

ポビドンヨードガーグル液7%「ケンエー」の 生物学的同等性について

健栄製薬株式会社
研究開発部

ポビドンヨードガーグル液7%「ケンエー」は、ポビドンヨードを7w/v%含有する含嗽剤である。本製剤が新医薬品として承認を与えられた医薬品（またはそれに準ずる医薬品）と生物学的に同等であることを確認するために、効力を裏付ける薬理作用についての比較試験を行った。

なお、本品は平成29年7月の一変承認取得時の販売名はイオダインガーグル液7%であったが、平成30年2月に販売名を変更したため、以下の販売名において処方変更品はポビドンヨードガーグル液7%「ケンエー」とし、従来品はイオダインガーグル液7%とした。

【1】 供試製剤

	販売名 (製造販売元)	組成	製造番号
試験製剤	ポビドンヨード ガーグル液7%「ケンエー」 〈処方変更品〉 (健栄製薬株式会社)	100mL中 日局ポビドンヨード 7g (有効ヨウ素 700mg) 含有 添加物：エタノール、濃グリセリン、 <i>l</i> -メントール、サッカリン ナトリウム水和物、サリチル酸メチル、ユーカリ油	5B02
標準製剤	イオダインガーグル液7% 〈従来品〉 (健栄製薬株式会社)	100mL中 日局ポビドンヨード 7g (有効ヨウ素 700mg) 含有 添加物：エタノール、グリセリン、 <i>l</i> -メントール、サッカリン ナトリウム水和物、プロピレングリコール、香料	5B06

【2】 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定^{1), 2), 3), 4)}

【供試菌株】

		供試菌株
一般細菌	グラム陽性菌	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
		<i>Staphylococcus aureus</i> NBRC 12732
		<i>Staphylococcus aureus</i> (臨床分離株 MRSA-01)
		<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228
		<i>Streptococcus mutans</i> NBRC 13955
		<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 12351
		<i>Streptococcus salivarius</i> NBRC 13956
	グラム陰性菌	<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556
		<i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC 33478
		<i>Burkholderia cepacia</i> NBRC 15124
		<i>Burkholderia cepacia</i> (臨床分離株 BC-YU-01)
		<i>Escherichia coli</i> NBRC 3806
		<i>Proteus vulgaris</i> NBRC 3988
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NBRC 13275
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (臨床分離株 PA-HU-01)		
<i>Serratia marcescens</i> NBRC 12648		
<i>Serratia marcescens</i> (臨床分離株 SM-HU-01)		
真菌	<i>Candida albicans</i> NBRC 1594	

【使用培地及び培養期間】

	使用培地	培養期間
一般細菌	接種用菌液調製用培地 復元用培地：普通ブイヨン培地「栄研」（栄研化学） 増殖用培地：BBL Muller Hinton II Broth Cation Adjusted (BBL)	35±1℃、21 時間*1
	感受性測定用培地：BBL Muller Hinton II Broth Cation Adjusted (BBL)	
	生菌数測定用培地：パールコアミューラーヒントンS寒天培地「栄研」（栄研化学）	35±1℃、48 時間*1
	接種用菌液調製用培地 復元用培地：S C D培地「ダイゴ」（日本製薬） 増殖用培地：S C D培地「ダイゴ」（日本製薬）	25±1℃、21 時間
真菌	感受性測定用培地：S C D培地「ダイゴ」（日本製薬）	25±1℃、48 時間
	生菌数測定用培地：S C D寒天培地「ダイゴ」（日本製薬）	25±1℃、72 時間

* 1 : *Serratia marcescens* NBRC 12648 及び *Serratia marcescens* (臨床分離株 SM-HU-01) の培養温度は 30±1℃とした。

