

■ Concise communications

アルコール製剤のクロルヘキシジン活性阻害について — 中間報告 —

曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦 工, 遠藤博久

東京医療保健大学大学院

An interim report on the negative influence of alcohol-based hand gel on the cumulative persistent antimicrobial activity of chlorhexidine

Yoshiro Sogawa, Hiroyoshi Kobayashi, Takumi Kajiura, Hirohisa Endo

Division of Infection Prevention and Control, Postgraduate School, Tokyo Healthcare University

要旨:

背景・目的: 我々は、本邦で市販されているジェルタイプのアルコール手指消毒薬が、クロルヘキシジン (CHG) の持続的殺菌活性に影響を与えるかどうかについて検討してきた。今回、市販のアルコールジェル製剤 2 製剤と陰イオン系の添加物を含まない試作ジェル製剤の計 3 製剤を用いてさらなる検討を加え、さらに、これらアルコールジェル製剤のアルコール以外の成分が播種した細菌に与える影響についても合わせて検討した。

方法: 健康成人ボランティアの左前腕屈側部に、4%CHG 含有スクラブ薬を用いての 60 秒間スクラブングを 5 回繰り返し、CHG を皮膚に残留させた。被験者の左前腕屈側部に直径 2.4cm の円形のテスト部位を 3 ヶ所設け、このうちの 2 ヶ所にアルコールジェル製剤を 100μL あるいは 200μL 塗布した。被験者の右前腕屈側部も同様に直径 2.4cm の円形のテスト部位を 3 ヶ所設け、このうちの 2 ヶ所にアルコールジェル製剤を同様に塗布した。アルコールジェル製剤中のアルコール成分を完全に蒸発させた 20 分後、*E. coli* K 12 の菌液をすべてのテスト部位に播種した。供試した細菌は、欧州の標準的 *in vivo* 試験で使用される安全性の高い *Escherichia coli* K12 (NBRC 3301) とした。その 5 分後、すべてのテスト部位からカップスクラブ法で細菌を回収し、回収液は直ちに連続希釈して一定量をトリプトソイ寒天培地に塗抹して培養後の発育コロニーを計数した。

結果・考察: 現時点では限られた検体数 (n=2) での検討であるが以下の結果が得られた。CHG 単独適用部位では CHG の持続的殺菌活性を認めた。CHG を塗布した上に市販のアルコールジェル製剤を上塗りした場合は、CHG の持続的殺菌活性を完全に阻害する、あるいは CHG の殺菌活性を弱める作用を認めた。一方、陰イオン系の添加物を含まない試作ジェル製剤を上塗りした場合は、CHG の殺菌活性への影響は小さいものであった。また、アルコールジェル製剤中のアルコール以外の成分は、*E. coli* の生存性に多少影響するよう見受けられたものの、アルコールジェル製剤の CHG の殺菌活性阻害作用の評価への影響は小さいものと考えられた。

今後、例数を重ねてさらに検討を加える予定であるが、本邦で市販されているアルコールジェル製剤についても、米国のアルコールジェル製剤と同様に CHG の殺菌活性を阻害する作用を有することが強く示唆された。

Key words : alcohol-based hand gel, chlorhexidine, cumulative persistent antimicrobial activity, cup scrub technique

はじめに

昨今では医療関連感染の予防手段としてアルコール手指消毒薬の使用が推奨されるようになり¹⁻³⁾、本邦でも術

前手指消毒時に従来の外科用クロルヘキシジン (CHG) スクラブ薬とアルコール手指消毒薬を併用する施設が多くなってきた⁴⁾。ところが Kaiser らは、米国で市販されている増粘剤を含むある種のジェルタイプのアルコール手指消毒薬と CHG 含有スクラブ製剤を併用すると、CHG

による持続的な殺菌活性が阻害されることを明らかにし、これらを同時使用すべきではないとした⁵⁾。

そこで我々は、本邦で繁用されている代表的なジェルタイプのアルコール手指消毒薬について予備的に検討し、CHGの持続的殺菌活性を阻害することを明らかにした⁶⁾。今回我々は、本邦で市販されているアルコールジェル製剤2製剤と陰イオン系の添加物を含まない試作ジェル製剤の計3製剤を用いてさらなる検討を加え、さらに、これらのアルコール手指消毒薬のアルコール以外の成分が、播種した細菌に与える影響についても合わせて検討した。

