

## 外来患者使用後の点眼剤の微生物汚染

尾家重治・神谷晃

山口大学医学部附属病院薬剤部\*

(平成3年10月21日受付・平成3年11月28日受理)

外来患者が使用した後の点眼剤の微生物汚染を調査することにより、点眼剤の適切な使用・保管方法について検討した。調査した214本中12本(5.6%)の点眼剤が、 $10^1\sim10^4$ 個/本レベルの汚染を受けていた。主な汚染菌は、*Pseudomonas* spp. や *Flavobacterium* spp. などのブドウ糖非発酵菌や、*Candida albicans* などの酵母様真菌であった。また、塩化ベンザルコニウム、*p*-オキシ安息香酸エステル類、およびクロロブタノール、いずれの保存剤を含有する点眼剤でも汚染が認められた。一方、点眼剤汚染菌をそれぞれ同一種類の点眼剤へチャレンジしたところ、菌の増殖はみられなかった。以上の結果から、点眼剤中の保存剤は汚染菌の増殖は阻止できるものの、殺菌力は不十分であるため、使用後の点眼剤の微生物汚染を避けることは困難であることが判明した。したがって、微生物汚染を最小限にするための患者への適切な使用法の指導や、開封後の使用期限の設定などの対策が必要であると考えられる。

**Key words:** 点眼剤、微生物汚染、塩化ベンザルコニウム、*p*-オキシ安息香酸エステル、クロロブタノール

微生物汚染を受けた点眼剤が、損傷眼などに適用されると感染症の原因となることが知られている<sup>1~4)</sup>。そのため点眼剤は、開封時から使用終了時まで無菌であることが望ましい<sup>5)</sup>。しかし、開封後の点眼剤は次のような理由から、微生物汚染を受け易いと推定される。すなわち、点眼剤は通常、分割使用されるため、汚染機会が多い。また、その浸透圧やpHが微生物の増殖に適している。しかも、点眼剤中の保存剤はいずれも選択性が低い<sup>6,7)</sup>ため、十分な抗菌力を発揮し得る濃度が含まれていない<sup>8,9)</sup>。したがって、点眼剤の微生物汚染に対しては特に注意が必要と考えられるが、その防止対策は確立されていないのが現状であろう。

そこで著者らは、外来患者使用後の点眼剤の微生物汚染を調査することにより、点眼剤の適切な取扱いおよび保管法について検討を加えた。

### I. 材料と方法

#### (1) 点眼剤汚染菌の定量と同定

山口大学医学部附属病院通院中の外来患者が、使用を終了して24時間以上経過した点眼剤214本について微生物の定量および同定を行った。214本の内訳は、緑内障および白内障治療薬が105本、抗微生物薬が38本、副腎皮質ホルモン薬が21本、その他の薬効を持つ薬剤が50本である。

点眼剤1本当りの菌量の測定は次のようにして行った。まず、点眼剤容器のキャップを取り外し、ノズル先端部分を消毒用エタノール綿で消毒した。次にそれぞれの容器に注射筒で滅菌生理食塩水1mlを加えた後、これらの容器にキャップをして、用手で1分間の振とうを行った。その後、これら容器内の生理食塩水中の微生物の定量を行うことにより、点眼剤1本当りの汚染菌量を算出した。

微生物の定量は10倍段階希釈法により行った。用いた培地は、細菌用としてSCDLP寒天培地、真菌用としてGPLP寒天培地(いずれも栄研化学、保存剤の不活化剤として0.7% Tween 80および0.1% Lecitinを含有する)<sup>10)</sup>である。培養の温度および時間は、細菌では30°Cで24~72時間、真菌では25°Cで48時間~7日間とした。

微生物の同定は、グラム染色、形態学的検査、OFテスト、チトクローム・オキシダーゼ試験、およびアピ20NEならびにアピCオクサノグラム(いずれもアスカ純薬)を用いて行った。

