個人用透析装置の消毒部位と消毒方法の違いによる Endotoxin (ET) 値の変化 —長期評価—

新井 浩之*¹ 長沼 早苗*² 深澤 篤*² 三浦 明*²
久保 和雄*¹ 鈴木 恵子*¹ 鈴木 利昭*² 小篠 榮*³
杉本 章彦*⁴

昇陽会高円寺すずきクリニック*¹ 昇陽会阿佐谷すずき診療所*² 昇陽会南池袋診療所*³
東レ・メディカル(株)企画開発部*⁴

key words : 個人機 RO 水ライン消毒, エンドトキシン, 細菌, 極低濃度次亜塩素酸ナトリウム, 薬液夜間封入
〈要旨〉

個人用透析装置(以下個人機)の給水チューブから装置内 RO 水ラインまでの部位(以下個人機 RO 水ライン)を消毒した個人機 1 と消毒を実施しない個人機 2, 3 の個人機 RO 水ラインの Endotoxin (ET) 値と細菌数について検討した。給水口チューブの RO 水 ET 値は, 8 か月後までは個人機 1, 2, 3 間に差はみられなかった。しかし, 個人機 1 は, その後も測定感度以下 ~ 2.95 EU/L と安定して低値を維持できたが, 個人機 2 では $0.97\sim 18.05$ EU/L であり, 個人機 3 においても $0.52\sim 10.86$ EU/L と ET 値が不安定な値を示した。また, 個人機 1 の給水口チューブ RO 水は, ほとんど細菌を認めないが, 個人機 2, 3 では, 常に細菌が検出された。個人機 RO 水ライン各部の ET 値は, 個人機 1 では, 給水口チューブ, 減圧弁後, 循環ポンプ後とも同程度であったが, 個人機 3 では給水口チューブに比べ減圧弁後, 循環ポンプ後で ET 値が上昇していた。細菌数についても個人機 1 に比べ個人機 3 で多く検出された。

また, 透析液ラインの消毒方法の違いによる透析液 ET 値についても比較した。個人機 1 の透析液ラインは, 次亜塩素酸ナトリウム(以下次亜) $1,000$ ppm で消毒後に次亜 1 ppm で夜間封入し, 個人機 2 は次亜 100 ppm で消毒後にその薬液を夜間封入した。個人機 3 は, 次亜 $1,000$ ppm で消毒し薬液夜間封入を行わなかった。透析液 ET 値は, RO 水ライン本管の消毒開始後 $8.52\sim 36.09$ EU/L へと上昇したが, その後徐々に低下した。個人機 1 の透析液 ET 値は, 8 か月後以降も測定感度以下 ~ 2.43 EU/L と安定して低値を維持できたが, 個人機 2 は個人機 1 に比べ若干高値を示し, 個人機 3 では不安定な値を示した。

個人機の RO 水・透析液の清浄化対策としては, 個人機 1 の消毒方法が最も有効であった。

Long-term evaluation of rinsing and sterilizing methods for single-patient hemodialysis (SPH) machines based on measurements of endotoxin (ET) levels

Hiroyuki Arai*¹, Sanae Naganuma*², Atsushi Fukazawa*², Akira Miura*², Kazuo Kubo*¹,
Keiko Suzuki*¹, Toshiaki Suzuki*², Hisashi Ozasa*³, Akihiko Sugimoto*⁴
Koh-enji Suzuki Clinic*¹; Asagaya Suzuki Clinic*²; Minami Ikebukuro Clinic*³; Toray Medical Co., Ltd.*⁴

We evaluated the sterilizing effects of a reverse osmosis (RO) water line in SPH machines by measuring ET levels and bacteria counts in RO water at the inlet of the RO water line and in the machines; sterilized with a disinfectant, sodium hypochlorite (SH) at the concentration of 1 ppm in SPH machine # 1 and not sterilized in SPH machine # 2 and # 3.

