

# 界面活性剤を添加したアルジネート印象溶解除去液の 抗菌効果に関する研究

小山 昌子

岩手医科大学歯学部歯科保存学第一講座

(指導 : 久保田 稔 教授)

(受付 : 1997 年 10 月 31 日)

(受理 : 1997 年 11 月 20 日)

**Abstract :** Bacteria that are adhered to alginate impression material remains in the impression material, and the treatment to disinfect should be done during removal of the impression and cleaning of the tray. Therefore, experimental tray cleaner (EX) containing the surface active agent, (Sodium alkyl di-aminoethyl glycine), which has antibacterial effect is produced.

The purpose of this study was to examine antibacterial effect of EX, solutions of each component of EX (1.00%EDTA-2Na, 0.50%EDTA-4Na, 1.26%Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 0.25%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, and 0.04%ADEG-Na), Super Tray Cleaner® (SP, SHOFU), and Trecclean® (TC, GC) to *Staphylococcus aureus* (IFO 14462).

The results are as follows :

1. The surface active agent, ADEG-Na, showed stronger antibacterial effect than any other component of EX.
2. The EX was stronger antibacterial effect than the EX without ADEG-Na.
3. The EX had stronger antibacterial effect than SP and TC.

It suggested that the ADEG-Na played an important part for antibacterial effect in EX.

**Key words :** tray cleaner, surface active agent, antibacterial effect

## 結 言

歯科臨床で最も頻繁に使用している印象材は、安価なアルジネート印象材である<sup>1)</sup>。印象採得に使用したアルジネート印象表面には、多量の細菌、唾液および血液が付着しており、感染予防の観点から印象の消毒は重要である。そのため消毒効果のある薬液を用いての印象材の練和<sup>2~4)</sup>、印象の酸性水<sup>5, 6)</sup>やグルタルアルデヒドによる消毒<sup>7~11)</sup>、紫外線照射<sup>12)</sup>、さらに、模型材への抗菌剤の配合<sup>13~16)</sup>、模型の物理的処置<sup>17)</sup>など数多くの方策が模型作製までの各段階

で行われてきた。しかし、アルジネート印象は、シリコンラバー印象と異なり、消毒を行った後にも細菌が印象の内部に潜在し、完全な消毒は困難であると報告<sup>6, 18)</sup>されており、使用後の印象の消毒も院内感染予防の立場から大切である。

これまで著者は、アルジネート印象溶解除去液(溶解除去液)による金属トレーの腐食の問題を解決するため、防錆効果を有する界面活性剤(アルキルジアミノエチルグリシンナトリウム塩, ADEG-Na)を添加した溶解除去液を試作した。そして、この試作溶解除去液は優れた

A study on antibacterial effect of tray cleaner containing surface active agent.

Masako OYAMA

(Department of Operative Dentistry and Endodontics, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka, 020 Japan)

溶解・軟化性<sup>19)</sup>および防錆効果<sup>20)</sup>を発揮することを報告した。

この溶解除去液に添加した ADEG-Na は防錆効果に加えて抗菌効果を有する<sup>21)</sup>ことが知られており、この溶解除去液は、使用後の印象を溶解除去する最後の段階で印象とトレアの消毒効果を併せ持つと考えた。

本研究では ADEG-Na を添加した試作溶解除去液とその成分液および市販されている 2 種の溶解除去液を用い、抗菌効果を比較検討した。

### 材料および方法

供試菌株は、*Staphylococcus aureus* IFO 14462、培地は、brain heart infusion broth (BHI broth, Difco) および brain heart infusion agar (BHI agar, ニッスイ) を使用した。

試作溶解除去液 (EX) は、EDTA-2Na : 1.00%, EDTA-4Na : 0.50%,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  : 1.26%,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  : 0.25%, そして ADEG-Na (Sanyo Chemical Industries) : 0.04% の水溶液である。EX 各成分の抗菌試験では、各成分濃度の水溶液を用いた。また、界面活性剤の抗菌試験では、EX から ADEG-Na を除いた溶液 (EX-A) を用いた。

EX の抗菌効果の比較には、対照として滅菌生理食塩水および市販されている 2 種の溶解除去液であるトレクリーン® (TC, Batch No. 140451, GC) とスーパートレクリーナー® (SP, Batch No. 019509, SHOFU) を使用した。

