

アミノ酸加糖電解質輸液と 末梢静脈ルート三方活栓の細菌汚染調査

堀川俊二¹, 只佐宣子¹, 成井浩二², 野口雅久^{*2}, 笹津備規²
JA 吉田総合病院薬剤部¹, 東京薬科大学薬学部病原微生物教室²

Study on Bacterial Contamination of Amino Acid and Glucose Injection with Electrolytes and Three-way Stopcock in Peripheral Route

Shunji Horikawa¹, Nobuko Tadasa¹, Koji Narui²,
Norihiisa Noguchi^{*2} and Masanori Sasatsu²

Department of Pharmacy, JA Yoshida General hospital¹
Department of Microbiology, School of Pharmacy,
Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences²

[Received June 13, 2008
Accepted August 18, 2008]

Amino acid and glucose injection with electrolytes is widely used in clinical practice for supplying water, electrolytes, and nutrients to patients. However, poor hygiene management in the preparation of infusions will give rise to microbial contamination and the continuous administration of contaminated infusions will increase the risk of infection. We therefore inspected infusions and infusion lines (inside and outside of three-way stopcock, its connections and rubber stopper). Though no microorganisms were detected in 110 infusion solution samples, microorganisms were isolated from 28 of 95 samples taken from the infusion lines. The rate of microbial contamination for the inside of three-way stopcocks was 11.3% (6/53 samples), and for the inside of 3-way stopcocks used in infusions that were indwelled for more than 96 hours the contamination rate was 33.3%, higher than that for shorter indwelling times. *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, and fungi were isolated from the inside of the three-way stopcocks tested. The rates of microbial contamination for the three-way stopcocks and the rubber stoppers were 71.4% (15/21) and 33.3% (7/21), respectively. From samples taken from them, *Acinetobacter radioresistens*, *Staphylococcus lentus*, *Burkholderia cepacia*, and *Stenotrophomonas maltophilia* were frequently isolated.

In conclusion, there is always the possibility of microbial contamination in infusion lines and in order to prevent it, it is necessary to exercise strict hygiene management regarding the preparation of infusions and infusion lines, and to use infusions rapidly once they have been prepared.

Key words — amino acid and glucose injection with electrolytes, three-way stopcock, microbial contamination, infection control, microbial surveillance

緒 言

輸液療法は一般的な治療方法として日常的に行われているが、その感染事例は多く報告されている¹⁾。また、特に易感染者において、血管カテーテルに関連する血流感染などにグラム陽性球菌である *Staphylococcus epidermidis* やブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌である *Acineto-*

bacter 属細菌, *Pseudomonas aeruginosa* や *Burkholderia cepacia* などの細菌が起因することが報告されている^{2,3)}。これらの細菌は医療従事者の手指を感染経路として伝播するとされ、薬剤交換時やライン交換時、薬剤混合時、三方活栓使用時などは厳密な衛生管理が求められる。

輸液療法において、末梢静脈栄養法は中心静脈栄養法に比べ特別な手技を必要とせず、投与カロリーが少ない

* 東京都八王子市堀之内 1432-1 ; 1432-1, Horinouchi, Hachioji-shi, Tokyo, 192-0392 Japan

ので糖代謝異常が起こりにくいなどの利点から汎用され、その中でもアミノ酸加糖電解質輸液は処方されることが多い⁹⁾。しかしながら、*Serratia* 属の細菌や *Pseudomonas* 属の細菌などに汚染を受けたアミノ酸加糖電解質輸液内では、これらの細菌の増殖が報告されている^{1,5,6)}。輸液内への薬液の混合は衛生環境の整った場所で行うことが望ましいが、多くの施設では病棟において看護師が混合を行っているのが現状である。また、混合した輸液が長時間持続点滴されることもあり、菌が輸液内に混入した場合、細菌の増殖による血流感染も危惧される。