【試験方法】

①接種用菌液の調製

供試菌株を復元用培地 10mL に 1 白金耳植菌し、培養後、増殖用培地 10mL に 1 白金耳植菌し、再度培養した。その培養菌液をよく振り混ぜ、生理食塩水を用いて 10 倍段階希釈法にて希釈し、約 10⁷ 個/mL に調整した菌液を接種用菌液とした。ただし、*Pseudomonas aeruginosa* NBRC 13275 及び *Pseudomonas aeruginosa* (臨床分離株 PA-HU-01) は希釈前にろ紙 (No. 4) でろ過した。

②MICの測定

試験製剤、標準製剤とも感受性測定用培地及び滅菌精製水を用いて 2 倍段階希釈し (ポピドンヨード最終濃度 14000、7000、3500・・・µg/mL)、振とう後、接種用菌液 1 白金耳を接種した。各希釈段階毎に 5 本を供試した。

【評価方法】

培養後、菌の発育を認めない最小濃度をもって最小発育阻止濃度 (MIC) とした。

【試験結果】

表 1. 供試菌株に対する供試製剤の MIC

供試菌株	ポピドンヨード ガーグル液 7% 「ケンエー」 (処方変更品)	イオダイニングール液 7% (従来品)
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	3500	3500
<i>Staphylococcus aureus</i> NBRC 12732	3500	3500
<i>Staphylococcus aureus</i> (臨床分離株 MRSA-01)	3500	3500
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	1750	1750
<i>Streptococcus mutans</i> NBRC 13955	3500	3500
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 12351	875	875
<i>Streptococcus salivarius</i> NBRC 13956	3500	3500
<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556	1750	1750
<i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC 33478	3500	3500
<i>Burkholderia cepacia</i> NBRC 15124	1750	1750
<i>Burkholderia cepacia</i> (臨床分離株 BC-YU-01)	1750	1750
<i>Escherichia coli</i> NBRC 3806	3500	3500
<i>Proteus vulgaris</i> NBRC 3988	3500	3500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NBRC 13275	7000	7000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (臨床分離株 PA-HU-01)	7000	7000
<i>Serratia marcescens</i> NBRC 12648	3500	3500
<i>Serratia marcescens</i> (臨床分離株 SM-HU-01)	3500	3500
<i>Candida albicans</i> NBRC 1594	3500	3500

MIC はポピドンヨードとしての濃度 (µg/mL) を示す。

【考 察】

供試菌株 18 種に対するポビドンヨードガーグル液 7% 「ケンエー」〈処方変更品〉及び標準製剤であるイオダインガーグル液 7% 〈従来品〉の MIC は同値であり、両者は同等であることが確認された。

【3】 最小殺菌濃度 (MBC) の測定^{1), 2), 3), 4)}

【供試菌株】

[2] 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定の供試菌株と同じ。

【使用培地及び培養期間】

	使用培地	培養期間
一般細菌	感受性測定用培地：BBL Muller Hinton II Broth Cation Adjusted (BBL)	35±1℃、48 時間* ²
真菌	感受性測定用培地：SCD 培地「ダイゴ」(日本製薬)	25±1℃、48 時間

* 2 : *Serratia marcescens* NBRC 12648 及び *Serratia marcescens* (臨床分離株 SM-HU-01) の培養温度は 30±1℃とした。

【試験方法】

[2] 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定において、菌の発育を認めなかった検体について、新たな二次培地 (感受性測定用培地) 10mL に 100µL ずつ接種した。

