

## ■Review article

# 海外における殺菌・消毒薬の効力評価法 — 欧州、米国の試験規格の比較

植田 知文、梶浦 工、小林 寛伊

東京医療保健大学大学院

## Standard Test Methods for Evaluation of Disinfectants in Europe and the United States of America

Tomofumi Ueda, Takumi Kajiura, Hiroyoshi Kobayashi

Division of Infection Prevention and Control, Tokyo Healthcare University Postgraduate School

### 1. はじめに

殺菌・消毒薬（以下、消毒薬）を用いる対象は生体（手指、手術野など）と非生体（器具、環境など）に大別される。各用途における消毒薬の効果を評価するため、海外には各種の試験規格が存在しており、主要なものとして European Norm (EN) 欧州標準試験法と米国の American Society for Testing and Materials (ASTM) 試験法、Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 試験法が挙げられる。

日本国内では、生体を対象とした消毒薬については環境感染学会の消毒薬評価委員会から評価指針が示され<sup>1,2)</sup>、欧州または米国の試験法を用いることが推奨されている。一方、非生体を対象とした消毒薬については未だ評価方法や指針は示されていないが、生体を対象としたものと同様、欧州や米国の試験法が参考とされることが想定される。実際、医療領域は対象とされていないが、日本薬局方第17局の参考情報に収載予定の「消毒法及び除染法」<sup>3)</sup>はEN試験法を参考としている。

そこで本総説では、非生体に用いる液体製剤（使用時に溶解させる固形製剤を含む。但し、スプレー、ワイプ製剤は除く）を対象とした欧州と米国の試験法について紹介する。また、日本の現状についても触れる。

### 2. 海外の消毒薬評価試験法 概要

まず、それぞれの試験規格の概要について述べる。

#### 2.1 欧州の試験規格 (EN 試験法)<sup>4~6)</sup>

EN 試験法は phase1、2、3 の3つのフェーズで構成されており、phase1 から段階を追って、その活性を検討していく。

phase1 では、製剤または活性物質の基本的な活性が試験管内での浮遊試験で検討される。主に製剤の開発段階で用いられ、活性の保証は目的としていない。

phase2 は、製剤が使用される領域により、「医療」、「食品・産業・家庭および公共施設」、「畜産」の3領域に分けられる。各領域には使用方法に対応した2つのステップが存在し、実使用を想定した条件における活性が検討される。

phase2/step1 は、実使用を想定した条件において効果を示す製剤濃度の決定を目的としている。有機物を負荷した試験管内での浮遊試験が行われ、設定された活性の要求基準を満たすことで消毒薬との表示が可能となる。

phase2/step2 は、phase2/step1 で決定された製剤濃度が実使用時に十分な効果を示すかの検討を目的としている。生体または器具を用いた表面試験や浸漬試験などにより、各使用方法を模擬した条件での活性が検討される。設定

された活性の要求基準を満たすことで、その使用方法での消毒効果（手術時手指消毒、浸漬消毒など）が表記可能となる。phase1、2の各試験法の詳細は後述する。

phase3は実使用時の効果の確認を目的としており、実際の使用環境、使用方法での活性が検討される（実地試験、実使用試験）。使用条件は製剤により異なるため、統一した試験法は定まっていない。EN試験法の適用法を解説したEN 14885:2006が現在、改訂中であるが、その草案<sup>7)</sup>によると、本改訂によりphase3の試験を実施する際の指針（留意点）が追加される模様である。

2.2 米国の試験規格（ASTM試験法、AOAC試験法）

米国の主な試験規格であるASTM試験法、AOAC試験法は、それぞれASTM International（米国試験材料協会）、AOAC International（米国公定分析化学者協会）により策定、承認されている。米国における消毒薬の申請時にはこれらの試験法による活性評価が要求される<sup>8)</sup>。

