

アプリケーション・ノート

Cedex Bio、Cedex Bio HT およびCedex HiResを使用した 分析法バリデーションに関する ガイドライン

2016年4月

Doerthe Druhmnn, Sabrina Schuette, Dr. Dirk Ponsel
Pharma Biotech (ドイツ, ペンツベルク)



品質管理/製造工程での使用に限る

序論

目的

以下は現在のICH-Q2ガイドライン¹の解釈を基に、分析法(例: Cedex Bio、Cedex Bio HTおよびCedex HiResに関する)バリデーションを要約した簡潔なガイドラインである。本ガイドラインでは、「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準(GMP)」の規格に則り、原薬・医薬品有効成分(APIs)製造時のバリデーション方法および適切な分析データ作成方法を開発するための提案を行っている。

本ガイドラインは企業の品質部門をサポートすることを意図しており、説明責任は各々の品質部門が負うものとする。バリデーションプロセスの実施は企業および製造所ごとに異なる可能性がある。

範囲

工程内管理に使用するパラメータ(in-process-control: IPCパラメータ)は特に重要であり、バリデーションを実施するべきである。

本ガイドラインは実験系のバリデーションのデザインを中心に取り上げており、文書化、保管等の推奨事項については取り上げていない。

¹ International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: ICH Harmonized Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2

バリデーション — 準備

材料

バリデーションデータの品質は使用する材料の品質によるところが大きい。テスト実施者は試料採取、試料の取扱い、およびそれらが適切に保管されていることを監視しなければならない。消耗品すべての使用期限を確認しなければならない。

文書化

GMPに適合した文書体系を維持すべきである。通常、バリデーションを実施する前に、方法論および合否判定基準を記載したバリデーション計画を作成し、承認

を受けなければならない。

データの整合性および生データの保管についてもバリデーションレポートに記載されていなければならない。

適格性 (Qualification)

適格性が確認された機器のみを使用していることを保証すること。

バリデーション — デザイン・基準

デザイン

(製造) プロセス、(製造) 細胞、原料および測定範囲という定められた条件に関して規定された基準に適合する分析法のバリデーションを行うことを推奨する。すべての分析法は独自の利点 (または欠点) があるため、確立している方法との比較ではなく、独立にバリデーションを行うべきである。

しかし、これまでの方法との比較可能性は、設定した特定のプロセスに関する、特定の分析法の変化の影響を評価するため考慮すべきである。

パラメータによっては、以下の基準の特性をバリデーションのデザイン中で確認すべきである。通常、それらの評価は、各パラメーターに対する許容可能な基準範囲を設定するため、バリデーションの前に行う。

特異性

テスト結果の影響は、製造プロセス毎に異なる分解生成物または原料由来不純物の影響とは別に示されなければならない。われわれロシュ・カスタムバイオテックが提供するテストキットは高い特異性を示すが、使用される原料中成分と干渉する可能性がないか、確認することを推奨する。例えば、被験物質をスパイクしたり、別の分析方法を実施することで干渉物質を識別することが可能である。スパイク/希釈試験の中に試験用原料を含めることで、特異性のバリデーションは、再現性をもって精度 (precision)、直線性 (linearity) および正確性 (accuracy) の決定が容易にできる。

測定範囲および試料調製

測定範囲は、精度 (precision)、直線性 (linearity) および正確性 (accuracy) に対するバリデーションの上限値および下限値により定義される。望ましい最終的な測定範囲を規定し、上限を超える範囲、および下限を下回る範囲を確認できるかどうかを検討すること。ルーチンの測定で試料を取り扱う場合と全く同じ方法で、試料を使用して行うこと。(定義に従い) 工程内管理 (IPC) 値の範囲または境界値のような特別に関心がある濃度前後で、十分な数の測定を行うこと。

Cedex Bio/Bio HT:

代謝物測定試薬にはすべて、使用説明書に記載されている分析範囲がある。対象としているバリデーションのテスト範囲が異なる可能性があり、実施するプロセスに従い実施される。バリデーションのテスト範囲内 (または範囲外)、および各テストの範囲を規定した場合は、自動的にフラグを立てたり、機器の基準範囲に合わせなければならないことに留意すること。ロシュ・カスタムバイオテックのコントロールセットを試料 (例: 培地) にスパイクすること。試料原料中の検体のベースラインが測定範囲を上回っている場合は、希釈剤として水または緩衝液を使用すること。もしバリデーション範囲がテストキットの範囲の上限に非常に近い場合は、rerun機能をオフにすること。

