

# 37mmクオリティモニターによるm-TGE培地とR2A培地の比較検討

熊地 望、守澤隆仁、青柳武志、泉谷晴義、草彌寿文、寺邑朋子\*  
医療法人あけぼの会 花園病院 透析センター、同 内科\*

## Comparison of m-TGE medium and R2A medium by 37mm quality monitor

Nozomu Kumachi, Takahito Morisawa, Takeshi Aoyagi, Haruyoshi Izumiya,  
Hisanori Kusanagi, Tomoko Teramura\*  
Dialysis Center, Internal Medicine\*, Hanazono Hospital

### <緒言>

透析液清浄化の必要性は、貧血改善、 $\beta 2$ ミクログロブリンや高感度CRP（C反応性蛋白）の低下などが報告され、透析患者の生命予後改善のみならずQOL（quality of life）向上にも関与することからも明らかである<sup>1)</sup>。透析液清浄化のために多くの施設が取り組んでいる現状である。その透析液水質管理項目のひとつとして生菌数測定があり、生菌数測定に用いる培地に関して各ガイドラインでは次のように推奨（表1）されている。日本透析医学会ガイドライン「透析液水質基準と血液浄化器性能評価基準2008」ではR2AとTGEA寒天平板培地ならびに同等の感度を有すると証明されたもの<sup>2)</sup>、ISO13959（2014）「Water for hemodialysis and related therapies」では低温域（20℃）でTGEA培地等を用いた培養が推奨<sup>3)</sup>されている。さらに日本臨床工学技士会ガイドライン「透析液清浄化ガイドラインVer2.01」ではReasoner's Agar No2（R2A）を推奨し、他を使用する場合は同等の性能を確認したものをを用いる<sup>4)</sup>とされている。

表1 透析液水質管理に関するガイドラインの推奨培地

| 透析液水質管理に関するガイドライン  | 推奨の培地   |
|--|---|
| 日本透析医学会ガイドライン<br>「透析液水質基準と血液浄化器性能評価基準2008」                       | R2A とTGEA 寒天平板培地ならびに同等の感度を有すると証明されたもの             |
| ISO13959(2014)<br>「Water for hemodialysis and related therapies」 | 低温域(20℃)でTGEA培地等                                  |
| 日本臨床工学技士会ガイドライン<br>「透析液清浄化ガイドラインVer2.01」                         | Reasoner's Agar No2(R2A)、他を使用する場合は同等性を確認したものをを用いる |

従来より当院では生菌数測定に用いる培地に関するガイドラインを遵守し、生菌測定用のデバイスである日本ポール社製37mmクオリティモニター<sup>®</sup>、培地m-TGEプロス<sup>®</sup>（以下m-TGE）による透析液生菌測定を行ってきた。

### <目的>

今回、R2A液体培地<sup>®</sup>（以下R2A）の発売を期に、37mmクオリティモニターを用いてのm-TGEとR2Aの培養手技の優位性、さらにm-TGEとR2Aの同一検体培養における生菌数について比較検討を行ったため報告する。

### <方法>

m-TGEとR2Aの培養手技の優位性について、臨床工学技士4名にて培養を行い比較評価を行った。m-TGEの培養手技は、培地を容器から2.5mLシリンジにて吸引し、検体を37mmクオリティモニター濾過後に注入する（図1）。培地注入後、余分な培地を37mmクオリティモニターOUT側より吸引する。R2Aの培養手技は、検体を37mmクオリティモニター濾過後、培地を直接注入し（図2）、注入後は余分な培地を37mmクオリティモニターOUT側より吸引する。

