

新時代化学 株式会社 様

試験報告書

「次亜塩素酸系〔ウイルス・細菌〕除菌剤 コレスゴ！」

による各種細菌に対する殺菌効力試験

北生発 26_0065 号

平成 26 年 7 月 10 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、ホームページに掲載しております。

(http://www.kitasato-e.or.jp/?page_id=87)

1. 試験目的

「次亜塩素酸系〔ウイルス・細菌〕除菌剤 コレスゴ!」溶解液（有効塩素濃度 105 mg/L, pH6.5）の、各種細菌に対する殺菌効力を確認することを目的とした。尚、試験菌種には、食中毒および院内感染原因菌の計 5 菌種を用いた。

2. 依頼者

名称：新時代化学 株式会社

所在地：〒680-1441 鳥取県鳥取市良田 401-1

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

平成 26 年 7 月 1 日～平成 26 年 7 月 7 日

5. 試験品と試験水の調製

1) 試験品

「次亜塩素酸系〔ウイルス・細菌〕除菌剤 コレスゴ!」

ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム、硫酸ナトリウム等を含む混合粉末の分包タイプ。

2) 試験水の調製

試験品 2 包（1 包薬剤約 1.24 g）を、JIS K3362, 3° DH 硬水（CaCO₃換算 53.58 mg/L, 以下、硬水と記載）1 L に溶解し、有効塩素濃度が 90～110 mg/L となるように硬水で調整して、これを試験水とした。調製後の試験水は、試験前に有効塩素濃度および pH を測定した。

6. 試験条件

1) 作用時間：0（初期）、5 分

2) 作用温度：25 ± 2 °C

7. 試験菌と菌液の調製方法

1) 試験菌

① *Escherichia coli* (O157 : H7) RIMD509939（腸管出血性大腸菌 O157）

② *Salmonella enterica* subsp. *enterica* NBRC3313（サルモネラ）

- ③ *Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711 (腸炎ビブリオ)
- ④ *Staphylococcus aureus* (MRSA) IID1677 (メチシリン耐性黄色ぶどう球菌)
- ⑤ *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) GTC14659 (多剤耐性緑膿菌)

2) 菌液の調製

凍結保存された菌株を Tryptic Soy Agar (Difco, 以下、TSA と記載) で 36 ± 2 °C、24 時間培養した。この培養菌を新たな TSA で 36 ± 2 °C、18 時間培養した。発育した集落をかき取り、滅菌イオン交換水に懸濁し、約 10^7 CFU/mL に調製して試験に供した。尚、試験菌③は、培地に 3% NaCl・TSA、懸濁液に 3% NaCl 溶液を用いた。

8. 試験方法

1) 試験水の調製

スターラーバーを入れた 2 L 容量の三角フラスコに、予め 25 ± 2 °C にしておいた硬水 1 L を入れ、ここに試験品 2 包を添加し、スターラーを用いて 10 分間攪拌・溶解したものを試験水とした。試験水の有効塩素濃度を測定し、90~110 mg/L となるように硬水で希釈した。

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水 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) および陰性対照は、試験水の代わりに滅菌生理食塩液を用いた。尚、試験菌③は、3% NaCl 溶液を用いた。

※1; 不活性化剤として有効性を確認した 0.3% チオ硫酸ナトリウム添加 SCDLP 培地 (栄研化学) を用いた。尚、試験菌③は、当培地に 3% NaCl を添加して用いた。試験水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 12 項に示した。

3) 菌数測定

菌数測定用試料液を原液として、滅菌生理食塩液で 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、TSA 約 20 mL と混合、固化させて 36 ± 2 °C で 48 時間培養した。尚、試験菌③は希釈液に 3% NaCl 溶液、培地には 3% NaCl・TSA を用いた。培養後、培地上に発育した集落を数えて、試験水 1 mL あたりの試験菌数を求めた (検出限界値 10 CFU/試験水 1 mL)。

4) 有効塩素濃度およびpH測定

試験前に試験水の有効塩素濃度をハンディ水質計AQUAB AQ-102（柴田化学, ヨウ素試薬による吸光光度法）で、pHをCOMPACT pH METER（HORIBA, B-212ガラス電極法）で測定した。

9. 試験結果

試験水の有効塩素濃度およびpHの測定結果を表-1に、各種細菌に対する試験結果を表-2～-6に示した。また、培養後の培地上に発育した集落写真を、写真-1および-2に示した。

試験結果より、「次亜塩素酸系〔ウイルス・細菌〕除菌剤 コレスゴ!」溶解液（有効塩素濃度 105 mg/L, pH6.5）は、全ての試験菌に対して5分間の作用で、試験菌数を検出限界値未満（<10 CFU/mL）まで減少させた。尚、全ての試験菌における所定時間作用後の対照菌数は、初期菌数から大きな変動はなく、試験系に問題がないことを確認した。

