

「ICH Q4B Annex14：エンドトキシン試験法（案）」に関する御意見・情報の募集について

平成22年8月23日
厚生労働省医薬食品局審査管理課

日米EU医薬品規制調和国際会議（ICH）において、「ICH Q4B Annex14：エンドトキシン試験法（案）」が別添のとおりまとめられましたので、広く御意見・情報を募集いたします。

つきましては、本案に関して御意見・情報のある場合には、下記により提出してください。皆様から頂いた御意見・情報については、今後の活動における参考とさせていただきます。

なお、提出していただいた御意見・情報に対する個別の回答はいたしかねますので、その旨御了承願います。

記

1. 募集期限

平成22年10月22日（金）必着

2. 提出方法

提出していただく御意見等には必ず「エンドトキシン試験法（案）」と明記の上、以下に掲げるいずれかの方法で提出してください。お電話による御意見・情報の提出はお受けできかねますので御了承下さい。

○電子メールの場合

電子メールアドレス：ichq4bannex14@mhlw.go.jp

○ファクシミリの場合

ファクシミリ番号：03-3597-9535

厚生労働省医薬食品局審査管理課あて

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38

ICH 調和文書 事項別附属文書案

Q4B－事項別附属文書（ANNEX） 14
薬局方テキストを ICH 地域において相互利用するための評価及び勧告

エンドトキシン試験法

ステップ 2 文書

ICH Step2 プロセスにおいて、ICH 専門家会合で合意された事項別附属文書案又はガイドラインは、ICH 運営委員会から日米 EU 三極の規制当局へ配布され、国又は地域ごとの手順に従い、意見聴取にかけられる。

39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

ICHQ4B ガイドライン
(薬局方テキストを ICH 地域において相互利用するための評価及び勧告)

目 次

第 1 章	序文	2
第 2 章	Q4B 評価結果	2
2.1	試験方法	2
2.2	規格値／判定基準	2
第 3 章	施行時期	2
第 4 章	施行に当たっての留意事項	2
4.1	全般的な事項	2
4.2	米国 (FDA) の場合	2
4.3	EU の場合	2
4.4	日本 (厚生労働省) の場合	3
4.5	カナダ (保健省) の場合	3
第 5 章	Q4B 評価に用いた参照資料	3
5.1	PDG 調和文書 (PDG ステージ 5B 合意署名文書)	3
5.2	三極薬局方における参照資料	3

61 第1章 序文

62 本文書は、エンドトキシン試験法について Q4B 専門家作業部会で評価された結果を示
63 したものである。本試験法は三極薬局方検討会議（PDG）から提出されたものである。

64

65 第2章 Q4B 評価結果

66 2.1. 試験方法

67 ICH 運営委員会は、Q4B 専門家作業部会の評価に基づいて、欧州薬局方記載の 2.6.14.
68 Bacterial Endotoxins、日本薬局方記載の 4.01 エンドトキシン試験法、及び米国薬局方
69 記載の <85> Bacterial Endotoxins Test が、ICH 地域内において下記の事項を考慮の
70 上で相互利用できるものとして勧告する。

71

72 2.1.1 ゲル化法、比濁法又は比色法のいずれも試験に利用することができる。た
73 だし、結果に疑義がある場合又は係争が生じた場合は、別に規定するものの
74 ほか、最終判定にはゲル化法の限度試験を利用すること。

75

76 2.1.2 エンドトキシン標準品は、現行の世界保健機関（WHO）のエンドトキシ
77 ン国際標準品を基準に標定すること。

78

79 2.2. 規格値／判定基準

80 評価文書には、規格値／判定基準は含まれていない。エンドトキシンの規格値は、各
81 条に規定されている場合を除き、承認申請書に規定する。

82

83 第3章 施行時期

84 本文書は各々の規制地域で施行された時点（ICH ステップ 5）で、当該地域で使用可能
85 となる。施行時期は各地域で異なる場合がある。

86

87 第4章 施行に当たっての留意事項

88 4.1 全般的な事項：本文書の施行後、製造販売業者等が、従前の方法を Q4B 専門家作
89 業部会が評価した本文書の第 2.1 章に参照されている薬局方テキストに変更する場
90 合、いかなる変更（届出、申請）、及び／又は事前承認の手続きは、各規制地域の
91 薬局方の改正に関する取扱いに従う。

