

## 防腐剤無添加および添加ニプラジロール点眼薬の微生物汚染

井上 賢治<sup>1)</sup>, 若倉 雅登<sup>1)</sup>, 宮永 嘉隆<sup>2)</sup>, 富田 剛司<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>井上眼科病院, <sup>2)</sup>西葛西井上眼科病院, <sup>3)</sup>東邦大学医学部眼科学第二講座

### 要 約

**目的:** 防腐剤が添加されていないニプラジロール点眼薬(以下, NP 容器型)と防腐剤が添加されている従来のニプラジロール点眼薬(以下, 従来型)の微生物汚染を比較する。

**対象と方法:** 従来型を使用中の原発開放隅角緑内障患者 20 例を対象とした。従来型を中止し NP 容器型へ変更した。変更 4 週後に NP 容器型の点眼容器を回収して, キャップ, ノズル, フィルター, 残液を培養した。その後従来型に戻し, さらに 4 週後に点眼容器を回収して同様の調査を行った。

**結果:** 微生物の検出率は, NP 容器型はキャップ 30%, ノズル 50%, 残液 0%, フィルター 15%, 従来型は

キャップ 35%, ノズル 40%, 残液 25% だった。同定された微生物は, NP 容器型はコアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)38.2%, *Propionibacterium acnes* 29.4%, 従来型は CNS 20.5%, *Alcaligenes xylosoxidans* 12.8% などだった。

**結論:** NP 容器型では微生物汚染はフィルターより外部のみでみられた。NP 容器型と従来型の微生物汚染は同等の頻度で, 検出された微生物も常在菌のみだった。(日眼会誌 114: 604—611, 2010)

**キーワード:** ニプラジロール, 塩化ベンザルコニウム, 変更, 微生物汚染, 常在菌

## Microbial Contamination of Nipradiol with and without Benzalkonium Chloride

Kenji Inoue<sup>1)</sup>, Masato Wakakura<sup>1)</sup>, Yoshitaka Miyana<sup>2)</sup> and Goji Tomita<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Inouye Eye Hospital

<sup>2)</sup>Nishikasai Inouye Eye Hospital

<sup>3)</sup>2nd Department of Ophthalmology, Toho University School of Medicine

### Abstract

**Purpose:** To compare microbial contamination of nipradiol both with and without benzalkonium chloride(BAC).

**Subjects and methods:** Twenty primary open angle glaucoma patients treated with nipradiol with BAC were studied. The nipradiol with BAC was switched to nipradiol without BAC. Four weeks after switching, the nipradiol without BAC was once again switched to nipradiol with BAC. The bottle caps, nozzles, filters, and solutions were cultured and examined for contamination.

**Results:** In nipradiol without BAC microorganisms were isolated from caps (30%), nozzles (50%), solutions (0%), and filters (15%), whereas in nipradiol with BAC they were isolated from caps (35%), nozzles (40%), and solutions (25%). The microorganisms in the nipradiol without BAC were coagulase-negative *Staphylococci* (38.2%) and *Propionibacte-*

*rium acnes* (29.4%), and in the nipradiol with BAC they were coagulase-negative *Staphylococci* (20.5%), *Alcaligenes xylosoxidans* (12.8%).

**Conclusions:** In nipradiol without BAC, the bacteria were detected outside the filters, but not in the solution. The rate of microbial contamination of the nipradiol without BAC was similar to that of the nipradiol with BAC. Both the bacteria detected from the nipradiol with and those detected in the solution without BAC consisted only of bacterial flora of the cul-de-sac and skin.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 114: 604—611, 2010)

**Key words:** Nipradiol, Benzalkonium chloride, Switching, Microbial contamination, Bacterial flora

別刷請求先: 101-0062 東京都千代田区神田駿河台 4-3 井上眼科病院 井上 賢治 E-mail: inoue-k@inouye-eye.or.jp (平成 21 年 9 月 11 日受付, 平成 22 年 2 月 19 日改訂受理)

Reprint requests to: Kenji Inoue, M. D. Inouye Eye Hospital, 4-3 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan (Received September 11, 2009 and accepted in revised form February 19, 2010)

## I 緒 言

緑内障による視野障害進行を抑制する方法として唯一エビデンスが得られているのが眼圧下降である<sup>1)2)</sup>。眼圧下降のために通常第一選択として点眼薬治療を行う。点眼薬には効果と副作用があり、実際にはそれらのバランスを取りながら薬物選択を行っている。副作用として全身的には、徐脈、気管支痙縮、うっ血性心不全、抑うつ状態、めまい、頭痛、眼局所的には刺激感、充血、角結膜上皮障害、霧視、睫毛延長、眼瞼色素沈着、虹彩色素沈着などがある。さらに点眼行為により点眼瓶が微生物で汚染されると、角結膜炎が発症する危険がある。

