

【速報】

ポビドンヨード製剤の抗鳥インフルエンザウイルス活性

伊藤 啓史¹⁾・疋田 宗生²⁾・大塚 昭²⁾・八代 純子²⁾
喜田 宏³⁾・大槻 公一⁴⁾・伊藤 壽啓¹⁾

¹⁾鳥取大学農学部獣医公衆衛生学教室*

²⁾明治製菓株式会社

³⁾北海道大学大学院獣医学研究科動物疾病制御学講座

⁴⁾鳥取大学農学部獣医微生物学教室

(平成16年11月29日受付・平成16年12月8日受理)

鳥インフルエンザウイルスに対するポビドンヨード (PVP-I) 製剤のウイルス不活化効果を *in vitro* で検討した。各種 PVP-I 製剤 (PVP-I 消毒液, PVP-I 手指消毒液, 速乾性 PVP-I 手指消毒液, PVP-I 含嗽液, PVP-I 喉用液および動物用 PVP-I 消毒液) は H5, H7 および H9 亜型の鳥インフルエンザウイルスとわずか 10 秒間反応させることにより, ウイルス感染価を検出限界以下に低下させた。したがって, 各種 PVP-I 製剤は鳥インフルエンザウイルスを効果的に不活化する作用を有すると考えられた。

Key words: avian influenza virus, providone-iodine, anti-viral activity

鳥インフルエンザウイルスは鳥類に感染する A 型インフルエンザウイルスである。鳥インフルエンザウイルスは鶏に対してほぼ 100% の死亡率を示す高病原性と, 無症状から産卵率の低下や軽い呼吸器症状を呈する低病原性の 2 つのタイプに分類される。A 型インフルエンザウイルスにはエンベロープ上に突出するヘマグルチニン (HA) の抗原性の違いにより H1~H15 の亜型が, またノイラミニダーゼ (NA) の抗原性により N1~N9 の亜型がそれぞれ存在する。そのうち HA は本ウイルスの病原性に直接関与しており, 過去に高病原性鳥インフルエンザを引き起したウイルスは H5 および H7 の亜型のみである¹⁾。これまで, 鳥インフルエンザウイルスはヒトに直接感染することはないと考えられてきた。しかし, 1997 年に香港で H5 ウイルスによる高病原性鳥インフルエンザが発生した際には 18 名が感染し, うち 6 名が死亡した^{2,3)}。また 1999 年には同じく香港で低病原性の H9 鳥インフルエンザウイルスが 2 名に感染したことが報告された⁴⁾。その後も鳥インフルエンザウイルスによるヒトへの感染および死亡例がアジア^{5,6)}, ヨーロッパ⁷⁾, 北米⁸⁾等で報告され, 現在では鳥インフルエンザは単なる鳥類の疾病ではなく, 重要な人獣共通感染症と考えられている。

インフルエンザウイルスはエンベロープを有するウイルスで, 消毒薬に対する抵抗性は弱く, エーテルなどの脂質溶媒, 次亜塩素酸ナトリウム, グルタルール, フタルール, ポビドンヨード, 過酢酸, アルコール等が有効であるとされている⁹⁾。ポビドンヨード (PVP-I) はポリピ

ニルピロリドンとヨウ素の複合体で, 主に生体に用いる外用消毒薬として広く汎用されている¹⁰⁾。インフルエンザウイルスに対する PVP-I 製剤の不活化作用は川名ら¹¹⁾ および Wutzler ら¹²⁾により報告されている。しかし, これらの試験ではいずれもヒトのインフルエンザウイルスを用いており, 鳥インフルエンザウイルスに対する PVP-I 製剤の効果についての報告はない。そこで, 今回われわれは, 過去にヒトに感染したことがある鳥インフルエンザウイルスと同じ HA 亜型 (H5, H7 および H9) のウイルスを用い, 医療用, 一般用, 動物用の医薬品として試験に供した PVP-I 製剤の本ウイルスに対する不活化作用を *in vitro* で検討した。

PVP-I 製剤は PVP-I 消毒液 (イソジン[®]液, 製剤原液中の PVP-I 含有量: 10 W/V%), PVP-I 手指消毒液 (イソジン[®]スクラブ, 同: 7.5 W/V%), 速乾性 PVP-I 手指消毒液 (イソジン[®]パーム, 同: 0.5 W/V%), PVP-I 含嗽液 (イソジン[®]ガーグル, 同: 7.0 W/V%), PVP-I 喉用液 (イソジン[®]のどフレッシュ, 同: 0.45 W/V%) および動物用 PVP-I 消毒液 (イソジン[®]液 (動物用医薬品), 同: 10 W/V%) (いずれも明治製菓) を用いた。各 PVP-I 製剤は原液あるいは試験直前に滅菌蒸留水で希釈して用いた。試験に用いた各 PVP-I 製剤の濃度は用量・用法に規定された濃度を中心に設定した。被験ウイルスは 2004 年に京都のカラスから分離された高病原性の A/crow/Kyoto/T2/04 (H5 亜型, 以下 Cr/T2 株) および低病原性の A/whistling swan/Shimane/499/83 (H5 亜型, 以下 Sw/499 株), A/whistling swan/Shimane/42/80 (H7 亜型, 以下 Sw/42