There was significant difference in ET levels at the inlet of the RO water line among the three groups for the first 6 months. Thereafter, ET levels in SPH machine # 1 have remained consistently low at less than 2.95 EU/L. These levels have varied widely from 0.97 to 18.05 EU/L in SPH machine # 2 and from 0.52 to 10.86 EU/L in SPH machine # 3. Intramachine distribution of ET levels in the RO water line showed the same levels at the inlet, after the decompression valve and after the circulation pump in SPH machine # 1. Intramachine ET levels were higher in SPH machine # 3. Bacteria were not detected in RO water at the inlet line in SPH machine # 1, but always detected in SPH machines # 2 and # 3.

We also evaluated the sterilizing effects of the dialysate line of SPH machines by measuring dialysate ET levels ; The dialysate line of SPH machine # 1 was sterilized with 1,000 ppm SH solution, followed by overnight filling with 1 ppm SH solution. SPH machine # 2 was sterilized then filled overnight with 100 ppm SH solution. SPH machine # 3 was sterilized with 1,000 ppm SH solution without overnight filling.

Dialysate ET levels increased to 8.52~36.09 EU/L after rinsing of the main pipe of the RO water line, but thereafter decreased gradually. Dialysate ET levels in the SPH machine # 1 have remained constantly low at less than 2.43 EU/L. SPH machine # 2 showed slightly higher dialysate ET levels than SPH machine # 1. SPH machine # 3 showed a wide range of dialysate ET levels.

In conclusion, we recommend that the rinsing method which we employed for SPH machine # 1 is more effective than the other two methods for purification measurements of RO water and dialysate in single-patient hemodialysis machines.

I. 目 的

大孔径膜ダイアライザの使用が一般的となった今日では、通常の hemodialysis (HD) においても透析液清浄化対策は必須であり、日本透析医学会からは新たな透析液安全基準も設定された¹⁾。透析液清浄化対策は、on-line hemodiafiltration (on-line HDF) や粉末化透析原液の普及の面からも reverse osmosis (RO) 水の管理が基本となっている。そのためわれわれは、清浄化対策の一つとして通常は消毒を行わない RO 水ラインに着目し、RO 水タンクから RO 水ライン末端(以下 RO 水ライン本管)までの定期的な消毒を試みている^{2~4)}。一方、個人用透析装置(以下個人機)は、患者監視装置に比べて清浄化対策が難しいといわれている。これは、個人機の構造が複雑であることに加え、個人機の RO 水導入配管である給水口チューブから装置内 RO 水ラインまでの部位(以下個人機 RO 水ライ

ン)は、RO 水ライン本管と同様に通常は消毒を行わないことが原因の一つと考えられる。

今回、RO 水ライン本管の消毒と連動して個人機 RO 水ラインを消毒した場合としない場合の給水口チューブおよび装置内各部の RO 水 endotoxin (ET) 値と細菌数について検討した。また、透析液ラインの消毒方法の違いによる透析液 ET 値についても比較検討したので報告する。

II. 対象・方法

対象は、使用年数 2 年目の個人機 TR2000S(東レ社製)3 台であり、個人機 RO 水ライン消毒の有無と透析液ラインの消毒方法の違いにより 3 種類に分け(表 1)、給水口チューブ RO 水と透析液の ET 値および細菌数について経時的变化を比較検討した。また、8 か月後の装置内各部の ET 値と細菌数についても観察した。

表 1 Sterilization method of Single-patient hemodialysis (SPH) machines

	薬剤と濃度	装置内 RO 水ライン消毒	透析液ライン消毒				
			前水洗	薬洗	封入	後水洗	事前水洗
個人機 1	次亜* (1,000 ppm と 1 ppm)	1 ppm で 20 分消毒後 夜間封入	40 分	30 分 (1,000 ppm)	1,000 ppm で 60 分封入後 1 ppm で 夜間封入	(一)	30 分
個人機 2	塩素系薬剤** (100 ppm)	(一)	40 分	30 分	夜間封入	(一)	60 分
個人機 3	次亜* (1,000 ppm)	(一)	40 分	30 分	60 分	60 分	(一)

次亜*：次亜塩素酸ナトリウム
塩素系薬剤**：Sweeper Pro.

