

■Original articles

吸入去痰・気管支拡張薬の保存に関する細菌学的検討

中谷佳子^{*1,2}、大久保 憲^{*1}、梶浦 工^{*1}^{*1} 東京医療保健大学大学院、^{*2} 川崎市立多摩病院（指定管理者 聖マリアンナ医科大学）

Bacteriological study on preservation of inhaled expectorants/bronchodilators

Yoshiko Nakatani^{*1,2}, Takashi Okubo^{*1}, Takumi Kajiura^{*1}^{*1} Division of Infection Prevention and Control Postgraduate School Tokyo Healthcare University^{*2} Kawasaki Municipal Tama Hospital (St. Marianna University School of Medicine)

要旨：

背景：呼吸器疾患等の患者に対し、吸入去痰・気管支拡張薬を使用したネブライザー療法は臨床では頻繁に実施されている処置である。CDC ガイドラインでは無菌的に取り扱うことが推奨されているが、わが国では多回投与容器に充てんされている吸入薬が頻繁に使用され、開封前は無菌であってもその管理方法によっては汚染されるリスクが高まることが懸念される。そこで今回、吸入薬を疑似的に細菌汚染させ、臨床現場を想定した条件（保存温度と保存時間）での経時変化を検討した。

方法：原液吸入薬で防腐剤が含有されている2種と防腐剤が含有されていない1種、臨床で実際に使用する調整吸入薬2種の合計5種に対し、日本薬局方保存効力試験を参考に9種の細菌を疑似的に添加し、室温と冷所に保存した後、冷所は2時間、4時間、6時間および24時間後、室温は6時間および24時間後にそれぞれ回収し菌数の推移をみた。

結果：防腐剤含有なしの吸入薬ではすべての菌が24時間残存したが、防腐剤含有吸入薬の場合は3種類の菌のみ24時間残存していた。防腐剤含有吸入薬の原液と同吸入薬での調整製剤を比較した場合、後者に残存しやすく、さらに室温よりも冷所に菌の残存傾向がみられた。

結論：吸入薬は細菌汚染を受けないよう無菌的な取り扱いや管理をすることが重要である。また、開封後に吸入薬を冷所に保存することは、細菌学的に必ずしも適してはいない。

Key words：吸入薬、多回投与容器、冷所保存、室温保存

はじめに

呼吸器疾患等の患者に対し、吸入去痰・気管支拡張薬（以下、吸入薬）を用いたネブライザー療法は広く実施されているが、防腐剤が含有されていない吸入薬の汚染のみならず¹⁾、防腐剤が含有されている吸入薬でも、*Serratia marcescens* や *Burkholderia cepacia* などによる汚染事例の報告がある²⁻⁴⁾。米国疾病管理予防センター（Centers for Disease Control and Prevention：CDC）が2003年に発表した Guidelines for Preventing Health-Care Associated Pneumonia では、人工呼吸器関連肺炎

（Ventilator-associated Pneumonia：VAP）予防として「ネブライザーのためには滅菌された液体のみを使用し、無菌的にネブライザーに分注すること」が推奨度の最も強いカテゴリーⅠAで示されている⁵⁾。しかし、わが国では開封前は無菌製剤であっても、多回投与容器に充てんされていることの多い吸入薬は、使用の度に蓋が開放され容器中に注射器等の分割器材が接触することや、分割された吸入薬は作り置きされ24時間以内に複数回使用される場合もある。また、開封後の管理方法は施設ごとに委ねられているのが現実である。このように取り扱い次第では薬液の汚染リスクが高まることが懸念され、使用期限の遵守だけでなく、細菌汚染を受けない管理方

法も重要であると考えた。そこで今回、吸入薬を疑似的に細菌汚染させ、臨床現場を想定した条件（保存温度と保存時間）での経時的変化を検討した。

2. 方 法

2-1. 対象の吸入薬ならびに調整薬液

- 1) A 液：チロキサポール液（アレバール吸入用溶解液 0.125%、アルフレッサファーマ株式会社）防腐剤含有なし
 - 2) B 液：プロムヘキシシン塩酸塩製剤（ビソルボン吸入薬 0.2%、日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社）防腐剤含有（日本薬局方 パラオキシ安息香酸メチル）
 - 3) C 液：サルブタモール硫酸塩吸入液（ベネトリン吸入薬 0.5%、グラクソ・スミスクライン株式会社）防腐剤含有（日本薬局方 濃ベンザルコニウム塩化物液 50）
 - 4) X 液：B 液 2mL＋生理食塩液 3mL
 - 5) Y 液：B 液 2mL＋C 液 0.3mL＋生理食塩液 3mL
- A、B、C 液は多回投与容器に充てんされている原液吸入薬、X、Y 液は、一般的な医療施設で使用されている調整処方である。

