

口腔内病原性細菌に対する *in vitro* での ポビドンヨード溶液の殺菌効果

鴨井久一 宮田裕之 扇正一 清水智幸
小出和良 中島茂 小島武志 西澤聡
東堤稔¹⁾ 坂本雅子¹⁾ 土屋利政²⁾ 波多江新平²⁾

日本歯科大学歯学部歯周病学教室

(主任：鴨井久一教授)

¹⁾ 大阪大学微生物病研究会

(主任：東堤稔教授)

²⁾ 明治製菓学術部

(主任：土屋利政)

(平成2年1月19日受付)

Bactericidal Effects of Povidone-Iodine Solution to Oral Pathogenic Bacteria *in vitro*

Kyuichi KAMOI, Hiroyuki MIYATA, Shoichi OHGI, Tomoyuki SHIMIZU,
Kazuyoshi KOIDE, Shigeru NAKAJIMA, Takeshi KOJIMA, Satoshi NISHIZAWA,
Minoru HIGASHITSUTUMI¹⁾, Masako SAKAMOTO¹⁾, Toshimasa TUCHIYA²⁾ and Shinpei HATAE²⁾

Department of Periodontology, School of Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University¹⁾

2-3-16, Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo, 102, Japan

(Chief: Prof. Kyuichi KAMOI)

¹⁾ The Research Foundation for Microbial Diseases, Osaka University²⁾

(Chief: Prof. Minoru HIGASHITSUTUMI)

²⁾ Meiji Seika KAISHA, LTD³⁾

(Chief: Director Toshimasa TUCHIYA)

Seven species (*Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga sp.*, *Eikenella corrodens*) as periodontal pathogenetic bacteria and two control species (*Streptococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*) were selected in order to study the bactericidal effects of 10% povidone-iodine solution (PVP-I) *in vitro*.

Povidone-iodine was diluted 100×, 400×, 800×, 1,600×, 3,200×, 6,400× and 12,800× and contact times were 15 sec, 30 sec and 60 sec.

Strongest bactericidal effects on the seven periodontal pathogenic bacteria and two control bacteria were seen at a dilution of 400× and contact time of 15 sec.

Based on these findings, we advocate 0.25% PVP-I for oral mucosa and periontal pocket irrigation.

Key words : Povidone-Iodine, Chlorhexidine Gluconate, Periodontal Pathogenic Bacteria

要旨 : 歯周病原菌といわれる7菌種 (*Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga ochraceae*, *Eikenella corrodens*) 及び対照として2菌種 (*Streptococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*) に対して、ポビドンヨード液 (10% PVP-I) を用いて、その殺菌効果を *in vitro* で検討した。希釈倍率は原液及び100倍, 400倍, 800倍, 1,600倍, 3,200倍, 6,400倍, 12,800倍までを設定し、PVP-I 接触時間は15秒, 30秒, 60秒とした。その結果、歯周病原菌7菌種、対照2菌種に対するPVP-Iの殺菌効果は、400倍希釈, 15秒 (最少接触時間) で殺菌効果が認められた。このことは、口腔粘膜の殺菌及び歯周ポケット内へのPVP-I薬液投与の有効性を示唆するものである。

索引用語 : ポビドンヨード, クロルヘキシジグルコネート, 歯周病原菌

緒 言

1867年にリスターが手指の消毒用としてフェノールを用いて以来、多くの殺菌消毒剤が開発されてきた。その中でヨウ素製剤は種類が多くその使用も簡便なため、医学・歯学領域において現在も広く応用されている。

ポビドンヨード (PVP-I) は、ポリビニルピロリドンとヨウ素の複合体¹⁾で、ポリビニルピロリドンは、水に可溶性で、生体組織に親和性がみられる²⁻⁴⁾。

ヨウ素はポリビニルピロリドンと強固な複合体を形成することで水に可溶性となり、また化学的にも安定な状態となる。複合体を形成すると、本来のヨウ素の効果を失うことなく、その刺激性や毒性を最小限に押えることができる点²⁾などで、ヨウ素単味より優れている。従来ポビドンヨードはGram陽性菌, Gram陰性菌をはじめ真菌や一部のウイルスにも有効⁵⁾で刺激性も弱く皮膚, 粘膜に使用できるため、外科的手術部位の消毒や口腔内の含嗽剤として今日広く使用されている⁶⁾。

