

■ Concise communications

クロルヘキシジングルコン酸塩水溶液とアニオン系物質を 混合した際の性状変化と殺菌活性の変化

曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦 工

東京医療保健大学大学院

Changes of chemical nature and antimicrobial activity of chlorhexidine gluconate when mixed with anionic substances

Yoshiro Sogawa, Hiroyoshi Kobayashi, Takumi Kajiuura

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

要旨:

背景・目的: 我々は先に、本邦で市販されている一部のアルコールジェル手指消毒薬がクロルヘキシジングルコン酸塩 (CHG) 含有消毒薬の持続的殺菌活性を阻害することを報告した。今回、アルコールジェル製剤にしばしば添加されているアニオン系の物質、カルボキシビニルポリマー (カルボマー) およびトリエタノールアミンと CHG 液を混合した場合の性状変化、ならびに混合液の殺菌活性について検討した。

方法: 混合液の性状変化については、カルボマー水溶液あるいはトリエタノールアミン塩酸塩水溶液に各種濃度の CHG 液を添加して、色調、沈殿の有無および pH の変化を観察した。混合液の殺菌活性については、CHG 水溶液に各種濃度のカルボマー水溶液、あるいは、各種濃度のトリエタノールアミン塩酸塩水溶液を加えた混合液に *E. coli* 菌液を加え、2 分間接触させた後の生残菌数を調べて評価した。

結果・考察: カルボマー水溶液あるいはトリエタノールアミン塩酸塩水溶液に CHG 液を添加した場合、添加した CHG 水溶液の濃度に伴って白濁し、沈殿が出現することがわかった。また、カルボマー、トリエタノールアミンはそれぞれ単独で用量依存的に CHG の殺菌活性を阻害することがわかった。したがって手術時の手指消毒等において、CHG 含有の外科用スクラブ薬とアルコール手指消毒薬を併用する場合は、添加物の種類や配合量に留意し、薬物相互作用のない製剤を選択する必要があるものと考えられた。

Key words : anionic substance, carboxy vinyl polymer, triethanolamine, chlorhexidine, antimicrobial activity

はじめに

我々は、本邦で市販されているアルコールジェル手指消毒薬にクロルヘキシジングルコン酸塩 (CHG) 含有消毒薬の持続的殺菌活性を阻害する可能性があることを見出し、さらにその原因として、アルコールジェル手指消毒薬に添加されていたアニオン系の物質が影響している可能性を指摘した^{1, 2)}。

今回我々は、本邦のアルコールジェル手指消毒薬にし

しばしば添加されているアニオン系物質であるカルボキシビニルポリマー (カルボマー) およびトリエタノールアミンについて、それぞれ CHG 水溶液と混合した場合の性状変化、ならびに混合液の殺菌活性について検討した。

1. 目的

カルボマーおよびトリエタノールアミンと CHG 水溶液を混合した場合の性状変化 (色調, 沈殿の有無および pH) ならびに混合液の殺菌活性を検討した。

2. 方法

(供試材料)

カルボマー (Carbopol® ETD 2050 (Lubrizol Advanced Materials) およびトリエタノールアミン (トリエタノールアミン塩酸塩, 関東化学) は精製水に溶解して調製した。CHG 水溶液は, 20 w/v% CHG 水溶液 (20%ヘキサック®消毒液, 吉田製薬) を精製水で希釈して調製した。殺菌活性試験には, 欧州の標準的試験で使用される *Escherichia coli* K12 (NBRC 3301) を供試した。

(試験方法)

◆混合液の性状変化

カルボマーが 0.1w/v% になるよう精製水に溶解し, またトリエタノールアミン塩酸塩が 5.0w/v% になるよう精製水に溶解した。それぞれの水溶液を透明ガラス試験管に 2mL 取り, 0.025, 0.1, 0.5, 1.0w/v% の CHG 水溶液, 対照として精製水を 200 μ L 添加して, 性状変化 (色調, 沈殿の有無および pH) を観察した。なお, 色調および沈殿の有無については目視評価とし, 色調の判定基準は「澄明」「わずかに白濁」「白濁」の3段階, 沈殿の判定基準は, 塊状の物質が「なし」「わずかにあり」「あり」の3段階とした。各混合液の pH は pH メーター (ISFET pH meter KS701, 新電元工業) で測定した。

