

【短報】

豚由来インフルエンザウイルスに対するポビドンヨード製剤の効果

伊藤 啓史¹⁾・疋田 宗生²⁾・八代 純子²⁾・喜田 宏³⁾・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微生物学教室

(平成 21 年 8 月 28 日受付・平成 21 年 10 月 13 日受理)

豚インフルエンザウイルス (H1N1, H3N2, H1N2) に対するポビドンヨード (PVP-I) 製剤の効果をもとに *in vitro* で検討した。各種 PVP-I 製剤 (PVP-I 消毒液, PVP-I 含嗽液, PVP-I 手指消毒液および速乾性 PVP-I 手指消毒液) は、わずか 10 秒の反応時間で豚インフルエンザウイルスの感染価を検出限界以下に低下させた。したがって、本研究で使用した PVP-I 製剤は *in vitro* において豚インフルエンザウイルスに対する殺ウイルス効果を有することが明らかとなり、少なくとも *in vitro* において新型インフルエンザウイルスに対しても同様の有効性をもつ可能性が示された。

Key words: swine influenza virus, povidone-iodine, virucidal activity

2009 年 4 月、米国およびメキシコにおいて H1N1 亜型の豚インフルエンザウイルスの感染によるヒトのインフルエンザ (新型インフルエンザ) の発生が報告された^{1,2)}。ウイルスはヒト-ヒト感染し、短期間のうちに世界中に伝播した。同年 6 月 12 日には世界保健機構 (WHO) によるパンデミックインフルエンザ警戒レベルが最高レベルのフェーズ 6 に引き上げられた。WHO によると、これまでに 168 の国や地域での発生と 162,380 名の感染者、1,154 名の死者が確認されている (http://www.who.int/csr/don/2009_08_04/en/index.html)。そのため各国に対してワクチン接種を推奨している現状にある。日本においても、最初の感染者が確認されてから 2 カ月も経たないうちに累積感染者数が 5,000 名を超え、感染が急速に拡大した。その後も感染は終息することなく続いており、秋以降のインフルエンザ流行期におけるさらなる感染拡大が懸念されている。

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、グルタラル、フタラル、ポビドンヨード (PVP-I)、過酢酸、アルコール等が有効である³⁾。PVP-I はポリビ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⁴⁾。PVP-I 製剤の *in vitro* におけるインフルエンザウイルスに対する効果はヒトあるいは鳥由来のインフルエンザウイルスを用いて川名ら⁴⁾、伊藤ら⁵⁾および Wutzler ら⁶⁾により報告されているが、今回の新型インフルエンザウイルスに対する効果は明らかではない。

インフルエンザウイルスの基本的な物理学的性状はウイルスの由来 (宿主) や亜型にかかわらずほぼ同じであることから、消毒薬等に対する感受性もウイルス株間で大きな違いはないことが予測される。しかし一方で、亜型の異なるウイルス株間でわずかなものではあるものの熱や pH に対する抵抗性が異なっていたことが報告されており⁷⁾、PVP-I 製剤に対する感受性が由来や亜型によって異なる可能性を完全に否定することはできない。そこで本研究では、これまで PVP-I 製剤の有効性が明らかでなかった H1N1 亜型で、且つ新型インフルエンザウイルスと元来の宿主を同じくする豚インフルエンザウイルスを用いた試験を *in vitro* で実施し、PVP-I 製剤の新型インフルエンザウイルスに対する効果を推察した。さらに H1N1 とは異なる亜型 (H3N2 および H1N2) の豚インフルエンザウイルスについても同様の試験を行った。H3N2 および H1N2 豚インフルエンザウイルスは豚集団で維持されており、なかでも H3N2 ウイルスは散発的ではあるものの人への感染事例が報告されている⁸⁾ことから、今後ヒトへの感染や流行の可能性も否定できないウイルスである。

試験に用いた PVP-I 製剤は、医療用医薬品の PVP-I 消毒液 (販売名: イソジン液[®]10%, 製剤原液中の PVP-I 含有量: 10 W/V%), PVP-I 含嗽液 (イソジンガーグル[®]液 7%, 7.0 W/V%), PVP-I 手指消毒液 (イソジンスクラブ[®]液 7.5%, 7.5 W/V%) および速乾性 PVP-I 手指消毒液 (イソジン[®]パーム液 0.5%, 0.5 W/V%) と一般用医薬品の PVP-I 含嗽液 (イソジン[®]うがい薬, 7.0 W/V%) および PVP-I 手指消毒液 (イソジン[®]ウォッシュ, 7.5 W/V%)

