

# 各種殺菌剤を用いた *Acanthamoeba* の不活性制御

○許斐 隼<sup>1</sup>、山中祐樹<sup>1</sup>、増田愛実<sup>2</sup>、森田 洋<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>北九大院・国際環境工、<sup>2</sup>北九大・国際環境工)

## 【緒言】

*Acanthamoeba* は、土壌・淡水などに広く生息する原生動物で、室内環境においては浴室中の浴槽水やバイオフィーム等からも検出される。アメーバの栄養体は、栄養不足、乾燥、高濃度の塩類溶液との接触など、生育環境の悪化に伴いシストを形成してシスト体となり、シスト体は生育に適した環境条件が整うとシスト殻を脱ぎ捨てて栄養体に戻る。このシスト体は、塩素消毒や加熱殺菌などに高い抵抗性を有することが知られている。現在、アメーバの制御方法に関する研究が行われているが、知見はまだ少ない。そこで本研究では各種殺菌剤の *Acanthamoeba* に対する抗アメーバ活性を調査することを目的として検討を行った。

## 【実験操作】

### 抗アメーバ活性試験

検定アメーバは *Acanthamoeba castellanii* ATCC 30010 を用いた。*Acanthamoeba* 培養液を遠心分離し、滅菌水で2度洗浄後、各種殺菌剤試料に再懸濁（初発細胞濃度約  $2 \times 10^5$  cells/mL）し、30 °Cで静置培養した。試料を経時的にサンプリングし、トリパンプルーと混釈し死細胞を染色した後、プランクトン計数板を用い、光学顕微鏡で形態観察及び生細胞数の算出を行った。分類は、不定形の栄養体、球状で二重壁を持つシスト体の2形態とした。

### 殺菌剤試料

エタノール（日本アルコール産業株式会社）、塩化ベンザルコニウム（有限会社萬里薬局）、各種脂肪酸カリウム（各種脂肪酸を水酸化カリウムと水と混合、加熱攪拌し、pH 10.5、350 mM に調整したカプリル酸カリウム(C8K)、カプリン酸カリウム(C10K)、ラウリン酸カリウム(C12K)、ミリスチン酸カリウム(C14K)、オレイン酸カリウム(C18:1K))、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS)、次亜塩素酸ナトリウム溶液（純正化学株式会社）を殺菌剤試料として使用した。

## 【実験結果】

### ①エタノールの抗アメーバ活性

コントロールと比較して生存細胞濃度の減少が認められなかったことから、70 %エタノールは *Acanthamoeba* に対し効果が薄いことが明らかとなった。

### ②塩化ベンザルコニウムの抗アメーバ活性

塩化ベンザルコニウムは手指・皮膚の消毒に用いられ、濃度 1000 ppm で一般的に使用される。そこで同濃度（1000 ppm）の塩化ベンザルコニウムで抗アメーバ活性試験を行ったところ、抗アメーバ活性は約1オーダーにとどまった。

### ③陰イオン界面活性剤の抗アメーバ活性

脂肪酸カリウムでは、種類によらず約2-3オーダーの生存細胞の減少が認められた (Fig 1)。また同じ陰イオン界面活性剤である LAS でも類似した結果が認められたため、各種の陰イオン界面活性剤は350 mMで2-4オーダー程度の抗アメーバ活性を持つことが示唆された。

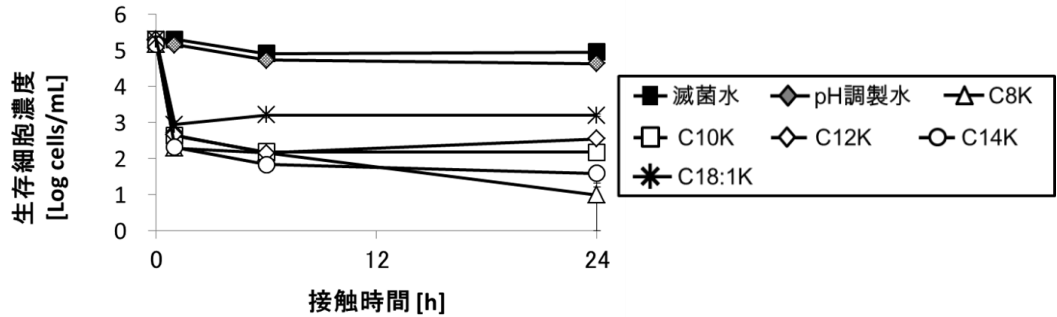


Fig 1. 脂肪酸カリウムの抗アメーバ活性

#### ④次亜塩素酸ナトリウム (NaOCl) の抗アメーバ活性

有効塩素濃度 1 ppm 以下の濃度ではほとんど活性を示さなかったが、10 ppm では約 2 オーダー、100 ppm、1000 ppm では約 3 オーダーの生存細胞の減少が認められた。また 10000 ppm では 72 h で、35000 ppm では 24 h で 5 オーダー以上減少し、検出限界値以下となった。この結果より NaOCl の抗アメーバ活性は濃度依存的であることが認められた (Fig 2)。

