

〈原 著〉

3次元皮膚モデルを用いた擦式アルコール手指消毒薬の *in vitro* 皮膚刺激性試験

坂木 晴世

*In Vitro Irritation Testing of Alcohol-based Hand Rubs Using the Three-dimensional (3D) Human Skin Model*

Haruyo SAKAKI

Division of Infection Control and Prevention, Department of Nursing, International University of Health and Welfare Graduate School

(2022年11月14日受付・2023年3月16日受理)

## 要 旨

【背景】手荒れ予防のためには、皮膚刺激の少ない擦式アルコール手指消毒薬（ABHR）の選択が重要である。本研究では、7種類のABHRについて3次元皮膚モデルを用いた皮膚刺激性試験で比較した。

【方法】試験はOECDテストガイドライン（TG439）に準拠し、細胞生存率は50%以下、IL-8発現率は陰性対照のIL-8発現量に対する割合が高い場合に刺激性ありと判定した。エタノール濃度は、試薬1が78.89 vol%，試薬2と3は72 vol%，試薬4と5は76.9～81.4 vol%，試薬6と7は83 vol%であった。試薬1から5はエタノール単剤で、試薬6と7は0.2 w/v% クロルヘキシジングルコン酸塩（CHG）含有製剤であった。試薬1から3はpH 6.0～9.0、試薬4と5はpH 2.6～4.0、試薬7はpHが5.5～7.0で、試薬6のpHは非公表であった。

【結果】平均細胞生存率は、エタノール単剤の試薬1から3が88%、110%、79%、低pHの試薬4と5が68%と61%であった。0.2 w/v% CHG含有の試薬6と7が2.1%と1.8%で刺激性ありと判定した。IL-8発現率は、低pHの試薬4と5（183%と141%）と0.2 w/v% CHG含有製剤の試薬6（118%）で上昇した。

【結論】3次元皮膚モデルを用いた皮膚刺激性試験において、エタノール単剤のABHRは皮膚刺激性が低かった。

Key words：擦式アルコール手指消毒薬，皮膚刺激，エタノール濃度，3次元皮膚モデル

## 序 文

手指衛生は、医療関連感染のリスクを低減するための重要な対策のひとつである。しかし、この対策の遵守率は必ずしも高くない<sup>1)</sup>。手指衛生遵守を妨げる要因に、手指衛生製剤への曝露によって生じる皮膚炎がある<sup>2-4)</sup>。

医療従事者には手荒れと称される皮膚炎が多く<sup>5,6)</sup>、日本の看護師を対象とした調査では、53.3%の看護師に皮膚炎があると報告されている<sup>7)</sup>。手荒れを生じると、様々な病原微生物の定着が起りやすくなる<sup>8)</sup>。また、手荒れが関与したと考えられるアウトブレイクも報告されて

いる<sup>9-13)</sup>。手荒れは、当事者にとっては病原微生物保有のリスクを高め、患者には微生物伝播のリスクを高める。さらに、手荒れは手指衛生遵守の妨げとなる<sup>3,4,14)</sup>。職業性の皮膚疾患における接触皮膚炎の割合は高く、その中で刺激性接触皮膚炎は最も多い<sup>15)</sup>。刺激性接触皮膚炎は、アレルギー機序を介さず、化学物質が有する特性により、角質や表皮細胞が直接障害を受けることによって発症する<sup>16)</sup>。ドイツでは、職業性皮膚疾患で労災申請をした医療従事者における刺激性接触皮膚炎の発生率は、1万人あたり4.0人で、最も頻繁に曝露した刺激物として消毒薬を挙げている<sup>17)</sup>。

刺激性接触皮膚炎の発症には、刺激物の種類と濃度、曝露時間、接触頻度、初期の皮膚症状が関与することが

国際医療福祉大学大学院医療福祉学研究科看護学分野感染管理・感染看護学領域

表1 試験に用いた擦式アルコール手指消毒薬の特徴

	アルコール濃度 (vol%)	CHG*添加	pH	剤型
1	78.89	なし	6.3～8.7	ゲル
2	72	なし	6.5～8.5	ゲル
3	72	なし	6.0～9.0	泡
4	76.9～81.4	なし	2.6～3.4	液
5	76.9～81.4	なし	3.0～4.0	ゲル
6	83	0.2w/v%	該当情報なし	泡
7	83	0.2w/v%	5.5～7.0	ゲル

\*CHG：クロロヘキシジングルコン酸塩

指摘されており<sup>2)</sup>、手指衛生製剤の種類と濃度は、皮膚刺激性の強弱に関連していると考えられる。

米国疾病管理予防センター (Centers for Disease Control and Prevention : CDC) は「医療現場における手指衛生のためのガイドライン」において、60～95 vol%のエタノールの使用を推奨している<sup>18)</sup>。皮膚のバリア機能を担っているのは主に角層である<sup>19)</sup>。擦式アルコール手指消毒薬の主成分であるエタノールによる角層への影響には、脂質の抽出、細胞間脂質の流動性亢進、角層の水和状態の変化、ケラチタンパク質の変化などがある<sup>20)</sup>。日本の医療現場で使用されている擦式アルコール手指消毒薬は、日本薬局方の消毒用エタノール濃度である76.9～81.4 vol%の製剤が多い。現在、第3類医薬品の擦式アルコール手指消毒薬では、72 vol%エタノール製剤が最も低濃度であるが、先行研究において手荒れとの関連が検討されているのは、76.9～81.4 vol%以上の高濃度の製剤である<sup>21～25)</sup>。

