Jpn. J. Hosp. Pharm.
23(4) 348—357 (1997)

酸性電解水（アクア酸化水）および市販消毒薬の 真菌に対する殺菌効果の比較

鎗田響子*, 宇野 潤, 赤尾三太郎

千葉大学真核医学研究センター, 高分子活性分野†

Comparison of the Fungicidal Action of Acidic Electrolyzed Water (Aqua Oxidizing Water) and Commercial Disinfectants

KYOKO YARITA*, JUN UNO and MITSUTARO AKAO

Division of Experimental Chemotherapy, Research Center for Pathogenic
Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University†

(Received March 10, 1997)
(Accepted April 8, 1997)

The fungicidal activity of acidic electrolyzed water (Aqua oxidizing water, AQ) and nine commercial disinfectants was studied using three methods of contact on two kinds of pathogenic yeast and two kinds of conidia.

In a glass test tube, with a ratio of 1 to 9 of Fungal suspension 10^7 cfu/ml water to AQ, the fungi were killed by AQ within one minute, but the same amount of AQ was not effective against fungi suspended in a medium of Sabouraud dextrose broth (SDB). The killing activity of 50 ppm sodium hypochlorite (CL), which included the same amount of chlorine as AQ, was weaker than that of AQ and was also inhibited by SDB. The killing activities of 3% hydrogen peroxide, 500 ppm CL, 1% chloramine T (CT) and 0.5% chlorhexidine gluconate were weaker than that of AQ, but were not inhibited by SDB.

On a stainless steel tray, the fungicidal activity was weaker than the activity observed in the glass tube. After a 30-minute exposure, AQ killed both kinds of yeast completely, but neither type of conidia.

Organic substances influenced the fungicidal activity of AQ. On an agar plate or in the glass tube with proteins, the killing activity of both AQ and 50 ppm CL was inhibited. The influence of CT, a kind of chloric oxidizer, varied according to the pH of the substances.

AQ therefore shows a more potent fungicidal activity than ordinary chloric oxidizers with less chlorine because of its acidity, but is inhibited by organic substances to the same extent as CL which includes the same amount of chlorine. In conclusion, AQ is thus considered to be useful in washing and rinsing the surface of materials for the purpose of sterilization.

Key words — disinfectant, electrolyzed water, chloric oxidizer, fungicidal action, sanitizer, inactivation test

緒 言

近年、抗生物質耐性菌や強毒菌による感染が問題となり、消毒の重要性が再認識されてきた^{1,2)}。消毒薬には多くの種類があるが、それぞれ化学薬品としての長所短所を持つ^{2,3)}。アクア酸化水(AQ)は、三浦電子製のオキシライザーにより、食塩を添加した水道水を隔膜を介して電気分解することによって陽極側に得られる酸化力を持つ強酸性の水である。近年、アルカリ水、強酸性水等の電解水製造器に多くのメーカーが参入しているが、オキシライザーは最も早く開発され、成分、抗菌力試験、安全性試験等の研究も進んでいる⁴⁻⁹⁾。それらによるとAQは強い殺菌力を持つ上、従来の消毒薬より毒性が低い¹⁰⁾ため、病院等で解頭手術時や、火傷、褥瘡の治療、器具の洗浄や清掃などに用いられるようになってきている^{4, 5, 11)}。我々はAQの真菌に対する殺菌効果を種々の接触条件下で9種の市販消毒薬と比較検討した。

材料と方法

<材料>

1. アクア酸化水(AQ)

三浦電子製オキシライザーにより作製し、密閉して冷暗所保存したものを1カ月以内に、希釈せずに使用した。

2. 市販消毒薬

局方オキシドール(3%過酸化水素含有, OX, 吉田製薬), 50ppm および500ppm 次亜塩素酸ナトリウム(CL, ピューラックス, オーヤラックス), 1%クロミランT(CT, p-トルエンシルホンクロロアミドナトリウム3水和物, 関東化学), 0.5%グルコン酸クロルヘキシジン(CH, 5%ヒビテン液, ゼネカ製薬), 局方消毒用エタノール(76.9~81.4%エタノール含有, ET), 5%液状フ

ェノール(PH, 局方液状フェノール), 2%クレゾール石ケン液(CR, 局方クレゾール石ケン液)(以上吉田製薬), 0.2および10%ポビドンヨード(PI, イソジン液, 明治製菓), 2%グルタルアルデヒドを使用時炭酸水素ナトリウムで約pH8に調整したもの(GL, グルタルアルデヒド25%水溶液, 半井化学)を使用した。これらは、微生物学の教科書等を参考にし、器具の消毒に用いられる濃度を選んだ^{12, 13)}。

