

イメディカ 株式会社 様

試験報告書

洗浄剤「エコノミックプロ」による
大腸菌に対する殺菌効力試験

北生発 2015_0261 号

2015 年 11 月 20 日

神奈川県相模原市南区北里 1 丁目 15 番 1 号
一般財団法人 北里環境科学センター
理事長 伊藤 俊洋

試験内容を公表する際は、結果の表記等について専門的な立場から確認させていただいております。なお、確認目的と申込様式は、ホームページに収載しております。
(http://www.kitasato-re.or.jp/?page_id=87)

1. 試験目的

洗浄剤「エコミックプロ」希釈液の、大腸菌に対する殺菌効力を確認することを目的とした。尚、本試験は、試験品の基本的な殺菌効果を調べる試験系として、試験品希釈液に直接菌液を接種する方法を用いた。

2. 依頼者

名称：イメディカ 株式会社

所在地：〒350-0042 埼玉県川越市中原町 2-7-8

3. 試験機関

名称：一般財団法人 北里環境科学センター

所在地：〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1

担当：微生物部バイオ技術課

4. 試験期間

2015年11月17日～2015年11月19日

5. 試験品および試験液

1) 試験品

洗浄剤「エコミックプロ」, 2015年10月5日受領

(貴社情報: *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus megaterium* 等が原液中に合計 10^7 CFU/mL 程度含まれる)

2) 試験液

1) の試験品を 10% および 1% に希釈し、これらを試験液とした。

6. 試験条件

1) 作用時間：0 (初期, 対照のみ)、5分、60分

2) 作用温度：25 ± 2 °C

7. 使用培地および試薬

1) 培地

① Tryptic Soy Agar (Difco, 以下、TSA と記載)

② SCDLP ブイヨン培地 (栄研化学, 以下、SCDLP と記載)

③ XM-G 培地 (日水製薬, 以下、XM-G と記載)

2) 試薬

① 塩化ナトリウム (和光純薬工業, 以下、0.85%溶液を生理食塩液と記載)

- ② 塩化カルシウム二水和物（和光純薬工業，硬水調製用）
- ③ 塩化マグネシウム六水和物（和光純薬工業，硬水調製用）
- ④ 大塚蒸留水（大塚製薬，日本薬局方 注射用水，硬水調製用，以下、蒸留水と記載）

8. 試験菌と菌液の調製方法

1) 試験菌

Escherichia coli NBRC3972（大腸菌）

2) 菌液の調製

凍結保存された菌株を TSA に接種して 36 ± 2 °C で 18 時間培養後、発育集落を滅菌イオン交換水に懸濁して約 10^7 CFU/mL になるように調製し、これを試験菌液とした。

9. 試験方法

1) 試験液の調製

JIS 硬水（JIS K 3362 の 3 °DH 硬水， CaCO_3 換算で 53.58 mg/L）で 10 倍、100 倍希釈し、これを試験液とした。

2) 殺菌効力試験

殺菌効力試験は以下の手順により行った。

50 mL 容量の遠心管に試験液 10 mL を分取し、 25 ± 2 °C に保持した。そこへ試験菌液 0.1 mL を加え、試験管ミキサーで混合して 0（初期）、5 分間、60 分間作用させた。所定時間作用後、1 mL を不活性化剤^{※1} 9 mL に添加して、試験菌に対する殺菌作用を停止させ、これを菌数測定用試料液とした。作用時間 0（初期）および対照は、試験液の代わりに生理食塩液を用いた。

※1: 不活性化剤として有効性を確認した SCDLP を用いた。試験品の不活性化剤としての有効性確認試験手順と結果を最終 13 項に示した。

3) 菌数測定

菌数測定用試料液を原液として、生理食塩液で 10 倍段階希釈列を作製し、試料液原液および希釈液の各 1 mL をシャーレに移し、XM-G 約 20 mL と混合、固化させて 37 ± 1 °C で 18 時間培養した。培養後、培地上に発育した集落を数えて、試験液 1 mL あたりの試験菌数を求めた（定量下限値 10 CFU/試験液 1 mL）。

