

表 I-3 組換え試薬とライセート試薬の各種 Et 相対活性の回帰分析結果

組合 わせ	x 軸	y 軸	傾き			y 切片			相関係数
			傾き	95%信頼限界		y 切片	95%信頼限界		
				下限	上限		下限	上限	
A	L1	組換え 試薬 (反応速度法)	0.958	0.717	1.199	0.153	-0.046	0.353	0.935
B	L2		0.768	0.570	0.965	0.057	-0.168	0.283	0.932
C	L3		0.895	0.470	1.321	0.113	-0.272	0.498	0.813
D	L1	組換え 試薬 (反応時間法)	1.433	1.044	1.822	0.150	-0.395	0.248	0.926
E	L2		1.177	0.912	1.443	-0.297	-0.552	0.056	0.947
F	L3		1.259	0.537	1.981	0.384	-0.719	0.586	0.757
G	L1	L2	1.202	0.985	1.418	0.161	-0.019	0.339	0.965
H	L1	L3	0.852	0.604	1.100	0.206	0.000	0.411	0.916
I	L2	L3	0.626	0.355	0.897	0.180	-0.130	0.490	0.837

ライセート試薬を L と表記する。

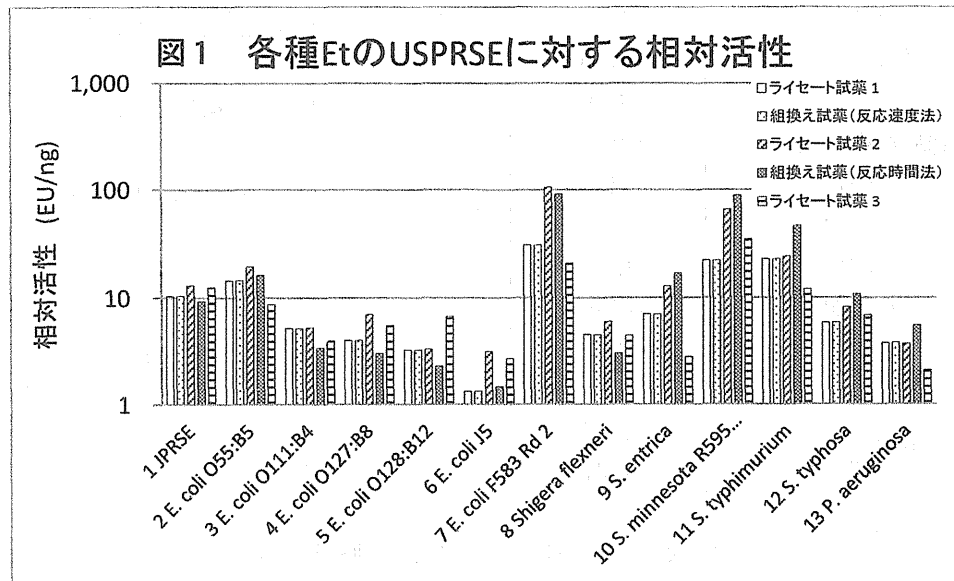


表 I-4-1 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
1	アシクロビル注射液	25 mg/mL	0.5 EU/mg	2	8	4	8	8	
				2000	2500	2000	2500	1600	
2	アスコルビン酸注射液	100 mg/mL	0.15 EU/mg	4	2	4	8	4	
				2400	3000	2400	3000	1920	
3	注射用アズトレオナム	333 mg/mL	0.10 EU/mg(力価)	32	64	16	128	32	
				5333	6667	5333	6667	4267	
4	アトロピン硫酸塩注射液	0.5 mg/mL	75 EU/mg	1	1	1	4	1	
				6000	7500	6000	7500	4800	
5	アミカシン硫酸塩注射液	100 mg/mL	0.50 EU/mg(力価)	16	16	2	64	4	
				8000	10000	8000	10000	6400	
6	注射用アミカシン硫酸塩	50 mg/mL	0.50 EU/mg(力価)	16	16	1	64	2	
				4000	5000	4000	5000	3200	
7	アミノフィリン注射液	25 mg/mL	0.6 EU/mg	16	16	8	4	8	
				2400	3000	2400	3000	1920	
8	注射用アムホテリシン B	4.2 mg/mL	3.0 EU/mg(力価)	8	8*	4	32	64	
				2000	2500	2000	2500	1600	
9	L-アルギニン塩酸塩注射液	100 mg/mL	0.50 EU/mg(力価)	8	8	4	16	4	
				80	100	80	100	64	
10	アルプロスタジル注射液	0.005 mg/mL	10 EU/mL	8	256	16	1	256	
				1600	2000	1600	2000	1280	