EN試験法が段階を追って製剤の活性を検討していく構成であるのに対し、米国の試験法は対象菌や使用方法ごとに個別の試験法が定められている。また、EN試験法が対象菌や試験条件、要求基準などを規定しているのに対し、米国の試験法（特にASTM試験法）はそれらの自由度が高く、活性の要求基準が記載されていないものが多い。このため、審査機関である米国食品医薬品局（Food and Drug Administration, FDA）や米国環境保護庁（Environmental Protection Agency, EPA）が製剤の消毒水準や用途、使用方法ごとに、実施すべき評価法およびその

要求基準（生菌の減少率や培養陰性率など）をそれぞれ定めている。

浮遊試験と表面試験はASTM試験法が、浸漬試験はAOAC試験法が繁用されている印象がある。ASTM試験法には定量的な評価法が多く、AOAC試験法には定性的な評価法が多い。各試験法の概要は後述する。

3. 海外の消毒薬評価試験法 各論（詳細）

以下、欧州と米国における、非生体を対象とした液体製剤の評価法（浮遊試験、表面試験、浸漬試験）について、それぞれ細菌を対象にした試験法を代表として紹介する。

3.1 浮遊試験（suspension test）

浮遊試験に関する欧州と米国の試験法の比較を表1に示す。

3.1.1 EN 1040:2005（phase 1）<sup>9)</sup>

EN 1040は欧州試験法において殺細菌活性を評価する基本的な試験法である。*Staphylococcus aureus*、*Pseudomonas aeruginosa*を対象菌とし、寒天培地で前培養した菌体をトリプトン加生理食塩水（0.85% NaCl、0.1% トリプトン）に懸濁した菌液（約10<sup>8</sup>CFU/mL）を用いる。また、薬液は蒸留水を用いて調製し、薬液：蒸留水：菌液を8：1：1で混合して作用を行う。作用時の薬液濃度は元の80%に希釈されるため、あらかじめ検討

表1. 欧州と米国の試験法の比較－浮遊試験

	EN1040:2005 (phase1)	EN13727:2012 (phase2/step1)	ASTM E2315-03 (2008)
対象菌	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>S. aureus</i> ATCC 6538</li> <li><i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>S. aureus</i> ATCC 6538</li> <li><i>E. hirae</i> ATCC 10541</li> <li><i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442</li> <li><i>E. faecium</i> ATCC 6057<sup>*</sup></li> </ul> <small>※作用温度が40℃以上の場合</small>	実使用環境の細菌叢、 または標準株 <sup>*</sup> <small>※<i>S. aureus</i> ATCC 6538  <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 など</small>
前培養法	寒天培地	寒天培地	液体培地（寒天培地でも可）
接種菌液	約10 <sup>8</sup> CFU/mL	約10 <sup>8</sup> CFU/mL	下記の初発菌数を満たす濃度
薬液調製	蒸留水	硬水（375ppm）	蒸留水
主な負荷物質	無し	0.03% BSA or 0.3% BSA+0.3% 羊赤血球 （作用液での濃度）	無し
作用比率	薬液：蒸留水：菌液 =8：1：1	薬液：負荷物質：菌液 =8：1：1	作用液に占める 菌液の割合を5%以下にする
作用時初発菌数	約10 <sup>7</sup> CFU/mL	約10 <sup>7</sup> CFU/mL	10 <sup>6</sup> CFU以上/mL
作用温度、時間	20℃、5min	器具：20～70℃、60min 環境：4～30℃、5min or 60min <sup>*</sup> <small>※接触頻度などを参考に選択</small>	25℃、時間は指定なし <sup>*</sup> <small>※目的に応じて設定</small>
活性の要求基準	5log <sub>10</sub> 以上	5log <sub>10</sub> 以上	記載なし

したい濃度の125%の薬液を調製して用いる。20°C、5分以内の作用により、生菌数を $5\log_{10}$ 以上低下させる（生菌濃度を $10^{-5}$ 以下にする）ことを要求している。

