

In-Process Revision: <1228.4> Depyrogenation By Rinsing

USP Forum, 43(5), Sept.-Oct. , 2017.

BRIEFING (概要説明)

(1228.4) Depyrogenation By Rinsing. (リンスによる脱パイロジェン)

The production of parenteral products requires not only that products be sterile, but that they be free of harmful levels of pyrogens. “Depyrogenation” is defined as the direct and validated destruction or removal of pyrogens. For the purposes of this and other chapters of the *Depyrogenation* (1228) series, the term refers to the destruction or removal of bacterial endotoxins, the most prevalent and quantifiable pyrogen in parenteral preparations. Effective destruction or removal of pyrogens, or depyrogenation, depends on the product that has been manufactured and the proposed method of removal and/or destruction. Equipment, drug product containers and closures, and some medical devices can be depyrogenated through physical means such as rinsing. This new chapter proposal from the General Chapters—Microbiology Expert Committee provides an overview of that process, its validation, and routine process control.

注射剤の製造は、製品が無菌であるのみならず、有害なレベルのパイロジェンから切り離されていることも必要である。“脱パイロジェン” (depyrogenation; 訳注 略称して「脱パイロ」と呼ぶことが多い) は、「パイロジェンの直接的でかつバリデートされた破壊、あるいは除去」として定義される。Depyrogenation (脱パイロジェン) (1228) シリーズのこの章および他の章の目的に関して、この (訳注: 脱パイロジェンという) 用語は、バクテリアル・エンドトキシン (bacterial endotoxins; 訳注 細菌性内毒素) の破壊および除去に言及しているものである。このバクテリアル・エンドトキシンは、注射剤 (parenteral preparations) における、最も一般的であり、かつ定量化が可能な発熱性物質 (pyrogen) である。パイロジェンの効果的な破壊または除去、言い換えれば効果的な脱パイロは、製造する製品と、(訳注: エンドトキシンの) 除去または破壊の提案されている方法によって左右される。器具 (equipment)、医薬品の容器と栓 (containers and closures)、およびある種の医療機器 (medical devices) は、リンス (rinsing) のような物理的方法によって脱パイロが可能である。General Chapters—Microbiology Expert Committee (General Chapters—微生物専門委員会) から提案された、この新たなチャプターは、(訳注: リンスの) プロセス、そのバリデーション、および日常的プロセス管理の概観を提供している。

(GCM: R. Tirumalai.)

Correspondence Number—C190824

Comment deadline: November 30, 2017

Add the following: (以下を加える)**■<1228.4> DEPYROGENATION BY RINSING** (リンスによる脱パイロ)**INTRODUCTION** (はじめに)

The production of parenteral products requires that products be sterile, but also that they are free from harmful levels of pyrogens, or fever causing agents. For the purposes of the *Depyrogenation* <1228> series, the term “depyrogenation” refers to the destruction or removal of bacterial endotoxins, the most prevalent and quantifiable pyrogen in parenteral preparations. Effective depyrogenation depends on the product and the method of removal and/or destruction. Although depyrogenation of heat-stable articles may be best accomplished by dry heat, heat-labile equipment, components, ingredients, or materials such as drug product containers and closures, and some medical devices may be depyrogenated through physical means such as rinsing. This chapter provides an overview of the depyrogenation process, its validation, and routine process control.

注射剤の製造は、製品が無菌であるのみならず、ピロジェン（発熱性物質）の有害なレベルから、またはその薬剤が原因となる発熱 (fever) から切り離されていることが要求される。*Depyrogenation* (脱ピロジェン/脱パイロ) <1228> シリーズの目的に関して、この (訳注: 脱ピロジェンという) 用語は、「注射剤 (parenteral preparations) での、最も一般的であり、かつ定量化が可能である発熱性物質 (pyrogen) である所の、バクテリアル・エンドトキシン (bacterial endotoxins ; 訳注 細菌性内毒素) の破壊および除去」に言及しているものである。効果的な脱パイロは、「製品」と「除去および/または破壊の方法」の両者によって左右される。熱に安定な物品の脱パイロは、乾熱によって達成することが出来るが、熱に不安定な器具、原料 (ingredients) 、あるいは医薬品の容器と栓 (closures) のような物品、および幾つかの医療機器 (medical devices) は、リンス (rinsing) のような物理的方法 (physical means) により脱パイロが可能であろう。このチャプタは、(訳注: そのようなリンスによる方法での) 脱パイロのプロセス、そのバリデーション、及び日常的な工程管理の概観を提供する。

PROCESSES USED Rinsing (リンスを使用したプロセス)

Rinsing is the most common means of reduction or removal of bacterial endotoxins on closures (such as elastomeric stoppers), medical devices, and other materials that are not compatible with the temperatures used in dry heat depyrogenation. The mechanism for this method of depyrogenation is removal of the endotoxin, followed by dilution (1). The process of general

この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

rinsing to remove pyrogens is accomplished by using high-purity water such as *Water for Injection (WFI)* preferably above 60°. Multiple rinses may be necessary with proper controls to ensure that the *WFI* does not become contaminated with Gram-negative bacteria and bacterial endotoxins during processing.

