



SEIKAGAKU CORPORATION

透析液エンドトキシンの測定

～より安全な透析医療のために～



ENDOTOXIN

透析医療現場における高性能膜の普及やHDFの施行に伴いより高度な透析液の清浄化が求められています

近年、透析に用いられる高性能膜の逆ろ過、逆浸透に伴い、透析液中のエンドトキシンが血中に移行する危険性が明らかにされ、一方、透析時に極めて微量のエンドトキシンによって繰り返される慢性的なサイトカインの誘導が、透析アミロイド症などの長期透析合併症に関与する可能性が報告されています。また透析液中エンドトキシン濃度が低いほど生命予後が良好であるとの論文も、最近報告されています。

これらの見解に基づき、日本透析医学会、日本臨床工学技士会、ISOなどから、透析用水や各種透析液の清浄化の指標の一つとして、エンドトキシン管理基準や測定法に関する指針が示されています。我が国の透析医療における透析液の清浄化は、総合的なライン管理により国際的に誇れる水準に達しており、多くの施設で、検出限界値0.001EU/mL未満のエンドトキシン濃度の透析液が提供されています。

ENDOTO

エンドトキシンとは？

エンドトキシンはグラム陰性菌の外膜を構成する成分のひとつで、経口的に摂取しても毒性は示しませんが、血液中に入るとマクロファージからの炎症性サイトカインの産生を誘導し、発熱、低血圧症、全身的な血液凝固、致死性のショック等、極めて微量で多彩な生物活性を示します。エンドトキシンの管理には、カプトガニの血球から抽出された成分より作られたエンドトキシン測定用試薬が用いられています。

SIMPLE

操作が簡単
シングルタイプの
比色法試薬と機器により
測定します

特徴

SPEEDY

測定時間は30分
透析施行前の
測定にも対応します

SENSITIVE

検出限界は0.001EU/mL
高感度なエンドトキシン測定が
可能です

TOXIN



生化学工業は
透析液エンドトキシン測定を導入、技術学術サービスから
アフターフォローまでをワンストップでご提供いたします

透析液水質基準

記載内容は、文献1) p.701, 702、文献2) p.981、文献3) および文献4) の内容から抜粋したものです。
生菌数測定のための検体量および測定頻度を含め、内容の詳細については、各文献をご確認ください。

	2016年版 透析液水質基準 ¹⁾ 2016年版透析液水質基準達成のための手順書 ³⁾		ISO 23500:2014 ⁴⁾	
	生菌数 (CFU/mL)	エンドトキシン活性値 (EU/mL)	生菌数 (CFU/mL)	エンドトキシン活性値 (EU/mL)
透析用水 Dialysis water	<100 注1	<0.050 注1	<100 アクションレベル50	<0.25 アクションレベル0.125
標準透析液 Standard dialysis fluid	<100 注1、注2	<0.050 注1、注2	<100 アクションレベル50	<0.5 アクションレベル0.25
超純粋透析液 Ultra-pure dialysis fluid	<0.1 注1、注3	<0.001 注3	<0.1	<0.03
透析液由来 オンライン調整透析液 (オンライン補充液) 注4 Online prepared substitution fluid	無菌 注4	無発熱物質 (無エンドトキシン) 注4	sterile (生きた微生物が存在しないことが、適用可能な薬局 方の方法によりバリデート されていること)	nonpyrogenic (発熱反応を 引き起こさないこと)

注1：基準を維持するためのアクションレベル(汚染が基準値より高度になる傾向を防ぐために、措置を講じる必要がある汚染度)は上限値の50%を推奨している^{1)、2)}