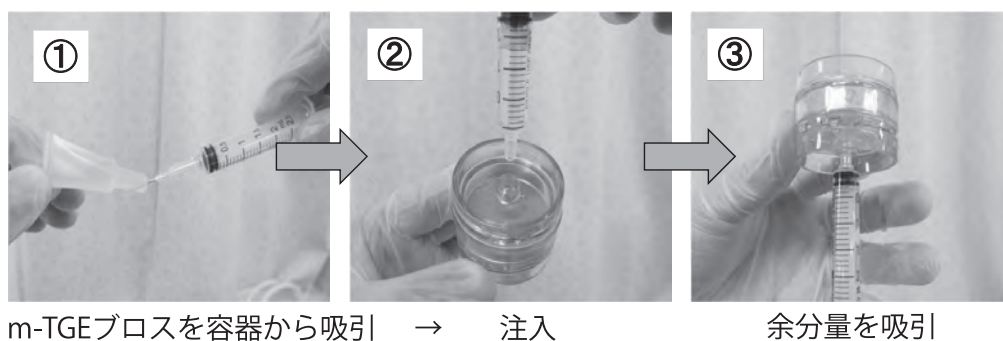


図1 m-TGEプロスの培養手技

- ①培地を容器から2.5mLシリンジにて吸引する。
- ②検体を37mmクオリティモニターに濾過後、培地を吸引する。
- ③培地注入後、余分な培地を37mmクオリティモニターOUT側より吸引する。

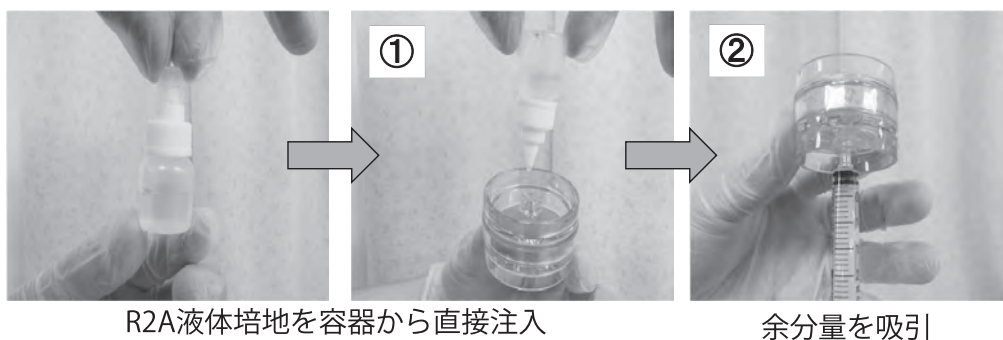


図2 R2A液体培地の培養手技

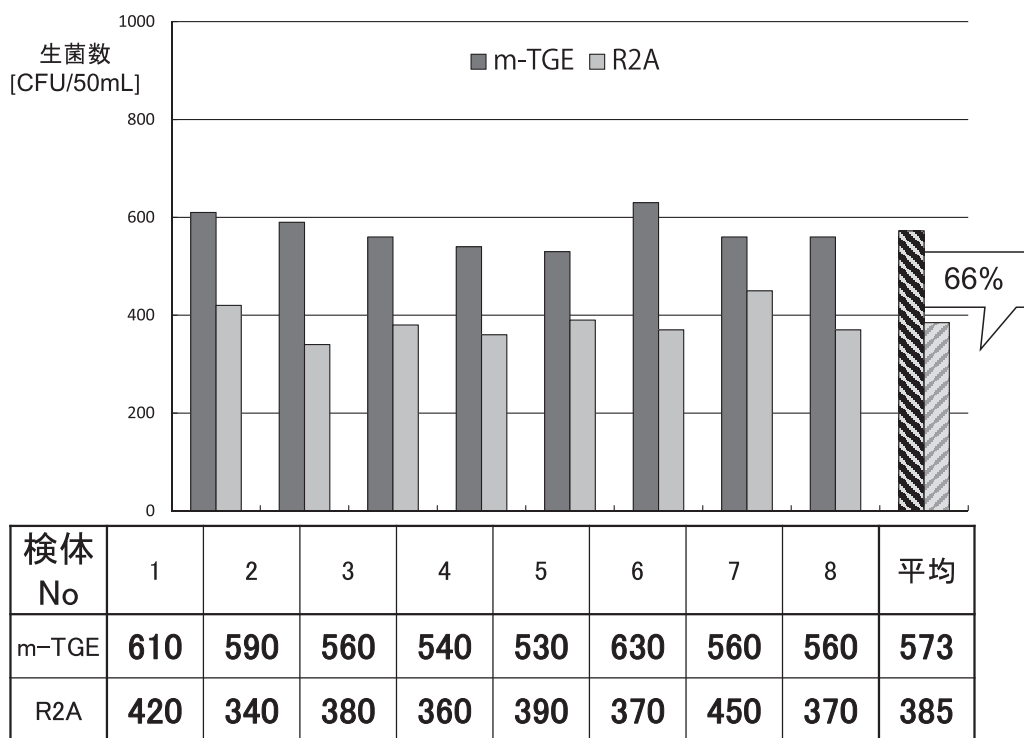
- ①検体を37mmクオリティモニターに濾過後、培地を容器から直接注入する。
- ②培地注入後、余分な培地を37mmクオリティモニターOUT側より吸引する。