個人機 RO 水ラインの消毒は、RO 水ライン洗浄システム（東レ社製）^{4,5)}の個人機連動洗浄機能を用いて RO 水ライン本管の消毒時に行った。消毒は、連日行い、薬剤は次亜塩素酸ナトリウム（以下次亜）を使用し末端塩素濃度 1 ppm（以下極低濃度次亜）で実施した。

個人機 1 は、透析液ラインを次亜 1,000 ppm で 30 分消毒し 60 分間薬液封入した後に個人機 RO 水ライン消毒を実施した。この際、透析液ラインも極低濃度次亜で 20 分再消毒した。その後、その薬液を夜間封入し、翌朝に事前水洗を実施した。個人機 2 は、当院の一般的な消毒方法である。個人機 RO 水ライン消毒は行わず、透析液ラインを塩素系薬剤（末端塩素濃度 100 ppm）にて 30 分消毒後、その薬液を夜間封入し、翌朝に事前水洗を実施した。個人機 3 は、個人機 RO 水ラインは消毒せず、透析液ラインは次亜 1,000 ppm で 30 分消毒し 60 分間薬液封入した。その後、後水洗を実施し翌朝の事前水洗は行わなかった。また、いずれの個人機も本研究開始前の半年間に過酸化水素系薬剤（末端濃度 2%）を用いて、月 1 回の頻度で個人機 RO 水ライン消毒を実施した。

評価期間は 1 年 5 か月であり、検体採取は月曜日の治療開始前に行った。ET 測定器にはトキシノメーター MT358（和光純薬社製）、細菌培養には Petrifilm™（ペトリフィルム™培地：3 M 社製）を使用した。細菌培養施行時の検体は、サンプリングポートから 10 mL 採取し、遠心濾過などの前処理は行わず 1,000 μ L を培地に滴下して培養した。培養条件は、培

養温度 30°C、培養時間は 72 時間とし、コロニーの確認は目視で行った。また、サンプリングポートは月 1 回の頻度で交換した。

III. 結 果

1. 給水口チューブの RO 水 ET 値（図 1）

個人機 1 は、コントロール期 2.13~6.36 EU/L であった給水口チューブの RO 水 ET 値が個人機 RO 水ライン消毒を開始することにより低下し、測定感度以下~2.95 EU/L と安定して低値を維持できた。個人機 2, 3 においても 8 か月後までは、個人機 1 と同様に低値を維持できたが、8 か月後以降ではそれぞれ 0.97~18.05 EU/L、1.22~10.86 EU/L と ET 値が不安定な値であった。

2. 装置内各部の ET 値と細菌数（図 2）

装置内各部の RO 水 ET 値は、個人機 1 では給水口チューブ 1.69 ± 1.08 EU/L、減圧弁後 1.53 ± 0.28 EU/L、循環ポンプ後 1.61 ± 0.49 EU/L であり、いずれの部位も同程度であった。個人機 3 では、給水口チューブ 10.75 ± 6.75 EU/L、減圧弁後 14.83 ± 6.75 EU/L、循環ポンプ後 12.86 ± 5.83 EU/L であり、給水口チューブに比べ装置内で ET 値が上昇傾向を示した。また、細菌数は、個人機 1 の方が個人機 3 よりも少なかった。

3. 透析液 ET 値（図 3）

透析液 ET 値は、RO 水ライン本管の消毒開始後 8.52~36.09 EU/L と上昇したが、その後いずれの個

図 1 Endotoxin (ET) levels in reverse osmosis (RO) water at the inlet of RO water line.

ET levels of RO water in SPH machine #1 have been kept low throughout the period of study, but in SPH machine #2 and #3 ET levels were increased after the period of the eighth month.

図 2 Intramachine distribution of ET levels and bacteria counts in RO water line (at the period of the eighth month).

