



2023 年 3 月 27 日 星期一

## 谭德讲等 2 人参加 EDQM/EPAA 共同组织举办的“热原检测的未来：逐步淘汰家兔热原检查法”学术会议

应欧洲药品监督管理局 (EDQM) 邀请, 中国食品药品检定研究院化药所药理室谭德讲副主任、贺庆研究员于 2023 年 2 月 14 日至 16 日线上参加由 EDQM 和欧洲动物实验替代方法合作组织 (EPAA) 共同组织举办的“热原检测的未来：逐步淘汰家兔热原检查法”会议。

### 一、会议背景

自《欧洲动物保护公约》通过以来, 欧洲药典委员会开展了一项旨在应用 3Rs (减少、优化和替代动物试验) 原则的工作方案。2021 年 6 月, 欧洲药典委员会向完全取代家兔热原检查法 (RPT) 迈出了第一步, 并计划在未来 5 年内, 用合适的体外替代方法完全取代 RPT。

本次会议是欧洲药典 (EP) 为实现上述目标而举办的里程碑性质的官方国际会议, 会议在比利时布鲁塞尔举办, 受邀参会人员主要来自 EDQM、欧洲药监局 (EMA)、世界卫生组织 (WHO)、美国食药监局 (FDA)、美国药典 (USP)、德国联邦药品和医疗器械研究所 (FIDMD)、德国联邦药品和保健品管理局 (FAGG)、德国血清与疫苗研究所 (PEI)、英国国家生物制品检定所 (NIBSC)、意大利国家卫生研究所 (ISS)、中国食品药品检定研究院 (NIFDC)、日本国家健康科学研究所 (NIHS)、巴西国家替代方法验证中心 (BraCVAM)、印度药典委员会 (IPC) 和世界知名药企 (如 GSK、Janssen、Pfizer、Takeda、Sanofi) 等机构的专家学者, 旨在讨论并推动体外热原检测替代方法的进一步发展。

### 二、会议内容

本次会议主题包括①深入介绍 EP 逐步淘汰 RPT 的策略、②单核细胞活化试验 (MAT) 的使用、③监管机构和行业代表的观点、④欧洲以外地区对不使用动物进行热原检测的观点、⑤MAT 的操作培训。

Dr. Emmanuelle Charton 代表 EDQM 介绍 EP 热原检测技术发展历程: 1971 年 EP 收录 RPT (EP 2.6.8), 1987 年收录鲎试剂细菌内毒素检查法 (BET) (EP 2.6.14), 2010 年收录 MAT (EP 2.6.30), 2020 年收录重组 C 因子细菌内毒素检查法 (rFC BET) (EP 2.6.32)。同时介绍 EP 淘汰 RPT 策略: EP 将形成新的热原章节 (EP 5.1.13), 计划到 2025 年将删除 60 个文本中的 RPT, 到 2026 年删除 EP 2.6.8。

Dr. Gwenaël Ciré fice 代表 EDQM 介绍现版 EP 收录 MAT (EP 2.6.30) 的设计要点, 以及基于实验人员操作经验的积累和反馈, 将对 MAT 作出的修订 (包括利用实验灵敏度代替 LOD 来计算 MVD、取消对标准曲线平行性的要求)、MAT 参考批次比较法在含固有热原成分疫苗中的应用。

Dr. Ruth Daniels 代表 Janssen 从企业角度介绍其对 MAT 进行的内部开发和验证, 其利用 PBMC/IL-6 法已经完成 7 个治疗性单抗产品的验证, 使用 MAT 替代 RPT 的数据已获准 3 个 MAA 提交。同时面临缺少非内毒素国际标准品; 方法中牛血清与人 AB 血清的替代使用; 4 参数拟合内毒素标准曲线的相关要求; 各国对 MAT

认可度存在不确定性（如一些国家/地区可能不接受 MAT 数据，并要求 RPT 数据作为商业许可申请的一部分）；某些产品对 MAT（如 PBMC/IL-6 法）存在较难排除的干扰作用，需要对 MAT 所采用检测指标和细胞做进一步的开发和优化等挑战。

Dr. Peter Turecek 代表 Takeda 介绍生物制药和血浆行业对热原检测的观点。Takeda 自 1950s 便开始控制和限制动物实验，2005 年 Takeda 就认为 BET 和 MAT 均可替代 RPT，2014-2017 期间 Takeda 已利用 BET 替代 RPT 检测其所有血浆来源产品，2015-2018 期间 Takeda 已将 RPT 稳步减少约 35%，其正继续致力于在全球范围内彻底淘汰 RPT；Takeda 也正利用 rFCBET 替代传统鲎试剂 BET；而针对罕见病的生物制品，因其年产量极少（如 1-2 批/年），导致 MAT 替代验证中所需的统计批次不足，MAT 难以在此类品种热原检测中进行替代；未来 Takeda 将主要利用 rFC BET 和 MAT 控制其产品热原。

