CAPD における細菌性腹膜炎の基礎的検討： CAPD 排液中の細菌増殖動態について

松田 聖士 浅野 元脩 栗山 学* 江崎 奈々*
永井 司* 岡野 学* 伊藤 康久* 斉藤 昭弘*
出口 隆* 河田 幸道*
博愛会総合病院泌尿器科・内科 岐阜大学泌尿器科*

key words : CAPD, CAPD 腹膜炎, CAPD 灌流液, 細菌増殖

〈要旨〉

CAPD に関連した腹膜炎起炎菌として検出されやすい *S. epidermidis*, *S. aureus* の増殖動態を 1.5% Dianeal™ 液および同液を使用して CAPD を継続中の 1 例から得られた CAPD 排液 (peritoneal dialysis effluents) とで比較, 検討した。両菌種とも Dianeal™ 液中では増殖が抑制されたが, CAPD 排液中では生菌数は培養開始 6 時間目まではほぼ不変であったが, 24 時間目ではむしろ増殖傾向を示した。浸透圧, ブドウ糖, 総タンパク質, pH は, 24 時間の検討期間中不変であった。一方, 6 時間目までは生菌数の増加があまりないという結果は毎 6 時間の CAPD 液交換が腹膜炎発症予防には有利であるとも考えられた。

Fundamental study of bacterial peritonitis in CAPD : analysis of bacterial growth in peritoneal dialysis effluents

Seiji Matsuda, Gensyu Asano, Manabu Kuriyama*, Nana Esaki*, Tsukasa Nagai*, Manabu Okano*, Yasuhisa Ito*, Akihiro Saito*, Takashi Deguchi*, Yukimichi Kawada*

Departments of Urology and Internal Medicine, Hakuaikai General Hospital ; Department of Urology, Gifu University School of Medicine*

Bacterial growth was examined in both 1.5% Dianeal™ and peritoneal dialysis effluents (PDE) obtained from a 29-year-old female patient receiving CAPD treatment with Dianeal™. *S. epidermidis* and *S. aureus* were selected because they were the most frequently isolated microorganism causing CAPD-related peritonitis. Growth of bacteria was inhibited in the Dianeal™, but they persisted until the sixth hour and tended to increase in number until the twenty-fourth hour after inoculation. Although PDE is influenced by many factors affecting bacterial growth such as osmolarity, glucose, proteins, and pH, the most important factor enabling the bacteria to grow in the setting of PDE could not be identified. The fact that the bacteria did not increase in number until the 6th hour suggested that it is advisable to exchange CAPD fluid every six hours to prevent CAPD related peritonitis.

緒言

CAPD に関連した腹膜炎の発症機序の解明は, 依然, 重要である。我々は CAPD 用の灌流液 (Dianeal™ 液) が *S. epidermidis*, *S. aureus* に対してその増殖を抑制する性質を有することを先に報告した¹⁾。しかし, この結果は腹膜炎起炎菌として検出される頻度が最も高い菌種がこれら *S. epidermidis*, *S. aureus* などのグラム陽性球菌

であるという事実とは符合しにくい。そこでこの矛盾について解明すべく Dianeal™ 液を使用して施行された CAPD 患者から得られた排液を用いてこれら球菌の増殖動態面から基礎的検討を加えた。

対象および方法

CAPD 腹膜炎の起炎菌として多く検出されているグラム陽性球菌として標準株から *S. epidermidis*

IAM1296 (*S. epidermidis*), *S. aureus* FDA209P (*S. aureus*) を選択した。細菌を trypticase soy broth (TCSB) で overnight culture して増菌させ、菌液を Baxter 社の 1.5% Dianeal™ 液を使用した採取直後の CAPD 排液 (peritoneal dialysis effluents, PDE) 10 ml 中に 10^1 , 10^3 , 10^5 cfu/ml の濃度となるように調整した。CAPD に関連した腹膜炎がいかなる菌数で発症してくるのかは現時点では不明であるので、尿路感染症における起炎菌の定義が 10^5 cfu/ml 以上とされている点を考慮して本研究にでも 10^5 cfu/ml という菌数を選択し、そこから 2log ずつ減少させた菌数を採用することにした。被験液は CAPD 歴 4 年の 29 歳女性の CAPD 排液であり、計 10 回にわたって日時を別にして採取し、毎回排液中の白血球数が 1 個/mm³ 以下であることが確認されている。この患者は過去 3 年間腹膜炎の既往はない。これらの細菌含有被験液を 37°C・24 時間培養し、培養開始直後ならびに 6, 24 時間後の ① 生菌数, ② 浸透圧値, ③ ブドウ糖値, ④ 総タンパク質濃度, ⑤ pH 値の経時的変化を追跡した。生菌数定量は血液寒天培地を使用した平板培養法と, biophotometer (BIO-LOG II) による濁度測定法を併用した。また、ブドウ糖値の測定は酵素電極

