

# 血液透析療法における透 析液清浄化対策 ～ ET 濃度から 細菌数管理まで ～

砂子澤 裕、竹澤 真吾  
九州保健福祉大学、保健科学部  
臨床工学科

キーワード：透析液エンドトキシン、水質  
管理、ライン管理、細菌数測定

## はじめに

近年、透析液清浄化対策として様々な対策が取られ、基礎的検討が実施されている。エンドトキシン（以下、ET）分析の普及により透析液の水質は劇的に向上し、長期透析患者の合併症は軽減してきたが、現在の血液透析療法は、大孔径膜が主流となり、透析液中の汚染物質が、逆濾過・逆拡散により血液側へ流入し患者へ悪影響を与えていることは事実となっている<sup>1-3)</sup>。しかし、透析液ラインを無菌的に維持することは不可能であり、いかにして菌の繁殖を抑え、的確に把握するかが重要なポイントである。また、ET 値と臨床症状が必ずしも相関せず、透析液 ET 由来の合併症も危惧されており、水質管理方法の見直しの時期にさしかかっている。そこで今回、透析液清浄化対策の現況について述べる。

## 透析液水質管理基準<sup>4-6)</sup>

透析合併症の一つである透析アミロイドーシスの前駆物質が  $\beta_2$ -ミクログロブリン

であることが発見されて以来、低分子タンパクの除去性能を向上させるため、大孔径透析膜の開発が積極的に行われている。また、透析療法も多様化し大量液置換、on-line HDF、push& pull HDF などが施行されてきたが、その一方で膜孔径の拡大にともない ET をはじめとする透析液中の汚染物質が逆濾過、逆拡散により生体内に流入することが危惧されている。

これらの背景により、1994 年、九州 HDF 研究会において透析液水質管理基準が提唱されて以来、数々の変遷をたどってきた(表 1)。

表 1 透析液水質管理基準の変遷

	九州 HDF 研究会 (1994 年)	JSDT (1995 年)	JSDT (1998 年)	JSDT (2001 年)	JSDT 案 (2004 年)
透析液 ET 濃度					
最大許容濃度	50EU/l 未満	250EU/l 未満	-	50EU/l 未満	50EU/l 未満
達成目標濃度	10EU/l 未満	100EU/l 未満	-	10EU/l 未満	検出感度以下
バクテリア数	規定なし	100CFU/ml 未満	-	規定なし	規定なし
置換液 ET 濃度					
許容濃度	1EU/l 未満	-	1EU/l 未満	-	-
バクテリア数	規定なし	-	10 <sup>4</sup> CFU/ml 未満	-	-

2001 年日本透析医学会では透析液水質管理基準の低減化が提案され、ET 濃度の最大許容量がそれまでの 250EU/l 未満から 50EU/l 未満、達成目標濃度が 100EU/l 未満から 10EU/l 未満へと引き下げられ、かなり厳しいものとなった。さらに、2004 年日本透析医学会コンセンサスカンファレンスにおいて ET 濃度が検出感度以下であっても細菌培養により菌が検出するとの報告があり、ET 濃度の最大許容量を現状維持の 50EU/l 未満、達成目標濃度を検出感度以下と定めた。

AAMI (表 2) ISO<sup>7)</sup>等国際基準が見直されている現状を考慮し、国内においても ET 汚染レベルと細菌培養の実態について早急に管理基準の策定を行う必要がある。

表2 AAMI(American Association of Medical Instrumentation)基準

透析液
ET濃度: 30EU/1未満 (アメリカでの検出下限未満)
細菌数: 0.1CFU/ml未満
置換液
ET濃度: 30EU/1未満 (アメリカでの検出下限未満)
細菌数: 10 <sup>-3</sup> CFU/ml未満
通常の透析液 (日本では適応外) は
ET濃度
最大許容濃度: 2000EU/1未満
通常管理濃度: 1000EU/1未満
細菌数
最大許容値: 200CFU/ml未満
通常管理値: 50CFU/ml未満
通常管理濃度 (action level) を超えた状態では再検査・殺菌洗浄を要する

## 全国透析施設水質調査

前任校の鈴鹿医療科学大学を拠点とし、2001、2002年に第8回日本HDF研究会プロジェクトとして、全国透析施設における水質管理の実態をETをマーカーとし調査を行った。日本透析医会、臨床工学技士会協力のもと、選定された透析施設88施設において、原水、RO水、末端透析液3ヶ所において安定化剤入り容器にてサンプリング後、直ちに冷蔵宅配便にて大学に搬入後、トキシノメーターMT358(和光純薬工業)を用い、比濁時間分析法(LAL法)にてエンドトキシン値による水質評価を実施した。また、アンケート方式により、各透析施設におけるエンドトキシンカットフィルター(ETCF)の使用状況、使用水系、ROモジュール調査も同時に行った。結果として、各臨床工学技士会に所属し、水質管理を徹底している施設のET濃度は比較的低域にあることが判明した。しかし、ET濃度が高値を示す透析液を使用している施設も多数存在し、学会等においてもかなりの反響があり、社会的貢献面から見ても極めて有意な成果が得られた。