#### (2) 汚染菌の点眼剤へのチャレンジテスト

前項の試験で、1本当り $10^2$ 個以上の微生物汚染がみられた点眼剤9本について、その汚染菌を未使用の同種類の点眼剤にチャレンジして、増殖の有無を調べ

\* 山口県宇部市小串1144

た。

汚染点眼剤のそれぞれから 0.1 ml ずつ 3 本分を採取し、別の未使用点眼剤 (5 ml 容量) にそれぞれチャレンジして、経時的 (1, 7 および 28 日後) に増殖の有無を確認した。点眼剤の保管温度は 25°C とし、菌量の測定は前項の定量法に従った。

## II. 結 果

Table 1 に、調査した点眼剤の成分名、含有される保存剤名とその濃度、調査本数および 1 本当り 10 個以上の微生物汚染が検出された本数を示した。ここで保存剤濃度は、添付文書に記載があるもののみを示した。また、Table 2 には、10 個／本以上の微生物汚染がみられた点眼剤の汚染菌量と主な汚染菌を示した。

214 本中 12 本 (5.6%) が、1 本当り 10 個以上の微生物汚染を受けていることが明らかとなった。このうち 9 本 (4.2%) は  $10^2 \sim 10^4$  個／本レベルの汚染で

あった。これら点眼剤からの主な検出菌は、*Candida* spp. などの酵母様真菌や、*Pseudomonas* spp. や *Flavobacterium* spp. などのブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌であった。

一方、点眼剤汚染菌の未使用点眼剤へのチャレンジでは、いずれの場合もチャレンジ菌の増殖は認められず、28 日後のは ml 当り 5 個以下となつた。

## III. 考 察

微生物汚染を受けた点眼剤による眼感染症成立の条件としては、宿主状態の他に、汚染菌量ならびに汚染菌種も重要な因子となることが知られている<sup>11)</sup>。しかし、従来の点眼剤の微生物汚染に関する報告は、汚染があるか否かの検討のみであり、その菌量と菌種にまで言及していない<sup>12~14)</sup>。

そこで著者らは、外来患者が使用した後の点眼剤の汚染菌量と汚染菌種について詳細に検討を加えた。そ

Table 1. Summary of eyedrop preparations examined, their composition and the results of microbiological examination

Name	Bactericide (%)	Number tested	Number contaminated*
Pilocarpine hydrochloride	Chlorobutanol Propyl paraben** Methyl paraben Boric acid	57	0
Timolol maleate	BKC***	17	3
Befunolon hydrochloride	BKC	15	0
Catalin®	Boric acid	16	0
Dibekacin sulfate	BKC (0.003)	19	0
Tobramycin	BKC (0.0025)	11	1
Erythromycin lactobionate · colistin sodium methansulfonate	Ethyl paraben (0.008) Butyl paraben (0.004)	4	1
Micronomycin sulfate	BKC (0.005)	2	0
Gentamicin sulfate	Methyl paraben (0.05)	2	0
Fluorometholon	BKC	21	3
Chondroitin sodium sulfate	Chlorobutanol	46	3
Flavin adenine dinucleotide sodium	Thimerosal Methyl paraben Propyl paraben	3	0
Lysozyme chloride	Ethyl paraben Butyl paraben	1	1
Total		214	12

\*Number of eyedrop samples contaminated by microorganisms at more than 10 colony-forming units per container

\*\*Propyl p-hydroxybenzoate

\*\*\*Benzalkonium chloride

Table 2. Results of culture of contaminated eyedrop preparations\*

Preparation	Microbes/container	Contaminant
Timolol maleate	$1.5 \times 10^8$	<i>Pseudomonas</i> sp.
Timolol maleate	$9.3 \times 10^8$	<i>Pseudomonas cepacia</i>
Timolol maleate	$5.0 \times 10^8$	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Erythromycin·Colistin	$1.2 \times 10^4$	<i>Candida albicans</i>
Tobramycin	87	<i>Torulopsis candida</i>
Fluorometholone	$8.0 \times 10^4$	<i>Flavobacterium</i> sp.
Fluorometholone	$2.1 \times 10^8$	<i>Agrobacterium radiobacter</i>
Fluorometholone	35	<i>Flavobacterium</i> sp.
Chondroitin sodium sulfate	$2.1 \times 10^4$	<i>Candida</i> sp.
Chondroitin sodium sulfate	$6.8 \times 10^2$	<i>Candida parapsilosis</i>
Chondroitin sodium sulfate	90	fungi
Lysozyme chloride	$5.7 \times 10^2$	<i>Candida guilliermondii</i>

