

生分解性良好  
抗菌性 MIC (ppm)  
*S. aureus*(8), *B. subtilis*(10)  
経口毒性 LD<sub>50</sub> (mg/kg) 10,000 (ラット)  
3,700 (マウス)

#### 供試真菌

第4アンモニウム塩に対する供試菌は、*Aspergillus niger* IF01594, *Aspergillus fumigatus* M#706, *Penicillium citrinum* IF06952, *Rhizopus stolonifer* 687-8, *Cladosporium cladosporioides* M#715-5, *Alternaria alternate* 622-19, *Fusarium solani* 715-9 を用いた。また、TPNでは、*Fusarium oxysporum* 450-74, *Alternaria alternate* 553-2, *Cladosporium cladosporioides* 553-3, *Aspergillus niger* ATCC9642, *Penicillium cyclopium* 553-5, *Phoma* sp. 450-162 を用いた。これらはいずれも生活環境に広く分布する真菌である。

#### 抗菌試験法

供試真菌をポテト・デキストロース寒天斜面培地(PDA)にうえ、25℃, 10日間培養後に0.01%ラウリル硫酸生食液を加え、以下常法に従って孢子浮遊液約1×10<sup>6</sup>/mLを作製した。各希釈抗菌剤濃度としたGP培地2mLに孢子浮遊液0.1mLを加え、25℃にて培養し判定は7~10日培養後におこなった。

抗菌剤の抗力ピ性をみると同時に、薬剤加培地において発育を示す最高濃度により真菌を釣菌し、さらに抗菌剤の加わった培地に継代を5代まで繰り返し、その間発育を示す抗菌剤濃度がどのように推移するかを観察した。

またTPNに対する抗菌試験法として、まず前述の抗菌剤と同様にして、孢子浮遊液(1×10<sup>6</sup>/mL)を作製し、各希釈TPN濃度としたGP培地2mLに0.1mL加え、25℃にて10日間処理した。ここで発育を示した最小希釈倍数の培地からコロニーを釣菌し、0.01%ラウリル硫酸生食液1mLにて充分磨砕し、この0.1mLを高濃度TPN加GP培地2mLに加え、2代継代時での発育を検索した。以後同様にして継代をすすめ、8代継代時までの最小発育阻止濃度を求めた。

#### C. 研究結果

##### 1. 第4級アンモニウム塩に対する抗真菌活性

###### (1) 抗菌活性

第4級アンモニウム塩で広く用いられている塩化ベンザコニウムの抗菌活性は、*Geotrichum candidum*の5ppmから*Penicillium citrinum*の300ppmのよう

に、菌種による差が認められたが、多くは30~100ppmにあった(表1)。

また塩化ベンゼトニウムの抗菌活性は、塩化ベンザルコニウム同様に菌種による差が認められ、発育阻止濃度は*Geotrichum candidum*の5ppmから*Aspergillus fumigatus*, *Penicillium citrinum*の300ppmまでであった。

###### (2) 第4級アンモニウム塩処理真菌の継代試験

塩化ベンザルトニウムを処理した真菌の発育を示した最高濃度より釣菌し、5代継代を繰り返したところ、*P. citrinum*, *A. niger*, *R. stolonifer*, *Alternaria* sp., *C. cladosporioides*はいずれも初代から5代まで変化がみられなかった(図1)。しかし*A. fumigatus*は初代が10ppmで、2代30ppm, 3代以降50ppmを維持し、継代毎に薬剤に耐性を示す傾向が見られた。*F. solani*は*A. fumigatus*ほど極端ではないが、初代の10ppmから2代以後30ppmを謹かに上昇した。

塩化ベンゼトニウムを処理した真菌についても同様に継代試験をおこなったところ、図2の結果がえられた。すなわち初代から5代までほとんど変化がみられなかったのは、*A. fumigatus*, *P. citrinum*, *A. niger*であり、*C. cladosporioides*, *Alternaria alternata*は初代0.5ppmから2代以降10ppmになった。また*R. stolonifer*は初代30ppmから2代にかけてほぼ3倍の100ppmで発育した。*F. solani*は10ppmから3代で20ppmに上昇した程度であった。

##### 2. 防黴剤TPNに対する抗菌活性

###### (1) TPN処理真菌の継代試験

初代時、発育を示した最高濃度から8代まで継代を繰り返したところ、TPNに対し著しく耐性を示す結果がえられた(図3)。

初代時に*Fusarium oxysporum*の0.5ppmを除いた5種真菌はいずれも0.05ppmであった。しかし2代以降の継代により各々の真菌は、発育を示す最高濃度に差があらわれ、*F. oxysporum*は初代時の0.5ppmから6代継代以降は500倍の250ppmとなり、*A. niger*は0.05ppmから5代継代以降は1万倍の500ppmに発育を示すことがわかった。また*Alternaria alternata*, *C. cladosporioides*, *P. cyclopium*, *Phoma* sp.も50倍から10倍上昇した。