3. 使用菌株と培地

被検菌として、酵母は *Candida albicans* IFM 40009 および *Cryptococcus neoformans* S90145, 糸状菌分生子は *Aspergillus fumigatus* IFM4943 および *Trichophyton mentagrophytes* IFM40769 を使用した。菌液調製は「病原真菌・同定法と感受性試験¹⁴⁾」他^{15, 16)}を参考にし、滅菌精製水またはサブローブドウ糖液体培地(SDB, Sabouraud dextrose broth, Difco)で行った。

被検菌の前培養および生菌数測定用寒天平板(以後、寒天平板)は、酵母に対しては Sabouraud dextrose agar, 糸状菌に対しては potato dextrose agar (共に Difco 社製)を使用した。

<実験方法>

1. アクア酸化水に対する希釈と菌量の影響

菌液を滅菌精製水で、 2×10^4 , 10^5 , 2×10^6 および 10^7 CFU/ml に調製した。ふた付きガラス試験管中で、 10^5 および 10^7 CFU/ml の菌液と AQ を容量比 1 : 9 の割合で混合、また 2×10^4 および 2×10^6 CFU/ml の菌液と AQ は容量比 1 : 1 の割合で混合した。経時的に混合液 0.1ml を寒天平板上に塗布、27℃で静置培養し、生育コロニー数を測定し生菌数とした。生菌数の多い場合は適宜滅菌精製水で希釈後、寒天平板に塗布した。

2. 試験管内接触における殺菌効果

10^7 CFU/ml の菌液を滅菌精製水および SDB を用いて調製した。ふた付きガラス試験管中で菌液と被検液を 1 : 9 の割合で混合後、経時的に混合液を採取し AQ, 50ppm CL 以外の消毒薬は50倍希釈した。以下方法 1 と同様 0.1ml を寒天平板に塗

† 千葉県千葉市中央区亥鼻 1-8-1; 1-8-1, Inohana, Chuou-ku, Chiba-shi, Chiba, 260 Japan

布し生菌数を測定した。被検液の殺菌効果は、菌生存率0.05%以下になった時の接触時間が10秒以下の時 $\equiv$ 、30秒の時 $\equiv$ 、1分の時 $\equiv$ 、10分の時 $\equiv$ 、30分の時 $\equiv$ 、30分以上の時 $\equiv$ として表した。

3. 解放平面上の菌に対する殺菌効果

10^7 CFU/mlの菌液を滅菌精製水を用いて調製した。ステンレス製バット(18×24.5cm)に置いた菌液1mlの上へ、AQまたはET10mlを注ぎ静かに揺すって混和後、落下菌による汚染を防ぐためアルミホイルで軽く覆って30分放置、3×3cmの滅菌綿3個を用いて液を拭き取り、寒天平板3枚に塗布したうえで綿も培養し、生菌数を測定した。被検液の殺菌効果は、菌生存率約0.001%以下を $\equiv$ 、約0.01%を $\equiv$ 、約0.1%を $\equiv$ 、約1%を $\equiv$ 、約10%を $\equiv$ 、対照の50%以上生存

一として表した。

4. 菌液塗布寒天平板に対する殺菌効果

10^6 CFU/mlの菌液を滅菌精製水で調製した。寒天平板上に0.1mlの菌液を塗布し、その平板の中央に被検液を0.1ml適下と同時に直ちに全面塗布、対照が十分に成育するまで培養して菌の成育を確認した。すなわち方法1とは菌液、被検液、培地の接触順序だけが異なる。対照には菌数を1/10ずつに減らしていった平板上に、滅菌精製水0.1mlを塗布したものを用意した。結果は方法3と同様に表した。

5. 試験管内法におけるタンパク質・アミノ酸系物質の影響

AQと、塩素系酸化剤CL、CTの殺菌効果に対するタンパク質・アミノ酸系物質の影響を、試験

図1. アクア酸化水の真菌に対する殺菌効果

混合後菌濃度が 10^6 または 10^4 CFU/mlとなるよう、菌液とアクア酸化水を(a) 1:9または(b) 1:1の割合で振盪混合後、経時的に0.1mlを寒天平板上に塗布し培養、生菌数を測定した。*Aspergillus fumigatus* IFM 4943 10^6 CFU/ml (●) および 10^4 CFU/ml (○), *Trichophyton mentagrophytes* IFM 40769 10^6 CFU/ml (▲). (a) (b)における *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* の 10^4 および 10^6 CFU/mlと *T. mentagrophytes* の 10^4 CFU/ml, (a)における *T. mentagrophytes* 10^6 CFU/mlは、AQとの接触10秒で測定限界以下(10CFU/ml未満)に殺菌されたため図示されていない。

