

■ 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、ライセート試液を調製する。
- (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

The screenshot shows the 'Well Pattern' software interface. The main window is titled 'ウェルパターン' and has a title bar with 'ウェルパターン' and standard window controls. The title bar also shows 'タイトル | 定量' and '濃度の単位 | EU/mL'. The interface is divided into several sections:

- Well Plate Grid:** A 96-well plate grid with columns 1-12 and rows A-H. The grid contains colored cells representing different liquid types: 'blk' (black), 'St' (blue), 'T' (yellow), and 'Tr' (green). The pattern is as follows:

Row	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B							blk	blk				
C							St 1	St 1				
D							St 2	St 2				
E							St 3	St 3				
F							T 1	T 1				
G							Tr 1	Tr 1				
H												
- Parameters:** '標準の濃度' (Standard Concentration) with values 0.01, 0.1, 1 for St-01, St-02, St-03. '希釈倍率' (Dilution Factor) is 1.00 for T-01 to T-08. '添加濃度' (Addition Concentration) is 0.1, 0.05, 0.05, 0.05, 0.05, 0.05, 0.05, 0.05 for Tr-01 to Tr-08.
- Assay Information:** '試薬' (Reagent) is 'パイロテール-T', '溶解液' (Solvent) is 'LRW', and '標準品' (Standard) is '日本薬局方エンドトキシン標準品'. 'ロット番号' (Lot Number) fields are filled with 'XXX-XX-XXX-T', 'XXX-XXXX', and 'Control_XXXXXXXX'.

blk : LRW (D液)

St1~St3 : 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) 完全に溶解したライセート試液 0.1 mL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、ウェルリーダーアドバンスにセットする。
- (5) **測定** 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。
 - ・ウェルリーダーアドバンスの設定条件については、p.44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。
 - ・ Software for Wellreader, DIエディション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。