

■ 定量

3 定量

3-1 操作方法

2 反応干渉因子試験と同様に、

- (1) エンドトキシン標準溶液、2倍濃度試料溶液、試料添加用エンドトキシン標準溶液を調製する。
- (2) A, B, CおよびD液をマイクロプレート上で調製するため、プレートの所定のウェルに分注する。

ウェルパターン例：定量

Blk: LRW (D液)
St1~St5: エンドトキシン標準溶液 (C液)
T1: 試料溶液 (A液)
Tr1: 検量線の中点濃度 (または中点付近濃度) のエンドトキシン添加試料溶液 (B液)

- (3) ライセート試液を調製し、完全に溶解したライセート試液 0.05mLをシリンジで所定のウェルに添加する。
- (4) プレートに蓋をかぶせ、マイクロプレートリーダーEPOCH2にセットする。
- (5) **測定開始** ボタンをクリックすると、直ちに1分間攪拌され、あらかじめ設定した測定条件で自動的に測定が開始される。

・ ENDOMEASUREソフトウェア, Type-Mの設定条件については、p.1をご参照ください。

3-2 データ解析

- (1) 測定終了後、ファイルは自動的に保存される。

・ ENDOMEASUREソフトウェア, Type-Mであらかじめ設定した解析条件で、自動解析されます。

3-3 判定

(1) 試験の有効性を確認する。

以下のすべての条件に適合するとき、試験は有効である。

- ・ C液：作成した検量線の相関係数 r を求め、その絶対値 $|r|$ が0.980以上である。
- ・ B液で測定されたエンドトキシン濃度とA液で測定されたエンドトキシン濃度の差に基づいて計算された、B液の添加エンドトキシン濃度に対するエンドトキシンの回収率が50～200%の範囲にある。
- ・ D液：検出限界未満である。
(本操作法：反応時間法における限度値は反応時間 (Ta) がND (検出されず) である)

(2) 試験の判定を行う。

- ① A液の平均エンドトキシン濃度に基づき、被験試料のエンドトキシンの濃度 (EU/mL、EU/mg、EU/mEq またはEU/単位) を算出する。
- ② その値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とき、被験試料はエンドトキシン試験に適合とする。

■ エンドトキシン標準原液の調製について

エンドトキシン標準原液は日本薬局方エンドトキシン標準品をエンドトキシン試験用水で溶解して調製します。

【調製方法】

1. 日本薬局方エンドトキシン標準品 (エンドトキシン10000) のキャップを開封し、汚染に注意しながらピンセットでゴム栓を開封します。
2. 2,000EU/mLになるよう、添付文書あるいはキャップの上に記載された用量のエンドトキシン試験用水を添加します。
3. ゴム栓で蓋をし、キャップを締めます。パラフィルムでキャップとバイアルを固定し、試験管ミキサーで15分間激しく攪拌します。
4. 調製したエンドトキシン標準原液は $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (凍結を避ける) で保存し、溶解後は28日以内にご使用ください。
直ちに使用しないときは、キャップにパラフィルムを巻いて密封してください。