管内接触法で調べた。仔牛血清（千葉県血清研究所，CS），仔牛血清アルブミン（半井化学薬品，CSA），ペプトン（ポリペプトン，日本製薬），L-グルタミン酸（Glu），L-グルタミン（Gln），L-フェニルアラニン（Phe），L-スレオニン（Thr），L-ロイシン（Leu），L-メチオニン（Met），L-アルギニン（Arg，以上半井化学薬品および和光純薬）を表4，5中の濃度で含む 10^7 CFU/ml菌液を用意し，方法2の試験管内接触法で菌生存率を測定した。

結 果

1. アクア酸化水に対する希釈と菌量の影響

病原真菌4種に対し，菌液とAQの混合比1：9および1：1，混合後菌濃度 10^4 および 10^6 CFU/mlを組み合わせた4通りの条件下で，AQの殺菌効果を調べた結果を図1に示す。酵母である*C. albicans*，*Cr. neoformans* はいずれの条件下でも，AQ

との接触10秒で測定限界以下の10CFU/ml未満に殺菌されたため，図中には現れていない。*T. mentagrophytes* は混合比1：1，混合後菌濃度 10^6 CFU/mlで接触時間10秒の時のみ生存菌が確認された。最もAQに抵抗性を示した*A. fumigatus* は，AQ量が少なくなると殺菌時間が延長された。すなわち菌液：AQの混合比1：9と1：1では殺菌時間にほぼ倍の違いがあった。一方，*A. fumigatus* の菌量と殺菌効果の関係については，混合後菌濃度 10^4 CFU/mlと 10^6 CFU/mlにおける殺菌時間に差はなかった。

2. 試験管内接触における殺菌効果

AQおよび市販消毒薬の，菌液：被検液の混合比1：9，混合後菌濃度 10^6 CFU/mlにおける殺菌効果を表1に示す。AQ，50ppm CL以外の消毒薬は0.1mlで寒天平板上の菌100CFUに対しいくぶん殺菌効果を現すため，これらの消毒薬に対しては混合液を50倍希釈後，寒天平板に塗布した。

表1. 2種類の菌調製液による試験管内でのアクア酸化水と消毒薬の殺菌効果

被検液 ¹⁾	<i>C. albicans</i>		<i>Cr. neoformans</i>		<i>T. mentagrophytes</i>		<i>A. fumigatus</i>	
	水 ²⁾	SDB	水	SDB	水	SDB	水	SDB
AQ	+++ ³⁾	—	+++	—	+++	—	+++	—
OX	±	±	+	+	±	±	+	—
50ppm CL	+++	—	++	—	++	—	+	—
500ppm CL	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
CT	+++	+++	+++	+++	±	+++	±	+
CH	+++	+++	+++	+++	±	—	—	+
ET	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
PH	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CR	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0.2% PI	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
GL	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

試験管に被検液を0.9ml取り， 10^7 CFU/mlの菌液を0.1ml加え，振盪混合後，経時的に0.1mlを寒天平板上に塗布し培養，生菌数を測定した。

- 1) AQ：アクア酸化水，OX：オキシドール，CL：次亜塩素酸ナトリウム，CT：1%クロラミンT，CH：0.5%グルコン酸クロロヘキシジン，ET：消毒用エタノール，PH：5%液状フェノール，CR：2%クレゾール石ケン液，PI：ポビドンヨード，GL：2%グルタルアルデヒド炭酸水素ナトリウム溶液。
- 2) 菌調製に使用した液体，SDB：サブローブドウ糖液体培地。
- 3) 殺菌効果，+++：菌生存率0.05%以下になる時間が10秒以下，++：30秒，+：1分，±：10分，±：30分，—：30分以上。

AQの精製水中の殺菌効果は、*C. albicans*, *Cr. neoformans*, *T. mentagrophytes* に対しては10秒間の接触により、*A. fumigatus* は30秒間の接触により測定限界以下の10CFU/ml未満にする強力なものであった。しかしSDB存在下では著しく殺菌効果を失い、30分接触でも菌はほとんど生存していた。

一般の器具消毒に用いられる塩素量50ppm CLの殺菌効果は、精製水中ではAQより殺菌時間が長く、SDB存在下ではAQと同様に阻害され、30分後でも菌はほとんど生存していた。汚物の消毒に用いられる塩素量500ppm CLの精製水中での殺菌効果は、AQと比較すると、酵母に対しては同じであったが、糸状菌に対してはAQよりやや劣っていた。しかしSDB存在下での殺菌効果は、AQや50ppm CLほど阻害を受けなかった。