点眼薬は主成分(薬液)の他に防腐剤、安定化剤、pH調節剤、緩衝剤で構成されている。点眼瓶の微生物汚染を防止するために防腐剤が含まれている。防腐剤として塩化ベンザルコニウム (benzalkonium chloride, 以下BAC)、パラオキシ安息香酸、クロロブタノールなどがあるが、BACが使用されている点眼薬が多い。BACは特に多剤併用例や頻回点眼例などで高濃度となる場合には角結膜に対して毒性をもち、角膜上皮障害の一因と考えられている<sup>3)~5)</sup>。また、BACによるアレルギー反応が引き起こされる場合もある<sup>6)</sup>。そのため近年、BACの濃度を低濃度に変更したり、BAC以外の防腐剤を使用したり、あるいは防腐剤を無添加とした点眼薬が開発されている。しかし防腐剤無添加の点眼薬は防腐剤添加の点眼薬に比べて点眼瓶が使用中に微生物に汚染される頻度が高く<sup>7)~9)</sup>、微生物汚染の観点からはまだまだ問題が残っていた。そこで点眼瓶内への微生物の侵入を防止する点眼瓶やフィルターの開発が進められている。2007年7月にフィルター付きの無菌点眼容器(Non-Preservative Multi-dose Container)を使用した防腐剤無添加のニプラジロール点眼薬(以下、NP容器型ニプラジロール点眼薬)が発売された。

そこで今回、NP容器型ニプラジロール点眼薬における微生物汚染の防御に対する効果を従来からのニプラジロール点眼薬(以下、従来型ニプラジロール点眼薬)と比較することで検討した。

## II 対象と方法

2008年3月から7月までの5か月間に井上眼科病院緑内障外来に通院中で、従来型ニプラジロール点眼薬を単剤あるいはラタノプロスト点眼薬と併用中の原発開放隅角緑内障20例を対象とした。男性5例、女性15例、年齢は $59.4 \pm 9.9$ 歳(平均値 $\pm$ 標準偏差)、41~77歳だった。緑内障病型は原発開放隅角緑内障(狭義)1例、正常眼圧緑内障19例だった。使用薬剤はニプラジロール点眼薬単剤11例、ニプラジロール点眼薬とラタノプロスト点眼薬併用9例だった。片眼使用例は1例、両眼使用例は19例だった。

従来型ニプラジロール点眼薬(朝夜2回点眼)をwash-out期間なしでNP容器型ニプラジロール点眼薬(朝夜2回点眼)に変更した。変更4週後に使用中のNP容器型ニプラジロール点眼薬を回収した。さらに、washout期間なしで従来型ニプラジロール点眼薬に変更した。変更4週後に使用中の従来型ニプラジロール点眼薬を回収した。各点眼薬は回収後、ただちにわかもと製薬相模研究所ヘルスケア研究室に送り、微生物汚染を調査した。併用使用中のラタノプロスト点眼薬は試験期間中を通して1日1回夜点眼を継続した。

点眼瓶における微生物汚染の調査部位はキャップ(ボス部分)、ノズル先端、残液、親水性フィルター(NP容器型のみ)とした(図1)。試験培地は、好気培養用として馬脱絨血(日本バイオテスト)を5%添加したトリプテケースソイ寒天培地(ベクトンディッキンソン)、嫌気培養用としてGAM(Gifu Anaerobic Medium)寒天培地(日本製薬)を用いた。手順は、無菌手袋を使用してキャップを取り外し、キャップ内部のボス部分を0.2mlの滅菌生理食塩水で洗い、洗浄液を0.1mlずつ2種類の寒天培地に塗布した。ノズルは先端を直接寒天培地へ突き刺した。突き刺しは最初に好気培養用培地、次いで嫌気培養用培地に行った。容器をニッパで分解し、フィルターを取り出した。フィルターを0.2mlの滅菌生理食塩水で洗い、洗浄液を0.1mlずつ2種類の寒天培地に塗布した。残液をピペットにて最大0.2mlずつとり、2種類の寒天培地に塗布した。これらを35°Cで1週間、好気および嫌気培養(アネロバック)し、発育したコロニー数を測定した。すべての検出された菌の同定は、菌を新たな培地に釣菌し、他の微生物の汚染がないことを確認後、大阪大学微生物病研究会に依頼した。

生残性試験は以下のような方法で行った。NP容器型ニプラジロール点眼薬のフィルターおよびキャップから検出された菌を未使用の点眼薬のフィルターに接種し、従来型ニプラジロール点眼薬の残液から検出された菌を新たな薬液に接種し、生菌数を24時間後まで測定した。菌の選定は、フィルターおよびキャップに汚染が認められた容器から分離した菌のうち代表的な菌〔*Staphylococcus warneri* (*S. warneri*) (coagulase-negative *Staphylococci*: CNS), *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*), *Staphylococcus epidermidis* [(*S. epidermidis*) (CNS)]を対象にした。同様に残液に汚染が認められた容器から分離したすべての菌〔*S. epidermidis* (CNS), *Stenotrophomonas maltophilia* (*S. maltophilia*), *Alcaligenes xylosoxidans* (*A. xylosoxidans*), *Citrobacter freundii* (*C. freundii*), *Serratia marcescens* (*S. marcescens*), *Candida guilliermondii* (*C. guilliermondii*), *Brevibacterium* species (*Brevibacterium* sp.), *Pseudomonas fluorescens* (*P. fluorescens*)]を対象にした。具体的には24穴マイクロプレートウェル内に滅菌済みフィルターを置き、NP容器型ニ



