



Control Standard Endotoxin のエンドトキシン力価の算出方法(例)

Control Standard Endotoxin(以下 CSE と略記)のエンドトキシン力価を、米国薬局方エンドトキシン標準品(USPRSE と略記)を用いて評定する方法を記します^{1, 2)}。

CSE の重量当たりのエンドトキシン力価(EU/ng)は、使用するライセート試薬のロットが異なると変化する可能性がありますので、ライセート試薬のロット毎に算出してください。

なお、日本薬局方エンドトキシン試験法においては、標準品として CSE を使用することは認められておりませんのでご注意ください。

USPRSE の 1 バイアルにエンドトキシン試験用水 5mL を加え、ボルテックスミキサーで 30 分攪拌して溶解します。溶解後、【表 1】のように希釈して 2 倍希釈系列を作成します。各希釈段階では、ボルテックスミキサーで 1 分間攪拌してください。

【表 1】

USPRSE(EU/mL)	容量(mL)	添加水(mL)	終濃度(EU/mL)
2,000	0.5	0.5	1,000
1,000	0.1	0.9	100
100	0.1	0.9	10
10	0.1	0.9	1
1	0.1	0.9	0.1
0.1	0.5	0.5	0.05
0.05	0.5	0.5	0.025
0.025	0.5	0.5	0.0125

4 バイアルの CSE について、それぞれ 5mL のエンドトキシン試験用水を加え、ボルテックスミキサーで 1 分間攪拌して溶解します。溶解した後、【表 2】に示したように希釈系列を作成します。

【表 2】

CSE(ng/mL)	容量(mL)	添加水(mL)	終濃度(ng/mL)
2	0.5	0.5	1
1	0.1	0.9	0.1
0.1	0.1	0.9	0.01
0.01	0.5	0.5	0.005
0.005	0.5	0.5	0.0025
0.0025	0.5	0.5	0.00125
0.00125	0.5	0.5	0.000625

USPRSE (0.1, 0.05, 0.025, 0.0125 EU/mL)、盲検体、CSE 4 バイアル(0.01, 0.005, 0.0025, 0.00125, 0.000625 ng/mL)について、ライセート試薬を用いて 2 重測定を行います。

RSE について、濃度と吸光度変化率(mAbs)の直線回帰式(下式)を最小二乗法により求め検量線とします。

$$\text{吸光度変化率(mAbs/min)} = A \times \text{USPRSE 濃度(EU/mL)} + B \quad (A, B: \text{定数})$$

使用した USPRSE の最大濃度と最小濃度における吸光度変化率が検量線の有効範囲となります。なお、この時検量線の相関係数が 0.980 以上でない場合、また盲検体値がライセート試薬で定める値以上の場合は試験は無効です。

CSE について、各濃度の 2 重測定、4 バイアルの吸光度変化率(8 測定値)の平均値を求め、上記検量線に代入して EU 換算値を求めます【表 3】。EU 換算値を CSE 濃度で除して重量当たりの EU 値を求めます。

CSE 各濃度での EU/ng を平均して最終的な重量当たりの EU 値を求めますが、4 バイアルの平均吸光度変化率が検量線の有効範囲内にある 3 つの数値のみを使用して求めます。

希釈した CSE 溶液の 3 濃度が USPRSE 検量線の有効な吸光度変化率範囲内に入らなければなりません。上記の例では、5EU/ng-40EU/ng の範囲であれば、有効範囲内に 3 濃度が入り、重量当たりの EU 値を求めることができます。

【表 3】

CSE(ng/mL)	4 バイアルの平均吸光度変化率	EU 換算値 (EU/mL)	EU/ng
0.01			
0.005			
0.0025			
0.00125			
0.000625			

参考文献

1. 日本工業規格 JIS K8008-1992 生化学試薬通則「4.3 エンドトキシン試験」
2. 米国 FDA "Guideline on Validation of the Limulus Amebocyte Lysate Test as an End-Product Endotoxin Test for Human and Animal Parenteral Drugs, Biological Products, and Medical Devices" (1987)
(なお、本ガイドラインは 2011 年 7 月に取り下げとなっています。)

お問い合わせ先

生化学工業株式会社 LAL 営業グループ
 TEL: 03-5220-8953 FAX: 03-5220-8956
 E-mail: s-info@seikagaku.co.jp