

シンを添加してウサギの発熱反応を観察したところ、いずれも増量した新投与量での体温上昇度が現投与量でのそれを上回る傾向が認められ、投与量を増量することに問題はないと考えられた。

- 2) 臨床投与量との整合性および国際調和の観点から、上記5種類の血液製剤については、発熱試験法でのウサギへの投与量を増量することが適当であると考える。
- 3) 5%人血清アルブミンに対する発熱試験法でのウサギへの投与量を増量するにあたっては、それに整合させてエンドトキシン試験法での規格値を現行の 0.6EU/mL から 0.2EU/mL に引き下げることを妥当であるとする。

F. 研究発表

1) 誌上発表

1. 前山順一. 発熱試験法. 図説: 生物学的製剤基準解説 2007年版 (株)じほう. 2007年12月.
2. 内藤誠之郎. 発熱性物質試験法, GMP微生物試験法 (株)じほう, in press.

2) 学会発表

1. Naito S, Ochiai, M, Yamamoto A, Maeyama J, Masumi A, Hamaguchi I, Yamaguchi K and Horiuchi Y. Application of the Limulus Amebocyte Lysate Test to Various Blood Products as an Alternative Method to the Rabbit Pyrogen Test. 6th World Congress on

Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, August 2007, Tokyo.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1. 発熱試験法におけるウサギへの投与量を増量した方がよいと考えられる血液製剤

	発熱試験におけるウサギへの投与量		臨床投与量	新投与量案
	生物学的製剤基準	ヨーロッパ薬局方		
人血清アルブミン(5%)	3mL/kg	10mL/kg	1.5 - 4.2mL/kg	10mL/kg
静注用人免疫グロブリン	3mL/kg	10mL/kg	1.5 - 4 mL/kg	10mL/kg
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子	10単位/kg	50単位/kg	33単位/kg	50単位/kg
乾燥人フィブリノゲン	2.5mL/kg	30mg/kg	2.5mL(50mg)/kg	5mL/kg
人ハプトグロビン	3mL/kg	基準なし	3.3mL/kg	5mL/kg

