

透析液・補充液の清浄化と臨床的効果

竹澤真吾

鈴鹿医療科学大学

key words : エンドトキシン, 細菌数, 菌培養, 水質, 国際基準

要 旨

ET 濃度分析による水質管理では, 主にグラム陰性菌の存在のみを把握するに留まっている. しかし, 実際にはグラム陽性菌なども存在するため, これからは国際基準に沿って菌数把握による水質管理も平行して行う必要がある. 菌培養のためのサンプリング, 培養方法には未だ不明な点が多く, 早急なマニュアル化が望まれる.

はじめに

現在多くの透析施設では透析用水, 透析液の水質管理はエンドトキシン (ET) の値をもってなされている. 数年前では 100 EU/L 程度が普通だったが, 現在では 10 EU/L 未満がなかば常識化している. しかし, ET カットフィルターを用いて無理に ET 濃度を下げても正しい清浄化とはいえない. これは, ET 以外にも菌から得られる毒素が多いためである. したがって, 分析が容易でかつ短時間に結果が得られる ET 濃度とともに, 菌の存在を把握することも重要といえる.

2004 年秋に AAMI から細菌数の新しい基準が発表され¹⁾, にわかに ET 以外に菌数の管理も重要ではないかとの議論が盛んになった. AAMI 基準が国際基準である ISO へ移行しつつある現況を踏まえて, 新たな水質管理の方法について検討した.

1 ET 分析のメリットとデメリット

ET 分析は感度がよく, 日本では 1 EU/L あるいはそれ以下の濃度を数時間で測定することが可能である. すなわち, 臨床現場で急な発熱などが生じた際に透析液 ET 濃度を直ちに分析し, 問題点を洗い出すことができる. しかし, ET はグラム陰性菌から溶出するため, グラム陽性菌が大量に繁殖していても ET 濃度には反映されにくい. 一般的には, グラム陰性菌から得られる ET を把握, 低濃度に管理していればグラム陽性菌も少ないとの予測から, 細菌数の測定はほとんど行われていなかった. 実際にはこの考えは間違いであり, ET 濃度管理のみでは片手落ちであったといえる.

ただし, 簡便な ET 濃度分析が普及した結果, 配管のデッドスペース, つなぎ部分, T 字管, O リング付きのカプラで大量の ET が得られる. すなわち大量の菌が繁殖しているということが判明し, 対策が取られるようになった. また, RO 装置もメーカーによっては ET がリークしていたため, RO 装置配管やモジュール構造そのものも改良されるようになった.

こうして, 今や RO 装置からの ET リークは皆無に近い状態となり, ET カットフィルター無しで RO 水の ET 濃度の一桁は常識となった. これは明らかに RO モジュールからの菌のリーク減少を意味しており, ET 分析結果をもって水質を管理してきた今までのアプローチが間違っていたわけではない. 問題点は, 配管内での菌の繁殖である. グラム陰性菌が主に繁殖し

ている場合には ET 濃度と菌数がある程度相関するため、ET 濃度減少がそのまま菌数の減少に結びつく。しかし、グラム陽性菌が主に繁殖している施設では、さほどたいした浄化対策を行わなくとも ET 濃度が自然と減少していく傾向にあったことと思われる。施設によっては通常のライン管理のみで低い ET 濃度が維持されているというところもあるが、これはグラム陽性菌が大量に繁殖している可能性を秘めている。

2 細菌数分析の問題点

菌数を把握するためのサンプリングは ET 分析と異なり、かなり工夫を要する。ET は生菌よりも死菌のほうが濃度は高くなる。これは、ET すなわちリポポリサッカライドがグラム陰性菌外膜に大量に存在し、菌が活着している状態では外膜に保持されているが、膜を破壊するなど菌を死滅させるとリポポリサッカライドが剥離し、液中に分散していくためである。ET 濃度はこのリポポリサッカライドとカプトガニから抽出したライゼートと呼ばれる試薬を反応させているので、大量に分散していたほうが試薬の反応は起きやすい。

カプラ内の O リングには写真 1 のように凹凸部分に菌が繁殖しており、生菌が大量に遊離しやすい状況にある。したがって、ET 分析には生菌の影響が少ないものの、菌を培養する場合には透析液中から得られた菌かあるいはサンプリング中に紛れ込んだ菌かの区別がつきにくい。

菌の培養には種々の培地が用意されている。RO 水と透析液とでは最適な培地が異なると思われる。また、施設によっても最適培地が異なるかもしれない。すな

わち、ある培地で得られた菌数は絶対的なものではなく、別の培地を用いればさらに多くの菌数となる可能性もある。最適培地はなにかの議論は、おそらく永遠につきないであろう。