法、浸透圧値は凝固点降下法、総タンパク質濃度はビウレット法に基づいた比色法、pH 値はガラス電極法により測定した。各実験は 5 回ずつ反復して施行し、実験に使用した 1.5% Dianeal™ 液と PDE の組成成分も併せて比較した。

結果

1. Dianeal™ 液と PDE との比較

実験に供した 1.5% Dianeal™ 液と今回検討した PDE との違いを表に示した。PDE は Dianeal™ 液と比較して浸透圧値、ブドウ糖値が低く、pH 値が高い結果であった。また、若干の尿素窒素、タンパク質、FDP を含んでいた。

2. 生菌数の変遷

S. epidermidis の生菌数の消長を図 1 に示した。実線が PDE、破線が Dianeal™ 液中の菌数であり、図の左側が 10^5 cfu/ml 接種、中央が 10^3 cfu/ml 接種、右側が 10^1 cfu/ml 接種の場合である。Dianeal™ 液中では菌の増殖が抑制されるものの、PDE 中では 24 時間後には 15 例中 8 例 (53%) が抑制または静菌状態のままであったが、残りの 7 例 (47%) は 1 あるいは 2log の増殖を示した。次に *S. aureus* 培養時の生菌数の変遷を図 2 に示した。Dianeal™ 液中では抑制され、PDE 中では 6 時間後にはほぼ不変であったが、24 時間後には 15 例中 9 例 (60%) で 1~2log の増殖を示し、残りの 6 例 (40%) は抑制されなかったが静菌状態のままであった。これは *S. epidermidis* と比較すると本菌の方が若干、増殖しやすい傾向を示唆するものかも知れないが、さらに検討しなければ断定できない事象である。

3. PDE の浸透圧、ブドウ糖、総タンパク質、pH の変化

細菌培養中の PDE の浸透圧値の経時的な推移を求めた。*S. epidermidis* 10^5 cfu/ml 接種時で 1 回のみ、大き

表 Differences between Dianeal™ and Peritoneal Dialysis Effluents (PDE).

	1.5% Dianeal™ (n = 10)	PDE (n = 10)
osmolarity (mOsm/l)	334±1	306±6
glucose (mg/dl)	1,410±30	470±94
pH	5.0±0.2	7.9±0.2
BUN (mg/dl)	0	44.0±10.1
TP (mg/dl)	0	83.0±30.2
FDP (mcg/ml)	0	6.9±1.7

図 1 Growth of *S. epidermidis* in peritoneal dialysis effluents (PDE) and Dianeal™. *S. epidermidis* was suppressed to grow in 1.5% Dianeal™ after 24 hour-culture. In PDE, 8 of 15 cases (53%) were remained or decreased in number. On the contrast, 7 cases (47%) were increased.

図 2 Growth of *S. aureus* in peritoneal dialysis effluents (PDE) and Dianeal™. *S. aureus* was suppressed to grow in 1.5% Dianeal™ after 24 hour-culture. In PDE, 6 of 15 cases (40%) were remained in number. On the contrast, 9 cases (60%) were increased.

く低下した例があった以外はほとんど変化しておらず、統計学的にも有意な差をみていない。同様に PDE のブドウ糖値、総タンパク質濃度、pH 値の推移を追跡した。いずれもその経時的変化は統計学的に有為な差は認め得ず、両菌種間、あるいは接種菌数の違いによる差異は認めなかった。

考察

一般に *S. epidermidis*, *S. aureus* は Dianeal™ 液中では増殖が抑制されるという報告が多い¹⁻³⁾。一方、その Dianeal™ 液を使用して得られた CAPD 排液を利用した *in vitro* の検討ではこれらの細菌の増殖は抑制されないことが判明した。その機序を解明するため、まず今回の実験に供した両液の組成の違いを分析すると PDE は透析後の腹水を含有するために浸透圧値、ブドウ糖値、pH 値がより体液に近い生理的な数値に近づいていることがわかった。特に、pH の中性化とタンパク質の存在が菌の生育をさらに助長しているものと想像される⁴⁾。これら諸要素の中で特に関係が深い因子を探索するためには、PDE と Dianeal™ 液とで、他の条件を同一にしてある単独の因子のみを異なるようにして細菌の増殖動態を観察すれば良いわけであるが、これは後述するように簡単にはいかない。第 1 に実際の CAPD 施行者の腹腔内では前述の諸要素の変化は持続的に、かつ経過時間とは必ずしも比例せずに進行している可能性があること、第 2 にこれら諸要素は、例えばブドウ糖値が変化すれば浸透圧値も変化するというように連動して変化していると考えられるからである。そこで混乱を避け、簡素化して解析するために細菌の増殖につれて変動する因子を検出すべく、細菌培養中の PDE についてこれら諸要素の経時的変化を調べることにした。得られた結果は 24 時間の観察期間内では浸透圧値、ブドウ糖値、総タンパク質濃度、pH 値いずれもほとんど一定であった。各要素ともこ

