

■ Review article

消毒薬の有効性評価について

梶浦 工

吉田製薬株式会社 研究開発本部

東京医療保健大学大学院

Evaluation of the microbicidal activity of disinfectants and antiseptics

Takumi Kajiura

Yoshida Pharmaceutical Co.,LTD. Research and Development Division

Tokyo Healthcare University Postgraduate School

Key word : 試験管内試験 (*in vitro*)、懸濁試験、表面試験、清拭試験、ボランティア試験 (*in vivo*)

1. はじめに

消毒薬の有効性評価に関して、公的な標準試験法や評価、基準・規格は我が国には存在せず、試験者各々の意図や判断に基づく方法、基準にて評価され、それら評価を相互比較することは必ずしも容易ではない。一方、米国や欧州では殺菌・消毒に関する表示をしている製品に対して、各国の標準試験法に従った評価が従来からなされており、例えば欧州では、欧州連合 (EU) の誕生により加盟各国の法的整合性が図られ、消毒薬を含め様々な製品に関する統一標準試験規格 (European Norm ; EN) がそれぞれ制定、適宜改訂されている。米国では消毒製品の用途に応じ、国家の管轄諸機関において、米国内で制定された標準試験法の最新版を用い、各機関が規定する条件・基準に基づいて評価される。

本総説では、医療領域に用いられる消毒薬・消毒製品の有効性 (抗微生物活性) に関して、欧米の標準的試験法、判定基準、規格について、本誌既報¹⁾の一部改訂と併せ解説すると共に、日本における取り組みも紹介し、今後の展望についても言及する。なお、本総説ではウイルスも微生物として扱うこととする。

2. 試験管内試験 (*in vivo*) による消毒薬の有効性評価

2.1 懸濁試験 (浮遊試験)

微生物に対する消毒薬の抗微生物活性を基礎的に評価する試験管内試験としては、供試微生物に消毒薬 (液剤) を任意温度、任意時間作用させ、供試した微生物数ないしウイルス感染価 (以下、感染価) の減少量を定量的に求める、いわゆる懸濁試験 (浮遊試験) が一般的である。供試する標準的な微生物種が株番号と共に指定されており、必要に応じて臨床分離株等を適宜追加することは許容される。また供試する微生物数、感染価も規定されており、所定の培地あるいは細胞を用いて前培養した微生物を生理食塩液や緩衝液等に懸濁させる。消毒薬との作用に際しては実使用状態を想定して、有機物を共存させることが多く、例えば欧州の医療領域における有機物の代替物質としては、清浄条件では 0.03% 牛アルブミン、汚染条件では 0.3% 牛アルブミン + 0.3% 羊血球 (いずれも作用液の濃度) が規定されている。微生物懸濁液、有機物液、消毒薬を一定の比率で混合し、任意温度下、数十秒～数分間作用後に中和剤 (不活性化剤) または希釈

表 1 欧米における懸濁試験（浮遊試験）の例

試験名 ^{*1}	EN13727 :2012+A2:2015 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical area - Test method and requirements (phase 2, step 1)	EN13624:2021 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal or yeasticidal activity in the medical area - Test method and requirements (phase 2, step 1)	EN14476 :2013+A2:2019 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase2/Step 1)	EN17126:2018 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of sporicidal activity of chemical disinfectants in the medical area - Test method and requirements (phase 2, step 1)	ASTM E2315-16 Standard Guide for Assessment of Antimicrobial Activity Using a Time-Kill Procedure)	ASTM E1052-20 Standard Practice to Assess the Activity of Microbicides against Viruses in Suspension)
対象微生物	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC15442 <i>Enterococcus hirae</i> ATCC10541	Fungicidal activity <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC16404 (conidiospores) <i>Candida albicans</i> ATCC10231 Yeasticidal activity <i>Candida albicans</i> ATCC10231	Virucidal activity Poliovirus type1, LSC-2ab Adenovirus type5 strain Adenoid75, ATCC VR-5 Murin norovirus, strain S99 Berlin Limited spectrum virucidal activity Adenovirus type5 strain Adenoid75, ATCC VR-5 Murin norovirus, strain S99 Berlin Virucidal activity against enveloped viruses Vaccinia virus strain modified vaccinia virus Ankara(MVA) ATCC VR-1508 or Vaccinia virus Elstree ATCC VR-1549	Sporicidal activity against Clostridioides difficile <i>Clostridioides difficile</i> R027 NCTC 13366 Sporicidal activity <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 <i>Bacillus cereus</i> CIP 105151	使用状況から選択された微生物種 または標準的微生物種	Adenovirus, Type 2 [VR-846] or Type 5 [VR-5] Canine Parvovirus, Cornell-780916-80 strain [VR-2017] Cytomegalovirus, strain AD-169 [VR-538] Feline calicivirus, strain F-9 [VR-782] Hepatitis A Virus, HM-175 strain [VR-2093] Herpes simplex virus, Type 1, strain F (1) [VR-733] Influenza A, A/Hong Kong/8/68 [VR-544], A/PR/8/34 [VR-95] Murine Norovirus, Cell line: RAW 264.7 [TIB-71] Respiratory syncytial virus, Long strain [VR-26] Rhinovirus, Type 14 [VR-284] or 37 [VR-1607] Rotavirus, Wa strain [VR-2018] Vaccinia, WR strain [VR-119]
製剤調製水	375ppmの硬水					
作用比率 調整薬剤：負荷物：懸液	8:1:1 ^{*2}					
作用時（初検）微生物数 CFU/mL or TCID ₅₀ /mL	1.5~5x10 ⁷	1.5~5x10 ⁶	≥10 ⁷	1.5~5x10 ⁶	10 ⁶ 以上	微生物量は全容の10%以下 Endpoint 10 ⁴ 以上が確保できる量
添加負荷物種 （作用液中濃度）	0.03%牛アルブミン（清浄条件） 0.3%牛アルブミン+0.3%羊血球（汚染条件）					
作用温度	4~30°C					
作用時間	5 min	4 log ₁₀ 以上の減少	4 log ₁₀ 以上の減少	15min	短時間 (例：15, 30, 60 秒)	適切な温度 (通常22±2°C) 適当な時間
要求基準	5 log ₁₀ 以上の減少	4 log ₁₀ 以上の減少	4 log ₁₀ 以上の減少	4 log ₁₀ 以上の減少	基準なし ^{*3}	