2-2. 供試菌

- 1) *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ※
- 2) *Enterococcus faecium* JCM5804
- 3) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC15442 ※
- 4) *Serratia marcescens* NBRC12648
- 5) *Acinetobacter baumannii* JCM6841
- 6) *Escherichia coli* ATCC10536 ※
- 7) *Klebsiella pneumoniae* IFO14940
- 8) *Burkholderia cepacia* IFO14595
- 9) *Candida albicans* ATCC10231 ※

※は日本薬局方保存効力試験⁶⁾で指定されている指標菌

2-3. 試験方法

日本薬局方保存効力試験を参考にして実施した。上述の供試菌の発育コロニーをリン酸生理緩衝液に懸濁してマクファーランド比濁法で $10^8 \sim 10^9$ colony forming units (CFU)/mL 相当の菌液を調製し、薬液あたりそれぞれ $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL となるよう接種した。菌接種後に薬液を 2 等分し、一方は臨床現場で繁用される冷蔵庫（約 5.9℃、

以下冷所）に、他方は保存効力試験の条件にならない室温（20～28℃）にそれぞれ置き、冷所は 2 時間、4 時間、6 時間および 24 時間まで、室温は 6 時間および 24 時間まで保存した。所定時間保存後の各薬液は、SCDLP 液体培地（栄研化学株式会社）にて 20 倍に希釈し、薬液に含まれる防腐剤等の抗菌活性を不活性化した。その希釈液の 0.1mL を SCD 寒天培地（株式会社アテクト）に塗抹し 30℃48 時間まで培養した。発育したコロニーを測定し、薬液 1mL あたりの菌数に換算した後、対数 ($\log_{10}$ CFU) に変換した。

2-4. 評価方法

設定した時間までに接種菌が検出限界以下までに低減したかを評価した。

3. 結 果

防腐剤が含有されていない A 液は、冷所や室温、また、どの経過時間においても、接種した菌量を上回ることはなかったが、検出限界以下とはならず菌の生存を認めた（図 1）。防腐剤含有の B 液は、時間の経過とともに減菌した。しかし、冷所での *S. aureus* は 24 時間後に検出限界以下となったが、*E. faecium* と *C. albicans* は 24 時間後も生存していた。一方、室温で 6 時間以降も生存していたのは *C. albicans* のみで、他の供試菌は検出限界以下まで低減した（図 2）。防腐剤含有の C 液の場合、冷所では 6 時間後にすべての供試菌が検出限界以下に達したのに対し、室温では *B. cepacia* が 24 時間経過後も生存した（図 3）。

X 液（B 液＋生食）は、冷所ではすべての供試菌が 2 時間後までに急激な菌減少傾向を示したが、その後の減少は緩やかで *E. faecium*、*C. albicans*、*S. aureus*、*S. marcescens*、*E. coli* は 24 時間後も生存した。一方、室温で 24 時間後も生存していたのは、*C. albicans* と *S. marcescens* のみだった（図 4）。Y 液（B 液＋C 液＋生食）も、冷所では *E. faecium*、*C. albicans* が 24 時間後も生存し、更に、*S. marcescens* は 6 時間後に検出限界以下に達したにも関わらずその後緩やかに増菌傾向を示した。一方、室温ではすべての供試菌が 24 時間後に検出限界以下となった。（図 5）。

