

出國報告（出國類別：研究）

赴美國貝塞斯達參與2017年「生物製劑產品分析方法驗證確效等管制規範之訓練研習」

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：侯郁琦技士

派赴國家：美國

出國期間：中華民國106年3月15日至3月19日

報告日期：中華民國106年5月26日

摘要

有鑒於近年來隨著社會進步，生活水準提高，民眾逐漸重視對藥品品質要求。如何管制藥品品質，確保其有效性及安全性，保障民眾健康，一直被視為國際關注之議題與持續達成之目標，國際亦持續針對該議題提出最新資訊與方法，此亦為本署持續努力維持之標的，並隨時掌握國際發展趨勢，期能與國際接軌。

本次奉派赴美國貝塞斯達參與2017年「生物製劑產品分析方法驗證確效等管制規範之訓練研習」，為期兩日課程，集結來自各國製造廠及相關檢驗機構等品質管制專家共同參與，學習分析方法之建立、驗證及確效等管制流程與規範、導入風險評估概念執行分析方法之驗證及確效、不符合事項之處理案例與應變機制等內容，課程十分精實與詳盡。分析確效等管制規範之目的即確保分析方法之準確性及可靠性，建立良好檢驗方法，係管控產品品質之基礎，故本次研習有助於研究方法之規劃與方法設計與建立，提升本署建立檢驗方法之能力，完善國家生醫藥物品質檢驗研究評估體系，保障民眾用藥安全。

目次

一、前言及目的.....	1
二、行程紀要.....	2
三、研習內容.....	3
四、心得與建議.....	23
五、附錄.....	25

一、前言及目的

隨著科技進展神速，研發技術日新月異，單株抗體藥物、新興蛋白質藥物、細胞治療藥物等新興生物藥品亦不斷推陳出新，為因應國際生物藥品研發趨勢與潮流，本署持續精進檢驗技術以建立疫苗等生物藥品之效價試驗、含量測定法、鑑別試驗法等品質檢驗技術，另配合動物試驗 3Rs(減量(Reduce)、精緻化(Refine)與取代(Replace))精神及國際潮流，本署亦持續開發非活體檢驗方法，期能與國際接軌。

於檢驗方法開發及建立時，除需完成最佳條件測試，最重要係進行分析方法驗證、確效與確認等步驟，以證明所建立或開發之檢驗方法適用性。為提升本署檢驗品質與管制技術，完善新興藥品檢驗評估體系，奉派參與 2017 年「生物製劑產品分析方法驗證確效等管制規範之訓練研習」，收集國際間最新分析方法驗證及確效策略與技術。

本次研習課程於美國無菌製劑協會 (Parenteral Drug Association, PDA) 舉辦，其係非營利組織，成立於 1946 年，主要發佈全球最新藥品及生物製劑製造與管制等相關科學與技術之資訊，並著重於無菌製劑相關議題，該協會不定期舉辦相關訓練課程與會議，供各界提升專業技能與知識，並藉交流將新知傳播於國際，期能提供病患高品質製劑與保障其用藥安全。此外，該協會亦會不定期公告對國際最新議題之觀點，並彙整相關檢驗技術與規範等資訊之精華，出版成學術書冊或文章供各界作為重要參考資料。PDA 總部及訓練與研究機構位於美國馬里蘭州貝塞斯達，於歐洲與亞洲亦設有分部，如德國、新加坡、台灣等，而本次參與研習地點為該協會位於美國馬里蘭州貝塞斯達之訓練與研究機構。

本次研習進行兩日訓練課程，內容包含分析方法之建立、驗證及確效等管制流程與規範、導入風險評估概念執行分析方法之驗證及確效、不符合事項之處理案例與應變機制等資訊，主要分為七章節進行說明，期藉此次研習能深入了解國際對分析方法管制之規範，並可藉由所學應用於本署研究檢驗業務，提升檢驗

技術能力與生物藥品管理效益，確保產品安全，保障民眾健康。

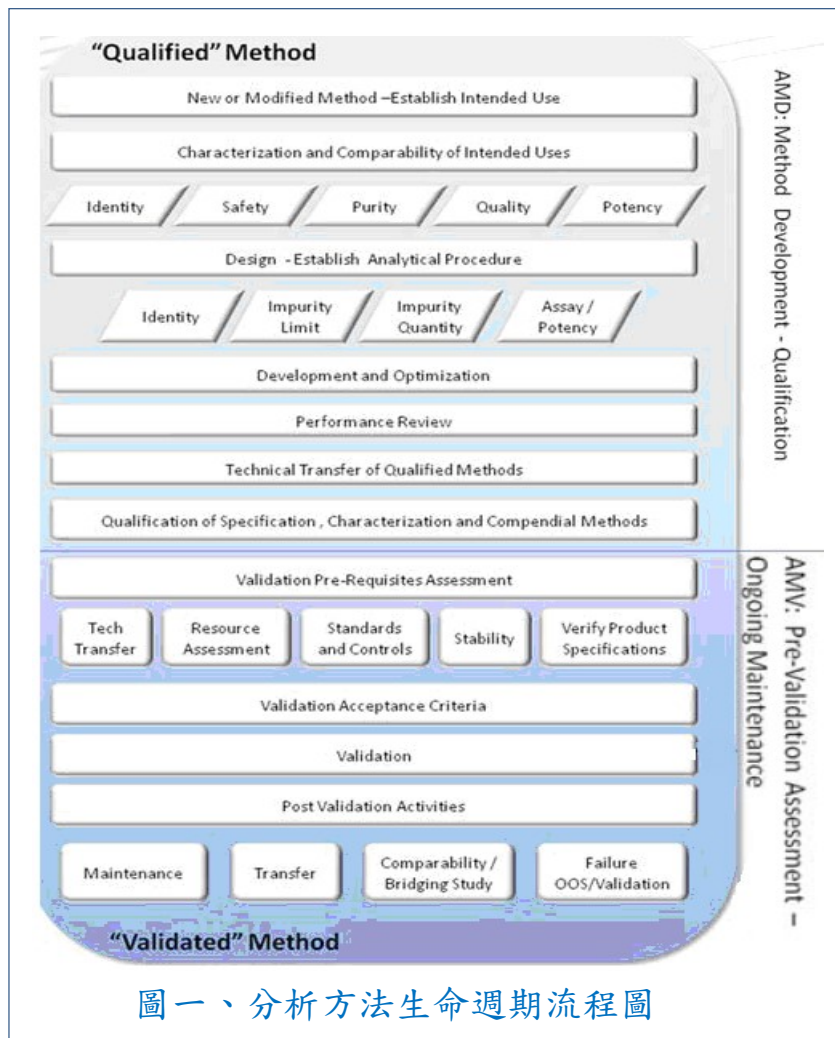
二、行程與工作紀要

本次奉派於106年3月15日啟程赴美國馬里蘭州貝塞斯達參與2017年「生物製劑產品分析方法驗證確效等管制規範之訓練研習」，並於3月19日返抵台灣。行程與工作紀要如下表：

日期	行程/工作紀要
106年3月15日	啟程(台北至美國馬里蘭州貝塞斯達)
106年3月16日	第一日研習課程： 第一章-分析方法驗證概論 第二章-分析方法建立 第三章-分析方法確效(Analytical Method Validation, AMV) 第四章-分析方法轉移(Analytical Method Transfer, AMT)
106年3月17日	第二日研習課程： 第五章-分析方法之比較性(Analytical Method Comparability, AMC) 第六章-分析方法維持(Analytical method maintenance, AMM) 第七章-AMV 結果不符合事項之處理說明與機制
106年3月18日至19日	返程(美國馬里蘭州貝塞斯達返回台北)

三、 研習內容

本次研習內容共分為七章，主要包含分析方法驗證概論、分析方法建立、確效、轉移、比較性試驗等，概念源自於國際藥品法規協和會（International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH）制定之Q2(R1)-分析方法確效作業指導(Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology)，該指引係參考歐洲、日本及美國等藥典規範並協和化各別差異後訂定，雖內容已列出分析方法驗證相關執行步驟、條件與名詞解釋等，PDA則將指引內容延伸，進行深入探討及舉例，並將重點精簡，彙整為圖示或表格說明，如PDA將完整分析方法生命週期(包含方法建立、確效與後續應用)彙整於淺顯易懂流程圖(圖一)，即本次研習課程之主軸。



圖一、分析方法生命週期流程圖

(資料來源：PDA講師Dr. Stephan O. Krause上課簡報)

