

[原著]

10% ポビドンヨードエタノールの皮膚消毒効果は 1% クロルヘキシジンと同等である

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所¹⁾、日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター²⁾
松本真実¹⁾、名雲英人²⁾、小堺 萌¹⁾、金野久実²⁾、天野美里²⁾、佐竹正博¹⁾

Ten percent povidone iodine-ethanol antiseptic is as effective as
1% chlorhexidine-containing antiseptic for skin sterilization

Japanese Red Cross Blood Service Headquarters Central Blood Institute¹⁾,
Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center²⁾
Mami Matsumoto¹⁾, Hideto Nagumo²⁾, Moe Kozakai¹⁾, Kumi Kinno²⁾,
Misato Amano²⁾ and Masahiro Satake¹⁾

抄 錄

献血者の皮膚上細菌は血液製剤への混入原因となるため、採血前の皮膚消毒は重要である。血液センターでは消毒に10% ポビドンヨードエタノール(10% PVP-EtOH)を使用しているが、近年、皮膚消毒に高濃度クロルヘキシジングルコン酸塩(CHG)が有効との報告があるため消毒効果を検証した。

初めに被験者の未消毒時の内肘皮膚上の菌数と菌種を調査し、次に血液製剤から検出例のある5菌種を被験者の皮膚に塗布し、10% PVP-EtOH、0.5% および1% CHG-EtOHの消毒効果を比較した。結果、未消毒時の皮膚上菌数は $1 \sim 10^4$ CFU/cm² 検出され、最多菌種はCoagulase-negative Staphylococci 次いでBacillus属であった。消毒薬比較については、いずれの消毒薬も4菌種に対する平均対数減少値(LRF値)5以上と高い消毒効果を示したが、Bacillus cereusのみ全消毒薬でLRF値2.1～2.5と低値であった。5菌種に対する平均LRF値は消毒薬間で差はなかったが、Bacillus cereusに対しては10% PVP-EtOHが0.5% および1% CHG-EtOHよりもLRF値が有意に高かったことから、10% PVP-EtOHは皮膚消毒薬として適していると考える。

Key words: povidone iodine, chlorhexidine, skin sterilization, bacterial contamination

【諸 言】

日本では血小板製剤の輸血による細菌感染症事例が年間1～3件、供給部門や医療機関での外観検査で、凝集物等の異常により輸血に使用されなかった製剤から細菌が検出されたニアミス事例

が、年間2～5件発生している。2012年～2018年の7年間で、輸血後細菌感染症事例とニアミス事例の血小板製剤から検出された菌種は、*Staphylococcus aureus* 16例、*Streptococcus* 属 6例、*Escherichia coli* 4例、*Lactococcus garvieae*

3例, *Citrobacter koseri* 2例, *Klebsiella pneumoniae* 2例, *Enterobacter* 属 1例, *Bacteroides* 属 1例が報告されている。

献血者の皮膚上細菌は、血流と共に血液バッグ中に混入し細菌感染症の原因となり得る。ポビドンヨード(PVP)は抗菌スペクトルが広く, *in vitro*の試験で芽胞菌である*Bacillus*属にも消毒効果がみられたことから¹⁾, 血液センターでは1999年に採血前の皮膚消毒薬を0.5%クロルヘキシジングルコン酸塩エタノール(0.5% CHG-EtOH)から10%ポビドンヨードエタノール(10% PVP-EtOH)へ変更し, ヨード過敏症の献血者のみ0.5%CHG-EtOHを使用している。

2011年にCDCは、「血管カテーテル関連感染予防のためのガイドライン」でカテーテル挿入部位の皮膚消毒に, 0.5%を超える濃度のクロルヘキシジングルコン酸塩(CHG)アルコール製剤を使用することを推奨している²⁾。また, 米国感染症学会(IDSA)のガイドラインでは, 血液培養時の皮膚消毒にPVPよりも, 0.5%より高濃度のCHG含有アルコール製剤を使用することを推奨し³⁾, 英国では血液培養時の皮膚消毒に2%CHG含有イソプロパノールを推奨している⁴⁾。これらのガイドラインや血液培養前の皮膚消毒にはPVPよりCHG製剤の方が効果があるという報告から^{5), 6)}, 諸外国においては2%CHG含有アルコール製剤が皮膚消毒薬として広く使用されている。日本では2%CHGによる皮膚消毒は認可されていないため, 適用上限濃度である1%CHGアルコール製剤を使用している医療機関が多い。