\* 60分測定、閾値 0.15Abs

表 I-4-2 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
11	アルベカシン硫酸塩注射液	50 mg/mL	0.50 EU/mg(力価)	4	4*	2	32	2	
				4000	5000	4000	5000	3200	
12	アレンドロン酸ナトリウム注射液	2.5 mg/mL	119 EU/mg	2	2	2	16	8	
				47600	59500	47600	59500	38080	
13	注射用アンピシリンナトリウム	250 mg/mL	0.075 EU/mg(力価)	8	32*	8	16	32	
				3000	3750	3000	3750	2400	
14	イオタラム酸ナトリウム注射液	66.8 %	3.4 EU/mL	32	64	16	32	32	
				544	680	544	680	435	
15	イセパマイシン硫酸塩注射液	200 mg/mL	0.50 EU/mg(力価)	16	32	4	128	8	
				16000	20000	16000	20000	12800	
16	イソニアジド注射液	50 mg/mL	0.50 EU/mg	4	4	4	4	4	
				4000	5000	4000	5000	3200	
17	イダルビシン塩酸塩	10 mg/mL	8.9 EU/mg(力価)	8	16	8	8	8	入手不可
				3100	3000	3100	3000	1880	
18	注射用イダルビシン塩酸塩	1 mg/mL	8.9 EU/mg(力価)	128	512	128	16	8	
				1424	1780	1424	1780	1139	
19	注射用イミペネム・シラスタチンナトリウム	25 mg/mL	0.25 EU/mg(力価)	8	16	1	4	16	
				1000	1250	1000	1250	800	
20	インジゴカルミン注射液	4 mg/mL	7.5 EU/mg	4	16	4	16	32	
				4800	6000	4800	6000	3840	

\* 60 分測定、閾値 0.15Abs

表 I-4-3 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
21	ヒトインスリン (遺伝子組換え)	100 単位/mL	0.8 EU/インスリン単位	4	2	2	8	2	
				12800	16000	12800	16000	10240	
22	エドロホニウム塩化物注射液	1 mg/mL	15 EU/mg	8	8	4	8	4	
				2400	3000	2400	3000	1920	
23	エフェドリン塩酸塩注射液	40 mg/mL	7.5 EU/mg	8	40	4	8	8	
				48000	60000	48000	60000	38400	
24	メチルエルゴメトリンマレイン酸塩注射液	0.2 mg/mL	1500 EU/mg	1	2	1	32	1	
				48000	60000	48000	60000	38400	
25	塩化カルシウム注射液	55.5 mg/mL	0.30 EU/mg	32	32	32	32	16	
				2664	3330	2664	3330	2131	
26	10%塩化ナトリウム注射液	10 %	3.6 EU/mL	2	2	4	16	2	
				576	720	576	720	461	
27	オキシトシン注射液	1 単位/mL	10 EU/単位	2	16	2	8	2	
				1600	2000	1600	2000	1280	
28	注射用オザグレルナトリウム	10 mg/mL	3.7 EU/mg	1	1	2	2	4	
				5920	7400	5920	7400	4736	
29	果糖注射液	20 %	0.5 EU/mL	4	4	2	4	2	
				80	100	80	100	64	
30	キシリトール注射液	5 %	0.50 EU/mL	1	1	1	1	1	
				80	100	80	100	64	

表 I-4-4 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
31	輸血用クエン酸ナトリウム注射液	100 mg/mL	5.6 EU/mL	1	1	4	64	4	
				896	1120	896	1120	717	
32	クリンダマイシンリン酸エステル注射液	150 mg/mL	0.1 EU/mg(力価)	128	64	16	32	32	
				2400	3000	2400	3000	1920	
33	クロルフェニラミンマレイン酸塩注射液	2 mg/mL	8.8 EU/mg	2	4	2	8	4	
				2816	3520	2816	3520	2253	
34	シアノコバラミン注射液	1000 μg/mL	0.30 EU/μg	2	2	1	4	2	
				48000	60000	48000	60000	38400	
35	ジゴキシン注射液	0.25 mg/mL	200 EU/mg	16	32	16	8	32	
				8000	10000	8000	10000	6400	
36	ジモルホラミン注射液	15 mg/mL	5.0 EU/mg <sup>a)</sup>	16	64	16	16	8	
				12000	15000	12000	15000	9600	
37	注射用水	-----	0.25 EU/mL						入手不可
38	注射用水(容器入り)	-----	0.25 EU/mL	1	1	1	1	1	
				40	50	40	50	32	
39	スキサメトニウム塩化物注射液	22 mg/mL	2.0 EU/mg	1	2	1	8	1	
				7040	8800	7040	8800	5632	
40	注射用スキサメトニウム塩化物	100 mg/mL	1.5 EU/mg	8	8	4	16	8	
				24000	30000	24000	30000	19200	