歯周病領域では、以前より、局所粘膜の殺菌消毒剤としてクロルヘキシジグルコネート (CHG) が使用されていたが、CHGは、アレルギー反応やアナフィラキシーショックを起こすことから、現在その使用が中止されている。そこで我々は、CHGに代わる局所殺菌消毒剤としてPVP-Iに注目し、歯周疾患に関連が深いと考えられている細菌に対して、*in vitro* で殺菌効果を調べ、その有効性について検討したので、その大要をここに報告する。

材料および方法

1. 供試菌株

Bacteroides gingivalis 381

Bacteroides intermedius ATCC 33563

Bacteroides melaninogenicus ATCC 25845

Fusobacterium nucleatum 364

Actinobacillus actinomycetemcomitans Y 4

Eikenella corrodens 1073

Capnocytophaga ochraceae ATCC 33596

Streptococcus intermedius (Autologous)

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

以上の菌株は、三菱油化ビーシーエルに継代保存されていたものである。

Bacteroides intermedius や *Eikenella corrodens* は、炎症が歯肉に限局する場合にその数を増し、*Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Fusobacterium nucleatum* 等は、成人性歯周炎において多数検出されることが報告されている⁷⁾。*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga ochraceae* は、若年性歯周炎や重度進行性歯周炎に関与していることが知られている。*Streptococcus intermedius* はGram陽性の球菌、*Pseudomonas aeruginosa* はGram陰性の運動性桿菌であり、この2菌種を対照として用いた。

2. 試験薬剤

試験薬剤と、その希釈倍率および接触時間を図1に示す。PVP-Iとして明治製菓のイソジン®液 (イソジンADL 1630 (明治製菓, 東京)) を用いた。イソジン液に

- | | |
|---------|---|
| 1. 使用薬剤 | イソジン ADL 1630 (明治製菓, 東京) |
| 2. 接触時間 | 15秒, 30秒, 60秒 |
| 3. 希釈倍率 | 原液 10倍×20倍×50倍×100倍×200倍×
400倍×800倍×1,600倍×3,200倍×6,400倍×
12,800倍 |

図1 試験薬剤・接触時間・及び希釈倍率の関係

は 1 ml 中ポビドンヨード 100 mg (有効ヨウ素 10 mg) が含有されている。

希釈倍率は、従来より口腔内消毒用に 1% および 0.25% が使用されているため、原液から 100 倍、400 倍までの間の各希釈倍率と、更に殺菌効果をより詳細に検討するため、800 倍、1600 倍、3200 倍、6400 倍および 12800 倍までの各希釈倍率を設定した。また、薬剤接触時間については、15 秒、30 秒、60 秒とした。

3. 試験方法

(1) イソジン® 希釈液の調整

イソジン® 液は石炭酸係数測定法に従い、所定希釈倍率に滅菌蒸留水で希釈し、9 ml 宛作用試験管に分注後 20°C に保温した。

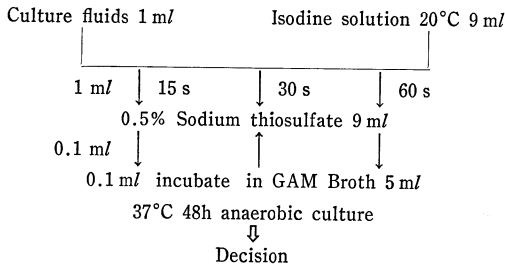


図 2 試験方法

(2) 菌液の調整

9 菌種は GAM ブイヨン培地 (ニッスイ) に連続 3 代継代培養したものをを用いた。滅菌生理食塩液で希釈し、 $10^7 \sim 10^8$ CFU/ml に調整したものを接種用菌液とした。