OX, CT, CHは精製水中で、AQよりも殺菌に時間がかかったが、SDB存在下でもほとんど影響を受けず、CTはかえってSDB存在下の方が殺菌力が高まる傾向があった。CHは酵母に対しては強力であったが、分生子に対しては精製水調製菌でも30分で*A. fumigatus* が約 10^3 CFU/ml生存していた。これらの結果より、*C. albicans*, *Cr.*

neoformans, *T. mentagrophytes*, *A. fumigatus* の順に消毒薬に対する抵抗性が弱いことが示された。

ET, PH, CR, 0.2%PI, GLは、精製水調製でもSDB調製でも変わりなく、どの菌に対しても短時間で強力な殺菌作用を示した。

3. 解放平面上の菌に対する殺菌効果

AQおよびETのバット上での接触30分後における効果を表2に示す。AQとの接触30分により、酵母は2種共検出できなくなったが、分生子は*T. mentagrophytes* が 3×10^2 CFU/ml、*A. fumigatus* は 10^3 CFU/mlが検出された。ETは、酵母2種と*T. mentagrophytes* を検出できなくなったが、*A. fumigatus* は 2×10 CFU/mlが検出された(表2の*)。

表3. 寒天平板上におけるアクア酸化水と消毒薬の殺菌効果

被検液 ¹⁾	被検菌	
	<i>C. albicans</i>	<i>A. fumigatus</i>
AQ	— ²⁾	—
OX	+++	+++
50ppm CL	—	—
500ppm CL	—	—
CT	—	—
CH	++	—
ET	±	—
PH	+	++*
CR	++	+
0.2% PI	+	±
10% PI	+++	+++
GL	++*	++*

寒天平板上に 10^6 CFU/mlの菌液0.1mlを塗布後、さらに被検液0.1mlを塗布し対照が十分生育するまで培養、菌の生育を確認した。

1) AQ: アクア酸化水, OX: オキシドール, CL: 次亜塩素酸ナトリウム, CT: 1%クロラミンT, CH: 0.5%グルコン酸クロルヘキシジン, ET: 消毒用エタノール, PH: 5%液状フェノール, CR: 2%クレゾール石ケン液, PI: ポビドンヨード, GL: 2%グルタルアルデヒド炭酸水素ナトリウム溶液。

2) 殺菌効果. +++: 菌生存率約0.001%以下, ++: 約0.01%, +: 約0.1%, ±: 約1%, —: 約10%, —: 50%以上, *: 平板の周縁部にコロニーが現れたもの。

表2. バット上におけるアクア酸化水と消毒用エタノールの殺菌効果

被検菌	被検液 ¹⁾	
	AQ	ET
<i>C. albicans</i>	+++ ²⁾	+++
<i>Cr. neoformans</i>	+++	+++
<i>T. mentagrophytes</i>	++	+++
<i>A. fumigatus</i>	++	+++*

18×24.5cmのステンレスバット上に 10^7 CFU/mlの菌液を1mlを置き、被検液1mlを上注ぎ、静かに揺すって混和後30分放置。滅菌綿で全面に完全に拭き取り、寒天平板3枚に塗布した上、綿も乗せて培養し、生菌数を測定した。

1) AQ: アクア酸化水, ET: 消毒用エタノール。

2) 殺菌効果. +++: 菌生存率約0.001%以下 (*以外は菌検出されず), ++: 約0.01%, +: 約0.1%。

4. 菌液塗布寒天平板に対する殺菌効果

AQと市販消毒薬が、すでに培地上にある菌に対しどの程度効力を持つかを検討したところ、表3の結果が得られた。AQと50ppmおよび500ppm CLを塗布した菌平板は、対照と菌成育が変わらなかった。ETとCTも対照に近い菌成育を示した。一方OXと10%PIは菌成育を完全に抑制した。他の消毒薬は菌成育を完全には抑制しなかった。10種の被検液の効果を酵母と糸状菌で比較すると、同じか若干糸状菌に対し抑制効果が弱かったが、CHは著しく糸状菌の抑制効果が弱かった。PHは*A. fumigatus*に対し滴下位置より離れるにつれコロニーが出現した。GLは、*C. albicans*, *A. fumigatus*両方で上記の傾向が見られた。また、PH, CR, GLでは*A. fumigatus*の分

生子がほとんどできず、白いコロニーであった。

5. 試験管内法に対するタンパク質・アミノ酸系物質の影響

AQとCL, CTの殺菌作用に対するCS, CSA, SDBの成分であるペプトンの影響を試験管内接触で調べた結果を表4に、酸性アミノ酸Glu, GluのアミドGln, 芳香族アミノ酸Phe, 水酸基を含むアミノ酸Thr, 炭化水素系アミノ酸Leu, 含硫アミノ酸Met, 塩基性アミノ酸Argの影響を調べた結果を表5に示す。CL, CTに対するアミノ酸の影響は、中間の消毒薬抵抗性を示した*T. mentagrophytes*についてのみ調べた。