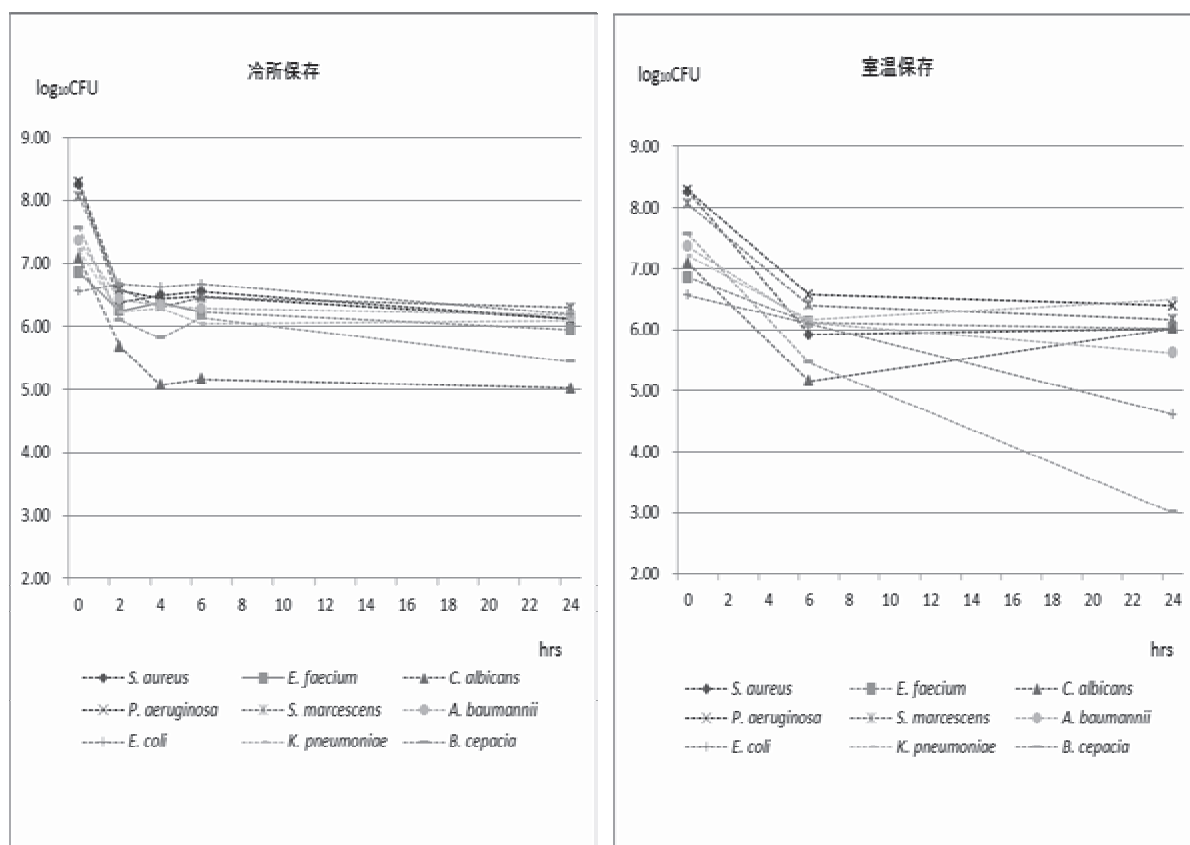


図1：吸入薬（A液）に微生物添加後の24時間までの菌数経過の平均（n=2）

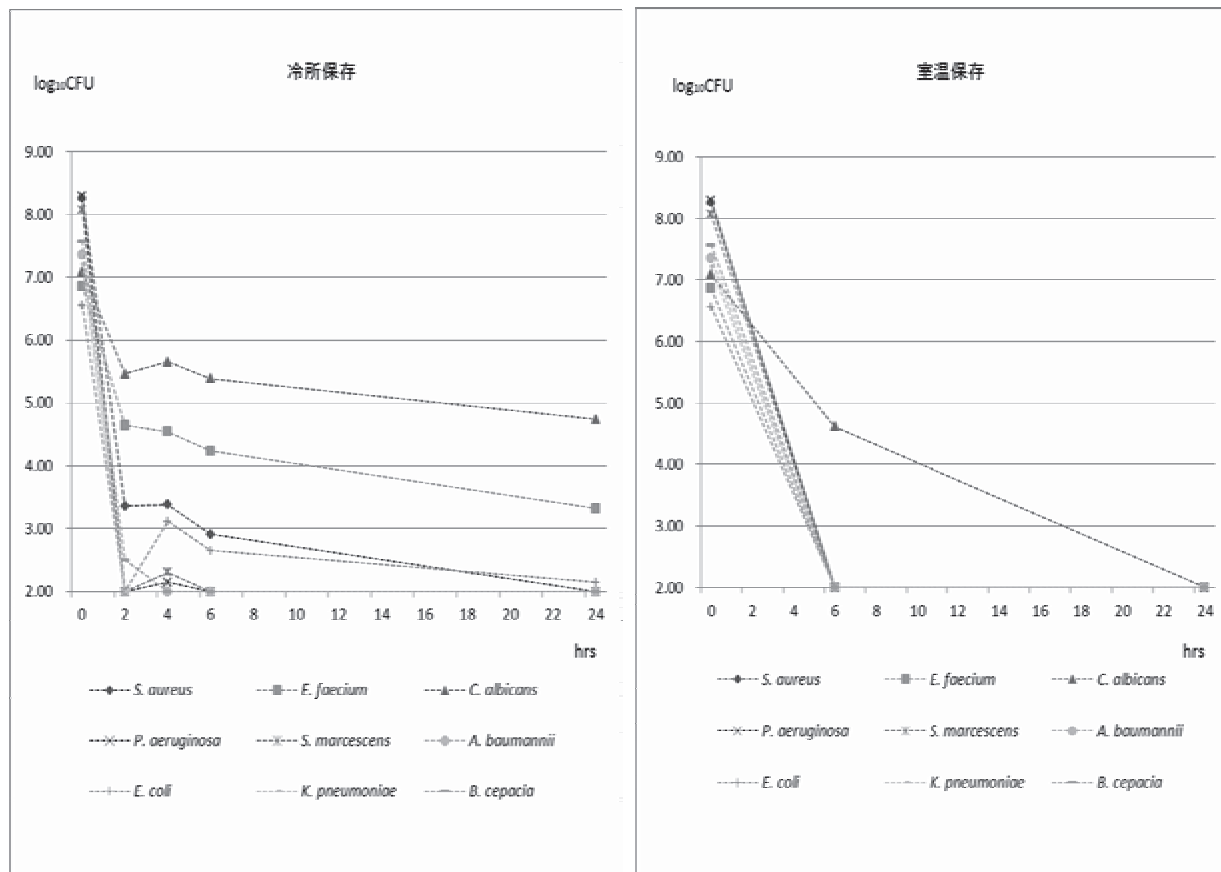


図2：吸入薬（B液）に微生物添加後の24時間までの菌数経過の平均（n=2）

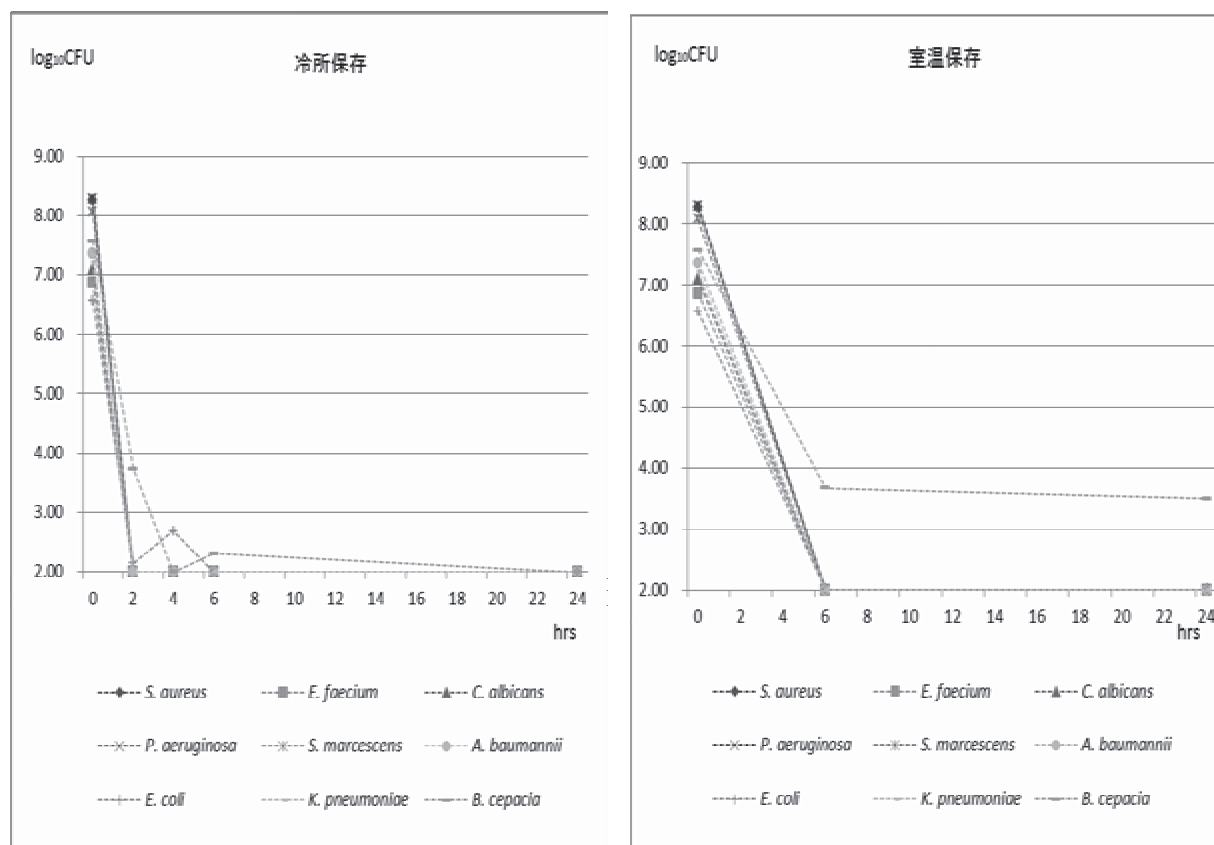


図 3：吸入薬（C 液）に微生物添加後の 24 時間までの菌数経過の平均（n=2）

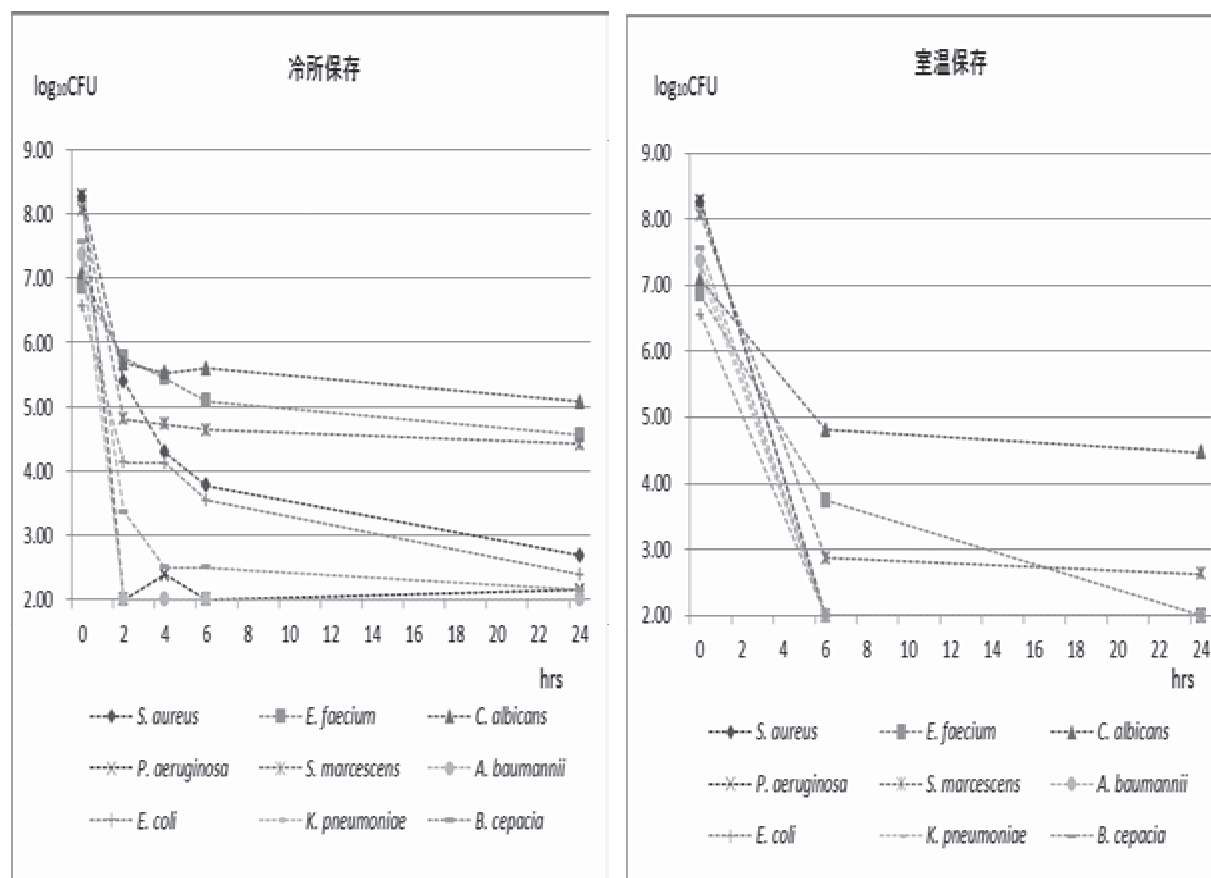


図 4：吸入薬（X 液）に微生物添加後の 24 時間までの菌数経過の平均（n=2）

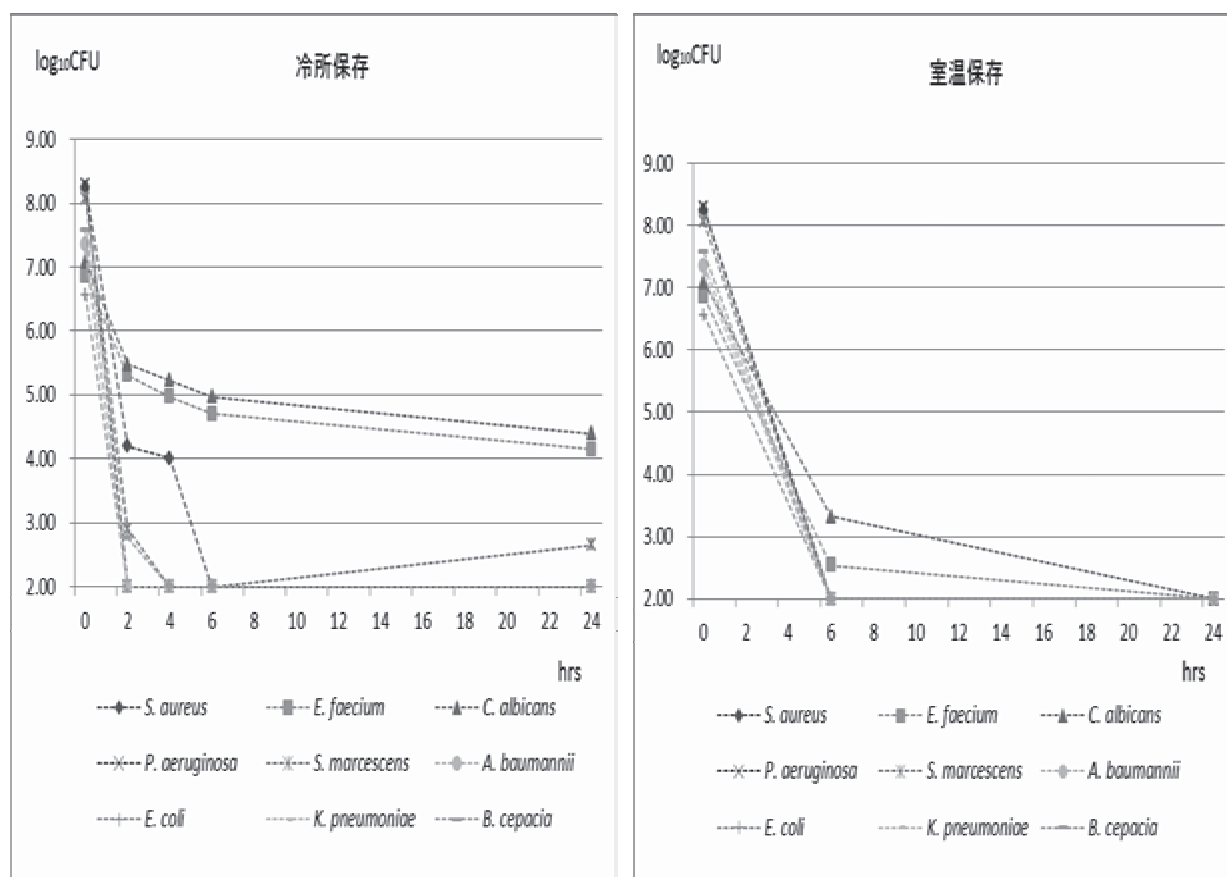


図5：吸入薬（Y液）に微生物添加後の24時間までの菌数経過の平均（n=2）

4. 考 察