#### D. 考察

近年、繊維製品だけでなく、プラスチック製の台所用品、浴室用品、文房具、壁紙などの内装材、塗料など、幅広い用途の製品に「抗菌」、「抗菌防臭」、「抗菌カビ」などの名称の抗菌製品が出回るように

なっている。1996年、病原性大腸菌O-157による集団食中毒が全国的な規模で頻発したことをきっかけに、まないた、ふきん、プラスチック製食品容器などの抗菌への注目が一層高まった。

製造物責任法（PL法）が施行されてから、製品に含まれる化学物質による健康影響などについて、問い合わせや苦情が増え、その内容も複雑になっている。

健康被害などの事故が発生した場合、メーカーからの製品情報が公表されていないため健康被害情報を含めて、製品に関する情報を消費者が知ることは重要である。そのためには、市販の抗菌製品にどのような化学物質が、どのくらいの濃度で抗菌剤として使用されているか、また抗菌剤の安全性（毒性）はどの程度かなどを明らかにすることが必要である。

真菌に対する抗菌剤の抗菌活性について、われわれが既に報告したものを含めていくつか知られているが、安全性の高い第4級アンモニウム塩に限って検討してみたところ、その抗菌活性は菌種によって差がみられ、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウムとも100ppm以上の濃度ならば、ある程度真菌に有効と思われるように一概に有効濃度を設定することはできない。

第4級アンモニウム塩のような抗菌剤の特徴として一般には、①耐熱性が著しく優れている。②安全性が高い。③抗菌効果が半永久的である。④抗菌スペクトルが広い。⑤微生物が耐性を獲得し難い。⑥難燃性で有毒ガスなどを発生しない長所を挙げることができる。

一方近年抗菌剤として注目されているものに光触媒系抗菌剤がある。酸化物質光触媒系抗菌・防カビ剤の特徴は長所として①効果が半永久的である。②安全性が高い。③病原性大腸菌O-157が死滅した後に出すペロ毒素を分解する。④悪臭の原因物質のアンモニア、硫化水素、アセトアルデヒドなどを分解し、脱臭・消臭する。⑤NO<sub>x</sub>の酸化除去など環境浄化に有効である点が知られている。

抗菌剤処理真菌の継代により、強い耐性が得られることは顕著でない。細菌の場合抗菌剤で耐性を示す可能性は、抗生物質に比較して著しく低いかほとんどないものとされ、その意味からも耐性とはせず、抵抗あるいは馴化とみなされべきであると思われる。したがって、今回の真菌の場合も抗菌剤に対して、継代により発育の最高濃度が上昇したのは、単なる抵抗あるいは馴化と推察された。

一方抗黴剤として用いたTPNの抗菌活性を継代

により検討したところ、第4級アンモニウム塩に比較して明らかに変化が認められた。すなわちTPNでの真菌の発育の最高濃度は継代とともに上昇し、菌種によっては10,000倍になった。これは明らかに抗菌剤と異なる現象であり、抗黴剤の中には真菌が抵抗性を獲得するものがあることを意味しており、われわれはすでにサイアベンダゾール（Thiabendazole, TBZ）で報告した。今回の試験において耐性を獲得するであろう事実は、TPNの分析結果や形態変化からも理解できる。

ニトリル系抗菌・防カビ剤は、2,4,5,6,テトラクロロイソフタロニトリル（TPN）が繊維用に使用されている。本来は農業用殺菌剤として開発されたものであるが、慢性毒性も低く生分解性も有していることより、塗料や衣料用繊維に使用されるようになった。細菌に対して特に高い活性、カビに対しても活性を示し広いスペクトルを有している。

TPNはSH化合物により抗菌作用が消失し、またこれで処理した菌体内には無処理菌に比べてSH含量が少ないことから、細胞内のSHと反応することにより抗菌作用を発揮すると考えられている。

いずれにせよTPNは抗黴剤として広く用いられていることから、使用濃度に関しては十分な注意が必要とされる。

#### E. 結論

製品に添加される抗菌剤の抗菌活性の影響を検討するために真菌長期接触による抗真菌効果の変化を実施した。

供試した抗菌剤は、抗菌剤加工製品で汎用されるなかから4級アンモニウム塩である塩化ベンザルコニウムおよび塩化ベンゼトニウム、抗黴剤としてテトラ・クロロイソフタロニトリル（TPN）を用いて真菌に対する長期接触による抗真菌活性変化を検討した。