(一) 第一章-分析方法驗證概論：

主要係專有名詞解釋、定義與彼此差異，相關專有名詞如分析方法建立(Analytical

Method Development, AMD)、分析方法驗證(Analytical Method Qualification, AMQ)、分析方法確效(Analytical Method Validation, AMV)、分析方法確認(Analytical Method Verification)及分析平台技術(Analytical Platform Technology, APT)等，以下條列說明，並彙整相關說明與特性於表一：

- 分析方法驗證(AMQ)：係於分析方法建立後，進行分析方法確效前執行相關試驗以提供分析方法可靠性與保證其精準度之過程，該試驗結果之執行報告包含分析方法之規格，惟該規格僅供參考，因 AMQ 執行過程雖與分析方法確效相似，然較為粗略，因此若須訂定嚴謹規格應進一步執行分析方法確效。
- 分析方法確效(AMV)：係提供相關試驗與佐證以證明該分析方法之適用性，其執行過程較 AMQ 更為正式且嚴謹。AMV 設定規格亦較嚴格，該規格稱為允收標準(acceptance criteria)，設定時應導入風險評估概念。當所有 AMV 執行完成且皆通過允收標準後，該分析方法適用性評估才得以完整。
- 分析方法確認(Analytical Method Verification)：僅適用於確認依照藥典或已核准之分析方法操作試驗時，能取得可信賴且良好準確度之試驗結果。其中若為收載於藥典之方法，該藥典應為已出版之版本，且執行分析方法確認時，應完全遵照藥典方法執行；若為已核准之分析方法，其應源自已被認可之來源，如公定分析化學家協會(Association of Official Analytical Communities, AOAC)公告之方法，或先前已經確效且核准之方法用於相似產品之情形，此部分涉及分析平台技術之執行。執行時應使用實際實驗數據進行評估，並導入風險評估概念。
- 分析平台技術(APT)：係先前已經確效、核准並經確認評估可適用於相似產品之分析平台，執行時應評估產品種類及規格之相似性與差異性。該技術之確認應如同上述分析方法確認，應使用實際實驗數據進行評估，並導入風險評估概念，以取得可信賴且良好準確度之試驗結果。

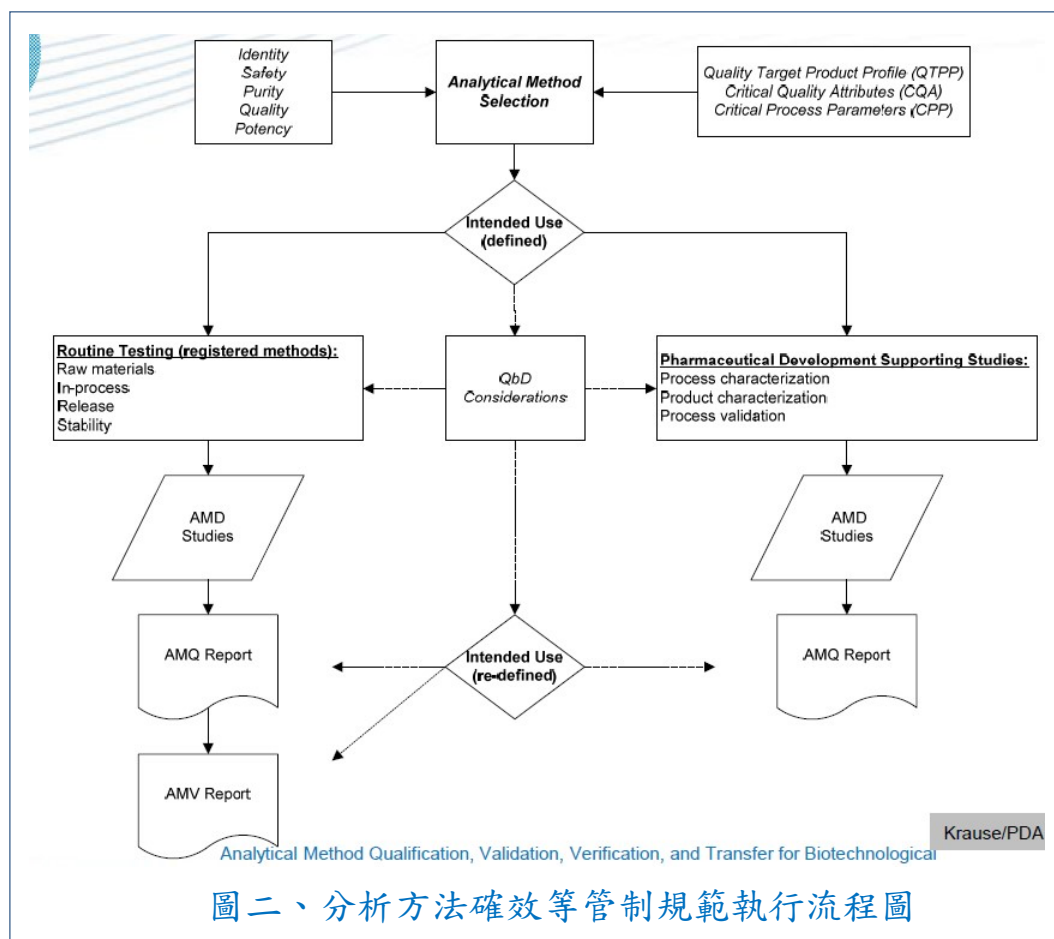
表一、AMQ/AMV/分析方法確認定義說明與特性：

Applicability and Requirements	Analytical Method Qualification	Analytical Method Validation	Analytical Method Verification
Definition	Summary of Method Development and Optimization Results (AMD = AMQ)	Formal protocol and report for initial license submission and amendments	Verification of suitability of validated and approved method (with laboratory data)
Using an Approved Standard Procedure	Not Required	Not Required	Required
ICH Q2(R1) Characteristics Covered	Most Characteristics	All Characteristics	System Suitability (specificity, accuracy, precision as appropriate)
Protocol Acceptance Criteria	Suggested	Required	Recommended

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

執行分析方法確效時，大致流程為(圖二)：首先依照欲分析產品之鑑別、安全性或純度等項目或依照目標藥品的品質概況(Quality Target Product Profile, QTPP)、關鍵品質

特徵(Critical Quality Attributes, CQAs)或關鍵製程參數(Critical Process Parameter, CPP)等，選定適合之分析方法進行評估，評估可分為三條途徑：途徑 1.以例行試驗進行分析→進行 AMD 研究→執行 AMQ 並產出報告→執行 AMV 並產出報告；途徑 2.藥品品質設計(Quality by Design, QbD)→再次確認預分析條件後→AMQ→執行或不執行 AMV，此途徑亦可參與途徑 1 或途徑 3；途徑 3.製劑發展支持研究：考量製程特性、產品特性與製程確效等→AMD→AMQ。

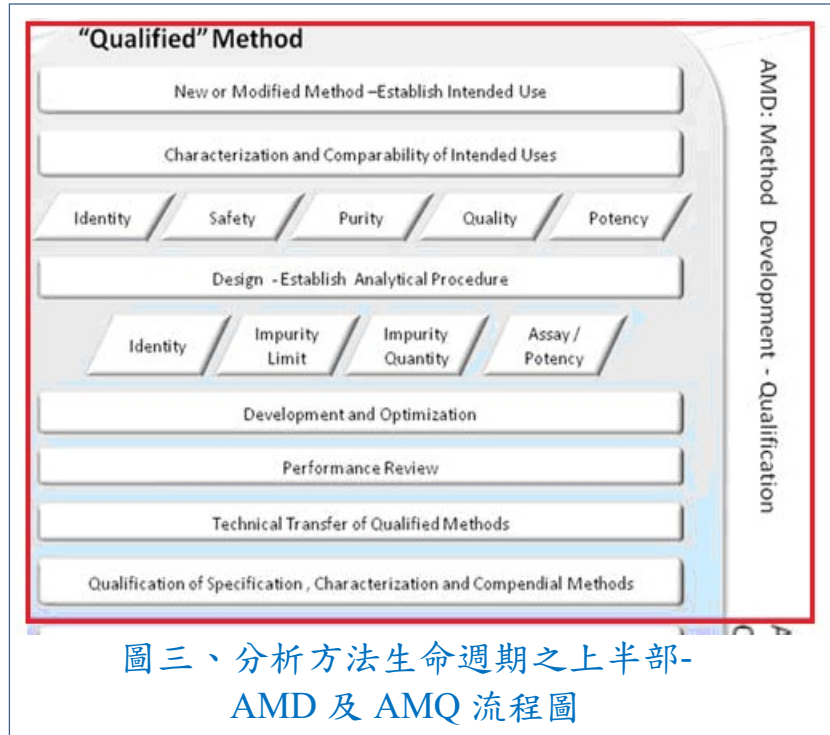


圖二、分析方法確效等管制規範執行流程圖

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

(二) 第二章-分析方法建立：

建立分析方法時，應依照欲分析產品之特性，並依上述流程步驟(圖二)建立 AMD 及 AMQ，此部分位在分析方法生命週期之上半部(圖三)，即分析方法設計與驗證。此外，亦可參考 ICH 制定之指引建立分析方法，本次研習內容主要係參考 ICH Q2(R1)內容。



