



实验动物与兽用生物制品检验和研发

陈光华

(中国兽医药品监察所,北京 100081)

【摘要】 在兽用生物制品的质量检验和研发中,实验动物的应用极其普遍。其应用的历史悠久、使用面广,涉及的动物种类多、数量大。本文对应用动物进行兽用生物制品检验和研发中存在的问题进行了分析,并提出了建立大动物基地、保证供应,完善标准、保证质量,更新观念、完善法规、减少动物用量,加强管理、确保生物安全等方面的建议。

【关键词】 实验动物; 兽用生物制品; 检验; 研发

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)10-11-0020-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.10.11.005

Experimental Animals and Quality Control and Development of Veterinary Biologicals

CHEN Guang-hua

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

【Abstract】 Many species and a large number of experimental animals have been widely used with a long history in the control tests and development of veterinary biologicals. The existing problems related to the animals used in the control tests or research of veterinary biologicals are discussed in the article and some suggestions on the establishment of large experimental animal bases to guarantee supply, improvement of the quality standards to guarantee quality, renewal of thought and improvement of laws and regulations to decrease the number of experimental animals used and reinforced management to ensure biosafety and biosecurity have been presented.

【Key words】 Experimental animals; Veterinary biologicals; Quality control; Development

1 应用动物进行兽用生物制品检验和研发的基本情况

1.1 动物在兽用生物制品质量检验和研发中普遍应用,历史悠久

由于兽用生物制品(包括疫苗、抗血清、微生态制剂等,不包括诊断试剂)直接应用于动物,因此,在考察这类产品对动物的安全性和效力时,理所当然地会选用动物作为试验平台。在我国所有兽用生物制品生产企业的建设过程中,设计和建设检验

用动物舍,是必不可少的内容。兽用生物制品出厂检验中,动物试验是所有兽用生物制品生产企业质量检验员最重要的检验工作。随着兽用生物制品企业生产的产品品种越来越多,批量越来越大,以及在新产品研发方面的投入不断增加,大部分兽用生物制品企业在通过第一轮GMP检查验收后,都不同程度地扩建了动物舍,尤其是大动物试验舍。兽用生物制品企业中最大规模的动物舍面积已经达到7000平方米左右。在新的兽用生物制品研发过程中,进行动物试验也是广大研发人员试验研究工

[作者简介]陈光华(1967-)男,硕士,研究方向:传染病与预防兽医学。E-mail: chenguanghua@ivdc.gov.cn。

作的最重要内容,也是耗资最大的工作内容。兽用生物制品新产品申报资料中的技术数据,大部分是根据动物试验获得的数据。

在我国的兽用生物制品质量标准中,规定用动物进行终产品安全和效力检验的历史由来已久。在我国解放后制定的第一版《兽医生物药品制造及检验规程》中刊载的 31 个兽用疫苗和抗血清质量标准中,无一例外地均采用动物进行安全或效力检验。如狂犬病灭活疫苗安全和效力检验中需使用小鼠、豚鼠和兔,羊痘活疫苗的检验中需用小鼠、豚鼠、兔和绵羊。2011 年 7 月 1 日开始实施的《中国兽药典(2010 年版)》中刊载的 82 个兽用疫苗和抗血清(40 个活疫苗、40 个灭活疫苗和 2 个抗血清)中,用动物进行安全或效力检验的产品为 100%;用靶动物进行安全或效力检验的产品有 58 个,占 71%;用非标准化试验动物(鼠、鸡、豚鼠、兔以外的动物)进行安全或效力检验的产品有 36 个,占 44%。

应用动物试验进行兽用生物制品安全或效力评价,在全世界范围内都是十分普遍的现象。在《美国联邦法规》中公布的 73 个兽用生物制品质量标准中,用动物进行安全或效力检验的产品达到 65 个,占 89%;用靶动物进行安全或效力检验的产品有 39 个,占 54%;用非标准化动物进行安全或效力检验的产品有 23 个,占 32%。

