〈報 告〉

複合型塩素系除菌・洗浄剤の各種病原微生物に対する有効性

小倉 憂也¹⁾・小澤 智子¹⁾・野島 康弘²⁾・菊野理津子¹⁾*Antimicrobial Efficacy of Complex-Type Chlorine-Based Disinfectant Cleaner Against Several Pathogenic Microorganisms*Yuya OGURA¹⁾, Tomoko OZAWA¹⁾, Yasuhiro NOJIMA²⁾ and Ritsuko KIKUNO¹⁾¹⁾Department of Microbiology, ²⁾Department of Virology, Kitasato Research Center for Environmental Science

(2015年4月30日 受付・2015年7月28日 受理)

要 旨

本研究では、ペルオキソー硫酸水素カリウムを主成分とする環境除菌・洗浄剤(RST)の有効性について、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、多剤耐性緑膿菌(MDRP)、ノロウイルス代替のネコカリシウイルス(FCV)およびC型肝炎ウイルス代替のウシウイルス性下痢症ウイルス(BVDV)を対象として評価した。懸濁試験において、1%RSTは、0.03%ウシ血清アルブミンを負荷物質とした試験条件では1分間の作用時間で、MRSA、MDRPに対して4 log₁₀以上の殺菌効果を示し、またFCVに対し4 log₁₀以上のウイルス不活化効果を示した。1分間作用の懸濁試験による評価において有効塩素濃度が同じ次亜塩素酸ナトリウム(NaOCl)よりもRSTはウイルス不活化効果が高かった。浸漬試験においてはキャリアに付着させたBVDVに対して0.1%NaOClは0.9 log₁₀の、また1%RSTでは3.3 log₁₀の減少であった。また、試験薬含浸ワイプによる拭き取り試験では、1%RST含浸ワイプは、FCVに対し4.5 log₁₀以上の除去効果を示した。これらの結果からRSTは、病院環境における日常の衛生管理において、選択肢の一つになり得る製剤であることが示唆された。

Key words : ペルオキソー硫酸水素カリウム, メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA), 多剤耐性緑膿菌(MDRP), ネコカリシウイルス(FCV), ウシウイルス性下痢症ウイルス(BVDV)

はじめに

病院環境には多くの微生物が存在する。なかでも易感染者に対して医療関連感染を引き起こすメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, 以下 MRSA)やノロウイルスに対する対策は医療施設において重要な課題である。これらの微生物を制御するために様々な消毒薬または除菌・洗浄剤などを用いた環境整備が行われている。CDC ガイドラインでは環境消毒において中水準または低水準消毒薬が推奨されており¹⁾, 次亜塩素酸ナトリウム(NaOCl)は広い抗微生物スペクトラムを有することから汎用されている。しかし, NaOCl には金属腐食性や刺激を伴う塩素臭など、

日常的な環境整備に使用するには課題がある。環境衛生に使用される消毒薬としては、次亜塩素酸ナトリウムの他に、アルコール製剤や第四級アンモニウム塩製剤等が挙げられる。アルコール製剤は広い抗微生物作用を示すが、速乾性であるため十分な微生物との接触時間が確保できない可能性があり、エンベロープを有さないウイルスには作用が低いとされる。さらにタンパク質を固着させることや可燃性があること、アクリル等の各種樹脂を劣化させやすいことといったデメリットもある。また、第四級アンモニウム塩製剤は使用対象の材質や使用場所の制限は少ない反面、抗微生物スペクトラムが狭いなど、各々の製剤に一長一短がある。そのため医療機関における日常の衛生管理においては、環境微生物に対する作用に優れ、安全性が高く、かつ材質適合性に優れた製

北里環境科学センター ¹⁾微生物部, ²⁾ウイルス部

剤が望まれている。

ペルオキソ一硫酸水素カリウムを主成分とする環境除菌・洗浄剤は界面活性剤等を含有する複合型塩素系除菌・洗浄剤である。水溶液中ではペルオキソ一硫酸水素カリウムが含有成分の塩化ナトリウムを酸化し、一連の過程で生じた次亜塩素酸(HClO)が強力な抗微生物作用を発揮するとされる。アメリカにおいては、米国環境保護庁(Environmental Protection Agency, 以下 EPA)では、多剤耐性菌やノロウイルス対策製剤(VIRKON®, Dupont, 以下 VK)として登録され²⁾、次亜塩素酸ナトリウム製剤と同様に、療養環境等の衛生管理に使用されている。本邦では、2012年7月より環境除菌・洗浄剤(ルビスタ®, 以下 RST)として発売が開始され、療養環境の衛生管理に活用が可能となった。一般的に環境中に存在している微生物は有機物と混在しており、消毒剤の使用においては洗浄による十分な有機物の除去が必要とされるが、RSTは界面活性剤を含有しているため洗浄作用も期待でき、療養環境の衛生管理に適した製剤と考えられる。

VKの病原微生物に対する有効性は、多くの細菌およびウイルスに対する抗微生物効果が報告されているが、5分間以上の作用時間における検証であり、日本国内の医療現場で望まれている短時間での消毒効果を検証されたものではなかった。また、RSTは、日本においては医療施設の高頻度接触面の清拭に使用されていることから、使用方法を考慮した短時間における有効性を確認することが必要と考えられた。

