

발간등록번호

11-1471057-000690-01

국민안심이 기준입니다
YOUR SAFETY IS OUR STANDARD

청결한 세상

백신 품질관리

동물대체시험법 동향 정보집 (I)

- WHO, 유럽을 중심으로

2024. 11.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

의료제품연구부 바이오의약품연구과

본 정보집은 백신 등 생물학적제제 제조사 품질관리 담당자, 개발자 등이 참고할 수 있도록 WHO와 유럽에서 진행되고 있는 품질관리 동물대체시험법 도입 관련 최신 동향에 대한 정보를 수록하였다.

제시된 정보 등은 향후 관련 분야의 과학기술 발전에 따라 변경될 수 있으며, 식약처의 정책이나 심사방향과는 다를 수 있음을 밝힙니다.

※ 본 정보집에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원
의료제품연구부 바이오의약품연구과에 문의하여 주시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4704

팩스번호: 043-719-4700

목 차

1. 배경	1
2. 3Rs 원칙 및 과학적 유의성	2
3. 생물학적제제 WHO 가이드라인 관련 NC3Rs 검토 보고서.....	4
4. 영국 NC3Rs 보고서에 대한 WHO 입장	9
5. 백신 품질관리의 3Rs 원칙 반영 WHO 가이드라인 제정 계획	12
6. 유럽연합 집행위원회, 동물실험 관련 로드맵 추진 계획 발표.....	17
7. 유럽, 백신 품질관리 동물대체시험법 도입 추진.....	22
8. 유럽역전, 백신의 품질관리를 위한 생체 외 방법으로 생체 내 방법 대체.....	33
9. 참고문헌	39

1. 배경

동물을 이용한 실험은 오랫동안 의약품 개발 과정에서 활용되어 왔다. 동물 사용을 통해 독성, 작용 기전에 관한 이해, 약동학 및 역학, 생리학적 분포, 역가에 관한 중요한 정보를 획득할 수 있다. 그러나 의약품의 승인 조건에 따라 허가된 제품의 출하시에 역가나 안전성과 같이 제품의 품질을 모니터링하기 위해서도 동물실험이 지속적으로 사용되는 경우가 많다. 백신의 경우에 전세계적으로 연간 1,000만 마리 이상에 이르는 것으로 추산된다^[1]. 많은 수의 동물 사용은 제조업체와 국가 관리 실험실 모두에 재정적인 부담이 되며, 시간과 자원이 집약적으로 사용되고, 실험방법 자체가 동물에게는 큰 고통과 스트레스를 준다. 또한, 생물학적 반응이 나타나는 데 필요한 시간과 배치 출하 및 품질관리 시험에 사용되는 많은 동물실험이 가진 고유한 변동성, 그리고 실험에서 획득한 결과가 기준을 벗어날 경우 시험(assay)을 반복해야 하고, 복잡한 근본 원인 조사를 별도로 개시해야 하므로 백신 및 생물학적 의약품 출하가 지연되기도 한다^[2,3]. 안전하고 효과적으로 사용할 수 있는 경우에도, 제품이 아닌 실험동물에 의해서 만으로 잘못된 결과로 실패하게 될 위험도 존재한다^[4]. 지난 10년간 생물학의약품의 품질관리 및 배치 출하 시험에 비동물 기법을 적용하고, 일반 안전성 시험(general safety test)과 같은 오래된 시험을 제품 출하 요건에서 제거하는 등 상당한 진전이 있었다.

실험동물을 보호하기 위해 3Rs(대체(Replacement), 감소(Reduction), 개선(Refinement)) 원칙은 보다 인도적이고 과학적으로 뒷받침되는 동물 연구를 지원하고, 생물과학 분야 전반의 다양한 연구에 동물대체시험을 선택하는 것에 관한 과학적 타당성을 제시하는 프레임 워크로 많이 적용되고 있다. 이에 백신 등 생물학적제제의 출하시험 관련 비동물실험 방법을 적용할 수 있는 적절한 시험법을 개발하는 것이 중요하다.

본 정보집은 최근 WHO, 유럽 등에서 진행되고 있는 백신 등 생물학적제제의 품질관리 동물대체시험법에 대한 최신 동향에 대한 정보를 수록해 국내 제조사 품질관리 담당자, 개발자 등의 동물보호에 대한 인식을 제고하고 나아가 생물학적제제 품질관리의 동물대체시험법 도입·확산에 도움이 되기를 기대한다.

2. 3Rs 원칙 및 과학적 유의성

3Rs은 1959년 Russell 박사 등이 발표한 ‘인도적 실험 기법의 원칙(The Principles of Humane Experimental Technique)’에서 기술한 개념이다^[5]. 이 원칙은 동물을 이용한 연구에 적용하는 것이 윤리적인 문제라고 주장하는 일부 의견이 있지만, 생물학적체제의 품질관리, 배치 출하시험에 이 3Rs 원칙을 적용함으로써 품질과 재현성을 개선할 수 있고, 나아가 생물학적체제의 관리 효율성을 높일 수 있다. 3Rs은 다음과 같이 정의할 수 있다.

□ 대체(Replacement)

대체는 동물이 사용되는 실험에서 동물 사용을 직접적으로 대체하거나 피하는 기술 또는 방법을 의미한다. 수년 동안 인체 건강과 관련된 질문을 포함하여 중요한 과학적 질문에 대한 답을 찾는 데 연구용 동물을 사용해 왔다. 동물 모델은 비용이 높고 시간이 오래 걸리는 경우가 많고, 인간 생물학과의 관련성이 낮은 등 연구에 따라 과학적 한계가 존재하기도 한다. 지난 20년 동안, 과학 및 기술의 발전으로 인해 동물 사용을 대체할 수 있는 현실적인 기회가 생겼다. 최근 몇년간, 새로운 접근 방법론(New Approach Methodologies, NAM)이라는 개념이 생명과학 분야에서 특히 화학물질 또는 약물 독성을 평가하는 데 사용하는 비동물 기법을 설명하기 위해 채택되었다.

대체는 전체 대체와 부분 대체로 나눌 수 있다. 전체 대체는 연구 및 시험 목적으로 동물을 사용하는 것을 피하는 방법이다. 여기에는 임상 지원자, 조직 및 세포, 수학 및 컴퓨터 모델, 확립 세포주를 사용하는 방법이 포함되며, 흔히 ‘비동물 기법’이라고 한다. 그 예시로는 발열성 시험에 단핵구활성시험(monocyte activation test, MAT)을 사용하는 것을 들 수 있다.