一般に防腐剤とは、微生物の侵入・発育・増殖を防止し、腐敗・発酵が起らないように静菌作用を目的として使われる薬剤のことをいうが^{7,8)}、種類によっては殺菌作用が期待できるものもある⁹⁾。多回投与容器に充てんされた薬液は単回投与容器の薬液よりも微生物汚染を受け易いため、防腐剤が含有されている場合がある。今回の検討でも防腐剤含有吸入薬では、検出限界以下となった菌は多い。また、今回用いた防腐剤含有吸入薬の pH は、B 液 pH2.5~3.5、C 液 pH2.3~5.0（ともに添付文書上）と酸性であり、多くの微生物の増殖には適さない環境であるが、この環境下に耐え得る性質のある *C. albicans* は生存していた。このように「防腐剤配合」や「酸性環境下」は微生物汚染を受けにくい条件ではあるが、過信してはならないことを改めて確認することができた。

更に、臨床で吸入薬治療の多くは1日に1~4回程度の頻度で実施され、しばしば作り置きされた1本の吸入薬を複数の患者で使用することがある。つまり、多くの場

合は6時間以内に前回使用した吸入薬を使用することが予測される。今回の結果では、防腐剤含有吸入薬でも、6時間以内に生存している菌を認め、このことは、管理上の理由で吸入薬に細菌が混入した場合、菌が残存したまま患者に適用される可能性を示している。

保存条件に関して、開封後あるいは吸入薬調製後は冷所保存をすることが望ましいとする報告がある^{1,11-13)}。また、吸入薬をはじめとする液体の薬品は開封後、慣習的に冷所保存していることが多い。しかし今回の検討の範囲において、防腐剤含有吸入薬は室温よりも冷所に菌が残存している傾向を示した。保存に関する各吸入薬の添付文書を確認すると、A 液（防腐剤含有なし）は「使用開始後は冷蔵庫内に保存すること」と記載されているが、B 液（防腐剤含有）は「気密容器、遮光保存、開封後汚染に注意」、C 液（防腐剤含有）は「室温保存、遮光」と、どれも詳細な保存温度には触れておらず冷所を推奨しているわけではない。