本研究では、医療関連感染の対策が重要と考えられる起因微生物として、MRSA、多剤耐性緑膿菌(multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*, 以下 MDRP)、ヒトノロウイルス(代替ウイルスとしてネコカリシウイルス, feline calicivirus, 以下 FCV)およびC型肝炎ウイルス(代替ウイルスとしてウシウイルス性下痢症ウイルス, bovine viral diarrhea virus, 以下 BVDV)を対象として、懸濁試験、浸漬試験および清拭試験にて医療関連感染の原因微生物に対するRSTの有効性を検討した。

材料と方法

1. 試験薬剤の調製

1) 試験薬剤

本研究では、ペルオキソ一硫酸水素カリウムを主成分とする環境除菌・洗浄剤(RST, キョーリンメディカルサプライ㈱)の他、比較試験薬として10%次亜塩素酸ナトリウム液(以下 NaOCl, 和光純薬㈱)、30%過酸化水素水(和光純薬㈱, 以下 H₂O₂)、10%塩化ベンザルコニウム(以下 BZC, 和光純薬㈱)、日本薬局方消毒用エタノール(以下 EtOH, 和光純薬㈱)を用いた。

2) 懸濁試験(欧州標準法(EN法)^{3,4)}に準じた微生物懸濁液に対する試験)

試験薬剤として、RST 1錠(5g)を滅菌蒸留水(大塚製薬㈱)400 mLに溶解して1.25 w/v% RST 溶液(終濃度1%)を調製し、試験に使用した。また、調製後25℃にて遮光で7日間保管して試験に使用した。各比較試験薬であるNaOClは0.125 v/v%(終濃度0.1%)、H₂O₂は0.625 v/v%(終濃度0.5%)およびBZCは0.125 v/v%(終濃度0.1%)になるよう滅菌蒸留水で調製して試験に使用した。EtOHは市販品を希釈せずそのまま使用した(終濃度61.5%~65.1%)。

3) 浸漬試験(米国 AOAC 法⁵⁾に準じた微生物固着試験片に対する試験)

試験薬剤として、RST 1錠(5g)を滅菌 JIS 硬水⁶⁾(CaCO₃ 換算で53.58 mg/L)500 mLに溶解し1 w/v% 溶液を調製して試験に使用した。各比較試験薬であるNaOClは0.1 v/v%, H₂O₂は0.5 v/v%およびBZCは0.1 v/v%になるよう JIS 硬水で調製して試験に使用した。EtOHは市販品を希釈せずそのまま使用した。

4) 清拭試験(一般社団法人日本衛生材料工業連合会「ウェットワイパー類の除菌性能試験方法」⁷⁾に準じた試験)

試験薬剤として、RST 1錠(5g)を滅菌蒸留水 500 mLに溶解し1 w/v% 溶液を調製し、環境清拭用ルビスタワイプ(以下、ワイプ, 杏林製薬㈱)1枚あたり5 mL 含浸させた「RST 含浸ワイプ」を試験に使用した。また対照としてRSTの代わりに滅菌蒸留水5 mLを含浸させたワイプを使用した。

2. 細菌、ウイルス、汚濁物質および不活化培地の調製

1) 細菌およびウイルス試験液の調製

試験には、MRSA として *Staphylococcus aureus* IID1677, MDRP として *Pseudomonas aeruginosa* GTC14659, FCV として feline calicivirus, F-9, ATCC® VR-782™, BVDV として bovine viral diarrhea virus, NADL, ATCC® VR-549™を使用した。

懸濁試験に用いる MRSA および MDRP は Tryptic Soy Agar(Difco, 以下 TSA)で36±1℃, 21時間培養した。この培養菌を新たな TSA に移植して、36±1℃, 20時間培養した。発育した集落をかき取り、0.1% Trypton 加生理食塩水に懸濁して、それぞれ細菌液とした。

浸漬試験に用いる MRSA および MDRP は TSA で36±2℃, 18~24時間培養した。発育した集落を1白金耳掻き取り、10 mL の Tryptic Soy Broth(Difco, 以下 TSB)に接種して、36±2℃で22~26時間培養した。さらに同培地20 mLに培養液10 μLを添加し、36±2℃で48~54時間静置培養して、ろ過した液を細菌液とし

た。

FCV はネコ腎臓由来細胞(CRFK: crandell-rees feline kidney)に感染させ、細胞培養面積の約 90%以上が細胞変性作用(CPE: cytopathic effect)を示した時に培養液を回収し凍結融解操作を行った後、 $2,380 \times g$ で 10 分間遠心した上清を限外ろ過膜で濃縮した後、超遠心法で精製してウイルス試験液とした。BVDV はウシ腎臓由来細胞(MDBK: madin-darby bovine kidney)に感染させ、FCV と同様に 90%以上の CPE を示した時に培養液を回収し凍結融解操作を行った後、 $2,380 \times g$ で 10 分間遠心した上清を限外ろ過膜で濃縮してウイルス試験液とした。