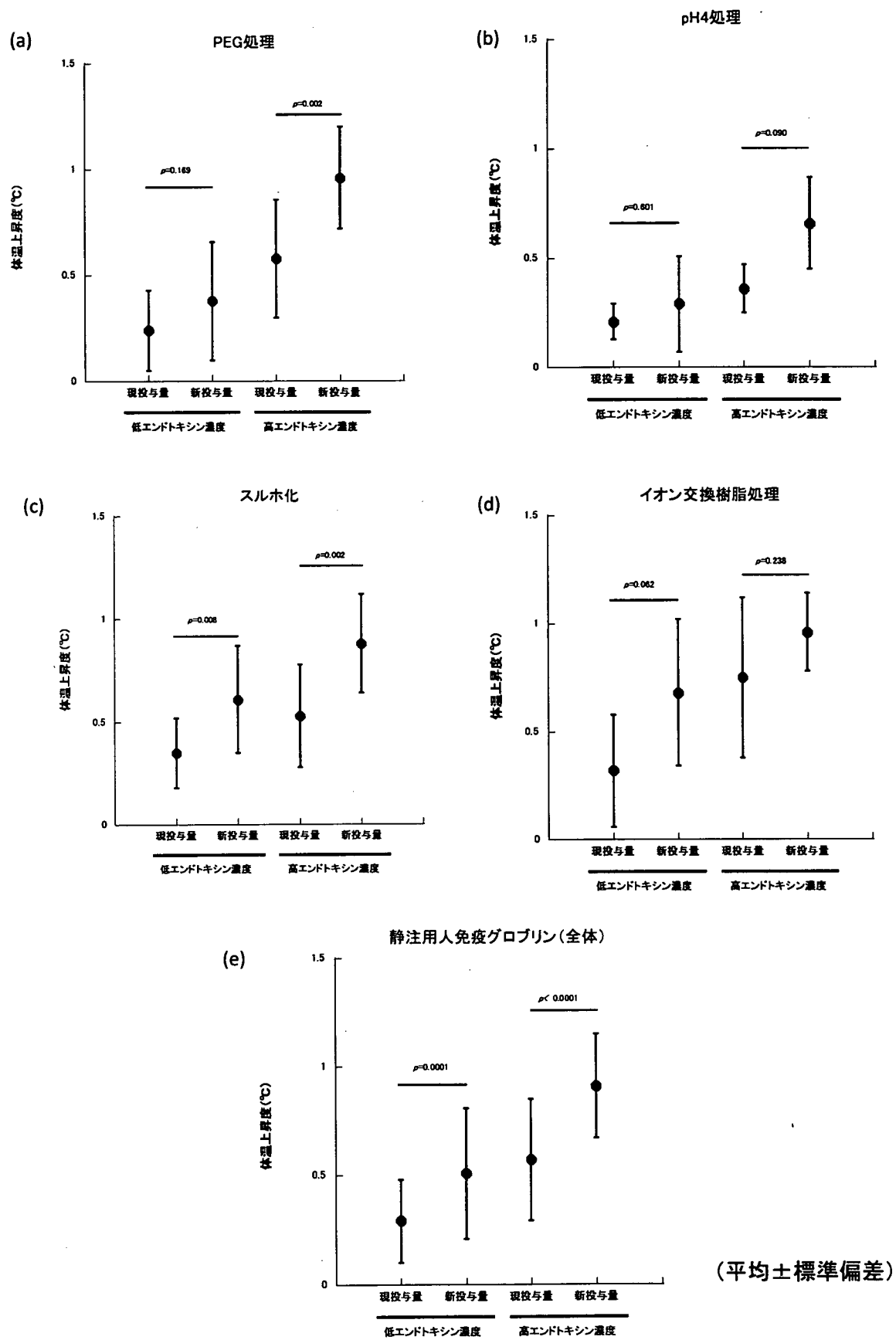
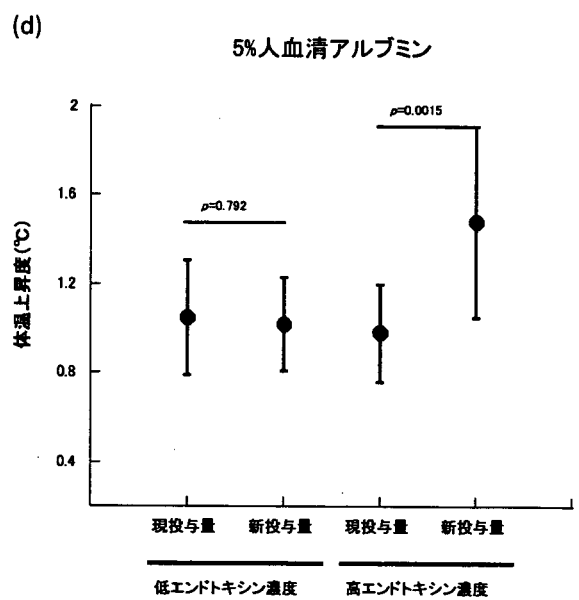
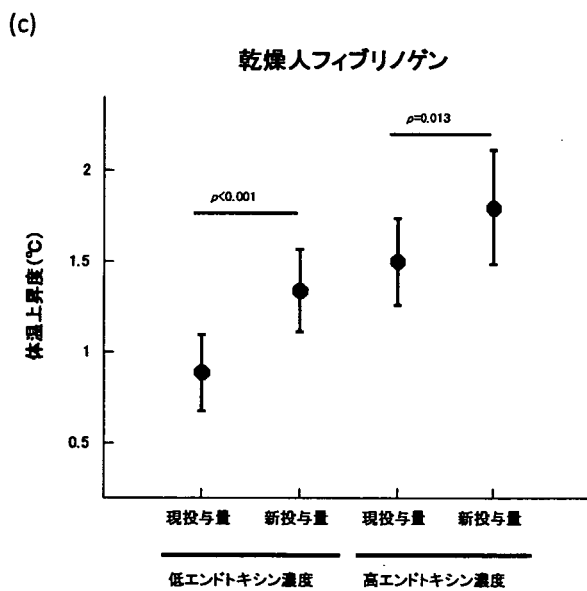
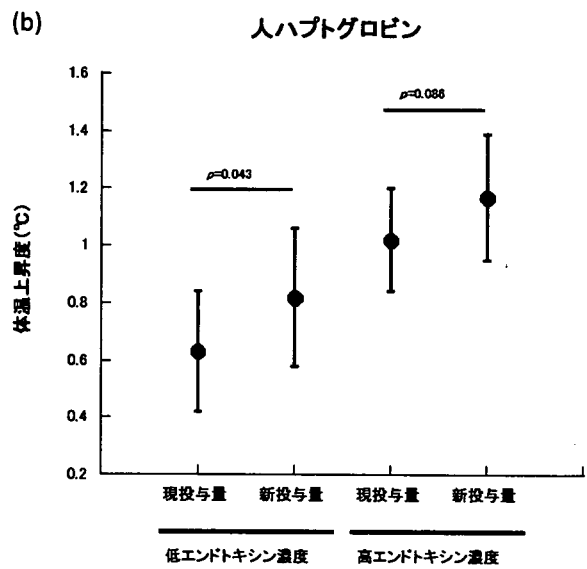
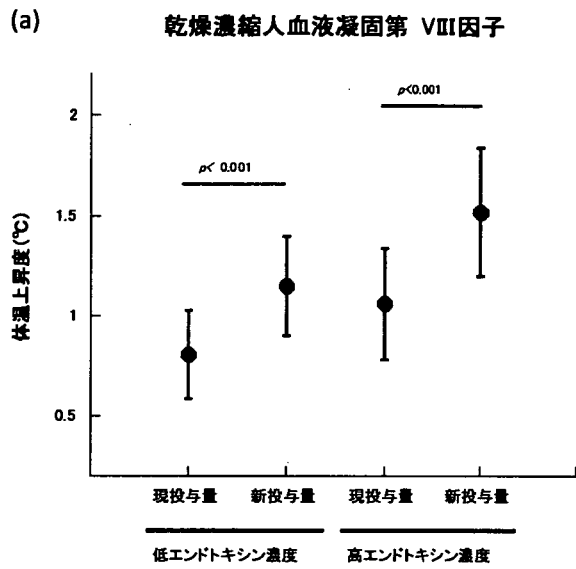


図1. 異なる投与量の静注用人免疫グロブリン製剤により誘導される発熱反応の比較



(平均±標準偏差)