一方、アミノ酸加糖電解質製剤を投与する場合は側注を避けるなどの厳密な衛生管理においてのみ使用することが推奨されているが⁹⁾、現実には簡便性などの理由から三方活栓の組み込まれた輸液ラインを使用している頻度は高いとされ^{7,8)}、側管からの注入操作時に細菌を押し込んでしまうおそれがあり、血流感染のリスクとなる。また、閉鎖式デバイスであっても内部死腔での細菌増殖より感染症発症の一因となる危険性があることが報告されている⁹⁾。このように、アミノ酸加糖電解質輸液など各種栄養輸液製剤において微生物汚染を調査した報告は散見するが、その調査した検体数は少なく、その一部は実験的に微生物汚染をさせた研究である⁹⁾。さらに、実際の医療現場で使用されたアミノ酸加糖電解質輸液、三方活栓や輸液ゴム栓などライン全体の微生物汚染の状況や長期使用での汚染のリスクを同時に調査した報告はほとんどなされていない。

そこで、アミノ酸加糖電解質輸液と末梢静脈ルート三方活栓の細菌汚染の現状を把握し感染防止対策に役立てることを目的として、2007年9月から12月において実際に投与された持続点滴終了後の輸液バッグ内部、投与中の輸液ゴム栓の刺入部、三方活栓内部および外部と接続部の細菌汚染とその汚染細菌の詳細な調査検討を行ったので報告する。

材料・方法

1. 検体の収集

2007年9月から12月の期間にJA吉田総合病院(以下、当院と略す)の三つの病棟において、末梢静脈ルートより持続点滴されたアミノ酸加糖電解質輸液、三方活栓および輸液ゴム栓を検体とした。また、これらは本研究の検体として使用することに関して、当院の倫理委員会にて承認が得られている。

2. アミノ酸加糖電解質輸液バッグ内の細菌汚染

2007年9月から10月の期間にJA吉田総合病院の三つの病棟において、末梢静脈ルートより持続点滴された

ビーフリード点滴静注用[®]500 mL(大塚製薬(株))、ビタミンB1配合、アミノ酸加糖電解質輸液)54バッグとツインパル[®]1000 mL(味の素(株))、アミノ酸加糖電解質輸液)56バッグ、合計110検体を点滴終了後に回収した。回収後輸液バッグ内の残液を摂取し、無菌試験、PCR法、好気培養と嫌気培養にて細菌を検出した。無菌試験は日本薬局方、一般試験法に準じ、直接法により行った¹⁰⁾。15 mLのチオグリコール酸培地I(栄研化学(株))に検体約0.5 mLを入れ、30℃、1~7日間培養後、細菌の増殖の有無を判定した。PCR法には大腸菌の16S rRNA遺伝子の塩基配列を参考にして作製したプライマー(5'-AGAGTTTGATC(A/C)TGGCTCAGと5'-TACGGTTCCTGTACGAC)を用いた¹¹⁾。検体1 μ L、プライマーをそれぞれ1 μ L(50 pmol)、GoTaq Green Master Mix 2 \times (プロメガ(株))を10 μ L、滅菌超純水を7 μ L混和し、サーマルサイクラー GeneAmp PCR system 9700(アプライドバイオシステムズジャパン(株))にセットした。95℃、2分の熱変性後、95℃、30秒の熱変性、30秒のアニーリング、1分の伸長反応を30サイクル行った。その後、7 μ Lをアガロースゲル電気泳動し、約1,500 bpのPCR産物の有無から細菌の混入を判定した。好気培養と嫌気培養は5%の馬脱繊維血((株)日本バイオテスト研究所)を添加したブレインハートインフュージョン寒天培地(オキソイド)とR2A寒天培地(和光純薬工業(株))に検体50 μ Lを塗布し、35℃、好気および嫌気条件下で1~5日培養し、細菌を検出した。

3. 三方活栓内部の細菌汚染(図1)

2007年11月から12月にJA吉田総合病院の三つの病棟において、末梢静脈ラインよりアミノ酸加糖電解質輸液の持続点滴を施行している40名の患者から53個の三方活栓を回収した。滅菌スワブを滅菌生理食塩液で湿らせ三方活栓の内腔をぬぐい取り、ハートインフュージョン寒天培地(栄研化学(株))とマンニット食塩寒天培地(栄研化学(株))に塗布し、35℃、48時間培養後、生育した

