

アルコール類のウイルス不活化作用に関する研究 ウイルスに対する各種アルコールの不活化効果について

岐阜県衛生研究所

野田 伸司 渡辺 実 山田不二造

北里大学衛生学部

藤 本 進

(昭和55年12月10日受付)

(昭和56年2月10日受理)

Key words: Virucidal activity, Hydrophilic viruses, Lipophilic viruses, Alcohols, Sensitizing condition

要 旨

親水性ウイルス（エンテロウイルス）および親油性ウイルス（アデノおよび被エンベロープウイルス）の合計11種類のウイルスに対する、メタノール、エタノール、イソプロパノールおよびN-プロパノールの不活化作用を検討した。

エンテロウイルスはメタノールによつて最も強い不活化作用を受け、次いでエタノールであつた。イソプロパノールによつては、AHCウイルスが長時間の感作でわずかに不活化されるのを除き、他のウイルスは全く不活化を受けなかつた。

親油性ウイルスの中、被エンベロープウイルスはN-プロパノールによつて最も強い不活化を受け、次いでイソプロパノール、エタノール、メタノールの順であつた。これに対し、アデノウイルスはエンベロープウイルスと同様にN-プロパノールによつて最も強い不活化を受けるが、その他のアルコール類に対する感受性は大きく異なり、以下メタノール、エタノール、イソプロパノールの順に不活化効果が示された。アデノウイルスにおいては、特にエタノールに対する抵抗性の強さおよび20°Cにおいてはイソプロパノールによりほとんど不活化を受けないことが注目された。

エンテロウイルス中のAHCウイルスおよび親油性ウイルス中のアデノウイルスを除外すると、全体的な傾向として、エンテロウイルスは炭素数の少ないアルコール類、親油性ウイルスはこれと反対に炭素数の大きいアルコール類により、不活化を受け易い傾向が認められた。

緒 言

アルコール類のウイルス不活化作用に関する報告は、現在まで比較的多く認められる¹⁻³⁾。しかし、それらの論文は主として個々のウイルスの抵抗性について述べられたものであり²⁻³⁾、対象も被エンベロープウイルスに偏っている²⁻⁶⁾。

Kleinら⁷⁾は、親水性および親油性両群のウイルスに対する、各種消毒薬の効果について検討を行つた中で、エタノールおよびイソプロパノールの成績を報告しているが、感作温度および時間について単一の条件下で実験が行なわれている点で、必ずしも満足できない。

そこで私達は、エタノール、イソプロパノールの常用消毒薬の他に、メタノールおよびN-プロパノールを加え、更に多くの両群ウイルスについ

て、各種の温度および時間の条件を設定し、アルコール類のウイルス不活化作用について、総合的な検討を行つたので報告する。

材料および方法

ウイルス

親水性ウイルスとして、Polio-1 (Mahoney 株, 以下 P-1), Echo-7 (Wallace 株, 以下 E-7), Coxsackie B-5 (531122株, 以下 CB-5), Enterovirus 70 (G-10/72株, 以下 AHC), Coxsackie A-16 (G-10株, 以下 CA-16) および Enterovirus 71 (Brer 株, 以下 E V-71) の6種類のエンテロウイルスを用いた。

親油脂性ウイルスとして、Adeno-3 (GB 株, 以下 Ad-3), Vaccinia (大連一1株, 以下 Vaccinia), Influenza (A/ussr/92/77株, 以下 Inf.), Herpes simplex-1 (HF 株, 以下 HSV) および Newcastle disease (佐藤株, 以下 NDV) の5種のウイルスを用いた。

AHC は当研究所で AHC 患者より分離されたもの⁹⁾, NDV は岐阜大学農学部平井博士より, 他は予研より分与を受け当研究所で保存されたものである。

これらウイルスの中, Inf. は10日齢鶏卵の尿液腔内に, 他は HeLa 細胞に5~6代継代して実験に供した。

HeLa 細胞は当研究所保存の細胞で, Earle MEM 培地 (ニッスイ) と0.1% Yeast Extract および0.5% Lactalbumin 水解物加の Hanks' 培地を等量加えた培地を用い, 増殖用には新生仔牛血清 (Flow 社製) 5%と7.5% NaHCO₃ を1%加え, 維持用には血清および重曹を各々2%加え実験を行つた。

