

## 清 浄 化 管 理 —透析療法に求められる清浄化の意義—

体液・代謝基礎研究会  
宝持会 池田病院 南 伸治  
HOJIKAI IKEDA Hospital MINAMI Shinji

[key words] : 細菌培養, 菌種, 透析液, 清浄化管理, 病棟透析

〒577-0805 大阪府東大阪市宝持1丁目9-28  
医療法人 宝持会 池田病院 臨床工学室 南 伸治  
TEL : 06-6721-0151 FAX : 06-6721-1451  
Mail : s\_minami@ikedahospital.com

本邦の透析医療の特徴として、多人数用透析の活用があげられ、透析方法や使用する透析器などにかかわらず、共通する問題として透析液の清浄化が注目されている。

この透析液清浄化問題の歴史的背景としては、軟水化装置や活性炭装置を使用していた時代から、原水のアルミニウム問題への対策として逆浸透圧装置が導入され、さらに透析器のSuper High flux膜使用に伴い清浄化の指標としてエンドトキシンが注目された。透析液中に存在する低濃度エンドトキシン(ET)がダイアライザーの膜を介して血液側に侵入し、生体に対して非常に多彩な作用を示すことはよく知られている。さらに、生体へ悪影響を与えている物質はETのみではなく生菌、化学物質も非常に問題があると報告され透析液のさらなる清浄化が求められ透析装置の清浄や消毒が見直され、また精密ろ過器およびETRFを設置することになった。そして現在はそれに加えて透析液中の生物学的汚染の管理や化学的汚染物質の管理は透析治療の質と安全確保に不可欠である。そして2010年4月から透析液水質確保加算が診療報酬としてあげられた。今後ET濃度管理とともに菌の培養による菌数管理も必要になった

といえる。RO水配管、透析液配管にはバイオフィーム形成が「命取り」で、透析現場は日々菌との戦いであるといっても過言ではない。生菌は培養によって確認することができるものの、菌の培養は培地や環境温度によって結果が大きく異なるため、RO水・透析液に最も適した方法を提示することが困難である。また、膜濾過法・遠心法・混釈法などの菌の収集塗布方法や、サンプリング部位、使用するサンプリングポートの違いによっても全く異なった結果が得られるため、手技を厳密に統一しなければならない。現在、国際基準(ISO)に準じて本邦ではRO水と透析液のET濃度と菌数の基準が、透析液中のエンドトキシンET 0.001EU/mL未満、細菌数は0.1CFU/mL未満となった。

しかし在宅・病棟・ICU透析の際、透析液はかなり汚染されていると思われるが、現在でも未だにRO装置を通さずに病棟透析を行っている施設も存在している。本邦の清浄化ガイドラインでは、在宅・病棟・ICU透析の水質管理基準が示されていないことが懸念する。目標値はウルトラピュアレベルの管理が必要であり、まずは個人RO装置を導入する議論も必要である。

I. はじめに

この話の主題である清浄化を、透析療法に用いる透析用水・透析液に関し、化学物質の汚染、生物学的汚染がなく、安全に治療を行うことのできるものと定義し、それらを作り出すための装置の設計や管理方法もこの中に含める。

透析液清浄化問題の歴史的背景としては、上水の塩素・硬度成分除去のための軟水化装置や活性炭装置を使用していた時代から、原水のアルミニウム問題への対策として逆浸透圧装置が導入され、さらに透析器のSuper High flux膜使用に伴い清浄化の指標としてエンドトキシンが注目された。透析液中に存在する低濃度エンドトキシンがダイアライザーの膜を介して血液側に侵入し、生体に対して非常に多彩な作用を示すことはよく知られている。さらに、生体へ悪影響を与えている微生物汚染はエンドトキシンのみではなく、生菌自体の管理が必要とされている。国際標準化機構 (International Organization for Standardization, ISO) の透析液・補充液の製造と品質管理のためのガイダンスISO 23500に準じ、本邦ではRO水と透析液の基準がエンドトキシン活性0.001EU/mL未満、細菌数は0.1CFU/mL未満となった。透析液のさらなる清浄化が求められ透析装置の洗浄や消毒方法が見直され、また精密ろ過器およびETRFを設置することになった。そして2010年4月から透析液水質確保加算が診療報酬としてあげられた。透析液中の生物学的汚染の

管理は透析治療の質と安全確保に不可欠である。そこで透析液製造系の生菌の数と菌種およびそれらの推移から、管理の実践的方策を示した。

本邦の透析医療の特徴として、多人数用透析の活用があげられ、透析方法や使用する透析器などにかかわらず、共通する問題として透析液の清浄化が注目されている。しかし在宅・病棟・ICU透析に言及しているものは少ない。本邦の清浄化ガイドラインでもこれら特殊な治療状況の水質管理基準が示されていない。現在でも未だにRO装置を通さずに行っている施設も存在しているため、透析液はかなり汚染されている可能性がある。目標値はウルトラピュアレベルの管理が必要であり、まずは個人RO装置を導入する議論も必要である。

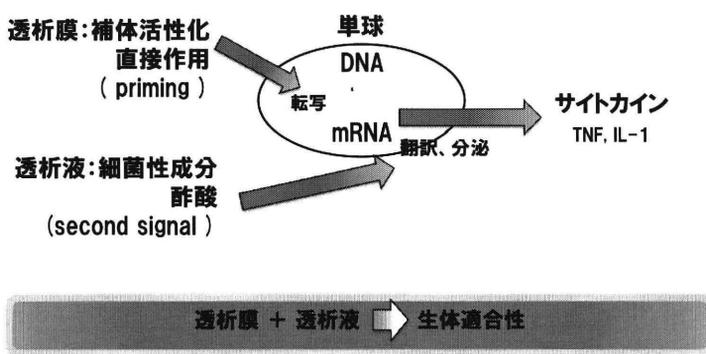
II. なぜ清浄化が必要なのか

透析液の清浄化の意義について最初に注目されたものは、インターロイキン仮説である。その後ハイパフォーマンス膜 (HPM) によるバックフィルトレーションの発生による透析液の体内流入が問題となり、さらにオンラインHDF療法やHPM膜の2.5倍なるように設計された内部濾過促進型ダイアライザーの使用・全自動透析装置導入の開発など逆濾過透析液を積極的用いる方向へと発展した。

まずインターロイキン仮説<sup>1)</sup>は、血液透析で生体適合性の悪い透析膜や透析液を用いるとサイトカインが遊離される (図1)。と

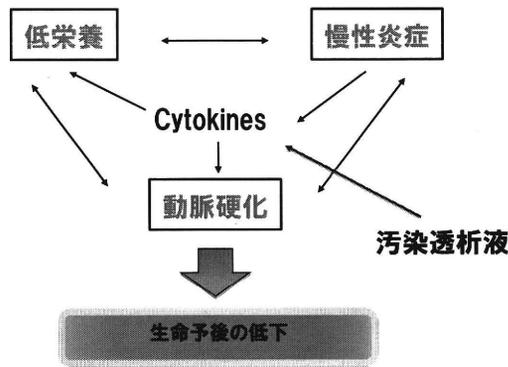
図1 Interleukin 仮説 Henderson LW, Koch KM, Shaldon S. Blood Purif 1983