注2：血液透析を行う場合の最低限の水質¹⁾

注3：基本的にすべての血液透析療法に推奨される¹⁾

注4：透析液製造業者によってバリデートされた機器を使用し、その管理基準に従わなければならない³⁾

サンプルを分析し、エンドトキシンが測定感度(検出限界)未満で、かつ生菌数がNDでなければ適合していないと判断する³⁾

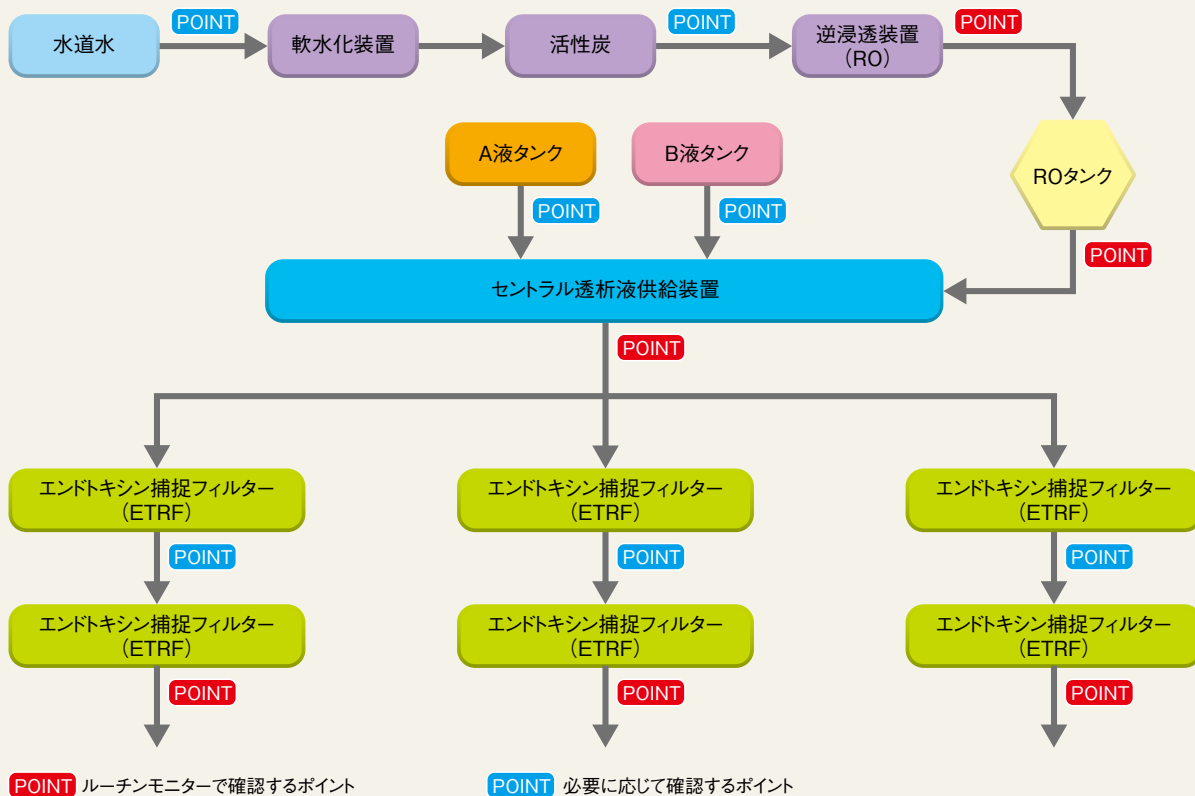
血液浄化器(中空糸型)の機能分類 [文献5) より抜粋]

