

日本防菌防黴学会誌

ぼうきんぼうばい

防菌防黴

Journal of Antibacterial and
Antifungal Agents, Japan

2000
VOL. 28 NO. 5

報 文	天然炭素繊維の病原性細菌に対する抗菌作用	太田 敏子 ほか	293
総 説	<i>Aeromonas</i> 感染症の現況	島田 俊雄 ほか	299
解 説	日本に於ける滅菌保証達成に於ける問題点と解決法④	新谷 英晴 ほか	311
解 説	検査法の違いによる微生物限度試験値への影響	中尾 昌史 ほか	321
解 説	欧州の殺菌・消毒薬効力評価試験法について	梶浦 工	327
講 座	食品の変敗原因菌となる酵母とその防止技術Ⅹ 6. 海洋と水産加工食品における酵母とその役割	信濃 晴雄	333
講 座	食品の変敗原因菌となる酵母とその防止技術Ⅹ 9. 調味食品の酵母による変敗と防止技術	白川 武志	345
講 座	AOAC に学ぶ試験法の信頼性確保の理念と具体的方法⑥ 4-3. 殺菌剤・消毒剤等に関する AOAC 法	古田 太郎	349
海外文献抄録 310・326/会員の声ー培養ー 354・355/会報 356/ カレンダー 和文目次裏			

【報文】

天然炭素繊維の病原性細菌に対する抗菌作用

太田 敏子¹, 金森 睦¹,
林 英生²

Antimicrobial Effects of Plant Carbon Fibers

Toshiko OHTA¹, Mutsumi KANAMORI¹
and Hideo HAYASHI²

¹ College of Medical Technology, University of Tsukuba,

² Institute of Basic Medical Sciences, University of Tsukuba,
Tsukuba, Ibaraki, 305-8577, Japan

A new carbon fiber, that was made by exposure of the cellulose fibers of plants to higher temperatures, has been developed as a fiber for medical use. The carbon fiber prevented the growth of most of the Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria. Bactericidal effect was also seen against the bacteria attached to the cloth. The carbonizing process conferred a different level of acidity which had bactericidal effect. Our results strongly suggested that the carbon fiber can be used as a clothing material for medical purposes.

(Accepted 20 January 2000)

Key words : Carbon fiber (炭素繊維)/Cellulose fiber (セルロース繊維)/Pathogenic bacteria (病原性細菌)
/Antimicrobial activity (抗菌作用).

緒 言

近年, 日常生活や医療分野を対象とした抗菌繊維が多数登場している¹⁾。抗菌繊維に利用されている材料は, 銀系ゼオライト, セラミック, フェニルアミド系などの化学物質が多い²⁻⁴⁾。天然素材としてはキトサンとキチンや植物由来の抽出物が利用されているだけであった⁵⁾。炭化物を用いた抗菌繊維は, 通常の布地に炭化したウバメガシの粉末をコーティングしたものであり, 炭化繊維そのものを材料にした繊維ではなかった^{2, 3)}。近年, 植物を高温で炭化した天然素材を材料にして織った繊維が新しく開発された。以下これを炭素繊維という。しかもその繊維は, ウバメガシのみならず, どんな種類の植物でも素材になりうる。また, 本研究で用いた繊維は, 素材が天然素材であるため, 分解できない石油系化学繊維とは異なり, 自然環境に容易に返還でき, 現代科学の発展がもたらした地球環境の破壊をくい止めることに貢献

する。いわば, 環境にやさしい繊維である。炭化したウバメガシの粉末は抗菌作用を持つことが知られる¹⁾。そこで, 新しく開発された「環境にやさしい布」も抗菌作用をもつかどうか検討した。

一方, 20世紀の初めから現在までに多くの抗生物質が発見され, その実用化は感染症の治療に大きく貢献したが, 同時に薬剤耐性菌の出現をもたらし, MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)⁶⁾ や VRE (バンコマイシン耐性腸球菌)⁷⁾, VRSA (バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌)⁸⁾ など院内感染という新たな医療問題を引き起こしている。医療現場におけるこの耐性菌の制圧は, 社会的にも重要な課題である。抗菌布を医療用として利用できれば, その蔓延を防ぐ一助となるかもしれない。そこで, 問題になっている院内感染起因菌を含む病原細菌に対する炭素繊維の抗菌作用について検討した。そして, 本研究はこの炭素繊維について, 辱創パットや

¹ 筑波大学医療技術短期大学部 〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1 ☎0298-53-3454

