

## 17 透析液清浄化に向けて —臨床工学室で行える生菌数試験の実際—

国保依田窪病院 臨床工学科 小林 佐和子 原田 一陽 小杉 修太 荻原 敬弘 丸山 奈々  
同腎臓内科 山浦 修一

### 目的

1. 試料 1ml におけるメンブランフィルター法 (以下 MF 法) と直接塗布法の差およびコスト面での比較
2. 資料を MF 法において 1ml, 10ml, 100ml, 1000ml をろ過し、ろ過量の違いによる菌の現れ方及び菌数の比較
3. 目視、3 倍拡大鏡、20 倍実体顕微鏡に生菌数の比較

### 方法

採取試料は、IVH 用無菌バックを用い、培養方法は、直接塗布法では R2A 培地に試料 1ml を直接塗布し、MF 法においては、ナルジェヌンク製ナルゲン 130 分析フィルターユニット 0.45  $\mu\text{m}$  で試料 1ml, 10ml, 100ml, 1000ml をろ過し、各々 27°C で 7 日間培養した。

なお、MF 法において、1, 10ml は希釈が必要のため RO 水は注射用蒸留水、透析液は生理食塩水を用いた。

### 結果 1 直接塗布法と MF 法の比較

(表 1 参照) 直接塗布法においては、1 検体 1ml 塗布でコスト 233 円・作業時間 2 分、MF 法では、1 検体を 1ml, 10ml, 100ml, 1000ml の 4 種の試験を行った合計金額 5511 円・合計作業時間は 90 分であった。

	コスト	作業時間
直接塗布法	233 円	2 分
MF 法 (4 種類)	5,511 円	90 分
差	5,478 円	88 分

※ MF 法は試料 1 検体につき各 4 種類  
1ml / 10ml / 100ml / 1000ml

表 1) コストパフォーマンス

次に MF 法 1000ml ろ過において生菌の検出があった 13 検体中 MF 法 1ml ろ過では 8 検体、直接塗布法では 6 検体生菌が検出された。なお、直接塗布法のみで生菌の検出されたものはなかった。(図 1 参照)

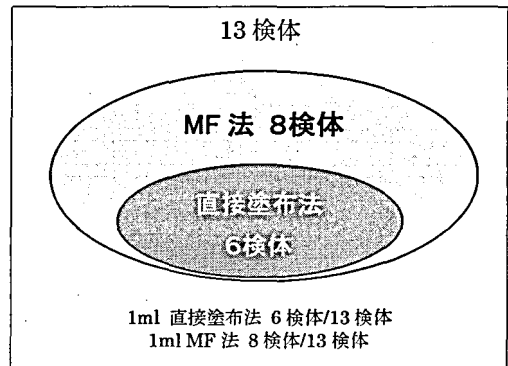


図 1) 検体 1ml における MF 法と直接塗布法

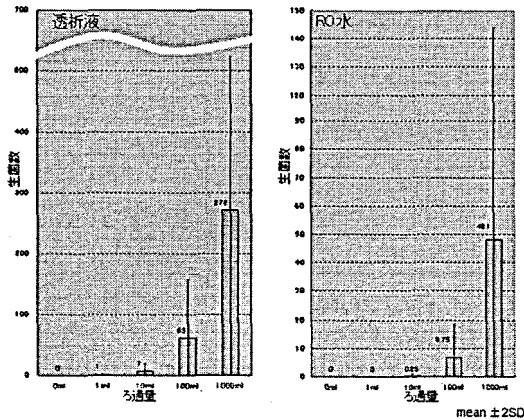
### 結果 2 MF 法におけるろ過量と菌数

(グラフ 1 参照) RO 水については、ろ過量 10ml まででは検出されないものが多く、ろ過量 100ml, 1000ml で菌が現れ、相関性が見られた。また当院の ETRF 前透析液では、ろ過量 100ml まででは相関性が見られたものの、ろ過量

小林 佐和子 国保依田窪病院 臨床工学科

〒386-0636 小県郡長和町古町 2857 Ⅱ(0268)68-2036

1000ml では、菌数の相関性が見られなかった。



グラフ1) ろ過量と生菌数の相関性

**結果3 目視および3倍拡大鏡・20倍実体顕微鏡を使用しての菌数カウント**

(表2参照)菌数が少ないときはバラツキは見られなかったが、菌数が100前後になるとバラツキが見られた。

RO水

	1ml 塗布	1ml MF法	10ml MF法	100ml MF法	1000ml MF法
目視	0	0	0	1	8
3倍 拡大鏡	0	0	0	1	8
20倍実体 顕微鏡	0	0	0	1	7

pre ETRF 透析液

	1ml 塗布	1ml MF法	10ml MF法	100ml MF法	1000ml MF法
目視	0	1	1	10	108
3倍 拡大鏡	0	1	1	10	161
20倍実体 顕微鏡	0	1	1	10	96