부분 대체는 고통을 겪지 않으리라고 간주되는 일부 동물 시험을 사용하는 것은 부분 대체라고 할 수 있다. 여기에는 초파리, 선충류 및 무척추동물과 미성숙한 척추동물이 포함된다. 부분 대체에는 해당 목적을 위해서만 죽은 동물로부터 채취한 1차 세포 및 조직을 사용하는 것도 포함한다. 부분 대체의 예시로는 엔도톡신시험에서 투구게에서 채취한 혈액을 사용하는 LAL(Limulus Amebocyte Lysate) 정량시험을 사용하는 것을 들 수 있다.

생체 외(in vitro) 시험은 동물실험에 비해 변동성이 낮고, 시간과 자원이 적게 소요되며, 안전하고 효과적인 백신 등 생물학적제제 배치를 일관적으로 생산할 수 있도록 하는 관리 전략에 보다 적합하다는 것은 널리 알려져 있는 것이 사실이다^[3,6-8].

□ 감소(Reduction)

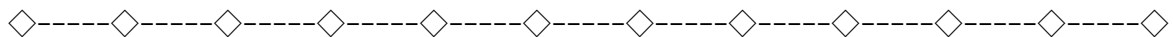
감소란 실험 또는 연구당 사용되는 동물의 수를 최소화하는 방법이다. 동물을 사용하는 연구가 보다 견고하고 재현 가능한 결과를 도출하기 위해 적절히 설계되고 분석되는 것이 필수적이다. 감소에는 추가 동물 사용을 줄이기 위해 실험에서 동물당 수집하는 정보를 최대화하는 방법도 포함된다. 연구 그룹 및 기관 간에 데이터 및 자원(예: 동물, 조직 및 장비)을 공유하여 동물 사용을 감소시킬 수도 있다. 동물을 이용한 시험은 언제나 최적화되어, 신뢰할 수 있는 데이터를 전달하고, 명확한 결정을 내리고, 동물 사용이 추가되어야 하는 연구 반복이 없도록 해야 한다. 다양한 희석 그룹이 필요한 정량시험보다는 역가 시험에 단일 희석 분석(예: 디프테리아 및 파상풍 백신의 경우)을 사용하는 것을 감소의 예로 볼 수 있다.

□ 개선(Refinement)

개선이란 실험용 동물이 경험할 수 있는 고통, 괴로움, 스트레스, 지속적인 피해를 최소화하고 동물 복지를 개선하는 방법을 말한다. 개선은 사육부터 동물에 대해 수행되는 과학적 절차에 이르기까지 동물 사용의 모든 측면에 적용된다. 통증과 고통으로 인해 동물의 행동, 생리학, 면역학이 변화할 수 있다^[9-11]. 이러한 변화는 실험 결과에 영향을 미쳐 연구의 신뢰성과 반복성을 모두 훼손할 수 있다. 개선의 예시로는 동물에게 종별 행동을 표현할 수 있는 시설을 제공하고, 통증을 최소화하도록 적절한 마취 및 진통제를 사용하고, 스트레스를 최소화하기 위한 절차에 협력하도록 동물을 훈련시키고, 안전성 또는 역가시험에서 사망 매개변수 대신 초기 인도적 매개변수를 사용하는 것을 들 수 있다. 개선의 구체적인 예는 공격용 균주를 사용하는 챌린지 단계(challenge step)를 혈청학적 면역반응 분석으로 대체하여 개선하는 것을 들 수 있다.

3. 생물학적제제 WHO 가이드라인 관련 NC3Rs 검토 보고서

영국의 NC3Rs(National Center for Replacement, Refinement & Reduction of Animal in Research)은 2004년 설립된 국립기관으로, (가) 동물 사용에 대한 예측적이고 재현 가능하며 비용 효율적인 대안의 발견과 채택을 지원하며, (나) 동물사용이 필요한 경우 표준을 개선하고, 모델 선택 및 연구 설계를 최적화하고 고통을 최소화하고, (다) 교육을 제공하고 정책, 실무 및 규정에 3R을 포함시켜 국내외적으로 과학계 전반에 걸쳐 3R의 중요성을 홍보하는 기능을 수행하고 있다. NC3Rs는 세계보건기구(World Health Organization, WHO)의 요청에 따라 백신 및 생물학적제제의 품질, 안전성 및 유효성에 대한 WHO 가이드라인 등의 지침 문서에 기재된 동물실험 요건을 검토한 결과 보고서인 ‘생물의약품에 관한 WHO 가이드라인 및 권장사항의 동물실험 요건 검토(Review of animal testing requirements in WHO guidelines and recommendations for biologics)’를 2023년 10월에 개최된 제78차 WHO 생물의약품 표준화 전문가 위원회(ECBS)에 보고하였다. 주된 내용은 WHO 가이드라인 81건을 검토한 결과, 시판 전 생물학적제제의 외래성 인자, 신경독성, 역가, 발열원성, 독성 여부 평가 시 동물 시험 수행을 언급한 문서는 63건이었다. 관련된 5개 영역에 대해 전문가에 의한 집중 논의를 걸쳐 3Rs 원칙 실천을 한층 원활히 받아들이고 장려하는 방향으로, 그리고 문서 간 일관성을 높이는 방향으로 WHO 가이드라인에 대한 수정 의견 등을 제안하였다. 다음은 해당 NC3Rs 보고서의 주요 내용을 발췌한 것이다.



본 보고서에는 동물 사용을 대체, 감소, 개선할 가능성이 있고, 제품을 가장 필요로 하는 집단에 대한 제품 접근성을 높일 수 있는 승인 후 배치 출하 시험 전략을 폭넓게 통합하기 위한 증거에 기반한 권장사항이 나와 있다. 국제 전문가 실무 그룹에서는 총 81건의 WHO 지침 문서를 검토하여, 이 중 63건의 문서에서 백신 및 생물의약품을 시장에 출시하기 전에 외인성 인자, 신경독성, 역가, 발열성 및 독성을 평가하기 위해 사용되는 동물실험 방법에 대해

기술했다. 기술된 방법을 검토하고 가이드라인의 해당 부분을 대체할 문구를 제안하기 위해 각 영역에 대한 집중 담당 그룹을 구성했다. 그 목적은 기존의 확립되고, 검증된 비동물실험 방법을 통합하거나 채택할 것을 권장하고, 향후 개발 및 밸리데이션될 3Rs 방법을 사용하도록 하기 위해 관련 WHO 지침 문서의 내용을 개정하도록 제안하는 것이다.