CSはAQ, CLの殺菌効果に対し阻害傾向を示した。この阻害は濃度依存的であり、実験2の結果におけるSDB存在下の場合と同じく、酵母に

表4. アクア酸化水と次亜塩素酸ナトリウム、クロラミンTに対するタンパク質系物質の影響

被検菌	被検液 ¹⁾	なし	仔牛血清		仔牛血清アルブミン		ペプトン	
			1 %	0.1 %	0.1 %	0.01 %	1 %	0.1 %
<i>C. albicans</i>	AQ	+++ ²⁾	+++	+++	+++	+++	—	+++
	50ppm CL	+++	+++	+++	ND	ND	—	+
	500ppm CL	+++	+++	+++	ND	ND	+++	+++
	CT	+++	+++	+++	++	+++	+	+++
<i>Cr. neoformans</i>	AQ	+++	+++	+++	+	+++	—	+++
	50ppm CL	+++	+++	+++	ND	ND	—	+
	500ppm CL	+++	+++	+++	ND	ND	+++	+++
	CT	++	++	++	+	++	+	++
<i>T. mentagrophytes</i>	AQ	+++	++	+++	±	+++	—	+
	50ppm CL	++	+	++	ND	ND	—	+
	500ppm CL	+++	+++	+++	ND	ND	+	+++
	CT	±	±	±	—	±	+	+
<i>A. fumigatus</i>	AQ	+++	—	++	—	++	—	—
	50ppm CL	+	—	+	ND	ND	—	—
	500ppm CL	++	++	++	ND	ND	+	++
	CT	±	±	±	—	±	+	+

試験管に被検液を0.9ml取り、表中の濃度のタンパク質系物質を含む 10^7 CFU/mlの菌液を0.1ml加え振盪混合後、経時的に0.1mlを寒天平板上に塗布し培養、生菌数を測定した。

1) AQ: アクア酸化水, CL: 次亜塩素酸ナトリウム, CT: 1%クロラミンT

2) 殺菌効果. +++: 菌生存率0.05%以下になる時間が10秒以下, ++: 30秒, ++: 1分, +: 10分, ±: 30分, —: 30分以上. ND: 試験せず。

表 5. アクア酸化水と次亜塩素酸ナトリウム、クロラミンTに対するアミノ酸の影響

被検菌	被検液 ¹⁾	なし	Glu ²⁾ 1 %	Gln 1 %	Phe 1 %	Thr 1 %	Leu 1 %	Met 1 %	Arg 1 %
<i>C. albicans</i>	AQ	卅 ³⁾	+	±	±	±	—	—	—
<i>Cr. neoformans</i>	AQ	卅	±	±	±	—	—	—	—
<i>T. mentagrophytes</i>	AQ	卅	±	—	±	±	±	—	—
	50ppm CL	++	±	—	+	±	—	—	—
	CT	±	卅	++	+	+	+	+	±
<i>A. fumigatus</i>	AQ	卅	—	—	—	—	—	—	—

試験管に被検液を0.9ml 取り、1 %のアミノ酸を含む 10^7 CFU/ml の菌液を0.1ml 加え、振盪混合後、経時的に0.1ml を寒天平板上に塗布し培養、生菌数を測定した。

1) AQ: アクア酸化水, CL: 次亜塩素酸ナトリウム, CT: 1 %クロラミンT

2) Glu: L-グルタミン酸, Gln: L-グルタミン, Phe: L-フェニルアラニン, Thr: L-スレオニン, Leu: L-ロイシン, Met: L-メチオニン, Arg: L-アルギニン

3) 殺菌効果. 卅: 菌生存率0.05%以下になる時間が10秒以下, 卅: 30秒, ++: 1分, +: 10分, ±: 30分, —: 30分以上.

対しては阻害の影響は弱く、糸状菌に対しては強く現れた。そしてSDB存在下と同じく、CLは塩素量の多い方が阻害を受けにくかった。ここで使用した濃度のCSは、500ppm CLとCTの殺菌効果に対して影響しなかった。

CSAはAQ、CTの殺菌効果に対し濃度依存的に阻害傾向を示したが、阻害の強さはCSよりずっと強かった。

ペプトンはAQとCLの殺菌効果をやはり濃度依存的に阻害し、CLは塩素量の多い方が阻害を受けにくかった。CTに対してペプトンは、酵母に対する殺菌効果を濃度依存的に阻害したが、分生子に対する殺菌効果は増強した。これらの結果は実験2のSDB存在下におけるAQ、CL、CTの殺菌効果と似た傾向である。

