

Isodine の *Pseudomonas* および *Acinetobacter* に対する抗菌性について

仁田原 義之・宮 村 定 男

新潟大学医学部細菌学教室

(昭和 54 年 2 月 28 日受付)

Isodine の *Pseudomonas aeruginosa*, *P. cepacia*, *P. maltophilia* および *Acinetobacter calcoaceticus* に対する抗菌性を検討した。Isodine は有機物の存在により速やかに不活化されるので、普通培地に薬剤を含ませる一般の方法で測定された最小発育阻止濃度の値は極めて高い。石炭酸係数も標準法に比し、生理的食塩水で作成した菌液を用いた場合が 10 倍も低くなり、その値は 16~20 を示した。

Isodine は殺菌性を主とし、それは極めて短時間で作用し、供試菌株を 5 秒以内で 0.04~0.39 mg/ml の濃度で殺菌した。また接触時間の延長による濃度の差は Hibitane よりも小さかった。

## 序 文

化学療法の発展は目ざましいものがあるが局所的に用いられる消毒薬についてはその開発は比較的少ない。なお従来ひろく用いられてきた水銀系消毒薬が、その副作用により使用の制限をうけてからこれに代るべき消毒薬の出現がひろく要望されている。

Isodine は Povidone-iodine, 化学名 Poly-[1-(2-oxo-1-pyrrolidiny) ethylene] iodine complex の水溶液で、ヨウ素を遊離することにより殺菌作用を示し、これからの消毒薬として有望視されている<sup>1)2)3)</sup>。そこで今回この薬剤の消毒力について、細菌の中で化学療法剤に強い抵抗性を有し、また最近日和見感染菌として注目されている *Pseudomonas* および *Acinetobacter* に対する作用を検討したので報告する。

## 材 料 と 方 法

1. 使用薬剤：明治製菓株式会社から提供をうけた Isodine 液を用いた。このものは 1 ml 中に Isodine, すなわち Povidone-iodine 100 mg (有効ヨウ素として 10 mg) を含有する液剤で、弱いヨウ素臭を有し、水に可溶である。

なお一部対照として Chlorhexidine gluconate (市販名 Hibitane) を供試した。

2. 使用菌株：*Pseudomonas aeruginosa* 21 株, *Pseudomonas cepacia* 5 株, *Pseudomonas maltophilia* 7 株および *Acinetobacter calcoaceticus* 3 株を用いた。このうち *P. aeruginosa* の 17 株は標準株として東芝生物化学研究所から分与をうけたもので、他は新潟大学付属病院の臨床材料から分離同定したものである。実験によってはこのうち各菌種 3 株ずつを選んだ。

3. 実験方法：

## 1) 最小発育阻止濃度の測定

抗生物質における測定法として用いられている寒天平板希釈法によった。すなわち普通寒天培地に各種濃度の薬剤を含ませた平板を作製、この表面に試験菌のハートインフュージョン (HI) プイオン 18 時間培養を毛細管ピペットで 1 滴ずつ接種、37°C に 24 時間培養後、現出した集落を肉眼で判定して集落の認められない最小濃度を最小発育阻止濃度 (MIC) とした。

## 2) 石炭酸係数の測定

標準石炭酸係数測定法<sup>4)</sup>によった標準法は試験菌の 24 時間プイオン培養を接種するものであるが、別に生理的食塩水に試験菌を 10<sup>8</sup> 個/ml を浮遊させたものについても実験した。

## 3) 殺菌時間ならびに殺菌濃度の測定

10<sup>8</sup> 個/ml の菌液 1 滴を、滅菌蒸留水で倍数希釈を行った各種濃度の薬剤 10 ml に混合、5, 10, 20, 30 および 60 秒、2, 5, 10, 30 および 60 分接触後、その 1 白金耳を 5 ml の HI プイオンに接種、37°C に 48 時間培養して、混濁により生菌の有無を判定した。この際も菌液はプイオンをもって作製したものと生理的食塩水で作製したものと 2 種類の差についての比較も行った。

## 成績ならびに考察

## 1. 最小発育阻止濃度

その成績は Table 1 に示すとおりで、化学療法における正規の方法で判定した Isodine の発育阻止濃度は *Pseudomonas* の 3 菌種および *Acinetobacter calcoaceticus* において菌種間の差なく、6~8 mg/ml であった。この値は従来の消毒薬に比しかなり高い。この原因として Isodine の有機物による不活性が考えられる。

Table 1 Minimal inhibitory concentration of Isodine by agar plate dilution method

