

様式第5号

29工生研第2040号

平成30年3月15日

受託研究報告書

株式会社 ST ホールディングス
代表取締役 吉永 克美 殿

福岡県工業技術センター
生物食品研究所長



29年9月22日付けで受託契約した研究の結果について、福岡県工業技術センター受託研究要綱第9条及び実施要領第14条の規定により、下記のとおり報告します。

記

- 1 研究題目： 弱酸性次亜塩素酸水の抗菌及び抗バイオフィルム活性に関する研究
- 2 研究期間： 平成29年10月10日 ～ 平成30年3月31日
- 3 研究成果： 別添1のとおり
- 4 研究経費の支出実績： 150,000円 (詳細は別添2のとおり)

研究成果に係る報告書

◇研究課題名

弱酸性次亜塩素酸水の抗菌及び抗バイオフィルム活性に関する研究

◇研究の目的

弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水)の抗菌活性、芽胞不活化活性及びバイオフィルム殺菌活性を評価し、その有用性を示す。

◇研究の内容

食中毒菌や薬剤耐性菌の抗菌活性、芽胞やカビ胞子の不活化活性、バイオフィルム殺菌活性の測定系を確立し、弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水)と次亜塩素酸ナトリウム水との比較を行い、その有用性を検証する。さらに、各項目における使用濃度と接触時間の最適化を行う。

◇実施項目

1. 芽胞失活試験
2. カビ胞子失活試験
3. バイオフィルム殺菌試験
4. 食中毒菌殺菌試験
5. 薬剤耐性菌殺菌試験

◇試験結果(概要)

有用性の比較

試験項目	エヴァ水	次亜塩素酸Na水
芽胞	◎	×
カビ孢子	◎	△
バイオフィルム	◎	○
食中毒菌	◎	◎
薬剤耐性菌	◎	◎

殺菌率の比較(抜粋)

微生物	処理時間 (分)	エヴァ水			次亜塩素酸Na水
		50ppm	200ppm	500ppm	200ppm
芽胞					
<i>Bacillus subtilis</i> 枯草菌	3	99.99<	—	—	4.28
<i>Bacillus cereus</i> セレウス菌	3	99.99<	—	—	37.30
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> 耐熱菌	5	92.17	99.99<	—	48.19
カビ孢子					
<i>Alternaria alternata</i> ススカビ	3	99.95	—	—	96.81
<i>Aspergillus niger</i> クロコウジカビ	3	99.99<	—	—	52.81
<i>Cladosporium cladosporioides</i> クロカビ	3	99.99<	—	—	40.48
<i>Exophiala dermatitidis</i> ヒト病原性菌種	3	99.99<	—	—	99.74
<i>Rhizopus oryzae</i> クモノスカビ	3	99.99<	—	—	99.63
バイオフィルム					
<i>Streptococcus mutans</i> 虫歯菌	3	99.50	99.99<	99.9999<	99.78
<i>Porphyromonas gingivalis</i> 歯周病菌	3	65.00	99.96	99.9999<	91.79
食中毒菌					
<i>Bacillus cereus</i> セレウス菌	1	99.999<	—	—	99.93
<i>Listeria monocytogenes</i> リステリア菌	1	99.999<	—	—	99.999<
<i>Staphylococcus aureus</i> 黄色ブドウ球菌	1	99.999<	—	—	99.999<
<i>Escherichia coli</i> 大腸菌	1	99.999<	—	—	99.999<
<i>Salmonella enterica</i> サルモネラ菌	1	99.999<	—	—	99.999<
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> 腸炎ビブリオ	1	99.999<	—	—	99.999<
薬剤耐性菌					
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)	1	99.999<	—	—	99.999<
Vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecalis</i> バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)	1	99.999<	—	—	99.999<
Multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 多剤耐性緑膿菌(MDRP)	1	99.999<	—	—	99.999<

殺菌率(%)

1. 芽胞

- ・ *B. subtilis* 及び *B. cereus* 芽胞に対しては、50ppm エヴァ水、3 分処理が有効である。
- ・ *G. stearothermophilus* 芽胞に対しては、200ppm エヴァ水、5 分処理が有効である。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水では、いずれの芽胞に対して高い殺菌効果は得られない。

