

**Guidance for Industry**  
**Pyrogen and Endotoxins Testing:**  
**Questions and Answers**  
**발열성물질 시험과 엔도톡신 시험: 질문/답변**

gmpeye

U.S. Department of Health and Human Services  
Food and Drug Administration  
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)  
Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)  
Center for Veterinary Medicine (CVM)  
Center for Devices and Radiological Health (CDRH)  
Office of Regulatory Affairs (ORA)  
June 2012  
Compliance

## Guidance for Industry Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers

### 발열성물질 시험과 엔도톡신 시험: 질문/답변

*Additional copies are available from:*

*Office of Communications, Division of Drug Information, WO51, Room 2201 10903 New Hampshire Ave., Silver Spring, MD 20993 Phone: 301-796-3400; Fax: 301-847-8714 [druginfo@fda.hhs.gov](mailto:druginfo@fda.hhs.gov)*

*<http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>*

*or*

*Office of Communication, Outreach and Development, HFM-40 Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration 1401 Rockville Pike, Rockville, MD 20852-1448 [ocod@fda.hhs.gov](mailto:ocod@fda.hhs.gov)*

*<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>*

*(Tel) 800-835-4709 or 301-827-1800*

*or*

*Office of Communication, Education and Radiation Programs Division of Small Manufacturers, International and Consumer Assistance Center for Devices and Radiological Health; Food and Drug Administration 10903 New Hampshire Ave., WO66-4613, Silver Spring, MD 20993*

*<http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/default.htm>*

*Email: [dsmica@cdrh.fda.gov](mailto:dsmica@cdrh.fda.gov); Fax: 301.827.8149 (Tel) Manufacturers Assistance: 800.638.2041 or 301.796.7100, International Staff Phone: 301.796.5708*

*or*

*Communications Staff, HFV-12 Center for Veterinary Medicine; Food and Drug Administration 7519 Standish Place, Rockville, MD 20855 (Tel) 240-276-9300*

*<http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/default.htm>*

**U.S. Department of Health and Human Services  
Food and Drug Administration  
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)  
Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)  
Center for Veterinary Medicine (CVM)  
Center for Devices and Radiological Health (CDRH)  
Office of Regulatory Affairs (ORA)**

**June 2012**

**Compliance**

**[목차]**

**I. 서론(INTRODUCTION)**

**II. 배경(BACKGROUND)**

**III. Q&A(QUESTIONS AND ANSWERS)**

1. How do I establish a sampling plan for in-process testing and finished product release?
2. When is retesting appropriate?
3. Is sample storage and handling important?
4. Can finished product samples for analysis of bacterial endotoxins be pooled into a composite sample prior to analysis?
5. May a firm use alternative assays to those in the USP for a compendial article?
6. What is the best process for transitioning from one alternate bacterial endotoxins test (BET) method to another?
7. What happened to the endotoxins limit table in Appendix E of the 1987 Guidance?
8. How can Quality by Design concepts support endotoxins limits?
9. When is the USP Chapter <151> Pyrogenicity Test (the rabbit pyrogen test) appropriate?
10. How would an appropriate endotoxins limit be determined for a veterinary product that targets multiple species?
11. What are the endotoxins limits for medical devices?
12. What is the FDA's expectation for regular screening of therapeutic drug products?
13. Are control standard endotoxins still acceptable for use in running bacterial endotoxins tests?

Guidance for Industry<sup>1</sup>  
Pyrogen and Endotoxins Testing – Questions and Answers

This guidance represents the Food and Drug Administration's (FDA's) current thinking on this topic. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. You can use an alternative approach if the approach satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations. If you want to discuss an alternative approach, contact the FDA staff responsible for implementing this guidance. If you cannot identify the appropriate FDA staff, call the appropriate number listed on the title page of this guidance.

이 가이드 문서는 이 주제에 대한 FDA의 방침에 해당된다. 이 문서는 어느 누구에게 일체의 권리를 부여하거나 인정하지 않으며 FDA 또는 일반 대중을 구속하지도 않는다. 관련 법규의 기준을 만족시킬 수 있는 다른 방법이 있다면, 그 방법을 활용할 수도 있다. 다른 방법을 협의하고자 한다면, 이 가이드 문서의 시행을 책임지는 FDA 담당자에게 연락한다. 관련 FDA 담당자가 누구인지 모른다면, 이 문서의 표지에 기재된 번호로 전화한다.

I. 서론(INTRODUCTION)

This guidance provides recommendations for biological product, drug, and device firms on FDA's current thinking concerning the testing recommendations and acceptance criteria in the *United States Pharmacopeia* (USP) Chapter <85> Bacterial Endotoxins Test<sup>2</sup>, USP Chapter <161> Transfusion and Infusion Assemblies and Similar Medical Devices<sup>3</sup>, and the

<sup>1</sup> This guidance has been prepared by the Division of Manufacturing and Product Quality, Office of Compliance, in the Center for Drug Evaluation and Research (CDER) in cooperation with the Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), the Center for Veterinary Medicine (CVM), the Center for Devices and Radiological Health (CDRH), and the Office of Regulatory Affairs (ORA) at the Food and Drug Administration.

이 가이드 문서는 FDA CBER, CVM, CDRH, ORA와 협력하여 CDER OC의 DMPQ가 작성했다.

<sup>2</sup> *United States Pharmacopeia* (USP), 2011, Chapter <85>, Bacterial Endotoxins Test.

<sup>3</sup> USP, 2011, Chapter <161>, Transfusion and Infusion Assemblies and Similar Medical

Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI) ST72:2002/R2010, Bacterial Endotoxins—Test Methodologies, Routine Monitoring, and Alternatives to Batch Testing (AAMI ST72)<sup>4,5</sup>. These three documents describe the fundamental principles of the gel clot, photometric, and kinetic test methods, and recommend that appropriate components and finished products be tested for the presence of pyrogens and endotoxins.

이 가이드 문서는 USP <85> "세균 엔도톡신 시험", USP <161> "수액/주사 장치 및 유사한 의료기기", AAMI ST72:2002/R2010 "세균 엔도톡신 - 시험 방법, 일상 모니터링, 배치 시험 대체 방법"(AAMI ST72)에 기술된 시험 방법 및 허용 기준과 관련해 FDA의 현 방침과 권고 사항을 생물학적 제품, 의약품, 의료기기 업체에게 제공하기 위한 것이다. 이 3개 문서는 겔화법, 광학적 측정법, 속도론적 시험 방법의 기본 원리를 설명하며, 적절한 원자재와 최종 제품의 발열성물질 시험과 엔도톡신 시험 실시를 권고한다.

