

24 透析液水質管理における細菌培養の有用性

長野赤十字病院 臨床工学課 ○渡辺誠 塚田博久 大木政文 櫻井聖崇 山岸哲也

監物大介 白沢忠敏 木村良雄 阿部秀次

同腎臓内科 市川透 出浦正 徳永真一

【目的】

当院透析室ではこれまで週1回のエンドトキシン(以下ET)測定により、透析液の水質管理を行ってきた。今回初めて細菌培養検査に着手し、透析液清浄化の指標としてR2A培地による細菌培養と、マイクロバイオ社製簡易細菌培養キット センシメディアによる細菌培養の2方法をET測定¹⁾と併用することの有用性を検討したので報告する。

【R2A培地とセンシメディアとは】

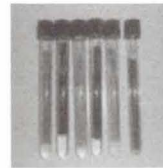
R2A培地とは、標準寒天培地のような高濃度有機栄養を含む培地では増殖し難いとされる従属栄養細菌(有機栄養物を比較的低濃度含む培地を用いて長時間培養した時、培地に集落を形成する全ての菌)でも、集落を形成し易い様に有機栄養濃度を低値にした低栄養寒天培地である。

センシメディアとは、R2A培地と同組成の液体培地と二酸化炭素ガス反応性センサーを封入した試験管タイプの培地である。生菌が増殖する代謝過程で発生する二酸化炭素が、袋状のガス透過膜に吸着すると呈色反応を示す(図-1)。



R2A培地とは・・・

標準寒天培地と同組成だが、有機栄養濃度を低値とした寒天培地。従属栄養細菌が増殖され易いとされている。



センシメディアとは・・・

R2A培地と同組成の液体と、CO₂センサーが封入された試験管。生菌が増殖する代謝過程で発生するCO₂に反応して呈色反応を示す液体培地。

図-1 R2A培地とセンシメディア

【対象】

当院透析室で使用している全51台の透析装置より、多人数用患者監視装置2機種8台、個人用透析装置2機種8台の計16台に対し、エンドトキシンカットフィルター(以下ETCF)透析液流入前後の2ヵ所、計32ヵ所より透析液の採取を行った(日機装社製透析コンソールDGB-01... (個人用透析装置)4台、DCS-26... (多人数用患者監視装置)4台、JMS社製透析コンソールGC-200/210... (多人数用患者監視装置)4台、東レ社製透析コンソールTR-322... (個人用透析装置)4台)。

渡辺 誠 長野赤十字病院 臨床工学課

〒380-8582 長野市若里5-22-1 TEL026(226)4131

【方法】

細菌培養は竹澤ら²⁾の方法に準じ、当院透析室の培養方法で行い、検体採取は透析開始前に行った。検体を採取する前に、R2A培地の培養場所となるレターケースをアルコールで十分消毒した。

R2A培地の培地乾燥は3時間とし、培地準備を行った各検体採取カ所のETCF透析液流入前後のシリコンチューブラインをアルコール消毒し、滅菌クーパーで切断した。切断したラインより透析液で15分間洗い流してから検体を滅菌済み試験管に採取した。

検体採取量は10mLとし、1000 μ Lのマイクロピペットを用いてR2A培地に直接塗抹法にて2mLを塗布し、レターケース内で吸収・培養。センシメディアに6mLを封入した。

同時にET測定を行なった。R2A培地は1週間、センシメディアは2週間の細菌培養を平均室温2

7℃で行い判定した。以上の方法により期間を空け細菌培養を3回行った。

【結果】

3回の培養結果、全96検体中より多人数用患者監視装置5台、個人用透析装置6台、計11台で培養結果より陽性反応を認めた(表)。

ET値はETCF前で平均1.023EU/Lであった。

ETCF後は全検体で測定感度以下であった。

センシメディアでは、ETCF前4カ所で陽性反応を認めた。ETCF後では陽性反応を認めなかった。

R2A培地では、ETCF前6カ所、ETCF後3カ所で陽性反応を認めた。

一部検体にて同定を行い、グラム陰性桿菌・陽性桿菌と認められた。

(表 透析液水質検査 ～陽性所見を認めた検体～)

個：個人用透析装置、多：多人数用患者監視装置

<結果>		ET値		センシメディア		R2A培地		同定結果
採取番号	機種	ETCF前	ETCF後	ETCF前	ETCF後	ETCF前	ETCF後	
2-1	(個)	2.451	<1.00	(-)	(-)	(+)	(+)	グラム陰性・陽性桿菌
3-4	(個)	1.721	<1.00	(+)	(-)	(-)	(-)	
1-11	(多)	<1.00	<1.00	(+)	(-)	(-)	(-)	
1-16	(個)	<1.00	<1.00	(+)	(-)	(-)	(-)	
1-7	(多)	<1.00	<1.00	(-)	(-)	(+)	(-)	グラム陰性桿菌
1-10	(多)	<1.00	<1.00	(-)	(-)	(-)	(+)	グラム陰性桿菌
2-14	(個)	<1.00	<1.00	(-)	(-)	(+)	(-)	
2-15	(個)	<1.00	<1.00	(-)	(-)	(-)	(+)	カビ
3-7	(多)	<1.00	<1.00	(-)	(-)	(+)	(-)	
3-11	(多)	<1.00	<1.00	(-)	(-)	(+)	(-)	
2-3	(個)	<1.00	<1.00	(+)	(-)	(+)	(-)	