また、擦式アルコール手指消毒薬には、主薬としてクロロヘキシジングルコン酸塩 (Chlorhexidine Gluconate : CHG) や塩化ベンザルコニウム、ポビドンヨードを添加した製剤がある。成人を対象とした研究では、0.2 w/v% CHG 含有製剤は、0.2 w/v%塩化ベンザルコニウム含有製剤や0.5%ポビドンヨード含有製剤よりも皮膚刺激が少なかった<sup>26)</sup>。一方で、ウサギの健常皮膚を用いた研究では、0.2 w/v% CHG は0.5 w/v%塩化ベンザルコニウムよりも刺激性は低い、10%ポビドンヨードよりも刺激性が高かったと報告されている<sup>27)</sup>。1 w/v%と2 w/v%のCHG含有エタノールと10%ポビドンヨードの比較では、1 w/v% CHG含有エタノールの刺激性が最も低かったと報告されている<sup>28)</sup>。エタノール濃度が同程度の製品による比較では、0.2 w/v% CHG含有製剤は0.2 w/v%塩化ベンザルコニウム含有製剤よりも刺激性は低い、無添加のエタノールよりも刺激性が高かったと報告されている<sup>29,30)</sup>。また、近年ノンエンベロープウイルスに対する効果を謳った低pHの擦式アルコール手指消毒薬が臨床で用いられており、pHの違いは角層水分量に影響を与えないことが報告されているが<sup>25,31)</sup>、

皮膚への刺激性は明らかになっていない。

医療従事者は、擦式アルコール手指消毒薬の塗布によって皮膚の生理的機能には変化がないにもかかわらず、感覚的な不快感を手指消毒薬によるものと考えることがある<sup>32)</sup>。しかし、刺激性と使用感は必ずしも一致しない<sup>33,34)</sup>。使用感とは、触感などの皮膚感覚と香りに依存した総合的な印象のことであり、皮膚感覚の特性と状態に依存する<sup>35)</sup>。したがって、使用感が良いということが、皮膚に刺激の少ない製品であるということではない。すでに炎症を起こしている皮膚にアルコールを使用すると、灼熱感などの感覚的刺激が誘発される。また、皮膚炎を生じていると、化学物質に感作されやすくなることから、皮膚刺激性の低い消毒薬を使用する方が感作の発生も減少させることになる<sup>26)</sup>。手荒れの改善は、医療従事者の手指衛生行動を改善する機会になることが示唆されており<sup>32)</sup>、手指衛生を推進する上でも手指衛生製剤の皮膚刺激性は考慮すべき事項である。そこで、本研究では、エタノール単剤の製剤と、消毒薬が添加された製剤、および低pHの製剤を、3次元皮膚モデルを用いた皮膚刺激性試験により比較した。

## 方 法

### 1. 材 料

#### 1) 試薬

本研究では、エタノール単剤の擦式アルコール手指消毒薬を、消毒薬が添加された製剤と低pHの製剤と比較するために、7種類のエタノールベースの擦式アルコール手指消毒薬を試薬とした(表1)。

各試薬のエタノール濃度は、試薬1が78.89 vol%の製剤、試薬2と3はエタノール濃度が低い72 vol%の製剤、試薬4と5は76.9～81.4 vol%の製剤、試薬6と7は83 vol%の製剤で濃度が最も高い。

消毒薬の添加は、試薬6と7が100 mL中にCHG 0.2 gが添加された0.2 w/v% CHG製剤で、試薬1から5はエタノール単剤の擦式アルコール手指消毒薬である。

pHについては、試薬1から3はpHが6.0～9.0の中性から弱アルカリ性の製剤、試薬4と5はpHが2.6か

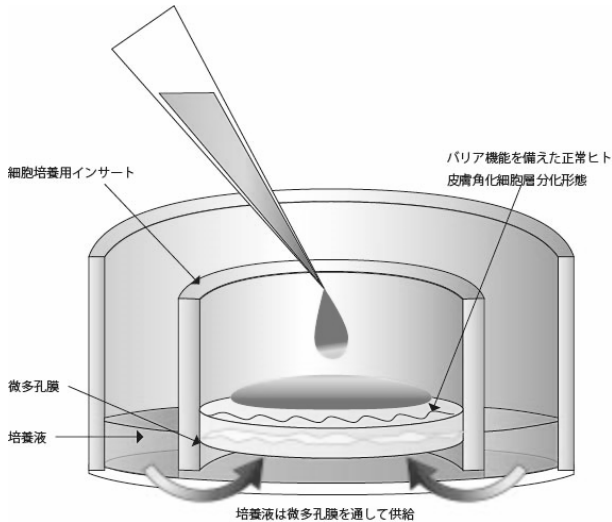


図1 3次元皮膚モデルの構造

正常ヒト表皮角化細胞から無血清培地にて培養・構成された再生ヒト表皮モデルで、表皮基本構造の基底層から顆粒層、有棘層、角層を有する。

ら4.0の酸性から弱酸性の製剤である。0.2 w/v% CHG製剤の試薬7はpHが5.5~7.0の中性から弱酸性の製剤であり、試薬6のpHは非公表であった。

## 2) 3次元皮膚モデルと培地および検査キット

3次元皮膚モデルは、Epiderm™ EPI-200, ver.3.0(MatTek Corporation, 製造ロット#33744)を使用した(図1)。維持培地はEPI-100-NMM-SIT(MatTek Corporation, 製造ロット#091819TVKC)、アッセイ用培地は、MTT-100(MatTek Corporation, 製造ロット#091319TVKA)を、それぞれMatTek社(マサチューセッツ州, アッシュランド)から購入した。使用したELISAキットは、Human IL-8/CXCL8 DuoSet ELISA(R&D Systems, Inc, 製造ロット#P239202)とDuoSet Ancillary Reagent kit 2(R&D Systems, Inc, 製造ロット#P249476)で、R&D Systems社(ミネソタ州, ミネアポリス)から購入した。

