

新規アルコール手指消毒薬 MR06B7 の有効性評価

奥西淳二,^{*,a} 岡本一毅,^a 西原 豊,^a 辻谷久美子,^a 三浦 剛,^a 松瀬 仁,^a
八木俊和,^a 和田祐爾,^b 後藤潤子,^b 瀬戸政彦,^a 池田雅裕^a

Investigation of *in Vitro* and *in Vivo* Efficacy of a Novel Alcohol Based Hand Rub, MR06B7

Junji OKUNISHI,^{*,a} Kazuki OKAMOTO,^a Yutaka NISHIHARA,^a Kumiko TSUJITANI,^a
Tsuyoshi MIURA,^a Hitoshi MATSUSE,^a Toshikazu YAGI,^a Yuji WADA,^b
Junko GOTO,^b Masahiko SETO,^a and Masahiro IKEDA^a

^aMaruishi Pharmaceutical Co., Ltd., Central Research Laboratories, 2-2-18 Imazunaka, Tsurumi-ku, Osaka 538-0042, Japan, and ^bMaruishi Pharmaceutical Co., Ltd., Marketing Department, 2-4-2 Imazunaka, Tsurumi-ku, Osaka 538-0042, Japan

(Received November 20, 2009; Accepted December 28, 2009; Published online January 7, 2010)

Alcohol based hand rubs have been used for hand hygiene in health-care settings. Compared with hand scrubbing, using suitable alcohol based hand rub provides several advantages like usability in a ward with no tap, requiring less time and mildly-irritating. Alcohol provides immediate activity, but poor virucidal activity against certain viruses including norovirus. It is important to develop further improved alcohol based hand rubs which have characteristics of sufficient effectiveness, skin-safe and extended spectrum to non-enveloped viruses for infection control. In the study, *in vitro* microbicidal evaluations and *in vivo* efficacy evaluation study were investigated to clarify the characteristics of a novel hand antiseptic MR06B7 composed of additives with synergetic activities. MR06B7 showed bactericidal activity of more than 5 Log₁₀ reduction within 15 sec against 20 challenged strains. MR06B7 also demonstrated potent fungicidal activities at exposure time of 30 sec (more than 4 Log₁₀ reduction). Against all test viruses including non-enveloped viruses (adenovirus, feline calicivirus, murine norovirus and poliovirus), MR06B7 had excellent virucidal activity to reduce the titer of viability to the limit of detection within 30 sec exposure (more than 4 Log₁₀ reduction), whereas 83% (v/v) ethanol indicated the inadequate effectiveness. On the clinical study conducted in accordance with standard method for Healthcare Personnel Handwash of American Society for Testing and Materials, MR06B7 showed excellent immediate antimicrobial activity. The result surpassed the critical indices set forth in the FDA's Tentative Final Monograph. These findings suggest MR06B7 which satisfies most requirements of efficacy qualifications including potent virucidal activity against non-enveloped viruses may contribute to accomplish advanced infection control in clinical practice.

Key words—alcohol; hand hygiene; virucidal activity; feline calicivirus; murine norovirus

緒 言

現在、病棟を始めとする医療現場の手指衛生は、水道設備のない場所でも短時間で簡便に消毒可能なアルコール手指消毒薬が汎用されている。厚生労働省通知「医療施設における院内感染の防止について」¹⁾や「英国における医療関連感染防止ガイドライン」²⁾あるいは米国疾病対策予防センター (American Centers for Disease Control and Prevention) の

「医療現場における手指衛生のためのガイドライン」³⁾には、目に見える汚れのない場合の衛生的な手洗いの手段として、薬効と手荒れ防止の面からアルコール手指消毒薬が感染伝播の防止に有用であることが示されている。また、世界保健機構 (WHO) が設立した World Alliance for Patient Safety による活動の一環として、アルコール手指消毒薬を用いた手指衛生の重要性を含む医療関連感染の予防に関する活動が世界的規模で進められ、^{4,5)} 今後もアルコール手指消毒薬は医療関連感染の予防に重要な役割を担っていくものと考えられる。常用濃度の消毒用アルコールは細菌や真菌を含む広範囲の微生物に即効

