



DIVISION OF MEDICAL MICROBIOLOGY
DEPARTMENT OF INFECTIOUS DISEASES
KYORIN UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE

6-20-2, Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181-8611, Japan
Tel. 0422-47-5511 Ext. 3462, 3463, 3464, 3469 Fax. 0422-44-7325

2007年12月10日

研究報告書

研究課題：ナノテクビームイオンと UV ランプの病原細菌に対する効果（第 2 報）

研究代表者：杏林大学医学部感染症学、教授 神谷 茂

研究協力者：杏林大学医学部感染症学、助教 蔵田 訓



研究期間：平成 19 年 10 月 1 日～平成 19 年 11 月 15 日

実験方法

（1）被検菌種

以下の菌種を使用した

1. *Enterococcus faecalis* ATCC19433（腸球菌）
2. *Bacillus cereus* ATCC14579（セレウス菌）
3. *Salmonella* Enteritidis（腸炎菌）
4. *Salmonella* Typhimurium（ネズミチフス菌）
5. *Serratia marcescens*（霊菌）
6. *Aeromonas sobria*（エロモナス・ソブリア）
7. *Burkholderia cepacia*（セパシア菌）
8. *Vibrio cholerae* non-O1（ナグビブリオ）
9. *Vibrio parahaemolyticus*（腸炎ビブリオ）
10. *Helicobacter pylori*（ピロリ菌）
11. *Candida albicans*（カンジダ・アルビカンス）

（2）使用培地

以下の培地を各種細菌、真菌の希釈および培養に使用した。

i) 液体培地

・ブレインハートインヒュージョンブイヨン [DIFCO]

1～8 および 11 の菌種の前培養に使用した。



DIVISION OF MEDICAL MICROBIOLOGY
DEPARTMENT OF INFECTIOUS DISEASES
KYORIN UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE

6-20-2, Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181-8611, Japan
Tel. 0422-47-5511 Ext. 3462, 3463, 3464, 3469 Fax. 0422-44-7325

- ・3%NaCl 加ブレインハートインフュージョンブイヨン [DIFCO]
9 の菌種の前培養に使用した。
- ・7%ウマ血清加ブルセラブロス [DIFCO]
10 の菌種の前培養に使用した

ii) 固形培地

- ・ブレインハートインフュージョン寒天培地 [DIFCO]
1 の菌種の培養に使用した。
- ・トリプトソーヤ寒天培地 (SCD 寒天培地) [ニッスイ]
2-8 の菌種の培養に使用した。
- ・3%NaCl 加トリプトソーヤ寒天培地 (SCD 寒天培地) [ニッスイ]
9 の菌種の培養に使用した。
- ・7%ウマ血清加ブルセラ寒天 [DIFCO]
10 の菌種の培養に使用した。
- ・サブロー寒天培地 [ニッスイ]
11 の菌種の培養に使用した。

(3) ナノテクビームイオンの作用・培養

・菌種 NO.1 (*E.faecalis*)

ブレインハートインフュージョンブイヨンで 37°C・24 時間培養した被検菌液をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) にて希釈後、ブレインハートインフュージョン寒天培地に塗抹した。ナノテクビームイオンをデシケータ内で一定時間 (5, 10, 20, 40, 60 分) 作用させ、37°C・24 時間好気培養した後にコロニー数を算定した。対照はナノテクビームイオンデシケータ内には入れず、室温で 60 分放置した後、同様の条件で培養した。

・菌種 NO.2 (*B.cereus*)

ブレインハートインフュージョンブイヨンで 37°C・24 時間培養した被検菌液を PBS にて希釈後、トリプトソーヤ寒天培地に塗抹した。ナノテクビームイオンをデシケータ内で一定時間作用させ、30°C・18 時間好気培養した後にコロニー数を算定した。対照はナノテクビームイオンデシケータ内には入れず、室温で 60 分放置した後、同様の条件で培養した。



DIVISION OF MEDICAL MICROBIOLOGY
DEPARTMENT OF INFECTIOUS DISEASES
KYORIN UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE

6-20-2, Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181-8611, Japan
Tel. 0422-47-5511 Ext. 3462, 3463, 3464, 3469 Fax. 0422-44-7525