## 2. 細胞試験

細胞試験は一般社団法人日本食品分析センターへ委託して実施した。

### 1) 前培養

輸送による皮膚細胞へのストレスの影響を除去するため前培養を実施した。アッセイ培地を37℃に加温し、6ウェルプレートに皮膚モデルを0.9 mL播種し、37℃、5%CO<sub>2</sub>、湿度95%で1時間培養した。その後、培地を吸引し、それぞれのウェルに温めた5 mLの皮膚モデル維持培地を追加し、同条件で一晩培養した。

### 2) 擦式アルコール手指消毒薬の塗布

本試験は、経済協力開発機構(Organisation for Economic Co-operation and Development: OECD)テスト

ガイドラインの*in vitro*皮膚刺激性試験(TG439)のプロトコルに準拠して実施した<sup>36)</sup>。皮膚モデルの表面を覆う最小量として5 μLの擦式アルコール手指消毒薬を添加した。ひとつの消毒薬につき、3サンプル実施した。消毒薬添加後、アルコール成分が揮発するまで蓋をせず、組織の表面を乾燥させた。医療現場の手指衛生に近い状況にするため、消毒薬の添加は1日あたり12回実施し、陰性対照は無処置とした。消毒薬添加初日を0日目とし、3日後と4日後は消毒薬の添加を実施しなかった。

### 3) 培地回収

消毒薬添加開始日より1日1回、7回にわたって培地を回収した。酵素結合免疫吸着検定法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA)法によるIL-8測定のための培地は-80℃設定で凍結保存した。

### 4) MTT 染色

7回目の培地回収後、皮膚モデルに1 mg/mLのMTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)溶液を添加し、3時間培養して染色した。

### 5) 色素抽出

皮膚モデルから培養表皮を取り出し、イソプロパノール(関東化学株式会社)を加え、吸光度を測定した(測定波長: 570 nm, 対照波長: 650 nm)。細胞生存率は、各検体の吸光度を陰性対照の吸光度の平均値で除して算出した。

### 6) IL-8の測定と発現率

IL-8の産生量はELISA法で測定した。IL-8発現率は、各培地中のIL-8量を陰性対照のIL-8量で除して算出した。

## 3. 分析方法

数値は平均±標準偏差で表した。OECD TG439に従い、細胞生存率が50%以下の場合には刺激性ありと判定した<sup>36)</sup>。IL-8の発現率による刺激性の評価は、陰性対照のIL-8発現量に対する割合が高い場合、刺激性ありと判定した。統計学的検討は、一元配置分散分析を行った後にDunnett's testを行った。統計解析はSAS version 9.4(SAS Institute, North Carolina, 米国)を用い、有意水準は5%とした。

## 結 果

### 1. 擦式アルコール手指消毒薬塗布後の細胞生存率(図2)

MTTアッセイによる擦式アルコール手指消毒薬ごとの平均細胞生存率(±標準偏差)は、試薬1が88.0±9.9%、試薬2が109.8±3.3%、試薬3が79.0±15.8%、試薬4が68.3±9.3%、試薬5が61.2±12.3%であった。試薬6が2.1±0.1%、試薬7が1.8±0.3%で、刺激性ありと判定した。刺激性ありと判定された試薬6と試薬7は、0.2 w/v% CHG含有製剤でエタノール濃度は83 vol%であった。

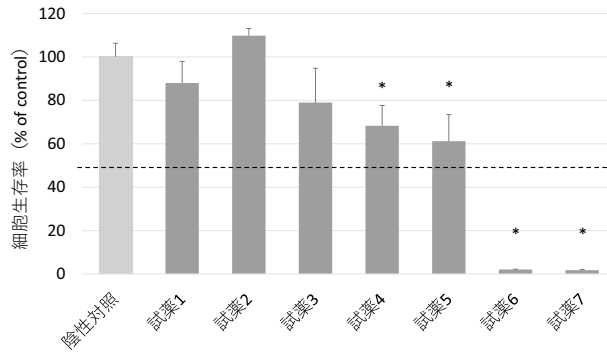


図2 擦式アルコール手指消毒薬と細胞生存率

\*細胞生存率は50%以下を刺激性ありとし、試薬4・5・6・7は陰性対照の細胞生存率と有意差を認めた ( $p < 0.05$ )

試薬1: 78.89vol% アルコール手指消毒薬; 試薬2・3: 72vol% アルコール手指消毒薬; 試薬4・5: 酸性から弱酸性のアルコール手指消毒薬; 試薬6・7: 0.2w/v% クロルヘキシジングルコン酸塩含有アルコール手指消毒薬