◆混合液の殺菌活性

以下に示す CHG とカルボマーの混合液 (4 種類), CHG とトリエタノールアミンの混合液 (4 種類) を調製した。また対照として精製水をおいた。これら被験液を滅菌済 24 ウェルのマイクロプレートにそれぞれ 2mL ずつ取り, それぞれに約 10^9 /mL に調整した *E. coli* 菌液を 50 μ L 添加した。2 分経過後に被験液を 10 倍量の CHG 活性中和液 (3% レシチン, 10% ポリソルベート 80) と混合させ, CHG の殺菌活性を不活化した。これらの液の一定量を連続段階希釈して, トリプトソイ寒天培地に塗抹し, 30°C 24 時間培養後の発育コロニー (CFU; Colony Forming Unit) をカウントした。菌数は対数 (Log_{10} CFU) に変換し, 精製水で得られた対照から差し引いて各被験液の対数減少値 (RF: Reduction Factor) を算出した。

(CHG とカルボマーの混合液)

- ① 0.05 w/v% CHG 水溶液
- ② 0.05 w/v% CHG 水溶液+0.004w/v%カルボマー水溶液
- ③ 0.05 w/v% CHG 水溶液+0.02w/v%カルボマー水溶液
- ④ 0.05 w/v% CHG 水溶液+0.1w/v%カルボマー水溶液

(CHG とトリエタノールアミンの混合液)

- ① 0.01 w/v% CHG 水溶液
- ② 0.01 w/v% CHG 水溶液+0.2w/v%トリエタノールアミン塩酸塩水溶液
- ③ 0.01 w/v% CHG 水溶液+1.0w/v%トリエタノールアミン塩酸塩水溶液
- ④ 0.01 w/v% CHG 水溶液+5.0w/v%トリエタノールアミン塩酸塩水溶液

3. 結果

◆混合液の性状変化

0.1w/v%カルボマー水溶液と各種濃度に調整した CHG 水溶液の混合液の色調, 沈殿の有無および pH の変化を表 1 に示した。カルボマー水溶液 2mL に精製水を 200 μ L 添加した場合には澄明であったが, 0.025 w/v% あるいは 0.1 w/v% の CHG 水溶液を 200 μ L 添加した場合はわずかに白濁が観察された。さらに 0.5 w/v% あるいは 1.0 w/v% の CHG 水溶液を 200 μ L 添加した場合は, 明らかな白濁が認められ, かつ, 沈殿が凝集し塊状を呈した。白濁化と沈殿は薬液混合直後に発生し, 白濁の程度, 沈殿量については, 添加した CHG 水溶液の濃度に伴って増加した。0.1w/v%カルボマー水溶液の pH は 3.7 であり, 各種濃度の CHG 水溶液を添加した液の pH 変動については特記すべき変化は認められなかった。

5.0 w/v%トリエタノールアミン塩酸塩水溶液と各種濃度に調整した CHG 水溶液の混合液の色調, 沈殿の有無および pH の変化を表 2 に示した。トリエタノールアミン塩酸塩水溶液 2mL に精製水, 0.025 w/v% CHG 水溶液, 0.1 w/v% CHG 水溶液を 200 μ L 添加した場合はいずれも澄明性に変化は認められなかったが, 0.5 w/v% CHG 水溶液を 200 μ L 添加した場合はわずかに白濁し, わずかな沈殿物質の出現が観察された。さらに 1.0

表1 0.1w/v%カルボマー水溶液と各種濃度のCHG液の混合液の性状変化

	精製水	CHG水溶液濃度(CHG量)			
		0.025% (0.05mg)	0.1% (0.2mg)	0.5% (1.0mg)	1.0% (2.0mg)
色調	澄明	わずかに白濁	わずかに白濁	白濁	白濁
沈殿の有無	なし	なし	なし	あり	あり
pH	3.9	4.0	3.9	3.8	3.7

0.1w/v%カルボマー水溶液 2mL (カルボマー量は 2mg/2mL) に、精製水、0.025、0.1、0.5 および 1.0w/v% CHG 水溶液をそれぞれ 200 μ L 添加し、混合液の色調・不溶性物質の有無の観察、pH 測定を実施。色調の判定基準は、澄明、わずかに白濁、白濁の3段階で目視評価。沈殿の判定基準は(塊状の物質が)なし、わずかにあり、ありの3段階で目視評価。

表2 5.0w/v%トリエタノールアミン塩酸塩水溶液とCHG液の混合液の性状変化

	精製水	CHG水溶液濃度(CHG量)			
		0.025% (0.05mg)	0.1% (0.2mg)	0.5% (1.0mg)	1.0% (2.0mg)
色調	澄明	澄明	澄明	わずかに白濁	白濁
沈殿の有無	なし	なし	なし	わずかにあり	あり
pH	4.8	4.9	4.9	4.9	4.9

