

添付資料 III-4-7 ② 0.05% アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩：初期菌数・生残菌数

Test Strains	Test times	菌数 (CFU)															
		SUS				強化ガラス				ポリカーボネート				化粧ケイ酸カルシウム			
		K社		L社		K社		L社		K社		L社		K社		L社	
初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数		
<i>E. coli</i>	1	134000	0	44500	0	138500	0	36500	0	152000	0	35500	0	155500	0	43500	0
	2	153000	0	42500	0	218000	0	23050	0	202500	0	36500	0	208000	0	24500	0
	3	110000	0	45500	50	128000	0	39500	0	139000	0	47000	0	134000	0	30500	0
<i>S. aureus</i>	1	290000	0	47500	0	355000	0	107000	0	264500	0	49000	0	480000	0	35500	0
	2	241000	0	39000	0	247500	0	49500	0	259500	0	36500	0	300000	0	46500	0
	3	177000	0	44000	0	229000	0	32500	0	289000	0	54500	0	2325000	0	33500	0
<i>P. aeruginosa</i>	1	184000	0	38500	50	190500	0	36500	0	190000	0	23000	0	186500	0	30000	50
	2	106500	0	24100	0	104500	0	24400	0	104500	0	30500	0	124000	0	26000	0
	3	120500	0	30500	50	242000	0	43500	0	154500	0	25150	0	202000	0	20500	0
<i>B. subtilis</i>	1	86500	86500	168000	1620000	167500	157500	166000	1910000	70000	42500	1565000	1630000	142000	155500	1640000	1600000
	2	106000	102000	1865000	1990000	163000	172000	1940000	1785000	86000	67500	1835000	1885000	126500	151000	1715000	1105000
	3	84000	165000	1590000	1555000	265000	169500	1620000	1565000	111000	290000	2000000	3565000	285000	165500	1460000	1380000
<i>C. albicans</i>	1	101500	0	50000	0	158000	0	66500	0	145000	0	53000	0	127000	0	42500	0
	2	100500	0	50500	0	126500	0	33000	0	132000	0	29500	0	111500	0	50500	0
	3	190000	0	36500	0	190000	0	66500	0	103500	0	48500	0	155000	0	39500	0
<i>A. brasiliensis</i>	1	4600	350	62000	50	3050	250	37500	0	3800	400	70500	50	3900	300	59000	150
	2	12000	3500	17900	0	10500	3900	26800	0	15000	5150	25950	0	21000	1850	21600	0
	3	15500	8500	13850	0	10500	3900	58000	0	22500	8000	42000	0	23000	8500	14600	250

Test Strains	Test times	菌数 (CFU)															
		エポキシ樹脂				塩化ビニル				ウレタンゴム				ニトリルゴム			
		K社		L社		K社		L社		K社		L社		K社		L社	
初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数		
<i>E. coli</i>	1	229000	0	40000	0	177000	0	33500	0	194000	0	55000	0	149000	0	56000	0
	2	177500	0	37500	0	235500	0	44500	0	239000	0	45000	0	235000	0	38500	0
	3	114500	0	34000	0	141000	0	41000	0	124500	0	38000	0	132000	0	42000	0
<i>S. aureus</i>	1	309500	0	36500	0	355000	0	46500	0	425000	0	51000	0	385000	0	53000	0
	2	206000	0	41500	0	218000	0	41500	0	262500	0	39000	0	291500	0	27050	0
	3	176500	0	41500	0	271500	0	31000	0	271500	0	35500	0	235000	0	31000	0
<i>P. aeruginosa</i>	1	196000	0	30000	50	116000	0	27000	0	223000	0	21300	0	335000	0	25400	0
	2	136500	0	25500	0	169500	0	27200	0	121000	0	36000	50	110000	0	263350	0
	3	127000	0	18800	0	226500	0	17650	0	213000	0	13050	0	196000	0	21200	0
<i>B. subtilis</i>	1	151000	139500	1540000	1715000	137000	128000	1605000	1280000	129000	125500	1465000	1360000	172000	184500	1830000	1465000
	2	127500	112500	1965000	1370000	173000	128500	1810000	1680000	125000	61000	1950000	1945000	128500	166000	1850000	1685000
	3	202500	183500	1615000	1595000	168000	206000	1975000	1675000	178000	270000	1700000	1630000	206000	195000	2030000	1650000
<i>C. albicans</i>	1	119500	0	46000	0	174500	0	46000	0	118000	0	81000	0	143000	50	71000	0
	2	106000	0	73500	0	103500	0	48000	0	172500	0	34500	0	127500	0	59500	0
	3	185000	0	48500	0	105500	0	42500	0	103000	0	52000	0	155000	0	58500	0
<i>A. brasiliensis</i>	1	3200	350	14200	50	3500	100	46500	0	4250	350	58000	0	3450	750	58500	50
	2	21000	4250	23950	150	9000	3150	22600	100	26000	9000	14400	0	20000	13000	82500	0
	3	20000	2460	43500	200	16000	4250	47500	100	27500	5000	49000	50	26500	18000	64000	200