注) *1 欧州の試験例 (EN) は全てsurface disinfection における要件を記載

*2 作用時に供試濃度となるよう、製剤の濃度は供試の1.25倍に調整する

*3 米国のASTMは、要求基準は定めていない

表2 欧米における表面試験（キャリアー試験）の例

試験名	EN 17387:2021 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative test for the evaluation of bactericidal and fungicidal activity of chemical disinfectants in the medical area on non-porous surfaces with mechanical action - Test method and requirements (phase 2, step 2)	EN 16777:2018 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative non-porous surface test without mechanical action for the evaluation of virucidal activity of chemical disinfectants used in the medical area - Test method and requirements (phase 2/step 2)	AOAC955.15, 964.02 Official Methods of Analysis of the AOAC International, Chapter 6, Disinfectants, Use Dilution Methods	ASTM E1053-11 Standard Test Method to Assess Virucidal Activity of Chemicals Intended for Disinfection of Inanimate, Nonporous Environmental Surfaces ¹	ASTM E3218-21 Standard Test Method for Quantitative Method for Testing Antimicrobial Agents against Spores of <i>C. difficile</i> on Hard, Nonporous Surfaces
対象微生物	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541 <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Virucidal activity Adenovirus type5 strain Adenoid75, ATCC VR-5 Murin norovirus, strain S99 Berlin Limited spectrum virucidal activity Adenovirus type5 strain Adenoid75, ATCC VR-5 Murin norovirus, strain S99 Berlin Virucidal activity against enveloped viruses Vaccinia virus strain modified vaccinia virus Ankara(MVA) ATCC VR-1508 or Vaccinia virus Elstree ATCC VR-1549	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC15442	Adenovirus, Type 2 [VR-846] or Type 5 [VR-5] [VR-2017] Canine Parvovirus, Cornell-780916-80 strain [VR-2017] Cytomegalovirus, strain AD-169 [VR-538] Feline calicivirus, strain F-9 [VR-782] Hepatitis A Virus, HM-475 strain [VR-2093] Herpes simplex virus, Type 1, strain F (1) [VR-733] Influenza A, A/Hong Kong/8/68 [VR-544], A/PR/8/34 [VR-95] Murine Norovirus, Cell line: RAW 264.7 [TIB-71] Respiratory syncytial virus, Long strain [VR-26] Rhinovirus, Type 14 [VR-284] or 37 [VR-1607] Rotavirus, Wa strain [VR-2018] Vaccinia, WR strain [VR-119]	<i>Clostridioles difficile</i> ATCC 43598
表面あたり微生物数*2	要求基準の判定が可能範囲数	1x10 ⁶⁻⁷	6.3 x 10 ⁴ 以上の感染価	1x10 ⁶⁻⁷	
負荷物	0.03% BSA ^{*1} (清浄条件) 0.3% BSA+0.3%ヒツジ赤血球 (汚染条件)	5% 血清	0.35%トリプトン液いタンパク消化物, 0.25%BSA, 0.08%牛ムチン		
キャリアー	ステンレスチールディスク 304, grade2B面磨き 直径2cm	ステンレスシンダー (ベニシリンカ)φ8 x 10mm)	滅菌ガラスペトリ皿 直径10cm、厚さ1cm	ステンレスチールディスク 304, (AISI Type 304 Stainless Steel) 直径1cm	
作用方法	ステンレスディスクの中央に負荷物質含有供試菌液50μLを滴下乾燥後、濃度調整した被験剤100 μLを精層	ステンレスディスクの中央に負荷物質含有供試菌液50μLを滴下乾燥後、濃度調整した被験剤100 μLを精層	供試菌液に浸して汚染・乾燥させたシンダーを濃度調整した被験剤に浸漬	ステンレスディスク上に供試微生物液を10 μL載せて乾燥後、濃度調整した被験剤10 μLを精層	
作用時間 ^{*3}	4~30℃, 5min±10sec	18~25℃, 5min±10sec	10min 以内		
要求基準 ^{*4}	細菌：5 log ₁₀ 以上の減少 酵母・真菌：4 log ₁₀ 以上の減少	4 log ₁₀ 以上の感染価減少	供試ウイルスあたり10キャリアー— 3 log ₁₀ 以上の感染価減少 最低ウイルスは最低2ロット実施	供試微生物あたり10キャリアー— 全て 6 log ₁₀ 以上の減少 供試微生物あたり最低3ロット実施	