由此可见,在兽用生物制品的质量评价中,动物试验发挥着不可替代的作用。尤其是,在评价兽用疫苗免疫效力的各种方法中,尽管用于检测有效抗原含量的化学方法、生物化学方法已经经常应用于兽用疫苗生产过程的中间控制,但是,基于动物免疫学原理的疫苗抗原相对含量测定法、免疫抗体效价测定法、替代动物免疫攻毒法及靶动物免疫攻毒法等仍然是(也仍将是)最令人信服的兽用生物制品成品免疫效力评价方法。

1.2 兽用生物制品检验中所用动物品种多、数量大

在兽药领域中应用动物的工作主要包括国内兽用生物制品生产企业对其产品进行的出厂检验、各企业和有关科研单位从事的兽用生物制品新药研发、监管部门根据国家计划开展的监督检查、有关单位根据农业部授权对国内新生物制品和进口生物制品进行的复核检验等,此外,在菌毒种鉴定、部分化学药品和中兽药的检测和研发、生物制品检测方法研究、动物疫病诊断试剂研发、各

企业中间产品质量控制中也可能使用动物。其中,兽用生物制品出厂检验和新生物制品研发中使用的动物数量远高于其他。用动物进行出厂检验的项目包括安全检验、效力检验,有时在外源病毒检验中也会使用动物。研发过程中的菌毒种鉴定、工艺研究、实验室安全、效力、免疫期和保存期试验等几乎研发全过程中的所有试验项目均需使用动物。

到目前为止,我国已经批准的国产兽用疫苗、抗血清等共 319 个,其中,用量大、质量标准较为成熟、被 2010 年版《中国兽药典》三部收录的 82 个兽用疫苗和抗血清(40 个活疫苗、40 个灭活疫苗和 2 个抗血清)中,涉及到的检验用动物包括鸡、猪、牛、羊、鸭、鹅、兔、小鼠、豚鼠、马、鱼、貂等。其中,用猪进行安全或效力检验的产品达到 16 个;用牛羊进行安全或效力检验的产品有 18 个;总体上来看,用非标准化实验动物(鼠、鸡、兔以外的动物)进行安全或效力检验的产品有 36 个。

经对我国各兽用生物制品企业近某年生产的约 160 种兽用疫苗和抗血清约 12000 批、1100 亿头份(羽份)产品出厂检验中所用动物种类和数量(除小鼠、豚鼠、兔外)进行测算,我国各企业每年用于兽用生物制品出厂检验的动物数量约为:鸡 240000 只、猪 30000 头、牛 6000 头、犬 300 只、貂 400 只、羊 2400 只、鹅 200 只、鸭 800 只。

在兽用生物制品研发方面,由于参与研发的单位较多,每个产品的研发周期有所差别,不同品种的试验要求和研发进度可能不同,难以准确统计每年用于研究的动物种类和数量,但从每年约 100 个新产品的申报进度看,用于研究的动物数量也非常可观。因为,自新产品研发的初期到最终的临床试验阶段,均需使用动物,且农业部对每个试验中所用样品的批数和动物数量均有基本要求。从近几年的研发动向看,在禽病疫苗研发积极性越发高涨的基础上,在猪病疫苗、水禽疫苗、犬用疫苗的研究方面也越来越活跃,有关试验中猪、鸭、犬的用量越来越大。

2 存在问题

2.1 动物供应不足

从动物品种看,用于兽用生物制品检验和研发的小型实验动物(如兔、鼠、鸡)在数量上基本上能够得到满足。但其他动物,如猪、牛、羊、犬、鸭、鹅、

鱼、貂、狐等,市场上基本不能供应。这些动物绝大部分来源于养殖场,与法规中的实验动物定义相去甚远,根本不能称之为“实验动物”(本文中笼统地称为“动物”)。为了获得这些动物,只能根据有关试验要求由试验人员临时从外观健康的动物群中筛选敏感动物。由于国家对部分重大动物疫病(如猪口蹄疫、牛口蹄疫、猪瘟、高致病性猪蓝耳病)实行强制免疫政策,要从规模养殖场或个体养殖户家中筛选到符合要求的敏感动物,极其困难。有的检验或研发中所需特殊标准的动物(如狂犬病、犬细小病毒、犬瘟热、犬腺病毒、犬副流感抗体阴性犬),就更加无法得到满足。