2) 負荷物質の調製

負荷物質としてウシ血清アルブミン(以下 BSA, シグマアルドリッチジャパン合同会社)を終濃度 0.03 w/v% (以下 0.03% BSA)になるよう添加して試験を実施した。一部の懸濁試験では汚濁物質として、BSA に加えリン酸緩衝生理食塩水(以下 PBS, 日水製薬㈱)で洗浄した羊血球(㈱日本バイオテスト研究所)を添加した(終濃度 0.3 w/v% BSA および 0.3 v/v% 羊血球, 以下 0.3% BSA および 0.3% 羊血球)^{3,4)}。

3) 不活化培地

各試験液の不活化には SCDLP 培地(栄研化学㈱)およびウイルス試験では 0.3 w/v% チオ硫酸ナトリウム液を添加した SCDLP 培地を用い、0.5% H_2O_2 の不活化には、0.1 v/v% カタラーゼを添加した SCDLP 培地を用いた。各不活化培地は各試験薬剤に対して完全な不活化作用を示すことを確認して使用した(データ示さず)。

3. 試験方法

1) 懸濁試験

欧州標準法(EN 法: EN13727:2003 および EN14476:2005)^{3,4)}に準じた方法で試験した。汚濁物質と混合した細菌液 2 mL を各種試験薬剤 8 mL と混合して、 $20 \pm 1^\circ C$ で所定時間作用させ、これを試験液とした(清浄条件: 0.03% BSA, 汚濁条件: 0.3% BSA および 0.3% 羊血球)。作用後、試験液 1 mL を不活化培地 9 mL と混合して試験薬剤の作用を停止し、10 倍段階希釈法により、TSA で $36 \pm 2^\circ C$, 48 時間培養して生菌数を測定した。初期菌数に対する作用後の菌数より対数減少値を算出し、消毒効果を評価した。

負荷物質と混合したウイルス液 0.2 mL を各種試験薬剤 0.8 mL と混合して、 $20 \pm 1^\circ C$ で所定時間作用させ、これを試験液とした(清浄条件: 0.03% BSA, 汚濁条件: 0.3% BSA および 0.3% 羊血球)。作用後、試験液 0.1 mL と不活化培地 9.9 mL と混合して試験薬剤の作用を停止し、PBS で希釈した試験液よりブランク法を用いて各々のウイルス感染価(PFU/mL)を測定した。初期ウイルス感染価に対する作用後のウイルス感染価より

対数減少値を算出し、消毒効果を評価した。

2) 浸漬試験

米国の標準試験規格である AOAC キャリアテスト(AOAC official method 955.14)⁵⁾に準じた方法で評価した。テストキャリアには、水酸化ナトリウムと JIS 硬水で洗浄したステンレス製ペニシリンダー(㈱相互理化学硝子製作所)を用い、細菌の試験では、1 試験薬剤につき 10 個のキャリアを使用して評価した。ウイルスの試験では、1 試験薬剤につき 1 個のキャリアを使用して評価した。

MRSA および MDRP の細菌液にキャリアを浸漬して細菌を付着させ、 $36 \pm 2^\circ C$ のフラン器内でキャリアを乾燥させて細菌を固定した。細菌を固定したキャリアを試験薬剤 10 mL に浸漬して、室温で所定時間作用させた。作用後、キャリアを取り出して、不活化培地 10 mL に浸漬し、試験薬剤の作用を停止させた(一次培養培地)。さらに一次培養培地よりキャリアを取り出して、回復培地(TSB) 10 mL に浸漬した(二次培養培地)。一次培養培地および二次培養培地を $36 \pm 2^\circ C$ で 48 時間培養して、細菌の発育によって濁りがある場合を陽性、無い場合を陰性として判定した。試験薬剤の消毒効果は、キャリアすべてが陰性となった場合に有効と評価した。なお、初期菌数は、細菌を固定したキャリアを不活化培地 10 mL に浸漬して、攪拌および超音波処理で細菌を誘出した後、10 倍段階希釈法により $36 \pm 2^\circ C$ で 48 時間培養してキャリア 1 個あたりの生菌数を測定した。

FCV および BVDV の供試ウイルス液 0.05 mL をキャリアに付着させ、安全キャビネット内で乾燥させてキャリアにウイルスを固定した。ウイルスを固定したキャリアを試験液 10 mL に浸漬し、所定時間作用させた後キャリアを取り出し、不活化培地 10 mL に浸漬して試験液の作用を停止した。キャリアからウイルスを誘出した後、ブランク法によりウイルス感染価を測定した。ウイルス誘出液量からキャリア 1 個あたりのウイルス感染価(PFU/キャリア)に換算した。ウイルスを固定化したキャリアから直ちにウイルスを誘出したものを初期ウイルス感染価として、作用後のウイルス感染価より対数減少値を算出し、消毒効果を評価した。

