

46 透析液清浄化の現状

—培養条件が細菌の発育に及ぼす影響の基礎的検討—

佐久市立国保浅間総合病院

血液透析室*1 高橋修司*1 田島 翼*1 小須田真也*1 箕輪英俊*1

同臨床検査科*2 小林 訓*2

同泌尿器科*3 狩野 臨*3 新屋博之*3

はじめに

ISO で透析液水質管理に関する国際基準が審議されているなか、日本臨床工学技士会の清浄化ガイドラインが、Ver.1.06 (DRAFT) に更新された。そのなかで、「培養温度は 20～25℃、または 30～35℃のいずれかで、検出率が高い方とする」と改訂された。当院において、ET 値・細菌数共に **Ultrapure dialysis fluid** の基準は達成されている。今回、培養条件が細菌の発育に及ぼす影響の検討を行ったので報告する。

対象および方法

1. サンプル資料

RO 水配管、多人数用供給装置、多人数用監視装置、個人用透析装置、以上の 4 ヶ所にて行った。

2. 細菌培養方法

培養方法は MF 法、日本ポール 37mm クオリティーモニター、孔径 0.45 μm とし、TGE 液体培地にて行い、培養温度は 25℃ (室温管理下)・35℃ (インキュベーター) で 7 日間培養とした。サンプル量は 50mL・1000mL とした。50mL はシリンジにて濾過、1000mL は on-line 用のポンプと回路を用い、回路先端をクオリティーモニターに接続し、濾過速

度はメーカー保障 15L/h の範囲内である 12L/h にて濾過した。尚、同定方法として ID テスト・NF-18 (日水製薬株式会社) にて行った。

水処理装置・透析液供給システム系統図

当院の水処理装置・透析液供給システム系統図 (図 1) を示す。RO タンク出口と、RO 水ループ配管の戻り口に UF フィルターを設置し、毎週土曜日に RO タンク内及び RO 水ラインの薬液洗浄を行っている。供給ポンプと RO タンクにバイパスラインを設置し、このルートから薬液注入を行っている。洗浄には ECO-200 を 30ppm にて希釈し RO 水システムの消毒を行っている。透析液供給システムにおいては、自動溶解装置 DAD50 (日機装社製) を導入し、汚染の原因として考えられていた開放系で行う原液の製造工程を、密閉系にすることにより汚染源を最大限削除した¹⁾。配管システムとしては RO 水ラインも含め PVDF 配管を用いた、ループ式とし、ETRF 循環ユニットを設けた。洗浄剤は ECO-200 とサンフリー-L を用いている。

高橋 修司 佐久市立国保浅間総合病院 血液透析室

〒385-8558 佐久市岩村田 1862-1

TEL 0267-67-2295

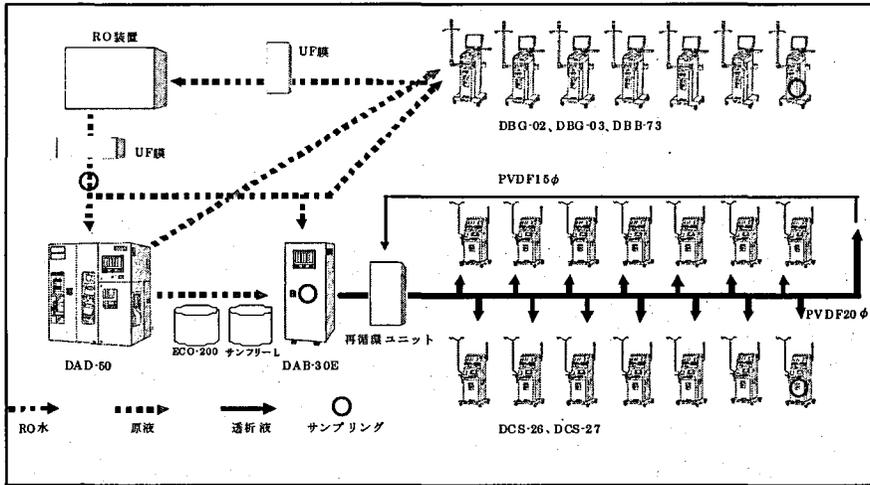


図1 水処理装置・透析液供給システム系統図

清浄化の現状

ET 値・細菌数 (図 2) を示す。ET 値・細菌数共に透析液 PVDF 配管上、多人数用透析装置、個人用透析装置においては検出感度以下を維持している。RO 水配管で突発的な高値が見られた。サンプルポートの汚染を疑い、交換後細菌数は低値に戻った。検出された菌は、ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌 (non glucose fermentative gram negative rods : NFR) と糸状菌が検出された。