・菌種 NO.3-8 (腸内細菌科および *A.sobria*, *B.cepacia*, *V.cholerae* non-O1)

ブレインハートインフュージョンブイオンで 37°C・24 時間培養した被検菌液を PBS にて希釈後、トリプトソーヤ寒天培地に塗抹した。ナノテクビームイオンをデシケータ内で一定時間作用させ、37°C・24 時間好気培養した後にコロニー数を算定した。対照はナノテクビームイオンデシケータ内には入れず、室温で 60 分放置した後、同様の条件で培養した。

・菌種 NO.9 (*V.parahaemolyticus*)

3%NaCl 加ブレインハートインフュージョンブイオンで 37°C・24 時間培養した被検菌液を 3%NaCl 加 PBS にて希釈後、3%NaCl 加トリプトソーヤ寒天培地に塗抹した。ナノテクビームイオンをデシケータ内で一定時間作用させ、37°C・24 時間好気培養した後にコロニー数を算定した。対照はナノテクビームイオンデシケータ内には入れず、室温で 60 分放置した後、同様の条件で培養した。

・菌種 NO.10 (*H.pylori*)

7%ウマ血清加ブルセラブイオンにて 37°C・18 時間・5%微好気環境下にて培養した被検菌液を同新鮮培養液にて希釈後、7%ウマ血清加ブルセラ寒天に塗抹した。ナノテクビームイオンをデシケータ内で一定時間作用させ、37°C・72 時間・5%微好気環境下にて培養した後にコロニー数を算定した。対照はナノテクビームイオンデシケータ内には入れず、室温で 60 分放置した後、同様の条件で培養した。

・菌種 NO.11 (*C.albicans*)

ブレインハートインフュージョンブイオンで 30°C・24 時間培養した被検菌液を PBS にて希釈後、サブロー寒天培地に塗抹した。ナノテクビームイオンをデシケータ内で一定時間作用させ、30°C・48 時間好気培養した後にコロニー数を算定した。対照はナノテクビームイオンデシケータ内には入れず、室温で 60 分放置した後、同様の条件で培養した。

(4) 結果

ナノテクビームイオンの抗菌作用について 11 種類の菌株を使用して評価し



DIVISION OF MEDICAL MICROBIOLOGY
DEPARTMENT OF INFECTIOUS DISEASES
KYORIN UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE

6-20-2, Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181-8611, Japan
Tel. 0422-47-5511 Ext. 3462, 3463, 3464, 3469 Fax. 0422-44-7325