Strain	Serotype	Isodine (mg/ml)	Strain	Isodine (mg/ml)
<i>P. aeruginosa</i>			<i>P. cepacia</i>	
11D 1,001	A	7	N 533	8
11D 1,002	B	6	N 535	8
11D 1,007	B	7	N 539	6
11D 1,013	B	7	N 612	7
11D 5,004	B	7	N 636	7
11D 1,003	C	6	N 663	6
11D 1,004	D	7	<i>P. maltophilia</i>	
11D 1,005	E	7	N 514	7
11D 1,006	F	7	N 554	7
11D 1,008	G	7	N 571	7
11D 1,009	H	8	N 646	7
11D 1,010	I	7	N 699	7
11D 1,011	J	6	N 780	8
11D 1,012	K	7	N 791	7
11D 1,014	L	7	<i>A. calcoaceticus</i>	
11D 5,018	M	7	N 228	6
11D 1,015	M	7	N 235	6
N 326	M	7	N 251	6
N 344	B	7		
N 360	B	7		
N 377	M	8		

Table 2 Phenol coefficient of Isodine (Standard method)

Test strain	Dilution		Coefficient
	Isodine	Phenol	
<i>P. aeruginosa</i>			
11D 1,001	110	90	1.22
11D 1,003	95	85	1.12
11D 1,006	160	85	1.88
11D 1,009	105	95	1.11
11D 1,012	115	100	1.15
11D 1,014	90	90	1.00
11D 1,015	140	100	1.40
N 360	110	75	1.47
<i>P. cepacia</i>			
N 533	145	100	1.45
N 612	125	90	1.39
<i>P. maltophilia</i>			
N 514	135	85	1.59
N 571	140	85	1.65

Table 3 Phenol coefficient of Isodine (Modified method\*)

Test strain	Dilution		Coefficient
	Isodine	Phenol	
<i>P. aeruginosa</i>			
11D 1,001	2,000	115	17.39
11D 1,006	2,200	110	20.00
11D 1,012	2,200	120	18.33
11D 1,015	2,000	120	16.67
<i>P. cepacia</i>			
N 533	1,900	110	17.27
<i>P. maltophilia</i>			
N 514	1,800	100	18.00

\* Bacterial suspension in physiological saline was used instead of 24 hr. broth culture of test organisms.

Table 4 Bacetricidal action of Isodine and Hibitane against *Pseudomonas* and *Acinetobacter*

	Strain	Contact time											
		Second					Minute						
		5	10	20	30	60	2	5	10	30	60		
Isodine (mg/ml)	<i>P. aeruginosa</i>												
	D 1,001	0.39	0.39	0.39	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
	D 1,006	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.09
	D 1,015	0.39	0.39	0.39	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
	<i>P. cepacia</i>												
	N 533	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
	N 535	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
	N 539	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
	<i>P. maltophilia</i>												
	N 514	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
	N 554	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
	N 571	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
<i>A. calcoaceticus</i>													
N 228	0.39	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.09	
N 235	0.39	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	
N 251	0.39	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	
Hibitane (mg/ml)	<i>P. aeruginosa</i>												
	D 1,001	0.39	0.19	0.19	0.19	0.04	0.04	0.04	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
	D 1,006	0.39	0.39	0.19	0.09	0.04	0.04	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	D 1,015	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.04	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	<i>P. cepacia</i>												
	N 535	12.5	6.25	6.25	6.25	3.12	1.56	1.56	0.78	0.19	0.04	0.04	0.04
	N 535	12.5	12.5	12.5	12.5	3.12	3.12	3.12	0.78	0.19	0.09	0.09	0.09
	N 539	12.5	12.5	12.5	12.5	6.25	3.12	3.12	0.39	0.19	0.09	0.09	0.09
	<i>P. maltophilia</i>												
	N 514	0.39	0.39	0.19	0.19	0.09	0.04	0.04	0.04	0.02	0.01	0.01	0.01
	N 554	0.39	0.39	0.19	0.19	0.09	0.04	0.04	0.04	0.04	0.02	0.01	0.01
	N 571	0.39	0.39	0.39	0.09	0.09	0.04	0.04	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01
	<i>A. calcoaceticus</i>												
	N 228	0.78	0.39	0.39	0.39	0.39	0.19	0.19	0.04	0.02	0.02	0.02	0.02
	N 235	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.19	0.19	0.09	0.04	0.04	0.04	0.04
N 251	0.39	0.39	0.39	0.19	0.09	0.04	0.04	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	