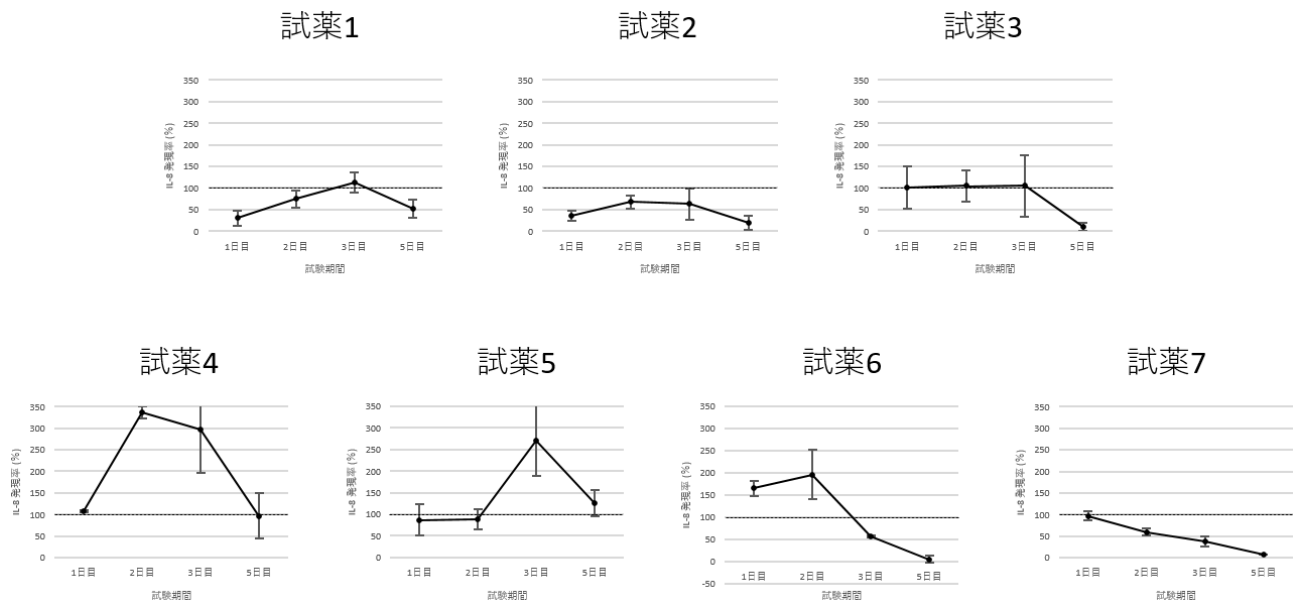


図3 擦式アルコール手指消毒薬別の IL-8 発現率の推移

各値は、陰性対照に対する IL-8 産生の割合を試薬ごとに3検体の平均と標準偏差で示す。

試薬1: 78.89vol% アルコール手指消毒薬; 試薬2・3: 72vol% アルコール手指消毒薬; 試薬4・5: 酸性から弱酸性のアルコール手指消毒薬; 試薬6・7: 0.2w/v% クロルヘキシジングルコン酸塩含有アルコール手指消毒薬

陰性対照との比較では、試薬4, 5, 6, 7は細胞生存率が有意に低かった ( $p < 0.05$ )。

## 2. 擦式アルコール手指消毒薬塗布後の IL-8 産生 (図3)

陰性対照に対する IL-8 の発現率の推移を図3に示す。IL-8 の平均発現率 (最大値) は、試薬1が70.3% (113.0)、試薬2が54.8% (89.6)、試薬3が89.4% (126.7)、試薬4が183.0% (335.6)、試薬5が140.9% (271.3)、試薬6が117.7% (195.8)、試薬7が79.8% (198.8%)であった。IL-8 の産生は、低い pH の製剤と、0.2 w/v% CHG 含有

製剤のうち1種類で認められた。

試薬1, 2, 3, 7では、試験期間中に発現率の上昇を認めなかった。試薬4と6は、1日目から上昇した。試薬5は、3日目から上昇した。IL-8 の発現率上昇までの日数には、一定の傾向をみとめなかった。

## 考 察

本研究では、3次元皮膚モデルを用いて、7種類の擦式アルコール手指消毒薬による皮膚刺激性を検討した。3次元皮膚モデルは、皮膚を構成する細胞を培養して作成

した人工皮膚モデルであり、皮膚に対する薬剤の毒性、浸透性などの評価に用いられる。今回、皮膚刺激性の評価には、細胞生存率と IL-8 発現率を用いて検討した。皮膚の角化細胞は、物理的または化学的刺激により、種々の反応物質が分泌され、細胞生存率だけでは予測が明らかにならないことから<sup>37)</sup>、サイトカインなどのバイオマーカーと組み合わせて評価することが望ましい<sup>38)</sup>。Coquette らは、炎症反応の指標として IL-1 $\alpha$ 、IL-8 を推奨し<sup>38)</sup>、Gaviria らによると、IL-1 $\alpha$  は刺激物質により相反する結果が示されることから、皮膚刺激の指標には IL-6 と IL-8 が適している<sup>39)</sup>。今回の試験では、擦式アルコール手指消毒薬の刺激性の評価が目的であることから、炎症指標として組織損傷の仲介物質とされる IL-8 を用いた<sup>38)</sup>。

刺激性接触皮膚炎では、皮膚に接触した刺激物質によって表皮の角化細胞が刺激され、ケモカインの産生が誘導されると考えられており、その他にも表皮細胞の受動的な細胞死や、皮膚のバリア破壊自体が炎症を惹起する<sup>40)</sup>。本研究では、試薬 6 と試薬 7 で細胞生存率の低下が認められたことから、0.2 w/v% CHG を含有した 83 vol% エタノール製剤には刺激性があると考えられた。IL-8 は試薬 4、試薬 5、試薬 6 で発現率が上昇した。試薬 4 と試薬 5 は pH を酸性に調整した 76.9~81.4 vol% エタノール製剤であり、これらは刺激性があると考えられた。したがって、擦式アルコール手指消毒薬による皮膚刺激性には、CHG の添加、低い pH、エタノール濃度が関与する可能性がある。