図 1 NP 容器型ニプラジロール点眼薬の微生物汚染の調査部位。

プラジロール薬液で  $10^5 \sim 10^6$  CFU/ml に調製した分離菌の菌液  $50 \mu\text{l}$  を滴下した。その後、室温 ( $25^\circ\text{C}$ )、保湿下にて、フィルターが乾燥しない状態で静置した。なお、*P. acnes* については嫌気条件で行った。生菌数測定は、試験菌液滴下直後 (0 時間)、6、12 および 24 時間後とし、各時間終了後、ウェルに生理食塩水 1 ml を添加し、ピペッティングによりフィルターを洗浄した。この洗浄液  $50 \mu\text{l}$  を GAM 寒天培地に塗布した。この際、洗浄液は適宜希釈した。寒天培地は  $35^\circ\text{C}$ 、24~48 時間培養を行い、出現したコロニー数を計測し試験菌のフィルターにおける生残菌を評価した。一方、従来型ニプラジロール点眼薬では薬液中に分離菌を  $10^8 \sim 10^9$  CFU/ml になるように添加し、室温 ( $25^\circ\text{C}$ ) にて静置した。薬液中の生菌数測定は、試験菌液滴下直後 (0 時間)、24 時間後に行った。その際、薬液は生理食塩水にて適宜希釈し、GAM 寒天培地に塗布した。寒天培地は  $35^\circ\text{C}$  にて 24~48 時間培養を行い、出現したコロニー数を計測し生残菌を評価した。

今回は検討項目として、NP 容器型ニプラジロール点眼薬と従来型ニプラジロール点眼薬の残液量 (対応のある t 検定) と部位別の微生物汚染頻度を比較 (Fisher の直接確率法)、同定した汚染微生物の種類を比較、検出された微生物による生残性を検討した。部位として NP 容器型ニプラジロール点眼薬と従来型ニプラジロール点眼薬に共通するキャップ、ノズル、残液を比較した。NP 容器型ニプラジロール点眼薬ではさらにフィルターでも検討を行った。院内倫理審査委員会の承認後、従来型ニプラジロール点眼薬から NP 容器型ニプラジロール点眼薬へ変更時に、対象に対して研究の趣旨と危険性を説明し同意を文書で得た。

### III 結 果

回収した NP 容器型ニプラジロール点眼薬の残液は  $1.8 \pm 1.0$  ml、0.2~3.5 ml、従来型ニプラジロール点眼薬の残液は  $1.9 \pm 1.6$  ml、0.1~4.8 ml で差がなかった ( $p=0.84$ ) (表 1, 表 2)。微生物の検出菌数は 1 容器あたり、NP 容器型ニプラジロール点眼薬ではキャップが検出限界以下~39 コロニー、ノズルが検出限界以下~50 コロニー、残液が全例検出限界以下、フィルターが検出限界以下~54 コロニーだった (表 1)。従来型ニプラジロール点眼薬ではキャップが検出限界以下~200 コロニー以上、ノズルが検出限界以下~38 コロニー、残液が検出限界以下~200 コロニー以上だった (表 2)。両容器の部位別頻度は、NP 容器型ニプラジロール点眼薬ではキャップ 6 例 (30.0%)、ノズル 10 例 (50.0%)、残液 0 例 (0%)、フィルター 3 例 (15.0%)、従来型ニプラジロール点眼薬ではキャップ 7 例 (35.0%)、ノズル 8 例 (40.0%)、残液 5 例 (25.0%) だった (図 2)。微生物汚染はキャップ ( $p=1.00$ ) とノズル ( $p=0.08$ ) では差がなく、残液 ( $p<0.05$ ) では NP 容器型ニプラジロール点眼薬が有意に少なかった。NP 容器型ニプラジロール点眼薬でフィルターから検出された 3 例のうち、他の部位との重複汚染はフィルターのみが 1 例、フィルター、キャップ、ノズルの 3 箇所が 2 例だった。微生物汚染の部位数は、NP 容器型ニプラジロール点眼薬 (フィルターを除く) では、なし 9 例 (45.0%)、1 箇所 6 例 (30.0%)、2 箇所 5 例 (25.0%)、従来型ニプラジロール点眼薬では、なし 12 例 (60.0%)、1 箇所 1 例 (5.0%)、2 箇所 2 例 (10.0%)、3 箇所 5 例 (25.0%) だった (表 3)。

NP 容器型ニプラジロール点眼薬では全体で 34 菌株が検出され、検出部位別の内訳はキャップ (12 菌株) が CNS 4 例 (33.3%)、*P. acnes* 3 例 (25.0%)、*Bacillus*

表 1 NP 容器型ニブラジロール点眼薬からの微生物検出菌数

検体番号	残液量(ml)	キャップ (コロニー/容器)	ノズル (コロニー/容器)	残液 (コロニー/容器)	フィルター (コロニー/ml)
1	3.0	2	—	—	—
2	1.5	13	2	—	—
3	3.3	—	2	—	—
4	0.2	—	—	—	1
5	1.5	—	—	—	—
6	1.0	—	2	—	—
7	1.2	—	—	—	—
8	0.7	—	—	—	—
9	3.5	—	1	—	—
10	1.2	—	—	—	—
11	2.4	39	9	—	54
12	0.3	—	4	—	—
13	2.4	—	7	—	—
14	1.1	4	7	—	—
15	2.2	6	50	—	—
16	1.1	—	—	—	—
17	1.1	—	—	—	—
18	3.1	1	5	—	1
19	1.9	—	—	—	—
20	2.6	—	—	—	—