WHO는 백신, 유전자재조합의 의약품 등 다양한 제품 개발과 보다 안전한 제품 공급을 위해 관리체계의 조화를 유도하기 위해 많은 가이드라인을 발간하였다. 현재까지는 백신 및 생물학적 의약품의 배치 출하 시험 관련 가이드라인에서 3Rs과 동물시험에 대한 대안을 인정하는 지침을 제한적으로 제공되었던 상황에서 22년 기 발간 기술문서에 대한 개선사항을 도출하고자 동 사업을 추진한 것이다. 본 보고서에는 보고서의 보고한 배경, 일반적인 원칙으로 삭제된 이상독성시험법과 같이 아직 수정되지 않은 기술문서의 삭제 의견, 실험동물원칙 도입을 위해 우선적으로 개선이 필요한 시험항목(외인성 인자 시험 등)에 대한 의견, 위원회에 권고하는 사항 등이고, 다음과 같이 요약된다.

□ NC3Rs 검토 결과 및 WHO 생물의약품 표준화 전문가 위원회를 위한 권장사항

검토를 통해 동물실험 및 3Rs 정보를 포함한 63건의 WHO TRS 문서를 확인했다. 검토 그룹은 이 63건의 문서 중 351번의 개별 사례에서 검토 범위에 포함된 동물실험 또는 3Rs에 대한 참조를 확인하고, 외인성 인자시험, 신경독성 시험, 발열물질 및 엔도톡신 시험, 역가 및 면역원성 시험, 특정 독성 시험의 5가지 범주로 더 세분화했다. 한편, 일반 안정성 시험(General safety test, GST) (이상독성부정시험 (Abnormal toxicity test, ATT) 또는 독성부정시험 (Test for Innocuity)이라고도 함)은 본 사업에 계획되지 않았다. 이는 WHO에서 과학적으로 타당하지 않다고 인지하고, 더 이상 생물의약품의 품질관리 및 배치 출하에 권장하지 않기 때문이다^[12]. 그러나 검토를 통해 백신 등 생물의약품의 배치 출하 시험을 위한 동물실험을 참조하는 63건의 문서 중 34건의 개별 지침 문서에서 일반 안정성 시험이 38회 언급되었다. 실무 그룹은 이러한 가이드라인을 최대한 빠르게 업데이트하여 이 시험에 대한 참조를 모두 삭제할 것을 권장했다.

□ 외인성 인자 시험(Adventitious agents testing)

1900년대초, 오염된 디프테리아 항독소로 인해 13명의 소아가 파상풍으로 사망한 이후, 생물약품에서 외인성 인자를 확인하는 것은 규제기관, 제조소, 공중보건 공무원의 관심사였다^[13]. 외인성 인자는 생물약품 제조 과정에서 의도치 않게 유입되었을 수 있는 미생물로 정의된다. 여기에는 박테리아, 진균, 마이코플라스마/스피로플라스마, 마이코박테리아, 리케차, 원생동물, 기생충, 전달성해면상뇌증(Transmissible spongiform encephalopathy, TSE) 인자 및 바이러스가 포함된다. 외인성 인자는 생산 시 사용된 출발 물질(세포 기질, 돼지 트립신, 소 혈청이나 기타 동물이나 인체 유래 기원물질 등)을 통해 백신 등 생물약품에 우연히 유입될 수 있다. 지금까지는 외인성 인자로 인한 오염을 검출하기 위해 생체외 및 생체내 시험을 모두 수행해 왔다^[14]. 그러나 최근 분석에 따르면 다양한 분자 방법을 포함한 현대 생체외 정량시험은 생체내 정량시험에 비해 더 민감하고 선택적이므로, 가능하면 이 방법을 사용해야 한다^[15-17].

외인성 인자 집중그룹은 마이코박테리아, 혈구흡착 바이러스, 조류 바이러스, 기타 외인성 바이러스 4가지 세부적 범주로 나누었고, 검토한 모든 기술 문서의 현재 내용을 제안된 대체 본문으로 변경할 수 있다는 결론을 내렸다.

□ 신경독성 시험(Neurovirulence testing)

홍역, 볼거리, 소아마비 등 많은 바이러스가 중대한 신경 질환과 관련이 있다. 바이러스 감염이 건강에 미치는 다른 급성효과와는 다르게, 신경학적 손상은 장기간 지속되어 환자의 삶을 바꿀 수 있다^[18,19]. 이러한 이유로, 안전성을 손상시키지 않으면서도 백신 개발을 신속하게 진행하는 것이 매우 중요하다. 많은 규제기관들은 수년 동안 신경독성에 대한 생 약독화 바이러스 백신 시험의 필요성을 강조해 왔다.

신경독성 시험은 검증된 비동물 기법 시험 방법과 관련하여 가장 어려운 분야였다. 신경독성의 위험은 제품마다 다르며, 따라서 비동물 기법 또한 각 제품별로 개발하고 검증해야 한다. 검토 과정 중 품질관리 및 배치 출하 시험에 신경독성시험이 권장되는 일부 백신을 확인했다.

이중, 유일하게 검증된 비동물 신경독성시험은 경구용 소아마비 백신에 대한

PCR 및 제한효소 절단을 통한 돌연변이 분석 시험이다^[20,21]. 현재 신경독성에 대해 밸리데이션된 비동물 기법 방법이 부족한 현실을 감안하여, 집중그룹은 기존 제품과 향후 제품에서 신경독성 시험이 필요하지 않도록 하는 위험 기반 접근법을 사용할 수 있는 원칙에 관한 지침서를 개발하기로 결정했다.

신경독성 시험을 위한 새로운 비동물 기법 접근법에 대해 추가 연구가 필요하다는 점이 명백하며, 실무 그룹은 이를 뒷받침하기 위한 이니셔티브를 추진할 것이다. 이와 관련한 일부 진전이 있었고^[18,22-24], 실무 그룹은 이 연구 분야를 모니터링하고 이러한 방법이 검증되는 대로 WHO가 이를 즉시 가이드라인에 통합할 것을 권장한다.