アミノ酸はAQの殺菌効果を阻害したが、特に含硫アミノ酸Metと塩基性アミノ酸Argの阻害が強く、30分でも菌はほとんど生存していた。一方、酸性アミノ酸Gluは阻害が弱かった。その他のアミノ酸は中間の強さの阻害を示した。CLに対しては50ppm、*T. mentagrophytes* のみの試験で

あるが、どのアミノ酸も50ppm CLの殺菌作用を阻害した。Met、Arg存在下では30分でも菌はほとんど生存していたが、AQの場合と異なりGluが特にCLに対し阻害が弱い結果は出なかった。CTに対しても*T. mentagrophytes* のみの試験であるが、Arg以外のアミノ酸はかえってCTの殺菌時間を短縮し、その作用はGluが最も強く、次にGlnであった。

考 察

AQの殺菌効果の本体は酸化作用と考えられ、近年その殺菌効果と低毒性¹⁰⁾により、病院や食堂で患部や器具の殺菌洗浄・清掃に用いられている^{4, 5, 11)}。無色透明で塩素臭があり、口にすると酸味を感じ、ヨードカリでんぷん紙を紫色に変色させる。pH約2.6、酸化還元電位約1100mV、塩素約25~50ppmを主に塩素ガスの状態で含んでおり^{4, 5)}、これらの成分値は製造時の調整が可能である。我々は主要な病原真菌を用いて、その殺菌効果を種々の市販消毒薬と比較検討した。

消毒薬には様々な種類があり、界面活性剤、ピ

グアナイド系、酸素系酸化剤、アルコール系、フェノール系、ハロゲン系（塩素系、ヨウ素系）、アルキル化剤、重金属、色素、酸、アルカリ等に分類される^{2,12)}が、AQは塩素系、しかしCL、CTを含む一般の塩素系酸化剤とは異なり酸性である塩素系酸化剤ということがいえるであろう。

今回行った様々な接触方法から、酵母は糸状菌より消毒薬に対する抵抗性が弱いことが示された。また我々は、大分生子、菌糸が *A. fumigatus* 等の糸状菌分生子より抵抗性を示した結果を得ている¹⁷⁾。

AQは、最も単純な系であるガラス試験管中で精製水調製菌と接触させる方法では、OX、CL、CT、CHより強い殺菌作用を示し、その強さは500ppm CLと同程度であった。CTは1%で約3700ppmの塩素を含む有機化合物であり、塩素の遊離が徐々に行われるため、作用は緩やかだが持続性があるとされ、事実結果からもCTは殺菌時間の長いことが示された。しかしAQはSDB調製の菌液では効果が失われたが、市販消毒薬はAQとほぼ同じ塩素量である50ppm CLを除き、ほとんど阻害を受けなかった。これらのことからAQは夾雑物に影響されやすいことが示唆されたが、これは含有塩素量に基づくものと思われた。

次にやや実際の条件に近づけて、AQとETの効果ステンレスバット上で比較したところ、試験管内よりも大きく効果が落ちることが示された。精製水調製菌を用い、接触30分後に生存菌を確認したところ、AQの場合は、酵母2種はいずれも検出できなかったが、分生子は2種いずれも生存していた。ETの場合も、*A. fumigatus* がわずかに生存していた。これは、解放系では塩素ガスやETが蒸散しやすいことと、試験管内接触では初めに振盪混合するためと考えられる。故にこれらの薬剤による実際の消毒作業を実施する場合、一度だけではなく何度か繰り返すことが必要と考えられた。

次に寒天培地に塗布した菌に対する殺菌作用をみると、AQと、CLの50ppm、500ppmが共に全

く対照と同じ発育を示した。他にCTと、試験管内では強力であったETがほとんど無効であった。OXを除き他の消毒薬の殺菌効果も落ちた。寒天培地はSDB調製菌液よりも、有機物が圧倒的に多量であり、この実験から塩素系酸化剤に次いで、ETが有機物により不活化されやすいことが示された。塩素系酸化剤と同じハロゲン系消毒薬のPIも同じくタンパク質により阻害されるが、ヨード系は塩素系より安定とされている。すなわち、より不安定な塩素系酸化剤が、よりタンパク質に作用し消費されたため、影響を大きく受けたことが示された。ETの作用の減弱は、蛋白凝固や有機物への吸着などによる消費によると思われた。

