

2019年度 第1回バイオフィルム標準化委員会 議事録

◇ 日時 2019年06月19日(水) 13:00~17:00

◇ 場所 オフィスパーク名駅 カンファレンスセンター 501室

◇ 出席者(敬称略, 順不同)

中津川直樹(管掌役員), 土屋禎(委員長), 吉田育弘, 射本康夫, 中嶋絵里, 根本邦彦, 室巻良彦, 谷口明男, 山森貴弘, 井須紀文, 中曾根寿明, 松島彰宏, 久保田夏実, 守川彰, 小西香菜子, 村田貴洋, 木村由和, 石黒斉, 古川誠, 山内章裕, 太田知克

鈴鹿工業高等専門学校: 兼松秀行

生貝初

オブザーバー: 平沼進(SIAA 専務理事), 永田敏幸(SIAA 事務局長)

◇ 議事

1. 中津川管掌役員, 土屋委員長挨拶

2. 新規参加者挨拶

山森委員(シナネンゼオミック), 山内委員(タイショーテクノス), 小西委員(JFRL)

3. 2018年度 第3回委員会 議事録確認(土屋委員長)

前回議事録に沿って説明された。

経済産業省への ISO 化に関する標準化事業については今年度も申請を行う。採択された場合は、2020年度の事業となるため、今年度の TC61 会議ではプレゼンのみ行い、NP 提案は 2020 年度に行う。なお、今年度も標準化事業として採択されなかった場合、経産省の委託事業はあきらめ、2020 年度を待たず、今年度中に NP 提案を行うことを検討している。

4. 共同研究進捗状況報告

兼松先生からの報告

・2020年開催の Interfinish (表面技術協会主催の国際会議)への参加について説明された。Biofouling に関する枠がありメーカー、試験機関、SIAA からの積極参加を要望された。

・研究報告として以下のとおり報告された。

①金属表面でのバイオフィルム形成について

金属がイオンとして溶け出し、微生物が産生するポリマーと結合することで形成しやすさが変化するのではないかと推定している。また、電位の変化を測定することでバイオフィルム形成の変化をサーチできるかどうかの検討を行っている(細菌の増殖により電位が上がり、バイオフィルムが形成されてくると表面が覆われることによる電位が下がるのではないかと推定している。)

②グラフェンによるバイオフィルムセンサーについて

グラフェンをパウダー状にして分散膜(シラン系樹脂等)に分散させたものを用いて、バイオフィルム形成を確認した。試験菌は大腸菌と表皮ブドウ球菌を用いており、グラフェン量の増大に伴いバイオフィルム形成量も増大した。現在グラフェンを 30wt%まで添加することができている。

③ポリマーブラシについて

ポリマーブラシは一般的にバイオフィルムが付きにくいとされている。現在ポリマーブラシ

の表面をイオン液体で処理し(-)に荷電したものを用いて各種検討を行っている。なお、(+)に荷電させることも可能と考えている。

④海洋中での船体の Biofouling

バイオフィーム形成を抑えることでフジツボ等の付着も抑えられると考えられている。また、バイオフィームが形成されることで酸素濃淡電池が生じ、アノード・カソードの状態が発生することで金属腐食が生じると推測している。

5. 検討試験分科会活動報告(太田分科会長)

以下のとおり報告された。

<分科会報告>

- ・垂直状態で培養するための容器・設置方法について検討した。
- ・Ca を添加することや、試験片の汚れを除去することによるバイオフィーム形成への影響を検討した結果、*S. epidermidis* については大きな変化は認めらなかった。
- ・培養期間の変更、傾斜状態での培養、模擬サンプルを用いた検討試験の結果について。
- ・形成されたバイオフィームの定量法について、洗浄から水溶性不織布(商品名：クロスック)を用いた拭き取り・吸光度測定までの一連の試験手順は概ね確立された。
- ・サンプルを垂直状態で培養した場合、わずかな傾きの違いでバイオフィーム形成が大きくばらつくことが判明したため、サンプルは平置きで培養することとしたい。その場合、培地濃度や、培養温度、培養時間等の条件設定について検討する必要がある。

<分科会後の検討結果報告>

- ・培地濃度変更の検討
⇒1/2, 1/5, 1/10TSB, R2A, 1/500NB を用いて検討を実施した。培地濃度とバイオフィームの形成量は比例しており、1/10TSB は垂直で培養した場合と同程度の形成量であった。また、培養日数の変更も行ったが 2 日以上延長しても、バイオフィーム形成量は変わらないか、減少する傾向にあった。1/10TSB により模擬サンプルを用いた検討を行った結果、無加工試験片との差がみられたものもあった(逆に表面構造等により加工品の方がより形成量が多いものもあった。)
- ・吸光度の直線性
⇒装置ごとに検量線を作成し、測定可能範囲を決める必要がある(JFRL で用いたプレートリーダーでは 570nm の吸光度で 3 未満が測定可能範囲と考えられた。)
- ・培養条件については、①無加工試験片でバイオフィームが形成され、②菌液の生菌数が増加する条件を、試験片ごとに予備試験により決める方法が提案された。
⇒予備試験を行う方法とするよりも、基本の条件は規定して、成立条件を満たさない場合は、培地濃度を濃くしてもいいといった、幅を持たせる試験法となるだろうと思う。

報告に対して以下の意見交換が行われた。

- ・クロスックを ISO にする場合一般名にできるか?
⇒水溶性不織布、ポリビニルアルコール(PVA, 別名：ポパール)不織布等で対応可能
- ・両面テープでのサンプル接着(容器への固定)の是非
⇒「菌の増殖に影響ない」だけでは不十分。材への影響、バイオフィーム形成への影響がないことも盛り込むことが必要ではないか。