92

93 4.2 米国（FDA）の場合：上記の勧告に基づき、そして、本文書に示された条件に従
94 い、第 2.1 章に参照されている薬局方テキストは相互利用できる。しかしながら、
95 どの薬局方を用いるかにかかわらず、企業が選択した試験方法が個別の品目に対し
96 て適用できるかどうか説明を求める場合がある。

97

98 4.3 EU の場合：欧州連合では、規制当局は、上記の相互利用の宣言に基づき、本文書
99 に示される条件に従い、欧州薬局方記載の 2.6.14 の適合性の必要条件を満たしてい

100 るとして、販売承認申請、更新、変更申請において本文書の第 2.1 章で参照されて
101 いる他の薬局方テキストを利用することを受け入れることができる。
102

103 4.4 日本(厚生労働省)の場合:本文書の第 2.1 章に参照されている薬局方テキストは、
104 本文書に示される条件に従い、相互利用が可能なものとして利用することができる。
105 施行の要件については、本文書を施行する際に厚生労働省より通知される。
106

107 4.5 カナダ(保健省)の場合:カナダでは、本文書の第 2.1 章に参照されている薬局方
108 テキストを本文書に示される条件に従って利用した場合は、相互利用できる。
109

110 第 5 章 Q4B 評価に用いた参照資料

111 5.1 PDG 調和文書 (PDG ステージ 5B 合意署名文書 (Rev.1 – Corr.1)) : 日本薬局方
112 フォーラム Vol. 18, No. 4 (2009 年 12 月発行)

113

114 5.2 三極薬局方における参照資料

115 5.2.1. 欧州薬局方 : Supplement 6.6 (2010 年 1 月 1 日発効)

116 Bacterial Endotoxins (reference 01/2010:20614)

117

118 5.2.2. 日本薬局方:第十六改正日本薬局方に収載予定の一般試験法 4.01 エンドトキシ
119 ン試験法

120 厚生労働省提出の日局 16 原案を添付

121

122 5.2.3. 米国薬局方 : USP33 再発行版 (2010 年 4 月発行、2010 年 10 月 1 日発効)

123 <85> Bacterial Endotoxins Test

〔別添〕

124

日局 16 原案

125

4.01 エンドトキシン試験法

126

次のように改める。

127

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

128

エンドトキシン試験法は、カプトガニ (*Limulus polyphemus* 又は *Tachypleus tridentatus*) の血球抽出成分より調製されたライセート試薬を用いて、グラム陰性菌由来のエンドトキシンを検出又は定量する方法である。本法には、エンドトキシンの作用によるライセート試液のゲル形成を指標とするゲル化法及び光学的变化を指標とする光学測定法がある。光学測定法には、ライセート試液のゲル化過程における濁度変化を指標とする比濁法、及び合成基質の加水分解による発色を指標とする比色法がある。

133

エンドトキシン試験は、ゲル化法、比濁法又は比色法によって行う。ただし、その結果について疑義がある場合又は係争が生じた場合は、別に規定するもののほか、ゲル化法によって最終の判定を行う。

135

本法はエンドトキシンによる汚染を避けて行う。

136

1. 器具

137

試験に用いるすべてのガラス製及びその他の耐熱性器具は、有効とされている方法により乾熱処理を行う。通例、少なくとも 250℃で 30 分間の乾熱処理を行う。また、マルチウエルプレート及びマイクロピペット用チップなどのプラスチック製品を用いる場合は、エンドトキシンが検出されないこと及びエンドトキシン試験に対する干渉作用のないことが確認されたものを用いる。

141

2. 溶液の調製

142

2.1 エンドトキシン標準原液の調製

143

エンドトキシン標準原液は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する。なお、エンドトキシン単位は EU で示し、1 EU は 1 エンドトキシン国際単位 (IU) に等しい。

145

2.2 エンドトキシン標準溶液の調製

146

エンドトキシン標準溶液はエンドトキシン標準原液を十分に振り混ぜた後、エンドトキシン試験用水で希釈して調製する。エンドトキシン標準溶液は、エンドトキシンの容器への吸着を避けるため、できるだけ速やかに使用する。

148

2.3 試料溶液の調製

149

別に規定するもののほか、医薬品をエンドトキシン試験用水で溶解又は希釈し、試料溶液とする。ライセート試液と試料溶液の混液の pH が用いるライセート試薬に規定される pH 範囲になるように、試料溶液の pH の調整を必要とする場合もある。通例、試料溶液の pH は、6.0 ~ 8.0 の範囲にあればよい。pH の調整に用いる試液又は溶液はエンドトキシン試験用水を用いて調製し、エンドトキシンが検出されない容器に保存する。これらの試液又は溶液は、エンドトキシンが検出されないこと、及び反応干渉因子を含まないことが保証されたものでなければならない。