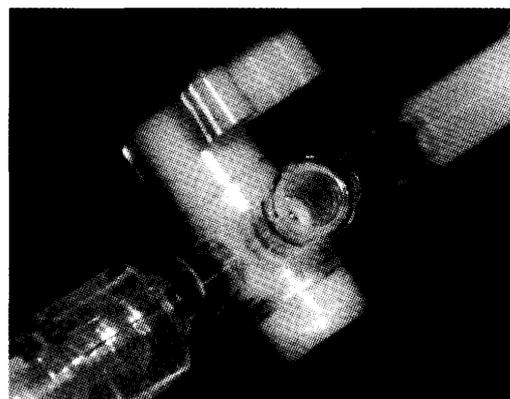


図1. 三方活栓内部

コロニーをカウントした。

4. 三方活栓外部と接続部(図2), 輸液ゴム栓の刺入部の細菌汚染(図3)

2007年11月から12月にJA吉田総合病院の三つの病棟において, 末梢静脈ラインよりアミノ酸加糖電解質輸液の持続点滴を施行している21名の患者の三方活栓外部と接続部, 輸液ゴム栓の刺入部をベットサイドにて滅菌生理食塩液で湿らせたスワブでぬぐい取った。各々21検体を回収した後, ハートインフュージョン寒天培地とマンニット食塩寒天培地に塗布し, 35℃, 48時間培養後, 生育したコロニーをカウントした。

5. 細菌の分離と同定

アミノ酸加糖電解質輸液, 三方活栓内部, 三方活栓外部と接続部, 輸液ゴム栓の刺入部の細菌汚染の調査にて寒天培地上に生育した形態の異なるコロニーを釣菌し, 純培養した。グラム染色後, 鏡検し, 染色性と形態から菌種を同定した。さらに, グラム陽性球菌はApiSTAPH(日本ビオメリユール(株))にて菌種を同定した。また, グラム陰性桿菌はOF培地(栄研化学(株))にてOF試験を行い, Api 20 EとApi 20 NE(日本ビオメリユール(株))にて菌種を同定した。

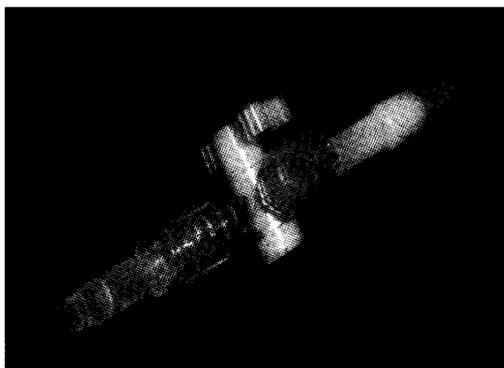


図2. 三方活栓外部と接続部

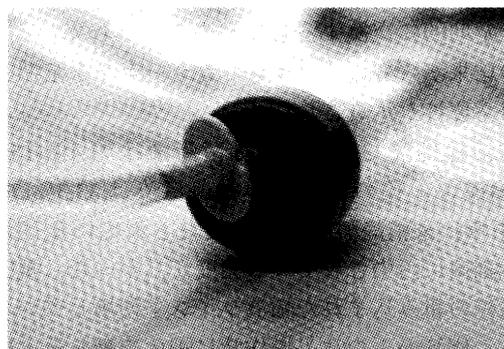


図3. 輸液ゴム栓の刺入部

結 果

1. アミノ酸加糖電解質輸液バッグ内の細菌汚染調査

アミノ酸加糖電解質輸液バッグ110検体を点滴終了後に回収し細菌汚染を調査した。回収した検体は, 24時間持続点滴されたものが33.5%(37/110検体), 12時間持続点滴されたものは45%(49/110検体)であった。輸液内へ混合された薬液数は混合なしが37%(41/110検体), 1種類の混合が53%(58/110検体), 2種類の混合が10%(11/110検体)であった(表1)。これら回収したすべてのアミノ酸加糖電解質輸液のバッグから細菌検出を行ったが, 細菌は検出されなかった。