Inf. は感染尿液の遠心上清を, 他のウイルスは維持液をリン酸緩衝液 (以下 PBS) に置き換えた後, Ad-3は凍結融解を5回以上, 他は1回行ないその遠心上清を小分けして-70°Cに保存した。

アルコール類

メタノール, エタノール, イソプロパノールおよび N-プロパノール (和光純薬, 特級) を使用した。

各アルコールは蒸留水で希釈し, ウイルス液を加えた場合に所定濃度になるように調整した。

不活化実験の条件

中試験管に各アルコールの蒸留水希釈液0.9ml とウイルスの蒸留水希釈液 (Ad-3は4⁶ TCID₅₀/0.1 ml, 他は10⁶ TCID₅₀/0.1ml) 0.1ml を加えて, アルコール・ウイルス混合液を作製した。このアルコール・ウイルス混合液を恒温水槽で, 20°C および5°C に一定時間感作させた。イソプロパノールについては30°C での感作を追加した。

感作終了後, アルコール・ウイルス混合液の入った試験管に, 9ml の蒸留水を加えて反応を停止した。

Inf. および HSV の実験には蒸留水の代わりに PBS を使用した。

不活化の判定

反応停止後のアルコール・ウイルス混合液0.1 ml を Inf. は10日齢鶏卵の尿液腔内に各希釈4個宛接種し, 33°C で3日間培養後, 血球凝集の有無によつて判定した。他のウイルスは HeLa 細胞培養試験管に4本宛接種し, AHC は33°C, 他は36°Cで6日間観察後, 細胞変性効果 (CPE) の有無によつて判定した。

接種卵および接種試験管の全てに不活化が認められたものを-, 一部に認められたものを±, 全てに認められないものを+と判定した。

成 績

1. メタノールの不活化作用

Table 1 に示すように, 親水性, 親油脂性両ウイルス群のメタノール感受性には著明な差は認められず, 20°Cにおいては, 最も抵抗性の EV-71, CA-16および Ad-3が70%濃度, 10秒感作で不活化を受け, 他のウイルスは更に低濃度で速やかな不活化が認められた。5°Cの感作においては, 20°C感作の場合に比較し不活化効果の低下が認められるが, この傾向はエンテロウイルスにやや強く認められた。

2. エタノールの不活化作用

エタノールに対する両ウイルス群の感受性を Table 2, Table 3 に示した。

Table 1 Inactivation of viruses by methanol

Property of viral surface	Virus	Time	Concentration (%)								
			90	80	70	60	50	40	30	20	10
Hydrophilic	Entero-71	10 sec	-	-	-	+	+	+	+	+	+
		1 min	-	-	-	+	+	+	+	+	+
		5	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	Cox. A-16	10 sec	-	-	-	+	+	+	+	+	+
		1 min	-	-	-	-	+	+	+	+	+
		5	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	Polio-1	10 sec	-	-	-	-	+	+	+	+	+
		1 min	-	-	-	-	+	+	+	+	+
		5	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	Echo-7	10 sec	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		1 min	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		5	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	Cox. B-5	10 sec	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		1 min	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		5	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Entero-70 (AHC)	10 sec	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
	1 min	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
	5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
Lipophilic	Adeno-3	10 sec	-	-	-	+	+	+	+	+	+
		1 min	-	-	-	+	+	+	+	+	+
		5	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	Influenza A	10 sec	-	-	-	-	+	+	+	+	+
		1 min	-	-	-	-	±	+	+	+	+
		5	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	Vaccinia	10 sec	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		1 min	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		5	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	HSV	10 sec	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		1 min	-	-	-	-	-	-	+	+	+
		5	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	NDV	10 sec	-	-	-	-	-	-	+	+	+
		1 min	-	-	-	-	-	-	+	+	+
		5	-	-	-	-	-	-	-	+	+



- : Perfect inactivation
 ± : Partial inactivation
 + : No inactivation
 Time : Duration of contact
 : Zone of inactivation at 20°C
 : Zone of inactivation at 5°C