Cedex HiRes:

細胞/プロセスの望ましい測定範囲がロシュ・カスタムバイオテックのコントロールピース濃度を上回る可能性があるかもしれない。その場合でも、ロシュ・カスタムバイオテック Cedex HiResのコントロールピースを、由来または濃度が異なる細胞培養試料と並行して使用すること。例えば、高密度培養試料は、培地による段階希釈を行う。

直線性

分析成分の目標値と測定値との間で直線性のある相関が示されなければならない。分析成分/試料に対してバリデーションを行う測定範囲の5濃度以上で、試料に対して3回以上(5~7回の方がより適切)実施すること。

分析機器Cedex Bio/Bio HT:

ロシュ・カスタムバイオテックのコントロールセットを使用し、試料にスパイクすること。

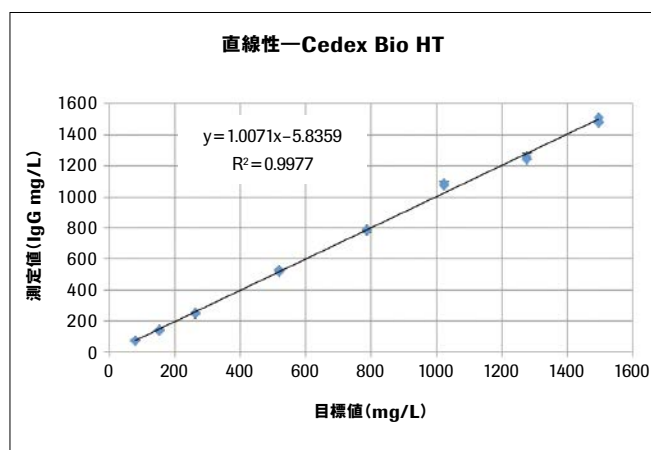


図1a:Cedex Bio HTのIgG定量値の直線性: IgG分子を試料にスパイクした。

Cedex HiRes:

ロシュ・カスタムバイオテック Cedex HiResのコントロールピースを使用して、使用説明書の指示に従って、生細胞密度の直線性が適切な密度範囲内 (~10⁶)にあることを確認すること。さらに、望ましい目標範囲全体をカバーしている細胞クローンの段階希釈法を使用すること。異なる種類のCedex Viabilityピースを使用して、生存率の直線性も確認すべきである。

目標値(計算値)に対して測定値をプロットし、相関係数(r)、y切片、回帰直線の傾き、および残差平方和を求める。一部の分析法に関しては、直線性を示すために数学的手法が必要となる。

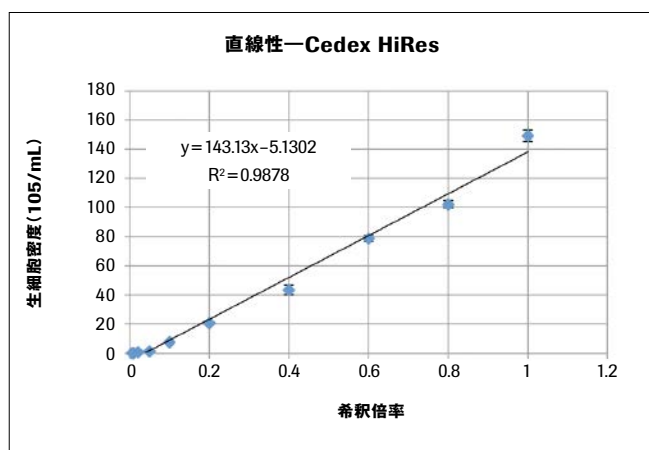


図1b:Cedex HiResの直線性の確認: 高密度細胞培養試料を使用して、段階希釈法を実施した。



正確性 (回収)

正確性とは、測定範囲全体に対して求めた値の正しさと定義される。不純物、分解生成物または原料の起こり得る影響をテストすることで、特異性の確認も合わせて行うこと。

正確性は測定値と(既知の純度の)真の値、または確立している独立した方法によって得られた値と比較することで求めることができる。

分析成分/試料に対して望ましい測定範囲の3種類以上の濃度で、試料に対して3回以上(5~7回の方がより適切)実施すること。

Cedex Bio/Bio HT:

ロシュ・カスタムバイオテック コントロールセットを使用し、試料原料にスパイクすること。試料原料中がバリデーションを行うテスト(機能)に負の影響を及ぼす可能性がないか確認すること。

Cedex HiRes:

ロシュ・カスタムバイオテック Density Reference Standard beadsを使用してシステムの正確性を確認し、次に適切なCedex HiRes Control beadsを使用して、生細胞密度の正確性と生存率を確認すること。各使用説明書の指示に従うこと。

細胞クローン試料を使用し、Cedex HiResの生データの画像解析結果を確認すること。生細胞を正確に検出し、識別されることを検証すること。必要に応じ、標準操作の設定を最適化する。可能であれば、Cedex HiResのデータと信頼できる他の細胞数計測方法のデータを比較する。方法を変更する場合でも、機器は(バリデーションが行われている場合は)信頼できると考えられる。

各試料/希釈率に関しては、所定の値(%)に対して得られた回収率、ならびに回収率の信頼区間を計算すること。

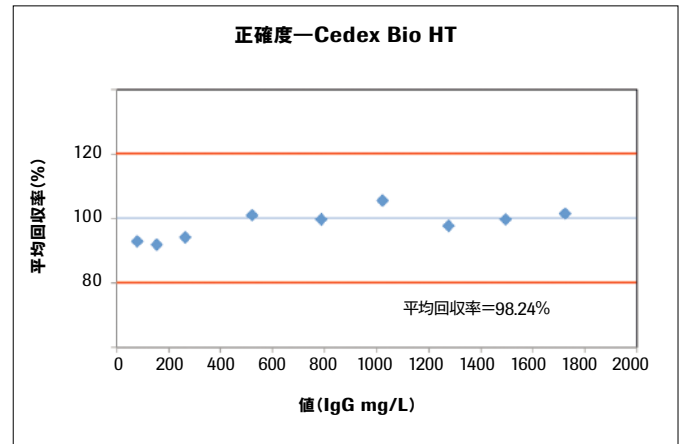


図2:IgGをスパイクした後のIgG定量値に対するCedex Bio HTの正確性

再現性による精度

1つの機器で依頼された同一試料の測定を個別に繰り返すことで再現性を確認する。分析成分/試料に対してバリデーションする測定範囲の少なくとも3濃度で、試料に対して3回以上(5~7回の方がより適切)実施すること。

Cedex Bio/Bio HT, Cedex HiRes:

測定範囲の上限、中間、下限の直線性を考慮して異なるスパイク濃度/希釈率の試料を使用すること。テストを行う測定範囲内の各濃度について標準偏差、相対標準偏差、および信頼区間を計算すること。

