1．透析液管理の必要性

1）長期透析患者の合併症

長期透析患者の重大な合併症として、透析アミロイドーシスが挙げられます。その原因のひとつである患者血液中のβ2-ミクログロブリン（β2M）を除去するため透析膜は大孔径化されましたが、逆に透析液から種々の生理活性物質（β2M に比し低分子量の物質）が流入するリスクが生じ、透析液清浄化が議論されるようになりました。

通常、透析に使用される原水（水道水）に生菌は存在しません。しかし、死菌からは種々の生理活性物質が溶出しており、さらに塩素除去後の透析用水（RO 水）は細菌増殖の温床となります。

1）エンドトキシン（ET）測定の意義

細菌が有する種々の生理活性物質の中で最も重要視する必要のあるものが、グラム陰性菌由来の ET です。ショックや発熱、血圧低下など様々な影響を生体に及ぼしますが、これは高濃度の ET が流入した場合であり、実際の透析現場ではほとんどの施設が ET 捕捉フィルター（Endotoxin retentive filter：ETRF）を装着しているため、大量の ET が患者に流入することは通常起こり得ません。問題となるのは、低濃度の ET が持続的に流入した場合に起こり得る生体反応です。したがって、ET は可能な限り低い値に抑えなくてはなりません。

3）ET 測定の限界と生菌検査の重要性

一方、ET 値は低値であっても生菌（一般細菌および従属栄養細菌）が多数存在していることが近年明らかとなってきました。ET の産生量は細菌の種類によって異なり、また従属栄養細菌由来の物質は従来の ET 測定キットでは検出不十分であり、さらに ET 以外の生理活性物質も多数溶出している可能性があります。したがって、ET 値測定のみでは十分な清浄度を担保することはできず、同時に生菌検査を実施する必要があります。

2．従属栄養細菌とは

自然の水環境は栄養源が非常に乏しいため、水中を生息場所としている細菌類はその環境に適応して、微量の有機物を利用できる能力を獲得しています。有機物を低濃度に含む培地（R2A *1 培地等）を用いて低温（25℃）で長時間（5 日間以上）培養したとき、培地上に集落を形成する菌すべてを従属栄養細菌と呼びます。そのほとんどが、普通寒天培地や血液寒天培地のような高濃度の有機物を含む培地では増殖できないか、あるいは増殖できたとしても集落を形成するほどには増殖できません。

透析用水*2 中には、一般細菌に比し従属栄養細菌が多く存在するため、透析液管理においては、この従属栄養細菌の検出が非常に重要となります。

*1　R2A：Reasoner’s Agar No 2

*2　透析用水：粉末透析液の溶解や透析液原液の希釈および配管、装置の洗浄消毒に使用するもので、原水（水道水）を濾過・イオン交換・吸着・逆浸透などの方法を用いて処理した水。

3. 透析液水質基準

表 1 に日本透析医学会、ISO および日本臨床工学技師会より提示されている透析液の水質基準を示しました（ISO のみ基準案)。

表 1　透析液水質基準

	日本透析医学会		ISO基準（案）		日本臨床工学技士会	
	生菌数[CFU/ml]	ET活性値[EU/ml]	生菌数[CFU/ml]	ET活性値[EU/ml]	生菌数[CFU/ml]	ET活性値[EU/ml]
透析用水	＜100	＜0.050	＜100	＜0.250	＜100	＜0.050
標準透析液	＜100	＜0.050	＜100	＜0.250	＜1*	＜0.001*
超純粋透析液	＜0.1	測定感度未満	＜0.1	測定感度未満		
オンライン補充液	＜10^{-6} (sterile & nonpyrogenic)	測定感度未満	＜10^{-6}	測定感度未満	日本薬局法の無菌試験に適合	

＊日本臨床工学技士会の基準は、透析用水・透析液・その他大量液置換型血液透析濾過用補充液の3種に分けて設定されているため、「透析液」は標準透析液と超純粋透析液をまとめたものとして表記しました。

日本透析医学会の委員会報告には、「標準透析液は、血液透析を行う場合の最低限の水質である」と明記されており、また、「超純粋透析液の基準は、基本的にすべての血液透析療法に推奨される」とも記されています。表に示した基準値を参考に、それぞれの施設で実施されている透析療法に応じた基準値を設定し、透析液清浄度を測る必要があります。

当院では、日本臨床工学技師会より提示されている水質基準「透析液清浄化ガイドライン Ver. 1.05　2006 年 8 月 22 日」を参考に、採取部位によりサンプルを透析用水と透析液の 2 種に分類し、それぞれの基準値を設定しています（表 2、表 3 を参照)。

4. サンプル採取法

図1.　透析用水(RO 水）採取の様子

図2.　透析液(カプラ入口水）採取の様子

1）サンプル採取の実際

図 1 に、サンプルポートから透析用水を採取している様子を示しました。注射針を穿刺することで、ライン内部の RO 水を採取できる構造になっています。穿刺部位をアルコールで消毒し、十分に乾燥した後に滅菌注射器で採取します。