a) 0.15w/v%に希釈して試験をおこなう。

表 I-4-5 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
41	注射用ストレプトマイシン硫酸塩	333 mg/mL	0.10 EU/mg	32	128	8	1024	16	
				5333	6667	5333	6667	4267	
42	血清性腺刺激ホルモン		0.1 EU/単位						入手不可
43	注射用血清性腺刺激ホルモン	200 単位/mL	0.1 EU/単位	16 <sup>b)</sup>	1	16 <sup>b)</sup>	1	16 <sup>b)</sup>	
				3200	4000	3200	4000	2520	
44	ヒト下垂体性性腺刺激ホルモン	75 単位/mL	0.66 EU/卵胞刺激ホルモン単位 <sup>a)</sup>	16 <sup>b)</sup>	2	4 <sup>b)</sup>	1	4 <sup>b)</sup>	
				7920	9900	7920	9900	6336	
45	ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン		0.03 EU/単位						入手不可
46	注射用ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン	200 mg/mL	0.03 EU/単位	1	1	1	1	1	
				960	1200	960	1200	768	
47	生理食塩水	----- -----	0.50 EU/mL	1	1	1	2	1	
				80	100	80	100	64	
48	セファゾリンナトリウム水和物		0.10 EU/mg(力価)						入手不可
49	注射用セファゾリンナトリウム	333 mg/mL	0.05 EU/mg(力価)	32	64	32	16	32	
				2667	3333	2667	3333	2133	
50	セフェピム塩酸塩水和物		0.04 EU/mg(力価)						入手不可

\* 60 分測定、閾値 0.15Abs

a) Et 試験用水 1mL 当たり 75 卵胞刺激ホルモン単位を溶かし、試験を行うとき

b) サンプルが Et 汚染されていたため、検量範囲内測定が可能となるまで希釈（実際の NID より大きい）：後日、データを入替

表 I-4-6 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
51	注射用セフェピム塩酸塩	50 mg/mL	0.06 EU/mg(力価)	8	16	4	32	8	
				480	600	480	600	384	
52	セフォゾプラン塩酸塩		0.05 EU/mg(力価)						入手不可
53	注射用セフォゾプラン塩酸塩	100 mg/mL	0.05 EU/mg(力価)	16	64	8	128	16	
				800	1000	800	1000	640	
54	注射用セフォチアム塩酸塩	83.3 mg/mL	0.125 EU/mg	16	16	8	64	32	
				1667	2083	1667	2083	1333	
55	注射用セフトジジム	200 mg/mL	0.067 EU/mg(力価)	32	64	8	64	16	
				2144	2680	2144	2680	1715	
56	セフピロム硫酸塩	50 mg/mL	0.10 EU/mg	16	32	8	32	8	
				800	1000	800	1000	640	
57	注射用セフメタゾールナトリウム	400 mg/mL	0.06 EU/mg	32	32	64	64	64	
				3840	4800	3840	4800	3072	
58	セルモロイキン (遺伝子組換え)	40 万単位/mL	100 EU/mL	1	2*	1	64	2	
				16000	20000	16000	20000	12800	
59	タゾバクタム <sup>a)</sup>	450 mg/mL	0.04 EU/mg(力価)	128	128	64	64	128	
60	炭酸水素ナトリウム注射液	0.7 mg/mL	5.0 EU/mEq	4	4	4	8	8	
				560	700	560	700	448	

\* 60分測定、閾値 0.15Abs

a) 注射用タゾバクタムナトリウム・ピペラシリンナトリウム

表 I-4-7 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試葉		ライセート試葉			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
61	注射用チアミラルナトリウム	25 mg/mL	1.0 EU/mg	32	16	16	16	16	
				4000	5000	4000	5000	3200	
62	チアミン塩化物塩酸塩注射液	50 mg/mL	6.0 EU/mg	8	16*	4	128	32	
				48000	60000	48000	60000	38400	
63	注射用チオペンタールナトリウム	25 mg/mL	0.30 EU/mg	32	16	16	128	32	
				1200	1500	1200	1500	960	
64	チオ硫酸ナトリウム水和物	100 mg/mL	0.01 EU/mg	8	16	2	32	4	
				160	200	160	200	128	
65	テイコプラニン注射用	66.7 mg/mL	0.75 EU/mg(力価)	512	1024*	512	512	256	
				8000	10000	8000	10000	6400	
66	デキストラン 40	0.1 g/mL	2.5 EU/g	1	2	1	4	4	
				40	50	40	50	32	
67	デキストラン 40 注射液 <sup>a)</sup>	100 mg/mL	0.50 EU/mL	1	1	1	64	4	
				80	100	80	100	64	
68	デスラノシド注射液	0.2 mg/mL	500 EU/mg	4	8	4	2	8	
				16000	20000	16000	20000	12800	
69	テセロイキン(遺伝子組換え)		5 EU/たん白質 1mg						入手不可
70	注射用テセロイキン(遺伝子組換え)	35 万単位/mL	5 EU/35 万単位	2	2	2	8	2	
				28000	35000	28000	35000	22400	