4) 菌数対数減少値の算出

対照の初期菌数と試験液の試験菌数から、下記式を用いて菌数対数減少値（=LRV）：

log reduction value) を算出した。尚、LRVは小数点以下 1 桁 (切り捨て) で表記した。

LRV (菌数対数減少値) : $\log_{10}(\text{対照の初期菌数} \div \text{試験液の菌数})$

10. 試験結果

大腸菌に対する殺菌効力試験結果を表-1 および図-1 に示した。初期菌数は 4.2×10^5 CFU/mL (以下、/mL省略) であった。試験液「10倍希釈液」は作用 5 分間で 4.4×10^3 CFU (LRV: 1.9 \log_{10})、作用 60 分間で 3.0×10^3 CFU (LRV: 2.1 \log_{10}) となった。試験液「100倍希釈液」は作用 5 分間で 2.8×10^5 CFU (LRV: 0.1 \log_{10})、作用 60 分間で 1.6×10^5 CFU (LRV: 0.4 \log_{10}) となった。

また、培養後の培地を写真-1 に示した。

11. コメント

本試験は、洗浄剤「エコノミックプロ」希釈液による、大腸菌に対する殺菌効力を評価した。

抗菌試験¹⁾においては、素材の抗菌効果の判定基準として抗菌活性値が 2.0 以上、消毒薬などの欧州標準試験法²⁾による消毒効果は 5 \log_{10} 以上の LRV をもって“効力あり”と規定している。本試験では前記基準には適合しないが、試験液「10倍希釈液」は試験菌に対して 5 分間作用で 1.9 \log_{10} の LRV を示しており、2.0 には若干満たないが、殺菌効果ありと判断した。なお、試験液「100倍希釈液」は最大作用時間 60 分間作用においても、LRV は 0.4 \log_{10} となり、殺菌効力は認められなかった。

本試験は、試験品の基本的な殺菌効果を調べる試験系であり、有機物負荷の無い条件である。通常微生物は有機物 (炭水化物、油脂、タンパク質などの栄養有機物や唾液、鼻汁、糞便、吐しゃ物等) と一緒に存在する。そのため今後の試験としては、有機物を負荷した EN 1276:2009 に準拠した効力試験や、実生活使用モデルに対する効果の検証が望まれる。

以上

12. 参考試験 - 参考文献

- 1) JIS Z 2801:2012
- 2) EN 1040:2005 または 1276:2009

表-1 各試験液による大腸菌に対する殺菌効力試験結果

試験液	作用時間			LRV ^{※2}	
	0分(初期)	5分	60分	5分	60分
対照 (生理食塩液)	4.2×10^5	3.8×10^5	3.6×10^5	0.0	0.0
洗浄剤「エコミックプロ」 10倍希釈液		4.4×10^3	3.0×10^3	1.9	2.1
洗浄剤「エコミックプロ」 100倍希釈液		2.8×10^5	1.6×10^5	0.1	0.4

試験菌: *Escherichia coli* NBRC3972 (大腸菌)

単位: CFU/mL

定量下限値: 10 CFU/mL

※2: LRV (菌数対数減少値) : \log_{10} (対照の初期菌数 \div 試験液の菌数)