^a丸石製薬株式会社中央研究所, ^b丸石製薬株式会社営業本部製品企画部

*e-mail: junji_okunishi@maruishi-pharm.co.jp

性を示すものの、細菌芽胞や一部のノンエンベロープウイルスに対する薬効が十分ではないことが指摘されている。⁶⁻¹⁰⁾ 医療関連感染の起因ウイルスには、B型肝炎ウイルスやインフルエンザウイルスといったエンベロープウイルスだけでなく、流行性角結膜炎を引き起こすアデノウイルスや感染性胃腸炎の原因となるノロウイルスのようなノンエンベロープウイルスも含まれる。Ahoらの報告¹¹⁾では小児科病棟における医療関連感染のうちウイルスに由来するものは23%に達し、アデノウイルスに感染している患者の約半数の手指からウイルスが分離されることをAzarらが報告している¹²⁾ことから、ウイルス種に限定されない消毒薬の開発は临床上極めて重要である。われわれはエタノールを有効成分とし、有機酸、保湿剤等を配合した新規手指消毒薬MR06B7がノンエンベロープウイルスに対して強力な不活化効果を示すことを見出した。

今回、MR06B7の有用性を明らかにすることを目的として、殺菌効果、殺真菌効果及びウイルス不活化効果を*in vitro*で調べるとともに、健常人ボランティア試験による*in vivo*手指消毒効果を米国の標準法に従って検討した結果を報告する。

材料と方法

1. 消毒薬 試験にはMR06B7 [ウエルセプト[®]、丸石製薬株式会社、1%乳酸、0.1%クエン酸、保湿剤配合83% (v/v) エタノール製剤]、消毒用エタノール [丸石製薬株式会社、83% (v/v) エタノール製剤] 及びボランティア試験の対照薬として4%クロルヘキシジングルコン酸塩 (CHG) 含有スクラブ剤 [Hibiclens[®] (米国 Molnlycke Health Care 社製)] を使用した。

2. 微生物 細菌は *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 (VRE), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus pyogenes* IID 698, *Achromobacter xylosoxidans* RIMD 0101001, *Acinetobacter baumannii* JCM 6841, *Burkholderia cepacia* NBRC 15124, *Chryseobacterium meningosepticum* NBRC 12535, *Citrobacter freundii* NBRC 12681, *Enterobacter cloacae* IID 977, *Escherichia coli*

ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* NBRC 3512, *Proteus mirabilis* NBRC 3849, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* GTC 2017 (MDRP), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* NBRC 12529, *Serratia marcescens* ATCC 14756, *Stenotrophomonas maltophilia* NBRC 14161 を使用した。真菌は *Aspergillus niger* ATCC 16404 及び *Candida albicans* ATCC 10231 を使用した。なお、ATCC 株は American Type Culture Collection, NBRC 株は独立行政法人製品評価技術基盤機構, IID 株及び RIMD 株は日本細菌学会を通じて東京大学医科学研究所と大阪大学微生物病研究所からそれぞれ購入した。

ウイルスはノンエンベロープウイルスとして Feline calicivirus strain F-9 ATCC VR-782 (FCV), Adenovirus type 5 ATCC VR-5 (ADV-5), Adenovirus type 8 ATCC VR-1604 (ADV-8), Murine norovirus strain MNV-G (MNV), Poliovirus type 1 LSc-2ab (PV-1) の5株、エンベロープウイルスとして Avian influenza virus H5N1 NIBRG-14 (Avian FluV H5N1), Duck hepatitis B virus (DHBV), Herpes simplex virus type 1 ATCC VR-260 (HSV-1), Influenza A virus H1N1 ATCC VR-1469 (FluV H1N1) の4株、計9株を Table 1 に示す細胞で増殖させて実験に使用した。なお、ノロウイルスは培養細胞を用いた人工的な増殖法や小動物を用いた感染モデルが構築されておらず、類縁のウイルスを代替ウイルスとしてノロウイルスに対する薬効で推測することが一般的である。^{8,10,13-17)} 今回の*in vitro*ウイルス不活化評価では、同じノロウイルス属でマウスの腸管に感染するマウスノロウイルスと、ノロウイルスの代替ウイルスであるカリシウイルス科のネコカリシウイルスを用いた。なお、ノロウイルスに対する消毒薬の薬効評価として、今回使用した代替ウイルスを用いる以外に、ノロウイルスのRNAを遺伝子増幅技術による分子生物学的な手法で測定し、不活化効果の判定に利用した研究も報告されている。¹³⁾ 一方、近年ウイルスの感染性消失は遺伝子量と相関しない事例が報告されており、^{18,19)} 実際われわれがFCVを用いて調べた結果においても、感染性が完全に消失したウイルス液からウイルス由来の核酸を検出できることを確認した (未報告データ) ことから、ノロウイルスに対する薬効は代替ウイルスによる評価

