



各種耐性菌に対する *Bio Ozone Nano Water (BON)* の殺菌効果


Moe Chou¹, 伊藤輝代¹, 平松啓一¹,
○荒川真一², 和泉雄一², 眞野喜洋³

¹順天堂大学 医学部 細菌学講座

²東京医科歯科大学 歯学部附属病院 歯周病科

³東京医科歯科大学 医学部附属病院 高気圧治療部

⁴オゾンナノバブル水協力 株式会社REO研究所





目的

各種耐性菌に対してのBio Ozone Nano Water (BON)の殺菌効果を調べる.

材料と方法

細菌

- *Escherichia coli* NIHJ JC2

- *Staphylococcus aureus* N315 (MRSA)
- *Staphylococcus aureus*: hetero VISA Mu3,
VISA;Mu50, HIP PC, HIP NJ, HIP MI (MRSA)

- *Enterococcus faecalis* NCTC12201, NCTC12203 (VRE)
- *Enterococcus faecium* NCTC12202, NCTC12204 (VRE)

- *Pseudomonas aeruginosa* JICC 3, 4, 5, 6 (MDRP)

Staphylococcus aureus

	TEC	VCM	GM	AMK	CPFX	LVFX	IPM	CZX	CEZ	ABPC	TC	EM
ATCC29213	1	0.5	0.5	4	1	0.125	0.125	2	1	0.5	1	1
N315	1	1	1	32	1	0.125	0.06	2	128	16	0.25	>256
Mu3(hetero-VISA)	16	3	256	32	32	0.125	>256	>256	>256	32	16	>256
Mu50(VISA)	256	5	256	64	32	128	32	>256	>256	16	32	>256
VISA HIP NJ	16	6	2	128	32	32	8	>256	128	8	0.25	>256
VISA HIP PC	16	6	0.5	32	32	32	2	64	128	16	0.25	>256
VISA HIP MI	32	6	128	64	128	8	16	256	>256	64	0.25	>256

**TEC, teicoplanin; VCM, vancomycin; GM, gentamicin;
 AMK, amikacin; CPFX, ciprofloxacin; LVFX, levofloxacin;
 IPM, imipenem; CZX, ceftizoxim; CEZ, cefazolin; ABPC, ampicillin;
 TC, tetracycline; EM, erythromycin**

Enterococci

	TEC	VCM	GM	AMK	CPFX	LVFX	IPM	CZX	CEZ	ABPC	TC	EM
<i>E.faecidis</i> ATCC 19433	0.25	1	32	256	1	2	1	>256	128	1	0.5	2
<i>E.faecium</i> ATCC 19434	1	1	32	128	16	32	4	>256	256	4	0.25	4
<i>E.faecalis</i> NCTC 12201(VRE)	>256	>256	>256	>256	1	2	4	>256	128	2	32	>256
<i>E.faecium</i> NCTC12202(VRE)	128	>256	16	64	4	8	64	>256	>256	32	32	>256
<i>E.faecalis</i> NCTC 12203(VRE)	>256	>256	>256	>256	1	16	1	>256	64	2	128	>256
<i>E.faecium</i> NCTC 12204(VRE)	128	>256	32	64	4	8	64	>256	>256	32	32	>256

**TEC, teicoplanin; VCM, vancomycin; GM, gentamicin;
 AMK, amikacin; CPFX, ciprofloxacin; LVFX, levofloxacin;
 IPM, imipenem; CZX, ceftizoxim; CEZ, cefazolin; ABPC, ampicillin;
 TC, tetracycline; EM, erythromycin**

Pseudomonas aeruginosa

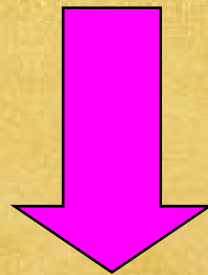
	TEC	VCM	GM	AMK	CPFX	LVFX	IPM	CZX	CEZ	ABPC	TC	EM
PAO1	>256	>256	2	4	0.25	0.5	1	64	>256	>256	16	256
JICC3(MDRP)	>256	>256	>256	>256	64	128	128	>256	>256	>256	64	256
JICC4(MDRP)	>256	>256	>256	256	256	256	128	>256	>256	>256	64	256
JICC5(MDRP)	>256	>256	>256	>256	32	64	128	>256	>256	>256	64	256
JICC6(MDRP)	>256	>256	>256	128	32	64	128	>256	>256	>256	64	256