図2. 異なる投与量の各種の血液製剤により誘導される発熱反応の比較

表2. 新投与量と現投与量での発熱反応の比較

	n ¹⁾	低エンドトキシン濃度 ²⁾					高エンドトキシン濃度 ³⁾				
		現投与量		新投与量		p-value ⁴⁾	現投与量		新投与量		p-value ⁴⁾
		Mean (°C)	SD	Mean (°C)	SD		Mean (°C)	SD	Mean (°C)	SD	
静注用人免疫グロブリン	33	0.29	0.19	0.51	0.3	0.0008	0.57	0.28	0.91	0.24	2.3E-06
ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン	12	0.24	0.19	0.38	0.28	0.169	0.58	0.28	0.96	0.24	0.002
スルホ化人免疫グロブリン	12	0.35	0.17	0.61	0.26	0.008	0.53	0.25	0.88	0.24	0.002
乾燥pH4処理人免疫グロブリン	3	0.21	0.08	0.29	0.22	0.601	0.36	0.11	0.66	0.21	0.09
イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン	6	0.32	0.26	0.68	0.34	0.062	0.75	0.37	0.96	0.18	0.238
乾燥濃縮人血液凝固第VIII因子	24	0.81	0.22	1.15	0.25	7.8E-06	1.06	0.28	1.52	0.32	3.0E-06
人フィブリノゲン	12	0.89	0.21	1.34	0.23	4.5E-05	1.5	0.24	1.8	0.31	0.013
人ハプトグロビン	12	0.63	0.21	0.82	0.24	0.043	1.02	0.18	1.17	0.22	0.086
人血清アルブミン(5%)	12	1.05	0.26	1.02	0.21	0.792	0.98	0.22	1.48	0.43	0.0015

1) 各群のウサギ羽数。

2) 現投与量で投与したとき、エンドキシンの投与量が体重1kgあたり10EUとなる濃度。

3) 現投与量で投与したとき、エンドキシンの投与量が体重1kgあたり40EUとなる濃度。

4) 等分散を仮定した2標本によるt検定。

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

「血液製剤に対するエンドトキシン試験法の適用と基準化に関する研究」

分担研究報告書

研究課題：血液製剤によるエンドトキシン試験法に対する反応干渉作用

分担研究者： 堀内善信

国立感染症研究所 細菌第二部 第五室長

研究協力者：落合雅樹¹⁾、山本明彦¹⁾、古山和弘²⁾、竹内繁美²⁾、池田清貴³⁾、
因幡正代³⁾、山本栄二⁴⁾、外山幸司⁴⁾、秋本芳則⁵⁾、徳永英治⁵⁾、
只隈邦彦⁵⁾、宮崎陽子⁵⁾、有野義郎⁶⁾、宮村真澄⁶⁾、児玉敏昭⁶⁾、
小林幸子⁶⁾、赤石暁弘⁷⁾

- 1) 国立感染症研究所 細菌第二部、2) (株) ペネシス、3) CSL ベーリング (株)、
4) 日本赤十字社、5) (財) 化血研、6) バクスター (株)、7) 日本製薬 (株)

研究要旨：

ウサギ発熱試験の代替法としてエンドトキシン試験法の適用が可能であるか、血液製剤製造所 5 社から提供された 21 製剤の反応干渉作用を評価した。一部の筋注用免疫グロブリン製剤、アンチトロンビン製剤を除き、本研究で試験した製剤は、カイネティック比濁法では 2-8 倍以上の希釈、カイネティック比色法では 4-8 倍以上の希釈により、反応干渉作用を受けずに、製剤中に添加したエンドトキシン量の平行線定量法による算出が可能であった。カイネティック比濁法に対する反応阻害が認められた筋注用免疫グロブリン製剤では、製剤を 8-16 倍以上に希釈することで反応阻害の除去が可能であり、8-32 倍以上の希釈により製剤中に添加したエンドトキシン量の平行線定量法による算出が可能であった。一方、アンチトロンビン製剤にはエンドトキシン試験に対する強い反応阻害作用が認められ、希釈による反応干渉の除去にはかなりの希釈倍数が必要であり感度の点から適用は困難と考えられた。

A. 研究目的

現在、人血清アルブミン、加熱人血漿

たん白に対しては、発熱性物質を管理するため生物学的製剤基準により発熱試験

あるいはエンドトキシン試験が規定されているが、これらの製剤を除く血液製剤（血漿分画製剤）では、発熱試験が規定されている。発熱試験法はウサギを用いる動物試験であるため実験動物の個体差などによる影響が避けられず、また多数の動物を必要とすることから動物福祉の立場からも試験法の代替が求められている。エンドトキシン試験は、カプトガニの血液リンパの変形細胞に存在する凝固

B. 研究方法

生物学的製剤基準に準じてエンドトキシン試験を実施した。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注射用蒸留水（大塚製薬）により溶解し調製した。エンドトキシン標準溶液、検体の希釈には注射用蒸留水を用いた。エンドトキシン標準溶液はカイネティック比濁法（ES-III，和光純薬）では1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125 エンドトキシン単位（EU）/mL、カイネティック比色法（エンドスペシー，生化学バイオビジネス）では0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625、0.0078125 EU/mLとなるように、希釈して測定に用いた。血液製剤は別に規定する場合を除き、ES-IIIでは、2倍、4倍、8倍、16倍希釈溶液、エンドスペシーでは4倍、8倍、16倍、32倍希釈溶液を調製して測定に用いた。血液製剤の反応干渉作用を調べるため、検体に添加されたエンドトキシン濃度が血液製剤の検体原液に換算したときに1.0 EU/mLとな

因子がごく微量のエンドトキシンによりゲル形成を引き起こすことに基づいた *in vitro* 試験法であり、発熱試験に比較して操作が簡便で感度、精度および再現性に優れたエンドトキシン検出法である。そこで、発熱試験が規定されている血液製剤（5社21製剤）に対してエンドトキシン試験の適用が可能であるか、本試験に対する反応干渉作用について評価した。

るようにエンドトキシン標準溶液を添加し、前述した希釈方法と同様の希釈倍数に調製したエンドトキシン添加希釈溶液を測定に用いた。検体のエンドトキシン濃度（EU/mL）は、ES-IIIでは用量の対数変換値と測定値（分）の二重対数変換値を用いて、エンドスペシーでは用量と測定値（mAbs/min）の対数変換値を用いて、エンドトキシン標準溶液に対する相対活性として平行線定量法により算出した。血液製剤製造所においても、同一のプロトコール（別紙1,2）を用いて試験を実施し、感染研の試験結果と比較した。