【評価方法】

培養後、菌の発育を認めない最小濃度をもって最小殺菌濃度 (MBC) とした。

【試験結果】

表 2. 供試菌株に対する供試製剤の MBC

供試菌株	ポビドンヨード ガーグル液 7% 「ケンエー」 〈処方変更品〉	イオダインガーグル液 7% 〈従来品〉
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	7000	7000
<i>Staphylococcus aureus</i> NBRC 12732	7000	7000
<i>Staphylococcus aureus</i> (臨床分離株 MRSA-01)	7000	7000
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	3500	3500
<i>Streptococcus mutans</i> NBRC 13955	3500	3500
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 12351	3500	3500
<i>Streptococcus salivarius</i> NBRC 13956	3500	3500
<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556	7000	7000
<i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC 33478	7000	7000
<i>Burkholderia cepacia</i> NBRC 15124	3500	3500
<i>Burkholderia cepacia</i> (臨床分離株 BC-YU-01)	3500	3500
<i>Escherichia coli</i> NBRC 3806	7000	7000
<i>Proteus vulgaris</i> NBRC 3988	3500	3500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NBRC 13275	7000	7000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (臨床分離株 PA-HU-01)	7000	7000
<i>Serratia marcescens</i> NBRC 12648	3500	3500
<i>Serratia marcescens</i> (臨床分離株 SM-HU-01)	3500	3500
<i>Candida albicans</i> NBRC 1594	7000	7000

MBC はポビドンヨードとしての濃度 (µg/mL) を示す。

【考 察】

供試菌株 18 種に対するポビドンヨードガーグル液 7% 「ケンエー」〈処方変更品〉及び標準製剤であるイオダインガーグル液 7% 〈従来品〉の M B C は同値であり、両者は同等であることが確認された。

[4] Kelsey-Sykes 法による有効濃度推定試験^{5), 6), 7)}

【供試菌株】

Kelsey-Sykes 法による供試菌株は、[2] 最小発育阻止濃度 (M I C) の測定において供試した菌株のうち最も抵抗性を示した菌株を用いることとされているため、清潔及び不潔な状態の場合ともに、最も抵抗性を示した菌株から任意に *Pseudomonas aeruginosa* NBRC 13275 を選択し供試菌株とした。

【使用培地及び培養期間】

供試菌株	使用培地	培養期間
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NBRC 13275	接種用菌液調製用培地：Synthetic Broth AOAC 10mL に対し、10%ブドウ糖（和光純薬）溶液 0.1mL を添加	32±1℃，24 時間
	検出用培地：ポリソルベート 80 を 3w/v% 添加した普通ブイオン培地 ‘栄研’（栄研化学）	32±1℃，48 時間
	生菌数測定用培地：普通寒天培地 ‘栄研’（栄研化学）	

【試験方法】

①接種用菌液の調製

(i) 清潔な状態で使用される場合の有効濃度推定試験における接種用菌液

Pseudomonas aeruginosa NBRC 13275 を接種用菌液調製用培地 10mL に 1 白金耳植菌し、培養した。その菌液をろ紙 (No. 4) でろ過し、3000rpm で 15 分間遠心分離し上澄み液を取り除き、標準硬水〔無水塩化カルシウム (CaCl₂) 0.304g、塩化マグネシウム六水和物 (MgCl₂·6H₂O) 0.139g を水で溶解し、1000mL とする〕10mL を加えた。ガラス玉を加え、1 分間激しく振り混ぜて懸濁し接種用菌液（菌液濃度：10⁸~10¹⁰ 個/mL）とした。

(ii) 不潔な状態で使用される場合の有効濃度推定試験における接種用菌液

Pseudomonas aeruginosa NBRC 13275 を (i) と同様に培養した菌液 6mL を 5% 酵母（日局乾燥酵母）標準硬水懸濁液 4mL 中に加えた。ガラス玉を加え、1 分間激しく振り混ぜて懸濁し接種用菌液（菌液濃度：10⁸~10¹⁰ 個/mL）とした。

②供試製剤の希釈

用時標準硬水を用い A、B、C の 3 段階の濃度に希釈した。濃度 B は、Kelsey-Sykes 法による判定に適合すると期待される濃度とし、濃度 A は B の 1/2 の濃度、C は B の 3/2 の濃度とした。