² 筑波大学基礎医学系 〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1 ☎0298-53-3173

病院のベッドパットなど臨床的実用化への可能性を探ることを目的とした。

実験材料および実験方法

1. 使用した炭素繊維とその調製

炭化度の異なる3種類の炭素繊維（株式会社イーテック製，特許出願中）A，C，D および未炭化繊維 O をサンプルとして使用した。未炭化繊維 O（白色）の材料は綿花を不織布に仕上げたものである。布 A，C，D は真空状態で炭化したもので黒色である。布 A は編み上げてニット地としたものである（Table 1）。また，本炭素繊維は強い脱臭効果をもつことが予備実験で明らかになっている⁹⁾。これらを1 cm 角に切断して容器に入れ，オートクレーブ滅菌した後，本実験に用いた。ガーゼと脱脂綿を同様に1 cm 角に切りオートクレーブ滅菌したものを対照とした。

Table 1. Property of carbon fibers

Marks	Materials	Preparation
A	woven cloth	weave into cloth using complete carbon powder-coating incomplete carbon fibers.
C	felt cloth	complete carbon fiber by higher temperature.
D	felt cloth	incomplete carbon fibers.
O	felt cloth	pre-carbon fibers.

2. 試験菌株

本実験に用いた菌株は，*Bacillus subtilis* 168，Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) 912(筑波大学病院臨床分離株)，*Staphylococcus aureus* NCTC8325，*Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 *Escherichia coli* K12，*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853，*Serratia marcescens* ATCC8100，*Salmonella enteritidis*（筑波大学病院臨床分離株），*Streptococcus pyogenes* ATCC19615，*Clostridium perfringens* NCTC8237，*Enterococcus faecalis* ATCC29212，の11菌株である。

3. 抗菌作用の測定

普通ブイヨンにそれぞれの菌を接種し，37℃で18時間培養後， 10^6 CFU/ml に希釈した菌液を調製した。径9 cmの滅菌シャーレに普通寒天培地約20ml を分注して作成した寒天平板上に上記菌液50 μ l をまき、コンラージ

棒を用いて均一に塗抹した後，滅菌炭素繊維を1.5～2 cm の間隔に置いて37℃，18時間培養した。培養後，布周囲に出現する阻止円を観察し，その大きさを測定して抗菌力の指標にした。

4. 付着菌の増殖阻止効果の測定

普通ブイヨンにそれぞれの菌を接種し，37℃で18時間培養後， 10^6 ， 10^7 ， 10^8 CFU/ml になるように希釈した菌液を調製した。これに滅菌炭素繊維を浸して軽く絞り，滅菌シャーレ中で室温に放置した。繊維に付着した菌の生存状態を調べるために，菌液に浸けた直後，経時的すなわち，1時間，2時間，5時間，12時間，および24時間放置後にこれを寒天平板上にのせ，37℃の孵卵器内で培養した。18時間後，布周囲および布の裏側に生育している菌を観察した。

5. 炭素繊維の pH 測定

滅菌した炭素繊維布を生理食塩水に浸してぬらし，pH 試験紙を用いてその pH を測定した。また，炭素繊維による pH 変化を培養条件下において調べるため，pH 指示薬であるブロムクレゾールパープル（BCP），メチルレッド（MR）および，ブロムチモールブルー（BTB）を添加した寒天平板を作成し，これに滅菌済みの炭素繊維をはって37℃の孵卵器内に置いた。18時間放置後，布周囲の培地の色の変化を観察した。

実験結果および考察

1. 炭素繊維の抗菌作用

本炭素繊維の布 A と布 C は，グラム陽性菌およびグラム陰性菌両方に対して抗菌作用を示した。布 D は，未炭化布 O と対照のガーゼと同様に抗菌作用がみられなかった。Table 2 にそれらの結果を示す。増殖阻止円の程度により，全く効果が見られなかったものを－，布と培地の接着する面だけに阻止が見られたものを±，1～2 mm の阻止円が見られたものを＋，3～4 mm の阻止円が見られたものを++，それ以上の阻止円が見られたものを+++とした。それぞれの菌に対する阻止円の様子を Fig.1 に示す。院内感染菌として問題になっている MRSA や緑膿菌に対しても強い抗菌作用を有していた。しかし，検討した *C. perfringens* に対してはいずれの布も抗菌効果が見られなかった。グラム陽性菌とグラム陰性菌では，外部環境に直接さらされる細胞壁の構造は大きく異なり，細胞内の代謝や調節機構にも相当な違いがある。それにもかかわらず，グラム陽性菌と

