過酢酸 (peracetic acid) による血液透析機器の 殺菌および洗浄の検討

加藤 政雄 杉浦 美宏 神谷 映里 櫻井 尚
新 典雄 宮本 晃子 大橋 篤 村上 和隆*
長谷川 寛* 川島 司郎*

藤田保健衛生大学病院腎センター 同腎内科*

Key words : 血液透析, 過酢酸, 消毒洗浄, 血液透析機器

〈要旨〉

過酢酸は殺菌作用と洗浄作用を持つ消毒剤であるが、これを血液透析終了後の透析液回路の消毒と洗浄に用いた場合の有用性について検索した。まずはじめに、過酢酸原液の過酢酸と過酸化水素の濃度を滴定法により測定した。過酢酸原液の含有量は過酸化水素 30%、過酢酸 6% であった。次いで過酢酸原液で個人用透析機を消毒し、その洗浄排水中の過酢酸の残留濃度を測定した。消毒時の過酢酸濃度は 0.131%、30 分の洗浄後 0.008%、60 分の洗浄後 0.005% 以下であった。この結果より水洗時間は 60 分ほどで充分と考えられた。次に過酢酸の殺菌効果を次亜塩素酸 Na と比較するために大腸菌などの細菌を殺菌する試験管内実験を行った。種々の濃度に希釈した過酢酸と次亜塩素酸 Na 溶液に約 10^9 cfu/ml の細菌を含む各種の細菌液を注入した。この溶液から検体を経時的に取り出して、BHI ブイヨン 2 ml で 37°C、48 時間培養し、その殺菌効果を見た。0.1% の過酢酸溶液は *Candida albicans* に対し 30 秒で殺菌効果があり、次亜塩素酸 Na は 5 分で殺菌効果があった。多人数透析機とその透析液供給回路を 0.1% の過酢酸で消毒した後、洗浄液の細菌数とエンドトキシン濃度を測定した。細菌数は消毒前 5~66 cfu/ml から消毒後 0~1 cfu/ml に、エンドトキシンは 123.9 ± 37.3 EU/l から 66.2 ± 23.0 EU/l に減少した。過酢酸の洗浄効果を評価するために洗浄後の排水側のシリコン管の内表面をポンソー 3R と亜硝酸銀で染色し、それぞれ蛋白と Ca の除去効果を見たが、蛋白、Ca の残存は観察されなかった。また、走査電顕による観察でもシリコン管の表面に残渣は見られなかった。

The germicidal and cleansing effects of peracetic acid on hemodialysis equipment

Masao Kato, Mihiro Sugiura, Eri Kamiya, Hisashi Sakurai, Norio Nii, Akiko Miyamoto, Atsushi Ohashi, Kazutaka Murakami*, Hiroshi Hasegawa*, Shiro Kawashima*

Kidney Center and Department of Nephrology*, Fujita Health University Hospital

We studied the effectiveness of peracetic acid, a sterilizing agent that has both germicidal and cleansing effects, in cleaning dialysis machines after hemodialysis. Titration of the peracetic acid solution revealed that it contained 30% hydrogen peroxide and 6% peracetic acid. Next, we measured the residual concentration of peracetic acid in the dialysis effluent after using peracetic acid to sterilize personal dialysis machines. Immediately after the cleaning, the peracetic acid content was 0.131%, and this value had dropped to 0.008% and 0.005% at 30 and 60 min, respectively, after rinsing. Based on these results, we suggest that 60 min is adequate for rinsing.

To compare the sterilizing effects of peracetic acid with those of sodium hypochlorite, we tested both

substances against bacteria in a test tube, including colon bacteria. Suspensions of bacterial cultures at 10^9 cfu/ml were added to separate solutions of peracetic acid and sodium hypochlorite at various concentrations. In order to determine the effectiveness of the sterilizing agents, samples were routinely taken from these test tubes, then incubated in 2 ml of BHI broth for 48 hr at 37°C . The solution containing 0.1% peracetic acid was effective against *Candida albicans* in 30 sec, while the sodium hypochlorite solution required 5 min.

After cleaning the proportioning system and its supply channels with 0.1% peracetic acid, we determined the number of bacteria and the endotoxin concentrations in the effluent. The bacterial count dropped from 5~66 to 0~1 cfu/ml after cleaning and the endotoxin concentration decreased from 123.9 ± 37.3 to 66.2 ± 23.0 EU/l.

To assess the cleansing effect of peracetic acid, silicon tubing exposed to the post-cleansing effluent was stained with Ponceau 3R and silver nitrous acid. No deposits of protein or calcium on the inner side of the tubing were detected by scanning electron microscopy.

