

■ 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

検量線	濃度 [EU/mL]
ST01	0.005
ST02	0.05
ST03	0.5
ST04	5
ST05	50

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) パイロスマートネクストジェン試薬を調製する。
- (4) 完全に溶解したパイロスマートネクストジェン 0.05mLをシリンジで所定のウェルに添加する。
- (5) 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。
- (6) 「測定開始」ボタンをクリックすると、直ちに10秒間攪拌され、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。