2. カビ胞子

- ・ カビ胞子に対しては、50ppm エヴァ水、3 分処理が有効である。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水、3 分処理では、カビの種類によって高い殺菌効果が得られない場合がある。

3. バイオフィーム

- ・ バイオフィームに対しては、200ppm エヴァ水、3 分処理が最低限必要である。500ppm、3 分処理がより効果的である。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水、3 分処理では、バイオフィームの種類によって高い殺菌効果が得られない場合がある。

4. 食中毒菌殺菌

- ・ 食中毒菌に対しては、50ppm エヴァ水、1 分処理が有効である。
- ・ *B. cereus* を除く食中毒菌に対しては、200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水、1 分処理が有効である。

5. 薬剤耐性菌殺菌

- ・ 薬剤耐性菌に対しては、50ppm エヴァ水、1 分処理あるいは 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水、1 分処理が有効である。

微生物のなかには、芽胞やバイオフィームを形成するなどの防御機構を駆使して生き残るものもある。このため、このような微生物の殺菌は、食品工場や医療の現場で注視すべき課題である。本研究により、エヴァ水は実際の現場でも想定される微生物の効率的な殺菌が可能であることが示唆された。

◇試験方法及び結果(詳細)

1. 芽胞失活試験

芽胞形成菌は、加熱、乾燥、薬剤などに強い耐性を示す芽胞を形成することにより、厳しい環境に耐えることができる。このため、芽胞は製造後の食品中に生残することが多々あり、食品の変敗や食中毒の原因となっている。

そこで、代表的な芽胞形成菌である枯草菌やセレウス菌(食中毒菌)などを用いて、弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水)及び汎用されている次亜塩素酸ナトリウム水の芽胞失活試験を行い、その有効性を検証すると共に、有効な濃度及び処理時間を明らかにする。

1-1. 試料及び試薬等

・被検菌(芽胞形成菌):

Bacillus subtilis NBRC3134 枯草菌

Bacillus cereus NBRC13494 セレウス菌(食中毒菌)

Geobacillus stearothermophilus NBRC13737 耐熱菌

・被検試料:①弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水) 50、200ppm

②次亜塩素酸ナトリウム水 200ppm

③生理食塩水

・反応停止液:0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP

・標準寒天培地:日水製薬製

1-2. 試験方法

- ① 試料 1ml へ芽胞を $10^6 \sim 10^7$ 個/ml となるように添加した。
- ② 1、3、5 分間静置した。
- ③ 0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP を 9ml 添加して反応を停止した。
- ④ 反応停止試料を 10 倍段階希釈した。
- ⑤ 寒天培地法で生残芽胞数を測定した。

殺菌率(%) = (対照芽胞数 - 生残芽胞数) / 対照芽胞数 × 100

殺菌活性値 = 対照芽胞数の対数 - 生残芽胞数の対数 (殺菌効果:殺菌活性値 2.0 以上)

1-3. 結果(表 1)

①1 分間処理

- ・ 50ppm エヴァ水では、*B. cereus* 芽胞に対しては 99%以上の殺菌率を示したが、*B. subtilis* 及び *G. stearothermophilus* 芽胞に対しては高い殺菌効果は得られなかった。200ppm におい

でも、*G. stearothermophilus* 芽胞に対しては 86.37%であり、高い殺菌効果は得られなかった。

- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水では、いずれの芽胞に対しても高い殺菌効果は得られなかった。

②3 分間処理

- ・ 50ppm エヴァ水では、*B. subtilis* 及び *B. cereus* 芽胞に対しては 99.99%以上の高い殺菌率を示した。しかし、*G. stearothermophilus* 芽胞に対しては 84.15%であり、高い殺菌効果は得られなかった。また、200ppm エヴァ水では 99.82%の殺菌率を示したが、*B. subtilis* 及び *B. cereus* 芽胞に対するような 99.99%以上の高い殺菌率は得られなかった。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水では、いずれの芽胞に対しても高い殺菌効果は得られなかった。

③5 分間処理

- ・ 50ppm エヴァ水では、*G. stearothermophilus* 芽胞に対しては 92.17%であり、処理時間を延長することでわずかながら殺菌効果の向上が見られた。一方、200ppm エヴァ水では 99.99%以上の高い殺菌率は得られた。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水では、*G. stearothermophilus* 芽胞に対して高い殺菌効果は得られなかった。