(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

ICH制定之指引可依照欲分析物之適用範圍分為Q1至Q11等與藥品製劑、原料藥及新藥成分相關之檢驗方法與確效指引，而Q2(R1)為其中之一，其適用於原料藥及製劑之分析方法確效。ICH Q2(R1)係由早期Parent Guideline: Text on Validation of Analytical Procedures(由Q2演進為Q2A)及其補充文件Guideline on Validation of Analytical Procedures: Methodology developed to complement the Parent Guideline(Q2B)等2份指引經彙整與重新命名後，於2005年11月發表。內容包含分析方法確效的特性項目，如專一性(Specificity)、線性(Linearity)、範圍(Range)、準確度(Accuracy)、精密度(Precision，包含：可重複性(Repeatability)、中間精密度(Intermediate Precision)和再現性(Reproducibility))、最低檢測濃度(Detection limit)及最低定量濃度(Quantitation limit)等，目的在於確認該分析方法適用性。然該指引不一定適用於世界各國產品進出口之檢驗方法，亦非作為完成分析方法確效之依據，僅作為協和歐美日藥典規範之各別差異所訂定之參考文件。

ICH Q2(R1)主要列舉4種(I-IV)較普遍之分析方法：第I類-鑑別試驗(Identification tests)、第II類-不純物定量試驗(Quantitative tests for impurities' content)、第III類-不純物管制限度試驗(Limit tests for the control of impurities)及第IV類-原料藥或製劑或其他欲分析成分之活性成份含量試驗(Quantitative tests of the active moiety in samples of drug substance or drug product or other selected component(s) in the drug product)等，並將各類別對應之相關分析條件彙整如表二，亦可依欲分析物之特性與分析條件新增相關分析試驗，如藥物溶離度試驗(dissolution testing for drug products)及藥物粒徑分析試驗(particle size determination for drug substance)等，此部分之說明亦可參考前行政院衛生

署公布之現行藥品優良製造規範－分析確效作業指導手冊，該手冊亦參照ICH Q2A及Q2B之內容制訂而成。另，PDA亦將表二內容新增範例說明(表三紅框處)，亦將第IV類解釋為活性成分之效價試驗或含量試驗，並分為-純度及範圍(表三黃框處)。

表二、ICH Q2(R1)主要列舉4種(I-IV)較普遍之分析方法：

Type of analytical procedure	IDENTIFICATION	TESTING FOR IMPURITIES		ASSAY
characteristics		quantitat. limit		- dissolution (measurement only) - content/potency
Accuracy	-	+	-	+
Precision				
Repeatability	-	+	-	+
Interm.Precision	-	+(1)	-	+(1)
Specificity (2)	+	+	+	+
Detection Limit	-	-(3)	+	-
Quantitation Limit	-	+	-	-
Linearity	-	+	-	+
Range	-	+	-	+

- signifies that this characteristic is not normally evaluated

+ signifies that this characteristic is normally evaluated

(1) in cases where reproducibility (see glossary) has been performed, intermediate precision is not needed

(2) lack of specificity of one analytical procedure could be compensated by other supporting analytical procedure(s)

(3) may be needed in some cases

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

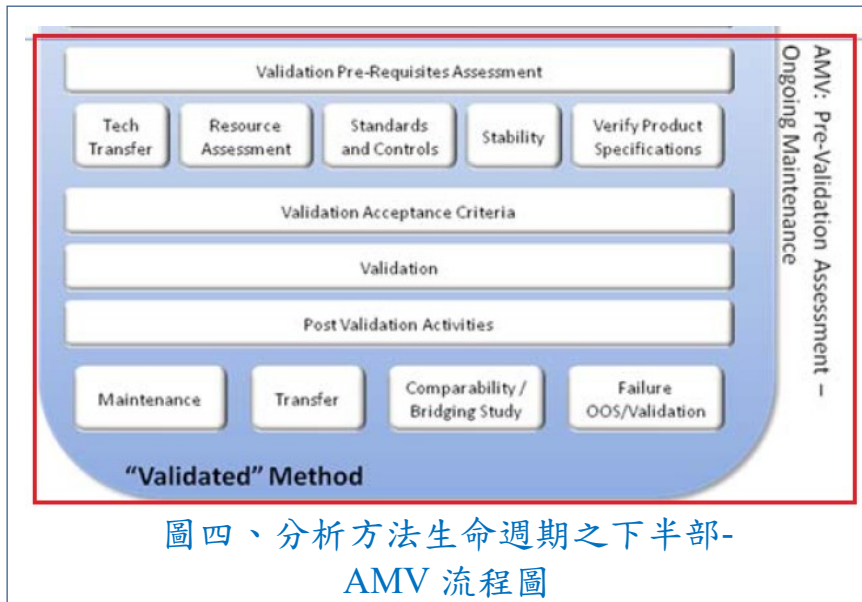
表三、4類分析方法(I-IV)之範例說明：

ICH Q2(R1) Category No.	I	II	III	IVa	IVb
Type of Analytical Method	Identification Test	Quantitative Limit Test	Qualitative Limit Test	Potency or Content (Purity)	Potency or Content (Range)
Product Specification	Present/Absent (Pass/Fail)	NMT 20%	Less than 5%	NLT 80%	40 - 60%
Accuracy	No	Yes	No	Yes	Yes
Repeatability Precision	No	Yes	No	Yes	Yes
Intermediate Precision	No	Yes	No	Yes	Yes
Specificity	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Linearity	No	Yes	No	Yes	Yes
Assay Range	No	Yes	No	Yes	Yes
Limit of Detection	No	No	Yes	No	No
Limit of Quantitation	No	Yes	No	No	No

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

(三) 第三章-分析方法確效：

完成AMD及AMQ，並持續進行優化試驗後，可進入分析方法確效步驟，此部分為分析方法生命週期之下半部(圖四)。執行AMV前，應針對欲執行之分析方法規劃實驗設計，並建立AMV計畫書以利實驗進行。執行AMV時，應依欲分析物之特性進行確效試驗，整理相關實驗數據及參考歷史數據，並導入風險評估概念，以制定分析方法之允收標準，最後產出AMV執行結果報告。



圖四、分析方法生命週期之下半部-AMV 流程圖

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

1. 建立AMV計畫書：

計畫書中應詳細說明確效目的(含欲分析物之介紹)、實驗內容、材料及儀器設備、執

行步驟、歷史分析數據、確效項目及允收標準之設定、評估規格之合理性等內容，並由執行AMV單位之品質主管審核，經核准後方能進行AMV試驗。下列舉例建議要件(表四)，可作為納入作業流程之參考範例。

表四、AMV計畫書建議要件

Section No.	Section Title	Subsections
NA	<i>Protocol Approval</i>	Protocol Title; Signatures with Job Titles
NA	<i>List of Protocol Sections</i>	Table of Content; List of Figures (if applicable); List of Tables
1	<i>Introduction</i>	Intended Use and Sample(s) Description
2	<i>Method and Product/Process, Description</i>	Brief Description; (Target) Specifications
3	<i>Materials, Equipment, and Instrumentation</i>	Materials; Equipment; Instrumentation
4	<i>Historical Assay Performance</i>	Summary of Historical Data for Assay Control, samples, process capability, design space limits (if available), prior platform technology method performance (if applicable).
5	<i>Validation Characteristics, Design, and Acceptance Criteria</i>	Validation Prerequisites (if applicable); Validation Characteristics, Study Design, Sample Preparation, Acceptance Criteria
6	<i>Validation Execution Matrix</i>	Visualized Execution Process Map(s) and/or Execution Matrix Tables (see Table 4.1.10-1)
7	<i>Data Analysis</i>	Calculation Samples; Proposed Statistical Tests
8	<i>List of Procedures and Guidelines</i>	NA
9	<i>List of Attachments</i>	NA