This guidance does not cover the entire subject of pyrogen and endotoxins testing. Instead, it addresses those issues that may be subject to misinterpretation and are not covered in compendial procedures or in currently available guidance documents. You should already have a thorough understanding of these documents when using this guidance.

발열성물질 시험과 엔도톡신 시험에 관한 모든 것을 이 문서에서 다루지 않는다. 다만 오해하기 쉬운 주제와 공정서나 현행 가이드 문서에서 다루지 않은 주제를 다룬다. 이 가이드 문서를 활용하려면, 공정서나 각종 가이드 문서를 충분히 이해해야 할 것이다.

FDA's guidance documents, including this guidance, do not establish legally enforceable responsibilities. Instead, guidances describe the Agency's current thinking on a topic and should be viewed only as recommendations, unless specific regulatory or statutory requirements are cited. The use of the word *should* in Agency guidances means that something is suggested or recommended, but not required.

이 가이드 문서를 포함한 FDA 가이드 문서는 법적 강제성이 없다. 다만 가이드 문서는

Devices.

<sup>4</sup> Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI), 2002/R2010, Bacterial Endotoxins — Test Methodologies, Routine Monitoring, and Alternative to Batch Testing.

<sup>5</sup> Veterinary drug requirements parallel the human drug requirements in safety evaluation for pyrogenicity (21 CFR 514.1(b)(5)(v), and 514.1(b)(5)(vii)(b)).

발열성에 대한 안전성 평가에 있어서 동물 의약품 기준은 사람 의약품 기준과 유사하다(21 CFR 514.1(b)(5)(V), 514.1(b)(5)(viii)(b)).

특정 주제에 대한 FDA의 생각을 기술하며, 구체적인 법적 기준이 제시되어 있지 않으면 일종의 권고 사항으로 간주한다. FDA 가이드 문서에서 "should"라는 표현은 어떤 것을 제안 또는 권고한다는 의미이지 반드시 그래야 한다는 의미는 아니다.

## II. 배경(BACKGROUND)

For more than 30 years, FDA has accepted the use of a Limulus Amebocyte Lysate (LAL) test for endotoxins in lieu of the rabbit pyrogens test. In a November 4, 1977, *Federal Register* notice (42 FR 57749), FDA described conditions for using LAL as a finished product test<sup>6</sup>. By 1983, FDA indicated in guidance that an LAL test could be used as a finished product test for endotoxins. These tests were described in a series of draft and final guidance documents. The last guidance document, *Guideline on Validation of the Limulus Amebocyte Lysate Test as an End-Product Endotoxin Test for Human and Animal Parenteral Drugs, Biological Products, and Medical Devices*, was published in 1987 (the 1987 Guidance). 토끼를 이용한 발열성물질 시험을 대신하여 LAL 엔도톡신 시험을 하는 것을 FDA가 인정한지 30년이 넘었다. 1977년 11월 4일자 연방관보(42 FR 57749)를 통해 FDA는 최종 제품 시험에 LAL 방법을 사용하는 것에 대한 조건을 제시했다. 1983년에는 최종 제품의 엔도톡신 시험에 LAL 시험 방법을 사용할 수 있다는 가이드 문서를 발표했다. 그리고 이 시험법에 관한 일련의 가이드 문서(초안과 최종 문서)가 발표되었다. 마지막으로 발표된 가이드 문서가 1987년에 발행된 "사람/동물 비경구 의약품, 생물학적 제품, 의료기기의 최종 제품 엔도톡신 시험 방법인 LAL 시험법의 밸리데이션 가이드라인"이다(1987년 가이드 문서).

FDA has found that the published USP and AAMI documents describing methods and calculation of pyrogen and endotoxins testing limits<sup>7</sup> provide industry with appropriate information. We also note the continued development of USP Chapters <85> and <161> and FDA guidance documents. The Agency has withdrawn the 1987 Guidance because it no longer reflects the Agency's current thinking on the topic. However, because the compendial

<sup>6</sup> "Licensing of Limulus Amebocyte Lysate, Use as an Alternative for Rabbit Pyrogen Test" (42 FR 57749, November 4, 1977).

<sup>7</sup> USP, 2011, Chapter <85>, Bacterial Endotoxins Test; USP, 2011, Chapter <161>, Transfusion and Infusion Assemblies and Similar Medical Devices, Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI), 2002/R2010, Bacterial Endotoxins—Test Methodologies, Routine Monitoring, and Alternatives to Batch Testing.

chapters and standards do not address certain regulatory perspectives, FDA is providing supplemental information in this guidance to explain our current thinking regarding the submission and maintenance of pyrogen and endotoxins testing for FDA-regulated products. 발열성물질/엔도톡신 시험 방법과 시험 기준 계산에 관한 USP와 AAMI 문서가 업계에 적절한 정보를 제공하고 있음을 알게 되었다. 또한 USP <85>와 <161>, 그리고 FDA 가이드 문서의 변화를 확인했다. 이에 1987년 가이드 문서가 더 이상 FDA의 현 방침을 반영하지 못하므로 이 문서를 철회하기로 결정했다. 하지만 공정서와 표준 문서는 특정 규제 관점을 다루지 않으므로, FDA 규제 대상 제품의 발열성물질 시험과 엔도톡신 시험 관련 자료의 제출 및 유지와 관련해 FDA의 현 방침을 설명하는 이 가이드 문서를 발행하게 되었다.

### **III. Q&A(QUESTIONS AND ANSWERS)**

#### **1. How do I establish a sampling plan for in-process testing and finished product release?**

**공정 시험과 최종 제품 승인 시험을 위한 검체 채취 계획을 어떻게 수립해야 하는가?**

The current good manufacturing practice (CGMP) regulations for finished pharmaceuticals and the medical device quality system regulations require development of controls that include scientifically sound and appropriate sampling plans<sup>8,9</sup>.

완제의약품 CGMP 규정과 의료기기 QSR에 의하면, 과학적으로 타당하고 적절한 검체 채취 계획을 포함하여 관리 절차를 개발해야 한다.

Sampling plan information is addressed in AAMI ST72, but not USP Chapter <85>. Firms should include a sampling plan as part of their application documentation. In the sampling plan, firms should consider the potential for contamination in raw materials, in-process materials, and the finished product. Specifically, firms should take into account aspects of the manufacturing design, including consistency of a manufacturing process, impact of in-process hold times, endotoxins removal steps, and finished product endotoxins specifications. The sampling plan should be considered dynamic; firms should begin with maximum coverage and adjust their sampling plans as they gain confidence in the prevention of endotoxins in their manufacturing processes. Firms should update their regulatory filings when adjusting sampling plans. For drugs and

<sup>8</sup> See 21 CFR 211.160.