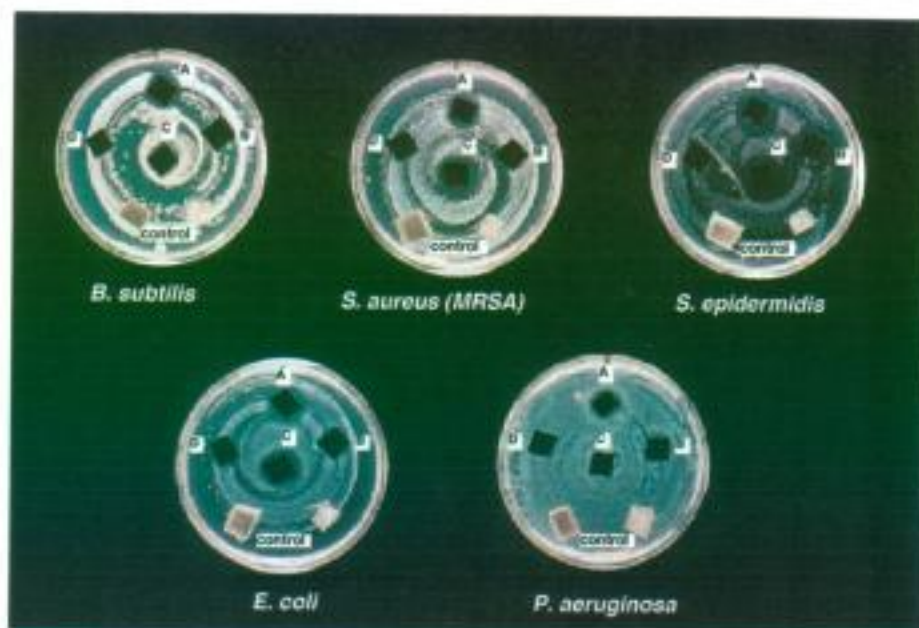


Fig.1 Bacterial growth inhibition by carbon fibers. *B. subtilis*, Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 912, *S. epidermidis*, *E. coli* K12, *P. aeruginosa* were tested. A piece of carbon fiber was incubated overnight at 37 °C on nutrient agar plates streaked with bacteria. The diameters of the resulting inhibition circles were measured. Mark B is the original fiber of D.



Fig.2 Growth inhibition of *S. epidermidis* by the face-side and back-side of the carbon fiber A.

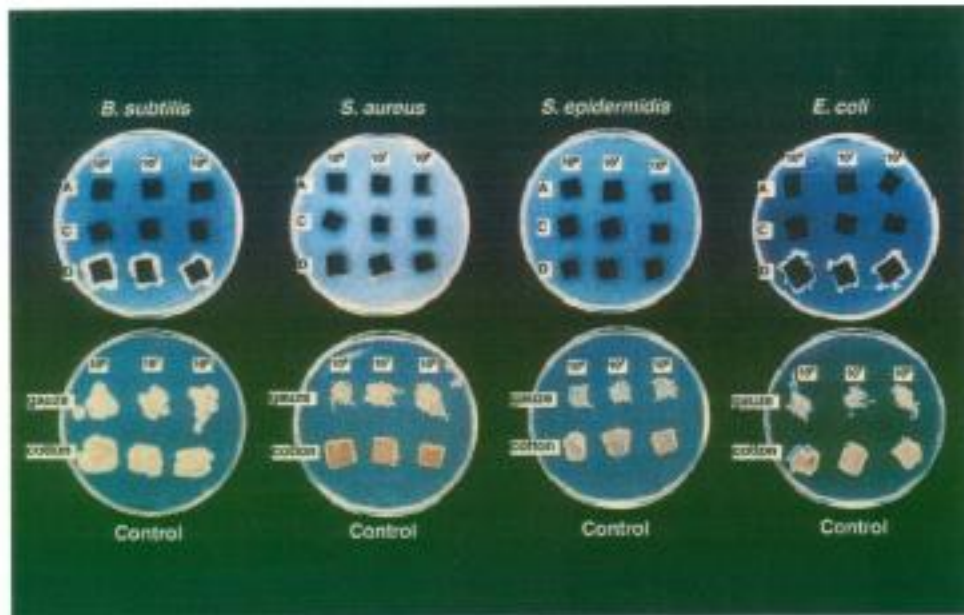


Fig3 Growth inhibition of bacteria attached to the carbon fiber cloth. Carbon fiber cloth soaked in the bacterial culture ($10^6 - 10^8$ CFU/ml) were incubated overnight at 37 °C on nutrient agar plates. *B. subtilis*, Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 912, *S. epidermidis*, and *E. coli* K12 were tested.

