

## 含嗽剤の口腔内細菌に対する殺菌効果に関する基礎研究

高井 明德\*

大阪信愛学院短期大学

*Human and Environment* Vol. 11 (2018)

Preliminary Study on Antiseptic Effects of Several Gargle Solutions on Oral Bacteria

Akinori Takai

Osaka Shin-Ai College, Japan

本研究では、各種含嗽剤の口腔内細菌に対する殺菌効果を直接的に調べる方法として、蒸留水での含嗽により得られた口腔内細菌液と各種含嗽剤を一定時間混合した液を寒天培地で培養し、細菌の生残率を調べる方法を導入し、イソジン液、洗口剤（エタノール含有）、食塩水（0.5%）の口腔内細菌に対する殺菌効果を調べた。細菌液 1mL と含嗽剤 9mL を 2 分間混合した液を培養した結果、細菌の生残率はイソジン液では 1.8%、洗口剤では 2.8%で、ほぼ 100%の殺菌効果を示した。一方、食塩水においては生残率は 79.8%で、弱い殺菌効果が示された。本研究結果において、簡易に各種含嗽剤の殺菌効果を調べる上で本研究で用いた方法の有用性が示された。

キーワード：口腔内細菌・含嗽・イソジン・洗口剤・食塩水・殺菌効果

### 1. はじめに

口腔内には外界から自然に侵入する微生物や微小粒子状物質等の汚染物や食事の残渣等が存在し、これらは感染症予防や口腔内を清潔に保つためにできるだけ除去する必要がある。一方、口腔内には 400 種類以上の常在細菌叢が形成され、存在する菌数は唾液 1mL では、 $10^6$  から  $10^8$  CFU/mL、デンタルプラーク 1g では  $10^{11}$  CFU/g で、糞便 1g に含まれる菌数より多く、増えすぎると疾患やう蝕などの原因になるので適度に除去することが必要である。加齢や全身性疾患により免疫力が低下すると、容易に感染症（日和見感染）が発症する[1,2]。

含嗽（うがい）は、感染症予防や口腔内清潔保持の

有効な方法の一つとして、広く日常的に行われている。口腔内の汚染物等の除去のための含嗽の効果として、機械的な効果と化学的な効果が考えられる。機械的な効果は含嗽の方法によるもの、化学的な効果は用いる含嗽剤の殺菌効果を含む化学的作用によるものである。水で含嗽を行う場合は機械的な効果のみが期待される。

強い殺菌効果を期待する場合は、イソジンのような消毒剤の使用が考えられる。一方、日常での恒常的な使用を考えたとき、殺菌効果がある程度期待される緑茶や紅茶などの使用が注目されている。各種洗口剤が販売され、広まっている。また、食塩水を使う方法も以前より知られる。これらの含嗽液の効果については、様々な方法に基づき評価されている[3-13]。

本研究では、各種含嗽剤の口腔内細菌に対する殺菌効果を直接的に調べる方法として、各種含嗽剤に蒸留水での含嗽により得られた口腔内細菌を一定時間混合した液を寒天培地で培養し、細菌の生残率を調べる方法を導入し、イソジン液（A 社）、洗口剤（エタノール含有、B 社）、0.5%食塩水の口腔内細菌に対する殺菌効果を調べた。

\*大阪信愛学院短期大学

〒538-0053 大阪市鶴見区鶴見 6-2-28

Tel: 06-6180-1041, Fax: 06-6180-1045

E-mail: takai@osaka-shinai.ac.jp

受付：2018年12月25日

©2018 大阪信愛学院短期大学

## 2. 研究方法

### 2.1. 口腔内細菌液の準備

起床後、午前 6 時に歯磨き及び含嗽を行い、午前 9 時に 20mL の滅菌蒸留水を口腔に含み、1 分間含嗽を行った後の含嗽水を細菌液とした。細菌液は、1 名の男性のものを用いた。

### 2.2. 試験液の準備

3 種類の含嗽剤、イソジン液、洗口剤、0.5%食塩水、と蒸留水（コントロール）、各 9mL を試験管に入れ、各液に細菌液 1mL を加え、試験管をシリコン栓で栓をして、細菌液が蒸留水中に均質に混合するように試験管を数回左右に回転させ、攪拌時間を含め 2 分間放置した。その後、この液を  $10^3$  倍又は  $10^4$  倍希釈し試験液とした。以上の操作は、クリーンベンチ内で無菌的に行った。

イソジン液は、市販のイソジンうがい薬（A 社製）2mL を 60mL の蒸留水で希釈して用いた（30 倍希釈、説明書通りに希釈）。イソジンうがい薬は、ポピドンヨード 70mg（有効ヨウ素 7mg）/mL に、エタノール、 $\iota$ -メントール、サッカリンナトリウムを含むものであった。