リンスは、乾熱による脱パイロに使用する温度に耐えられない栓（例えばゴム栓）、医療機器、及びその他の物品に関して、バクテリアル・エンドトキシンを低減あるいは除去を行う最も一般的な方法である。この方法の脱パイロのメカニズムは、希釈によるエンドトキシンの除去である(I)。パイロジェンを除去するための一般的なリンスの工程は、出来れば 60°C以上での注射用水 (*Water for Injection ; WFI*) (下記の訳注参照) のような高純度の水 (high-purity water) を使用して行うものである。適正な管理をするためには、*WFI*での複数回のリンスが必要であろう。(訳注:この時に使用する) *WFI*は、そのプロセス中に、グラム陰性菌およびバクテリアル・エンドトキシンでの汚染を受けないことを確実にする必要がある。

訳注: USP の記載で “*Water for Injection*” あるいは “*WFI*” とイタリック体 (斜体) で表記することは、それが USP に記載された *WFI* (注射用水) に適合する水であることを意味している。

The use of high-purity rinse water is often the key to successful reduction of bacterial endotoxin levels on the surfaces of the materials being processed. At a minimum, the rinse water quality should meet the bacterial endotoxin limit of *WFI*, which is <0.25 USP Endotoxin Units (EU)/mL. Using water that risks having bacteria grow in it may result in the deposition of bacterial endotoxins onto the items, or in the case of depyrogenated articles, the re-deposition (re-pyrogenation) of endotoxins from the rinse water itself. The advent of *WFI* for use in the healthcare manufacturing industry has ensured that the most prevalent ingredient in most of our products is no longer a source of endotoxin. Additionally, re-pyrogenation of articles due to subsequent microbial proliferation on the rinsed items should be minimized either by a prompt subsequent sterilization or by drying the items after rinsing.

高純度のリンス水 (high-purity rinse water) の使用は、処理すべき物品の表面のバクテリアル・エンドトキシンのレベルの減少を成功裏するためのキー (鍵) となる事項である。このリンス水の品質は、少なくとも、USP の *WFI* のバクテリアル・エンドトキシンの限度値である “<0.25 USP Endotoxin Units (EU)/mL” (訳注: 0.25 USPEU/mL 未満) に合致すべきである。その水の中で細菌が生育するようなリスクを持つ水を使用することは、その物品にバクテリアル・エンドトキシンを沈着させ、または脱パイ

この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

ロされた物品の場合にあつては、リンス水それ自体からのエンドトキシンの再沈着 (re-deposition ; re-pyrogenation) が生じさせるかも知れない。医薬品製造業界 (healthcare manufacturing industry) で *WFI* の使用がされたことは、我々の多くの製品における最も普及している材料 (ingredient ; 訳注 ここでは医薬品容器やゴム栓) が、もはやエンドトキシン源とならないことを確実なものとしている。それに加えて、リンスした物品での微生物のその後の増殖による物品での re-pyrogenation (訳注: 適当な用語が無いが、“再び発熱性を有する状態となる”の意味である) を、最小化をさせるべきである。これは、リンス後の物品を直ちに滅菌することや、乾燥することに対応する。

It is important to note that starting with *WFI*, while essential, does not ensure that such water remains suitable for use through the duration of the depyrogenation process. When cooled from the elevated circulation temperatures used for its distribution, *WFI* is vulnerable to microbial proliferation. *WFI* held at temperatures below 55° and above 8° should be considered at risk for microbial contamination unless sterilized and held in a sterile vessel. Therefore, holding water for more than 3–4 h within this temperature danger zone is a risky practice. Systems that recirculate *WFI* can be effective but process conditions and water storage times and temperatures should be carefully controlled and validated.