結果

培養結果 (表 1) を示す。多人数用供給装置のみ全ての条件下で検出された。その他のサンプル資料からは 1 サンプルから糸状菌が検出されたが、それ以外のサンプル資料からは検出されなかった。多人数用供給装置から検出された細菌は、ほぼ全て NFR (属名同定不能) であり、一部のサンプル資料から *P.picketti*、*S.parapaucimobilis* が同定された。

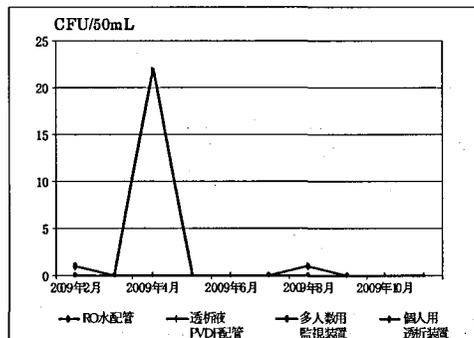
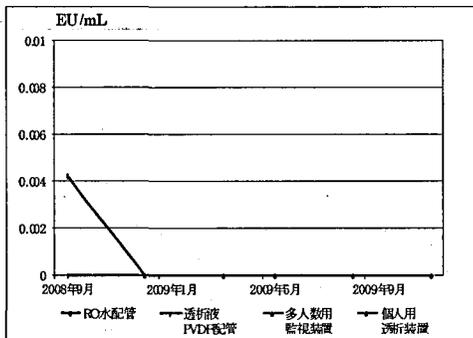


図2 ET値・細菌数

多人数用供給装置のみ細菌が検出されたため、サンプル量に 100mL・500mL を加えた結果 (表 2) を示す。全ての条件下で、平均 0.1CFU/mL であった。

各温度培養における、50mL サンプル 7 日間の培養経過 (図 3) を示す。25°C では 2 日目以降のコロニー形成に対し、35°C ではほぼ全てにおいて 1 日目からコロニー形成が確認された。2 日目の細菌数は 25°C で平均 3.6CFU/mL、7 日目平均 8.0CFU/mL の 45% に対し、35°C では平均 6.0CFU/mL で 7 日目平均 7.9CFU/mL の 75% という経過であった。

各温度培養間における相関 (図 4) を示す。相関係数 0.9143 と高い正の相関が認められた。

考察

培養温度による細菌数への影響は、両者で認められなかった。相関係数 0.9143 と高い相関関係にあったため、同等であると考えられた。コロニー形成の経過より、35°C では 1 日目からコロニー形成が確認された。従属栄養細菌の培養には低温で長時間の培養が必要とされているが、今回の検討では 35°C 培養 2 日目で 7 日目の 75% という結果が得られた。佐々木ら²⁾ の報告でも、培養温度の影響を受けにくい菌種として、*Pseudomonas* 属が代表的に挙げられている。*Pseudomonas* 属は、水道水を始め透析液由来の代表的な細菌とされており、このことから 35°C 培養ではより短時間で 7 日間培養に近い細菌数が確認出来ると考えら

表 1 検査結果

	25°C		35°C	
	50 mL	100 mL	50 mL	100 mL
ROライン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	N.D.	1CFU	N.D.	N.D.
多人数用供給装置	9CFU (0.18CFU/mL)	91 (0.69)	3 (0.06)	85 (0.69)
	7 (0.14)	152 (0.15)	10 (0.2)	156 (0.16)
	5 (0.1)	70 (0.07)	7 (0.14)	55 (0.05)
多人数用監視装置	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
個人用透析装置	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