Table 5 Minimal tidal concentration in mg/ml (dilution) of Isodine in contact for one minute

Strain	Inoculum				A : B
	A*		B**		
<i>P. aeruginosa</i>	11D 1,001	0.78(128)	0.19( 521)	4	8
	11D 1,011	0.78(128)	0.09(1,024)	8	32
	11D 1,012	3.12( 32)	0.09(1,024)	32	
<i>P. cepacia</i>	N 535	1.56( 64)	0.19( 512)	8	16
	N 663	1.56( 64)	0.09(1,024)	16	
<i>P. maltophilia</i>	N 514	0.39(256)	0.09(1,024)	4	

\*A Prepared by broth \*\*B Prepared by physiological saline

すなわち培地成分によりヨウ素は容易に還元されて褪色し、有効性を失う<sup>1)</sup>。その結果、表のように高いMICを示すものと考えられ、従って化学療法剤に用いられるとおり、培地稀釈による最小発育阻止濃度測定法は Isodine には不適當のものと考えられる。

### 2. 石炭酸係数

*Pseudomonas* を試験菌とし、Isodine の標準法による石炭酸係数は、Table 2 に示すとおり、1.00~1.88 の値を示した。これは従来の報告とよく一致するが、この場合も培地の影響をうけていると考えられる。すなわち標準法では菌液としてブイヨン培養が用いられ、それによる Isodine の不活化が予想される。よって次に試験菌を生理的食塩水で  $10^8$  個/ml 浮遊させたものについて実験した。その結果、Table 3 に示すとおり石炭酸係数値は 16~20 に上昇した。

### 3. 接触時間と殺菌濃度

*Pseudomonas* の各菌種および *Acinetobacter* からそれぞれ3菌株ずつ選び、接触時間に対する Isodine の殺菌濃度を測定した。この際比較として Hibitane についても実験した。その結果は Table 4 に示すとおり、両薬剤とも5秒間の接触で殺菌作用を示す。Hibitane は接触時間が延長するに従い濃度が低くなるが、Isodine はその差が少ない。いずれにしろ、実際の使用濃度では

共に5秒以内で有効であることが認められた。

なお *Pseudomonas* と *Acinetobacter* の各菌種別に見ると、Isodine は菌種間に殆んど差が見られなかったが、Hibitane は *P. cepacia* が他の菌種に比しやや高い値を示した。

この場合も菌液がブイヨンで調製された場合と生理的食塩水で調製された場合と、Table 5 に示すとおり、著しい差を示した。菌量は共に  $10^8$  個/ml で、1分間作用で測定した場合ブイヨンによる菌液は殺菌力が4~32倍低下する。

### 文 献

- 1) SAGGERS, B. A. & G. T. STEWART: Polyvinylpyrrolidone-iodine: An assessment of antibacterial activity. *J. Hyg.* 62: 509~518 1964
- 2) 石坂哲夫, 近藤芳子, 安生紗枝子, 屋田順子: 各種消毒薬のグラム陰性桿菌に対する殺菌作用(1) 病院薬学 1: 69~72, 1975
- 3) 安生紗枝子, 佐藤たか子, 加賀美操, 屋田順子, 近藤芳子, 石坂哲夫, 五島差智子, 金子康子: 各種消毒薬の主としてシュードモナス属に対する殺菌作用。病院薬学 2: 84~87, 1976
- 4) 細菌学実習提要(丸善)p. 335
- 5) 坂 義人: Povidone-Iodine (Isodine) の緑膿菌に対する殺菌効果と褪色について。日泌尿会誌 64: 829~836, 1973

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ISODINE AGAINST *PSEUDOMONAS* AND *ACINETOBACTER*

YOSHIYUKI NITAHARA and SADA O MIYAMURA

Department of Bacteriology, Niigata University School of Medicine

Antibacterial activity of Isodine, an iodine antiseptic, was studied against *Pseudomonas aeruginosa*, *P. cepacia*, *P. maltophilia* and *Acinetobacter calcoaceticus*. The minimal inhibitory concentrations determined by the usual method showed low sensitivity, because the presence of organic matter in the nutrient medium had a reducing effect on this drug. As to phenol coefficient, the modified procedure using bacterial suspension in physiological saline instead of broth culture of the test strains enhanced the coefficients about 10 times that of the standard method.

Isodine rapidly killed the test bacteria and the minimal concentrations were 0.04~0.39 mg/ml in contact for 5 seconds. The prolongation of the contact time had little effect on the activity.