必要に応じて、血液製剤の希釈倍数および添加エンドトキシンの濃度を変更し測定を行った。

C. 結果と考察

血液製剤製造所5社から提供された21製剤のエンドトキシン試験に対する反応干渉作用をB.研究方法のプロトコール

(別紙 1, 2) に従って評価した。

1) カイネティック比濁法 (ES-III)

静注用免疫グロブリン製剤、凝固因子製剤（乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢを除く）およびその他製剤では、4-8 倍以上の希釈により反応干渉作用を受けずに、製剤中に添加したエンドトキシン濃度の平行線定量法による算出が可能であった

(表 1-1, 1-3)。筋注用免疫グロブリン製剤では、やや強い反応阻害作用が認められ、人免疫グロブリン、抗 HBs 人免疫グロブリン、ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）では、反応阻害によりエンドトキシン標準溶液の検量線とエンドトキシンを添加した検体の反応直線の平行性が否定されたため 2 用量以上の測定値を用いて平行線定量法を適用することができなかつた (表 1-2)。その他の筋注用免疫グロブリン製剤では、8 倍以上の希釈により反応干渉作用を受けずに、製剤中に添加したエンドトキシン濃度を平行線定量法により算出することができた (表 1-2)。乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢは非常に強い反応阻害作用を示し本プロトコールの希釈倍率では反応阻害を除くことができなかった (表 1-3)。

強い反応阻害作用を示した製剤については、別紙 3 のプロトールを用いて反応阻害作用を除くために必要な希釈倍数を確認したところ、人免疫グロブリン、抗 HBs 人免疫グロブリンでは概ね 8 倍以上の希釈が、乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢでは最低でも 64 倍以上の希釈が必要で

あった (表 2)。そこで人免疫グロブリン、抗 HBs 人免疫グロブリン、ヒスタミン加人免疫グロブリンについて、別紙 1 のプロトコールの血液製剤の希釈倍数を 8 倍、16 倍、32 倍、64 倍に変更して再度試験を実施したところ、概ね 8 倍以上の希釈により反応阻害作用を除くことができたが、2 用量以上の測定値を用いて平行線定量法を適用するためには 16-32 倍以上の希釈を必要とした。

2) カイネティック比色法(エンドスピー)

すべての製剤（乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢを除く）で 4-8 倍以上の希釈により反応干渉作用を受けずに、製剤中に添加したエンドトキシン濃度の平行線定量法による算出が可能であった (表 1)。

乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢは、別紙 4 のプロトールを用いて反応阻害作用を除くために必要な希釈倍数を確認したところ、最低でも 256 倍以上の希釈が必要であった。

3) まとめ

以上の結果をまとめ、反応干渉作用を除く（添加エンドトキシンの回収率が 50-200% の範囲内となる）ために必要な最低希釈倍率およびエンドトキシン標準溶液の検量線とエンドトキシンを添加した血液製剤の反応直線の平行性が否定されないために必要な最低希釈倍率を表 5 に示した。

同一のプロトコールを用いて血液製剤製造所において実施された試験結果は、感染研の試験結果とよく一致していた

(表 6)。

アンチトロンビン製剤は、エンドトキシン試験に対して非常に強い反応阻害作用を示し、希釈による反応干渉作用の除去にはかなりの希釈倍数が必要であり、感度の点から本試験法の適用は困難と考えられた。しかし、限外ろ過及び加熱処理を組み合わせることで、反応干渉因子を除去し 5 倍希釈相当以上に希釈した製剤を用いてエンドトキシン測定の可能性が示された。十分なデータを得るために、引き続き検討が必要である。

4) ライセート試薬の特異性

17種の血液製剤から各1ロットを選び、G 因子に対する反応性が除去されていないライセート試薬を用いて試験を実施した。測定には、トキシカラー (生化学バイオビジネス, C+G 因子系) および Kinetic-QCL (第一化学薬品, C+G 因子系) を用いた。結果として、抗破傷風人免疫グロブリンにはどちらの試薬においてもエンドトキシン特異試薬 (C 因子系) に比較して著しく高い活性が認められ、Kinetic-QCL では人免疫グロブリン、乾燥抗破傷風人免疫グロブリンにも高い活性が認められた (表 7)。しかし、いずれの検体も発熱試験では陰性を示すことから、これらの製剤中には G 因子に反応する物質の混入が疑われた。そこで、G 因子に対する反応性を特異的に検出するファンギテック G テスト MK (生化学バイオビジネス, G 因子系) を用いて、ファンギテック G テスト MK 標準品 (β -グルカン)

量に対する相対活性として算出した。その結果、抗破傷風人免疫グロブリンには顕著に高い活性が認められ、その他多くの血液製剤が G 因子に対する反応性を示すことが明らかになった (表 7)。ついで、G 因子に対する反応性 (β -グルカン量) の対数変換値を X 軸にトキシカラー (C+G 因子系) / エンドスペシー (C 因子系) 活性比の対数変換値を Y 軸にプロットしたところ、両者の間には有意な相関 (相関係数 0.762, $P < 0.01$) が認められた (図 1)。以上のことから、血液製剤のエンドトキシン測定にはエンドトキシン特異的ライセート試薬を用いる必要があることが明らかとなった。

D. 結論

本研究で検討した血液製剤は、アンチトロンビン製剤を除き、カイネティック比濁法 (ES-III) で 2-8 倍以上の希釈 (一部筋注用免疫グロブリン製剤で最大 16-32 倍以上の希釈)、カイネティック比色法 (エンドスペシー) では 4-8 倍以上の希釈により反応干渉作用を受けずに、製剤中に添加したエンドトキシン濃度の平行線定量法による算出が可能であった。