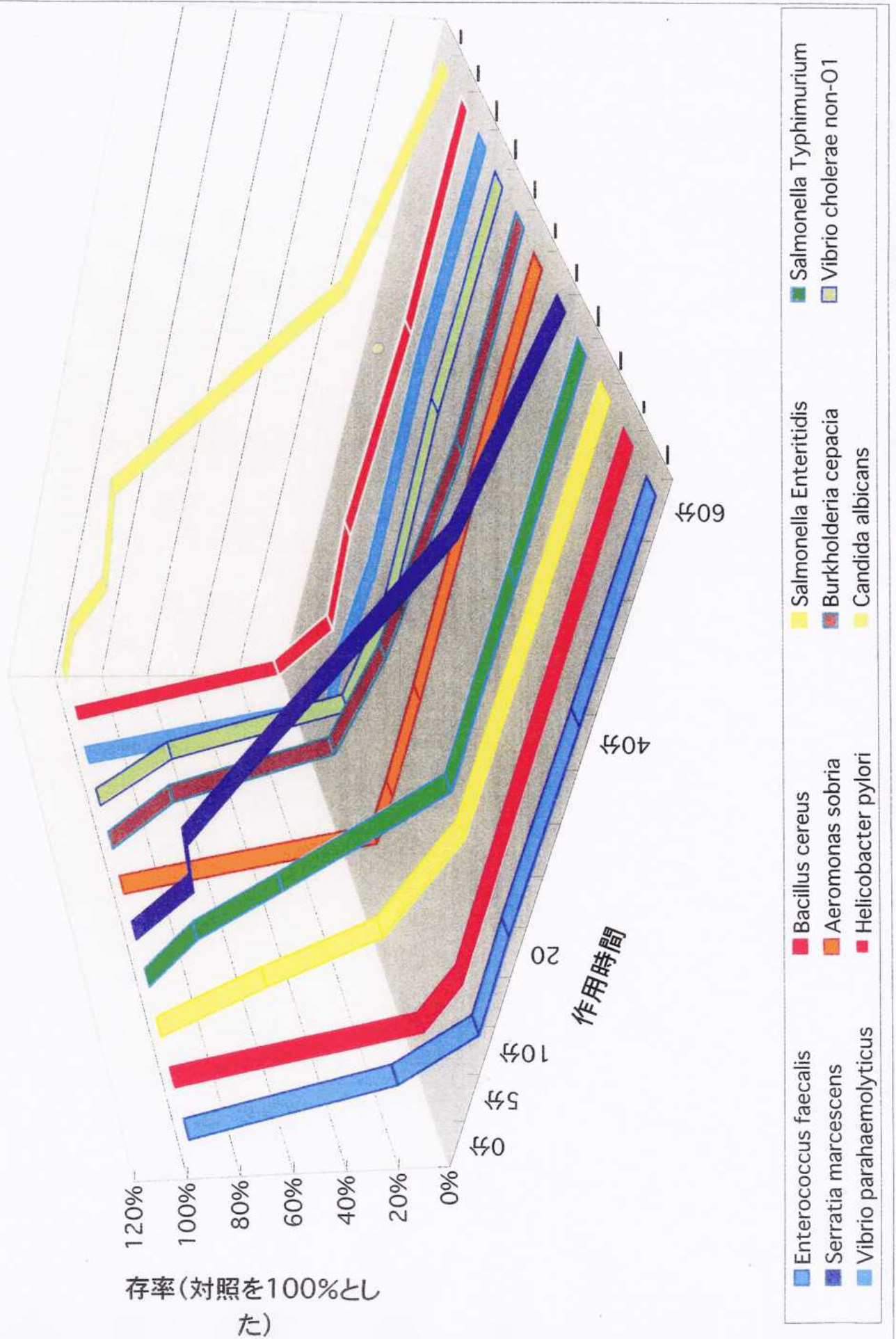
た(表1,表2)。ナノテクビームイオンの作用時間毎の被験菌株の生残率の推移を図1および図2に示した。ナノテクビームイオン処理後の生残コロニー数より、*Aeromonas sobria*(エロモナス・ソブリエ)、*Vibrio parahaemolyticus*(腸炎ビブリオ)、*Bacillus cereus*(セレウス菌)などの菌はナノテクビームイオンに対する感受性が強く、5分処理により90%以上の菌が死滅した(表2)。一方、*Candida albicans*(カンジダ・アルビカンス)、*Serratia marcescens*(セラチア・マルセッサンス)、*Salmonella Typhimurium*(サルモネラ・チフィムリウム:ネズミチフス菌)などの菌はナノテクビームイオンの即効性は現れず、ナノテクビームイオン処理10分後でも50%以上の生残率を示した。しかし、これらの菌種においてもナノテクビームイオン処理40分により生残菌数は20%以下となり、60分間のナノテクビームイオン処理により生残率は全て1%以下となった。その他の*Enterococcus faecalis*(フェカリス腸内球菌)、*Salmonella Enteritidis*(サルモネラ・エンテリティデス:ゲルトネル菌)、*Burkholderia cepacia*(セパシア菌)、*Vibrio cholerae non-O1*(NAGビブリオ)、*Helicobacter pylori*(ピロリ菌)はナノテクビームイオンに中等度の感受性を示した。ナノテクビームイオン10分の処理によりこれらの菌株の生残率は25%以下を示し、20分処理により95%以上の細菌は殺滅された。写真1に全ての実験結果のコロニー所見を提示した。

(5) 考察

ナノテクビームイオンはグラム陰性桿菌のみならず、グラム陽性球菌(*Enterococcus*)、グラム陽性桿菌(*Bacillus cereus*)、グラム陰性らせん状菌(*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Helicobacter pylori*)、真菌(*Candida albicans*)などにも強い抗菌作用を示すことが本研究にて明らかにされた。菌種の違いによりナノテクビームイオンに対する感受性が異なる理由は不明である。異なる種類の細菌に共通に存在する細胞壁、細胞質などへの直接的な傷害作用が想定される。

