

〔原著〕 松本歯学 18 : 39~44, 1992

key words : 歯内療法剤 — 改良カルビタール — 抗菌活性 — 保存・安定性

カルビタール[®]の現行処方と改良処方の 末および液の抗菌活性の比較

中村 武, 藤村節夫, 柴田幸永

松本歯科大学 口腔細菌学講座 (主任 中村 武 教授)

Comparison of Antimicrobial Activity of the Powder and Liquid Materials of Both Types of Original and Modified Calvital

TAKESHI NAKAMURA, SETSUO FUJIMURA and YUKINAGA SHIBATA

Department of Oral Microbiology, Matsumoto Dental College
(Chief : Prof. T. Nakamura)

Summary

Antimicrobial activity of the powder and liquid materials of both types of original and modified Calvital was compared and the following results were obtained. As for the powder materials, both types of Calvital showed obvious activity against various kinds of bacteria and fungi including saprophytic ubiquitous microbes such as *B. subtilis* and *Cladsporium* sp. The potency of the inhibitory activity of both types was the same and their action mode appeared to be bacteriocidal. From these observations, storage and stability of the powder material of modified Calvital are thought to be satisfactory.

On the other hand, no inhibitory zone against a saprophytic fungus strain No. 1 (*Cladsporium* sp.) was formed by the liquid materials of both types of Calvital, when tested by agar gel diffusion method. However, the viable cells of this strain which had been exposed to the liquid materials decreased, indicating that the liquid materials possessed inhibitory activity. The other bacterial and fungal strains examined were found to be inhibited to the same degree. As compared with original Calvital, modified type tended to have slightly lower activity only against *S. aureus* and *E. coli*. The action was determined also to be bacteriocidal. Therefore, storage and stability of the liquid material of modified Calvital are judged to be sufficient.

緒 言

カルビタールは、水酸化カルシウム・ヨードホ

ルムを主成分とする直接歯髄覆罩剤、生活歯髄切断剤、根管充填剤である。本剤は創製以来、臨床病理学的研究¹⁻²⁾を基盤としてその薬理作用³⁻⁵⁾,

X線造影性⁶⁾や抗菌性⁷⁾などより有用性を指標として、また、近年、医療薬剤の再評価と相まってその組成・配合の改良が加えられてきた。すでに改良処方によるカルビタールには現行処方と同じく抗菌性が存在し、主要口腔常在菌種に対して同等の抗菌活性を有する⁷⁾ことが明らかとなっている。カルビタールは、用途・使用時には末と液を練和して用いられるので、本研究は改良処方の末および液の各素材の保存・安定性を確認するため、現行処方の各素材とそれぞれ抗菌活性を比較検討した。

方 法

供試菌は、一般環境（自然界）と密接に関連するとみられる細菌と真菌を指標として、*Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Escherichia coli* O-25, *Bacillus subtilis* (枯草菌) MD-2, *Candida albicans* (酵母真菌) MD-5 の4菌種と本研究室で採取・分離した空中菌株の No.1 (*Cladsporium* sp.), No.2 (*Bacillus* sp.), No.3 (*Micrococcus* sp.), No.4 (*Staphylococcus* sp.), No.5 (*Staphylococcus* sp.) の5株、計9菌株を供試した。

現行処方⁷⁾と改良処方⁷⁾の各末および液の抗菌活性は、カルビタールの抗菌活性の検討に準じて主に寒天内拡散法によって調べた⁷⁾。すなわち、各供試菌の24時間培養菌を用い、その約10⁶菌数を含む BHI 寒天平板に直径 8 mm の well を作製した。この well に各末および液の一定量(0.25 ml)を入れ、培養後完全な発育阻止帯の直径を測定し、それぞれの抗菌活性を比較した。なお、各末は精製水で調整した20%懸濁液、各液は原液を実験に供した。また、各末はその処方(含有成分)上 BHI 寒天(含有成分)培地で白濁帯を形成するため、活性を測定する直前に1N・HCl 液を用いてこの白濁帯を消失させた後阻止帯を測定した。