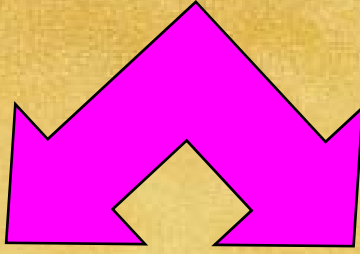
32µg/ml 4µg/ml 16µg/ml

**TEC, teicoplanin; VCM, vancomycin; GM, gentamicin;
 AMK, amikacin; CPFX, ciprofloxacin; LVFX, levofloxacin;
 IPM, imipenem; CZX, ceftizoxim; CEZ, cefazolin; ABPC, ampicillin;
 TC, tetracycline; EM, erythromycin**

殺菌効果の判定

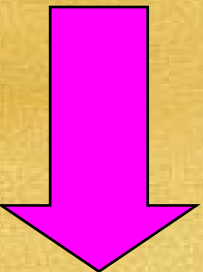
1. 細菌のコロニーを生理的食塩水に懸濁
2. 懸濁度を $OD_{578} = 0.3$ に調製
3. 2の懸濁液を $1/100$, $1/10^4$, and $1/10^5$ に希釈
4. $50\mu\text{l}$ の細菌懸濁液を培地に播種(コントロール)
5. 2の懸濁液を $1/20$ に希釈





6-1. 5の懸濁液 0.1ml を0.9ml の
BONに加える
(最終 BON 濃度: 90%)
(5×10^5 /ml: *S. aureus*:based on the standard of CLSI)

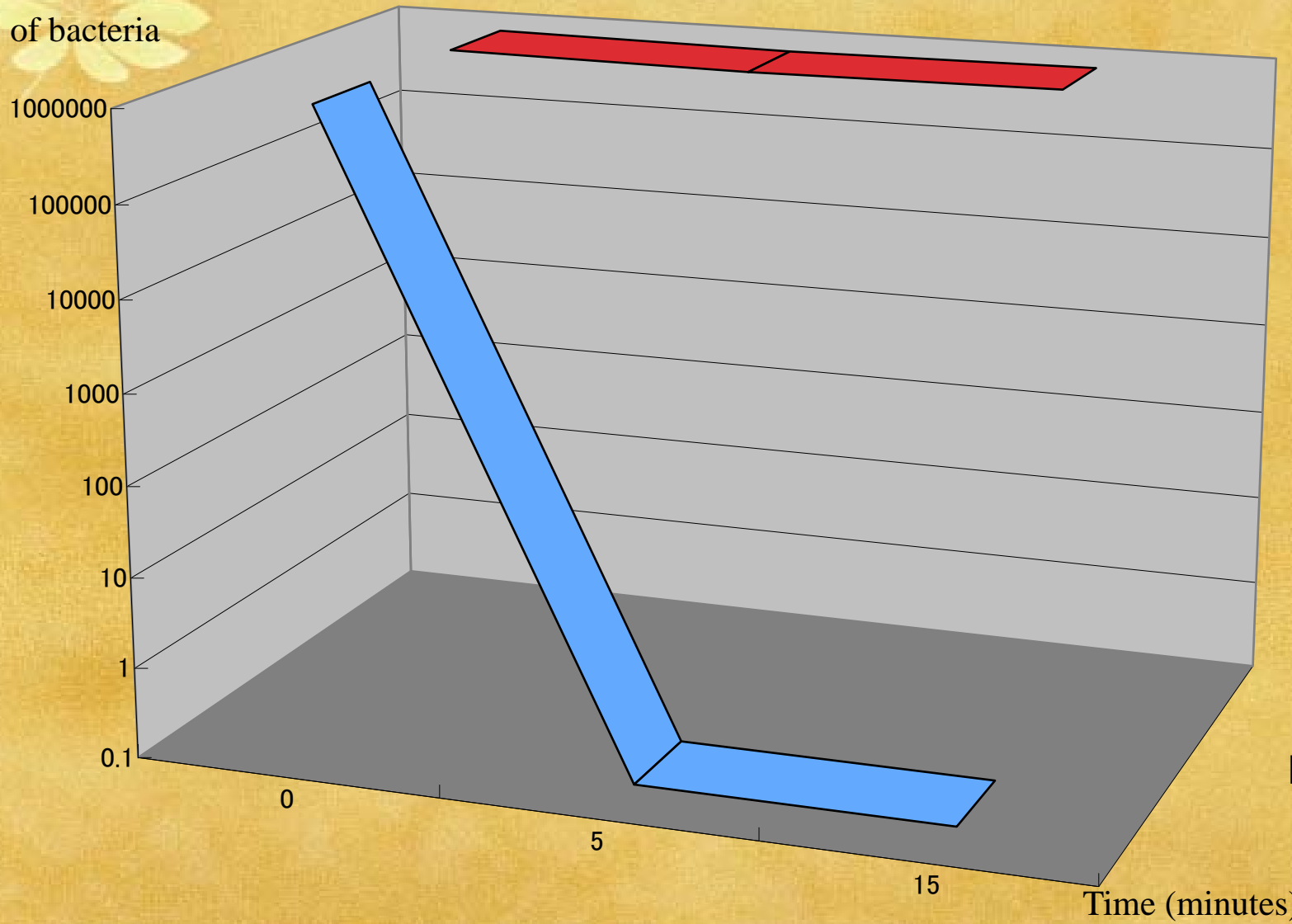
6-2. . 5の懸濁液 0.1ml を0.9ml の蒸留水
または培地 (HIB) で希釈したBONに
加える
(最終 BON 濃度: 40, 60, 80 %)