\* 60 分測定、閾値 0.15Abs

a) 低分子デキストラン加乳酸リンゲル液



表 I-4-8 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
71	デヒドロコール酸注射液	100 mg/mL	0.30 EU/mg	64	64	32	32	64	
				4800	6000	4800	6000	3840	
72	注射用ドキシソルピシン塩酸塩	10 mg/mL	2.50 EU/mg(力価)	256	128*	32	32	64	
				4000	5000	4000	5000	3200	
73	ドパミン塩酸塩注射液	20 mg/mL	4.2 EU/mg	8	4	2	4	4	
				13440	16800	13440	16800	10752	
74	トブラマイシン注射液	60 mg/mL	0.50 EU/mg(力価)	32	32*	4	512	8	
				4800	6000	4800	6000	3840	
75	トラネキサム酸注射液	50 mg/mL	0.12 EU/mg	2	4	2	2	2	
				960	1200	960	1200	768	
76	ニカルジピン塩酸塩注射液	1 mg/mL	8.33 EU/mg	16	16	16	8	8	
				1333	1666	1333	1666	1066	
77	ニコチン酸注射液	50 mg/mL	3.0 EU/mg	8	8	8	16	16	
				24000	30000	24000	30000	19200	
78	ネオスチグミンメチル硫酸塩注射液	0.5 mg/mL	5 EU/mg	1	1	1	2	1	
				400	500	400	500	320	
79	ノルアドレナリン注射液	1 mg/mL	300 EU/mg	2	2	2	4	4	
				48000	60000	48000	60000	38400	
80	精製白糖	100 mg/mL	0.25 EU/mg	2	1	8 <sup>a)</sup>	1	1	
				4000	5000	4000	5000	3200	

\* 60 分測定、閾値 0.15Abs

a) サンプルが Et 汚染されていたため、検量範囲内測定が可能となるまで希釈 (実際の NID より大きい)

表 I-4-9 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
81	バソプレシン注射液	20 単位/mL	15 EU/バソプレシン	4	32	4	32	4	
				48000	60000	48000	60000	38400	
82	パニペネム	25 mg/mL	0.15 EU/mg(力価)	16	16	8	8	8	
				600	750	600	750	480	
83	パパベリン塩酸塩注射液	40 mg/mL	6.0 EU/mg	256	1024	64	128	64	
				38400	48000	38400	48000	30720	
84	注射用バンコマイシン塩酸塩	100 mg/mL	0.25 EU/mg	128	512	64	128	128	
				4000	5000	4000	5000	3200	
85	注射用ヒドララジン塩酸塩	20 mg/mL	5.0 EU/mg	16	16*	8	32	16	
				16000	20000	16000	20000	12800	
86	ピペラシリン水和物		0.07 EU/mg(力価)						入手不可
87	注射用ピペラシリンナトリウム	200 mg/mL	0.04 EU/mg(力価)	64	128	64	32	64	
				1280	1600	1280	1600	1024	
88	ピリドキシン塩酸塩注射液	10 mg/mL	3.0 EU/mg	4	8	2	128	16	
				4800	6000	4800	6000	3840	
89	注射用ビンブラスチン硫酸塩	2 mg/mL	10 EU/mg	16	32	8	8	2	
				3200	4000	3200	4000	2560	
90	ファモチジン注射液	10 mg/mL	15 EU/mg	8	16*	8	16	16	
				24000	30000	24000	30000	19200	

\* 60分測定、閾値 0.15Abs

表 I-4-10 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
91	注射用ファモチジン	10 mg/mL	15 EU/mg	4	8	2	16	8	
				24000	30000	24000	30000	19200	
92	フェノールスルホンフタレイン注射液	6 mg/mL	7.5 EU/mg	16	128*	16	64	64	
				80	100	80	100	64	
93	ブドウ糖注射液	50 %	0.50 EU/mL	16	16	8	32	4	
				80	100	80	100	64	
94	注射用プレドニゾロンコハク酸エステルナトリウム	10 mg/mL	2.4 EU/プレドニゾロン 1mg 対応量	16	16	16	8	32	
				3840	4800	3840	4800	3072	
95	プロカイン塩酸塩注射液	20 mg/mL	0.02 EU/mg	8	32	4	16	8	
				64	80	64	80	51	
96	プロカインアミド塩酸塩注射液	100 mg/mL	0.30 EU/mg	32	64	16	32	32	
				4800	6000	4800	6000	3840	
97	フロセミド注射液	10 mg/mL	1.25 EU/mg	4	4	8	8	8	
				2000	2500	2000	2500	1600	
98	プロタミン硫酸塩注射液	10 mg/mL	6.0 EU/mg	256	1024	4	4096	8	
				9600	12000	9600	12000	7680	
99	注射用フロモキシセフナトリウム	250 mg/mL	0.025 EU/mg(力価)	32	64	16	32	32	
				1000	1250	1000	1250	800	
100	ペチジン塩酸塩注射液	50 mg/mL	6.0 EU/mg	16	32*	32	64	32	
				48000	60000	48000	60000	38400	