末および液の抗菌的作用性について、*Staphylococcus aureus* FDA209P および *Escherichia coli* O-25 を供試して、末試料は上記20%懸濁液、液試料は原液とそれぞれ室温で作用させ、経時的に各生菌数の測定から判定した。

成績および考察

1. 現行および改良処方末の抗菌活性

各処方末の20%懸濁液による供試9菌株に対す

る抗菌活性は表1、図1に示した。いずれの処方末試料も供試菌9菌株に対して直径14~32 mm の完全な発育阻止帯を発現した。とくに *B. subtilis*, *C. albicans* および空中菌株 No. 1 に対してその阻止帯(19~32 mm)が大きく発現し、これらの細菌や真菌に対する抗菌活性が強いことを示唆した。また、現行処方と改良処方末試料による阻止帯(円)の大きさに差異がみられず、両処方末の抗菌活性は同等の力価を有すると判定された。

2. 現行および改良処方液の抗菌活性

各処方液の原液による供試8菌株に対する抗菌活性は表2、図2に示した。現行処方液は、空中菌株 No. 1 を除く7菌株に対して、直径11~24 mm の完全な発育阻止帯を示した。しかし、空中菌株 No. 1 に対しては阻止帯の発現はみられなかった。一方、改良処方液は、現行処方液と同様

表1：カルビタール現行および改良処方末の抗菌活性

供試菌	現行処方 (末)	改良処方 (末)
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	14	14
<i>Escherichia coli</i> O-25	15	15
<i>Bacillus subtilis</i> MD-2	32	32
<i>Candida albicans</i> MD-5	22	22
空中菌株 No. 1	19	19
空中菌株 No. 2	15	15
空中菌株 No. 3	15	15
空中菌株 No. 4	15	15
空中菌株 No. 5	17	17

注。数字は、寒天内拡散法における各20%末懸濁液の0.25 ml による発育阻止帯の直径(mm)を示す。

表2：カルビタール現行および改良処方液の抗菌活性

供試菌	現行処方 (液)	改良処方 (液)
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	15	15(不完全)
<i>Escherichia coli</i> O-25	11	9
<i>Bacillus subtilis</i> MD-2	13	13
<i>Candida albicans</i> MD-5	24	24
空中菌株 No. 1	0	0
空中菌株 No. 2	20	20
空中菌株 No. 3	21	21
空中菌株 No. 4	17	17(不完全)