*1 : BSA:牛アルブミン

*2, 3, 4 : 米国試験例 (AOAC, ASTM)の、表面あたり微生物数、作用時間および要求基準は、EPA Product Performance Test Guideline, OCSPSP 810.2200. または同 OCSPSP 810.2100における液体製剤用の要件を記載

液を用いて消毒薬の作用を確実に停止したのち、残存する微生物を適宜の方法で培養して、作用後の微生物数ないし感染価を求める。別に求めた消毒薬作用前の微生物数ないし感染価を基に、消毒作用によって減少した量を算出する。微生物数、感染価は対数変換して扱うことが多く、この懸濁試験において、例えば欧州では、細菌に対しては $5\log_{10}$ 以上の、真菌、ウイルス、芽胞に対しては $4\log_{10}$ 以上の微生物数、感染価の減少をもたらす抗微生物活性が要求される^{2,3,4,5}。米国における代表的な試験法^{6,7}も含め、これら懸濁試験の概要を表1に纏めた。

2.2 表面試験（キャリアー試験）

消毒薬の実際の使用状況においては、器物や環境表面等に付着した微生物に対して作用させることが多く、そのような場面の評価としては、指定された硬質無孔性素材（キャリアー）の表面に微生物液を滴下乾燥させ、その上から消毒薬を作用して、作用による微生物数、感染価の減少等を求める、いわゆる表面試験（キャリアー試

験）が規定されている。キャリアーとしては、ステンレス、ガラスなどが繁用される。有機物を負荷した微生物懸濁液を、試験するキャリアー表面に滴下・乾燥後、その上から消毒薬を覆うように適用させ、任意温度下、数分間作用後、キャリアーごと中和剤ないし希釈液にとり、キャリアー表面に生残する微生物を所定の方法で回収して、残存する微生物数、感染価、あるいは微生物の発育能、ウイルス感染能の有無を調べ、定量評価の場合は、別に求めた消毒薬作用前（未処理）の微生物数、感染価を基に、消毒薬作用によって減少した量を求める。例えば欧州では、細菌に対しては $4\log_{10}$ 以上の、真菌、ウイルスに対しては $3\log_{10}$ 以上の微生物数、感染価の減少をもたらす抗微生物活性が要求される^{8,9}。米国では非生体の消毒薬は環境保護庁（Environmental Protection Agency :EPA）への登録が必要となり、医療施設に用いる消毒薬の有効性評価プロセス¹⁰において、細菌、真菌に対しては Association of Official Analytical Chemists（AOAC）の、ウイルス、芽胞に対しては American Society for Testing and Materials

表3 欧米における清拭試験の例

試験名	EN 16615:2015 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative test for the evaluation of bactericidal and yeasticidal activity of chemical disinfectants in the medical area on non-porous surfaces (phase 2, step 2)	AOAC 961.02 Official Methods of Analysis of the AOAC International, Chapter 6, Disinfectants, Official Method 961.02 Germicidal Spray Products as Disinfectants.
対象微生物*1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541 <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC15442
表面あたり微生物数*2	細菌： $7.5 \times 10^5 \sim 2.25 \times 10^8$ 酵母： $7.5 \times 10^4 \sim 2.25 \times 10^7$	$1.0 \times 10^5 \sim 3.2 \times 10^6$
負荷物	0.03% BSA（清浄条件） 0.3% BSA+0.3%ヒツジ赤血球（汚染条件）	5% 血清
表面	ポリウレタン表面加工された塩化ビニル	非腐食性顕微鏡用スライドガラス 25x25mm, 18x36mm あるいは 25x75mm
清拭材料	55%パルプ45%PET不織布 17.5x28cm	メーカー指定
作用方法	製剤含浸ワイブに2.3-2.5kg、底面12.1x8.6cmの重り載せ、5x5cmの供試微生物接種エリア（T1）、同非接種エリア（T2~4）を含む12x50cmエリアを2秒以内に手で一往復	1平方インチ（約6.45cm ² ）に供試微生物液を10μL塗布乾燥後、メーカー指定の方法で清拭（または外側から内側への回転）
作用時間*3	4~30℃、清拭後5min±10sec	10min 以内
要求基準*4	微生物接種エリア（T1） 細菌： $5 \log_{10}$ 以上の減少 酵母： $4 \log_{10}$ 以上の減少 微生物非接種エリア（T2 ~T4）：平均して50cfu未満	供試微生物あたり60キャリアー 許容陽性個数：1個以下 供試微生物あたり最低3ロット実施