■ 血液透析によるサイトカインの産生



くに汚染された透析液ではサイトカインが非常に多く遊離され、生体に炎症が生じる。このインターロイキン仮説を発展させたものがスティンビンケルらによるMIA症候群<sup>2)</sup>(Malnutrition inflammation atherosclerosis, 図2)で、透析患者におこるサイトカイン増加を起点とした慢性の炎症状態による低栄養と動脈硬化の進行を伴う病態である。その結果として生命予後が低下する。そのサイトカインの発生源は汚染された透析液である。つまり生体適合性の悪い透析膜・透析液を使用するとサイトカインが遊離され慢性的な炎症状態になり、結果として透析低血圧・透析アミロイド症・免疫不全・栄養障害・動脈硬化・EPO抵抗性貧血がおこり生命予後が低下する。これらを防ぐことが清浄化の究極の目的

図2 MIA症候群 (Malnutrition inflammation & atherosclerosis)



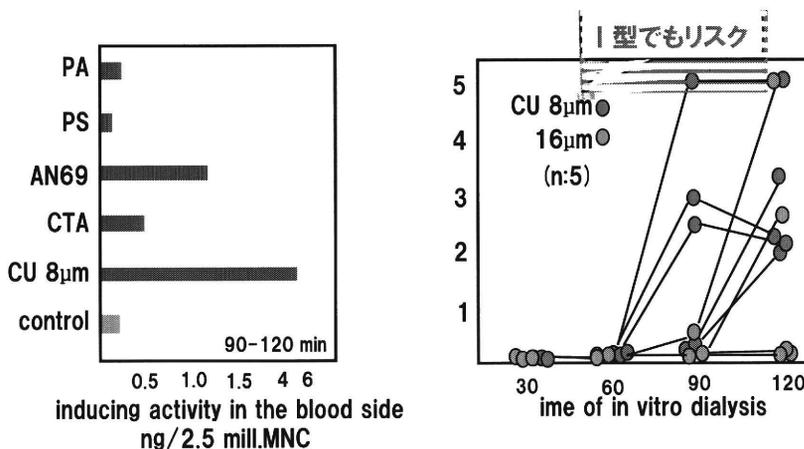
である。

HPM膜使用という観点から、欧州のEDTA best practice guidelinesでは全ての透析療法で超純粋透析液使用を強く推奨している<sup>3)</sup>。本邦では水質が保証されていない状態でありながら、B2MGクリアランスによるダイアライザー機能分類の4～5型という超高性能super high-fluxのダイアライザーによる透析が90%以上<sup>4)</sup>をしめている。これが本邦において、とくに水質基準が必要と考える理由である。

### Ⅲ. 生物学的汚染の評価方法

透析液清浄化の管理を何で評価するか考えることは重要である。従来日本ではエンドトキシンのみで行われてきたが、それでは不足とする根拠が幾つか示されている。エンドトキシンで汚染された透析液の影響を、各透析膜(ポリアミド (PA), ポリスルホン (PS), AN69, トリアセテート (CTA), キュプロハン (CU))を通過して血液中で産生されたcytokine量で見た報告がある(図3)<sup>5)</sup>。CU膜では透過性の少ない1型の膜を使用した場合、エンドトキシンの影響が大きい結果なる。とくに薄いCU膜を用いた場合は、汚染された透析液の影響がつよく出るということが示された(図)。PS膜は吸着能力があることによってエンドトキシンを制御できている。ところが、CU膜やCTA膜など吸着能力がない

図3 透析液中のエンドトキシンによる刺激は、吸着能のない膜ほど、薄い膜ほど大きい



Lonnemann et al., Kidney Int 42: 61, 1992

膜はたとえ1型であろうとも汚染された透析液を用いると生体にとってリスクは高くなる。また菌種によってエンドトキシンの大きさ<sup>6)</sup>や活性が異なることが知られている。大腸菌と緑膿菌を比較すると、緑膿菌ではエンドトキシン濃度が1/10にも関わらず生体の反応は強く生命予後が低くなる<sup>7)</sup>。

一方、透析液中のDNAフラグメントが膜を介して血液中に移行してサイトカインを誘導するという報告<sup>8)</sup>では、最も小さいもので6塩基からなるフラグメント(分子量1250 Da)を検出し25,000ダルトンまで幅があった。この測定にはPCR(核酸増幅)が不可欠であり定量化するには検出系が複雑でコストがかかるために、ろ過法による清浄化度(LRV)を測定できない。またこのDNAフラグメントを吸着除去するには、ゼータ電位が+の膜を用いる必要があり、汎用されているダイアライザーでは実際にはできない。特に小分子断片は容易にダイアライザー通過することから、完全な清浄化にはこれらの製造元となる生菌の排除が必用である。このように、エンドトキシンの値はいくつかある生物学的汚染の指標の一つに過ぎず、これのみでは生体への影響を網羅することはできない。

#### IV. 生菌培養による生物学的汚染評価

現在、透析液清浄化の管理基準を考えるうえで2008年の日本透析医学会(JSDT)の基準<sup>9)</sup>でエンドトキシン濃度管理とともに菌の培養による菌数管理も必要になり、国際基準のISO23500<sup>10)</sup>では細菌数をさらに重視した厳しい透析液清浄化基準が提示されている。生菌は培養によって確認することができるものの、菌の培養は培地や環境温度によって結果が大きく異なるため、RO水・透析液に最も適した方法を提示することが困難である。また、膜濾過法・遠心法・混釈法などの菌の収集塗布方法や、サンプリング部位・使用するサンプリングポートの違いによっても全く異なった結果が得られるため、手技を厳密に統一しなければならない。基準にあるように透析液の清浄化管理を生菌数でみることは重要である。特にオンライン療法では、細心の

注意をはらわなければならない。そこでさらに、いわゆるバイオーバーデン管理としてそこにいる菌の種類まで分かれば、その菌の起源(汚染源)を推測することが可能となる。その上、それらの菌がどのように変化したかという推移を合わせると、その先のアクション(清浄化対策)につなげることが可能となり、清浄化管理への近道となり得る。そこで、大阪府下の全透析施設(285施設)に依頼し、同意を得られた施設の透析液および透析用水の細菌培養による生菌数および菌種の実態調査を2007年(154施設)に行い、その後2009年(126施設)に追跡調査をした<sup>11,12)</sup>。RO水配管や透析液配管にとってバイオフィーム形成が「命取り」で、透析現場は日々菌との戦いであるといっても過言ではない。これらの結果を基に実際に対策を試行し、有効であったもの、推奨する方法について述べる。

#### V. 透析液および透析用水の生菌数・菌種の推移と実践的対策<sup>11,12)</sup>

この検討の一義的な目的は、透析システムラインにおいて微生物汚染やバイオフィーム定着リスクが高いポイントを特定することであり、そのうえで汚染源を推定し、有効な対策を試行した。

##### 1. 方法

- 1) ROタンク出口、A原液・B原液タンク出口および溶解装置出口、多人数用透析液供給装置、コンソール入口・出口、カプラ部の7か所で採取した。
- 2) 採取時は76.9~81.4vol%エタノール綿を用いて採取部を15秒以上暴露し2枚目で清拭消毒した。
- 3) カプラ部は、バイパスコネクターをはずした状態で透析液を流し、その後カプラ内部をスワブで拭き取ったものを検体とした。
- 4) RO水・透析液は、同一箇所から50ml×3検体(計150ml)採取しコニカルチューブに移し、スワブで拭き取った検体とともに冷蔵輸送(3℃)で検査室(BML)に配送した。
- 5) 培養条件は、R2A培地を用いた寒天平板

塗抹法と、0.45 μm, φ50mmのメンブレンフィルターによるろ過法を用い、7日間、温度25℃で行い、培地上にコロニーが発育した場合は菌種を生化学的手法により同定した。スワブで拭き取った検体は、R2A培地で培養後発育の有無を確認し、発育した場合は同定を行い評価した<sup>14,15,16,17</sup>。