### 3.1.2 EN 13727:2012 (phase 2/step 1、医療領域)<sup>10)</sup>

対象菌はEN 1040 (phase1) の2菌種に、*Enterococcus hirae*、*Enterococcus faecium*が加わる。硬水(硬度375ppm、作用時300ppm以下)を用いて薬液を調製し、薬液：負荷物質<sup>注)</sup>：菌液を8：1：1で混合して作用を行う。EN13727:2012では、実用濃度の製剤を評価することを想定し、薬液：負荷物質：菌液を97：2：1で混合して作用を行う系が追加された。活性の要求基準はEN 1040と同様に $5\log_{10}$ 以上の低下である。

<sup>注)</sup> EN 試験法では対象領域、想定される汚染度により、負荷物質、濃度が異なる<sup>6)</sup>。各対象領域における主な負荷物質と作用時の濃度を表2に示す。

表2. 各対象領域における主な負荷物質と作用時の濃度

対象領域	清浄状態 (clean condition)	汚染状態 (dirty condition)
医療	0.03% BSA†	0.3% BSA +0.3% 羊赤血球
食品、産業、家庭 および公共施設	0.03% BSA	0.3% BSA
畜産	0.3% BSA	1% BSA+1% 酵母エキス

※ 浮遊試験における消毒薬と混合後の濃度

† BSA: Bovine serum albumin(ウシ血清アルブミン)

### 3.1.3 ASTM E2315-03 (2008)<sup>11)</sup>

ASTM E2315は、米国における殺細菌・真菌活性の基本的な評価法である。対象菌は、使用環境に存在する菌叢、または標準株を用いるとの記載はあるが、特定の菌種は指定されていない。他のASTM試験法を参考にすると、上記の標準菌株は*S. aureus*や*P. aeruginosa*、*Candida albicans*などが該当すると思われる。使用菌の前培養は液体培地が基本だが、寒天培地での前培養も認められている。培養後の菌体をリン酸緩衝液や生理食塩水(0.65% NaCl)で洗浄して調製した菌液(作用時 $10^6$ CFU/mL以上)を試験に用いる。作用時の薬液、菌液の混合比は指定されていないが、前培養に用いた培地成分や菌液洗浄液の成分による活性阻害を軽減するため、菌液の占める割合を作用液全体の5%以下にするよう指示されている。活性の基準は記載されていない。

両試験法とも、表面試験や浸漬試験を実施する際の製剤濃度の参考とされる点が共通している。ASTM試験法では、前培養を液体培地で行うためか、菌液成分の影響による消毒薬の過小評価を防ぐ工夫がされている。一方、EN試験法の作用液には未洗浄の菌体を懸濁した菌液が10%含まれており、前培養方法と共に注意すべき両試験法の相違点であろう。

## 3.2 表面試験 (surface test)

表面試験に関する欧州と米国の試験法の比較を表3に示す。

表3. 欧州と米国の試験法の比較－表面試験

	EN13697:2015 (phase2/step2)	ASTM E2197-11 (2011) (QCT-2)
対象菌 (細菌のみ抜粋)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ <i>S. aureus</i> ATCC 6538</li> <li>・ <i>E. hirae</i> ATCC 10541</li> <li>・ <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442</li> <li>・ <i>E. coli</i> ATCC 10536</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ <i>S. aureus</i> ATCC 6538</li> <li>・ <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442</li> </ul>
キャリアー	ステンレスディスク 直径2cm (AISI <sup>※</sup> type 304, grade2B処理)	ステンレスディスク 直径1cm (AISI type 430)
前培養法	寒天培地	液体培地
接種菌液	約 $10^8$ CFU/mL	$10^9$ CFU/mL以上
菌液滴下量 (キャリアー当たりの菌数)	50 $\mu$ L (約 $10^7$ CFU)	10 $\mu$ L ( $10^7$ CFU以上)
薬液調製	硬水(375ppm)	硬水(300ppm以上を推奨)
主な負荷物質 (接種菌液での濃度)	0.03% BSA or 0.3% BSA	0.35% トリプトン、 0.25% BSA、0.08% ウシムチン
薬液滴下量	100 $\mu$ L	50 $\mu$ L
作用温度、時間	18~25°C、5min	記載なし
活性の要求基準	$4\log_{10}$ 以上	記載なし