WFI での開始は必須のことではあるが、脱パイロプロセスの初めから終わりまでの間を通して、その様な水が使用に適切な状態を維持していることを保証し得ない点を注目することは重要である (訳注: この訳文 (下線部) は検討の余地あり)。その水の分配を行うためには昇温させるが、その昇温させた循環温度から、(訳注: 使用するために) 冷却をした時点では、*WFI* は微生物の増殖に対して脆弱である。温度が 55°C 以下で、かつ 8°C 以上に保持された *WFI* は、滅菌し、無菌の容器中に保持しない限り、微生物汚染のリスクのあることを考慮すべきであろう。そえゆえ、この危険な温度ゾーンに水を 3～4 時間以上保持することは、リスクが多い仕事のやり方である。*WFI* が循環するシステムは効果的なものであるが、そのプロセス条件と、水の貯蔵温度・時間は、注意深く制御し、かつバリデーションをすべきである。

Solvents other than *WFI*, such as caustic alkali or detergents, have been used for depyrogenation by rinsing. The concern with these solvents is the removal of residuals that may ultimately be harmful to patients or the product, so care must be taken to test for residuals during validation of the method.

この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

WFI 以外の溶剤、例えば苛性アルカリ (caustic alkali) あるいは洗浄剤 (detergents) が、リンスによる脱パイロに使用されている。それらの溶剤を使用することの懸念は、それら溶剤の残留が、患者あるいは製品にとって有害であるという点である。それゆえ、その (訳注: リンスの) 方法のバリデーション中に、それらの溶剤の残留物を試験しなければならない。

For any process that purports to depyrogenate by rinsing, there are a number of critical factors that must be defined and controlled during the validation study and beyond:

リンスによる脱パイロを目的とする如何なるプロセスでは、バリデーション調査とその後も引き続き規定し、かつ、管理しなければならない多数の重要なファクターが存在する:

1. Solvent description, including normality or concentration if caustic alkali or detergents are used; if high-purity water is used, the source should be clearly described

もし苛性アルカリあるいは洗剤を使用するのであれば、通常 (normality) あるいは濃縮 (concentration) の状態を含めての溶剤の記述; もし高純度の水 (high-purity water) を使用するのであれば、その由来 (source) を明確に述べるべきである。

2. Solvent temperature

溶媒の温度

3. Solvent pressure, particularly where rinsing is used to depyrogenate glass or other articles that remain stationary during the process

溶剤の圧力 (訳注: リンス時の噴霧圧力)。特にその洗浄プロセス中に固定された状態となっているガラスあるいは他の物品の脱パイロに、リンスを使用する場合。

4. Solvent flow rate through the system

そのシステムを通る際の溶剤の流速

5. A justification for the recirculation of solvents

溶剤の再循環をする場合は、その正当性を示す理由 (justification)

VALIDATION (バリデーション)

Validation of depyrogenation by physical means is not different, in principle, from the validation of other depyrogenation methods. Endotoxin indicators, which are articles representative of the material to be depyrogenated spiked with a known amount of endotoxin, are prepared in a laboratory (see *Endotoxin Indicators for Depyrogenation*(1228.5)). Quantitation of endotoxin activity prior to and subsequent to the rinsing process will demonstrate the effectiveness of the process. To prepare endotoxin indicators, inoculate each indicator with a known level of activity of Control Standard Endotoxin (CSE), Reference Standard Endotoxin (RSE), or Naturally Occurring Endotoxin (NOE) calibrated against RSE before processing. Generally speaking, a small volume (e.g., <100 µL) of a highly concentrated analyte is inoculated onto a section of the article that is the most difficult for the rinse solvent to reach. For example, stoppers are generally inoculated onto the product contact portion of the stopper. A low volume of inoculum is used to ensure rapid drying. The inoculated indicators may be dried in a unidirectional air flow cabinet or other validated means to hasten drying and limit the possibility of extrinsic microbial contamination that can arise in uncontrolled environmental conditions, particularly with moisture present.

物理的方法による脱パイロのバリデーションは、原理上では、他の脱パイロの方法のバリデーションと異なったものではない。脱パイロする物品の代表的なものに既知量のエンドトキシンをスパイクしたもの (*Endotoxin Indicators for Depyrogenation* (1228.5) を参照；訳注 1 参照) すなわちエンドトキシン・インジケータを、ラボで作成する。リンスによるプロセスの前後でのエンドトキシンの活性の定量 (quantitation) が、そのプロセスの有効性を証明するものとなろう。エンドトキシン・インジケータの調製をするためには、リンスのプロセスをする前に、Control Standard Endotoxin (CSE；(訳注) 管理用エンドトキシン標準品の意味)、Reference Standard Endotoxin (RSE；(訳注) “エンドトキシン基準品” の訳語が使用されている)、あるいは RSE に対して目盛り合わせをした Naturally Occurring Endotoxin (NOE；(訳注 2) 例えば微生物の菌体などが使用される)の既知の活性レベルで、各インジケータ (訳注：脱パイロ指標として使用する物品) を接種する。一般的な表現をすれば、物品のリンス用の溶剤 (rinse solvent) が最も到達因