2. 菌の結果と対策

1) ROタンク

2007年の時点で、検討に参加した154施設の81%でROタンク後から菌が検出された。さらに300 CFU/ml以上と測定上限を超えた施設が40あった(図4)。分離菌の菌種では従属栄養細菌が最も多く、*Pseudomonas sp.*, *Burkholderia sp.*, *Sphingomonas paucimobilis* といったいわゆる環境由来の水棲菌が主であった(図5)。しかしわずかではあるものの、*Micrococcus sp.*や*Corynebacterium sp.*のような皮膚由来のものや腸内細菌系と疑われるもの(*Acinetobacter sp.*, *Flavobacterium sp.*)も認められた。そこで菌が検出された施設に、ROタンクの洗浄をメーカー推奨の方法で月1回必ず行う<sup>21)</sup>ことを勧めた。2年後の検討で、ヒト由来が疑われるものはほとん

ど見られなくなり、菌が検出された施設の割合(63%)も測定上限を超えた施設の数(10/126)も有意( $\chi^2$ 検定でいずれも $P < 0.01$ )に減少した。

2) 原液タンク・原液溶解装置

透析液の原液の検討で、A原液から菌は分離されないと言われている<sup>10)</sup>。しかし、A原液タンクおよびA溶解装置出口では147施設のうち15%(2007年)、119施設のうち29%(2009年)で菌が検出された(図6)。培養方法次第でコロニーを視認し菌種同定まで検索することは可能であった。B原液タンクおよびB溶解装置出口ではさらに分離率が高い傾向にあり120施設のうち41%から分離され、300 CFU/mL以上の測定上限を超えた施設も6施設みられた。A原液のpHは低く(カーボスター<sup>®</sup> pH 2.0~2.5, キングリー<sup>®</sup> pH 4.5~4.9)菌の増殖が妨げられる可能性が考えられるが、RO水にも含まれる水棲菌のほか、糸状菌・酵母様真菌や枯草菌群(*Bacillus sp.*)といった空中落下菌と考えられるものの割合が分離菌の17%を占めておりRO水(3%)と比較して多かった( $P = 0.0015$ )。

またB原液で、初めて緑膿菌が分離されている。この原液タンクや溶解装置の管理とし

図4 ROタンク部から分離され生菌数の比較 (2007年と2009年)

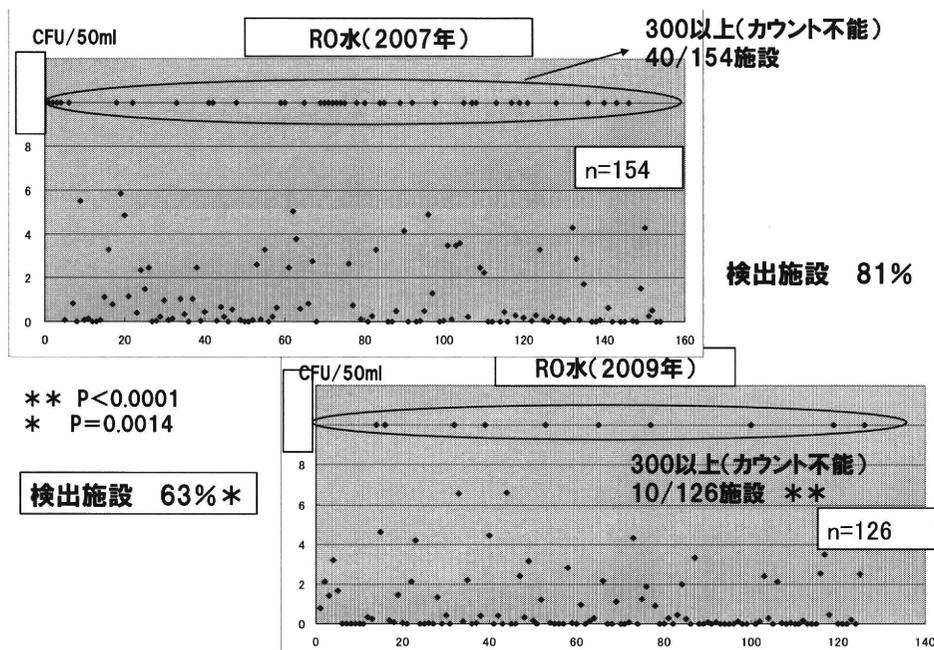


図5 ROタンク部の分離菌種の比較

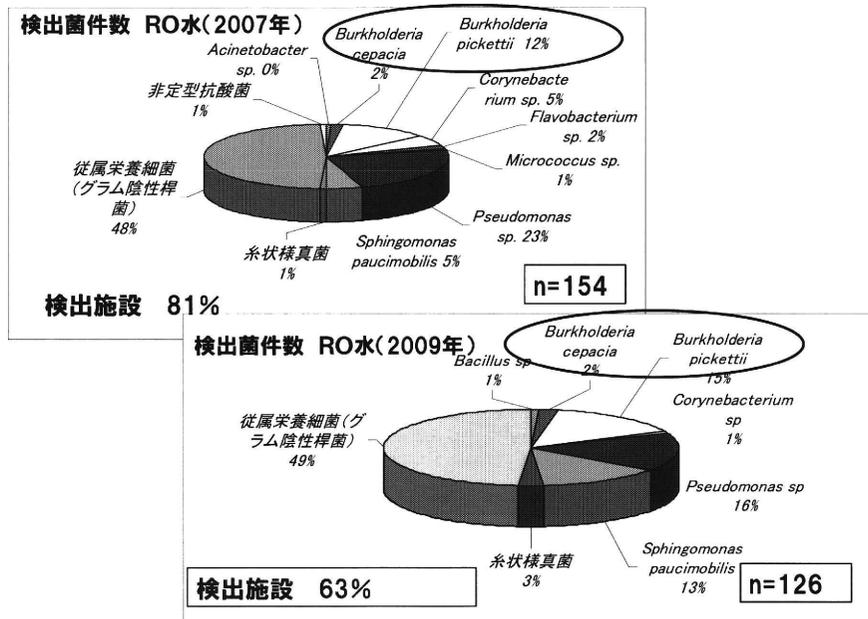
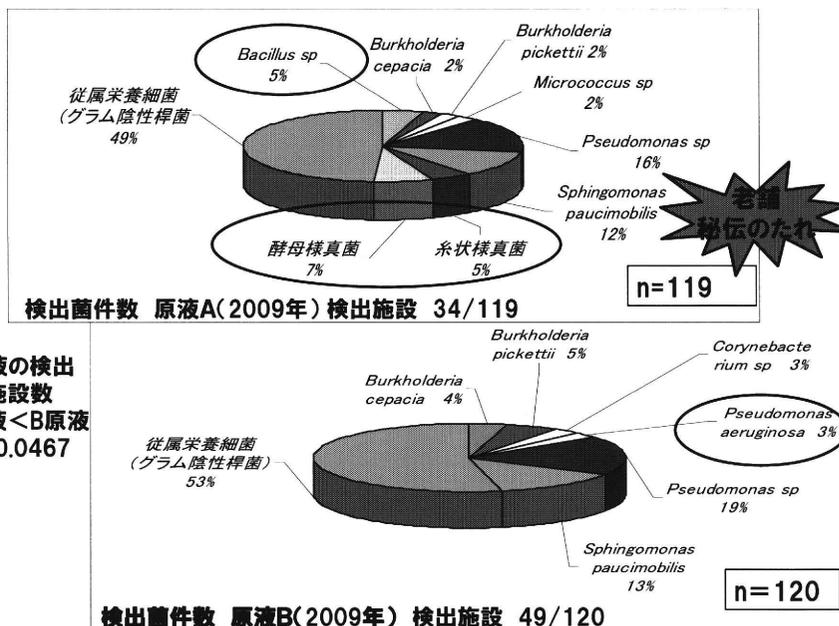