<sup>9</sup> See 21 CFR 820.70, and 21 CFR 820.250.

biological products, in-process changes to sampling plans are annual reportable changes<sup>10</sup>. For devices, a 30-day notice<sup>11</sup> may be appropriate for in-process changes to the sampling plan<sup>12</sup>.

검체 채취 계획에 관한 정보가 AAMI ST72에 제시되어 있으나, USP <85>에는 없다. 업체는 신청 문서에 검체 채취 계획을 기술해야 한다. 원료, 공정 물품, 최종 제품의 오염 가능성을 고려하여 검체 채취 계획을 만든다. 제조 공정의 일관성, 공정 도중 유지 시간의 영향, 엔도톡신 제거 단계, 최종 제품 엔도톡신 규격을 포함하여 제조 공정 디자인의 여러 부분을 고려하여 정한다. 검체 채취 계획을 동적인 것으로 생각해야 한다. 처음에는 최대한 많은 부분을 대상으로 시작하고, 이후 엔도톡신 방지에 있어서 제조 공정에 대한 신뢰가 축적되면 검체 채취 계획을 조정한다. 검체 채취 계획을 조정할 때는 규제 기관에 제출한 문서도 업데이트한다. 의약품과 생물학적 제품인 경우에 공정 검체 채취 계획의 변경은 연차 보고 대상 변경에 해당된다. 의료기기의 공정 검체 채취 계획 변경은 30일 기한 신고 절차가 적절하다.

## 2. When is retesting appropriate?

재시험이 적절한 경우는 언제인가?

When conflicting results occur within a test run, firms should consult USP Chapter <85>, Gel Clot Limits Test, Interpretation, for guidance on repeat testing. As specified in Chapter <85>, if the test failure occurred at less than the maximum valid dilution (MVD), the test should be repeated using a greater dilution not exceeding the MVD. A record of this failure should be included in the laboratory results. If a test is performed at the MVD and an out-of-specification (OOS) test result occurs that cannot be

<sup>10</sup> See 21 CFR 314.81(b)(2)(iv).

<sup>11</sup> 21 CFR 814.39(f).

<sup>12</sup> For guidance regarding when and how to submit a 30-day notice, please refer to the FDA Guidance for Industry and FDA Staff; 30-Day Notices, 135-Day Premarket Approval (PMA) Supplements, and 75-Day Humanitarian Device Exemption (HDE) Supplements for Manufacturing Method or Process Changes (issued April 13, 2011). <http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM080194.pdf>.

30일 기한 신고서의 제출 방법과 시점에 관한 가이드라인은 "업계 및 FDA 실무자 가이드 문서: 제조 방법 또는 공정 변경의 30일 기한 신고서, 135일 기한 PMA 변경 신청, 75일 기한 HDE 변경 신청"(2011년 4월 13일)을 참조한다.



attributed to testing error, the lot should be rejected<sup>13</sup>. All testing procedures, including those for retesting within the above limits, should be specified in advance in written standard operating procedures approved by the firm's quality control unit.

시험 시에 상충되는 결과가 발생하면, USP <85>의 "겔화 한도 시험, 해석"을 참조하여 반복 시험을 실시한다. <85>에 규정된 바와 같이, 최대 유효 희석(MVD) 배수 미만에서 이상 시험 결과가 나오면, MVD를 넘지 않는 더 큰 희석 배수에서 시험을 다시 한다. 이 이상 시험 결과를 시험 기록에 포함시킨다. MVD에서 시험을 실시했고 시험 오류로 볼 수 없는 OOS 시험 결과가 나오면, 해당 로트를 부적합으로 처리한다. 상기 기준 이내의 재시험을 포함하여 모든 시험 절차를 규정한 SOP를 작성하고 품질 관리 조직이 승인한다.

### 3. Is sample storage and handling important?

검체 보관과 취급이 중요한가?

Yes. The ability to detect endotoxins can be affected by storage and handling. Firms should establish procedures for storing and handling (which includes product mixing) samples for bacterial endotoxins analysis using laboratory data that demonstrate the stability of assayable endotoxins content. Protocols should consider the source of endotoxins used in the study, bearing in mind that purified bacterial endotoxins might react differently from native sources of endotoxins.

<sup>13</sup> For guidance regarding how to examine results that are above acceptable limits, please refer to the FDA guidance for industry on *Investigating Out-of-Specification (OOS) Test Results for Pharmaceutical Production*. Although this guidance is not intended to address biological assays, many of the concepts in the guidance are applicable to bacterial endotoxins testing. We update guidance documents periodically. To make sure you have the most recent version of a guidance, check the FDA Drugs guidance Web page at <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.

허용 기준 이상의 결과를 조사하는 방법은, FDA 가이드 문서 "OOS 시험 결과의 조사"를 참조한다. 이 문서가 생물학적 분석을 대상으로 하지 않지만, 이 문서에 기술된 많은 개념을 세균 엔도톡신 시험에도 적용할 수 있다. FDA는 가이드 문서를 주기적으로 업데이트한다. FDA의 의약품 가이드 문서 웹페이지에서 최신 버전의 가이드 문서를 확인한다.

그렇다. 검체 보관과 취급이 엔도톡신 검출 능력에 영향을 미칠 수 있다. 분석 가능한 엔도톡신 함량의 안정성을 증명하는 시험 데이터를 바탕으로, 세균 엔도톡신 시험 검체의 보관과 취급(제품 혼합 포함) 절차를 확립해야 한다. 정제 세균 엔도톡신과 원래 상태의 엔도톡신이 다르게 반응할 수 있음을 고려해, 시험에 사용하는 엔도톡신의 출처를 반영하여 절차를 확립한다.

**4. Can finished product samples for analysis of bacterial endotoxins be pooled into a composite sample prior to analysis?**

세균 엔도톡신 시험에 사용할 최종 제품 검체를 섞어서 혼합 검체를 만든 다음에 시험해도 되는가?

Yes. With some exceptions (see below), finished drug product units may be pooled into a composite sample and assayed for bacterial endotoxins. The composite sample may be represented by the entire unit or partial aliquots (equal volumes) of finished product containers from one manufactured lot of aqueous-based pharmaceuticals. Pooling would generally be accepted for small-volume parenterals (those with volumes of 100 mL or less) as long as the MVD is adjusted to a proportional, lower value because of the potential for diluting a unit containing harmful levels of endotoxins with other units containing lower, less harmful, levels of endotoxins. This "adjusted MVD" is obtained by dividing the MVD computed for an individual sample by the total number of samples to be pooled. FDA suggests pooling no more than three units per composite in keeping with the concept of testing representative beginning, middle, and end finished product containers. If this reduction in MVD results in an inability to overcome product-related assay interference because of an insufficient dilution, then the samples should be tested individually.