\* 60 分測定、閾値 0.15Abs

表 I-4-11 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
101	ヘパリンカルシウム	25000 単位/mL	0.003 EU/ヘパリン単位	2000	8000	32	10000	64	
				12000	15000	12000	15000	9600	
102	ヘパリンナトリウム注射液	1000 単位/mL	0.0030 EU/単位	64	128*	2	1000	2	
				480	600	480	600	384	
103	注射用ペプロマイシン硫酸塩	1 mg/mL	1.5 EU/mg(力価)	2	2	4	1	4	
				240	300	240	300	192	
104	注射用ベンジルペニシリンカリウム	100000 単位/mL	0.000125 EU/単位	8	16	8	4	8	
				2000	2500	2000	2500	1600	
105	注射用ホスホマイシンナトリウム	100 mg/mL	0.025 EU/mg(力価)	1	2	2	32	2	
106	注射用マイトマイシン C	2 mg/mL	10 EU/mg(力価)	2	4	2	8	2	
				3200	4000	3200	4000	2520	
107	D-マンニトール注射液	20 %	0.50 EU/mL	1	2	1	1	2	
				80	100	80	100	64	
108	注射用ミノサイクリン塩酸塩	50 mg/mL	1.25 EU/mg(力価)	2000	8000	512	2048	128	
				10000	12500	10000	12500	8000	
109	メピバカイン塩酸塩注射液	20 mg/mL	0.6 EU/mg	8	32	4	8	8	
				1920	2400	1920	2400	1536	
110	注射用メロペネム	50 mg/mL	0.12 EU/mg(力価)	16	16	8	8	16	
				960	1200	960	1200	768	

\* 60 分測定、閾値 0.15Abs

表 I-4-12 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

ID	医薬品の名称	原液の濃度	Et 規格値	NID (上段) / MVD (下段)					備考
				組換え試薬		ライセート試薬			
				反応速度法	反応時間法	1	2	3	
111	モルヒネ塩酸塩注射液	10 mg/mL	1.5 EU/mg	2	4	8*	16	4	
				2400	3000	2400	3000	1920	
112	リドカイン注射液	20 mg/mL	1.0 EU/mg	8	32	4	8	4	
				3200	4000	3200	4000	2560	
113	リボフラビンリン酸エステルナトリウム注射液	10 mg/mL	10 EU/mg	16	8	16	32	8	
				16000	20000	16000	20000	12800	
114	硫酸マグネシウム注射液	60.2 mg/mL	0.09 EU/mg	8	32	1	16	2	
				867	1084	867	1084	694	
115	リンゲル液	-----	0.50 EU/mL	1	1	1	2	1	
				80	100	80	100	64	
116	リンコマイシン塩酸塩注射液	300 mg/mL	0.50 EU/mg(力価)	32	128	32	64	32	
				24000	30000	24000	30000	19200	
117	レバロルファン酒石酸塩注射液	1 mg/mL	150 EU/mg	2	8	2	16	2	
				24000	30000	24000	30000	19200	
118	注射用ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩	15 mg/mL	4.0 EU/mg	4	32	2	16	4	
				9600	12000	9600	12000	7680	

109 品目を測定 (うち、ID59, 67 の 2 品目は代替品)

注射用水 (製造用水) を含む 網掛けの 8 品目は購入 (入手) 不可であったため、実施しなかった。

表 I-5 室間再現精度の結果

場所	測定者	測定機	測定日	試薬 ロット	USPRSE 調製濃度 (EU/mL)				
					0.005	0.05	0.5	5	50
					Et 測定値 (EU/mL)				
武蔵野 大学	A	I	X	#1	0.0056	0.044	0.47	5.23	51.5
				#2	0.0053	0.046	0.50	5.30	48.9
				#3	0.0052	0.047	0.49	5.27	49.5
			Y	#1	0.0053	0.046	0.49	5.20	49.9
				#2	0.0052	0.048	0.48	5.24	49.8
				#3	0.0052	0.047	0.49	5.25	49.2
生化学 工業 株式 会社	B	II	Z	#1	0.0050	0.050	0.52	5.01	49.6
				#2	0.0049	0.049	0.54	5.17	47.4
				#3	0.0050	0.049	0.53	5.07	49.0
		III		#1	0.0051	0.049	0.51	5.19	48.7
				#2	0.0047	0.052	0.53	5.40	46.2
				#3	0.0050	0.049	0.51	5.22	48.3
	C	II		#1	0.0052	0.046	0.51	5.47	47.8
				#2	0.0049	0.051	0.51	5.16	48.7
				#3	0.0051	0.049	0.50	5.31	48.4
		III		#1	0.0051	0.048	0.50	5.26	49.1
				#2	0.0049	0.050	0.52	5.28	47.4
				#3	0.0050	0.049	0.51	5.25	48.6

表 I-6 上記 Et 測定値を対数変換し、その絶対値で解析

		USPRSE 調製濃度 (EU/mL)				
		0.005	0.05	0.5	5	50
平均値		2.293	1.318	0.296	0.719	1.688
SD		0.0169	0.0178	0.0154	0.0087	0.0105
CV (%)		0.7	1.4	5.2	1.2	0.6
CV の 90%信頼区間	下限	0.6	1.1	4.1	0.9	0.5
	上限	1.0	1.9	7.3	1.7	0.9