注。数字は寒天拡散法における各原液の0.25 ml による発育阻止帯の直径(mm)を示す。

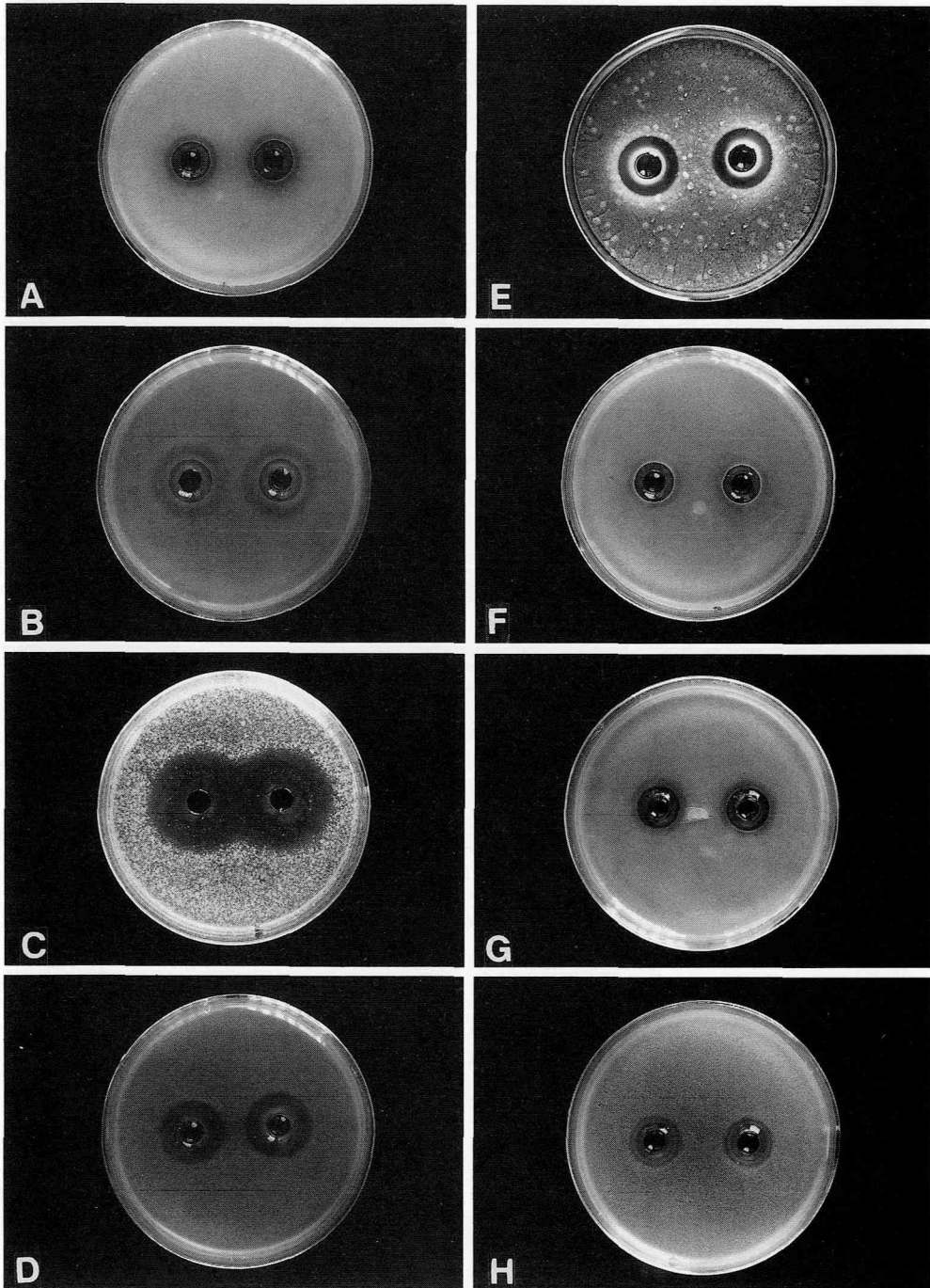


図1：カルビタール現行および改良処方末の抗菌活性

注．寒天内拡散法，左側 well は現行処方末，右側 well は改良処方末

A : *Staphylococcus aureus* FDA 209P

B : *Escherichia coli* O-25

C : *Bacillus subtilis* MD-2

D : *Candida albicans* MD-5

E : 空中菌株 No. 1 (*Cladsporium* sp.)

F : 空中菌株 No. 2 (*Bacillus* sp.)

G : 空中菌株 No. 3 (*Micrococcus* sp.)

H : 空中菌株 No. 4 (*Staphylococcus* sp.)