記載内容は、文献5) p.502の内容から抜粋したものです。
血液浄化器の測定条件については、文献をご確認ください。

治療法	HD					HDF		HF
血液浄化器	血液透析器					血液透析濾過器		血液濾過器
	I型		II型		S型 (特別な機能をもつもの)	(後希釈用)	(前希釈用)	
	I-a型 (蛋白非透過/ 低透過型)	I-b型 (蛋白透過型)	II-a型 (蛋白非透過/ 低透過型)	II-b型 (蛋白透過型)				
性能基準	125 ≤		185 ≤		125 ≤	200 ≤	180 ≤	55 ≤
β ₂ -MGクリアランス (mL/min)	<70		70 ≤		0 ≤	70 ≤	70 ≤	35 ≤
アルブミンふるい係数 SC	<0.03	0.03 ≤	<0.03	0.03 ≤				
透析液または 補充液水質基準	超純粋透析液水質基準					濾過型人工腎臓用補充液または オンライン透析液水質基準		
特徴	小分子から中分子(含むβ ₂ -MG)溶質の除去を主目的とする。	小分子から大分子までブロードな溶質の除去を主目的とする。	小分子から中分子(含むβ ₂ -MG)溶質の積極的除去を主目的とする。	大分子(含むα ₁ -MG)溶質の除去を主目的とする。	特別な機能:生体適合性に優れる、吸着によって溶質除去できる、抗炎症性、抗酸化性を有する、など。	拡散と濾過を積極的に利用し、小分子から大分子まで広範囲にわたる溶質の除去を目的とする。		濾過を積極的に利用し、中・大分子溶質の除去を主目的とする。

上記ガイドラインに則した形で、平成28年度人工腎臓用特定保険医療材料の機能分類が細分化・合理化されました。

透析ラインからのエンドトキシンサンプル採取ポイント



A、B原液のエンドトキシン濃度を測定する場合には、A原液は40倍以上、B原液は20倍以上に希釈した後、測定を行ってください。

透析液エンドトキシン測定 試薬・機器

透析液はLAL試薬を用いる反応系において、阻害あるいは促進的に作用する場合があります。

また、透析液中のエンドトキシンは経時的な失活や各種素材の容器への吸着がおこりやすいことが知られています。したがって、透析液エンドトキシン測定には、阻害・促進の影響を受けにくく、正確な測定ができる試薬と、透析液保存用に、安定化剤を含む採取・保存容器が必要となります。

■特徴

1. 日本透析医学会基準に対応した、透析液エンドトキシンの測定が可能です。
2. 測定時間は30分間ですので、透析施行直前の測定が可能です。
3. 検出限界0.001EU/mLの高感度測定が可能です。
4. (1→3)-β-D-グルカンと反応することなく、エンドトキシンにのみ特異的に反応する比色法LAL試薬を使用します。
5. 検体数に合わせて、最適な測定システムを選択できます。
 - 少数検体測定用：EGリーダーSV-12+エンドスペシー® ES-24Sセット
 - 多検体測定用：ウェルリーダーアドバンス+エンドスペシー® ES-50Mセット

エンドスペース® ES-24SとEGリーダーSV-12を用いた 透析液エンドトキシンの測定

測定に必要な本数だけ使用できるシングルタイプの比色法試薬と測定装置により、
簡単・短時間で、高感度な透析液エンドトキシンの測定を実現します。

測定用機器

EGリーダーSV-12

EGリーダーSV-12は、シングルバイアルを用いた比色法による
エンドトキシン試験に対応しており、試薬を無駄にすることなく
試験を行うことができます。試薬バイアルに緩衝液と検体を入れ、
本体にセットすることにより、随時測定が開始され、加温、測定、
測定結果の算出まで自動的に行うことができます。

一度に12バイアルまで同時に測定することができ、4サイクル
の繰り返し測定により、最大48検体までの測定が可能です。
本体はパソコンで制御しますので、別途Windows® 搭載パソコン、
プリンタが必要となります。

なお、標準ソフトとして、日本臨床工学技士の透析液水質基準に
基づく適合性判定が簡単にできる、透析液エンドトキシン測定
専用のソフトが含まれています。



*パソコンはセットには含まれません。

Code	品名	包装
900630	EGリーダー SV-12	1台
セット内容	●EGリーダー SV-12本体……1台 ●ソフトウェアインストールCD-ROM……1枚 ●シリアル通信ケーブル……1本 ●電源コード……1本 ●遮光カバー……1本 ●電源プラグ3極→2極変換アダプター……1個 ●マニュアル・保証書……一式	