図6 透析液原液 (A液・B液) から分離された菌種の比較



て、まず原液や原末の補給時に蓋の開放・人を介したコンタミや浮遊菌などの混入を軽減する。また供給装置までの配管の形状はできる限り細くし高流速で送液、液停滞部分がない形状を採用する。さらに定期的な洗浄・消毒を推奨した。

3) 透析液供給装置

2007年の検討で、菌が分離された施設の最

も多かった部位は透析液の供給装置後(76%)であり、透析液製造系で非無菌部分(バイオペーデン部)として評価すべき部位と考えられる。また、分離菌種も多彩であり(図7)、一過性と思われるものからバイオフィルム由来と考えられるような上流から下流まで一定に分離されるものまで見られた。菌数が増加傾向にある場合など、洗浄や消毒方法

を検討する必要がある。一般的に消毒薬として用いられている次亜塩素酸ナトリウムは数百ppmであり、この濃度では芽胞形成菌や真菌・非定型抗酸菌には効果が得られにくい場合がある。バイオフィルムを壊す能力には欠けるが、過酢酸は0.01~0.02%の実用濃度でこれらの菌に有効性を示すとされており、消毒薬の変更による効果を見る価値はある。

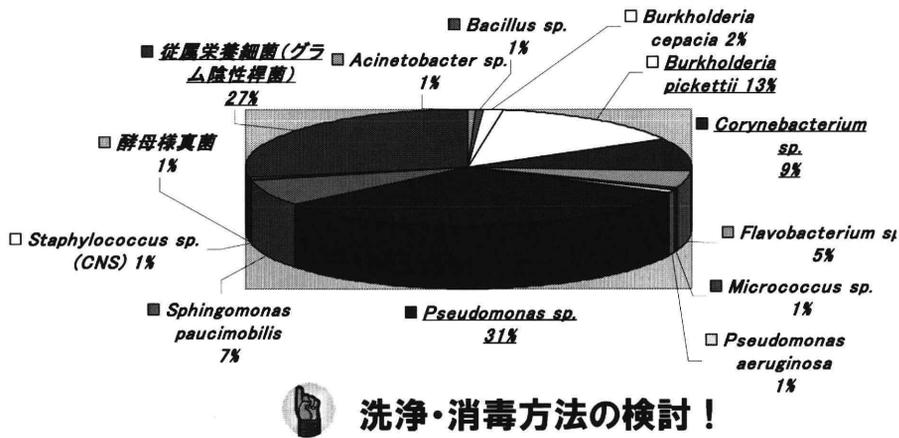
4) コンソール

コンソールの入口側と出口側で菌が分離さ

れた施設の割合に差はなかった、しかし緑膿菌群 (*P. aeruginosa*, *Pseudomonas sp.*) や *Burkholderia cepacia* が検出される割合はコンソールの出口側で高く (図8)、コンソール内の配管にバイオフィルムを形成した可能性が考えられる。特に緑膿菌は2007年で入口出口の間で8→24%、2009年でも6→13%と増え、コンソール内を起源とした菌を透析液中から分離していると考えられる。現状で行われている洗浄や消毒が不足であると考えら

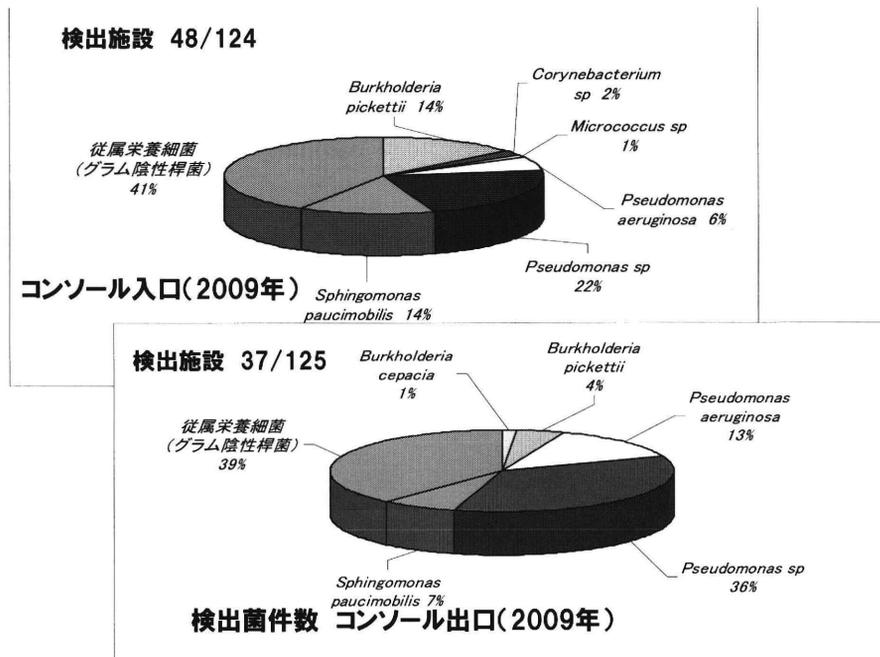
図7 透析液供給装置後の分離菌種 (2007年)

検出施設 107/141 (76%)



洗浄・消毒方法の検討!

図8 コンソールの入口側と出口側Aから分離された菌種の比較



れ、配管内に形成されたバイオフィルムを標的として個別に使用洗浄剤や消毒剤自体の変更、消毒剤の濃度の変更、消毒頻度を上げや消毒時間の延長、温度の調整等を検討した<sup>22)</sup>。コンソール出口側で300 CFU/mL以上の測定上限を超えた施設の数 は2007年の32/150から2009年には15/125施設へ有意に低下し (P=0.041)、菌が分離された施設の数の割合も43%から25%に減少した。しかし装置内の汚染は完全には解消されていないことがあり、オンラインHDFを施行する際、補充液の水質基準に関するガイドラインで要求されている、装置入口で標準透析液であることを担保する方法では危険性が潜んでいると考えられる。そこで最近開発されたバリデーションを考えた2本直列のETRF内蔵型の透析装置の導入を推奨したい。