この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

難な部分に、非常に高濃度のエンドトキシン(訳注:前記の CSE、RSE あるいは NOE)の少量(例えば、<100 μL)を接種する。例えば、栓 (stoppers) であれば、一般的には、栓が製品と接触する箇所に接種する。素早く乾燥することを確実にするために、少量の接種液 (inoculum) を使用する。接種したインジケータは、一方向気流のキャビネットで乾燥するか、他のバリデートされた方法で乾燥を行う方法がある。この「他のバリデートされた方法」とは、乾燥を早め、かつ管理されていない環境条件 (uncontrolled environmental conditions)、特に水分が存在しているような条件に於いて生じるかも知れない、外来の微生物汚染の可能性を制限できるような方法である。

訳注 1 : *Endotoxin Indicators for Depyrogenation* (1228.5) の [ドラフトの対訳文](#)が、下記のアドレスから入手可能である。 :

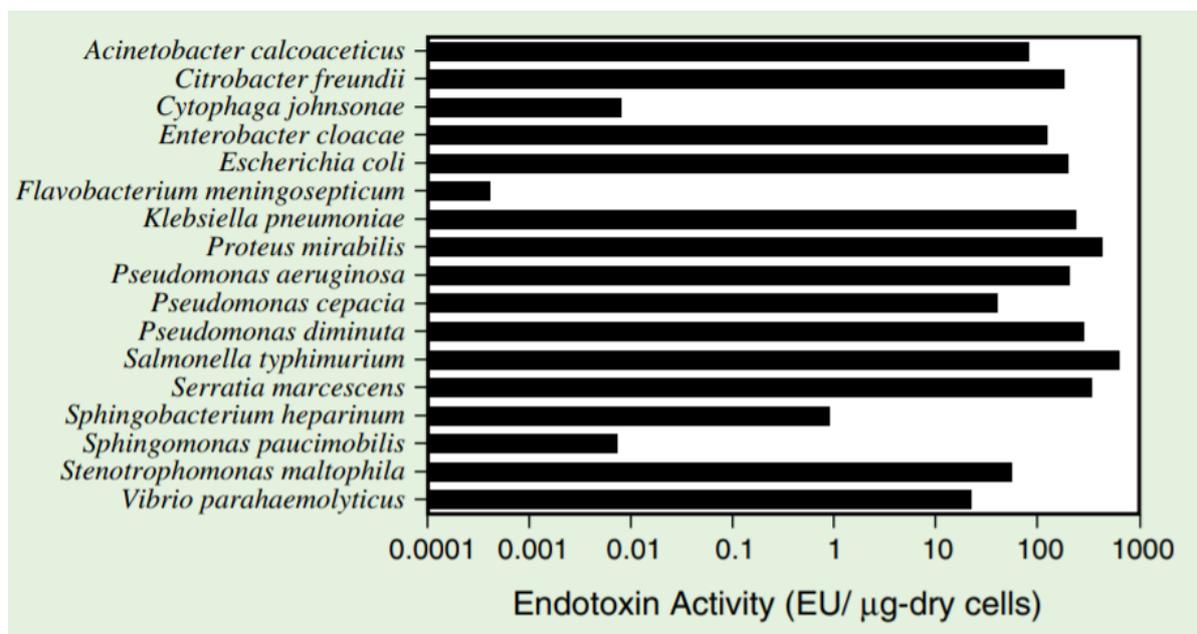
<http://lifescientia.com/wp/wp-content/uploads/2015/10/15->

[017-%E5%AF%BE%E8%A8%B3%E7%89%88-USP%E6%A1%88-%E8%84%B1%E3%83%91%E3%82%A4%E3%83%AD%E6%8C%87%E6%A8%99%E6%A1%88.pdf](http://lifescientia.com/wp/wp-content/uploads/2015/10/15-017-%E5%AF%BE%E8%A8%B3%E7%89%88-USP%E6%A1%88-%E8%84%B1%E3%83%91%E3%82%A4%E3%83%AD%E6%8C%87%E6%A8%99%E6%A1%88.pdf)

訳注 2 : 例えば微生物の菌体などが使用される。なお、エンドトキシン (内毒素) は、正式には Bacterial Endotoxins (細菌性内毒素) という。この名称から類推されるように、エンドトキシンは単一な物質ではなく、その由来する微生物により大きく活性が異なる。エンドトキシン基準品 (RSE) は、大腸菌の菌体より精製したものである。各菌種由来のエンドトキシン活性の比率は、以下の土屋の報告を参照されたい。その報告に掲載されている図を、下記に表示したが、対数目盛であることに注意されたい。 :

