

## 気管内吸引カテーテルに付着した 一般細菌の生菌数測定方法に関する検討

犬飼昌子, 野村佳代, 渡邊久美, 千田好子, 光畑律子<sup>1)</sup>, 狩山玲子<sup>1)</sup>

### 要 約

気管内吸引カテーテルに付着した一般細菌の生菌数測定方法について, 超音波法およびチューブミキサーによる攪拌法を用いて検討した。まず, 人工的に緑膿菌を付着させた気管内吸引カテーテルを超音波処理することにより生菌数を測定した。その結果, 処理時間が1分を経過すると生菌数は減少をはじめ経時的に減少傾向を示した。一方, 攪拌法では0.5分の処理をピーク値としてその後の減少傾向は認められなかった。次に, 在宅療養患者に使用したカテーテルをチューブミキサーで0.5分攪拌後, 生菌数の測定を行った。また, 同じカテーテルを用いて走査型電子顕微鏡による観察を行った結果, 画面上の細菌数の印象と生菌数の測定結果に矛盾はなかった。これらのことから気管内吸引カテーテルに付着した一般細菌の生菌数測定方法として, 生理食塩水に入れたカテーテルをチューブミキサーで攪拌する方法が有用であると考えられた。

キーワード: 気管内吸引カテーテル, 付着菌の解離, 生菌数測定方法, 細菌学的評価, 形態学的評価

### はじめに

気管内吸引は, 呼吸器感染症を予防するため, 滅菌された気管内吸引カテーテル (以下, カテーテル) を使用し, 単回使用すること<sup>1,2)</sup>が推奨されている。しかし, 経済的あるいは医療廃棄物の増加などの理由から, 同じカテーテルを繰り返し使用する場合もある<sup>3,4)</sup>。カテーテルを繰り返して使用する場合, カテーテルの感染管理方法が重要となり, その研究的取組みとしては, カテーテルの浸漬用消毒剤の細菌汚染状況やその対策についての報告<sup>5-9)</sup>がある。しかし, カテーテルそのものの細菌汚染状況やその研究方法について具体的に言及したものは数少ない。カテーテルの細菌汚染状況を調べる方法のひとつにカテーテルを生理食塩水 (以下, 生食) 中に入れて超音波処理し, 付着菌を解離させて, 細菌培養をする方法がある<sup>5)</sup>。しかし, 通常, 超音波処理は, 細胞・バクテリア・組織等の破碎目的に用いられているため, カテーテル付着菌を生菌として解離できるかどうかは不明である。

今回, 超音波処理装置およびチューブミキサーを使用して, カテーテル付着菌の生菌数測定方法につ

いて検討した。さらに, カテーテルに付着している微生物などの存在を確認するために, 走査型電子顕微鏡 (以下, 電顕) による形態学的観察を行った。

### 材料と方法

#### 1. 人工的に緑膿菌を付着させたカテーテル

医療現場において, 使用済みカテーテルから分離される頻度が高い緑膿菌を, 未使用 (滅菌) のカテーテルに人工的に付着させて基礎実験を行うこととした。滅菌ポリプロピレン製50ml チューブに20ml の液体培地 (一般細菌用乾燥ブイヨン; ニッスイ) を入れ, その中に緑膿菌標準株 (*Pseudomonas aeruginosa* PAO1) の一夜培養液0.02ml を接種した。この菌液中に, 滅菌済みカテーテル (2側孔・先端開口, 12Fr., ポリ塩化ビニル製, トップK.K.) の先端側孔部分を除去後1cm ずつに切断した2本分のカテーテル断片を浸漬させた。その後, 37℃の恒温振とう培養器 (Bio Shaker BR-13FP; TAITEC) で培養を行い, カテーテル断片に菌を付着させた。18時間後, 培養上清を捨て, 培養液を残さないようにカテーテル断片を1つずつ軽く振って別の滅菌シ

シャーレに移し、生食を注いだ。そのシャーレを緩やかに振とう後、カテーテル断片中に生食を残さないように1つずつ軽く振って別の滅菌シャーレに移し、以下の実験に使用した。

1) 超音波法

生食を1ml入れたポリプロピレンマイクロチューブ(以下、チューブ)6本に、カテーテル断片を3個ずつ入れ、サンプル密閉式超音波細胞破碎装置(Bioruptor UCD-200型;東湘電気 K.K.)で超音波処理(20kHz)した。処理時間は、先行研究<sup>5,10)</sup>をもとに、0分、0.5分、1分、3分、5分、10分の6段階に設定した。処理後の菌液を均一にするため、数秒チューブミキサー(VORTEX GENIE 2 G-560; Scientific Industries)で攪拌を行い、カテーテル断片が沈降後、上清を10倍希釈法で5段階まで希釈し、100 $\mu$ lずつ一般細菌用普通寒天培地(ニッスイ)に接種し、37 $^{\circ}$ Cで培養した。18時間後、生菌数を測定した。

