

# コアグラージェ陰性ブドウ球菌の slime 産生量に及ぼす 茶類の影響

尾池 麗\*<sup>1</sup> 日笠友美\*<sup>1</sup> 美祢弘子\*<sup>2</sup>

## 要 約

最近日和見感染症の原因として、コアグラージェ陰性ブドウ球菌 (CNS) の産生する slime が重要であるとされ多くの研究が行われるようになった。しかし、これまでの研究における slime 量の測定は、肉眼による定性的な判定に基づくものであった。そこで我々は、slime 量の定量的な測定法の確立を試みた。

まずプレートの種類、培地の種類、培地組成などを比較し slime 量測定 of 最適条件を設定した。フクシン液で slime を染色した後に加熱 PBS (-) でプレート壁に付着した slime を溶出させ、測定した吸光度 ( $A_{492nm}$ ) を相対的な slime 量とした。

次に、分離・同定した各種 CNS の slime 産生量を、上記の方法に基づき測定・比較した。この結果、CNS の中でも特に *Staphylococcus epidermidis* の産生する slime 量が多いことが示唆された。一方、我々は茶類が低濃度でも CNS の増殖を阻止することを見出していたため、これら茶類 (日本茶・紅茶など) 及びその構成成分である tannic acid や caffein などが slime 産生にどのような影響を及ぼすかについて検討を行った。その結果、サブリーサル濃度において日本茶、紅茶、tannic acid による slime 産生量の低下がみられた。さらに tannic acid の類縁化合物であり、化学構造の明瞭な 5 種の catechin 類について同実験を行うと、(-) epigallocatechin gallate (EGCg), (-) epicatechin gallate (ECg) の 2 種の catechin でも同様に slime 産生量を低下させた。

## 緒 言

近年、医療技術の発展に伴い留置カテーテル等の医療機器を介しての汚染が増加している。輸液療法においては敗血症を誘発するケースが多く、その際に多くのコアグラージェ陰性ブドウ球菌 (coagulase-negative staphylococci: CNS) が分離されている。また、CNS が重篤な基礎疾患を有する患者や、抗癌剤・免疫抑制剤を使用している易感染者に日和見的に感染症を起こすことが分かってきた<sup>1)</sup>。CNS は人工異物表面に付着しやすく、菌体分泌物を集積した状態、いわゆる biofilm を形成し、生体防御因子や抗菌剤に対する抵抗性を獲得すると言われている。そして、その biofilm を形成する主な原因が、CNS による slime の産生にあるとされ多くの実験が行われている。しかしながら slime 量の測定が肉眼的な観察による定性的なものであったり<sup>2)</sup>、あるいは定量的であっても高価な機器や薬品を必要とするもの

<sup>3)</sup> がほとんどである。そこで我々は、slime の簡便で定量的な測定方法を検討すると同時に、それを低下させる因子として、ヒトに対して毒性を示さない茶類を選び、それらやその構成成分がどのように影響を与えるかについて検討した。

## 実験方法

### 1. 実験に使用した CNS

健康人から採取した手指付着菌の中から定法により CNS を分離し、API-STAPH 同定キット (日本ビオメリュー・バイテック株式会社) を使用して CNS の菌種を同定した。CNS の分離株は Brain Heart Infusion Agar (BHIA) に移植培養後、4℃で保存し、1ヶ月に1度継代培養を行った。今回の実験では、主として *Staphylococcus epidermidis* 54株を使用し、実験を行う場合には保存株を BHIA に移植し 35℃で24時間培養した新鮮培養菌を用いた。それらの新鮮培養菌を蒸留水に溶解し、3,000rpm で2回

\*1 川崎医療福祉大学大学院 医療技術学研究科 臨床栄養学専攻 \*2 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科  
(連絡先) 美祢弘子 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学