m-TGEおよびR2Aにおける同一検体培養の生菌数について比較を行った。検体は原水(水道水)、多人数用供給装置調整後の透析液、透析液配管の末端透析液とした。100mLシリンジにて各検体1箇所につき検体量100mLとし8本採取する。同一検体とするため、採取した各検体100mLのうち半分の50mLを37mmクオリティモニターに濾過しm-TGEを注入する。そして、残り半分の50mLを別の37mmクオリティモニターにて濾過しR2Aを注入する。培養条件は7日間とし室温にて培養する。培養期間後、各検体の生菌数を測定しその結果について比較を行った。また、各培地により培養された生菌のコロニーについても比較を行った。

### <結果>

m-TGEとR2Aの培養手技の優位性を比較した結果、臨床工学技士4名において、R2Aは培地を37mmクオリティモニターに容器から直接注入できることから、吸引工程が省け、培養手技が簡便になったと評価した。このことから培養手技について、R2Aがm-TGEよりも評価が高かった。

原水の培養結果はNo.1からNo.8の全検体において多数の生菌(Too Many To Count;培地上に形成されたコロニー数が10から100程度の数値が信頼性のある範囲とされるため)が検出された(図3)。m-TGE(最小530CFU/50mL~最大630CFU/50mL)に比べR2A(最小340CFU/50mL~最大450CFU/50mL)が低値を示し全検体において同程度の差となった。平均はm-TGE(573CFU/50mL)を100%としたとき、R2A(385CFU/50mL)の生菌数は66%となった。



※全てにおいてTMCT(Too Many To Count)