Table 1. Viruses and Cells

Viruses	Cells
Non-enveloped virus	
Adenovirus type 5	A549 cells (Human lung adenocarcinoma epithelial cell line)
Adenovirus type 8	A549 cells (Human lung adenocarcinoma epithelial cell line)
Feline calicivirus	CRFK cells (Crandell's feline kidney cell line)
Murine norovirus	Raw247 cells (Mouse macrophage cells line)
Poliovirus type 1	HeLa cells (Human epithelial carcinoma cell line)
Enveloped virus	
Avian influenza virus H5N1	MDCK cells (Madin-Darby canine kidney cell line)
Duck hepatitis B virus	Primary duck hepatocytes
Herpes simplex virus type 1	Vero cells (African green monkey kidney cell line)
Influenza A virus H1N1	MDCK cells (Madin-Darby canine kidney cell line)

データから推定することとした。また、ノロウイルスと同様、培養細胞で増やすことのできない B 型肝炎ウイルスについてもこれまでの報告^{20,21)}を参考にアヒル B 型肝炎ウイルスを代替ウイルスとして使用した。

3. *In vitro* 薬効評価

3-1. 細菌に対する殺菌性評価 細菌に対する殺菌性は、薬効の指標として設定した菌量の指数減少値 (Log_{10} Reduction; LR) $\text{LR} \geq 5$ ($\geq 99.999\%$ の殺菌に相当) を満たす殺菌効果を評価した。トリプチケースソイ寒天培地 (日本バクtonディッキンソン株式会社) で 37°C , 20–24 時間前培養した供試菌をペプトン生理食塩水で約 1×10^9 CFU/ml に調整した。この菌液 $10 \mu\text{l}$ に被験薬剤 $190 \mu\text{l}$ を作用させ殺菌反応を開始し、15 秒間作用させた後、反応混液を採取して 100 倍希釈することで殺菌反応を停止した。なお、本反応停止条件で薬剤を不活化できることは事前に確認した。次に、反応停止混液の $20 \mu\text{l}$ (1×10^5 CFU 相当) をトリプチケースソイブロス (日本バクtonディッキンソン株式会社) に接種し、 37°C , 20–24 時間培養後、菌の増殖の有無を目視で判定した。なお、*S. pyogenes* のみ前培養に羊血液寒天培地 (日本バクtonディッキンソン株式会社) を使用した。

3-2. 真菌に対する殺菌性評価 真菌の殺菌性評価は欧州標準規格 EN13624²²⁾ に従った。まず、供試菌をマルトエキストラクト寒天培地 (日本バクtonディッキンソン株式会社) で *C. albicans* は 30°C , 2 日間, *A. niger* は 30°C , 7 日間培養して約 1×10^7 CFU/ml の菌液を調製した。菌液 1 ml に干渉物質 (Clean 条件: 3 g/l 牛血清アルブミン, Dirty 条件: 30 g/l 牛血清アルブミン + 30 ml/l 羊血球) を 1 ml 加えた後、被験薬を 8 ml を加えて殺菌反応を行った。反応開始 30 秒及び 60 秒後に 1 ml を採取して 9 ml の中和剤 (3% レシチン, 10% Polysorbate 80) と混合攪拌し殺菌反応を停止した。この反応停止混液を段階希釈後、マルトエキストラクト寒天培地で培養して生菌数を求めた。なお、被験薬の代わりに精製水を用いて同様に操作した生菌数を対照 (消毒前菌量) とし、消毒薬作用後における菌量の指数減少値を $\text{LR} = \text{Log}_{10}$ (消毒前菌量/消毒後菌量) の計算式に従って求めた。