2. 三方活栓内部の細菌汚染調査

アミノ酸加糖電解質輸液の持続点滴を施行している40名の患者から, 末梢静脈ラインに接続されている53個の三方活栓を回収し細菌汚染を調査した(表2)。留置期間は24時間以内が37.7%(20/53)検体と最も多く, 次いで24時間超, 48時間以内が30.2%(16/53)検体, 96時間以上は17%(9/53)検体であった。これら三方活栓内部の細菌汚染は11.3%(6/53)検体であった。留置時間別の細菌汚染は24時間以内が5.0%(1/20)検体, 24時間超, 48時間以内が12.5%(2/16)検体で, 留置時間が最も長い96時間以上は33.3%(3/9)検体で最も多かった。検出菌の内訳は *Staphylococcus epidermidis* 3検体, *Staphylococcus warneri* 1検体, 酵母様真菌2検体であった。

3. 三方活栓外部と接続部, 輸液ゴム栓の刺入部の細菌汚染調査

アミノ酸加糖電解質輸液の持続点滴を施行している患者のベッドサイドにて, 三方活栓外部と接続部, 輸液ゴ

表1. アミノ酸加糖電解質輸液の種類(n=110)

a. 持続投与された薬液

投与時間	輸液数(割合)
6	2本(8%)
8	20本(5.5%)
10	2本(8%)
12	49本(45%)
24	37本(33.5%)

b. 薬剤が混合投与された輸液

投与時間	輸液数(割合)
0	41本(37%)
1	58本(53%)
2	11本(10%)

表2. 三方活栓付き末梢静脈ラインの留置時間と三方活栓内部の細菌汚染

留置時間	検体数 (割合)	汚染検体数 (割合)	分離菌種
24 時間以内	20 (37.7%)	1 (5.0%)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
24~48 時間	16 (30.2%)	2 (12.5%)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
48~72 時間	5 (9.5%)	0 (0.0%)	
72~96 時間	3 (5.7%)	0 (0.0%)	
96 時間以上	9 (17.0%)	3 (33.3%)	<i>Staphylococcus warneri</i> , 酵母様真菌
合計	536 (11.3%)		

ム栓の刺入部を滅菌生理食塩液で湿らせたスワブを用いて検体を採取し、汚染菌とその菌数を測定した。三方活栓外部と接続部の細菌汚染は71.4%(15/21 検体)であり、主な検出菌の内訳は *Staphylococcus epidermidis* 4 検体, *Bacillus spp.* 3 検体, 酵母様真菌 3 検体, *Micrococcus spp.* 2 検体, *Kocuria varians/rosea* 2 検体, *Staphylococcus aureus* 2 検体などであった(表3)。

また、輸液ゴム栓の刺入部の細菌汚染は33.3%(7/21 検体)であった。主な検出菌の内訳は酵母様真菌 2 検体, *Staphylococcus caprae* 2 検体, *Bacillus spp.* 1 検体, *Stenotrophomonas maltophilia* 1 検体などであり(表4)、両部分とも高度に汚染された検体が存在した。

考 察

アミノ酸加糖電解質輸液は実験的に *Serratia marcescens* などの環境細菌に細菌汚染を受けると輸液内での増殖することが報告されている⁵⁾。しかし、輸液への薬剤混合は病棟で行われ、また、長時間の持続投与が行われることがある。万一、輸液に汚染が起こると、輸液中で細菌が増殖し血流感染を引き起こす危険がある。そこで、実際に投与された輸液と輸液ライン上の三方活栓および輸液ゴム栓の細菌汚染について、4カ月間にわたり、調査し、汚染菌種を同定した。

今回の調査では、輸液から菌は検出されなかった。これは混合薬剤数が少ないこと、薬液混合時の衛生管理が適切に行われていたこと、また、白石らも報告しているが⁵⁾、今回検討したアミノ酸加糖電解質輸液は pH が約 5~6 と酸性で、浸透圧比(生理食塩液に対する比)が高く約 3 であるため、*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* や *Pseudomonas aeruginosa* などの細菌の増殖

に不適な環境であったためと考えられた。

しかしながら、アミノ酸加糖電解質輸液に総合ビタミン剤の添加により *Staphylococcus aureus* の増殖が可能となるという報告⁶⁾やアミノ酸加糖電解質輸液と維持液との混合により、浸透圧が低下し菌がより増殖しやすい環境となり、より顕著な *Serratia marcescens* の増殖が確認されたという報告や薬剤混合時に汚染されたアルコール綿でゴム栓を拭くことで輸液汚染が起こることなど報告⁷⁾もあり、薬剤混合は最小限とし、輸液の調整時には厳密な衛生管理を行い、調整後の輸液は速やかに使用する必要がある。