そこで本研究では, 現行の消毒薬を含めた皮膚消毒薬の効果を検証することを目的とし, 初めに健常被験者の内肘皮膚上から, どのような細菌がどの程度検出されるか調査するため, 未消毒時での内肘皮膚上の細菌数と菌種を調査した。次に, 血小板製剤から検出事例のある5菌種について, アルコール綿で常在菌を除去した被験者の内肘皮膚上に塗布し, 10%PVP-EtOH, 0.5%CHG-EtOHおよび1%CHG-EtOH, 3種類の消毒薬の消毒効果を比較した。

【対象および方法】

この一連の実験は, 平成26年3月12日, 血液事業本部長より関東甲信越ブロック血液センター所長および東京都赤十字血液センター所長宛に出された血品第21号「採血前皮膚消毒薬の効果に係る検証実験の実施について」の依頼により施行したものである。

被験対象

未消毒時での内肘皮膚上の細菌数と菌種を調査するために, 関東甲信越ブロック血液センター職員から正常な皮膚の状態にある20名を被験対象とした。20名の内訳は女性8名, 男性12名であった。

塗布細菌に対する消毒薬効果の比較試験は, 同センター職員から健常な女性2名, 男性3名の5名を被験対象とした。被験者5名に対しては, 皮膚に塗布する細菌の種類とその一般的な性質, 塗布・消毒実験の詳細, 実験後の皮膚の処置方法, 起こる可能性のある副作用について十分に説明し, ヘルシンキ宣言に基づき研究への参加について本人の同意文書を得た。

皮膚上細菌の採取方法

米国材料試験協会に抗菌効果評価方法として用いられているカップスクラブ法^{7), 8)}により細菌を採取した。左右の内肘皮膚上に直径2cmの滅菌ステンレスシリンダーを押し付け, シリンダー内に回収液(後述の中和剤)1.5mLを注入し, ラバーポリスマン(先端がゴム状のガラス棒)で皮膚表面を全方向に1分間擦り, シリンダー内の液をピペットで採取した。シリンダーに液を注入し回収する操作を2回繰り返した回収液を, 菌数測定および菌種同定用検体とした。

細菌培養と同定

菌数の測定は, 寒天平板塗抹培養法と混釀培養法で行った。寒天平板塗抹培養法は, ソイビーンカゼインダイジェスト(SCD)寒天培地(日本製薬)に検体0.1mLをコンラージ棒で塗抹した。混釀培養法は, シャーレに検体1mLを分注し, これに加温溶解して47℃に保持したSCD寒天培地15mLを加え混和し凝固させた。培地を36℃で24~72時間好気培養後, コロニー数をカウントし皮膚面積1cm²あたりの菌数を算出した。

同定を行う菌株は、コロニーを色・大きさ・形状等の外観およびグラム染色像から識別し選定した。選定したコロニーを分離培養し、自動細菌同定検査装置(VITEK2 Compact, ビオメリュー)で同定を行い、同定不能または同定結果一致率の低かった菌株について16S rRNA 遺伝子解析^{9), 10)}により同定を行った。細菌DNAを抽出後、16S rRNA 遺伝子領域(約1500 bp)をTaKaRa Ex-Taq(タカラバイオ)を用いて増幅した。増幅産物をBigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems)を使用してABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems)でシーケンスを実施した。得られた塩基配列について、NCBI Nucleotide BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)にてBLAST解析を行った。

評価消毒薬

消毒薬は、10% PVP-EtOH(ポビヨドンフィールド10% 純棒, 吉田製薬), 0.5% CHG-EtOH(ヘキザックAL 0.5% 純棒, 吉田製薬), 1.0% CHG-EtOH(ヘキザックAL 1% 純棒OR, 吉田製薬)を使用した。各消毒薬は、すべて使い切りの個包装タイプを使用した。

消毒薬に対する中和剤

皮膚上細菌の回収には、各消毒薬を不活化する中和剤を用いた。10% PVP-EtOH用には中和剤I(レシチン; 3%, ポリソルベート80; 30%, L-ヒスチジン; 1%, サボニン; 30%, チオ硫酸ナトリウム; 5%, トリプトン; 1%, 塩化ナトリウム; 8.5%), 0.5% CHG-EtOH および1.0% CHG-EtOH用には中和剤II(レシチン; 3%, ポリソルベート80; 10%)を使用した。

事前検討により細菌をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)に懸濁した溶液と、各中和剤に懸濁した溶液で同等数のコロニーが生育したことから、細菌が中和剤の影響を受けないことを確認した。また、消毒薬と中和剤を1:20の割合で混合した溶液に各評価菌を懸濁し1分間静置後、寒天平板塗抹培養し、PBSに懸濁したコントロールと同等数のコロニーが生育し、中和剤が消毒薬に対して中和性能を有することを確認した。

