

■ 限度試験法

限度試験法は、試料溶液が各条に規定されたエンドトキシン規格を超えるエンドトキシンを含むか否かを、ライセート試薬の表示感度に基づいてゲル化反応により判定する方法です。

操作法

表3に従い、A, B, CおよびD液を調製し、これらの4種の液を一組として試験を2回行います。AおよびB液の試料溶液は、予備試験：反応干渉因子試験に適合する溶液を用います。

表3

| 液 | エンドトキシン濃度／被添加液 | 試験の回数 | 試験管の本数 |
|-----------------|----------------|-------|--------|
| A ^{*1} | 0／試料溶液 | 2 | 2 |
| B ^{*2} | 2入／試料溶液 | 2 | 2 |
| C ^{*3} | 2入／エンドトキシン試験用水 | 2 | 2 |
| D ^{*4} | 0／エンドトキシン試験用水 | 2 | 2 |
| | | | 計8本 |

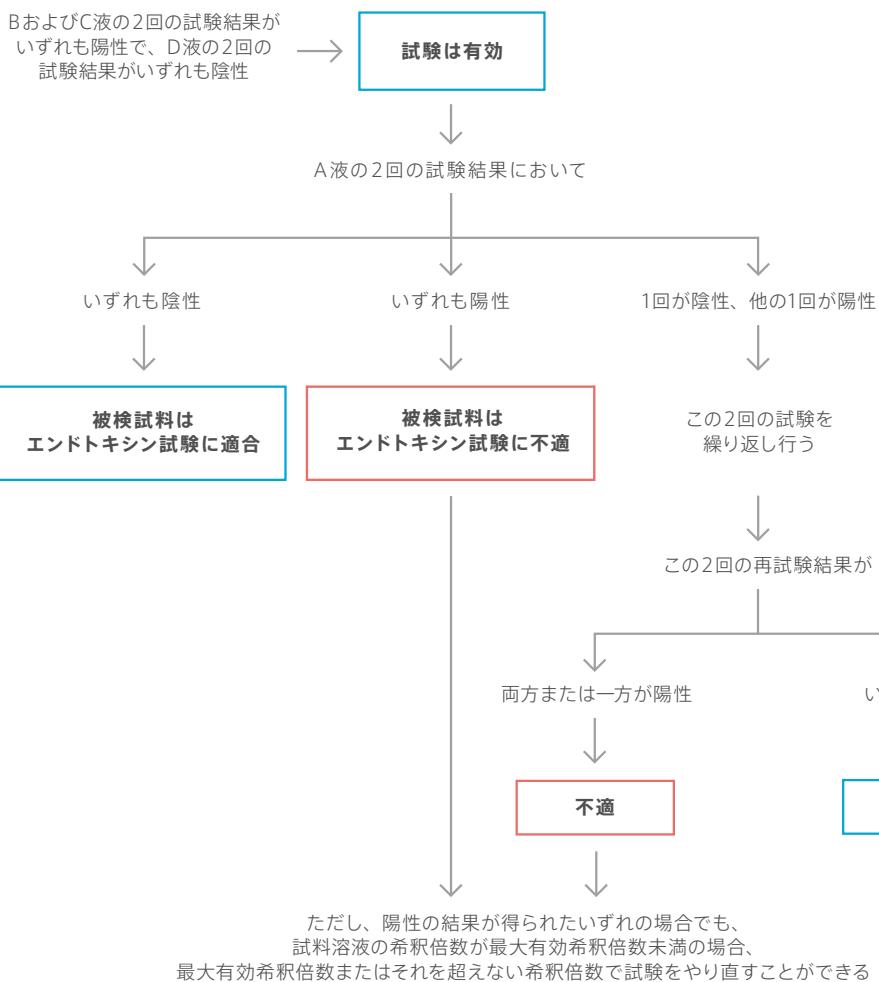
*1 限度試験のための試料溶液。最大有効希釈倍数を超えない範囲で希釈することができる

*2 陽性対照。A液と同倍数で希釈された試料溶液で、終濃度2入となるように標準エンドトキシンを添加したもの

*3 陽性対照。濃度2入のエンドトキシン標準溶液

*4 陰性対照。エンドトキシン試験用水のみ

判 定



■ 定量試験法

定量試験法は、被検試料のエンドトキシン濃度をゲル化反応のエンドポイントを求ることによって測定する方法です。

操作法

表4に従い、A, B, CおよびD液を調製し、これらの4種の液を一組として試験を2回行います。AおよびB液の試料溶液は、予備試験：反応干渉因子試験に適合する溶液を用います。

表4

| 液 | エンドトキシン濃度／被添加液 | 希釀液 | 希釀倍数 | エンドトキシン濃度 | 試験の回数 | 試験管の本数 |
|-----------------|----------------|-------------|------|-----------|-------|--------|
| A ^{*1} | 0／試料溶液 | エンドトキシン試験用水 | 1 | — | 2 | 8 |
| | | | 2 | — | | |
| | | | 4 | — | | |
| | | | 8 | — | | |
| B ^{*2} | 2λ／試料溶液 | — | 1 | 2λ | 2 | 2 |
| C ^{*3} | 2λ／エンドトキシン試験用水 | エンドトキシン試験用水 | 1 | 2λ | 2 | 8 |
| | | | 2 | 1λ | | |
| | | | 4 | 0.5λ | | |
| | | | 8 | 0.25λ | | |
| D ^{*4} | 0／エンドトキシン試験用水 | — | — | — | 2 | 2 |
| | | | | | | 計20本 |

*1 定量試験のための試料溶液。段階希釀倍数は、最大有効希釀倍数を超えない範囲で適宜変更することができる

*2 陽性対照。A液の最小希釀倍数と同倍数で希釀された試料溶液に、終濃度2λとなるように標準エンドトキシンを添加したもの

*3 ライセート試薬の表示感度確認のためのエンドトキシン標準溶液

*4 陰性対照。エンドトキシン試験用水のみ

エンドトキシン濃度の算出および判定

2回の試験のいずれの結果においても、
D液は陰性を、B液は陽性を示し、
C液の幾何平均エンドポイント濃度が
0.5～2λの範囲

→ 試験は有効



A液の希釀系列において、
陽性を示す最大の希釀倍数をエンドポイントとし、
試料溶液のエンドトキシン濃度を算出

A液の希釀系列に
エンドポイントが存在

A液の希釀系列の中に
陽性を示すものがない

A液の希釀系列のすべてが陽性

試料溶液のエンドトキシン濃度は、
「入にエンドポイントにおける希釀倍数を
乗じて得た値」として算出

試料溶液のエンドトキシン濃度は、
「入にA液の最小希釀倍数を
乗じた値未満」

試料溶液のエンドトキシン濃度は、
「入にA液の最大希釀倍数を
乗じた値以上」



試料溶液のエンドトキシン濃度から、

2回の試験により被検試料について求めた二つのエンドトキシン濃度
(EU/mL, EU/mg, EU/mEq または EU/ 単位) の
いずれもが、医薬品各条に規定されたエンドトキシン規格を満たす



被検試料は、エンドトキシン試験に適合