(3) 作用方法

接種用菌液 1 ml を各タイソジン®希釈液に加えて混和、15 秒、30 秒、60 秒後、このうちの 1 ml を脱イオン水で 0.5% 濃度に調整したチオ硫酸ナトリウム (和光純薬、大阪) 9 ml に加えた。混和後、直ちにこのうちの 0.1 ml を GAM ブイヨン 5 ml に接種し、37°C 48 時間 Gas-Pak system (BBL Lab., U.S.A.) で、嫌気条件 (80% N²-10% H²-10% CO²) にて培養した (図 2)。

(4) 判定

培養後、増殖の認められたものを Positive (+)、増殖の認められなかったものを Negative (-) と判定した。

4. 試験結果

イソジン液の各希釈液における供試菌種に対する殺菌効果を示すと供試菌種においては各菌種とも 400 倍希釈までは増殖は認められなかったが 12800 倍においては、各菌種とも増殖が認められた (表 1, 図 3)。

また、対照菌種に対する殺菌効果を示すと表 2 および図 4 のごとくである。対照菌種においても 400 倍希釈ま

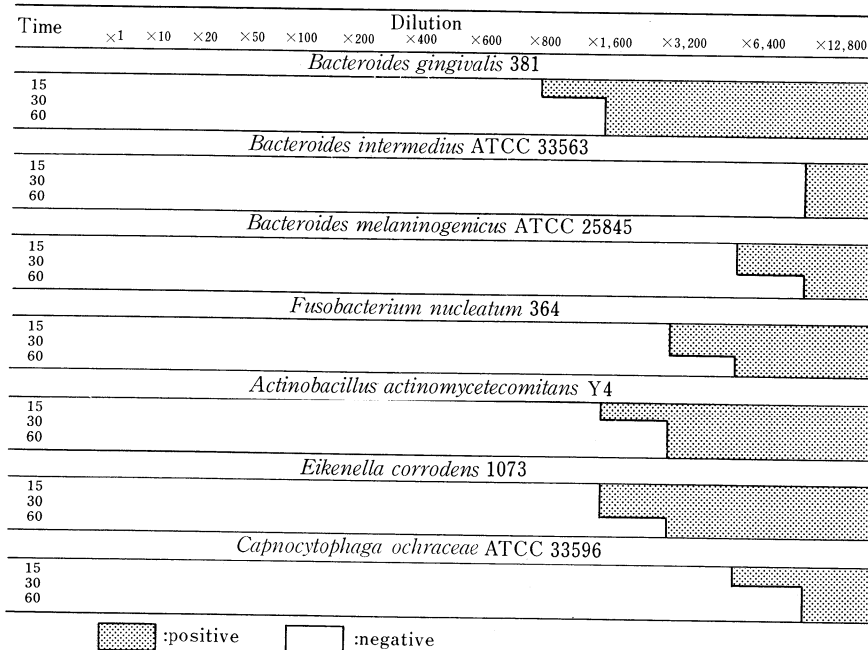


図 3 各菌株の濃度別イソジン®液感受性

表 1 各菌株の濃度別イソジン®液感受性

	原液	10	20	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800
<i>Bacteroides gingivalis</i> 381												
15	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
60	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Bacteroides intermedius</i> ATCC 33563												
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Bacteroides melaninogenicus</i> ATCC 25845												
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Fusobacterium nucleatum</i> 364												
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> Y 4												
15	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Eikenella corrodens</i> 1073												
15	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Capnocytophaga ochraceae</i> ATCC 33596												
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

では増殖は認められなかったが *S. intermedius* の 3200 倍, 15 秒接触および *P. aeruginosa* の 800 倍における 15 秒, 30 秒接触, 1600 倍における 15 秒, 30 秒, 60 秒接触 および 3200 倍における 15 秒, 30 秒, 60 秒接触においては各々増殖が認められた。図 5 のグラフは 800 倍希釈における供試菌株の薬剤接触後の増殖の有無を示したものである。接触時間の表示については, グラフ右上に表示