評価菌

消毒薬比較試験の評価菌は、本研究の初めの検

討で皮膚上から検出された菌種、または血液製剤から検出報告のある菌種から、*Staphylococcus epidermidis* (NBRC 100911), *Staphylococcus aureus* (NBRC 13276), *Bacillus cereus* (NBRC 13494), *Streptococcus dysgalactiae* (ATCC 12394), *Escherichia coli* (NBRC 15034)の5菌種とした。各評価菌をPBSに懸濁し $10^8 \sim 10^9$ CFU/mLの菌液を調製した。

消毒薬効果の比較

被験者は非抗菌石鹼(MIYOSHI石鹼)を用いて両腕の前腕を30秒間流水洗浄後、滅菌不織布ガーゼで水分を拭きとった。血液センター看護師が採血時の消毒前拭取り手順に従い、70% エタノール綿(エレファコットンエコE, ハクゾウメディカル)で内肘肘窩部位を中心に直径約10cmの範囲を末梢から中枢方向に拭き、綿を取り替えて2回繰り返した。このように皮膚上常在菌を除去後、3種類の消毒薬を比較するため、内肘3箇所(片腕2箇所、別の片腕1箇所)に直径2cmのシリコンダーポジに沿って油性マジックでマークをつけ、マーク内に $10^8 \sim 10^9$ CFU/mLの菌液 $10 \mu L$ ($10^6 \sim 10^7$ CFU/ $10 \mu L$)をピペットで滴下し、滅菌ループで均一にのばして2~3分間自然乾燥させた。

細菌塗布部位の消毒は、手順に従い看護師が薬液を充分に含んだ綿棒で、マーク中心から外側に塗り残しのないよう同心円を描きながら一筆でマーク内全面に塗布した。消毒後、カップスクラブ法により皮膚上の細菌を採取し、寒天平板塗抹培養法および混和培養法により残存細菌数を測定した。試験は1日1菌種ずつ、2週間隔で5菌種を実施した。

消毒薬効果の評価は、菌種ごとに対数減少値(log reduction factor; LRF値)を比較した。LRF値とは、塗布した菌数と消毒後の生菌数の各対数をとり、その減少値を算出した値(LRF値=Log₁₀[塗布菌数]-Log₁₀[消毒後の生菌数])である。消毒薬比較試験では、皮膚に塗布した評価菌のみがプレート上に生育し、未消毒の場合は塗布菌数と回収菌数が同じオーダー数であることを確認した。

被験者の細菌塗布部位は、試験終了後、70%

エタノール綿を数回交換しながら丁寧に拭き取った後、薬用石鹼を使用して手指・前腕・肘窩を十分に洗浄した。被検者には、その後数日間、塗布部位の注意深い観察をお願いし、異常があれば報告をもらうこととした。すべての試験終了後、異常が見られた被験者は1人もいなかった。

統計解析

3種類の消毒薬評価の統計解析は、LRF値を用いてFriedman検定により有意水準5%で検定を行った。

【結果】

未消毒時の皮膚上細菌検出結果

被験者の細菌採取部位ごとに外観の異なるコロニーを選別し、真菌以外の104株を同定対象とした。同定の結果、89株は種まで同定され(22種)、14株は属までの同定となり(2属)、1株は同定不明であった。同定した菌株のうち、属までの同定となったのは*Bacillus*属13株、*Corynebacterium*属1株であった。これらの株は、形態や生化学的または遺伝子的特性が類似しているために種までの同定が困難であった。また、属の同定に至らなかったものは、真菌2株とVITEK2 CompactとPCR法で同定結果が異なった細菌1株であった。

最も多く検出された属は、*Staphylococcus*属、次いで*Bacillus*属、*Kocuria*属であった(図1a)。*Staphylococcus*属の菌種は、*Staphylococcus hominis*、*Staphylococcus epidermidis*、*Staphylococcus capitis*の順に多く検出され、すべてCoagulase-negative *Staphylococci*(CNS)であった(図1b)。

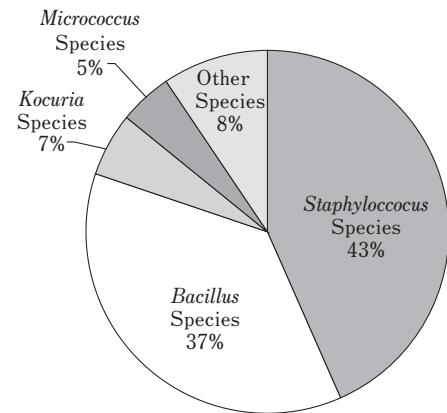
20名の被験者から未消毒時の皮膚上細菌数は1~ 10^4 CFU/cm²検出され、男女共に10¹ CFU/cm²検出された被験者が男性12名中6名、女性8名中5名と最も多いが、男性1名から10⁴ CFU/cm²と突出して多く検出された(表1、2)。この被験者は、検出菌数が多いにも関わらず、検出された菌種が*Staphylococcus hominis*のみという点も特徴的であった。また、男女共に検出菌数に腕の左右差は認められず、男女で検出される菌種にも大きな差は見られなかった。