- ・セラミック等を薄くすることは難しいため、逆向きにして表面だけを漬ける方法は可能か。
⇒*S. epidermidis* の場合、付着しないため難しい。厚いサンプルや大きいサンプルは試験系をスケールアップするなどに対応することも今後検討が必要。
- ・表面構造(凹凸)による影響が大きく、それだけでも抗バイオフィームと言えるか。
⇒試験法としてはそれでも評価できる方向で進めてきている。バイオフィーム形成量を絶対値として評価するのではなく、あくまで A と B の比較という相対評価とする方針である。
- ・無加工品は必須か。JIS かび抵抗性試験方法のように絶対評価とできないか
⇒国際規格として作成する試験法としては、無加工品と加工品の差を評価する試験法とする方針である。試験法としては相対評価となるが、SIAA として、標準品を定めてその差を評価することも、材質による差を評価することも可能な試験法である。ただし、バイオフィームの形成量だけを数値化するような絶対評価の試験法は、性能評価試験としては、受け入れられ難いだろうと想像している。JIS かび抵抗性試験方法は材質がかびにより侵食されるかどうかを評価する試験法だが、SIAA はこの試験法を相対評価する試験法として利用している。
- ・現在、抗菌剤がかなり高濃度のサンプルで実施しているが、低濃度サンプルで実施したことはあるか。
⇒まだ無い。
- ・ISO では ANNEX で効果の指標は入れるのか。
⇒入れない方針である。
- ・平置きに変更することは決定か。
⇒委員会として合意が得られれば変更する。
⇒どちらかに決めないと先に進まないため、決めてしまうべきでは。
⇒特に反対はなかったため、今後の検討は平置きで進めることとする。
- ・試験機関間でのバラツキを見る必要があるのではないか。
⇒室間再現性の確認も行いながら検討は進めている。個々の試験条件の検討にあたっては、まずは室内再現性で評価しているが、最終的にすべての試験条件を確定する際には、室間再現性で評価する必要があると考えている。
- ・サンプルの差(無加工・加工の差がある)がクリアにならないと ISO 提案にはいかないのか。
⇒ある程度確認はするが、すべてクリアにはならないかもしれない。まずは ISO 提案を行わないと各国からどのような意見が来るかすら分からない。各国のコメントにより試験条件は変わる可能性がある。ただし、想定されるいくつかの加工条件(抗菌剤の種類, 表面構造等)に対して、適用できる試験法かどうか確認したデータは必要と考えている。
- ・現在 *S. epidermidis* だけで検討しているが *B. diminuta* についてはどうするのか。
⇒本委員会でこれまでに検討してきた経緯として、試験法には静置系と流水系の 2 種類があり、静置系は *S. epidermidis* を、流水系は *B. diminuta* を用いることとしてきた。流水系については流水条件の設定に時間を要するため、まずは静置系の試験法を作成している。
- ・培養後の洗浄は実施しているか。
⇒平置きでの試験では当初の方法通り 3 回実施している。
- ・<今後について(土屋委員長)>

様々な評価サンプルの提供をお願いしたい。サンプルの種類として、抗菌剤(有機・無機)添加以外にも、表面加工、材質の違いなども含めて構わない。サンプル提供の取りまとめは太田分科会

長が行い、サンプル情報は太田分科会長のみが把握することとする。前回提供いただいた委員に対して、太田分科会長から希望条件を提示する。また、他にも提供希望があれば、直接太田分科会長にコンタクトしてほしい。どのような種類(抗菌材の種類, 基材の種類等)のサンプルについて検討を行うか、あらかじめ太田分科会長が設計を行う。

6. 情報提供

LIXIL(井須委員)からの報告

バイオフィルムのせん断応力の確認(どの程度の強さで付着しているかの確認)を *S. aureus* NBRC 13276 をサンプル(MPC 処理有のガラスと無のガラス)に接触(PBS, 37°C, 2 時間)させることで確認する試験系が紹介された。

三菱電機(吉田委員)からの報告

バイオフィルム形成のばらつき要因として、菌液表面汚染の検証結果が紹介された。菌液(培養前)には油状成分があり、1 回漬けた状態では PP 板表面の疎水性が強いためにそれが吸着してバラツキの要因となる。漬け込みを 2 回, 3 回と繰り返すだけで改善されると考えられる。対策として平置きでは「細い口の容器から菌液を投入」or「菌液投入時はサンプルを覆うカバーをつける」、縦置きでは「エタノール等で濡らして挿入」or「挿入時はサンプルを覆うカバーをつける」操作を行うとよい。

7. 今後の進め方について(土屋委員長)

以下のとおり提案及び報告された。

- ・9/23-9/27 に中国成都で開催される TC61 会議には、プロジェクトリーダーとして太田分科会長が、エキスパートとして射本委員が出席する。
- ・NP 提案と同時に WD を提出することを目標とする(WD の作成は年内もしくは年度内)。
- ・ISO 提案に関する事案については国際標準化分科会にて行う。
- ・今年度は経済産業省の標準化事業については、担当者が分かりやすい用語を使うことを目的に、“抗バイオフィルム加工”ではなく“ぬめり防止加工”として申請を行う。

8. その他

谷口委員が今回の委員会で退任されるとの報告があった(後任：山森委員)。

9. 次回委員会

日時：2019 年 10 月 30 日 13:00~17:00 (次回検討試験分科会 2019 年 08 月 30 日)

場所：オフィスパーク名駅 カンファレンスルーム 501

以 上