



製薬業における洗浄バリデーションのための TOC 法の評価

医薬品メーカーでは、品質面と効率面で利益を追求する中で、洗浄バリデーションに Sievers* 全有機炭素(TOC)分析計を使用することへの関心がますます高まってきました。現在、医薬品・バイオテクノロジー関連施設の大半は、洗浄や製造に用いる精製水や注射用水のリリース(使用許可)に関する USP(米国薬局方)の公定水質検査の要件を満たすために、TOC 分析計を所有しています。したがって、大半の施設は、洗浄バリデーションのために TOC を測定する手段をすでに所有しているのです。

TOC 法は、所与のサンプルに含まれるすべての炭素含有化合物を評価する分析法として米国医薬品局(FDA)に認められており¹、この方法によって、すべての器具の洗浄状態が所定の洗浄基準値を満たしているとの確信が得られます。TOC 分析のおかげで、化合物や分析対象物、微量成分に由来する炭素濃度を、直接的(スワブ法)または間接的(リンス法)なサンプリングを通じて検知する分析法の開発が可能となっています。標的となる微量成分としては、原薬(API)や添加剤、タンパク質、タンパク性副産物、洗浄剤、洗浄成分などが考えられます。

1996 年、ICH(日・米・EU 三極医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議)では、FDA(米国食品医薬品局)の CDER(医薬品評価研究センター)および CBER(生物学的製剤評価研究センター)の支援を受けて²、ガイドライン文書 Q2B「分析法バリデーションに関するテキスト:実施方法」を作成しました。この文書の目的は、洗浄バリデーションに用いられる分析法のバリデーションを行う際に考慮すべき具体的な諸特性について、製薬企業に対して指針を示すことでした。このアプリケーションノートでは、Q2B ガイドライン文書に従って、TOC 法のバリデーションに関係する以下のパラメータについて、様々な例を提示します。

- 検出限界および定量限界
- 分析対象物の真度および精度の決定
- 直線性および回収率の検証
- 分析法の頑健性³

検出限界および定量限界

検出限界(LOD)は、シグナルが機器ノイズの結果なのか、それとも化合物に対するレスポンスなのかを評価する際に用いる数値です。LOD は、サンプルに含まれる分析対象物について検出可能な最小量とみなされますが、この量は、十分な統計的現実性をもって定量できるとは限りません。

定量限界(LOQ)は、意味のあるデータと意味のないデータについての指標となるよう設定された値です。機器からのレスポンスが LOQ 未満の場合は、そのシグナルは有機物の存在を示すものではありませんが、真の濃度を定量化した値ではありません。分析計の読みが設定された LOQ を超えていれば、定量化可能な、すなわち意味のあるデータとみなされます。

バックグラウンドの TOC 濃度を測定し、洗浄バリデーション計画のための LOD と LOQ を導出するには、低 TOC 水ブランクやスワブブランク(必要な場合)を用意して、実験に使用する水やバイアルに由来する炭素の量を明らかにする必要があります。これらのサンプルから標準偏差が決定されたら、通常はこの標準偏差の 3 倍を LOD、10 倍を LOQ として設定します⁴。

分析対象物の真度(Accuracy)および精度(Precision)の決定

TOC 分析法のバリデーションにおいては、真度と精度を区別することが重要です。真度は、分析対象物の測定値が真の値にどれだけ近いかということを表しています。真度は通常、機器バリデーションの際の TOC 標準物質の理論濃度に対する TOC の実測濃度の差を百分率(例: +7%)で表したものです。

一方、精度は標準偏差または RSD(変動係数)として求められます。精度は、所与のサンプルを複数回分析した結果が互いに一致している程度を表しています。

TOC 法のバリデーションでは、真度および精度は、既知濃度の標的微量成分を用いて(添加して)調製したサンプルを分析し、理論値との差の百分率および RSD を評価することで

求めることができます。ICH のガイドライン文書では、真度および精度については、その機器で規定されている範囲全域にわたる 3 種以上の濃度レベルで、9 回以上繰り返し測定して評価することを勧告しています⁵。

サンプル間のばらつきを検討した結果を示しています。

直線性および回収率の検証

一般に、直線性の試験では、機器のレスポンスが分析対象物の濃度と直線関係にあることを検証します。図 1 は、TOC の濃度範囲 (1.00~7.50 ppm) にわたるウシ血清アルブミン (BSA) の直線関係を示しており、低 TOC 水を入れたバイアルに既知濃度の BSA を添加したサンプルを測定したものです。この例は、理論濃度 (x 軸) に対してプロットした実測濃度 (y 軸) が直線関係 ($Y=(m)x+b$) にあることを示しています。分析計のレスポンスは、対象化合物に関する相関係数 (R^2) が 0.97 を超える値となるはずで

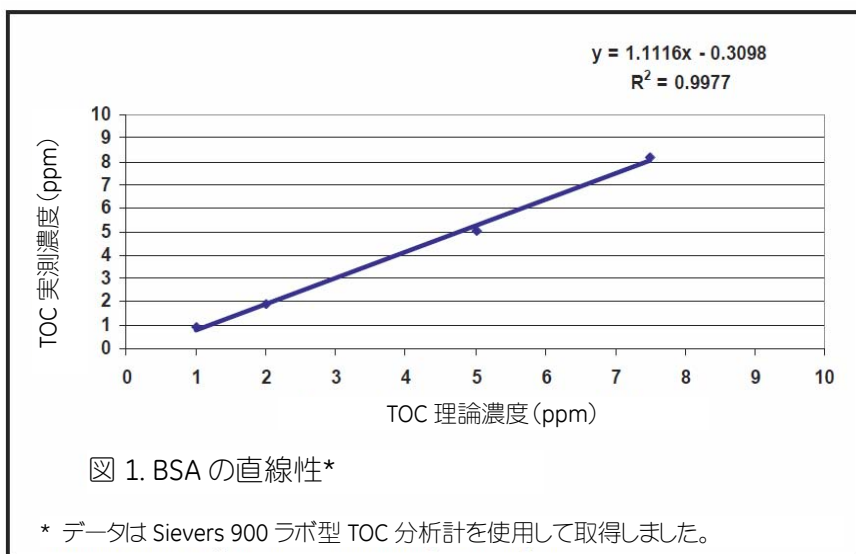


図 1. BSA の直線性*

* データは Sievers 900 ラボ型 TOC 分析計を使用して取得しました。

標的微量成分の分析に関する TOC 法の適合性を判定するには、この分析法で達成可能な回収率のレベルを求める必要があります。以下では、CIP-100 を用いて調製した TOC 濃度既知のサンプル溶液を、ステンレススチール製クーポンに所定の量だけ滴下して実施した直接サンプリング法の例を示しています。BSA の例と同様に、濃度の異なる 3 種類の CIP-100 洗浄液を試験片に滴下し、この試験片をスワブで拭き取って、そのスワブを既知量の低 TOC 水に入れました。表 1 は試験片表面からの回収率の結果を表しています。

表 1

試験片表面からの回収率 (分析者 1) *

炭素理論濃度 (ppm)	炭素実測濃度 (ppm)	回収率 (%)	RSD (精度) (%)
5.33	5.44	102.2	1.2
1.07	1.073	100.3	2.1
0.32	0.32	100.0	0.3

*結果は Steris Corporation の好意によるもので、Sievers TOC 分析計を用いて取得しました⁶。

分析法の頑健性 (Robustness)

実際の回収率と同じぐらい重要なことは、対象化合物の回収率の測定に使用している TOC 分析法の室間再現精度 (reproducibility) または頑健性です。洗浄バリデーション法の開発において、頑健性は、分析法のパラメーターの故意による小さな変動やサンプル間のばらつきに対して、分析法が影響を受けずにいられる能力を表す指標として用いられます。また、通常の使用における信頼性を表す指標でもあります (例: 分析者間のサンプリング法のばらつきなど)。回収率は高い方が望ましいことですが、同じように重要なのは、その回収率が常に再現可能であり、分析法開発試験の期間中、詳細に検討されるべきであるということです。表 1 および表 2 は、CIP-100 を用いたスワブ法による回収分析を 2 人の分析者が実施して、サ

表 2

試験片表面からの回収率 (分析者 2) *

炭素理論濃度 (ppm)	炭素実測濃度 (ppm)	回収率 (%)	RSD (精度) (%)
5.05	5.11	101.3	2.0
1.03	1.070	105.8	2.1
0.29	0.32	104.9	1.9

*結果は Steris Corporation の好意によるもので、Sievers TOC 分析計を用いて取得しました⁶。

最終的に考慮すべき点

医薬品の品質レベルを評価する試験法には、さまざまな要件が課せられています。特に洗浄バリデーションは、現行の「cGMP」の基準[21 CFR 211.194(a)]において、確立された規格を持つ医薬品の適合性を評価する目的で使用される試験法は、真度および信頼性についての適切な基準を満たさなければならないと定められています⁷。

また、分析法バリデーションとは、本アプリケーションノートで述べた TOC 分析法の性能特性が、水のリリースや洗浄バリデーションといった分析用途の要求事項を満たしていることを、実験室内の試験で立証するプロセスであるということも考慮してください。

References

1. FDA Web Site:
www.fda.gov/cder/guidance/cGMPs/equipment.htm.
2. CDER (Center for Drug Evaluation and Research) and CBER (Center for Biologics Evaluation and Research).
3. Guidance for industry Q2B: *Validation of Analytical Procedures. Methodology*. November 1996. ICH, FDA, CDER, CBER.
4. Taylor, John K. *Quality Assurance of Chemical Measurements*. Lewis Publishers imprint of CRC Press; 1987.
5. USP <1225> *Validation of Compendial Methods*.
6. *The Swab Recovery Determination of CIP-100 in Solutions by TOC Analysis Using a Sievers TOC Analyzer*, Steris Corporation Analytical Method; 1993.
7. 21 CFR 211.194(a) *Laboratory Records*.

© 2010 GE ヘルスケア・ジャパン株式会社 本書の全部または一部を無断で複製することは、著作権法上の例外を除き、禁じられています。本書に掲載されている製品の名称、仕様などは改良のため予告なく変更される場合があります。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。

GEヘルスケア・ジャパン株式会社

ライフサイエンス統括本部

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ：バイオダイレクトライン

TEL : 03-5331-9336 FAX : 03-5331-9370

e-mail : Tech-JP@ge.com



ISO 9001:2000認証取得