3) 清拭試験

一般社団法人日本衛生材料工業連合会が 2013 年 4 月に制定した「ウェットワイパー類の除菌性能試験方法」⁷⁾を参考に清拭試験を実施した(図 1)。試験担体(SUS304 ステンレス製)に MRSA 懸濁液または FCV 懸濁液 10 μL を塗布し、乾燥させた。拭き取り装置のルールに、試験担体とガイドを設置し、その上に試験液あるいは滅菌蒸留水を試験直前に含浸させたワイブを装着したおもり(150 g)を設置した。ガイド部分の側面を持ち、上部

図1 清拭試験の手順の概略

表1 各種試験薬剤の懸濁試験による methicillin-resistant *S. aureus* および multidrug-resistant *P. aeruginosa* に対する殺菌作用

試 験 菌	試験液 ^{a)}	生菌数(CFU/mL)			対数減少値 ^{b)}	
		初期(A)	1分(B)	3分(C)	1分	3分
methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	対照(蒸留水)		NT ^{c)}	3.2×10^7	—	0
	1%RST		<10	<10	>6.5	>6.5
	0.1%NaOCl		<10	<10	>6.5	>6.5
	61.5~65.1%EtOH	3.0×10^7	<10	<10	>6.5	>6.5
	0.1%BZC		<10	<10	>6.5	>6.5
	0.5% H_2O_2		2.2×10^7	1.9×10^7	0.1	0.2
multidrug-resistant <i>P. aeruginosa</i>	対照(蒸留水)		NT	1.1×10^7	—	0.1
	1%RST		<10	<10	>6.1	>6.1
	0.1%NaOCl		<10	<10	>6.1	>6.1
	61.5~65.1%EtOH	1.4×10^7	<10	<10	>6.1	>6.1
	0.1%BZC		<10	<10	>6.1	>6.1
	0.5% H_2O_2		7.6×10^6	4.6×10^6	0.3	0.5

検出限界値：10 CFU/mL，試験条件：0.03%BSA 存在下
a) RST：ペルオキソー硫酸水素カリウムを主成分とする環境除菌・洗浄剤，NaOCl：次亜塩素酸ナトリウム，EtOH：日本薬局方エタノール，BZC：塩化ベンザルコニウム， H_2O_2 ：過酸化水素水
b) $\log_{10}(A/B)$ または $\log_{10}(A/C)$
c) Not tested

からの圧力を加えずにガイドを水平方向に移動させ、試験担体表面を約1秒で片道1回拭き取った。拭き取り後、試験担体を安全キャビネット内で5分間静置後、不活化培地で試験薬剤の作用を停止させた。試験担体に付着した細菌あるいはウイルスを誘出し、生菌数あるいはウイルス感染価を測定した。初期値に対する作用後の測定値から対数減少値を算出し、清拭による消毒効果を評価した。

結 果

1. 細菌に対する消毒効果

1) 懸濁試験

EN法に準じた懸濁試験を用い、MRSAおよびMDRPを対象として試験薬剤の消毒効果を評価した(表1)。その結果1%RST、0.1%NaOCl、61.5~65.1%EtOHおよび0.1%BZCはMRSAおよびMDRPに対し1分間の作用時間で初期菌数から6 log₁₀以上の減少が

認められた。一方、0.5% H_2O_2 は、MRSAおよびMDRPに対し、3分間作用後の減少値はそれぞれ0.2 log₁₀および0.5 log₁₀であり、初期菌数から大きな減少は認められなかった。

2) 浸漬試験

AOAC法に準じた浸漬試験を用い、MRSAおよびMDRPを対象として試験薬剤の消毒効果を評価した(表2)。その結果、キャリアに固定したMRSAに対して1%RST、0.1%NaOCl、EtOHおよび0.1%BZCは5分間の作用で消毒効果が認められたが、0.5% H_2O_2 は5分間の作用でも消毒効果は認められなかった。

一方、MDRPに対して1%RSTおよび0.1%NaOClは1分間の作用で消毒効果が認められた。また、EtOHおよび0.1%BZCは5分間の作用で消毒効果が認められた。0.5% H_2O_2 は5分間の作用時間においても消毒効果は認められなかった。

2. ウイルスに対する不活化作用

1) 懸濁試験

EN 法に準じた懸濁試験を用い、ノロウイルス代替ウ

表2 各種試験薬剤の浸漬試験による methicillin-resistant *S. aureus* および multidrug-resistant *P. aeruginosa* に対する殺菌作用

試験菌 (初期菌数)	試験液 ^{a)}	陽性数/試験数		判定 ^{b)}	
		1分	5分	1分	5分
methicillin-resistant <i>S. aureus</i> (4.0×10^6 CFU /キャリア)	対照(硬水)	NT ^{c)}	10/10	—	—
	1%RST	5/10	0/10	無効	有効
	0.1%NaOCl	1/10	0/10	無効	有効
	EtOH	4/10	0/10	無効	有効
	0.1%BZC	4/10	0/10	無効	有効
	0.5% H_2O_2	10/10	10/10	無効	無効
multidrug-resistant <i>P. aeruginosa</i> (2.8×10^6 CFU /キャリア)	対照(硬水)	NT	10/10	—	—
	1%RST	0/10	0/10	有効	有効
	0.1%NaOCl	0/10	0/10	有効	有効
	EtOH	2/10	0/10	無効	有効
	0.1%BZC	2/10	0/10	無効	有効
	0.5% H_2O_2	10/10	10/10	無効	無効