3-3. ウイルスに対する不活化効果 FCV, ADV-5, ADV-8, PV-1, HSV-1 及び FluV H1N1 を用いたウイルス不活化評価は、それぞれのウイルス液 $10 \mu\text{l}$ に被験薬 $190 \mu\text{l}$ を混和して反応を行った。反応開始後、所定の時間に一部を採取し、培地で 100 倍希釈することで反応を停止した。次に、反応停止混液を維持培地で段階希釈後、それぞれ宿主細胞に感染させて所定期間培養し、細胞変性効果 (CPE) の認められる希釈倍率から各サンプル中のウイルス感染力価を 50% 組織培養感染価 [Tissue Culture Infectious Dose (TCID_{50})] として求めた。コントロールには薬剤の代わりに PBS (–) を用いて同様の操作を行い、得られたウイルス感染力価を薬剤作用前の値とした。薬剤を所定時間作用させた各サンプル中のウイルス感染力価から指数減少値を $\text{LR} = \text{Log}_{10}$ (薬剤作用前ウイルス感染力価/薬剤作用後ウイルス感染力価) として算出した。なお、各被験薬が維持培地による 100 倍希釈で薬効が消失すること、及び薬剤中の成分による細胞毒性が消失することをあらかじめ確認し、ウイルス不活化反応の停止条件に採用した。対照薬として使用した消毒用エタノールは、消毒薬の殺ウイルス効果に関する欧州標準規格 EN14476²³⁾ で標準ウイルスとして使用されているアデノウイルス 5 型 (DNA ウイルス) とポリオウイルス 1 型 (RNA ウイルス) に加え、ノロ

ウイルス代替ウイルスのネコカリシウイルスの3ウイルスを対象として薬効評価を行いMR06B7と比較した。

Avian FluV H5N1, DHBV 及び MNV を用いたウイルス不活化評価は、ウイルス液と被験薬を所定時間反応させた後、培地で希釈して不活化反応を停止した。次に、反応混液中のウイルス感染力価を測定するため、段階希釈したサンプルを細胞に感染させ、Avian FluV H5N1 は TCID₅₀ を求め、MNV 及び DHBV はそれぞれのウイルスに特異的な抗体と FITC 標識 2 次抗体を用いた免疫蛍光法で 50% 蛍光フォーカス形成単位 [50% Fluorescent Focus Forming Unit Dose (FFFUD₅₀)] を求め、ウイルス感染力価の指数減少値を算出した。

4. 健常人ボランティア試験による *in vivo* 薬効評価 本試験は、米国 FDA の TFM (Tentative Final Monograph)²⁴⁾ に記載されている一般病棟向け手指消毒薬のための標準試験法 ASTM E1174²⁵⁾ と消毒効果の判定基準に従い評価した。本試験は試験施設での倫理委員会の承認を受けた後、説明を行い同意が得られた健常人ボランティアを対象として実施した。

まず、被験薬、対照薬各 16 人の手指に約 1.0×10^9 CFU/ml の指標菌 [*Serratia marcescens* (ATCC 14756)] 懸濁液 5 ml を塗布することにより、手指表面を人工的に菌で汚染した。その後、後述のグローブジュース法でサンプリングし、得られた手指からの菌量をベースライン値(消毒前菌量)とした。次に、被験薬の消毒効果を調べるため、ベースライン測定時と同様に指標菌で手指を汚染した後、MR06B7 を 3 ml, 1 回適用して乾燥するまでラビングした。指標菌による人工汚染と消毒操作は合計 10 回繰り返す。その一連の操作中の 1, 3, 7 及び 10 回目の消毒が終了した時点でグローブジュース法によるサンプリングを行い、培養して得られた菌量を消毒後菌量とした。対照薬に割り付けられた被験者は、消毒操作として MR06B7 でのラビングの代わりに 4% CHG 含有スクラブ剤による衛生的手洗い (5 ml, 1 回適用後、30 秒間揉み洗いして水道水で 30 秒間水洗) を行った。

グローブジュース法のサンプリングは、手術用滅菌ゴム手袋 (パウダーフリー) を両手に装着し、手袋内に 75 ml のサンプリング液 (Na₂HPO₄: 10.1 g,