OXのみが、寒天培地の方が、試験管内接触よりも強力な殺菌効果を現した。OXは有機物と接触することにより、活性酸素を放出し殺菌作用を示すことから、かえって寒天培地上の方が効力が強く現れたと思われる。またPH、GLでは滴下した部位から離れるにつれコロニーが出現したが、これは薬剤の浸透性が良すぎたためであり、石鹼の含まれているCRは、PHより液が寒天表面に広がりやすくそのためコロニーが均等に出現したと考えられた。PH、CR、GLでは *A. fumigatus* の分生子がほとんどできず白いコロニーであったが、これらには分生子生成抑制作用があると考えられた。

未発表であるが、2000CFUの酵母または分生子を混釈した15ml相当の寒天平板にAQを重層した実験では、AQは6mlでも全く菌生育を抑えなかったうえ、糸状菌のコロニー発現後に投与した場合は、菌体の撥水性のためコロニーの部分は穴があき、菌には接触していないようであった。

AQは有機物で阻害される⁷⁾ため、タンパク質を菌液に共存させて、CL、CTと比較した。CSとCSAによる阻害実験の結果をみると、CSAの阻害効果は同濃度のCSに比し、ずっと強く10倍以上である。CSによる阻害をタンパク質のためと想定すると、血清中のタンパク質含量は数%と

なるが、実際に血清中のタンパク質は動物種によって多少の差があるがいずれも一桁台である。

SDB の組成は 1 % のペプトンと 2 % のブドウ糖であり、未発表であるが 50 % ブドウ糖と寒天培地中の濃度である 1.5 % のゲル状にした寒天は、AQ の殺菌効果に影響しなかったの、SDB による阻害もタンパク質であるペプトンによるものと考えられる。SDB と 1 % ペプトンの結果を比較すると、CT において、消毒薬抵抗性の高い菌にかえて殺菌時間の短縮がみられ、その効果は SDB の方が強かった。CL, CT を含む一般の塩素系酸化剤は塩基性であり、徐々に活性塩素を放出する。塩基性下では次亜塩素酸イオンになるが、酸性下では揮発性の塩素ガスとなり殺菌力が強まるが毒性も強く現れる。SDB は 2 % ブドウ糖の存在により、1 % ペプトンより酸性であるので、この殺菌力の違いは液性によるものと推測された。

そこで、各グループのアミノ酸から代表的なものの 1 種ずつを選び、塩素系酸化剤の殺菌効果に対する影響を調べた結果、AQ, 50ppm CL に対しては、いずれのアミノ酸も殺菌作用を阻害したが、そのうち含硫アミノ酸 Met と塩基性アミノ酸 Arg は阻害が最も強く、ほぼ完全に殺菌作用を抑制した。酸性アミノ酸 Glu は、AQ に対しては 4 菌種とも、アミノ酸中もっとも阻害が弱く、残りのアミノ酸は塩基性アミノ酸と酸性アミノ酸の中間の強さで AQ を阻害した。しかし 50ppm CL に対しては、*T. mentagrophytes* のみの結果だが、Glu がもっとも阻害が弱い結果は出なかった。CT は塩基性アミノ酸 Arg を除いて、かえて殺菌力が増強され、ことに酸性アミノ酸による増強が著しく、次いで Glu の酸アミド Glu であった。

これらの結果から塩素剤の含有塩素量の多いほど、酸性化による塩素遊離量が大きく、殺菌力が増したと考えられたので、pH 試験紙とヨードカリでんぷん紙、酸化還元電位計を用い、各アミノ酸と AQ, CL, CT との反応前後の液性と酸化力を調べた。AQ は強酸性で、ヨードカリでんぷん紙を瞬間的に濃い紫色に変え、酸化還元電位は

1160mV 前後である。AQ は、Met 添加により瞬間的にヨードカリでんぷん紙を紫変しなくなったが、液性は強酸性のままであった。Arg 添加によっては、30 後にもヨードカリでんぷん紙を紫変するにもかかわらず強塩基性になった。この時、酸化還元電位は 30 分で 430mV に下がった。他のアミノ酸添加によっては、強酸性のままであるにもかかわらず、ヨードカリでんぷん紙はほとんど紫変しなくなった。

50ppm CL は、塩基性でヨードカリでんぷん紙を紫色に変え、酸化還元電位は約 800mV である。50ppm CL も、Met 添加により瞬間的にヨードカリでんぷん紙を紫変しなくなったが、液性はアミノ酸の液性である酸性のままであった。Arg 添加によってはヨードカリでんぷん紙はほとんど紫変しなくなり、強塩基性になった。この時、酸化還元電位は 30 分で 380mV に下がった。他のアミノ酸添加によっては、アミノ酸の液性である酸性からほとんど変わらず、ヨードカリでんぷん紙の紫変力も 30 分後でもほとんど減弱しなかった。