10. コメント

本試験では、「次亜塩素酸系〔ウイルス・細菌〕除菌剤 コレスゴ!」溶解液（有効塩素濃度 105 mg/L, pH6.5, 以下、試験水と記載）の食中毒および院内感染原因菌に対する殺菌効力を確認した。

その結果試験水は、全ての試験菌に対して、5分間の作用で、試験菌数を検出限界値未満まで減少させる効果を認めた。

本試験品の主成分であるジクロロイソシアヌル酸ナトリウム（以下、SDIと記載）は、水溶液中で加水分解を受け、殺菌力の強い次亜塩素酸（HClO）を生成し、細胞膜や細胞の蛋白質、酵素等のSH基等を酸化することにより、これらを破壊あるいは阻害して殺菌効力を示すとされる¹⁾。

SDIや次亜塩素酸ナトリウム溶液といったハロゲン系殺菌剤は、有機物により効果が急激に減弱することが知られているが、SDIは次亜塩素酸ナトリウム溶液と比較すると、有機物の共存による有効成分の消失は少ないと言われている²⁾。

本試験は、試験水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。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。また本試験水が次亜塩素酸ナトリウム溶液と同等またはそれ以下の濃度でも殺菌効力が認められ、有用性の高い消毒剤であることを確認するために、比較対象品として次亜塩素酸ナトリウム溶液を用い、殺菌消毒剤等に抵抗性の強い芽胞等を用いた試験も検討することを提案する。

11. 参考文献

- 1) 防菌防黴剤事典, 防菌防黴剤事典出版委員会編, p137

- 2) 休波 茂子ら, 消毒剤ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムの Biofilm 形成緑膿菌およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対する *In vitro* 抗菌力ならびに消毒効果, 環境感染, 1998, 13, 3:195-199

以上

表-1 試験水の有効塩素濃度および pH の測定結果

有効塩素濃度 (mg/L) ※ ²		pH ※ ³	
設定値	調整後	設定値	調整後
90~110	105	約 7	6.5

※² ; ハンディ水質計 AQUAB AQ-102

(柴田科学, ヨウ素試薬による吸光光度法, 測定範囲 0~300 mg/L)

※³ ; COMPACT pH METER, B-212 (HORIBA, ガラス電極法)

表-2 腸管出血性大腸菌 O157 に対する殺菌効力試験結果

試験条件	作用時間		LRV ^{※4}
	0(初期)	5分	5分
試験水 (105 mg/L, pH6.5)	/	<10	>4.4
対照 (生理食塩液)	2.7×10^5	2.6×10^5	/

試験菌：*Escherichia coli* (O157 : H7) RIMD509939

菌数単位：CFU/試験水 1 mL

検出限界値：10 CFU/mL

表-3 サルモネラ に対する殺菌効力試験結果

試験条件	作用時間		LRV ^{※4}
	0(初期)	5分	5分
試験水 (105 mg/L, pH6.5)	/	<10	>4.7
対照 (生理食塩液)	5.2×10^5	6.0×10^5	/

試験菌：*Salmonella enterica* subsp. *enterica* NBRC3313

菌数単位：CFU/試験水 1 mL

検出限界値：10 CFU/mL

表-4 メチシリン耐性黄色ぶどう球菌 に対する殺菌効力試験結果

試験条件	作用時間		LRV ^{※4}
	0(初期)	5分	5分
試験水 (105 mg/L, pH6.5)	/	<10	>3.8
対照 (生理食塩液)	1.2×10^5	7.1×10^4	/

試験菌：*Staphylococcus aureus* (MRSA) IID1677

菌数単位：CFU/試験水 1 mL

検出限界値：10 CFU/mL

※4；LRV（菌数対数減少値）： \log_{10} （5分作用後の対照の菌数÷試験水の菌数）

表-5 多剤耐性緑膿菌 に対する殺菌効力試験結果

試験条件	作用時間		LRV ^{※4}
	0(初期)	5分	5分
試験水 (105 mg/L, pH6.5)	/	<10	>4.0
対照 (生理食塩液)	1.3×10^5	1.2×10^5	/

試験菌 : *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) GTC14659

菌数単位 : CFU/試験水 1 mL

検出限界値 : 10 CFU/mL

表-6 腸炎ビブリオ に対する殺菌効力試験結果

試験条件	作用時間		LRV ^{※4}
	0(初期)	5分	5分
試験水 (105 mg/L, pH6.5)	/	<10	>4.7
対照 (3% NaCl 溶液)	5.3×10^5	6.2×10^5	/

試験菌 : *Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711

菌数単位 : CFU/試験水 1 mL

検出限界値 : 10 CFU/mL

※4 ; LRV (菌数対数減少値) : \log_{10} (5分作用後の対照の菌数 ÷ 試験水の菌数)

