



Alternativní mikrobiologické metody zkoušení a jejich validace

Ing. Ivana Kohoutová

Státní ústav pro kontrolu léčiv

Obecné pojmy z praxe a předpisů

- Validace – obecně ověření, že metoda nebo proces poskytuje trvale výsledek podle specifikace
- Kvalifikace – ověření většinou přístroje a jeho správné funkčnosti
- DQ, IQ, OQ, PQ
- Kalibrace – nastavení měřidla podle etalonu
- Zkouška vhodnosti metody pro daný účel
- Zkouška ekvivalence metody s lékopisnou metodou
- Validace výroby – ověření výrobního procesu
- Media fill – validace výroby vzhledem k mikrobiologické kvalitě

Validace metody laboratorního zkoušení

- 👁 Účel validace – **stanovení správného rutinního postupu**
- 👁 Validační kritéria – stanovení validačních parametrů (**co chceme ověřit** – specifitu, opakovatelnost,)
- 👁 Validační parametry – konkrétní parametry a jejich hodnoty (**čeho chceme dosáhnout** - specifita 95 - 100%, detekční limit 0,05 IU,)
- 👁 Výsledky validace – splnění parametrů nebo jejich úprava (např. detekční limit 0,1 IU) nebo odmítnutí metody

Validace metody

- Validace **lékopisné** metody se nepožaduje
- Zavádění lékopisné metody** – prokazuje se **vhodnost pro daný účel** a ověření metody v dané laboratoři (**transfer metody**, přezkoumání původní validace – jen vybrané parametry a nižší počet vzorků)
- Alternativní metody se musí validovat**
- Alternativní mikrobiologické metody jsou většinou rychlé, jsou často prováděné na složitých zařízeních, používají různé knihovny dat, neustále se rozvíjejí
- Jedna sada výsledků měření – lze získat hodnoty různých parametrů**

5.1.6 Alternativní metody kontroly mikrobiologické jakosti (AMM)

- ☞ Struktura článku – úvod, principy metod a validace metod
- ☞ **Nově** – použití AMM v PAT (technologie analýzy procesu) pro **mezioperační kontrolu a monitoring prostředí**
- ☞ **3 typy zkoušek podle použití** – kvalitativní, kvantitativní a identifikační, validační parametry jsou dány užitím
- ☞ Nemusí být korelace mezi výstupem a lékopisnými kritérii přijatelnosti – nutno validovat a stanovit ekvivalenci

- 🌀 **Všeobecné principy metod** – metody založené na růstu, přímé měření, detekce buněčných komponent
- 🌀 **Výběr metody** – rychlost stanovení, destrukce buněk možná, potřeba následné identifikace, existuje vhodná knihovna (lze rozšiřovat uživatelem?), relevance výstupu a požadavku
- 🌀 **Popis metod v článku** – princip, kritické aspekty, možné užití

- 👁 **Validace AMM** – primární a pro daný účel
- 👁 Součástí validace je popis principu metody (dodavatel) a zvážení rizik a přínosů (uživatel)
- 👁 Primární validace – typ vzorku a jeho ošetření (roztoky, ředění, zahřátí....), typ odpovědi, specifita, detekční limit, limit kvantifikace, rozsah, linearita, preciznost (dříve přesnost) a správnost, robustnost
- 👁 Validace pro daný účel (např. sterilita) – specifikace požadavků uživatelem, ověření primárních validačních parametrů, DQ, IQ, OQ a PQ zařízení nebo technologie

- 👁 PQ – 1. ověření primární validace (ověření s kontrolními kmeny – lékopisnými, z prostředí, „stressed“, pomalu rostoucími)
- 2. ověření pro zamýšlený účel např. zkoušku na sterilitu (zkouška vhodnosti metody pro daný LP, limit a rozsah detekce vzhledem ke vzorku, specifita odpovědi v přítomnosti vzorku, linearita odpovědi v přítomnosti vzorku, preciznost a správnost s ohledem na typy vzorků)
- 3. zkouška rovnocennosti (paralelní porovnání s lékopisnou metodou nebo metodou obvyklou pro monitoring)

- ☉ Stanovena **validační kritéria** pro jednotlivé typy metod v tabulce Tab. 5.1.6-2 (kvalitativní, kvantitativní, identifikační)
- ☉ Kvalitativní a kvantitativní zkoušky – vždy **zkouška vhodnosti** (za přítomnosti LP) a **zkouška rovnocennosti** s lékopisnou zkouškou (paralelní testování)
- ☉ **Příklady validací konkrétních metod odstraněny** – příklady validací jsou uvedeny na webu EDQM <https://www.edqm.eu/sites/default/files/brochure-pheur-examples-validation-protocols-alternative-microbiological-methods-2018.pdf>
- ☉ **Tyto příklady nejsou doporučením a nemohou být uváděny jako referenční**

Shrnutí

- 👁 **Validace pro daný účel** – specifikace požadavků uživatelem, ověření primárních validačních parametrů, DQ, IQ, OQ a PQ zařízení nebo technologie – splývá validace metody a kvalifikace zařízení (která se ovšem musí periodicky opakovat)
- 👁 DQ – obsahuje účel použití a princip metody, popis zařízení
- 👁 IQ, OQ – ověření funkčnosti zařízení
- 👁 PQ – ověření funkčnosti zařízení pro danou metodu se zkušebními kmeny (ověření primární validace), ověření se zkušebními kmeny za přítomnosti LP (validace pro daný účel, zkouška vhodnosti)