※ AISI: American Iron and Steel Institute

### 3.2.1 EN 13697:2015 (phase 2/step 2、食品、産業、家庭および公共施設領域)<sup>12)</sup>

ステンレスディスク (直径 2cm) をキャリアーとして用いる。細菌、真菌が対象となっており、細菌は EN 1040 (phase1) の 2 菌種に *E. hirae* と *Escherichia coli* を加えた 4 菌種を用いる。浮遊試験と同様の方法で調製した菌液と負荷物質の混合液 50 $\mu$ L をキャリアー表面上に滴下して<sup>注)</sup>乾燥させる。薬液 100 $\mu$ L を乾燥後の菌体上に積層し、一定時間後にキャリアーを中和液に回収する。作用による生菌数の低下が 4log<sub>10</sub> 以上であることが活性の要求基準となっている。

<sup>注)</sup> 菌液を塗り広げるか否かの記載はない。

### 3.2.2 ASTM E2197-11 (2011) (Second Tier of the Quantitative Carrier Test, QCT-2)<sup>13)</sup>

ステンレスディスク (直径 1cm) をキャリアーとして用いる。細菌、真菌、抗酸菌、ウイルス、芽胞が対象となっており、細菌は *S. aureus* と *P. aeruginosa* の 2 菌種を用いる。液体培地で培養した菌体をリン酸緩衝液で洗浄し、10<sup>9</sup>CFU/mL 以上の菌液を調製する。菌液と負荷物質の混合液 10 $\mu$ L をディスク中央に滴下して (塗り広げずに) 乾燥させる。薬液 50 $\mu$ L を乾燥後の菌体上に積層し、一定時間後にキャリアーを中和液に回収する。活性の要求基準は記載されていない。

両試験法ともキャリアーとしてステンレスディスクを用い、乾燥前のキャリアー当たりの菌数は同程度である。ASTM 試験法ではキャリアーに滴下した菌液を塗り広げないことが明記してあるが、EN 試験法には記載がない。ASTM 試験法と同様、滴下したまま乾燥させるのであれば、キャリアー上の菌の密度も両試験法で同程度となる。一方、キャリアー上に菌液を塗り広げるのであれば、菌の密度は EN 試験法の方が低くなり、このため、EN 試験法では薬液が作用しやすい (菌が死滅しやすい) と予想される。また、菌液に負荷する有機物も異なっており、両試験法における活性差の原因となり得ると考える。

### 3.3 浸漬試験 (carrier test)

浸漬試験に関する欧州と米国の試験法の比較を表 4 に示す。

#### 3.3.1 EN 14561:2006 (phase 2/step 2、医療領域)<sup>14)</sup>

磨りガラスをキャリアーとして用いる。浮遊試験と同様の方法で調製した菌液と負荷物質の混合液 50 $\mu$ L をキャリアー上の 1cm $\times$ 1cm の領域に塗布し、乾燥させる。乾燥後のキャリアーを薬液に浸漬した後、キャリアーを中和液に回収する。薬液の代わりに硬水 (または蒸留水) を用いた場合の生菌数を基準とし、作用による生菌数の