抗菌試験は、BHI broth で *S. aureus* IFO 14462 を 37°C で 24 時間培養し、遠心分離 (3000 rpm, 10 分) で集菌し、滅菌生理食塩水で 2 回洗い、 $10^7 \sim 10^8$  CFU/ml の菌浮遊液を調製した。調製した 1 ml の菌浮遊液を遠心分離 (3000 rpm, 10 分) して上清をピペットで除去し、得られた菌体に上記実験溶液 1 ml を混和し、室温で 16 時間作用させた。対照としては菌体に 1 ml の滅菌生理食塩水を混和して同様に行った。16 時間経過後、菌体を滅菌生理食塩水で 2 回洗い、1 ml の滅菌生理食塩水に懸濁して菌浮遊液

(CFU/ml)

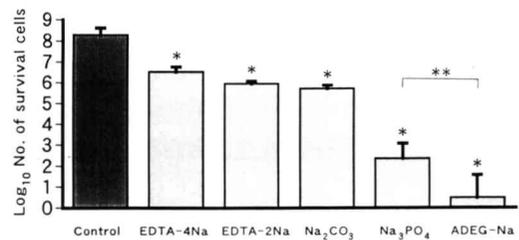


Fig. 1 Antibacterial effects of components of Experimental Material (EX) on *Staphylococcus aureus* (n=5).

Statistical significance by one-way ANOVA and Fisher's protected least significant difference (\* $p < 0.05$ ) was shown between each group and control.

Statistical significance (\*\* $p < 0.05$ ) was shown between two groups.

Control : Sterile physiological saline solution.

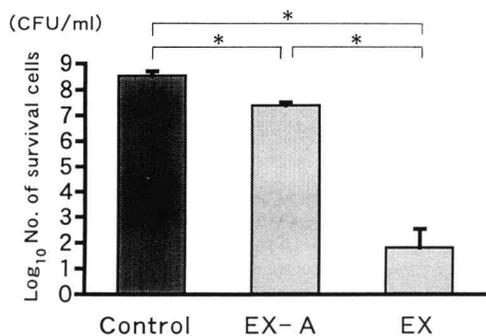
を調製した。この菌浮遊液を10倍階段希釈して、各階段希釈液 1 ml を BHI agar 14 ml とよく混和して 37°C で 24 時間培養した。生菌数は各階段希釈液 1 ml 当りのコロニー数として算出した。実験はくり返し 5 回行った。得られた実験結果について one-way ANOVA と Fisher's protected least significant difference ( $p < 0.05$ ) による統計学的処理を行った。

### 結 果

#### 1. EX に含まれる 5 成分の抗菌効果

Fig. 1 に EX に配合されている 5 成分の水溶液をそれぞれ単独で *S. aureus* と 16 時間作用させた後の生菌数を対数で示した。

滅菌生理食塩水を作用させた対照では  $2.3 \times 10^8$  CFU/ml の生菌数であったのに対し、EDTA-4Na では  $3.9 \times 10^6$  CFU/ml, EDTA-2Na では  $9.3 \times 10^5$  CFU/ml,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  では  $5.5 \times 10^5$  CFU/ml,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  では  $4.5 \times 10^2$  CFU/ml, そして ADEG-Na では  $5.2 \times 10^1$  CFU/ml の生菌数を示した。いずれの実験も対照に比較して生菌数は減少した。EDTA-4Na, EDTA-2Na,



**Fig. 2** Antibacterial effects of EX and EX-A (EX without ADEG-Na) on *Staphylococcus aureus* (n=5).

Statistical significance by one-way ANOVA and Fisher's protected least significant difference (\*p<0.05) was shown between two groups.

Control: Sterile physiological saline solution.  
Abbreviation: EX, Experimental Material

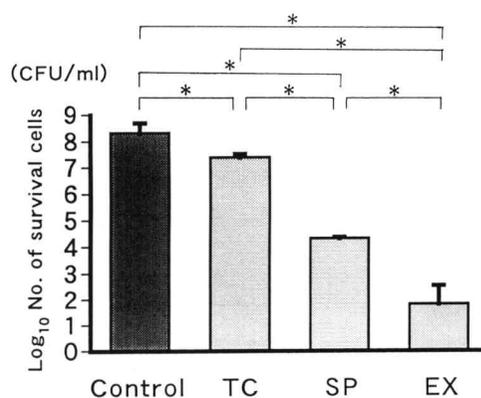
Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, の各3成分と Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> および ADEG-Na との間にはそれぞれ生菌数に有意差が認められ, また, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> と ADEG-Na の間では, ADEG-Na が有意に少ない生菌数であった。