一方、三方活栓内部の細菌汚染について、留置時間 96 時間以上群と 96 時間未満群との間には有意な差は認めなかったが($p=0.053$ Fisher's exact probability test), 96 時間以上の長期間留置で汚染度が 33.3%(3/9 検体)と最も高い結果となった。三方活栓の汚染度が高いことは多数報告されており^{12,13)}、また、末梢静脈カテーテルの 72 時間以上の留置は血栓性静脈炎やカテーテルの細菌定着の発生率を劇的に増加させることが報告されている¹⁴⁾。CDC のガイドラインでは一般的に感染リスクと静脈炎の軽減のため、72~96 時間ごとに輸液ラインとカテーテルを定期的に変換する必要があるとされているが¹⁵⁾、今回の結果からも輸液ラインとカテーテルを定期的に変換する必要性が示唆された。

三方活栓外部と接続部の細菌汚染は 71.4%(15/21 検体)、輸液ゴム栓の刺入部の細菌汚染は 33.3%(7/21 検体)であり、末梢静脈ラインに接続されている三方活栓は環境細菌に汚染されている頻度が高かった。現実には、三方活栓の組み込まれた輸液ラインを使用している頻度は高く、側管からの注入操作時に細菌を押し込んでしまうおそれがあり、三方活栓外部と接続部の細菌汚染は血

表 3. 三方活栓外部の細菌汚染(n=21)

サンプル番号	菌数	主な分離菌種
1	388	<i>Bacillus</i> spp.
	3	<i>Staphylococcus caprae</i>
2	無数	<i>Acinetobacter radioresistens</i>
	2	<i>Staphylococcus aureus</i>
	1	酵母様真菌
3	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
4	1	<i>Kocuria varians/rosea</i>
	1	<i>Bacillus</i> spp.
5	19	<i>Acinetobacter baumannii</i>
	4	<i>Micrococcus</i> spp.
	15	<i>Micrococcus</i> spp.
14	1	<i>Bacillus</i> spp.
15	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
16	無数	<i>Staphylococcus lentus</i>
	3678	<i>Burkholderia cepacia</i>
	1406	<i>Staphylococcus lentus</i>
	4	<i>Staphylococcus warneri</i>
21	1	<i>Staphylococcus aureus</i>
	1	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	11	酵母様真菌
	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
22	4	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
23	3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	112	<i>Pseudomonas oryzae</i>
	14	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
25	2	酵母様真菌
33	2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
34	2	<i>Kocuria varians/rosea</i>
	174	<i>Methylobacterium mesophilicum</i>
	4	<i>Pantoea</i> spp.
	6	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
	9	<i>Kocuria varians/rosea</i>
36	2	<i>Micrococcus</i> spp.

表 4. 輸液ゴム栓刺入部の細菌汚染(n=21)

サンプル番号	菌数	主な分離菌種
10	1	<i>Bacillus</i> spp.
17	1	<i>Micrococcus</i> spp.
19	205	<i>Staphylococcus sciuri</i>
	564	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	無数	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
27	2	酵母様真菌
29	1	酵母様真菌
31	5	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
	1	<i>Staphylococcus caprae</i>
	1	<i>Staphylococcus caprae</i>
38	1	<i>Staphylococcus capitis</i>

mobilis, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas oryzae* および酵母様真菌がほとんどであった。検出されたグラム陰性の非発酵性菌は水を好むことから、末梢静脈ラインのコック部分に好んで付着したと思われる。これら細菌の付着原因として、空中浮遊菌の付着が考えられるが、グラム陰性非発酵性菌の多くは空中から分離されない。したがって、これらの検出菌は、主に医療従事者の手指を介して付着したと考えられる¹⁰⁾。院内感染の原因となる *Burkholderia cepacia* や *Acinetobacter baumannii* は汚染部位で複数細胞検出された。これは付着部位での増殖が推定される。これらの細菌は種々の抗菌薬に対する感受性が低いため、これらの細菌汚染には感染制御の点から十分に注意する必要がある。