a) RST: ペルオキソー硫酸水素カリウムを主成分とする環境除菌・洗浄剤, NaOCl: 次亜塩素酸ナトリウム, EtOH: 日本薬局方エタノール, BZC: 塩化ベンザルコニウム, H_2O_2 : 過酸化水素水

b) 試験薬剤の消毒効果は、キャリアすべてが陰性となった場合に有効と評価した

c) Not tested

イルスとして使用される FCV を対象として試験薬剤の消毒効果を評価した(表3)。その結果、1%RST、0.1%NaOCl は1分間の作用で $4 \log_{10}$ 以上の減少が認められた。また、調製7日後の1%RST も同様に $4 \log_{10}$ 以上の減少が認められた。さらに1%RST、0.1%NaOCl は汚濁条件下でも同様の結果が得られた。

一方、EtOH は、FCV に対して3分間の作用で清浄条件下では $2.7 \log_{10}$ 、汚濁条件下では $3.0 \log_{10}$ の減少が認められた。0.1%BZC および 0.5% H_2O_2 は、3分間の作用でも、初期感染価とはほぼ同等であった。

2) 浸漬試験

AOAC 法に準じた浸漬試験を用い、試験薬剤の消毒効果を評価した(表4)。その結果、キャリアに固定した FCV に対して1%RST および 0.1%NaOCl は、1分間の作用でそれぞれ 3.5 および $3.2 \log_{10}$ の減少が認められ、10分間の作用では両剤ともに $3.9 \log_{10}$ 以上の減少が認められた。

一方、キャリアに固定した BVDV に対して1%RST および 0.1%NaOCl は、1分間の作用でそれぞれ $3.3 \log_{10}$ および $0.9 \log_{10}$ の減少が認められた。

3) 清拭試験

「ウエットワイパー類の除菌性能試験方法」⁷⁾を参考にした清拭試験を用いて、ステンレス製試験担体に付着させた細菌(MRSA)およびウイルス(FCV)に対する1%RST 含侵ワイプの清拭による消毒効果を評価した(表

表3 各種試験薬剤の懸濁試験による feline calicivirus に対するウイルス不活化作用

試験液 ^{a)}	試験条件 ^{b)}	ウイルス感染価(PFU/mL)			対数減少値 ^{c)}	
		初期(A)	1分(B)	3分(C)	1分	3分
対照(蒸留水)	清浄	3.2×10^5	3.5×10^5	2.3×10^5	0.0	0.1
	汚濁	1.6×10^5	8.5×10^4	9.0×10^4	0.3	0.2
1%RST	清浄	—	<10	<10	>4.5	>4.5
	汚濁	—	<10	<10	>4.2	>4.2
1%RST(調製7日後)	清浄	—	<10	<10	>4.5	>4.5
	汚濁	—	<10	<10	>4.2	>4.2
0.1%NaOCl	清浄	—	<10	<10	>4.5	>4.5
	汚濁	—	<10	<10	>4.2	>4.2
61.5~65.1%EtOH	清浄	—	2.0×10^3	6.1×10^2	2.2	2.7
	汚濁	—	9.2×10^3	1.6×10^2	1.2	3.0
0.1%BZC	清浄	—	2.4×10^5	1.7×10^5	0.1	0.3
	汚濁	—	7.7×10^4	7.6×10^4	0.3	0.3
0.5% H_2O_2	清浄	—	1.6×10^5	2.3×10^5	0.3	0.1
	汚濁	—	8.8×10^4	5.0×10^4	0.3	0.5

検出限界値: 10 PFU/mL

供試ウイルス感染価: 清浄条件; 7.1×10^7 PFU/mL, 汚濁条件; 7.5×10^7 PFU/mL

a) RST: ペルオキソー硫酸水素カリウムを主成分とする環境除菌・洗浄剤, NaOCl: 次亜塩素酸ナトリウム, EtOH: 日本薬局方エタノール, BZC: 塩化ベンザルコニウム, H_2O_2 : 過酸化水素水

b) 清浄; 0.03%BSA 存在下, 汚濁; 0.3%BSA および 0.3%羊血球存在下

c) $\log_{10}(A/B)$ または $\log_{10}(A/C)$

表4 各種試験薬剤の浸漬試験による feline calicivirus および bovine viral diarrhea virus に対するウイルス不活化作用

試験ウイルス	試験液 ^{a)}	ウイルス感染価(PFU/キャリア)			対数減少値 ^{b)}	
		初期(A)	1分(B)	10分(C)	1分	10分
feline calicivirus	対照(硬水)	1.6×10^5	—	1.1×10^4	—	1.2
	1%RST	—	5.0×10^1	$< 2.0 \times 10^1$	3.5	3.9
	0.1%NaOCl	—	1.1×10^2	$< 2.0 \times 10^1$	3.2	3.9
bovine viral diarrhea virus	対照(硬水)	2.4×10^5	—	5.8×10^3	—	1.6
	1%RST	—	1.2×10^2	$< 2.0 \times 10^1$	3.3	> 4.0
	0.1%NaOCl	—	3.0×10^4	$< 2.0 \times 10^1$	0.9	> 4.0