消毒薬の比較検証結果

表3は内肘に塗布した評価菌5菌種に対する、各消毒薬のLRF値を被験者ごとに示した。表3

のデータを元に、図2は菌種ごとに各消毒薬のLRF値の最大値、中央値、最小値をチャートで示した。表4aは評価菌5菌種に対する10% PVP-EtOH、0.5% CHG-EtOH、1% CHG-EtOHそれぞれの平均LRF値を示した。いずれの消毒薬も*B. cereus*以外の4菌種に対してはLRF値5.2以上の高い消毒効果を示し、消毒薬間の差は見られなかった。*B. cereus*に対してのみ3種類の消毒薬の平均LRF値は、2.1~2.5と他の4菌種より有意に低かったが、10% PVP-EtOHの*B. cereus*に対する平均LRF値は、0.5% CHG-EtOHおよび1% CHG-EtOHより有意に消毒効果が高かった(図2、表4a, P<0.05)。また、各菌種に対する消毒薬の効果について被験者による差は見られなかった(表4b)。

(a) All bacteria detected



(b) *Staphylococcus* species identified

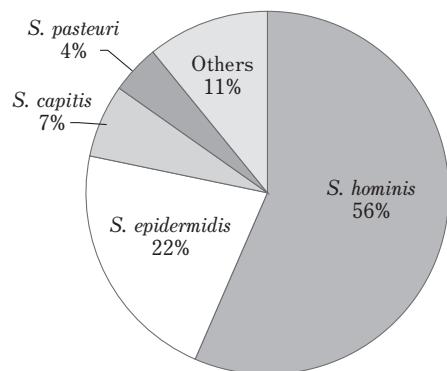


図1 Classification of bacteria detected on the skin of volunteers

表 1 Identification of bacteria from untreated male skin in each arm

No.	CFU/cm ²	Right arm		Left arm	
		Bacterial species	CFU/cm ²	Bacterial species	CFU/cm ²
1	28	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus hominis</i>	41	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Kocuria kristinae</i>	
2	66	<i>Moraxella osloensis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	26	<i>Kocuria varians</i> Fungi	
3	14	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i> <i>Bacillus subtilis</i>	20	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Micrococcus luteus</i>	
4	3	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Bacillus sp. (B. vallismortis</i> <i>/ B. subtilis)</i>	16	<i>Staphylococcus hominis</i>	
5	20	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus capitis</i>	201	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Acinetobacter lwoffii / Enhydrobacter aerosaccus</i>	
6	156	<i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sp. (B. cereus /</i> <i>B. thuringiensis / B. mycoides)</i>	68	<i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sp. (B. atrophaeus /</i> <i>B. subtilis / B. amyloliquefaciens)</i>	
7	1	<i>Bacillus sp. (B. megaterium /</i> <i>B. aryabhattai / B. horikoshii)</i>	4	<i>Bacillus megaterium</i> <i>Corynebacterium sp.</i> <i>(C. jeikeium /</i> <i>C. tuberculostearicum)</i> <i>Staphylococcus hominis</i>	
8	3.5×10^4	<i>Staphylococcus hominis</i>	4.8×10^4	<i>Staphylococcus hominis</i>	
9	4	<i>Staphylococcus capitis</i> <i>Staphylococcus schleiferi</i>	5	<i>Bacillus sp. (B. vallismortis /</i> <i>B. subtilis)</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus simplex</i>	
10	15	<i>Bacillus sp. (B. cereus /</i> <i>B. thuringiensis / B. mycoides)</i> <i>Staphylococcus hominis</i>	17	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Kocuria varians</i>	
11	7	<i>Bacillus vallismortis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus capitis</i>	39	<i>Bacillus vallismortis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus warneri</i>	
12	179	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Bacillus subtilis</i>	162	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Bacillus subtilis</i>	

【考 察】

20名の健常被験者の内肘皮膚表面から多様な菌種が検出された。最も多く検出された菌種は、*S. epidermidis*をはじめとする皮膚常在菌のCNSで男女20名中19名から検出され、次いで芽胞を形成し環境中にも多く存在する*Bacillus*属が16名、その他、*Micrococcus*属、*Kocuria*属が男女とも検