そこで、一つの方法として貧栄養の R2A 培地を用いた培養方法を検討中である。RO 水、透析液中の菌は比較的低温で繁殖しやすいため、R2A 培地での培養では、室温で 2 週間後のコロニーをカウントすることが望ましいようである。

3 ET 濃度と細菌数

日本 HDF 研究会が主体となっていくつかの透析施設にて同一検体中の ET 濃度と細菌数を測定した。図 1 はその結果の一部である。1 mL を採取し、R2A 培地に直接塗布、室温にて 2 週間培養した。

多くの施設ではエンドトキシン濃度が高くても菌数は 10 CFU/mL 未満だった。これは RO 配管あるいは RO タンク中での菌の繁殖が少なく、RO モジュールからの ET リークがあることを意味している。しかし、菌数は 0 でないため、配管などにバイオフィームが形成されている可能性を秘めている。一方、菌数が 10 CFU/mL を超えている施設ではバイオフィームが形成されていると考えられる。特に、ET 濃度が一桁の、今までであれば水質管理が良好な施設であってもグラム陽性菌が大量に繁殖していることをうかがわせる結果となった。この部分が ET 濃度のみによる管理の落とし穴といえる。

今回の結果は分析中の汚染（コンタミ）を完全に防いでいたかどうか不明のため、さらなる詳細な検討が必要ではあるものの、同様の結果はいくつか発表さ

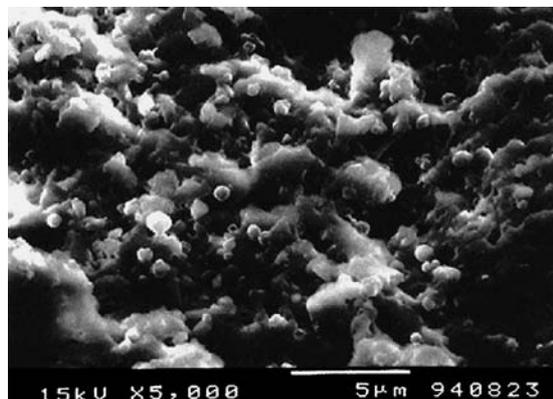
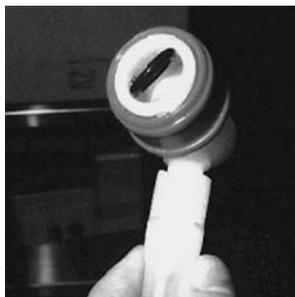


写真 1 カプラ内の O リングと O リング表面の電顕観察
凹凸の間に見える球状のものが細菌と思われる。

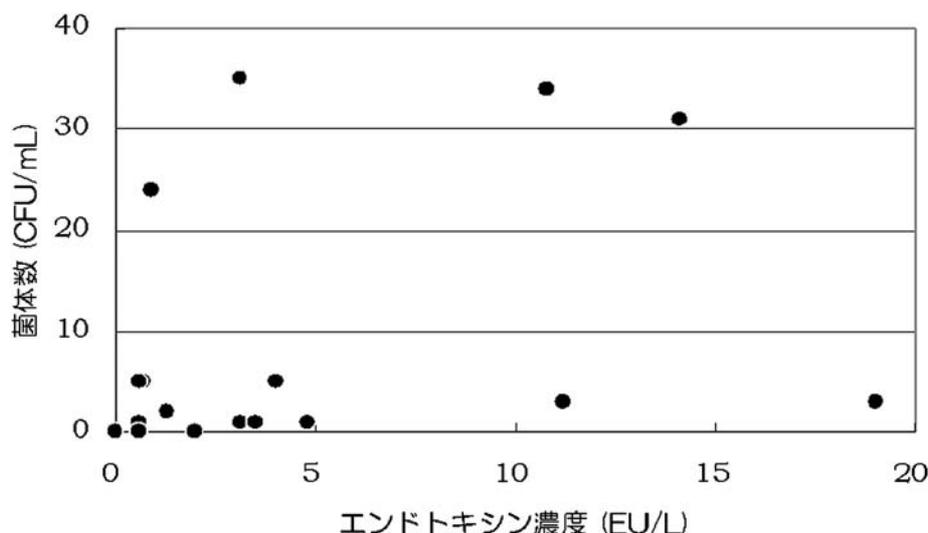


図1 RO 水中のエンドトキシン濃度と細菌数の関係
R2A 培地, 1 mL 採取, 室温 2 週間培養

表 1 ET 濃度と菌数の基準値 (II 型ダイアライザーの場合)

	日本透析医学会 (2001)	AAMI
エンドトキシン濃度		
最大値	50 EU/L 未満	30 EU/L 未満
許容値	10 EU/L 未満	
細菌数	基準なし	0.1 CFU/mL