表4. 欧州と米国の試験法の比較－浸漬試験

	EN14561:2006 (phase2/step2)	AOAC Use-Dilution Methods (955.15, 964.02, 955.14)
対象菌	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i> ATCC 6538</li> <li>• <i>E. hirae</i> ATCC 10541</li> <li>• <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i> ATCC 6538</li> <li>• <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442</li> <li>• <i>S. enterica</i> ATCC 10708</li> </ul>
キャリアー	磨りガラス 15mm $\times$ 60mm (菌液塗布は1cm $\times$ 1cm)	ステンレス製ペニシリンダー 直径6~8mm, 長さ10mm (type 304) 10個 or 60個
前培養法	寒天培地	液体培地
キャリアー当たりの菌数 (乾燥前)	約10 <sup>8</sup> CFU	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> : 10 <sup>6</sup> ~10 <sup>7</sup> CFU <i>S. enterica</i> : 10 <sup>5</sup> ~10 <sup>6</sup> CFU
薬液調製	硬水 (375ppm)	純水 (蒸留水など)
主な負荷物質	0.03% BSA or 0.3% BSA+0.3% 羊赤血球 (接種菌液での濃度)	記載なし
浸漬温度、時間	20 $^{\circ}$ C、60min	20 $^{\circ}$ C、10min
生菌検出法	混釈培養 (定量的判定)	液体培養 (定性的判定)
活性の要求基準	5log <sub>10</sub> 以上	10個全てが陰性、または、 60個中の陽性数が 3個以下 ( <i>S. aureus</i> ) 6個以下 ( <i>P. aeruginosa</i> ) 1個以下 ( <i>S. enterica</i> )

低下が  $5\log_{10}$  以上であることが活性の要求基準となっている。

### 3.3.2 AOAC Use-Dilution Methods (955.15, 964.02, 955.14)<sup>15~17)</sup>

ステンレス製ペニシリンダーをキャリアーとして用いる。対象菌ごとにそれぞれ異なる試験番号が与えられている (*S. aureus* :955.15、*P. aeruginosa* :964.02、*Salmonella enterica* :955.14)。液体培地で培養した菌液（未洗浄）に浸漬したキャリアーを乾燥させる。乾燥後のキャリアーを薬液に浸漬した後、中和剤を含む培地に回収する。培養後の菌の発育の有無で評価する定性的な試験法である。活性の要求基準はキャリアーの使用個数や対象菌により異なる。

EPA は医療領域で用いる消毒薬については *S. aureus* および *P. aeruginosa*、それ以外については *S. aureus* と *S. enterica* の一方または両方について、日を変えて製品 3 バッチの試験（各キャリアー60 個使用）を実施し、いずれの試験も要求基準を満たすことを要求している<sup>8,18)</sup>。

キャリアーの素材と使用個数、判定方法（定量的か定性的か）が両試験法の主要な相違点である。素材の違いは浸漬時の菌体の遊離度に影響し、消毒効果に差異が生じると思われる。また、許容される作用後の残存生菌について、EN 試験法では 1 回の作用における菌数（量）で、AOAC 試験法では複数回の作用において培養陽性となる回数（確率）でそれぞれ表現している。1 回の作用で要求される生菌の減少度が同程度である場合、複数回の作用を行っている点、また後培養においては液体培地の方が損傷菌を検出しやすい点から AOAC 試験法の方が要求基準を満たしにくいと思われる。

以上のように、欧州と米国の試験規格では類似している部分もあるが、異なる部分も多く存在する。このため、同じ製剤が一方の要求基準を満たすが、他方の評価基準は満たさないということが有り得る。製剤の評価に用いる試験法を選択する際にはそれぞれの試験法の特徴に留意することが必要と思われる。

## 4. 日本の試験法の現状

最後に、日本における、非生体を対象とした消毒薬の

評価法の現状について紹介する。

冒頭で述べたように、日本薬局方（第 17 局、平成 28 年 4 月施行予定）収載原案によると、参考情報として「消毒法及び除染法」が追加される予定である。本参考情報は製造区域における構造設備・物品の消毒を対象としており、医療領域は対象とされていないが、消毒法の評価法として、試験菌懸濁法（浮遊試験）と、硬質表面キャリアー法（表面試験）の 2 種類が記載されている。