出された。しかし外観異常で回収された血小板製剤や、細菌感染事例となった血小板製剤から最も多く検出されている*S. aureus*は、健常被験者20名の試験した内肘皮膚からは検出されなかった。皮膚表面は弱酸性で一定の水分を保持しているが、*S. aureus*のような皮膚通過菌はアルカリ性を好み皮膚に定着しにくいため、*S. aureus*を内肘皮

表2 Identification of bacteria from untreated female skin in each arm

No.		Right arm		Left arm	
		CFU/cm ²	Bacterial species	CFU/cm ²	Bacterial species
13	13		<i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus hominis</i>	6	<i>Micrococcus luteus</i>
14	581		<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus pasteuri</i> <i>Gordonia terrae</i> <i>Kocuria carniphila</i>	494	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Kocuria varians</i> <i>Roseomonas rosea</i>
15	45		<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Paenibacillus pabuli</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus intermedius</i>	9	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sp. (B. cereus / B. thuringiensis)</i>
16	7		<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus simplex</i>	11	<i>Bacillus subtilis</i>
17	15		<i>Bacillus sp. (B. vallismortis / B. subtilis)</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus pasteuri</i>	4	<i>Bacillus sp. (B. cereus / B. thuringiensis / B. mycoides)</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Bacillus sp. (B. cereus / B. pseudomycoides / B. mycoides / B. thuringiensis)</i>
18	6		<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus vallismortis</i> <i>Bacillus sp. (B. subtilis / B. amyloliquefaciens / B. atrophaeus)</i>	386	<i>Bacillus vallismortis</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i> <i>Bacillus sp. (B. coagulans / B. subtilis)</i>
19	124		<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus megaterium</i>	54	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus hominis</i>
20	79		<i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Kocuria kristinae</i> <i>Staphylococcus hominis</i>	75	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Bacillus sp. (B. vallismortis / B. subtilis)</i> <i>Kocuria kristinae</i> <i>Staphylococcus hominis</i> Fungi

膚表面に保有している健常者はごく少数であると考えられる。しかしあトピー性皮膚炎患者は、健常人に比較し皮膚からの *S. aureus* の検出率が有意に高く、疾患部位以外の皮膚からも多数の *S. aureus* が検出されることが知られている^{11),12)}。また、健常人でも鼻腔中には *S. aureus* が定着していることから、*S. aureus* の血小板製剤への混入は、アトピー性皮膚炎疾患がある献血者、あるいは鼻腔中に *S. aureus* を保有している献血者からの採血によることが多いのではないかと考える。血

小板製剤から検出されている *E. coli* や *K. pneumoniae* についても、被験者の数は十分ではないが、今回の検証では内肘皮膚から検出されなかった。*E. coli* はヒトの腸や尿路、*K. pneumoniae* は肺や胆管から検出されることが多いことから、血液製剤から検出されるグラム陰性菌は無症候の菌血症献血者に由来する可能性が高いと考えられる。

消毒薬の評価方法には、試験管内で消毒薬に細菌を添加する、あるいは細菌を撒いたプレート上

表3 The number of residual bacteria after sterilization treatment and LRFs

Bacterial species	Volunteer No.	Applied bacterial number (CFU/cm ²)	10%PVP-EtOH		0.5%CHG-EtOH		1%CHG-EtOH	
			Residual bacterial number (CFU/cm ²)	LRF	Residual bacteria number (CFU/cm ²)	LRF	Residual bacterial number (CFU/cm ²)	LRF
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1.0×10^6		6.2	1	6.5	4	5.4
	2	1.0×10^6	6	5.2	0	6.5	4	5.5
	3	1.4×10^6	212	3.8	1	6.7	0	6.7
	4	1.4×10^6	1	6.2	1	6.2	26	4.8
	5	1.4×10^6	17	4.9	20	4.9	3	5.7
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3.9×10^6	5	5.9	33	5.1	12	5.5
	2	3.9×10^6	20	5.3	6	5.8	7	5.7
	3	4.2×10^6	32	5.1	21	5.3	12	5.6
	4	4.2×10^6	8	5.7	13	5.5	19	5.3
	5	1.7×10^6	19	5.0	5	5.6	25	4.8
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	4.8×10^5	1	6.2	0	6.2	1	6.2
	2	4.8×10^5	5	5.1	2	5.6	1	5.9
	3	4.8×10^5	2	5.6	3	5.3	1	5.7
	4	1.2×10^6	5	5.4	1	6.1	0	6.6
	5	1.2×10^6	28	4.7	6	5.4	1	6.1
<i>Bacillus cereus</i>	1	2.7×10^5	781	2.5	1601	2.2	3153	1.9
	2	2.7×10^5	590	2.7	1959	2.1	1967	2.1
	3	4.2×10^5	1784	2.4	2580	2.2	2739	2.2
	4	2.7×10^5	1004	2.4	2198	2.1	1800	2.2
	5	4.2×10^5	1274	2.5	1871	2.3	2023	2.3
<i>Escherichia coli</i>	1	5.1×10^5	4	5.1	1	5.9	5	5.0
	2	5.1×10^5	6	5.0	5	5.1	3	5.3
	3	5.1×10^5	92	3.8	4	5.2	9	4.8
	4	1.2×10^6	1	6.2	3	5.6	0	6.5
	5	1.2×10^6	2	5.9	4	5.5	0	6.5