図3 原水の生菌数測定結果

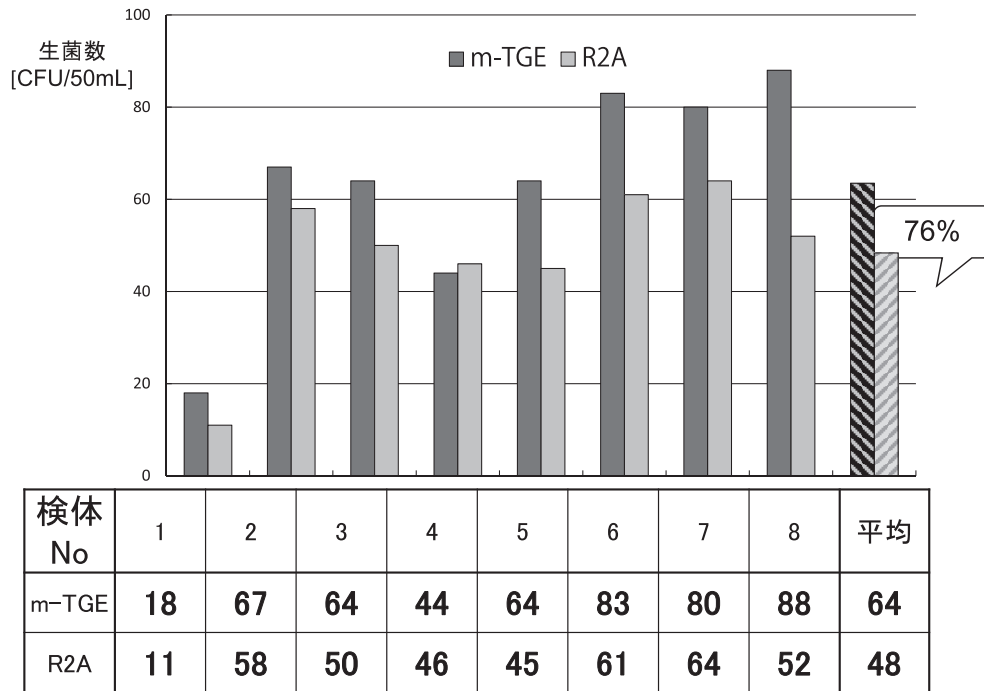


図4 多人数用供給装置調整後の透析液の生菌数測定結果

多人数用供給装置調整後の透析液の測定結果（図4）において、m-TGE（最小18CFU/50mL～最大88CFU/50mL）に比べR2A（最小11CFU/50mL～最大64CFU/50mL）となった。検体No.4の1検体を除き、m-TGEに比べR2Aが低地を示したが、他7検体で同程度の差となった。平均生菌数はm-TGE（64CFU/50mL）を100%としたとき、R2A（48CFU/50mL）は76%となった。

末端透析液の生菌数測定結果（図5）は全検体において、m-TGEおよびR2A共に、生菌は検出されなかった。

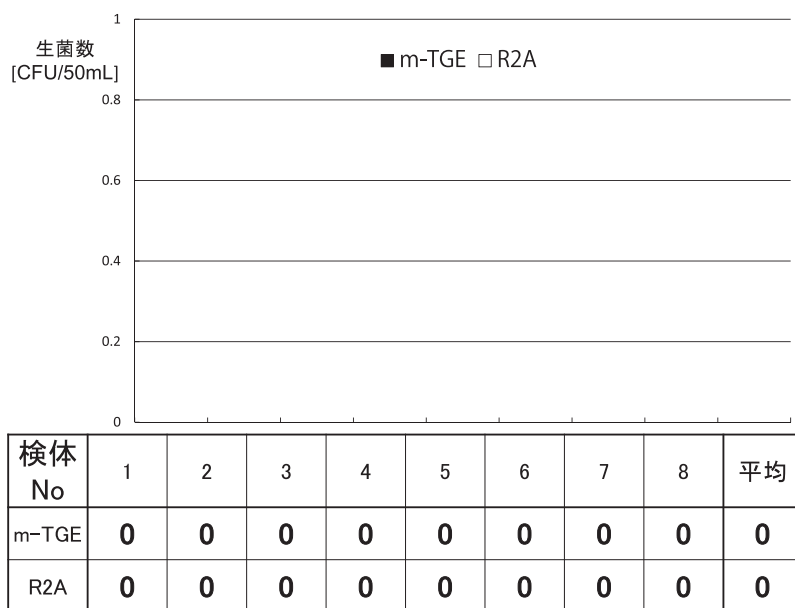


図5 末端透析液の生菌数測定結果

各培地の生菌コロニーの形成状態を観察した結果、m-TGEはコロニーが大きく発育し、また発色も強く出ていた。逆にR2Aはコロニーの形成が小さく、生菌数のカウントに多少苦勞することもあった（図6）。