1. 目 的

本邦で市販されているジェルタイプのアルコール手指消毒薬が、CHG含有スクラブ製剤の持続的殺菌活性を抑制するかどうか検討した。さらに、これらアルコールジェル製剤のアルコール以外の成分が播種した細菌に与える影響についても合わせて検討した。

2. 方 法

CHG含有スクラブ製剤として、4 w/v % CHG含有スクラブ薬（ヘキザック[®]スクラブ、吉田製薬）を、また、アルコールジェル製剤としては、76.9～81.4 v/v %エタノールを含有する市販のジェルタイプアルコール手指消毒薬（Gel BおよびGel C）および市販の0.2 w/v % CHGアルコール手指消毒薬から主薬のCHGを除いた基剤成分のみの試作ジェル製剤（Gel D）を使用した。また、供試菌としては、欧州の標準的 *in vivo* 試験^{7,8)}で使用される安全性の高い *Escherichia coli* K12（NBRC 3301）を用いた。

健康成人ボランティアの左右前腕屈側部全体を抗菌成分無添加の石けんで洗浄し、さらに3 mLの1% Triton X-100で洗浄した後、左前腕屈側部に4%CHG含有スクラブ薬（ヘキザックスクラブ；吉田製薬）を適用した。CHGスクラブ薬の適用は、5 mLの薬液を用いて60秒間のスクラビングとし、これを5回繰り返した後、流水で20秒間かけて洗い流した。右前腕屈側部にはCHGスクラブ薬は塗布しなかった。被験者の左右前腕屈側部に円形のテスト部位（直径2.4 cm）を3ヶ所ずつ設け、左前腕屈側部のテスト部位3ヶ所のうち手掌に近い2ヶ所に、アルコールジェル製剤（Gel B, Gel C, Gel D）を100 μ L、

あるいは200 μ L塗布した。右前腕屈側部のテスト部位3ヶ所のうちの2ヶ所についても同様にアルコールジェル製剤を塗布した。アルコールジェル製剤を塗布した後、20分間待ってアルコール成分を完全に蒸発させてから、すべてのテスト部位に *E. coli* K 12の菌液15 μ Lを滴下して塗り広げた。なお、*E. coli* K 12の菌液の濃度は、我々が検討した実験条件に準じて約10⁹/mLに調整した⁹⁾。5分後、すべてのテスト部位に内径2.4 cmの滅菌済みステンレス製シリンダーを押当て、中和剤入りサンプリング液（3%レシチン 10%ポリソルベート 80）5 mLを注入し、プラスチック棒で60秒間縦横にスクラブして（カップスクラブ法）細菌を回収した。回収したサンプリング液から50 μ L取って連続希釈し、それぞれトリプトソイ寒天培地に塗抹し、32.5°C 24時間培養後の発育コロニー（CFU；colony forming unit）を計数した。各テスト部位の菌数は自然対数に変換し、右前腕屈側部の無処置コントロール部位の菌数（Log₁₀CFU）から各テスト部位の菌数（Log₁₀CFU）を差し引いて菌数減少値（RF；reduction factor）を求めた。

3. 結 果

CHGを塗布した皮膚に供試したアルコールジェル製剤を適用し、その上に *E. coli*を播種した場合のRFを図1に示した。CHG単独適用部位でのRFは4.08と、皮膚に残留したCHGの殺菌活性を認めた。しかしCHGを塗布した上にGel Bを上塗りした場合のRFは、100 μ L塗布部位で-0.46、200 μ L塗布部位で-0.95とCHGの持続的殺菌活性を完全に阻害していた。Gel Cを上塗りした場合のRFは、100 μ L塗布部位で2.94、200 μ L塗布部位で2.63とCHGの殺菌活性を弱めていた。被験アルコールジェル製剤の主薬・アルコール以外の成分・組成を調べたところ（表1）、Gel BとGel Cには粘稠剤として陰イオン系高分子であるカルボキシビニルポリマーが共通して含まれていた。一方、0.2 w/v% CHGを主薬とするアルコールジェル製剤の基剤であるGel Dを上塗りした場合のRFは、100 μ L塗布部位で3.28、200 μ L塗布部位で4.81とCHGの殺菌活性への影響は小さいものであった。