*1,2,3,4: 米国試験例（AOAC）の、対象微生物、表面あたり微生物数、作用時間および要求基準は、EPA Product Performance Test Guideline, OCSPP 810.2200における清拭製剤用の要件を記載

(ASTM) の各該当試験法^{11,12,13)}を主に準用し、EPA が規定する条件・要求基準に基づき評価される。表面試験(キャリアー試験)の概要を表2に纏めた。

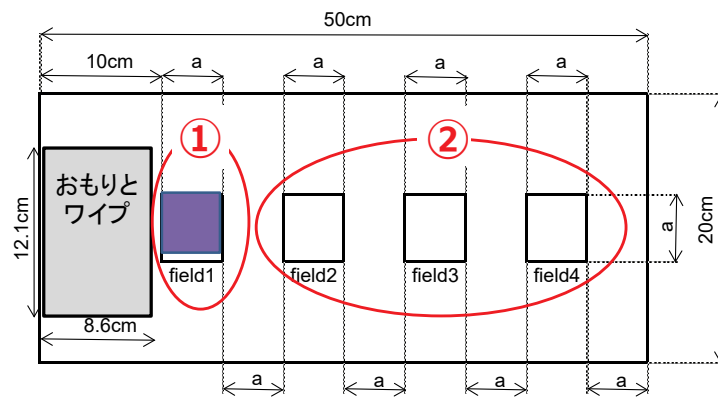
2.3 清拭試験

器物や環境の表面は、消毒薬等を何等の清拭担体に含浸させ、あるいは含浸済みの担体製品を用いて衛生化を図ることが多く、そのような清拭による微生物減少効果を評価する目的として、清拭試験が設定されている。所定の硬質無孔性表面に、有機物を負荷した微生物懸濁液を塗布・乾燥後、その表面を消毒薬を含浸させた担体ないし含浸済み担体を用いて、所定の方法で清拭する。その後、微生物滴下エリアについて中和液を含浸させた綿棒等で擦過して、残存する微生物を回収する。別に求めた未清拭における微生物数、感染価を基に、清拭による微生物の減少量等を求める。この表面試験において、例

えば欧州では、細菌に対しては $5\log_{10}$ 以上の、真菌、ウイルス、芽胞に対しては $4\log_{10}$ 以上の微生物量、感染価の減少をもたらす抗微生物活性が要求され、さらに、微生物滴下エリアを外れた清拭エリアも回収して、清拭による微生物の拡散程度が規定以下となることも求められる¹⁴⁾。米国では表面試験と同様に、EPA が採用する試験法¹⁵⁾、並びに規定する条件、要求基準に基づいて評価される。

清拭試験の概要を表3に纏めた。また欧州にて規定される清拭試験の概要を図1に示した。

なお、内視鏡等の医療機器類の再生等に用いる高水準消毒薬について、米国では、管轄機関であるFDAの許認可が必要となり、FDAが規定する試験法および基準¹⁶⁾にて評価される。詳細に関しては紙面の都合上、本解説では割愛する。



- a = 5cm
 方法 1. field 1に菌液を塗布、乾燥。
 2. おもりを乗せた含浸ワイプでfield 1~4を拭き取る(一往復)
 3. 所定時間作用後の各field表面の微生物数を測定

- 評価 ①減菌効果 ……field1の微生物数の減少
 ②拡散抑制効果……field2~4の微生物数(の増加)

図1 欧州標準試験法 EN16615 の概要

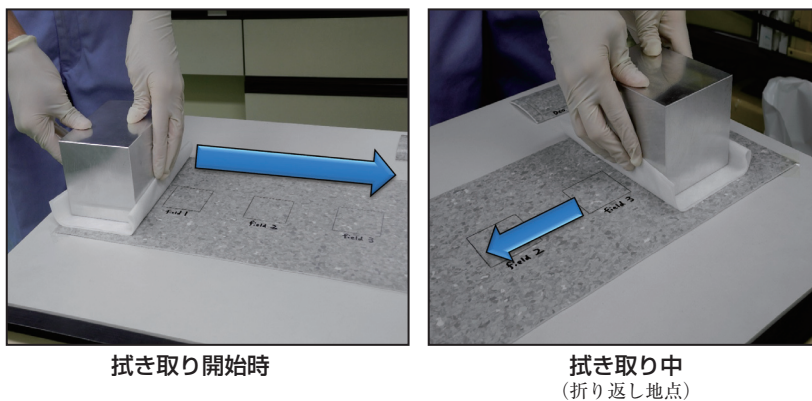


図2 欧州標準試験法 EN16615 の概要 (拭き取り操作)