5) カプラ

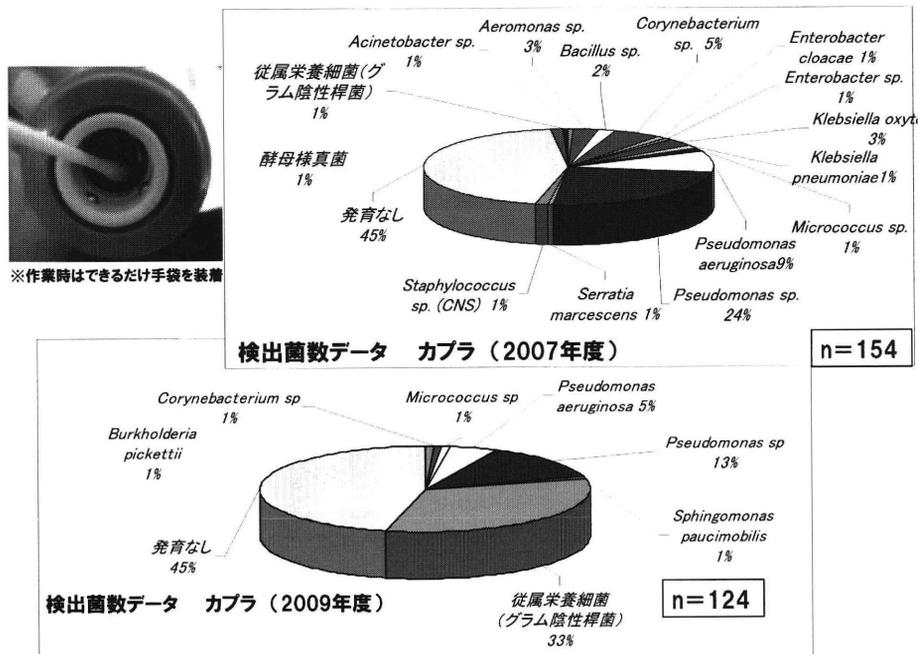
カプラ部ではROからコンソールまでの配管内で検出された菌種以外のものが認められ(図9)、カプラ管理は重要と考えられる。透析液製造工程の各ポイントで清浄化管理をしても、ダイアライザー接続時のカプラ部を汚染させては意味がない。そこで同部を取り扱う際には手の衛生手技に留意す

る必要がある。一方で *Corynebacterium* sp, *Micrococcus* sp, CNS のような皮膚の常在菌で手指からの接触汚染が疑われる菌の検出が多く見られた。これらは採取時の消毒不足のほかにかプラ接続時の汚染が残っていた可能性が考えられるため、評価の際には十分な注意が必要である。カプラ部ではコンソール単独で、熱伝導によるカプラ部熱消毒機構(ヒートピュアカプラ)が開発導入され、抗菌カプラ・クリーンカプラ・ジョイントレスなど汚染防止カプラが導入されている。しかしカプラ部の乾燥残渣は、超音波洗浄、有機酸での除菌洗浄剤が有効である。しかし残留テストや水洗の問題を懸念する。

VI. 個人用RO装置および個人用透析装置の汚染状況

A施設の個人用RO 1号機と2号機、B施設の個人用RO装置で、エンドトキシン活性と生菌培養を行った。いずれも推奨されている透析用水の水質基準値<sup>9)</sup>以上に汚染されていた(表1~3)。しかし30分水洗すると、菌数およびエンドトキシン活性とも減少していることから、使用前に30分以上水洗することは水質を改善するうえで有効である、また

図9 カプラ部の分離菌種の比較 (2007年と2009年)



ETRFの装着後は検出以下となった(表1, 2)。個人用RO装置の管理方法については、日本臨床工学技士会から出されている清浄化ガイドラインVer2.0に記載されている。個人用透析装置に関して装置内部の消毒はメーカー推奨の方法により適切な濃度の薬液また

は熱水を用いて行う。一方、透析用水供給配管から個人用透析装置への給水ラインは分枝配管となっていて微生物汚染やバイオフィーム形成が生じやすいとされているが、分枝ラインのみ消毒することは困難である。また消毒により配管内の微生物汚染は減少する、間

表1. A施設個人用RO装置ET値

		濃度(EU/ml)	希釈倍率
<b>RO1号機</b>			
	原水	27.47	100
洗浄前	プレフィルター前	125.3	100
	カーボンフィルター出口	112.5	100
	RO膜出口	0.4359	100
30分 水洗後	プレフィルター前	91.174	100
	カーボンフィルター出口	83.23	100
	RO膜出口	0.1447	100
	ETRF前	1.401	希釈せず
	ETRF後	<0.0007	希釈せず
RO1号機の流路は、プレフィルター→活性炭フィルター→RO膜			
<b>RO2号機</b>			
	原水	24.14	100
洗浄前	カーボンフィルター出口	測定不可	100
	RO膜出口	3.171	100
	カーボンフィルター出口	測定不可	100
30分 水洗後	RO膜出口	0.3954	100
	ETRF前	0.2414	希釈せず
	ETRF後	<0.0007	希釈せず

RO2号機は10年以上前に購入した装置です  
流路は、活性炭フィルター→プレフィルター→RO膜

表2. A施設個人用RO装置 生菌数

検体名	同定	(CFU/50ml)	検体名	同定	(CFU/50ml)
原水	好気性菌の発育を認めず	0	原水	好気性菌の発育を認めず	0
活性炭 出口	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	1000以上	活性炭 出口	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	780
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1000以上		<i>Pseudomonas</i> sp.	160
	<i>Methylobacterium</i> sp.	1000以上		<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	35
	<i>Acinetobacter</i> sp.	210		<i>Methylobacterium</i> sp.	31
洗浄前 RO膜出口	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	760	洗浄前 RO膜出口	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	720
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	56		<i>Pseudomonas</i> sp.	87
30分洗浄後 RO膜出口	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	630		<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	64
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	18	<i>Methylobacterium</i> sp.	12	
ETRF 前	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	1000以上	ETRF 前	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	1000以上
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	480	<i>Methylobacterium</i> sp.	4	
ETRF 後	好気性菌の発育を認めず	0	ETRF 後	好気性菌の発育を認めず	0
洗浄前 プレフィルター入口	好気性菌の発育を認めず	0	30分洗浄後 RO膜出口	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	750
30分洗浄後 プレフィルター入口	好気性菌の発育を認めず	0		<i>Pseudomonas</i> sp.	57
				<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	49
			<i>Methylobacterium</i> sp.	13	

培養方法: 透析液/R2A-MF 透析液50mlをメンブレンフィルター(日本ポール)0.45 µmで吸引ろ過し、フィルターをR2A寒天培地(日本ベクトンディッキンソン)上で20~21℃で培養。  
同定: 生化学的性状確認培地、鏡検、VITEK2(シスメックス・ビオメリュー)を用いて同定。  
[透析液/R2A-MF]

表3. B施設の個人RO装置

検体名	同定	菌数 (CFU/50ml)	エンドトキシン (EU/ml)
原水	好気性菌の発育を認めず	0	30.79
RO出口 (水洗前)	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌) <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1000以上 1000以上 1000以上	42.82
活性炭出口 (水洗後)	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌) <i>Methylobacterium sp.</i>	290 180	72.19
RO出口 (水洗後)	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌) <i>Pseudomonas sp.</i>	1000以上 81	0.262
個人用 (水洗後)	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌) <i>Pseudomonas sp.</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1000以上 16 6	0.02358

培養方法: 透析液/R2A-MF 透析液50mlをメンブレンフィルター(日本ポール)0.45 μm  
で吸引ろ過し、フィルターをR2A寒天培地(日本ベクンディッキンソン)上で20~21℃で培養。  
同定: 生化学的性状確認培地、鏡検、VITEK2(シスメックス・ビオメリュー)を用いて同定。  
[透析液/R2A-MF]

欠的に使用され経時的に微生物汚染が再発する個人用RO装置について基準値がないのが現状である。

そこで、スーパーハイファラックス膜を使用した透析療法を行うなら個人機RO装置の熱水消毒システムやETRF内臓型個人用透析装置システムの導入が勧められる。いずれもランニングコストが高いという問題はあるが、汚染された透析液をETRFもなく病棟透析を必要とするようなケースに使用すること自体に問題がある。低栄養状態で炎症を起こしている状態に更なるサイトカインの産生を促し、生命予後を低下させることになる。このような事も含めて、24年度診療報酬では水質確保加算が改正され、清浄化管理の重要性が求められている。そこで臨床工学技士が今後も探求し、メーカーと協力して清浄化システムのバリデーションを構築していかなければならない。