## 細菌数測定法

### 1. 直接法

培地をあらかじめ乾燥させ、検体1~2mlをそのまま塗布し、2週間培養する簡単な方法である。数種類の培地を用いた細菌培養結果においては、すべての培地においてコロニーが形成されており、どの培地が最適であると断定はできないが、決められた

検体中の菌を正確に塗抹できる方法だと考えられる。問題点として、培地の乾燥に時間を要する、培地に検体が吸収されない、検体量が多いためコンタミネーションが多いなどが挙げられる。

国際的にみると、AAMIではTSA培地を推奨し、またLedebor<sup>8)</sup>らはTGEA培地が水槽菌培養に最適であり、次いでR<sub>2</sub>A培地であるとの見解をしており、日本においても培養方法を決定する必要がある。

### 2. 遠心法

検体10mlを3000~3500rpm, 20~30分遠心し、細菌を専用試験管の底に沈め、その後、振動させないように、上清を透析穿刺針とシリンジで除去し約0.5ml残し、攪拌後、残量0.5mlを吸い取り、直ちに培地に塗布し、室温で1~2週間培養後細菌数を測定する臨床検査領域でよく実施される方法である。

透析施設では3000rpm程度の遠心器であること、菌の種類が多岐にわたり不明であることから、遠心法では菌が沈まず不向きであり、60分の遠心法も実施したが菌の浮遊状態は変わらなかった。また、他の問題点として検体10ml中の菌が全量培地に移っているかどうか、手技時にシリンジ内や専用試験管に残留する可能性が考えられる。

### 3. 膜濾過法

市販の濾過キット(ナルゲン130分析濾過キット)を用い、RO水あるいは透析液を150ml無菌的に濾過し、膜自体を培養する方法で、培地にはR<sub>2</sub>A培地を使用した。手技等は全てクリーンベンチ内で施行したが一部カビが検出していた。濾過後の濾過水にはコロニーは検出されていなかったため、膜自体に菌が完全に捕捉されていることがわかる。しかし、多くの透析施設では、クリーンベンチ等を用い、無菌的に手技を

行える施設が少ないため、今後どの程度コンタミネーションが予想されるのかを把握しなければならない。

### おわりに

ET 測定はグラム陰性菌のみしか検出できないが、水道水中や透析液中の菌を分析すると必ずしもグラム陰性菌のみとはいえず、グラム陽性菌についても考慮する必要がある。ET 濃度分析は引き続き必要だが、併せて菌の培養など他の方法も考慮する必要がある。施設によっては細菌汚染を見逃すこともある。よって ET 濃度分析とともに培地を用いた菌体数の確認も不可欠といえる。しかし、菌の培養には選択培地、発育環境の温度、湿度等、多くの技術を要し、通常の検査法とするには問題が残っている。また、サンプリングの相違により測定結果が異なるため、RO 水や透析液に最も適した方法を定めることが困難である。

現時点での結論として、細菌数が 10CFU / ml 以上の場合には寒天培地上へ直接 1ml 塗布し、室温で 2 週間培養、それ以下の場合には膜濾過法による細菌の捕捉、培養が適していると考えられる。膜濾過法によるコンタミネーションの影響および今後数リッターの透析液を簡便かつ無菌的に採取する工夫やその無菌濾過方法の確立、培地および培養条件の統一など多くの施設における試行錯誤が必要と思われる。また、透析液清浄化においては各透析施設の自主性に委ねられるが、臨床現場で実際に管理するスタッフの意識、認識は重要である。将来的な視野を踏まえ国際的に比較検討を行えるよう、わが国でも ET 水質管理基準と同様に細菌数測定を含めた標準化法を作成するなど、透析液クリーン化システムを構築することが望まれる。

### 参考文献

1 ) Pacitti A, Tetta C, Mangiarotti G, et

al: Beta-2-microglobulin serum profiles in different settings of mass transport and fluid pyrogen content. *Kidney Int Suppl* 41: S96-99 (1993)

2 ) Urena, P., Herbelin, A., Zingraff, J., et al.: Permeability of cellulosic and non-cellulosic membranes to endotoxin subunits and cytokine production during in-vitro hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 7, pp. 16-28, 1992.

3 ) David, S., Tetta, C., Canino, F., et al.: Production of platelet activating factor by human neutrophils after backfiltration of endotoxin contaminated dialysate. *ASAIO J* 39, pp. 773-777, 1993.

4 ) 第 1 回九州コンセンサスカンファレンス: “透析液を置換液として使用する際の水質管理基準” の解説. 九州 HDF 検討会会誌 1: 33-42, 1995

5 ) 第 46 回日本透析医学会コンセンサスカンファレンス「新たな透析液安全基準の設定」. 透析会誌 34: 637-638, 2001

6 ) 川西秀樹、峰島三千男、竹澤真吾、他: 新たな透析液水質基準と血液浄化器の機能分類. 第 49 回日本透析医学会コンセンサスカンファレンス「血液浄化器の新分類～内部濾過と透析液水質による再評価」. 透析会誌 38: 149-154, 2005

7 ) ANSI / AAMI D52: 2004, Dialysate for hemodialysis, AAMI, VA USA, 2004

8 ) Ledebø I, Nystrand R: Defining the microbiological quality of dialysis fluid. *Artif Organs* 23: 37-43, 1999