検出限界値： 2.0×10^1 PFU/キャリア

a) RST：ペルオキソー硫酸水素カリウムを主成分とする環境除菌・洗浄剤，NaOCl：次亜塩素酸ナトリウム

b) $\log_{10}(A/B)$ または $\log_{10}(A/C)$ 表5 RST 含浸ワイプの清拭試験による methicillin-resistant *S. aureus* に対する除去効果

試験品	生菌数(CFU/試験担体)		対数減少値	
	初期(A)	拭き取り後(B)	付着菌の除去 ^{a)}	蒸留水含浸ワイプとの差 ^{b)}
蒸留水含浸ワイプ	2.2×10^7	1.7×10^6	1.1(C)	—
1%RST 含浸ワイプ ^{c)}		2.8×10^3	3.9(D)	2.8

検出限界値： 2.0×10^1 CFU/試験担体a) $\log_{10}(A/B)$

b) D-C

c) RST：ペルオキソー硫酸水素カリウムを主成分とする環境除菌・洗浄剤

表6 RST 含浸ワイプの清拭試験による feline calicivirus に対する除去効果

試験品	ウイルス感染価(PFU/試験担体)		対数減少値	
	初期(A)	拭き取り後(B)	付着菌の除去 ^{a)}	蒸留水含浸ワイプとの差 ^{b)}
蒸留水含浸ワイプ	3.3×10^6	1.1×10^5	1.5(C)	—
1%RST 含浸ワイプ ^{c)}		$< 1.0 \times 10^2$	$> 4.5(D)$	> 3.0

検出限界値： 1.0×10^2 PFU/試験担体a) $\log_{10}(A/B)$

b) D-C

c) RST：ペルオキソー硫酸水素カリウムを主成分とする環境除菌・洗浄剤

5, 表6). その結果, MRSA に対して1%RST 含浸ワイプは, 片道1回の拭き取りで $3.9 \log_{10}$ の減少が認められ, 蒸留水含浸ワイプと比較して $2.8 \log_{10}$ の差が認められた. また, FCV に対して1%RST 含浸ワイプは, 片道1回の拭き取りで $4.5 \log_{10}$ 以上の減少が認められ, 蒸留水含浸ワイプと比較して $3.0 \log_{10}$ 以上の差が認められた.

考 察

療養環境が病原微生物の伝播経路になることは広く知られており^{8,9)}, 医療従事者の手指の消毒のみならず, 高頻度接触表面を中心とした医療環境の消毒が感染制御において有用であることが提唱されている¹⁰⁾. なかでも MRSA は医療関連感染菌として, 最も頻度が多く, 環境消毒の対象として重要な菌種である. MRSA 保菌患者のベッド周り, ベッド柵, オーバーテーブル, 床頭台などは, MRSA に汚染されている. 厚生労働省における院内感染サーベイランス(JANIS)において, 2013年1月~12月年報によると全入院患者部門の薬剤耐性菌による新規感染症患者は, 16,556人となっており, その約93%をMRSAが占めていると報告されている¹¹⁾. またMRSAのほかにも多種類の抗菌薬に対して耐性を獲得した多剤耐性菌が増えてきており, 多剤耐性の緑膿菌によるアウトブレイクの報告も散見されている¹²⁾.

ノロウイルスは, エンベロープを持たないウイルスであり, 毎年流行を繰り返す感染性胃腸炎の原因の一つとなるウイルスである. ノロウイルス感染は, 感染者の吐瀉物, 糞便およびそれらが乾燥した後の粉塵が原因となって広がることが知られている. ノロウイルスの感染は患者以外の医療従事者にもひろがるため, 医療従事者の接触感染予防策を含めた感染予防対策を確実に行うことが必要である.

本研究で評価したRSTと同組成のVKは米国EPAでは多剤耐性菌やノロウイルス対策製剤として登録されており²⁾, NaOCl製剤と同様に, 療養環境等の衛生管理に使用されている. NaOClはその溶液を水で希釈して用いるが, 濃度管理が不安定である. 高濃度のNaOCl液を使用した場合は残留塩素濃度の影響で機材の腐食あるいは塩素ガスの発生等の問題がある. RSTは錠剤および計量済みの個包装で提供されるので, 濃度管理は比較的容易である. また, 調製液は淡赤色を呈し, 有効塩素濃度の低下に比例して色調が変化するために, 測定す

ることなく有効塩素濃度を把握して使用することができ
るメリットがある¹³⁾。

VKの病原微生物に対する有効性については、大学病
院におけるカルバペネム耐性アシネトバクターのアウト
ブレイク対策に有用であった臨床現場の事例が報告され
ている¹⁴⁾。また基礎研究の報告例があるが、いずれも5
分間以上の比較的長い作用時間による検証結果であり、
短時間での有効性を評価した報告はなかった¹⁵⁻²²⁾。

