

抗菌剤の簡易評価法の開発

○細井 永次*1)

1. 目的

近年、多くの企業が一般消費者向けの抗菌剤や抗菌加工製品の商品開発を行っているが、抗菌性評価を自らできない中小企業も多い。当所でも、多くの抗菌試験の依頼があるが、操作は煩雑な上、一度に試験可能な検体数も限られていた。そこで当所で所有する機器を利用し、抗菌試験をより迅速かつ安価に実施する方法について検討を行った。

2. 研究内容

まず最小発育阻止濃度(以下、MIC)及び最小殺菌濃度(以下、MBC)試験について、多数の試験管を使用する従来法と、1枚の96穴マイクロプレート上で行う微量液体希釈法を比較した。抗菌剤の希釈は従来の1/2ずつ希釈する方法と、等間隔に希釈濃度を細分化した方法を比較した。その結果、両法でほぼ同じ値を示した(表)。また、1/2希釈法でできなかった製造工程による抗菌力の差や製造ロットごとの差を把握することができた。

また、90%死滅速度(以下、D値)について、煩雑な生存菌数の試験工程を、マイクロプレートリーダーで一度に推定する方法を検討した。図1は、大腸菌の増殖曲線だが、初発菌数(グラフ内の数値)の差によって時間に差があるが、吸光度の間隔はほぼ平行であった。

図2は各目的吸光度に達した時間をプロットし、最小二乗法で一次式を求めた図であるが、吸光度が低い方が直線性は高かった。この式に、同じ条件で培養した試料の到達時間を代入し、菌数を推定することができると考えた。

図3は、D値について本法と従来法の平板塗抹法と比較した図であるが、ほぼ同一の値を示し本法の有効性が示された。

3. 結果・考察

抗菌試験の迅速化により、試験料の低減や納期の短縮が期待される。また、試験時間の大幅な短縮や経費の縮減にも効果があった。

- ① MIC及びMBC試験について、96穴マイクロプレートを使用し、企業等の要望に沿った抗菌剤希釈列で試験が可能となった。
- ② 増殖曲線と初発菌数の測定により、高い精度でD値等抗菌試験が可能となった。また抗菌試験以外にも応用できる可能性を示した。
- ③ D値試験について、マイクロプレートリーダーを使用し、平板表面塗抹法と遜色のない結果を得ることができた。

表 MIC、MBC試験結果 単位：w/w%

製造ロット	96穴マイクロプレート		試験管(従来法)	
	20h反応	24h反応	20h反応	24h反応
91106	1.1 (1.25)	0.85 (1.25)	1.1 (1.25)	0.85 (1.25)
91107	1.1 (1.25)	0.85 (1.25)	1.1 (1.25)	0.90 (1.25)
91110	1.4 (2.5)	1.2 (1.25)	1.3 (2.5)	1.2 (1.25)
91111	0.95 (1.25)	0.9 (1.25)	1.0 (1.25)	0.9 (1.25)

()内は、1/2ずつ希釈する方法で実施した結果
微生物：黄色ブドウ球菌

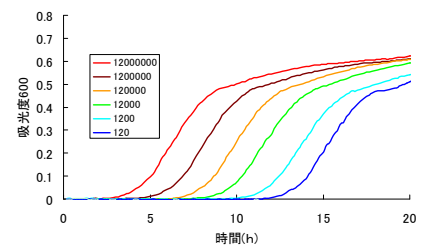


図1 増殖曲線と初発菌数

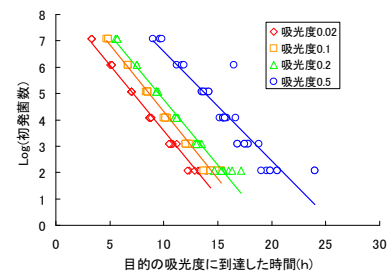


図2 初発菌数と吸光度上昇

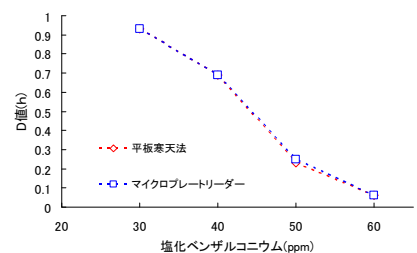


図3 D値と抗菌剤濃度

*1) 埼玉県産業技術総合センター