We concluded that peracetic acid is effective for sterilizing and cleansing personal dialysis machines.

緒言

従来血液透析終了後の機器や透析液回路配管の殺菌・洗浄には、次亜塩素酸 Na をはじめ種々の薬液が用いられてきた。しかし、次亜塩素酸 Na は残留すると溶血を起こす恐れ¹⁾などの問題があり、使用後に大量の水で十分水洗する必要がある。またハイパフォーマンス透析では、糖や蛋白などが排液内に流出して透析機器や配管内が細菌繁殖の温床となる恐れがあるため、より効果的な殺菌洗浄が必要となった。そこで今回我々は即効性の殺菌力と強い洗浄力を持つといわれる過酢酸(peracetic acid)の効果を確認するため次のような実験を行った。

方法および結果

実験 1：過酢酸原液濃度の滴定法による測定²⁾

過酢酸は過酸化水素と酢酸の化学反応により生成されるが、溶液中で常に反応しあって安定化している。過酢酸原液の過酢酸濃度および過酸化水素の含有量は次のように求めた。

測定試薬としてヨウ化カリウム(固体)、25%硫酸特級、1%デンプン溶液、1/10 Nチオ硫酸ナトリウム標準液、1/10 N過マンガン酸カリウム標準液を用意し、以下の滴定法を実施した。過酸化水素濃度は、試料 5 ml に冷却した 25%硫酸 20 ml を加え、1/10 N過マンガン酸カリウムを滴下して、無色の試料液が淡いピンク色を呈したところを滴定の終点とし、図 1 の上式より求めた。

$$\text{過酸化水素濃度}\% = \frac{\text{過マンガン酸カリウム量} \times 0.0017 \times f}{5 \times \text{試料の比重}} \times 100$$

$$\text{過酢酸濃度}\% = \frac{\text{チオ硫酸ナトリウム量} \times 0.0038 \times f}{5 \times \text{試料の比重}} \times 100$$

f: 標準液のファクター

図 1 滴定法による過酸化水素および過酢酸の濃度測定

図2 滴定法による個人用透析機 DBB-72 での過酸化水素および過酢酸の残留量の測定結果

次に、過酢酸の測定は以下のごとくである。先の試料液にヨウ化カリウムの結晶を加えると褐色を呈するが、これを1/10 Nチオ硫酸ナトリウム標準液で滴定し、淡黄色になったところで1%デンプン溶液を加えると試料は紫色を呈する。これをさらに1/10 Nチオ硫酸ナトリウム標準液で滴定し、無色になったところで終点とし図1の下式より過酢酸の濃度を求めた。

以上の測定結果より過酢酸溶液原液の過酸化水素と過酢酸の含有量は、過酸化水素30%・過酢酸6%であった。

実験2：個人用透析機の殺菌・洗浄後の過酢酸および過酸化水素の排液中残留濃度測定

過酢酸で個人用透析機（日機装 DBB-72）の殺菌・洗浄を実施した。前水洗30分・過酢酸消毒30分・後水洗120分と次亜塩素酸 Na の消毒と同条件で行い、後水洗30分毎の排液中の過酸化水素と過酢酸の残留濃度を上記と同様に滴定法で測定した。

その結果、図2のように過酸化水素は後水洗前で0.515%、30分後で0.003%以下、過酢酸は後水洗前で0.131%、30分後で0.008%、60分で0.005%以下であった（DBB-72の場合、23 mlの薬液が約50倍に希釈され1,150 mlで洗浄）。

実験3：簡易試験紙 Per Oxide-Test による個人用透析機および多人数用透析機の殺菌洗浄後の排液中残留過酸化物測定

Per Oxide-Test は、溶液に試験紙を浸けて30

Merckoquant 10011 Peroxid-Test

：水溶液中過酸化物の検出法（検液（pH2～12）に試験紙を約1秒間浸し、15秒にて比色判定）

図3 試験紙による個人用透析機と多人数用透析機での残留過酸化物濃度測定結果

秒後の呈色より残留過酸化物を測定する簡易試験紙法である。実験2と同条件で洗浄を行い10分毎の排液内の残留過酸化物の測定をこの試験紙を用いて行った。その結果、図3のように DBB-72 の洗浄では水洗40分後で感度以下であり、多人数用透析機（日機装社 DCS-22）では30分後で感度以下を示した。