図 2 には、カプラ部から透析液を採取する様子を示しました。採取前、カプラ部全体をアルコールで噴霧し、十分に乾燥させた後、15 分ほど水を流した後でサンプルを採取します。採取量はいずれの場合も 3～5ml ほどです。採取部位の十分な消毒と、手指からのコンタミネーション防止のため、無菌操作による採取が必要です。

2）提出方法と注意事項

採取後のサンプルは滅菌試験管に入れ、すぐに検査室へ提出します。ET は不安定な物質であり時間経過と共に活性値が低下していくため、採取後すぐに測定を開始することが基本です。しかし、やむを得ず保存する必要がある場合は、4℃で保存します。

5. 検査法

1）ET 活性値測定法

透析液中の ET 検査専用の試薬を用いて、図 3 に示した手順で測定を行います。

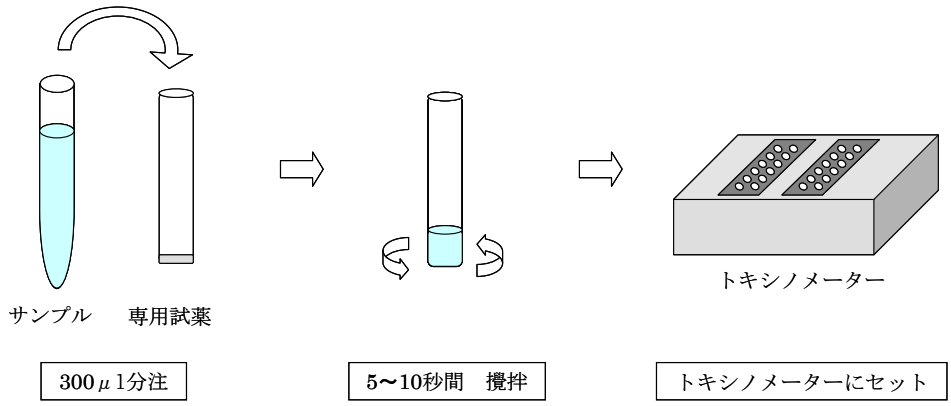

図 3.　ET 活性値測定法

2）生菌数測定法

従属栄養細菌の培養に適した培地は数種類存在しますが、当検査室では「第十五改正日本薬局方解説書　製薬用水の品質管理」に準拠し、R2A 培地を使用しています。図 4 に示した手順により、従属栄養細菌検出用に R2A 培地を、また一般細菌検出用に血液寒天培地を使用した平板培養法にて生菌数の測定を行っています。