その結果、抗菌剤に対する*in vitro*試験において、いずれの抗菌剤でも真菌を長期接触することによる抵抗性変化が認められた。したがって長期使用する場合の抗菌加工製品の活用の際にさらに多くの抗菌剤で細菌や真菌に対して検討をおこない、抵抗性変化が得られるか検証する必要がある。

#### F. 健康危険情報

抗菌剤の安全性を基本にして抗菌加工製品が市場にあることから、本研究では本来の抗菌性について確認することにある。今日では生活環境でこうした

抗菌加工製品が利用されることによる健康被害は、連続使用による抗菌活性の変化が関係していく。すなわち、抗菌剤の微生物抵抗性から、徐々に健康影響を生じるようになるものと推測される。そのため日常的に汎用される抗菌剤を含め広範な抗菌剤について微生物に対する影響を検討することと同時に抗菌抵抗性の観点から健康被害に関する情報を得ておく必要がある。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得      なし

2. 実用新案登録   なし

3. その他          なし

表1 第4級アンモニウム塩の抗真菌活性

Fungus	Benzalconium chloride (ppm)								Benzethonium chloride(ppm)							
	500	300	100	50	30	10	5	1	500	300	100	50	30	10	5	1
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium citrinum</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Rhizopus stolonifer</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Alternaria sp.</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Fusarium solani</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Geotrichum candidum</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+

- : 発育を認めない, + : 発育を認める

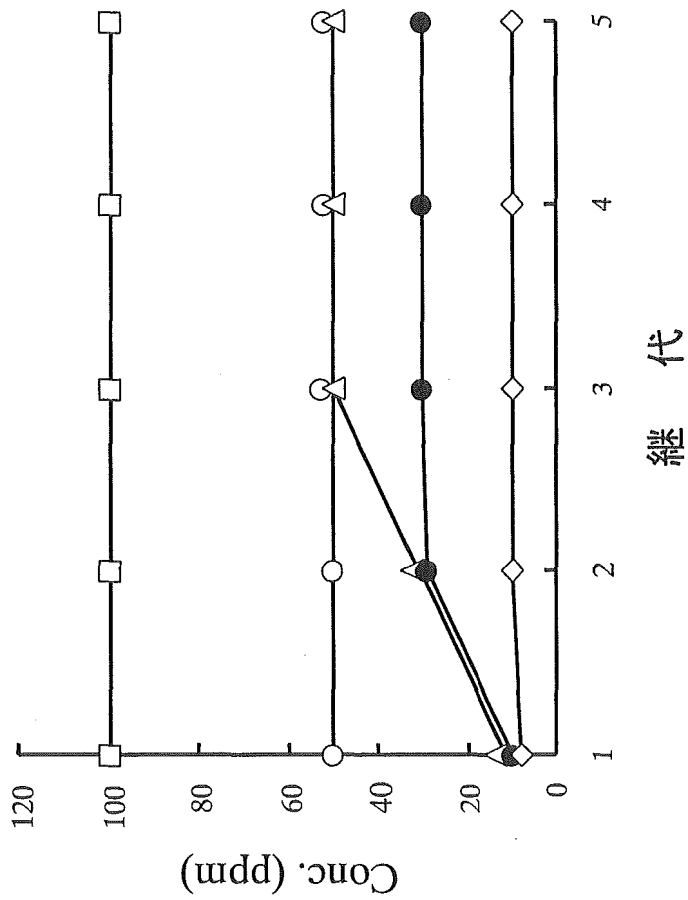


図1 塩化ベンザルコニウムの長期接触による抵抗性変化

Symbols: □; *p. citrinum*, ○; *A. niger* & *R. stoloifer*, △; *A. fumigatus*, ●; *F. solani*, ◇; *Alternaria* sp. & *C. cladosporioides*