Table 2 Inactivation of hydrophilic viruses by ethanol

Virus	Time	Concentration (%)								
		90	80	70	60	50	40	30	20	10
Cox. A-16	10 sec	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1 min	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Entero-71	10 sec	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	1 min	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Echo-7	10 sec	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	1 min	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Polio-1	10 sec	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	-	-	±	+	+	+	+	+	+
	1 min	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Cox. B-5	10 sec	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	1 min	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Entero-70 (AHC)	10 sec	-	-	-	±	+	+	+	+	+
	30	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	1 min	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	2	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	5	-	-	-	-	-	+	+	+	+

エンテロウイルスは親油性ウイルスに比較し、エタノールに対する抵抗性は強く、消毒用エタノールの濃度 (70~80%) においては、20℃、10秒の感作では AHC のみが不活化を受け、P-1, CB-5は不活化に90%の濃度を必要とした。CA-16, EV-71 および E-7 は90%の濃度においても不活化は認められず、同濃度における不活化には CA-16は5分、EV-71および E-7 は30秒の感作時

間を必要とした。AHC はエンテロウイルスの中では感受性が強く、50%濃度、30秒の感作で不活化を受けた。

親油性ウイルスは、アデノウイルスを除きエタノールに対する抵抗性は弱く、10秒感作において Vaccinia, Inf. が50%, NDV, HSV が30%の濃度で不活化を受けた。しかし、本ウイルス群の中で、エンベロープを持たない Ad-3 はエタノール

Table 3 Inactivation of lipophilic viruses by ethanol

Virus	Time	Concentration (%)								
		90	80	70	60	50	40	30	20	10
Adeno-3	10 sec	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	1 min	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Vaccinia	10 sec	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	30	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	1 min	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	5	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Influenza-A	10 sec	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	30	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	1 min	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	5	-	-	-	-	-	-	+	+	+
NDV	10 sec	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	30	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	1 min	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	5	-	-	-	-	-	-	-	+	+
HSV	10 sec	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	30	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	1 min	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	5	-	-	-	-	-	-	-	+	+

Table 4 Inactivation of Adeno-3 virus by ethanol at 20°C

Time	Concentration (%)							
	90	80	70	60	50	40	30	20
10 sec	+	+	+	+	+	+	+	+
30	-	+	+	+	+	+	+	+
1 min	-	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	+	+	+	+	+	+
5	-	-	+	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	+	+	+	+
15	-	-	-	-	-	+	+	+
30	-	-	-	-	-	+	+	+
60	-	-	-	-	-	+	+	+

Table 6 Inactivation of lipophilic viruses by iso-propanol

Virus	Time	Concentration (%)								
		90	80	70	60	50	40	30	20	10
Adeno-3	10 sec	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1 min	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Vaccinia	10 sec	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	30	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	1 min	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	5	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Influenza-A	10 sec	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	30	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	1 min	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	5	-	-	-	-	-	-	-	+	+
HSV	10 sec	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	30	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	1 min	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	5	-	-	-	-	-	-	-	+	+
NDV	10 sec	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	30	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1 min	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Table 7 Inactivation of Adeno-3 virus by iso-propanol

Temp.	Time	Concentration (%)								
		90	80	70	60	50	40	30	20	10
20°C	1 min	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	60	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	90	+	+	+	±	±	+	+	+	+
	120	+	-	-	-	-	+	+	+	+
	180	-	-	-	-	-	+	+	+	+

に抵抗性が強く、10秒感作では不活化を受けず、5分感作後においても70%以下の濃度には不活化が認められなかつた。

Ad-3については、Table 4 に示すように60分まで感作時間を延長して実験を行い、15分後には50%濃度まで不活化が認められた。

5°Cにおいては、メタノールの場合と同様に親油性ウイルスに比べ、エンテロウイルスに対する不活化効力の低下が著明であり、AHCを除くと80%以下の濃度では不活化は全く認められなかつた。

3. イソプロパノールの不活化作用

Table 5 に示すように、エンテロウイルスはAHCを除き、イソプロパノールの不活化作用を全く受けなかつた。AHCのみは60分の感作後に70%以上の濃度に不活化が認められた。又、AHCを除く他のエンテロウイルスは、30°C、2時間感作においても全ての濃度で不活化は認められなかつた。