※制御用パソコンについて

EGリーダーSV-12を制御するには、別途Windows® パソコンが必要です。

〈推奨スペック〉

- OS : 日本語Windows® 10
- ポート : RS-232Cシリアルポート (D-Sub9ピン)
- CDドライブ : ソフトインストール用

測定用試薬

エンドスペシー® ES-24Sセット

エンドスペシーES-24Sセットは、比色法によるエンドトキシン測定のための試薬セットで、(1→3)-β-D-グルカン(G因子系を介して反応)と反応することなく、エンドトキシンにのみ特異的に反応します。

測定に必要な本数だけ使用できるシングルタイプ包装で、バイアルをそのまま反応管としてEGリーダーSV-12にセットし、使用することができます。標準的操作法による検出限界は0.001EU/mL未満、定量範囲は0.002~0.1EU/mLです。



Code	品名	包装
020170	エンドスペシー® ES-24Sセット	1セット
セット内容	③緩衝液……2.8mL×4本 ④LAL試薬(C系ライゼート)……24本 ⑤蒸留水(エンドトキシン、β-グルカンフリー)……2.8mL×2本	

EGリーダーSV-12 透析液エンドトキシン測定用ソフト

- 日本臨床工学技士会の透析液水質基準に基づく適合性判定が簡単にできる、透析液エンドトキシン測定専用のソフト
- Windows® 10 日本語版に対応

Code	品名	包装
900619	EGリーダーSV-12透析用ソフト	1セット

エンドスペシー® ES-24SとEGリーダーSV-12を用いた 透析液エンドトキシンの測定

測定フローチャート

EGリーダーSV-12：ウォームアップ

標準品の溶解



標準溶液の調製 (希釈操作)



ES-24Sセット LAL試薬の溶解



ブランク溶液の添加、反応

標準溶液の添加、反応

検体の添加、反応

測定結果



保存検量線の手入力

ES-24Sセット LAL試薬の溶解



検体の添加、反応

測定結果



【検体等の準備】

A原液：エンドトキシン試験用水で40倍以上に希釈します。
B原液：エンドトキシン試験用水で20倍以上に希釈します。
調製透析液：そのまま測定に使用します。

測定範囲 0.001~0.1EU/mL

サンプルの採取法

T字サンプリングポートからの採取

1. 透析液を採取する前に、透析ラインを十分に流します。
2. T字サンプリングポートキャップ部を消毒用アルコール綿で拭きます。
3. 注射針をつけたディスポーザブルシリンジを用いて、針をT字サンプルポートに刺し、シリンジ全体を透析液で満たすように吸引して、一度破棄します。
4. 再度シリンジをT字サンプルポートに刺し、数回ポンピングをくり返した後、透析液を採取します。
5. 採取した透析液は、乾熱滅菌試験管に1/4量ほど移し、すぐに測定を行うか、HDチューブに注入し、2~8℃で保存します。

カプラーからの採取

1. カプラージョイントからしばらく透析液を流します。
2. 注射針をつけたディスポーザブルシリンジを用いて、シリンジ全体を透析液で満たすように吸引し、一度破棄します。
3. 再度シリンジ全体を透析液で満たすよう、透析液を採取します。
4. 採取した透析液は、乾熱滅菌試験管に1/4量ほど移し、すぐに測定を行うか、HDチューブに注入し、2~8℃で保存します。

HDチューブ — 安定化剤入り透析液採取管 —

透析液エンドトキシン測定用の透析液の採取および保存用真空採取管(安定化剤入り)です。安定化剤を含んでいますので、透析液中エンドトキシンの経時的な失活や容器への吸着を防ぎます。採取された透析液は2~8℃保存で7日間安定です。

日本HDF研究会「透析液エンドトキシン測定に関するバリデーション指針(草案)」適合品です。



■ 関連製品

Code	品名	包装
010020	CSE (10ng/vial、パイロクロム用)	5本
010290	LAL試験用水 (LRW)	10本
020150	エンドスペース-ES-50Mセット	1セット
020170	エンドスペース-ES-24Sセット	1セット
800798	乾熱滅菌試験管アルミキャップ付 (11.6×65mm)	100本
800804	乾熱滅菌アルミ箔	1セット
800807	乾熱滅菌アルミキャップ	100個
800826	HDチューブ	50本
900510	トキシベット ディスペンサー	1個
900516	トキシベット サンプラー 200	1個
900517	トキシベット サンプラー 1000	1個
900520	トキシベット ディスペンサーシリンジ	50本
900540	トキシベット チップ 200	500本