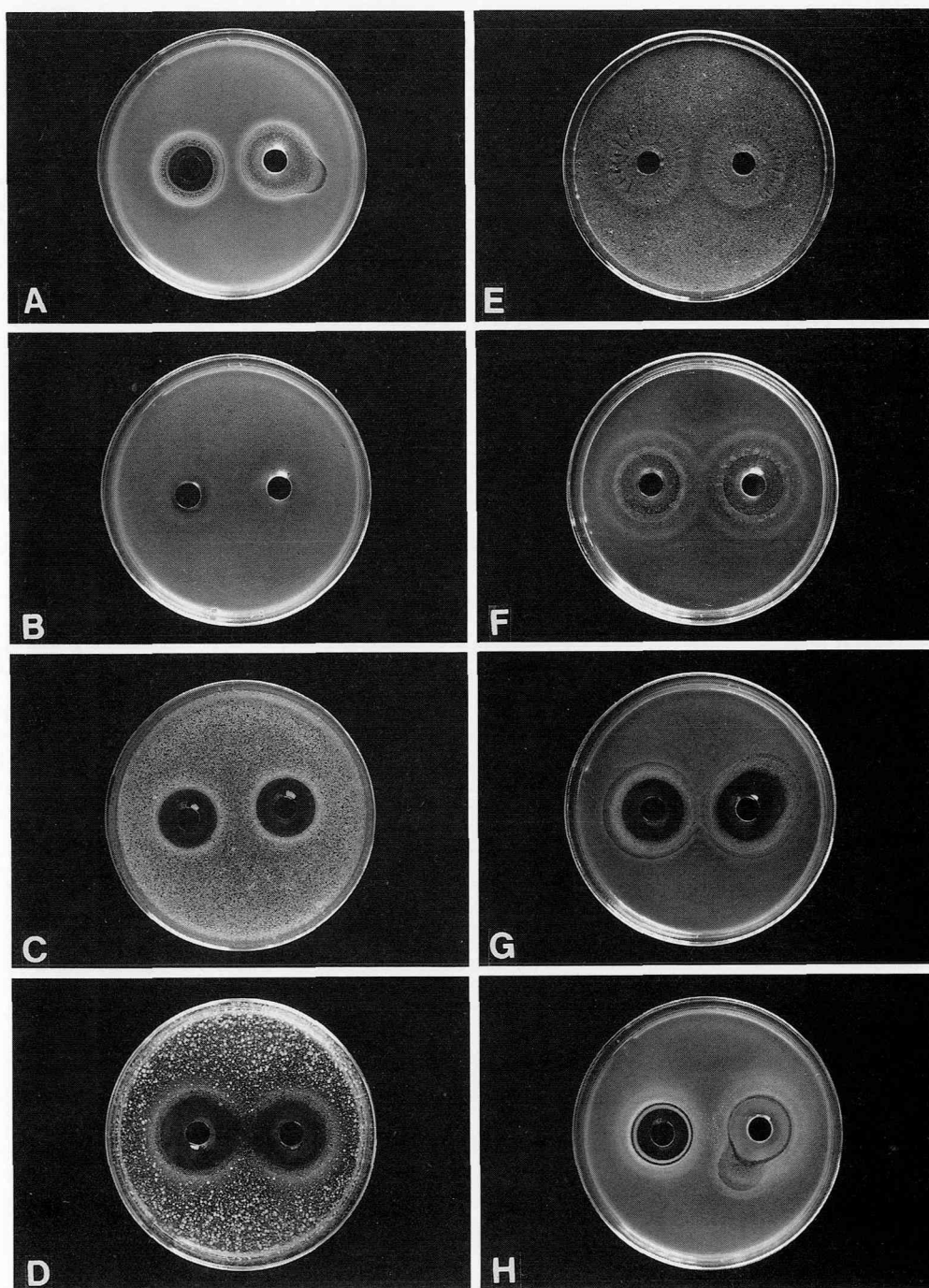


図2：カルピタル現行および改良処方液の抗菌活性

注．寒天内拡散法，左側 well は現行処方液，右側 well は改良処方液

- | | |
|---|--|
| A : <i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P | E : 空中菌株 No.1 (<i>Cladsporium</i> sp.) |
| B : <i>Escherichia coli</i> O-25 | F : 空中菌株 No.2 (<i>Bacillus</i> sp.) |
| C : <i>Bacillus subtilis</i> MD-2 | G : 空中菌株 No.3 (<i>Micrococcus</i> sp.) |
| D : <i>Candida albicans</i> MD-5 | H : 空中菌株 No.4 (<i>Staphylococcus</i> sp.) |