本研究において懸濁試験および浸漬試験で細菌
(MRSA および MDRP) およびウイルス (FCV および
BVDV) に対する短時間での抗微生物作用を検討した。
その結果、RST は NaOCl と同等以上の抗微生物作用を
有することが示され、1% RST を含浸させた不織布を用
いた清拭試験でも有効であることが確認された。

また、キャリアに固着させた試験微生物に対する効果
は、AOAC 法に準拠した浸漬試験による評価では、
BVDV に対して 1% RST は 0.1% NaOCl よりもウイル
ス不活化効果が優位である結果が得られた。これは 1%
RST に含まれる界面活性剤が界面活性剤を含まない
0.1% NaOCl よりもキャリアに固定化した BVDV に有
効に作用したためと考えられることから、1% RST は器
具類の浸漬による消毒にも活用が期待できる製剤と考え
られた。

本研究では、新たに日本衛生材料工業連合会で制定さ
れたウェットワイパー類の除菌性能試験方法を参考に
1% RST 含浸ワイブの微生物除去効果を MRSA ならび
に FCV を対象として検討した。原法は 5 往復での評価
方法であるが、本研究では医療環境等の清掃において一
般的に行われる清拭方法に則して「片道 1 回拭き」で
評価した。その結果、1% RST 含浸ワイブは、 $2.8 \log_{10}$
および $3.0 \log_{10}$ 以上の効果を得ており、拭取りによる
効果が確認された。本試験方法で RST 含浸ワイブによ
る微生物除去効果を報告した例は少なく、細菌およびウ
イルス除去において新たな知見が得られた。今後は、環
境由来の様々な病原微生物や、試験薬剤を追加して実施
する予定である。

一般的に、塩素系の消毒剤は有機物により、消毒効果
が減弱することが知られている。RST は酸化力により
抗微生物効果を発揮するが、その活性本体は、次亜塩素
酸と考えられている。NaOCl はペーパータオルや雑巾
に含まれるセルロース等と反応することで酸化力を低下
させることが知られている²³⁾、RST においては、有機
物存在下や不織布ワイブに含浸させた際の酸化力低下に
関する知見はないため、今後検討する必要がある。

環境消毒に使用する製剤には、環境微生物に対する作
用に加え、環境表面の材質に対する適合性が求められる。
NaOCl の金属腐食作用は広く知られており、0.02% 溶
液に浸漬した鉄片に対して 10 分間で腐食作用を示すこ

とが報告されている²⁴⁾。RST については 2% 調製液中
にステンレス (SUS304) を 7 日間浸漬した際に腐食性を
示さないこと、またアクリル素材に対しても劣化を起こ
さなかったことが報告されている²⁵⁾。このことから金
属素材や樹脂素材に対しての影響が小さいことが推察さ
れる。NaOCl の代りとして、またアルコール消毒剤を
使用しにくい環境表面の清浄における除菌・洗浄剤のひ
とつとして期待できる。しかし医療現場での RST の使
用経験に関する報告は乏しいため、医療機器表面を含め
た様々な材質に対する適合性に関するデータの蓄積が、
今後必要であると考えられる。

本研究では RST が短時間の作用による MRSA や
MDRP に対する殺菌効果、ならびに FCV や BVDV に
対する不活化効果は、NaOCl と同等であったことから、
塩素ガスの発生による吸入刺激があることで、環境
での使用に制限のある NaOCl やアルコールの代替製剤
として有用であると考えられた。

利益相反自己申告：本研究は、杏林製薬株式会社およびキョー
リンメディカルサプライ株式会社の資金提供を受けた。

文 献

- 1) CDC Guideline: Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. United States of America, 2008.
- 2) United States Environmental Protection Agency: Selected EPA-registered Disinfectants: <http://www.epa.gov/oppad001/chemregindex.htm> accessed April 9, 2015.
- 3) British Standards Institution. Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants for instruments used in the medical area. Test method and requirements (Phase 2/Step 1). BS EN 13727: 2003. British-Adopted European Standard, UK.
- 4) British Standards Institution. Chemical disinfectants and antiseptics. Virucidal quantitative suspension test for chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine. Test method and requirements (phase 2, step 1). BS EN 14476: 2005.
- 5) Nelson MT, LaBudde RA, Tomasino SF, Pines RM: Comparison of 3M petrifilm aerobic count plates to standard plating methodology for use with AOAC antimicrobial efficacy methods 955.14, 955.15, 964.02, and 966.04 as an alternative enumeration procedure: collaborative study. J AOAC Int 2013; 96: 717-22.
- 6) JIS K 3362: 2008 家庭用合成洗剤試験方法, 日本工業規格.
- 7) ウェットワイパー類の除菌性能試験方法, 一般社団法人 日本衛生材料工業連合会, 東京, 2013 年 4 月 1 日 制定.
- 8) Weber DJ, Anderson D, Rutala WA: The role of the surface environment in healthcare-associated infections. Curr Opin Infect Dis 2013; 26: 338-44.
- 9) Weber DJ, Rutala WA: The role of the environment in transmission of *Clostridium difficile* infection in