洗口剤は B 社製のエタノールを含むものを用いた。成分は以下のとおりである。溶剤：エタノール、香味剤：香料（フレッシュクールミントタイプ）、キシリトール、サッカリン Na、湿潤剤：プロピレングリコール（PG）、グリセリン、pH 調整剤：クエン酸 Na、クエン酸、可溶化剤：POE(60)硬化ヒマシ油、薬用成分：ラウロイルサルコシン Na、イソプロピルメチルフェノール（IPMP）、イプシロン-アミノカプロン酸（ $\epsilon$ -ACA）、清掃助剤：ポリオキシエチレン（POE）セチルエーテル、コーティング剤：アルギン酸 PG。

食塩水は、99.5g の蒸留水に 0.5g の NaCl を溶かした 0.5% の濃度のものを用いた。

### 2.3. 寒天培地での細菌の培養

試験液は作製後すぐに、マイクロピペットで試験液を 0.1mL 取り、37°C に加温した一般生菌数測定用寒天培地に入れ、コンラージ棒で培地上に均質に広げ、塗布した。試験区毎に 3 枚の寒天培地を用いた。以上の操作は、クリーンベンチ内で無菌的に行った。

寒天培地を 37°C の恒温器に入れ、72 時間培養し、生じたコロニー数を算定した。

実験結果の変動を確認するため同じ実験を 4 回行った。

### 2.4. 生残率の算定

細菌の生残率は、含嗽液の 3 枚の寒天培地の合計コロニー数をコントロール（蒸留水）の 3 枚の寒天培地の合計コロニー数で除した数値のパーセントで示した。

Table 1. The number of colonies in distilled water (control), 0.5% salt (sodium chloride) solution, mouthwash with ethanol and Isodine, and survival rates (SR).

					Mean	SR (%)
		1	2	3		
1	Control	247	266	300	271.0	—
	Salt solution	216	215	218	216.3	79.8
	Mouthwash	10	10	12	10.7	3.9
	Isodine	6	12	8	8.7	3.2
2	Control	285	303	345	311.0	—
	Salt solution	274	238	256	256.0	82.3
	Mouthwash	15	27	11	17.7	5.7
	Isodine	10	12	6	9.3	3.0
3	Control	26	48	41	38.3	—
	Salt solution	32	31	22	28.3	73.9
	Mouthwash	0	0	0	0	0.0
	Isodine	0	0	0	0	0.0
4	Control	65	71	79	71.7	—
	Salt solution	56	51	71	59.3	82.8
	Mouthwash	1	0	2	1.0	1.4
	Isodine	1	1	0	0.7	0.9

1,2:  $10^3$  dilution, 3,4:  $10^4$  dilution

Survival rate (SR) = percentage of the number of colonies in each gargle solution per that in the control.

Table 2. Survival rate (%) in gargle solution

	Mean	±	SD
Salt solution	79.8	±	4.0
Mouthwash	2.8	±	2.8
Isodine	1.8	±	1.5

SD: standard deviation

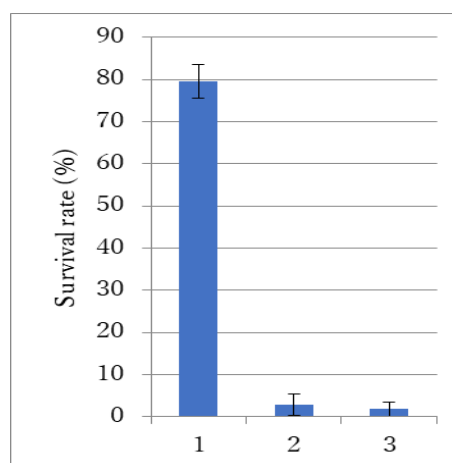


Figure 1. Survival rate (%) in (1) 0.5% salt solution, (2) mouthwash and (3) Isodine.

Error bars indicate SD.

有意差については Fisher's Exact Test により検定を行った。

## 2.5. 寒天培地の作製

寒天培地は、一般生菌数測定用 標準寒天培地「ニッスイ」を用いて作製した。培地 4.7g を蒸留水 200mL に溶解し (23.5g/L)、オートクレーブにて 2 気圧 121°C で 15 分間加熱高圧滅菌処理し、クリーベンチ内で 9cm 径の滅菌済のシャーレ 10 枚にそれぞれ培地を約 20mL 流し込み固形化した。

寒天培地は、使用まで冷蔵庫 (4°C) で保管し、使用時に恒温器中 (37°C) に 20 分程度放置し加温した。培地成分は、培地 1 L (23.5g) 中、カゼイン製ペプトン 5.0g、酵母エキス 2.5g、ブドウ糖 1.0g、カンテン 15.0g (pH 7.1±0.1) であった。

