

マイクロプレートリーダーを用いた 簡便なバイオフィーム除去性能評価法

キーワード：バイオフィーム、除去評価、洗浄力

はじめに

バイオフィーム(BF)は、微生物によって界面や固体表面に形成される膜状の粘質な物質です。シンク、トイレ、排水溝などの水周りでは、形成された BF が特に汚れの原因となることが知られています。近年、種々の BF 除去能を宣伝する洗浄剤が市販されていますが、その洗浄力の評価には、人工的に形成させた BF に対する効果を指標として利用することが出来ます。

BF の定量には、核酸や蛋白質、多糖など様々な物質を標的とした染色法が用いられます。各染色法により吸着した色素をマイクロプレートリーダーで測定することで、BF の量を簡便に知ることが出来ます。ここでは、緑膿菌の BF に対する洗浄剤の除去性能を、クリスタルバイオレット法を用いて評価した例を紹介します。

装置

マイクロプレートリーダーとは微量かつ多数の試料の吸光・発光を測定可能な装置です。本評価法では、BF に吸着したクリスタルバイオレットの吸収(吸収極大 590 nm 付近)を測定し、その吸収の程度に応じて、洗浄後の BF 残存量を算出しました。

試験液

BF 除去効果をうたった市販のトイレ用洗浄剤(サンプル A)、ディスポージャー用洗浄剤(サンプル B)、排水溝用洗浄剤(サンプル C)を原液で用いました。また、対照に滅菌水を用いました。

方法

96 ウェルのマイクロプレートに、トリプティックソイブロスを用いて、37°C 静置条件下で緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa* NBRC 12389)を培養し、BF を形成させました。浮遊菌体を除去した後、形成した BF をそれぞれの試験液に 37°C で 24 時間曝露しました。その後、試験液を完全に除去し、残存した BF(残留有機物)をクリスタルバイオレット溶液で染色しました(図

1a)。BF に吸着したクリスタルバイオレットをエタノールで溶出し、吸光度(波長 595 nm)を測定することで、BF を定量化しました(図 1b)。また、ブランク試験として、BF を形成していないウェルに対して、滅菌水を用いた同様の操作を行いました。

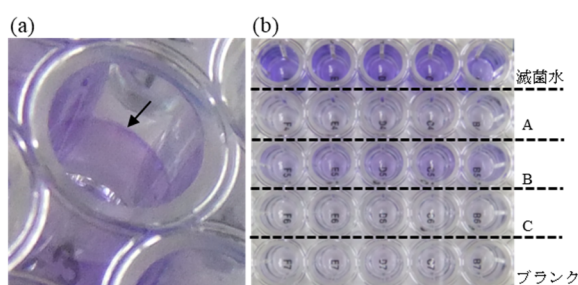


図 1 染色されたバイオフィーム(a)と残留色素溶出液(b)

結果

BF を滅菌水に曝露した場合の吸光度を 100 とした結果を図 2 に示します。サンプル A および C は、ブランク試験とほぼ同等の相対吸光度を示しました(およそ 20)。これはサンプル A および C が緑膿菌の BF に対して、良好な洗浄力を示すことを意味します。一方、サンプル B については、他のサンプルよりも高い相対吸光度を示し(およそ 40)、比較的洗浄力が弱いことがわかります。このように、マイクロプレートリーダーを用いることで、BF に対する洗浄力を簡便に評価することが可能になります。

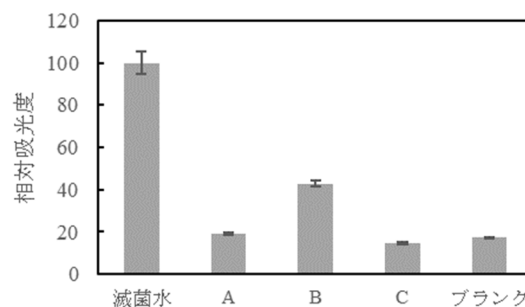


図 2 洗浄後のバイオフィーム残存量の比較