシル柿渋成分によるウイルスの不活化効果

	0分	5分
不活化効果 (Mv)	-	3.68
減少率 (%)	-	99.979%

減少率(%)は小数点第4位以下切り捨て

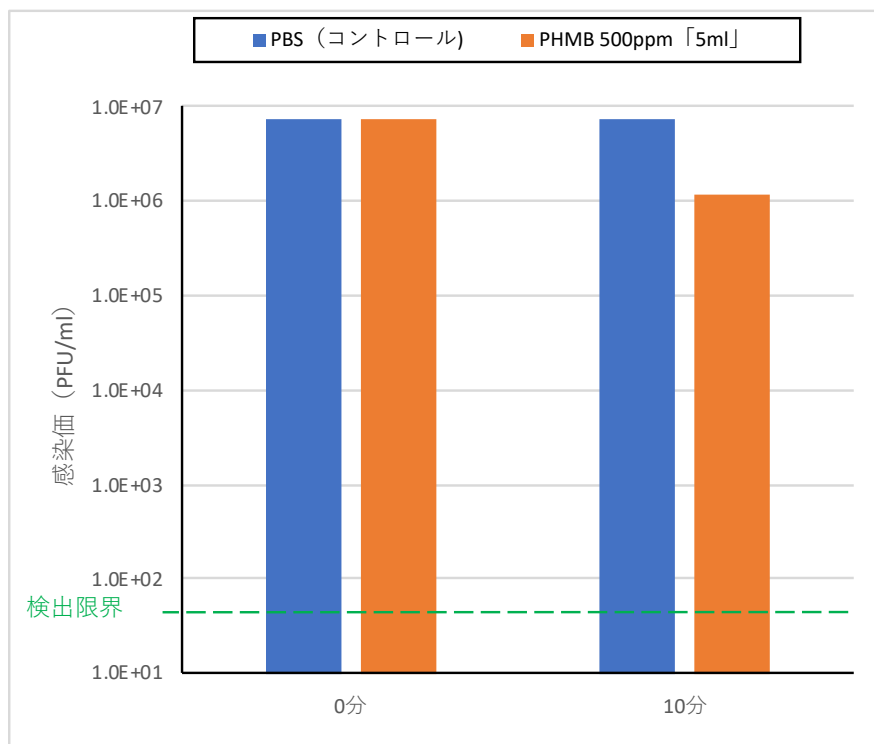


図 1. PHMB 500 ppm 「5ml」 によるウイルス感染価の推移

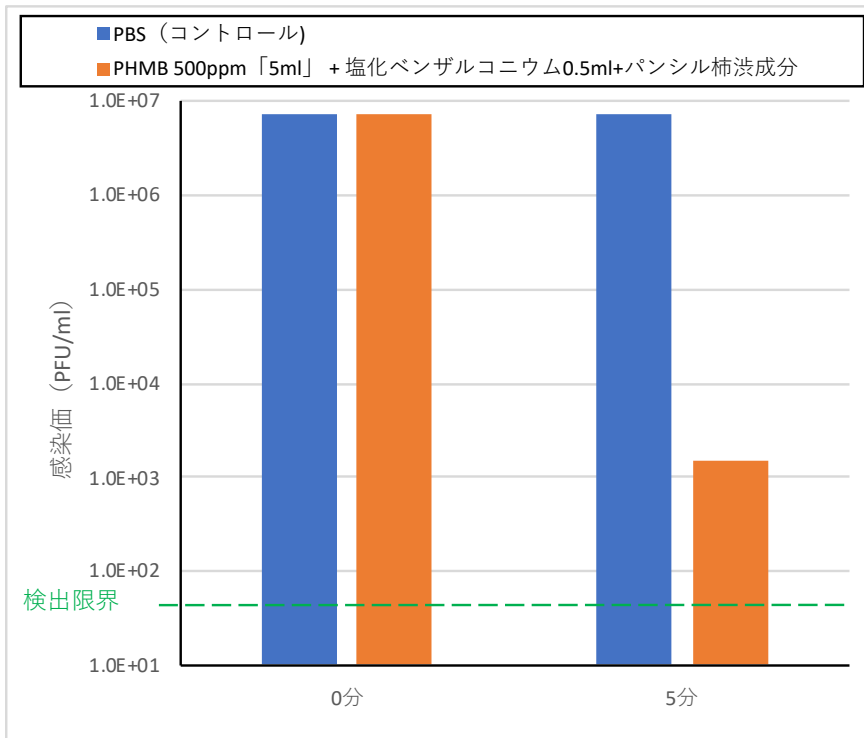


図2. PHMB 500 ppm「5ml」 + 塩化ベンザルコニウム 0.5ml + パンシル柿渋成分によるウイルス感染価の推移

6. まとめ

本試験で使用した PHMB 主成分の除菌剤 (PHMB 500 ppm「5ml」 + 塩化ベンザルコニウム 0.5ml + パンシル柿渋成分) は、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に接触させることにより不活化させることが判明した。本試験品を使用することにより、物質の表面について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、空間に浮遊するウイルスへの効果、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