③Kelsey-Sykes 法による有効濃度推定試験

検出用培地を A₁~A₃、B₁~B₃、C₁~C₃ 各 5 本ずつ計 45 本各 10mL ずつ準備した。②で調製した希釈溶液を 3mL ずつ試験管に分注し 20~22℃ の恒温水槽に入れ、更に①で調製した接種用菌液も水槽に入れ約 5 分間放置した。つぎに表 3 に従い操作を行った。

表 3. Kelsey-Sykes 法の試験時間表

消毒剤濃度 A		消毒剤濃度 B		消毒剤濃度 C	
操作	時間 (分)	操作	時間 (分)	操作	時間 (分)
A に菌液 1mL を接種	0	B に菌液 1mL を接種	1	C に菌液 1mL を接種	5
1 滴ずつ検出用培地 A ₁ に接種	8	1 滴ずつ検出用培地 B ₁ に接種	9	1 滴ずつ検出用培地 C ₁ に接種	13
A に菌液 1mL を接種	10	B に菌液 1mL を接種	11	C に菌液 1mL を接種	15
1 滴ずつ検出用培地 A ₂ に接種	18	1 滴ずつ検出用培地 B ₂ に接種	19	1 滴ずつ検出用培地 C ₂ に接種	23
A に菌液 1mL を接種	20	B に菌液 1mL を接種	21	C に菌液 1mL を接種	25
1 滴ずつ検出用培地 A ₃ に接種	28	1 滴ずつ検出用培地 B ₃ に接種	29	1 滴ずつ検出用培地 C ₃ に接種	33

【評価方法】

培養後、菌の増殖の有無を確認する。1 回目、2 回目の菌液接種を行った検出用培地 5 本のうち少なくとも 2 本に増殖が認められなければ、その希釈濃度は「適」とし、4 本以上増殖が認められれば「不適」と判定し、評価した。試験は繰り返し 3 回行う。

【試験結果】

表 4. 清潔な状態でのポビドンヨードガーグル液 7% 「ケンエー」〈処方変更品〉の測定結果

回数	製剤濃度 (μg/mL)	接種菌量 (個/mL)	接種用菌液接種回数			判定
			1 回目	2 回目	3 回目	
1	200	7.2 × 10 ⁸	(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	(+) (+) (+) (+) (+)	不適
	400		(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (-) (+) (+) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
	600		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
2	200	8.8 × 10 ⁸	(-) (+) (-) (+) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	(+) (+) (+) (+) (+)	不適
	400		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (+) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
	600		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
3	200	6.7 × 10 ⁸	(-) (-) (-) (+) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	(+) (+) (+) (+) (+)	不適
	400		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (+) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
	600		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適

供試菌株: *Pseudomonas aeruginosa* NBRC 13275

+: 菌の発育を認める

-: 菌の発育を認めない

表 5. 清潔な状態でのイオダイニングガーグル液 7% 〈従来品〉の測定結果

回数	製剤濃度 (μg/mL)	接種菌量 (個/mL)	接種用菌液接種回数			判定
			1 回目	2 回目	3 回目	
1	200	7.2 × 10 ⁸	(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	(+) (+) (+) (+) (+)	不適
	400		(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (+) (-) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
	600		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
2	200	8.8 × 10 ⁸	(-) (-) (+) (+) (+)	(+) (+) (+) (+) (+)	(+) (+) (+) (+) (+)	不適
	400		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (+) (+) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
	600		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
3	200	6.7 × 10 ⁸	(-) (-) (-) (-) (+)	(+) (+) (+) (+) (+)	(+) (+) (+) (+) (+)	不適
	400		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (+) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適
	600		(-) (-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-) (-)	(+) (+) (+) (+) (+)	適

供試菌株: *Pseudomonas aeruginosa* NBRC 13275

+: 菌の発育を認める

-: 菌の発育を認めない

表 6. 不潔な状態（有機物存在下）でのポビドンヨードガーグル液 7%「ケンエー」〈処方変更品〉の測定結果

回数	製剤濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	接種菌量 (個/mL)	接種用菌液接種回数			判定
			1 回目	2 回目	3 回目	
1	5000	5.9×10^8	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	不適
	10000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(+)(+)(-)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
	15000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(-)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
2	5000	9.1×10^8	(-)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	不適
	10000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(-)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
	15000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(-)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
3	5000	8.1×10^8	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	不適
	10000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(-)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
	15000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(-)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適