- 
7. 1, 5, 15, 30 分間インキュベート
 8. 100 μ l を培地に播種
 9. 37°C 一晚培養
 10. プレート上のコロニー数を計測

結果

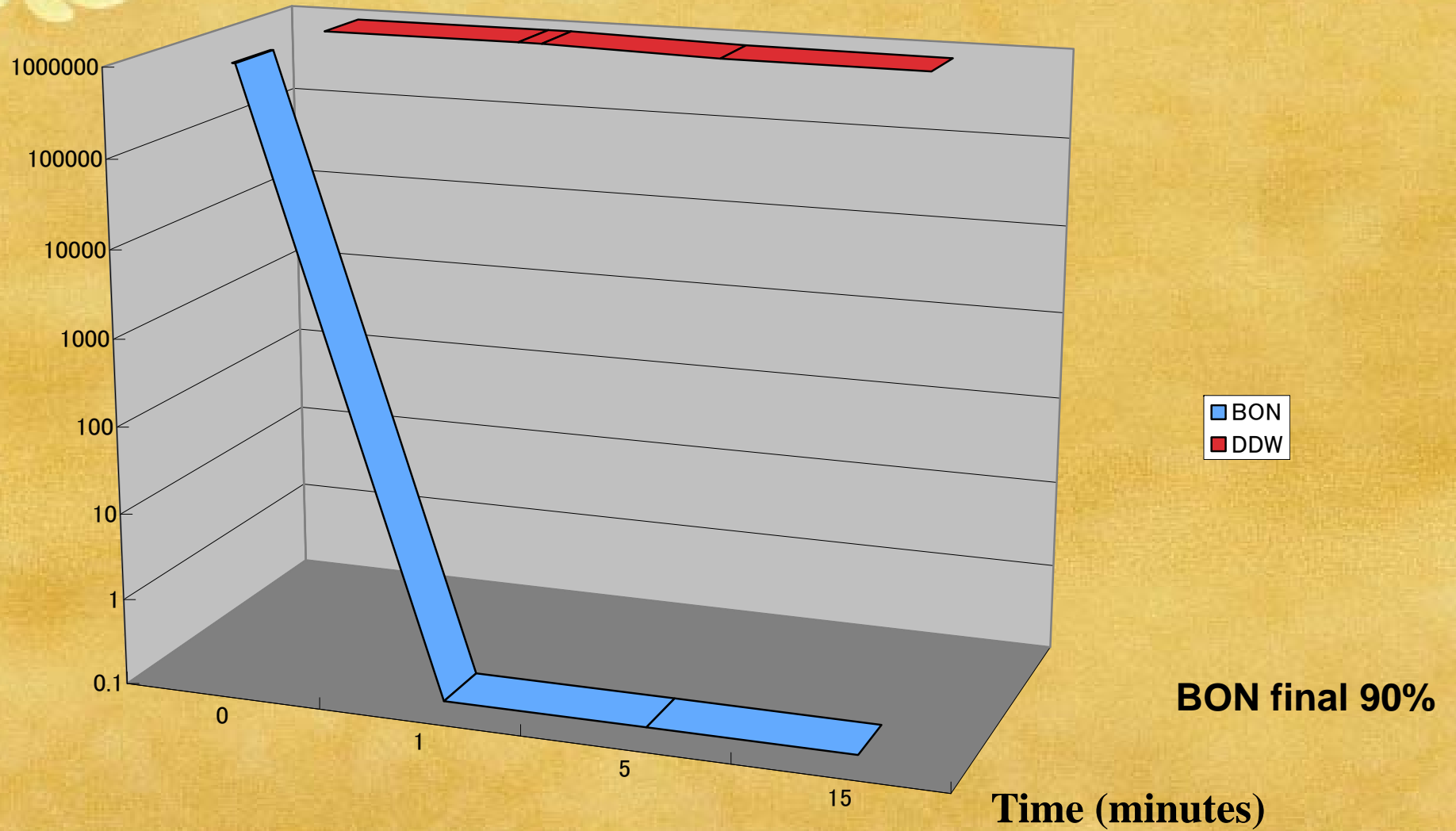
Escherichia coli NIHJ JC2