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

➤ 執行AMV試驗：

依據ICH Q2(R1)已明列各分析方法確效之評估項目，用以監測此分析方法系統之能力。PDA將ICH Q2(R1)內容彙整，並分述說明各項目最低應達到需求及允收標準表示方式(表五)，並僅列舉部分項目進行介紹。

表五、分析方法確效之評估項目與最低應達到需求及允收標準

ICH Q2(R1) Characteristic	Minimum Requirements Per ICH Q2(R1)	Typical AMV Results Reported	Acceptance Criteria Should be Developed for the Following Results
Accuracy	Minimum of 9 determinations over the specified range (3 concentrations/3 replications each).	Mean % recoveries for each concentration, Overall % recovery.	Mean % recoveries for each concentration, Overall % recovery.
Repeatability Precision	Minimum of 9 determinations over the specified range (3 concentrations/3 replications each) and a minimum of 6 determinations at 100% of test concentration.	Mean(s), standard deviation(s), CV(s), appropriate number of significant digits to be reported. Confidence Interval(s) for SD(s).	Standard deviation(s) and/or CV(s).
Intermediate Precision	Use an Intermediate Precision Matrix, 3 levels for each factor is recommended. Two levels are a required minimum. Data should be analyzed by ANOVA. Other and/or additional approaches should be justified.	Factor standard deviations and CVs, factor means, Individual and overall p-values of factors associated with ANOVA, overall CV, difference between most extreme factor means. Confidence Interval(s) for SD(s).	Overall CV, Individual and overall p-values of factors associated with ANOVA, Difference between most extreme factor means for $p < 0.05$.
Reproducibility Precision	Needed when different locations will perform testing. Minimum of 3 determinations for each factor for each laboratory.	Factor standard deviations and CVs, factor means, Individual and overall p-values of factors associated with ANOVA, overall CV, difference between most extreme factor means. Confidence Interval(s) for SD(s).	Overall CV, Individual and overall p-values of factors associated with ANOVA, Difference between most extreme factor means for cases when $p < 0.05$.
Specificity	Provide evidence that analyte and matrix interferences are negligible.	P-value of difference testing, means, standard deviations and/or CVs, difference between most extreme factor means.	p-value for difference testing, Difference between most extreme factor means for $p < 0.05$.
Detection Limit	Base on visual approach or signal-to-noise (3:1 or 2:1) or standard deviation of response and slope or other justified approach.	Detection Limit, calculations or graphical representation of Detection Limit.	Detection limit.
Quantitation Limit	Base on visual approach or signal-to-noise (10:1) or standard deviation of response and slope or other justified approach.	Quantitation Limit, calculations or graphical representation of Quantitation Limit.	Quantitation limit.
Linearity	Minimum of 5 concentrations; Justify other approaches.	Scatter plot of individual data points, r (or r^2), y-intercept, slope, residual (error) sum of squares.	Minimum r or (r^2) value.
Range	Consider these minimum ranges: Active ingredient: 80-120% of test conc. Impurities: reporting level to 120% of upper specification limit.	Usually derived from Linearity. Range is the assay range over which the assay provides acceptable Linearity, Accuracy, and Precision.	Minimum required Range. Within the Range, all acceptance criteria for Linearity, Accuracy, and Precision must be passed.

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

1. 準確度：係用來表現檢測值與理論值之接近程度，利用已知量之參照標準品添加進檢品，以分析其回收百分率值(實際值/理論值) $\times 100\%$ 。該項目可應用於重複性、線性、範圍及最低檢測濃度等項目評估。
2. 精密度：係重複檢體在特定條件下執行分析方法後，量測值之間接近程度，常使用標準差(standard deviation, SD)、變異係數(coefficient of variation, CV)及信賴區間(Confidence Interval)表達。
 - 2.1 可重複性：在同日內利用相同操作條件取得之精密度，通常可作為中間精密度之目標數值，如：可重複性精密度為 2%，而中間精度結果為 10%，會盡可能找出中間精密度誤差來源，並改進以接近 2%(重複性精密度)之結果。
 - 2.2 中間精密度：亦稱為實驗室內再現性(within-lab reproducibility)，意即試驗方

法於同一實驗室不同日、不同操作者或不同設備操作之預期精密度。通常中間精密度之相對標準偏差與可重複性相等或較大，由於中間精密度相較可重複性評估個多變因，且可能隨著變因之特性使變異性增加，惟上述提及應盡可能找出改善空間以接近重複性精密度數值。執行中間精密度試驗應取決所使用之分析方法及已鑑別之風險因子，並建立隨機條件對其試驗之影響，且每一變因以 3 套組為佳(如：若為操作者變因，則應有 3 個操作者進行測試)，最少應為 2 套組。PDA 舉例該試驗設計之方法如表六：

表六、中間精密度試驗設計之範例

Sample	Day	Operator	Instrument
3x	1	1	1
3x	1	2	2
3x	1	3	3
3x	2	1	2
3x	2	2	3
3x	2	3	1
3x	3	1	3
3x	3	2	1
3x	3	3	2

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

- 2.3 再現性：亦可稱為實驗室間再現性(between-lab reproducibility)，意即不同實驗室之間使用相同實驗流程所呈現之精密度，通常為實驗室間共同性研究，適用於分析方法標準化，而當僅有一個實驗室進行方法分析確效時，此為非必要條件。當要將分析方法予以標準化時，例如將分析方法納入藥典時，應考量該方法之再現性。此部分與AMT有相關聯性，因實驗室之間分析方法轉移時須考量受方是否完整接收該分析方法，為確保受方執行該分析方法之正確性，須執行一系列評估條件，而再現性即為評估條件之一。
3. 專一性：當試驗出現干擾成分（含雜質、分解物及基質等）時，能明確的評估標的分析物(有效成分)的能力。可利用空白溶液(僅含基質)與檢品分別進行相同試驗，比較兩者試驗結果，以測定基值與標的分析物之間分離能力，證明該分析方法之專一性。此外，可利用已知或可能之雜質添加至檢品與未添加雜質之檢品分別進行相同試驗，比較兩者測定結果，可能可獲取檢品干擾物之測定。
- 有關偵測極限、含量限度、線性與範圍等項目，則參考ICH Q2 (R1)及藥典之規範。

➤ 制定AMV允收標準

1. 合理性

制定允收標準時，應平衡兩點對立條件，第一點為依據分析方法過程及能力儘量設定嚴謹之允收標準，但若太過嚴謹，則執行試驗時較難以通過該項規格，於進行確效時，亦有執行上困難。第二點若條件放太寬，則導致任何試驗結果都可被納入，條件形同虛設。在設定允收標準時，應考量任何影響試驗準確度之潛在的變異性來源及民眾安全疑慮的影響等，以設定該分析方法之最適當允收標準。如製程變異性應考量採樣、運送、儲存及批次間之差異形，並可利用下述公式進行評估：

$$[\sigma \text{ mfg process observed}]^2 = [\sigma \text{ analytical method}]^2 + [\sigma \text{ mfg process actual}]^2$$

2. 以風險評估的概念設定允收標準

執行風險評估可基於目標規格及既有之經驗（如產品歷史檢驗數據、產品或相似品之製程等）作為參考，亦可將可預期之不良影響作為考量PDA依分析方法與產品類型訂定風險評估指數，由高至低依序分為A、B、C、D、E等5種類型(表七)，並提出每種類型面對風險時，應如何應對之相關建議，研究者可依欲分析產品特性與條件之實際情形選擇適當類型。其中A類型風險指數最高，最需要大量研究資料，由於該類係執行新分析方法與新產品之研究，較無歷史數據供參考，亦較無法明確得知產品與分析方法之間特性關係，故充斥不確定性與風險，須進行完整分析方法確效。而B類型則次之，係使用新分析方法於已確效之產品，須進行完整分析方法確效與分析方法之比較性試驗(Analytical Method Comparability, AMC)。相較於A、B類型，C、D類型則不須注入太多研究，因該類使用之方法為過去已熟知且經核准之分析方法，僅須執行部分確效或確認。E類型的風險指數最低，因該類使用之方法係依據藥典方法執行，惟實際使用於待測樣品之檢驗時仍須執行分析方法確認。上述分類僅列舉一般情形，故僅作為參考資料，仍須考量實際情形適時調整確效試驗內容，如雖依據藥典方法執行無菌試驗(即E類型)，然其風險可能因其偽陰性試驗結果對病人影響嚴重度而提升。