以上の結果より、

- ・ *B. subtilis* 及び *B. cereus* 芽胞に対しては 50ppm エヴァ水、3 分処理が有効である。
- ・ *G. stearothermophilus* 芽胞に対して 200ppm エヴァ水、5 分処理が有効である。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水では、いずれの芽胞に対して高い殺菌効果は得られない。

表1 芽胞に対する弱酸性次亜塩素酸水(エヴァア水)及び次亜塩素酸ナトリウム水の効果

1分間処理	50ppmエヴァア水		200ppmエヴァア水		200ppm次亜塩素酸Na水	
	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値
<i>Bacillus subtilis</i> NBRC3134 枯草菌	47.471	0.28	—	—	2.724	0.01
<i>Bacillus cereus</i> NBRC13494 セレウス菌(食中毒菌)	99.615	2.41	—	—	15.476	0.07
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> NBRC13737 耐熱菌	15.957	0.08	86.374	0.87	19.149	0.09
3分間処理						
芽胞	50ppmエヴァア水		200ppmエヴァア水		200ppm次亜塩素酸Na水	
	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値
<i>Bacillus subtilis</i> NBRC3134 枯草菌	99.998	4.81	—	—	4.280	0.02
<i>Bacillus cereus</i> NBRC13494 セレウス菌(食中毒菌)	99.992 <	4.10 <	—	—	37.302	0.20
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> NBRC13737 耐熱菌	84.149	0.80	99.823	2.75	51.596	0.32
5分間処理						
芽胞	50ppmエヴァア水		200ppmエヴァア水		200ppm次亜塩素酸Na水	
	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値
<i>Bacillus subtilis</i> NBRC3134 枯草菌	—	—	—	—	—	—
<i>Bacillus cereus</i> NBRC13494 セレウス菌(食中毒菌)	—	—	—	—	—	—
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> NBRC13737 耐熱菌	92.169	1.11	99.997	4.56	48.193	0.29

2. カビ孢子失活試験

カビは比較的低い水分条件(水分活性)でも生育できるため、菓子やパンなどの変敗の主な原因となっている。また、乾燥して舞い上がり、空中を漂っているカビ孢子を吸い込んでしまうと喘息等アレルギー疾患の原因となる場合もある。

そこで、食品や浴室などの水回りに繁殖する代表的なカビを用いて、弱酸性次亜塩素酸水(エヴァア水)及び汎用されている次亜塩素酸ナトリウム水のカビ孢子失活試験を行い、その有効性を検証すると共に、有効な濃度及び処理時間を明らかにする。

2-1. 試料及び試薬等

・被検菌(孢子形成菌):

Alternaria alternata NBRC31805 ススカビ

Aspergillus niger NBRC105649 クロコウジカビ

Cladosporium cladosporioides NBRC6348 クロカビ(クロカワカビ)

Exophiala dermatitidis NBRC6421 ヒト病原真菌

Rhizopus oryzae NBRC31005 クモノスカビ

・被検試料:①弱酸性次亜塩素酸水(エヴァア水) 50ppm

②次亜塩素酸ナトリウム水 200ppm

③生理食塩水

・反応停止液:0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP

・ポテトデキストロース寒天培地:日水製薬製

2-2. 試験方法

- ① 試料 1ml へ芽胞を $10^5 \sim 10^6$ 個/ml となるように添加した。
- ② 1、3 分間静置した。
- ③ 0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP を 9ml 添加して反応を停止した。
- ④ 反応停止試料を 10 倍段階希釈した。
- ⑤ 寒天培地法で生残孢子数を測定した。

殺菌率(%) = (対照孢子数 - 生残孢子数) / 対照孢子数 × 100

殺菌活性値 = 対照孢子数の対数 - 生残孢子数の対数 (殺菌効果:殺菌活性値 2.0 以上)

2-3. 結果(表2)

①1 分間処理

- ・ 50ppm エヴァア水では、*A. niger*、*C. cladosporioides*、*E. dermatitidis* 孢子に対しては 99.99% 以上の高い殺菌率を示した。*A. alternata* 及び *R. oryzae* 孢子に対しては 99.99%に達しなかつた。

ったものの、それぞれ 99.71、99.85%と比較的高い殺菌効果が得られた。

- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水では、いずれの胞子に対しても高い殺菌効果は得られなかった。

