

## 1. 試験目的

試験品による試験菌に対する殺菌効力を評価した。

## 2. 依頼者

名称：株式会社 バイオフェイス

所在地：〒611-0026 京都府宇治市開町 39-2

## 3. 試験機関

名称：財団法人 北里環境科学センター

所在地：〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1

担当：微生物部バイオ技術課

## 4. 試験期間

平成 23 年 6 月 29 日～7 月 8 日

## 5. 試験品

白金ナノ粒子溶液「lot ; PTNS 833-555-22532」

## 6. 試験条件

作用時間：直後（対照のみ）、1、5、10 分

作用温度：25 ± 2℃

作用濃度：原液

## 7. 試験菌

*Escherichia coli* (O157:H7) RIMD509939 (腸管出血性大腸菌 O157)

*Escherichia coli* (O111:HUT) RIMD05092017 (腸管出血性大腸菌 O111)

## 8. 試験方法

### 1) 試験菌液の調製

凍結保存した菌株を Tryptic Soy Agar (Difco, 以下「TSA 培地」) で 36 ± 1℃、18～24 時間培養した。この培養菌を新たな TSA 培地に移植して、36 ± 1℃、18～24 時間培養した。発育した集落をかき取り、滅菌イオン交換水に懸濁して約 10<sup>7</sup> CFU/mL に調製し、これを試験菌液とした。

## 2) 殺菌効力試験

あらかじめ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ に保持した試験品を50 mL容量の遠心管に10 mLずつ分取した。ここに試験菌液0.1 mLを接種、混合して作用させたものを試験液とした。所定時間作用後に試験液1 mLを取り出して不活性化剤<sup>\*</sup> 9 mLに入れ、試験品の殺菌成分を不活性化した。これを菌数測定用試料液として菌数を測定した。

また、試験品の代わりに滅菌生理食塩液を用いて同様に操作したものを対照とした。

※；有効性を確認したSCDLP培地（栄研化学）を用いた。試験品の不活性化剤としての有効性確認試験手順と結果を最終10項に示した。

## 3) 菌数測定

菌数測定用試料液を原液として、滅菌生理食塩液で10倍段階希釈列を作製し、試料液または希釈液の各1 mLを無菌的にシャーレに移し、TSA培地20 mLと混合後、固化させて $36 \pm 1^\circ\text{C}$ で48時間培養した。培養後、培地上に発育した集落を数えて、試験品1 mLあたりの試験菌数を求めた（定量下限値 10 CFU/試験品1 mL）。

## 9. 試験結果

腸管出血性大腸菌 O157 の試験結果を表 1 に、腸管出血性大腸菌 O111 の試験結果を表 2 に示した。

両試験菌とも、対照 10 分作用後の試験菌数は、直後の菌数と変わらず、試験系に問題はないと判断した。

両試験菌に対する試験品の殺菌性能は、最長の 10 分後でも、試験菌数の減少は 1 桁以内と小さいものであった。

以上

表 1. 試験品による腸管出血性大腸菌 O157 に対する殺菌効力試験結果

試験品名	作用時間 (分)			
	直後 <sup>※</sup>	1	5	10
対照 (生理食塩液)	470,000	400,000	450,000	420,000
白金ナノ粒子溶液 (PTNS 833-555- 22532)		380,000	250,000	84,000

試験菌 : *Escherichia coli* (O157 : H7) RIMD509939

CFU/試験品 1 mL

表 2. 試験品による腸管出血性大腸菌 O111 に対する殺菌効力試験結果

試験品名	作用時間 (分)			
	直後 <sup>※</sup>	1	5	10
対照 (生理食塩液)	320,000	300,000	290,000	320,000
白金ナノ粒子溶液 (PTNS 833-555- 22532)		270,000	240,000	160,000

試験菌 : *Escherichia coli* (O111 : HUT) RIMD05092017

CFU/試験品 1 mL

\* ; 対照の試験菌接種直後

## 10. 不活性化剤の有効性確認試験

## 1) 目的

試験品による試験菌への殺菌作用を停止させる目的で使用する不活性化剤の有効性を確認した。

## 2) 方法

不活性化剤 (SCDLP 培地) 9 mL に試験品 1 mL を加え混合した (試験品 10 倍希釈)。これに約  $10^4$  CFU/mL の菌液を 0.1 mL 接種し、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$  で 20 分間作用させ、不活性化させた後の試料液 1 mL あたりの菌数を測定した。

なお、試験品のかわりに滅菌生理食塩液を用いたものを対照とした。

不活性化剤の有効性は、下記の計算式で  $\pm 50\%$  以内を有効と判定した。

$$\text{判定} : [ (B \text{ 不活性化剤処理後の菌数} / A \text{ 対照の菌数}) - 1 ] \times 100 = \pm 50\% \text{ 以内}$$

## 3) 結果

結果を表 1 および表 2 に示した。10. 2) 項に示した判定基準以内であった為、不活性化剤は試験品に対して有効と判定した。

表 1. 不活性化剤の有効性確認試験結果 (腸管出血性大腸菌 O157)

試験品名	使用不活性化剤 (試験品希釈率)	菌数 (CFU/mL)		(A)との比 <sup>*1</sup> (%)	有効性の 判定結果 <sup>*2</sup>
		対照 (A)	不活性化剤 (B)		
白金ナノ粒子溶液 (PTNS 833-555-22532)	SCDLPブイオン培地 (10倍)	160	140	-13	有効

試験菌 : *Escherichia coli* (O157 : H7) RIMD509939

表 2. 不活性化剤の有効性確認試験結果 (腸管出血性大腸菌 O111)

試験品名	使用不活性化剤 (試験品希釈率)	菌数 (CFU/mL)		(A)との比 <sup>*1</sup> (%)	有効性の 判定結果 <sup>*2</sup>
		対照 (A)	不活性化剤 (B)		
白金ナノ粒子溶液 (PTNS 833-555-22532)	SCDLPブイオン培地 (10倍)	98	91	-7	有効

試験菌 : *Escherichia coli* (O111 : HUT) RIMD 05092017

\*1 :  $[ (B/A) - 1 ] \times 100$

\*2 :  $\pm 50\%$  以内で有効であると判定