\*Eyedrop samples containing more than 10 colony-forming units per container

の結果、214本中12本(5.6%)に10~ $10^4$ 個/本レベルの汚染が検出された。一方、汚染菌種は *Candida* spp. や *Pseudomonas cepacia*など、幸いにも毒力の比較的低いものばかりであった<sup>15)</sup>。しかし、これらの菌種であっても本菌量であれば、手術後の易感染状態の眼やコンタクトレンズで傷が生じている眼などに対しては、感染症の原因になり得ると推定される。また、*Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium* spp. および *Agrobacterium radiobacter*などのブドウ糖非発酵菌が汚染菌種の過半数を占めていたことは、これらの類似菌である緑膿菌が汚染菌となる可能性も高いことを示唆している。すなわち、「頻度は高くないものの、使用中の点眼剤は危険な菌量で汚染を受けている。また、損傷眼などに強い毒性を示す緑膿菌が汚染菌となる可能性もある」といえる。

点眼剤に汎用される保存剤としては、塩化ベンザルコニウム、パラオキシ安息香酸エステル類(パラベン類)およびクロロブタノールがあげられる。今回の調査では、これらのいずれの保存剤を含む製品でも汚染がみられた。すなわち、いずれの保存剤が含まれていても、その殺菌力は不十分であることが明らかとなつた。点眼剤中の保存剤には、防腐効果のみならず、殺菌効果も要求されるが<sup>16)</sup>、現時点では、眼刺激性を示さない濃度で、かつ十分な殺菌効果を有する保存剤は存在しないといえる。なお、汚染菌の未使用点眼剤へのチャレンジではいずれの場合も増殖が認められなかつたことから、点眼剤中の保存剤は汚染菌の増殖は阻止し得るものと考えられる。

以上、病院で日常使用されている点眼剤は、含有保

存剤の種類に関係なく、微生物汚染を受けることが明らかとなった。したがって、点眼剤の使用に際しては、微生物汚染を最小限に抑えるため、使用法・保管法に特別の注意が払われなければならないといえる。

点眼剤の汚染防止法としては、まず患者への適切な指導(汚染による危険性の理解、点眼前の手洗い<sup>17)</sup>、容器の先端が眼などへ触れない点眼法)があげられる。Åslundら<sup>13)</sup>は、点眼剤の使用について指導を受けた人は、指導を受けていない人に比べ、汚染を起こす率が低いことを報告している。また、点眼剤の開封から廃棄までの期間は、病棟では7日間、家庭内では1か月間とし、同一容器を複数の患者で共用しないようすべきであるとの警告もある<sup>18)</sup>。ここで、病棟での使用期限が家庭内に比べて短い理由として、病棟では眼に強い毒性を示す緑膿菌<sup>11,19)</sup>で汚染される可能性が高いことがあげられている。

なお、手術時には保存剤を含まない1回量包装の点眼剤が望ましいといわれている<sup>20)</sup>。保存剤が損傷眼に対しても毒性を示すこと、および1回量包装であればたとえ保存剤非含有でも微生物汚染の危険性がないこと等を考えれば、当然のことと言える。我が国でもすでに、各種の1回量包装の点眼剤が発売されているが、いまだ保険未適用のため、ほとんど普及していないのが現状である。本剤型は、院内感染防止の立場から有用性が高いので、「薬価収載」への配慮が待たれる。

#### 文 献

- Dale J K, Nook M A, Barbiers A R: Effectiveness of preservatives. J Am Pharm Assoc 20: 32~35, 1959

