

セットアップ時間と測定結果の比較： Sievers* Eclipse vs 96ウェルマイクロプレート

Application Note



イントロダクション

エンドトキシンは、注射用水/原材料/非経口投与製剤の内毒素汚染を測定するための試験法です。世界的に調和された薬局方には、エンドトキシン試験に関するモノグラフがあり、3つの試験方法（ゲル化法/比濁法/比色法）が記載されています。比色法はエンドポイントアッセイとカイネティックアッセイの2つの形式に分けられます。このアプリケーションノートでは、2種類のカイネティック比色法（Sievers Eclipseと96ウェルマイクロプレート）のアッセイセットアップ時間と測定結果を比較します。

カイネティック比色法でよく使用されるプラットフォームは、96ウェルマイクロプレートとインキュベーター機能付き吸光リーダーです。従来の96ウェルマイクロプレートは一般的なエンドトキシン試験法として知られていますが、セットアップに時間がかかる/繰り返しのピペティング操作が必要/エラー発生率が高いなど、いくつかの懸念点があります。Sievers Eclipseは、エンドトキシン標準品と反応干渉因子（PPC）があらかじめ充填された独自のマイクロプレートを使用するマイクロプレートリーダーです。ハンドリングロボットを使わずにエンドトキシンアッセイを自動化してエラーの可能性を排除します。

手順

Sievers Eclipseと96ウェルマイクロプレートを並行して、水と製品の日常試験を実施しました。アッセイセットアップ時間については以下の項目を評価しました。

1. 標準品とサンプルの調製
2. ソフトウェアのセットアップ
3. マイクロプレートへの標準品 & サンプルの添加
4. PPCの添加
5. ライセート試薬の添加
6. アッセイセットアップの合計時間

アッセイ結果は、ネガティブコントロール/R値/標準品 CV/PPC 回収率/PPC CVで比較しました。

この研究では1人の資格を持った分析担当者が各アッセイを10回ずつ実施しました。96ウェルマイクロプレートとEclipseの両方で、各アッセイにつき21検体ずつを測定しました。10回のアッセイのうち、5回は製品を測定し、5回は水のみを測定しました。分析担当者はLAL業界における10年の経験とピペティングの豊富な経験があります。そのため、セットアップ時間はそれぞれ一貫しています。

結果

表1. Sievers Eclipseと96ウェルマイクロプレートのアッセイセットアップ時間

	Sievers Eclipse 水/製品	96ウェルマイクロプレート	
		水試験	製品試験
標準品 & サンプル調製（希釈時間を含む）	1:56	12:30	24:42
ソフトウェアセットアップ	0:22	0:45	0:44
マイクロプレートへの標準品 & サンプル添加	7:01	17:21	17:56
PPCの添加	N/A	3:42	3:56
ライセート試薬添加	0:22	2:22	2:22
アッセイセットアップの合計時間	9:40	36:40	48:56

表2. Sievers Eclipseと96ウェルマイクロプレートの10アッセイの測定結果

	Sievers Eclipse	96ウェルマイクロプレート
ネガティブコントロール	LLOQ +10%にはオンセットせず	
R値	0.999 ± 0.001	0.997 ± 0.001
標準品のCV値 (%)	2.83 ± 1.98	1.67 ± 2.04
PPC回収率 (%)	101.9 ± 14.4	142.7 ± 24.4
PPCのCV値 (%)	1.98 ± 1.76	2.13 ± 9.09

*すべての値には、水と製品の両方の測定結果が含まれます

96ウェルマイクロプレートに対するSievers Eclipseによるアッセイあたりの平均短縮時間は27～39分です。平均的なセットアップ時間は、分析担当者や試験内容によって異なります。製品試験では数回の希釈を伴うことが多いため準備に時間がかかりますが、水試験は一般的に簡略化されているため、準備時間は短くなります。この研究結果に基づき、Sievers Eclipseは、通常1日2回の定期試験をこなす1人の分析担当者の作業を、1年間で約260時間、6.5週間（1年間で48週、週40時間の業務と仮定）削減できます。分析担当者は1年間で14%近くの時間を節約し、他の業務に集中できます。

さらに、現在の96ウェルマイクロプレート試験では、ピペッティング操作が多く必要です。21検体（96ウェルマイクロプレートで測定できる最大検体数）を測定する場合、連続分注ピペットを使用すると約242回のピペッティング操作が必要です。マルチチャンネルピペットと試薬リザーバーを組み合わせることで、ピペッティング操作は減らせますが、作業時間は依然として長く、エラー発生率が高いです。Sievers Eclipseは合計27回のピペッティング操作のみで21サンプルを測定できるため、セットアップ時間と結果が得られるまでの時間が大幅に短縮されます（図1、2）。また、Eclipseは定期試験や様々な研究においても簡単にセットアップできます。

- 低エンドトキシン回収率（LER）試験
- ホールドタイム試験
- 阻害/増強スクリーニング
- 製品バリデーション
- オープンのバリデーション

セットアップ時間と測定結果の比較：Sievers* Eclipse vs 96ウェルマイクロプレート

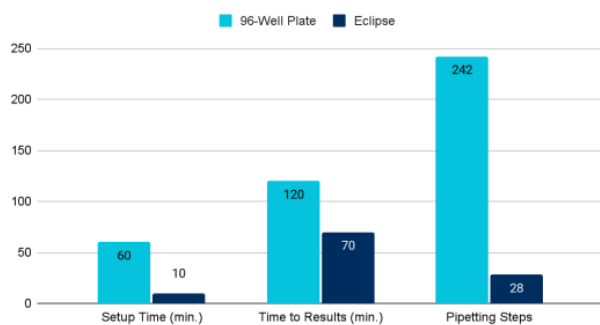


図1. ピペッティング操作数の比較

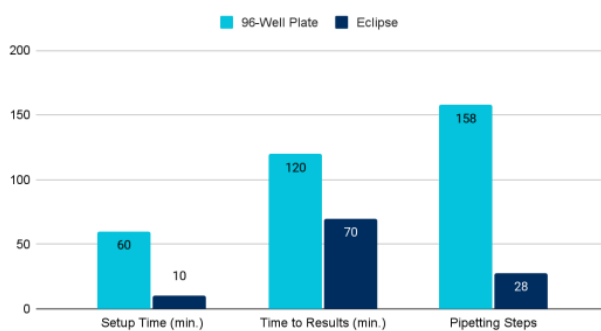


図2. ピペッティング操作数の比較
(マルチチャンネルピペット使用時)

表1と表2の結果は、Sievers Eclipseが96ウェルマイクロプレートと同等の結果を大幅に少ない作業時間で得られることを示しています。Eclipseは以下の表3に概説されているように、すべての薬局方の要件を満たします。

表3. 薬局方の要件

薬局方の要件	Sievers Eclipse
検量線は3点以上の濃度で各2回ずつ測定する	✓
ネガティブコントロールは2回以上測定する	✓
サンプルは2回以上測定する	✓
反応干渉因子試験（PPC）は2回以上測定する	✓
検量線作成による作業者認証を3回以上実施する	✓
エンドトキシン標準品（RSE/CSE）を使用する	✓

まとめ

Sievers Eclipseは、USP <85>、EP 2.6.14、JP 4.01の要件に完全に適合したエンドトキシン計です。最新のマイクロ流体技術を採用したSievers Eclipseマイクロプレートによって、分析担当者の作業時間を大幅に短縮できるだけでなく、試験エラーの発生率を減らし、再試験や調査書の作成に費やす時間を減らすことができます。

(翻訳：セントラル科学株式会社)