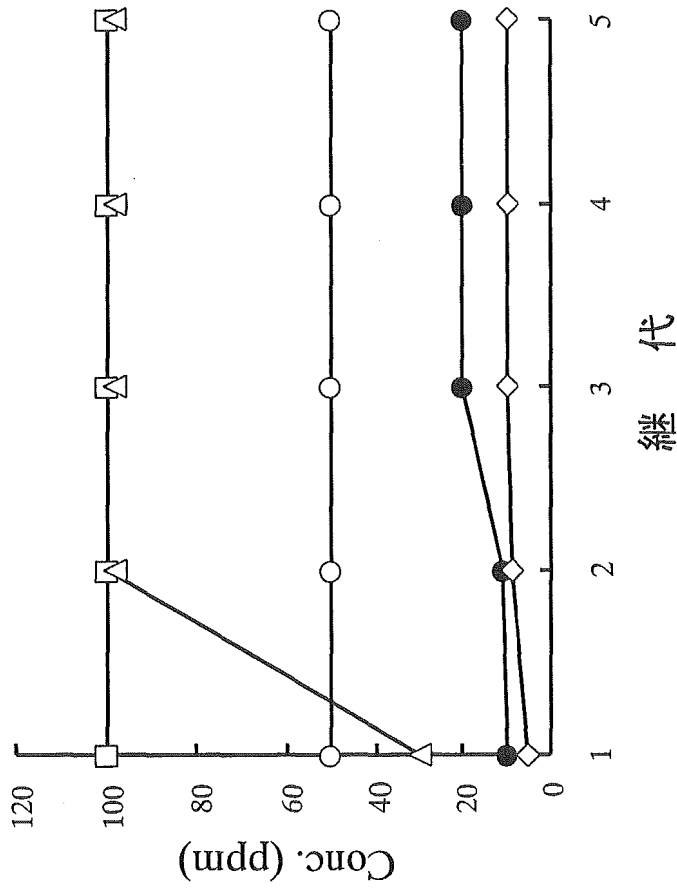


図2 塩化ベンゼトニウムの長期接触による  
抵抗性変化

Symbols: □; *A. fumigatus* & *p. citrinum*, ○; *A. niger*, △;  
 ●; *R. stoloifer*, ●; *F. solani*, ◇; *Alternaria* sp. &  
*C. cladosporioides*

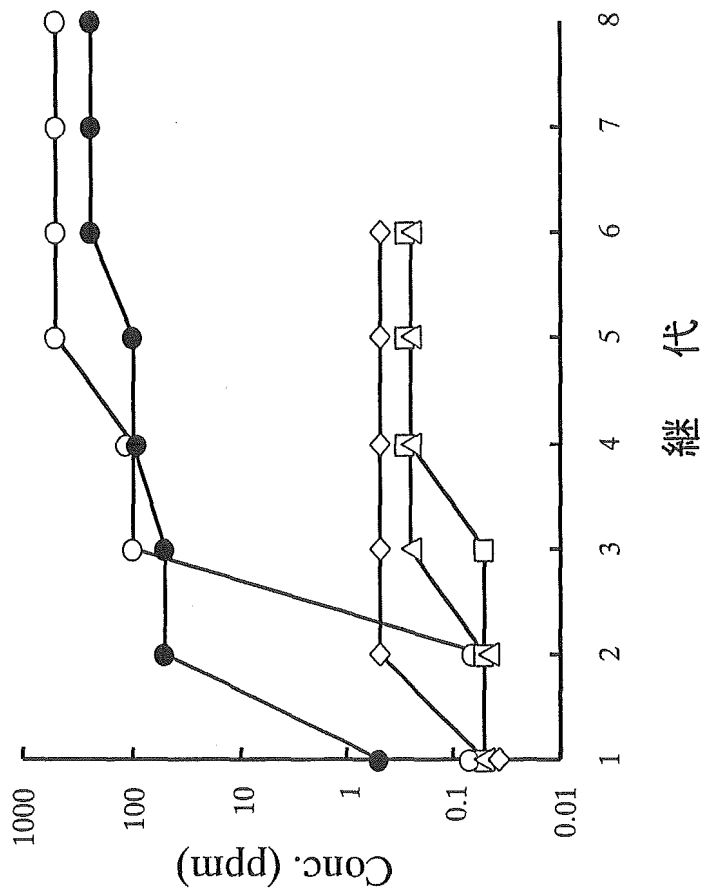


図3 テトラクロロイソフタロニトリル(TPN)の長期接触による抵抗性変化

Symbols: □; *p. cyclopium*, ○; *A. niger*, △; *Phoma sp.*, ●; *F. oxysporum*, ◇; *Alternaria sp. & C. cladosporioides*

---

平成15年度厚生労働科学研究費補助金  
(化学物質リスク研究事業)

「抗菌加工製品における安全性評価及び  
製品情報の伝達に関する調査研究」

研究報告書

---

発行日 平成15年4月  
発行者 主任研究者 鹿庭正昭 国立医薬品食品衛生研究所療品部室長  
発行所 国立医薬品食品衛生研究所(所長 長尾 拓)  
電話番号 03-3700-1141

---