CT は、塩基性でヨードカリでんぷん紙を瞬間的に濃く紫変するが、10 秒ほどで白く脱色される。アミノ酸添加によってヨードカリでんぷん紙の変色は影響を受けなかったが、液性に対してはアミノ酸によって違いがあり、Arg 添加では強塩基性のままで、Glu 添加では酸性、他は中性になった。

これらのことから、AQ と 50ppm CL はアミノ酸により阻害されるが、さらに Met のような還元作用のある物質によっては塩素が著しく消費されて強い阻害を受け、また pH の上昇によって遊離塩素が次亜塩素酸イオン型に移行することにより、殺菌作用が阻害されると考えられた。また CT は塩素量が多いため 1 % アミノ酸および Met によっても塩素が完全に消費されず、酸性化によりかえて殺菌力が増強したと考えられた。

未発表であるが、他の有機物では界面活性剤も阻害を起こし、特に非イオン性のツイン 80 の阻害が強く、陰イオン性界面活性剤の阻害は弱かつ

た。考察でも一部言及した炭水化物類はほとんど影響しなかった。また、これまでにあげた有機物は、配合禁忌が多いとされるCH、寒天平板で大きく阻害されたETに対しては阻害を起こさなかった。

結論としてAQは、500ppm CLに勝る殺真菌力を持ち、タンパク質・アミノ酸系物質による阻害の受けやすさは同じ塩素量のCLとほぼ同程度であることがわかった。他の消毒薬にも試験管内の滅菌精製水中での接触試験と有機物存在下での接触試験で、効力に差が見られたものが多く、CHは分生子に対して効力が劣った。AQに限らず消毒薬が実際に使用される場合は有機物の共存下と考えられるため、実際の使用にあたってはこれらの点に注意すべきであろう。しかしAQは、酸性であるため10倍の塩素量を含むCLより速効性であり、水道水から用時製造されるため、CLの希釈調製より簡便で安全である。CLはその低残留性から、食品・食器に推奨される消毒薬であり、低濃度では洗浄用としてすすがずに乾燥させて使用される^{18,19)}が、AQの塩素は、酸性下塩素ガスの状態で含まれているため、さらに低残留性である。AQを洗浄・すすぎに使用することは、特に医療・食品関係の分野では有用と思われた。

引用文献

- 1) 朝長文弥他, 病院薬学, **11**, 122-127 (1985).
- 2) 防菌防黴剤事典出版委員会編, “防菌防黴剤事典”, 日本防菌防黴学会, 大阪, 1986.
- 3) 丸石製薬株式会社学術部, “院内感染防止のための消毒剤使用法の基本”, 丸石製薬株式会社, 大阪, 1995.
- 4) アクア酸化水研究会, “アクア酸化水使用手引”, 岡田淳編, 日本特殊分析研究所, 東京, 1995.
- 5) 芝紀代子, 芝燁彦, “強電解水ハンドブック”, 医学情報社, 東京, 1995.
- 6) 岩沢篤郎, 中村良子, 水野徳次, 環境感染, **8**, 11-16 (1993).
- 7) 岩沢篤郎, 中村良子, 中村國衛, 村井哲也, 薬理と臨床, **3**, 1555-1562 (1993).
- 8) 岩沢篤郎, 中村良子, 臨床と微生物, **20**, 469-472 (1993).
- 9) 岩沢篤郎, 中村良子, 岡田淳, 水野徳次, 臨床と微生物, **20**, 231-236 (1993).
- 10) 岩沢篤郎, 中村良子, 日本環境感染学会誌, **9**, 12-18 (1994).
- 11) 宮崎宗, 鬼頭健一, 森信彦, 脳神経外科速報, **3**, 779-782 (1993).
- 12) 久恒和仁, “戸田新細菌学”, 森良一, 天児和暢編, 南山堂, 東京, 1993, pp.119-131.
- 13) 川名林治, “シンプル微生物学”, 東匡伸, 小熊恵二編, 南江堂, 東京, 1990, pp.57-61.
- 14) 宇野潤, “病原真菌一同定法と感受性試験一”, 宮治誠, 西村和子, 宇野潤編, 廣川書店, 東京, 1992, pp.205-228.
- 15) National Committee for Clinical Laboratory Standards, “Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast; proposed standard”, 15, no.10, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997.
- 16) 山口英世, 内田勝久他, 日本医真菌学会標準化委員会報告(1992-1994年), 日本医真菌学会雑誌, **36**, 61-86 (1995).
- 17) 鎗田響子他, 投稿中
- 18) Lowbury E. J. L. et al., “Control of Hospital Infection, 2nd ed.”, Chapman & Hall, London, 1981, pp.247-250.
- 19) 神谷晃, 尾家重治, “消毒薬の選び方と使用上の留意点”, 薬業時報社, 東京, 1992, pp.117-118.