に消毒薬を塗布する等の実験系があるが、皮膚消毒は皮膚組織の複雑な構造と消毒薬の相互作用が関与しており、前述のような *in vitro* の実験では実際のヒトの皮膚での消毒条件を再現できない。また細菌を塗布するのではなく、被験者の皮膚を直接消毒し残存細菌数を測定する方法も考えられるが、今回の結果からも通常の健常被験者の皮膚上細菌数は、 $1 \sim 10^4$ CFU/cm² と消毒効果の差を比較するには菌数が少なく、細菌叢も輸血関連敗血症の原因となるような菌種を含んでいないことが明らかになった。

そのため我々は血小板製剤から検出され、輸血された場合、敗血症の原因となりうる 5 菌種を評価対象とし、アルコール綿で皮膚上の細菌を除去した被験者の内肘に菌液を塗布し、塗布したエリアを各消毒薬で消毒して残存菌数を測定した。評価菌について、5 菌種の中で *E. coli* の血液製剤

中への混入原因是皮膚よりも献血者の血流由来と考えられるが、グラム陰性菌に対する消毒薬の効果も調べるために、代表的なグラム陰性菌として評価菌に選択した。*S. epidermidis* は日本では血液製剤中の混入事例報告はないが、最も典型的な皮膚常在菌であり、海外では *S. epidermidis* が混入した血小板製剤による副作用事例も報告されている^{13),14)} ことから選択した。塗布菌数については、初めの検討で被験者 20 名中、内肘皮膚から最も多く検出された菌数が 10^4 CFU/cm² であったので 10^5 CFU/cm² 以上とした。しかし、本方法でも穿刺時の皮膚消毒を検証する条件として完全ではない。たとえば皮膚上細菌はバイオフィルムを形成し消毒薬に抵抗性を獲得していることもあるれば、細菌叢が皮脂腺、毛囊等、皮膚の深部に存在している場合があり、このような場合には皮膚表面に塗布した消毒薬では効果を得にくいと考えられる。

えられる。

海外では血小板採血時の皮膚消毒に、PVPで2回消毒するよりも2%CHGで1回消毒する方が細菌汚染を防ぐ効果があるとの報告があり¹⁵⁾、海外の多くの採血施設ではCHG含有消毒薬が使用されている^{16~18)}。しかし今回の検証では、血小板製剤から検出される主要な細菌に対して、10%PVP-EtOH、0.5%CHG-EtOHおよび1.0%CHG-EtOHの消毒効果に大きな差はなかった。むしろ消毒薬に抵抗性をもつ胞子を形成する*B. cereus*に対しては、10%PVP-EtOHの方が0.5%CHG-EtOHおよび1.0%CHG-EtOHよりも消毒効果が高かった。IDSAはCHGの利点として

「CHGはPVPより適切な皮膚への接触時間、乾燥時間が担保できる」と述べている³⁾。確かにPVPの方がCHGよりも皮膚塗布後の乾燥に時間を要するが、確実な消毒操作を実施することでPVPはCHGと同等の消毒効果を示した。さらに日本赤十字社の血液センターでは、PVPによる消毒の前にアルコール綿を交換して2回拭き取りを実施している。それが皮膚の汚れを除去すると共に、さらに採血部位の消毒効果をあげていると考えられる。