KH₂PO₄: 0.4 g, Triton X-100: 1.0 g, 蒸留水: 1 l) を注入し、介助者が被験者の手指全体を 1 分間マッサージした。その後、手袋内のサンプルを採取し、直ちに等量の中和剤 (Lecithin: 11.67 g, Polysorbate 80: 100 ml, Na₂HPO₄: 10.1 g, KH₂PO₄: 0.4 g, Na₂S₂O₃·5H₂O: 5.0 g, Tamol: 10 g, 蒸留水: 1 l) と混合した。回収液はトリプチケースソイ寒天培地で 24-48 時間培養後、コロニー数を計測して片手あたりの菌量 (CFU/hand) を算出した。なお、検出限界値 (500 CFU/hand) 未満の場合は検出限界値の 1/2 (250 CFU/hand) として、消毒前後の菌量から求めた指数減少値 [LR = Log₁₀ (消毒前菌量/消毒後菌量)] で薬効を評価した。なお、米国 FDA TFM の判定基準では、一般病棟用の手指消毒剤に対し消毒 1 回目 LR ≥ 2, 消毒 10 回目 LR ≥ 3 となる薬効が要求されている。

結 果

1. 各種微生物に対する *in vitro* 有効性評価

MRSA, VRE 及び MDRP を含む細菌 20 株に対する MR06B7 及び消毒用エタノールの即効性を *in vitro* で調べた結果、いずれの菌株に対しても 15 秒以内に 1×10^5 CFU の菌を殺菌した (Table 2)。

真菌に対する MR06B7 の薬効を消毒用エタノールと比較検討した結果、ウシ血清アルブミンやヒツジ血球等の有機物を添加した汚染状態でも、欧州標準試験法 EN13624 の薬効判定基準 (LR ≥ 4) を満たす殺菌効果を示した (Table 3)。

ウイルスに対する薬効評価は 99.99% 以上のウイルス不活化に相当する LR ≥ 4.00 を消毒効果の指標として、MR06B7 と消毒用エタノールの有効性を比較した。エンペロップウイルスである Avian FluV H5N1, DHBV, HSV-1 及び FluV H1N1 に対し、MR06B7 は薬剤作用直後にウイルス感染力価を検出限界未満まで減少させた。また、ノンエンペロップウイルスである FCV, ADV-5, ADV-8, PV-1 及び MNV に対しても同様にウイルス感染力価を測定限界未満まで減少させ、供試したすべてのウイルスに対して短時間で有効性を示すことが確認された (Table 4)。これに対し、消毒用エタノールを用いて FCV, Adv-5 及び PV-1 に対する不活化効果を調べたところ、LR ≥ 4.00 を達成するためには Adv-5 には 5 分を要し、それ以外の FCV 及び PV-1 では

Table 2. *In Vitro* Bactericidal Efficacy

Bacterial strain	Growth (+/-) ^{a)}		
	MR06B7	83% (v/v) Ethanol	Control
Gram positive bacteria			
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	-	+
Vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	-	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	-	+
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591	-	-	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	-	-	+
<i>Streptococcus pyogenes</i> IID 698	-	-	+
Gram negative bacteria			
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> RIMD 0101001	-	-	+
<i>Acinetobacter baumannii</i> JCM 6841	-	-	+
<i>Burkholderia cepacia</i> NBRC 15124	-	-	+
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i> NBRC 12535	-	-	+
<i>Citrobacter freundii</i> NBRC 12681	-	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i> IID 977	-	-	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NBRC 3512	-	-	+
<i>Proteus mirabilis</i> NBRC 3849	-	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	+
Multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> GTC 2017	-	-	+
<i>Salmonella typhimurium</i> NBRC 12529	-	-	+
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 14756	-	-	+
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> NBRC 14161	-	-	+

a) Contact time; 15 s, Inoculation; 10⁵ CFU.

Table 3. *In Vitro* Fungicidal Efficacy

Fungal strain	Condition ^{a)}	Log ₁₀ Reduction ^{b)}					
		MR06B7			83% (v/v) Ethanol		
		0.5 min	1 min	2 min	0.5 min	1 min	2 min
<i>Candida albicans</i>	Clean	>4.00	>4.00	N.T.	>4.00	>4.00	N.T.
	Dirty	>4.00	>4.00	N.T.	>4.00	>4.00	N.T.
<i>Aspergillus niger</i>	Clean	N.T.	>4.00	>4.00	N.T.	>4.00	>4.00
	Dirty	N.T.	>4.00	>4.00	N.T.	>4.00	>4.00

a) Clean; 0.3 g/l Bovine serum albumin, Dirty; 3 g/l Bovine serum albumin+3 ml/l Sheep erythrocytes, b) N.T.; Not tested.