## 2. EX と EX-A の抗菌効果の比較

溶解除去液の成分中 ADEG-Na が最も強い抗菌効果を示したので, EX から ADEG-Na を除いた EX-A と EX との抗菌効果の違いを検索した。その結果, 対照では  $3.6 \times 10^8$  CFU/ml, EX-A は  $2.4 \times 10^7$  CFU/ml, そして EX では  $1.8 \times 10^2$  CFU/ml の生菌数であった (Fig. 2)。EX-A および EX は対照に比較して生菌数は減少し, また, EX は EX-A に比較して有意に少ない生菌数であった。

## 3. EX と市販溶解除去液の抗菌効果の比較

Fig. 3 に溶解除去液を 16 時間作用させた後の *S. aureus* の生菌数を示した。対照の生菌数は  $2.8 \times 10^8$  CFU/ml, TC の生菌数は  $2.5 \times 10^7$  CFU/ml, SP の生菌数は  $2.1 \times 10^4$  CFU/ml であった。最も生菌数の少なかったのは EX で  $1.8 \times 10^2$  CFU/ml であった。対照に比較して TC, SP, EX の生菌数はいずれも少なく, さらに,



**Fig. 3** Antibacterial effects of tray cleaners on *Staphylococcus aureus* (n=5).

Statistical significance by one-way ANOVA and Fisher's protected least significant difference (\*p<0.05) was shown between two groups.

Control: Sterile physiological saline solution.  
Abbreviations: TC, Trecclean; SP, Super Tray Cleaner; EX, Experimental Material

TC, SP, EX の順に生菌数は減少していた。

## 考 察

両性界面活性剤はコストが高いという欠点を有するが, 陽イオン界面活性剤に比較して生体に対する毒性が著しく少く, 抗菌効果を有する。蛋白質や血清の存在下および陽イオン, 陰イオン, 非イオン界面活性剤や金属イオンの存在下においても不溶性の沈殿を生ずることなく効果が減弱しない<sup>22,23)</sup>などの利点を有している。保存学領域で使用されている両性界面活性剤としては, 根管治療器具保存液のラスノン® (日本歯科薬品) に添加されているアルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩が知られている<sup>24)</sup>。しかし, 本剤の溶解除去液への添加を試みたが沈殿を生じたため, アミノエチルグリシン塩酸塩の塩酸塩部分をナトリウム塩に置き換えたアルキルジアミノエチルグリシンナトリウム塩 (ADEG-Na) を用いた。

口腔内にはさまざまな細菌が存在するので, 抗菌試験では多くの細菌に対する効果を検索すべきであろう。しかし, 数多くの細菌に対す

る抗菌効果の検索は困難である。本研究では、古くから抗菌試験に用いられている<sup>25-27)</sup>病原性の強い<sup>28,29)</sup> *S. aureus* を用いて抗菌効果の指標とした。

EXに含まれるEDTA-4NaやEDTA-2Naなどは、グラム陰性菌の細胞壁の外膜を部分的に溶解、破壊し抗菌効果を発揮する<sup>30)</sup>。また、両性界面活性剤も抗菌効果を有している<sup>21-23)</sup>。しかし、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ や $\text{Na}_3\text{PO}_4$ は洗浄効果を有している<sup>31)</sup>が、抗菌効果に関しては明らかではない。本研究ではEXに含まれる各成分の抗菌効果を明らかにするため、それぞれの成分の抗菌試験を行った。その結果、ADEG-Naに最も強い抗菌効果を認め、 $\text{Na}_3\text{PO}_4$ にも強い抗菌効果を認めた。また、残りの成分である $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、EDTA-4NaおよびEDTA-2Naについても生菌数の減少を認め、5種類すべての成分が抗菌効果を有することが明らかとなった。しかし、これら5種類すべての成分が混合された場合には、成分間の相互作用により、EXにおいてどのような抗菌効果が認められるかは明らかでない。そこで、次の実験を行った。

本来は5成分すべての組合せについて、抗菌効果への影響を検索すべきであるが、本研究ではADEG-Naの抗菌効果に主眼をおいているため、EXとEX-A間の抗菌効果のみを比較した。その結果、EXはEX-Aに比べ有意に強い抗菌効果を認め、EXの抗菌効果は主としてADEG-Naの作用であると推測された。