土谷 正和, 「第 52 話 エンドトキシンの種類」, 和光純薬時報 Vol.71, No.3 (2003) p.14.

http://www.wako-chem.co.jp/lal/lal_knowledge/talk_lal/tlal-52.pdf 2017 年 9 月 27 日アクセス



この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

Since the prepared endotoxin indicator units may be mixed with many uninoculated units (e.g., stoppers), it is essential to provide a means to identify the indicators. For example, if the stoppers used by the company are gray, an identical stopper that is a different color but has the same elastomeric material, or a stopper of the same composition but a different shape could be used for the indicators. If a stopper of different color or other identifying mark is not available, the inoculated indicator stoppers might be placed in individual small mesh bags. For glass containers, the indicator containers might be amber rather than clear, or they may be marked with indelible or heat resistant ink. For metal articles, a heat-resistant marker might be used to identify the indicators. In any event, the endotoxin indicators must be identical in materials of composition to the other articles in the study, but must be prepared so that they can be easily retrieved for analysis.

調製したエンドトキシン・インジケータの単位物品 (units) を、エンドトキシン未接種の単位物品 (例えば、ゴム栓) と混合した後は、そのインジケータを識別する方法を提示することが、必須の事項である。例えば、その会社で使用するゴム栓が灰色であるならば、色が異なるが同じエラストマー材質 (訳注: ゴム材質) の識別が容易なゴム栓、あるいは同じ組成であるが、異なった形状のゴム栓をインジケータとして使用することもあり得る。もし異なった色や、あるいは他の識別マークのゴム栓を入手できないのであれば、その接種されたインジケータのゴム栓は、個別に小型のメッシュの袋に入れることになる。ガラス容器では、インジケータ容器は、透明 (clear) よりむしろ琥珀色 (amber) とするか、あるいは消えない (indelible) または耐熱性のインク (heat resistant ink) でマークしても良いであろう。金属製品については、インジケータの識別のために耐熱性マーカーをすることも可能である。どの様な場合であっても、エンドトキシン・インジケータは、その調査において他の物品に対して、その材質組成 (materials of composition) は、同一でなければならない。

Once dry, the endotoxin indicators are analyzed for the recoverable level of *Limulus* amoebocyte lysate (LAL) activity. To determine the recoverable activity, follow the process for extracting endotoxin from medical devices (see *Medical Devices—Bacterial Endotoxin and Pyrogen Tests* (161)). Submerge the article or a number of articles in Water for BET (Bacterial Endotoxins Test) prewarmed to 37°. Allow the article(s) to remain in contact with the Water for BET for an hour. Agitation such as intermittent vortexing or sonication may be added to enhance recovery. If methods other than immersion in Water for BET are used, they must be validated to demonstrate

この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

that they do not result in a loss of endotoxin activity and identified in the protocol so that subsequent studies use the same process. Regardless of the method used, a statistically significant number of samples representing the load under study should be evaluated to ensure adequate reproducibility.

乾燥したならば、そのエンドトキシン・インジケータを、*Limulus amoebocyte lysate (LAL)*活性の回収可能なレベル (recoverable level) について分析を行う。回収可能な活性 (recoverable activity) を測定するために、医療機器 (medical devices) からのエンドトキシン抽出の手順に従って行う (*Medical Devices—Bacterial Endotoxin and Pyrogen Tests* (161)を参照のこと)。その物品 (訳注：エンドトキシン・インジケータ) あるいはその物品の規定数を、予め 37°C に暖めた Water for BET (Bacterial Endotoxins Test ; エンドトキシン試験用水) に浸漬する。その物品 (単数もしくは複数) を、Water for BET に 1 時間接触させた状態とする。エンドトキシンの回収を高めるために、機器によるボルテキシング (訳注：ボルテックス・ミキサーにより掻き混ぜること) あるいは超音波のような掻き混ぜ (agitation) を加えても良い。もし Water for BET 以外の方法を行うのであれば、その方法がエンドトキシン活性のロスを生じないことを証明するためバリデーションをしなければならないし、かつ、その後の調査において同一なプロセスを使用出来るようにプロトコールで確認出来なければならない。使用する方法に係り無く、調査対象にあるロード (訳注：リンスを行う工程で処理される物品) を代表するような「統計的に意味のあるサンプルの数」を、その適切な再現性を保証するために、評価すべきである。

Controls (対照)

Two sets of controls are recommended for validation studies.