154

3. 最大有効希釈倍数の求め方

155

最大有効希釈倍数とは、試料溶液中に存在する反応干渉因子の影響を希釈により回避できるとき、許容される試料溶液の最大の希釈倍数である。

157

最大有効希釈倍数は、次の式によって求める。

158

最大有効希釈倍数 = (エンドトキシン規格値 × 試料溶液の濃度) / λ

159

エンドトキシン規格値：注射剤のエンドトキシン規格値は、投与量に基づいて規定されており、 K/M に等しい。ただし、 K は発熱を誘起するといわれる体重 1 kg 当たりのエンドトキシンの量 (EU/kg) であり、 M は体重 1 kg 当たり 1 回に投与される注射剤の最大量である。ただし注射剤が頻回あるいは持続的に投与される場合は、 M は 1 時間以内に投与される注射剤の最大総量とする。

163

試料溶液の濃度：試料溶液の濃度の単位は、エンドトキシン規格値が質量当たり (EU/mg) で規定されている場合は mg/mL、当量当たり (EU/mEq) で規定されている場合は mEq/mL、生物学的単位当たり (EU/単位) で規定されている場合は単位/mL、容量当たり (EU/mL) で規定されている場合は mL/mL である。

166

λ：ゲル化法の場合はライセート試薬の表示感度 (EU/mL) であり、比濁法又は比色法の場合は検量線の最小エンドトキシン濃度 (EU/mL) である。

168

4. ゲル化法

169

本法は、エンドトキシンの存在によるライセート試液の凝固反応に基づいて、エンドトキシンを検出又は定量する方法

170 である。

171 本法の精度と有効性を保証するために、予備試験 (4.1) としてライセート試薬の表示感度確認試験 (4.1.1) 及び反応
172 干渉因子試験 (4.1.2) を行う。

173 4.1 予備試験

174 4.1.1 ライセート試薬の表示感度確認試験

175 ライセート試薬の表示感度とは、ライセート試薬に規定されている条件下でのライセート試液の凝固に必要な最小エンドトキシ
176 ドキシン濃度である。ライセート試薬は各ロットにつき、使用する前にその表示感度 λ を確認しなければならない。

177 本試験は、試験結果に影響を及ぼす可能性が予想される試験条件の変更があるときにも行う。

178 ライセート試薬の表示感度の確認は、次の方法により行う。

179 エンドトキシシン標準原液をエンドトキシシン試験用水で希釈し、 2λ 、 1λ 、 0.5λ 及び 0.25λ の4種の濃度のエンドトキ
180 シン標準溶液を調製する。

181 ライセート試液及びそれぞれ等しい量、通例、 0.1 mL のエンドトキシシン標準溶液を試験管にとり、混和する。単回試験
182 用の凍結乾燥ライセート試薬を用いる場合は、その容器にエンドトキシシン標準溶液を直接加え、ライセート試薬を溶解す
183 る。

184 これらの試験管又は容器を通例、 $37\pm 1^\circ\text{C}$ に保ち、振動を避けて 60 ± 2 分間静置した後、穏やかに約 180° 転倒し、内
185 容物を観察する。流出しない堅固なゲルが形成されているとき、陽性とする。ゲルを形成しないか、又は形成したゲルが
186 流出するとき、陰性とする。

187 調製した4種の濃度のエンドトキシシン標準溶液を用いて、この4種の液を一組とした試験を4回行う。

188 各回の試験において、濃度 0.25λ のエンドトキシシン標準溶液がすべて陰性を示すとき、試験は有効である。試験が有
189 効でないときは、試験条件を整備して再試験を行う。

190 各回の試験において、陽性を示す最小エンドトキシシン濃度をエンドポイント濃度とし、次の式によって4回の試験の幾
191 何平均エンドポイント濃度を求める。

192 幾何平均エンドポイント濃度 $=\text{antilog}(\Sigma ef)$

193 Σe : 各回のエンドポイント濃度の対数 e の和

194 f : 試験の回数

195 求めた幾何平均エンドポイント濃度が $0.5 \sim 2\lambda$ の範囲にあるとき、ライセート試薬の表示感度は確認されたと判定
196 し、以下の試験にはその表示感度を用いる。