2.2 动物标准不完善,监管不到位,质量得不到保证

为加强实验动物管理、保证实验动物质量,国家先后发布并实施了鸡、兔、豚鼠、仓鼠、大鼠、小鼠国家标准,但对兽用生物制品质量检验和研发中大量使用的猪、犬、牛、羊、马、鸭、鹅等,尚未发布国家标准。由于这些动物的使用范围基本上只局限于兽用生物制品生产企业和科研单位,其他部门和行业的管理人员和专家很少关注,因此,这些动物的标准制定问题将难以在农业领域以外的更大范围内引起共鸣。由于缺乏标准,在这些动物的生产许可、质量检测、试验场所建设和认证、动物试验的监管等方面存在一系列空白。

即便是已经有了国家标准的实验动物,也比较普遍地存在质量问题。有的单位所用实验动物系谱不清,来源复杂,有的生产条件简陋、饲养管理粗放。缺少实验动物检测试剂和权威质量检测部门,对试验动物的生产管理,重审批,轻监管。近年来,众多兽用生物制品生产企业普遍反映因因 SPF 鸡胚质量问题导致兽用疫苗质量不过关的现象越来越多。

2.3 动物试验过于频繁,动物福利未得到有效关注

在绝大多数兽用疫苗检验和研发中均需进行动物试验。近几年来,我国兽用生物制品生产行业处于规模扩张期,各企业为了提高市场竞争力,不得不增加产品种类,更是导致检验中所需动物种类和数量不断增加。2005 年以来,大部分企业扩建了动物舍。各生产企业的动物试验已经成为动物疫苗检验和研发的主要工作内容。动物用量较大的项目包括安全性试验、动物免疫抗体效价测定试验和免疫攻毒试验。其中,动物试验已经成为安全性

评价的不二选择。采用动物试验方法进行免疫效力评价,也是较为普遍应用的方法,在我国尤甚。频繁的动物试验中,动物福利未受到足够关注,尤其是我国对部分试验用大动物的饲养环境、卫生、营养等方面缺乏严格标准,对大动物的试验缺少监管。

2.4 免疫攻毒试验过于频繁,生物安全存在隐患

免疫攻毒方法是评价兽用疫苗免疫效力的最直观方法,但因标准化的实验动物(尤其是大动物)来源困难,特别是免疫攻毒试验中存在病原体扩散的风险,发达国家多采用免疫抗体效价测定、有效抗原含量测定等替代方法。但在我国,由于各新产品研发单位为了避免在寻找替代方法过程中必须完成的平行关系试验,而放弃寻找免疫攻毒效力检验的替代方法;对已经采取免疫攻毒方法进行效力检验的产品,在修订标准的过程中,更没有人愿意尝试寻找替代效力检验方法。因此,我国兽用疫苗质量控制中采取免疫攻毒方法的数量和比例明显高于发达国家。强毒攻击试验中,如果不能加强空气、人员、动物、废弃物和动物尸体等环节的管理,控制病原体外泄就难以实现。

3 几点意见和建议

3.1 加强部门间协调,进一步强化实验动物管理

《实验动物管理条例》规定:国家科技管理部门主管全国实验动物工作;各省、自治区、直辖市科技管理部门主管本地区的实验动物工作;国务院各有关部门负责管理本部门的实验动物工作。由于实验动物的标准制定、认证、生产、使用、进出口和质量监督等涉及到多个管理部门,要做好实验动物的各项管理工作,需要各部门加强协调,分工合作。

目前,在对各部门共用的实验动物(如鸡、鼠、兔)的管理中,未明确实验动物质量检测职能,缺少专业检测单位、实验动物质量检测方法、标准和试剂;对兽用生物制品行业中专门使用的动物(如猪、牛、羊等),尽管这些动物并不符合法律法规中“实验动物”的严格定义,但因其具有与标准化实验动物相同的属性和意义,农业部应根据《实验动物管理条例》规定,结合农业领域所用动物的具体情况,制定实施办法,并成立有关机构,开展农业行业实验动物管理工作(制定动物标准、微生物检测方法和标准等,组织开展质量检测工作)。