アンチトロンビン製剤は、エンドトキシン試験に対する強い反応阻害作用を示し、反応干渉の除去にはかなりの希釈が必要であるため、感度の点から本試験法の適用は困難と考えられた。

血液製剤には、G 因子に反応する物質の混入が認められることから、エンドト

キシン測定には生物学的製剤基準に従いエンドトキシン特異的ライセート試薬を用いる必要がある。

E. 研究発表

1) 誌上発表

1. 落合雅樹、山本明彦、堀内善信. エンドトキシン試験法. 図説：生物学的製剤基準解説 2007 年版 (株) じほう. 2007 年 12 月.
2. 山本明彦. 血液製剤の発熱性物質管理, エンドトキシン研究 10 基礎と臨床の最新知見, 日本エンドトキシン研究会編集, 医学図書出版株式会社, 51-58, 2007.
3. Ochiai M, Yamamoto A, Kataoka M, Toyozumi H, Arakawa Y, Horiuchi Y. A quantitative in vitro assay to detect biological activity of endotoxin using rabbit peripheral blood. Alternatives to Animal Testing and Experimentation Special issue, vol. 14, in press.

2) 学会発表

1. Naito S, Ochiai M, Yamamoto A, Maeyama J, Masumi A, Hamaguchi I., Yamaguchi K and Horiuchi Y. Application of the Limulus Amebocyte Lysate Test to Various Blood Products as an Alternative Method to the Rabbit Pyrogen Test. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, August 2007, Tokyo.
2. Horiuchi Y, Yamamoto A, Ochiai M,

Kataoka M, Toyozumi H, Arakawa Y. A strategic approach for implementing the concept of 3Rs for safety control on pyrogen contamination in biological. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, August 2007, Tokyo.

3. Ochiai M, Yamamoto A, Kataoka M, Toyozumi H, Arakawa Y, Horiuchi Y. A quantitative in vitro assay to detect biological activity of endotoxin using rabbit peripheral blood. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, August 2007, Tokyo.
4. Yamamoto A, Ochiai M, Kataoka M, Toyozumi H, Arakawa Y, Horiuchi Y. A clinically relevant in vitro pyrogen test using a human cell line that have the similar responsiveness to various pyrogens to that of human peripheral blood cell (hPBC). 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, August 2007, Tokyo.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1. カイネティック比濁法の試験結果 (ES-Ⅲ Test Wako)

静注用免疫グロブリン製剤	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン	3	0.062	0.930	0.978	0.890	0.614###	0.238###	86.9%
ポリエチレングリコール処理抗HBs人免疫グロブリン	3	0.013	0.857	0.962	0.835	0.893	0.696###	84.4%
ポリエチレングリコール処理抗破傷風人免疫グロブリン	3	0.035	0.929	0.977	0.918	0.795###	0.525###	89.1%
pH4酸性処理人免疫グロブリン	3	0.066	0.901	0.998	0.824	0.463###	0.042###	83.3%
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン	3	0.026	0.781	0.911	0.745	0.681	0.501###	75.4%
乾燥pH4処理人免疫グロブリン	3	0.041	0.856	0.904	0.816	0.610###	0.424###	81.5%
乾燥スルホ化人免疫グロブリン	3	0.036	0.715	0.790	0.690	0.587###	0.509###	67.9%
乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン	1	0.016	0.644	0.764	0.595	0.610	0.425###	62.7%

筋注用免疫グロブリン製剤	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
人免疫グロブリン	3	0.064	0.553	0.591	0.495##	0.360###	0.234###	48.5%
人免疫グロブリン	2	0.038	0.646	0.679	0.619	0.426###	0.265###	60.7%
抗HBs人免疫グロブリン	3	0.063	0.613	0.629	0.508###	0.385###	0.248###	54.8%
抗HBs人免疫グロブリン	2	0.077	0.820	0.820	0.630###	0.530###	0.417###	74.3%
抗破傷風人免疫グロブリン	2	0.054	0.681	0.739	0.637	0.498###	0.339###	62.8%
乾燥抗HBs人免疫グロブリン	3	0.032	0.799	0.819	0.811	0.693###	0.576###	76.7%
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン	3	0.033	0.665	0.699	0.660	0.561###	0.501###	63.1%
乾燥抗D(Rho)人免疫グロブリン	3	0.047	0.650	0.654	0.646	0.488###	0.494###	59.8%
ヒスタミン加入免疫グロブリン(乾燥)	3	0.061	0.711	0.727	0.587###	0.481###	0.369###	64.7%

凝固因子製剤およびその他製剤	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
人ハプトグロビン	4	0.012	0.752	0.773	0.757	0.765	0.720	74.1%
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子	3	0.013	0.832	0.835	0.831	0.832	0.829	81.8%
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子	1	0.367	1.165	1.079	1.248	1.216	1.216	79.8%
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子	3	0.009	0.929	0.970	0.966	0.939	0.851	92.0%
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子	3	0.008	0.922	0.889	0.930	0.973	0.897	91.3%
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子	4	0.011	1.094	1.015	1.178	1.153	1.052	108.2%
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子	3	0.010	1.198	1.243	1.215	1.138	1.195	118.9%
乾燥人フィブリノゲン	4	0.023	0.873	0.912	0.865	0.826###	0.553###	84.8%
乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ	2	—	—	—	—	—	—	—
乾燥濃縮人活性化プロテインC	3	0.014	1.068	1.046	1.155	0.999	1.039##	105.4%