*鳥取県鳥取市湖山町南 4 101

Table 1. Virucidal activity of PVP-I against influenza viruses

PVP-I ^{a)} product	PVP-I concentration (%) ^{b)}	Mean titer of remaining viruses (EID ₅₀ /0.1 mL)			
		HPAI ^{c)}		LPAI ^{d)}	
		Cr/T2 (H5)	Sw/499 (H5)	Sw/42 (H7)	Dk/26 (H9)
PVP-I solution	2	e)			
PVP-I scrub	0.5				
PVP-I palm	0.25				
PVP-I gargle	0.23				
PVP-I throat spray	0.23				
PVP-I solution for animals	2				
Control (PBS)	0	10 ^{6.5}	10 ^{4.8}	10 ^{5.5}	10 ^{4.8}

a) PVP-I: povidone-iodine

b) Numbers show the final concentration of each PVP-I product

c) HPAI: highly pathogenic avian influenza virus

d) LPAI: low-pathogenic avian influenza virus

e) Below detection limit

株)および A/duck/Hokkaido/26/99(H9 亜型, 以下 Dk/26 株) の計 4 株で, 10 日齢発育鶏卵の漿尿膜腔に接種し, 37 で 2 日間増殖させたものを用いた。試験方法は川名ら¹¹⁾の報告を参考に以下のごとく行った。被験ウイルス 0.25 mL に PVP-I 製剤 0.25 mL を混合し 25 で 10 秒間反応させた後, ただちに 0.5% チオ硫酸ナトリウムを含むリン酸緩衝液 (pH7.0) を加え, 反応を停止させた。反応液は 10⁰ ~ 10⁷ に 10 倍階段希釈し, その 0.1 mL を 10 日齢発育鶏卵の漿尿膜腔に接種した。発育鶏卵は 37 で 2 日間培養し, 赤血球凝集試験により漿尿液中のウイルスの増殖の有無を確認し, Reed and Muench¹³⁾の方法により反応液中に残存したウイルス感染価を求めた。なお, Cr/T2 株を用いた試験は北海道大学獣医学研究科内の P3 実験施設で実施した。

試験結果を Table 1 に示した。いずれの PVP-I 製剤も試験に供した各製剤の各濃度においてわずか 10 秒間の作用で, 病原性あるいは HA 亜型に関わらずいずれのウイルスをも完全に不活化した。

鳥インフルエンザウイルスに限らずインフルエンザウイルスの感染予防には手洗いやうがいがあることが知られている。本研究により *in vitro* において PVP-I 手指消毒液や PVP-I 含嗽液が鳥インフルエンザウイルスの不活化に十分な効果をもつことが明らかにされた。したがって, PVP-I 製剤は高病原性鳥インフルエンザの発生地や医療現場においても, ヒトの鳥インフルエンザウイルスの感染予防に効果が期待できるものと考えられた。

文 献

- 1) Alexander D J: A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol* 74: 3 ~ 13, 2000

- 2) Subbarao K, Klimov A, Katz J, et al: Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness. *Science* 279: 393 ~ 396, 1998
- 3) Claas E C, Osterhaus A D, van Beek R, et al: Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. *Lancet* 351: 472 ~ 477, 1998
- 4) Peiris M, Yuen K Y, Leung C W, et al: Human infection with influenza H9N2. *Lancet* 354: 916 ~ 917, 1999
- 5) WHO: Influenza A (H5N1) Hong Kong Special Administrative Region of China-update¹. *Wkly Epidemiol Rec* 78: 65 ~ 72, 2003
- 6) Tran T H, Nguyen T L, Nguyen T D, et al: Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *N Engl J Med* 350: 1179 ~ 1188, 2004
- 7) Fouchier R A, Schneeberger P M, Rozendaal F W, et al: Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 1356 ~ 1361, 2004
- 8) WHO: Influenza. *Wkly Epidemiol Rec* 79: 145 ~ 152, 2003
- 9) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知: 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き。2004 年 1 月 30 日健感発第 0130001 号
- 10) 波多江新平, 毛部川弘行, 浜野有美子, 他: 主要な消毒薬の特徴と使い方。 *臨床と微生物* 29: 367 ~ 372, 2002
- 11) 川名林治, 北村 敬, 千葉峻三, 他: ポビドンヨード (PVP-I) によるウイルスの不活化に関する研究 市販の消毒剤との比較。 *臨床とウイルス* 26: 371 ~ 386, 1998
- 12) Wutzler P, Sauerbrei A, Klockung R, et al: Virucidal activity and cytotoxicity of the liposomal formulation of povidone-iodine. *Antiviral Res* 54: 89 ~ 97, 2002
- 13) Reed L J, Muench H: A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am J Hyg* 27: 493, 1938

Virucidal efficacy of povidone-iodine products against avian influenza viruses

Hiroshi Ito¹⁾, Muneo Hikida²⁾, Akira Otsuka²⁾, Junko Yashiro²⁾,
Hiroshi Kida³⁾, Koichi Otsuki⁴⁾ and Toshihiro Ito¹⁾

¹⁾Department of Veterinary Public Health and ⁴⁾Department of Veterinary Microbiology,
Faculty of Agriculture, Tottori University, 4 101 Koyama-cho, Minami, Tottori, Japan

²⁾Meiji Seika Kaisha, Ltd.

³⁾Department of Disease Control, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University

The *in vitro* virucidal efficacy of povidone-iodine products against avian influenza viruses was investigated. The viral infectious titers were reduced below the detection limit by incubation with the povidone-iodine products used in this study(PVP-I solution, PVP-I scrub, PVP-I palm, PVP-I gargle, PVP-I throat spray and PVP-I solution for animals) for only 10 seconds. These results indicate the virucidal efficacy of these povidone-iodine products against avian influenza viruses.