一般的に多くの微生物の生理活性は冷所で低下することが知られているが、それだけでなく静菌活性も低下することが考えられる。更に、調製製剤に関しても、今回検討した X 液（B 液+生食）Y 液（B 液+C 液+生食）は室温より冷所に菌が残存してい

る傾向を示した。これは、薬液を調整したため防腐剤の濃度が低下し、結果的に菌の長時間残存を可能にしたことが最も考えられる。

吸入薬の管理に関して CDC ガイドライン⁵⁾では「多回投与用バイアルが使用されるのであれば、扱い方、保存法、薬剤の分注法についてメーカーの指示に従うこと」がカテゴリー I B で勧告されており、以上を勘案すると、本検討で用いた防腐剤含有吸入薬および調整製剤の冷所保存は、細菌学的に必ずしも適しているものではない可能性がある。

まとめとして、今回の検討で疑似的に負荷した薬液あたり $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL の菌量は、現実には考えにくい大量のものである。しかし、防腐剤含有吸入薬は菌接種 2 時間後から 24 時間までにほとんどが検出限界以下となった。そもそも吸入薬は粘膜を通して作用するものであり、直接体内に投与する注射薬と同様の無菌的な取り扱いが過剰な対応であるかもしれない。しかし、超音波による微細なエアロゾルは気管支、細気管支、呼吸細気管支へと吸入されることを考えれば、細菌汚染のない薬液を提供することは当然のことである。また、慣習的な薬剤の冷所保存に関しても、必ずしも安全性を担保することにはならない可能性を示唆することもできた。

最後に、今後は臨床現場における吸入薬の無菌的な取扱方法を追求していくとともに、薬液保存の最適温度について検討を重ねていくことは重要であると考えている。更に、吸入薬に添加されている防腐剤以外のさまざまな成分による細菌に与える影響についても検討の余地があるものと思われる。