*1 平行性が否定されない全測定点を使用した場合
背景グレーは、添加試料が 0.5 EU/mL未滿の測定点

###: 平行性が否定された測定点

##: 一部の検体で平行性が否定された測定点

表2. 反応干渉作用が認められた製剤の試験結果1
カインティック比濁法 (ES-Ⅲ Test Wako)

希釈倍数	添加回収率 (%)	希釈倍数	添加回収率 (%)	希釈倍数	添加回収率 (%)
人免疫グロブリン		抗HBs人免疫グロブリン		乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ	
<u>Lot 1</u>		<u>Lot 1</u>			
64	95.2	64	97.6	1024	96.5
32	98.6	32	104.6	512	96.5
16	70.7	16	88.3	256	86.7
8	62.5	8	69.4	128	73.1
<u>Lot 2</u>		<u>Lot 2</u>		64	51.6
64	93.1	64	85.4	32	25.2
32	78.2	32	85.4	16	2.6
16	68.5	16	82.7	8	—
8	51.6	8	66.4		

表3. 反応干渉作用が認められた製剤の試験結果2
カインティック比濁法 (ES-Ⅲ Test Wako)

製剤名	検体数	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率	
		試料	エンドキシン添加試料					
			All *1	x 64	x 32	x 16		x 8
筋注用免疫グロブリン製剤								
人免疫グロブリン	3	0.058	0.784	0.821	0.831	0.745 ^{##}	0.561 ^{###}	76.7%
抗HBs人免疫グロブリン	3	0.145	0.768	0.799	0.692 ^{##}	0.630 ^{###}	0.504 ^{###}	73.0%
抗HBs人免疫グロブリン	2	0.051	0.741	0.723	0.829	0.739	0.610 ^{##}	72.8%
ヒスタミン加人免疫グロブリン(乾燥)	3	0.057	0.588	0.613	0.579	0.571 ^{##}	0.526 ^{##}	57.2%

*1 平行性が否定されない全測定点を使用した場合

###: 平行性が否定された測定点

##: 一部の検体で平行性が否定された測定点

表4. カイネティック比色法の試験結果（エンドスペシー）

静注用免疫グロブリン製剤	検体数	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率	
		試料	エンドトキシン添加試料					
			All *1	x 32	x 16	x 8		x 4
ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン	3	0.012	1.191	1.200	1.191	1.214	1.140	118.0%
ポリエチレングリコール処理抗HBs人免疫グロブリン	3	0.012	1.073	1.081	1.075	1.111	1.009	106.1%
ポリエチレングリコール処理抗破傷風人免疫グロブリン	3	0.012	1.004	1.037	1.022	1.040	0.884	99.2%
pH4酸性処理人免疫グロブリン	3	0.022	1.078	1.098	1.062	1.100	1.038	105.6%
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン	3	0.010	0.646	0.713	0.644	0.619	0.602	63.6%
乾燥pH4処理人免疫グロブリン	3	0.021	0.772	0.778	0.781	0.803	0.720	75.0%
乾燥スルホ化人免疫グロブリン	3	0.020	0.736	0.772	0.746	0.730	0.685	71.5%
乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン	1	0.012	0.733	0.779	0.731	0.741	0.670	72.1%

筋注用免疫グロブリン製剤	検体数	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率	
		試料	エンドトキシン添加試料					
			All *1	x 32	x 16	x 8		x 4
人免疫グロブリン	2	0.032	0.803	0.864	0.827	0.786	0.714	77.1%
人免疫グロブリン	2	0.041	0.791	0.890	0.819	0.674	0.618 ^{###}	75.0%
抗HBs人免疫グロブリン	3	0.023	0.766	0.835	0.772	0.722	0.656 ^{##}	74.2%
抗HBs人免疫グロブリン	2	0.031	0.848	0.941	0.882	0.760	0.724 ^{##}	81.5%
抗破傷風人免疫グロブリン	2	0.077	1.016	1.094	1.001	1.018	0.909	93.9%
乾燥抗HBs人免疫グロブリン	3	0.012	0.960	0.972	0.955	0.978	0.925	94.8%
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン	3	0.023	0.858	0.876	0.856	0.858	0.834	83.4%
乾燥抗D(Rho)人免疫グロブリン	3	0.017	0.864	0.932	0.878	0.814	0.764	84.6%
ヒスタミン加入免疫グロブリン(乾燥)	3	0.016	0.570	0.628	0.557	0.548	0.532	55.3%

凝固因子製剤およびその他製剤	検体数	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率	
		試料	エンドトキシン添加試料					
			All *1	x 32	x 16	x 8		x 4
人ハプトグロビン	4	0.009	0.877	0.814	0.841	0.951	0.945	86.7%
乾燥濃縮人血液凝固第四因子	3	0.016	0.816	0.737	0.808	0.887	0.869	80.0%
乾燥濃縮人血液凝固第四因子	1	0.144	0.919	0.837	0.880	1.077	0.937	77.5%
乾燥濃縮人血液凝固第四因子	3	0.012	0.820	0.812	0.789	0.836	0.855	80.8%
乾燥濃縮人血液凝固第四因子	3	0.011	0.840	0.810	0.820	0.862	0.887	82.9%
乾燥濃縮人血液凝固第IX因子	4	0.019	0.984	0.905	0.951	1.108	1.128	96.5%
乾燥濃縮人血液凝固第IX因子	3	0.012	0.908	0.885	0.857	0.922	1.006	89.6%
乾燥人フィブリノゲン	4	0.042	1.078	0.984	1.030	1.207	1.188 [#]	103.5%
乾燥濃縮人アンチトロンビンIII	2	0.092	0.362	0.362	0.175 ^{###}	0.041 ^{###}	0.010 ^{###}	27.0%
乾燥濃縮人活性化プロテインC	3	0.085	1.002	1.001	0.983	1.112	1.074	91.6%

