研究報告書

マスティック・ジェルの抗菌力評価(2)

2001年5月7日 微生物・安全性チーム 松熊祥子

マスティックの抗菌スペクトラム測定 【方法】

本試験で用いた使用菌株は以下のとおりである。

Candida albicans IFO1594

Escherichia coli IFO3972

Pseudomonas aeruginosa IFO13275

Staphylococcus aureus IFO13276

Lactobacillus casei JCM1134

Propionibacterium acnes JCM6425

Streptococcus mutans JCM5705

Streptococcus sangunis JCM5708

Acinomyces naeslundii JCM8349

Actinomyces viscosus JCM8353

Fusobacterium nucleatum JCM8532

Porphyromonas gingivalis 381

マスティックオイル (マスティックエキス 50%)

カンジダ

大腸菌

緑膿菌

黄色ブドウ球菌 口腔にも存在

う触関連菌、乳酸菌 口腔にも存在

アクネ菌 口腔にも存在

う触関連菌

う触関連菌

う触関連菌 放線菌

う触関連菌 放線菌

歯周病関連菌

歯周病関連菌

<A-1>マスティックオイルの寒天培養法による MIC 測定

マスティックオイルをエタノールで 20%に溶解させた。エタノールで 10、5、2.5、1.25、0.63、0.31、0.15、0.08、0.04%に希釈し、それぞれの希釈液を 0.5g をシャーレに入れた。

滅菌後 50°Cに保温した、0.5%酵母エキス(Difco)、5%メンヨー無菌脱繊血添加ブレインハートインフュージョン寒天培地(Difco) 9.5g を加え、シャーレ内でよく混ぜ、それぞれマスティックオイル濃度が、0.5、0.25、0.13、0.063、0.031、0.015、0.008、0.004%のシャーレを作成した。(高濃度のものは白濁していたが、そのまま使用) コントロールとして、エタノールを使用し同様のシャーレを作成した。

同様に、GP 寒天培地、普通寒天培地、GAM 寒天培地によるマスティックオイル配合シャーレを作成した。酵母エキス、メンヨー無菌脱繊血添加ブレインハートインフュージョン寒天培地は、Porphyromonas gingivalis、GP 寒天培地は真菌、普通寒天培地は好気性細菌、GAM 寒天培地は嫌気性;細菌の菌液を接種した。好気性細菌は 35 \mathbb{C} 、通性嫌気性細菌は 5 %CO2、35 \mathbb{C} 、偏性嫌気性細菌は、アネロパックを使用、35 \mathbb{C} 、真菌は 25 \mathbb{C} で培養した。

(培養時間は、18時間から3日)

生育後、それぞれのシャーレの生育状態をコントロールと比較した。

<A-2>微量液培養法による MIC 測定

原料の IC50 を微量液体培養法により算出した。

マスティックオイルをエタノールで 20%に溶解後、滅菌水で 2 倍希釈系列を作成した。カンゾウエキス、メイアルファーパウダーは、滅菌水で 10%液を作成し、そのほかは原液のまま、滅菌水で 2 倍希釈系列を作成した。

好気性細菌にはニュートリエントブロス、嫌気性細菌にはGAMブイヨン、Porphyromonas gingivalis には 0.5%酵母エキス(Difco)添加ブレインハートインフュージョン寒天培地(Difco)、真菌には GP ブイヨンを、希釈サンプル $10\,\mu 1$ に対し、 $90\,\mu 1$ 添加した。好気性細菌は 35%、通性嫌気性細菌は 5%CO2 下、35%、偏性嫌気性細菌は、アネロパックを使用、35%、真菌は 25% で培養した。

(培養時間は18時間から3日)

【結果】 <A>マスティック抗菌力測定

<A-1> 寒天培養法による MIC 測定 (50%オイル)

	マスティックエキス
Candida albicans IFO1594	>0.5
Escherichia coli IFO3972	>0.5
Pseudomonas aeruginosa IFO13275	>0.5
Staphylococcus aureus IFO13276	>0.5
Lactobacillus casei JCM1134	>0.5
Propionibacterium acnes JCM6425	>0.5
Streptococcus mutans JCM5705	>0.5
Streptococcus sangunis JCM5708	0.5
Acinomyces naeslundii JCM8349	>0.5
Actinomyces viscosus JCM8353	ND
Fusobacterium nucleatum JCM8532	0.5
Porphyromonas gingivalis 381	0.03

<A-2> 微量液体培養法による IC50 (%) (50%オイル)

	マスティックエキス
Candida albicans IFO1594	>0.1
Escherichia coli IFO3972	>0.1
Pseudomonas aeruginosa IFO13275	>0.1
Staphylococcus aureus IFO13276	>0.1
Lactobacillus casei JCM1134	>0.1
Propionibacterium acnes JCM6425	>0.1
Streptococcus mutans JCM5705	>0.1
Streptococcus sangunis JCM5708	>0.1
Acinomyces naeslundii JCM8349	>0.1
Actinomyces viscosus JCM8353	>0.1
Fusobacterium nucleatum JCM8532	>0.1
Porphyromonas gingivalis 381	< 0.008

(追試を行なっていない箇所あり。)