バリデーション調査には、2セットの対照を置くことが推奨される。

1. Testing of uninoculated indicators—provide data on the resident level of endotoxin on the lot of stoppers to be tested.

エンドトキシン未接種インジケータの試験 — 試験を行う栓 (stoppers) のロット (訳注参照) に基づき、エンドトキシンの残留レベルについてのデータを提示する。

(この訳文は検討が必要である)

訳注：この試験はいわゆる“ブランク”を調べるものである。エンドトキシン未接種のインジケータに、どの程度のエンドトキシン活性があるかを調べることを目的としている。

2. An appropriate number of endotoxin indicators should be retained by the laboratory and used as positive controls. After the depyrogenation process is completed, extract both the processed units and positive control indicators as described above and test using a qualified BET method.

適当な数のエンドトキシン・インジケータを、ラボが確保し、陽性対照 (positive controls) として使用する。脱パイロプロセスが完了後に、プロセスで処理した単位容器および陽性対照のインジケータの両方を、適格性評価済のバクテリアル・エンドトキシン試験方法 (qualified BET method) を使用して、抽出する。

Any activity detected on the retained positive controls is called “recoverable” activity and activity detected on the processed indicators is called “residual” activity (2). Two cautions are offered:

ラボが確保していた陽性対照 (retained positive controls) で検出された如何なる活性も、“回収可能” 活性 (“recoverable” activity) と呼び、脱パイロ処理したインジケータで検出された活性をも“残存” 活性 (“residual” activity) と呼ぶ(2)。2つの注意点を、考慮すべきである：

1. Inoculated units should not be pooled for analysis. The conceptual basis for this study design is to determine the depyrogenation capability of the process, and pooling extracts from a number of units would not allow evaluation of reproducibility and also bias the results.

(エンドトキシンを) 接種した単位容器 (units) は、分析にあたってプールすべきではない (訳注：「個々の単位容器について分析をすべきである」ということ)。この調査の設計における概念的基 (conceptual basis) は、そのプロセスの脱パイロ能力 (depyrogenation capability) を測定することであり、多数の単位容器からの抽出液をプールすることは、再現性の評価が出来なくなることであり、かつ結果のバイアス (偏り) も生じさせることである。

2. Be careful of dilution while extracting samples. The units for an LAL test are EU/mL. If the extraction volume is 1 mL/stopper, then the result of the test is really EU/stopper. But, for example, if the extraction volume

is 5 mL/stopper, then each milliliter of the extract is a 1:5 dilution of any endotoxin activity that has been extracted from the indicator.

サンプルからの抽出にあたっては、希釈度について注意が必要である。LAL 試験の単位 (units) は、EU/mL (1 mL 当たりのエンドトキシン単位) である。もし抽出液量が 1 mL/stopper であるならば、この時、試験の結果は、明らかに EU/stopper となる。しかし、例えば、抽出量が 5 mL/stopper であるならば、その抽出液の各 1 mL は、そのインジケータから抽出されているエンドトキシン活性は、1 : 5 の希釈度となっている。

The log reduction is calculated using the following formula:

以下に述べる式を使用して、対数減少 (log reduction) を計算する：

$$\text{Log}_{10} \text{ reduction} = (\text{log}_{10} \text{ recoverable activity}) - (\text{log}_{10} \text{ residual activity})$$

$$\text{Log}_{10} \text{ 減少} = (\text{log}_{10} \text{ 回収可能活性}) - (\text{log}_{10} \text{ 残存活性})$$

For example, if a laboratory detects 4500 recoverable EU/stopper in the controls and 0.3 residual EU/stopper, the log reduction is calculated as:

例えば、もし対照 (controls) で 4500 回収可能 EU/stopper で、0.3 残存 EU/stopper であれば、その対数減少値は、次のように計算される：

$$\text{Log}_{10} \text{ reduction} = (\text{log}_{10} 4500 \text{ EU}) - (\text{log}_{10} 0.3 \text{ EU})$$

$$\text{Log}_{10} \text{ 減少} = (\text{log}_{10} 4500 \text{ EU}) - (\text{log}_{10} 0.3 \text{ EU})$$

$$\text{Log}_{10} \text{ reduction} = (3.65) - (-0.52) = 4.17$$

$$\text{Log}_{10} \text{ 減少} = (3.65) - (-0.52) = 4.17$$

Historically, laboratories added sufficient inoculum to each endotoxin indicator unit so that at least 1000 EU could be recovered in the retrained

この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

controls. However, there are factors that the analyst and the validation team should be aware of in conducting these studies. Foremost among these factors is an understanding that the lipopolysaccharides extracted via the Westphal procedure, of which CSE and RSE consist, have physicochemical properties that can make achieving a uniform dispersion of a highly concentrated quantity of this material difficult or impossible. Also, CSE tends to adsorb to surfaces and therefore may be difficult to remove from some materials resulting in control recoveries of less than 50%. In some cases, the recovery may be substantially less than 50%. There may also be considerable variability in recovery from test to test or even within a single test run. This is to be expected and history has taught us that this does not impact the usefulness or effectiveness of a depyrogenation study.