Dr. Ned Mozier 代表 Pfizer 介绍低内毒素回收产品的热原检测比较研究，阐明 MAT 可解决低内毒素回收产品的热原检测问题。Dr. Liliana Alleri 代表 GSK 介绍其利用 MAT 检测疫苗产品（如 Bexsero、Encepru）热原的开发，强调应基于风险分析来选择 MAT 或 BET 替代 RPT，计划到 2025 年其产品 QC 将完全取消 RPT。Dr. Emmanuelle Coppens 和 Dr. St éphanie Richard 代表 Sanofi 介绍其疫苗产品未来热原检测将不再使用 RPT，计划 2020-2030 期间将在全球范围内减少 50% 的动物使用，其对疫苗 QC 的战略规划是将不采用基于动物的分析实验，同时正开发利用 PBMC/IL-6 法检测疫苗热原。

Dr. Uwe Lipke 代表 FIDMD 介绍 MAT 可能不适用于所有抗生素品种，应基于风险分析选择抗生素所适用的热原检测方法。Dr. Beken Sonja 代表 EMAs 介绍 EMAs 在实践中的监管科学策略和基于 3R 测试方法的监管。Dr. Leslie Furr 代表 USP 介绍 USP 热原检测发展概况，2012 年美国 FDA 提及 MAT 可作为热原检测的替代方法；2017 年 USP<151>提及在合适的情况下，经验证和等效的体外热原检测方法或 BET 可替代 RPT；MAT 具有完全替代 RPT 的潜力，但其不能完全替代 BET。

Dr. Richard Isbrucker 代表 WHO 介绍 WHO 指南的热原检测建议，强调应基于风险分析选择产品的热原检测方法，如仅含内毒素污染，可采用 rFC 或 LAL 方法（rFC 更好）；如存在非内毒素热原，则采用 MAT；如果没有其他合适方法可用，可仅用 RPT。

贺庆博士代表中检院介绍中国药典热原检测技术发展概况，2020 版中国药典收录的热原检测方法包括 RPT（通则 1142）、鲎试剂 BET（通则 1143）/rFC BET（指导原则 9251）、MAT（指导原则 9301），基于风险控制，中国药典目前将 MAT 作为热原检查的补充方法；同时通过进一步改进 MAT 所用细胞和检测指标，已完成研究建立报告基因热原检测法的新进展，目前该方法的中国药典标准已完成公示；为体外热原检测方法在中国的推广应用打下良好基础。

Dr. Takao Ashikaga 代表 NIHS 介绍日本药典（4.04 热原检查）正在讨论收录 MAT，目前仅有少数日本公司考虑采纳 MAT。Dr. Octavio Augusto Franca Presgrave 代表 BraCVAM 介绍巴西对 MAT 的监管许可进展，计划到 2024 年将 MAT 列为药典官方方法。Dr. Kalaivani Muthusamy 代表 IPC 介绍印度药典热原检测概况，2018 版 IP 已收录 MAT（通则 2.2.25）。

### 三、会议体会

#### 1. 替代 RPT 是热原检测领域的国际发展趋势

热原检测是保证各类非肠道用药安全性的一项关键共性技术，研究符合 3R 理论及切实可行的热原检测技术得到各国药品监管机构的高度重视。针对 RPT 的不足和新型生物技术产品发展的需求，研究建立体外热原检测替代方法（如 MAT）替代 RPT 是热原检测领域的国际发展趋势。

#### 2. 中检院一直在紧跟国际发展趋势，同时不断创新研究的新方法也受到关注

在各级领导和专家的支持指导下，中检院一直紧跟国际趋势研究建立体外热原检测关键方法及其药典标准。目前中检院已建立相应 MAT [Innate Immunity, 2018, 24(5), 316 - 322] 并将其纳入 2020 版《中国药典》（指导原则 9301）；在此基础上，我们进一步针对 MAT 方法的缺点创新性开展报告基因热原检测法的研究，

2023年第08期总345期

率先取得进展 (Jpn. J. Infect. Dis., 2020, 73, 111 - 118), 初步显示该方法的优点并得到国际同行的关注。

### 3. 应重视加强国际交流, 不断提升中检院的研究水平和国际影响力

应用 3Rs (减少、优化和替代动物试验) 是国际药品质量控制方法研究的趋势, 我们应跟踪国际发展趋势, 同时不断创新, 积极参与国际相关领域的学术会议, 既能学习交流, 又是展示研究结果、争取协同发展的机会, 不断提升中检院在药品标准领域的研究水平和国际影响力。



转自: 中国食品药品检定研究院网站