*鳥取県鳥取市湖山町南 4-101

Table 1. Virucidal activity of povidone-iodine (PVP-I) against swine influenza viruses

PVP-I product	PVP-I concentration (W/V%) ^{a)}	Titer of remaining virus (EID ₅₀ /mL)		
		A/swine/Iowa/15/30 (H1N1)	A/swine/Obihiro/10/85 (H3N2)	A/swine/Chiba/28/91 (H1N2)
PVP-I solution *	1	— ^{b)}	—	—
PVP-I gargle *	0.23	—	—	—
PVP-I scrub *	0.5	—	—	—
PVP-I palm *	0.25	—	—	—
PVP-I ugaigusuri **	0.23	—	—	—
PVP-I wash **	0.5	—	—	—
PBS	0	10 ^{7.25}	10 ^{6.50}	10 ^{6.50}

^{a)} Numbers show the final concentration of each PVP-I product

^{b)} Below detection limit (10^{0.5} EID₅₀/mL)

* Ethical drug

** Over-the-counter drug

(いずれも明治製菓(株))である。各PVP-I製剤は用法・用量に規定された濃度を参考に原液あるいは使用直前に滅菌蒸留水で希釈して試験に供した。被験ウイルスは豚インフルエンザウイルス A/swine/Iowa/15/30(H1N1), A/swine/Obihiro/10/85(H3N2)およびA/swine/Chiba/28/91(H1N2)の計3株で、10日齢発育鶏卵の漿尿膜腔に接種し、37°Cで2日間増殖させたものを用いた。試験方法は川名ら⁴⁾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を混合し室温で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生理食塩水(以下、PBS)(pH 7.2)を加え、反応を停止した。反応液は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°C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とMuench⁹⁾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PVP-I製剤の代わりに滅菌PBSを用いて、同様の操作を行ったものを対照とした。

試験結果をTable 1に示した。対照試験におけるウイルス感染価は10^{6.50}~10^{7.25} 50%発育鶏卵感染量(EID₅₀)/mLで、感染価の低下は認められなかった。一方、いずれのPVP-I製剤もわずか10秒間の反応時間で、亜型にかかわらず試験に供したすべての豚インフルエンザウイルスの感染価を検出限界以下(10^{0.5} EID₅₀/mL)まで低下させた(少なくとも6 logの低下)。

新型インフルエンザウイルスに対する免疫は一部の年齢層の人しかもっておらず¹⁰⁾、また、従来の季節性インフルエンザ用のワクチンは新型インフルエンザウイルスには効果がない¹¹⁾。さらに新型インフルエンザウイルスに対するワクチンの供給も当初の予定供給数を下回ることが報道されており、流行の拡大に対しては個人レベルでの予防対策が重要となる。新型インフルエンザは従来のインフルエンザと同様に飛沫感染および接触感染するため、予防には人混みを避ける、マスクの着用、うがいお

よび手洗い等が予防策として有効と考えられる。Shiraishiら¹²⁾、栗村ら¹³⁾はPVP-I製剤を用いたうがいによりインフルエンザを含めた風邪による学童の欠席率が低下したことを報告しており、インフルエンザ拡散防止に対してPVP-I製剤の使用は有効であると考えられる。

本試験では*in vitro*においてはああるが、うがいおよび手指消毒用のPVP-I製剤がH1N1亜型を含めた3つの亜型の豚インフルエンザウイルスに対して十分な効果をもつことが明らかにされた。インフルエンザに対するPVP-I製剤の効果を考える場合、*in vitro*における殺ウイルス効果に加え、口腔や手指に存在する有機物による効果の減弱を考慮する必要がある。国定ら^{14,15)}は有機物(ヒト血清)の存在によりPVP-I製剤の抗菌活性は減弱するものの、適正な使用濃度を設定することで十分な抗菌活性が得られることを報告している。このことはウイルスに対しても同様と考えられるが、今後の試験により、有機物存在下においてもインフルエンザウイルスに有効なPVP-I製剤の濃度を確認する必要があるであろう。