—：検出限界以下。

表 2 従来型ニブラジロール点眼薬からの微生物検出菌数

検体番号	残液量(ml)	キャップ (コロニー/容器)	ノズル (コロニー/容器)	残液 (コロニー/ml)
1	0.9	—	—	—
2	2.0	>200	11	—
3	4.3	—	—	—
4	1.1	—	—	—
5	1.4	—	—	—
6	0.5	—	—	—
7	0.1	—	—	—
8	2.0	—	—	—
9	4.1	>200	21	>200
10	4.3	2	13	—
11	1.5	>200	38	155
12	0.1	>200	25	>200
13	0.9	—	—	—
14	2.4	—	—	—
15	0.4	>200	27	>200
16	1.2	—	—	—
17	4.8	—	—	—
18	0.3	16	21	>200
19	1.7	—	—	—
20	0.1	—	1	—

—：検出限界以下。

species (*Bacillus* spp.) 3 例 (25.0%) など、ノズル (16 菌株) が *P. acnes* 6 例 (37.5%), CNS 5 例 (31.3%), *Bacillus* spp. 2 例 (12.5%) など、フィルター (6 菌株) が CNS 4 例 (66.7%), *P. acnes* 1 例 (16.7%), *Micrococcus luteus* (*M. luteus*) 1 例 (16.7%) だった (表 4)。従来型ニブラジロール点眼薬では全体で 39 菌株が検出され、検出部位別の内訳はキャップ (16 菌株) が CNS 4 例 (25.0%),

*A. xylosoxidans* 2 例 (12.5%), *Enterococcus gallinarum* (*E. gallinarum*) 2 例 (12.5%) など、ノズル (15 菌株) が CNS 3 例 (20.0%), *A. xylosoxidans* 2 例 (13.3%), *E. gallinarum* 2 例 (13.3%) など、残液 (8 菌株) が CNS, *A. xylosoxidans*, *S. maltophilia*, *C. freundii*, *S. marcescens*, *C. guilliermondii*, *Brevibacterium* sp., *P. fluorescens* 各 1 例 (12.5%) だった (表 5)。

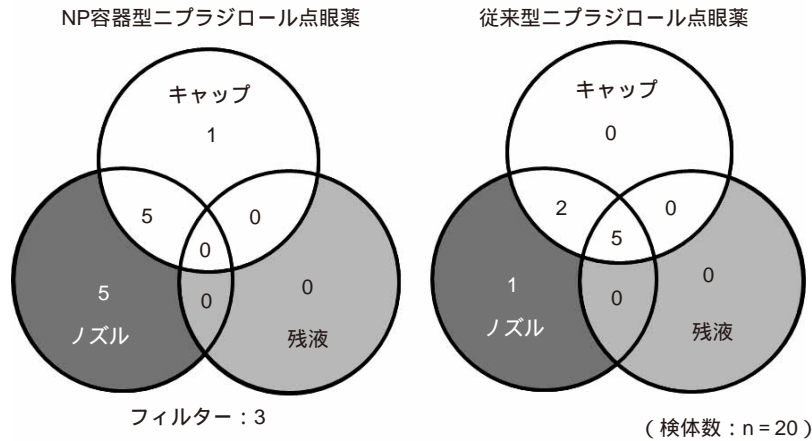


図 2 微生物汚染の検出部位(キャップ, ノズル, 残液)別例数.

表 3 微生物汚染の検出部位数

NP 容器型ニブラジロール点眼薬	微生物検出数	%
なし	9/20	45
1箇所	6/20	30
2箇所	5/20	25
3箇所	0/20	0
従来型ニブラジロール点眼薬	微生物検出数	%
なし	12/20	60
1箇所	1/20	5
2箇所	2/20	10
3箇所	5/20	25

分離された菌の生残性試験は, NP 容器型ニブラジロール点眼薬ではフィルターへの接種で *S. warneri* (CNS), *P. acnes*, *S. epidermidis* (CNS) とともに 12 時間後には生菌数が検出限界以下となった(図 3). 従来型ニブラジロール点眼薬では, 残液への接種で *S. maltophilia*, *A. xylosoxidans*, *C. freundii*, *C. guilliermondii*, *S. marcescens*, *Brevibacterium* sp., *S. epidermidis* (CNS), *P. fluorescens* とともに 24 時間後には生菌数が検出限界以下となった(図 4).

#### IV 考 按

新しく開発された NP 容器の特徴として, 親水性, 疎水性の 2 種類の  $0.22 \mu\text{m}$  メンブレンフィルターを装着している. 親水性フィルターがノズルからの微生物や異物の侵入を防御し, 疎水性フィルターが容器内への外気の無菌的な取り込みを実現している. また逆止弁を有し, これが外気進入路への薬液の逆流を防止している. 外気を取り込む機構が容器の復元を可能としており, コンパクトなサイズの点眼容器となった. 今回の調査においても NP 容器型ニブラジロール点眼薬ではフィルターより内部で微生物は検出されず, フィルターが微生物の