Table 4. *In Vitro* Virucidal Efficacy of MR06B7

Viral strain	Log ₁₀ Reduction		
	15 s	30 s	1 min
Non-enveloped virus			
Adenovirus type 8	N.T.	>4.50	>4.50
Murine norovirus	N.T.	>5.67	>5.67
Enveloped Virus			
Avian influenza virus H5N1	>4.67	>4.67	N.T.
Duck hepatitis B virus	>5.42	>5.42	N.T.
Herpes simplex virus type 1	N.T.	>4.16	>4.16
Influenza A virus H1N1	N.T.	>4.72	>4.72

N.T.; Not tested.

5分間作用後においても LR=1.83 及び 2.83 を示すに留まり、供試ウイルスを完全に不活化するには至らなかった (Fig. 1).

2. 健康人ボランティア試験による *in vivo* 薬効評価 米国標準試験法 ASTM E1174 に従い、MR06B7の薬効をグローブジュース法で評価した結果、適用1回目での消毒効果 LR (Mean±S.D.) は 3.26±0.74、適用10回目においては 3.83±0.81 の効果を示し、ともに米国 FDA の TFM に記載されている薬効の判定基準 (製剤1回適用後に 2 Log₁₀ 以上の菌数減少、製剤10回適用後に 3 Log₁₀

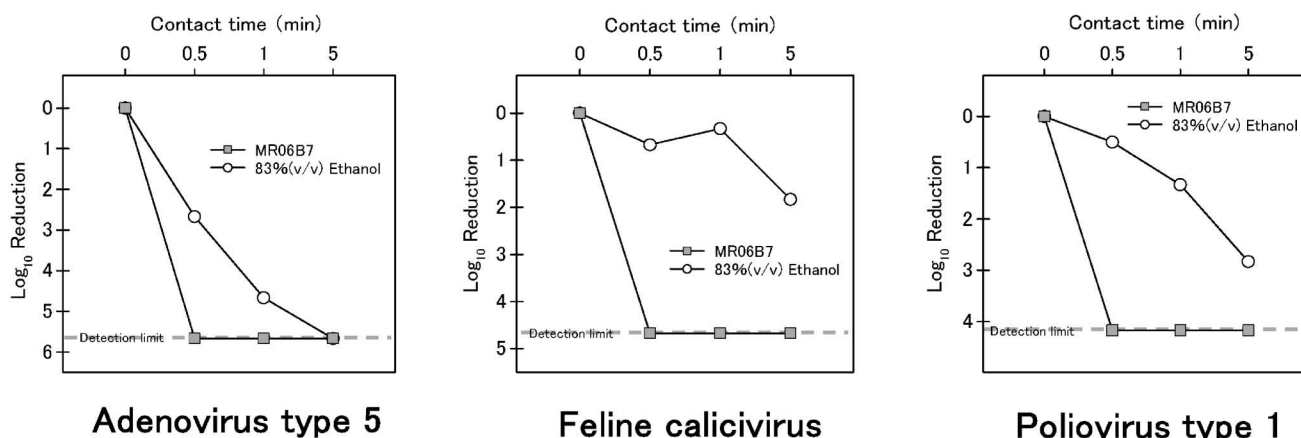


Fig. 1. Inactivation Activity of MR06B7 and Ethanol against 3 Non-enveloped Viruses

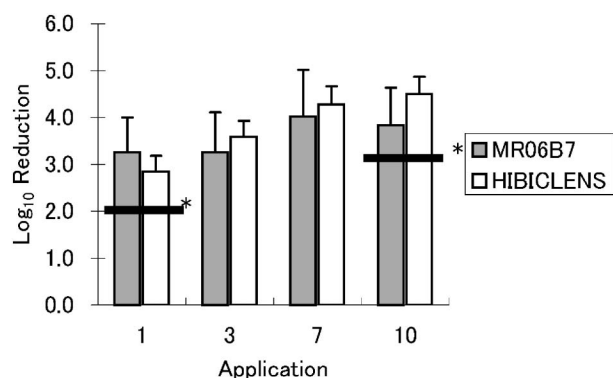


Fig. 2. *In Vivo* Efficacy Evaluation Study for Healthcare Personnel Hand Wash Products by Glove Juice Test Procedure
*, FDA TFM's efficacy requirement (Post application 1: LR \geq 2, Post application 10: LR \geq 3).