Shrnutí

- 👁️ **Validační zpráva obsahuje** – validační kritéria včetně jejich žádaných hodnot, způsob provedení zkoušení včetně úpravy vzorků (návrh rutinního postupu, podmínky zkoušení), počet zkoušených vzorků, zkušební kmeny, výsledky, výpočtové vzorce pro validační parametry, výsledné hodnoty parametrů a závěr
- 👁️ Pro další produkty/matrice se již nemusí dělat ověření primární validace (ale validační zpráva primární validace musí být součástí dokumentace), ověří se jen další LP za přítomnosti zkušebních kmenů (zkouška vhodnosti)
- 👁️ Nové zařízení nebo zařízení v jiné laboratoři → nová validace (DQ, IQ, OQ, PQ) 😊

Možná úskalí při použití AMM

Možná úskalí

- jiný typ signálu než lékopisná kritéria přijatelnosti (např. CFU x AFU)
- relevance – živý neznamená životaschopný (CFU)
- vliv matrice vzorku
- destrukce MO (nemožnost následné identifikace)
- používání jinak než doporučuje výrobce (platnost primární validace poskytnuté výrobcem neplatí)
- knihovny (rozsah a validace knihoven)

Příklady použití

- NAT - zkouška na mykoplazmata, sterilita, identifikace MO
- bioluminiscence – monitoring vody, vzduchu
- autoluminiscence – monitoring vody, meziprojektu, vzduchu
- detekce plynu, turbidimetrie – zkouška na sterilitu
- na webu EDQM jsou zatím tyto typy validací:
 - rychlý test na sterilitu
 - kvantitativní test cytometrie v pevné fázi
 - PCR pro identifikaci

Validace metod AMM – jak na to

👁 ELK (Evropská lékopisná komise) – snaha pomoci při zavádění AMM → revize čl. 5.1.6 a vytvoření příkladů validací

👁 PEI (Paul Ehrlich Institut) – workshop 2019 se zástupci výrobců

vznikla myšlenka databáze validovaných AMM

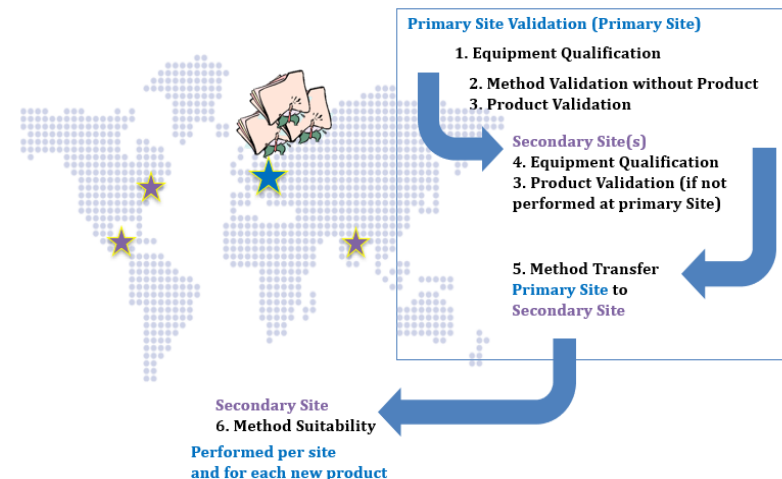
👁 BioPhorum – sdružení výrobců LP a technologií

👁 setkání zástupců BioPhorum, EMA a EDQM 2019 (setkání s FDA 2018)

problémy s validacemi – náročnost, přenositelnost (lékopisy, ISO normy, EU GMP pokyny), (ne)přijetí různými autoritami

Validace metod AMM – jak na to

- 👁 primární validaci nelze slepě přijmout pouze od dodavatele metody – uživatel si musí ověřit parametry
- 👁 společná primární validace metody několika subjekty – stále se hledá řešení akceptovatelné pro authority
- 👁 návrh řešení v rámci firmy:



je tento model použitelný pro různé firmy?

Validace metod AMM – jak na to

- ☉ Dále na co myslet:
- ☉ při zavádění metody vždy mít na zřeteli „worst case“ vzhledem k výrobnímu procesu a k použití u pacienta
- ☉ výběr kontrolních kmenů – např. kontrola specifity by měla zahrnovat místní enviromentální kmeny
- ☉ ředění u zkoušky na sterilitu by mělo být max. 1/10 pro přímou inokulaci
- ☉ je vhodné používat 3 opakování zkoušky pro jeden zkušební kmen

Validace metod AMM – jak na to

- 👁 primární validace AMM musí být obsažena v registrační dokumentaci každého produktu (nelze se jen odvolávat na jinou dokumentaci)
- 👁 růstové zkoušky pŕod ready-to-use – nutno nejméně doplnit o lékopisné kmeny a vhodné doplnit o enviromentální kmeny a „stressed“ kmeny
- 👁 BWP – Biological quality working party EMA – přijala výzvu od BioPhorum a bude se dále o tuto problematiku zajímat a komunikovat se zástupci výrobců
- 👁 lékové agentury jsou vstřícné k zavádění AMM



Děkujeme za pozornost

STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV

Šrobárova 48, 100 41 Praha 10

tel.: +420 272 185 111

fax: +420 271 732 377

e-mail: posta@sukl.cz