<i>A. brasiliensis</i>	K社				K社				K社				K社			
	新鮮培養菌		市販品		新鮮培養菌		市販品		新鮮培養菌		市販品		新鮮培養菌		市販品	
	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数
	75000	9600	65500	100	63500	8850	56500	50	80000	30000	85500	250	63000	45000	47500	500

<i>A. brasiliensis</i>	K社				K社				K社				K社			
	新鮮培養菌		市販品		新鮮培養菌		市販品		新鮮培養菌		市販品		新鮮培養菌		市販品	
	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数
	72500	16500	33500	150	56000	7100	26500	0	90000	34500	90500	200	76500	40000	67000	2000

添付資料 III-4-8 ① 0.05% クロルヘキシジングルコン酸塩：対数減少量

Test Strains	Test times	対数減少量 (LRV)															
		SUS		強化ガラス		ポリカーボネート		化粧ケイ酸カルシウム		エポキシ樹脂		塩化ビニル		ウレタンゴム		ニトリルゴム	
		M社	N社	M社	N社	M社	N社	M社	N社	M社	N社	M社	N社	M社	N社	M社	N社
<i>E. coli</i>	1	-5.2	-5.1	-5.6	-5.0	-5.7	-5.1	-5.8	-4.9	-5.8	-5.0	-5.7	-5.0	-5.7	-5.0	-5.7	-5.0
	2	-5.2	-5.6	-5.2	-5.7	-5.1	-5.7	-5.2	-5.7	-5.1	-5.6	-5.3	-5.8	-5.3	-5.7	-5.2	-5.7
	3	-5.6	-5.3	-5.6	-4.7	-5.8	-5.2	-5.6	-5.4	-5.7	-5.1	-5.6	-5.2	-5.5	-5.1	-5.7	-5.3
	Ave.	-5.3	-5.3	-5.5	-5.1	-5.5	-5.3	-5.5	-5.3	-5.5	-5.2	-5.5	-5.3	-5.5	-5.3	-5.5	-5.3
<i>S. aureus</i>	1	-5.0	-4.9	-5.1	-5.0	-5.4	-4.9	-5.4	-2.1	-5.6	-1.7	-5.5	-1.1	-5.4	-1.4	-5.4	-1.3
	2	-4.3	-5.0	-5.1	-5.0	-5.3	-5.1	-5.3	-5.0	-5.3	-5.0	-5.0	-4.9	-5.3	-5.0	-5.4	-5.0
	3	-5.1	-5.4	-5.0	-5.6	-5.4	-2.6	-5.4	-5.4	-5.4	-3.3	-5.4	-2.4	-5.4	-5.4	-5.5	-5.4
	Ave.	-4.8	-5.1	-5.1	-5.2	-5.4	-4.2	-5.4	-4.2	-5.4	-3.3	-5.3	-2.8	-5.4	-3.9	-5.4	-3.9
<i>P. aeruginosa</i>	1	-4.5	-5.8	-4.5	-5.8	-5.1	-5.8	-4.9	-5.7	-4.9	-5.7	-5.1	-5.7	-5.0	-5.7	-5.1	-5.7
	2	-5.6	-6.2	-5.5	-6.2	-5.7	-6.2	-5.6	-6.2	-5.7	-6.2	-5.7	-6.2	-5.7	-6.1	-5.8	-6.4
	3	-5.2	-5.1	-5.1	-4.9	-5.2	-4.9	-5.2	-4.9	-5.1	-5.0	-5.3	-4.9	-5.3	-4.7	-5.3	-4.8
	Ave.	-5.1	-5.7	-5.0	-5.6	-5.3	-5.6	-5.2	-5.6	-5.2	-5.6	-5.4	-5.6	-5.3	-5.5	-5.4	-5.6
<i>B. subtilis</i>	1	0.0	-0.1	0.0	-0.1	0.0	-0.1	-0.2	-0.4	-0.1	0.0	-0.1	0.0	-0.1	0.0	0.1	-0.1
	2	0.0	0.1	-0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1	-0.2	-0.1	0.0
	3	-0.1	0.0	-0.2	0.0	0.0	0.0	-0.2	-0.5	0.0	-0.1	-0.2	0.1	-0.1	0.0	-0.1	0.1
	Ave.	0.0	0.0	-0.1	0.0	0.0	0.0	-0.1	-0.4	0.0	0.0	-0.1	0.0	-0.1	-0.1	0.0	0.0
<i>C. albicans</i>	1	-5.3	-4.2	-4.5	-4.3	-5.7	-4.3	-6.0	-4.2	-5.9	-4.2	-6.4	-4.3	-5.3	-4.2	-5.9	-4.3
	2	-5.3	-4.4	-5.4	-4.5	-5.6	-4.4	-5.4	-4.4	-5.3	-4.4	-5.6	-4.4	-5.5	-4.4	-5.6	-4.5
	3	-5.3	-4.8	-5.4	-5.1	-5.5	-5.1	-5.6	-5.2	-5.7	-5.1	-5.6	-5.2	-5.0	-5.2	-5.7	-5.2
	Ave.	-5.3	-4.5	-5.1	-4.6	-5.6	-4.6	-5.7	-4.6	-5.6	-4.6	-5.9	-4.6	-5.3	-4.6	-5.7	-4.7
<i>A. brasiliensis</i>	1	-2.9	-2.7	-5.0	-2.3	-3.3	-1.8	-2.7	-1.9	-3.3	-2.4	-3.3	-2.2	-2.3	-2.7	-3.7	-3.0
	2	-2.9	-2.1	-2.4	-2.2	-2.3	-2.3	-2.5	-2.2	-2.5	-1.7	-2.7	-2.3	-2.6	-2.4	-2.6	-2.3
	3	-1.8	-2.4	-2.2	-2.2	-2.0	-2.5	-2.5	-2.5	-1.9	-2.3	-1.7	-2.5	-2.1	-2.9	-1.8	-2.1
	Ave.	-2.5	-2.4	-3.2	-2.2	-2.5	-2.2	-2.6	-2.2	-2.6	-2.1	-2.6	-2.3	-2.3	-2.7	-2.7	-2.5