2) 攪拌法

超音波法と比較検討するために、試料の準備、処理時間、生菌数の測定は超音波法と同様に行った。付着菌の解離には、チューブミキサーによる攪拌法を用いた。

2. 在宅療養患者に使用したカテーテル

在宅療養患者に繰り返し使用したカテーテル3本(A, B, C)を回収した。いずれも2側孔・先端

開口で12Fr.(ポリ塩化ビニル製, トップ K.K.)であった。それぞれのカテーテルは喀痰吸引後、在宅管理下で保管されていたものを持ち帰り、以下の実験に使用した。

1) 攪拌法

カテーテルは先端から2cm分を用い、超音波処理は行わず、0.5分の攪拌処理のみで付着菌の解離を試みた。生菌数の測定は前述と同様の方法で行った。

2) 走査型電子顕微鏡による観察

攪拌法の有用性を確認するために、カテーテルの残りの部分を用いて、電顕(S-570型;日立製作所)による形態観察およびカテーテル表面に付着した細菌数の多少を判定した。カテーテル断片(約1cm)を1%グルタルアルデヒドに浸漬し、1%四酸化オスミウムで二重固定後、アルコール脱水をして自然乾燥させ、内側を上にして試料台に張り付け蒸着を行い観察した。

結 果

1. 人工的に緑膿菌を付着させたカテーテルを用いた基礎実験

人工的に緑膿菌を付着させたカテーテル3cm分から、超音波法を用いて、緑膿菌を生食1ml中に解離させ、その中の生菌数を測定した。処理時間が0分(生菌数測定のための希釈時に数秒攪拌)の平均生菌数(cfu/ml)は $5.05 \times 10^5$ で、0.5分では $8.55$