【考察】

今回の細菌培養検査方法では、R2A培地とセンシメディアで培養結果に違いが見られた。少量採取の検体による細菌培養では生菌混入にバラツキが生じ易く、安定した結果が得られなかったと推測される。安定した結果を得ようとするとき、採取する検体量を増やし、濾過濃縮をして培養を行う「メンブレンフィルター法」に基づいた細菌培養法を行うことが有効的だと考えられる。

AAMI (The Association for The Advancement of Medical Instrumentation) が定める基準³⁾は「透析を構築するシステムとしての指標」であり、医療機関が立証する必要性は無く、医療機関・医療施設として行わなければならない事は配管ラインや消毒方法において評価を得る事ではないかと考えられている。

On-Line HDF補充液に使われる注入用透析液の生菌数 10^{-6} CFU/mL以下を実サンプルで直接証明することは技術的に困難で、ISO案でも実液での証明ではなくシステムとして論理的に検証することを求めている。

結果よりET値が測定感度以下であった数検体でR2A培地およびセンシメディアで陽性を示した。R2A培地に発育したコロニーの同定結果よりグラム陰性・陽性桿菌が確認された。

ET値から見るとETCF前後で測定値に大きな差は無かった。ET値が測定感度以下であっても数検体の細菌培養陽性培地において同定検査を行うと、グラム陰性桿菌・陽性桿菌と確認されている。このことから従属栄養細菌の存在とET値の間に相関性は無い⁴⁾と考えられる。

R2A培地を用いて培養を行っているとき、培地の染色・検鏡による菌の同定が必要と考える。

配管ラインにおける消毒が効果的に作用しETCF前のET値が測定感度以下である場合、ETCF後の透析液は清浄化されていると評価できる。透析

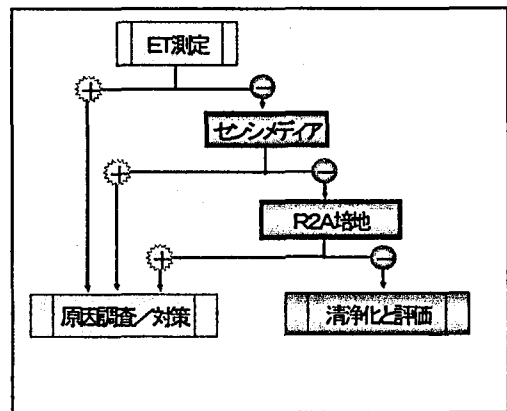
用原水においてET値が低値である場合には、RO膜のリークや夜間帯における配管ラインの消毒液停滞が無い場合に生菌が存在する可能性が高いとされている。

ETCF後に陽性反応を示したものは検体採取過程・培養過程での環境菌混入による二次汚染の可能性が高いと考えられ、汚染を起こさないサンプリング方法の習得、細菌培養技術の習得が必要である。

R2A培地は判定に1週間、センシメディアは2週間に要したが、センシメディアはR2A培地に比べより簡易的に細菌培養が行えた。判定までの時間と培養の簡易性に応じ、R2A培地とセンシメディアによる培養を使い分ける事が適当だと考える。

当院透析室に置いてはET測定、センシメディア、R2A培地による培養を透析液水質管理において図(図一2)のような位置付けとして考えた。

透析液清浄化の評価・信頼性を高める為に3つの方法を併用している。いずれの場合であっても反応が確認された場合、原因の調査・対策を行う。



図一2 当院における透析液水質管理

【まとめ】

ET値が測定感度以下であっても細菌培養結果より透析液中には従属栄養細菌の存在が確認された。

ET測定に細菌培養検査を併用することで、より信頼性のある透析液の水質管理と評価が行えた。

国内ではJSDT（日本透析医学会）による細菌培養の基準が明確に示されていない為、今後のガイドライン・指針の動向に注意が必要である。

【参考文献】

- 1) 坂下恵一郎：より正確なエンドトキシン測定値の求め方。透析液エンドトキシンがよくわかる本：125 - 134, 1995
- 2) 竹澤真吾ほか：全ての透析質に置いて細菌コントロールは可能か。腎と透析 59 別冊 HDF 療法 '05 : 55 - 57, 2005
- 3) ANSI/AAMI D52 : 2004, Dialysate for hemodialysis, AAMI, VA USA, 2004
- 4) 佐々木雅敏：透析液供給ライン内の細菌培養法と ET 濃度との相関性についての検討。透析会誌 38 : 759, 2005