- healthcare facilities. Infect Control Hosp Epidemiol 2011; 32: 207–9.
- 10) Garner JS: Guideline for isolation precautions in hospitals. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Infect Control Hosp Epidemiol 1996; 17: 53–80.
 - 11) 厚生労働省サーベイランス事業ホームページ : http://www.nih-janis.jp/report/open_report/2013/3/1ken_Open_Report_201300.pdf. Accessed April 9, 2015.
 - 12) 継田雅美 : 中小規模病院における多剤耐性緑膿菌アウトブレイクへの対応—感染制御専門薬剤師の取り組み—. 環境感染誌 2011; 26(2): 98–104.
 - 13) 木津純子, 高木 奏, 黒田裕子, 前澤佳代子, 松元一明, 堀 誠治 : 複合型塩素系除菌・洗浄剤の安定性と色調の変化. 環境感染誌 2014; 29(6): 411–6.
 - 14) Doidge M, Allworth AM, Woods M, Marshall P, Terry M, O'Brien K, *et al.*: Control of an outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Australia after introduction of environmental cleaning with a commercial oxidizing disinfectant. Infect Control Hosp Epidemiol 2010; 31: 418–20.
 - 15) Gasparini R, Pozzi T, Magnelli R, Fatighenti D, Giotti E, Polisenio G, *et al.*: Evaluation of *in vitro* efficacy of the disinfectant Virkon. Eur J Epidemiol 1995; 11: 193–7.
 - 16) Herández A, Martró E, Matas L, Martín M, Ausina V: Assessment of *in-vitro* efficacy of 1% Virkon against bacteria, fungi, viruses and spores by means of AFNOR guidelines. J Hosp Infect 2000; 46: 203–9.
 - 17) Møretø T, Vestby LK, Nesse LL, Storheim SE, Kotlarz K, Langsrud S: Evaluation of efficacy of disinfectants against *Salmonella* from the feed industry. J Appl Microbiol 2009; 106: 1005–12.
 - 18) Eleraky NZ, Potgieter LN, Kennedy MA: Virucidal efficacy of four new disinfectants. J Am Anim Hosp Assoc 2002; 38: 231–4.
 - 19) Angelillo IF, Bianco A, Nobile CG, Pavia M: Evaluation of the efficacy of glutaraldehyde and peroxygen for disinfection of dental instruments. Lett Appl Microbiol 1998; 27: 292–6.
 - 20) Leontiou AP, Coogan MM, Aspinall S. Disinfection of dental diamond burs contaminated with *Hepatitis B virus*. J Prosthet Dent. 1999; 82: 332–335.
 - 21) Lai MY, Cheng PK, Lim WW: Survival of severe acute respiratory syndrome coronavirus. Clin Infect Dis 2005; 41: 67–71.
 - 22) McCormick L, Maheshwari G: Inactivation of *Adenovirus* types 5 and 6 by Virkon S. Antiviral Res 2004; 64: 27–33.
 - 23) 野田 衛 : お客様 従業員 家族をノロウイルス食中毒・感染症からまもる!! その知識と対策. 日本食品衛生協会, 東京, 2013 p. 70–1.
 - 24) 白石 正, 仲川義人 : 各種消毒剤の金属腐食性と殺菌作用に及ぼす腐食の影響. 環境感染 1999; 14: 275–9.
 - 25) 岡上 晃, 小澤智子, 小倉憂也, 野島康弘, 菊野理津子, 白石 正 : 複合型塩素系除菌・洗浄剤の各種環境表面素材に対する影響に関する検討. 環境感染誌 環境感染誌 2015; 30(5): 325–30.

〔連絡先 : 〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1
一般財団法人北里環境科学センター微生物部
菊野理津子 E-mail: kikuno@kitasato-e.or.jp〕

Antimicrobial Efficacy of Complex-Type Chlorine-Based Disinfectant Cleaner Against Several Pathogenic Microorganisms

Yuya OGURA¹⁾, Tomoko OZAWA¹⁾, Yasuhiro NOJIMA²⁾ and Ritsuko KIKUNO¹⁾

¹⁾Department of Microbiology, ²⁾Department of Virology, Kitasato Research Center for Environmental Science

Abstract

Antimicrobial efficacy of complex-type chlorine-based disinfectant cleaner (RST) consisting mainly of potassium peroxymonosulfate against pathogenic microorganisms such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP), feline calicivirus (FCV) as a surrogate for norovirus, and bovine viral diarrhea virus (BVDV) as a surrogate for hepatitis C virus. In the suspension test, 1% RST caused 4 log₁₀ or more reduction in MRSA, MDRP and FCV in 1 minute in the presence of 0.03% bovine serum albumin. The viral inactivation efficacy of RST was better than that of NaOCl at the same available chlorine concentration. In the immersion test using BVDV adhering to stainless carrier, the viral inactivation efficacy of 0.1% NaOCl and 1% RST in 1 minute was 0.9 log₁₀ reduction and 3.3 log₁₀ reduction, respectively. Furthermore, in the wipe test, 1% RST immersion wipes caused 4.5 log₁₀ or more reduction in FCV. The present findings suggest that RST is effective for daily disinfection and cleaning in the hospital environment.

Key words : potassium peroxymonosulfate, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP), feline calicivirus (FCV), bovine viral diarrhea virus (BVDV)