5°C感作の場合には、AHCに対しても不活化作用は全く認められなかつた。

親油性ウイルスのイソプロパノールに対する感受性は、Table 6 に示すように、エンベロープの有無によつて大きく異なつた。被エンベロープウイルスの感受性は極めて強く、20°C、10秒感作で40%以下の濃度で全てのウイルスが不活化を受けた。しかし、Ad-3は5分感作では不活化を受けず、更に長時間の感作でもTable 7 に示すように、不活化効果が認められたのは50%濃度、2時間感作後であつた。30°Cにおいては著明な不活化効力の上昇が認められるが、50~70%の濃度に効力のピークが示され、80%以上の濃度には効力の低下が示された。

4. N-プロパノールの不活化作用

Table 8 に示すように、N-プロパノールはイソプロパノールと同様に、AHC以外のエンテロウイルスには全く効果が認められず、20°C、60分の感作では全ての濃度に不活化効果は示されなかつた。AHCのN-プロパノールに対する感受性は極めて強く、20°Cにおいては40%以上の濃度で10秒

の感作で不活化が認められた。しかし、5°Cにおいては、著明な不活化効力の低下が示され、80%以下の濃度には不活化効果は全く認められなかつた。

親油性ウイルスのN-プロパノールに対する感受性は強く、Ad-3を含めた全てのウイルスが、30%以下の濃度において10秒感作で不活化を受け、5°Cにおいても、不活化効力の低下は認められなかつた。

考 察

Nollら¹⁰⁾はウイルスを形態および核酸の種類とは無関係に、その表面の組成により親水性および親油性の2群に分け、Kleinら¹¹⁾はこの分類に従つて、両ウイルス群の各種消毒薬に対する感受性に、著明な差の存在することを報告している。

私達も本研究において、アルコール類の各種ウイルスに対する不活化効果について実験を行い、上記分類による両ウイルス群の間に明らかな抵抗性の違いが確認された。即ち、親油性ウイルスは本実験に用いた4種のアルコール、メタノール、エタノール、イソプロパノールおよびN-プロパノールの全てに感受性であるが、親水性ウイルス(エンテロウイルス)はAHCを除く全てのウイルスが、イソプロパノールおよびN-プロパノールに対し感受性を示さなかつた。メタノールおよびエタノールは両群の全てのウイルスに対し不活化効果を示したが、いずれもエンテロウイルスに比べ、親油性ウイルスに高い効果が認められた。

これらの成績を総合してみると、親油性ウイルスに対しては、多くのアルコール類は極めて高い不活化効果を示し、用いたアルコールでは炭素数の増加とともに不活化効果は増大し、プロパノールではN-プロパノールの効果が最大であつた。この親油性ウイルスに対する傾向は、私達が過去に細菌類に対して行つたアルコール消毒の実験成績¹¹⁾やMorton¹²⁾の報告と一致する。ただし、このグループの中でエンベロープを持たないアデノウイルスは、他の親油性ウイルスと異なり、N-プロパノール、メタノール、エタノール

の順に効果が認められ、20°Cの条件下では、イソプロパノールにはほとんど不活化効果は認められなかつた。

Klein ら¹⁾は、Adeno-2型ウイルスを50%のイソプロパノールが、室温、10分感作において不活化させたと報告しているが、私達の実験においても、30°Cの条件ではAd-3の不活化が認められた。又、エタノールに対しても本ウイルスは抵抗性が強く、消毒用エタノールの濃度(80%)では他のウイルスが10秒以内に不活化を受けるのに比べ、2分の感作時間を必要とした。

エンテロウイルスのアルコール類に対する抵抗性は一般的に高く、プロパノールには感受性を示さず、メタノールおよびエタノールのみに不活化効果が示された。この中、メタノールの効果が最も大きく、アルコールの炭素数の少いものほど高い効果が示された。しかし、AHCのみは他のエンテロウイルスとは傾向を異にし、N-プロパノール、メタノール、エタノールの順に効果が示され、イソプロパノールに対しては極めて低い感受性が示された。アルコール類に対する感受性からみる限り、AHCは同じエンテロウイルスの他のウイルス型より、むしろ親油脂性ウイルスに近い性状が認められる。しかし、5°C感作においては、N-プロパノールに対し著明な感受性の低下がみられ、20°C感作とほとんど変化のみられない親油脂性ウイルスとの間に、明確な違いが認められた。又、私達が過去に行つた各種消毒薬のウイルス不活化実験^{13,14)}においても、AHCには特異的な態度が認められ、各種の消毒薬の本ウイルスに対するindicatorとしての意義が考えられる。

