



# バイオフィルムの生成と衛生管理

関西大学工学部 生物工学科

土戸哲明

## 1. はじめに

細菌をはじめ微生物は、一般的な生態環境において固体や液体の表面に付着し、都合の良い生息条件を獲得して仲間を増やし、バイオフィルム(生物膜)と呼ばれるものをつくる。産業におけるバイオフィルムは酢酸発酵などの有用物質生産や廃水処理のために利用されるが、一方、有害面として、食品の腐敗や各種の材料、生活用品、医療器具の汚染、劣化や腐食のほか、皮膚や歯などの人体組織表面における疾病をもたらす。

最近、このようなバイオフィルムの有害な作用が注目され、とくに食品工業や医療においてその特性の理解と対策が要求されている。

## 2. バイオフィルムとその生成メカニズム

バイオフィルムは、固体の表面に微生物と微生物がつくる菌体外多糖などの生産物が集まってできた構造体である。十分発達したものは密な構造をしていると考えられるが、それらの固形集合体の間には結構空間があり、水などが浸透、拡散できる水路が縦横に走っていると考えられている。そのような構造のものは、限定されてはいるものの外部と物質のやりとりをする能力をもつ、固体に固着した原始的な多細胞構造体であると言える。

バイオフィルムはおおよそ、次のように生成すると考えられる(図参照<sup>1)</sup>)。固体の表面は電荷を帯びていたり、疎水性のものがあり、液体や気体中に存在しているイオンやタンパク質を結合していることが多い。これらの物質の吸着層はコンディショニングフィルムと呼ばれる。固体表面と微生物細胞とは、静電的相互作用やファンデルワールス力などにより可逆的に接触する。運動性をもつ細菌では、この初期過程に鞭毛が関係し、接触の確率を上げると考えられる。表面に付着後、さらに線毛をもつ微生物では、その働きにより固体表面上で細胞がびくびくとした運動をする。付着細胞は表面上で増殖を始め、いくつかの細胞が集まってできるマイクロコロニー、さらにバイオフィルムが生成する。この後期の段階では細胞外多糖が合成され、それを足がかりにした不可逆な相互作用によってバイオフィルムが強固なものとなり、しっかりと固体表面に固着する。

バイオフィルムの生成には、一群の遺伝子の発現が関係している。グラム陰性細菌については、細胞間の密度認知(quorum sensing)機構が関与している。これは、一定の細胞密度に達したときに特異的なシグナル伝達物質である *N*-アシルホモセリンラクトンのレベルが一定量に達し、細胞内の発現システムに働きかけた結果、バイオフィルム生成を含む特定の遺伝子群が読まれるというものである。グラム陽性細菌では、オリゴペプチド類がシグナル伝達物質とされる。

これらバイオフィルムの生成に関わる遺伝子の発現により、保水性をもつ細胞外多糖が合成されたり、細胞外から補償溶質が輸送されるなど、様々な構造や機能の変化が起こる。バイオフィルムはこれらの変化によって、熱や乾燥などのストレスに対して耐性となる。つまり、バイオフィルム生成は単細胞微生物が集団行動によって行う生存や抵抗性化のための合目的な戦略の一つと言える。

### 3. 微生物管理のためのモニタリング方法

バイオフィーム生成のモニタリングには、光学顕微鏡による観察が最も簡単であり、表面から剥離して、浮遊細胞に対して適用される細胞量としての検出法である濁度測定や ATP 定量、熱量測定などが適用できよう。しかし、バイオフィーム特有の構造解析には、非破壊法の共焦点レーザー走査顕微鏡を用いる技術が進展している。固定系のバイオフィームに対しては、これに蛍光プローブの利用やコンピュータ支援の画像解析の併用によって多層構造の3次元解析が可能である。

流れのある系でのバイオフィームの場合は、細胞のトリプトファンや NADH などの蛍光性生体成分のオンラインモニタリング、ATR-FTIR の利用による方法がある。初期のバイオフィーム生成の検出には水晶振動子を利用した方法も有効であるが、振動頻度が温度に感受性である難点がある。さらに、生物発光も適用でき、最近では、*lux* 遺伝子や *gfp*(green fluorescent protein の遺伝子)など遺伝子工学的処理をした細菌も利用できる。

また、アンモニアイオンや硝酸イオン、亜硝酸イオン、酸素のマイクロセンサー技術も開発されており、バイオフィームの微生物挙動を知るのに利用されている。とくに金属腐食部位におけるバイオフィームの呼吸活性の測定に、微小酸素電極や微小pH電極が使われる。

### 4. 防止・洗浄・殺菌技術

一般にバイオフィームは浮遊細菌と比較して熱や殺菌剤に抵抗性となることが知られている。食品や医療の現場の環境下で生成したものは、実験室規模で形成されたものと比べて耐性が高い。自然界では複数のマイクロフローラが生成に関与しており、一般に制御手段に対する抵抗性がさらに高くなる。

バイオフィームを制御するための実用的な方法としては、発生を防止するものと発生したものを洗浄、殺滅するものがある。

まず基本的な防止策は、固体表面を常に清浄に保ち、環境からの汚染を極力少なくすることである。これには、塩の添加によるイオン強度の上昇、pHの変化、加温など環境因子の操作、過ヨウ素酸ナトリウム、臭化セチルトリメチルアンモニウム、苛性ソーダなどの制御薬剤による処理も細菌の表面付着やバイオフィーム生成を阻害する。また、固体表面を抗菌性タンパク質や薬剤で被覆する方法も対象によっては有効で、著者らもステンレス鋼表面をプロタミン被覆することにより、微生物腐食が抑制されることを認めている。付着対象体に抗菌剤を含浸させたり、練りこんだり、結合させた不溶化、固定化抗菌剤によって殺滅させる方法もある。最近、銀担持ゼオライトの練りこみや紫外線照射により活性酸素を発生する酸化チタン光触媒の薄膜被覆が注目を集め、各種器具、材料に実用化されている。

酸、アルカリや界面活性剤などの洗浄剤、プロテアーゼやデキストラナーゼなどの分解酵素の利用、また、拭き取り、高圧噴射スプレー、超音波、スクラバーなど物理的手段によって表面洗浄および剥離・脱離を行う方法、また塩素系やヨード系のサニタイザーの利用やガス状薬剤であるオゾン処理も有用である。気体との表面に局在する微生物には熱水洗浄や紫外線照射の利用も考えられる。

これらの技術は、適用対象の微生物や固体表面の材質、性状によって長所、短所があり、とくに化学的な方法は、使用する薬剤の人体への安全性や環境汚染の点で問題となることが多いので、これらの処理を併用する方法も有効である。

## 5. おわりに

食品や医療の現場におけるバイオフィルムの制御は、微生物的な安全性を確保するための重要課題の一つである。バイオフィルムの特性や発生の条件・機構がさらに明らかにされる必要がある一方、現場で応用可能でより有効なモニタリング、防止、除去技術の開発、確立が期待されている。

なお、バイオフィルムに関する研究は我が国ではまだ少ないが、海外では活発に行われており、多くの論文、書籍、解説が発表されている。ここでは、紙面の都合で省略させていただいた。

### 引用文献

- 1) 土戸哲明:食衛誌、43(4)、J-283 (2002)。