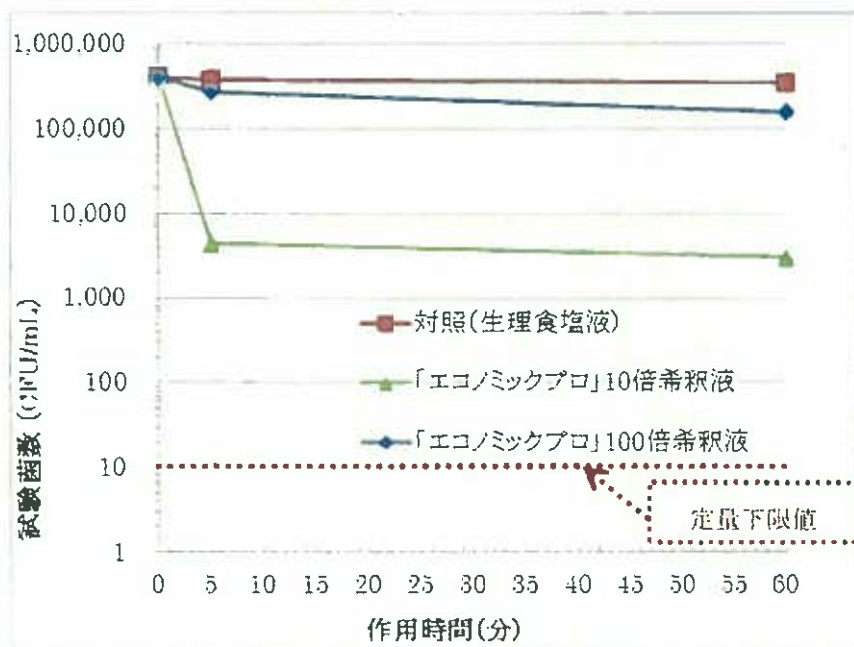


図-1 各試験液による大腸菌に対する殺菌効力試験結果

13. 不活性化剤の有効性確認試験

1) 目的

試験液による試験菌に対する殺菌作用を停止させる目的で使用する不活性化剤の有効性を確認した。なお、試験液には最も高濃度である 10 倍希釈液を用いた。

2) 方法

不活性化剤 (SCDLP) 9 mL に試験液 1 mL を加え混合した (試験液 10 倍希釈)。これに約 $10^{3\sim4}$ CFU/mL の菌液を 0.1 mL 接種し、常温で 20 分間作用させた後、この混合液の菌数を測定した。

なお、対照として、試験液のかわりに蒸留水を用いた。

不活性化剤の有効性は、第十六改正日本薬局方 4.05・I-3.5 に準拠し、下記判定基準によって判定した。

判定基準： B (不活性化剤処理後の菌数) / A (対照の菌数) $\times 100 = 50 \sim 200\%$ 以内

3) 結果

試験結果を表-2 に示した。対照との菌数の比率は 79 % であり、13.2) 項に示した判定基準以内であった為、不活性化剤は試験液に対して有効と判定した。

表-2 不活性化剤の有効性確認試験結果

使用不活性化剤 (試験液希釈率)	菌数 (CFU/mL)		(A)との比 ^{※3} (%)	有効性の 判定結果 ^{※4}
	対照 (A)	不活性化剤 (B)		
SCDLP (10倍)	1.2×10^2	9.5×10^1	79	有効

※3: $B/A \times 100$

※4: 第十六改正日本薬局方により判定基準を 50~200%以内とした


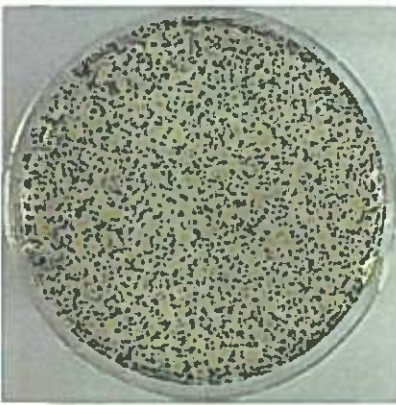
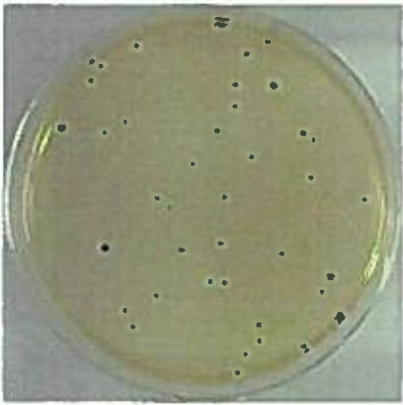



試験液名	作用時間	
	5分	60分
対照 (生理食塩液)		
洗浄剤「エコミックプロ」 10倍希釈液		
洗浄剤「エコミックプロ」 100倍希釈液		

写真-1 各試験液による大腸菌に対する殺菌効力試験結果

[9項3) 菌数測定用試料液の10倍希釈列の培養後培地, 青色コロニー: 試験菌]