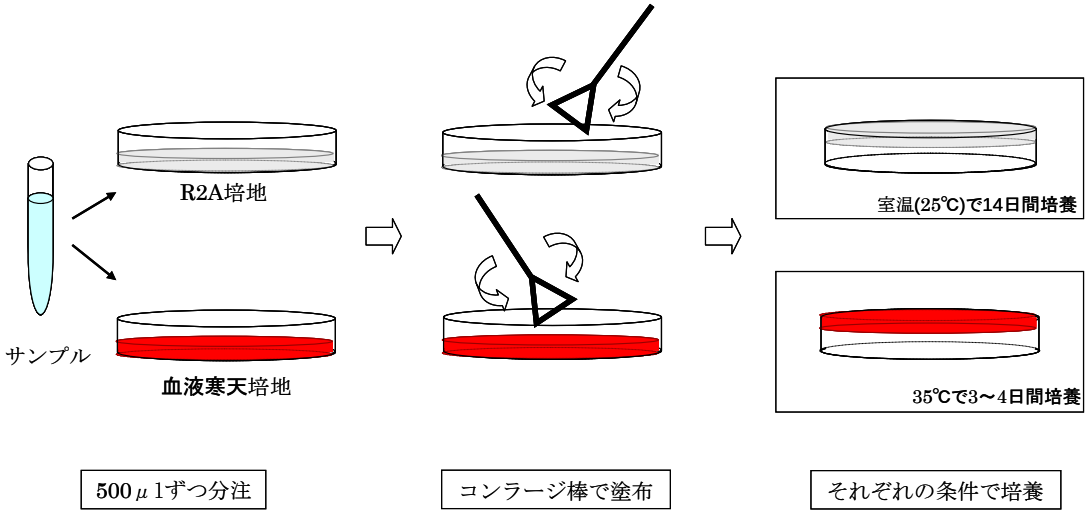

図 4.　生菌数測定法（平板培養法）

現在、生菌の検査法は平板培養法のみではなく、迅速化・簡便化・感度向上等を目的とし、メンブレンフィルター法や蛍光染色法が開発・検討されています。

6. 培養結果

図 5 に同一サンプルを培養した後の血液寒天培地および R2A 培地を示しました。

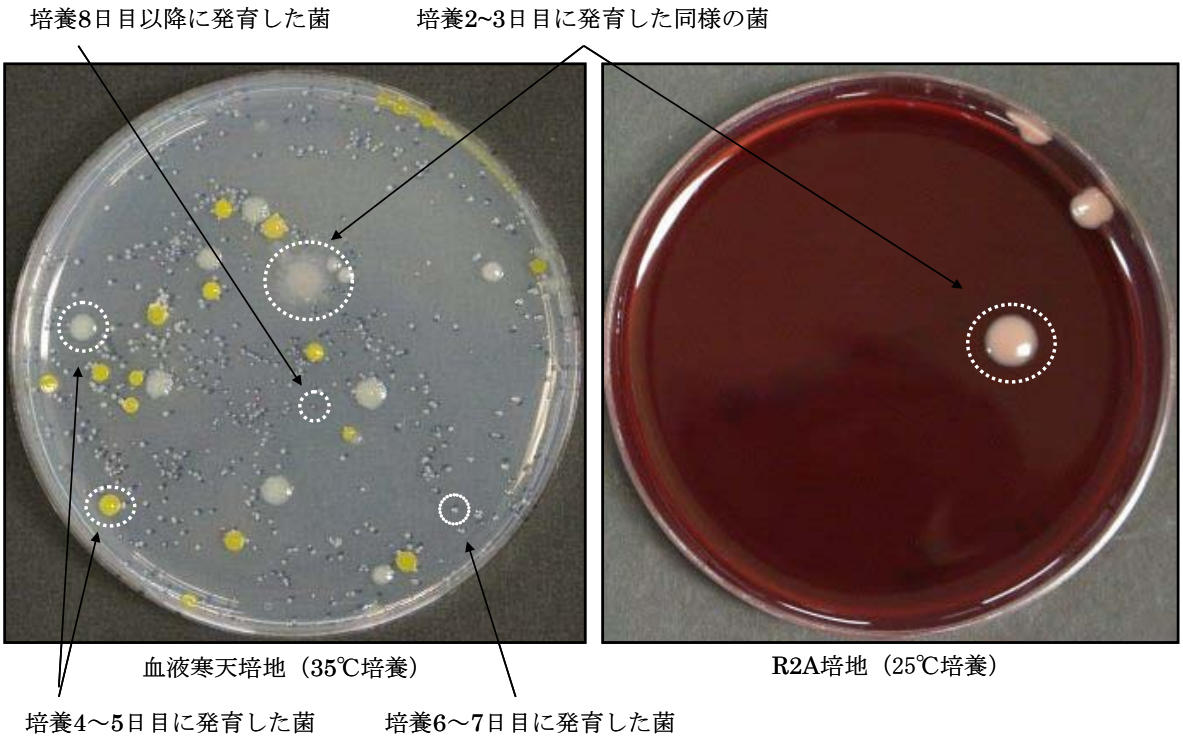

図 5.　培養後のおよび R2A 培地および血液寒天培地

ご覧のように、R2A 培地では多数のコロニーが確認されますが、血液寒天培地にはブドウ糖非発酵菌である 3 コロニーしか形成されていません。したがって、生菌数測定には血液寒天培地だけでは不十分であり、R2A 培地の使用が極めて重要であることがわかります。また日本薬局方解説書には、従属栄養細菌の培養日数は「5～7 日間」と記載されていますが、その後も培養を継続することで始めてコロニーを形成する菌も存在します。当院では最低 2 週間は培養を継続しています。

7. 結果報告

検査結果は、即座にサンプルの汚染状況を把握できるよう、以下のコメントを付記して報告しています。

1）透析液（カプラ入口水に相当）において

表 2　透析液の汚染基準

ET 活性値[EU/ml]	生菌数[CFU/ml]	コメント
ET＜0.001	生菌数≦1	清浄
0.001≦ET	2≦生菌数	汚染！

2）透析用水（ETCF 入口水、処理水に相当）において

表３　透析用水の汚染基準

ET 活性値[EU/ml]	コメント	生菌数[CFU/ml]	コメント
ET＜0.010	清浄	生菌≦49	清浄
0.010≦ET＜0.030	準清浄	50≦生菌＜99	準汚染
0.030≦ET＜0.050	準汚染	100≦生菌＜999	汚染！
0.050≦ET	汚染！	1,000≦生菌	濃厚汚染！

より高い清浄度が求められる透析液は、ET や生菌が検出された時点で「汚染！」という判断となります。一方、透析用水の場合、「ET 活性値：＜0.050 EU/ml、生菌数：＜100 CFU/ml」が基準値であるため、「清浄」と「汚染！」という報告だけではどの程度汚染しているのか、どの程度の清浄度であるのかはすぐには判断できません。検査室では細かく基準を設定し測定値とともに各コメントを報告することで、より容易に前回値との比較やサンプル間での比較、現状把握等ができるよう工夫しています。