### 1. クロルヘキシジングルコン酸塩と皮膚刺激性

本研究では、CHG 含有アルコール製剤は、エタノールのみの製剤よりも細胞生存率が低かった。これは、3 次元皮膚モデルを用いた山本らの報告と一致する<sup>41)</sup>。擦式アルコール手指消毒薬に他の消毒薬が添加された製剤には、皮膚刺激性があることが指摘されている<sup>29)</sup>。日本皮膚科学会の接触皮膚炎診療ガイドライン 2020 において、CHG は接触皮膚炎を起こす消毒薬に挙げられており<sup>40)</sup>、CHG 含有製剤の細胞生存率が低下した要因として CHG の影響が考えられる。

CHG による刺激性接触皮膚炎の発生は稀であるが<sup>42)</sup>、損傷した皮膚に使用すると即時型過敏反応を生じる<sup>43)</sup>。バリカンで除毛したウサギの皮膚では、紅斑や軽度の浮腫を認めたと報告されており<sup>29,30)</sup>、角質層をストリッピングした損傷皮膚では、痂皮形成を伴う紅斑と浮腫が出現し、健常皮膚よりも回復が遅延する<sup>27)</sup>。したがって、使用者の皮膚に紅斑や亀裂があると、CHG 含有製剤による刺激性が、より強くなる可能性がある。

### 2. pH と皮膚刺激性

皮膚の角化細胞には好中球が存在し、外部からの刺激で産生された活性酸素によって酸化ストレスが生じると、

白血球遊走を促進する IL-8 を分泌する。酸化ストレスが大きくなり、好中球が過度に活性化すると細胞死が生じる。

ヘアレスマウスを用いた pH の違いによる擦式アルコール手指消毒薬の比較では、pH 2.9~3.5 の酸性の製剤と pH 6.3~6.4 の製剤による経皮水分蒸散量 (Transepidermal water loss: TEWL) と角層水分量には差がなく、肉眼的炎症も認めなかったと報告されている<sup>31)</sup>。また、看護師を対象とした酸性製剤と中性製剤による比較試験でも、同様の結果が報告されている<sup>25)</sup>。pH の値に寄らず、擦式アルコール手指消毒薬を適用すると一過性に pH が低下するが、水分蒸散を促さないことが複数報告されている<sup>25,31,33)</sup>。製剤 pH による皮膚への直接的あるいは間接的な刺激性は、まだ明らかにされていない<sup>44)</sup>。

今回、IL-8 の発現がみられた試薬 4 と試薬 5 では、細胞生存率の低下は認められなかった。したがって、低 pH の擦式アルコール手指消毒薬では、酸性という化学的因子の外的刺激による IL-8 産生の誘導があったものの、細胞生存率の低下を引き起こすほどの酸化ストレスは生じなかったと考えられる。この結果から、擦式アルコール手指消毒薬の低い pH には刺激性があると考えられるが、実際に皮膚に炎症を生じるかは明らかではない。

### 3. エタノールの濃度と皮膚刺激性

本研究における細胞生存率と IL-8 発現率の結果から、エタノール単剤の擦式アルコール手指消毒薬は刺激性が低いと考えられた。また、0.2 w/v% CHG を含有した 83 vol% エタノール製剤には刺激性があり、エタノール濃度の高さが刺激性に関連している可能性が示唆された。

エタノール濃度が高くなると細胞間脂質の流動性が上昇し<sup>20)</sup>、脂質抽出作用が強くなる<sup>45)</sup>。細胞間脂質を抽出除去すると、皮膚表面水分量が低下することから<sup>46)</sup>、エタノール濃度が高い方が、TEWL が増加し、角層の水分量が低下すると考えられる<sup>32,47)</sup>。

古田川らは、健康成人を対象として 30~80% のエタノールを 10% 間隔で塗布し、濃度が高くなるにつれて、皮膚の紅斑の出現を強く認めたと報告している<sup>48)</sup>。また、Houben らは、エタノール製剤の濃度を、70%、75%、80% で比較し、濃度が高くなるほど皮膚の鱗屑が増加したと報告している<sup>33)</sup>。したがって、エタノールは濃度が低い方が、皮膚刺激性が低いと考えられる。

### 4. 擦式アルコール手指消毒薬と手荒れ

本研究では、エタノール単剤の擦式アルコール手指消毒薬は皮膚刺激性が低いことが明らかとなった。皮膚刺激性の差は主成分に起因するが<sup>29)</sup>、エモリエント剤やグリセリンなどの添加により、TEWL や角層水分量への影響が緩和され、紅斑や鱗屑などの症状が出にくくなる<sup>32)</sup>。さらにはウサギの皮膚において、同じ 0.2 w/v% CHG 含有製剤であっても、製品によって紅斑や鱗屑の出現状

況が異なっていたと報告している<sup>49)</sup>。また、皮膚刺激性のみならず、殺菌性能においては、75 vol%と90 vol%のエタノール製剤であっても欧州標準化委員会 (European Committee for Standardization : CEN) の有効性基準を満たさない製剤や<sup>50)</sup>、ノンエンベロープウイルスへの効果が謳われている4種類の擦式アルコール手指消毒薬のうち、2種類が米国食品医薬品安全局 (Food and Drug Administration : FDA) の基準を満たさなかったとの報告がある<sup>51)</sup>。擦式手指消毒薬における主薬以外の添加物は、製剤によって異なるいわゆるレシピである。したがって、擦式アルコール手指消毒薬は、各社の製品ごとに判断する必要がある。