5-10分間という比較的短時間処理により広い範囲の病原細菌を殺滅できたことより、ナノテクビームイオンは環境内および院内に棲息する病原細菌の殺菌に有用である。

図2.作用時間による生存率の変化

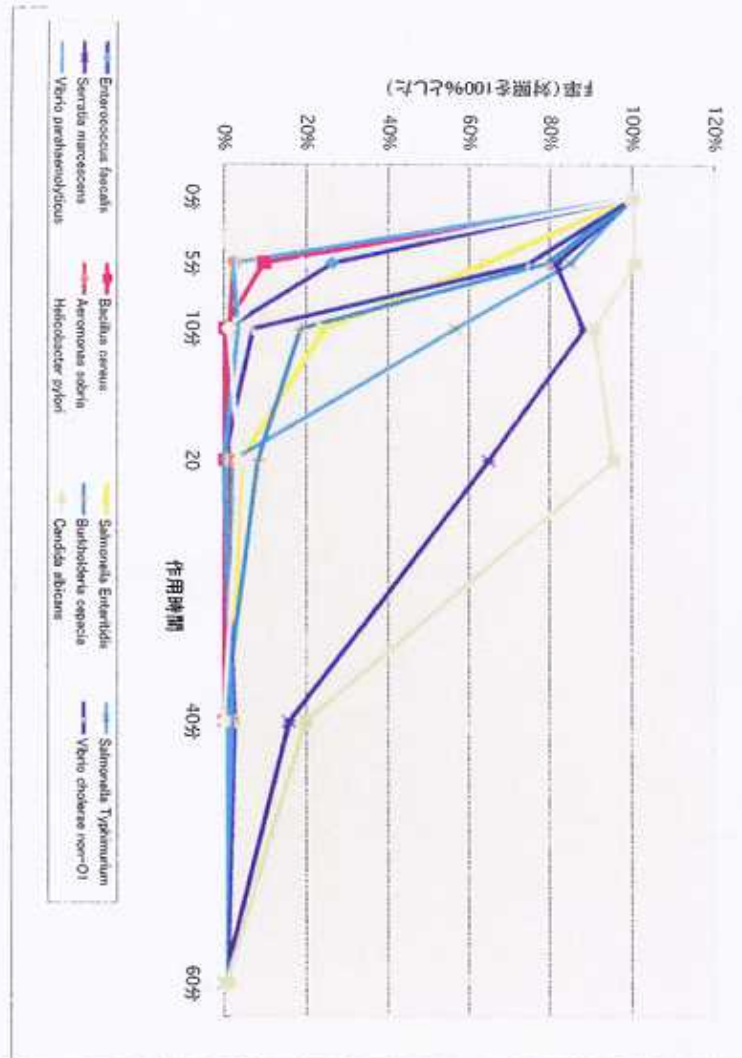




DIVISION OF MEDICAL MICROBIOLOGY
DEPARTMENT OF INFECTIOUS DISEASES
KYORIN UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE

6-20-2, Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181-8611, Japan
Tel. 0422-47-5511 Ext. 3462, 3463, 3464, 3469 Fax: 0422-44-7325

図1.作用時間による生存率の変化



Strain	0分	5分	10分	20分	40分	60分
Enterococcus faecalis	100.0%	26.3%	0.7%	1.1%	0.2%	0.0%
Bacillus cereus	100.0%	9.4%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
Serratia marcescens	100.0%	63.9%	24.5%	4.1%	1.6%	0.0%
Vibrio parahaemolyticus	100.0%	85.0%	56.7%	2.1%	0.8%	0.4%
Aeromonas sobrius	100.0%	81.4%	88.3%	64.8%	15.9%	0.0%
Helicobacter pylori	100.0%	2.2%	1.2%	0.9%	1.9%	0.9%
Salmonella Enteritidis	100.0%	79.1%	18.6%	8.3%	0.0%	0.2%
Burkholderia cepacia	100.0%	74.6%	7.0%	0.0%	2.6%	0.9%
Candida albicans	100.0%	2.3%	3.4%	0.0%	2.1%	0.1%
Salmonella Typhimurium	100.0%	18.7%	0.9%	3.7%	0.0%	0.0%
Vibrio cholerae non-O1	100.0%	100.0%	90.6%	95.3%	19.9%	0.6%