- 2) McCulloch J C: Origin and pathogenicity of *Pseudomonas pyocyanea* in conjunctival sac. Arch Ophthalmol 29: 924~935, 1943
- 3) Soet J C: Crisis in a Michigan plant. Sight-Saving Rev 22: 202~205, 1952
- 4) Plotkin S A, McKittrick J C: Nosocomial meningitis of the newborn caused by a *Flavobacterium*. JAMA 198: 194~196, 1966
- 5) Crompton D O: Personal observations on the prevention of sepsis following lens extraction. Int Ophthalmol Clinics 5: 183~205, 1965
- 6) Russell A D, Jenkins J, Harrison I H: The inclusion of antimicrobial agents in pharmaceutical products. Adv Appl Microbiol 9: 1~38, 1967
- 7) Heller W M, Foss D N E, Shay D E, Ichniowski C T: Preservatives in solutions, J Am Pharm Assoc 16: 29~36, 1955
- 8) 神代 昭, 尾家重治: 点眼用溶解液 B の抗菌効果の検討。薬剤学 41: 119~125, 1981
- 9) 神代 昭, 尾家重治: 点眼用溶解液 A の抗菌効果の検討。薬剤学 43: 180~186, 1983
- 10) Kohn S R, Gershenfeld L, Barr M: Effectiveness of antibacterial agents presently employed in ophthalmic preparations as preservatives against *Pseudomonas aeruginosa*. J Pharm Sci 52: 967~974, 1963
- 11) Crompton D O, Anderson K F, Kennare M A: Experimental infection of the rabbit anterior chamber. Trans Ophthalmol Soc Aust 22: 81~97, 1962
- 12) Harte V J, O'Hanrahan M T, Timoney R F: Microbial contamination in residues of ophthalmic preparations. Int J Pharm 1: 165~171, 1978
- 13) Åslund B, Olson O T, Sandell E: Studies on in-use microbial contamination of eye drops. Acta Pharm Suec 15: 389~394, 1978
- 14) 青木功喜: 真菌による点眼薬の汚染。眼科 8: 683~686, 1966
- 15) 大石正夫, 永井重夫: Opportunistic pathogenとしてのブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌による眼感染症。臨眼 35: 773~778, 1981
- 16) British Pharmacopoeia 1988 Vol.2, London Her Majesty's Stationery Office, pp.A 200~A 203, 1988
- 17) 尾家重治, 弘長恭三, 神代 昭: 院内感染防止のための手洗い。医学のあゆみ 138: 42~43, 1986
- 18) Hugo W B, Russell A D, ed.: Pharmaceutical Microbiology 3rd Ed., Blackwell Scientific Publications, pp.392~395, 1983
- 19) Theodore F H, Feinstein R P: Practical suggestions for the preparation and maintenance of sterile ophthalmic solutions. Am J Ophthalmol 35: 656~659, 1952
- 20) British Pharmacopoeia 1988 Vol.2, London Her Majesty's Stationery Office, pp.676, 1988

## MICROBIAL CONTAMINATION OF USED EYEDROP PREPARATIONS

Shigeharu Oie and Akira Kamiya

Department of Pharmacy, Yamaguchi University Hospital, 1144 Kogushi, Ube 755, Japan

Microbial contamination of used eyedrop preparations collected from outpatients was investigated and the proper use and storage methods to avoid contamination are discussed. At Yamaguchi University Hospital, 214 used eyedrop samples were collected from outpatients. Twelve samples (5.6%) were found to be contaminated at concentrations of  $10^1$ — $10^4$  viable organisms per container. The major contaminants were glucose nonfermentative gram-negative bacilli, such as *Pseudomonas* spp. and *Flavobacterium* spp., and yeast-like fungi, such as *Candida albicans*. Contamination was observed in eyedrop preparations containing any of three preservatives (benzalkonium chloride, *p*-hydroxybenzoate esters, and chlorobutanol). On the other hand, no growth occurred when contaminants of used eyedrop samples were inoculated into the same kinds of eyedrops that had not been used. Microbial contamination of ophthalmic preparations during use could not be avoided, because the amounts of antimicrobial substances are limited by eye irritation. Insufficient self-sterilizing capacity was demonstrated for all three preservatives. However, those preservatives prevented proliferation of the contaminants.