그렇다. 일부 예외가 있지만(아래 참조), 최종 의약품 여러 개를 섞어서 혼합 검체를 만들어 세균 엔도톡신 시험을 할 수 있다. 수성 의약품 1개 로트의 여러 최종 제품 용기에 담긴 제품 전체 또는 분액(동량)을 섞어 혼합 검체를 만들 수 있다. SVP(100 mL 이하)인 경우에 혼합 방식이 일반적으로 인정되지만, 유해 수준의 엔도톡신을 함유한 검체와 유해하지 않은 적은 수준의 엔도톡신을 함유한 다른 검체가 섞이면서 희석될 가능성 때문에 MVD를 비례적으로 더 낮은 값으로 조정한다. 개별 검체에 대해 계산된 MVD를 혼합하고자 하는 전체 검체 수로 나누어 "조정 MVD"를 구한다. 대표적인 초기, 중기, 말기 최종 제품 용기를 시험한다는 개념에 맞춰, 3개 이하를 섞어서 혼합 검체를 만들 것을 권장한다. MVD 감소에 따라 희석이 충분하지 않아 제품 관련 분석 간섭을

극복하지 못하는 상황이 발생하면, 검체를 개별적으로 시험해야 한다.

Finished medical devices may also be pooled into a composite sample and assayed for bacterial endotoxins. Testing for medical devices should be conducted using rinsing/eluting and sampling techniques as described in ISO 10993-1<sup>14</sup> and ISO 10993-12<sup>15</sup>, as also used for inhibition/enhancement. Sampling can be adjusted for special situations. After a suitable eluate/extract pool is obtained from a finished production lot, this pooled extract should be kept under conditions appropriate for stability until it is tested in duplicate.

또한 최종 의료기기도 섞어서 혼합 검체를 만들고 세균 엔도톡신 시험을 할 수 있다. 의료기기 시험은 저해/증진에도 사용하는, ISO 10993-1과 ISO 10993-12에 기술된 린스/용출 기법과 검체 채취 기법으로 실시한다. 특별한 경우에 검체 채취 방법을 조정할 수 있다. 최종 생산 로트에서 적합한 용출/추출 혼합물을 확보한 다음에, 중복 시험을 할 때까지 이 혼합 추출물을 적절한 안정성 조건에서 보관한다.

FDA recommends that pooled samples be a composite of aseptically removed aliquots (after at least 30 seconds of vigorous mixing) from each of the product containers<sup>16</sup>. In this way, the original, individual containers will be available for possible retesting in the event the pooled sample displays an OOS result.

제품 용기 각각에서 무균적으로 분액을 확보해 혼합 검체를 만든다(최소 30초간 격렬하게 혼합). 이러한 식으로 해야 혼합 검체가 OOS 결과를 나타내는 경우에 개별 용기를 상대로 재시험을 할 수 있다.

Some product types should not be pooled. Two examples are drug products that have an initial low MVD (see discussion above of "adjusted MVD") and products that are manufactured as a suspension, because sample aliquot homogeneity may present significant interference issues. FDA also does not recommend pooling in-process samples from different in-process stages of the manufacturing process because it may be difficult to ensure the homogeneity of these materials.

<sup>14</sup> ISO 10993-1:2009 Biological evaluation of medical devices Part 1: Evaluation and testing in the risk management process.

<sup>15</sup> ISO 10993-12:2007 Biological evaluation of medical devices Part 12: Sample preparation and reference materials.

<sup>16</sup> See 21 CFR 211.84(c)(3).

혼합을 할 수 없는 제품도 있다. 예를 들어 MVD가 낮은 의약품(상기 "조정 MVD" 참조)과 현탁액으로 제조된 의약품이 그렇다. 검체 분액의 균질성이 큰 간섭 문제가 될 수 있기 때문이다. 또한 서로 다른 제조 공정 단계에서 채취한 공정 검체의 혼합을 권장하지 않는다. 균질성을 보장하기 어렵기 때문이다.

**5. May a firm use alternative assays to those in the USP for a compendial article?**  
**공정서 수재 제품을 USP에 기술된 방법이 아닌 다른 방법으로 시험할 수 있는가?**

Yes, firms may use alternative methods and/or procedures if they provide advantages in terms of accuracy, sensitivity, precision, selectivity, or adaptability to automation or computerized data reduction, and in other special circumstances. Such alternative procedures and methods should be validated as described in the USP General Chapter <1225>, Validation of Compendial Procedures<sup>17,18</sup>, and should be shown to achieve equivalent or better results<sup>19</sup>. When a difference appears or in the event of a dispute, the final decision is made based upon the USP compendial gel clot method unless otherwise indicated in the monograph for the product being tested<sup>20</sup>.

물론 가능하다. 정확성, 민감성, 정밀성, 선택성 또는 자동화나 컴퓨터화 데이터 정리 가능성 등의 측면에서 다른 방법이나 절차가 더 좋거나 기타 특별한 상황에서는 다른 방법이나 절차를 사용할 수 있다. 다른 절차와 방법을 USP <1225> "공정서 절차의 밸리데이션"에 기술된 바에 따라 밸리데이션하며, 동등 이상의 결과가 생산됨을 증명할 수 있어야 한다. 차이가 나거나 논란이 발생하는 경우, 시험 대상 제품의 모노그래프에 별도로 지정되어 있지 않으면, USP 공정서에 수재된 겔화법으로 최종 결정을 내린다.

Below are two examples of alternative assays.

다른 방법의 두 가지 예는 아래와 같다.

- (1) Recombinant Horseshoe Crab Factor C Assay  
재조합 투구게 C 인자 분석

If a manufacturer chooses to use a recombinant factor C-based assay, then

<sup>17</sup> USP, General Notices 6.30. Alternative and Harmonized Methods and Procedures.

<sup>18</sup> USP, 2011, Chapter <1225>, Validation of Compendial Procedures.

<sup>19</sup> USP, General Notices 6.30. Alternative and Harmonized Methods and Procedures.

<sup>20</sup> USP, 2011, Chapter <85>, Bacterial Endotoxins Test.

method validation should be in accordance with the requirements of USP Chapter <85>, Bacterial Endotoxins Test, as described in the section for Photometric Quantitative Techniques, and USP Chapter <1225>, Validation of Compendial Procedures<sup>21</sup>.