□ 발열물질 및 엔도톡신 시험(Pyrogen and endotoxin testing)

엔도톡신 및 비엔도톡신 발열물질의 시험은 비동물 기법 시험방법 개발에서 상당한 성과를 거둔 분야이다. 1942년 처음 도입된 후로, 발열성 시험에는 지금까지 토끼 발열물질 시험(Rabbit pyrogen test, RPT)이 사용되었다. 그러나 이 시험은 위양성 및 위음성 결과가 발생하기 쉽고, 기술적 한계가 크며, 인간에서의 반응을 제대로 예측하지 못하는 것으로 널리 보고되었다^[25-28]. 1964년, 엔도톡신이 *limulus polyphenus* 종의 피림프(haemolymph) 응고를 유발한다는 점이 처음으로 보고되었다. 이는 LAL(limulus amoebocyte lysate) 시험 확립으로 이어졌다(일부 지역에서는 *tachypleus gigas* 종 또는 *tachypleus tridentatus* 종이 투구게 혈액 속 라이세이트(tachypleus amebocyte lysate, TAL). 비엔도톡신 발열 물질을 검출할 수 없기 때문에 토끼 발열물질시험을 완전히 대체하지는 못하지만, 토끼실험을 사용할 필요성을 줄였으므로, 이는 크게 개선된 점이라고 볼 수 있다. 그러나, LAL/TAL 시험 사용에 대해 투구게 복지와 그 생태계 보존 측면에서 윤리적 문제가 제기되었다.

LAL/TAL 시험의 윤리 및 지속가능성 문제는 동물이나 동물유래 물질이 필요하지 않는 재조합 C인자(Recombinant factor C, rFC) 분석 개발로 이어졌다. 재조합 C인자는 엔도톡신 민감성 합성 단백질로, LAL/TAL 응고 단계의 시작점인 C인자 DNA로부터 복제된다. rFC가 엔도톡신에 결합되면, 존재하는 엔도톡신의 양에 비례하는 형광 신호를 생성한다. rFC 분석은 2001년 처음으로 기술되었으며^[29], 최근 검토에서 “보다 전통적인 LAL/TAL 시험에 견줄만 하며,

기술적으로 우수할 수 있다” 고 간주되었다.

단핵구활성시험(MAT)은 1980년대에 생체의 발열물질 시험으로 처음 기술되었으며, 2000년대 초반에 토끼 발열물질시험을 대체할 가능성이 검증되었다^[30-32]. 원칙적으로 단핵구활성시험은 보편적인 발열물질시험(엔도톡신 및 비엔도톡신 발열물질 모두)에 사용 가능하지만, 제품별 검증의 기술적 어려움으로 인해 구현이 어렵다고 간주된다.

집중그룹은 보편적인 발열물질시험으로 단핵구활성시험을 고려할 수 있다는 점을 인정했지만, 이와 관련된 기술적인 문제를 고려할 때 “계층형” 접근법을 권장하는 것이 더 실용적이라고 결정했다. 이 시나리오에서는 전임상 제품 및 제조 공정 개발 중 비엔도톡신 발열물질의 위험을 평가하는 박테리아 엔도톡신 시험이 단핵구활성시험에 비해 선호된다. 집중그룹은 투구계 복지 및 보존에 관한 윤리문제로 인해 LAL/TAL 시험보다 rFC 시험을 우선적으로 사용해야 한다고 지적했다.

유럽약전은 2025년까지 시험 요건에서 토끼 발열물질시험을 삭제하겠다고 했으며^[33], 인도약전 및 중국약전은 각각 2018년과 2020년에 단핵구활성시험을 도입하여 토끼 발열물질시험을 대체했다. 브라질약전은 2019년에 단핵구활성시험이 토끼 발열물질시험을 대체하는 방법으로 공식 인정한 후^[34], 최근 단핵구활성시험 2022년에 도입 작업을 시작했다.

□ 역가 및 면역원성(Potency and immunogenicity)

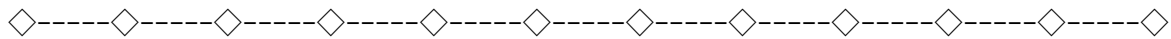
역가/면역원성 시험이 제품별로 매우 상이하므로, 전임상 제품 및 제품의 공정 개발 중에 결정되기 때문에 집중그룹의 작업은 더욱 복잡했고 더 세부적인 범주로 1. 불특정, 2. 챌린지 시험(Challenge test), 3. 혈청학적 시험 + 면역 반응의 항체 생체외 측정, 4. 혈청학적 시험 + 면역 반응의 항체 생체내 측정, 5. 혈청학적 시험 + 면역 반응 측정에 사용되는 불특정 방법으로 나누었다.

□ 특정 독성(Specific toxicity)

특정 독성시험 또한 제품에 따라 크게 달라지므로, 개정 본문의 초안을 각 제품에 따라 작성하기로 결정하고, 특정 독성 집중그룹은 가능한 경우 비동물기법을 사용할 것을 권장하고, 동물실험에 대해 불필요한 세부 사항을 삭제했다.

4. 영국 NC3Rs 보고서에 대한 WHO 입장

영국 NC3Rs에서 2023년 10월 WHO에 제출된 WHO 가이드라인 검토보고서에 대해 같은 해 10월에 개최된 78차 WHO ECBS 자문회의 결과를 WHO 기술문서(WHO Technical Report 1054, '24.4.25)에 발표하면서, 백신 등 생물학적제제의 품질관리 영역에서, 과학적으로 합당한 범위 내에서 적절히 동물실험에서 비동물 실험으로 전환할 것을 장려하는 WHO 지침서 마련이 위원회의 공통된 의견임을 표명하였다. 또한, 보고서에서 내놓은 개정안을 해당 사항이 있는 WHO 지침문서에 가능한 한 반영하여야 하고, WHO 표준문서 개정 작업이 상대적으로 느리게 이루어지기 때문에, NC3Rs 데이터베이스 활용을 장려해 한층 신속한 개정 내용을 접할 수 있도록 개선해야 함을 제시하였다. 다음 내용은 해당 건에 대한 WHO 자문회의(78차) 결과이다.



□ 3Rs 원칙 실천 - WHO 생물학적제제 가이드라인 및 권고사항 문서 내의 동물실험 요건 검토

동물실험은 바이오의약품과 백신 개발 시 작용기작과 안전성, 유효성 확인을 목적으로 오래전부터 활용하던 방법이다. 현재도 백신과 바이오의약품의 출하승인 및 품질관리를 위해 출하승인의 시판 후 단계에서 계속 활용하는 경우가 많다. 그러나 본질적으로 변수가 많고 시간도 상당히 오래 걸려 수많은 생명을 살릴 의약품을 적시에 공급하지 못하는 상황이 발생할 위험이 있는데다, 제조업체와 국가표준시험실이 감당하여야 할 자원상의 부담도 상당하다. 또한 규제 권역 별로도 동물실험 요건이 제각각이다.