文 献

- 1) 尾家重治, 神谷 晃. 吸入療法に用いていた吸入薬の細菌汚染. *防菌防黴* 1993; 21 (5): 233-236
- 2) Sameeh.S.Ghazal, Khaled Al-Mudaimeegh, Elham Mohammed, Al Fakih, Ali Talee Asery. Outbreak of *Burkholderia cepacia* bacteremia in immunocompetent children caused by contaminated nebulized salbutamol in Saudi Arabia. *Am J Infect Control* 2006; 34 (6): 394-398
- 3) Oie S, Makieda D, Ishida S, Okano Y, Kayama A. Microbial Contamination of Nebulization and Its Measures. *Biol.Pharm.Bull* 2006; 29 (3): 503-507
- 4) Asmus MJ, Sherman J, Hendeles L. Bronchoconstrictor additives in bronchodilator solutions. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104 (2pt2): S53-60
- 5) CDC: Guidelines for prevention of nosocomial pneumonia. *MMWR* 1997; 46(RR-1): 1-7
- 6) 薬事法第四条第一項 第十六改正日本薬局方. 保存効力試験法. P.2044-2045
- 7) 島田邦夫, 矢野嘉宏. 特許から見た最近の防腐剤の開発と課題. *Fragrance Journal* 2011; 39 (2): 53-58
- 8) 松木伸司. 試薬調剤における緩衝液・界面活性剤・防腐剤の使い方. *機器・試薬* 2009; 32 (6): 760-765
- 9) 薬科学大辞典. 薬科学大辞典編集委員会編集. 第 2 版 東京: 廣川書店 1993; P.1304
- 10) 勝井則明, 真鍋美智子, 喜多英二. ネブライザーの微生物汚染対策. *耳展* 2005; 48 (補 1): 3-8
- 11) 大久保真由美, 西口圭子, 堀本厚子, 他. 吸入薬汚染の実態と対策. *徳島赤十字病院ジャーナル* 2007; 12 (1): 146-149
- 12) 勝井則明, 柳生義彦, 田中二美, 他. 病院内で使用中のネブライザーの微生物汚染とその対策. *防菌防黴* 1995; 23 (6): 329-333
- 13) 勝井則明. エビデンスに基づいたネブライザーおよび加湿器の院内感染対策. *Journal of Nara Medical Association* 2004; 55 (3): 133-150

Bacteriological study on preservation of inhaled expectorants/bronchodilators

Yoshiko Nakatani^{*1,2}, Takashi Okubo^{*1}, Takumi Kajiura^{*1}

^{*1} Division of Infection Prevention and Control Postgraduate School Tokyo Healthcare University

^{*2} Kawasaki Municipal Tama Hospital (St. Marianna University School of Medicine)

Abstract :

Background

Nebulizer therapy using an inhalation expectorant/bronchodilator agent is a procedure often performed clinically in patients with respiratory diseases, etc. While the CDC guidelines recommend sterile handling, inhalation drugs, with which multiple administration containers are filled, are often used in Japan. Even if sterility was maintained before opening, there is a concern that the risk of contamination may increase depending on the control method applied. In this study, we intentionally contaminated inhalation drugs with bacteria and examined changes over time under the conditions presumed to be prevalent in clinical settings (storage temperature and storage time).

Method

By using Japanese Pharmacopoeia Preservatives-Effectiveness Tests as a reference, 9 types of bacteria were intentionally added to a total of 5 types of inhalation drugs; 2 types of undiluted inhalation agents with an antiseptic agent and 1 type without an antiseptic agent and 2 types of adjusted inhalation drugs used in actual clinical settings. They were stored in a cool place or at room temperature, collected at 2, 4, 6, and 24 hours or 6 and 24 hours, respectively, and were evaluated for changes in the numbers of bacteria.

Result

All bacteria remained in the inhalation drugs without an antiseptic agent, while only 3 types of bacteria remained in the inhalation drugs with an antiseptic agent for 24 hours. When undiluted inhalation drugs with an antiseptic agent and adjusted formulations of the same inhalation drugs were compared, bacteria tended to remain in the latter, as well as in drugs stored in a cool place, than in those stored at room temperature.

Conclusion

It is important to handle and control inhalation drugs in a sterile manner to prevent bacterial contamination. In addition, it is not necessarily suitable to store inhalation drugs in a cool place after opening.

Key words : inhalation, multidose bottle, cool temperature, room temperature
--