Num. of bacteria



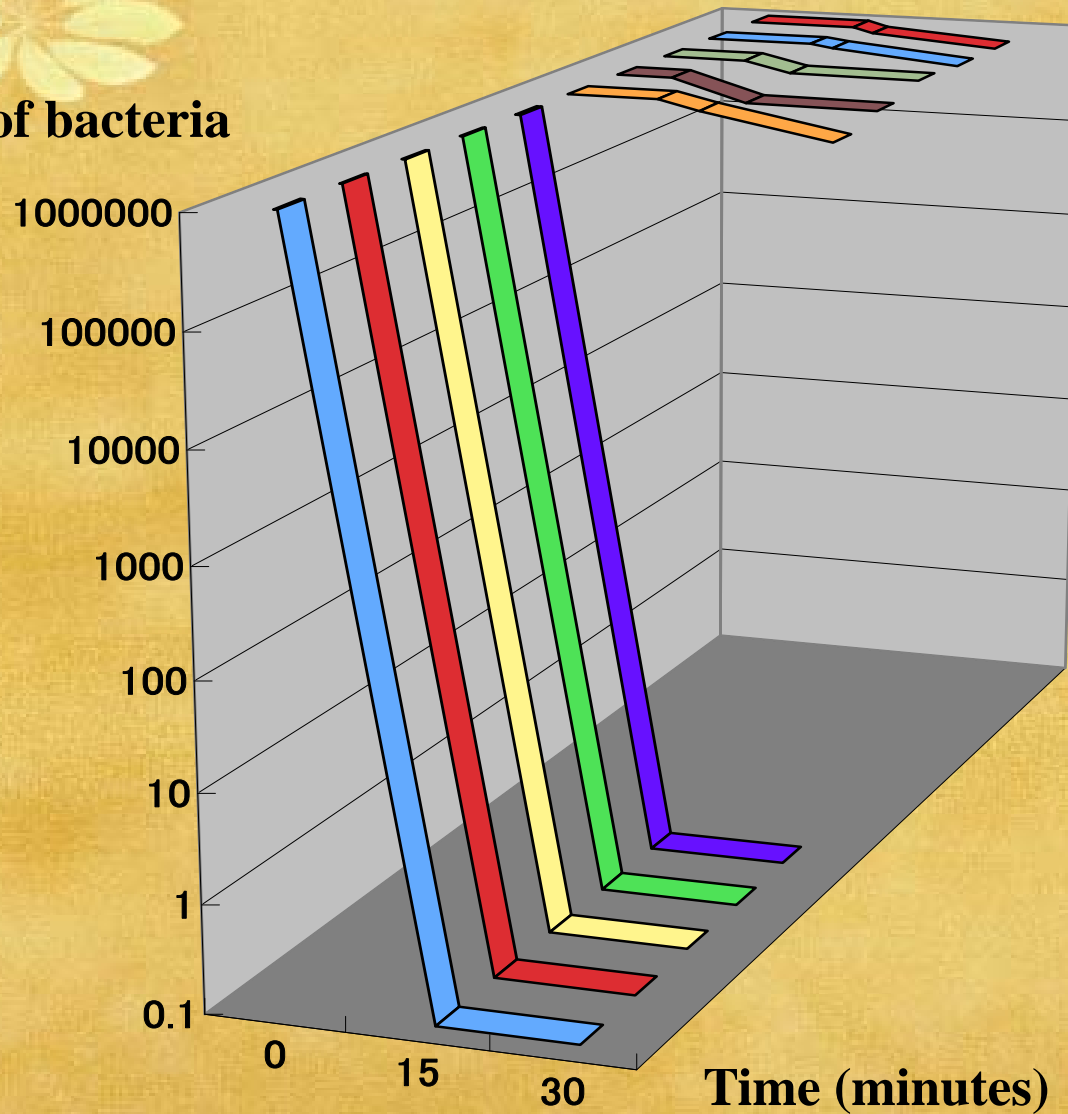
Staphylococcus aureus N315

Num. of bacteria



Multi-drug resistant *Staphylococcus aureus*