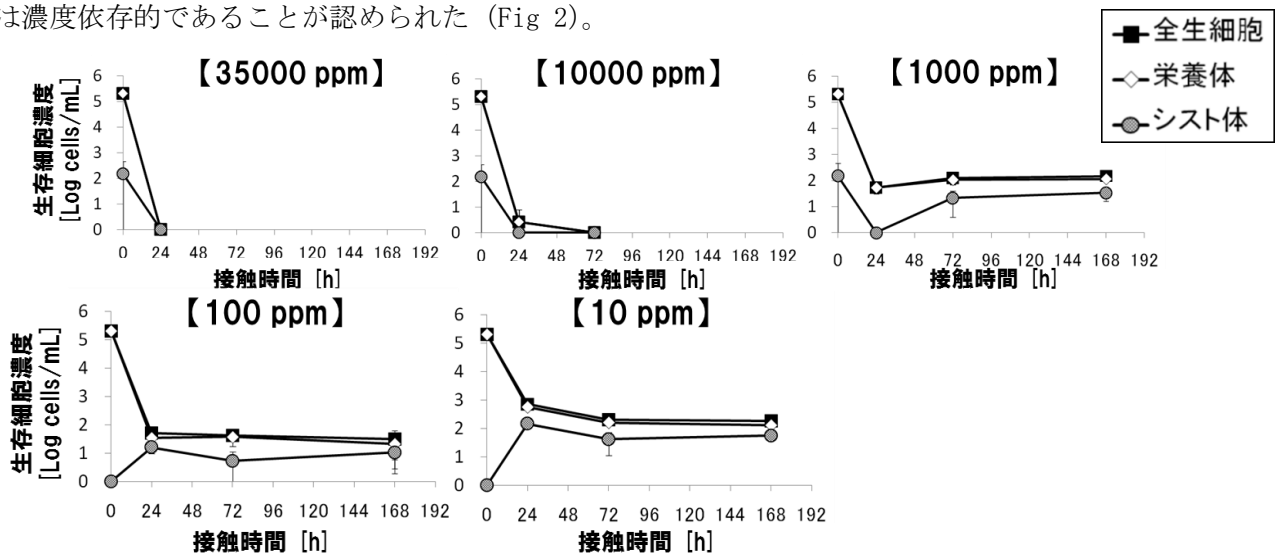


Fig 2. 次亜塩素酸ナトリウムの抗アメーバ活性

さらに、安全性の高い脂肪酸塩と NaOCl の併用による抗アメーバ活性試験を検討した。NaOCl 100 ppm および脂肪酸塩 (C10K) 350 mM の単独時よりも併用させた場合において、活性が 1 オーダー向上した (Fig 3)。この結果より、脂肪酸塩との併用による比較的 low 濃度の NaOCl を用いた *Acanthamoeba* の制御が可能となった。

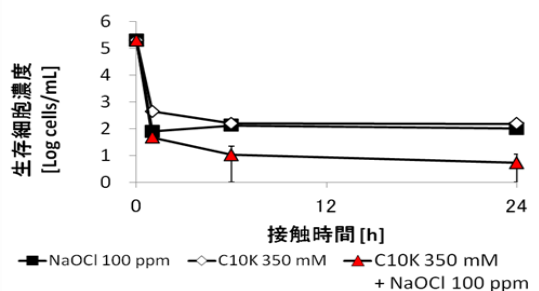


Fig 3. C10K+NaOCl の抗アメーバ活性

#### 【総括】

抗アメーバ活性試験の結果、各種陰イオン界面活性剤および NaOCl 水溶液で *Acanthamoeba* 栄養体に対して抗アメーバ活性を持つことが明らかとなった。また、C10K と NaOCl の併用において活性の向上が認められた。今後はその他の併用効果等を検証することにより、更なる高活性を有する *Acanthamoeba* の殺菌剤の創出が課題となる。