添付資料 III-4-8 ② 0.05% クロルヘキシジングルコン酸塩：初期菌数・生残菌数

Test Strains	Test times	菌数 (CFU)															
		SUS				強化ガラス				ポリカーボネート				化粧ケイ酸カルシウム			
		M社		N社		M社		N社		M社		N社		M社		N社	
		初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数
<i>E. coli</i>	1	172000	0	118500	0	415000	0	96000	0	535000	0	139500	0	570000	0	87000	0
	2	176000	0	375000	0	170000	0	480000	0	128000	0	510000	0	157000	0	450000	0
	3	127000	0	178500	0	106000	0	54000	0	241500	0	146500	0	269500	0	267000	0
<i>S. aureus</i>	1	103000	0	84000	0	125000	0	89500	0	252000	0	75500	0	122000	0	85000	650
	2	209000	0	106000	0	136000	0	106500	0	192000	0	116500	0	152000	0	105000	0
	3	127000	0	258000	0	105000	0	440000	0	241500	0	247000	650	269500	0	241000	0
<i>P. aeruginosa</i>	1	32500	0	575000	0	33500	0	590000	0	125000	0	595000	0	83000	0	555000	0
	2	440000	0	1470000	0	350000	0	1740000	0	535000	0	1700000	0	355000	0	1475000	0
	3	148500	0	121500	0	128500	0	83500	0	166500	0	85000	0	170000	0	75000	0
<i>B. subtilis</i>	1	1230000	1180000	9150	7550	1130000	1285000	8650	7250	1275000	1250000	8650	7650	1475000	1095000	8050	3550
	2	70000	69000	83500	108000	69500	51000	86500	92000	77000	73000	79500	83500	72000	76500	114500	80000
	3	62000	48000	10650	10850	73000	50000	10300	10350	72000	74000	13150	14050	76500	53000	14800	5050
<i>C. albicans</i>	1	21800	0	17200	0	34000	0	19450	0	555000	0	18500	0	1050000	0	17200	0
	2	219500	0	23800	0	228000	0	29850	0	410000	0	27050	0	242000	0	25300	0
	3	182500	0	64500	0	224000	0	126500	0	315000	0	127500	0	365000	0	147500	0
<i>A. brasiliensis</i>	1	147000	200	28000	50	95000	0	41500	200	545000	300	33500	500	147500	300	29000	400
	2	700000	850	38000	300	325000	1300	36500	250	365000	2050	40500	200	575000	1950	39000	250
	3	206500	3050	36500	150	177000	1100	35000	200	172000	1700	47500	150	325000	1000	30000	100