197 4.1.2 反応干渉因子試験

198 本試験は、試料溶液について、反応を促進又は阻害する因子の有無を調べる試験である。

199 表4.01-1に従い、A、B、C及びD液を調製し、A及びB液は4回、C及びD液は2回試験する。反応温度、反応時
200 間及びゲル化判定法は、4.1.1に従う。

201 B液及びC液の幾何平均エンドポイント濃度は、4.1.1の計算式を準用して求める。

202 本試験は、試験結果に影響を及ぼす可能性が予想される試験条件の変更があるときにも行う。

203

表 4.01-1

液	エンドトキシシン濃度/ 被添加液	希釈液	希釈倍 数	エンドトキシシン濃度	試験の 回数
A*1	0/試料溶液	—	—	—	4
B*2	2 λ /試料溶液	試料溶液	1	2 λ	4
			2	1 λ	
			4	0.5 λ	
			8	0.25 λ	
C*3	2 λ /エンドトキシシン 試験用水	エンドトキシシン 試験用水	1	2 λ	2
			2	1 λ	
			4	0.5 λ	
			8	0.25 λ	
D*4	0/エンドトキシシン試 験用水	—	—	—	2

204 *1 陰性対照。試料溶液のみ。

205 *2 反応干渉因子試験のための、標準エンドトキシシンを添加した試料溶液。

206 *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シン標準溶液。

207 *4 陰性対照。エンドトキシシン試験用水のみ。

208 A 及び D 液の試験結果がすべて陰性で、C 液の試験結果によりライセート試薬の表示感度が確認されたとき、反応干
209 渉因子試験は有効とする。

210 B 液の試験結果において幾何平均エンドポイント濃度が 0.5 ~ 2λ の範囲にあるとき、反応干渉因子は試料溶液に存在
211 しないものと判定し、試料溶液は反応干渉因子試験に適合とする。幾何平均エンドポイント濃度がこの範囲にないとき、
212 試料溶液は反応干渉作用を有する。試料溶液に反応干渉作用が認められるとき、最大有効希釈倍数を超えない範囲で試料
213 溶液を更に希釈し、試験を行う。より高感度のライセート試薬を用いることにより、試料の最大有効希釈倍数をより大き
214 くすることができる。なお、試料溶液から反応干渉作用を除くために、試料溶液又は希釈した試料溶液につき、適切な処
215 理（ろ過、反応干渉因子の中和、透析又は加熱処理など）を施すことができる。ただし、処理によりエンドトキシンが損
216 失しないことを保証するために、エンドトキシンを添加した試料溶液に当該の処理を施すことにより、上記の試験に適合
217 する結果が得られることを確認する。

218 4.2 限度試験法

219 本法は、被検試料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
220 表示感度に基づいてゲル化反応により判定する方法である。

221 4.2.1 操作法

222 表 4.01-2 に従い、A、B、C 及び D 液を調製し、これらの 4 種の液を一組として試験を 2 回行う。A 及び B 液の試料
223 溶液は、4.1.2 に適合する溶液を用いる。

224 反応温度、反応時間及びゲル化判定は、4.1.1 に準じる。

225

表 4.01-2

液	エンドトキシン濃度/被添加液	試験の回数
A*1	0/試料溶液	2
B*2	2λ/試料溶液	2
C*3	2λ/エンドトキシン試験用水	2
D*4	0/エンドトキシン試験用水	2

226 *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
227 で希釈することができる。

228 *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 2λ
229 となるように標準エンドトキシンを添加したもの。

230 *3 陽性対照。濃度 2λ のエンドトキシン標準溶液。

231 *4 陰性対照。エンドトキシン試験用水のみ。

232 4.2.2 判定

233 B 及び C 液の 2 回の試験結果がいずれも陽性で、D 液の 2 回の試験結果がいずれも陰性のとき、試験は有効とする。

234 A 液の 2 回の試験結果がいずれも陰性のとき、被検試料はエンドトキシン試験に適合とし、いずれも陽性のとき、不適
235 とする。

236 A 液の 2 回の試験結果において、1 回が陰性で他の 1 回が陽性のとき、この 2 回の試験を繰り返し行う。その 2 回の試
237 験結果がいずれも陰性のとき、被検試料はエンドトキシン試験に適合とする。両方又は一方が陽性の場合には不適とする。