表2) 3種の方法での菌数カウントの結果

**考察**

直接塗布法とMF法の比較では、直接塗布法ではコスト的なメリットはあるものの、菌の有無を見るためのものであり、清浄化の評価の基準にはなり得ず、今回の実験においても、0cfu/mlと0cfu/1000mlの意味は全く違うものとするため、 $0 \times 10^{-3}$ cfu/ml というろ過量の表記は重要

である。

拡大鏡や実体顕微鏡では、菌の個数には大差が見られず、作業が煩雑になり、目の疲れ等を考えると必要ないと思われる。

当院の ETRF 前透析液において、100ml,1000ml の生菌数に相関性が見られないことより、コロニーカウントについてイメージ化してみると、コロニー数10~100個までは十分観察が可能だったが、コロニー数200個では図2のようになり飽和状態になり、これ以上になるとコロニー数のカウントが非常に困難となる。

目視によるカウントの正確性及び、生菌のコロニー形成への影響を考慮すると、有効直径45mmのシートでは菌数200(12cfu/cm<sup>2</sup>)までが限界であると考えられる。

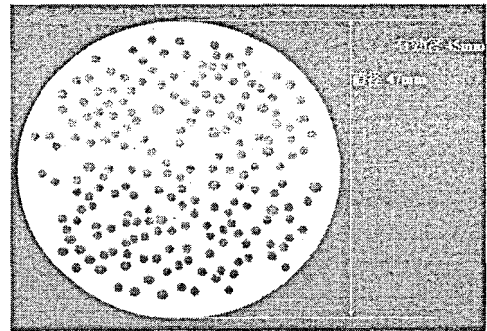


図2) 200コロニーの場合(イメージ図)

**まとめ**

今回の実験において(図3参照)、比較的汚染度が高いもの(線A)および比較的汚染度が低いもの(線B)の2種類のパターンが考えられた。

Aにおいては、途中まで生菌数とろ過量は相関しているが、ある一定量を超えると目視による生菌カウントが困難になる。その理由としてメンブレンフィルターの有効面積の限界と、菌の密度の上昇による発育阻害、人間による測定限界が考えられる。

Bにおいては、臨床工芸室でろ過可能な試料の限界量(当院においては1000ml)に達する。この

2 点から細菌の汚染度により試料の最適ろ過量を検討しなくてはならないと考える。

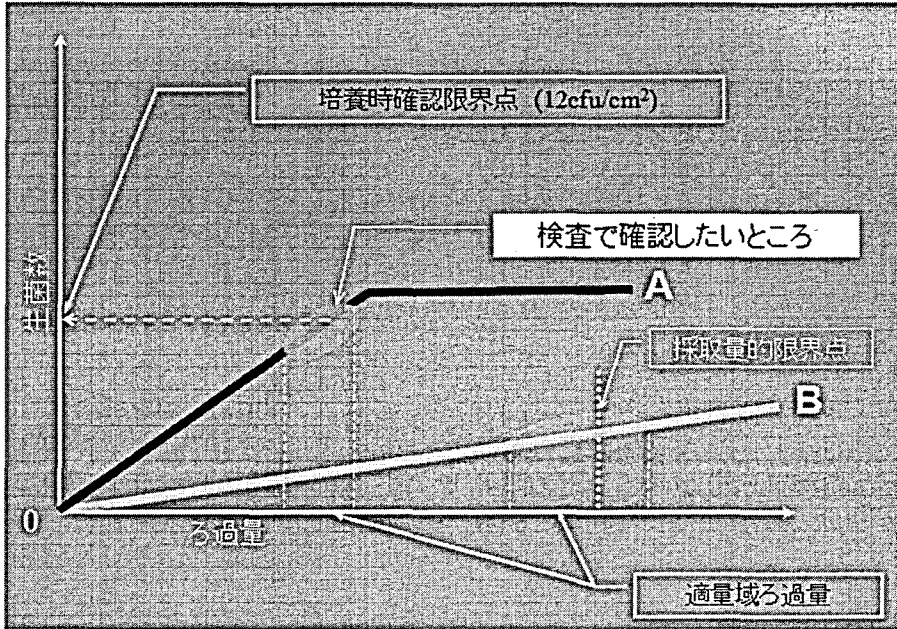


図 3)

最後に MF 法において生菌数検査を行う際には、まず試料採取場所ごとのろ過量の検討をおすすめする。