表 4 NP 容器型ニブラジロール点眼薬の微生物汚染の検出部位別内訳

キャップ内部(12 菌株)	微生物検出数	%
CNS	4/12	33.3
<i>P. acnes</i>	3/12	25
<i>Bacillus</i> sp.	3/12	25
<i>S. aureus</i>	1/12	8.3
<i>C. guilliermondii</i>	1/12	8.3
ノズル部(16 菌株)	微生物検出数	%
<i>P. acnes</i>	6/16	37.5
CNS	5/16	31.3
<i>Bacillus</i> sp.	2/16	12.5
<i>S. aureus</i>	1/16	6.25
<i>E. gallinarum</i>	1/16	6.25
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	1/16	6.25
(参考) フィルター(6 菌株)	微生物検出数	%
CNS	4/6	66.7
<i>P. acnes</i>	1/6	16.7
<i>M. luteus</i>	1/6	16.7

CNS : coagulase-negative *Staphylococci*(コアグラールゼ陰性ブドウ球菌)

侵入を防御していることが判明した.

点眼薬の微生物汚染については過去に多数報告されている<sup>7)~15)</sup>. 横山らは防腐剤無添加の緑内障点眼薬の汚染については, マレイン酸チモロール点眼薬(チマバック<sup>®</sup>点眼薬)で報告した<sup>7)</sup>. すなわち防腐剤添加マレイン酸チモロール点眼薬を対照として, 1 週間点眼後に点眼瓶口付着物の培養が行われた. 微生物は防腐剤無添加マレイン酸チモロール点眼薬が 38.1%, 防腐剤添加マレイン酸チモロール点眼薬が 57.1% で検出されたが同等だった. 検出された微生物は, 防腐剤無添加マレイン酸チモロール点眼薬では CNS 7 検体, *Bacillus* 2 検体, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) 2 検体, *Enterococcus* 1 検体, 防腐剤添加マレイン酸チモロール点眼薬では *P. aeruginosa* 5 検体, CNS 2 検体, *Staphylococcus*

表 5 従来型ニプラジロール点眼薬の微生物汚染の検出部位別内訳

キャップ内部(16 菌株)	微生物検出数	%
CNS	4/16	25
<i>A. xylosoxidans</i>	2/16	12.5
<i>E. gallinarum</i>	2/16	12.5
<i>P. acnes</i>	1/16	6.3
<i>Staphylococcus</i> sp.	1/16	6.3
<i>S. maltophilia</i>	1/16	6.3
<i>C. freundii</i>	1/16	6.3
<i>S. marcescens</i>	1/16	6.3
<i>C. guilliermondii</i>	1/16	6.3
<i>Brevibacterium</i> sp.	1/16	6.3
<i>P. fluorescens</i>	1/16	6.3
ノズル(15 菌株)	微生物検出数	%
CNS	3/15	20
<i>A. xylosoxidans</i>	2/15	13.3
<i>E. gallinarum</i>	2/15	13.3
<i>P. acnes</i>	1/15	6.7
<i>Bacillus</i> sp.	1/15	6.7
<i>Staphylococcus</i> sp.	1/15	6.7
<i>S. maltophilia</i>	1/15	6.7
<i>C. freundii</i>	1/15	6.7
<i>S. marcescens</i>	1/15	6.7
<i>C. guilliermondii</i>	1/15	6.7
<i>Brevibacterium</i> sp.	1/15	6.7
残液(8 菌株)	微生物検出数	%
CNS	1/8	12.5
<i>A. xylosoxidans</i>	1/8	12.5
<i>S. maltophilia</i>	1/8	12.5
<i>C. freundii</i>	1/8	12.5
<i>S. marcescens</i>	1/8	12.5
<i>C. guilliermondii</i>	1/8	12.5
<i>Brevibacterium</i> sp.	1/8	12.5
<i>P. fluorescens</i>	1/8	12.5

*aureus*(*S. aureus*)1 検体だった。

細田らは点眼時に眼球または眼周囲に接触している患者と接触していない患者を比較すると、点眼瓶の汚染は接触している患者に高率にみられたと報告した<sup>10)</sup>。野村らは点眼時に皮膚との接触のある患者(76%)で、ない患者(60%)より微生物汚染が多い傾向が認められたと報告した<sup>11)</sup>。今回の調査において従来型ニプラジロール点眼薬でキャップ、ノズル、残液のすべてで微生物が検出された 5 例に対して、その後点眼手技を実際に行ってもらい観察した。全例でノズルが点眼時に眼球または眼周囲に接触していた。微生物の検出には個人差があり、その原因は点眼手技にあると思われる。正しい点眼方法の指導の重要性が再確認された。また、微生物汚染は高齢者でより高率であったと報告されている<sup>10)</sup>。高齢者は点眼が困難であり、よりきめ細かな点眼指導が必要と考えられる。