歴史的に見ると、ラボは各エンドトキシン・インジケータに、1000EU をラボが確保した対照 (retrained controls: 訳注 1 参照) で回収出来るように、各エンドトキシン・インジケータに、十分量の接種材 (inoculum; 訳注 ここでは「バクテリアル・エンドトキシン」を意味する) を添加していた。しかしながら、分析担当者とバリデーション・チームが、それらの試験を行う上で抱いている所の懸念が存在している。それらの因子の中でも最も大きなものは、CSE (Control Standard Endotoxin) および RSE (Reference Standard Endotoxin) を構成している所の Westphal 法 (訳注 2 参照) によって抽出したリポポリサッカロイド (lipopolysaccharides) の持つ物理化学的性質についての理解である。その物理化学的性質というのは、この物質の高濃度の、均一な量の分散を達成することが困難であるか、不可能であるというものである。また、CSE は、表面に吸着する傾向があり、それゆえ、幾つかの材質からの除去が困難であり、50%未満の対照回収率 (control recoveries) を生じる可能性がある。幾つかの場合では、その回収率は、50%を大きく下回る可能性がある。また、試験間で、あるいは一つの試験の実施の中でさえ、回収率にかなり大きな変動を生じる可能性がある。このことは予想される事項であり、その歴史を見れば、脱パイロ調査の有効性あるいは有効性にインパクトを与えるものではないことを、我々に教えている。

訳注 1 : ここという “retrained controls” とは、10 頁目中程に記載されている “retained positive controls” が相当する。エンドトキシン・インジケータでの測定された活性 (接種した活性ではないことに注意) が “1000EU” となることを念頭に記載したものであろう。これはリンスによる脱パイロ法では “3 log 減少” が当初から言われていたからである。しかし、この “3 log 減少” というデファクトスタンダード (de facto standard) は、脱パイロプロセスとしての要求される能力である。つまり、「リンス + 乾熱による脱パイロ」という組み合わせであれば、その2つの処理を組み合わせたプロセスとしての脱パイロであり、「リンス」と「乾熱による脱パイロ」が個別に求められるものではない。

訳注 2 : “Westphal procedure” はエンドトキシンの精製に最も多く使用される方法であり、水-フェノールによる方法である。この方法では、たん白質部分が除かれる。エンドトキシンの示す本質的な活性はすべてリピッドA部分が担っている。Westphal は 1950 年代に、当時エンドトキシン研究のメッカであったマックス・

この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

プランク免疫生 物学研究所 (フライブルグ、ドイツ) の研究者であって、同じく Lüderitz と共に、エンドトキシンの活性本体はリピドAであると、その推定構造を明らかにした。

<http://www.asahi-net.or.jp/~CP6K-IND/whattendotoxin.html>

<http://www.nihs.go.jp/library/eikenhoukoku/2008/019-033.pdf>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1828799/>

A 3-log reduction of the recoverable endotoxin is a common target for acceptable depyrogenation effectiveness (3). However, this may not be attainable in all test systems or under all test conditions. Where a 3-log reduction is not attainable it is necessary to carefully evaluate endotoxin risk in the process based extensively on inherent endotoxin burden. The depyrogenation program must prove that endotoxin levels below a scientifically established target that references the use of the material are attained in a statistically consistent manner. A good place to start thinking about those levels would be considering the endotoxin limit established for the drug product. Although the endotoxin limit is established based on calculations of active pharmaceutical ingredient (API) dosage contained in the drug product, any contributions by the excipients and container/closure must be considered in any validation study, and the sum of all these contributions must meet this limit.