12. 不活性化剤の有効性確認試験

1) 目的

試験水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。

2) 方法

不活性化剤 (0.3%チオ硫酸ナトリウム添加 SCDLP 培地および当培地に 3%NaCl 添加した培地) 9 mL に試験水 1 mL を加え混合した (試験水 10 倍希釈)。これに約 $10^{3\sim 4}$ 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。

尚、対照として、試験水のかわりに滅菌蒸留水 (大塚製薬) 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






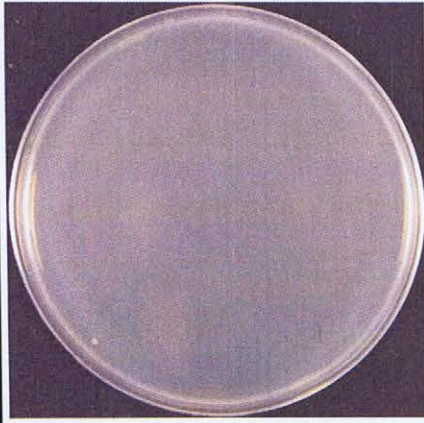
試験結果を表-7 に示した。対照との菌数の比率は 91~104% であり、12. 2) 項に示した判定基準以内であった為、各不活性化剤は試験水に対して有効と判定した。

表-7 不活性化剤の有効性確認試験結果

試験菌	使用不活性化剤 (試験水希釈率)	菌数 (CFU/mL)		(A)との比 ^{※5} (%)	有効性の 判定結果 ^{※6}
		対照 (A)	不活性化剤 (B)		
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	0.3%チオ硫酸Na 添加SCDLP培地 (10倍)	1.0×10^2	1.1×10^2	91	有効
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>		2.2×10^2	2.1×10^2	95	有効
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)		4.5×10^1	4.2×10^1	93	有効
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (MDRP)		1.0×10^2	1.0×10^2	100	有効
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.3%チオ硫酸Na・ 3%NaCl 添加SCDLP培地 (10倍)	2.7×10^2	2.8×10^2	104	有効

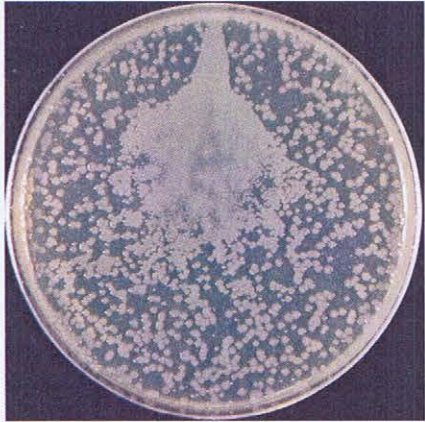
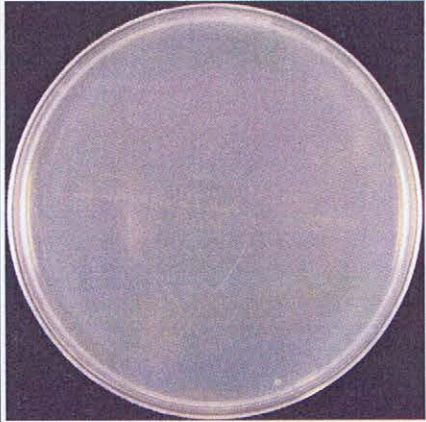

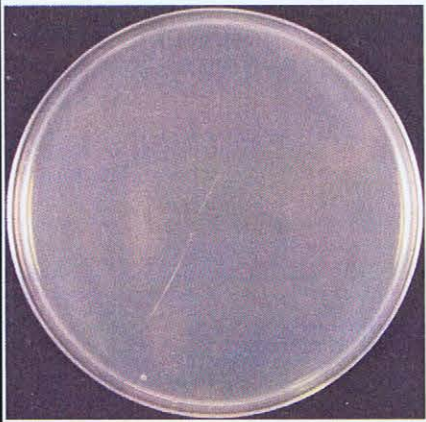
※5 ; B/A × 100

※6 ; 比率が 50～200%以内で有効と判定した (第十六改正日本薬局方)

試験菌名	作用時間 5 分後	
	対照	試験水 ^{※7}
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)		
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)		

※7 ; 「次亜塩素酸系〔ウイルス・細菌〕除菌剤 コレスゴ!」溶解液
(有効塩素濃度 105 mg/L, pH6.5)

写真-1

試験菌名	作用時間 5 分後	
	対照	試験水 ^{※7}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (MDRP)		
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		

※7 ; 「次亜塩素酸系 [ウイルス・細菌] 除菌剤 コレスゴ！」溶解液
(有効塩素濃度 105 mg/L, pH6.5)

写真・2