エタノール濃度が低いと皮膚刺激性が低い可能性が示唆されたが、エタノールは、濃度が高くなるほど、ウイルス不活化までの時間が短縮する<sup>52)</sup>。アルコールは水がないとタンパク質が変性しにくくなることから<sup>50)</sup>、CDCは60~95%のアルコールを含む擦式手指消毒薬の使用を推奨している<sup>18)</sup>。Edmondsらは、60~90 vol%のエタノール製剤12種類について、濃度と殺菌性能には相関を認めなかったと報告している<sup>50)</sup>。したがって、低濃度のエタノールが擦式アルコール手指消毒薬の有効性に影響を与える可能性は低く、皮膚刺激性の少ない低濃度エタノール製剤の使用は、臨床において有用であると考えられる。

本研究には、いくつかの限界がある。実験には3次元皮膚モデルを用いた。そのため、実際のヒトの皮膚での結果を十分反映していない可能性がある。しかし、エタノール塗布後のTEWLは被験者間におけるばらつきが大きく、個体差の影響が指摘されている<sup>33)</sup>。3次元皮膚モデルは、ヒト細胞を用いており、動物実験と比較して種差がなく、ロット間の質が均一であることから、再現性の高い試験結果を得ることができたと考える。また、今回の試薬はゲルと泡を用いた。剤型の違いによる塗布時の摩擦の大きさの違いは、手荒れに影響を与える可能性がある<sup>32)</sup>。実際に手荒れを生じるかどうかについては、ヒトを対象とした検討が必要であるが、本研究の結果は、ヒトの皮膚での結果を予測する上で有用であると考ええる。

## 結 論

3次元皮膚モデルを用いた擦式アルコール手指消毒薬7種において、エタノール単剤の擦式アルコール手指消毒薬は、最も皮膚刺激性が低かった。pHを低く設定した擦式アルコール手指消毒薬には軽度の刺激性があった。0.2 w/v% CHG含有アルコール手指消毒薬には刺激性があったが、CHGのみならず、他の試薬よりも高いエタノール濃度が関与した可能性がある。擦式アルコール手指消毒薬には、保湿剤が添加されており、製品ごとに総合的に判断することが必要である。

**利益相反自己申告**：本研究に関する費用は、テルモ株式会社の研究費により実施した。本研究で試薬として使用した擦式アルコール手指消毒薬にはテルモ株式会社の製品が含まれている。著者はテルモ株式会社より原稿執筆料を受領している。

## 文 献

- 1) World Health Organization: WHO guidelines on hand hygiene in health care 2009: <https://www.who.int/publication/i/item/9789241597906>. accessed November 12, 2022.
- 2) Visscher MO, Randall Wickett R: Hand hygiene compliance and irritant dermatitis: a juxtaposition of healthcare issues. *Int J Cosmet Sci* 2012; 34: 402-15.
- 3) Pessoa-Silva CL, Posfay-Barbe K, Pfister R, Touveneau S, Perneger TV, Pittet D: Attitudes and perceptions toward hand hygiene among healthcare workers caring for critically ill neonates. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26: 305-11.
- 4) Creedon SA: Healthcare workers' hand decontamination practices: compliance with recommended guidelines. *J Adv Nurs* 2005; 51: 208-16.
- 5) Brands MJ, Loman L, Schuttelaar MLA: Exposure and work-related factors in subjects with hand eczema: Data from a cross-sectional questionnaire within the Lifelines Cohort Study. *Contact Dermatitis* 2022; 86: 493-506.
- 6) Smit HA, Burdorf A, Coenraads PJ: Prevalence of hand dermatitis in different occupations. *Int J Epidemiol* 1993; 22: 288-93.
- 7) Smith DR, Adachi Y, Mihashi M, Kawano S, Ishitake T: Hand dermatitis risk factors among clinical nurses in Japan. *Clin Nurs Res* 2006; 15: 197-208.
- 8) Rocha LA, Ferreira de, Almeida EBL, Gontijo Filho PP: Changes in hands microbiota associated with skin damage because of hand hygiene procedures on the health care workers. *Am J Infect Control* 2009; 37: 155-9.
- 9) Parry MF, Hutchinson JH, Brown NA, Wu CH, Estreller L: Gram-negative sepsis in neonates: a nursery outbreak due to hand carriage of *Citrobacter diversus*. *Pediatrics* 1980; 65: 1105-9.
- 10) Manning ML, Archibald LK, Bell LM, Banerjee SN, Jarvis WR: *Serratia marcescens* transmission in a pediatric intensive care unit: a multifactorial occurrence. *Am J Infect Control* 2001; 29: 115-9.
- 11) Richards J, Williams H, Warner M, Johnson AP, Reith S, Woodford N, et al.: Nosocomial spread of *Staphylococcus aureus* showing intermediate resistance to methicillin. *J Hosp Infect* 1993; 25: 91-6.
- 12) Mutton KJ, Brady LM, Harkness JL: *Serratia* cross-infection in an intensive therapy unit. *J Hosp Infect* 1981; 2: 85-91.
- 13) Buxton AE, Anderson RL, Werdegar D, Atlas E: Nosocomial respiratory tract infection and colonization with *Acinetobacter calcoaceticus*. Epidemiologic characteristics. *Am J Med* 1978; 65: 507-13.
- 14) Hugonnet S, Perneger TV, Pittet D: Alcohol-based handrub improves compliance with hand hygiene in intensive care units. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1037-43.
- 15) Keil JE, Shmunis E: The epidemiology of work-related skin disease in South Carolina. *Arch Dermatol* 1983; 119: 650-4.
- 16) 高山かおる：職業性アレルギー疾患ガイドライン・職業性皮膚疾患作成の背景とガイドラインの活用。日職業・環境アレルギー会誌 2021; 28: 9-15.
- 17) Dickel H, Kuss O, Schmidt A, Kretz J, Diepgen TL: Importance of irritant contact dermatitis in occupational skin