Test Strains	Test times	菌数 (CFU)															
		エポキシ樹脂				塩化ビニル				ウレタンゴム				ニトリルゴム			
		M社		N社		M社		N社		M社		N社		M社		N社	
		初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数	初期菌数	生残菌数
<i>E. coli</i>	1	610000	0	102000	0	555000	0	96500	0	455000	0	107000	0	460000	0	99000	0
	2	113000	0	415000	0	204000	0	565000	0	212500	0	505000	0	158000	0	465000	0
	3	249500	0	130500	0	247500	0	160500	0	268000	0	116500	0	350000	0	195500	0
<i>S. aureus</i>	1	385000	0	88000	1650	340000	0	83000	6400	273000	0	96500	4050	266500	0	87000	4400
	2	179000	0	94500	0	102500	0	83000	0	222000	0	112000	0	255000	0	107500	0
	3	249500	0	223500	100	247500	0	234500	850	268000	0	138500	0	350000	0	250000	0
<i>P. aeruginosa</i>	1	81000	0	550000	0	129500	0	515000	0	100000	0	475000	0	133000	0	545000	0
	2	470000	0	1620000	0	505000	0	1555000	0	555000	0	1275000	0	570000	0	2580000	0
	3	140000	0	105500	0	197500	0	78500	0	223500	0	50000	0	178000	0	59000	0
<i>B. subtilis</i>	1	1485000	1160000	7050	6900	1585000	1215000	6750	7550	1460000	1325000	8750	8200	1370000	1495000	6850	9400
	2	73500	81000	88500	90500	75000	71500	88500	95000	88000	68000	75000	117000	82500	69500	84000	87000
	3	58500	68500	14500	12000	91500	62500	11250	15100	71000	69500	10650	10400	86000	64500	11650	14600
<i>C. albicans</i>	1	840000	0	15700	0	2245000	0	20950	0	222000	0	16300	0	730000	0	19400	0
	2	208500	0	26400	0	385000	0	23350	0	295000	0	27850	0	435000	0	29200	0
	3	455000	0	134500	0	365000	0	144500	0	103000	0	168500	0	455000	0	150000	0
<i>A. brasiliensis</i>	1	600000	300	26500	100	108000	50	34500	200	137500	650	46500	100	530000	100	47500	50
	2	660000	1900	36000	650	645000	1150	31000	150	600000	1350	47500	200	605000	1650	47500	250
	3	132500	1550	47000	250	64500	1250	52000	150	153000	1100	41500	50	278500	4600	44500	350

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器・バイオサイエンス総合研究事業）
分担研究報告書

遺伝子組換え体を用いた新規エンドトキシン試験法の評価

分担研究者	棚元憲一	武蔵野大学薬学部教授
協力研究者	室井正志	武蔵野大学薬学部
	水村 光	生化学工業株式会社
	小田俊男	生化学工業株式会社
	明田川純	生化学工業株式会社
	小倉紀彦	生化学工業株式会社

研究要旨：これまで、我々は3種のプロテアーゼ前駆体の組換え酵素と発色合成基質からカスケード反応を再構成し、天然カプトガニに依らない組換えエンドトキシン比色試薬（以下、組換え試薬）を開発した。当該試薬性能を分析法バリデーションに従い、それぞれの分解能パラメータについて評価したところ、薬局方予備試験および生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドラインに記載される要求基準に適合した。最終年度である本年は、まず組換え試薬と既存エンドトキシン測定試薬（以下ライセート試薬）との間でエンドトキシン試験結果の同等性を評価するため、由来菌の異なる各種エンドトキシンを組換え試薬とライセート試薬で測定した。両試薬の米国薬局方エンドトキシン標準品（USPRSE）に対する各種エンドトキシンの相対活性は良好な相関を示した。また第十六改正日本薬局方の医薬品各条にエンドトキシン規格値が記載されている医薬品中のエンドトキシンが最大有効希釈倍数以下で測定できたことより、組換え試薬が薬局方エンドトキシン試験法に適用可能であることが確認できた。