Intramachine distribution of ET levels in RO water line showed the same low levels at the inlet, after decompression valve and after circulation pump in SPH machine # 1.

Intramachine ET levels were higher in SPH machine # 3. Bacteria were slightly detected in RO water only after depression valve in SPH machine # 1, but were moderately detected at all three sampling ports in SPH machine # 3.

図 3 Time course of dialysate ET levels for consecutive 17 months of study.

Dialysate ET levels were increased rapidly after the rinsing of main pipe of RO water line, but thereafter were decreased gradually. Dialysate ET levels in SPH machine # 1 have kept constantly low. SPH machine # 2 and # 3 had slightly higher dialysate ET levels than SPH machine # 1.

表 2 Bacteria counts in RO water at the inlet of RO water line

Bacteria were not detected in RO water sample at the inlet line of SPH machine # 1, but always detected in both SPH machine # 2 and # 3. Culture of the bacteria identified a *Pseudomonas* strain.

*All values in the table are expressed as mean values rounded off in each period.

(mean)

	1 か月後	2 か月後	3 か月後	4 か月後	5 か月後	6 か月後	7 か月後	8 か月後	9 か月後	10 か月後	11 か月後	12 か月後
個人機 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
個人機 2	—	15	13	8	122	27	116	34	28	0	0	1
個人機 3	—	3	34	11	51	51	1	11	406	226	36	2

(CFU/mL) 培養条件 30°C 72 時間

人機も徐々に低下した。個人機 1 の透析液 ET 値は、8 か月後以降も測定感度以下～2.43 EU/L と安定して低値を維持できたが、個人機 2 は 1.34～5.07 EU/L であり、個人機 3 では 3.67～28.22 EU/L と不安定な値であった。

A, B 原液の ET 値は、常に測定感度以下であった。

4. 細菌数 (表 2)

個人機 1 の給水口チューブ RO 水には、ほとんど細菌を認めないが、個人機 2, 3 では常に細菌が検出された。培養された細菌は *Pseudomonas* 属であった。また、いずれの個人機においても透析液中には細菌を検出しなかった。

なお、表中の数値は、各期間内の平均値を四捨五入して表示した。

IV. 考 察

個人機の消毒部位と消毒方法の違いによる RO 水および透析液の清浄度について検討した。

給水口チューブの RO 水 ET 値 (図 1) は、RO 水ライン本管の消毒を行うことにより若干上昇した。その後、8 か月後までは個人機 1, 2, 3 間に差はみられず、測定感度以下～3.00 EU/L 程度と低値を維持しており、この値は RO 装置出口部の ET 値と同程度であった。RO 水の清浄度を ET 値のみで判断するならば、個人機 RO 水ライン消毒の有無にかかわらず、いずれの個人機の給水口チューブも十分に管理されているようにも思われた。しかし、細菌培養の結果では明らかな差を認め (表 2)、個人機 1 に比べ個人機 2, 3 の給水口チューブは、管理が不十分であることが判明した。さらに、8 か月後を過ぎると ET 値にも差がみられた。個人機 1 では、8 か月後以降も測定感度以下～1.00 EU/L 程度と RO 装置出口部の ET 値と同程度の値を維持できたが、個人機 2 では不安定な値を示し、個人機 3 においては、12 か月後以降では常に 5.00～7.00 EU/L 程度と高値であった (図 1)。

個人機 1 では、個人機 RO 水ラインを極低濃度次亜で連日消毒し、さらにその薬液を夜間封入したことにより個人機 RO 水ライン内の細菌が仮死状態にある、あるいは活性が非常に抑えられた状態にあると考えられる。その結果、ET 値を低値に維持できたものと推察された。RO 装置から送水された RO 水は、通常は消毒を行わない RO 水ライン本管および個人機 RO 水ラインを通り個人機内の原液混合槽まで導かれるため、常に汚染される可能性に晒されており、定期的な消毒の必要性が示唆された。