今回用いたアルコール類の中、常用消毒薬としては、エタノールが酒精綿の形で広く用いられているが、この条件即ち70~80%の濃度における短時間の感作では、多くのエンテロウイルスおよびアデノウイルスには、ほとんど不活化効果は期待できない。又、イソプロパノールも経済的な理由でエタノールの代用に利用され、指針¹⁵⁾にも30~50%の濃度が指示されているが、全てのエンテロウイルスおよびアデノウイルスには、実用的には

無効と考えられる。

メタノールに関しては、Morton¹²⁾ および芝崎¹⁶⁾は微生物に対する効果は微弱であり、殺菌効果は期待できないと述べている。又、Cox ら¹⁷⁾は、インフルエンザウイルスが31%のメタノール、4°C :10時間感作後においても生残すると報告しているが、私達の実験においても、5°C感作の場合には、60%以下の濃度ではA型インフルエンザウイルスの不活化効果はみられなかつた。しかし、20°C感作においては、全てのウイルスに対しメタノールの高い不活化効果が認められ、過去に行つた各種の細菌に対する不活化実験¹¹⁾においても、60~70%以上の濃度に不活化効果を認めている。メタノールは生体試料の固定剤として常用され、消毒剤として用いられることはまれであるが、私達の行つた実験成績からは、広範囲の微生物に対する不活化効果が期待される。

消毒薬の効果判定を行う場合、細菌類に対しては、固定菌法および浮遊菌法によつて比較検討が行われている¹⁸⁾。しかし、ウイルスに対しては、現在まで指針となるべきものがなく、各研究者が独自の方法で行つている。アルコール類のウイルス不活化実験に関しても、固相法⁵⁾、浮遊法^{1-4,6-8)}の2つの方法で報告されている。エンテロウイルスは乾燥によつて失活され易く^{19,20)}、固相法により実験は困難と思われるが、今後検査法が確立され、ウイルス不活化剤としてのアルコール類の有用性が示される必要性が感じられた。

御校閲をいただきました岐阜大学医学部鈴木祥一郎教授に深甚なる謝意を表します。なお本論文の要旨は第54回日本感染症学会総会において報告した。

文 献

- 1) Klein, M. & Deforest, A.: Antiviral action of germicides. *Soap & Chemical Specialities*, 39: 70—72, 95—97, 1963.
- 2) Groupé, V., Engie, C.G., Gaffncy, P.E. & Manakker, R.A.: Virucidal activity of representative antiinfective agents against influenza A and vaccinia viruses. *Applied Microbiol.*, 3: 333—336, 1955.
- 3) Bucca, M.A.: The effect of various chemical agents on eastern equine encephalomyelitis