A. 研究目的

エンドトキシン (Et) はリポ多糖 (LPS) とも呼ばれ、グラム陰性菌の細胞外膜を構成し、その化学的な構造は菌の種類により異なる。また、構造の違いはヒトにおける生理活性およびライセート試薬を用いた測定における比活性に影響を与えることが知られている。片岡らは、メーカーの異なるライセート試薬を使い、日本薬局方エンドトキシン標準品 (JPRSE) に対する由来菌の異なる各種 Et の相対活性を求め、試薬間でその値に一定の差があることを示した。

また、試薬原料を含め試薬性能に影響しうる製造法の変更があった場合、標準品に対する各種 Et の反応性を高精度に比較、評価することが必要と報告している¹⁾。よって、本年は第一に組換え試薬と日本でよく使用される3種のライセート試薬において、米国薬局方エンドトキシン標準品 (*E. coli* O113:H10 由来、USPRSE) に対する13種の Et (表2) の相対活性をそれぞれ求め、これを指標に組換え試薬とライセート試薬の同等性を検証した。なお USPRSE は世界保健機関 (WHO) の国際エンドトキシン標

準品と同一の原料を用いて、同一の製造場所および製造工程で製造されており²⁾、実質的に同じと考えられるため、基準品として選択した。

Et 規格値が記載された医薬品は、厳しく Et を管理することが求められている。医薬品中の Et をライセート試薬で測定する際、医薬品主成分またはその添加物により反応干渉が認められることがある。薬局方では「試料溶液に反応干渉が認められるとき、最大有効希釈倍数 (MVD) を超えない範囲で試料溶液を更に希釈し、試験を行う」とされている。よって、第二に組換え試薬がエンドトキシン試験法に適用可能であることを検証するため、第十六改正日本薬局方の医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品につき、反応干渉因子試験を行い、これらが MVD 以下で測定が可能であることを検証した。

B. 研究方法

用いた 3 種のライセート試薬を表 1 に示す。ライセート試薬は各メーカーの添付文書または推奨法に従い測定および Et 測定値の算出を行った。組換え試薬の反応速度法はライセート試薬 1 の操作法に従い、測定および Et 測定値の算出を行った。組換え試薬の反応時間法は波長 405nm における吸光度を 15 秒間隔で 30 分間または 60 分間測定し、測定開始から吸光度が 0.015Abs (30 分測定の場合) または 0.150Abs (60 分測定の場合) 上昇するまでの時間を指標に Et 測定値を算出した (表 1)。

1. 組換え試薬およびライセート試薬の各種 Et に対する反応性

13種の Et (表2) につき USPRSE に対する相対活性 (EU/mg) を求めた。Et は注射用水で溶解し、溶解できなかったものについては 0.1% トリエチルアミン (TEA) で溶解した。これら

の希釈は注射用水で行った。USPRSE は各試薬で推奨される濃度を調製し (表1)、各種 Et は注射用水で2または10倍希釈し、それぞれ5濃度を測定に供した (表2)。組換え試薬は3ロットの測定値の平均値、ライセート試薬は1ロットの測定値で解析を行った。USPRSE に対する各種 Et の相対活性は USPRSE の検量範囲に含まれる3点以上の Et の濃度を使用し、平行線定量法 (Bioassay assist ; 国立感染症研究所頒布ソフト使用) により求めた。つまり、x 軸に USPRSE の用量の対数変換値を、y 軸に反応速度法ではブランク値を差し引いた測定値の対数変換値を、反応時間法では測定値の二重対数変換値をプロットし、解析した。次いで、前述の平行線定量法により算出された組換え試薬とライセート試薬での13種の Et の USPRSE に対する相対活性を xy 軸それぞれに両対数プロットし、回帰分析を行なった。