試験菌の接種と回収方法  
- 試験菌の乾燥による影響確認 -

1. 概要

消毒剤の有効性を評価する方法として「硬質表面キャリアー法」を採用する場合、医薬品製造施設を構成している材質のテスト用キャリアーに試験菌液を接種した後、菌液を乾燥させる手順が採用されることがある。しかし、微生物全般に言える特徴として、「乾燥」によって、微生物の発育が抑制されることや比較的容易に死滅する微生物の存在が知られており、その影響が高いと消毒剤接種前に菌数が減少し、効果の確認に必要な初期菌数が得られなくなる等、正確な消毒剤の効果判断することが困難となる。そのため、乾燥による微生物の影響を調査した。

2. 検討手順

以下の手順で実施した。

- 1) *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *A. brasiliensis* の菌液を 5 cm × 5 cm のキャリアーの表面に接種し、菌塊が出来ないようにコンラージ棒を用い、菌液をキャリアー表面上で均一にする。
- 2) 1) が乾燥するまで安全キャビネット内で放置する。なお、キャリアー材質の撥水性と菌液の表面張力の影響で、キャリアー表面の一部に菌液が集まることから放置時間中は数回、コンラージ棒を用いて菌液を均一にする。また、乾燥による菌への影響を防止するため、乾燥後は次の操作に素早く移行する。

備考：キャリアー上の菌液の乾燥は、キャリアー材質の影響や安全キャビネットの風量等によって変動し、20～40分程度の時間を要した。

- 3) 各試験菌液を接種したキャリアー1枚に常温の滅菌水 1 mL (表面全体に均一に行き渡る量として設定) を滴下し、コンラージ棒を用いてキャリアー表面全体に滅菌水を行き渡らせるとともに試験菌を懸濁させる。
- 4) この状態で5分間放置する。なお、キャリアー材質の撥水性と滅菌水の表面張力の影響で、キャリアー表面の一部に液が集まることから放置時間中は数回、コンラージ棒を用いて液を均一にする。
- 5) 5分後にキャリアー表面の各菌液を懸濁した滅菌水 100 μL をとり、回収液 10 mL に移し、よくかき混ぜる。
- 6) 各回収液を pH7.2 のリン酸緩衝液で段階希釈し、100倍までの希釈液を調製する。
- 7) 各段階希釈液 1 mL ずつを滅菌済シャーレ 2 枚に添加し、SCD カンテン培地約 20 mL を用い、混釈法により菌数を計測する。
- 8) 培養条件は 30～35℃ で 5 日間とする。コロニーの形成状態により、正確な菌数を計測できなくなる恐れがある場合は 5 日間よりも短い培養日数でコロニーを計測しても差支えない。

### 3. 結果

接種菌数と乾燥後の回収菌数の結果を表 III-1 に示す。

表 III-1 乾燥によるキャリアー上の菌数変動

試験菌	材質	試験者	接種菌数 (CFU/キャリアー)	回収菌数 (CFU/キャリアー)	対数減少量
<i>S. aureus</i>	ステンレス	A	$7.2 \times 10^4$	$4.0 \times 10^3$	1.3
<i>P. aeruginosa</i>			$2.2 \times 10^4$	$1.5 \times 10^2$	2.1
<i>E. coli</i>			$3.3 \times 10^4$	$8.5 \times 10^2$	1.6
<i>C. albicans</i>			$3.0 \times 10^4$	$1.0 \times 10^2$	2.5
<i>B. subtilis</i>			$9.5 \times 10^4$	$2.1 \times 10^4$	0.7
<i>A. brasiliensis</i>			$4.5 \times 10^4$	$1.2 \times 10^4$	0.6

*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* 及び *C. albicans* の 4 菌種は *B. subtilis* 及び *A. brasiliensis* に比較すると菌数の減少量が多く、乾燥の影響を受けているものと推測された。

消毒効果を評価するためには、キャリアー上の初期菌数は  $10^5$ CFU 程度が望ましい。そのため、乾燥による菌数減少量を考慮した試験菌液を調製し、同様の調査を実施した。この時、塩化ビニル、硬質ウレタンゴム、エポキシ樹脂コートキャリアーを用いた材質間の変動、試験者を 2-3 名採用し、試験者間の変動を含め、再調査を実施した。その結果を表 III-2 に示したが、乾燥だけで消毒効果の判定基準に近い菌数減少が発生することがあり、その減少量をキャリアー材質間や試験者間で一定にすることは困難であることが判明した。

その要因としては、「乾燥した」という官能的な判断に個人差があること、キャリアー上の菌液は一様に乾燥するのではなく部分的に生じ、その時点で既に試験菌は影響を受けていること等が推定される。

以上のことから、テストキャリアーに試験菌液を接種した後、菌液を乾燥させる手順は、消毒効果では無い部分で菌数減少を生じさせ、消毒剤の効果を過剰に評価する可能性が想定された。