238 ただし、陽性の結果が得られたいずれの場合でも、試料溶液の希釈倍数が最大有効希釈倍数未満の場合、最大有効希釈
239 倍数あるいはそれを超えない希釈倍数で試験をやり直すことができる。

240 4.3 定量試験法

241 本法は、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めることにより測定する方法である。

242 4.3.1 操作法

243 表 4.01-3 に従い、A、B、C 及び D 液を調製する。これらの 4 種の液を一組として試験を 2 回行う。A 及び B 液の試
244 料溶液は、4.1.2 に適合する溶液を用いる。

245 試験の操作条件は 4.1.1 に準じる。

246 4.3.2 エンドトキシン濃度の算出及び判定

247 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 ~
248 2λ の範囲にあるとき、試験は有効とする。

249 A 液の希釈系列において、陽性を示す最大の希釈倍数をエンドポイントとし、λ にエンドポイントにおける希釈倍数を
250 乗じて得た値を試料溶液のエンドトキシン濃度とする。

251

表 4.01-3

液	エンドトキシン濃度/被添加液	希釈液	希釈倍数	エンドトキシン濃度	試験の回数
A*1	0/試料溶液	エンドトキシン試験用水	1	—	2
			2	—	
			4	—	
			8	—	
B*2	2λ/試料溶液	—	1	2λ	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
			2	1λ	
			4	0.5λ	
			8	0.25λ	
D*4	0/エンドトキシン試験用水	—	—	—	2

252

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

253

*2 陽性対照。A液の最小希釈倍数と同倍数で希釈された試料溶液に、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。

254

255

*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。

256

257

*4 陰性対照。エンドトキシン試験用水のみ。

258

A液の希釈系列の中に陽性を示すものがないとき、試料溶液のエンドトキシン濃度はλにA液の最小希釈倍数を乗じた値未満とする。

259

260

A液の希釈系列のすべてが陽性のとき、試料溶液のエンドトキシン濃度は、λにA液の最大希釈倍数を乗じた値以上とする。

261

262

試料溶液のエンドトキシン濃度から、被検試料のエンドトキシン濃度(EU/mL, EU/mg, EU/mEq又はEU/単位)を算出する。

263

264

2回の試験により被検試料について求めた2つのエンドトキシン濃度(EU/mL, EU/mg, EU/mEq又は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とき、被検試料はエンドトキシン試験に適合とする。

265

266

5. 光学的定量法

267

5.1 比濁法

268

本法は、ライセート試液のゲル化に伴う濁度の変化を測定することにより、試料のエンドトキシン濃度を測定する方法である。エンドポイントー比濁法とカイネティックー比濁法がある。

269

270

エンドポイントー比濁法は、エンドトキシン濃度と一定反応時間後における反応液の濁度との間の用量反応関係に基づく方法である。

271

272

カイネティックー比濁法は、エンドトキシン濃度と反応液があらかじめ設定された濁度に達するのに要した時間又は濁度の経時変化率との間の用量反応関係に基づく方法である。

273

274

試験は、通例、37±1℃で行い、濁度は吸光度又は透過率で示される。

275

5.2 比色法

276

本法は、エンドトキシンのライセート試液との反応により、発色合成基質から遊離される発色基の量を吸光度又は透過率で測定することにより、エンドトキシンを定量する方法である。エンドポイントー比色法とカイネティックー比色法がある。

277

278

エンドポイントー比色法は、エンドトキシン濃度と一定反応時間後における発色基の遊離量との間の用量反応関係に基づく方法である。

279

280

281

カイネティックー比色法は、エンドトキシン濃度と反応液があらかじめ設定された吸光度又は透過率に達するのに要する時間又は発色の経時変化率との間の用量反応関係に基づく方法である。

282

283

試験は、通例、37±1℃で行う。

284

5.3 予備試験

285

比濁法又は比色法の精度と有効性を保証するために、検量線の信頼性確認試験(5.3.1)及び反応干渉因子試験(5.3.2)を行う。

286

287

5.3.1 検量線の信頼性確認試験

288

ライセート試薬は各ロットにつき、使用する前にその検量線の信頼性を確認しなければならない。

289

本試験は、試験結果に影響を及ぼす可能性が予想される試験条件の変更があるときにも行う。

290 用いるライセート試薬に規定されているエンドトキシンの濃度範囲で、少なくとも3種の濃度のエンドトキシン標準溶
 291 液を調製し、これらの各濃度の溶液につき、3回以上測定して検量線を作成する。エンドトキシン標準溶液とライセート
 292 試液の容量比、反応時間、反応温度、pHなどの操作条件は用いるライセート試薬の至適条件に従う。