2. 医薬品の反応干渉因子試験

本検討は1ロットの組換え試薬および表1に記載の3種のライセート試薬を1ロットずつ用いた。注射用水を除く入手可能であった代替品を含む 109 品目 (表 4-1~4-6) について日本薬局方のエンドトキシン試験法記載の反応干渉因子試験を実施した。粉末または凍結乾燥品の医薬品は注射用水または医薬品に添付された溶液で溶解した (原液濃度を表 4-1~4-6 に示す)。医薬品は必要に応じて注射用水で 2 倍もしくは 10 倍ずつ希釈した。医薬品の原液または希釈液には各試薬の検量線の中点濃度となるよう JPRSE を添加した。検量線の作製に用いる JPRSE 濃度は、各試薬で推奨される濃度に調製した (表 1)。それぞれの試薬の操作法に従い、これらの医薬品、JPRSE を添加した医薬品および JPRSE を測定した。Et 添加試料の Et 濃度 (測定値) から Et 回収率を計算し、反応干渉

因子が試料溶液中に存在しない、すなわち Et 回収率が 50%から 200%の範囲となる最小の希釈倍数である Non Interfering Dilution (NID) を求めた。

3. 室間再現精度の評価 (2 年目未実施分)

2 年目で報告した組換え試薬の反応時間法でのプロトコールに従い、USPRSE の検量線の各濃度における測定値を求めた。今年度は武蔵野大学において測定者 1 名、測定機 1 台、測定日 2 日、試薬 3 ロットで合計 6 測定を実施した。今年度の結果に昨年度に得られた結果 (測定者 2 名、測定機 2 台および試薬 3 ロットの計 12 測定を生化学工業株式会社にて実施) を加え、これら 18 回のデータから各 USPRSE 濃度における Et 測定値を求めた。これらの Et 測定値を対数変換し、その絶対値から相対標準偏差 (CV) を算出し、90%信頼区間を下記の式より求めた。

$$(n-1)SD^2 / \chi^2(n-1, 0.05) \leq \sigma \leq (n-1)SD^2 / \chi^2(n-1, 0.95)$$

判定基準は検量線の Et 濃度が定量下限の場合、Et 測定値の CV の 90%信頼区間が 20%以下であり、定量限界より高い Et 濃度の場合、CV の 90%信頼区間が 15%以下であることとした。

また、上述の Et 測定値 (対数変換値) を用いて、2 施設 (因子 1) および全てのロットにおける 5 つの Et 濃度 (因子 2) の組合せから、繰り返しのある 2 元配置の分散分析を行った。

C. 研究結果

1. 組換え試薬およびライセート試薬の各種 Et に対する反応性

組換え試薬とライセート試薬それぞれの各種 Et の USPRSE に対する相対活性を xy プロットした回帰式から得られた傾きは 0.768 から 1.433、相関係数は 0.757 から 0.947 となり、ラ

イセート試薬により異なった (表 3)。測定原理とデータ解析法が同じである表 3 の組合せ A (組換え試薬とライセート試薬 1) および組合せ E (組換え試薬とライセート試薬 2) では、それらの回帰式から得られた傾きはそれぞれ 0.958 と 1.177、相関係数は 0.935 と 0.947 であった。また、これらの回帰式の傾きおよび y 切片の 95%信頼区間にはそれぞれ 1 と 0 が含まれていたことより、組合せ A および E の 2 試薬での、各種 Et の USPRSE に対する相対活性は同じであると言える (表 3)。TEA で溶解した Et のうち、糖鎖の短い R 型の Et である *E. coli* F583 Rd 2、*S. minnesota* R595 Re の相対活性は他の Et と比較して試薬間のばらつきが比較的大きかった (図 1)。一方で S 型の Et のうち、JPRSE、*Escherichia coli* O111:B4 ならびに *E. coli* O55:B5 の USPRSE に対する相対活性は組換え試薬を含めた全ての試薬の結果がよく一致した (図 1)。なおデータは載せていないが組換え試薬では、各 Et の EU/ng 値の試薬 3 ロット間の CV 値は、*Pseudomonas aeruginosa* (12.7%) を除き、いずれも 10% 未満であった。

2. 医薬品の反応干渉因子試験

まず、組換え試薬 3 ロットを用いて薬局方予備試験の検量線の信頼性確認試験を反応速度法で行った。測定者および測定機を変えてそれぞれのロットで 4 回測定を行い、作成した検量線の相関係数が全て 0.980 以上であることを確認した (データ示さず)。なお、反応時間法は 2 年目の報告書「分析法バリデーションに従った各種分析能パラメータの評価」において上述の基準に適合している。