以上の菌数減少を示す)を満した。また、試験の対照薬(4%CHGスクラブ剤)は適用1回目と10回目で消毒効果LR=2.85 \pm 0.33と4.50 \pm 0.37の値を示し、TFM薬効基準を満したことから本試験の成立も確認できた(Fig. 2)。

考 察

アルコール手指消毒薬は水道へのアクセスが悪い場所やベッドサイドにおいてもウォーターレスで簡単に使用が可能といった利点に加え、保湿剤配合のアルコール手指消毒薬による手指衛生は抗菌性石鹼による手洗いよりも皮膚に対する刺激が少ないことから、手あれ部分への病原菌定着やタオルを介した病原微生物の伝播による感染拡大といった問題の軽減に寄与している^{3,6,7,26,27)}このアルコール手指消毒薬の有用性を更に向上させるため、われわれは消

毒対象となるウイルススペクトラム拡大を目指して処方改良検討を進めた。これまでの検討において、有機酸を単独でアルコールに添加した場合、ネコカリシウイルスに対して薬効の増強を認めるものの、アデノウイルスには効果の増強を認めず、不活化スペクトラムのバランスが崩れることが明らかとなった。これまでにネコカリシウイルスの安定性はpHに依存すると報告されている¹³⁾が、このことは呼吸器系ウイルスのネコカリシウイルスが感染部位に到達するまでに胃酸に曝されないことと関連するものと推察される。これに対し、ノロウイルスと同じ腸管系ウイルスであるマウスノロウイルスはネコカリシウイルスよりも酸に抵抗性を示すことが報告されており¹⁵⁾単にpHを操作するだけでは広範囲のノンエンベロップウイルスを対象にした薬効増強効果は期待できないことを示している。そこで、われわれは添加剤の種類と配合比率に関する検討を重ね、腸管系ウイルスにも薬効を示すMR06B7の処方を見出した。さらに本改良処方はウサギを用いた累積皮膚刺激性試験で、皮膚に対する安全性の向上にも寄与している可能性が示唆されている(現在投稿中)。

今回、MR06B7の薬効面に関する特徴を明らかにするため、各種微生物に対する有効性を*in vitro*で調べるとともに、米国FDA TFMの一般病棟向け手指消毒薬のための標準法に従いボランティア試験を実施して実使用上の消毒効果を調べた。その結果、MR06B7はMRSA・VRE・MDRPを含む一般細菌20種、真菌2種及びトリインフルエンザH5N1、アヒルB型肝炎ウイルスを含むエンベロー

プウイルス 4 種に対し、即効的な消毒薬として知られる消毒用エタノールと同様の優れた殺菌効果を示した。また、ネコカリシウイルスやマウスノロウイルスといったノロウイルスの代替ウイルス 2 種、ポリオウイルス及びアデノウイルス 2 株に対しても MR06B7 は優れた不活化効果を示し、従来アルコール系の消毒薬では効果が不十分と考えられたノンエンベロープウイルスに対しても有効であることが示唆された。健康人ボランティアによる実使用試験では、MR06B7 が TFM の一般病棟向け消毒薬としての薬効の基準を満たすことが確認された。

以上の結果より、MR06B7 はエタノールが有する幅広い薬効を損なうことなく、ノンエンベロープウイルスに対して有効な米国 FDA の TFM 基準に基づく実使用上のエビデンスが確認された手指消毒薬として、感染制御における新たな選択肢を提供できるものと考えられる。