BAC 含有の有無による残存薬剤の微生物汚染は、濱野ら<sup>8)</sup>と亀井<sup>9)</sup>が報告している。濱野らは 0.1% ヒアル

ロン酸ナトリウム点眼薬の 1 日 6 回以上点眼を 8 週間行った 50 例で報告した<sup>8)</sup>。すなわち微生物汚染は BAC 添加群では 7.5%(36 本/479 本)、BAC 無添加群では 34.2%(150 本/479 本)で、BAC 無添加群で有意に多かった( $p=0.0139$ )。汚染菌は BAC 添加群では *P. fluorescens* 8 本、*Enterobacter cloacae* 5 本、*Pseudomonas vesicularis* 3 本、*S. marcescens* 3 本、*Alcaligenes denitrificans* 3 本などだった。BAC 無添加群では *Escherichia coli* 28 本、*S. aureus* 24 本、*S. epidermidis* 24 本、*S. marcescens* 8 本、*Corynebacterium* spp. 8 本などだった。亀井は非感染性結膜炎患者と健常者に 0.005% BAC を添加した、あるいは BAC を添加しない 0.02% フルオロメトロン点眼薬を 1 日 3 回両眼に 1 週間点眼後に点眼薬を回収し、薬液とキャップの微生物汚染を検討した<sup>9)</sup>。BAC 添加群では 37.9%(22 本/58 本)、BAC 無添加群では 65.0%(39 本/60 本)に微生物汚染を認めた。汚染菌は BAC 添加群では *Staphylococcus hominis*(*S. hominis*)9 本、*S. epidermidis* 2 本、*Aerococcus viridans* 2 本など、BAC 無添加群では *S. hominis* 16 本、*S. epidermidis* 13 本などだった。

尾家らは汚染菌をそれぞれ同一種類の点眼薬へチャレンジして経時的(1, 7, 28 日後)に増殖の有無を確認したが、菌の増殖はみられなかったと報告した<sup>12)</sup>。点眼薬中の防腐剤は汚染菌の増殖は阻止できるが、殺菌力は不十分であり、使用後の点眼薬の微生物汚染を避けることは困難であると述べている。

点眼薬の微生物汚染は過去の報告では 5.6~65.0% にみられた<sup>7)~15)</sup>。部位別にはキャップが 21.4~51.9%、ノズルが 25~57.1%、溶液(残液)が 7.1~34.2% だった。防腐剤添加点眼薬は 5.6~57.1%、防腐剤無添加点眼薬は 34.2~65.0% で、防腐剤添加点眼薬は防腐剤無添加点眼薬に比べて、微生物汚染が少ない傾向があった。今回の従来型ニプラジロール点眼薬の微生物汚染の頻度(キャップ 35.0%、ノズル 40.0%、残液 25.0%)はこれらの報告<sup>7)~15)</sup>とほぼ同等だった。NP 容器型ニプラジロール点眼薬の微生物汚染の頻度はキャップ 30.0%、ノズル 50.0%、残液 0%、フィルター 15.0% で、防腐剤無添加点眼薬の過去の報告(34.2~65.0%)<sup>7)~9)</sup>とほぼ同等であった。NP 容器型ニプラジロール点眼薬では残液への微生物汚染はなく、NP 容器の微生物侵入に対する防御効果が確認された。汚染菌は過去の報告では、CNS、*P. acnes*、*Bacillus*、*Candida*、*Corynebacterium*、*S. epidermidis*、*S. marcescens*、*S. aureus*、*P. fluorescens* などの結膜嚢や皮膚に常在する細菌や真菌が多く検出されており、今回も同様だった。菌の感染経路としてノズルが結膜嚢に触れる、あるいは手指(特に手洗いが不十分な場合)から結膜嚢やノズルへ移行するなどが考えられるが、根本的には点眼手技に起因していると考えられる。また菌の検出作業中に汚染が生じた可能性も考えら

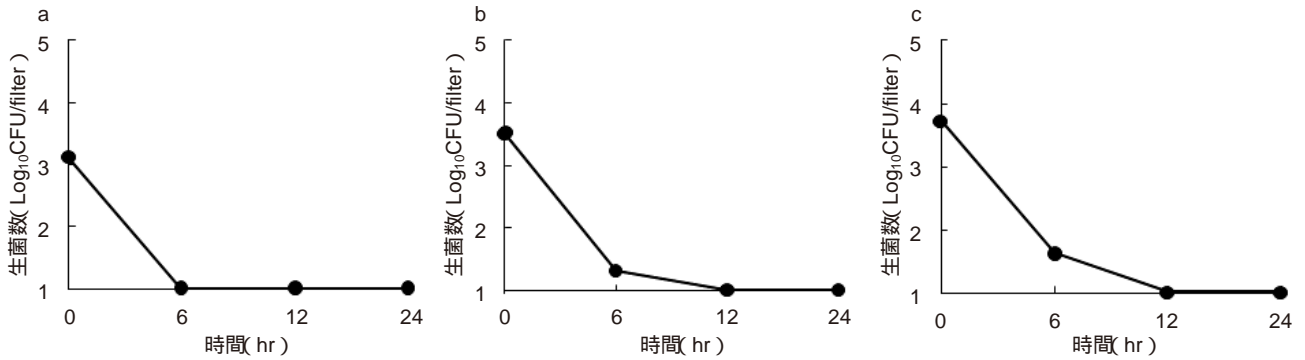


図 3 NP 容器型ニブラジロール点眼薬の分離菌のフィルターでの生残菌試験.

- a : 検体番号 4, フィルター, *S. warneri* (CNS).  
 b : 検体番号 11, キャップ, *S. epidermidis* (CNS).  
 c : 検体番号 11, フィルター, *P. acnes*.