消毒頻度については、個人機 RO 水ラインの清浄度が供給される RO 水の清浄度や装置の使用年数、使用頻度およびメンテナンス状況などにより大きく変わるため一概に決めることはできないが、理想的には装置を使用していない夜間や非透析日にはできる限り薬液を封入しておくことが望ましいと思われる。われわれの検討では、個人機 RO 水ライン消毒を中止すると 7 日後以降から給水口チューブに細菌が検出され始めた⁴⁾ことから最低でも週 1 回の消毒が必要であると考えている。

また、8 か月後の装置内各部の RO 水 ET 値 (図 2) は、個人機 1 では給水口チューブと同程度の値であり、この値は RO 装置出口部とも同程度であった。これに対して、個人機 3 の給水口チューブの RO 水 ET 値は、個人機 1 に比べ高値であり、さらに装置内では ET 値が上昇傾向を示していた。給水口チューブの RO 水 ET 値が RO 装置出口部の ET 値に比べ高値であった場合には、装置内ではさらに ET 値が上昇している可能性があるため注意が必要であると思われる。

透析液 ET 値 (図 3) は、RO 水ライン本管の消毒開始後に上昇したが、その後いずれの個人機も徐々に低下し、個人機 1 では、8 か月後以降でも測定感度以下～2.43 EU/L と安定して低値を維持できた。透析液ラインの消毒は、蛋白や有機物の除去目的から高濃度薬剤の使用が必須であるが、個人機 RO 水ラインが十分に管理されているならば、透析液ラインを夜間封入するための薬剤は極低濃度次亜でも十分効果が得られることが示唆された。また、透析液ラインへの薬液封入は、通常消毒時の高濃度薬剤をそのまま長時間封入しているのが現状であり、装置部品への悪影響が懸念される。今回個人機 1 に対して試みた消毒方法は、夜間封入する次亜の塩素濃度が水道水の約 2 倍程度と極低濃度であるため装置部品への悪影響も大幅に軽減できるものと期待される。

また、個人機 2 は、透析液ラインを塩素系薬剤 (100 ppm) で夜間封入したが、透析液 ET 値は 1.34～5.07 EU/L であり、個人機 1 に比べて若干高値であった。さらに、個人機 3 では、3.67～28.22 EU/L と不安定であり、他の個人機と比べて高値であった。これは、消毒を行わない個人機 RO 水ライン内の細菌の影響により希釈水である RO 水の ET 値が上昇したことや RO 水が A, B 原液と混合された際に細菌が pH の変動や電解質との接触などにより死滅したことなどが原因と考えられる。特に、個人機 3 の消毒方法では、個人機 RO 水ラインに加え透析液ラインにも RO 水が長時間滞留することになるため個人機 2 よりもさらに透析液 ET

値が不安定な値になったと推察される。

細菌培養は、簡易培地である Petrifilm™を使用し、培養条件は 30°C、72 時間で行った。細菌の検出率は、検体の前処理方法や培地あるいは培養温度や時間などにより大きく左右され^{6,7)}、蛍光活性染色法^{8,9)}を用いると R2A¹⁰⁾培地でも培養できない細菌も検出できるなど、手法によっても細菌数は大きく変わってくる。このため、Petrifilm™では培養されない細菌が RO 水、透析液中に存在することは十分に考えられるが、Petrifilm™は、標準寒天培地との相関が確認されており、簡便にしかも低コストで細菌の増減傾向を把握することができることから有用であると考えている。培養時間については、24 時間毎にコロニーの有無を確認したが、48 時間では 0 CFU/mL であり 72 時間培養でコロニーを認めた検体が多かったことから Petrifilm™では最低 72 時間の培養が必要であると思われた。