5.0w/v%トリエタノールアミン塩酸塩水溶液 2mL (トリエタノールアミン塩酸塩量は 100mg/2mL) に、精製水、0.025、0.1、0.5 および 1.0w/v% CHG 水溶液をそれぞれ 200 μ L 添加し、混合液の色調・沈殿の有無の観察、pH 測定を実施。色調の判定基準は、澄明、わずかに白濁、白濁の3段階で目視評価。沈殿の判定基準は(塊状の物質が)なし、わずかにあり、ありの3段階で目視評価。

w/v% CHG 水溶液を 200 μ L 添加した場合は、明らかな白濁および沈殿の出現が認められた。白濁化と沈殿は薬液混合後の時間とともに発生し、反応は緩やかであった。白濁の程度、沈殿量については、添加した CHG 水溶液の濃度に伴って増加した。5.0w/v%トリエタノールアミン塩酸塩水溶液の pH は 4.5 であり、各種濃度の CHG 水溶液を添加した液の pH 変動については特記すべき変化は認められなかった。

◆混合液の殺菌活性

0.05 w/v% CHG 水溶液および 0.05 w/v% CHG 水溶液に各種濃度のカルボマーを加えた混合液に *E. coli* 菌液を加え 2 分間接触させた場合の RF を図 1 に示した。0.05 w/v% CHG 液、0.05 w/v% CHG+0.004w/v%カルボマー液ではともに *E. coli* は検出されず、CHG の殺菌効果が示された。しかし 0.05 w/v% CHG+0.02w/v%カルボマー液では RF は 2.23 であり CHG の殺菌活性が幾分阻害されていた。さらに 0.05 w/v% CHG + 0.1w/v%カルボマー液の RF は 0.17 と CHG の殺菌活性が阻害されていた。

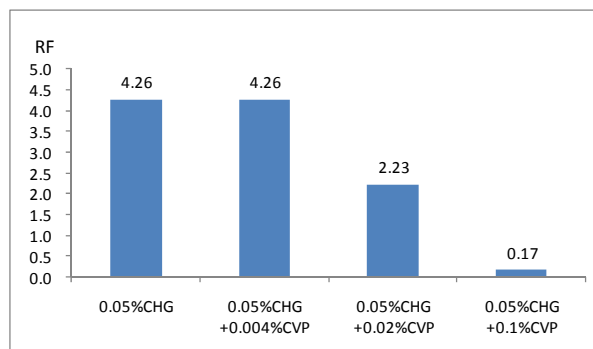


図1 CHG液とカルボマーの混合液の殺菌活性

各液 2mL に *E. coli* 菌液 (約 10^9 /mL) を 50 μ L 添加, 2 分経過後の RF, n=1, CVP:カルボマー。

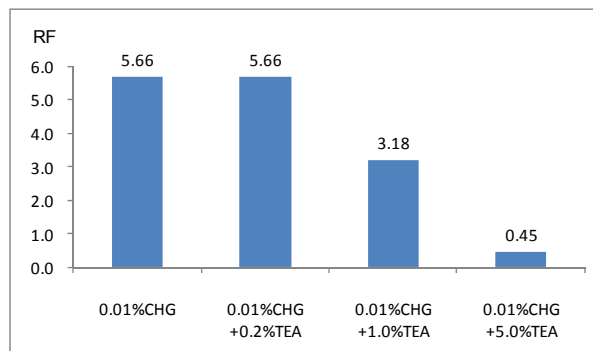


図2 CHG液とトリエタノールアミンの混合液の殺菌活性

各液 2mL に *E. coli* 菌液 (約 10^9 /mL) を 50 μ L 添加, 2 分経過後の RF, n=1, TEA:トリエタノールアミン塩酸塩。

0.01w/v% CHG 水溶液および 0.01w/v% CHG 水溶液に各種濃度に調製したトリエタノールアミン塩酸塩水溶液を加えた混合液に *E. coli* 菌液を加え、2 分間接触させた場合の RF を図 2 に示した。0.01w/v% CHG 液、0.01w/v% CHG+0.2w/v% トリエタノールアミン塩酸塩液ではともに *E. coli* は検出されず、CHG の殺菌効果が認められた。しかし、0.01w/v% CHG+1.0w/v% トリエタノールアミン塩酸塩液の RF は 3.18 であり CHG の殺菌活性が幾分阻害されていた。さらに 0.01w/v% CHG+5.0w/v% トリエタノールアミン塩酸塩液の RF は 0.45 と、CHG の殺菌活性が阻害されていた。