### Ⅶ. わが国の透析液清浄化の現状と基準

#### 1) 透析液水質基準について

国際標準化機構 (International Organization Standardization : ISO) 23500 : 2011, 日本透析医学会JSDT2008, 日本臨床工学技士会Ver 2.0において透析液水質基準に対する生物学

的汚染基準が提示され<sup>9)</sup>, (図10) Ultra-pure dialysis fluid超純水透析液についてはET値 0.03 EU/mL 未満とISOでは明記されているが、これは欧米での測定限界となる。細菌数 0.1 CFU/mL未満とJSDTと同じ基準である。置換用透析液はJSDTでは10<sup>-6</sup>ですがISOでは適切な局方の要求事項に準じ、生存する微生物がない厳しい管理基準となっている。つまり製造業者によるバリデーションのもとで使用しなければいけないと定めている。このバリデーションの概念が最も適合されるのはonline prepared substitution fluidである。オンライン治療に用いる置換液は、無菌・無エンドトキシンが要求されている。このOnline治療での補充液検査は困難であります。そのため製造者によるバリデーションが必要になる。例えば測定は、エンドトキシンについては、測定限界未満である。しかしながら細菌数10<sup>-6</sup> CFU/mLは、たとえば1トンの水を測るには測定は不可能で、無菌 (10<sup>-6</sup>) & 無エンドトキシンをバリデーションするシステムを構築する必要がある。

#### 2) エンドトキシン (ET), 生菌測定の意義・重要性

細菌が有する種々の生理活性物質の中で最

図10 生物学的汚染物質に関する水質基準

	日本臨床工学技士会 透析液清浄化ガイドライン Ver2.0		ISO基準案23500 :2011		JSDT日本透析医学会 透析液水質基準2008	
	生菌数 (CFU/mL)未満	ET活性値 (EU/mL)未満	生菌数 (CFU/mL)未満	ET活性値 (EU/mL)未満	生菌数 (CFU/mL)未満	ET活性値 (EU/mL)未満
透析用水 Dialysis water	<10	<0.01	<100	<0.25	<100	<0.05
標準透析液 Dialysis fluid	<0.1	<0.001	<100	<0.5	<100	<0.05
超純粋透析液 Ultrapur Dialysis fluid	<0.1	<0.001	<0.1	<0.03	<0.1	<0.001
置換用透析液 Substitution	添付文章に準拠 <10 <sup>-6</sup>	<0.001	無菌 発熱性物質を含まない		<10 <sup>-6</sup>	<0.001
生菌数測定 検体量	・透析用水1~100mL ・透析液10~100mL ・透析液を用いた全自動マシーン 50~100mL		・透析液10~25mL以上1000mL		・Ultrapur Dialysis fluid 10mL以上	
生菌測定方法 検査培地 検査温度 培養期間	平板培養法・メンブランフィルター法 TGEA, R2A 15~25℃または30~35℃(室温) 4~7日		メンブランフィルター法 TGEA, R2A 17~23℃ 4~7日		メンブランフィルター法 TGEA, R2A 15~25℃(室温) 4~7日	

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。高濃度のETが流入した場合は、ショックや発熱、血圧低下など様々な影響を与え、低濃度のETが持続的に流入した場合にも、生体反応が起こり得ることからETは可能な限り低い値に抑える。

ET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、死菌でETが急激に増加する。またET測定は試料わずかし測定できない、バイオフィーム形成の確認できない、ETと生菌数は相関ないなど、ET値測定のみでは十分な清浄度を担保することはできないことから同時に生菌測定を実施する必要がある。しかし生菌測定には日数が必要で、汚染早期発見ができない。ETは短時間で検出できる。つまりエンドトキシンというのは早期に検出で警報アラーム、生菌が汚染源となり両者が必要である。

3) 生菌測定は施設で検出可能であるか

生菌測定管理は、エーミー、RD53、ISO 23500では2005年から細菌検出は透析施設で可能か問題となり（図11）、現在まで様々な条件のもとで臨床研究が行われて透析施設でも可能になった。各施設では、安価で簡便に

超純水透析液を測定できるは、MF法のクオリティフィルター 37mmモニターの使用を推奨する。

しかし透析用水工程において塩素を含む原水、軟水装置、活性炭フィルター前についてはVBNC (viable but non-culturable) 状態も最近群集が多く存在していることも把握する必要がある（図13）<sup>20)</sup>。

4) 清浄化の基本は管理システムの構築

新しい考えは、ISOの考え方である管理システムを構築するつまりバリデーションであ

図11 AAMI RD53, ISO23500  
2005年～細菌検出が透析施設で可能？

図11 AAMI RD53, ISO23500  
菌検出が透析施設で可能？

法 (メンブランフィルター)

TGEA R2A

培地:TGEA, R2A  
 >メンブランフィルタ法  
 >シート状培地  
 >センシメディカル法  
 >ATP測定, DNA測定  
 >直接測定

透析施設で検出可能

(日本薬局方に準拠)

図13 透析用水工程の生菌動態

[MF法]

検体名	同定	菌数 (CFU/10ml)	同定	菌数 (CFU/10ml)
	BMLメンブランフィルター		ADVANTEC	
原水	好気性菌の発育を認めず	0	好気性菌の発育を認めず	0
軟水	<i>Methylobacterium</i> sp.	1	<i>Methylobacterium</i> sp.	1
活性炭	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	980	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	975
	<i>Burkholderia pickettii</i>	630	<i>Burkholderia pickettii</i>	750
	<i>Methylobacterium</i> sp.	152	<i>Methylobacterium</i> sp.	検出不能
LL膜	<i>Burkholderia pickettii</i>	107	<i>Burkholderia pickettii</i>	106
	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	42	従属栄養細菌(グラム陰性桿菌)	35
ROタンク	好気性菌の発育を認めず	0	好気性菌の発育を認めず	0

池田病院 RO装置：JWS社製 MIZ752 - H+LL-02+EUF-01

る。そして基準に従えば清浄化はおのずと達成するということである。この新しい考え方に基づいて日本透析医学会は2008年に水質管理基準である<sup>10)</sup>。エンドトキシ単位は、これまでEU/リットルで表していましたが国際基準値に従う為にEU/mLとなった。エンドトキシカットフィルターは、現在エンドトキシリテンティブフィルター阻止フィルターにいうことになった。もっとも重要なことは、EDTAベストプラクティスガイドラインと同じように超純粋透析液を全ての透析療法への推奨である。測定頻度は、九州HDF検討会などの基準でみられるように2週間ごとすべての透析機器を測ったものではなく、システムが安定するまで当然2週間ごとに測定する。しかしながら透析液製造者、これは各施設の透析機器安全管理委員会で代行し、バリデーションされたと判断されたのちには、毎月全ての末端透析装置および補充液を測定する。

オンライン補充液に関しては、透析液製造者によってバリデーションされた状態においてのみ使用可能である。そのため透析機器安全管理委員会の承認ならびに保証のもとで使用される必要となった。

5) 透析液清浄度と死亡リスク

日本透析医学会2007年統計調査データでの透析液清浄度と死亡リスクではエンドトキシ値が0.1EU/ml以上の施設では有意に1年の死亡率が高いことが示され、標準透析液ET基準の妥当性が証明された。