- disease. *Am J Clin Dermatol* 2002; 3: 283-9.
- 18) Boyce JM, Pittet D: Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Society for Healthcare Epidemiology of America/Association for Professionals in Infection Control/Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep* 2002; 51: 1-45, quiz CE1-4.
  - 19) Elias PM: Stratum corneum defensive functions: an integrated view. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 183-200.
  - 20) Van der Merwe D, Riviere JE: Comparative studies on the effects of water, ethanol and water/ethanol mixtures on chemical partitioning into porcine stratum corneum and silastic membrane. *Toxicol In Vitro* 2005; 19: 69-77.
  - 21) 芳賀 泉, 齋藤一文字, 原 澄子: 皮膚に対する影響について 客観的評価法に基づく速乾性手指消毒剤 (ウエルパス, ヒビソフト) 2剤の直接比較試験. *環境感染* 2000; 15: 163-8.
  - 22) 浅香清一: 速乾性擦式消毒用アルコール製剤「ヒビソフト」と「ゴジョー MHS」との比較評価. *新薬と臨* 2004; 53: 184-90.
  - 23) 小林 龍, 谷口亮央, 古泉景子, 土屋総之, 多田知弘, 佐藤雄樹, 他: アルコールゲル擦式手指消毒薬の手荒れ予防効果. *日環境感染会誌* 2008; 23: 280-4.
  - 24) 福本幸子, 大杉ミヨエ, 星川悠紀子, 藤田せつ子, 横溝実夏, 山本道子, 他: アルコール含有速乾性擦式手指消毒剤の適切な使用方法の検討 手指消毒効果, 皮膚への影響, 使用感及びアンケート調査より. *環境感染* 2001; 16: 136-44.
  - 25) 李 宗子, 八幡真理子, 三根 真, 山本将司, 小松香子, 吉田葉子, 他: ノンエンベロープウイルスに対する効果が改善されたアルコール手指消毒剤の手肌への影響. *日環境感染会誌* 2014; 29: 164-71.
  - 26) 東 禹彦: ヒビスコール (R) 液 A のパッチテストによる皮膚安全性および光毒性の検討. *皮膚* 1994; 36: 343-8.
  - 27) 辻 明良, 三野宮文子, 八代純子, 中島祥吉, 五島瑛智子: ウサギを用いた各種医療用消毒剤の皮膚刺激性に関する比較検討. *環境感染* 1997; 11: 207-20.
  - 28) Nishihara Y, Kajiura T, Yokota K, Kobayashi H, Okubo T: Evaluation with a focus on both the antimicrobial efficacy and cumulative skin irritation potential of chlorhexidine gluconate alcohol-containing preoperative skin preparations. *Am J Infect Control* 2012; 40: 973-8.
  - 29) 辻 明良, 仲由武實, 三野宮文子, 八代純子, 五島瑛智子: ウサギを用いた速乾性手指消毒剤の皮膚刺激性に関する検討. *環境感染* 1993; 8: 33-41.
  - 30) 辻 明良: ウサギを用いた速乾性手指消毒剤の皮膚刺激性に関する検討. *医と薬学* 2003; 49: 725-32.
  - 31) 安東嗣修, 野口 悦, 倉石 泰, 竜 瑞之: 速乾性手指消毒剤「ウィル・ステラ®V」の抗菌作用および皮膚への影響に関する検討. *医と薬学* 2011; 65: 403-9.
  - 32) Löffler H, Kampf G, Schermund D, Maibach HI: How irritant is alcohol? *Br J Dermatol* 2007; 157: 74-81.
  - 33) Houben E, De Paepe K, Rogiers V: Skin condition associated with intensive use of alcoholic gels for hand disinfection: a combination of biophysical and sensorial data. *Contact Dermatitis* 2006; 54: 261-7.
  - 34) 大石智洋, 水島ひとみ, 辻 明良, 砂川慶介: プラインドテストによる速乾性手指消毒薬の健常皮膚に対する影響の検討. *環境感染* 2005; 20: 249-53.
  - 35) 平尾直靖: スキンケアの心理的な効果について—皮膚感覚, 情動, 肌改善効果の視点から—. *日本化粧品技術者会誌* 2002; 36: 1-9.
  - 36) OECD: Test No.439: In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. 2021: [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-439-in-vitro-skin-irritation-reconstructed-human-epidermis-test-method\\_9789264242845-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-439-in-vitro-skin-irritation-reconstructed-human-epidermis-test-method_9789264242845-en). accessed November 12, 2022.
  - 37) Fentem JH, Briggs D, Chesné C, Elliott GR, Harbell JW, Heylings JR, *et al.*: A prevalidation study on in vitro tests for acute skin irritation. results and evaluation by the Management Team. *Toxicol In Vitro* 2001; 15: 57-93.
  - 38) Coquette A, Berna N, Vandenbosch A, Rosdy M, De Wever B, Poumay Y: Analysis of interleukin-1alpha (IL-1alpha) and interleukin-8 (IL-8) expression and release in in vitro reconstructed human epidermis for the prediction of in vivo skin irritation and/or sensitization. *Toxicol In Vitro* 2003; 17: 311-21.
  - 39) Gaviria Agudelo C, Becerra NY, Vergara JD, Correa LA, Estrada S, Restrepo LM: Dermo-epidermal organotypic cultures for in vitro evaluation of skin irritation and corrosion. *Toxicol In Vitro* 2020; 63: 104657.
  - 40) 高山かおる, 横関博雄, 松永佳世子, 片山一朗, 相場節也, 池澤善郎, 他: 日本皮膚科学会ガイドライン 接触皮膚炎診療ガイドライン 2020. *日皮会誌* 2020; 130: 523-67.
  - 41) 山本宣之, 宮本幸治, 加藤雅一: 速乾性擦式アルコール手指消毒剤の皮膚刺激性評価における動物実験代替法の開発. *薬誌* 2010; 130: 1069-73.
  - 42) Silvestri DL, McEnery-Stonelake M: Chlorhexidine: uses and adverse reactions. *Dermatitis* 2013; 24: 112-8.
  - 43) Heinemann C, Sinaiko R, Maibach HI: Immunological Contact Urticaria and Anaphylaxis to Chlorhexidine: Overview. *Exog Dermatol* 2002; 1: 186-94.
  - 44) Blaak J, Staib P: The Relation of pH and Skin Cleansing. *Curr Probl Dermatol* 2018; 54: 132-42.
  - 45) Marjukka Suhonen T, Bouwstra JA, Urtti A: Chemical enhancement of percutaneous absorption in relation to stratum corneum structural alterations. *J Control Release* 1999; 59: 149-61.
  - 46) Imokawa G, Kuno H, Kawai M: Stratum corneum lipids serve as a bound-water modulator. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 845-51.
  - 47) Lübke J, Ruffieux C, van Melle G, Perrenoud D: Irritancy of the skin disinfectant n-propanol. *Contact Dermatitis* 2001; 45: 226-31.
  - 48) 古田川淳, 新宮行雄, 野津芳正: グルコン酸クロロヘキシジン含有エタノール消毒剤における皮膚刺激性の検討. *医薬ジャーナル* 1997; 33: 2228-31.
  - 49) 辻 明良, 押方紀子, 山村洋二: ウサギを用いたゲル状速乾性手指消毒薬の皮膚刺激性に関する検討. *医と薬学* 2005; 53: 109-15.
  - 50) Edmonds SL, Macinga DR, Mays-Suko P, Duley C, Rutter J, Jarvis WR, *et al.*: Comparative efficacy of commercially available alcohol-based hand rubs and World Health Organization-recommended hand rubs: formulation matters. *Am J Infect Control* 2012; 40: 521-5.
  - 51) Sato S, Matsumoto N, Hisaie K, Uematsu S: Alcohol abrogates human norovirus infectivity in a pH-dependent manner. *Sci Rep* 2020; 10: 15878.
  - 52) 渡辺 実, 野田伸司, 山田不二造, 藤本 進: アルコール類のウイルス不活化作用に関する研究エタノール消毒における生体試料の影響. *感染症誌* 1981; 55: 367-72.
- [連絡先: 〒107-8402 東京都港区赤坂 4-1-26  
国際医療福祉大学大学院医療福祉学研究所看護学分野  
坂木晴世  
E-mail: sakakih-ky@umin.ac.jp]