293 検量線の濃度範囲を2桁より大きくするとき、1桁大きくするごとに用いるエンドトキシン標準溶液の濃度を1濃度ず
 294 つ追加する。

295 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 以上であるとき、検量線の信頼性は確認されたと判定
 296 する。

297 検量線の信頼性が確認されなかったときは、試験条件を整備して再試験を行う。

298 5.3.2 反応干渉因子試験

299 表 4.01-4 に従い、A、B、C 及び D 液を調製して、試験を行う。ライセート試液の採取量、ライセート試液に対する試
 300 料溶液の容量比、反応時間などの操作条件は、用いるライセート試薬の至適条件に従う。

301 本試験は、試験結果に影響を及ぼす可能性が予想される試験条件の変更があるときにも行う。
 302
 303

表 4.01-4

液	エンドトキシン濃度	被添加液	試験管又は ウエルの数
A ^{*1}	0	試料溶液	2 以上
B ^{*2}	検量線の中点濃度 ^{*2}	試料溶液	2 以上
C ^{*3}	3 濃度以上	エンドトキシン試験用水	各濃度、 2 以上
D ^{*4}	0	エンドトキシン試験用水	2 以上

304 *1 試料溶液のみ（試料溶液のエンドトキシン濃度測定用）。最大有効希釈倍数
 305 を超えない範囲で希釈することができる。

306 *2 A 液と同倍数で希釈された試料溶液で、検量線の中点又は中点付近のエ
 307 ンドトキシン濃度になるように標準エンドトキシンを添加したもの。

308 *3 5.3.1 で用いた各種濃度のエンドトキシン標準溶液（検量線作成用）。

309 *4 陰性対照。エンドトキシン試験用水のみ。

310 本試験は次の2つの条件に適合するとき、有効である。

311 1. C 液で作成した検量線の相関係数の絶対値は 0.980 以上である。

312 2. D 液の測定結果は、ライセート試薬に設定されている空試験の限度値を超えないか、又はエンドトキシンの検出
 313 限界未満である。

314 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、B 液の添加エンド
 315 キシン濃度に対するエンドトキシンの回収率を計算する。添加エンドトキシンの回収率が 50 ~ 200% の範囲にあるとき、
 316 反応干渉因子は試料溶液に存在しないと判定し、反応干渉因子試験に適合とする。

317 エンドトキシンの回収率が規定の範囲にないとき、試料溶液は反応干渉作用を有する。試料溶液に反応干渉作用が認め
 318 られるとき、最大有効希釈倍数を超えない範囲で試料溶液を更に希釈し、試験を行う。なお、試料溶液又は最大有効希釈
 319 倍数を超えない範囲で希釈した試料溶液から反応干渉因子を除くために、適切な処理（ろ過、反応干渉因子の中和、透析
 320 又は加熱処理など）を施すことができる。ただし、処理によりエンドトキシンが損失しないことを保証するために、エン
 321 ドトキシンを添加した試料溶液に当該の処理を施すことにより、上記の試験に適合する結果が得られることを確認する。

322 5.4 定量

323 5.4.1 操作法

324 表 4.01-4 に示す A、B、C 及び D 液を調製し、5.3.2 に準じて操作する。

325 5.4.2 エンドトキシン濃度の算出

326 C 液で作成した検量線を用い、A 液の平均エンドトキシン濃度を算出する。

327 本試験は次のすべての条件に適合するとき、有効である。

328 1. C 液で作成した検量線の相関係数の絶対値は 0.980 以上である。

329 2. 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、B 液の添加エ
 330 ンドトキシン濃度に対するエンドトキシンの回収率を計算するとき、その回収率は 50 ~ 200% の範囲にある。

331 3. D 液の結果が、ライセート試薬に設定されている空試験の限度値を超えないか、又はエンドトキシンの検出限
 332 界未満である。

333 5.4.3 判定

334 A 液の平均エンドトキシン濃度に基づき、被検試料のエンドトキシンの濃度（EU/mL、EU/mg、EU/mEq 又は EU/
 335 単位）を求め、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、被検試料はエンドトキシン試験に適

336 合とする.