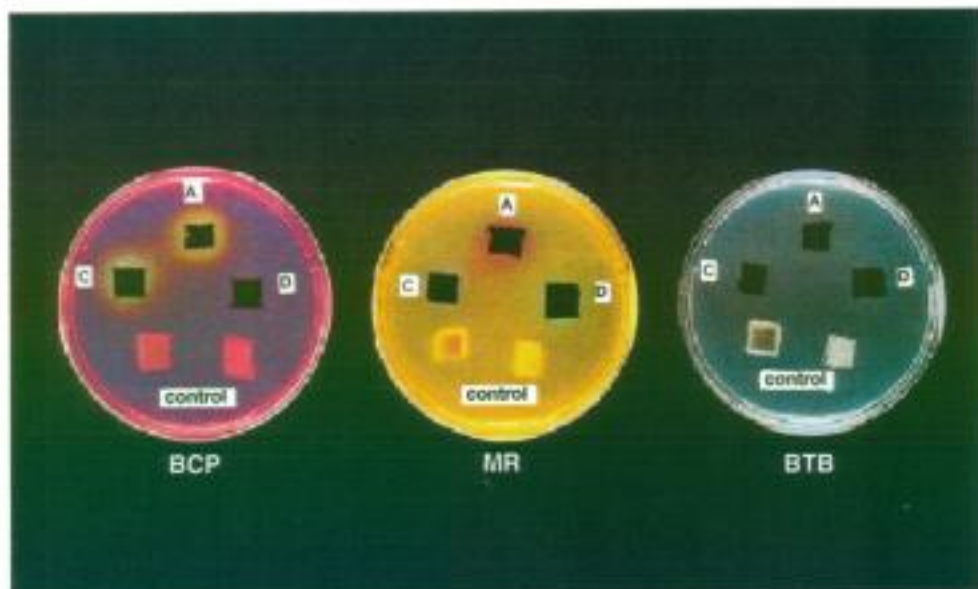


Fig4 pH of carbon fibers A, B, and D on nutrient agar plates supplemented with pH indicators. Bromocresol purple (BCP), methyred (MR), and bromothymol blue (BTB) were used as pH indicators. Gauze and cotton were used as controls.

Table 2. Bacterial growth inhibition by carbon fibers

Bacteria	A	C	D	O	Control
<i>B. subtilis</i>	+	+	-	-	-
<i>S. aureus</i> NCTC8325	++	++	±	-	-
<i>S. aureus</i> MRSA912	++	++	±	-	-
<i>S. epidermidis</i>	+++	+++	±	-	-
<i>E. coli</i>	++	++	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	++	+	±	-	-
<i>S. marcescens</i>	-	+	±	-	-
<i>S. enteritidis</i>	++	++	-	-	-
<i>S. pyogenes</i>	+++	++	NA	-	-
<i>C. perfringens</i>	-	-	NA	-	-
<i>E. faecalis</i>	±	±	NA	-	-

A piece of carbon fiber was incubated overnight at 37°C on nutrient agar plates streaked with bacteria. The diameters of the resulting inhibition circles were measured.

- : no effect

± : a few to contact plane of carbon fiber

++ : 1~2mm

+++ : 3~4mm

+++ : 3~4mm more

NA : not available

グラム陰性菌に対して抗菌作用があるという結果は、この抗菌作用は他の多くの種類の細菌にも効果を及ぼすことではないかということが推測された。

布の種類により抗菌作用が異なる。すなわち、植物繊維を完全炭化した不織布が最も抗菌力が強く、炭素繊維布の作製法の違いは抗菌作用に大きな影響を示した。また、布 A の表と裏について *S. epidermidis* の阻止円を調べたところ、Fig. 2 に見られるように、布の表でも裏でも無関係に抗菌作用がある。この抗菌作用を示す原因としては、(1)培地に浸出する抗菌成分。(2)炭化物に栄養素が吸着される結果、布周囲に菌が生育しない。(3)弱い赤外線や活性酸素などの放出などが考えられる。