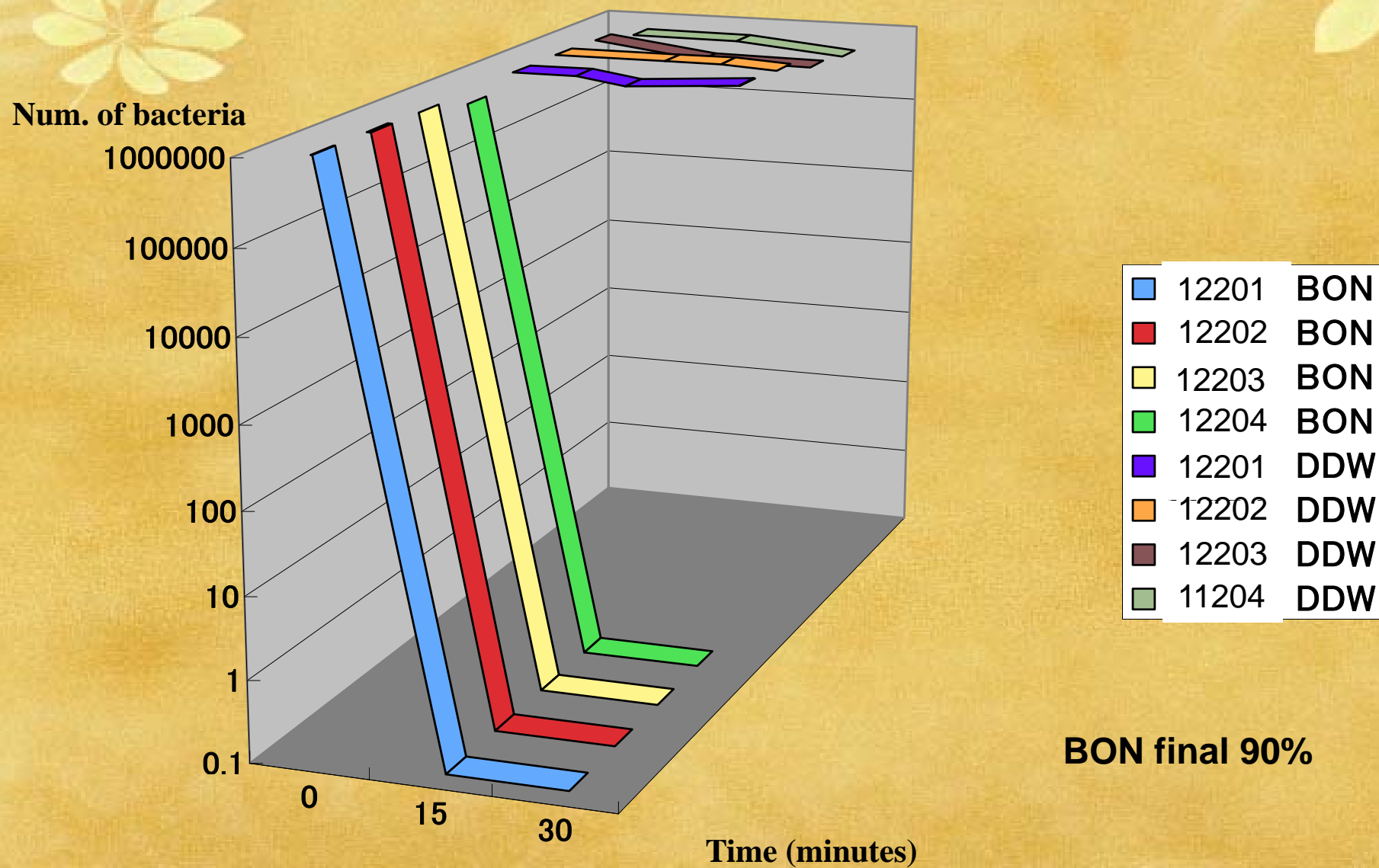
Num. of bacteria



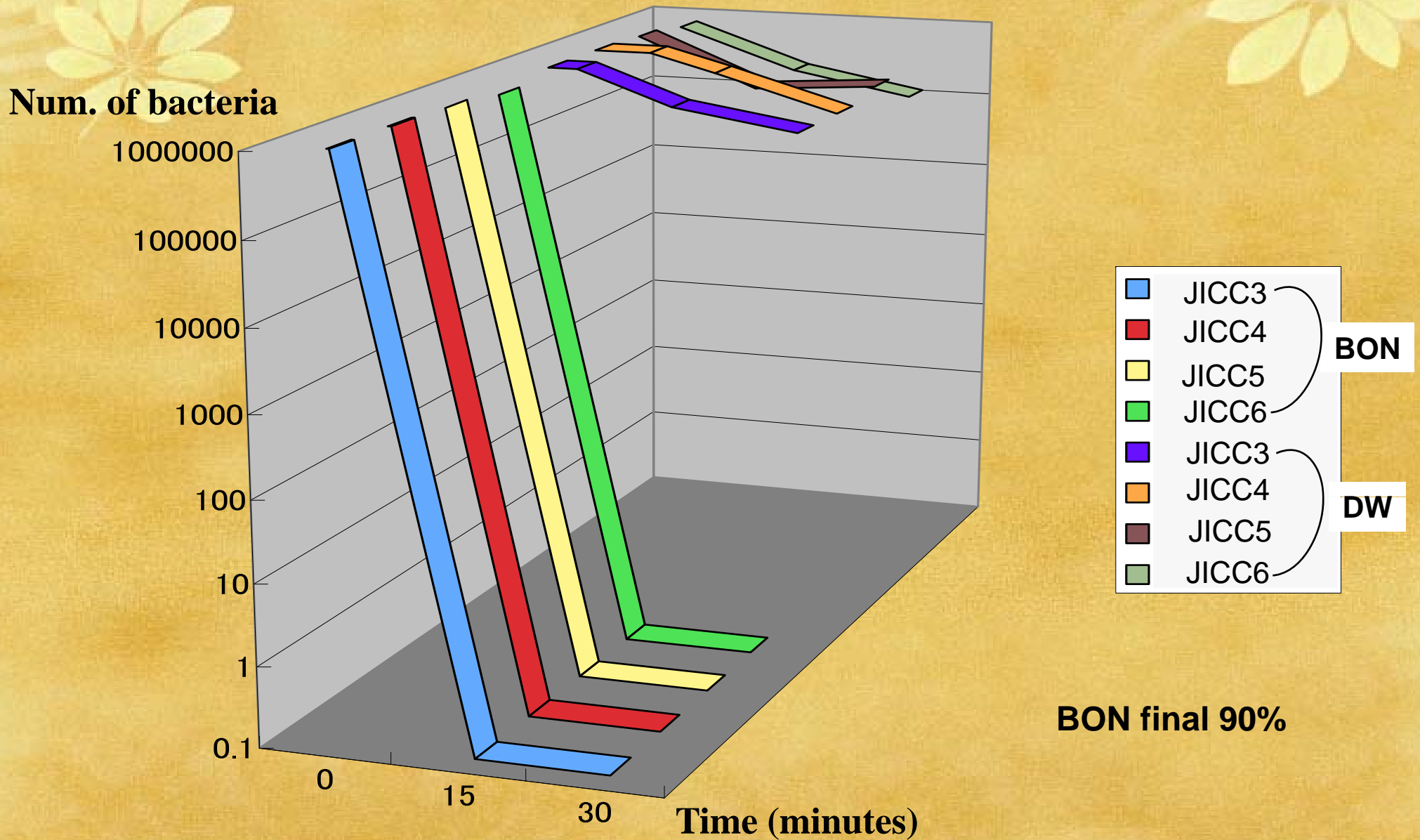
- Mu3 in BON
- Mu50 in BON
- VISA HIP PC in BON
- VISA HIP NJ in BON
- VISA HIP MI in BON
- Mu3 in DDW
- Mu50 in DDW
- VISA HIP PC in DDW
- VISA HIP NJ in DDW
- VISA HIP MI in DDW