CHGを塗布していない皮膚に供試したアルコールジェル製剤を適用し、その上に *E. coli*を播種した場合の菌数（Log₁₀CFU）を表2に示した。無処置コントロール

部位の菌数 ($\text{Log}_{10}\text{CFU}$) は 6.52 ± 0.78 (平均 $\pm$ 標準偏差) で、最大 7.15 ~ 最小 5.16 で、Gel B を塗布した上に *E. coli* を播種した場合の菌数は、100 μL 塗布時は 7.14, 200 μL 塗布時には 7.02 とコントロールを若干上回っていた。

Gel C の場合は、100 μL 塗布で 5.93, 200 μL 塗布で 6.51 とコントロールとほぼ同じ菌数であった。Gel D の場合は、100 μL 塗布で 4.34, 200 μL 塗布で 4.81 とコントロールを若干下回っていた。

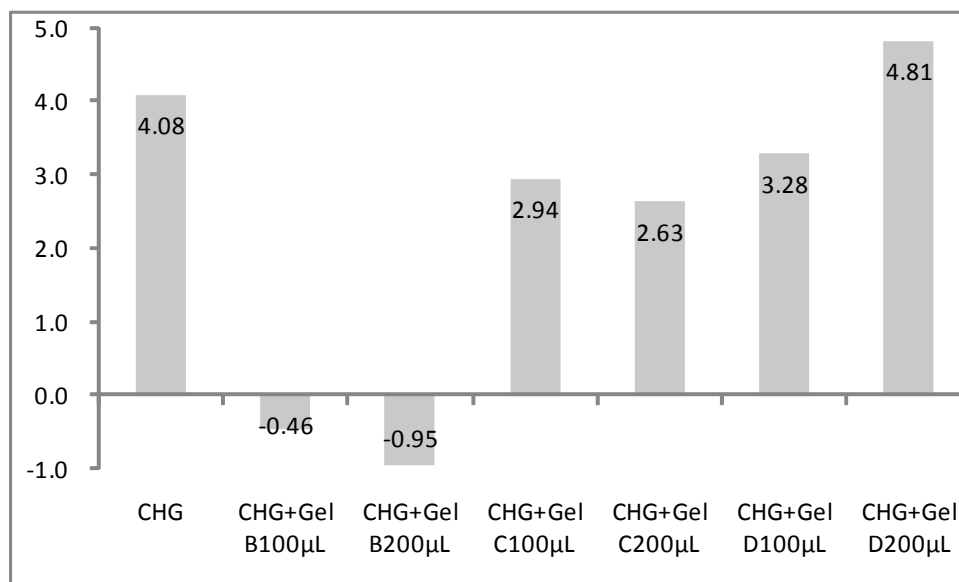


図1 CHG を塗布した皮膚にアルコールジェル製剤を適用し、その上に *E. coli* を播種した場合の RF (平均, $n=2$)

Gel B および Gel C は、市販のジェルタイプアルコール手指消毒薬、Gel D は、市販の 0.2w/v% CHG アルコール手指消毒薬の主薬 (CHG) を除いた基剤

表1 試験に供したアルコールジェル製剤の主薬・アルコール以外の成分・組成

被験アルコール製剤	湿潤剤	pH 調整剤	粘稠剤
Gel B	グリセリン ミリスチン酸イソプロピル アジピン酸ジイソブチル	トリエタノールアミン	カルボキシビニルポリマー ヒドロキシプロピルメチルセルロース
Gel C	アラントイン 1,3-ブチレングリコール	トリエタノールアミン	カルボキシビニルポリマー
Gel D	プロピレングリコール 濃グリセリン ミリスチン酸イソプロピル		