②3 分間処理

- ・ 50ppm エヴァ水では、*A. niger*、*C. cladosporioides*、*E. dermatitidis*、*R. oryzae* 胞子に対しては 99.99%以上の高い殺菌率を示した。*A. alternata* 胞子に対しては 99.99%に達しなかったものの、99.95%と比較的高い殺菌効果が得られた。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水では、*A. alternata*、*E. dermatitidis*、*R. oryzae* 胞子に対しては、それぞれ 96.82、99.74、99.63%と比較的高い殺菌効果が得られた。しかし *A. niger*、*C. cladosporioides* 胞子に対しては高い殺菌効果は得られなかった。

以上の結果より、

- ・ カビ胞子に対しては 50ppm エヴァ水、3 分処理が有効である。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水、3 分処理では、カビの種類によって高い殺菌効果が得られない場合がある。

表2 カビ胞子に対する弱酸性次亜塩素酸水(エヴァア水)及び次亜塩素酸ナトリウム水の効果

カビ胞子	50ppmエヴァア水		200ppm次亜塩素酸Na水	
	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値
<i>Alternaria alternata</i> NBRC31805 ススカビ	99.7121	2.54	13.6364	0.06
<i>Aspergillus niger</i> NBRC105649 クロコウジカビ	99.9989 <	4.95 <	2.2472	0.01
<i>Cladosporium cladosporioides</i> NBRC6348 クロカビ(クロカワカビ)	99.9988 <	4.92 <	12.5000	0.06
<i>Exophiala dermatitidis</i> NBRC6421 ヒト病原真菌	99.9987 <	4.89 <	8.9744	0.04
<i>Rhizopus oryzae</i> NBRC31005 クモノスカビ	99.8500	2.82	6.8750	0.03
3分間処理				
カビ胞子	50ppmエヴァア水		200ppm次亜塩素酸Na水	
	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値
<i>Alternaria alternata</i> NBRC31805 ススカビ	99.9545	3.34	96.8182	1.50
<i>Aspergillus niger</i> NBRC105649 クロコウジカビ	99.9989 <	4.95 <	52.8090	0.33
<i>Cladosporium cladosporioides</i> NBRC6348 クロカビ(クロカワカビ)	99.9988 <	4.92 <	40.4762	0.23
<i>Exophiala dermatitidis</i> NBRC6421 ヒト病原性菌種	99.9987 <	4.89 <	99.7436	2.59
<i>Rhizopus oryzae</i> NBRC31005 クモノスカビ	99.9988 <	4.90 <	99.6250	2.43

3. バイオフィルム殺菌試験

バイオフィルムは物質表面に付着した微生物集団と微生物が産生する細胞外多糖からなる組織化された3次元構造体である。バイオフィルム内の微生物は抗生物質や免疫に対する抵抗性が高くなるため、これにより引き起こされる難治性・慢性感染症が大きな問題となっている。また、食品製造ラインへバイオフィルムが形成され、それが原因で食中毒事件が発生した事案もある。

そこで、代表的なバイオフィルム感染症の1つであるう蝕菌(虫歯菌)及び歯周病菌を用いて、弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水)及び汎用されている次亜塩素酸ナトリウム水のバイオフィルム殺菌試験を行い、その有効性を検証すると共に、有効な濃度及び処理時間を明らかにする。

3-1. 試料及び試薬等

・被検菌(バイオフィルム産生菌):

Streptococcus mutans NBRC13955 う蝕菌(虫歯菌)

Porphyromonas gingivalis JCM12257 歯周病菌

・被検試料:①弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水) 50、200、500ppm

②次亜塩素酸ナトリウム水 200ppm

③生理食塩水

・12well プレート:コーニング製細胞培養用

・反応停止液:0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP

・羊血液寒天培地:極東製薬工業製

・ブルセラ HK 寒天培地(RS):極東製薬工業製

3-2. 試験方法

① 12well プレートへ培養液(*S. mutans*:TSB-3%Sucrose、*P. gingivalis*:enrichedBHI[※]で調製) 1ml を分注し、24 時間培養した。新鮮培地と交換し、さらに 72 時間培養してバイオフィルムを形成した。