これまでにPVP-I製剤の*in vitro*における殺インフルエンザウイルス効果は、H3N2ヒトインフルエンザウイルス、H5N1、H5N3、H7N7およびH9N2鳥インフルエンザウイルスについて明らかにされていたが、本試験結果からより広範囲のインフルエンザウイルスに対して同様の効果をもつことが確認された。したがって、本研究で使用したPVP-I製剤は、少なくとも*in vitro*において新型インフルエンザウイルスに対しても同様の有効性をもつことが示唆された。

文 献

- Centers for Disease Control and Prevention: Swine influenza A (H1N1) infection in two children—Southern California, March–April 2009. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58: 400-2
- Centers for Disease Control and Prevention: Outbreak of swine-origin influenza A (H1N1) virus infection—Mexico, March–April 2009. MMWR Morb

- Mortal Wkly Rep 2009; 58: 467-70
- 3) 波多江新平, 毛部川弘行, 浜野有美子, 丸山 徹: 主要な消毒薬の特徴と使い方。臨床と微生物 2002; 29: 367-72
 - 4) 川名林治, 北村 敬, 千葉峻三, 中込 治, 松本一郎, 有田峯生, 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 1998; 26: 371-86
 - 5) 伊藤啓史, 疋田宗生, 大塚 昭, 八代純子, 喜田 宏, 大槻公一, 他: 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。日化療会誌 2005; 53: 20-2
 - 6) Wutzler P, Sauerbrei A, Klöcking R, Brögmann B, Reimer K: Virucidal activity and cytotoxicity of the liposomal formulation of povidone-iodine. Antiviral Res 2002; 54: 89-97
 - 7) 伊藤壽啓, 伊藤啓史, 大槻公一, 指原信廣, 長谷川峯夫: 加熱した卵黄内における鳥インフルエンザウイルスの生残性。食品衛生研究 2004; 54: 21-4
 - 8) Myers K P, Olsen C W, Gray G C: Cases of swine influenza in humans: a review of the literature. Clin Infect Dis 2007; 44: 1084-8
 - 9) Reed L J, Muench H: A simple method of estimating fifty percent endpoints. Am J Hyg 1938; 27: 493-7
 - 10) Itoh Y, Shinya K, Kiso M, Watanabe T, Sakoda Y, Hatta M, et al: In vitro and in vivo characterization of new swine-origin H1N1 influenza viruses. Nature advance online publication 13 July 2009; Published online 13 July 2009
 - 11) Centers for Disease Control and Prevention: Serum cross-reactive antibody response to a novel influenza A (H1N1) virus after vaccination with seasonal influenza vaccine. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58: 521-4
 - 12) Shiraiishi T, Nakagawa Y: Evaluation of the bactericidal activity of povidone-iodine and commercially available gargle preparations. Dermatology 2002; 204 (Suppl 1): 37-41
 - 13) 栗村 敬, 浅中美幸, 板垣朝夫: ウイルス感染症対策とポビドンヨード。BIOMedica 1987; 2: 1223-6
 - 14) 国定孝夫, 山田恵子, 織田志保美, 原 修: MRSA に対する各種消毒剤の殺菌効果。日本環境感染学会誌 1999; 14: 142-7
 - 15) 国定孝夫, 山田恵子, 織田志保美, 折笠義則: グラム陰性菌に対する各種消毒剤の殺菌効果。日本環境感染学会誌 2000; 15: 156-62

Virucidal efficacy of povidone-iodine products against swine influenza viruses

Hiroshi Ito¹⁾, Muneo Hikida²⁾, Junko Yashiro²⁾,
Hiroshi Kida³⁾ and Toshihiro Ito¹⁾

¹⁾ Department of Veterinary Public Health, 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 swine influenza viruses (H1N1, H3N2 and H1N2) was investigated. The viral infectious titers were reduced below detection limit by incubation with povidone-iodine products used in this study (PVP-I solution, PVP-I gargle, PVP-I scrub and PVP-I palm) for only 10 seconds. These results indicate that these povidone-iodine products have *in vitro* virucidal efficacy against swine influenza viruses, and also may have sufficient effect against new influenza A (H1N1) viruses.