

35) 有機酸、有機酸塩、殺菌剤等の冷水病菌に対する抗菌作用

金辻宏明

【目的】 *Flavobacterium psychrophilum* を原因菌とするアユ冷水病は近年、非常に問題となっており、早急に対策を講じる必要がある。しかしながら、その対策は設備の必要な加温処理、耐性菌の出現が危ぶまれる一部の薬剤投薬以外には見あたらない。そこで本研究では冷水病菌の水平感染を防ぐ方法を開発する一環として通常の有機酸や一部の殺菌剤の冷水病菌に対する抗菌作用について検討した。

【方法】 供試菌には1999年3月2日に冷水病で死亡したアユの腎臓から分離した *F. psychrophilum* SG990302株を用いた。培養は供試菌を改変サイトファーガ寒天培地(MCYA)を用いて4℃で継代したものを200mlの改変サイトファーガ液体培地(MCY)に接種して15℃で振盪しながら24h行った。抗菌作用は供試薬剤としてリンゴ酸、フマル酸、乳酸、コハク酸、クエン酸Na、グリシン、タンニン酸、安息香酸Na、安息香酸、ソルビン酸、クレゾール、塩化ベンザルコニウムおよびラウリル硫酸Na(SDS)を用いて調べた。供試薬剤はMCY10mlに0.1、0.01、0.001、0.0002%になるように溶解し、高圧蒸気滅菌した。滅菌後、MCYで100倍希釈した菌液100 μ lと供試薬剤液10mlと混合し、1、5、10、20、30および60min後に混合液100 μ lをサンプリングしてMCYで100倍希釈し、希釈液20 μ lをMCYA上に滴下した。その後、15℃で培養してコロニー形成の有無を観察した。また、コロニー形成状態をコロニーがシート状(◎)、10個以上のコロニーを形成(○)、1~10個のコロニーを形成(Δ)およびコロニー形成なし(-)の4段階で評価した。

【結果】 有機酸、有機酸塩、殺菌剤等の冷水病菌に対する抗菌作用について調べた結果を表1に示した。0.1%で全く殺菌作用を示さなかったのはグリシン、安息香酸Naであった。0.1%の濃度で1minで培養菌のすべてを殺菌した薬剤はリンゴ酸、フマル酸、乳酸、コハク酸、安息香酸の5種類であった。クエン酸Naは5min後に、クレゾールは30min後に培養菌のすべてを殺菌した。タンニン酸は溶解限界の0.01%では殺菌効果は認められなかった。これら薬剤は0.1%と高濃度でしか効果がなく、殺菌作用は非常に低いと判断された。SDSは0.01%で培養菌のすべてを殺菌した。ソルビン酸は0.01%で効果が認められるものの60min後には僅かではあるが殺菌剤に抵抗してコロニーを形成する菌が認められた。本研究で用いた供試薬剤で一番効果が認められたのは塩化ベンザルコニウムで、0.001%では1min後に、0.0002%では30min後に培養菌のすべてを殺菌した認められた。本研究の結果から冷水病菌を低濃度で殺菌した薬剤は、逆性界面活性剤である塩化ベンザルコニウムだけで、有機酸等を飼育水に添加して水平感染を防除、低減する薬剤(安価で魚毒性が低く、使用時および廃棄時に法令に抵触しないもの)を見いだすことはできなかった。また塩化ベンザルコニウムの有効阻止濃度でアユに対する毒性を調べたところ、0.001%では10~20minで、0.0002%ではおよそ5h後から死亡し始め、16h後にはすべて死亡した(データ示さず)ため、飼育水に添加して抗菌性を発揮させるには実用性は低いと推察された。

表1 有機酸、有機酸塩および界面活性剤の冷水細菌に対する抗菌作用

	リンゴ酸				安息香酸Na			
	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%
1min	—	—	△	△	◎	◎	◎	◎
5min	—	△	△	△	◎	◎	◎	◎
10min	—	△	△	△	◎	◎	◎	◎
20min	—	△	△	△	◎	◎	◎	◎
30min	—	○	○	○	◎	○	◎	◎
60min	—	△	◎	◎	◎	◎	◎	◎
	フマル酸				安息香酸			
	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%
1min	—	○	◎	◎	—	◎	◎	◎
5min	—	◎	◎	◎	—	◎	◎	◎
10min	—	◎	◎	◎	—	◎	◎	◎
20min	—	◎	◎	◎	—	◎	◎	◎
30min	—	◎	◎	◎	—	◎	◎	◎
60min	—	◎	◎	◎	—	◎	◎	◎
	乳酸				ソルビン酸			
	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%
1min	—	◎	◎	◎	—	—	△	△
5min	—	◎	◎	◎	—	—	—	△
10min	—	◎	◎	◎	—	—	—	△
20min	—	◎	◎	◎	—	—	△	△
30min	—	◎	◎	◎	—	—	△	△
60min	—	◎	◎	◎	—	△	○	○
	コハク酸				クレゾール			
	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%
1min	—	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
5min	—	◎	◎	◎	△	◎	◎	◎
10min	—	◎	◎	◎	△	○	◎	◎
20min	—	◎	◎	◎	△	◎	◎	◎
30min	—	○	◎	◎	—	○	○	○
60min	—	◎	◎	◎	—	○	○	○
	クエン酸Na				塩化ベンザルコニウム			
	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%
1min	△	◎	◎	◎	—	—	—	◎
5min	—	○	◎	◎	—	—	—	○
10min	—	○	◎	◎	—	—	—	△
20min	—	○	◎	◎	—	—	—	△
30min	—	○	◎	◎	—	—	—	—
60min	—	△	◎	◎	—	—	—	—
	グリシン				SDS			
	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%
1min	△	△	△	△	ND	—	◎	◎
5min	△	△	△	△	ND	—	◎	◎
10min	○	△	△	△	ND	—	○	○
20min	○	△	△	△	ND	—	○	○
30min	○	○	◎	△	ND	—	◎	◎
60min	◎	◎	◎	○	ND	—	◎	◎
	タンニン酸				対照区			
	0.1%	0.01%	0.001%	0.0002%	—			
1min	ND	◎	◎	◎	1min	◎		
5min	ND	○	◎	◎	5min	◎		
10min	ND	○	○	○	10min	◎		
20min	ND	△	○	○	20min	◎		
30min	ND	○	○	○	30min	◎		
60min	ND	○	◎	◎	60min	◎		

◎:コロニーがシート状(20個以上のコロニー), ○:10個以上のコロニー, △:1~10個のコロニー, —:コロニーなし.