생물학적제제 품질관리에 비동물 시험 기술을 활용하려는 움직임이 눈에 띄게 증가하고 있고 3Rs 원칙을 보다 일관적으로 확장 실현하여야 한다는 인식도 높아지는 상황에 맞추어, WHO에서는 생물학적제제 표준문서에서 동물시험을 권고하는 내용을 독립적으로 검토하는 작업을 외부 기관에 의뢰하였다. 해당 검토

작업은 생물학적제제의 품질관리 및 출하승인 시에 사용을 권고하고 있는 현행 시험법 종류를 파악하고, 과학적으로 적합하다고 입증받은 비동물 시험 등 3Rs 실현 방법을 활용할 방안을 모색하는 것을 목적으로 한다. 현재는 검토 작업을 마친 상태이며, 최종 보고서 및 관련 제언 사항을 ECBS 회의에서 발표하였다.

현행 WHO 표준문서 가운데 81건을 검토한 결과, 이 중에서 시판 전 생물학적제제의 외래성 인자, 신경독성, 역가, 발열성, 독성 여부 평가 시 동물 시험 수행을 언급한 문서는 63건이었다. 해당 5개 영역 각각에서 유관 전문가로 집중 협의체를 구성해, 3Rs 원칙 실천을 한층 원활히 받아들이고 장려하는 방향으로, 그리고 문서 간 일관성을 높이는 방향으로 문장을 수정하였다. 이번 사업의 취지와 연관성을 지닌 이해관계자의 의견과 이들이 몸소 느낀 바를 지역별 워크숍을 통하여 경청하고, 동물실험 관련 문제점을 제조업체 및 국가규제기관에 종사하는 이들의 관점으로 알아보는 설문조사를 통하여 수렴하고 반영하였다는 점, 그리고 비동물 시험을 과학적으로 합당한 범위 내에서 최대한 활용하려는 열망에 부응하고자 한다는 점도 명시하였다. 한편, WHO에서 이상독성부정시험(일반 안전성시험(general safety test)이라고도 함) 권고를 중지하기로 결정한 사실이 널리 알려진 현재에도 해당 시험을 계속 수행하고 있는 경우가 더러 있다는 것을 설문조사를 통해 알 수 있었다. 이외에도 이번 보고서에서 제언한 내용으로는 (a) 출하승인에서 3Rs 원칙 실천에 관한 WHO 총괄 지침 마련 및 입장 표명, (b) 발열성 및 엔도톡신 시험에 3Rs 개념을 도입하는 것에 관한 WHO 지침서 초안 마련, (c) 향후 WHO 지침문서를 보다 손쉽게 열람하고 널리 활용토록 하는 방안 모색 등이 있다.

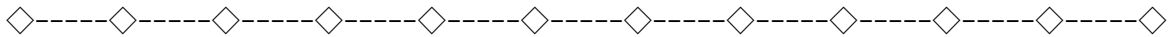
이번 사업에 공로를 세운 NC3Rs의 노고에 위원회는 감사를 표하였다. 저명한 전문가의 자문을 풍부하게 얻어 두루 면밀히 검토하고, 이를 상세하고 명료하게 기술한 양질의 최종 보고서도 역시 높이 평가하였다. 해당 보고서에서 얻은 결론을 바탕으로 본 분야의 WHO 지침 마련을 담당하는 실무협의단을 구성할 것을 위원회는 권고하였다. 백신 등 생물학적제제의 품질관리 영역에서, 과학적으로 합당한 범위 내에서 적절히 동물실험에서 비동물 실험으로 전환할 것을 장려하는 WHO 지침서를 마련하여야 한다는 것이 위원회의 공통된 의견이었다. 또

한, WHO 표준문서 개정에 재원을 투입할 필요성을 견지하는 한편, 이번 보고서에서 내놓은 개정안을 해당사항이 있는 WHO 지침문서에 가능한 한 반영하여야 함을 실감하였다. WHO 표준문서 개정 작업이 상대적으로 느리게 이루어지기 때문에, NC3Rs 데이터베이스 활용을 장려하고 필요할 때 쉽게 열람할 수 있도록 하면 한층 신속하게 개정안 내용을 접할 수 있을 것이다.

제조업체와 국가규제기관 중에서 이상부정독성시험을 WHO에서 권고 중지하였다는 사실을 인지하고 있는 비율이 80%를 상회하지만, 실제로는 이상부정독성 시험 데이터를 활용하는 국가규제기관의 비율도 아직 69%에 달한다는 사실에 관하여 우려의 목소리가 나왔다. 실질적으로 해당 시험 폐지를 추진하는 것은 각 국가규제기관에 달려 있으므로, ECBS의 WHO 기술보고서의 부속서 1편 (Annex 1)에 매년 실는 서문에 WHO에서 이상부정독성시험을 권고 중지하였다고 직접적으로 언급하는 등의 방식으로 국가규제기관의 이상부정독성시험 요건 폐지를 촉진할 것을 위원회는 제의하였다. 이상독성부정시험 폐지 권고를 명료하게 밝히는 문구를 유관 WHO 웹사이트에 게재하는 방법도 WHO에서 고려할 수 있을 것이다.

5. 백신 품질관리의 3Rs 원칙 반영 WHO 가이드라인 제정 계획

영국 NC3Rs의 WHO 가이드라인 검토보고서가 2023년 10월 제출되고 다음 해인 2024년 10월에 제80차 WHO 생물학약품 표준화 전문가 위원회(ECBS) 회의가 10월 7일부터 11일까지 스위스 제네바에서 개최되었다. WHO ECBS 회의에서는 백신 품질관리의 3Rs 원칙 적용을 위한 WHO 가이드라인을 제정하고자 향후 계획을 포함한 개념 요약서(Concept paper)를 공유하였으며, 그 내용은 다음과 같다. 신규 제정될 가이드라인은 2025년 10월에 개최 예정인 제81차 WHO ECBS 회의에 제출될 것이며, 2026년에는 최종 가이드라인으로써 이행될 것으로 예상하고 있다.