2. 炭素繊維付着菌に対する生育阻止

抗菌力を示した布について、*B. subtilis*, *S. aureus*, (MRSA) *S. epidermidis* および *E. coli* の 4 種類の菌の付着菌の影響と付着時間の影響を調べた。10⁶~10⁸ CFU/ml の菌液に一定時間浸漬した後に室温に放置した布片の菌の生存状況は、菌数には影響されず、放置した時間とも関係はなかった。布 A と布 C では、菌量や付着していた時間に関係なく菌の増殖阻止が見られた (Fig.3)。これに対して、布 D と対照のガーゼと脱脂綿では増殖阻止は全く見られなかった。これらの結果は、増殖阻止円の結果とも一致している。

3. 炭素繊維の pH による抗菌作用

増殖を阻止する因子は何かについて検討した。まず pH 変化について調べた。pH 指示薬である BCP, MR

および, BTB を添加した普通寒天培地を作成し、これに布を置いたところ、瞬時に色が変わり強い酸性を示した (Fig.4)。布を生理食塩水に浸し、pH 試験紙を用いてその pH を測定してみると、抗菌作用のある布 A と布 C はそれぞれ、pH1.9 と pH3.1 で明らかに強い酸性であり、抗菌作用のない布 D は中性の pH であった (Table 3)。このことから、この炭素繊維の pH が酸性であることが抗菌作用に影響するであろうと思われる。今回検討した炭素繊維の主要原材料はセルロースであるにも関わらず、強い酸性を示した。この炭素繊維は、植物の繊維を真空中に近い状態で高温処理で炭化させるという方法で製造されている。そのため、セルロースが炭化の過程で酸性を示す物質に変化するのではないかと思われる。炭化のための高温処理の違いにより抗菌作用に差が見られたことから、この炭素繊維はある一定条件で炭

Table 3. pH of carbon fiber

Marks	pH
A	1.9
C	3.1
D	6.8

化処理した場合のみ、酸性を示す性質をもっていると考えられる。一般的な抗菌剤の作用機作の機構には、菌細胞の脱水による酵素蛋白質の変性、化学物質による細胞膜の破壊、細胞壁の合成阻害や物理的破壊、活性酸素による蛋白質の変性、酵素による溶菌、イオンによる呼吸阻害などがあげられるが^{10, 11)}、炭素繊維の細菌に対する作用はこれらのどれとも異なっていた。

結 論

本研究の材料となった炭素繊維は、代表的なグラム陽性菌とグラム陰性菌の病原細菌に対して抗菌作用があり、炭素繊維布に付着した病原菌は、菌量、付着していた時間に無関係に殺菌されていた。これらの炭素繊維の抗菌作用は、この繊維布が医療の現場でベッドパットなどに利用しうる可能性を強く示唆した。患者の褥創などのパットとして利用するためには、動物実験や臨床実験が必要であり未知数であるが、その他の医療用の布として多くの利用方法が考えられる。また、本炭素繊維が強い脱臭効果をもつことも医療応用にとって重要な要素となるであろう。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、炭素繊維を開発した(株)イーテック、川島光行氏には数々のご支援をいただきました。また、筑波大学医療技術短期大学部衛生技術学科の学生、山崎京子さんと出野悦子さんには、実験のサポートをしていただきました。ここに深謝いたします。

文 献

- 1) 吉野賢治：抗菌不織布とその応用。抗菌のすべて－ヘルスケアとメディカル・食品衛生・繊維・プラスチック・金属への展開－。繊維社，275－281（1997）。
- 2) NONWOVENS REVIEW, 97, 臨時増刊号，49－65（1997）。
- 3) NONWOVENS REVIEW, 5 (1), 1－16（1994）。
- 4) 富岡敏一：防菌防黴，27, 641－651（1999）。
- 5) 矢吹 稔：キッチン・キトサンの話し，技報堂出版。
- 6) Georgopapadakou, N. H. et al. : *Antimicrob. Agents Chemother.*, **22**, 172－175（1982）。
- 7) Arthur, M., and Courvalin, P. : *Antimicrob. Agents Chemother.*, **37**, 1563－1571（1993）。
- 8) Hiramatsu, K., Aritaka, N., Hanaki, H., Kawasaki, S., Hosoda, Y., Hori, S., Fukuchi, Y., and Kobayashi, I. : *The Lancet*, **350**, 1670－1673（1997）。
- 9) 太田敏子，金森 睦，林 英生：第81回日本細菌学会関東支部総会講演抄録集，10（1999）。
- 10) 高麗寛紀：防菌防黴，21, 331－337（1993）。
- 11) Kourai, H., Takechi, H., Horie, T., Uchiwa, N., Takeichi, K., and Shibasaki, I. : *J. Antibac. Antifung. Agents*, **13**, 3－10（1985）。