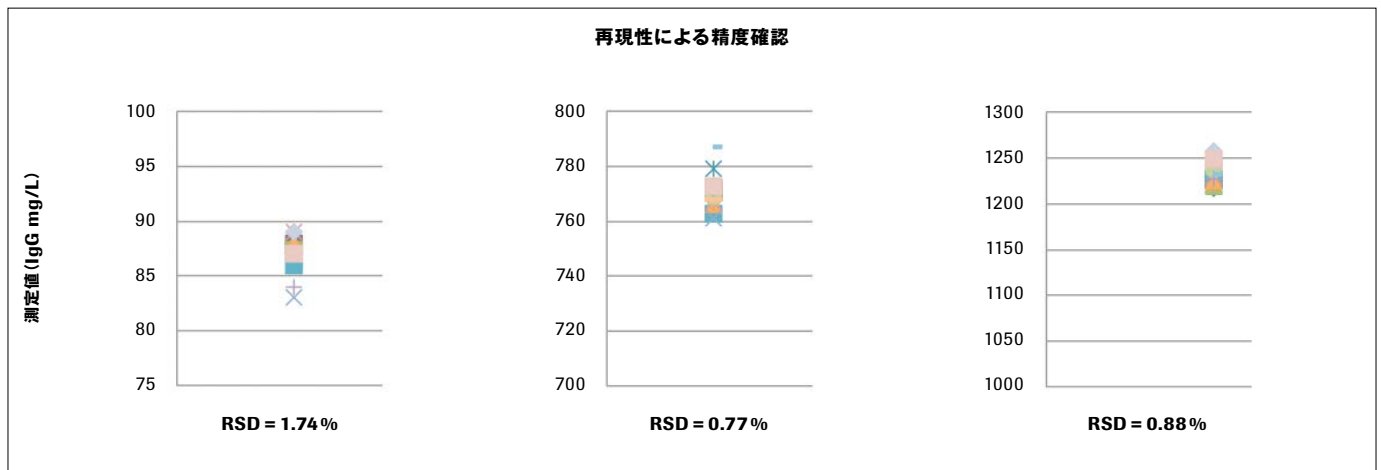


図3:IgG定量値の再現性(repeatability)によるCedex Bio HTの精度
IgGを試料にスパイクし、異なる3種類の濃度で、21回繰り返して測定した。

室内再現精度による正確性

室内再現精度は、機器、テスト実施者、テスト日を変えて測定する場合の精度のことである。Cedex Bio/Bio HTは、Cedex HiResとともに、機器間、テスト実施日間で高い同等性を示す。必要があれば、これらの条件を変えて、線形性、正確度および再現精度を繰り返すことが求められる可能性がある。異なる機器を比較する場合は、同じ試料、すなわち同等試料を使用すること。テスト日による性能または実施者が異なる場合のバリデーションを実施する場合は、スパイクした調製間もない試料を検討すること。再現精度に基づき、テストを行う測定範囲内の各濃度について標準偏差、相対標準偏差、および信頼区間を計算すること。

頑強性 (Robustness)

試薬の安定性に加え、アッセイの安定性も試料の安定性と関連し、これは試料採取プロセス、試料の取扱い、保管期間および保管条件に大きく依存する。望ましいプロセスを分析して、関心のあるパラメータの1つが安定性および連続性に感受性があるかどうかを評価することを検討すること。また、規定した境界値およびフラグ、器具のマニュアルや試薬の使用説明書に記載されている試薬の校正サイクルおよび安定性を認識しておくこと。

Cedex Bio/Bio HT:

代謝物の分析に関して適切なデータを作成するために、無細胞上清の分析成分濃度は細胞含有試料よりも大幅に安定しているため、できる限り早くに試料を遠沈すること。一部の分析成分では、全培養液試料を使用することも可能かもしれない。しかし、そうした手順は生物学的に安定性に大きな影響を及ぼすことがあること、経時的にバリデーションを実施する必要があることに留意すること。

検出限界および定量限界

検出限界および定量限界は各テストに関する文書中に記載されている。試料原料はその限界値に影響を抑える可能性がある。許容範囲の正確性および精度で、シグナルが確実に検出、測定、定量できる最低レベルを評価すること。通常、定量限界は測定範囲の下限值と等しい。

再バリデーションの条件

プロセス、化合物(例:原料)、規格(例:テスト範囲)、および機器を変更する場合、または規制当局の要件が変更になった場合は、弊社では分析法の再バリデーションを推奨している。

規制上の免責事項

品質管理／製造プロセスのみの使用に限る。

CEDEX is a trademark of Roche.

注：ロシュ社の技術サービスは、据付時適格性確認 (IQ) および稼働性能適格性確認 (OQ) に対する文書化とサポートを提供いたします。ただし、性能適格性確認 (PQ) は実施せず、サポートも行いません。PQのデザイン、実施および評価はお客様の責任のもと行って頂きます。

custombiotech.roche.com

Please contact your local CustomBiotech representative

Europe, Middle East, Africa, Latin America

Phone +49 621 759 8580
Fax +49 621 759 6385
mannheim.custombiotech@roche.com

United States

Phone +1 800 428 5433, ext. 14649 (toll-free)
Fax +1 317 521 4065
custombiotech.ussales@roche.com

Canada

Phone +1 450 686 7050
Fax +1 450 686 7012
custombiotech.can@roche.com

Japan

Phone +81 3 6634 1046
Fax +81 3 5479 0585
japan.custombiotech@roche.com

Asia Pacific

Phone +65 6371 6638
Fax +65 6371 6601
apac.custombiotech@roche.com

© 2017 Roche



ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社 〒108-0075 東京都港区 港南1-2-70
カスタマーソリューションセンター ☎0120-600-152 <http://www.roche-diagnostics.jp>