



LAL Update

Volume 27, number 1

July, 2011

FDA ガイドラインの取下げ

Michael Dawson, Ph.D., RAC

編集部より

LALユーザー各位:

今号の LAL Update では、エンドキシン試験の歴史において節目となる重要な事柄を扱っています。FDA は、約 24 年を経た 1987 年のガイドライン、“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 (ヒト及び動物用医薬品、生物学的製剤、医療機器の最終製品エンドキシン試験としてのリムルステストのバリデーションに関するガイドライン)”及びそれに付随する 1991 年のガイダンス、“Interim Guidance for Human and Veterinary Drug Products and Biologicals: Kinetic LAL Techniques (ヒト及び動物用医薬品ならびに生物学的製剤に関する暫定ガイダンス: カイネティック LAL 法)”(オンライン版に収載)を、もはや過去のものとし、それらの取下げを決定しました。

特に 20 世紀後半、これらはエンドキシン試験の実施において重要な文書でした。それは、エンドキシン試験法(Bacterial Endotoxins Test, BET)が日米欧三薬局方間で国際標準化された 2001 年以前にさかのぼります。国際標準化された BET 文書が公表されるまでは、USP で規定していたのはゲル化法のみでしたので、ガイダンス文書は、比色法と比濁法による試験に関する情報が記載された重要な文書でした。

ガイドラインの取り下げにより、保存検量線について規定した唯一の公定書が消滅したことになります。したがって、既にバリデートされ、承認された試験法でない場合は、保存検量線を用いる試験(ポータブル型か否かに依らず)については、BET に規定されている試験法の代替法として、バリデートする必要があると思われます。

FDA は、昨年様々な会議においてガイダンスが近いうちに取り下げられる旨、注意を喚起しており、エンドキシン試験法に関する新たな質疑応答文書がそれに置き換わる見込みであるとしてきました。原稿作成当時、質疑応答文書は公表されておらず、いつ公表されるかも示されていません。

取下げに関する本記事では、ガイダンス文書に規定されていたいくつかの事項に注目し、その影響について考察(解説)しています。その事項が別の文書で規定されている場合、その旨を指摘しています。

取下げに伴う疑問やエンドキシン試験法に関するその他の照会事項については、当社の卓越したテクニカルサービスチームが私までご連絡ください。

どうぞよろしくお願いたします。

Michael Dawson, Ph.D.

生化学バイオビジネス株式会社

〒104-0033 東京都中央区新川一丁目17-24
Tel. 03-3537-7913 Fax. 03-3537-9061
E-mail : lal@seikagakubb.co.jp
URL : <http://www.seikagakubb.co.jp/>

LAL Update 日本語版は Associates of Cape Cod, Inc. (米国)にて作成された LAL Update を和訳したものです。日本語版の記載内容は、英語版作成時点のもので、各種規制等に関連する内容につきましては、英語版原著、当該規制、関連規制等でご確認ください。



はじめに

2011年7月12日、FDAは1987年の“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(ヒト及び動物用医薬品、生物学的製剤、医療機器の最終製品エンドトキシン試験としてのリムルステストのバリデーションに関するガイドライン)”及び1991年の“Interim Guidance for Human and Veterinary Drug Products and Biologicals: Kinetic LAL Techniques(ヒト及び動物用医薬品ならびに生物学的製剤に関する暫定ガイダンス:カイネティックLAL法)”を取り下げた。この記事では、取り下げに伴う影響が(予想される)様々な事項について扱う。一部は、あらゆる種類の製品のエンドトキシン試験に共通する事項であるが、それ以外は医薬品や生物学的製剤、または医療機器に固有の事項である。この記事の締めくくり、取下げに伴う全般的な影響について予想する。

FDAのウェブサイト¹に公表されている取下げに関する見解で、FDAは“1987年のガイドラインはもはや過去のものとなり、表題に関する当局の現在の考えを反映していない”と述べている。FDAは、エンドトキシン試験法に関する情報としてUSP<85>, Bacterial Endotoxins Test(BET)²について言及している。しかし、ガイドラインには、BETに記載されていない情報が含まれるため代わりとなるガイダンスの情報源を必要に応じて示した。

注意

この記事では、1987年のFDAガイドライン及び1991年の暫定ガイダンス文書に記載されている事項を全て網羅しているわけではない。著者が重要であると判断した事項を扱っており、それ以外については、特定の状況では重要かもしれないが、この記事では省いている。この記事は、薬事規制又は規制ガイダンスの代用を意図したのではなく、そのような利用は控えていただきたい。判断および対応措置は、当該規制、関連規制、ガイダンス文書、基準、及び薬局方に基づくものとし、本記事を基に行わないでいただきたい。

背景と歴史

ガイダンス文書に記載されていたエンドトキシン試験としてのリムルス(LAL)テストの規制の歴史に関する背景は、現在、AAMI/ANSI基準ST72:2002(R)2010 “Bacterial endotoxins Test methodologies, routine monitoring, and alternatives to batch testing(エンドトキシン試験法、日常的なモニタリング、バッチ試験の代替法)”の付属文書Aにも記載されている³。(ANSI/AAMI ST72は、FDAの医療機器・放射線保健センター[Center for Devices and Radiological Health, CDRH]が承認した基準とみなされている)。取下げに伴い、ウサギによる発熱性物質試験からBETに変更する場合の報告要件の記述が削除されるが、変更内容は一般に他のFDAガイダンス文書に記載されている。

FDA認可LAL試薬

ガイダンス文書には、エンドトキシンに用いるLAL試薬はFDAの生物学的製剤評価研究センター(Center for Biologics Evaluation and Research, CBER)の認可を得たものでなければならぬと規定されていたが、USPのBETには、全く同一の要件は記載されていない。BETでは、試薬は当局の規制に準拠して製造されたものでなければならぬと規定されており、LAL試薬は認可品でなければならぬという意味に解釈できる。ANSI/AAMI ST72基準には、試験に用いるLAL試薬はライセンスされたものでなければならず、米国ではCBERがLAL製品の認証を行うと規定されている。

対照エンドトキシン標準品(CSE)

本取下げとUSPに関する重要な点は、1987年のガイドライン規定されていたCSE(詳細は、付属文書Cに記載)が、BETには全く言及されていないことである。2001年にUSP BETが欧州薬局方と日本薬局方のBETとが国際調和された際、CSEに関する規定がUSPのBETから削除された。CSEの事項については、調和が公表された2000年1~2月のPharmacopeial Forum 26(1)に記載がある。本文の序文には、“The use of in-house standards shown to be equivalent to USP Reference Standards is permitted under the requirements for alternate methods in the General Notices [section of the USP]. The control standard endotoxin (CSE) has thus been deleted because in-house standards have to be shown to be equivalent to the USP Endotoxin RS (USP標準品と同等であることが証明されている社内標準品は、USP通則に記載の代替法における要件の下、その使用が認められる。社内標準品はUSPのエンドトキシン標準品と同等でなければならぬとの理由により、対照エンドトキシン標準品(CSE)の記載を削除した)”と記載されている。したがって、USPには、CSEの役割、要件を変える意図はないものの、CSEの使用が、BETの代替法とみなされることは明白である。米国規格協会(ANSI)/米国医療機器協会(AAMI) ST72基準には、エンドトキシン試験法におけるCSEの使用について記載されており、CSEの活性は、特定のロットのLAL試薬と組み合わせ測定した時の相対力価を算定し、記録しなければならないと規定されている。試薬の製造業者から相対力価が記載されている分析証明書を手に入れることができる。

エンドトキシン規格値、最大有効希釈倍数(MVD)、最小有効濃度(MVC)

1987年のガイドラインには、エンドトキシン規格値、MVD、MVCに関する解説文が掲載されている。BETには、エンドトキシン規格値とMVDの要点が記載されているものの、詳細な算出例は明記されていない。MVCの概念(MVDにおける製品の有効成分の濃度)は、BETで規定されていない。また、MVCは、ANSI/AAMI ST72基準の主な対象である医療機器に用いるパラメータではないため、本基準でも規定されていない。しかし、MVCは製品のエンドトキシン規格値や試験法の感度から直接算出できるので、ガイダンス文書の取下げによってMVCの妥当性や有用性が損なわれることはない。

試薬、試験室、分析(試験)技術員の適格性

ガイドラインでは、使用する試薬、試験室、及び分析(試験)技術員の適格性に関する記載があった。USPのBETでは、LAL試薬の各ロットの性能に関する検証について規定しているものの、試験室や分析(試験)技術員の適格性については言及していない。しかし、これらは一般的なGMP要件であり、USP<1226>は、公定書法の検証を対象としたものである⁴。

反応干渉因子試験

エンドトキシン試験法に関するガイダンス文書の取下げにより、反応干渉因子試験(ガイダンス文書の“inhibition and enhancement testing(反応阻害及び促進試験)”やBETの“test for interfering factors(反応干渉因子に関する試験)”に関するいくつかの推奨事項が削除された。これらの一部は全てのエンドトキシン試験に共通するものであるが、それ以外は医薬品及び生物学的製剤もしくは医療機器のそれぞれに固有の試験法である。これについては、以下の項目で解説する。

医薬品、生物学的製剤、医療機器に共通する反応干渉因子試験に関する事項

反応干渉因子試験における最終製品バッチ数 この事項に関する規定がなくなったのは、バリデーションが継続的なプロセスであるという見解と一致している。しかし、ANSI/AAMI ST72 基準では、少なくとも3バッチに対して最初の適格性評価/バリデーションのための試験を実施すべきであると規定しており、これは1987年のガイドラインと矛盾しない。興味深いことに、これはゲル化法の項目に記載されており、全ての方法に当てはまる全般的な項目には記載されていない。

光学的定量法に用いる製品陽性コントロール(Positive product control, PPC)の濃度 ガイドランスの取下げにより、2つのガイドランス文書とBET間の相違点がなくなり、混乱が解消された。

製品を用いて作成した検量線、ならびにその妥当性に関し明記されたパラメータ BETでは、被検試料による検量線の作成については特に規定していない。この考え方は、被検試料を適確に処理することにより対処できる一般的な規定に該当し適切なバリデーションを必要とする。製品による検量線については、欧州薬局方の5.1.10 "Guidelines for Using the Test for Bacterial Endotoxins(エンドトキシン試験法の実施に関するガイドライン)"⁶に、試験に干渉する試料の取り扱いとして記載されている。

医薬品及び生物学的製剤の反応干渉因子試験に関する事項

有効成分の濃度が複数表示されている製品 ガイドラインでは、特定の条件で(製品による検量線を用いる場合)最高濃度と最低濃度に関してのみ反応干渉因子試験を実施する旨、考慮されていた。他の文書にはこの件に係わる記載はない。

合否判定基準(Pass/Fail Cutoff, PFC)に基づく製品陽性コントロール(PPC)濃度の決定 1991年のガイドランス(Interim Guidance)とBETは、PPCに関する記載内容が異なっていた。今回の取下げは、本件に伴う混乱の可能性を解消する(合否判定濃度は、原液のエンドトキシン規格値とは対照的に、希釈後の試料溶液を対象としたものだった。)

試験すべき製品のバッチ数及び再バリデーションの実施時期 BETでは、試験結果に影響を及ぼす可能性のある条件を変更する場合、被検物質の(再)バリデーションが必要であると厳密に規定されている。

医療機器の反応干渉因子試験に関する事項

共通の化学組成に基づく医療機器の分類 この規定は、ANSI/AAMI ST72 基準に記載されている。

バッチ毎の被検試料数に関する推奨事項 医療機器に関する上記ガイドラインとUSP<161>に記載されている試料数には若干の差がある⁶。ロットサイズが30未満の場合、1987年のガイドラインでは、2デバイスの試験を認めており(ガイドラインを参照するANSI/AAMI ST72 基準においても同様)、USP<161>では3デバイス以上を試験するよう規定されている。ガイドランス文書は、再バリデーションについて規定していなかったが、この件に関するガイドランスがANSI/AAMI ST72 基準に記載されている。

製造原料のバッチを変更した際の反応干渉因子試験の実施 本記述はなくなりましたが、BETの一般的な要求事項に、試験結果に影響を及ぼす可能性の高い条件変更を伴う場合には反応干渉因子試験を実施すべきであると規定されている。

試験の実施

反応干渉因子試験の場合と同様に、FDAのガイドランス文書で規定されていた事項の一部は、医薬品、生物学的製剤、医療機器の試験(バリデーションではなく)の適格性(を担保するうえで)共通するものであり、一部はそれぞれに固有のものである。これらについて、以下に記載する。

医薬品、生物学的製剤、医療機器に共通する試験の事項

少なくとも試験当日における最初の試験(ゲル化法)には全濃度のエンドトキシン標準溶液を用いる ガイドラインでは、試験条件を変更する場合(LAL 試薬のロットの変更を含む)及び繰り返し試験の場合、全濃度の標準溶液を用いるべきであると規定していた。BETにおける限度試験では2濃度のみの陽性コントロールを用い、ゲル化法による定量試験では(試験毎に)全濃度の標準溶液を用いるよう規定している。また、BETでは、試験結果に影響を及ぼす可能性がある条件の変更を伴う際は、どのような場合においても、反応干渉因子の繰り返し試験(全濃度の標準溶液を用いる)を求めている。

光学的定量法における保存検量線 ガイドランス文書が取り下げられたため、保存検量線およびその妥当性を立証する薬事規制の内容を記載した規制文書、ガイドランスまたは基準はもはや存在しない。USP BETには保存検量線に関する記載はなく、光学的定量法による試験毎に、標準希釈系列が必要になる。ANSI/AAMI ST72 基準にも同様に、保存検量線に関する記載はない。したがって、本法は代替法とみなされ、しかるべきバリデーションを必要とする。

繰り返し試験 FDAのガイドランス文書では、再試験の回数を2回までとし、最初は、当初の試料を使用し、2倍の繰り返し数で実施し、その後、別に調製した10の試料溶液を用い、各試験が規格に適合しなければならないとしている。FDAガイドランス文書は2006年OOSガイドランスの前に発行されており、上記の再試験条項はOOSガイドランス(記載内容)と首尾一貫していない。今般の取り消しはこの矛盾を解消するものである。

医薬品及び生物学的製剤の試験に関する事項

出荷試験用バッチのサンプリング手法 1987年のガイドラインには、「被検試料の選定に必要なサンプリング手法と最小試験数、製品の製造手順やバッチサイズに基づくが、同一ロットから、生産開始、中間、終了時の最小3ユニットで試験を行わなければならない」と記載されている。本手法に関しては、BETに記載がなく、製剤のサンプリングについても、ANSI/AAMI ST72 基準に明記されていない。他の分野におけるサンプリングの場合でも同様であるが、各企業はサンプリング法と試験数の正当性を示すための根拠が求められる。

被検試料のプール BETには、被検試料のプールに関する記載はないが、1987年のガイドラインには、試料について個別に試験するか、プールされた試料を用いることが出来るとの記載があった。FDAは、プールされた試料を用いる場合は、最大有効希釈倍率(暗にエンドトキシン規格値を示す)をプールした数量に応じて減じる必要があるとの見解を、会議および配信情報にて繰り返し提示してきた。これは、試料の一つにエンドトキシンの混入(汚染)が認められ、残りの試料(非混入(非汚染))で希釈した場合においても、エンドトキシン規格値未満にはならないことを保証するためのものである。

LAL 試験不適合に伴う発熱性物質試験による再試験の禁止 試験不適合に伴う再試験に関しては、2006年のOOSガイドランス文書が有用である。

医療機器

エンドキシン規格値 もはや過去のものとなったが、1987年のガイドラインにはエンドキシン規格値の説明が記載されていた。この点で、ガイドラインの取下げにより可能性のある混乱の原因がなくなった。医療機器のエンドキシン規格値は、USP<161>にさらに明確に記載されている。残念なことに、ガイダンス文書の取下げにより、医療機器における規格値は以下の点を考慮しているとの説明も削除された。

1. 医療機器 10 デバイスのプール試料において検出されたエンドキシンは、全て 1 デバイスの医療機器に由来する可能性がある。この点は USP<161>に暗に示されており、エンドキシン規格値が 1 デバイス当たり 20 EU (髄腔内に用いる医療機器を除く; 当該機器の限度値は 2.15 EU/デバイス)と規定されており、抽出液の単位容積あたりのエンドキシン規格値を求める計算式が記載されている。この式は、プールされた試料に対して補正しておらず、医療機器 10 デバイスからの抽出液を混合した場合、その医療機器のうち 1 デバイスが約 200 EU で汚染されている可能性があるにもかかわらず、それ以外の医療機器が汚染されていなければ、プールした抽出液は規格に適合することになる。
2. 抽出手順の多くは 100%の抽出効率を与えないと認識されてきている。

抽出手順 取下げに伴って 1987年のガイドラインと USP<161>との不一致が解消された。しかし、AAMI ST72 基準に記載されている抽出手順は、ガイドラインに記載されていた手順と同じであり、依然として矛盾は残る。

付属文書 E

ガイダンス文書の取下げにより、投与量とエンドキシン規格値の一覧が記載されていた付属文書 E が消滅し、同付属文書、USP 医薬品各条ならびに申請時の規格値間における混乱の可能性が解消された。

結論

FDA のガイダンス文書の取下げによって、エンドキシン試験の様相が根本的に変わるということはなさそうである。ガイダンス文書の取下げにより、ガイダンス文書と USP の BET 間の矛盾(不一致)がなくなる。ガイダンス文書で規定されていたが、BET で規定されていない事項の多くは、試験室の通常の管理手順の一環であるべき GMP に関する事項である。これには分析(試験)技術員や試験室の適格性確認、試験すべき試料の数量、繰り返し試験に関する記載が含まれる。また、これらの事項の多くは、ANSI/AAMI ST72 基準に規定されている。

参考文献

1. Questions and Answers on Current Good Manufacturing Practices, Good Guidance Practices, Level 2 Guidance - Laboratory Controls <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm124785.htm>, accessed 7/18/2011.
2. <85> Bacterial Endotoxins Test, United States Pharmacopeia, Interim Revision Announcement of 2/25/2011. <http://www.usp.org/pdf/EN/USPNF/2011-02-2585BACTERIALENDOTOXINS.pdf>. Accessed 7/18/2011.
3. AAMI/ANSI ST72:2002/(R)2010, "Bacterial endotoxins—Test methodologies, routine monitoring, and alternatives to batch testing." Association for the Advancement of Medical Instrumentation, Arlington, VA.
4. <1226> Verification of Compendial Procedures (2010). United States Pharmacopeia 34, p. 782-783. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD.
5. 5.1.10. Guidelines for using the Test for Bacterial Endotoxins (2010). European Pharmacopoeia 7.0, p. 520 -523. European Pharmacopoeia Commission, Strasbourg, France.
6. <161> Transfusion and Infusion Assemblies and Similar Medical Devices (2010). United States Pharmacopeia 34, p. 117. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD.

資料請求先

〒104-0033 東京都中央区新川一丁目17-24
Tel. 03-3537-7913 Fax. 03-3537-9061
E-mail : lal@seikagakubb.co.jp
URL : <http://www.seikagakubb.co.jp/>

販売元



生化学バイオビジネス株式会社

〒104-0033 東京都中央区新川一丁目17-24