※enrichedBHI: Brain heart infusion broth containing 0.5% yeast extract, 0.05% cysteine, 0.5mg% hemin and 0.05mg% menadione

② 滅菌生理食塩水でバイオフィルムを 2 回洗浄した。

③ 試料 1ml 添加し、3 分間静置した。

④ 0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP を 9ml 添加して反応を停止した。

⑤ コンラージ棒でバイオフィルムを剥離させ、懸濁後、5 分間超音波処理を行った。

⑥ 懸濁試料を 10 倍段階希釈した。

⑦ 寒天培地法で生菌数を測定した。

S. mutans: 羊血液寒天培地、*P. gingivalis*:ブルセラ HK 寒天培地

$$\text{殺菌率(\%)} = (\text{対照菌数} - \text{生菌数}) / \text{対照菌数} \times 100$$

$$\text{殺菌活性値} = \text{対照菌数の対数} - \text{生菌数の対数} \quad (\text{殺菌効果: 殺菌活性値 } 2.0 \text{ 以上})$$

3-3. 結果(表3)

- 50ppm エヴァ水、3分処理では、*S. mutans*、*P. gingivalis* バイオフィルムに対してはそれぞれ99.50、65.00%の殺菌率を示した。
- 200ppm エヴァ水、3分処理では、*S. mutans*、*P. gingivalis* バイオフィルムに対してはそれぞれ99.99以上、99.96%の殺菌率を示した。
- 500ppm エヴァ水、3分処理では、いずれのバイオフィルムに対しても99.9999%以上の高い殺菌率を示した。
- 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水、3分処理では、*S. mutans*、*P. gingivalis* バイオフィルムに対してはそれぞれ99.78、91.79%の殺菌率を示した。

以上の結果より、

- バイオフィルムに対しては200ppm エヴァ水、3分処理が最低限必要である。500ppm、3分処理がより効果的である。
- 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水、3分処理では、バイオフィルムの種類によって高い殺菌効果が得られない場合がある。

表3 バイオフィルムに対する弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水)及び次亜塩素酸ナトリウム水の効果

3分間処理

試料	<i>Streptococcus mutans</i> NBRC13955		<i>Porphyromonas gingivalis</i> JCM12257	
	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値
50ppmエヴァ水	99.5000	2.30	65.0000	0.46
200ppmエヴァ水	99.9989	4.97	99.9554	3.35
500ppmエヴァ水	99.99997 <	6.52 <	99.9999	6.05
200ppm次亜塩素酸Na水	99.7803	2.66	91.7857	1.09

4. 食中毒菌殺菌試験

O157 などに代表される食中毒事件は頻発しており、事件数で年間 1000 件以上、患者数で 2 万人以上を推移している。食中毒の防止は食品メーカーの喫緊の課題であり続けている。

そこで、代表的な食中毒菌を用いて、弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水)及び汎用されている次亜塩素酸ナトリウム水の食中毒菌殺菌試験を行い、その有効性を検証すると共に、有効な濃度及び処理時間を明らかにする。

4-1. 試料及び試薬等

・被検菌(食中毒菌):

Bacillus cereus NBRC13494 セレウス菌(食中毒菌)

Listeria monocytogenes ATCC15313 リステリア菌

Staphylococcus aureus NBRC13276 黄色ブドウ球菌

Escherichia coli NBRC3972 大腸菌

Salmonella enterica NBRC3313 サルモネラ菌

Vibrio parahaemolyticus NBRC12711 腸炎ビブリオ

・被検試料:①弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水) 50ppm

②次亜塩素酸ナトリウム水 200ppm

③生理食塩水

・反応停止液:0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP

・標準寒天培地:日水製薬製

4-2. 試験方法

- ⑥ 試料 1ml へ芽胞を約 10^6 個/ml となるように添加した。
- ⑦ 1 分間静置した。
- ⑧ 0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP を 9ml 添加して反応を停止した。
- ⑨ 反応停止試料を 10 倍段階希釈した。
- ⑩ 寒天培地法で生菌数を測定した。

殺菌率(%) = (対照菌数 - 生菌数) / 対照菌数 × 100

殺菌活性値 = 対照菌数の対数 - 生菌数の対数 (殺菌効果:殺菌活性値 2.0 以上)

4-3. 結果(表 4)