表七、導入風險概念之AMV類型：

AMV Class Description			Typical Risk / Uncertainty Level (1=Low, 5=High)	Suggested Prospective AMV Studies
AMV Class	Analytical Method	Product / Process Sample		
A	New	New	4-5	Full Validation
B	New	Old (Validated)	3-4 ^a	Full Validation Plus AMC Studies
C	Analytical Platform Technology—minor change(s) ^b	New	2-3	Partial Validation
D	Old (Validated)	New	1-2	Partial Validation or Verification
E	Compendial	New	1-2	Verification per USP <1226>

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

➤ 建立 AMV 執行結果報告

上述 AMV 條件皆執行完畢後，應建立一份完整的試驗執行結果報告，內容應能對應 AMV 計畫書項目，提供確效與計畫偏差之總結、確效試驗之原始數據及報告結論等內容，且須持續監控檢測參數是否達到預其結果，並更新報告書內容，最後由該執行單位之品保主管審核，經核准後方能建立完整 AMV 計畫。下列舉例建議要件(表八)，可作為納入 AMV 報告之參考範例。

表八、AMV 執行結果報告建議要件

Section No.	Section Title	Subsections
NA	<i>Report Approval</i>	Report Title; Signatures with Job Titles
NA	<i>List of Report Sections</i>	Table of Content; List of Figures (if applicable); List of Tables
1	<i>Validation Summary</i>	NA
2	<i>Protocol Deviations</i>	NA
3	<i>Materials</i>	Materials; Product Lot Numbers; Reagent Lot Numbers
4	<i>Results and Discussion</i>	Validation Parameters; Results (Table and Text); Statistical Test Summaries; Discussion of Results
5	<i>Conclusions</i>	NA
6	<i>Data Analysis</i>	Calculation Samples (if not done in Protocol); Statistical Software; Sample Data Output(s)
7	<i>List of References</i>	NA
8	<i>List of Attachments</i>	NA
9	<i>AMV Matrix, Acceptance Criteria, and Results</i>	Table with Column Headings: Validation Characteristics, Validation Design, Sample Preparation, Acceptance Criteria, and Results

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

(四) 第4章-分析方法轉移(Analytical Method Transfer, AMT)：

此部分係產品生產過程或取得許可證後，分析方法轉移、技術性步驟轉移或新實驗室執行品質管控放行及/或安定性試驗等情形，目的在於證明接收方實驗室能有資格使用轉移方實驗室所建立之分析方法。AMT階段包含執行初步評估與準備接收方實驗室接收試驗方法之內容、建立方法轉移計畫書及提供分析數據之適當計算工具等，最後須產出方法轉移報告，此部分於美國藥典<1224>Transfer of Analytical Procedures及藥典分析方法轉移指引已有相關說明。

通常試驗轉移策略可分為3種：共同確效(Co-validation)、比較試驗(Comparative study)及效能確認(Performance Verification)等，PDA針對AMT彙整出相關條件與特性之允收標準(表九)。

1. 共同確效：轉移方與受方皆參與AMV研究，此類型通常發生於試驗方法週期之早期階段。
2. 比較試驗：由轉移方與接收方分別執行檢驗，並設定相同允收標準。轉移方通常收集大量歷史數據、檢驗結果及確效資料以制定適當允收標準。制定允收標準時，若條件放太寬，則導致任何試驗結果都可被納入，條件形同虛設；若條件設定太窄，則使分析試驗結果難以達到規範而窒礙難行，且應考量任何影響試驗準確度之潛在變異性來源及民眾安全疑慮的影響等，以設定該分析方法之最適當允收標準。

表九、AMT相關條件與特性之允收標準

Method Type	AMT Execution Matrix Examples	AMT Protocol Acceptance Criteria Examples
Identity	Results for multiple positive and negative samples should be compared when comparing Specificity (differentiation capability). Blind sample testing may be required for non-automated identification systems.	System suitability met, similar or identical differentiation capability should be demonstrated.
Impurities (quantitative) – process- and/or product-related	Two operators and/or instruments on different days, three batches in duplicate; consider spiking at different levels for confirming precision, accuracy and Quantitation Limit(s).	System suitability met, Quantitation Limit(s) confirmed, TOST difference of less than or equal to 10% with 95% confidence for moderately high levels of impurities, or, absolute difference of the means between laboratories between $\pm 25\%$ for low levels of impurities. <u>Note:</u> Results for different batches may not be pooled unless normalization prior to comparing can be justified.
Impurities (qualitative, limit)	Results for multiple samples below and above the Detection Limit(s) should be compared.	System suitability met, similar Detection Limit's should be demonstrated.
Content uniformity, purity, and/or potency	Two operators and/or instruments on different days, at least one batch, number of occasions according to uniformity demonstration criteria at each laboratory; consider bracketing with batches of multiple strengths.	System suitability met, TOST difference of less than or equal to 3% with 95% confidence, or, absolute difference of the means between laboratories between $\pm 3\%$ with comparable data variance. <u>Note:</u> Results for different batches may not be pooled unless normalization prior to comparing can be justified.

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

3. 效能確認：接收方可能曾經使用過該分析方法於相似產品，因此較不須執行正式分析方法轉移，如：該方法已收載於藥典，且轉移方未更改其方法之情形。此部分可對應為藥典分析方法轉移指引中「轉移豁免(Transfer Waiver)」。

接收方在真正接收轉移方法時應檢視是否有能力執行該試驗內容（如是否有適當操作儀器、試驗所須之樣品、標準品、試藥、試液等運送及保存狀態與環境是否恰當），若檢視後發現有疑慮或銜接問題，應與轉移方討論解決方法。轉移方應安排分析方法之訓練，訓練的程度取決於該分析方法特性與難易度及接收方既有之經驗，且應紀錄訓練過成與成果。

(五) 第5章-分析方法之比較性(Analytical Method Comparability, AMC)：

當已核准之分析方法因條件更動轉變為新方法時，須考量到是否能達到既有方法之能力或更好，以取代既有方法，此部份亦為AMV執行成果報告之要件。AMC與AMV可作為分開執行的計畫，AMC可於AMV研究期間或結束後執行，但若於AMV研究完畢後執行，可因發現AMV執行成果不佳，而暫停AMC執行，以節省時間與精力，直到

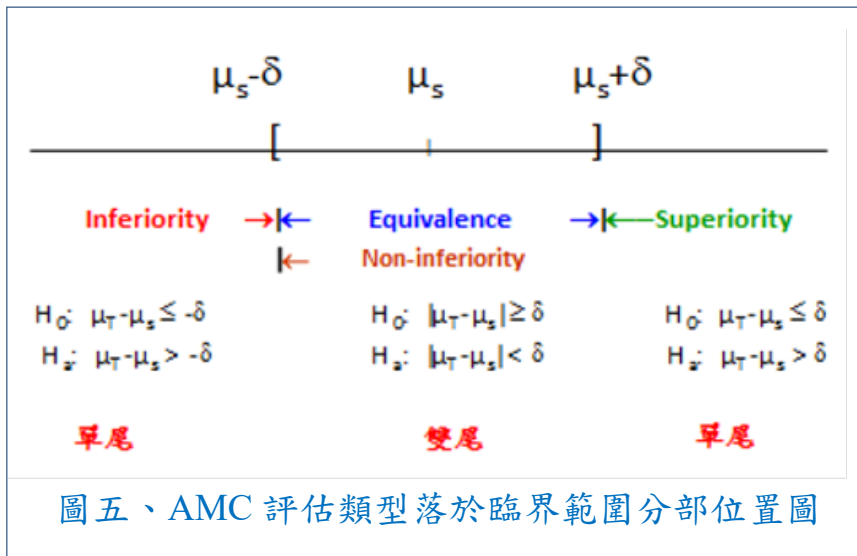
該新方法能適用於AMC研究為止。PDA列舉建議之確效特性項目評估ICH Q2 (R1)分析方法之AMC研究(表十)，並將分析方法類型大致分為定性(Qualitative)與定量(Quantitative)兩種特性，其中鑑別試驗為定性特性，與定性型限度試驗皆應著重於專一性與最低偵測極限項目；定量型限度試驗與效價或含量試驗則皆須著重於準確度與中間精密度項目。

