37mm クオリティモニタを用いた透析液の細菌培養

青柳武志、守澤隆人、泉谷晴義、鈴木寿文、寺邑朋子* 医療法人あけぼの会 花園病院 透析室、同 内科*

Viable cell culture of dialysis fluid using 37mm Quality Monitor

Takeshi Aoyagi, Takahito Morisawa, Haruyoshi Izumiya, Hisanori Suzuki, Tomoko Teramura* Dialysis Center, Internal Medicine*, Hanazono Hospital

<はじめに>

近年、より厳格な透析液の生菌数管理のため大量の透析液を採取し、培養することが推奨されている。 2009 年発行の ISO11663 においても、超純水透析液では生菌培養時にメンブレンフィルタ法を使用し、検体量 $10 \sim 1000 \, \mathrm{mL}$ とする基準が示されている。今回、当院では以前から使用しているメンブレンフィルタ法デバイスである日本 PALL 社製 $37 \, \mathrm{mm}$ クオリティモニタを用いて培養温度、濾過量、培養手技の個人差について比較し透析室の生菌数管理に実用的であるか検討したので報告する。

< 37mm クオリティモニタ (日本 PALL 社) >

一般に細菌検査はクリーンベンチ等を用いて慎重に作業されるが、通常の透析施設ではそのような設備や経験はない場合がほとんどである¹⁾が、日本PALL社製37mmクオリティモニタ(図1)は、簡便にメンブレンフィルタ法を施行できる製品である。その特徴として、シリンジのみで検体処理が行え、メンブレンがハウジングに密閉されていることによりコンタミネーションリスクが低減でき、培養目的によりメンブレンの色を白色と黒色から選択できる、等があげられる。



サイズ	2.8cm(高)×4.2cm(直径)
有効濾過面積	9.1㎡ (孔径0.45μm)
吸引圧	84.5kPa (635mmHg)
滅菌	EOG
メンブレン色	白色 黒色
メンブレン材質	GN-6メトリセル (白) メトリセルブラック (黒)
使用培地	液体培地 (mTGE)

【特徴】

- 1. 簡便な操作(シリンジのみで検体処理できる)
- 2. コンタミネーションリスクの減少
- 3. 目的によりメンブレン色を選択できる

図 1. 日本 PALL 社製 37mm クオリティモニタの概要と特徴

<方法:培養温度>

37mm クオリティモニタ使用時の培養温度の違いにおける発育コロニー数について比較検討した。試料は逆浸透水、調整後透析液、Endotoxin retentive filter(以下 ETRF)後末端透析液、ETRF 前末端透析液の各 100 m L とした。生菌培養は 37mm クオリティモニタを使用し、培地はm TGE 液体培地を使用した。培養温度はインキュベーターを使用し 15 \mathbb{C} 、25 \mathbb{C} (室温)、35 \mathbb{C} の 3 種類で 1 週間培養を行った。

<結果:培養温度>

透析液の生菌対策において問題となる水棲菌は、水温 15 \mathbb{C} から活発化してくると言われているが、培養温度 15 \mathbb{C} ではコロニーの発育は全ての試料で見られなかった(図 2)。 25 \mathbb{C} でのコロニー発育は良好であり、 35 \mathbb{C} では ETRF 前後において、若干のコロニー発育が見られた。 当院では、日常から室温 $(25\pm0.5$ \mathbb{C}) にて培養を行っているが、 結果からもコロニーの発育が良い環境であったことが確認できた。

<方法:濾過量>

次に 37mm クオリティモニタ使用時の濾過量の違いにおける発育コロニー数について比較検討した。試料は A、B、C の 3 種類 (それぞれの濾過量 50 m L、100 m L、1000 m L)とし、37mm クオリティモニタを使用し室温 (25 ± 0.5 \mathbb{C}) にて 1 週間培養を行った。