本研究結果は、ベッドサイドにおける輸液ルートの汚染状況を詳細に示した。汚染がひどい検体も存在したことから、アミノ酸加糖電解質輸液投与時の三方活栓の取り扱いや薬剤の交換時の衛生管理等に注意が必要であることが実証された。特に、医療従事者の手洗いおよび手指消毒の励行は、付着細菌の抑制に有効と思われた。

引用文献

- 1) 岩谷昭, 中川沙織, 種池郁恵, 岩倉信弘, 山本達男, 畠山勝義, 下野和之, 桑原孝, セラチア感染と輸液投与時の衛生管理, 新潟医学会雑誌, **117**, 469-477 (2003).
- 2) B.T. Kloos WE, "Staphylococcus and Micrococcus", ASM Press, Washington, DC, 1999.
- 3) A.M. Jones, M.E. Dodd, A.K. Webb, *Burkholderia cepacia*: current clinical issues, environmental controversies and ethical dilemmas, *Eur. Respir. J.*, **17**, 295-301 (2001).

流感染のリスクとなる。これらの汚染細菌としては、ヒトの手指に存在する *Staphylococcus epidermidis* などの *Staphylococcus* 属の菌種、環境から分離されるグラム陽性菌の *Bacillus* spp., *Micrococcus* spp. やグラム陰性の非発酵性菌である *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter radioresistens*, *Burkholderia cepacia*, *Methylobacterium mesophilicum*, *Ochrobactrum anthropi*, *Sphingomonas pauci-*

- 4) 小野寺時夫, 静脈栄養の特徴, 適応, 禁忌, 日本臨牀, 2001年増刊号, 19-23 (2001).
- 5) 白石正, 仲川義人, 病院感染原因菌の増殖に及ぼす各種輸液の影響, 環境感染, **22**, 165-169 (2007).
- 6) K.S. Shimono, K. Kuwahara, T. Kawaguchi, Y. Momii A. Momii, Effects of multivitamins on the growth of microorganisms peripheral parenteral nutrition solutions, *Clinical Nutrition*, **24**, 343 (2005).
- 7) 近藤真紀, 西亀正之, 大学病院集中治療室における末梢ルート三方活栓汚染の実態調査, 環境感染, **14**, 285-289 (1990).
- 8) 高橋美和, 末梢静脈カテーテル留置中におけるアルコール消毒法の検討, 環境感染, **21**, 278-281 (2006).
- 9) 小森敏明, 藤田直久, 閉鎖式輸液ルートの内部死腔が細菌増殖(感染リスク)に及ぼす影響についての検討, 環境感染, **19**, 287-291 (2004).
- 10) “第十五改正日本薬局方”, 廣川書店, 2006, pp. 85-88.
- 11) R.R. Gutell, N. Larsen, C.R. Woese, Lessons from an evolving rRNA: 16 S and 23 S rRNA structures from a comparative perspective, *Microbiol. Rev.*, **58**, 10-26 (1994).
- 12) B.J. McArthur, C. Hargiss, F.D. Schoenknecht, Stopcock contamination in an ICU, *Am. J. Nurs.*, **75**, 96-97 (1975).
- 13) J.M. Walrath, N.K. Abbott, E. Caplan, E. Scanlan, Stopcock: bacterial contamination in invasive monitoring systems, *Heart Lung*, **8**, 100-104 (1979).
- 14) J. Collin, C. Collin, F.L. Constable, I.D. Johnston, Infusion thrombophlebitis and infection with various cannulas, *Lancet*, **2**, 150-153 (1975).
- 15) N.P. O'Grady, M. Alexander, E.P. Dellinger, J.L. Gerberding, S.O. Heard, D.G. Maki, H. Masur, R.D. McCormick, L.A. Mermel, M.L. Pearson, I.I. Raad, A. Randolph, R.A. Weinstein, Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention, *MMWR Recomm. Rep.*, **51**, 1-29 (2002).
- 16) 成井浩二, 松永宣史, 野口雅久, 能條純一, 富澤崇, 石井隆之, 並木勇太, 山中義裕, 熊木雄一, 諏訪淳一, 奥山清, 明石貴雄, 那須豊, 小山正晴, 内海健太, 若杉和倫, 高沢謙二, 笹津備規, 感染制御を目的とした病院内の細菌学的環境調査, 医療薬学, **34**, 441-447 (2008).