*S. aureus*の細胞壁は、細胞膜の外側に電子密度の濃い層として存在し、ペプチドグリカンが40%から60%で、そのほかタイコ酸や蛋白を含んでいる<sup>32)</sup>。一般に界面活性剤は、この細胞壁に吸着し被膜を形成し、細胞壁や細胞質膜を破壊して<sup>33)</sup>細胞内構成成分の漏出を起こす<sup>34)</sup>。結果、抗菌効果が発揮されるといわれている。本実験に用いたADEG-Naの抗菌機構は、十分に明らかにされていないが<sup>21)</sup>、類似の作用により抗菌効果が発揮されたと推測される。

市販の溶解除去液には、効能として抗菌効果を記載した商品はないが、アルジネート印象を

溶解する基本成分であるEDTA-4NaやEDTA-2Naなどを含んでいるので、いずれも抗菌効果を有していると推測される。そこで試作した溶解除去液の抗菌効果を2種の市販溶解除去液であるSPおよびTCと比較した。その結果、EXは最も強い抗菌効果を示した。SPにも強い抗菌効果を認めたが、TCは対照に比較して著明な生菌数の減少は認められなかった。このことからADEG-Naを添加したEXは抗菌効果においてもSP、TCに比べ優れていることが明らかとなった。

## 結 論

著者らが考案した界面活性剤（アルキルジアミノエチルグリシンナトリウム塩、ADEG-Na）を添加した溶解除去液（EX）の抗菌効果を*S. aureus*を用いて検討し、以下のことが明らかとなった。

1. EX成分の抗菌試験をしたところ、ADEG-Na水溶液が最も強い抗菌効果を示した。
2. EXとEX-A（EXからADEG-Naを除いた溶液）の抗菌効果を比較したところ、EX-Aの抗菌効果はEXに比べて弱かった。
3. EXは、市販の溶解除去液であるSPおよびTCと比較し有意に強い抗菌効果を示した。

以上よりADEG-NaはEXにおける抗菌効果に重要な役割を演じていることが示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導・校閲を賜った岩手医科大学歯学部歯科保存学第一講座 久保田 稔教授ならびに口腔微生物学講座 金子克教授に謹んで深謝の意を表します。また、溶解除去液の開発にご協力を頂いた日本歯科薬品株式会社 常川勝由博士、小嶋 寿氏、懇切なるご指導を頂いた口腔微生物学講座 田近志保子博士ならびにご助力を頂いた歯科保存学第一講座教員各位に感謝致します。

本研究の一部は、平成6年度文部省科学研究費補助金（奨励研究A：06771740）および平成8年度文部省科学研究費補助金（奨励研究A：

20204290) により行われた。また、本論文の要旨は、岩手医科大学歯学会第41回例会(1996年2月24日)および第105回日本歯科保存学会(1996年11月21日)において発表した。