遠心洗浄し、蒸留水に再浮遊させ McFarland 0.5 の濃度に調整したものを菌液とした。

## 2. Slime 産生の定量法

今回行った slime 産生定量法は、Christensen らの定性的な測定法<sup>2)</sup>を改良・発展させたものである。

15ml 容量の TPX 製遠沈管（住友ベークライト社:SUMILON-PP）に EHC 培地〔1% enzymatic hydrolyzate of casein < EHC > (Sigma 社), 0.25% glucose (ナカライ社), 0.17% Yeast Nitrogen base w/o Amino acids and Ammonium sulfate (Difco 社), pH 7〕1ml と菌液 0.1ml および予備液として蒸留水 0.1ml の計 1.2ml を入れ 35℃ で 24 時間静置培養した。茶類等の影響を試験する場合には、予備液の代わりに試験液を添加した。培養後菌液を静かに捨て、フクシン液（32倍希釈のグラム染色 III 液）を 1.2ml 加えて室温で 30 分間置いて遠沈管壁に付着した slime を染色した。30 分後フクシン液を捨て、冷却蒸留水を 10ml 加えしばらく置いて捨てる洗浄操作を 3 回繰り返し、遠沈管に付着した余分な染色液を除去した。続いて 100℃ に加熱した PBS (-) 3 ml を加えて 30 分間置き、遠沈管壁に付着した slime を溶出させた。溶出色素液が冷却するのを待ち、492nm の吸光度 ( $A_{492nm}$ ) を測定した。

また少量の添加物質の影響を調べるためにマイクロプレート (MULTI-WELL-PLATE MS-8096F: 住友ベークライト) を用い、slime 量の微量定量法も併せて検討した。EHC 培地 100 $\mu$ l, 菌液 100 $\mu$ l 及び予備液として蒸留水等 100 $\mu$ l を加えて培養し、同手順で slime を染色・溶出させコロナマイクロプレートリーダーで 492nm の吸光度 ( $A_{492nm}$ ) を測定した。

## 3. 培地成分の検討

### (1) N 源の検討

Casein (Sigma 社), EHC, casamino acid (Difco 社), casamino acid + tryptophan (ナカライ社), ammonium sulfate を各 1% に調整したものを N 源とし、先に示した EHC 培地の EHC に変えて各 N 源を添加し、5 種の培地 (pH 7) を作成。これらの培地での各 slime 産生量を比較した。

### (2) C 源の検討

EHC 培地中の glucose の代わりに、同濃度に調整した 17 種の糖類 (mannose, galactose, mannitol, fructose, xylose, arabinose, xylitol, maltose, lactose, sucrose, cellobiose, trehalose, raffinose, N-acetylglucosamine, methyl- $\alpha$ -galactosamine) を添加し slime 産生量を比較した。以上の糖類は全てナカラ

イ社製を使用した。

## 4. 日本茶、紅茶、コーヒーの slime 産生量に及ぼす効果の測定法

一般的な常飲濃度に基づき、日本茶（紫園煎茶 < 福寿製茶株式会社 >）3g, 紅茶（トワイニング紅茶 < ダージリン < 片岡物産株式会社 >）3g, コーヒー（NESCAFE EXCELLA < ネスレ日本株式会社 >）2g に、各 140ml の蒸留水を加え定法により抽出させ、濾過除菌したものを原液 ( $\times 1$ ) とした。それらを蒸留水を用いて倍数希釈 ( $\times 1/2 \sim \times 1/1024$ ) し、1. で検討した CNS のうち、安定して slime 産生量の高かった 4 菌株 (TMM 7, REI 9, MIN18, ONO 7) について実験を行った。微量定量法で述べた予備液の蒸留水の代わりに、各種・各濃度の茶抽出液及びコーヒーを加えて slime 産生量を測定した。