재조합 C 인자 기반 분석 방법을 사용하기로 한다면, USP <85> "세균 엔도톡신 시험"의 광학적 정량 기법과 USP <1225> "공정서 절차의 밸리데이션"에 의거하여 시험 방법 밸리데이션을 실시한다.

(2) Monocyte Activation Type Pyrogen Test  
단핵구 활성화 방식 발열성물질 시험

Product-specific validation is necessary to establish whether a particular test substance or material is appropriate for evaluation of the monocyte activation method. The validation should include, but is not limited to, interference testing, accurate detection of pyrogen in individual test samples, and, for devices, ability of test system to provide direct contact to the monocytes.

특정 시험 성분이나 물질이 단핵구 활성화 방법 평가에 적절함을 확립하기 위해서는 제품 특이적 밸리데이션이 필수적이다. 간접 시험, 시험 검체에 존재하는 발열성 물질의 정확한 검출 능력, 그리고 의료기기인 경우에는 시험 시스템이 단핵구와 직접 접촉할 수 있는 능력을 포함하되 이에 국한하지 않고 밸리데이션을 실시한다.

**6. What is the best process for transitioning from one alternate bacterial endotoxins test (BET) method to another?**

대체 세균 엔도톡신 시험 방법을 다른 방법으로 전환할 때 어떻게 진행하는 것이 좋은가?

The transition between tests that measure the same entity (e.g., LAL cascade) can be made by comparing the two tests to verify the equivalence of the new method<sup>22</sup>. The comparison of the limit of detection and inhibition/enhancement is fundamental. The sensitivity of the new method can be evaluated on spiked product samples<sup>23</sup>. In

<sup>21</sup> USP, 2011, Chapter <1225>, Validation of Compendial Procedures.

<sup>22</sup> USP, 2011, Chapter <1225>, Validation of Compendial Procedures.

<sup>23</sup> International Conference on Harmonisation (ICH) *Q2(R1) Validation of Analytical*

addition to using spiked samples, a battery of field samples of product found to be positive may be a good source for comparing results from the methods. The method validation should also attempt to address the variability found in the normal use of the method and the manufacturing environment (e.g., source materials or seasonal changes)<sup>24</sup>.

동일한 물질을 측정하는 다른 시험 방법으로 전환할 때는(예, LAL 캐스케이드), 2개 시험법을 비교하여 새로운 방법의 동등성을 확인할 필요가 있다. 검출 한계와 저해/증진 특성을 비교하는 것이 필수적이다. 스파이킹한 제품 검체를 이용해 새로운 방법의 민감성을 평가한다. 스파이킹 검체 이외에도 양성으로 밝혀진 실제 검체 다수를 이용하여 서로 다른 시험 방법으로 구한 결과를 비교할 수 있다. 또한 시험법 밸리데이션을 할 때는 제조 환경과 통상적인 시험 상황에서 나타나는 편차(예, 기원 물질이나 계절적 변화)를 평가할 필요가 있다.

For drug, animal drug, and biological products, the transition to a new method should be submitted in a prior approval supplement (PAS). Alternatively, once a firm has established a general method for making the transition between tests, it may submit the method for review in a PAS—comparability protocol (CP). The CP should describe, in detail, the methods used to transition between assays and the acceptance criteria used to establish the equivalence of the new method. After approval of the CP, results of implementation of the CP may be directed to be reported in a reduced reporting category (Supplement—Changes Being Effected or Annual Report or Special Report (21 CFR 314.80)). The firm should maintain the study protocol, final report, and all data at the facility for FDA review. The firm should confirm the filing process with the appropriate review division before submitting a CP. For Class III devices, the transition to a new assay requires a 30-day notice filed under 21 CFR 814.39(e). See FDA's guidance, *Modifications to Devices Subject to Premarket Approval (PMA) - The PMA Supplement Decision-Making Process*, <http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM089360.pdf>. Manufacturing changes for Class I and II devices should

*Procedures: Text and Methodology* (1994); USP, 2008, Chapter <1225>, Validation of Compendial Procedures.

<sup>24</sup> Thompson, M. et al., 2002, "Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis: IUPAC Technical Report," *Pure Appl. Chem.*, Vol. 74, No. 5, pp. 835-855.

be in accordance with the quality system regulation, 21 CFR part 820. Design control, production and process control requirements can be found at 21 CFR 820.30, 21 CFR 820.70, 21 CFR 820.72, and 21 CFR 820.75.

의약품, 동물 의약품, 생물학적 제품인 경우에 새로운 방법으로 전환할 때는 PAS를 제출해야 한다. 시험 방법 전환을 위한 일반적인 방법을 확립한 경우에는, 그 방법을 PAS로 제출하여 검토를 받을 수 있다(동등성 프로토콜(CP)). 분석 방법 전환 방법과 새로운 방법의 동등성 확립을 위한 허용 기준을 CP에 자세히 기술한다. CP 승인 이후에 완화 보고 카테고리의 절차에 따라 CP 추진 결과를 보고할 수 있다(변경 신청 – CBE 또는 연차 보고서 또는 특별 보고서(21 CFR 314.80)). 시험 계획서, 최종 보고서, 관련 데이터 일체를 해당 시설에서 보관하여 FDA가 검토할 수 있도록 한다. CP를 제출하기 전에 관련 심사 부서에 문의하여 신청 절차를 확인한다. 클래스 III 의료기기인 경우에 새로운 분석 방법으로 전환하기 위해서는 21 CFR 814.39(e)에 따라 30일 기한 신고서를 제출해야 한다. FDA 가이드 문서 "PMA 대상 의료기기의 변경 – PMA 변경 의사 결정 절차"를 참조한다(<http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM089360.pdf>). 클래스 I과 클래스 II 의료기기의 제조 변경은 품질 시스템 규정(21 CFR 파트 820)에 따라 추진한다. 21 CFR 820.30, 21 CFR 820.70, 21 CFR 820.72, 21 CFR 820.75에 디자인 관리, 생산 및 공정 관리 기준이 있다.

For devices, a 30-day notice may be appropriate for changes to quality control testing used on incoming components, raw materials, the in-process device, or the finished device, including performing end-product pyrogen testing on nonsterile samples prior to sterilization<sup>25</sup>. Manufactures of medical devices should demonstrate a sensitivity that is consistent with the route of administration for the device and the type of body contact. Manufacturers may use another endotoxin test after demonstrating a reproducible correlation between methods and the USP reference standard.