表十、ICH Q2 (R1)分析方法之AMC研究與對應之確效特性

ICH Q2(R1) Category	Identification Test (Qualitative)	Limit Test (Qualitative)	Limit Test (Quantitative)	Potency or Content (Purity or Range) (Quantitative)
Accuracy	Not Required	Not Required	T-test	T-test
Intermediate Precision	Not Required	Not Required	ANOVA, mixed linear model, or other F-test statistics	ANOVA, mixed linear model, or other F-test statistics
Specificity	Probability and/or Chi-Squared for Number of Correct Observations	Probability and/or Chi-Squared for Number of Correct Observations	Not Required	Not Required
Detection Limit	Not Required	Depends on how DL was established. Probability calculations may be used	Not Required	Not Required

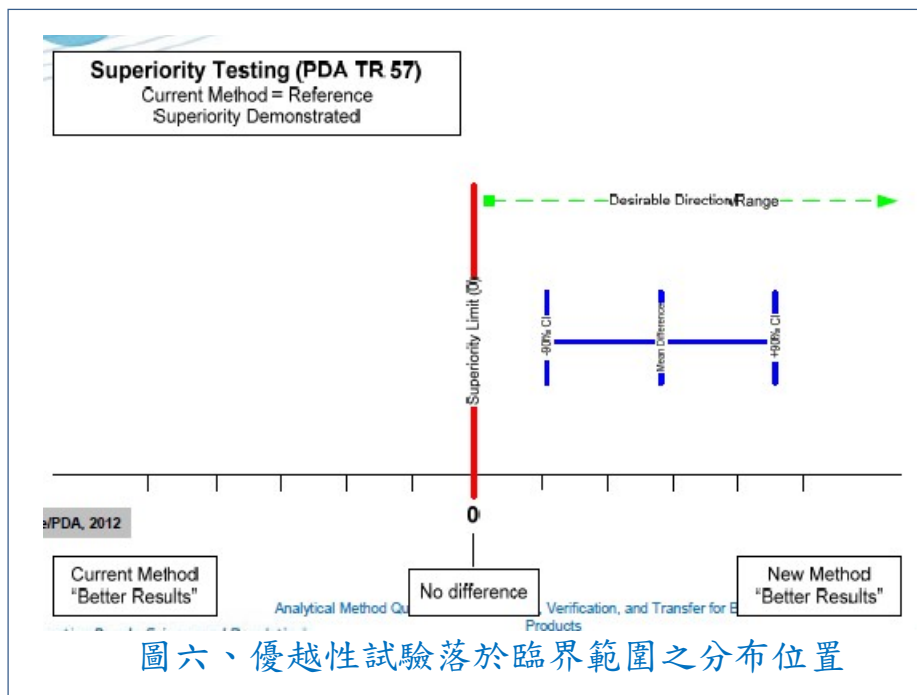
(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

AMC評估類型分為3種，包含優越性試驗(superiority trials)、非劣性試驗(noninferiority test)及相等性試驗(equivalent test)，每一種分析方法用途皆有其不同特性，如相等性試驗被作為準確度評估，而非劣性試驗被作為中間精密度評估。當選取新方法與既有方法之對照樣品進行3種類型試驗，以比較新方法與既有方法之間優劣或相等程度時，應依據方法目的及對照試驗的主旨，考量產品的規格與過去製程分析數據以進行對照樣品選取，並可利用信賴區間(confidence intervals, CI)作為結果測定指標，較常使用雙尾95%信賴區間於正負臨界值(margin, $\pm\delta$)設定之臨界範圍進行評估，圖五顯示AMC評估類型落於臨界範圍分部位置圖。

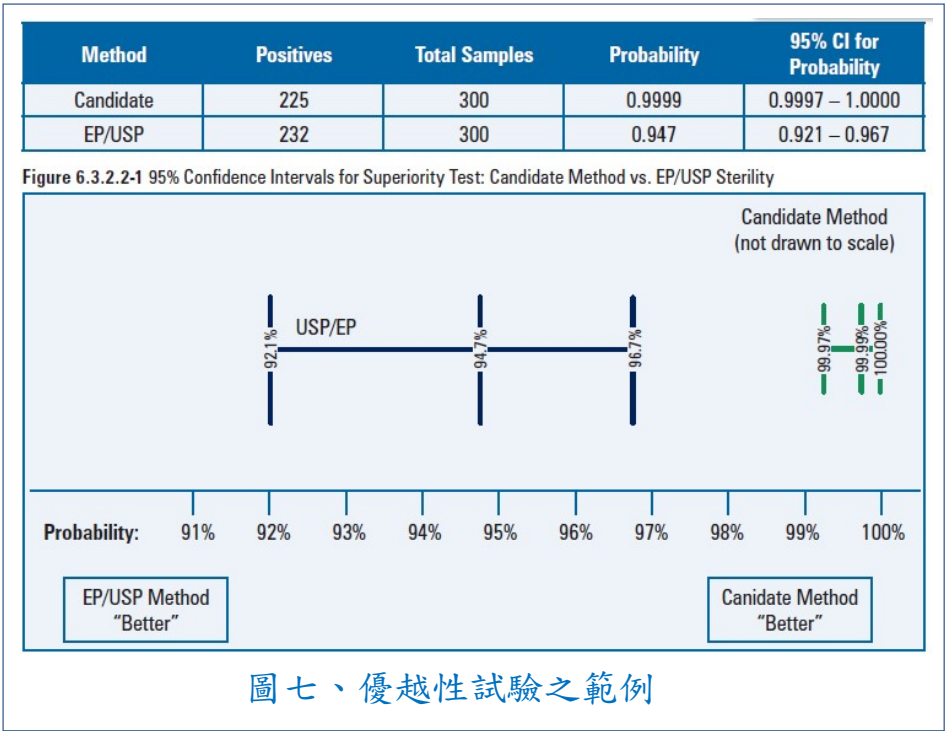


(資料來源：國家轉譯醫學與臨床試驗資源中心 2012年8月第1期 NTCRC 電子報)

1. 優越性試驗：係假設新方法優越於既有方法之概念進行評估，屬單尾檢定。由圖六顯示新方法之雙尾95%信賴區間至少須完全落於臨界範圍0值(無差異)以上左半側部份，圖七則舉例該試驗之執行結果。