## 5. Tannic acid, caffein, chlorogenic acid の slime 産生量に及ぼす効果の測定法

茶類、コーヒーの機能性物質含有量<sup>4)</sup> および予備実験に基づき、tannic acid-1000 $\mu$ g/ml, caffein, chlorogenic acid-100 $\mu$ g/ml を蒸留水で調整し、濾過除菌したものを原液とした。それを蒸留水で倍数希釈 (tannic acid-500 $\sim$ 1 $\mu$ g/ml, caffein, chlorogenic acid-50 $\sim$ 0.1 $\mu$ g/ml) し、微量定量法で述べた予備液の蒸留水の代わりに、各物質の異なる濃度の希釈溶液を加えて slime 産生量を測定した。実験は、3. と同じ 4 菌株について行った。

## 6. Catechin 類の slime 産生量に及ぼす効果の測定法

Tannic acid と類縁化合物であり、化学構造の明確な (+) epicatechin (+ EC), (-) epicatechin (- EC), (-) epigallo catechin (- EGC), (-) epicatechin gallate (- ECg), (-) epigallo catechin gallate (- EGCg) を 100 $\mu$ g/ml に蒸留水で調整し、濾過除菌したものを原液とした。それを蒸留水で倍数希釈 (50 $\sim$ 0.1 $\mu$ g/ml) し、4. と同方法で slime 産生量を測定した。(これら catechin 類はいずれも Sigma 社のものを用いた)

## 実験結果と考察

### 1. 定量的な slime 産生量の測定

定量的に slime 産生量を測定した結果、分離同定した *S.epidermidis* 54 株のすべてが slime を産生することが分かった。 $A_{492nm}$  で表した slime 産生量は、最小値 0.170, 最大値 2.052 であり平均値 1.123 で

表2 培地中の C 源の増殖および slime 量に及ぼす影響

C 源	増殖	slime量	C 源	増殖	slime量
Glucose	+	++	Arabinose	+	+
Mannose	+	+++	Xylitol	+	+
Galactose	+	+	Maltose	+	+
Mannitol	+	+	Lactose	+	+
Fucose	+	+	Sucrose	+	+
Xylose	+	+	Cellobiose	+	+
N-Acetyl- glucosamine	+	+	Trehalose	+	+
			Raffinose	+	+
N-Acetyl- galactosamine	+	+	Methyl- $\alpha$ - glucoside	+	+

表1 培地中の N 源の増殖および slime 量に及ぼす影響

N 源	増殖	slime量
Casein	-	-
E H C	+	++
Casamino acid	-	-
Casamino acid + Tryptophan	+	+
Ammonium sulfate	-	-

あった。そして、この中で slime 産生量が 0.300 以下のものは肉眼的に弱い着色しか示さなかった。それに対し slime 産生量が 1.000 以上のものは、肉眼的にも強い着色を示した。このことから slime 産生量が 0.300 未満を低度産生株、0.300 以上 1.000 未満を中程度産生株、1.000 以上を高度産生株と規定すると低度産生株が 21 株 (38.9%)、中程度産生株が 22 株 (40.7%)、高度産生株が 11 株 (20.4%) であった。この結果は Christensen らの方法により、slime 産生株が 44% 程度あるという報告<sup>2)</sup> とよく一致している。

これまで行われている定性的な方法では、複雑な操作や高価な試薬を必要としたり、どうしても指標が実験者の主観により異なってしまう。今回我々が検討した定量的な方法によれば、定性的な方法では陰性とされていた微量の slime 産生量を求めることができ、slime 産生を阻害または促進する物質の影響が調べやすく、簡便で再現性の高いものであると

考えられる。

## 2. 培地成分の検討

### (1) N 源の検討

検討した 5 種の培地において、増殖と slime 産生がみられたのは casein の酵素分解 peptide である EHC と、tryptophan を添加したアミノ酸混液のみであり、高分子の casein タンパク質と無機塩類である ammonium sulfate では slime 産生がみられなかった (表 1)。よって以後の実験には slime 産生量の高かった EHC を N 源として用いた。

### (2) C 源の検討

検討した 17 種の中で slime 産生量が高かったのは glucose と mannose であった。mannose では他の糖類に比べ非常に高い slime 産生量を示したが (表 2)、今回は一般的な glucose を C 源として用いた。mannose でみられた slime 産生量に及ぼす影響は今後検討する予定である。