□ 배경

WHO는 백신 등 생물학적제제를 표준화하는 데 필요한 국제표준품을 확립하고 생물학적제제의 생산, 품질관리, 비임상 및 임상 평가에 관한 WHO 지침 및 권고사항을 개발하는 데 70년 이상 핵심적인 역할을 해왔다. 이러한 규범과 표준은 국제협의를 통해 달성된 과학적 합의를 기반으로 전 세계 생물학적제제의 품질, 안전성 및 효능을 보장하는 데 WHO 회원국을 지원한다. 이 기구는 주로 전문가, WHO 협력센터 및 WHO 생물학약품 표준화 전문가 위원회(ECBS)를 통해 이 작업을 수행하며, 전 세계 국제 과학 및 전문 커뮤니티, 지역 및 국가 규제 당국, 제조업체 및 전문가 연구소와의 광범위한 협력과 협의도 수반한다.

이러한 활동을 통해 WHO는 백신의 개발, 생산 및 품질관리에서 동물의 사용을 대체, 감소 및 개선하는 원칙(3Rs Principle)을 지지해 왔다. 동물실험은 생물학약품 개발에서 오랫동안 확립된 역할을 하며, 작용 메커니즘에 대한 통찰력을 제공하고 안전성과 효능을 보장하였으며, 종종 로트 출시 과정의 일부로 제품 품질과 안전성을 모니터링하기 위해 승인 후에도 동일한 동물실험 방법이 계속 사용되어 왔다. 그러나 품질관리를 위한 동물 방법의 내재적 변동성과 시간 소모적 특성으로 인해 생명을 구하는 제품의 가용성이 지연될 위험이 있으며, 제조사와 국가규제실험실의 자원에 상당한 부담을 줄 수 있다.

지난 10년 동안 3Rs 원칙을 적용하여 생물학적제제의 품질관리를 위한 비동물 기술 구현에 중요한 진전이 있었다.

□ WHO 의 입장

WHO는 동물 기반 연구가 생물학적제제 개발에 필수적이라는 점을 인정하면서 많은 동물 분석의 과학적 한계와 3Rs 원칙이 현재 생명과학 전반에 걸쳐 사용되는 생체내 방법에 널리 적용되고 있음을 인식하고 있다. 동시에 기술발전은 과학적으로 견고하고 경제적으로 유리한 비동물 대안의 기초를 제공했다. 따라서 WHO는 생물학적제제 제조사와 규제당국이 과학적으로 정당화될 때마다 3Rs 원칙을 채택하고 동물 기반 연구, 생산 및 품질관리에서 벗어날 것을 강력히 권장한다.

WHO 의약품 규제기관은 아니지만, WHO 가이드라인이 전 세계 제조사와 규제당국이 3Rs 원칙을 원활하게 이행할 수 있도록 보장해야 할 의무가 있다. 가이드라인이 수정되고 새로운 문서가 생산됨에 따라 세계보건기구는 동물사용에 대한 내용을 업데이트하여 3Rs 원칙의 적용을 장려하고 오래되지 않은 동물실험의 사용을 종식시키기 위해 노력해 왔다. 그러나 이로 인해 다른 제품에 적용되는 동일한 실험과 이상독성부정시험 등과 같은 오래된 실험을 설명하는 데 사용되는 언어의 불일치가 필연적으로 발생하여 이전 가이드라인에 남아 있었다.

이상독성부정시험의 경우 1999년 이전에는 이 검사가 백신, 생물치료제 및 혈액제에 대한 WHO 권장 사항 및 가이드라인에 로트 출시를 위한 일상적인 검사로 포함되었다. 그 후 WHO 가이드라인은 책임 있는 규제당국의 부합하여 생산 일관성이 확립되면 일상적인 로트 출시에 삭제할 수 있도록 변경되었다. 이 검사와 회원국의 사용 방식을 검토한 후, 2018년 WHO 생물학적 표준화 및 의약품 규격 전문가 위원회는 백신 등 생물학적제제에 대한 WHO 권고사항에서 이 검사를 중단하고 국제약전에서 삭제하기로 합의했다^[42-44]. 그럼에도 불구하고 최근 NC3Rs의 WHO 가이드라인 및 권고사항 검토를 통해 많은 관할권에서 이상독성부정시험의 사용을 억제하기 위해 추가 작업이 필요하다는 것이 분명해졌다.

효능 및 특정 독성 시험과 같은 다른 동물 기반 테스트의 경우 WHO는

제조업체가 동물 공격 테스트(예: 광견병, 파상풍, 디프테리아 및 IPV 백신 가이드라인)를 대체할 수 있는 대체 시험관 내 분석법을 개발하도록 권장했다^[35-38]. 또한 WHO는 필요한 동물 수를 줄이기 위해 희석 감소 계획을 시행할 것을 권장하고 있다. 디프테리아와 파상풍 독소이드의 특이 독성 테스트의 경우, WHO 권고 사항에는 세포 기반 분석을 수행하는 옵션이 포함되어 있으며 책임 있는 규제당국의 승인을 받으면 “최종원액에 사용된 특이 독성 테스트는 생산 일관성이 입증되면 일상적인 로트 방출 절차에서 생략될 수 있다”고 명시되어 있다^[36-37].

일부 일반 가이드라인에서 WHO는 인도적 근거에 대한 대체 분석법의 개발과 동물 실험의 내재적 변동성을 줄일 것을 권장한다. 예를 들어, 배치 출하승인 가이드라인^[39]에서는 “동물을 실험에 사용할 때 국가규제실험실은 동물의 출처, 주거 및 취급에 대한 잠재적 변동성을 인식해야 한다. 윤리적 이유로 동물 사용을 최소화하기 위해 “3Rs” 원칙(감소, 대체, 개선)을 적용하는 것이 바람직하다. 가능한 한 검증된 생체의 실험 대안을 선호해야 한다. 그러나 검사 유형은 유효한 관련 데이터에 대한 과학적 필요에 따라 결정되어야 한다. 또한 전 세계적으로 동물실험을 최소화하기 위해 이미 다른 국가규제실험실이 수행한 동물실험 결과를 활용하기 위해 수출국의 국가규제실험실 또는 다른 국가규제실험실과 상호 인정 또는 협력 계약을 통해 합의를 모색해야 한다. 비임상 지침은 또한 동물에 대한 백신 후보물질의 비임상 평가에 대한 대안으로 생체 외 실험의 개발을 장려한다^[40].

□ 요구 및 도전

사람백신의 품질관리를 위해 전 세계적으로 연간 1,000만 마리 이상의 동물이 사용되는 것으로 추정되며, 이로 인해 제조사와 국가규제실험실 모두에게 자원 집약적이고 재정적으로 상당한 부담이 될 수 있다. 동물의 출처, 품질 및 사육 방식의 다양성 외에도 많은 동물 기반 품질 관리 시험의 내재적 변동성으로 인해 과학적으로 건전한 시험관 내 대안을 구현하는 것이 배치 출하의 재현성과 효율성을 개선하기 위한 전제 조건이다.