れつつあり、配管中での菌の繁殖は確実に起きているといえる。また、文献によれば 200 CFU/mL 前後の菌数が長期に渡って確認されていることもあり⁵⁾、細菌対策の困難さがうかがえる。透析液中に存在するグラム陽性菌と合併症などとの関連は今のところ報告がみられないものの、今後菌の分析が普及するにつれて明らかとなっていくであろう。

日本透析医学会と AAMI の基準は表 1 のようであり、細菌数の上限はかなり厳しいと思われる。現状でこの基準を満たしている施設はいくつかあるものの、II 型ダイアライザーが主流となっている日本においてすべての施設でこの基準をクリアすることは困難といえる。なお、AAMI の ET 濃度基準が 30 EU/L となっているが、これはアメリカで多く使用されている ET キットの分析下限値であり、日本と同様 10 EU/L 未満と解釈するのが妥当であろう。

4 ET カットフィルタ装着の問題点

菌を阻止する一つの方法は ET カットフィルタの活用である。菌を完全に除去することは膨大な労力と費用を要するため、現実的ではない。しかし、ET カッ

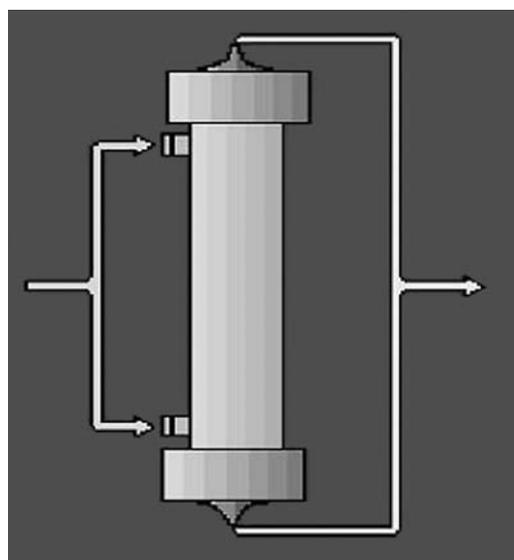


図 2 ET カットフィルタ装着の悪い例
全濾過方式では菌や菌の死骸が蓄積。一部バイパスを設けて消毒時には膜表面を洗浄しなければならない。

トフィルタを有効に活用し、多少の菌をトラップ、次亜塩素酸で死滅させれば、バイオフィーム形成の機会を減少させ、良好な水質管理が可能となる。

ET カットフィルタはいくつかのポイントで使用するが、いずれも全濾過のままでは菌あるいは菌の死骸の温床となる。図 2 のように全濾過のままで使用すると、菌あるいは菌の死骸が蓄積し、約 2 週間で入口濃度の ET よりも出口濃度が高くなる場合すらある。これはきわめて危険な使用方法である。入口の回路にバイパスを設け、通常の使用ではバイパスを閉めておくが、洗浄時にはバイパス回路を開けて膜表面に堆積し

たものを洗い流すようにしなければならない。このような簡単な方法が意外と行われておらず、カットフィルタが黒ずんだまま使用している施設もあるが、きわめて危険な状態である。正しい使用方法と、患者のQOLを維持するという確固した姿勢が必要である。

おわりに

ET 濃度減少によって合併症を減らし^{2~4)}、免疫系の異常も検査データ上は少なくなりつつある。しかし、RO 水や透析液中にはグラム陽性菌が繁殖しており、今後は ET のみならず菌の培養によるさらに一歩進んだ管理が必要となった。国際基準化がなされる状況を踏まえると、日本でも菌数管理を含めた新しい管理方法の確立が急務である。

文 献

- 1) ANSI/AAMI RD 52:2004 Dialysate for hemodialysis, 2004.
- 2) Pertosa G, Gesualdo L, Bottalico D, et al.: Endotoxins modulate chronically tumour necrosis factor alpha and interleukin 6 release by ureamic monocytes. *Nephrol Dial Transplant*, 10; 328-334, 1995.
- 3) Pereira BJ, Sundaram S, Barrett TW, et al.: Transfer of cytokine-inducing bacterial products across hemodialyzer membranes in the presence of plasma or whole blood. *Clin Nephrol*, 46; 394-401, 1996.
- 4) Sundaram S, King AJ and Pereira BJ: Lipopolysaccharide-binding protein and bactericidal/permeability-increasing factor during hemodialysis: clinical determinants and role of different membranes. *J Am Soc Nephrol*, 8; 463-470, 1997.
- 5) Zunino P, Beltran L, Zunino L, et al.: Microbiological quality of hemodialysis water in a three-year multi-center study in Uruguay. *J Nephrol*, 15(4); 374-379, 2002 Jul-Aug.

1) ANSI/AAMI RD 52:2004 Dialysate for hemodialysis,