以上の実験より、過酢酸で殺菌・洗浄した場合の後水洗は30～60分程度で充分と考えられた。

実験4：過酢酸と次亜塩素酸 Na の殺菌効果の比較（図4）^{3～5)}

過酢酸と次亜塩素酸 Na の殺菌効果を比較するため試験管内殺菌テストを行った。被検菌は *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Candida albicans* である。各被検菌液を BHI ブイヨンで初菌数を約 10^6 cfu/ml に培養し、その各1エーゼを図のごとく、種々の濃度に希釈した過酢酸および次亜塩素酸 Na 溶液に接種した。そして菌を接種した各溶液から30秒・1分・2分・5分・10分・15分後に1エーゼずつ取り出して BHI ブイヨン2 ml に植え込み、37℃で48時間培養し、菌の繁殖の有無を判定した。その結果を表に示す。

図 4 試験管内殺菌テストの手技

表 過酢酸の性状および特性

1. 過酢酸と過酸化水素を主要成分としている
2. 即効性で無泡性の酸性殺菌剤である
3. 無色透明な液体で酢酸系の刺激臭がある
4. 皮膚に付着すると火傷になる
5. 原液の pH 1.0 比重 1.13 引火点 40.6℃ (解放時)
6. 25℃以下の換気の良い室内に保存する
7. 貯蔵安定性 約 6 か月
8. 食品製造工場での機械などの殺菌消毒に用いる
9. 反応式
$\text{CH}_3\text{COOH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COOOH} + \text{H}_2\text{O}$

Escherichia Coli に対して 0.005%の過酢酸は 30 秒で、次亜塩素酸 Na は 5 分で殺菌効果があったが、それより低濃度ではほぼ同様な結果であった。

Staphylococcus aureus に対しては、同じ濃度でも過酢酸は短時間で殺菌効果があった。*Pseudomonas aeruginosa* に対しては、過酢酸と次亜塩素酸 Na はほぼ同様な結果を示したが、次亜塩素酸 Na は低濃度でも時間の経過とともに殺菌効果があった。

Candida albicans に対しては、0.1%の過酢酸は 30 秒で、次亜塩素酸 Na は 5 分で殺菌効果があった。0.001%の過酢酸は殺菌効果がなかったが、同濃度の次亜塩素酸 Na は 15 分で殺菌効果があった。以上の結果により、過酢酸の殺菌効果は濃度に依存し、次亜塩素酸 Na は時間に依存すると考えられた。

実験 5：多人数用透析機の殺菌・洗浄に用いた

場合の透析液内細菌数および測定^{3,4)}

試験管内殺菌カテストの結果より、透析業務終了後に 0.01%の過酢酸で B 液タンクを洗浄後、0.1%の過酢酸で多人数用透析機を洗浄し、翌日の透析業務前に各々の場所で透析液を採取し、エンドトキシン濃度とスティック型培地を用いた DIPE スライド法で液中の細菌数を測定した。図 5 はその洗浄行程および条件とその結果を示す。この洗浄条件で各測定部位の細菌数は消毒前 5～66 cfu/ml から消毒後 0～1 cfu/ml に、またエンドトキシンは消毒前 123.9±37.3 EU/l から消毒後 66.2±23.0 EU/l に減少した。

実験 6：過酢酸による洗浄効果の電顕的観察

未使用のシリコンチューブを個人用透析機に接続して血液透析を行い、0.1%の過酢酸で洗浄した後、その効果を確認のため排液側のシリコンチューブの内壁を走査電顕にて観察した。図 7 は 400 倍での観察結果を示す。この結果より過酢酸と次亜塩素酸 Na の洗浄効果は、ほとんど差がないと思われた。

実験 7：過酢酸による蛋白・Ca 除去効果⁴⁾

未使用のシリコンチューブの内壁に人血漿と透析液から生成した Ca を乾燥固着させ、それを個人用透析機に接続し、0.1%の過酢酸で洗浄した後、確認のため排液側のシリコンチューブの内壁を蛋白はボンソー 3 R で、Ca は亜硝酸銀で染色し、観察した。図 8 のように、薬液への留置によ

図 5 試験管内殺菌力試験の結果

ベッドサイドモニターの配置図及び検体採取部位

多人数用装置での過酢酸の殺菌効果

	RO水	透析液		ベッドサイドモニター			
		A液	B液	1	2	3	4
使用前	0	0	66	11	16	2	5
使用后	0	0	0	0	0	1	0

ディップスライド法 cfu/ml

多人数透析機のエンドトキシン濃度の変動

	RO水	透析液		ベッドサイドモニター			
		A液	B液	1	2	3	4
使用前	92.9	1.9	42.9	95.6	178.2	116.9	105.3
使用后			8.1	64.3	90.5	62.6	45.1