- ・ 50ppm エヴァ水、1 分処理では、すべての食中毒菌に対して 99.999%以上の高い殺菌率を示した。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水 1 分処理では、*B. cereus* を除く食中毒菌に対して 99.999%

以上の高い殺菌率を示した。*B. cereus* に対しては 99.93%であった。

以上の結果より、

- ・ 食中毒菌に対しては、50ppm エヴァ水、1分処理が有効である。
- ・ *B. cereus* を除く食中毒菌に対しては、200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水、1分処理が有効である。

表4 食中毒菌に対する弱酸性次亜塩素酸水(エヴァア水)及び次亜塩素酸ナトリウム水の効果

1分間処理 食中毒菌	50ppmエヴァア水		200ppm次亜塩素酸Na水	
	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値
Gram-positive bacteria				
<i>Bacillus cereus</i> NBRC13494 セレウス菌	99.9991 <	5.05 <	99.9301	3.16
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC15313 リステリア菌	99.9998 <	5.75 <	99.9998 <	5.75 <
<i>Staphylococcus aureus</i> NBRC13276 黄色ブドウ球菌	99.9998 <	5.72 <	99.9998 <	5.72 <
Gram-negative bacteria				
<i>Escherichia coli</i> NBRC3972 大腸菌	99.9997 <	5.52 <	99.9997 <	5.52 <
<i>Salmonella enterica</i> NBRC3313 サルモネラ菌	99.9995 <	5.28 <	99.9995 <	5.28 <
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC12711 腸炎ビブリオ	99.9998 <	5.79 <	99.9998 <	5.79 <

5. 薬剤耐性菌殺菌試験

抗菌薬に対する耐性菌の出現と蔓延は世界的な問題となっており、院内感染防止を含めて医療現場ではその対策が急がれている。

そこで、代表的な薬剤耐性菌である MRSA、VRE、MDRP を用いて、弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水)及び汎用されている次亜塩素酸ナトリウム水の薬剤耐性菌殺菌試験を行い、その有効性を検証すると共に、有効な濃度及び処理時間を明らかにする。

5-1. 試料及び試薬等

・被検菌(薬剤耐性菌):

Staphylococcus aureus JCM8702 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)

Enterococcus faecalis ATCC51299 バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)

Pseudomonas aeruginosa GTC2017 多剤耐性緑膿菌(MDRP)

・被検試料:①弱酸性次亜塩素酸水(エヴァ水) 50ppm

②次亜塩素酸ナトリウム水 200ppm

③生理食塩水

・反応停止液:0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP

・標準寒天培地:日水製薬製

5-2. 試験方法

- ① 試料 1ml へ芽胞を約 10^6 個/ml となるように添加した。
- ② 1 分間静置した。
- ③ 0.05%チオ硫酸ナトリウム含有 SCDLP を 9ml 添加して反応を停止した。
- ④ 反応停止試料を 10 倍段階希釈した。
- ⑤ 寒天培地法で生菌数を測定した。

殺菌率(%) = (対照菌数 - 生菌数) / 対照菌数 × 100

殺菌活性値 = 対照菌数の対数 - 生菌数の対数 (殺菌効果:殺菌活性値 2.0 以上)

5-3. 結果(表 5)

- ・ 50ppm エヴァ水、1 分処理では、すべての薬剤耐性菌に対して 99.999%以上の高い殺菌率を示した。
- ・ 200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水 1 分処理では、すべての薬剤耐性菌に対して 99.999%以上の高い殺菌率を示した。

以上の結果より、

- ・ 薬剤耐性菌に対しては、50ppm エヴァ水、1分処理あるいは200ppm 次亜塩素酸ナトリウム水、1分処理が有効である。

表5 薬剤耐性菌に対する弱酸性次亜塩素酸水(エヴァア水)及び次亜塩素酸ナトリウム水の効

1分間処理

薬剤耐性菌	50ppmエヴァア水		200ppm次亜塩素酸Na水	
	殺菌率(%)	殺菌活性値	殺菌率(%)	殺菌活性値
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> JCM8702 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)	99.9998 <	5.67 <	99.9998 <	5.67 <
Vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC51299 バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)	99.9990 <	5.02 <	99.9990 <	5.02 <
Multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> GTC2017 多剤耐性緑膿菌(MDRP)	99.9995 <	5.28 <	99.9995 <	5.28 <