## 2.6. 倫理的配慮

菌液提供者への倫理的配慮については、所属研究機関に倫理審査申請を行い、承認を得て、その内容に従った。

## 3. 結果と考察

今回の実験結果を表 1 に示す。生残率をみると 4 回行った実験結果の変動は少なく、同じ傾向の結果が示されたので、今回の方法は口腔内細菌に対する各種含嗽液の殺菌効果を調べる上で妥当性のあるものと考えられる。

4 回の実験を平均すると、イソジン処理した細菌の生残率は 1.8±1.8%、洗口剤の場合は 2.8±2.6%、食塩水では 79.8±4.0% であった。

イソジンはほぼ 100% の殺菌率で圧倒的な殺菌力を示した。洗口剤もイソジンと同等の殺菌効果を示した。イソジンについての殺菌効果は既に報告されている [3,4,9]。洗口液についても様々なものが市販され、それらについての報告があり、イソジンと同等の殺菌効果が示されている [3,4,6]。

食塩水においては、4 回の実験共に同じ傾向の減少率であり、統計的には 4 回の各実験のいずれも有意差は示された (p<0.01)。食塩水については、うがい用いられているような濃度の食塩水では、殺菌効果はないとの報告があるが [9]、今回の結果は、弱いものの殺菌効果が示された。一般に細菌は塩ストレスにより増殖が抑制されるので [10,11]、弱い殺菌効果は期待される。

最近、緑茶や紅茶などによる含嗽の効果が注目されている。緑茶に含まれるカテキンが殺菌効果を示すことが報告されている [7,8]。

次の課題として、今回の方法にて、塩類の濃度変化による殺菌効果の変化、緑茶や紅茶の殺菌効果を調べる予定である。なお、今回の研究では、1 名の特定の

男性の口腔内細菌を用いたが、今回の方法を一般化するためには、男女差、個人差、年齢差による影響、また培地の影響もあり (標準寒天培地では増殖しない菌がある)、検証する必要がある。具体的には、それらの特性により、口腔内における細菌の種類や割合の違いにより、異なる結果が得られる可能性があるからであり、次の課題としたい。

## 文 献

- [1] 伊藤 康雅: 口腔衛生と口腔内細菌. 耳鼻咽喉科展望 45(3), 226-234 (2002)
- [2] 石丸直澄: 口腔外科領域における感染症の病理. 日本口腔外科学会雑誌 64(7), 390-393 (2018)
- [3] 茂木健司, 笹岡邦典, 樋口有香子, 根岸明秀, 橋本由利子, 外丸雅晴: 各種口腔ケアの効果に関する検討—口腔常在菌数を指標として—. 第 1 報 含嗽剤の薬剤効果. Kitakanto Med J 57: 239-244 (2007)
- [4] 神野恵治, 茂木健司, 笹岡邦典, 根岸明秀: 各種口腔ケアの効果に関する検討—口腔常在菌を指標として—. 第 2 報 各種含嗽剤による含嗽効果の検討. Kitakanto Med J 58, 1-7 (2008)
- [5] 笹岡邦典, 茂木健司, 神野恵治, 根岸明秀: 各種口腔ケアの効果に関する検討—口腔常在菌数を指標として—. 第 3 報 ブラッシングの効果. Kitakanto Med J 58, 147-151 (2008)
- [6] 白井やよい, 鈴木奈央, 清野晃孝, 鎌田政善, 清浦有祐: 口腔常在 *Candida albicans* によって惹起されるマウス口腔カンジダ症. 老年歯科医学 20(1), 34-38 (2005)
- [7] 林かおり, 佐藤馨, 深町早苗, 長嶺竹明: 口腔病変を有する高齢患者への口腔ケア—微生物学的検討. 群馬保健学紀要 23, 89-94 (2002)
- [8] 音琴淳一, 佐藤秀一, 五十嵐建夫, 織井弘道, 難波幸一, 森谷良智, 伊藤公一, 村井正大, 瀧原孝宣, 角田隆巳: 茶葉成分含有含嗽剤のプラーク形成, 歯肉炎進行ならびに口臭抑制に対する効果について. 日本歯周病学会会誌 37(4), 676-684 (1995)
- [9] 矢野鐵郎, 岩下明弘: 含嗽剤 Isodine Gargle の臨床効果について. 耳鼻と臨床 10(2), 124-129 (1964)
- [10] 仲山英樹: 好塩菌の塩ストレス適応機構とその応用. 生物工学会誌 90(11), 696-700 (2012)
- [11] 佐々木秀明, 大島朗伸, 石田昭夫, 永田進一: 大腸の高塩環境適応機構とその応用. 日本海水学会誌 64(2), 64-69 (2010)