

株式会社 E・テック 殿

試験報告書

「アルタント」による芽胞に対する殺菌効力試験

北生発 2017_0161 号

2017 年 9 月 14 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。尚、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. 目的

貴社提供「アルタント」による芽胞に対する殺菌効果を調べた。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、試験品に直接菌液を接種する方法を用いた。

2. 依頼者

名 称：株式会社 E・テック

所在地：〒650-0045 兵庫県神戸市中央区港島 9-1 神戸インキュベーションオフィス 316

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

2017年9月4日～2017年9月6日

5. 試験品（貴社提供）

1) 「アルタント」

2) IPA(対照品)

各試験品は原液を試験に供した。

6. 試験条件

1) 作用時間：0(初期, 対照のみ)、15 秒、1 分間、5 分間

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)

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 チオ硫酸ナトリウム (和光純薬工業, 一級)

8. 試験菌および試験菌液の調製

1) 試験菌

Bacillus subtilis ATCC6633

(CROSSTEX 社製芽胞液, Lot. SB009, 1.4×10^9 CFU/mL)

2) 試験菌液の調製

芽胞液を約 10^8 CFU/mL になるように滅菌イオン交換水で希釈し、これを試験菌液とした。

9. 試験方法

1) 殺菌効力試験

50 mL 容量の遠心管に試験品 10 mL を分取した。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)、15 秒、1 分間、5 分間 25 ± 2 °C で作用させた。所定時間作用後、試験品 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、試験品の代わりに滅菌生理食塩液を用いた。

※1：有効性を確認した 0.05%チオ硫酸ナトリウム加SCDLP (以下、試薬加SCDLP と記載) 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。

2) 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 と混合後、固化させて 36 ± 2 °C で 42 時間培養した。培養後の発育集落を数えて、試験品 1 mL あたりの試験菌数を求めた (定量下限値：10 CFU)。

3) 菌数対数減少値の算出

対照の初期菌数と試験品の試験菌数から、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 (小数点以下 2 桁目を切り捨て) で表記した。

$$\text{LRV (菌数対数減少値)} : \log_{10} (\text{対照の初期菌数} \div \text{試験品作用後の菌数})$$

10. 試験結果

試験結果を表 1 に示した。

試験結果より、「アルタント」は *Bacillus subtilis* の芽胞に対して、作用時間 1 分で 6.8×10^4 CFU/mL (LRV 1.3)、作用時間 5 分で定量下限値未満 (<10 CFU/mL, LRV > 5.2) まで菌数が減少した。

一方、対照品である IPA は作用時間 5 分でも初期菌数から変動しなかった。

参考として、培養後の培地を写真 1 に示した。写真は、試料原液を培養後のシャーレ

を撮影した。

11. コメント

本試験は、貴社提供「アルタント」の芽胞に対する殺菌効力を評価した。第 17 改正日本薬局方の消毒剤の評価試験方法¹⁾では、消毒剤作用前後における菌数対数減少値が、芽胞では 2 以上の LRV をもって“効力あり”と規定している。そこで、本試験では LRV が 2 以上となった場合に、殺菌効果ありと判断した。試験の結果、「アルタント」を作用させることで作用時間依存的に菌数が減少し、作用時間 5 分で LRV が >5.2 となり、殺菌効果が認められた。

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) 第 17 改正日本薬局方, 参考情報 消毒法及び除染法, 2414-2416.
- 2) EN 1276 : 2009.

表 1. 試験品の *Bacillus subtilis* (芽胞) に対する殺菌効果

試験条件	作用時間				LRV ^{※2}		
	0 (初期)	15秒	1分	5分	15秒	1分	5分
対照 (生理食塩液)	1.7×10^6	1.6×10^6	1.5×10^6	1.4×10^6	—	—	—
①「アルタント」	/	4.8×10^5	6.8×10^4	<10	0.5	1.3	>5.2
② IPA (対照品)	/	1.5×10^6	1.4×10^6	1.5×10^6	—	—	—

試験菌 : *Bacillus subtilis* ATCC6633

(CROSSTEX 社製芽胞液, Lot. SB009, 1.4×10^9 CFU/mL)

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 ÷ 試験品作用後の菌数)

LRV は小数点以下 2 桁目を切り捨て、また LRV が 0 以下の場合「—」と表記した


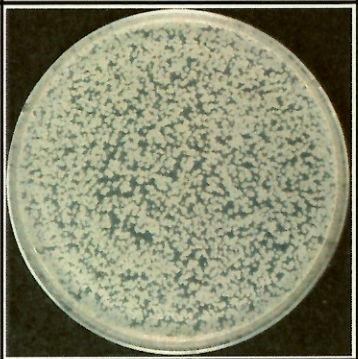
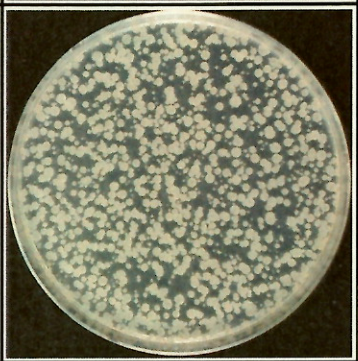
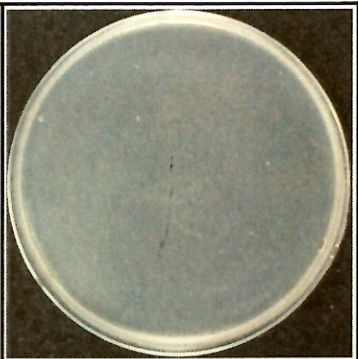


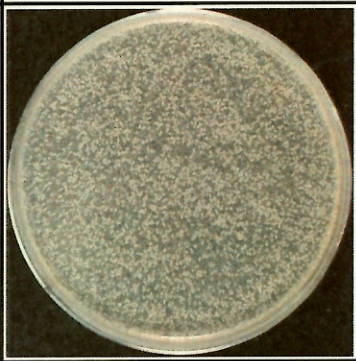
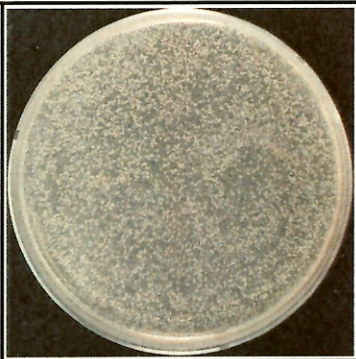
試験品名	作用時間			
対照 (生理食塩液)	0 (初期)	15秒	1分	5分
① 「アルタント」				
② IPA (対照品)				

写真 1. 試験品の *Bacillus subtilis* (芽胞) に対する殺菌効果 (試料液原液)

13. 不活性化剤の有効性確認試験

1) 目的

試験品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（試薬加 SCDLP）9 mL に試験品 1 mL を加え混合した。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、試験品のかわりに滅菌水を用いた。不活性化剤の有効性は、第十七改正日本薬局方 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。対照菌数との比率は 92~116% であり、13. 2) 項に示した判定基準以内であった為、不活性化剤は試験品に対して有効と判定した。

表 2. 試験品に対する不活性化剤の有効性

試験品	使用不活性化剤 (試験品希釈率)	菌数 (CFU/mL)		Aに対する 比率 ^{※3} (%)	有効性の 判定結果 ^{※4}
		対照 (A)	不活性化剤 (B)		
①「アルタント」	試薬加SCDLP (10倍)	3.8×10^1	3.5×10^1	92	有効
②IPA (対照品)			4.4×10^1		

※3 : $B/A \times 100$

※4 : 比率が 50~200% 以内で有効と判定した (第十七改正日本薬局方)