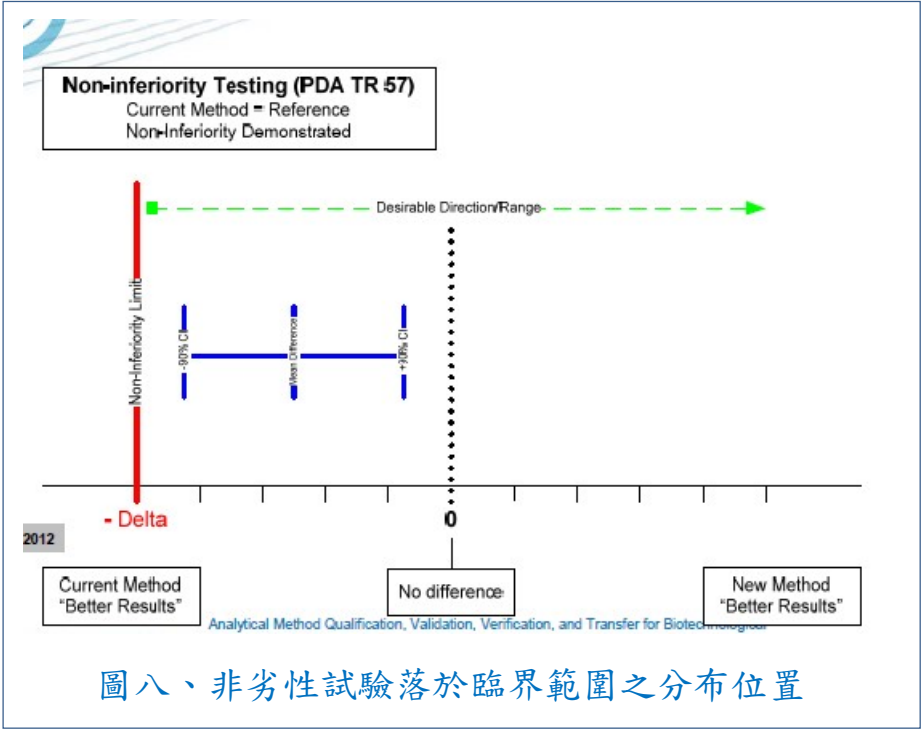


(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

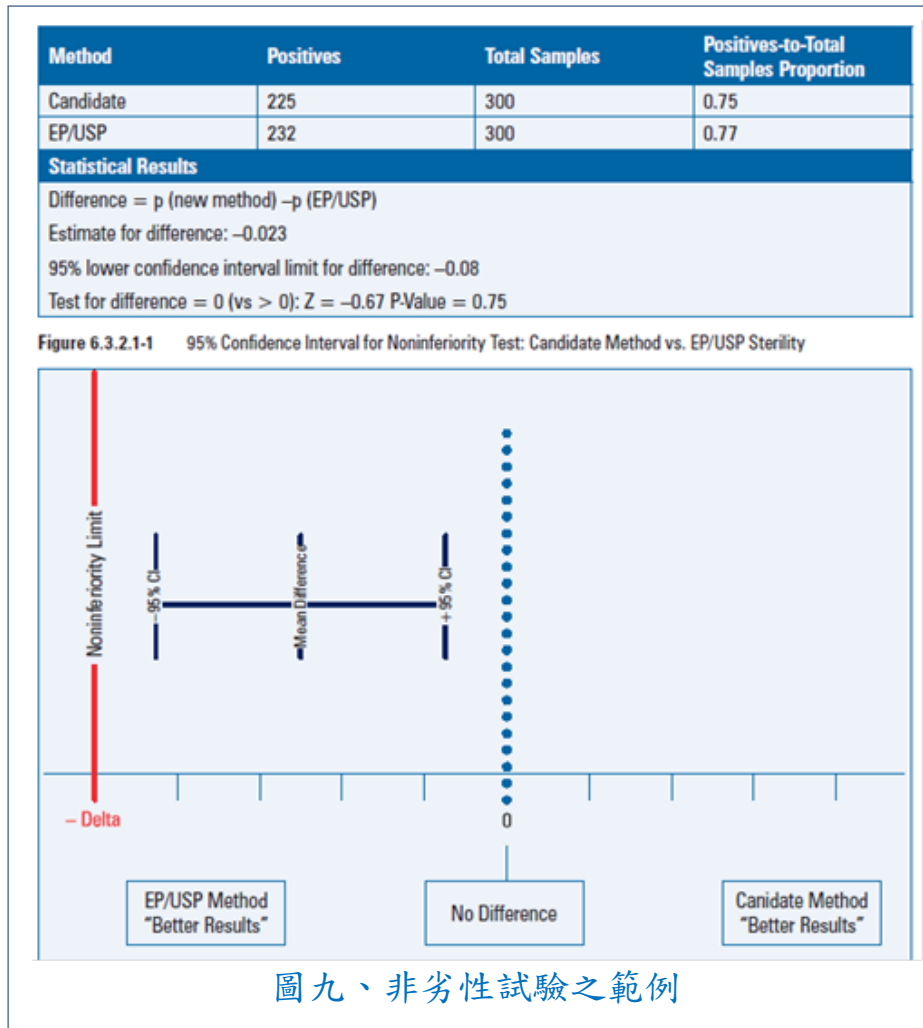


(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

- 非劣性試驗：係以新方法不比既有方法差之概念進行評估，屬單尾檢定。由圖八顯示新方法之雙尾95%信賴區間須至少落於臨界範圍最低臨界值(- δ)以上左半側部份，圖九則舉例該試驗之設計與執行結果。

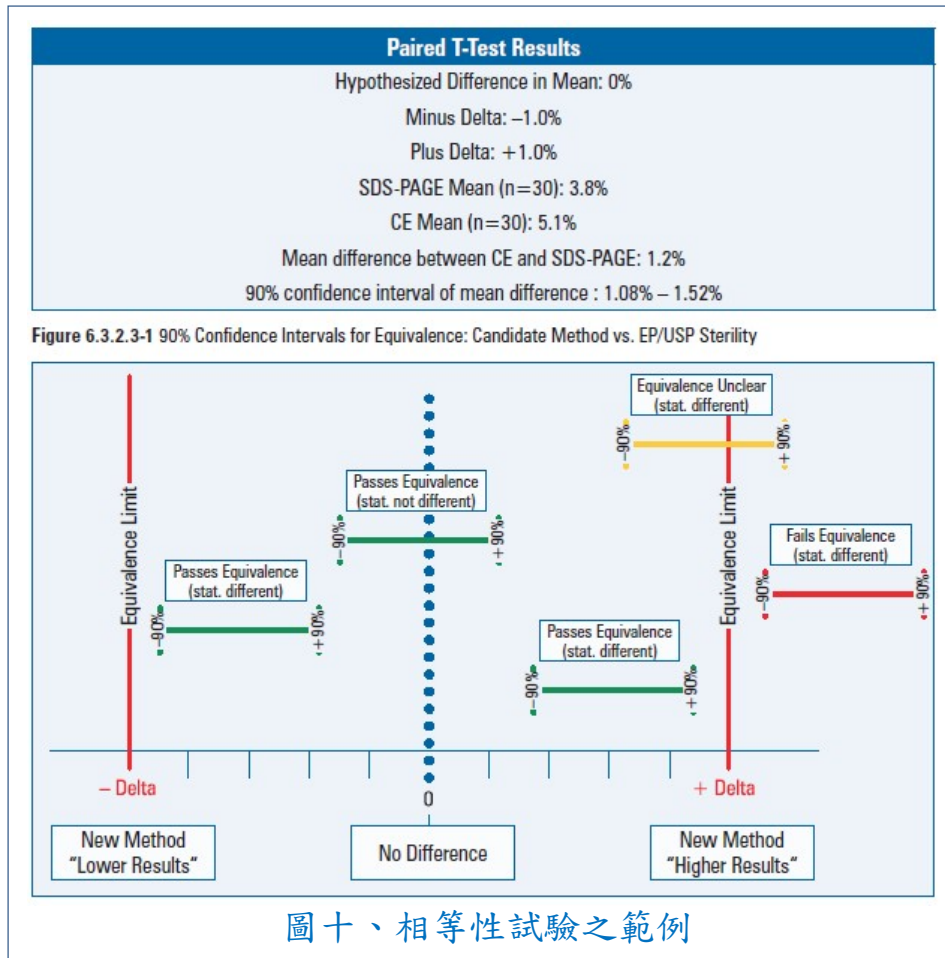


(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)



(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

3. 相等性試驗：係以新方法與既有方法能力相當之概念進行評估，屬雙尾檢定。新方法之雙尾95%信賴區間須落在臨界範圍內，圖十則舉例該試驗之設計與執行結果。



(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

(六) 第 6 章-分析方法維持(Analytical method maintenance, AMM)：

美國 FDA 製程確效指引之原則可應用於 AMV 研究，應將確效試驗視為一系列過程，分析方法維持的目標應確保確效方法維持於穩定狀態，故分析方法維持係確效試驗的要素，並可維持或減少試驗結果變異之潛在風險。例行 AMM 須使用統計管制圖進行監測，其與製程管制類似，皆可主動偵測偏差趨勢，即使該數據符合規格且有效，亦可觀察其變動情形。

1. 監視分析方法執行狀況

由於製造廠內的標準品或參考品常用於分析方法執行，故可作為管制圖理想監測對象，用以監視分析方法短期或長期成效。管制數據應連續監測以全面性取得干擾因素，且為減少試驗結果之變異性，應進行試驗方法優化，如訂定較嚴謹試驗規格或增加試驗複雜度。

2. 定期檢視

過去實驗數據應由製造廠、品管實驗室及相關負責單位定期檢視，以確保分析方法持續處於確效狀態。當任何分析方法條件改變時，管制確效數據可作為追溯來源，當分析方法不處於管制範圍時，應進行資料及數據檢視。若分析方法距離最初確效時間已

久，可能需要再進行追溯性驗證，嚴格檢視預防未來方法未達預期之情形，確保方法有效性，並可持續達準確與可信賴之試驗結果，表十一係執行 AMM 評估確效狀態之建議檢核表。