さらに超純粋透析液 Ultra-pure dialysis fluid言うことばを定め、ISOと同じエンドトキシ0.001 EU/mL未満、細菌数では0.1 CFU/mL未満である。JSDTではオンライン補充液を作製する透析液、逆濾過透析液を積極的に用いる透析装置たとえば全自動透析装置、プッシュアンドプルHDF透析装置、内部濾過促進型透析等、基本的にすべての透析療法に推奨している。

Ⅷ 透析液水質管理概要について

目標基準値の設定はCDDSでは上流から下流まで清浄エリアが存在し、担保するように管理する。透析用水に用いる原水は、水道水のみ使用する施設は基準値が担保されているとみなし水質確認を免除される。しかし自施設が供給を受ける水道業者、水道局に対して最新の水質結果データの開示を要求し、文章として最低5年間保管する。尚、水道水以外の原水を単独または併用する施設では水質の

確認を定める水質検査計画を策定し、その計画に則り適切に検査をする。

透析用水基準はISO13959とISO/CD23500に準じ、水質管理は年1回以上行い、測定結果を文書で最低5年間保証する。ただし原水の水質項目と重複する化学物質については原水中の化学物質濃度が管理目標値以下のものに限り、測定を免除する。しかし透析用水管理では、水質基準項目以下であっても逆浸透圧装置が100%担保できていない現状である。また消毒副生成物も検出されることから、微量な水質汚染物質により臨床症状が報告ある(図12)。つまりCDDS管理を取り入れたバリデーション概念は現在では汚染が存在することが前提、汚染の程度を把握、下流へ汚染が影響しないシステムを構築、システムのバリデーションが必要となる。CDDSのバリデーションに欠かせないのが、現在ETRF前で日本透析医学会基準の標準透析液の水質を前提として、超純粋透析液を得るためには、常用

図12 水質汚染物質による臨床症状

症状	原因となり得る汚染物質
貧血	アルミニウム、クロロミン、銅、亜鉛
骨疾患	アルミニウム、フッ素
溶血	クロロミン、銅、硝酸塩
高血圧	カルシウム、ナトリウム
低血圧	銅、エンドトキシン、硝酸塩
代謝性アシドーシス	低PH、硫酸塩
筋力低下	カルシウム、マグネシウム
悪心、嘔吐	銅、カルシウム、銅、エンドトキシン、マグネシウム、硝酸塩、硫酸塩、亜鉛
神経系、脳症	アルミニウム

消毒副生成物の毒性

人体への影響	
発ガン性	膀胱がん・結腸がん・直腸がん
生殖・発生毒性	流産・死産・神経毒素・奇形 低体重児の出産、胎児の生育不良

対数減少値(logarithmic reduction value)で、ETは2以上、細菌は4以上の性能を維持すべきである(図14)。また2010年よりオンラインHDF・HFおよび逆ろ過透析装置が導入され、そのバリデーションを担保出来るのが内臓型のETRFである。コンセプトは2本のETRFのリークを自動に行い、単一故障においてもオンライン補充液の水質がクリアでき

図14 透析装置用ETRFの仕様

メーカー	日機装(株)	(株)ジェイ・エム・エス	東レ・メディカル(株)	ニプロ(株)	フレゼニウス・メディカルケア・ジャパン(株)	ガンプロ(株)
商品名	カットール EF-02	JP-80	TET-1.0	CF-609N	DIASAFE Plus	ウルトラフィルター U-8000S
膜材質	PEPA (疎水性)	PES (疎水性)	PS	PES (疎水性)	PS	PAES
膜面積 (m <sup>2</sup> )	1.0	0.8	1.0	0.6	2.2	2.1
膜厚 (μm)	50	65	40	150	40	50
中空糸内径 (μm)	210	210	200	500	200	215
分画分子量 (Dalton)	30,000	75,000	30,000	6,000	LRVによる表示 ET > 6	LRVによる表示 Bacteria > 7 ET > 3.5
推奨交換時期	750時間 または3ヶ月	6ヶ月	薬液洗浄100回 または3ヶ月	3ヶ月	100回(治療回数) または12週間	洗浄・消毒により、ETの数値改善が見られない際、高濃度薬液・熱水使用の場合は1ヶ月
推奨消毒方法	次亜塩素酸Na 0.4%以下  酢酸 2%以下  熱湿クエン酸 2w/v%以下	次亜塩素酸Na 0.02~0.05%以下 消毒時間: 30~60分 貯留時間: 0~30分 夜間貯留: 24時間以下 (50ppm以下) 実施頻度: 毎日  酢酸 0.5~1.0%以下 洗浄時間: 30~60分 貯留時間: 30~60分 実施頻度: 週2回以上	次亜塩素酸Na 0.02~0.1% 消毒時間: 20~60分  過酢酸 (クリネード-502) 0.01~0.04% 消毒時間: 20~60分  酢酸 1%以下 消毒時間: 20~60分	次亜塩素酸Na 消毒時間: 1000ppm 500mL/min×1hr以内 貯留時間: 300ppm 6~48hr  過酢酸系洗浄剤 (ダイアステイル) 消毒時間: 過酢酸濃度200ppm 500mL/min×1hr以内 貯留時間: 過酢酸濃度100ppm 6~48hr  酢酸 2%以下 貯留含めて1hr以内	高温薬液洗浄 ヒドロキシ酢酸 消毒時間: 10分間 80℃以上	過酢酸 0.1%以下 炭酸Na 2%以下 次亜塩素酸Na 0.5%以下 クエン酸 2%以下  ・毎日の消毒作業 ・定期的な洗浄作業 をおこなう事を推奨しており、 その期日・濃度・頻度等の算定は、使用御施設にて確認 設定する事

るように、1本のETRFが完全にリークしても2連目のETRFが基準を担保するように設計されている。各社専用装置（DCG-03, GC-110N, TR-3000M, NCV-2）は安心・安全に使用するETRF基準を添付文章に定めている（図15）。

今後、各施設の透析液安全管理者（医師または臨床工学技士）が製造者としての責任を求められ、日本透析医学会では医療機器安全管理委員会を設置して、透析装置のバリデーションを推奨する。そのためには、透析教育修練カリキュラムの作成、透析液管理マニュアル作成、管理記録、測定記録の保管を義務づけている。

【まとめ】

透析液水質基準は、全ての施設で遵守し、透析機器安全管理委員会を設置し透析療法でのUltra-pure dialysis fluid標準化に備え、透析液製造工程の安全管理者（医師または臨床工学技士）であることを認識し、専門知識の履修と情報収集に努めて業務に反映し透析液清浄化を維持していくことが必要である。

透析液清浄化管理をバリデーション構築できるのは、透析液清浄化ガイドラインVer2.0作成した日本臨床工学技士会の存在である。

参考文献

- 1) Henderson LW, Koch KM, Dinarello CA, Shaldon S: Hemodialysis hypotension: The interleukin hypothesis. Blood Purif 1:3-8, 1983
- 2) Stenvinkel P, Heimburger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergstrom. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). J.Nephrol Dial Transplant. 2000 Jul;15 (7):953-60.
- 3) The EBPg expert group on Hemodialysis. European best practice guideline for hemodialysis (part1), Section IV.Dialysis fluid purity.Nephrol Dial Transplant 17 (suppl 7) :45-62,2002
- 4) 日本透析医学会編：わが国の慢性透析療