## 文 献

- 1) 吉田隆一：アルジネート印象材の薬液消毒, DE, 106 : 12-15, 1993.
- 2) 市丸俊夫, 斎藤設雄：アルジネートの薬液による練和および固定処理, DE, 106 : 16-19, 1993.
- 3) Touyz, L. Z. G., and Rosen, M. : Disinfection of alginate impression material using disinfectants as mixing and soak solutions. *J. Dent.* 19 : 255-257, 1991.
- 4) Ramer, M. S., Gerhardt, D. E., and McNally, K. : Accuracy of irreversible hydrocolloid impression material mixed with disinfectant solutions. *J. Prosthodont.* 2 : 156-158, 1993.
- 5) 横山有紀, 安元かずお, 田島清司, 柿川 宏, 内山長司, 小園凱夫：電解酸性水によるアルジネート印象の殺菌効果, 歯材器, 15 : 98-103, 1996.
- 6) 今泉 聡, 安倍 敏, 笹崎弘己, 奥田礼一：アルジネート印象に対する酸化電位水の消毒効果, 日歯保誌, 39 (秋季特別) : 21, 1996.
- 7) 畦森雅子, 永澤 恒：グルタルアルデヒドによるアルジネート印象の消毒—歯科用硬質石こう硬化体の表面性状に及ぼす影響—, 日歯保誌, 37 : 974-981, 1994.
- 8) Herrera, S. P., and Merchant, V.A. : Dimensional stability of dental impressions after immersion disinfection. *J. Am. Dent. Assoc.* 113 : 419-422, 1986.
- 9) Durr, D. P., and Novak, E. V. : Dimensional stability of alginate impressions immersed in disinfecting solutions. *ASDC. J. Dent. Child.* 54 : 45-48, 1987.
- 10) Peutzfeldt, A., and Asmussen, E. : Effect of disinfecting solutions on surface texture of alginate and elastomeric impressions. *Scand. J. Dent. Res.* 98 : 74-81, 1990.
- 11) Look, J. O., Clay, D. J., Gong, K., and Messer, H. H. : Preliminary results from disinfection of irreversible hydrocolloid impressions. *J. Prosthet. Dent.* 63 : 701-707, 1990.
- 12) 石田鉄光：紫外線殺菌の効果に関する研究—アルギン酸塩印象材・シリコンラバー印象材について—, 補綴誌, 39 : 939-947, 1995.
- 13) 佐藤敏明, 野島精一, 福田英二：除菌効果のある模型用石膏の開発に関する研究, 日歯技工誌, 10 : 51-56, 1989.
- 14) Ivanovski, S., Savage, N. W., Brockhurst, P. J., and Bird, P. S. : Disinfection of dental stone casts, Antimicrobial effects and physical property alterations. *Dent Mater.* 11 : 19-23, 1995.
- 15) Schutt, R. W. : Bactericidal effect of a disinfectant dental stone on irreversible hydrocolloid impressions and stone casts. *J. Prosthet. Dent.* 62 : 605-607, 1989.
- 16) Tebrock, O. C., Engelmeier, R. L., Mayfield, T. G., and Adams, H. J. : Managing dental impressions and casts of patients with communicable diseases. *Gen. Dent.* 37 : 490-495, 1989.
- 17) 土生博義：模型の消毒—とくに理学的消毒処理が物性に及ぼす影響—, 日歯医師会誌, 45 : 43-54, 1992.
- 18) Lotzmann, U., Patyk, A., and Hillebrecht, S. : Zur bakteriziden Wirksamkeit Antiseptischer Gipse. *Z. W. R.* 98 : 962-965, 1989.
- 19) 小岩竜太郎, 小山昌子, 久保田 稔：トレークリーナーのアルジネート印象の軟化・溶解性に関する研究(抄), 岩医大歯誌, 22 : 67, 1997.
- 20) 小山昌子, 工藤義之, 市丸俊夫, 久保田 稔：アルジネート印象材溶解除去液によるトレーの腐蝕, 日歯保誌, 39 : 896-904, 1996.
- 21) 堀口 博：新界面活性剤, 三共出版, 東京, 207-210 ページ, 1975.
- 22) 綿貫 喆, 貫川佐太郎, 榊原欣作 編集：滅菌法・消毒法第1集, 文光堂, 東京, 167-173 ページ, 1981.
- 23) 園山 昇, 長田 保, 小倉保己 編集：歯科臨床における感染防止対策, 医歯薬出版, 東京, 141-146 ページ, 1983.
- 24) 小掠秀亮, 小倉保己 編集：現代歯科薬理学, 第2版, 医歯薬出版, 東京, 185 ページ, 1989.
- 25) 竹村金造, 阪本有三, 井上彦秀, 土谷裕彦：複合レジンとボンディング剤の抗菌性, 日歯保誌, 27 : 905-913, 1984.
- 26) 河合啓次, 鳥居光男, 土谷裕彦：フッ素徐放性レジンの抗菌性, 日歯保誌, 33 : 1609-1616, 1990.
- 27) 奥田礼一, 笹崎弘己, 兼平正史, 岡部太一, 安倍敏, 田上 篤, 岩松洋子, 宮 豊, 清水義信：形態変化から観た酸化電位水の殺菌効果, 日歯保誌, 37, 755-765, 1994.
- 28) 小澤 敦, 善養寺 浩, 緒方幸雄, 橋本一男, 吉田孝人, 一言 広：医学微生物学, 南山堂, 東京, 207-212 ページ, 1986.
- 29) 川名林治 編集：標準微生物学, 第5版, 医学書院, 東京, 279-284 ページ, 1994.
- 30) ジョン・J・カバラ；吉村孝一, 滝川博文 訳, 防腐・殺菌剤の科学, フレグランスジャーナル社, 東京, 266-271 ページ, 1990.
- 31) 堀口 博：新界面活性剤, 三共出版, 東京, 154-161 ページ, 1975.
- 32) ブドウ球菌研究会 編, ブドウ球菌, 医歯薬出版, 東京, 37-53 ページ, 1986.
- 33) 小澤 敦, 善養寺 浩, 緒方幸雄, 橋本一男, 吉田孝人, 一言 広：医学微生物学, 南山堂, 東京, 46-48 ページ, 1986.
- 34) 森 政和：滅菌と消毒, その基礎と歯科臨床への応用, 医歯薬出版, 東京, 81-86 ページ, 1974.