4. 考 察

今回我々は、本邦のアルコールジェル手指消毒薬にしばしば含有されているアニオン系の物質であるカルボマーおよびトリエタノールアミンと CHG 液の混合液についてその性状変化を観察した。その結果、いずれの混合液においても、添加した CHG 水溶液の濃度に伴って白濁化、沈殿の発生が認められ、沈殿量が増えることを見出した。さらに CHG 水溶液にカルボマーあるいはトリエタノールアミン塩酸塩水溶液を添加した混合液の殺菌活性を *in vitro* で調べたところ、これらアニオン系物質の添加によって CHG の殺菌活性が阻害されること、そして阻害作用は用量依存的であることがわかった。

CHG の活性本体であるクロルヘキシジンはカチオンであり、一般に Cl^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} 等のアニオン、アニオン系の物質、 Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} などの重金属イオン存在下ではクロルヘキシジンが析出し、沈殿を生じて殺菌活性が低下するとされる。さらに非イオン系の界面活性剤でも、その化学的性質や濃度によっては、ミセル化した構造物の中にクロルヘキシジンが取り込まれ、殺菌活性が低下するとされる³⁻⁷⁾。

カルボマーは架橋型ポリアクリル酸の高分子であり、ある種の塩の作用（塩析）により、水に不溶な沈殿物が発生することが知られている。このことから、カルボマーがクロルヘキシジン分子に何らかの影響を及ぼし、クロルヘキシジンが難溶性の塩に変化して析出したか、あ

るいは、分子量 50 万～500 万の高分子であるカルボマーが塩析によって水に不溶な物質に変化した際に、分子量 505 のクロルヘキシジンを内部に取り込み、殺菌活性を低下させた可能性がある。

トリエタノールアミンを添加した後の白濁化、沈殿発生については、カルボマーよりも緩やかであり、カルボマーとは反応形態が異なっているように思われるものの、同様にクロルヘキシジン分子に何らかの影響を及ぼして難溶性の塩への変化を誘発した可能性が推察された。

前述したように CHG の殺菌活性に影響を及ぼす物質には様々なものがあるものの、今回の結果から、本邦のアルコールジェル手指消毒薬にしばしば添加されているアニオン系の物質、カルボマーやトリエタノールアミンが CHG の殺菌活性を阻害することが明確になった。したがって手術時の手指消毒等において、CHG 含有の外科用スクラブ薬とアルコール手指消毒薬を併用する場合は、添加物の種類や配合量に留意し、薬物相互作用のない製剤を選択する必要があるものと考えられた。

■ 文 献

- 1) 曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦工, 遠藤博久: ジェ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.
- 2) 曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦工, 遠藤博久: 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—. *医療関連感染* 2010; 3: 1-5.
- 3) Denton GW: Chlorhexidine. In: Block SS ed. *Disinfection, Sterilization and Preservation*, 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001, p.321-36.
- 4) Senior N: Some observations on the formulation and properties of chlorhexidine. *J Cosmet Chem* 1972; 30: 1-19.
- 5) Walsh B, Blakemore PH, Drabu YJ: The effect of hand cream on the antibacterial activity of chlorhexidine gluconate. *J Hosp Infect* 1987; 9: 30-3.
- 6) Barkvoll P, Rølla G, Svendsen K: Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium lauryl sulfate *in vivo*. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 593-5.
- 7) Benson L, LeBlanc D, Bush L, White J: The effects of surfactant systems and moisturizing products on the residual activity of a chlorhexidine gluconate handwash using a pigskin substrate. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990; 11: 67-70.

Changes of chemical nature and antimicrobial activity of chlorhexidine gluconate when mixed with anionic substances

Yoshiro Sogawa, Hiroyoshi Kobayashi, Takumi Kajiura

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

Background and objectives: We reported previously that some alcohol-based hand gel products negatively influenced the persistent antimicrobial effect chlorhexidine gluconate (CHG) containing antiseptic. Both carboxy vinyl polymer (CVP) and triethanolamine (TEA) are the anionic substances which are often added in the alcohol-based hand gel products in Japan. In this study, we investigated the changes of chemical nature and antimicrobial activity of CHG antiseptic when CVP or TEA was mixed.

Materials and Methods: Changes in color, precipitation, and pH were investigated after various concentration of CHG solution was added into CVP or TEA solution. Antimicrobial activity was assessed by log reduction of viable bacterial

count in each mixture solution of CVP and CHG or TEA and CHG after inoculation of *E.coli*.

Results and Discussion: White insoluble precipitate was appeared when CHG solution was poured into CVP solution or TEA solution. Precipitate formed dose-dependently along with the concentration of CHG. Antimicrobial activity of CHG was inhibited when CVP or TEA was added in the CHG solution. Inhibition showed dose-dependence decrease along with the concentration of CVP or TEA. Our findings strongly suggest that it is necessary to select the alcohol-based hand gel without CVP and TEA for preoperative hand preparation when used in combination with CHG-containing surgical scrub antiseptic.