組換え試薬で測定した 109 種の医薬品の NID は全て MVD を超えず、医薬品中の Et が測定可能であった (表 4-1~4-6)。しかし、同じ組換え試薬でも時間法と速度法で NID が大き

く異なるものが認められた。反応時間法におけるアルベカシン硫酸塩注射液の NID は閾値を 0.015Abs とした 30 分測定では 10,000 倍であり、MVD である 5,000 倍を超えた。しかし、測定時間を 60 分に延長し、閾値を 0.150Abs に変更した結果、NID は反応速度法と同じ 4 倍となった(表 4-1, 4-4)。

3. 空間再現精度の評価 (2 年目未実施分)

まず、検量線の各濃度における Et 測定値(表 5) の CV の 90%信頼区間(表 6) は判定基準に適合した。つぎに 2 施設で得られた測定値の分散に 5%の水準で有意差を認めなかった(P=0.46)。

D. 考察

測定原理とデータ解析法が同じである表 3 の組み合わせ A (比色法、反応速度法) および組み合わせ E (比色法、反応時間法) において、各種 Et の USPRSE に対する相対活性は良好な相関を認めた。その反面、測定原理は同じであるがデータ解析法が反応速度法と反応時間法とで異なる組み合わせ B および D においては、各種 Et の USPRSE に対する相対活性を xy プロットして得られた回帰式の傾きの 95%信頼区間は 1 を含まなかった(表 3)。データ解析法が同じであるが測定原理が異なるライセート試薬どうしの組み合わせである I (比色法と比濁法、いずれも反応時間法) でも回帰式の傾きの 95%信頼区間に 1 を含まなかった(表 3)。よって、試薬性能を厳密に比較する際には、測定原理と解析法を揃えることが重要である。これらが同じ試薬の組み合わせである A と E の各種 Et の反応性は高い相関かつ 1 に近い傾きを示したことは天然ライセート試薬のカスケード反応を 3 種の組換え因子で再構成できたことを示唆している。

薬局方では「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」とされている。すなわち、試薬のロット間差は医薬品の安定した品質管理に影響を及ぼすと考えられる。組換え試薬の原料は培養細胞により生産されるため、試薬のロット間差は天然の原料を用いた試薬と比較して小さくなるものと推察される。よって、今後、組換え試薬のロット間差を明らかにしていく予定である。

E. 結論

組換え試薬の各種 Et の USPRSE に対する相対活性はライセート試薬のそれと良く相関した。また、第十六改正日本薬局方の医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品は組換え試薬で全て測定が可能であった。よって組換え技術を用いて作製された原料から調製された組換え試薬は、カプトガン由来の原料から調製されたライセート試薬と同様、薬局方のエンドトキシン試験に使用可能である。

F. 参考論文

1. 片岡紀代ほか、医薬品研究. 36 (3) 129-135 (2005)
2. WHO/BS/2012.2193 and working document QAS/12.501

G. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Muroi M, Tanamoto K.: Zinc- and oxidative property-dependent degradation of pro-caspase-1 and NLRP3 by ziram in mouse macrophages. Toxicol. Lett., 235, 199-205 (2015)
2. 学会発表

- 1) 室井 正志、棚元 憲一：Ziram は亜鉛および酸化作用依存的にマクロファージにおける pro-caspase-1 と NLRP3 蛋白を分解する、日本薬学会第 135 年会 (2015, 3)

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

添付資料 1

表 1 試験に使用した試薬

No.	名称	測定原理・ 解析法	測定時間 (分)	閾値	標準品濃度 (EU/mL)
1	組換え試薬	比色法・ 反応速度法 ¹⁾	30		0.00625 – 0.1 (2 倍希釈)
2	ライセート試薬1				
3	組換え試薬	比色法・ 反応時間法 ²⁾	30	0.015 Abs	0.005 – 50 (10 倍希釈)
			60 ⁴⁾	0.150 Abs	
4	ライセート試薬2		最大 100	0.2 Abs	
5	ライセート試薬3	比濁法・ 反応時間法 ³⁾	60	94.9 %	0.0078 – 0.125 (2 倍希釈)