に空中菌株 No. 1 に対しては阻止活性が認められなかったが、*B. subtilis*, *C. albicans*, 空中菌株 No. 2 および No. 3 に対して直径13~24 mm の完全な阻止帯を発現し、それぞれの指示菌株に対しては阻止帯の大きさは現行処方液のそれに差異が認められず、抗菌活性が同等とみられた。しかし、*S. aureus*, 空中菌株 No. 4 に対しては、現行処方液と同程度の大きさの阻止帯を示すが、その阻止帯が不完全であった。また、指示菌の *E. coli* では現行処方液の阻止帯直径11 mm に対して、改良処方液のそれが9 mm でやや小さい値を示した。以上の成績から、両処方液も末試料と同様ある種の細菌や真菌に対して同等の抗菌活性を有する。しかし、改良処方液は現行処方液に比較して *S. aureus* および *E. coli* に対して抗菌活性がやや低いことを示唆する。一方、両処方液は空中菌株 No. 1 に対して、いずれも本寒天内拡散法において完全な発育阻止帯の発現がみられなかったが、両液は本菌株に対して抗菌性を示さないのではなく、むしろ両液成分の寒天内拡散性と本菌株の増殖度が極めて早いことに起因していると考えられる。

3. 現行処方と改良処方末および液の抗菌的作用性

各処方末(20%懸濁液)と *S. aureus* および *E. coli* を作用させ、経時的に各試料液の生菌数を調べた成績は表3に示した。作用開始時、 $5.8 \sim 8.2 \times 10^7$ の各指示菌数で、対照(精製水)の生菌数($1.6 \times$

$10^7 \sim 2.3 \times 10^5$, $4.1 \times 10^7 \sim 6.7 \times 10^4$)に比較して4時間作用でいずれも $2.8 \sim 6.1 \times 10^2$ と生菌数の著明な減少を示し、24時間作用で両処方末試料液から全く両菌ともに生菌数が検出されなかった。この成績からも、各処方末の抗菌的活性は同等であり、その作用性は殺菌的作用と考えられた。

各処方液による *S. aureus* および *E. coli* の生菌数の影響成績は表4に示した。両供試菌の対照(精製水)の生菌数($2.2 \sim 1.4 \times 10^7$)は、4時間、24時間、48時間でそれぞれ $7.2 \sim 8.0 \times 10^6$, $8.0 \sim 9.0 \times 10^5$, $5.4 \sim 6.8 \times 10^4$ と経時的にある程度の菌数が減少する。この対照の生菌数に比較して現行処方液は両指示菌共に4時間の作用で $2.4 \times 10^4 \sim 6.4 \times 10^2$ と生菌数の減少を示し、24時間の作用ではいずれの生菌数も検出されなかった。これに対して改良処方液では、4時間の作用で $8.2 \times 10^5 \sim 5.4 \times 10^3$ と生菌数の減少がみられるが、24時間作用後でも $1.6 \times 10^3 \sim 3.0$ の生菌数が検出された。しかし、48時間作用では全く生菌数が検出されなかった。この成績から、両処方液の抗菌的作用も末と同様に殺菌的作用と考えられた。一方、現行処方と改良処方の各液の殺菌的作用を、経時的生菌数の減少値から比較してみると、改良処方液がわずかにその作用が両菌株に対しては緩慢とみられる。このことは寒天内拡散法で *S. aureus* と *E. coli* に対する阻止帯が、不完全かやや小さい発現所見と一致するものとみられる。また、寒天内拡

表3：カルビタール現行および改良処方末による殺菌的作用

作用時間	<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P			<i>Escherichia coli</i> O-25		
	対照	現行処方	改良処方	対照	現行処方	改良処方
0	8.2×10^7	8.2×10^7	8.2×10^7	5.8×10^7	5.8×10^7	5.8×10^7
4	1.6×10^7	3.3×10^2	2.8×10^2	4.1×10^7	6.1×10^2	3.6×10^2
24	6.8×10^6	0	0	9.2×10^5	0	0
48	2.3×10^5	0	0	6.7×10^4	0	0