의료기기인 경우에 입고 컴포넌트, 원료, 반제품, 최종 제품의 품질 관리 시험 방법 변경(멸균 이전 단계의 비무균 검체를 상대로 실시하는 최종 제품 발열성 물질 시험 포함)인 경우에 30일 기한 신고서 절차가 적절할 수 있다. 해당 의료기기의 투여 경로와 신체 접촉 방식에 맞는 민감성을 의료기기 제조업체가 증명해야 한다. USP 참조 표준과 시험 방법 사이의 상관관계를 재현성있게 증명한 다음에 다른 엔도톡신 시험법을 사용할 수 있다.

<sup>25</sup> 21 CFR 814.39(f).



**7. What happened to the endotoxins limit table in Appendix E of the 1987 Guidance?**  
**1987년 가이드 문서의 부록 E에 있던 엔도톡신 기준표는 어떻게 되었나?**

The endotoxins limit table is out of date due to the increase in numbers of dosage (regimes) and drug strengths since the publication of the 1987 Guidance. The appropriate way to establish the endotoxins limit is to use the calculation methods provided in the USP or AAMI standards. Monograph limits may also not account for current product strengths or dosage regimes; these should also be checked using the calculations recommended in the standards.

1987년 가이드 문서의 발행 이후로 용량(용법)과 의약품 함량이 증가했기 때문에 엔도톡신 기준표가 현실에 맞지 않게 되었다. 엔도톡신 기준을 설정하는 적절한 방법은, USP나 AAMI 표준에 제시된 계산 방법을 활용하는 것이다. 또한 모노그래프의 한도 기준은 현재 제품 함량이나 용법/용량을 반영하지 못할 수 있다. 표준 문서에 제시된 계산법을 활용해 이 부분을 점검해야 한다.

If there are several components in a finished product, then the overall endotoxins limit for parenterally-administered products should not exceed the overall threshold limit specified in the USP <85> Bacterial Endotoxins Test, regardless of an individual component endotoxins limit. Intrathecally-administered products, ophthalmics, or devices (see question 11 for devices) may have endotoxins limit requirements that are not based on the calculation for parenterally administered products. FDA encourages firms to check with the appropriate office or review division about these products.

최종 제품이 여러 원료로 구성된 경우, 각 원료의 엔도톡신 기준과 무관하게, 비경구 경로로 투여되는 제품의 전체 엔도톡신 한도 기준은 USP <85> "세균 엔도톡신 시험"에 규정된 전체 한계 기준을 넘지 않아야 한다. 척수강내 투여 제품, 안과 제품, 또는 의료기기(의료기기는 11번 질문 참조)의 엔도톡신 기준은 비경구 투여 제품의 계산법을 바탕으로 하지 않고 정할 수 있다. 이들 제품에 대해서는 관련 부서에 문의할 것을 권장한다.

**8. How can Quality by Design concepts support endotoxins limits?<sup>26</sup>**  
**QbD 개념을 엔도톡신 기준에 어떻게 적용할 수 있는가?**

<sup>26</sup> ICH Harmonised Tripartite Guideline, *Q8(R2) Pharmaceutical Development*, Step 4 Version (2009).



When implementing Quality by Design concepts, the strategy for endotoxins testing should be based upon product and process understanding in combination with risk management to ensure consistent final product quality. The appropriate in-process testing should be used to evaluate the production process areas at risk of endotoxins formation or incursion. Many firms already have programs for monitoring incoming ingredients and components, including the processing water, for endotoxins contamination. The finished product release specification should be considered when determining in-process limits for each phase of manufacturing tested. For purposes of evaluating the relative risk of product contamination, quantitative testing may be preferable to limit testing to facilitate product quality trending and to identify and correct excursions before they exceed the specification and cause product failure. An endotoxins limit should be justified on a case-by-case basis, and will be evaluated as a part of each relevant marketing application or supplement.

QbD 개념을 적용한다면, 리스크 관리와 제품/공정 이해를 바탕으로 엔도톡신 시험 전략을 수립하여 최종 제품 품질의 일관성을 보장할 수 있어야 한다. 적절한 공정 시험으로 엔도톡신 형성 또는 유입 리스크가 큰 생산 공정 영역을 평가한다. 공정 용수를 포함하여 입고 성분과 컴포넌트의 엔도톡신 오염 수준을 모니터링하는 프로그램을 갖춘 업체가 많다. 제조 공정 단계별로 공정 관리 기준을 설정할 때는, 최종 제품의 출하 승인 규격을 고려해야 한다. 제품 오염의 상대 리스크를 평가하고자 한다면, 한도 시험보다는 정량적 시험이 바람직하다. 그래야 제품 품질의 경향 분석이 가능하고, 규격을 벗어나 제품 부적합이 실제로 발생하기 전에 일탈 문제를 파악하여 바로 잡을 수 있기 때문이다. 엔도톡신 기준의 타당성을 개별적으로 증명해야 한다. 관련 판매 허가 신청 문서나 변경 신청 문서 심사 시에 엔도톡신 기준을 평가한다.

**9. When is the USP Chapter <151> Pyrogenicity Test (the rabbit pyrogen test) appropriate?**

**USP <151> "발열성물질 시험"(토끼를 이용한 발열성물질 시험)은 어떤 경우에 적절한가?**

For certain biological products, 21 CFR 610.13(b) requires a rabbit pyrogen test. The requirement in 21 CFR 610.13(b) may be waived if a method equivalent to the rabbit pyrogen test is demonstrated in accordance with 21 CFR 610.9.

생물학적 제품 가운데 일부는 21 CFR 610.13(b)에 의거하여 토끼를 이용한 발열성 물질 시험을 실시해야 한다. 토끼를 이용한 발열성 물질 시험과 동등한 방법임을 21 CFR

610.9에 따라 증명한다면, 21 CFR 610.13(b) 기준의 예외를 인정할 수 있다.

For human and animal drugs, some USP monographs still require a rabbit pyrogen test. Even with such monographs, a firm may substitute an endotoxins test or alternative cell-based test if the firm can demonstrate equivalent pyrogen detection. The appropriate FDA review division will consider alternative methods, such as monocyte activation, on a case-by-case basis.

사람 의약품과 동물 의약품에 관한 일부 USP 모노그래프는 여전히 토끼를 이용한 발열성 물질 시험을 요구한다. 이와 같은 모노그래프라고 하더라도, 업체가 동등한 발열성 물질 검출 능력을 증명할 수 있다면, 엔도톡신 시험이나 다른 세포 기반 시험으로 대체할 수 있다. 단핵구 활성화 등 대체 방법의 적절성을 FDA 심사 부서가 상황별로 검토한다.

