

初期う蝕予防のための洗口法への竹炭浸漬液の利用に関する基礎的実験的検討

—竹炭浸漬液のヒトう蝕誘発細菌への抗菌効果—

那 須 恵 子 ・ 藤 原 愛 子

Preliminary examination about availability of bamboo charcoal soak liquid as mouthwash for early stage dental caries prevention

Keiko Nasu and Aiko Fujihara

はじめに

う蝕は特に、乳歯や永久歯萌出期の不十分なエナメル質形成期に、細菌の栄養源であるショ糖等の糖質を摂取する事により多く発生することが知られている¹⁾。近年、幼若永久歯へのフッ素取り込みによるフルオロアパタイト形成がう蝕予防効果を有することが明らかとなり²⁾、初期う蝕予防対策のため、フッ化物塗布あるいはフッ素洗口法等の公衆衛生的普及活動が行われているが、フッ素は薬物であるため、その取り扱いには管理上の注意が必要である³⁾。また、歯科保健指導の進展により、12歳児のDMFT指数（一人平均虫歯数）は1975年をピークに減少傾向にある⁴⁾が、う蝕の軽症化による初期う蝕者の占める割合は増加する傾向にあり、家庭でも手軽にできる予防法の開発が期待される。

本研究では竹炭浸漬液が種々のミネラルを含むアルカリ水であることに着目し、竹炭浸漬液及びその他竹試料抽出液の簡便で、安全な洗口液としての可能性を検討することを目的とする。本年度はヒトのう蝕誘発細菌である *Streptococcus mutans* および *Streptococcus sobrinus* を用いて、竹炭浸漬液及びその他竹試料抽出液の抗菌効果について、実験的検討を行った。

方法

[実験材料及び供試菌]

①竹炭浸漬液：竹炭 50g を蒸留水へ浸漬して数分間煮沸後、その溶液を捨て、蒸留水洗浄し、新たに蒸留水 600ml を加え、1日冷蔵保管、原液とする。濾過液 300ml を

凍結乾燥（-80℃で3日）し、その全量を滅菌水 30ml に再溶解し、フィルター除菌後、試料原液とした。

②その他竹炭及び竹試料抽出液：

竹炭粒子、竹炭粉末、生竹粉碎物等の6種類の竹試料抽出液を調整した。各試料を滅菌水で加熱抽出あるいは滅菌水で混合してから、その溶液をろ紙でろ過、フィルター除菌し、試料液 No. 1～No. 6 とした。

③供試菌：日本大学松戸歯学部感染・免疫学講座より分譲された *Streptococcus mutans* (以下 JC2 株とする) および *Streptococcus sobrinus* (以下 6715 株とする) を用いた。

④前培養：Brain Heart Infusion 液体培地 (以下 BHI 液体培地) へ、試験菌を各 1 白金耳接種し、37℃、24 時間培養した。

⑤供試菌液：前培養菌液を BHI 液体培地で 1000 倍希釈した。

[実験方法]

実験 1. 竹炭浸漬液の JC2 株及び 6715 株への生育抑制作用

竹炭試料原液を最終濃度が 20, 10, 5, 2.5% 濃度になるように BHI 液体培地で希釈した希釈列を作成し、試料液と同量の菌液を添加、37℃で 24 時間培養した。さらに、培養液各 0.5ml を Mitis-Salivarius 寒天培地 (以下 MS 培地) 10ml へ混釈培養し、37℃、48 時間後、細菌数を観察した。

実験 2. その他竹炭及び竹試料抽出液の JC2 株及び 6715 株に対する生育抑制試験 (穿孔平板法)

① 基層培地及び種層培地の作成

MSB 培地 (MS 寒天培地へバシトラシン (0.2Units/ml), ショ糖 (最終濃度 20%) を添加, Gold ら作成⁵⁾) を用いて、以下のようにそれぞれ分注、固化させた平板を作成し、

基層培地：MS B 培地 (10ml)

種層培地：MS B 培地 (9.5ml) + 各培養菌液 (0.5ml)

ステンレスカップ (10H×, 外径 8φmm 内径 6mmφ : システムサイエンス社製カップ ZC-DC) を用いて平板穿孔を行い、1 平板あたり 4 個の孔を設置した。

② 試料添加

1 平板にバシトラシン 8Units/ml と 2Units/ml をそれぞれ 50μl ずつ 2 孔へ入れ、残りの 2 孔へ試料液とその 4 倍希釈液をそれぞれ 50μl ずつ入れて、37℃、40 時間嫌気培養した。No. 1～No. 6 の試料液はすべて同様の操作で培養した。

実験 3. 各試料液の供試時の pH を測定した（堀場 B-212 型 twinpH 計使用）。

[結果及び考察]

実験 1 :

希釈列のうち、J C-2 株 (*S. mutans*) の 20% と 2.5% とを比較すると、定性的ではあるが、菌数に違いがみられ、竹炭試料濃度 20% ではほとんど菌の生育がみられず、一方、2.5% では明らかな菌の生育が観察された。6715 株 (*S. sobrinus*) では差がみられなかった。

実験2及び3 :

試料液No.	pH	6715株 ¹⁾	JC-2株 ¹⁾
1	9.4	+	-
2	9.0	+	-
3	9.6	+	-
4	5.1	+	±
5	5.2	+	-
6	2.7	+	-

(+:抑制傾向, ±:やや抑制傾向, -:抑制なし)

¹⁾ 6715 株 : *Streptococcus sobrinus*, JC-2 株 : *Streptococcus mutans*。

これらヒト口腔細菌において、バシトラシン等の抗生物質への感受性が異なることが報告されているが、本実験結果からも竹試料抽出液への感受性が異なる可能性が考えられた。しかし、本試験はまだ抗菌力について、数回の定性的試験を実施したのみであり、今後、今回の結果の確認試験をさらに精度をあげて実施していく必要がある。また、細菌の生育最低阻止濃度等の定量試験を実施するとともに、試料中有効成分について分析、確認していくことが必要である。

[参考文献]

- 1) 大嶋隆 編, う蝕予防のための食品科学, 医歯薬出版, p. 22-26, 1996
- 2) 早川太郎他, 口腔生化学, 医歯薬出版, p. 224-225, p. 106-107, 2003
- 3) 厚生労働省健康政策局歯科保健課監修, 歯科保健指導関係資料, 口腔保健協会, 2000
- 4) 厚生労働省, 歯科疾患実態調査報告, 1999
- 5) Gold, O. G., et. al., A selective medium for *Streptococcus mutans*. Arch. Oral Biol., 18, p. 1357-1364, 1973