図15 各社専用装置のETRFに関する要点

<p style="text-align: center;"><b>オンライン置換液・ETRF基準 –DCG03–</b></p> <p>1) 透析用水の水質は、社団法人日本透析医学会で制定された最新の「オンライン補充液の水質基準に関する要求事項」における「透析用水」に適合すること。</p> <p>2) オンラインHDF/HF治療においてオンライン補充液を使用する場合          ① オンライン補充液の水質は、社団法人日本透析医学会で制定された最新の「オンライン補充液の水質基準に関する要求事項」における「オンライン補充液」に適合すること。          ② オンライン補充液の水質を担保するため、微粒子ろ過フィルタEF-02（エンドトキシン補足フィルタ）でろ過する前の透析液の水質は、社団法人日本透析医学会で制定された最新の「オンライン補充液の水質基準に関する要求事項」における「標準透析液」に適合すること。          ③ オンライン補充液の水質を担保するため、クエン酸による熱湯薬液消毒又は次亜塩素酸ナトリウムによる薬液消毒を「取扱説明書」に従って実施すること。</p> <p>3) 微粒子ろ過フィルタ（エンドトキシン補足フィルタ）は、150透析又は750時間のいずれかに達したとき交換すること</p>	<p style="text-align: center;"><b>オンライン置換液・ETRF基準 –GC-110N–</b></p> <p>1) 本品のオンライン血液透析濾過機能を使用する場合、「透析用水」及び「オンライン補充液」は日本透析医学会水質管理基準に従い、水質の維持管理を行うこと。</p> <p>2) さらにオンライン補充液の水を担保するため、本品に接続する手前の箇所の透析液の水質についても、日本透析医学会水質管理基準の「標準透析」の水質管理の基準を適用し、水質の維持管理を行うこと。また、本品のオンライン血液透析濾過機能を使用する場合、本品のエンドトキシン捕捉フィルタは、少なくとも6か月に1回の頻度で交換すること。</p> <p>なお、社団法人日本透析医学会により、日本透析医学会水質管理基準の変更があった場合は、その最新の基準を採用し、それに適合すること。</p>
<p style="text-align: center;"><b>オンライン置換液・ETRF基準 –TR-3000M–</b></p> <p>1) オンラインHDF/HF治療を施行する場合は、社団法人日本透析医学会が定める透析液水質基準と血液浄化器性能評価基準2008委員会報告の「オンライン補充液の水質基準に関する要求事項」に適合すること。</p> <p>2) オンライン補充液の水質を担保するため、本装置に入る透析液の水質は、社団法人日本透析医学会で制定された透析液水質基準と血液浄化器性能評価2008委員会報告の「オンライン補充液の水質基準に関する要求事項」における「標準透析液」に適合すること。</p> <p>3) オンラインHDF/HF治療を施行する場合の、ETRF管理基準          A. ETRFは2連で使用すること。          B. ETRFは3ヶ月で交換すること。          またETRFの部品寿命注意報が作動したとき、速やかにETRFを交換すること。          C. 透析準備時にETRF診断を行うこと。</p>	<p style="text-align: center;"><b>オンライン置換液・ETRF基準 –NCV-02–</b></p> <p>1) オンラインHDF/HFに使用する場合は、社団法人日本透析医学会が定める最新の「オンライン補充液の水質基準に関する要求事項」に適合すること。</p> <p>2) オンラインHDF/HFに使用する場合は、精密限外濾過フィルタ(ETRF)の管理基準          (1) 使用方法          ・指定のETRFが2本取り付けられていること。          指定ETRF:CF-609N(ニプロ製)          ・透析前準備工程にてETRFの漏れチェックを実行すること。          ・取扱説明書で指定された方法により消毒すること。          (2) 交換時期          ・6ヶ月毎に交換すること。</p>

- 法の現況2008年12月31日現在.
- 5) Lonnemann G, Behme TC, Lenzner B, Floege J, Schulze M, Colton CK, Koch KM, Shaldon S. Permeability of dialyzer membranes to TNF alpha-inducing substances derived from water bacteria. *Kidney Int.* 1992 42:61-8.
  - 6) Evans RC, Holmes CJ. In vitro study of the transfer of cytokine-inducing substances across selected high-flux hemodialysis membranes. *Blood Purif.* 1991;9(2):92-101.
  - 7) Danner RL, Natanson C, Elin RJ, Hosseini JM, Banks S, MacVittie TJ, Parrillo JE. *Pseudomonas aeruginosa* compared with *Escherichia coli* produces less endotoxemia but more cardiovascular dysfunction and mortality in a canine model of septic shock. *Chest.* 1990;98:1480-7.
  - 8) Schindler R, Beck W, Deppisch R, Aussieker M, Wilde A, Göhl H, Frei U. Short bacterial DNA fragments: detection in dialysate and induction of cytokines. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:3207-14
  - 9) 秋葉 隆, 川西秀樹, 峰島三千男, 他: 透析液水質基準と血液浄化器性能評価基準2008. *透析会誌*41: 159-67, 2008
  - 10) International Organization for Standardization.  
ISO23500: 2011 Guidance for the preparation and quality management of fluids for haemodialysis and related therapies.
  - 11) 南 伸治, 荒川昌洋, 矢野森裕, 田付和子, 平井康裕, 牧尾健司, 山本 桂, 前田直人, 瀬野 誠, 霜島正浩: 大阪府における透析液及び透析用水の細菌培養実態調査結果. *日本臨床工学技士会誌*No.31 2007: 39-42, 2007
  - 12) 南伸治, 荒川昌洋, 田付和子, 牧尾健司, 山本桂, 前田直人, 瀬野誠, 霜島正浩, 武本佳昭: 大阪府下195施設における透析液および透析用水の細菌培養実態調査結果. *大阪透析研究会会誌* 27(1):71-76 2009
  - 13) 酒井良忠: ISO水質基準の動向. *腎と透析*, 61; 別冊HDF療法06:8-10, 2006.
  - 14) Van der Linde, K., Lim, B.T., Rondeel, J.M., Antonissen, L.P., and de Jong: Improved bacteriological surveillance of haemodialysis fluids: a comparison between Tryptic soy agar and Reasoner's 2A media. *G.M. (1999) Nephrol. Dial. Transplant.*, 14, 2433-2437
  - 15) J.D.REASONER and E.E.GELDRICH: A New Medium for the Enumeration and Subculture of Bacteria from Potable Water. *APPLIED and ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY.*, 1985. 49(1), 1-7
  - 16) Ted Pass, Rita Wright, Bill Sharp, George B. Harding: Culture of Dialysis Fluids on Nutrient Rich Media for Short Periods at Elevated Temperatures Underestimate Microbial Contamination. (1996) *Blood Purif.*, 14, 136-145
  - 17) Ingrid Ledebø and Rolf Nystrand: Defining the Microbiological Quality of Dialysis Fluid. (1999) *Artificial Organs.*, 23(1), 37-43
  - 18) 井越忠彰: エントトキシン除去フィルター (ETRF) の性能評価. *腎と透析* Vol. 65 別冊HDF療法'08, 日本HDF研究会編, 東京, 2008, 20-30
  - 19) 秋澤忠男, 川西秀樹, 平方秀樹, 他: オンラインHDF/HF治療への使用を意図した人工腎臓装置と水質基準に関し要求される事項の提言. *透析会誌*42: 419-22, 2009
  - 20) 北野雅昭, 福山 二: 大阪市河川のVBNC大腸菌群の挙動について. *大阪市立環科研報告* 平成18年度 第69集, 25~29 (2007)
  - 21) 日本臨床工学技士会 事業部 透析液等WG: 透析液清浄化ガイドラインVer2.0,

2011

- 22) 医療現場における洗浄（中央滅菌材料室編）2003,9-11
- 23) 日本透析医学会編：わが国の慢性透析療法の現況2007年12月31日現在.