3. ボランティア試験 (*in vivo*) による消毒薬の有効性評価

生体に用いる消毒薬の有効性評価は、医療従事者が行う手指衛生、並びに患者の皮膚消毒に関し、評価法と基準がそれぞれ規定されている。懸濁試験による *in vitro* での基礎的な活性評価に加え、健康人ボランティアを対象とした、*in vivo* での評価が求められ、前者はヒト手指、後者はヒトの前腕、腹部、並びに鼠径部を対象とした試験である。

3.1 手指衛生

手指衛生は、医療従事者が病棟での一般的な医療行為の前に行う、いわゆる衛生学的手指衛生と、手術の前に念入りに行う手術時手指衛生がある。前者は皮膚通過性菌を消毒対象としているのに対し、後者は皮膚常在菌が消毒対象となる。何れの場合もアルコールを含有するラビング剤と、流水での洗い流しを伴うスクラブ剤があるため、それぞれの手指衛生方法と、要求基準に関わる対照製剤が各々規定されている。

衛生学的手指衛生の評価に供試される皮膚通過性菌として、欧州では大腸菌 K12、米国ではセラチアが指定されている。評価部位は、欧州では手指先に限定しているのに対し、米国では手指全体を対象とする。そのため、欧州では指先のみ指標微生物を塗布（菌液の中に指先をつけて汚染、乾燥）するのに対し、米国では一定量の微生物液を手指全体に拡散塗布、乾燥させる。所定の方法で手指衛生した後の微生物回収方法は、欧州では、指先のみを回収液内で被験者自身が揉み出し洗いするのに対し、米国では手袋を装着し、手袋内に回収液を加えた後、介在者が手袋上からマッサージして生残微生物を回収する。別に手指衛生を行わず同様の方法で回収した微生物数（ベースライン）を基に、手指衛生を行った後の微生物数との差を求めて消毒効果とする。欧州は対照製剤として、ラビング剤の場合は 60% イソプロパノール、スクラブ剤の場合は非抗菌石けんが指定されており、それら対照における低減効果との統計学的な検定が求められる^{17,18)}。米国の場合は、生体消毒薬を管轄する米国医薬食品衛生局 (Food and Drug Administration : FDA) の、ヒトに適用する一般用消毒製品の安全性と有効性に関する規制 Final Rule (FR)¹⁹⁾ に従い、ASTM の試験法^{20,21)} を用い、FDA が承認した既存消毒薬との非劣性、並びにプラセ

ボ（消毒成分を除いた調製剤、調製が難しい場合は非抗菌石けん、ないしは生理食塩水等）に対する所定マージンでの優位性、が求められる。

手術時手指衛生は、上述したように手指の常在菌が消毒対象となる。欧州はボランティアの指先、米国は手指全体、を対象エリアとする。任意の方法で手指衛生後、消毒直後並びに一定時間経過後（欧州は 3 時間後、米国は 6 時間後）にそれぞれの方法で手指の常在菌を回収する。別に求めた消毒前の微生物数を基に、手指衛生後の微生物数との差を求める。要求基準は上述の衛生学的手指消毒と基本的に同様であるが、一定時間経過後の常在菌の再増殖抑制効果も評価される^{22,23)}。

衛生学的手指衛生および手術時手指衛生の各有効性評価を表 4、5 に纏めた。

3.2 生体皮膚消毒

カテーテル等のデバイス挿入部位の皮膚や執刀手術における術野皮膚の消毒に関わる評価として、米国 ASTM の試験法²⁴⁾ が存在する。この試験も健康人ボランティアを用いるが、穿刺皮膚の代表として前腕、腹部または背中、術前の乾燥皮膚の代表として腹部、同、湿潤皮膚の代表として鼠径部、をそれぞれ対象とする。先の FDA-FR では、前腕は消毒してから乾燥後 30 秒以内、腹部と鼠径部は同乾燥後 30 秒以内ないし 10 分以内に、いずれも各 1cm² エリアから消毒前・後の皮膚常在菌を所定の方法で擦過して回収し、消毒による滅菌効果を求め、FDA が承認した既存消毒薬との非劣性、並びにプラセボに対する所定マージンでの優位性、が要求される。

4. 消毒薬の有効性評価における留意点

消毒薬の有効性評価における我が国での留意点としては、以下のような事柄が挙げられる。

4.1 消毒薬の希釈に用いる水質

消毒薬を希釈して適用する際、精製水を用いる限りにおいては大きな問題は発生しないが、水道水を用いて希釈する場合、消毒薬の成分が水道水に含まれる塩類等と反応して不溶化する場合²⁵⁾ や、水道水の硬度が消毒薬の抗微生物活性に影響を与える（効力が低下する）場合がある²⁶⁾。海外の評価試験において規定される消毒薬希釈水の硬度 (300ppm 以上) は、我が国の水道水硬度に比べ