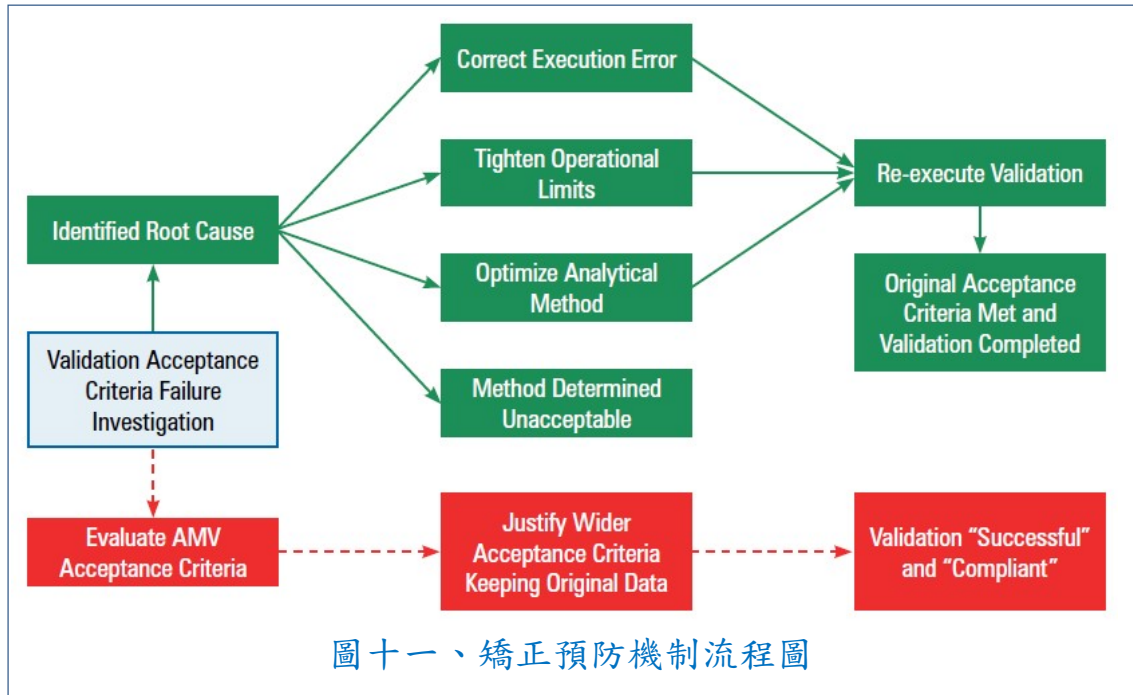
表十一、執行 AMM 評估確效狀態之建議檢核表

AMV and Method Performance Checklist Items	Results	Comments
Test Method Number/Title/Revision:		
Process Step/Product Sampling Point(s):		
Most Recent Validation/Verification Date:		
Specifications and/or Action Levels Supported:		
ICH Q2(R1) Test Method Category:		
Suitable Accuracy Demonstrated in AMV?		
Suitable Repeatability Precision Demonstrated in AMV?		
Suitable Intermediate Precision Demonstrated in AMV?		
Suitable Specificity Demonstrated in AMV?		
Suitable Linearity Demonstrated in AMV?		
Suitable Assay Range Demonstrated in AMV?		
Suitable Detection Limit Demonstrated in AMV?		
Suitable Quantitation Limit Demonstrated in AMV?		
Suitable Robustness Demonstrated in AMD/AMV?		
Suitable System Suitability Demonstrated in AMV?		
Number of Valid Test Runs Over Last 12 Months		
Number of Invalid Test Runs Over Last 12 Months		
Calculate Invalid Rate/Percentage:		
Statistical Assay Control Limits (ex., 3 Standard Deviations):		
Test System in Control?		
Changes to Test System After AMV: If yes, provide more information:		
Most Recent AMV Studies Acceptable?		
If no, provide risk-based priority for revalidation for VMP:		
Method Performance Acceptable?		
If no, provide risk-based priority for method improvement list:		
QC Signature:		
QA Signature:		

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

(七) 第 7 章-AMV 結果不符合事項之處理說明與機制

確效結果不符合事項係指未通過允收標準之情形(out of specification, OOS)，一旦發生須再次評估與審查找出原因以進行矯正預防機制(Corrective and/or preventive actions, CAPA)，如適當變更實驗參數及 AMV 計畫書內容後，重新執行 AMV 試驗，圖十一係矯正預防機制流程圖。



圖十一、矯正預防機制流程圖

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

矯正預防機制分為兩種途徑進行，包含鑑別錯誤的根源(以綠色區塊表示)及再次評估 AMV 允收標準(以紅色區塊表示)。分析確效結果不符合原因可能為操作執行不良或實驗條件設定不佳等，應鑑別出錯誤根源後進行矯正，如修正操作失誤、設定較嚴謹之操作條件或優化分析條件等，最後須執行再次確效以期達到允收標準之規定。另，評估 AMV 允收標準是否過於嚴謹，以致試驗結果難以達此規格，須考慮是否適當放寬，以利未來執行試驗能順利進行。若以不準確或不適用之分析方法執行產品放行檢驗，將可能使具有潛在風險之產品流入市面，危害民眾健康，因此在評估不符合情形時，須考量民眾使用之潛在風險、比較性及計畫完成率等，表十二列舉相關檢核事項及建議解決方法，亦可將試驗執行難易度及花費時間一併列入執行 AMV 評估。

表十二、檢核事項及建議解決方法

Question No.	Examples of Questions	Possible Information Source(s)
1	<i>Did we fail to pass a <u>critical</u> protocol acceptance criterion (or several) such as intermediate precision when high variability could cause OOS results?</i>	<i>Check for criticality and corresponding likelihood for OOSs to occur.</i>
2	<i>Are results generated by this test method critical to assess product safety or product/process quality, or efficacy?</i>	<i>Consider production process stage, and impact to safety, quality or efficacy.</i>
3	<i>Did we have previous AMV failures (and discrepancies) with this test method?</i>	<i>If this is not a new method, review previous AMV(s).</i>
4	<i>Were there any (failing) data sets generated during AMD that were not discussed in the AMD report?</i>	<i>Review laboratory notebooks from AMD scientists and (if necessary) conduct interviews with AMD scientists.</i>
5	<i>Has this kind of failure occurred before and how did we handle this?</i>	<i>Count failures versus successful completions and review previous recovery processes.</i>
6	<i>Were there previous inspection observations for validation processes and/or failures?</i>	<i>Review previous regulatory and internal observation notes.</i>
7	<i>What is our current overall compliance standing with regulatory agencies?</i>	<i>Review previous commitments of firm and current regulatory expectations.</i>
8	<i>What is the impact to this project and connected projects?</i>	<i>Review and discuss project timelines and cost with project managers.</i>

(資料來源：PDA 講師 Dr. Stephan O. Krause 上課簡報)

* 依據表十二第 8 點(詳見黃框)，計劃完成率是否達成亦為評估不符合事項之要素之一，由於分析方法優化須花費時間與金錢，故應整合所有考量因素以完成整體計畫。

四、心得與建議

藉由本次研習，學習分析方法建立、驗證及確效等管制流程與規範、導入風險評估概念執行分析方法之驗證及確效、不符合事項之處理案例與應變機制等內容，使我對分析方法確效等管制規範有全面性了解，且PDA所提供之文件敘述十分詳盡，可作為本署建立檢驗方法與制定技術規範之重要參考資料，完善檢驗方法之驗證及確效，確保藥品品質安全與國人健康。以下列舉幾項建議作為本次研習回饋及提供本署參考之方向：

1. 持續更新中華藥典相關規範內容

目前中華藥典第八版之「分析方法確效指引」、「分析方法轉移指引」及「藥典分析方法確認指引」等與分析方法管制規範相關之內容，係參考 ICH Q2 (R1)指引及美國藥典編修而成，可再參考本次 PDA 研習內容，如：分析方法之比較性(AMC)、分析方法維持(AMM)等，適時更新修訂中華藥典，供產官學界參考遵循，提升產品管理能力與確保品質安全。

2. 導入新興分析方法驗證及確效之管制概念，提升國家實驗室品質

本署負責食品與藥物之品質檢驗研究工作，持續隨著技術進步不斷引進新興檢驗方法或優化既有方法，可利用本次所學之新興分析方法驗證確效策略如：以風險評估概念設定允收標準、如何建立分析方法確效計劃書與報告等文件之方法、分析方法確效結果不符合事項之處理機制及分析方法維持等，大幅提升確效及驗證程序之流暢度與穩固性，確保檢驗數據之準確性及可靠性，有助於提升實驗室檢驗研究品質與效率。

3. 持續派員學習分析方法驗證及確效之相關規範

確保分析方法之適用性與有效性以建立良好檢驗方法係檢驗產品品質之重要基礎，如何持續維持基礎並持續精進，係本署關注與努力達成之標的，國際上亦持續針對該議題提出最新資訊與方法，為因應國際檢驗技術與規範之發展趨勢，建議隨時掌握並持續派員學習，將所學應用於本署檢驗研究業務，並持續修訂與更新相關技術規範，與國際接軌。