REFERENCES

- 1) Kobayashi H., Okubo T., Kuratsuji T., Arakawa Y., Kirikae T.: <http://www.mhlw.go.jp/topics/2005/02/tp0202-1.html>, Ministry of Health, Labour and Welfare, cited 2 November, 2009.
- 2) Pratt R. J., Pellowe C. M., Wilson J. A., Loveday H. P., Harper P. J., Jones S. R. L. J., McDougall C., Wilcox M. H., *J. Hosp. Infect.*, **65**(Suppl. 1), S1-S59 (2007).
- 3) Boyce J. M., Pittet D., *Am. J. Infect. Control*, **30**, S1-S46 (2002).
- 4) “The Global Patient Safety Challenge 2005–2006, Clean Care is Safer Care”: <http://www.who.int/gpsc/en/index.html>, World Health Organization, cited 2 November, 2009.
- 5) Pittet D., Allegranzi B., Storr J., Nejad S. B., Dziekan G., Leotsakos A., Donaldson L., *J. Hosp. Infect.*, **68**, 285–292 (2008).
- 6) “Handbook of Topical Antimicrobials: Industrial Applications in Consumer Products and Pharmaceuticals,” ed. by Paulson D. S., Marcel Dekker, Inc., New York, 2003.
- 7) “Disinfection, Sterilization, and Preservation,” 5th ed., ed. by Block S. S., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001.
- 8) Gehrke C., Steinmann J., Goroncy-Bermes P., *J. Hosp. Infect.*, **56**, 49–55 (2004).
- 9) Sato R., Wada H., Takizawa M., Yokota K., *Jpn. J. Med. Pharm. Sci.*, **49**, 713–724 (2003).
- 10) Lagas S. L. S., Ramakrishnan M. A., Goyal S. M., *J. Hosp. Infect.*, **68**, 159–163 (2008).
- 11) Azar M. J., Dhaliwal D. K., Bower K. S., Kowalski R. P., Gordon Y. J., *Am. J. Ophthalmol.*, **121**, 711–712 (1996).
- 12) Aho L. S., Simon I., Bour J. B., Morales-Gineste L., Pothier P., Gouyon J. B., *Pathol. Biol.*, **48**, 885–892 (2000).
- 13) Duizer E., Bijkerk P., Rockx B., Groot A., Twisk F., Koopmans M., *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 4538–4543 (2004).
- 14) Kampf G., Grothier D., Steinmann J., *J. Hosp. Infect.*, **60**, 144–149 (2005).
- 15) Cannon J. L., Papafragkou E., Park G. W., Osborn J., Jaykus L., Vinje J., *J. Food. Protection*, **69**, 2761–2765 (2006).
- 16) Wobus C. E., Thackray L. B., Virgin H. W., *J. Virol.*, **80**, 5104–5112 (2006).
- 17) Bae J., Schwab K. J., *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 477–484 (2008).
- 18) Baert L., Wobus C. E., Coillie E. V., Thackray L. B., Debevere L., Uyttendaele M., *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 543–546 (2008).
- 19) Belliot G., Lavaux A., Souihel D., Agnello D., Pothier P., *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 3315–3318 (2008).
- 20) Tsiquaye K. N., Barnard J., *J. Antimicrob. Chemother.*, **32**, 313–323 (1993).
- 21) Sauerbrei A., Schacke M., Gluck B., Egerer R., Wutzler P., *J. Hosp. Infect.*, **64**, 358–365 (2006).
- 22) European Standard EN 13624., “Chemical disinfectants and antiseptics –Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal activity of chemical disinfectants for instruments used in the medical area –Test method and requirements (phase 2, step 1).” European Committee for Standardization, Brussels. (2003).
- 23) European Standard EN 14476., “Chemical disinfectants and antiseptics –Virucidal quantitative suspension test for chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine –Test method and requirements (phase 2, step 1).” European Committee for Standardization, Brussels. (2005).
- 24) U. S. Food and Drug Administration, *Fed.*

-
- Reg.*, **59**, 31402–31452 (1994).
- 25) ASTM E1174, “Standard Test Method for Evaluation of the Effectiveness of Health Care Personnel or Consumer Handwash Formulations,” ASTM International, West Conshohocken, 2003.
- 26) Larson E. L., Hughes C. N., Pyrek J. D., Sparks S. M., Cagatay E. U., Bartkus J. M., *Am. J. Infect. Control*, **26**, 513–521 (1998).
- 27) Cook H. A., Cimiotti J. P., Della-Latta P., Saiman L., Larson E. L., *Am. J. Infect. Control*, **35**, 231–236 (2007).