している。

800 倍希釈においては, *B. gingivalis* が 15 秒接触における増殖が認められた。その他の菌種においては, 増殖が認められなかった。同じく図 4 のグラフでは 1600 倍希釈における薬剤接触後の増殖の有無を示すと *B. gingivalis* は 15 秒, 30 秒, 60 秒接触において増殖は認められなかった。

表 2 対照菌株の濃度別イソジン®液感受性

	原液	10	20	50	100	200	400	800	1600	3200
<i>Streptococcus intermedius</i> 臨床分離株										
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853										
15	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
30	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
60	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

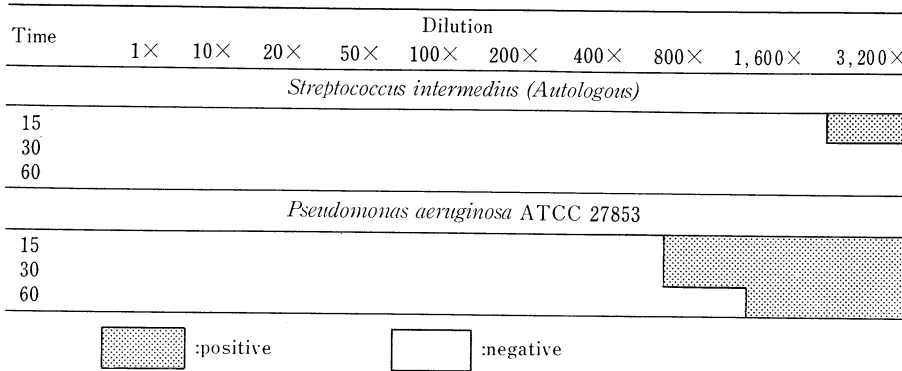


図 4 対照菌株の濃度別イソジン®液感受性

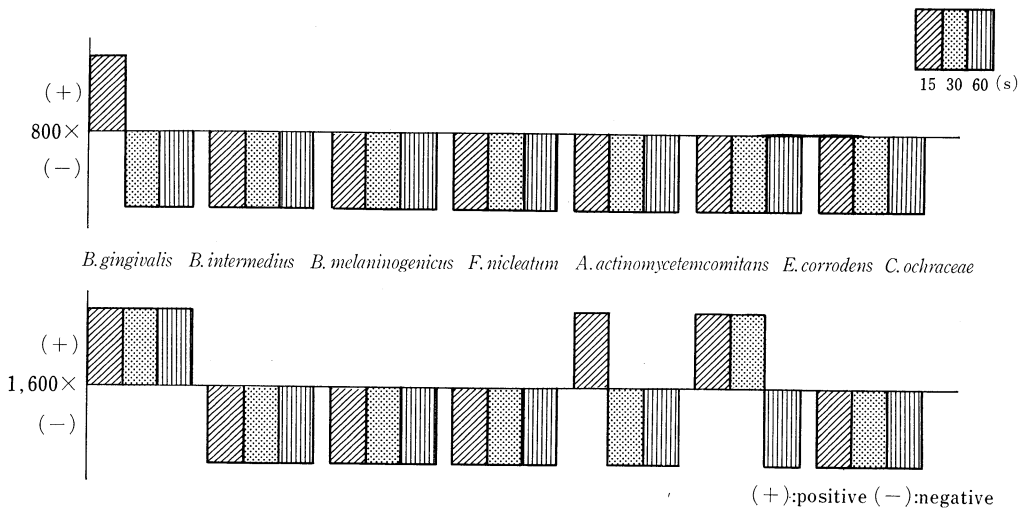


図 5 イソジン液の×800, ×1,600 希釈におけるコロニーの増殖状態

A. actinomycetemcomitans は 15 秒接触, *E. corrodens* は, 15 秒, 30 秒接触において増殖が各々認められた。その他の菌種については増殖は認められなかった。

図 6 のグラフは 3200 倍希釈と 6400 倍希釈における薬剤接触後の増殖の有無を示したものである。*B. gingivalis* は 15 秒, 30 秒接触において, 増殖が認められた。*A.*