For devices and drug materials, firms should assess the risk of the presence of non-endotoxin pyrogens. If the risk assessment indicates that non-endotoxin pyrogens may be present, it may be more appropriate to use the rabbit pyrogen test.

의료기기와 의약품인 경우에 업체는 비엔도톡신 유래 발열성물질이 존재할 리스크를 평가해야 한다. 리스크 평가를 통해 비엔도톡신 유래 발열성물질이 존재할 가능성이 있다고 판단되면, 토끼를 이용한 발열성 물질 시험이 더 적절할 것이다.

Bacterial endotoxins assays are subject to a variety of interferences related to the physical and chemical properties of the test article. Where such interferences cannot be mitigated through sample dilution (up to the MVD) or other validated means of sample preparation, firms should use the rabbit pyrogen test.

세균 엔도톡신 분석 방법은 시험 대상 물품의 물리적/화학적 특성과 관련된 여러 가지 간섭 영향을 받는다. 검체 희석(MVD 수준까지)이나 다른 밸리데이션된 검액 조제 방법으로 이러한 간섭 영향을 완화시킬 수 없으면, 토끼를 이용한 발열성물질 시험을 해야 한다.

**10. How would an appropriate endotoxins limit be determined for a veterinary product that targets multiple species?**

여러 동물 종을 대상으로 하는 동물 의약품의 엔도톡신 기준을 어떻게 정하는가?

For a veterinary product labeled for use in multiple species, the limit should be based

on the maximum product dose used on the smallest species. If the label indicates that the product may be used on juvenile and adult animals, the juvenile is considered the worst case. If the weight of the animal is required to calculate the dose, firms should use an average weight for that species. For a listing of some average animal weights, see the FDA draft guidance for industry on *Waivers of In Vivo Demonstration of Bioequivalence of Animal Drugs in Soluble Powder Oral Dosage Form Products and Type A Medicated Articles*. For animal weights not listed in that guidance, please contact FDA's Center for Veterinary Medicine.

여러 종에 사용하도록 표시된 동물 제품인 경우, 가장 작은 종에 투여할 최대 용량을 바탕으로 기준을 정한다. 어린 동물과 성체 동물 모두에 사용할 수 있다고 라벨에 표시된 제품인 경우, 어린 동물을 최악의 경우로 간주한다. 용량 계산에 동물 체중이 필요한 경우에는 해당 동물 종의 평균 체중 자료를 활용한다. 일부 동물의 평균 체중에 관한 자료는, FDA 가이드 문서 초안(*Waivers of In Vivo Demonstration of Bioequivalence of Animal Drugs in Soluble Powder Oral Dosage Form Products and Type A Medicated Articles*)을 참조한다. 이 문서에 없는 동물의 체중은 FDA CVM에 문의한다.

#### 11. What are the endotoxins limits for medical devices?

##### 의료기기의 엔도톡신 기준은?

The Center for Devices and Radiological Health (CDRH) has adopted the USP Endotoxin Reference Standard and limits for medical device extracts expressed in EU/mL. USP Chapter <161> Transfusion and Infusion Assemblies and Similar Medical Devices provides the limits for medical devices within its scope. The endotoxins limit for a medical device is dependent on the intended use of the device and what the device contacts (e.g., blood, the cardiovascular system, cerebrospinal fluid, intrathecal routes of administration, permanently implanted devices, and devices implanted subcutaneously)<sup>27</sup>.

CDRH는 의료기기 추출물의 기준(단위: EU/mL)과 USP 엔도톡신 참조 표준품을 채택했다. USP <161> "수혈/주입 장치 및 이와 유사한 의료기기"에 각종 의료기기에 적용되는 기준이 설정되어 있다. 의료기기의 엔도톡신 기준은 의료기기의 예정 용도, 그리고 의료기기와 접촉하는 물질(예, 혈액, 심혈관계, 뇌척수액, 척수강내 투여 경로,

<sup>27</sup> USP, 2011, Chapter <161>, Transfusion and Infusion Assemblies and Similar Medical Devices.

영구 이식 장치, 피하 이식 장치)에 따라 달라진다.

For medical devices, using the extraction volume recommendations described below, the limit is 0.5 EU/mL or 20 EU/device for products that directly or indirectly contact the cardiovascular system and lymphatic system. For devices in contact with cerebrospinal fluid, the limit is 0.06 EU/mL or 2.15 EU/device. For devices that are in direct or indirect contact with the intraocular environment, a lower endotoxins limit may apply. Please contact the appropriate review division for specific recommendations.

아래에 기술된 추출액 권장 사항을 적용해, 심혈관계나 림프계와 직접적으로나 간접적으로 접촉하는 의료기기는 0.5 EU/mL 또는 20 EU/제품을 기준으로 적용한다. 뇌척수액과 접촉하는 제품인 경우에는 기준이 0.06 EU/mL 또는 2.15 EU/제품이다. 눈 내부 환경과 직접적으로나 간접적으로 접촉하는 제품인 경우에는 더 낮은 엔도톡신 기준을 적용할 수 있다. 구체적인 사항은 관련 심사 부서에 문의한다.

The process of preparing an eluate/extract for testing may vary from device to device. Some medical devices can be flushed, some may have to be immersed, while others may need disassembly. Unless otherwise directed by another compendial standard, our recommended rinse volumes include the following: (1) each of the 10 test units should be rinsed with 40 mL of non-pyrogenic water; (2) for unusually small or large devices, the surface area of the device that contacts the patient may be used as an adjustment factor in selecting the rinse or extract volume. The endotoxins limit can be adjusted accordingly. In any case, the rinse/extract procedure should not result in a greater dilution of endotoxin than recommended in USP <85>. For inhibition/enhancement testing, both the rinse/extract solution and the device eluate/extract should be tested.

시험을 위한 용출/추출액을 만드는 방법이 제품마다 다를 수 있다. 일부 의료기기는 플러싱을 하여 만들고 일부는 완전히 담가야 한다. 분해가 필요한 제품도 있다. 다른 공정서 표준에서 다르게 정하지 않았다면, 권장 린스액 양은 다음과 같다. (1) 10개 검체 각각을 비발열성 물 40 mL로 린스하고, (2) 특이하게 작거나 큰 제품인 경우에는 환자와 접촉하는 표면적을 조정 계수로 활용해 린스액 또는 추출액의 양을 정한다. 그에 따라 엔도톡신 기준을 조정할 수 있다. 어떤 경우건 린스/추출 절차 때문에 USP <85>에 제시된 수준보다 더 많이 엔도톡신이 희석되지 않아야 한다. 저해/증진 시험인 경우에는 린스/추출액과 의료기기 용출/추출액을 모두 시험한다.