<結果:濾過量>

各濾過量を比較した結果(図3)、各試料において $1 \, \text{mL}$ あたりの発育コロニー数に大きな差は見られなかったものの、濾過量 $50 \, \text{mL}$ ではコロニーの発育が見られなかった試料があった。当院では日常から濾過量 $50 \, \text{mL}$ とし培養を行っている。今回、濾過量を増やすことにより結果の信頼度があがるのではないかと仮定し、 $100 \, \text{mL}$ 、 $1000 \, \text{mL}$ との比較を行ったが、 $1000 \, \text{mL}$ のサンプリング時には大量に試料を採取しなければならないため採取に大変苦慮した。

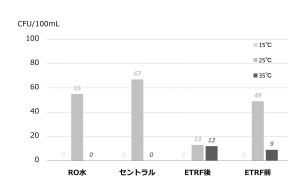


図 2. 培養温度の違いにおける結果

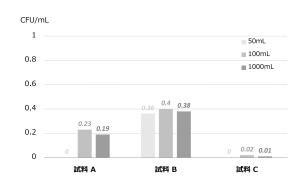


図3. 濾過量の違いにおける培養結果

<方法:培養者>

最後に 37mm クオリティモニタ使用時、培養手技の個人差における発育コロニー数について比較検討した。臨床工学技士 3 人が同検体 4 種類を 37mm クオリティモニタ (濾過量 50mL) と R2A 寒天培地 (検体量 2mL) を用いて培養 (室温 25 \mathbb{C} \pm 0.5 \mathbb{C} にて 1 週間) し、生菌数カウントも各個人で行った。

<結果:培養者>

培養者 A のコロニー数の平均値を 100%とした場合で比較した結果 (図 4)、37mm クオリティモニタでは各個人間で 20%程度の差があり、R2A 寒天培地では約 2 倍の差があった。R2A 寒天培地は、培養者 3 人全員が、培養時のコンタミネーションと思われるカビ様の発育が見られた (図 5)。今回の結果から、寒天培地はコンタミネーションが生じ、さらに透析室でメンブレンフィルタ法を行う場合、環境や操作条件は制限され、操作上のコンタミネーションが発生する可能性は常に生じる 20 が、今回使用のメンブレンフィルタ法デバイス 20 7 が、今回使用のメンブレンフィルタ法デバイス 20 7 ではコンタミネーションの発生は無かった。

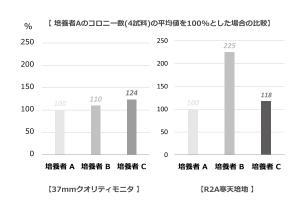


図 4. 培養手技の個人差における結果



図 5. コンタミネーションと思われるカビ様の発育

<考察>

培養温度の違いによる比較では、培養温度 25℃以外の環境下において、コロニーの発育があまり見られなかったため、今後も室温環境で生菌培養を行っていくことを再確認できた。

濾過量の違いによる比較では、各濾過量ともに発育コロニー数の差は少なく、試料を大量に濾過することで信頼度が増すと考えたが、採取手技が煩雑になることが問題点と考えた。今回の結果から、今後当院では生菌培養時の濾過量を100mLと決定し行っていきたいと考えた。

培養者の違いによる比較において、37mm クオリティモニタ使用時の培養結果は、R2A 寒天培地に比べ、培養手技の個人差が少なかった。これは、簡便な操作によるコンタミネーション軽減が可能で、さらに培養手技の均一化が可能であるためと考えた。

<おわりに>

37mm クオリティモニタは室温環境で培養することが可能で、大量に試料を濾過することができ、さらに培養結果が手技の個人差に左右されなかったことから、透析室の生菌管理に実用的なデバイスであると考えた。

参考文献

- 1) 楢村友隆、佐藤和弘、堀内賢一、吉田周理、井出孝夫:透析液中の細菌に対する各種メンブレンフィルター法の測定精度の検討、透析会誌 42(1)、86、2009
- 2) 山本英則、楢村友隆、島北寛仁、藤森 明: IV細菌検出法の実際 (2) 透析室にて可能なメンブレンフィルタ (MF) 法、臨床透析 vol.23 no.5、582、2007