消毒薬は消毒効果だけでなく、副作用についても考慮する必要がある。CHGを皮膚に塗布してアナフィラキシーショックが発生した事例報告は

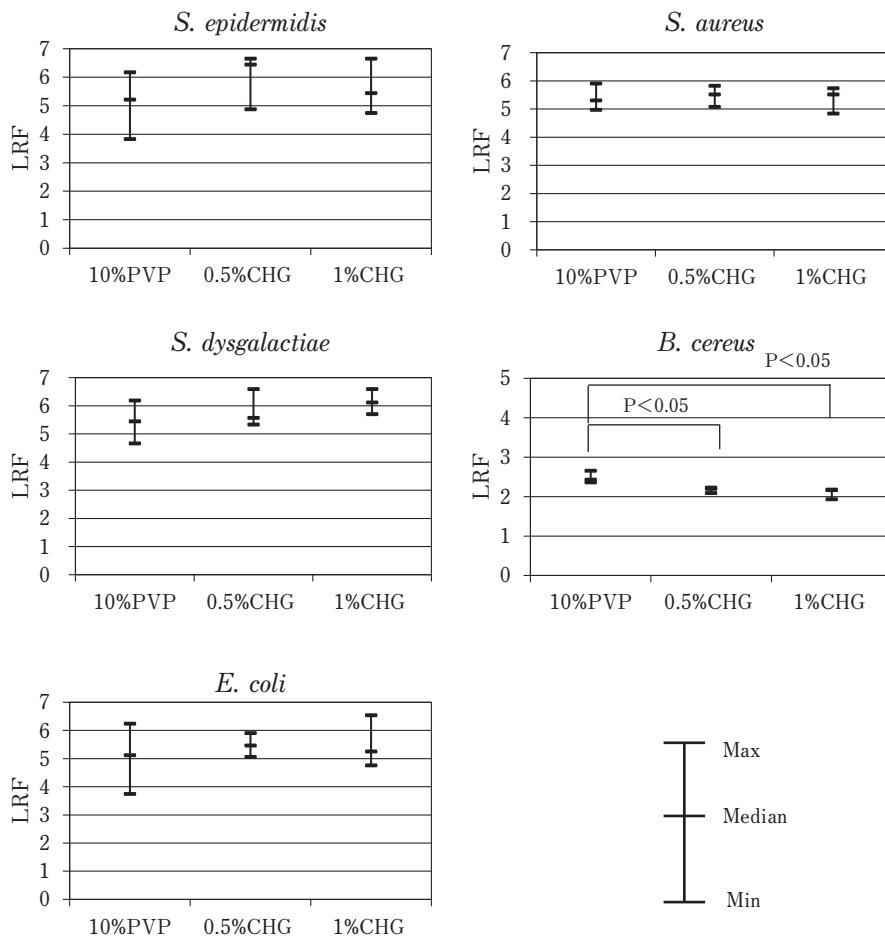


図2 Sterilization effect of the three antiseptics against five bacterial species

表4 LRFs of the three antiseptics relating to the bacterial species and volunteer subjects

(a) Antiseptics and bacterial species

	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. dysgalactiae</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	Average (n=25)
10% PVP-EtOH	5.3*	5.4*	5.4*	2.5 [†] *	5.2*	4.8
0.5% CHG-EtOH	6.2*	5.5*	5.7*	2.2*	5.5*	5.0
1% CHG-EtOH	5.6*	5.4*	6.1*	2.1*	5.6*	5.0
Average (n=15)	5.7	5.4	5.7	2.3	5.4	

Average LRFs from five volunteer subjects are shown. (*average, n=5)

Among the three antiseptics, there were no significant differences in the sterilization effect against each bacterium, with the exception of *B. cereus*. Against *B. cereus*, the effect of 10% PVP-EtOH was higher than those of other antiseptics. († : p<0.05)

(b) Volunteer subjects and bacterial species

Volunteer No.	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. dysgalactiae</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	Average (n=15)
1	6.0*	5.5*	6.2*	2.2*	5.4*	5.4
2	5.7*	5.6*	5.5*	2.3*	5.1*	5.1
3	5.7*	5.3*	5.5*	2.3*	4.6*	4.8
4	5.7*	5.5*	6.0*	2.2*	6.1*	5.4
5	5.2*	5.1*	5.4*	2.4*	6.0*	5.1

Average LRFs from three antiseptics are shown. (*average, n=3)

There were no significant differences in the sterilization effect among volunteer subjects for any of the tested species of bacteria.