の程度の生菌数の変動では影響を受けないためかも知れないが、詳細は明確にできないままであった。PDE 中の細菌増殖を有利に導く因子の究明は、別の実験系を用いて行う必要があると考えられた。しかし、より生理的な組成の液体内の方が菌の発育に好都合であるとみなすことは自然であり、許容しやすいものであろう。

近年、細菌増殖を規制する要因として、遊走細胞である macrophage が low pH の環境では貪食能が低下するとの報告^{5,6)}、あるいは IL-6, TNF α などの cytokine 放出が CAPD 液では抑制され、しかも、それが NaCl, ブドウ糖といった個々の浸透圧形成物質による差ではなく、浸透圧そのものが抑制因子である⁷⁾などが言及されている。これらの現象が直ちに、細菌の増殖能とは必ずしも結びつかないと思われるが、PDE 中の細菌の繁殖のしやすさを支持するものと推察される。

一方、PDE 中の *S. epidermidis*, *S. aureus* の増殖動態を観察すると、培養開始 6 時間目では、いずれの接種菌数でも生菌数がほぼ不変であった。これは CAPD のバッグ交換が約 6 時間毎になされている現状には好都合であろう。除水または透析効率の面から 6 時間毎の交換が施行されているのであるが、図らずも、これら球菌については 6 時間までは増殖も鈍く、腹膜炎発症予防に適合していると考えられる。このため、いたずらに長時間の腹腔内への貯留は好ましくないと考えられた。

結語

1. Dianeal™ 液中では *S. epidermidis*, *S. aureus* の増殖は抑制された。一方、Dianeal™ 液を使用した CAPD 排液 (PDE) 中では抑制されにくく、むしろ増殖傾向を示した。

2. PDE 中の浸透圧、ブドウ糖、総タンパク質、pH は検討期間中、有意な変化を示さなかった。

3. PDE 中では、6 時間後でも *S. epidermidis*, *S.*

aureus の増殖の程度はわずかであり、この意味からも 1 回 6 時間、1 日・4 回の CAPD 液交換は腹膜炎発症予防の観点からも有利であると考えられた。

文献

- 1) 松田聖士, 浅野元脩, 栗山 学, 江崎奈々, 永井 司, 岡野 学, 伊藤康久, 斉藤昭弘, 出口 隆, 河田幸道 : CAPD における細菌性腹膜炎の基礎的検討 : Dianeal™ 中の細菌増殖動態について. 透析会誌 25 : 1113-1118, 1992
- 2) Verbrugh HA, Keane WF, Conroy WE, Peterson PK : Bacterial growth and killing in chronic ambulatory peritoneal dialysis fluid. J Clin Microbiol 20 : 199-203, 1984
- 3) Kuriyama M, Kawada Y : Cooperative research for CAPD associated peritonitis. In : Abstract of Vth Congress of the International Society for Peritoneal Dialysis, p 58, Kyoto, 1990
- 4) Horton MW, Deeter RG, Sherman RA : Treatment of peritonitis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. Clin Pharmacology 9 : 102-118, 1990
- 5) Vas SI : Microbiologic aspects of chronic ambulatory peritoneal dialysis. Kidney International 23 : 83-92, 1983
- 6) Topley N, Mackenzie R, Peterson MM, Beavis MJ, Faict D, Peluso F, Coles GA, Davies M, Williams JD : Histidine buffered peritoneal dialysis fluids (HDF) : Phagocyte function and mesothelial cell viability studies. Proc 28th EDTA/ERA p 119, 1992
- 7) Jorres A, Topley N, Schindler R, Muller C, Steenweg L, v Hirschheydt G, Gahl GM : Inhibition of IL-6 and TNF α release from leukocytes exposed to CAPD fluid : Possible mechanisms. Proc. 28th EDTA/ERA p 123, 1991