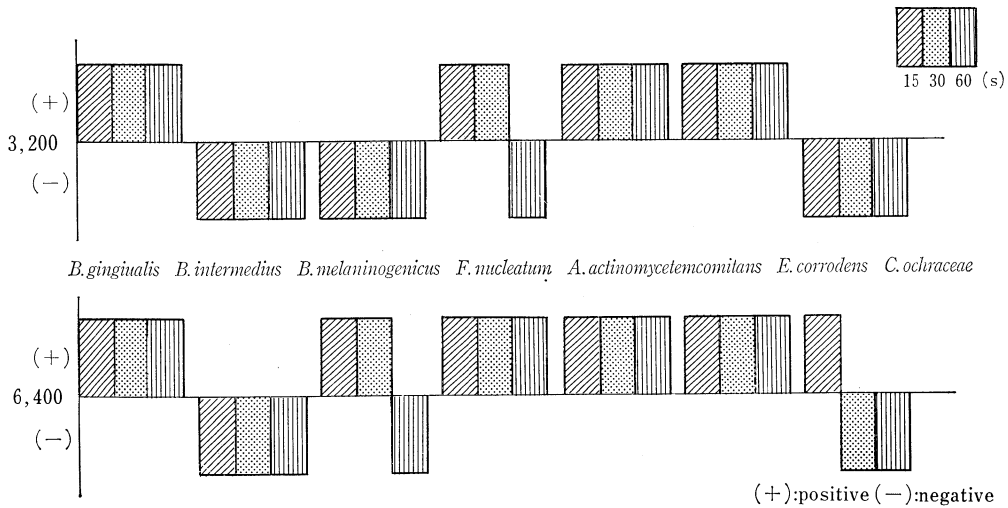


図 6 イソジン液の×3,200, ×6,400 希釈におけるコロニーの増殖状態

actinomycetemcomitans および *E. corrodens* は 15 秒, 30 秒, 60 秒接触において増殖が認められた。その他の菌種については, コロニーの増殖は, 認められなかった。

また 6400 倍希釈における薬剤接触後の増殖の有無を示すと *B. gingivalis* は 15 秒, 30 秒, 60 秒接触, *B. melaninogenicus* は 15 秒, 30 秒, 60 秒接触において増殖が認められた。

A. actinomycetemcomitans および *E. corrodens* は, 15 秒, 30 秒, 60 秒の接触で *C. ochraceae* は, 15 秒接触で増殖が認められた。その他の菌種においては, 増殖は認められなかった。

考 察

イソジン液は, 水に溶けやすい性質を有している。この水溶液がヨウ素を徐々に遊離するため, 殺菌活性が持続することが分かっている。また, 刺激性の少ないイソジン液は, 粘膜や創面に直接使用でき, 血液, 血清および壊死組織の存在下においても, これらの影響を受けるが, その殺菌活性が失われないことが明らかとなっている。更にイソジン液から遊離したヨウ素イオンが, 殺菌効果を有しているため, 耐性菌のできないことが証明されている^{9,10}。

クロルヘキシジングルコネート (CHG) に代わる適切な消毒剤として, イソジン液® (PVP-I) に注目したわけだが, 今後の課題とすべきことは, 口腔粘膜の殺菌消毒とともに歯周治療における抗菌剤の活用法であり, ポ

ケット内細菌叢を改善したり, 歯周外科治療後の後処置としての活用法を早期に確立すべき点である。すでに著者らは CHG と PVP-I の *in vitro* での比較研究を行った^{11,12}。その結果, 両剤の殺菌効果は, 原液, 10 倍, 40 倍濃度では差は認められなかった。*B. gingivalis* *F. nucleatum* では 400 倍濃度, 30 秒, 60 秒接触で PVP-I が殺菌効果を示したのに対し, CHG は, 殺菌効果を示さなかった¹¹。このことより, PVP-I が CHG に匹敵する有効な殺菌効果を有することが明らかとなった。今回の実験結果を見ると 400 倍希釈においては, 全ての菌種に対し, イソジン液®は殺菌効果を示した。800 倍希釈においては, *B. gingivalis* が, 発育を示し 1600 倍希釈においても *A. actinomycetemcomitans* および *E. corrodens* が発育を示した。