BON final 90%

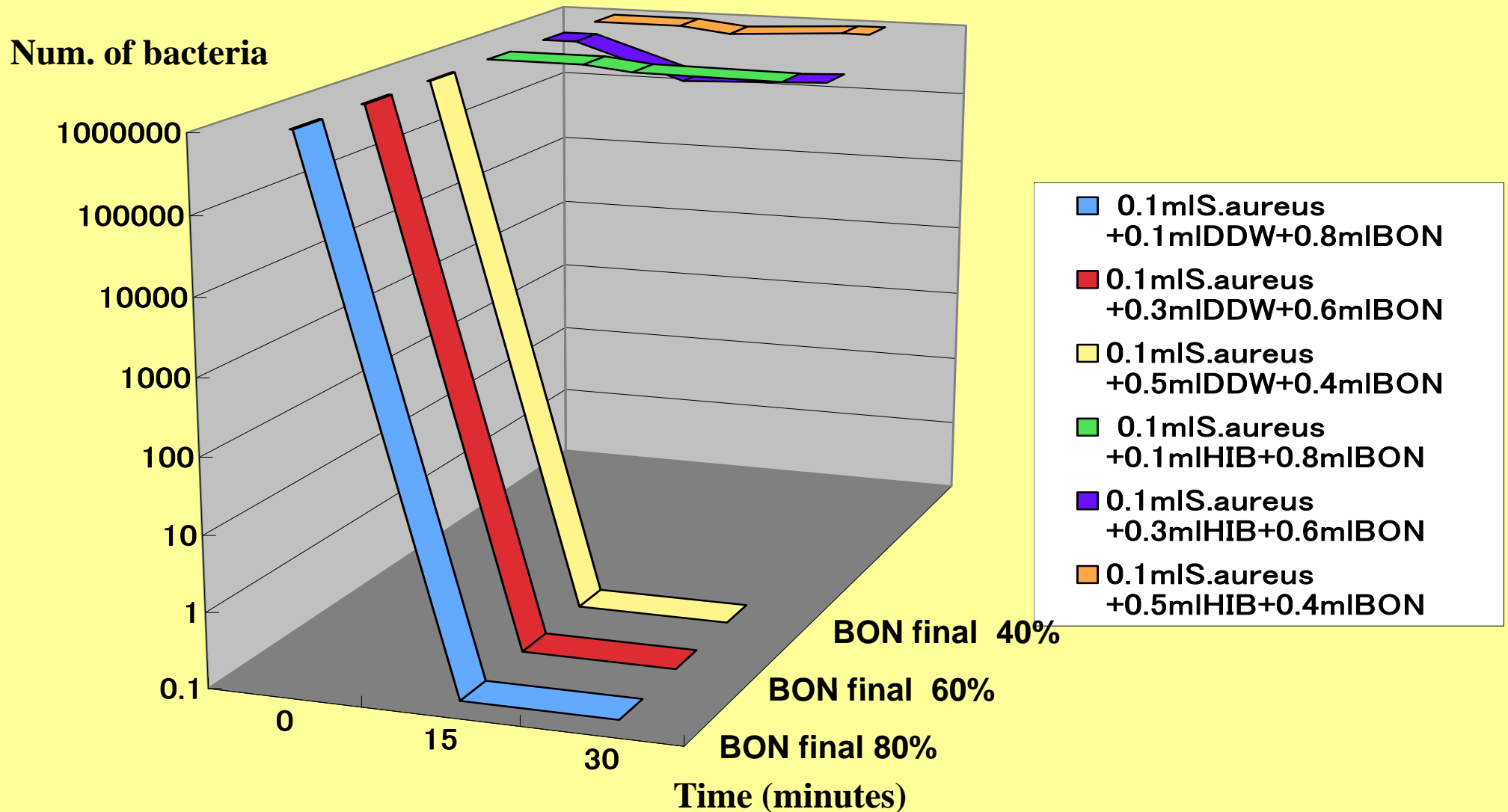
VCM resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*



Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*



Effects of medium to bactericidal activity of BON (*Staphylococcus aureus* N315)





結論



実験に供した耐性菌のすべては、BONに感受性であった。

しかしながら、BONを培地と混合すると上記の殺菌効果は阻害されることが明らかとなった。