そのため、共同実験においては、試験菌液接種量を 50  $\mu$ L として、キャリアー上の水分量を必要最低限にすると共に、試験菌を固定させるための放置時間を最短とし、接種菌が乾燥する前に次の操作に移行することとした。



表 III-2 乾燥による菌数変動

試験菌	材質	試験者	接種菌数 (CFU/キャリアー)	回収菌数 (CFU/キャリアー)	対数減少量
<i>S. aureus</i>	塩化ビニル	A	$2.2 \times 10^6$	$6.7 \times 10^4$	1.5
		B	$2.2 \times 10^6$	$4.4 \times 10^4$	1.7
		C	$2.2 \times 10^6$	$1.5 \times 10^5$	1.1
	硬質 ウレタンゴム	A	$2.2 \times 10^6$	$2.2 \times 10^5$	1.0
		B	$2.2 \times 10^6$	$2.0 \times 10^5$	1.0
		C	$2.2 \times 10^6$	$2.4 \times 10^5$	0.9
	エポキシ 樹脂コート	A	$2.2 \times 10^6$	$4.3 \times 10^3$	2.7
		B	$2.2 \times 10^6$	$1.9 \times 10^5$	1.0
	<i>P. aeruginosa</i>	塩化ビニル	A	$1.1 \times 10^6$	$6.4 \times 10^3$
B			$1.1 \times 10^6$	$8.6 \times 10^3$	2.1
C			$1.1 \times 10^6$	$4.9 \times 10^3$	2.3
硬質 ウレタンゴム		A	$1.1 \times 10^6$	$2.1 \times 10^4$	1.7
		B	$1.1 \times 10^6$	$4.0 \times 10^4$	1.4
		C	$1.1 \times 10^6$	$6.6 \times 10^4$	1.2
エポキシ 樹脂コート		A	$1.1 \times 10^6$	$3.5 \times 10^2$	3.5
		B	$1.1 \times 10^6$	$9.8 \times 10^3$	2.0
<i>E. coli</i>		塩化ビニル	A	$1.9 \times 10^6$	$1.6 \times 10^5$
	B		$1.9 \times 10^6$	$1.1 \times 10^5$	1.3
	C		$1.9 \times 10^6$	$8.2 \times 10^4$	1.4
	硬質 ウレタンゴム	A	$1.9 \times 10^6$	$1.9 \times 10^4$	2.0
		B	$1.9 \times 10^6$	$1.2 \times 10^4$	2.2
		C	$1.9 \times 10^6$	$4.9 \times 10^4$	1.6
	エポキシ樹脂 コート	A	$1.9 \times 10^6$	$4.0 \times 10^3$	2.7
		B	$1.9 \times 10^6$	$1.5 \times 10^4$	2.1
	<i>C. albicans</i>	塩化ビニル	A	$9.0 \times 10^5$	$1.6 \times 10^4$
B			$9.0 \times 10^5$	$1.5 \times 10^4$	1.8
C			$9.0 \times 10^5$	$2.0 \times 10^4$	1.7
硬質ウレタン ゴム		A	$9.0 \times 10^5$	$3.1 \times 10^4$	1.5
		B	$9.0 \times 10^5$	$3.8 \times 10^4$	1.4
		C	$9.0 \times 10^5$	$8.3 \times 10^4$	1.1
エポキシ樹脂 コート		A	$9.0 \times 10^5$	$9.0 \times 10^2$	3.0
		B	$9.0 \times 10^5$	$5.7 \times 10^4$	1.2

消毒剤の中和方法  
- 回収液の検討 -

## 4. 概要

検証対象濃度の各消毒剤を対象に、微生物の回収が可能となる液組成を検討した。その結果、表 1 に示す組成が全ての消毒剤に対して、微生物の回収が可能であることを確認した。

表 III-1 回収液組成

成分	最終濃度	秤取量
大豆レシチン	0.50%	5.0 g
ポリソルベート 80	4.00%	40.0 g
チオ硫酸ナトリウム 5 水和物	0.50%	5.0 g
L-ヒスチジン	0.20%	2.0 g
リン酸二水素カリウム	(15 mM)	2.0 g
カタラーゼ <sup>*1</sup>	4.8 w/v	50 mL
水	-	950 mL

\*1: カタラーゼは熱により分解するため、ろ過による無菌化を行った上で使用した。

## 5. 回収液の調製手順

以下の方法で調製した。

- (1) 大豆レシチン、ポリソルベート 80、チオ硫酸ナトリウム 5 水和物、L-ヒスチジン、リン酸二水素カリウム及び水を混和し、121°C で 15~20 分間高圧蒸気滅菌する。
- (2) よく振り混ぜ、室温にまで冷却する。
- (3) ろ過による無菌化を行ったカタラーゼを加え、全量 1000 mL とする。
- (4) 滅菌済の適当な分注器を用い、滅菌済の試験管等に回収液を 10 mL ずつ分注する。
- (5) 室温、暗所で保管し、1 週間以内に使用する。