- 1) 測定時間内における吸光度の変化を指標とする。
- 2) 吸光度が測定を開始してから設定した閾値に到達するまでの時間を指標とする。
- 3) 透過光量比を計測し測定を開始してから設定した閾値に達するまでの時間を指標とする。
- 4) 一部の医薬品測定において 60 分測定を実施した。

表 2 試験に使用した Et

No.	名称	溶解液	最大測定濃度 (ng/mL)				
			反応速度法 (2 倍希釈)		反応時間法 (10 倍希釈)		L3 (2 倍希釈)
			組換え 試薬	L1	組換え 試薬	L2	
1	JPRSE (<i>Escherichia coli</i> UKTB)	注射 用水	0.0110		5.5556		0.0189
2	<i>E. coli</i> O55:B5		0.0050		2.5000		0.0500
3	<i>E. coli</i> O111:B4		0.0100		20.0000		0.0500
4	<i>E. coli</i> O127:B8		0.0300		10.0000		0.0500
5	<i>E. coli</i> O128:B12		0.0300		10.0000		0.0500
6	<i>E. coli</i> J5		0.0400		10.0000		0.0500
7	<i>E. coli</i> F583 Rd 2	TEA	0.0025		0.2000		0.0100
8	<i>Shigera flexneri</i>	注射	0.0200		2.0000		0.0500
9	<i>Salmonella entrica</i>	用水	0.0200		2.0000		0.0500
10	<i>S. minnesota</i> R595 Re	TEA	0.0025		0.2000		0.0050
11	<i>S. typhimurium</i>		0.0025		0.5000		0.0100
12	<i>S. typhosa</i>		0.0100		2.0000		0.0500
13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	注射 用水	0.0019		0.0020		0.0031

ライセート試薬を L と表記する。

USPRSE の検量範囲に入った濃度 (3 点以上) のデータを用い、平行線定量法で解析した。

表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。

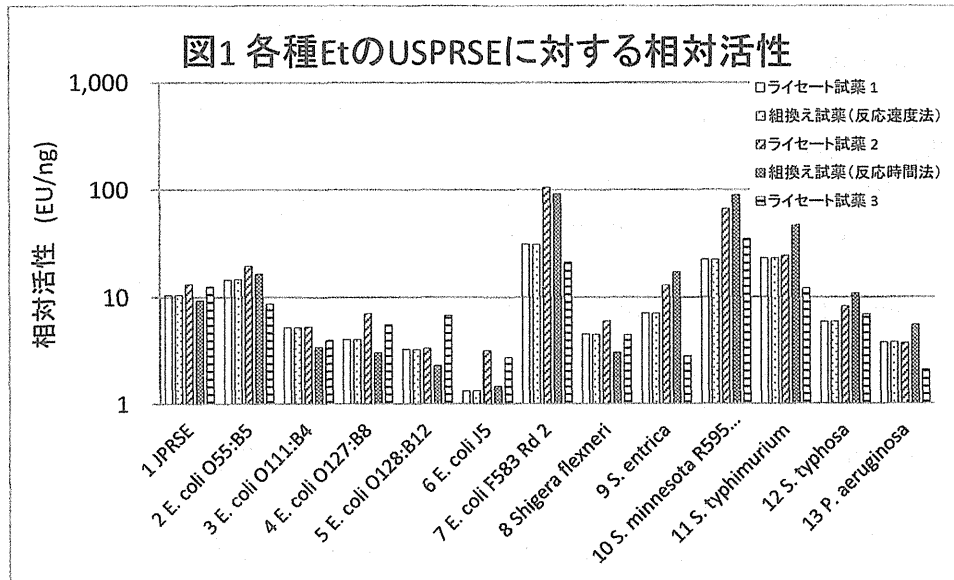


表 4-1 医薬品各条に Et 規格値が記載される医薬品の NID

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 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	30 mg/mL	8.9 EU/mg(力価)	8	16	8	8	8	入手不可
				128	512	128	16	8	
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 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 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 ^{a)}	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 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 ^{b)}	1	16 ^{b)}	1	16 ^{b)}	
				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 ^{a)}	16 ^{b)}	2	4 ^{b)}	1	4 ^{b)}	
				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 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	注射用セフタジジム	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 ^{a)}	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 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
				組換え試薬		ライセート試薬			
				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 a)	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 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 ^{a)}	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 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	パニペナム	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	ピリドキシリン塩酸塩注射液	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 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