RO 水、透析液の清浄度の指標としては、通常は ET 値が用いられるが、今回 ET 値が同程度でも細菌数に大きな差があり、逆に細菌数が同程度でも ET 値に差を認めた。これは、末澤ら¹¹⁾の報告と同様の結果であった。ET 値が低値であっても多くの細菌が検出される場合には、その細菌の死滅により突発的な ET 値の上昇が懸念されるため細菌数にも注目し、ET 値と同様に定期的に監視することが重要である。また、ET 値が不安定な値を示す場合は、サンプリング時や測定時の汚染によるものなのか不明なことも多い。細菌培養は、このような場合には特に原因究明の手掛かりの一つとして有用であると考えられる。

さらに、今回同定された細菌は、Pseudomonas 属であったが、土田ら¹²⁾の指摘するようにグラム陰性菌のみならずグラム陽性菌や藻類などの細菌にも着目し、ペプチドグルカンや β -グルカンなどにも注意すべきである。

結 語

個人機 1 に対して実施した消毒方法は、他の消毒方法に比べ長期間安定して RO 水および透析液 ET 値を低値に維持でき、細菌の増殖も抑制できた。

個人機の透析液清浄化対策は、透析液ラインのみで

なく個人機 RO 水ラインを含めたすべてのラインを消毒することが重要である。

文献

- 1) 第 46 回日本透析医学会コンセンサスカンファレンス「新たな透析液安全基準の設定」. 透析会誌 34 (Suppl 1): 637-638, 2001
- 2) 深澤 篤, 三浦 明, 長沼早苗, 横井真由美, 宗像昭子, 逢坂公一, 松崎竜児, 新井浩之, 鈴木利昭: 当院における RO 水ライン (配管) 消毒方法. 第 28 回東京透析懇談会記録, 39-40, 2000
- 3) 長沼早苗, 新井浩之, 深澤 篤, 鈴木幸恵, 三浦 明, 鈴木恵子, 久保和雄, 鈴木利昭, 杉本章彦: RO 水供給ライン自動洗浄システムを用いての臨床評価. 透析会誌 36: 1249-1254, 2003
- 4) 新井浩之, 長沼早苗, 深澤 篤, 三浦 明, 久保和雄, 鈴木恵子, 鈴木利昭, 小篠 榮: 極低濃度次亜塩素酸ナトリウムを用いた全自動 RO 水ライン洗浄システム. 医工学治療 16: 15-23, 2004
- 5) 杉本章彦: トータルクリーン化システムの構築. 腎と透析 53 (別冊): 31-34, 2003
- 6) 金 成泰, 山本千恵子, 朝部廣美: オンライン HDF システム. 実践的透析液水質管理&オンライン HDF, 金成泰編, メディカルビュー社, 大阪, 53-58, 1996
- 7) 金 兌貞, 中澤了一, 中村 誠, 水村宏之, 松金隆男, 末澤梨佳, 東 仲宣, 鈴木 満, 馬野善己: 透析液の微生物学的純度の検討一測定上の問題点. 腎と透析 38 (別冊): 16-20, 1995
- 8) Binnerup SJ, Jensen DF, Thordal-Christensen H, Sorensen J: Detection of viable, but non-culturable *Pseudomonas fluorescens* DF57 in soil using a microcolony epifluorescence technique. FEMS Microbiol Ecol 12: 97-105, 1993
- 9) Kogure K, Shimizu U, Taga N: A tentative direct microscopic method for counting living marine bacteria. Can J Microbiol 25: 415-420, 1978
- 10) Reasoner DJ, Geldreich EE: A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. Appl Environ Microbiol 49: 1-7, 1985
- 11) 末澤梨佳, 星 博, 金 兌貞, 水村宏之, 中村 誠, 永井 誠, 松金隆夫, 中澤了一, 東 仲宣, 鈴木 満: パルスフィールドゲル電気泳動法による透析液供給システム由来の *Burkholderia pickettii* の DNA 型別. 透析会誌 32: 109-116, 1999
- 12) 土田健司, 武本佳昭, 山上征二, 岸本武利, 丹羽 允, 土谷正和: ペプチドグルカンによる透析液汚染とその生物学的活性. 透析会誌 30: 879-887, 1997