- virus. *J. Bact.*, 71: 491—492, 1956.
- 4) Tilley, F.W. & Anderson, W.A.: Germicidal action of certain chemicals on virus of Newcastle disease (avian pneumoencephalitis). *Vet. Med.*, 42: 229—230, 1947.
 - 5) Wright, H.S.: Test method for determining the viricidal activity of disinfectants against vesicular stomatitis virus. *Applied Microbiol.*, 19: 92—95, 1970.
 - 6) Brahm, O., Lippelt, H. und Müller, F.: Experimentelle Beiträge zur Frage der Virusinaktivierung. *Zbl. Bact. I. Abt. Orig.*, 163: 425—433, 1955.
 - 7) Kewitsch, A. und Weuffen, W.: Wirkung chemischer Desinfektionsmittel gegenüber Influenza-, Vakzinia- und Poliomyelitisvirus. *Z. Ges. Hyg.*, 16: 687—691, 1970.
 - 8) Faber, K.H. & Dong, L.: Poliocidal activity of some common antiseptics with special reference to localized paralysis. *Pediatrics*, 12: 657—663, 1953.
 - 9) 川本尋義, 三輪知恵子, 渡辺 実, 山田不二造: 岐阜における AHC について. *臨床とウイルス*, 2, 43—44, 1974.
 - 10) Noll, H. & Younger, J.S.: Virus-lipid interactions. II. The mechanism of adsorption of lipophilic viruses to water-insoluble polar lipid. *Virology*, 8: 319—343, 1959.
 - 11) 中野愛子, 藤田浩三, 藤本 進, 渡辺 実, 野田伸司, 山田不二造: 病院内感染原因微生物に対するアルコール類の効果について. *感染症誌*, 52, 30—31, 1978 (第26回日本感染症学会 東日本地方会講演抄録).
 - 12) Morton, H.E.: Alcohols. In: *Disinfection, Sterilization and Preservation*. ed. Lawrence, C.A. and Block, S.S. Verlag Lea & Febiger, Philadelphia, 237—252, 1968.
 - 13) 渡辺 実, 野田伸司, 山田不二造, 藤本 進: エンテロウイルスに対する消毒薬の効果. *岐阜衛研所報*, 20: 1—5, 1975.
 - 14) 野田伸司, 渡辺 実, 山田不二造, 藤本 進: エンテロウイルスに対するポビドンヨードの消毒効果および有機質による消毒効果の阻害について. *岐阜衛研所報*, 24: 15—21, 1979.
 - 15) 医科学研究所 学友会: *細菌学実習提要*, 改訂5版, p. 11, 丸善, 東京, 1978.
 - 16) 芝崎 勲: 薬剤による殺菌, 滅菌法・消毒法第1集, 日本医科器械学会監修, p. 149—151, 文光堂, 東京, 1974.
 - 17) Cox, H.R., van der Scheer, J., Aiston, S. & Bohnel, E.: The purification and concentration of Influenza virus by means of alcohol precipitation. *J. Immunol.*, 56: 149—166, 1947.
 - 18) 中野愛子: 消毒薬の検査法の変遷と正しい使用法. *臨床と細菌*, 5: 10—18, 1978.
 - 19) 渡辺 実: 消毒剤によるウイルスの不活化. *臨床とウイルス*, 8: 41—45, 1980.
 - 20) 国立予防衛生研究所学友会: *ウイルス実験学*. 各論, p. 169, 丸善, 東京, 1967.

Virucidal Activity of Alcohols

Virucidal Efficiency of Alcohols Against Viruses in Liquid Phase

Nobuji NODA, Minoru WATANABE & Fujizo YAMADA
Gifu Prefectural Institute of Public Health, Noishiki 4 Chome, Gifu
Susumu FUJIMOTO

Department of Hygiene Kitasato University, Sagamihara, Kanagawa

Virucidal activities of Methanol, Ethanol, Iso-propanol and N-propanol against 6 types of hydrophilic virus and 5 types of lipophilic virus which consisted of 4 types of enveloped virus and one type of Adeno virus were investigated.

Viral inactivation was determined by mixing 0.9 ml of alcohols with 0.1 ml of diluted virus. Influenza virus and Herpes simplex virus were diluted with PBS and the other viruses with distilled water. The viral titer of Adeno virus was $4^{\circ}\text{TCID}_{50}/0.1$ ml and those of other viruses were $10^{\circ}\text{TCID}_{50}/0.1$ ml. After end of test period 9 ml of PBS or distilled water were added to stop further action of alcohols.

Virucidal tests against Influenza virus were carried out by inoculating the virus into the allantoic cavity of the chick embryo and testing for viral hemagglutinins in the allantoic fluids. In case of all other viruses viral inactivation was determined by inhibition of CPE on Hela cells.

The inactivating concentrations of alcohols recorded in the tables practically denote final percentages of alcohols diluted with virus solution.

Lipophilic viruses are readily killed by all kinds of alcohols and the virucidal action increases with the increase in the number of carbon of the alcohols.

It seemed that the sensitivity of lipophilic viruses to alcohols resembled to that of vegetative forms of bacteria. But in this group, Adeno virus which was no envelope, revealed rather strong resistance to ethanol and iso-propanol which required 120 minutes to inactivate it at 20°C.

Hydrophilic viruses are relatively resistant to alcohols and are inactivated only by methanol and ethanol. These two alcohols revealed virucidal action decreased with the increase of the number of carbon of alcohols on the contrary to lipophilic ones. It was recognized, however, AHC virus had less resistancy to alcohols and easily killed by n-propanol. We have observed in the past that the reaction of AHC virus to several germicides was different from other types of Enteroviruses, and in this report too, AHC virus showed different attitude to alcohols.