表 2 多人数用供給装置培養結果

50mL	25°C			35°C			
	100mL	500mL	1000mL	50mL	100mL	500mL	1000mL
9CFU (0.18CFU/mL)	12 (0.12)	55 (0.11)	90 (0.09)	3 (0.06)	12 (0.12)	85 (0.17)	105 (0.11)
4 (0.08)	5 (0.05)	43 (0.09)	110 (0.11)	7 (0.14)	10 (0.1)	48 (0.1)	110 (0.11)
7 (0.14)	5 (0.05)	45 (0.09)	105 (0.11)	10 (0.2)	11 (0.11)	54 (0.11)	95 (0.1)
8 (0.16)	8 (0.08)	38 (0.08)	70 (0.07)	9 (0.18)	6 (0.06)	41 (0.08)	54 (0.05)
7 (0.14)	6 (0.06)	32 (0.06)	62 (0.06)	2 (0.04)	6 (0.06)	46 (0.09)	55 (0.06)
7 (0.14)	9 (0.09)	62 (0.12)	65 (0.07)	6 (0.12)	15 (0.15)	60 (0.12)	35 (0.04)
4 (0.08)	12 (0.12)	71 (0.14)	55 (0.06)	5 (0.1)	9 (0.09)	60 (0.12)	48 (0.05)
2 (0.04)	10 (0.1)	28 (0.06)	165 (0.17)	4 (0.08)	8 (0.08)	25 (0.05)	155 (0.16)
5 (0.1)	8 (0.08)	27 (0.05)	140 (0.14)	7 (0.14)	8 (0.08)	25 (0.05)	120 (0.12)

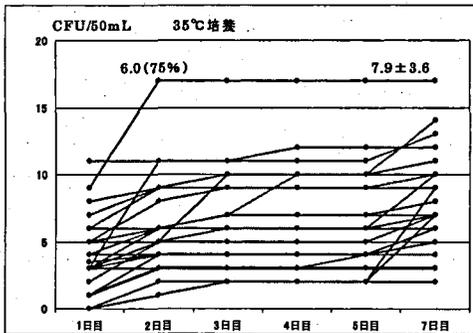
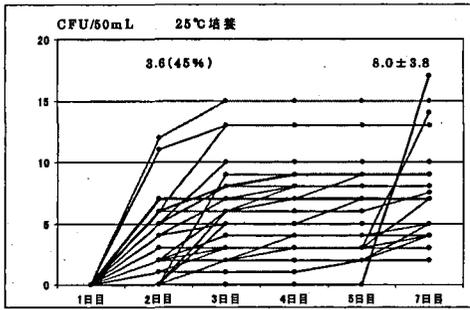


図3 7日間の培養経過

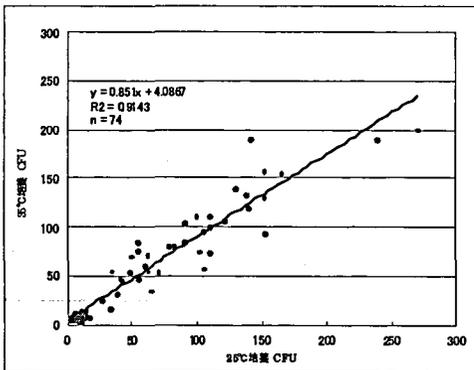


図4 各温度培養間における相関

れた。

サンプル量による細菌数への影響は、少量より多量サンプルのほうが高い信頼度を得られると推測したが、サンプル量辺りの細菌数では逆の現象も確認された³⁾。これは細菌同

士の干渉による可能性や、細菌数が多すぎる事によって肉眼での計測に影響を及ぼしていると考えられた。通常MF法は10~100CFUの範囲での測定が良いとされている⁴⁾。10CFU未滿ではバラつきが大きく信頼性に欠け、100CFU以上では細菌同士の干渉が発生するとされているが、37mmでは50CFU近辺での測定が良いと考えられた。100CFU近辺では、細菌同士の干渉が見受けられた。今回の結果で、多人数用供給装置のみの細菌数からすると、50mLより100mLサンプルのほうが良いとも思われたが、他のサンプル資料の結果からは1000mLサンプルでも細菌は検出されておらず、日常の細菌検査では50mLサンプルで十分であると考えられた。

結語

当院においては、35°C培養50mLサンプルが至適条件と考えられるが、各施設の至適条件は異なるため、検証は必要である。培養日数も今後は4日間に変更し、より早い期間で清浄化の指標とし、臨床で用いることで、高純度の透析液を提供し続けることが可能であるとする。

文献

- 1) 高橋延行、他：透析液清浄化8年間の取り組みと成果。腎と透析65別冊 HDF 療法 '08：166-173。2008
- 2) 佐々木次雄、他：平成15年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告 -製薬用水中の微生物評価培地“R2A 培地”に関する研究- 医薬品研究35別刷：638-652。2004
- 3) 山本乃之、他：透析用水および透析液の清浄化評価における微生物試験法の基礎的検討。腎と透析65別冊 HDF 療法 '08：128-133。2008
- 4) 南條正仁：細菌検出法の基礎知識と実際 I。透析液管理責任者セミナーテキスト：51-60