注。各処方末は精製水で20%懸濁液、対照は精製水を使用。数字は各液の1 ml 当たりの生菌数を示す。

表4：カルビタール現行および改良処方液による殺菌的作用

作用時間	<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P			<i>Escherichia coli</i> O-25		
	対照	現行処方	改良処方	対照	現行処方	改良処方
0	2.2×10^7	2.2×10^7	2.2×10^7	1.4×10^7	1.4×10^7	1.4×10^7
4	8.0×10^6	2.4×10^4	8.2×10^5	7.2×10^6	6.4×10^2	5.4×10^3
24	9.0×10^5	0	1.6×10^3	8.0×10^5	0	3.0
48	5.4×10^4	0	0	6.8×10^4	0	0

注。各処方液は原液、対照は精製水を使用。数字は各液の1 ml 当たりの生菌数を示す。

散法において、現行処方および改良処方の両液は空中菌株 No. 1 に対していずれも完全な発育阻止帯がみられなかったが、両液にこの菌株の 10^8 の生菌数を接種し経時的に生菌数を調べると、4時間の作用で両液ともに生菌数が全く検出されず、明らかに抗菌性を有することが確認された。

結 論

カルビタールの現行処方と改良処方の末および液素材について、それぞれ抗菌活性を比較した結果、両処方の末は、自然環境下に普遍的に存在するとみられる *B. subtilis* や真菌 (*Cladsporium* sp.) など含めた種々の細菌やカビに著明な抗菌活性を有すること、またその活性が両処方末ともに同等の力価を有し、その作用が殺菌的であった。このことから改良処方末の保存・安定性が十分に保証されるものと考えられた。

一方、両処方液は、寒天内拡散法において空中菌株 No. 1 (*Cladsporium* sp.) に対して発育阻止帯の発現が認められなかったが、両液と作用させた生菌数の測定から明らかに本菌に対しても抗菌活性を有することが確認され、また、その他の供試細菌や真菌に対してもほぼ同程度の抗菌活性を有していた。しかし、現行処方に比較して改良処方液は、*S. aureus* と *E. coli* に対してのみその活

性がわずかに劣る傾向を示したが、いずれもその作用が殺菌的であった。このことから、改良処方液の保存・安定性も十分期待できると判定された。

文 献

- 1) 関根永滋, 西條征男, 石川達也, 今西孝博, 浅井康宏, 成田むつ (1963) カルビタールを以てする生活歯髓切断法に関する臨床病理学的研究. 歯科学報, **63**: 463—473.
- 2) 西條征男, 浅井康宏, 山岸昭平, 熱田憲也, 石川達也, 関根永滋 (1966) クロロフィリン加水酸化カルシウムを以てする生活歯髓切断法に関する臨床病理学的研究. 歯科学報, **66**: 575—584.
- 3) 北川宗信 (1969) 改良カルビタールを以てする麻酔抜髄即時根管充填に関する臨床病理学的研究. 歯科学報, **69**: 88—135.
- 4) 丸島 勝 (1958) 水酸化カルシウム貼付による歯髓の創傷治癒機転について. 口腔病学会誌, **25**: 149—160.
- 5) 春山良夫 (1975) 水酸化カルシウム製剤による歯髓創面の治癒効果の比較に関する臨床病理学的研究. 歯科学報, **73**: 331—406.
- 6) 長谷川正康, 大御雅文, 大泉 栄 (1969) 改良“カルビタール”による根管充填の臨床成績並びに X 線成績. 歯科学報, **69**: 1143—1152.
- 7) 中村 武, 志村隆二, 柴田幸永, 藤村節夫 (1989) 口腔細菌に対する改良カルビタールの抗菌活性. 松本歯学, **15**: 273—280.