B. intermedius においては 6400 倍まで発育は認められなかった。したがって通常, 歯周病原菌といわれている, これらの菌種に対しては 400 倍希釈 0.25% 濃度で殺菌効果を有することが確認された。CHG は含嗽に 0.2%, 歯面塗布に 2% 濃度のものが用いられていたが PVP-I 液も同様な濃度で口腔内含嗽薬として殺菌効果があると考えられる。当教室で宮田ら^{13,14}が CHG および蒸留水を用いてポケットイリゲーションを行い, 附着歯肉 (AL) と歯肉出血指数 (BI) とにスケーリング・ルートプレーニングのみの処置に比べて, 前者には有意の差のあることを報告している。今後, ポケットイリゲーション, 口腔含嗽等に応用し, 臨床における PVP-I の有用性を検討する予定である。

文 献

- 1) Shelanski, H.A. and Shelanski, M.V. : PVP-iodine : history, toxicity, and therapeutic uses. J. Int. Coll. Surg., 25 : 727-734, 1956.
- 2) Bogash, R.C. : A three year observation of a new topical germicide. Bull. Am. J. Hosp. Pharm., 13 : 226-229, 1956.
- 3) Siggia, S. : The chemistry of polyvinylpyrrolidone-iodine. J. Am. Pharm. Assoc., 46 : 201-204, 1957.
- 4) Vratsanos, S.M. : On the structure and function of the polyvinylpyrrolidone-iodine complex. In Degenes G, ed. Proceedings of the International Symposium on povidone. Lexington, KY, University of Kentucky, 289-301, 1983.
- 5) Bond, W.W., et al. : Inactivation of hepatitis B virus by intermediate-to-high-level disinfectant chemicals. J. Clin. Microbiol., 18 : 535-538, 1983.
- 6) Zamora, J.L. : Chemical and Microbiologic Characteristics and Toxicity of Povidone-iodine Solutions. Ame. J. Surg. 15 : 400-406, 1986.
- 7) Slots, J. and Dahlen, G. : Subgingival microorganisms and bacterial virulence factors in periodontitis. Scan. J. Dent. Res. 93 : 119-127, 1985.
- 8) Slots, J. and Genco, J. : Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease : virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. J. D. Res., 63 : 412-421, 1984.
- 9) Houang, E.T., Gilmore, O.J.A., Reid, C.S. and Haw, E.J. : Absence of bacterial resistance to povidone-iodine. J. Clin. Path., 29 : 752-755, 1976.
- 10) Prince, H.N., Nonemaker, W.S., Norgard, R.C. and Prince, D.L. : Drug resistance studies with topical antiseptics. J. Pharm. Sci., 67 : 1629-1631, 1979.
- 11) 扇 正一, 宮田裕之, 鴨井久一 : 口腔内病原性細菌に対するポビドンヨードおよびクロールヘキシジンの殺菌効果の比較. 日歯大歯学会 368 例会抄録, 13-14, 1988.
- 12) 清水智幸, 扇 正一, 宮田裕之, 鴨井久一, 東堤稔, 坂本雅子, 土屋利政, 波多江新平 : 口腔病原性細菌に対する *in vitro* のポビドンヨードの殺菌効果. 秋季日歯周誌抄録, A-21, 1988.
- 13) 宮田裕之, 鴨井久一 : 歯周ポケット内洗浄が臨床症状および細菌叢に及ぼす影響—スケーリング・ルートプレーニング後の併用—. 日歯周誌, 29 : 76-90, 1987.
- 14) 岩崎直也, 宮田裕之, 宮里明子, 鴨井久一 : Effect of irrigation into the pockets on the change of gingival bleeding index. The 3rd Meeting of I.A.P., P-B-21, 1988.

連絡先 :

日本歯科大学歯学部歯周病学教室

〒 102 千代田区富士見 2-3-16