脱パイロの有効性の許容される一般的目標値は、回収可能エンドトキシン (recoverable endotoxin) の 3-log 減少 (3-log reduction) が、一般的である(3)。しかしながら、これは、全ての試験システムや、全ての試験条件で達成が可能とは限らない。この 3-log 減少が達成されない場合、広範囲に調査した固有なエンドトキシン負荷 (inherent endotoxin burden) に基づいて、そのプロセスのエンドトキシン・リスクを注意深く評価することが必要となる。脱パイロ・プログラムは、(訳注: その脱パイロプロセスを受けた物品が) 科学的に確立された目標値以下のエンドトキシン・レベルであることを立証しなければならない。そしてその目標値は、その物品の使用 (訳注: 脱パイロプロセスを受けた、例えばゴム栓のようなもの) が、統計的に一貫性のある方法 (statistically consistent manner) で達成されるものであることを、言及していなければならない (訳注: この下線部の訳文は要検討)。それらのレベルについて考察するスタートするための最も良い開始点は、製剤で確立されたエンドトキシン限度値を考えることである。エンドトキシン限度値は製剤中に含まれる原薬 (active pharmaceutical ingredient ; API) の計算に基づいて確立されるが、添加剤及び容器/栓による (訳注: エンドトキシン負荷への) 寄与がどの位 (any contributions) かは、バリデーション調査を通して考慮が行われ、それらの寄与の合計が、この限度値に合致しなければならない。

この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

Elastomeric closures are generally received with little or no detectable endotoxin activity. It is possible that a 2-log reduction by rinsing could be sufficient for some packaging components, excipients, or other materials. An important consideration in making this determination is the incoming bioburden presented by any material to the depyrogenation process.

ゴム栓 (elastomeric closures) は、一般的に、エンドトキシン活性は殆ど検出されないか、あるいは極わずかなエンドトキシン活性で、受け入れがされている。幾つかの包装資材 (packaging components)、添加剤 (excipients)、あるいはその他の物品に対して、リンスによる 2-log 減少は、十分なものである可能性がある。この測定 (determination) を通じて行うべき重要な考慮事項は、脱パイロプロセスに対する全ての (any) 物品が示す所の工程に入ってくる処理物品のバイオーバーデン管理 (incoming bioburden) である。

ROUTINE PROCESS CONTROL 日常的プロセス管理

Proactive control of Gram-negative bacterial contamination is not merely critical, it is essential to the production of safe parenteral products free of detectable levels of endotoxin. The use of properly generated, stored, and distributed *WFI* ensures that the most prevalent ingredient in most products is not a significant source of endotoxin.

グラム陰性菌汚染のプロアクティブな (訳注: 先を見越した) 管理が重要であるのみならず、検出し得るレベルのエンドトキシンからフリーの (切り離された) 安全な注射剤の製造をすることが、必須の事項である。適切に生成し、保存し、そして分配された *WFI* (注射用水) の使用は、多くの製品での最も普遍的な成分が、エンドトキシンの重大な汚染源ではないことを保証するものである。

Once a depyrogenation process has been effectively developed and validated, it must be maintained in that state to ensure continued acceptability. Chapter (1228) details the general practices that are appropriate for all depyrogenation systems. This is accomplished by a number of related practices that are essential for the continued use of the process over an extended period of time. The essential practices to maintain validated status include calibration, physical measurements, periodic endotoxin assessment on incoming materials, ongoing process control, change control, preventive maintenance, and periodic reassessment and training.

ひとたび脱パイロプロセスを効率的に開発し、バリデートしたならば、継続的な受容性 (continued acceptability) を保証するために、その状態 (state) を維持しなければならない。(USP の) Chapter (1228)

この資料は USP の General Information<1228>のサブチャプターとして新たに加えられる案文です。

現行の USP の内容ではありません！ 最終的な情報は、USP の最新版をご確認下さい。

は、全ての脱パイロシステムに関して適切である一般的な規範 (general practices) を詳細に述べている。これ (訳注: そのような脱パイロを達成するためのプロセスの状態) は、多数の関連する規範によって達成されるものであり、そのような規範は、プロセスの長期間にわたる連続的使用に必須のものである。バリデーションをされた状態を維持するために必須の規範は、校正 (calibration)、物理的測定 (physical measurements)、工程に流す物品の定期的なエンドトキシン評価 (periodic endotoxin assessment on incoming materials)、同時的プロセス管理 (ongoing process control)、変更管理 (change control)、予防保全 (preventive maintenance)、及び定期的な再アセスメントと訓練 (periodic reassessment and training) が含まれる。

REFERENCES

1. Berman D, Kasica T, Myers T, Chrai S. Cycle development criteria for removal of endotoxin by dilution from glassware. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1987;41(5):158–163.
2. LAL Users' Group. Shirtz J, Seelig E, McCullough K, Waldheim B, Schimmel T, Craig J, et al. Preparation and use of endotoxin indicators for depyrogenation process studies. *J Parenter. Sci. Technol.* 1989;43(3):109–112.
3. Food and Drug Administration. Guidance for industry. Sterile drug products produced by aseptic processing—current good manufacturing practice. September 2004. ■2S (USP41)

Auxiliary Information - Please check for your question in the FAQs before contacting USP.