エンドスペシー法 EU/l

図 6 過酢酸による多人数装置での測定結果

る蛋白の除去効果は次亜塩素酸 Na が優れていたが、0.1%の過酢酸で洗浄すれば、付着した蛋白は変性し、水流により十分除去された。

考案

過酢酸は、食品工業用殺菌剤としてすでに広く使用されている。過酢酸 (peracetic acid) と過酸化水素を主成分とした即効性で無泡性の酸性殺菌剤で、即効性の殺菌はもちろんのこと静止菌にも有効である。低温域でも芽胞形成細菌や、ウイルスを含む微生物の殺菌に有効で、高い殺菌温度を必要としないのでエネルギーコストを節約できる。高温で使用すれば殺菌時間の短縮も可能である。外観は無色透明な液体で酢酸系の刺激臭があり、無泡性で硬水にも非常に溶解性がよく、任意の割合での混合も可能である。原液は、pH 1.0、比重 1.13、凝固点約 -20°C で、貯蔵安定性は約 6 か月、熱すると爆発するため直射日光を避ける。皮膚に付着すると火傷になるなどの短所もある。表のように安定剤である過酸化水素と常に反応している。一般には乳製品・清涼飲料・ビール・清酒などの食品製造工場で、機械・器具・容器などの殺菌消毒に用いられている²⁾。通常、強酸性の殺菌剤を使用するのでは透析機器の金属部分の腐食が懸念される。しかし、本院での過酢酸の使用期間はまだ 10 か月と短いがこれまでのところ金属

図7 走査電顕による過酢酸の洗浄効果の確認(×400)

図8 染色による過酢酸の蛋白およびCaの除去効果の確認

部分の変化は観察されておらず、これまで種々の金属配管の殺菌洗浄に長期間使用された実績からもその心配はないようである。次に洗浄排水の環境への影響であるが、0.1%の過酢酸が水洗により希釈されて薄くなり水と酢酸になるので、次亜塩素酸Naよりは生物分解性が低く、浄化槽への影響が少ないと考えられ環境に優しい殺菌剤であ

る⁹⁾。次亜塩素酸Naは殺菌力が強く、低コストであるが、溶血などの問題があるため大量の水で十分水洗する必要がある¹⁾。また、透析液回路や透析機械内に沈着したCa塩の溶解力が不十分のため、酢酸やNaOHなどを併用する必要がある。酢酸を用いた場合、水洗が不十分で残留すると、次亜塩素酸Naと化学反応を起こして、有毒な塩

素ガスが発生する恐れがあり、充分な水洗が必要となる。本院での0.1%次亜塩素酸 Na による20台用多人数用透析機器の洗浄は、前水洗と次亜塩素酸 Na 消毒に各30分、後水洗120分の工程を週4回施行し、前水洗と酢酸消毒に各30分、水洗60分、次亜塩素酸 Na 消毒30分、後水洗120分の工程を週2回行っているが、その使用水量は週に約12.6 t である。しかし過酢酸による洗浄では前水洗と過酢酸消毒に各30分、後水洗60分で済み、週6回の洗浄に使用される水量は約7.2 t となり、約40%の水を節約できる。

また、病棟などへの出張透析では個人用透析機を使用しているが、過酢酸を洗浄液とすると薬液が一種類でよくなるため、手技も簡単となる。また消毒薬の使用量が少なく、流出しても環境への影響が少ないなど、有用性の高い殺菌洗浄法といえよう。

結論

過酢酸の殺菌力を次亜塩素酸 Na と比較したが、その殺菌力に遜色はなかった。次亜塩素酸 Na

は、蛋白や Ca の沈着を除去するため酢酸による後洗浄が必要であるが、過酢酸は殺菌力と洗浄能力を併せ持つため、洗浄工程が簡略化され、かつ、水の使用量も少なく短時間で済むなど、極めて有用な殺菌剤と考えられる。

文献

- 1) 川口俊介：次亜素とクロラミン。臨牀透析5：19-27, 1986
- 2) ヘンケル白水株式会社作成：oxonia aktiv 説明書。1975
- 3) 日機装株式会社作成：装置消毒法について。1979
- 4) 安達高久：人工透析機器専用除菌洗浄剤 AMTCE QC-70 の洗浄効果について。透析会誌23：1337, 1990
- 5) 藤本 進：消毒剤の殺菌効果判定法。臨床検査30：1057-1062, 1986
- 6) 大貫順一：透析排水と環境汚染-水処理の問題。臨牀透析6：65-72, 1990