

29amE-061

バイオフィルムの細胞外多糖類に対する各種酸化剤による除去作用

○立川 真理子¹, 棗 峻哉¹, 加藤 孝一¹, 山中 健三¹(¹日本大薬)

【目的】生活環境や生体において、バイオフィルムの形成により、細菌の殺菌剤をはじめとする種々のストレスに対する抵抗性が高まることが知られており、衛生管理においてバイオフィルムを除去が重要な課題となっている。微生物が分泌する細胞外多糖類 (Extracellular polysaccharide, EPS) はバイオフィルムの形成およびその構造維持に重要な役割を果たしている。人工的に形成させたバイオフィルムを用いて、種々の酸化剤 (NaClO、NH₂Cl など) による EPS 除去についてクリスタルバイオレットを用いた測定により検討を行った。

【方法】バイオフィルムの調製は前培養・希釈を行った *P. fluorescens* および *E. coli* 菌液 100 μL を 96 穴ディッシュに加え 30°C で一晩静置培養により調製した。培養液を除去後、あらかじめ調製した殺菌剤水溶液に一定時間曝露した。残留酸化剤をチオ硫酸で中和し、さらに純水で洗浄したのち一晩放置し、EPS 層を乾燥させた。乾燥後クリスタルバイオレット (CV) により残留する EPS を染色した後、EPS に吸着した CV を一定量のエタノールで溶出し吸光度 (595 nm) を測定した。空試験との比により EPS 除去率を求めた。残留塩素濃度は DPD 法により測定した。

【結果および考察】*P. fluorescens* の EPS に対する、NaClO と NH₂Cl (10、100mg/L) 作用では、高濃度 NaClO は最初の 5 分に EPS はおよそ半分に減少したが、低濃度では 30-60 分必要とした。いずれの濃度においても時間の経過とともに減少率が低下した。NH₂Cl では 180 分後でも EPS の減少は観察されなかった。*E. coli* の EPS では、NaClO、NH₂Cl とともに減少が観察され、NaClO の作用が著しかった。バイオフィルム EPS に対する塩素剤の作用は、塩素剤の種類や形成細菌によって異なることが示唆された。殺菌作用と EPS 除去の関連についてさらに検討を加える。