Christensen らは定性的な方法であるが glucose, fructose, lactose, maltose, sucrose が slime 産生する株が多い (6/6) のに対し、mannose や galactose は slime 産生株の割合がやや低く (5/6)、mannitol や arabinose では全く slime を産生しないという我々と異なる結果を報告している<sup>2)</sup>。これはおそらく基礎となる培地の組成が異なるためであると思われる。すなわち、培地の組成が slime 産生に大きな影響を与えると思われる。

## 3. 日本茶、紅茶、コーヒーの slime 産生量に及ぼす効果

表3 日本茶の slime 産生量に及ぼす影響

菌株名 \ 濃度	control	×1	×1/4	×1/16	×1/64	×1/256	×1/1024
TMM 7	1.344	0.189	1.116	1.136	0.974	1.203	1.321
MIN18	1.295	0.188	0.820	1.132	1.106	1.350	1.663
REI 9	1.047	0.181	0.331	0.329	0.585	0.882	1.112
ONO 7	1.078	0.184	0.378	0.328	0.565	0.998	1.089

表中の数値はA<sub>492</sub>値であり slime 量をあらわす

×1 常飲濃度

☐ 増殖阻害がみられた濃度

▨ slime 量の低下した濃度

表4 紅茶の slime 産生量に及ぼす影響

菌株名 \ 濃度	control	×1	×1/4	×1/16	×1/64	×1/256	×1/1024
TMM 7	0.876	0.220	0.232	0.602	1.004	0.809	0.907
MIN18	1.088	0.188	0.204	0.693	0.950	0.947	1.051
REI 9	0.978	0.183	0.240	0.858	0.892	0.877	1.101
ONO 7	0.797	0.188	0.225	0.194	0.320	0.570	0.865

表中の数値はA<sub>492</sub>値であり slime 量をあらわす

×1 常飲濃度

☐ 増殖阻害がみられた濃度

▨ slime 量の低下した濃度

表5 コーヒーの slime 産生量に及ぼす影響

菌株名 \ 濃度	control	×1	×1/4	×1/16	×1/64	×1/256	×1/1024
TMM 7	1.056	1.607	2.001	1.414	1.171	1.115	0.911
MIN18	1.048	1.942	1.874	1.680	1.115	1.277	1.293
REI 9	1.161	1.775	2.018	1.558	1.471	1.421	1.271
ONO 7	1.142	1.343	1.015	1.091	0.964	0.938	1.228

表中の数値はA<sub>492</sub>値であり slime 量をあらわす

×1 常飲濃度

▨ slime 量の増強した濃度

日本茶、紅茶においては、常飲濃度の×1/4で全ての菌株が死滅し、1/16～×1/256というはるかに低い濃度で slime 産生量を著しく減少させた（表3, 4）。

これに対し、コーヒーでは高濃度において slime 産生量の増強作用がみられた（表5）。これを検討すべく、同実験を数回行うもデータにふれが見られるため、コーヒーに限り以後の実験からはずした。コーヒーに含まれる tannic acid はいわゆる茶

類のそれとは異なり、非常に不安定な化合物である chlorogenic acid が大部分を占めている。コーヒーでみられたデータのふれはこのような事実が関係するとも考えられる。データには示さないがその他の常飲する飲料として、ウーロン茶や麦茶についても実験を行ったが、slime 産生量に対する影響はみられなかった。この両者の tannic acid 含有量は非常に低く、この点からも tannic acid が slime 産生量に影響を及ぼしたと考えられる。