품질관리 및 배치 출하를 위한 생체의 시험 방법을 구현하기 위해 이루어진 중요한 발전을 고려할 때, WHO는 가이드라인이 전 세계 제조사와 규제당국의

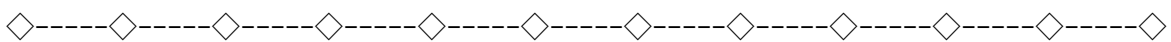
현재 생각과 일치하도록 하는 것을 목표로 하며, 생체 내 방법이 사용되는 모든 곳에 3Rs 원칙을 적용하도록 장려한다. 세계보건기구는 영국 NC3Rs의 검토에서 권고한 사항 외에도 업계(예: IFPMA 및 DCVMN)와 이해관계자(예: EDQM, EFPIA, NC3Rs, EPAA 및 IABS)로부터 생물학적체제의 개발, 생산 및 품질 관리 과정에서 3Rs 원칙을 적용하는 특정 WHO 가이드라인 개발을 위한 여러 요청을 받았다. 이러한 권고와 요청을 종합하면 몇 가지 과제가 있다. 국내법에 의해 활동이 뒷받침되는 국가규제당국과는 달리 세계보건기구의 규제 역할은 자문적이기 때문에 전 세계적으로 높은 평가를 받고 있음에도 불구하고 제조사나 국가규제실험실이 WHO 가이드라인을 채택하도록 강요할 수 없다. 이러한 WHO 권고 및 가이드라인에 대한 존중은 부분적으로 WHO의 개발을 지원하는 광범위한 협력 및 협의 과정에서 비롯된다. 그러나 이는 시간이 많이 걸리고 자원 집약적인 과정이다. 이러한 어려움에도 불구하고 TRS에서 온라인으로 WHO 권고 및 가이드라인을 게시하고 WHO 표준화 웹페이지를 통해 가이드라인에 대한 링크를 통해 기존 문서를 업데이트하기 훨씬 전에 변경 사항을 전면적으로 적용할 수 있음을 강조할 수 있는 기회를 제공한다. 전임상 개발에 사용되는 생체 내 테스트의 근거가 품질 관리에 사용되는 테스트에 따라 다르기 때문에 3Rs 원칙 적용에 대한 WHO 가이드라인의 범위를 정의하는 것도 어려운 과제이며 신중한 고려가 필요하다.

□ WHO 생물 의약품 표준화 전문가 위원회 권고 사항

2023년 제78차 WHO 생물 의약품 표준화 전문가 위원회 회의 보고서 결과를 바탕으로 WHO 가이드라인을 추가로 개발할 수 있는 실무 그룹을 구성할 것을 권고했다. WHO 생물 의약품 표준화 전문가 위원회는 WHO가 백신의 품질관리에서 동물실험을 비동물 실험으로 대체하도록 장려하는 과학 기반 지침을 개발해야 한다는 데 의견을 모았다. 위원회는 가이드라인을 수정하기 위해 WHO가 사용할 수 있는 자원이 제한되어 있다는 점을 지적하면서 보고서에 제안된 수정된 내용이 중요하며 수정될 수 있는 즉시 각 지침 문서에 통합되어야 한다고 생각했다^[41]. 또한 지침 문서 자체의 수정을 앞두고 사용자에게 이러한 텍스트에 대한 고급 액세스를 제공하기 위해 NC3R 데이터베이스에 대한 액세스를 허용하는 방안을 고려할 수 있다고 제안했다.

6. 유럽연합 집행위원회, 동물실험 관련 로드맵 추진 계획 발표

유럽의 동물보호 단체는 2021년 화장품 등 화학물질의 안전성 평가 등에 실험동물의 사용을 금지하는 청원을 유럽연합 집행위원회(European Commission, EC)에 요청하였다. 동물 복지 또는 환경에 대한 발의로 과학적 목적을 위해 실험동물 사용에 대하여 다음의 조치를 취해 줄 것을 촉구한 것이다. “(가) 화장품 동물 실험 금지를 보호하고 강화한다. 모든 화장품 성분에 대하여 언제 어떠한 목적으로든 동물 실험을 하지 않아 소비자, 근로자, 환경 보호를 달성하기 위한 입법적 변화를 발의한다. (나) EU 화학물질 규정을 혁신한다. 동물실험에 대한 새로운 요구 사항을 추가하지 않고 화학물질을 관리하여 인간의 건강과 환경을 보호한다. (다) EU의 과학을 현대화한다. 현 입법 기간이 끝나기 전에 EU에서 모든 동물 실험을 단계적으로 중단하기 위한 로드맵을 계획하는 입법 제안에 전념한다.” 이는 화장품에 대한 동물실험의 금지를 요청하면서 의약품 등 화학물질 전반에 사용되는 동물실험 중단을 요청한 것이다. 이에 집행위원회는 2023년 7월 25일 관련 입장문을 발표하면서 입법 청원의 목적은 조속한 동물사용 금지를 요청하고 있지만, 현재 과학적인 지식의 한계와 실험동물이 가지는 활용성 등의 상황을 설명하면서, 동물보호라는 사회적인 요구에 따라 관련 모든 화학물질의 안전성 평가를 위한 동물실험의 궁극적인 단계적 폐지를 위해 단기에서 장기로 이행할 이정표와 구체적인 조치를 설명하는 로드맵을 개발하기 위한 작업을 즉시 시작할 것이며, 이 로드맵에 반영될 주요한 집행위원회 조치는 일련의 입법 및 비입법 조치로 구성될 것이며, 이 로드맵을 2025년까지 마련하겠다는 계획도 발표하였다. 다음은 해당 집행위원회의 발표문(EC, Communication from the Commission on the European Citizens’ Initiative(ECI) ‘Save cruelty-free cosmetics-Commit to a Europe without animal testing’, 2023.7.25.) 중의 주요 내용을 요약한 것이다.