3.2 加强动物研究,建立大动物供应基地,保证质量

对目前兽用生物制品领域广泛应用的非标准化试验动物(如猪、牛、羊等大动物),由于其来源越来越困难,质量极不稳定,且其质量对重大动物疫病疫苗的质量检测和新产品研发的重要性越来越大,因此应加大对这些动物的研究力度,尽快扶持建立质量较为稳定的健康敏感动物基地,进而建立标准化的大型实验动物群。

3.3 改变观念,改进兽用生物制品检验方法,减少实验动物用量

应用动物进行兽用生物制品质量检验和研发已有很长历史,且已证明多数动物模型有助于评价兽用生物制品的质量。但是,大量使用动物,存在经济、科学和伦理方面的限制。当我们使用家畜(如牛、马)进行免疫攻毒试验时,劳动量大,花费高,费时。当我们使用标准化的实验动物替代靶动物进行免疫攻毒试验时,由于实验动物发病机理、毒力特征、免疫反应的诱导以及保护性免疫反应均不可能和靶动物相同,实验动物与靶动物之间的相关性存在诸多不确定性。动物试验结果的差异性远高于用实验仪器获得的数据,这种差异性不仅存在于不同实验室之间,也存在于同一个实验室内。据报道,狂犬病疫苗 NIH 效力检验结果的差异可达到 1~10 倍。动物试验在伦理上处于进退两难境地,近年来尤其如此。

在制定兽用生物制品标准、研发和评审新产品的过程中,我们有必要更新现有观念,即:每批疫苗都要经过靶动物的免疫攻毒效力检验合格,才能确认其为质量合格产品。必要时,应通过法律法规或技术指导原则的形式规定:凡规定用大型靶动物免疫攻毒方法进行效力检验的产品,均须另行规定一种替代检验方法。寻求替代检验方法时,尤其应关注体外检验方法,因为这是能够显著减少动物使用数量的唯一途径。总的来说,制定兽用疫苗效力检验方法时,应遵循以下原则:首选体外法测定抗原含量(不用动物),其次选用实验动物体内法测定抗原含量(抗原相对含量测定法),再次选用实验动物免疫攻毒法,最后选用靶动物免疫攻毒法。

3.4 加强安全管理,确保动物试验中的生物安全

安全问题正成为世界范围内公众关注度越来越高的话题,生物安全问题也同样是动物试验管理中的首要问题。我国大部分兽用生物制品生产企业和部分专业研究机构都建有免疫攻毒动物舍,并正在开展大量的动物攻毒试验,这是由我国动物疫病现状以及全国兽用生物制品研发和生产行为空前活跃决定的。尽管我们在对全国兽用生物制品企业实施监管的过程中,高度重视生物安全的监管,但只要有人在开展攻毒试验,生物安全隐患就始终不能排除。因此,我们应在国家层面就兽用生物制品生产企业和研发机构的生物安全管理工作制定近期和长期目标。建议在近期要切实加强动物攻毒试验的管理,对存在安全隐患的,禁止开展动物攻毒试验工作;逐步建立动物攻毒试验基地,逐步限制分散于各地的攻毒试验,规定在指定地点和设施内开展攻毒试验,最终达到有效减少攻毒试验、确保生物安全的目标。

参考文献:

- [1] 陈连颐. 兽用生物制品的安全性问题与应对对策[C]. 2010 年学术年会论文集,长沙:中国畜牧兽医学学会生物制品学会,2010 年 9 月. 5-7.
- [2] 兽医生物药品制造及检验规程[S]. 中央人民政府农业部. 1952.
- [3] 中华人民共和国兽药典[S]:2010 年版. 三部. 中国兽药典委员会. 中国农业出版社. 北京. 2011.
- [4] 王明俊等. 兽医生物制品学[M]. 北京:中国农业出版社, 1997. 373-423.
- [5] 宁宜宝等. 兽用疫苗学[M]. 北京:中国农业出版社, 2008. 220-227.
- [6] 实验动物管理条例[S]. 北京:中华人民共和国国家科学技术委员会, 1988.
- [7] P. P. Pastoret, J. Blancou, P. Vannier, et al. Veterinary Vaccinology[M]. Elsevier Science B. V., Amsterdam, The Netherlands. 1997.
- [8] Code of Federal Regulations[S]. Office of the Federal Register National Archives and Records Administration, U. S. Government Printing Office. Washington DC. 2009.

(修回日期)2011-09-07