表6 Tannic acid の slime 産生量に及ぼす影響

菌株名 \ 濃度	control	1000 $\mu$ g/ml	250 $\mu$ g/ml	62.5 $\mu$ g/ml	15.6 $\mu$ g/ml	3.90 $\mu$ g/ml	1.0 $\mu$ g/ml
TMM 7	1.025	0.163	0.182	0.314	0.616	0.600	0.877
MIN18	0.809	0.163	0.148	0.313	0.481	0.689	0.731
REI 9	0.989	0.151	0.158	0.326	0.384	0.453	0.919
ONO 7	1.604	0.146	0.146	0.682	1.592	1.663	1.778

表中の数値はA<sub>492</sub>値であり slime 量をあらわす

- 増殖阻害がみられた濃度
- slime 量の低下した濃度

表7 Caffein の slime 産生量に及ぼす影響

菌株名 \ 濃度	control	100 $\mu$ g/ml	25 $\mu$ g/ml	6.25 $\mu$ g/ml	1.56 $\mu$ g/ml	0.39 $\mu$ g/ml	0.10 $\mu$ g/ml
TMM 7	1.048	1.099	1.106	1.056	0.918	1.006	0.927
MIN18	1.179	1.133	1.301	1.263	1.408	1.273	1.254
REI 9	1.109	1.150	1.108	1.114	0.991	1.199	1.204
ONO 7	0.970	0.940	1.032	1.060	1.034	1.173	1.012

表中の数値はA<sub>492</sub>値であり slime 量をあらわす

表8 Chlorogenic acid の slime 産生量に及ぼす影響

菌株名 \ 濃度	control	100 $\mu$ g/ml	25 $\mu$ g/ml	6.25 $\mu$ g/ml	1.56 $\mu$ g/ml	0.39 $\mu$ g/ml	0.10 $\mu$ g/ml
TMM 7	1.034	0.827	1.072	1.005	1.067	1.080	1.272
MIN18	1.005	0.924	0.945	1.000	1.023	0.949	1.038
REI 9	1.198	1.019	1.123	1.299	1.322	1.234	1.548
ONO 7	0.810	1.410	1.255	1.179	1.134	1.011	1.033

表中の数値はA<sub>492</sub>値であり slime 量をあらわす

茶類あるいはその構成物質が各種微生物に対して強い殺菌作用を示すことは様々な方法で多くの研究者により確認されている<sup>5)</sup>が、サブリーサル濃度での slime 産生に対する阻害作用については報告がみられない。

#### 4. Tannic acid, caffein, chlorogenic acid の slime 産生量に及ぼす効果

日本茶、紅茶に共通して含まれている tannic acid, caffein, またコーヒーにのみ含まれる chlorogenic acid について slime 産生量に及ぼす効果を測定した。tannic acid では15.6 $\mu$ g/ml ですべての菌株、2菌株では1 $\mu$ g/ml においても slime 産生量の低下がみられた(表6)。同時に、tannic acid は0.0039%の

濃度で *S.epidermidis* に対する殺菌性を有することが示された。常飲濃度での茶葉抽出液中の tannic acid 量は0.03%であるので、常飲茶類の1/10の濃度でも強い殺菌力があると考えられる。

これに対し、caffeine, chlorogenic acid では細胞の増殖や slime 産生に対し高濃度においてもほとんど効果が見られなかった(表7, 8)。

#### 5. Catechin 類の slime 産生量に及ぼす効果

茶葉には、可溶成分として tannic acid, テアニンなどのアミノ酸類, caffeine, 遊離糖類などが含まれ、茶の主成分である茶 tannin は catechin 類である。検討した catechin 類の中で (+) EC, (-) EC, (-) EGC の3種は slime 産生量に全く影響を与え

表9 (一) Epicatechin gallate の slime 産生量に及ぼす影響

菌株名 \ 濃度	control	100 $\mu$ g/ml	25 $\mu$ g/ml	6.25 $\mu$ g/ml	1.56 $\mu$ g/ml	0.39 $\mu$ g/ml	0.10 $\mu$ g/ml
TMM 7	1.434	0.182	0.928	1.129	1.202	1.328	1.462
MIN18	1.788	0.219	0.696	1.087	1.329	1.485	1.713
REI 9	1.430	0.223	0.720	1.167	1.291	1.487	1.571
ONO 7	1.026	0.203	0.383	0.621	0.669	1.112	1.110