表 4 欧米における衛生的な手指消毒薬のボランティア試験 (in vivo) の例

試験名	EN1499 :2013 - Chemical Disinfectant & Antiseptics. Hygienic Handwash (phase 2, step 2 test)	EN1500:2013 Chemical disinfectants and antiseptics - Hygienic handrub - Test method and requirements (phase 2/step 2)	ASTM E1174-21 Standard Test Method for Evaluation of the Effectiveness of Healthcare Personnel Handwash Formulations	ASTM E2755 -15 Standard Test Method for Determining the Bacteria-Eliminating Effectiveness of Healthcare Personnel Hand Rub Formulations Using Hands of Adults
被験者数	12~15名	18~22名	十分な人数の成人健康人	十分な人数の成人健康人
対象微生物 (指標菌)	<i>Escherichia coli</i> K12 NCTC10538	<i>Escherichia coli</i> K12 NCTC10538	<i>Serratia marcescens</i> ATCC14756	<i>Serratia marcescens</i> ATCC14756
試験製剤・手指衛生方法	メーカー推奨量、30~60秒間スクラビング	メーカー推奨量、30~60秒間ラビング	メーカー推奨の使用法に従う 推奨が無い場合は以下に従う 液体製剤(スクラブ剤) ^{*1} : 5mL 30秒間スクラビング後、30秒流水	メーカー推奨の使用法に従う 推奨が無い場合は以下に従う 液体、ゲル、スプレー、フォーム製剤 : 1.5mL、10秒内に塗布 ワイブ製剤 : 1枚、40秒内に塗布 いずれの製剤も、塗布後、製剤が乾燥するまでラビングないし清拭を継続
対照製剤 ²	非抗菌石けん 5mL、60秒間スクラビング	60v/v% イソプロパノール 3mL X 2回、60秒間ラビング	ポジティブコントロール：米国既承認消毒薬 ネガティブコントロール：プラセボ（消毒成分を除いた調製製剤、調製が難しい場合は非抗菌石けん、ないしは生理食塩水等）	
評価法	ボランティアの手指を指標菌で人為的に汚染後、サンプリング液（+中和剤）を入れたシャーレ内でボランティア自身がこすり合わせて揉み出し採取した指先の菌数をベースラインとし、消毒後に揉み出し採取した菌数との差を算出		ボランティアの手全体を指標菌で人為的に汚染後、手袋を装着させ、サンプリング液および中和剤を手袋内に入れ、介在者が手袋上からマッサージをして採取した手指上の菌数をベースラインとし、再度汚染、消毒後に回収した菌数との差を算出	
要求基準 ³	消毒直後の減菌効果は対照より優れる (Wilcoxon符号順位検定)	消毒直後の減菌効果は対照より劣らない (非劣性検定)	消毒後5分以内に、ポジティブコントロール（米国既承認消毒薬）との非劣性、及びネガティブコントロール（プラセボ）に対する優越性を所定マージンで達成する	

*1：アルコール手指衛生消毒薬のようなリーフオン製剤や、固形製剤の適用法は同標準試験法で別に定められている

*2,3：米国試験例（ASTM）の、対照製剤、要求基準は、FDA- FR(2017年)における要件を記載

表 5 欧米における手術時手指衛生消毒薬のボランティア試験 (in vivo) の例

試験名	EN 12791:2017 Chemical disinfectants and antiseptics - Surgical hand disinfection - Test method and requirements (phase 2, step 2)	ASTM E1115-11(2017) Standard Test Method for Evaluation of Surgical Hand Scrub Formulations
被験者数	23~28名	十分な人数の成人健康人
対象微生物 (指標菌)	健康人ボランティアの手指常在菌	健康人ボランティアの手指常在菌
試験製剤	(スクラブ剤) メーカー推奨量 60秒間~5分間スクラビング (ラビング剤) メーカー推奨量 60秒間~5分間ラビング	(スクラブ剤) メーカー推奨量 最長5分間スクラビングx2回 (ラビング剤) メーカー推奨量 ラビングx3回
対照製剤 ^{*1}	60v/v% n-プロパノール 3mL x 2回、3分間ラビング	ポジティブコントロール：米国既承認消毒薬 ネガティブコントロール：プラセボ（消毒成分を除いた調製製剤、調製が難しい場合は非抗菌石けん、ないしは生理食塩水等）
評価法	ボランティアの手指をサンプリング液（+中和剤）を入れたシャーレ内でボランティア自身がこすり合わせて揉み出し採取した指先の菌数をベースラインとし、消毒後に揉み出し採取した菌数との差を算出	ボランティアに手袋を装着させ、サンプリング液および中和剤を手袋内に入れ、介在者が手袋上からマッサージをして採取した手指上の菌数をベースラインとし、再度汚染、消毒後に回収した菌数との差を算出
要求基準 ^{*2}	消毒直後並びに消毒3時間後の各減菌効果は対照より劣らない（非劣性検定）	消毒後、5分以内に、ポジティブコントロール（米国既承認消毒薬）との非劣性、及びネガティブコントロール（プラセボ）に対する優越性を所定マージンで達成する 消毒6時間後にベースライン菌数を上回らない