Code	品名	包装
900545	トキシベット チップ 1000	100本
900570	トキシベット プレート LP	50枚
900600	ウェルリーダーアドバンス	1セット
900630	EGリーダー SV-12	1セット
900618	ウェルリーダーアドバンス、透析用ソフト	1セット
900619	EGリーダーSV-12、透析用ソフト	1セット
900626	ウェルリーダーアドバンス光源ランプ	1個
900636	SV-12光源ランプ	1個
900651	フィルター405nm	1枚
900652	フィルター492nm	1枚
900656	MP-96/SK603光源ランプ	1個
900675	試験管ミキサー-TM-251	1台

エンドスペシー® ES-50Mとウェルリーダーアドバンスを用いた透析液エンドトキシンの測定法

多検体同時処理に最適なマルチタイプの比色法試薬とマイクロプレートを用いたエンドトキシン測定装置により、簡単・短時間で、高感度な透析液エンドトキシンの測定を実現します。

測定用機器

ウェルリーダーアドバンス

ウェルリーダーアドバンスはマイクロプレートを用いたエンドトキシン測定装置です。検体と試薬のミキシングから、加温、測定、測定結果の算出まで、すべてを自動的に行うことができます。本体はパソコンで制御しますので、別途Windows® 搭載パソコン、プリンタが必要となります。

なお、標準ソフトとして、日本臨床工学技士会の透析液水質基準に基づく適合性判定が簡単にできる、透析液エンドトキシン測定専用のソフトが含まれています。



*パソコンはセットには含まれません。

Code	品名	包装
900600	ウェルリーダーアドバンス	1セット
セット内容	<ul style="list-style-type: none"> ●ウェルリーダーアドバンス本体……1台 ●電源コード……1本 ●電源プラグ用3極アダプター……1個 ●パソコン接続ケーブル……1本 ●インストール用CD-ROM……1枚 ●予備ヒューズ……1本 ●取扱説明書／保証書／検査成績書……一式 	

※制御用パソコンについて

ウェルリーダーアドバンスを制御するには、別途Windows® パソコンが必要です。

〈推奨スペック〉

- OS : 日本語Windows® 10
- ポート : RS-232Cシリアルポート (D-Sub9ピン)
- CDドライブ : ソフトインストール用

測定用試薬

エンドスペシー® ES-50Mセット

エンドスペシーES-50Mセットは比色法によるエンドトキシン測定用試薬セットで、エンドトキシンのみに特異的に反応します。多検体測定に適したマルチテスト包装で、マイクロプレート-カインेटリック法で50回測定が可能です。標準的操作法による検出限界は0.001EU/mL未満、定量範囲は0.002~0.1EU/mLです。



Code	品名	包装
020150	エンドスペシー® ES-50Mセット	1セット
セット内容	<ul style="list-style-type: none"> ③緩衝液……2.8mL×1本 ④LAL試薬 (C系ライゼート)……1本 ⑤蒸留水 (エンドトキシン、β-グルカンフリー)……2.8mL×1本 	