浮遊試験と表面試験に関する日本薬局方と欧州の試験法の比較を表 5、表 6 にそれぞれ示す。懸濁法は EN 1276<sup>19)</sup> を、硬質表面キャリアー法は EN13697 を参考としているが、その要求基準は EN 試験法のそれより低く、細菌・真菌は  $3\log_{10}$  以上、細菌芽胞は  $2\log_{10}$  以上の減少を認めた場合に各々の対象微生物に対して有効としている。

## 5. おわりに

評価指針や統一された評価法の制定は、満たすべき基準が明確となることで製剤の開発、承認審査の助けとなるだけでなく、ユーザーにとっても製品の比較検討が容易となり、非常に有益であると思われる。海外の評価法を参考にして、採用可能な項目を取り入れながら、日本国内で消毒薬の評価指針や試験法が制定され、評価方法が統一されることが望まれる。しかし、欧州と米国の試験方法を統一することの難しさも否定できない現状である。この現状を考慮した、今後の対応も必要である。

TU、TK は吉田製薬の職員、HK は吉田製薬、サラヤ、サクラ精機のコンサルタント、但しその他に示すべき利益相反はない。

表5. 日本薬局方と欧州の浮遊試験の比較

	日本薬局方 「試験菌懸濁法」	EN1276:2009 (phase2/step1)	EN1650:2008 <sup>20)</sup> (phase2/step1)
対象菌	(細菌) ・ <i>S. aureus</i> ・ <i>P. aeruginosa</i> ・ <i>E. coli</i> (真菌) ・ <i>C. albicans</i> ・ <i>A. brasiliensis</i> ※ (芽胞) ・ <i>B. subtilis</i> ※	(細菌) ・ <i>S. aureus</i> ・ <i>E. hirae</i> ・ <i>P. aeruginosa</i> ・ <i>E. coli</i>	(真菌) ・ <i>C. albicans</i> ・ <i>A. brasiliensis</i>
接種菌液	記載なし	約10 <sup>8</sup> CFU/mL	約10 <sup>7</sup> CFU/mL
薬液調製	実使用時の水 (精製水、水道水など)	硬水(375ppm)	硬水(375ppm)
主な負荷物質	無し	0.03% BSA or 0.3% BSA	0.03% BSA or 0.3% BSA
作用比率	記載なし	薬液:負荷物質:菌液 =8:1:1	薬液:負荷物質:菌液 =8:1:1
作用時初発菌数	10 <sup>5</sup> ~10 <sup>6</sup> CFU/mL	約10 <sup>7</sup> CFU/mL	約10 <sup>6</sup> CFU/mL
作用温度、時間	5~15min (温度は記載なし)	20°C、5min	20°C、15min
活性の要求基準	細菌、真菌:3log <sub>10</sub> 以上 芽胞:2log <sub>10</sub> 以上	5log <sub>10</sub> 以上	4log <sub>10</sub> 以上

※ *A. brasiliensis*: *Aspergillus brasiliensis*※ *B. subtilis*: *Bacillus subtilis*

表6. 日本薬局方と欧州の表面試験の比較

	日本薬局方 「硬質表面キャリアー法」	EN13697:2015 (phase2/step2)
対象菌	(細菌) ・ <i>S. aureus</i> ・ <i>P. aeruginosa</i> ・ <i>E. coli</i> (真菌) ・ <i>C. albicans</i> ・ <i>A. brasiliensis</i> (芽胞) ・ <i>B. subtilis</i>	(細菌) ・ <i>S. aureus</i> ・ <i>E. hirae</i> ・ <i>P. aeruginosa</i> ・ <i>E. coli</i> (真菌) ・ <i>C. albicans</i> ・ <i>A. brasiliensis</i>
キャリアー	ステンレス、塩化ビニルなど 5cm × 5cm	ステンレスディスク 直径2cm
キャリアー当たりの菌数 (乾燥前)	10 <sup>5</sup> ~10 <sup>6</sup> CFU	細菌:約10 <sup>7</sup> CFU 真菌:約10 <sup>6</sup> CFU
薬液調製	実使用時の水 (精製水、水道水など)	硬水(375ppm)
主な負荷物質	無し	0.03% BSA or 0.3% BSA (接種菌液での濃度)
薬液滴下量	記載なし	100μL
作用温度、時間	5~15min (温度は記載なし)	細菌:18~25°C、5min 真菌:18~25°C、15min
活性の要求基準	細菌、真菌:3log <sub>10</sub> 以上 芽胞:2log <sub>10</sub> 以上	細菌:4log <sub>10</sub> 以上 真菌:3log <sub>10</sub> 以上