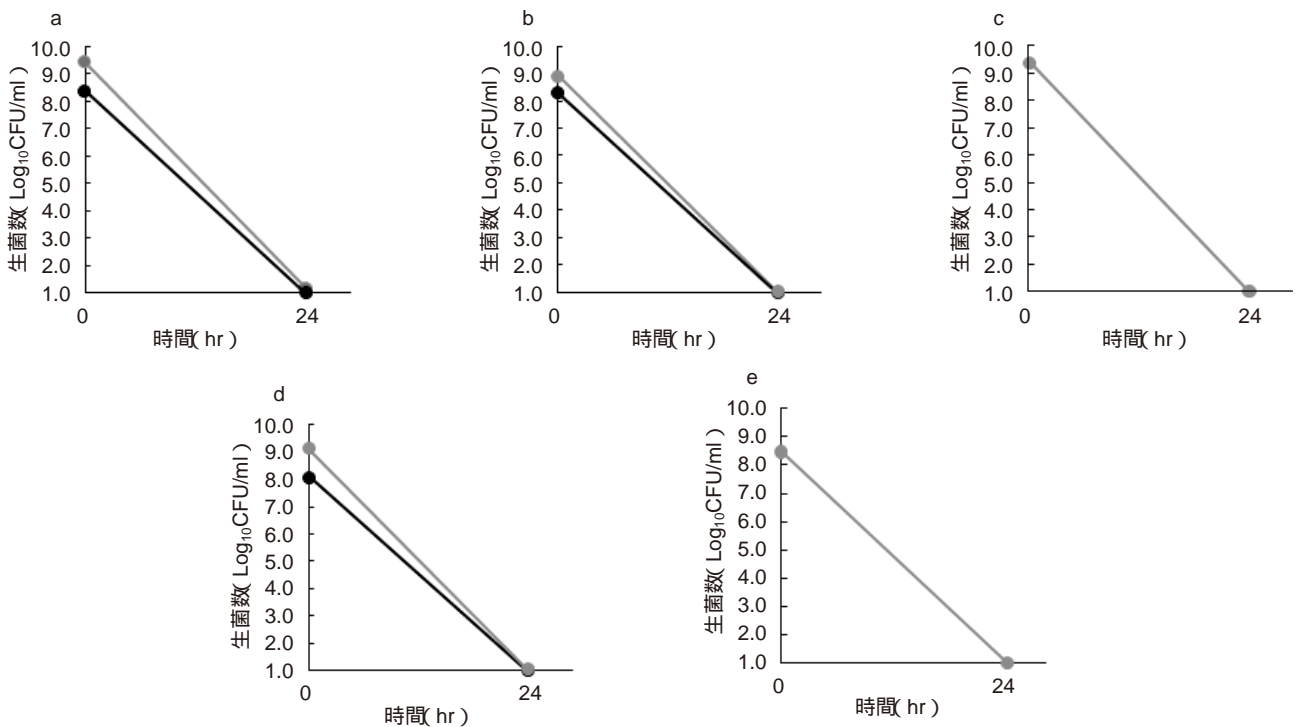


図 4 従来型ニブラジロール点眼薬の分離菌の点眼薬中での生残菌試験.

- a : 検体番号 9, ● : *Stenotrophomonas maltophilia*, ● : *Alcaligenes xylosoxidans*.  
 b : 検体番号 11, ● : *Citrobacter freundii*, ● : *Candida guilliermondii*.  
 c : 検体番号 12, ● : *Serratia marcescens*.  
 d : 検体番号 15, ● : *Brevibacterium* sp., ● : *S. epidermidis* (CNS).  
 e : 検体番号 18, ● : *Pseudomonas fluorescens*.

れる。検出された菌は結膜炎や角膜炎を発症させる可能性があるが、今回の 20 例では結膜炎や角膜炎の発症はみられず、臨床的には何ら問題がなかった。今回は従来型ニブラジロール点眼薬から NP 容器型ニブラジロール点眼薬に変更することで、結膜嚢内常在細菌にどのような変化があるかは検討しなかった。しかし従来型ニブラジロール点眼薬からは、NP 容器型ニブラジロール点眼薬と共通に検出される菌以外に、BAC に対する抵抗性が報告されている菌 (*S. maltophilia*, *A. xylosoxidans*, *S.*

*marcescens*, *P. fluorescens*)<sup>16)</sup> が検出されており、結膜嚢内常在細菌叢が異なる可能性が考えられる。

今回は NP 容器型ニブラジロール点眼薬のフィルターやキャップからの代表的な分離菌 (*S. warneri*, *S. epidermidis*, *P. acnes*) の生残菌試験を行ったが、フィルター上における生菌数は、試験菌液滴下 12 時間後には検出限界以下となった。このことから、仮に点眼瓶の微生物汚染が起きた場合でも、汚染菌がフィルターに捕捉され、増殖することなどによる患者への影響は少ないと考