参考文献

- 1) 峰島三千男, 他: 2016年版 透析液水質基準. 透析会誌, 49(11), 697-725 (2016)
- 2) 川西秀樹, 他: 2011年版社団法人日本透析医学会「エンドトキシン捕捉フィルタ (ETRF) 管理基準」. 透析会誌, 44(9), 977-990 (2011)
- 3) 公益社団法人日本臨床工学技士会: 2016年版透析液水質基準達成のための手順書 Ver. 1.01 (2017)
- 4) ISO 23500: 2014 (E): Guidance for the preparation and quality management of fluids for haemodialysis and related therapies (2014)
- 5) 日本臨床工学技士会透析液等安全委員会: 透析液清浄化ガイドライン Ver. 2.01 (2014)
- 6) 川西秀樹, 他: 血液浄化器 (中空糸型) の機能分類 2013. 透析会誌, 46(5), 501-506 (2013)
- 7) HDF研究会 HDF技術叢書編集委員会編: 透析液エンドトキシン測定 (阻害・促進試験、安定化剤、外注検査) に関するバリデーション指針 (草案 96D). HDF技術叢書 (1) 透析液水質管理の指針 (第2版) pp. 56-73: HDF研究会 (1996)
- 8) 金成泰: 透析液調製過程におけるラインの実際. 竹沢真吾編. 透析液エンドトキシンがよくわかる本, pp. 55-77, 東京医学社 (1995)
- 9) Yamamoto, C. and Kim, S.T.: Validation of limulus tests for endotoxin evaluation in dialysate. Nephrology, 2, 429-434 (1996)
- 10) 渡邊真紀, 他: 透析液エンドトキシン安定化方法. 臨牀透析12別冊HDF療法'96: 149-158 (1996)
- 11) 相沢真紀, 他: 新規エンドトキシン特異的比色法リムルス試薬の性能. 腎と透析55別冊, 68-70 (2003)
- 12) 岡本まどか, 他: 少数検体用新規エンドトキシン測定システムの性能. 腎と透析59別冊, 283-285 (2005)
- 13) 相沢真紀, 他: 透析液清浄化におけるエンドトキシン測定の役割. 日本血液浄化技術研究会会誌, 14(1), 169-173 (2007)
- 14) 日本臨床工学技士会: 透析液安全管理責任者セミナーテキスト, 東京イデアフォース (2015)
- 15) 藤原雄太, 他: エンドトキシン低濃度溶液の測定値に与える保存環境の影響. クリニカルエンジニアリング, 22(10), 983-990 (2011)
- 16) 樺村友隆: 透析液エンドトキシン測定における保存検量線使用の妥当性評価. 透析会誌, 47(2), 137-143 (2014)
- 17) Hasegawa, T et al: Dialysis Fluid Endotoxin Level and Mortality in Maintenance Hemodialysis: A Nationwide Cohort Study. Am J Kidney Dis, 65(6), 899-904 (2015)
- 18) Hoshino, J et al: Significance of the decreased risk of dialysis-related amyloidosis now proven by results from Japanese nationwide surveys in 1998 and 2010. Nephrol Dial Transplant, 31, 595-602 (2016)

■製品の詳細や技術的なお問い合わせ

事業推進本部 海外事業推進部 ACC/LALグループ

TEL. 03-5220-8953
FAX. 03-5220-8956

E-mail: lal@seikagaku.co.jp
<http://www.lalbiz.com/>



試験成績書ダウンロードのご案内

当社LAL試薬Webサイトよりエンドトキシン測定用試薬の試験成績書のダウンロードができます。

<http://www.lalbiz.com/>



例：ES-24Sセットの試験成績書ダウンロードの方法

1. 商品をお手元にご用意のうえ、当社LAL試薬Webサイトの試験成績書検索へアクセス
2. コード番号BoxにES-24Sのコード番号「020170」を入力 (6桁の数字、半角)
3. ロット番号1 Boxに製品外箱記載のロット番号「24S……」を入力 (英数半角)
4. ロット番号2 Boxに製品外箱記載の有効期限「* * ……20XX」を入力 (英数半角)
5. 検索ボタンをクリック

※商標について：Windows® は米国Microsoft Corporationの米国およびその他の国における登録商標です。

本カタログに記載の内容は予告なく変更になる場合があります。

発売元



生化学工業株式会社

事業推進本部 海外事業推進部 ACC/LALグループ

〒100-0005 東京都千代田区丸の内一丁目6-1

Telephone:03-5220-8953

Facsimile :03-5220-8956

E-mail :lal@seikagaku.co.jp

URL :<http://www.lalbiz.com>