複数あり、日本でのCHGによるアナフィラキシー発生についての調査によると、従来、消毒薬の使用部位や濃度が適応範囲外の使用による発症事例が問題となっていたが、近年では皮膚消毒での事例が散発しており¹⁹⁾、2017年に厚生労働省はCHG含有製剤に関する使用上の注意を促す通知²⁰⁾を発出していることからも、CHG製剤の使用には注意を要する。PVPは比較的副作用も少ないことから広く使用されているが、アナフィラキシー症状等を発症する場合もあることから²¹⁾、献血者にはPVP過敏症の既往歴などを確認する必要がある。

今回の検討から10% PVP-EtOH、0.5% CHG-

EtOH、1% CHG-EtOHの3種類の消毒薬で、輸血関連敗血症の原因菌となりうる5菌種に対する平均LRF値では差は見られなかった。しかし、3種類の消毒薬共に消毒効果が低かった芽胞菌の*B. cereus*に対しては、10% PVP-EtOHの方が0.5% CHG-EtOHと1% CHG-EtOHよりも殺菌効果が有意に高かったことから、現行使用している10% PVP-EtOHは採血前の皮膚消毒薬として適していると考える。

【謝 辞】

本研究を遂行するにあたり、ご協力くださった関東甲信越ブロック血液センターの方々に深く感謝致します。

文 献

- 1) 橋本浩司, 他 . 採血部位消毒におけるポビドンヨードの有効性について. 日本輸血学会雑誌, 45 : 20-25, 1999.
- 2) Centers for Disease Control and Prevention:Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. : 13-21, 2011.
- 3) Mermel LA, et al. :Update by the Infectious Diseases Society of America.Clin Infect Dis; 49:1-45, 2009.
- 4) Department of Health:Taking Blood Cultures. A summary of best practice. [cited 1/2/2020] Available from: https://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20120118171812/http://hcai.dh.gov.uk/files/2011/03/Document_Clinical_practice_guidelines_for_the_diagnosis_and_management_of_intravascular_catheter-related_infection_Blood_culture_FINAL_100826.pdf
- 5) Mimoz O, et al. : Chlorhexidine compared with povidone-iodine as skin preparation before blood culture. A randomized controlled trial. Ann Intern Med, 131:834-7, 1999.
- 6) Suwanpimolkul G, et al. : A randomized trial of 2% chlorhexidine tincture compared with 10% aqueous povidone-iodine for venipuncture site disinfection: Effects on blood culture contamination rates.J Infect, 56:354-9, 2008.
- 7) ASTM International.E 1874.Test Method for Evaluation of Antibacterial Washes by Cup Scrub Technique. 2006.
- 8) ASTM International.E 1173.Standard test method for evaluation of preoperative, precatheterization, or preinjection skin preparations. 2002.
- 9) Hiraishi A.Direct automated sequencing of 16S rDNA amplified by polymerase chain reaction from bacterial cultures without DNA purification. Lett Appl Microbiol, 15:210-3, 1992.
- 10) Lane DJ.(1991). 16S/23S rRNA sequencing. In: Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics, pp. 115-175. Edited by E. Stackebrandt & M. Goodfellow. Chichester: Wiley.
- 11) Goh CL, et al. : Skin colonization of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis patients seen at the National Skin Centre, Singapore. Int J Dermatol, 36:653-7, 1997.
- 12) 遠藤 薫, 他. : 簡易スクラブ法によるアトピー性皮膚炎における細菌数の検討. 皮膚, 40 : 9-14, 1998.
- 13) Benjamin RJ , et al. : Bacterial culture of apheresis platelets: a mathematical model of the residual rate of contamination based on unconfirmed positive results.Vox Sang, 106:23-30, 2014.
- 14) Kou Y, et al. : Fatal false-negative transfusion infection involving a buffy coat platelet pool contaminated with biofilm-positive *Staphylococcus epidermidis*: a case report. Transfusion, 55:2384-9, 2015.
- 15) Benjamin RJ, et al. : Skin disinfection with a single-step 2% chlorhexidine swab is more effective than a two-step povidone-iodine method in preventing bacterial contamination of apheresis platelets. Transfusion, 51:531-8, 2011.
- 16) Wong PY, et al. : Validation and assessment of a blood-donor arm disinfectant containing chlorhexidine and alcohol. Transfusion, 44:1238-42, 2004.
- 17) Ramirez-Arcos S, Goldman M: Skin disinfection methods: prospective evaluation and postimplementation results. Transfusion, 50:59-64, 2010.
- 18) McDonald CP: Interventions implemented to reduce the risk of transmission of bacteria by transfusion in the English National Blood Service. Transfus Med Hemother, 38:255-8, 2011.
- 19) 高橋敦子, 他. : クロルヘキシジンによるアナフィラキシー発症に関する文献的考察. 医療関連感染, 10 : 60-70, 2017.
- 20) 厚労省. 薬生安発1102第1号, クロルヘキシジングルコン酸塩又はクロルヘキシジン塩酸塩を含有する医療機器等に係る「使用上の注意」の改定につ

いて。2017.

21) 末次 博, 他. :消毒液ポビドンヨード(イソジン®)

過敏症の1例. 日本口腔外科学会雑誌, 37:393-7,

1991.