## 6. 検討手順

以下の手順で実施した。

- (1) 検証対象濃度の各消毒剤を調製し、その 100  $\mu$ L を回収液 10 mL に添加した。
- (2) (1) に各試験菌  $10^3 \sim 10^4$  CFU を含んだ液 100  $\mu$ L を個別に接種した。
- (3) (2) の液を 90 分程度放置し、作用させた。
- (4) (3) の液 100  $\mu$ L ずつを 2 枚の SCD カンテン平板に接種し、カンテン表面塗抹法により、菌数を計測した。平板培地 2 枚で計測された菌数の平均値を「回収された試験菌数」とした。
- (5) 同時に、消毒剤の代わりに滅菌水を添加した回収液に対して同様の操作を行い、SCD カンテン平板培地 2 枚で計測された菌数の平均値を「イニシャル値」とした。
- (6) (4) 及び (5) の培養条件は 30~35°C で最長 5 日間とした。

(7) 以下の式を使用して試験菌の回収率を算出した。

【計算式】

$$\text{回収率 (\%)} = (\text{回収された試験菌数} / \text{イニシャル値}) \times 100$$

(8) 試験菌の回収率が 50～200%であれば、回収液として適切と判断した。

## 7. 結果

消毒剤ごとの試験菌に対する回収率の結果を表 III-2 に示す。

全ての消毒剤及び試験菌を良好に回収することが出来たことから、表 III-1 の組成は回収液として適切であると判断した。

表 III-2 回収液の微生物回収率

消毒剤		回収率 (%)								
		<i>S. aureus</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>E. coil</i>		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
過酸化水素	3.0%	91	89	82	81	85	111	89	97	100
過酢酸	0.21%	80	95	78	80	103	96	104	109	82
次亜塩素酸ナトリウム	0.020%	82	107	74	98	100	108	87	105	91
イソプロパノール	50%	80	104	92	80	114	100	96	109	95
エタノール	70%	98	88	86	114	112	109	99	145	102
ベンザルコニウム塩化物	0.05%	84	102	81	106	95	109	102	125	103
アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩	0.05%	63	94	92	90	96	82	107	104	94
クロルヘキシジングルコン酸塩	0.05%	91	104	77	100	96	114	86	144	93

消毒剤		回収率 (%)								
		<i>B. subtilis</i>			<i>C. albicans</i>			<i>A. brasiliensis</i>		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
過酸化水素	3.0%	105	103	92	79	107	97	108	80	78
過酢酸	0.21%	82	115	83	105	73	78	90	104	82
次亜塩素酸ナトリウム	0.020%	99	112	88	96	100	105	110	86	96
イソプロパノール	50%	108	99	98	93	73	85	111	114	92
エタノール	70%	95	110	87	95	87	85	107	94	102
ベンザルコニウム塩化物	0.05%	79	97	54	99	107	103	100	82	88
アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩	0.05%	94	94	86	100	93	97	104	84	71
クロルヘキシジングルコン酸塩	0.05%	93	115	82	93	80	123	106	88	116

## 評価方法確立のプロトコル

## 8. 目的

日本薬局方 参考情報収載の「微生物殺滅法」を改正し、「消毒法及び除染法」と名称変更した上で、GMP で要求される消毒剤の有効性を評価する手法と評価基準を提示する予定である。医薬品製造環境の構造設備は種々の材質から構成されているが、消毒剤の効果は材質によって異なる可能性がある。そこで、医薬品製造環境の構造設備における代表的な表面の構成材質に対して、標準的な消毒剤の有効性評価法を提示するための基礎実験を行う。

本実験では、各試験条件に対して適切な繰り返し数を設定することにより、評価法の室内再現性を確認すると共に、統一したプロトコルを基に、複数の試験室で消毒剤の有効性評価を実施し、得られた結果を比較することで、評価法の室間再現性についても考察する。

## 9. 実験材料

## 2.1 消毒剤

表 III-1 に示す消毒剤を使用する。

滅菌した日本薬局方 精製水の規格を満たす水を用い、検証濃度の消毒剤を調製する。

表 III-1 消毒剤の種類と濃度

消毒剤	使用濃度 <sup>※1</sup>	検証濃度 <sup>※2</sup>
過酸化水素	3%	3%
過酢酸	0.2 ~ 0.3%	0.2%
次亜塩素酸ナトリウム	0.02 ~ 0.05%	0.02%
イソプロパノール	50 ~ 70%	50%
エタノール	70%	70%
ベンザルコニウム塩化物	0.05 ~ 0.2%	0.05%
アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩	0.05 ~ 0.5%	0.05%
クロルヘキシジングルコン酸塩	0.05 ~ 0.5%	0.05%

※1 : 消毒剤メーカーが治具や構造設備等へ適用する際に推奨しており、医薬品製造環境で汎用されている濃度である。

※2 : 本検証においては、汎用される使用濃度の下限値をワーストケースとして採用する。

## 2.2 対象材質

表 III-2 及び図 1 に示す材質のキャリアー (サイズ 5 cm × 5 cm) を準備し、試験に供する。こ