えられた。また、残液からは微生物が検出されなかったことから、NP 容器型ニプラジロール点眼薬は患者に対する安全性が高いと考えられる。従来型ニプラジロール点眼薬は防腐剤である BAC が 0.002% 添加されているが、残液から微生物が検出された。この結果は過去の報告<sup>7)~15)</sup>と同様で、防腐剤が添加されていても微生物汚染を消失させることはできなかった。しかし、残液から分離されたすべての菌 (*S. maltophilia*, *A. xylosoxidans*, *C. freundii*, *C. guilliermondii*, *S. marcescens*, *Brevibacterium* sp., *S. epidermidis*, *P. fluorescens*) の BAC 抵抗性を調べるために新たな薬液中に添加した場合の生残性は低く、汚染菌添加 24 時間後には生残菌は測定限界値以下となり、尾家ら<sup>12)</sup>の報告と同様であった。BAC などの陽イオン性界面活性剤は細胞膜のリン脂質に結合して殺菌作用を発揮する。残液から菌が検出された原因は、点眼容器が睫毛や眼瞼などと接触した際に混入した細胞などと塩化ベンザルコニウムとが結合することで、その効力が低下していることが一因と考えられた。その他に BAC には薬剤の角膜浸透性を向上させる働きもあり、0.02% BAC 添加により角膜浸透性が 18 倍になったと報告されている<sup>17)</sup>。BAC は殺菌作用と角膜浸透性を向上させる作用を有しており、角膜上皮障害が角膜浸透性の向上に参与している可能性もあり、BAC 無添加により角膜上皮障害が軽減すると眼圧下降効果が減弱する可能性がある。

結論として、新しく開発された NP 容器型ニプラジロール点眼薬と従来型ニプラジロール点眼薬の微生物汚染はキャップ、ノズルでは同等だったが、残液では従来型ニプラジロール点眼薬のみ微生物が検出された。検出された微生物は結膜嚢や皮膚の常在菌で、その微生物の生残性は低く、点眼薬の安全性は良好と考えられる。

## 文 献

- 1) **The AGIS Investigators** : The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS) 7 : The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. *Am J Ophthalmol* 130 : 429—440, 2000.
- 2) **Lichter PR, Musch DC, Gillespie BW, Guire KE, Janz NK, Wren PA, et al (The CIGTS Study Group)** : Interim clinical outcomes in the Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study comparing initial treatment randomized to medications or surgery. *Ophthalmology* 108 : 1943—1953, 2001.
- 3) 大竹雄一郎, 山田昌和, 佐藤直樹, 濱野 孝, 今安正樹, 坪田一男 : 点眼薬中の防腐剤による角膜上皮障害について. *あたらしい眼科* 8 : 1599—1603, 1991.
- 4) **Baudouin C, Pisella P-J, Fillacier K, Goldschild M, Becquet F, Jean MS, et al** : Ocular surface inflammatory changes induced by topical antiglaucoma drugs. *Ophthalmology* 106 : 556—563, 1999.
- 5) **Inoue K, Okugawa K, Kato S, Inoue Y, Tomita G, Oshika T, et al** : Ocular factors relevant to anti-glaucomatous eyedrop-related keratoepitheliopathy. *J Glaucoma* 12 : 480—485, 2003.
- 6) 松谷 紫 : 抗アレルギー点眼剤中の塩化ベンザルコニウムによる眼周囲のアレルギー性接触皮膚炎. *西日本皮膚科* 56 : 3—6, 1994.
- 7) 横山恭典, 後藤陽子, 種元桂子, 薄木玲子, 佐治守, 茨木信博 : 防腐剤非添加緑内障点眼薬の点眼瓶の汚染. *臨眼* 57 : 487—490, 2003.
- 8) 濱野 孝, 檀上幸孝, 東堤 稔, 坂本雅子, 米虫節夫 : 防腐剤の有無による点眼薬の薬効および容器汚染の検討. *日コレ誌* 36 : 57—61, 1994.
- 9) 亀井裕子 : 添加剤の安全性について. *眼科* 36 : 651—658, 1994.
- 10) 細田源浩, 塚原重雄, 岡部忠志 : 緑内障患者が使用中の点眼薬の微生物汚染. *あたらしい眼科* 11 : 755—757, 1994.
- 11) 野村征敬, 塚本秀利, 池田博昭, 村田和彦, 野間英孝, 山内 誠, 他 : 眼科外来患者が使用中の点眼瓶の汚染率の検討. *眼臨* 99 : 779—782, 2005.
- 12) 尾家重治, 神谷 晃 : 外来患者使用後の点眼剤の微生物汚染. *CHMOTHERAPY* 40 : 191—194, 1992.
- 13) 宮尾益也, 坂上富士男, 田沢 博, 大石正夫 : 常用点眼液の汚染度の検査成績. *あたらしい眼科* 7 : 249—254, 1990.
- 14) 秋葉真理子, 清水恭子, 秋葉 純, 吉田逸朗, 友田豊, 橋 峰司 : 外来患者が使用中の点眼薬の汚染度. *臨眼* 49 : 1587—1592, 1995.
- 15) **Schein OD, Hibberd PL, Starck T, Baker AS, Kenyon KR** : Microbial contamination of in-use ocular medications. *Arch Ophthalmol* 110 : 82—85, 1992.
- 16) **Nakashima AK, McCarthy MA, Martone WJ, Anderson RL** : Epidemic septic arthritis caused by *Serratia marcescens* and associated with a benzalkonium chloride antiseptic. *J Clin Microbiol* 25 : 1014—1018, 1987.
- 17) **Keller N, Moore D, Carper D, Longwell A** : Increased corneal permeability induced by the dual effects of transient tear film acidification and exposure to benzalkonium chloride. *Exp Eye Res* 30 : 203—210, 1980.