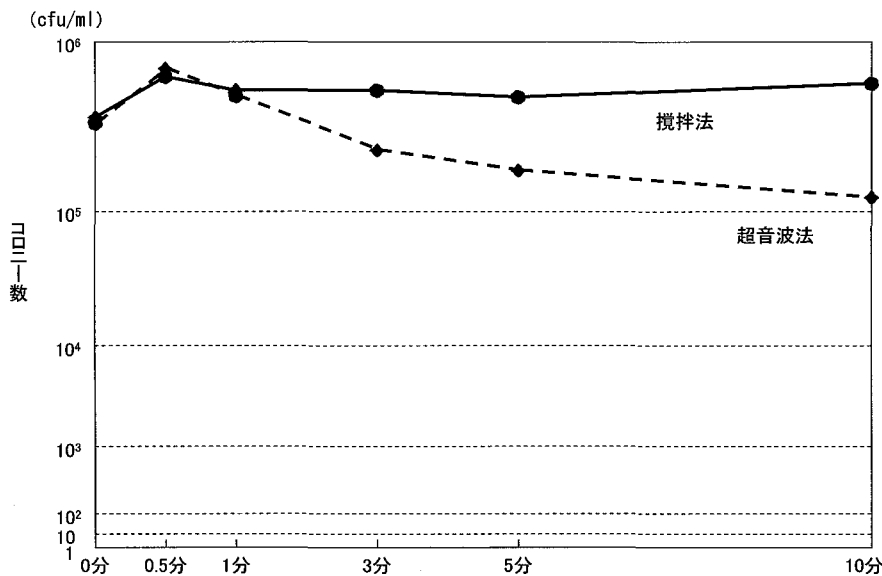


図1 超音波法と攪拌法による処理時間と平均生菌数

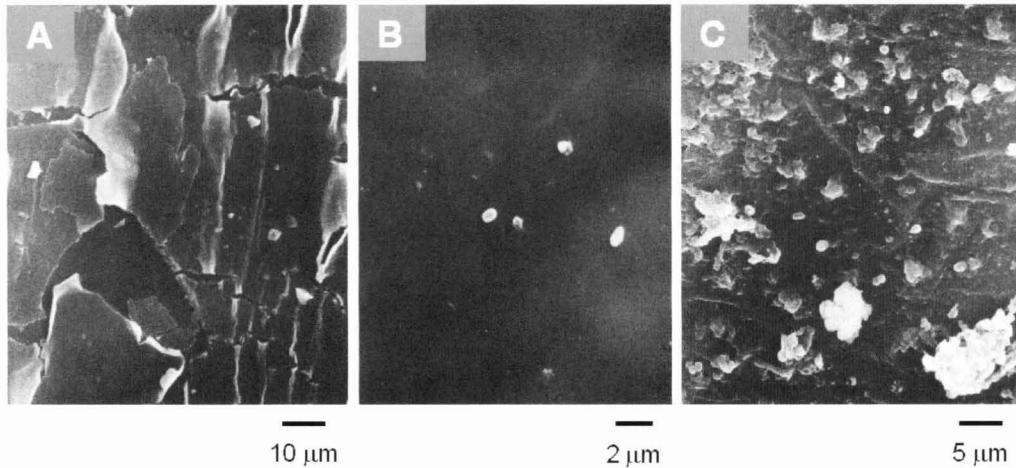


図2 在宅患者に繰り返し使用したカテーテルの走査型電子顕微鏡像  
 A 外観汚染が認められるものの、菌が検出されなかったカテーテル  
 B 外観汚染がないにも拘らず、菌が検出 ( $1.72 \times 10^2$  cfu/ml) されたカテーテル  
 C 外観汚染が認められ、菌が多数検出 ( $3.36 \times 10^2$  cfu/ml) されたカテーテル

$\times 10^5$ と増加した。1分では $6.67 \times 10^5$ と減少しはじめ、3分、5分ではそれぞれ $3.94 \times 10^5$ 、 $2.21 \times 10^5$ 、10分では $1.42 \times 10^5$ と減少を認めた(図1)。

一方、攪拌法による平均生菌数(cfu/ml)は、処理時間が0.5分で $7.68 \times 10^5$ のピーク値を示したものの、1分では $6.61 \times 10^5$ 、3分、5分では $6.66 \times 10^5$ 、 $6.10 \times 10^5$ 、10分では $6.89 \times 10^5$ の値であり、超音波法に比して減少しなかった(図1)。

## 2. 在宅療養患者に使用したカテーテルを用いての検討

3本のカテーテルA、B、Cそれぞれ2cm分から攪拌法により生食中に解離された平均生菌数(cfu/ml)は、カテーテルAは0、カテーテルBは $1.72 \times 10^2$ 、カテーテルCは $3.36 \times 10^2$ であった。外観に汚染を認めたが生菌が検出されなかったカテーテルAは、電顕観察においても多くの付着物を認めたが細菌は存在しなかった(図2-A)。カテーテルBは外観の汚染は認めないが生菌が検出され、電顕観察で短桿菌の細菌が部分的に存在していた(図2-B)。カテーテルCは外観に汚染を認めるとともに生菌が検出され、電顕観察で重層化した付着物と球菌および桿菌が散在し、一部集塊状の菌体が観察された(図2-C)。

## 考 察

物質表面の細菌汚染状況を検討する方法にはふき取り法、スタンプ法<sup>7,11)</sup>などがあるが、これらの方法ではカテーテル内側の付着菌を採取することは困

難である。そこでカテーテル付着菌を生食に生菌として解離する方法を検討した。まず、緑膿菌を用いた基礎実験において超音波法を試みたが、1分以上超音波処理を行うと生菌数の減少を認めた(図1)。本成績からカテーテル付着菌が死滅する可能性が示唆された。Jengら<sup>10)</sup>は20分間の超音波処理でも生菌数が減少しないという結果を示しているが、これは今回使用した緑膿菌とは異なる芽胞菌等を対象にした実験であり、細菌の種類やその特徴により、超音波処理の条件設定が必要であると考えられる。

次に、攪拌法を試みた結果、未処理(生菌数測定のための希釈時に数秒攪拌)の状態より0.5分攪拌すると生菌数は増加した。その後10分まで攪拌処理を試みたが生菌数の減少傾向は認められなかった。超音波法および攪拌法とも未処理(生菌数測定のための希釈時に数秒攪拌)の状態よりも0.5分の処理で生菌が最多数検出され、0.5分の処理が最適であることが明らかになった。

また、在宅療養患者が使用したカテーテルを電顕で観察することによりカテーテル表面に付着した細菌数の多少を判定した結果、画面上の細菌数の印象と生菌数には矛盾はなかった。このことから、カテーテル付着菌の解離には付着菌が死滅する可能性のある超音波処理を行う必要はないと考えた。ただし、電顕観察において、重層化した細菌の付着を認めたカテーテルも存在し、バイオフィームが形成されている可能性<sup>12)</sup>が考えられた。バイオフィーム形成菌の場合には、攪拌処理のみでそれぞれの菌を分散できないことから、実験方法の検討を重ねていく必要