表中の数値はA<sub>492</sub>値でありslime量をあらわす

■ 増殖阻害がみられた濃度

▨ slime量の低下した濃度

表10 (一) Epigallo catechin gallate の slime 産生量に及ぼす影響

菌株名 \ 濃度	control	100 $\mu$ g/ml	25 $\mu$ g/ml	6.25 $\mu$ g/ml	1.56 $\mu$ g/ml	0.39 $\mu$ g/ml	0.10 $\mu$ g/ml
TMM 7	1.421	0.333	0.816	0.982	1.143	1.477	1.396
MIN18	1.431	0.301	0.492	0.855	1.275	1.535	1.467
REI 9	1.177	0.317	0.467	0.366	0.647	1.131	1.050
ONO 7	1.240	0.299	0.274	0.468	0.857	1.248	1.151

表中の数値はA<sub>492</sub>値でありslime量をあらわす

■ 増殖阻害がみられた濃度

▨ slime量の低下した濃度

なかった。これに対し、gallate基を持つ(-) ECg, (-) EGCgでは日本茶, 紅茶, tannic acidでみられたのと同様に, 高濃度(50~100 $\mu$ g/ml)では致死効果, サブリーサル濃度(0.78~25 $\mu$ g/ml)ではslime産生量の低下を示した(表9, 10)。

これまでも茶葉抽出液やcatechin類がmethicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)をはじめ様々な菌種において抗菌・殺菌作用を増強することが報告されている<sup>6)</sup>。また, catechinの構造と殺菌作用との関係についての研究も進み, その機能と構造についての関係が明らかになりつつある<sup>7)</sup>。今回我々が検討したslime産生量に及ぼすcatechin類の影響においても, (-) ECg及び(-) EGCgで他のcatechin類で見られないslime低下作用を示したことより, これらの化学構造と作用機序との関係についてさらなる検討が必要であると思われる。

#### おわりに

*S.epidermidis*はヒトや動物の常在菌であり, 以前は非病原菌とされあまり注目されてこなかった。しかしながら易感染者に対し病原性を示すことが知られ, その最も大きな要因はこの菌のslime産生能であるとされている<sup>8,9)</sup>。*S.epidermidis*のslime産

生を, ヒトに対して毒性を示さないとされる(歴史的に常飲している)茶類やコーヒーまたその成分を用いてコントロールすることを検討した。

この結果 *S.epidermidis* のプラスチック機器へのslime産生を通しての接着性は菌株や実験条件(培地成分・機器の材質等)により大きく異なることが示された。材質については, 実験方法で述べたSUMILONのTPX製遠沈管を使用した, これは予備実験により他のpolypropylene製のものに比較してbiofilm形成が強いことが示されたためである。同様に, マイクロプレートについても今後機器の材質やコーティングの有無などの検討が重要であると考えられる。また今回は染色液として予備実験により, slimeを含んだbiofilmを強く染色するフクシン液を使用した, 今後はslimeの構成成分である糖またはタンパク質を特異的に染める染色液の検討が必要であると思われる。

さらにここに見られる接着性は, 我々が常飲している茶類の濃度よりはるかに低い濃度で阻害された。*S.epidermidis*の産生するslimeを除去するため, これまでにも抗生物質の添加<sup>10,11)</sup>, などの報告があるが, 今回我々の報告した日本茶, 紅茶, tannic acid, (-) ECg, 及び(-) EGCgによるslime産生量の

低下は、ヒトに対する毒性のない常飲量を使用している点でより有用であると考えられる。また、培地の組成や培養条件により菌の表面性状や slime 産生量に変化するという報告<sup>12)</sup>もあり、既知組成培地での slime 測定法の確立が必要であると考えられる。今後は既知組成培地で産生された slime の精製を行

うと同時に、精製 slime の化学組成を調べたいと考えている。また、精製 slime の接着性との関係、他の微生物に及ぼす影響、微生物に対して作用を示す抗生物質などの物質類に対する影響など、slime の生物学的性状について検討する予定である。

## 文 献

- 1) Kloos WE and Bannerman TL (1994) Update on clinical significance of coagulase-negative Staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, **16**(2), 236-239.
- 2) Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL and Beachey EH (1982) Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surface. *Infection and Immunity*, **37**(1), 318-326.
- 3) Mempel M, Gunther B, Muller E, and Guter L (1996) Detection and Measurement of *Staphylococcus epidermidis* Slime Using an ELISA Technique. *Microbiology and Immunology*, **40**(2), 115-199.
- 4) 山口迪夫 (1995) 日本食品成分表, 第三版, 医歯薬出版株式会社, 東京.
- 5) 戸田眞佐子, 島村忠勝他 (1989) 日本茶の抗菌作用および殺菌作用について. 日本細菌学雑誌, **44**(4), 669-672.
- 6) 戸田眞佐子, 島村忠勝 (1997) カテキン—多機能性生体防御物質—. 昭和大学医学会誌, **57**(3), 175-189.
- 7) 島村忠勝他 (1998) カテキンの生体防御機能とその応用 ③カテキンの殺菌メカニズム. 治療, **80**(9), 130-134.
- 8) Wynne JJ and Scott RJD (1992) A study of coagulase-negative staphylococci with reference to slime production, adherence, antibiotic resistance patterns and clinical significance. *Journal of Hospital Infection*, **22**, 217-227.
- 9) 田中美智男, 浦 敏郎 (1996) コアグララーゼ陰性ブドウ球菌に関する研究: 臨床情報, 菌株情報から見た CNS 感染症分析. メディアサークル, **41**(9), 430-439.
- 10) Hussain M and White PJ (1992) Radiochemical assay to measure the biofilm produced by coagulase-negative staphylococci on solid surfaces and its use to quantitate the effects of various antibacterial compounds on the formation of the biofilm. *Journal of Medical Microbiology*, **37**, 62-69.
- 11) Yasuda H, Ajiki Y, Koga T and Yokota T (1994) Interaction between Clarithromycin and Biofilms formed by *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **38**(1), 138-141.
- 12) Hussain M and White PJ (1991) A chemically defined medium for slime production by coagulase-negative staphylococci. *Journal of Medical Microbiology*, **34**, 143-147.

(平成12年5月24日受理)

## Effects of Teas on the Amount of Slime Production of Coagulase-negative Staphylococci

Rei OIKE, Tomomi HIKASA and Hiroko MINE

(Accepted May 24, 2000)

Key words : COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI, *Staphylococcus epidermidis*, SLIME

### Abstract

Recently, it has been assumed that slime production by coagulase-negative staphylococci (CNS) was important as the cause of infections and much research has been done on the subject. Previously, measurements of the amount of slime were based on qualitative judgment by naked eye. This study was an attempt to establish a quantitative measurement method.

The optimum conditions for slime production were set by comparing various plates and media. Slime which adhered to the plate wall was dissolved with hot PBS (-) after dyeing with fuchsin, and the absorption of the solution at 492nm was measured. Using this method, the amounts of slime for various CNS were measured and compared. Results showed that it was especially large in *Staphylococcus epidermidis*.

The influence of various teas and their components on slime production were examined and it was found that Japanese tea and tannic acid at sublethal concentrations greatly decreased slime production. Moreover, the effect of tannic acid was mirrored by its chemical components, (-) epigallocatechin gallate (EGCg) and (-) epicatechin gallate (ECg) .

Correspondence to : Hiroko MINE

Department of Clinical Nutrition, Faculty of Medical Professions  
Kawasaki University of Medical Welfare  
Kurashiki, 701-0193, Japan  
(Kawasaki Journal of Medical Welfare Vol.10, No.1, 2000 155-162)