## ■参考文献・資料

- 1) 生体消毒薬の有効性評価指針：手指衛生 2011. 日本環境感染学会 消毒薬評価委員会
- 2) 生体消毒薬の有効性評価指針：手術野消毒 2013. 日本環境感染学会 消毒薬評価委員会
- 3) 消毒法及び除染法. 日本薬局方収載原案に関するご意見の募集について(平成26年9月分).  
<https://www.pmda.go.jp/files/000164350.pdf>. 2015年5月31日現在.
- 4) 熊谷善敏, Soumitra Sen. ヨーロッパにおける統一標準殺菌効力試験の現状. *防菌防黴* 1999; 27, 109-113
- 5) 梶浦工. 欧州の殺菌・消毒薬効力評価試験法について. *防菌防黴* 2000; 28, 327-332
- 6) 梶浦工, 和田英己. 外国における消毒薬の抗微生物評価の現状. *防菌防黴* 2007; 35, 375-381
- 7) prEN 14885:2014 Chemical disinfectants and antiseptics - Application of European Standards for chemical disinfectants and antiseptics
- 8) Efficacy Testing Standards for Reregistration. Antimicrobial Policy & Guidance Documents.  
[http://www.epa.gov/oppad001/efficacy\\_testing\\_standards\\_reregistration.pdf](http://www.epa.gov/oppad001/efficacy_testing_standards_reregistration.pdf). accessed May 31, 2015.

- 9) EN 1040:2005 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics - Test method and requirements (phase 1)
- 10) EN 13727:2012 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical area - Test method and requirements (phase 2, step 1)
- 11) ASTM E2315-03 Standard Guide for Assessment of Antimicrobial Activity Using a Time-Kill Procedure
- 12) EN 13697:2015 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative non-porous surface test for the evaluation of bactericidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and institutional areas - Test method and requirements without mechanical action (phase 2, step 2)
- 13) ASTM E2197-11 Standard Quantitative Disk Carrier Test Method for Determining Bactericidal, Virucidal, Fungicidal, Mycobactericidal, and Sporicidal Activities of Chemicals
- 14) EN 14561:2006 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative carrier test for the evaluation of bactericidal activity for instruments used in the medical area - Test method and requirements (phase 2, step 2)
- 15) AOAC Official Method 955.15 Testing Disinfectants against *Staphylococcus aureus* Use-Dilution Method
- 16) AOAC Official Method 964.02 Testing Disinfectants against *Pseudomonas aeruginosa* Use-Dilution Method
- 17) AOAC Official Method 955.14 Testing Disinfectants against *Salmonella choleraesuis* Use-Dilution Method
- 18) UDM Performance Standard Revision Document. Antimicrobial Policy & Guidance Documents. [http://www.epa.gov/oppad001/umd\\_performance\\_standard\\_revision\\_document.pdf](http://www.epa.gov/oppad001/umd_performance_standard_revision_document.pdf) accessed May 31, 2015.
- 19) EN 1276:2009 Chemical disinfectants and antiseptics— Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic and institutional areas - Test method and requirements (phase 2, step 1)
- 20) EN 1650:2008 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal or yeasticidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic and institutional areas - Test method and requirements (phase 2, step 1)