供試菌株：*Pseudomonas aeruginosa* NBRC 13275

＋：菌の発育を認める

－：菌の発育を認めない

表 7. 不潔な状態（有機物存在下）でのイオダイングガーグル液 7%〈従来品〉の測定結果

回数	製剤濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	接種菌量 (個/mL)	接種用菌液接種回数			判定
			1 回目	2 回目	3 回目	
1	5000	5.9×10^8	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	不適
	10000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(+)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
	15000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(-)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
2	5000	9.1×10^8	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	不適
	10000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(-)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
	15000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(-)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
3	5000	8.1×10^8	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)(+)(+)(+)(+)	不適
	10000		(-)(-)(-)(-)(-)	(+)(-)(-)(+)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適
	15000		(-)(-)(-)(-)(-)	(-)(-)(-)(-)(-)	(+)(+)(+)(+)(+)	適

供試菌株：*Pseudomonas aeruginosa* NBRC 13275

＋：菌の発育を認める

－：菌の発育を認めない

【考 察】

Kelsey-Sykes 法は供試製剤の有効濃度を推定するための試験法である。ポビドンヨードガーグル液 7%「ケンエー」〈処方変更品〉及び標準製剤であるイオダイングガーグル液 7%〈従来品〉はともに、*Pseudomonas aeruginosa* NBRC 13275 に対して、清潔な状態（有機物が存在しない状態）の場合はポビドンヨード濃度 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上において、不潔な状態（有機物が存在する状態）の場合は 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上において判定基準に適合した。なお、今回の試験は両製剤の殺菌効果の同等性を検討することが目的であるが、試験結果によると両製剤の陰性試験管本数に若干の差が認められた。しかし、その製剤濃度が「適」であるか「不適」であるかの判定は同一であり、3 回の繰り返し試験においても同様であったことから、両製剤はほぼ同等の殺菌効果を有しているものと考えられる。

【5】まとめ

以上の結果より、ポビドンヨードガーグル液 7%「ケンエー」〈処方変更品〉は標準製剤であるイオダイングガーグル液 7%〈従来品〉と生物学的にほぼ同等の殺菌効果を有していることが認められた。

[6] 参考文献

- 1) 五島 瑳智子ほか：最小発育阻止濃度（M I C）測定法再改訂について，日本化学療法学会雑誌（CHEMOTHERAPY） **29**(1):76-79, 1981.
- 2) 五島 瑳智子ほか：微量液体希釈によるM I C測定法（微量液体希釈法）－日本化学療法学会標準法－，日本化学療法学会雑誌（CHEMOTHERAPY） **38**(1):102-105, 1990.
- 3) 斎藤 厚ほか：抗菌薬感受性測定法検討委員会報告（1992年），日本化学療法学会雑誌（CHEMOTHERAPY） **41**(2):183-189, 1993.
- 4) 城野 久美子ほか：塩化ベンザルコニウム及びグルコン酸クロルヘキシジンの殺菌力と殺菌速度，薬学雑誌 **105**(8):751-759, 1985.
- 5) Kelsey, J. C., et al. : An improved (1974) Kelsey-Sykes test for disinfectants, Pharm. J. **213**(5795):528-530, 1974.
- 6) 野尻 務ほか：新しい消毒剤の試験法－Kelsey-Sykes 法について－，防菌防黴 **4**(4):170-176, 1976.
- 7) 秋山 茂ほか：消毒薬の殺菌効力試験方法の検討 改良 Kelsey-Sykes 法に関する実験的考察，感染症学雑誌 **63**(6):575-583, 1989.

(2018年6月作成)