Examples of medical devices with testing or interference challenges include devices that

are coated with anticoagulant, contain heavy metals, or that have particulates. In these situations, treatments for interferences can include digestion, dilution, and addition of buffers, centrifugation, or filtration.

시험 또는 간섭 챌린지를 하는 의료기기의 예로는, 항응고제로 코팅한 제품, 중금속을 함유한 제품, 미립자를 함유한 제품이 있다. 이런 경우에는 분해, 희석, 완충액 투입, 원심분리, 여과 등의 방법으로 간섭 부분을 처리한다.

During the same surgical procedure or placement in the same surgical site, multiple units of the same device from one manufacturer should generally meet the same endotoxins limit as a single device administered during the procedure. In instances where multiple units of the same device are known or intended for use in a single procedure, manufacturers should justify any deviation from the overall endotoxins limit identified in this guidance.

동일한 외과 수술 장소에서 동일한 외과 수술 절차나 외과적 배치 시에 특정 제조업체의 동일 의료기기를 여러 개 사용하는 경우, 외과 수술이나 배치 시에 1개 의료기기가 사용될 때 적용되는 엔도톡신 기준과 동일한 기준에 부합해야 한다. 동일 의료기기 여러 개가 단일 절차에 사용되는 것을 알고 있거나 그럴 예정이고 이 가이드 문서에 따른 전체 엔도톡신 기준과 다르게 기준을 설정한다면, 제조업체는 타당성을 제시해야 한다.

When a manufacturer of medical devices plans to use LAL testing that deviates significantly from this guidance or recognized standard, a premarket notification (510(k)) under section 510(k) of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (the Act) or a premarket approval application (PMA) supplement under section 515 of the Act should be submitted. Significant deviations include, but are not necessarily limited to: higher endotoxin concentration release criteria, sampling from fewer than three (3) lots for inhibition/enhancement testing, lesser sensitivity to endotoxins, and a device rinsing protocol resulting in greater dilution of endotoxins than that recommended in this guidance.

의료기기 제조업체가 이 가이드 문서나 일반적으로 인정되는 표준 문서와 크게 다른 LAL 시험법을 사용할 계획이라면, 연방식품의약품화장품법 섹션 510(k)에 의거한 PMN(510(k))이나 법 섹션 515에 의거한 PMA 변경 신청 문서를 제출해야 한다. 이와 같은 크게 다른 상황의 예로는 엔도톡신 농도 기준(출하 승인 기준)을 높게 설정하거나 저해/증진 시험에 3개 미만의 로트에서 검체를 채취하거나 엔도톡신 민감도가 낮거나

이 가이드 문서에 기술된 것보다 더 많이 엔도톡신을 희석시킬 수 있는 제품 린스 방법 등이 있다.

**12. What is the FDA's expectation for regular screening of therapeutic drug products?**  
**치료 의약품의 정기 스크리닝에 대한 FDA의 기대 기준은 무엇인가?**

Ideally, the undiluted product should be screened as long as there is no interfering/enhancing property within the LAL test. However, in some product formulations, the ingredients interfere with the LAL test. For such formulations, the USP recommends that the product be diluted to overcome interference or enhancement properties. The calculated MVD is the dilution of a sample at which the endotoxins limit would be detected, but it should not be the regular testing dilution. When product interference is encountered during development, FDA recommends that the firm determine the lowest product dilution that would neutralize the interfering condition.

LAL 시험 시에 간섭/증진 영향이 없으면, 희석하지 않은 제품을 스크리닝해야 할 것이다. 하지만 제품 성분이 LAL 시험에 간섭 영향을 나타내는 제품이 있다. 이러한 경우에는 간섭이나 증진 영향을 극복할 수 있을 정도로 희석할 것을 권장한다. 계산하여 구한 MVD는 한도 기준 수준의 엔도톡신을 검출할 수 있는 검체 희석 배수이며, 시험 시의 정규 희석 배수는 아니다. 개발 과정에서 제품 간섭이 나타나면, 간섭 영향을 중화시키는 최저 제품 희석 배수를 결정할 것을 권고한다.

FDA recommends that firms begin subsequent product screening at a product dilution just above the level that neutralized the interference. For example, if the product has an MVD of 1:100, and the product displays inhibition at the 1:10, but not at the 1:20, it may be best to screen product at 1:30. If bacterial endotoxins are detected at this level, then the firm should conduct full enumeration with the product to titrate the true amount of endotoxins.

이후 간섭 현상을 중화시킨 수준 바로 위의 희석 조건에서 제품 스크리닝을 시작한다. 예를 들어 제품의 MVD가 1:100이고 1:10 희석 수준에서 저해 현상을 나타내지만 1:20에서는 그렇지 않은 경우, 1:30에서 제품을 스크리닝하는 방법이 가장 좋을 것이다. 이 수준에서 세균 엔도톡신이 검출되면, 전면적인 평가 작업을 실시해 엔도톡신의 양을 정확하게 적정해야 한다.

**13. Are control standard endotoxins still acceptable for use in running bacterial**

**endotoxins tests?**

**CSE를 세균 엔도톡신 시험에 사용할 수 있는가?**

Control standard endotoxins (CSEs) are endotoxin preparations other than the international or national reference standards that are traceable in their calibration to the international reference endotoxins standard. CSEs may be secondary or tertiary standards and are usually manufactured and certified by an LAL reagent manufacturer for use with a specific lot of reagent under defined assay conditions. CSEs have become an accepted source for preparation of standard curve calibrators and as assay controls, and have provided a cost saving to LAL users and helped to preserve the inventory of primary standards. FDA encourages the continued use of CSEs that are suitably calibrated to the international reference endotoxins standard.

CSE는 국제 참조 표준품이나 국가 참조 표준품은 아니지만, 국제 참조 엔도톡신 표준품에 대비하여 교정해 추적성을 갖는 엔도톡신 조제물이다. CSE를 이차 또는 삼차 표준품이라 부를 수 있으며, 일반적으로 지정 분석 조건에서 특정 시약 로트와 함께 사용하도록 LAL 시약 제조업체가 제조하고 인증한 것이다. CSE는 분석 대조 용도와 표준 검량 곡선을 만들기 위한 것으로 많이 사용되며, LAL 사용자 입장에서는 비용 절감 효과가 있고 일차 표준품 재고를 보존하는데 도움이 되기도 했다. 국제 참조 엔도톡신 표준품과 비교하여 적합하게 교정한 CSE를 계속 사용할 것을 권장한다.