*1 平行性が否定されない全測定点を使用した場合
 背景グレーは、添加試料が 0.5 EU/mL未満の測定点
 ###: 平行性が否定された測定点
 ##: 一部の検体で平行性が否定された測定点
 #: 試験回によって平行性が否定された測定点

表5. エンドトキシン試験適用に必要な最低希釈倍率

静注用免疫グロブリン製剤	検体数	必要希釈倍率			
		ES-III		エンドスピー	
		反応干渉*1	平行性*2	反応干渉*1	平行性*2
ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン	3	4	8	4	4
ポリエチレングリコール処理抗HBs人免疫グロブリン	3	2	4	4	4
ポリエチレングリコール処理抗破傷風人免疫グロブリン	3	2-4	8	4	4
pH4酸性処理人免疫グロブリン	3	8	8	4	4
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン	3	4	4	4	4
乾燥pH4処理人免疫グロブリン	3	4	8	4	4
乾燥スルホ化人免疫グロブリン	3	2-4	8	4	4
乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン	1	4	4	4	4

筋注用免疫グロブリン製剤	検体数	必要希釈倍率			
		ES-III		エンドスピー	
		反応干渉*1	平行性*2	反応干渉*1	平行性*2
人免疫グロブリン	3	8-16	16-32	4	4
人免疫グロブリン	2	8	8	4	8
抗HBs人免疫グロブリン	3	16	16-64	4	4-8
抗HBs人免疫グロブリン	2	8-16	8-16	4	4-8
抗破傷風人免疫グロブリン	2	8	8	4	4
乾燥抗HBs人免疫グロブリン	3	2-4	8	4	4
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン	3	4-8	8	4	4
乾燥抗D(Rho)人免疫グロブリン	3	8	8	4	4
ヒスタミン加人免疫グロブリン(乾燥)	3	8	8-32	4-8	4

凝固因子製剤およびその他製剤	検体数	必要希釈倍率			
		ES-III		エンドスピー	
		反応干渉*1	平行性*2	反応干渉*1	平行性*2
人ハプトグロビン	4	2	2	4	4
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子	4	2	2	4	4
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子	3	2	2	4	4
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅳ因子	3	2	2	4	4
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子	4	2	2	4	4
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子	3	2	2	4	4
乾燥人フィブリノゲン	4	2-4	8	4	4-8
乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ	2	≥ 64	-	≥ 256	-
乾燥濃縮人活性化プロテインC	3	2	2-4	4	4

*1 添加エンドトキシンの回収率が 50 - 200%の範囲内となる最低希釈倍率

*2 エンドトキシン標準品の検量線と平行性が否定されない最低希釈倍率

表6. 血液製剤製造所と感染研の試験結果の比較(1)

ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン

カイネティック比濁法 (ES-Ⅲ Test Wako)

	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	3	0.062	0.930	0.978	0.890	0.614 ^{###}	0.238 ^{###}	86.9%
製造所	2	0.035	0.731	0.737	0.726	0.438 ^{###}	0.155 ^{###}	69.7%

###: 平行性が否定された測定点

ポリエチレングリコール処理抗HBs人免疫グロブリン

カイネティック比濁法 (ES-Ⅲ Test Wako)

	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	3	0.013	0.857	0.962	0.835	0.893	0.696 [#]	84.4%
製造所	4	0.027	0.841	0.863	0.857	0.728 ^{##}	0.604 ^{###}	81.1%

###: 平行性が否定された測定点

##: 平行性が否定された測定点(2/4)

#: 平行性が否定された測定点(1/3)

ポリエチレングリコール処理抗破傷風人免疫グロブリン

カイネティック比濁法 (ES-Ⅲ Test Wako)

	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	3	0.043	0.911	0.943	0.845 [#]	0.736 ^{##}	0.514 ^{####}	86.4%
製造所	4	0.033	0.835	0.870	0.831	0.715 ^{###}	0.481 ^{####}	79.9%

*1 平行性が否定されない全測定点を使用した場合

####: 平行性が否定された測定点

###: 平行性が否定された測定点(3/4)

##: 平行性が否定された測定点(2/3)

#: 平行性が否定された測定点(1/3)

表6. 血液製剤製造所と感染研の試験結果の比較(2)

pH4酸性処理人免疫グロブリン			カイネティック比色法 (エンドスペシー)					
検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率	
		エンドトキシン添加試料						
		All *1	x 32	x 16	x 8	x 4		
感染研	3	0.022	1.078	1.098	1.062	1.100	1.038	105.6%
製造所	4	0.032	1.139	1.108	1.092	1.183	1.222	110.6%

乾燥pH4処理人免疫グロブリン			カイネティック比色法 (エンドスペシー)					
検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率	
		エンドトキシン添加試料						
		All *1	x 32	x 16	x 8	x 4		
感染研	3	0.021	0.772	0.778	0.781	0.803	0.720	75.0%
製造所	10	0.029	0.754	0.689	0.729	0.805	0.825	72.4%

乾燥スルホ化人免疫グロブリン			カイネティック比色法 (エンドスペシー)					
検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率	
		エンドトキシン添加試料						
		All *1	x 32	x 16	x 8	x 4		
感染研	3	0.020	0.736	0.772	0.746	0.730	0.685	71.5%
製造所	10	0.021	0.741	0.816	0.694	0.656	0.803	72.0%

乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン			カイネティック比色法 (エンドスペシー)					
検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率	
		エンドトキシン添加試料						
		All *1	x 32	x 16	x 8	x 4		
感染研	1	0.012	0.733	0.779	0.731	0.741	0.670	72.1%
製造所	1	0.013	0.764	0.790	0.695	0.779	0.802	75.1%

*1 平行性が否定されない全測定点を使用した場合

表6. 血液製剤製造所と感染研の試験結果の比較(3)

人免疫グロブリン

カイネティック比濁法 (ES-III Test Wako)

	検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドトキシン添加試料					
			All *1	x 64	x 32	x 16	x 8	
感染研	3	0.058	0.784	0.821	0.831	0.745 ^{##}	0.561 ^{###}	76.7%
製造所	5	0.159	0.745	0.780	0.752	0.644 [#]	0.456 ^{###}	70.4%

###: 平行性が否定された測定点

##: 平行性が否定された測定点 (1/3)

#: 平行性が否定された測定点 (3/5)

抗HBs人免疫グロブリン

カイネティック比色法 (エンドスペシー)

	検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドトキシン添加試料					
			All *1	x 32	x 16	x 8	x 4	
感染研	3	0.023	0.766	0.835	0.772	0.722	0.656 ^{##}	74.2%
製造所	3	0.027	0.729	0.846	0.771	0.692	0.593	70.2%

##: 平行性が否定された測定点 (1/3)

乾燥抗HBs人免疫グロブリン

カイネティック比濁法 (ES-III Test Wako)

	検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドトキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	3	0.032	0.799	0.819	0.811	0.693 ^{##}	0.576 ^{###}	76.7%
製造所	3	0.020	0.759	0.771	0.793	0.740	0.671 ^{###}	73.6%

*1 平行性が否定されない全測定点を使用した場合

###: 平行性が否定された測定点

##: 平行性が否定された測定点 (2/3)

表6. 血液製剤製造所と感染研の試験結果の比較(4)

乾燥抗破傷風人免疫グロブリン

カイネティック比濁法 (ES-III Test Wako)

	検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドトキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	3	0.033	0.665	0.699	0.660	0.561 ^{##}	0.501 ^{###}	63.1%
製造所	4	0.047	0.633	0.668	0.605	0.531 ^{###}	0.436 ^{###}	58.6%

###: 平行性が否定された測定点

##: 平行性が否定された測定点(1/3)

乾燥抗D(Rho)人免疫グロブリン

カイネティック比濁法 (ES-III Test Wako)

	検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドトキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	3	0.047	0.650	0.654	0.646	0.488 ^{\$}	0.494 ^{\$\$}	59.8%
製造所	4	0.020	0.608	0.628	0.616	0.587 [#]	0.455 ^{##}	58.1%

##: 平行性が否定された測定点(2/4)

#: 平行性が否定された測定点(1/4)

\$\$: 平行性が否定された測定点(2/3)

\$: 平行性が否定された測定点(1/3)

人ハプトグロビン

カイネティック比濁法 (ES-III Test Wako)

	検体数	試料	エンドトキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドトキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	4	0.012	0.752	0.773	0.757	0.765	0.720	74.1%
製造所	10	0.017	0.870	0.870	0.879	0.877	0.834 ^{##}	85.1%

*1 平行性が否定されない全測定点を使用した場合

##: 平行性が否定された測定点(2/10)

表6. 血液製剤製造所と感染研の試験結果の比較(5)

乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子

カイネティック比濁法 (ES-Ⅲ Test Wako)

	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	3	0.013	0.832	0.835	0.831	0.832	0.829	81.8%
	1	<u>0.367</u>	1.165	1.079	1.248	1.216	1.216	79.8%
製造所	4	0.025	0.935	0.995	0.979	0.915	0.795 ^{###}	90.9%
	1	<u>0.474^{##}</u>	1.534	1.654	1.512	1.439	1.264 ^{##}	105.9%

###: 平行性が否定された測定点(2/4)

##: エンドキシン非添加試料(x 2)の平行性が否定されたため、エンドキシン添加試料の2倍希釈液の測定値も計算から除いた

乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子

カイネティック比色法 (エンドスペシー)

	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 32	x 16	x 8	x 4	
感染研	3	0.012	0.820	0.812	0.789	0.836	0.855	80.8%
製造所	10	0.024	0.905	0.935	0.868	0.891	0.934	88.1%

乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子

カイネティック比色法 (エンドスペシー)

	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 32	x 16	x 8	x 4	
感染研	3	0.011	0.840	0.810	0.820	0.862	0.887	82.9%
製造所	3	0.015	1.310	1.233	1.216	1.481	1.443	129.6%

*1 平行性が否定されない全測定点を使用した場合

表6. 血液製剤製造所と感染研の試験結果の比較(6)

乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子

カイネティック比濁法 (ES-Ⅲ Test Wako)

	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	4	0.011	1.094	1.015	1.178	1.153	1.052	108.2%
製造所	8	0.011	1.041	1.034	1.072	1.058	0.983 ^{##}	102.9%

##: 平行性が否定された測定点(1/8)

乾燥人フィブリノゲン

カイネティック比濁法 (ES-Ⅲ Test Wako)

	検体数	試料	エンドキシン量 (EU/mL)					添加回収率
			エンドキシン添加試料					
			All *1	x 16	x 8	x 4	x 2	
感染研	4	0.023	0.873	0.912	0.865	0.826 ^{##}	0.553 ^{##}	84.8%
製造所	10	0.032	0.898	0.921	0.890	0.773 ^{###}	0.513 ^{###}	86.3%

*1 平行性が否定されない全測定点を使用した場合

###: 平行性が否定された測定点(x 4-7/10, x 2-8/10)

##: 平行性が否定された測定点(x 4-1/4, x 2-3/4)