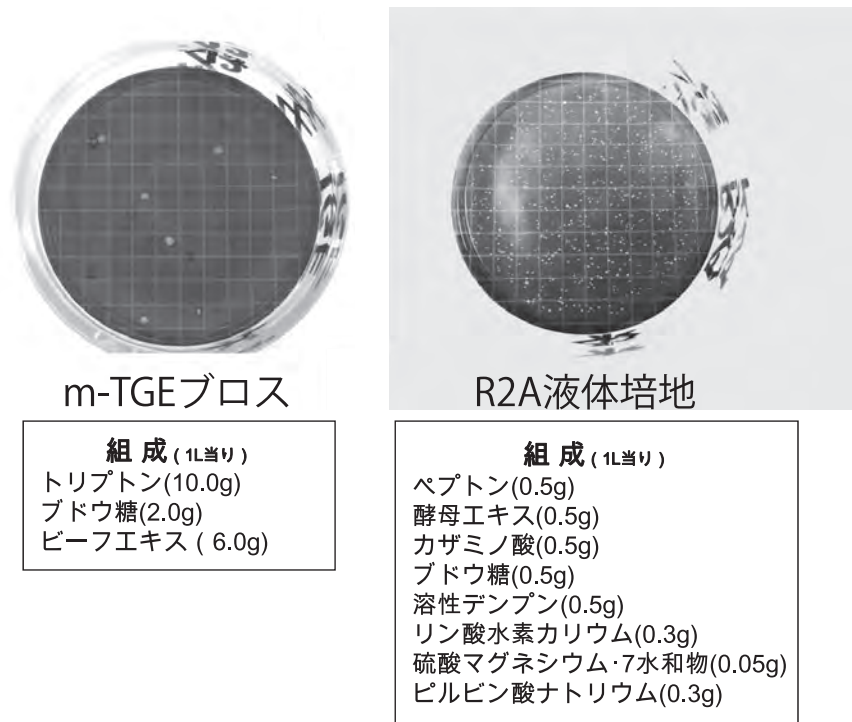


図6 培地のコロニーおよび組成の比較

#### <考察>

培養手技を比較した結果、R2Aは容器から培地の吸引工程がなく、37mmクオリティモニターに直接注入できることから手技工程が簡便となった。このことからR2Aはコンタミネーション汚染の可能性が比較的少なく、無菌操作にも有効であると考えた。

生菌数測定の比較結果から、m-TGEよりR2Aが概ね低値を示し、8検体の平均で原水の回収率66%（m-TGEの結果を100%としたとき）、調整後透析液の平均回収率76%であった。日本薬局方では、細菌検査の測定頻度は第15改正日本薬局方第一追補において接近種の出現集落数は標準化された菌液の計測値の1/2から2倍以内でなければならない<sup>5)</sup>とされている。すなわち、50から200%の違いは測定誤差と判断でき、m-TGEとR2Aの生菌数結果は同等であるといえる。このことから、以前から行ってきたm-TGEによる生菌数測定のデータを活用し、R2Aでも安定した生菌数測定が可能であると考えられた。

培養後の生菌コロニーの形成状態を観察した結果、m-TGEがR2Aよりもコロニー径が大きくはっきりとしていた。これは各培地とも低栄養培地に属するが、栄養成分が異なるため（図6）、生菌の発育状況に差が生じたと考えた。全体的にR2Aのコロニー径が小さくなり測定に苦勞することがあったため測定環境の照度や視力の違い等の注意が必要と考えた。

---

<結語>

R2A液体培地はm-TGEブロスに比べ、培養手技の簡便性から汚染防止に繋がること、さらに測定精度も安定していることから、R2A液体培地に切り替えて使用を開始している。今後も当院では、透析液水質管理について各ガイドラインを遵守し、透析液の清浄化に努めていきたいと考える。

<参考文献>

- 1) 政金生人：透析液清浄化基準の変遷と今後の展望、Clinical Engineering、1242-1246、2005.
- 2) 日本透析医学会 ガイドライン「透析液水質基準と血液浄化器性能評価基準2008」  
<http://www.jsdt.or.jp/jsdt/1637.html>
- 3) ISO13959 (2014) 「Water for hemodialysis and related therapies」
- 4) 日本臨床工学技士会 血液浄化に関する報告書「透析液清浄化ガイドラインVer2.01」  
[http://www.ja-ces.or.jp/ce/?page\\_id=765](http://www.ja-ces.or.jp/ce/?page_id=765)
- 5) 日本薬局方電子版 第15改正日本薬局方第一追補  
<http://jpdb.nihs.go.jp/jp15supp1/>