*1,2：米国試験例（ASTM）の、対照製剤、要求基準は、FDA- FR(2017年)における要件を記載

高いことから、消毒薬を水道水で希釈して使用する場を想定した国内での評価に際し、海外で規定される硬度の希釈水を用いるべきかどうかは検討の余地があると思われる。

4.2 中和剤（不活性化剤）の選定と適用条件

消毒薬の有効性評価においては、任意の時間に消毒薬の作用を確実に停止させる必要があるため、消毒薬に対する適切な中和剤（不活性化剤）を用いることは極めて重要である。汎用される消毒成分に対する中和剤は経験的に知られており、欧米のドキュメントに例示もされているが、添加比率によっては中和（不活性化）不十分となったり²⁷⁾、中和剤そのものが微生物の増殖に影響を与える可能性もある。そのため、評価試験に先立ち、適切な中和剤の選定とその中和能（不活性化能）を確認することと共に、試験結果に影響を与えない中和剤の添加量（比率）等を検証し、適用条件を予め設定しておく必要がある。

4.3 表面試験（キャリアー試験）の重要性

消毒薬の多くが液剤であることから、懸濁試験（浮遊試験）による効力評価はイメージしやすいが、消毒薬の実際の使用に際しては、何等かの表面に存在する微生物に対して用いられることが多いため、その表面上における消毒効果を評価する表面試験は実用面において重要である。にもかかわらず、そのデータが提示される事例は、我が国では十分とは言えない状況にあると思われる。表面に付着する微生物を殺菌させるには、懸濁試験に適合した消毒薬濃度よりも高く、あるいは長い作用時間を要することがあることも示されている²⁸⁾。器物、環境の表面を対象に消毒薬を使用する場合、懸濁試験にて消毒薬の基本的な活性を確認した上で、表面試験（キャリアー試験）において、より実用に即した効果を検証すべきである。

4.4 ボランティア試験（*in vivo*）のための体制構築

生体に用いる消毒薬の有効性評価には、ヒト皮膚表面を用いる必要があることから、健康人ボランティアを募った試験が避けられない。ボランティアに対して、倫理面はもちろんのこと、試験期間中のほか試験前・後において、健康面を含めた様々な管理対応が求められる。

これら試験を受託する海外の施設では、管理を含めてプロトコルが確立しており、我が国においても、このような体制を構築していく必要がある。

5. 有効性評価に関する我が国の取り組み

我が国においては、消毒薬における公的な標準化された有効性評価法は存在しないことは冒頭に述べた通りであるが、日本環境感染学会のアドホック・コミティーである消毒薬評価委員会において、手指衛生、生体消毒薬、また環境消毒に関する各有効性評価指針^{28,29,39)}がそれぞれ策定されており、同学会のホームページに公表されている。これら指針は、欧米の標準的試験方法、評価方法の参照引用を基本としつつ、日本の事情等に合わせた編集が一部で施されており、実用面も配慮された内容となっている。

6. 今後の取り組み

消毒薬に対し広く共有された試験法を用いて、同条件下で複数の試験結果を相互比較・参照できるようにすることは多いに意義があり、またハーモナイゼーションにおいては不可欠である。消毒薬について統一された評価試験規格は我が国においても必要で、諸外国の試験法に準拠して標準化を図ることは妥当で有力な選択肢であり、前述した日本環境感染学会が公表している指針は、その一助になるものと考えられる。なお、本解説では触れていないが、消毒成分の残留性、刺激性、生体毒性、また器具や生体への適合性など、安全性に関する事項についても、整合性のとれた統一的な評価が今後は必要になると思われる。

消毒薬の有効性評価は、懸濁試験と表面試験に加え、生体消毒薬ではヒトを対象とした試験での評価が不可欠と考えるが、前述した留意点や課題を踏まえ、我が国において妥当かつ実装可能な評価体系が整理されていくことが望まれる。そしてこれら標準的試験によってもたらされるベーシックな評価に加え、より実践的な試験を追加し、その情報を蓄積していくことによって、適切でより有効な消毒薬の適応が構築されていくものと思われる。