性が示唆された。

### 結 論

1. カテーテル付着菌の解離に超音波法を用いた場合、処理時間が1分を経過すると生菌数は減少をはじめ経時的に減少傾向を示した。
2. カテーテル付着菌の解離に攪拌法を用いた場合、生菌数と電顕観察における画面上の細菌数の印象に矛盾はなかった。
3. 気管内吸引カテーテルに付着した一般細菌の生菌数測定方法として、生理食塩水に入れたカテーテルを0.5分攪拌する方法が有用であると考えられた。

### 謝 辞

カテーテルの収集にご協力頂いた訪問看護ステーション看護師の皆様にお礼を申し上げます。また電顕観察にご協力頂いた岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学、大野勝雄技術専門職員に深謝いたします。

なお、本研究は平成16年度厚生労働科学研究費補助金（H16-医療-014）による医療技術評価総合研究事業および文部科学省科学研究費補助金（基盤研究(C), H16-18年度, No.16592199）の助成を受けて行った。

### 文 献

- 1) Tablan, O. C., Anderson, L. J., Besser, R., Bridges, C., Hajjeh, R.: Guidelines for Preventing Health-Care-Associated Pneumonia, 5-11, Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee: 2003.
- 2) 日本看護協会：感染管理に関するガイドブック改訂版. 36-37, (社)日本看護協会：東京, 2004.
- 3) 逢坂範子：気管内吸引-吸引カテーテルの適正使用-。看護管理, 10(6)：446-450, 2000.
- 4) 渡邊久美, 菅崎仁美, 千田好子, 岡本 基：気管内吸引を必要とする在宅療養患者の感染管理の実態。岡山大学医学部保健学科紀要, 15(2)：63-69, 2005.
- 5) 尾家重治, 神谷 晃：気管内吸引チューブの微生物汚染とその対策。環境感染, 8(1)：15-18, 1993.
- 6) 堀勝 幸, 松沢資佳, 佐藤文恵, 牛山利昭, 矢島 明, 岡田政志：当院における消毒剤有効テストの試み-口腔内および気管内吸引チューブを中心に-。INFECTIO CONTROL, 10(12)：1262-1264, 2001.
- 7) 小森由美子, 赤澤知美, 森部初美, 荻野賀子, 劉 秀娥, 二改俊章：看護・在宅介護の現場における吸引カテーテルと消毒剤の取り扱いに関する指導マニュアルの検討。医療薬学, 28(5)：478-483, 2002.
- 8) 諏訪雅宣, 尾家重治, 神谷 晃：低濃度エタノールを添加した塩化ベンザルコニウムの殺菌効果。医学と薬学, 50(2)：179-181, 2003.
- 9) 梶浦 工, 和田英己, 佐藤隆一, 滝沢真紀：逆性石ケンA液0.1「ヨシダ」の有用性。医学と薬学, 51(5)：689-696, 2004.
- 10) Jeng, D. K., Lin, L. I., Hervey, L. V.: Importance of ultrasonication conditions in recovery of microbial contamination from material surfaces. Journal of Applied Bacteriology, 68:479-484, 1990.
- 11) 村井貞子：「在宅看護における感染予防に関する指針」作成の基礎的研究。看護管理, 6(11)：827-833, 1996.
- 12) 狩山玲子, 公文裕巳：生体のバイオフィーム。ミュータンスレンサ球菌の臨床生物学（花田信弘監），2-26, クインテッセンス出版：東京, 2003.

## Study on the method to quantify viable bacterial cells on the surface of endotracheal suction catheters

Masako INUKAI, Kayo NOMURA, Kumi WATANABE, Yoshiko SENDA,  
Ritsuko MITSUHATA<sup>1)</sup> and Reiko KARIYAMA<sup>1)</sup>

### Abstract

As a method for the detection of viable bacteria attached to endotracheal suction catheters, we evaluated sonication and dissociation using a tube mixer. The catheter fragments with *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 were treated by each of the two methods, and viable cells in the elutions were counted. The highest number of viable cells was observed at 0.5 min by either method. The viable cell count decreased when the sonication time exceeded 1 min, while only a slight decrease of viable cells was observed by using a tube mixer. The catheters used for patients receiving care at home were fragmented and treated by a tube mixer to detach bacteria, and viable cells were counted. Electron microscopy observation showed an association between the viable cell count and morphology of surfaces of the catheters. These results suggest that adequate removal of bacteria attached to endotracheal suction catheters is possible by agitating catheter fragments for 0.5 min in physiological saline using a tube mixer.

---

**Key Words**: Endotracheal suction catheter, removal of attached bacteria, viable cell counts, microbiological evaluation, morphological evaluation

---

Department of Nursing, Faculty of Health Sciences, Okayama University Medical School

1) Department of Urology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences