DG2015-16

Scientific Validation について考える

March 9-10, 2016

7th JBF Sympsuim

http://bioanalysisforum.jp/

DG2015-16 メンバー

- 芦澤 紘子(科研製薬)
  Hiroko Ashizawa
- 石井 琢帆(サンプラネット)
  Takuho Ishii
- 内村 隆秀(中外医科研)
  Takahide Uchimura
- 小関 望(杏林製薬)
  Nozomu Koseki
- 戸田 亜希子(新日本科学)
  Akiko Toda
- 副島 呉竹(富山化学)
  Kuretake Soejima
- 中井 直子(第一三共)
  Naoko Nakai
- 西村　直浩(SCAS)
  Naohiro Nishimura
- 真弓　剛(田辺三菱)
  Tsuyoshi Mayumi
- 安田　穣(TRC)
  Yutaka Yasuda
- 丹羽　誠(日本化薬)
  Makoto Niwa

Observer

- 佐野　善寿(JBF SC,エーザイ/サンプラネット)
  Yoshihisa Sano

http://bioanalysisforum.jp/

活動内容

Scientific Validation

目的に応じた適切な分析方法

確認　&　議論　するにあたり･･･　まずは

今回のポスター

EBF white paper の詳細な読み込みを実施

EBF white paper:
Tiered approach into practice - scientific validation for chromatography-based assays in early development: a recommendation from the European Bioanalysis Forum.
Bioanalysis, Vol 7, No. 18, Pages 2387-2398.

http://bioanalysisforum.jp/

おことわり

- この資料は2016年3月のシンポジウムで議論する目的で作成したものです.
- ディスカッショングループとして，まだ最終的な結論に達したわけではありませんので，その点，ご留意の上ご覧いただけますと有難く存じます.

http://bioanalysisforum.jp/

Scientific Validation

基本ポリシーの
パラメータ別　確認・検討

http://bioanalysisforum.jp/

1. Certificate of Analysis (1/2)

EBF Recommendation:

- ✓ 未変化体（早期試験，尿，組織）：
  COA有り，又は投与と同一バッチを標準物質とする
- ✓ 代謝物：不要

DG2015-16 Discussion:

- ✓ 未変化体（早期試験，尿，組織）：
  ROA有り又は投与と同一バッチを標準物質とする。
  未変化体でROAの無いケースは想定できない
- ✓ 代謝物： ICH-M3評価にはROA有りを標準物質とする。
  評価前の段階（評価の最初期）ではROAがないことがある

結論

・未変化体はROA有りを標準物質とする
・代謝物は文書化されたROAがない場合もある。投与と同一バッチの標準物質を用いるのは、解釈に注意が必要であるが、一連の測定の中での相対比較に限定すれば一つの手法となる。

http://bioanalysisforum.jp/

1. Certificate of Analysis (2/2)

投与と同一バッチ?

二つの評価ストラテジーが想定可能

1. 群間の相対比較

ゴールは相対比較、標準物質による定量化は通過点。

比較が出来ればよいので、標準物質はidentityが確かであれば良い。
早期のTKでは用量依存的暴露が確認できれば良いのかもしれない。

- 投与被験物質と同一ロットを標準物質とすることは不要

2. 絶対的な定量

投与量でノーマライズされるPKパラメータ(CL, Vd)については、
正確性が期待される。
早期の非臨床PKではこのシナリオもあるかもしれない.

- 投与被験物質と同一ロットを標準物質とする。

http://bioanalysisforum.jp/

2. CAL&QC: CALポイント数

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物，尿，組織：5ポイント以上
- ✓ 開発初期段階：6ポイント以上

「データのとり方とまとめ方—分析化学のための統計学とケモメトリックス」（共立出版）に検量線の推定精度から6以上が好ましいという記述有り．その根拠はt値とnの関係であるため，6以上が好ましいが，目指す精度によっては5も許容されると考察．

DG2015-16 Discussion:

- ✓ 精度面で教科書的観点から5ポイント以上が許容されると考察
- ✓ 実状、レンジによって経験的に決定（等比的に設定）→定量範囲によってポイント数を増やすことが推奨される

結論

・代謝物，尿，組織：最低でも5ポイント以上あれば問題無し
・開発初期段階：6ポイントであれば問題無し
・さらに点数減らせるとする意見論文の意義⇒継続検討課題

A Tan et al., Some unnecessary or inadequate common practices in regulated LC–MS bioanalysis,
Bioanalysis (2014) 6(20), 2751–2765

http://bioanalysisforum.jp/

2. CAL&QC: Acceptance Criteria (1/2)

EBF Recommendation　　DG2015-16 Discussion

	Pre-study validation	In- study method validation
代謝物・ 開発初期段階	真度 ±20%(LLOQ25%)以内 精度 20%(LLOQ25%)以内	管理範囲 20%(LLOQ25%) （QCサンプルの4/6、 同一濃度の一方がこの範囲に入る）
	・EBFでは、意味のない再実験を無くすことを重視し、Criteriaを広くすることを提案（20%に設定するが、結果的に15%に収まるだろう）。 ・Regulatory Validationと異なるものとして、異なる考え方で設定すること自体は理解できる。	

http://bioanalysisforum.jp/

結論

Accuracy & Precisionの「管理範囲」と捉えたとき、
20%(LLOQ 25%)に設定可能という考え方は理解できる。

2. CAL&QC: Acceptance Criteria (2/2)

EBF Recommendation　　DG2015-16 Discussion

	Pre-study validation	In- study method validation
尿・組織	真度 ±25%(LLOQ30%)以内 精度 25%(LLOQ30%)以内	管理範囲 25%(LLOQ30%) （QCサンプルの4/6、 同一濃度の一方がこの範囲に入る）
	・25%(LLOQ30%)では、広すぎる。＞EBF案を支持 ・組織内濃度測定でも15%、LLOQ20%で実施した事例が多い。 ・稀に組織内代謝物で物性により25%、LLOQ30%と設定することも。	

結論

25%(LLOQ30%)という基準は概況の把握で試験目的を達する状況でのみ採用可能。
その典型例が尿中排泄率（尿中排泄型であることの確認、腎クリアランスの大まかな把握）と組織内濃度（血漿組織濃度比の把握）と考える。
試験目的によっては、より狭い管理範囲が適切。

http://bioanalysisforum.jp/

2. CAL&QC - DG2015-16 discussion

尿・組織のCriteriaは25/30%で問題ないのか?

- 25%(LLOQ30%)は広すぎるのではないか。
- そもそも15%(LLOQ20%)はどこから来たのか？
  - → CC-Iのとき，当時のHPLCによるメソッドの精度(ヒストリカル)を調べて，妥当な管理範囲として設定したとの話を聞いたことがある。
- そもそもが何であれ，それ以降の経験によって受け入れられてきた基準。
- 統計的な意味を持たせられるという意見もある。
  - → N=6でのCVが15%であれば、測定値の95%予測区間幅は ±t(0.05,5)×CV×√(1+1/n) つまり ± 42(%) の範囲内であり、TKの主目的である用量暴露関係(通常公比は2以上)の評価に適する。
- この論理を踏襲するとCV20%では95%予測区間幅56%、CV25%では83%である。CV25%が広いという感覚は理解できる。
- どうせ15%に入るというスタンスも理解できるが、LBAと統合し20%にしてtotal errorで縛る手法の検討価値はない？(検討に時間かかりそう)

http://bioanalysisforum.jp/

2. CAL&QC: QC Level/Reps (1/2)

EBF Recommendation　　DG2015-16 Discussion

	Pre-study validation	In- study method validation
代謝物・尿・組織	Low/Mid/High（LLOQなし） n=3以上	Low/Mid/High n=2以上
	• 高感度測定法が必要な場合、LLOQの評価が必要。 • In studyで外挿を想定するならULOQを入れるべき。 • n数を増加（3→5）させた方がCV的には良いのでは？	• 5%ルールも組み込む？n=3にすれば、CVを算出できる点で良いと思う。 • 異論なし。真度の許容範囲を広げている：これ以上甘くすることはできないのでは？

http://bioanalysisforum.jp/

結論

Pre-study
基本線は3濃度：LLOQのQC確認は必要な場合あり（高感度追及のとき）
In-study
EBF 推奨 に合意　3濃度 n=2、5%ルールは最低要求とはしない

2. CAL&QC: QC Level/Reps (2/2)

EBF Recommendation　　DG2015-16 Discussion

	Pre-study validation	In- study method validation
開発初期段階	LLOQ/Low/Mid/High n=5以上	Low/Mid/High n=2以上
	・BMV-Gと同じ。 Qualified method ではこの設定を推奨にとどめているが・・・	検体数が多いときの5%ルールはどうするのか？

結論

Pre-study
EBF 推奨 に合意

In-study
EBF 推奨 に合意, 5%ルールは最低要求とはしない

http://bioanalysisforum.jp/

2. CAL&QC: LLOQ

EBF Recommendation　　DG2015-16 Discussion

	Pre-study validation
代謝物・尿・組織	As defined by acceptable LLOQ 検量線の真度で決める 判定基準：代謝物 25%，尿・組織 30%
	EBF 推奨 に合意
開発初期段階	As defined by acceptable LLOQ QC standard QC結果で決める。判定基準：25%
	QCでの確認は必要だと考える. ただしCriteriaは25%で本当に問題ないのか議論有り.

http://bioanalysisforum.jp/

結論

代謝物・尿・組織　EBF 推奨 に合意

開発初期段階　シンポジウムで議論したい.

2. CAL&QC:Matrix CAL/QC identical

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物，開発初期段階：Yes
- ✓ 尿，組織：Yes or Matrix Matching

DG2015-16 Discussion:

- ✓ Yesが基本
- ✓ 組織・尿はMatrix Matching（血漿添加）やサロゲートマトリックス（生食など）使用がありうる

結論

Yesが基本だが，組織など状況によりmatrix matching も可能

http://bioanalysisforum.jp/

2. CAL&QC: CALとQC別ストック調製

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物：不要
- ✓ 尿，組織，開発初期段階（未変化体想定）：
  別途ストックの真度を確認しない場合は必要

DG2015-16 Discussion：

- ✓ 各々調製し結果を比較しなければ、ストックが正しく調製されているのか否かを確認できず、測定値の信頼性に影響を与えかねない。
- ✓ EMA、FDA draftでは各々調製する旨が記載されているが、日本BMVでは未記載。 ストックの調製ミスをする可能性は低いので、調製方法次第では不要では？

結論

ご意見をお寄せください

シンポジウムで議論したい

http://bioanalysisforum.jp/

3. Inter-assay Variability (1/2)

EBF Recommendation　　DG2015-16 Discussion

	Pre-study validation	In- study method validation
代謝物・尿・組織	Use scientific judgement based upon P&A of 1-run validation	Use scientific judgement
	• 1 runを基本にUse scientific judgementで異論はない。 • 明らかに1 runでよい状況として実測が1 runで終了するケースも議論したが、実績としてそれほど高頻度ではなかった。	• 目的に応じて設定すべきなので,「Use scientific judgement」とすること自体に異論はないが、尿と組織の許容範囲25%(LLOQ30%)は甘すぎるのではないか.

http://bioanalysisforum.jp/

結論

EBF 推奨 に基本的には合意
日内が基本、必要に応じて日間を実施

3. Inter-assay Variability (2/2)

EBF Recommendation　　DG2015-16 Discussion

	Pre-study validation	In- study method validation
開発初期段階	Use scientific judgement based upon P&A of 1-run validation	Use scientific judgement
	• 日間なしで本当に良いか疑問？（臨床など） • 必要に応じて日間を実施したほうがよいのでは？	• 「Use scientific judgement」に異論はない。

結論

必要ならpre-studyで日間を行うが、In-studyでしっかり確認するのであれば日間なしもありうる。
Precision & Accuracy のみでなく、他からも総合的に評価。

http://bioanalysisforum.jp/

4. Selectivity

EBF Recommendation　　DG2015-16 Discussion

	Pre-study validation
代謝物・開発初期段階（動物）	Blank matrixはn=1以上
	・実験動物の個体差は比較的小さいことを考えると，n=1は妥当だろう。 ・測定対象が複数ある場合（未変化体と代謝物等）は，一方の化合物が他方の化合物の測定に影響しないかを確認しておく必要がある.
尿	Blank matrixはn=1以上
組織	Blank matrixはn=1以上
	組織中濃度に特化したWhite paperあり by EBF（Bioanalysis (2014) 6(12), 1647–1656）。その中で，Phase 2代謝物（抱合体）は血漿中濃度が低いため測定が困難になることや安定性の問題（サンプル処理中に抱合代謝物が脱抱合して未変化体に戻ることがある）ため濃度の正確性に欠けることがある旨の記載あり。正確には選択性のことではないが、留意する必要がある。
開発初期段階（臨床）	Blank matrixはn=6

http://bioanalysisforum.jp/

結論　EBF 推奨 に合意（n≧1、臨床 n≧6）　規定数以上なら良い

4. Selectivity:DDI併用薬存在下の選択性

EBF Recommendation:

✓ DDI併用薬存在下の選択性評価は不要

DG2015-16 discussion：

EMA guideline（概略）

干渉を起こす可能性のある通常用いられる併用薬は、Pre-study validation で検討するか、またはwithin-studyで評価されなければならない。

FDA draft guidance（概略）

複数の測定対象物質を定量する場合、内因性夾雑物、代謝物、分解物、併用薬および生体異物がお互いに干渉しあわない事を確認する必要がある。

✓ 血中濃度が段違いのとき，影響しそうになった経験複数あり
（経験はいずれもin-study、併用あるいは先行投与薬）

✓ 「一律不要」でなく「状況によって」と表現できないか。

✓ 代謝物が関係する場合もありPre-studyで検出できるか疑問あり。

結論

EBF 推奨は最低線の提示として合意するが、
考慮すべき状況については継続議論。
シンポジウムでも議論したい。

ご意見をお寄せください

http://bioanalysisforum.jp/

5. Stability:保存溶液安定性

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物：判定基準100±20%を基準に必要最小限の検討
- ✓ 尿，組織：他の試験結果を参照
- ✓ 開発初期段階：確認するか，用時調製

DG2015-16 discussion：

- ✓ 基本的に安定性を確認する（安定性を評価又は用事調製すれば問題ないが，毎回秤量することは現実的でない）.
- ✓ 判定基準について，基本的には100±15%の前提で代謝物100±20%と思われる.

http://bioanalysisforum.jp/

結論

基本的に安定性を確認する.
（未変化体については開発プロセスの中で溶液安定性データも計画的に取得していく）

5. Stability:生体試料凍結融解安定性

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物:実施せずISSで検証
- ✓ 尿，組織:1 cycleのみ実施
- ✓ 開発初期段階:他の安定性試験に含めて実施

DG2015-16 discussion:

- ✓ 必要ない、という意見は少数.
- ✓ Cycle数は要検討(必要な回数:1cycle以上).
- ✓ In-studyで実施する場合の議論:
  - 並行保存QCを置き，必要回数凍結融解する.
    ⇒かえって手間がかかるかもしれない.
  - ISSを実施する.
    ⇒新たに見つかった代謝物も網羅的に確認できるという意味はある.

結論

評価方法は要検討だが，
他の安定性試験と併せて評価することを推奨

http://bioanalysisforum.jp/

5. Stability:生体試料凍結保存安定性

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物：実施，判定基準は±20%
- ✓ 尿，組織：不要
- ✓ 開発初期段階：他の安定性とまとめて実際のサンプル保存期間に合うように実施

DG2015-16 discussion：

- ✓ 代謝物の判定基準±20%（真度及び精度の許容幅に合わせる）は理解できる.
- ✓ 尿は試験目的による．マスバランス試験で正確性を求めるなら必要.
- ✓ 組織は尿と同じ考え方.

http://bioanalysisforum.jp/

結論

試験目的に応じて，
保存状況での安定性を検証できるように実施する.

5. Stability:全血中安定性

EBF Recommendation:

✓ 不要（既知の問題となる化学構造がない限り不要*）

血液中安定性試験に関するEBFのWhite paper

（Bioanalysis (2011) 3(12), 1333–1336）

（概略）血漿中と全血中の安定性が一致しない確率は低い（報告されている化合物全体の5%以下）がゼロではなく、血漿による安定性評価は血液中の予測として適切でない場合がある。安定性に不一致があるケースの大半は，問題となる既知の化学構造を有する。

そこで一動物種でまず血液中安定性を評価し不安定性が示唆されたときのみ各動物種で評価するようにしてはどうか。

DG2015-16 Discussion：

✓ 問題となる化学構造がない限り不要とする考察に異論はない.

結論

EBF推奨に合意

http://bioanalysisforum.jp/

5. Stability: 生体試料Bench-topと前処理後安定性

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物，尿，組織：不要
- ✓ 開発初期段階：他の安定性試験に含めて実施、前処理後は Scientific judgement

DG2015-16 Discussion：

- ✓ 独立した項目として実施する必要性は低い（他の安定性試験と併せて実施可能）.
- ✓ 組織は採取方法と併せてケースバイケースで考える.
- ✓ 不安定であれば検量線やQCで検出可能と考えられる.

http://bioanalysisforum.jp/

結論

EBF推奨に合意。他の安定性試験と併せて評価することを推奨.

5. Stability:FDC、OTCの安定性

EBF Recommendation

- ✓ 多剤混合剤、OTC薬存在下における安定性評価は不要

DG2015-16 Discussion

- ✓ 併用薬の場合と同様の考え。
- ✓ 併用薬がある場合の安定性についてGCCが行った調査では，併用薬が分析対象の安定性に影響を及ぼすという科学的な証拠は認められなかった（Bioanalysis (2012) 4(17), 2117–2126）

結論

EBF推奨に合意

http://bioanalysisforum.jp/

6. IS variability (実試料測定)(1/6)

EBF Recommendation

	In- study method validation
代謝物・ 尿・組織	Use scientific judgement
開発初期段階	Visual inspection及びStd, QC試料中における 最小最大のIS area (Ref_{low}, Ref_{high})を用いて フローを設定。 但しScientific judgementは常に必要。 Bioanalysis (2014) 6(20), 2767–2774 EBF 6th Open Symposium (21st Nov. 2013 Barcelona) Dealing with Internal Standard Variability – Towards a Recommendation

http://bioanalysisforum.jp/

6. IS variability (実試料測定)(2/6)

EBF Recommendation:

クロマトグラムの異常確認

↓

IS areaを注入順にplotし異常発生の傾向を確認

散発的発生

↓

以下の場合，異常値として再測定し、再測定値を採用

1. IS area >2 × Ref_{low}または IS area <10%Ref_{low}

2. IS area <50% Ref_{low}かつ測定値がLLOQ未満

特定のtime pointまたは被験者ごとなど”群単位”での発生

↓

IS area >2 × Ref_{high}または<50%Ref_{low}の場合，Matrixの影響を検討し，再測定の必要性を判断(Pre-dose matirxで調製したQC試料の測定，Std・QC調製用のblank matrixでの希釈等）

これらで対処できそうにない場合，
個別に基準設定(Std・QCのIS area 平均値とSDを使用等)
妥当性についてはScientific judgementが必要

Bioanalysis (2014) 6(20), 2767–2774より概略

http://bioanalysisforum.jp/

6. IS variability (実試料測定)(3/6)

DG2015-16 Discussion：

- ✓ そもそも必要なのか
  回収率，注入量，MEの影響を補正する目的でISを添加しているはず。
- ✓ とはいえ実際50-200%を超えてドリフトするとSIL-ISでも定量性が疑わしい経験がある。
- ✓ Scientific Validationでは他の項目のカバーも担っているので，どの幅が適切？
- ✓ 他の項目をカバーするには±20%程度がよいが現実的ではない.

結論

シンポジウムで議論したい

http://bioanalysisforum.jp/

6. IS variability (実試料測定)(4/6)

溶血の影響・高脂肪血の影響評価について

EBF Recommendation:

- ✓ 溶血・高脂肪血の影響はISの変動で確認
- ✓ 検討は不要、IS変動率で考察する。

DG2015-16 Discussion

- ✓ IS変動で評価する際のクライテリアはどうするのか？
- ✓ IS変動が正常である確認は可。異常値は異常値対応でよいのでは？
- ✓ 溶血は定量性，安定性に影響する話は聞くが経験はなく、一般的な懸念点としないで良いのでは？
- ✓ 実施せずで異論なし（注意は払うが，測定の採否に直接反映しない）。

結論 EBF推奨に合意

http://bioanalysisforum.jp/

6. IS variability (実試料測定)(5/6)

マトリックス効果

EBF Recommendation:

- ✓ Pre-studyでは実施せず，in-studyの日内IS変動幅で確認

DG2015-16 Discussion：

- ✓ IS変動幅でマトリックス効果の確認可、クライテリアは設定困難？
- ✓ ISにSILを用いる場合、IS変動幅確認は不要では？
- ✓ IS responseに検量線と実サンプル間で差が生じるケース等、定量性が疑わしいケースでは、pre-studyにて個体別添加試料による評価が必要ではないか。

http://bioanalysisforum.jp/

結論

IS変動幅の考え方と共にシンポジウムで議論したい

7. Others: 回収率

EBF Recommendation:

- ✓ 不要

DG2015-16 Discussion：

- ✓ 不要（バリデーション項目としては必要ない）

結論

不要
バリデーション項目としては必要ない

http://bioanalysisforum.jp/

7. Others: キャリーオーバー

EBF Recommendation:

- ✓ Pre-study実施せず，in-studyで確認（影響評価）

DG2015-16 Discussion：

- ✓ Carryover有無はメソッド開発段階にわかる．リスクあれば評価し対策という流れとなる．
- ✓ 評価項目としてはPre-study validationで実施しないが、in-studyで対応するものと理解する．

結論

EBF推奨に合意．
メソッド開発でリスク検出したときの積極対応は必要だが何もないときの最小対応はin-studyにおける確認と理解。

http://bioanalysisforum.jp/

7. Others: ISR

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物，尿，組織：不要
- ✓ 開発初期段階：動物種毎、測定法毎1回必要（n=20）

DG2015-16 Discussion：

- ✓ ISR実施数　n=20の根拠は？2009年　EBF white paper公開時の見解

→臨床検体：n=20が最低必要本数(FDA,EBA)

✓ISRを実施する意義を考えて適宜対応で良いのでは？

→意義：「添加試料と実サンプルは同じではない。QC試料の結果が実サンプルの結果を反映しないこともある」

実サンプル（Incurred Sample）の再測定を実施して，その再現性を評価＝ ISR

結論

EBF推奨の考え方は理解. 代謝物、尿、組織は不要。実施する意義を考えて適宜対応で良いと考える。

http://bioanalysisforum.jp/

7. Others: 希釈の妥当性

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物，尿，組織，開発初期段階のいずれにおいてもPre-study実施せず，in-studyで必要となったとき実施.

DG2015-16 Discussion：

- ✓ やはりpre-studyで確認したほうが良いという意見あり
- ✓ In-studyで確認する際はULOQ以上のサンプルを調製するのか？など実施方法に疑問が挙げられた. →具体的評価方法については別途検討.

結論

基本的にEBF推奨に合意.
・SAD試験などの状況でpre-study実施することは妨げない（重要度、希釈率からのリスクを評価）.

http://bioanalysisforum.jp/

7. Others: 試料採取方法

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物（血漿想定）：不要
- ✓ 尿：容器，吸着防止措置を考慮し検証
- ✓ 組織：採取・調製方法を明確化
- ✓ 開発初期段階：他の安定性とまとめて確認

DG2015-16 Discussion：

- ✓ 予備検討で吸着の影響や安定化剤添加の必要性は当然確認しておくべき。

結論

EBF推奨に合意

http://bioanalysisforum.jp/

7. Others: 検量線の外挿

EBF Recommendation:

- ✓ 科学的に正当化できるなら可

DG2015-16 Discussion：

- ✓ 許容誤差範囲幅の外挿は許容されるはず
  - ✓例）Accuracy Criteria 20%のときにULOQの120%まで
- ✓ 重要なデータは希釈再測定すべき
  - ✓重要度に応じて（Scientific judgement）

http://bioanalysisforum.jp/

結論

EBF提案「科学的に正当化できるなら可」には合意
但し重要なデータの希釈再測定は妨げない.

7. Others: 異常値の再測定

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物，尿，組織：実施しない
- ✓ 開発初期段階：n=2の追加測定を認める

DG2015-16 Discussion：

- ✓ 代謝物，尿，組織：Scientific judgementが妥当ではないか
- ✓ 再測定値の取扱いに関してはメンバー間で異なった。[逐次方式（初回と再測定の乖離がある時のみ3回目に進み、近い2値の平均などと、n=2再測定と初回値の合計n=3の中央値方式]

http://bioanalysisforum.jp/

結論

必要なら実施する（Scientific judgement）.
再測定手順の実態をシンポジウムで聞きたい.

7. Others: コントロール群ポジ

EBF Recommendation

- ✓ in duplicate.
- ✓ （Anomalous result reportと同じ扱い？）

DG2015-16 Discussion

- ✓ Anomalous result reportと同じ扱いで基本的には理解可
- ✓ 中央値採用は一般的か？→逐次判断と中央値採用の事例数は半々で逐次判断のケースもあり → 再測定のSOPによる.

結論

基本的には理解：再測定手順により正当化する

http://bioanalysisforum.jp/

7. Others: バリデーション試験計画書・報告書

計画書

EBF Recommendation:

- ✓ 代謝物，尿，組織，開発初期段階のいずれにおいても：確認するパラメータを示すSOP又は短い計画書（少なくとも）

DG2015-16 Discussion：

- ✓ 具体的内容は共有できなかったが、簡略化すべきという方向性は同意

報告書

EBF Recommendation:

- ✓ 検討されたパラメータの要約（少なくとも）

DG2015-16 Discussion：

- ✓ 簡略化の方向性は同意。簡略化の程度には温度差があり、試験責任者による違いが大きい。現時点では試験責任者の裁量に任せて良い.

結論 EBF推奨に合意

http://bioanalysisforum.jp/

8. Miscellaneous (1/3)

留意点の類ですが細かい内容が多く議論しきれていません。
会場のご意見をお聞かせください。

Pre-study	EBF Recommendation	DG2015-16 Discussion
代謝物	Consider longer run time instead of specificity experiment 選択性を考慮する代わりに、長いRun timeとする事も可能	科学的に左記のコメントは理解できる。比較的長めにしておけば妨害ピークがかぶるリスクが抑えられるのは分かるが、許容できる最長時間にしておけばよいのか？最長時間はどのくらい？等、一概に決めるのは難しい。
尿	n = during meth dev. Non-specific binding/sampling conditions and aliquoting 測定法検討段階での容器への吸着評価、吸着防止条件検討あるいは分注回数への配慮。非特異性結合（吸着性），採尿条件，採取条件に注意する	n = during meth dev. との記載があるが、これは頑健性検討の意味も含まれるのでは？ EBFの記述では条件検討（最善の条件を規定する）に力点がある。

http://bioanalysisforum.jp/

8. Miscellaneous (2/3)

留意点の類ですが細かい内容が多く議論しきれていません。
会場のご意見をお聞かせください。

Pre-study	EBF Recommendation	DG2015-16 Discussion
組織（ホモジネート）	Calibration matrix may be a Surrogate	代替マトリックスがPlasmaやPBSだった場合は、検量線についてはそちらの基準にあわせることが可能となるが、それでよいか？
代謝物	Selectivity by dilution of incurred samples 希釈の意味がつかめず　尿由来の夾雑の見極めか？ →　著者に質問してみる	実サンプル測定時に選択性の問題が発生した際，実サンプルを希釈して夾雑ピークが減少するか否かを確認することにより，夾雑ピークがサンプル由来であることを確認することをさしているのか？ 実サンプル測定時に夾雑ピークが認められた場合，夾雑ピークが定量に影響しない程度まで，実サンプルをマトリックスで希釈して再測定する方法のこと？

http://bioanalysisforum.jp/

9. まとめ (1/5)

1. COA :

未変化体は少なくともROA必要。代謝物はROA無しの場合、相対評価実施は概ね受入可。M3試験ではROA必要。

2. CAL&QC:

検量線ポイント数: EBFに合意。5ポイント以上は受入可。ただし定量範囲によりポイント数増加を推奨。

検量線許容基準: EBFに合意。20/25%（尿、組織は25/30%）5ポイント75%以上は受入可。試験目的により狭く設定も可。

QC許容基準: EBFに合意。Pre-Studyで非血漿 3濃度、血漿4濃度、N数は代謝物、非血漿：3、血漿：5、In-studyはn=2。検体数の5%以上ルールは最低要求とはしない。

LLOQ：EBFに合意。血漿はPre-studyでQC評価、他はCAL

http://bioanalysisforum.jp/

9. まとめ (2/5)

2. CAL&QC（続き）

QCマトリクス：

同一マトリクスが基本。代用等は試験目的による。

QCとCALを別々に調製：

科学的に必要と考えられるが、記録があれば手技的に問題ないのでは？ ご意見お聞かせください。

3. 日間変動：EBFに合意。日内のみの確認、必要に応じて日間実施。またwithin-studyの結果を利用することも可。

4. 選択性：EBFに合意。臨床血漿 n=6、他は n=1

DDI選択性： EBFでは必要なしだが、議論の余地有。

ご意見お聞かせください。

http://bioanalysisforum.jp/

9. まとめ (3/5)

5.安定性:

保存溶液安定性:EBFに合意。安定性確認は必要。用事調製の選択肢在り。Criteriaは未変化体は±15%、代謝物は±20%

凍結融解安定性:必要回数に応じて実施。

凍結保存安定性:血漿中代謝物は実施(±20%)、尿は精密なマスバランスを目的とするときは必要、組織は不要。

全血中安定性: EBFに合意。問題となる化学構造を含まなければ不要。

前処理後、Bench top安定性:必要により他安定性共に評価

併用薬安定性(OTC、FDC): EBFに合意。個々で確認で良い。

http://bioanalysisforum.jp/

9. まとめ (4/5)

6. IS変動値:

In-studyで評価することはOK。Criteria?(含文献調査)

高脂血漿、溶血の影響: EBFに合意、IS変動で評価、Criteria ?

マトリクス効果: In-studyのIS変動で確認は困難? Criteria ?

ご意見お聞かせください。

7.その他

回収率:EBFに合意。必要なし。

キャリーオーバー:EBFに合意。In-studyで確認(影響評価)。

希釈:EBFに合意。必要に応じてIn-studyの評価。

試料採取方法: EBFに合意。予備検討での確認必要。

ISR:EBFに合意。代謝物, 尿, 組織は不要、血漿は開発初期に種毎1回、n=20は受入可。

http://bioanalysisforum.jp/

9. まとめ (5/5)

7.その他 （続き）

再測定（Control群posi含）：必要に応じて実施、会場意見募集

ご意見をお寄せください

検量線外挿：EBFに合意、科学的根拠による（<ULOQ+20%）

試験計画書、報告書：簡略化の方向性は一致。SDの裁量。

結論

合意の得られていない項目も多数あります。
是非ご意見をお寄せください。

http://bioanalysisforum.jp/