出典) 各製剤の医薬品添付文書

Gel B および Gel C は、市販のジェルタイプアルコール手指消毒薬、Gel D は、市販の 0.2w/v% CHG アルコール手指消毒薬の主薬 (CHG) を除いた基剤

表2 CHG を塗布していない皮膚にアルコールジェル製剤を適用し、その上に *E. coli* を播種した場合の菌数 ($\text{Log}_{10}\text{CFU}/\text{site}$)

		n	$\text{Log}_{10}\text{CFU}/\text{site}$
Gel B	100 μL	2	7.14
	200 μL	2	7.02
Gel C	100 μL	2	5.93
	200 μL	2	6.51
Gel D	100 μL	2	4.34
	200 μL	2	4.81
Control		6	6.52

Gel B および Gel C は、市販のジェルタイプアルコール手指消毒薬、Gel D は、市販の 0.2w/v% CHG アルコール手指消毒薬の主薬 (CHG) を除いた基剤

4. 考 察

2005 年に厚生労働省から医療施設における院内感染の防止に関する通知が発出され、術前手指消毒の方法としては、アルコール手指消毒薬を用いる方法と外科用スクラブ薬を用いる方法があり、外科用スクラブ薬を用いる場合はアルコール手指消毒薬を併用することが望ましいとされた¹⁰⁾。これを受けて、外科用スクラブ薬とアルコール手指消毒薬を併用する施設が増加しつつある⁴⁾。

このような状況を踏まえ、我々は、本邦で繁用されている代表的なジェルタイプのアルコール手指消毒薬について予備的に検討したところ、CHGの持続的殺菌活性を阻害することを見出した⁶⁾。今回我々は、本邦で市販されているアルコールジェル製剤2製剤(Gel B, C)と陰イオン系の添加物を含まない試作ジェル製剤(Gel D)の計3製剤を用いてさらなる検討を加え、さらに、これらのアルコール手指消毒薬のアルコール以外の成分が、播種した細菌に与える影響についても合わせて検討した。

その結果、市販アルコールジェル製剤のGel BはCHGの殺菌活性をほぼ完全に阻害する作用、また、Gel CはCHGの殺菌活性を弱める作用を示し、いずれも負の影響を与えた。このことから、アルコールジェル製剤のCHG阻害作用の強さは製剤によって異なることが示唆された。一方、0.2w/v% CHGを主薬とするアルコールジェル製剤の基剤(Gel D)はCHGの殺菌活性にほとんど影響を及ぼさないことが示唆された。Gel BおよびGel Cには、含量が不明であるが、陰イオン系の合成高分子であるカルボキシビニルポリマーが共通して含有されており、これがCHGの殺菌活性に影響した可能性が示唆された。一方、Gel Dに含まれる粘稠剤は開示されていないものの、他のCHGを主薬とするアルコールジェル製剤と同様に、非イオン系の高分子が含まれているものと思われる。

さらに、これらアルコールジェル製剤中のアルコール以外の成分が*E. coli*に与える影響について調べたところ、Gel CならびにGel Dにおいては*E. coli*の生存性に多少影響するように見受けられたものの、これらアルコールジェル製剤のCHGの殺菌活性阻害作用の評価への影響は小さいものと考えられた。*E. coli*の生存性が変化した原因は、製剤中の成分の影響というよりも細菌播種後の菌液の乾燥時間が変化した可能性が大きいものと思われる。

これらのことから、本邦で市販されているアルコールジェル製剤は、米国のアルコールジェル製剤と同様にCHGの殺菌活性を阻害することが強く示唆され、術前の手指消毒に外科用CHGスクラブ剤とアルコールジェル製剤を併用する場合は、カルボキシビニルポリマーなどの陰イオン系の物質を含有しないアルコールジェル製剤を選択する必要があると思われる。