## ***In Vitro Irritation Testing of Alcohol-based Hand Rubs Using the Three-dimensional (3D) Human Skin Model***

Haruyo SAKAKI

*Division of Infection Control and Prevention, Department of Nursing, International University of Health and Welfare Graduate School*

### **Abstract**

[Background] The selection of alcohol-based hand sanitizers that cause minimal skin irritation is essential for the prevention of dryness and other skin problems in healthcare professionals. We used a three-dimensional (3D) skin model to perform skin irritation testing and to compare the results among seven alcohol-based hand sanitizers (class 3 OTC pharmaceuticals).

[Methods] The tests were conducted based on the OECD test guidelines (TG439). Cell viability was determined to be less than 50%, and IL-8 expression rates were determined to be irritating if they were a higher percentage than those of the negative controls. Ethanol concentrations were 78.89 vol% for reagent 1, 72 vol% for reagents 2 and 3, 76.9-81.4 vol% for reagents 4 and 5, and 83 vol% for reagents 6 and 7. Reagents 1-5 were ethanol-only, alcohol-based skin sanitizers, whereas reagents 6 and 7 were 0.2 w/v% chlorhexidine gluconate (CHG)-containing skin sanitizers containing alcohol. Reagents 1-3 had a pH range of 6.0-9.0, reagents 4 and 5 had a pH range of 2.6-4.0, and reagent 7 had a pH range of 5.5-7.0. The pH of reagent 6 was not disclosed.

[Results] The mean cell viability was 88%, 110%, and 79% for the ethanol-only formulations of reagents 1-3, and 68% and 61% for the two low-pH formulations of reagents 4 and 5.

The mean cell viability was 2.1% and 1.8% for the two formulations with 0.2 w/v% CHG, comprising reagents 6 and 7, and was determined, therefore, to be irritating.

Increased IL-8 expression was observed with both the low-pH formulations of reagents 4 and 5 (183% and 141%) and with reagent 6 (118%), one of the two 0.2 w/v% CHG-containing formulations.

[Conclusions] Skin irritation testing using a 3D skin model showed that ethanol-only, alcohol-based skin sanitizers were the least irritative to the skin.

---

**Key words:** alcohol-based hand rub, skin irritation, ethanol concentration, 3D human skin model