■利益相反

著者は吉田製薬株式会社の社員である。

■参考文献・資料

- 1) 植田知文、梶浦工、小林寛伊. 海外における殺菌・消毒薬の効力評価法 - 欧州、米国の試験規格の比較. 医療関連感染 2015;8:10-16.
- 2) EN 13727:2012+A2:2015 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical area - Test method and requirements (phase 2/ step 1).
- 3) EN 13624:2021 Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal or yeasticidal activity in the medical area. Test method and requirements (phase 2/ step 1).
- 4) EN 14476:2013+A2:2019 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (phase 2/step 1).
- 5) EN 17126:2018 Chemical disinfectants and antiseptics -Quantitative suspension test for the evaluation of sporicidal activity of chemical disinfectants in the medical area (phase 2/ step 1).
- 6) ASTM E2315-16 Standard Guide for Assessment of Antimicrobial Activity Using a Time-Kill Procedure.
- 7) ASTM E1052-20 Standard Practice to Assess the Activity of Microbicides against Viruses in Suspension.
- 8) EN 17387:2021 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative test for the evaluation of bactericidal and yeasticidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants in the medical area on non-porous surfaces without mechanical action - Test method and requirements (phase 2/step 2).
- 9) EN 16777:2018 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative non-porous surface test without mechanical action for the evaluation of virucidal activity of chemical disinfectants used in the medical area - Test method and requirements (phase 2/step 2).
- 10) EPA Product Performance Test Guideline, OCSPP 810.2200, Disinfectants for Use on Environmental Surfaces, Guidance for Efficacy Testing, [EPA 712-C-17-004] Posted by the Environmental Protection Agency on Feb 28, 2018.
<https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPPT-2009-0150-0036>
accessed April 27, 2024
- 11) Official Methods of Analysis of the AOAC International, Chapter 6, Disinfectants, Use Dilution Methods (955.15 & 964.02).
- 12) ASTM E1053-11 Standard Test Method to Assess Virucidal Activity of Chemicals Intended for Disinfection of Inanimate, Nonporous Environmental Surfaces.
- 13) ASTM E3218-21 Standard Test Method for Quantitative Method for Testing Antimicrobial Agents against Spores of *C. difficile* on Hard, Nonporous Surfaces.
- 14) EN 16615:2015 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative test for the evaluation of bactericidal and yeasticidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants in the medical area on non-porous surfaces (phase 2/ step 2).
- 15) Official Methods of Analysis of the AOAC International, Chapter 6, Disinfectants, Official Method 961.02 Germicidal Spray Products as Disinfectants.
- 16) Content and Format of Premarket Notification [510(k)] Submissions for Liquid Chemical Sterilants/High Level Disinfectants - Guidance for Industry and FDA Reviewers.
https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/content-and-format-premarket-notification-510k-submissions-liquid-chemical-sterilantshigh-level#_Toc472478096
accessed April 27, 2024
- 17) EN 1499:2013 Chemical disinfectant and antiseptics - Hygienic Handwash (phase 2/step 2).
- 18) EN 1500:2013 Chemical disinfectants and antiseptics - Hygienic handrub - Test method and requirements (phase 2/step 2).
- 19) Safety and Effectiveness of Health Care Antiseptics; Topical Antimicrobial Drug Products for Over-the-Counter Human Use.
<https://www.federalregister.gov/documents/2017/12/20/2017-27317/safety-and-effectiveness-of-health-care-antiseptics-topical-antimicrobial-drug-products-for>
accessed April 27, 2024
- 20) ASTM E1174-21 Standard Test Method for Evaluation of the Effectiveness of Healthcare Personnel Handwash Formulations.
- 21) ASTM E2755-15 Standard Test Method for Determining the Bacteria-Eliminating Effectiveness of Healthcare Personnel Hand Rub Formulations Using Hands of Adults.
- 22) EN 12791:2017 Chemical disinfectants and antiseptics - Surgical hand disinfection - Test method and requirements (phase 2/ step 2).
- 23) ASTM E1115-11(2017) Standard Test Method for Evaluation of Surgical Hand Scrub Formulations.
- 24) ASTM E1173-15 Standard Test Method for Evaluation of Preoperative, Precatheterization, or Preinjection Skin Preparations.
- 25) 大久保憲監修 消毒薬テキスト 各種消毒薬の特性 1 低水準消毒薬 2) クロルヘキシジン. 第5版. 東京:協和企画 2016 ;172-174.
- 26) 梶浦工, 和田英己. 外国における消毒薬の抗微生物評価の現状. 防菌防黴 2007; 35: 375-381.
- 27) Kampf G. Effect of chlorhexidine probably overestimated because of lack of neutralization after sampling. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009;30: 811-2.
- 28) 日本環境感染学会 消毒薬評価委員会. 生体消毒薬の有効性評価: 手指衛生 2023:
http://www.kankyokansen.org/uploads/uploads/files/jsipc/syushieisei_2023.pdf 2024年4月27日現在.
- 29) 日本環境感染学会 消毒薬評価委員会. 生体消毒薬の有効性評価指針: 手術野消毒 2013:
<http://www.kankyokansen.org/uploads/uploads/files/jsipc/kankyosyodokuyaku2020.pdf>
2024年4月27日現在
- 30) 日本環境感染学会 消毒薬評価委員会. 環境消毒薬の評価指針 2020:
<http://www.kankyokansen.org/uploads/uploads/files/jsipc/kankyosyodokuyaku2020.pdf>
2024年4月27日現在