なお、本報告は中間結果に基づくものであり、今後例数を重ねてさらに検討を加える予定である。

■ 文 献

- 1) Larson EL : APIC guidelines for handwashing and hand antisepsis in healthcare settings. *Am J Infect Control* 1995 ; 23 : 251-69.
- 2) Boyce JM, Pittet D : Guideline for hand hygiene in healthcare settings. Recommendation of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and HICPAC/SHEA/IDSA Hand Hygiene Task Force. *MMWR* 2002 ; 51 : 1-45.
- 3) World Health Organization : WHO Guidelines on hand hygiene in health care. Geneva: World Health Organization ; 2009.
- 4) 大久保 憲 : 医療施設における洗浄と消毒の実情. 感染と消毒 2008 ; 15 : 14-22.
- 5) Kaiser N, Klein D, Karanja P, Greten Z, Newman J : Inactivation of chlorhexidine gluconate on skin by incompatible alcohol hand sanitizing gels. *Am J Infect Control* 2009 ; 37 (7) : 569-73.
- 6) 曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦 工, 遠藤博久 : ゲルタイプのアルコール手指消毒薬はクロルヘキシジンの持続的殺菌効果を阻害するか? 医療関連感染 2009 ; 2 : 61-5.
- 7) EN 1499. Chemical disinfectants and antiseptics. Hygienic hand wash. *Test method and requirements*. Brussels: Comité Europeen de Normalisation; 1997.
- 8) EN 1500. Chemical disinfectants and antiseptics. Hygienic hand wash. *Test method and requirements*. Brussels: Comité Europeen de Normalisation; 1997.
- 9) 曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦 工 : 抗菌効果の評価のための細菌播種試験の実験条件に関する検討ー皮膚に播種された細菌の生残菌数の推移の視点からー. 医療関連感染 2010 ; 3 : 6-9
- 10) 厚生労働省:医療施設における院内感染の防止について 院内感染防止に関する留意事項. 平成 17 年 2 月 1 日医政局指導課長通知(医政指発第 0201004 号) 2005.

An interim report on the negative influence of alcohol-based hand gel on the cumulative persistent antimicrobial activity of chlorhexidine

Yoshiro Sogawa, Hiroyoshi Kobayashi, Takumi Kajiura, Hirohisa Endo

Division of Infection Prevention and Control, Postgraduate School, Tokyo Healthcare University

Background and objectives: We have been studying on the negative influence of alcohol-based hand gel on cumulative persistent antimicrobial activity of chlorhexidine (CHG) when used compatibly. Two commercially available alcohol-based hand gels and one experimentally produced alcohol-based hand gel without any anionic ingredients were additionally investigated in the current study. Also, the effects of ingredients except alcohol in the test gels on *E. coli* were checked.

Materials and Methods: Left forearms of the healthy volunteers (n=3) were scrubbed for 60 second using 4% CHG scrub. Scrubbing was repeated 5 times. Three circular test sites (2.4cm diameter) were set on anterior skin on left forearms, and test alcohol gels were applied on two of three test sites. Amounts of test alcohol gels were 100μL or 200μL. Also, right forearms were treated as in the same manner as left forearm without CHG treatment. After 20 minutes, *E. coli* K 12 (NBRC 3301) inoculums were applied on the test sites. After 5 minutes, specimens were collected using cup scrub technique from each test sites, and were diluted and smeared

on the trypticase soy agar plates. Colony forming unit of each plates were counted after 24 hours' culture.

Results and Discussion: Following interim results were obtained so far. CHG treated test sites showed enough cumulative persistent antimicrobial activities. However, commercially available alcohol-based hand gels showed complete/partial inhibitory effect on antimicrobial activity of CHG, whereas experimentally produced alcohol-based hand did not. Commercially available alcohol-based hand gels contained anionic charged polymer as a thickening agent, whereas none in experimentally produced alcohol-based hand gel. The ingredients except alcohol in the test gels seemed to have some minor influence on the survivability of *E. coli*, however it seemed to be insignificant for evaluation of antimicrobial activity of CHG. This is interim report and may need additional data for conclusion, but it was suggested that the Japanese commercially available alcohol hand gels also possessed negative effects on cumulative persistent antimicrobial activity of CHG, as reported in the US.