

# サンプル保存期間とまとめ試験： エンドトキシンの試験効率を最大化する方法

## Application Note

### イントロダクション

このアプリケーションノートでは、エンドトキシン試験に関するサンプル保存期間と「まとめ試験」について説明し、効率を最大化するための簡単な検討方法を紹介します。すべての試験室や研究開発室がハイスループットなラボではありません。つまり、エンドトキシン試験を1日に数サンプル、または週に数サンプルしか測定しないラボもあります。したがって、エンドトキシン試験をより経済的かつ効率的に行うために、サンプルを保存してまとめて96ウェルプレートやSievers\* Eclipseで測定する試験室もあります。これにより、試験回数を減らし、高価なライセート試薬を無駄にせずに済みます。

### 適切な保存期間決定の重要性

まとめ試験は効率を向上させ、コストを削減できますが、多くの試験室では、標準操作手順書（SOP）で、指定時間内にサンプルのエンドトキシン試験を行う規定があります（例: 受け取りまたはサンプリングから24時間）。時間制限があるために、サンプルを保存してまとめて測定することが難しい可能性があります。一定時間内にサンプルを測定することは薬局方の要件ではありませんが、サンプル中にエンドトキシンが存在する場合でも適切に測定できるようにサンプルの保存期間を決定することは一般的なGMP要件です。したがって、保存期間を検討して、適切な保存時間を決定することで、品質/コスト/作業効率のニーズを満たすための重要な情報が得られます。保存期間検討は、外部分析機関に測定を委託する場合に要する時間を検討するためにも役立ちます。

### エンドトキシン試験の保存期間検討

ライセート試薬/消耗品/マイクロプレートを最大限に活用するには、簡単な保存期間の検証を実行して、サンプルを24時間以上保存してまとめて試験をしてもエンドトキシンの損失がないことを確認する必要があります。保存期間の検討をすることで、サンプルの保管期間をSOPで決定することができます<sup>1</sup>。保存期間の検討で重要なのはサンプルの保管容器です。エンドトキシン試験の場合、サンプルやエンドトキシンを吸着しない適切な保管容器を使う必要があります。ポリプロピレン容器がエンドトキシンを吸着することはよく知られていますので、エンドトキシンサンプルを保存するための最適なサンプル容器はポリスチレン製またはホウケイ酸ガラス製です。



適切な保存期間を決定するためには、少なくとも4つの日数（0日目、1日目、3日目、7日目）を検討する必要があります<sup>2</sup>。保存期間を検証することで、注射用水/製造工程中のサンプル/原材料/最終製品の適切な保存時間を決定することができます。保存期間を検討するサンプルには既知濃度のエンドトキシン標準品を添加してサンプルを保管します。検量線の範囲内の最小濃度を添加することが推奨されますが、高濃度ほど対象濃度の2倍以内の回収率が得られる可能性が高くなります。例えば、PDAテクニカルレポート No. 82、TR82では、5EU/mLを添加することが記載されています<sup>2</sup>。各保存期間でサンプルを測定して、エンドトキシンの損失がないことを確認します。

サンプルの保存期間を検討せずにサンプルを保存すると、時間の経過とともにエンドトキシンが損失して偽陰性が生じ、患者の安全上のリスクを招くリスクがあります。7日間にわたってエンドトキシンの損失がないことが確認できたら、新しい保存時間またはテスト要件をSOPで規定することで、サンプルを最大7日間保存して、1週間分のサンプルをまとめて一度に測定することができるようになります。

### Sievers Eclipse による効率の向上

Sievers Eclipse は、薬局方（USP <85>/EP <2.6.14>/JP<4.01>）に適合したエンドトキシン計であり、検量線进行评估するための5つの濃度（50～0.005 EU/mL）のエンドトキシン一次標準品(RSE)がマイクロプレートに充填済みです。すべてのサンプルに反応干渉因子試験(PPC)用の標準品が充填されています。これはハイスループットのエンドトキシン測定法であり、1回の試験で測定するサンプル数を最大化することで恩恵を受けることができます。サンプルの保存時間を延長している、または導入する予定のユーザーは、Eclipseでテストするときに、ライセート試薬を個別に冷凍保管することができます。最初の試薬を溶解した後にマイクロチューブに個別に冷凍保管し、後でEclipseでのサンプルテストに使用しても、一貫した結果が得られることが実証されています<sup>3</sup>。

### まとめ

GMPではサンプルの適切な保存時間を確立することを推奨しています。サンプルをまとめて測定することで、最小限の試験操作でラボの利益を最大化することができます。

#### 参考文献

1. H.Skalski. Low Endotoxin Recovery Hold-Time Study Considerations. Charles River Laboratories, April 2020.
2. PDA Technical Report No. 82. Low Endotoxin Recovery. PDA, 2019.
3. LAL Reagent Storage Evaluation Using the Sievers Eclipse BET Platform. Sievers Analytical Instruments, 2022.

(翻訳：セントラル科学株式会社)