유럽시민은 EU 조약을 준수하기 위해 법적 조치가 필요하다고 생각하는 문제

가 있을 시 이에 대한 입법 제안서를 제출하도록 유럽연합 집행위원회 (European Commission, EC)에 요청할 수 있다. 이를 위해 유럽연합 조약 제11조 (4)항에 따라 유럽시민발의(European Citizen Initiative, ECI)를 제출해야 하며, 이를 위해서는 유의미한 수의 회원국에서 최소 100만명의 국민 서명을 받아야 한다. ‘화장품 원료 동물실험 중단 - 동물실험 없는 유럽을 위한 다짐(Save Cruelty-free Cosmetics - Commit to a Europe without Animal Testing)’은 유럽연합 조약과 ECI 규정에 충족한 청원서이다.

청원서는 다양한 법률에 따라 화학적 안전성 평가를 포함하여 과학적 목적으로 동물을 사용하는 것에 대한 대중의 우려가 반영되어 있다. 유럽 집행위원회는 본 청원서의 세 가지 주요 목표를 신중하게 분석했다.

- ▶ 목표 1: 화장품 동물 실험 금지를 보호하고 강화한다
- ▶ 목표 2: EU 화학물질에 관한 법령 전환
- ▶ 목표 3: EU에서의 과학 현대화 - 모든 동물 실험을 단계적으로 폐지하기 위한 로드맵 계획 입법 제안에 참여

이에 따라 집행위원회는 각 개별 목표에 대한 의견을 제시하면서, 목표2의 ‘EU 화학물질에 관한 법령 전환’과 관련해서 동물실험의 궁극적인 단계적 폐지 로드맵과 관련하여 다음과 같이 제시하였다.

화학적 안정성 평가를 위한 동물실험의 궁극적인 단계적 폐지 로드맵

(A roadmap towards ultimately phasing out animal testing for chemical safety assessment)

유럽 집행위원회는 동물실험을 줄이기 위해 단기에서 장기적으로 이행해야 할 이정표와 구체적인 조치를 설명하는 로드맵을 개발하기 위한 작업을 즉시 시작할 것이며, 이는 관련 화학물질 입법(예, REACH, 살생(물)제 규정, 식물 보호제 규정, 인간 및 동물용 의약품)에 따라 비동물 규제시스템으로 전환하기 위한 전제 조건이 될 것이다. 이 로드맵의 핵심은 현재 화학적 안전성 평가를 위해 동물실험을 요구하는 법률에서 동물실험을 대체하기 위해 필요한 단계를 분석하고 설명하는 것이

다. 로드맵은 비동물실험 방법의 개발, 검증 및 구현을 확대하고 가속화하는 경로뿐 아니라 법률 전반에 걸쳐 이러한 도입을 촉진하는 수단을 개괄한다. 집행위원회는 2023년 하반기 워크숍에서 로드맵의 요소에 대해 회원국 및 이해관계자와 논의를 진행하였고, 2024년 하반기 두번째 워크숍에서는 진척 상황을 발표할 예정이다. 다음 집행위원회 임기의 1분기에 로드맵 작업을 마무리할 예정이다.

로드맵을 작성할 때 집행위원회는 기관, 회원국 및 NGO, 산업 및 연구의 관련 이해관계자와 긴밀히 협력할 것이다. 공동 연구 센터에서 수행한 평가, EFSA의 비동물 실험 접근 방식 작업, EFSA 로드맵 및 ECHA EFSA 및 EMA의 전문 지식의 뒷받침 하에 로드맵 개발이 이루어진다.

또한, 관련 유럽연합의 법령을 소개하며 ‘인체용 의약품’의 경우는 유럽의약품청 등 법적 프레임워크를 소개하였다.

인체용 의약품에 대한 일반적인 법적 프레임워크는 지침 2001/83/EC 및 규정(EC) 제726/2004호로 구성되어 있다. 지침 2010/63/EU에서 도입한 3Rs 원칙을 충분히 고려한다. EU의 규제당국은 이 원칙을 뒷받침하는 모든 검증된 방법론을 수용할 것이다. 공식 검증 프로세스에서 평가되지 않은 대체시험 접근방식은 담당기관(예: 유럽의약품청(European Medicines Agency, EMA) 및 국가 관할 당국)에서 사례별로 신청인이 제출한 데이터를 평가한 후에 수용될 수 있다. 또한, 요약된 마케팅 허가신청(예: 제네릭의약품 및 바이오시밀러) 및 환자 동의서 신청은 참조 의약품의 마케팅 허가를 얻기 위해 수행된 전임상 및 임상연구에 의존할 수 있다. 이러한 경우 신청인은 작성자가 제출한 데이터를 참조한다(시험중복 없음).

위에서 언급한 인체용 완제의약품에 대한 EU 일반의약품 법안이 최근 검토되었으며, 집행위원회는 2023년 4월 26일에 새로운 법률안을 채택했다. 일부 제안된 변경 사항은 의약품의 수명주기 전반에 걸쳐 3Rs 원칙을 강화하는 것을 목표로 한다. 또한 이 입법 제안은 마케팅 허가 신청인 또는 보유자에 대한 의무를 추가하고 대체시험방법을 촉구함으로써 현재 규칙을 강화한다. 새로운 규칙은 또한 EU 기관과 국가 관할 당국간 물질평가, 데이터 공유 용이화, 살아있는 동물을 사용한 불필요한 동물시험 중복을 피하기 위한 공동 비임상 연구수행에 있어 더 많은 협력이 이루어지도록 하는 것이다. 이 제안은 또한 대체시험방법 사용을 허용하기 위해 법률이 미래에도 유효하도록 대비하는 것을 목표로 한다.

이 발표문의 결론 및 전망에서 다음과 같이 마무리를 했다.

집행위원회는 규제 목적을 위한 모든 동물실험은 단계적으로 폐지되어야 한다는 견해를 공감한다. 그러나 이는 단계적으로만 달성할 수 있는 장기적인 목표이며, 비동물적 방법에만 근거하여 위해성과 위험을 식별하는 추가적인 과학적 발전이 필요하다. 단기적으로나 중기적으로 동물실험은 인간 건강과 환경에 대한 화학물질의 위험을 평가하는 데 여전히 중요하다. 가능한 경우 현재 여러 화학물질 법률의 개정은 비동물적 접근 방식의 사용을 촉진한다. 예를 들어, 유럽 집행위원회는 현재 REACH 규정에 따라 요구되는 일부 동물 기반 방법을 대체하고 비동물 방법을 도입할 계획이다. 단기 및 중기적으로 동물실험을 줄이고 장기적으로 이러한 실험을 단계적으로 폐지하려면 집행위원회와 그 기관, 회원국, 연구 커뮤니티 및 이해관계자의 조정되고 합일된 조치가 필요하다. 또한 동물실험을 단계적으로 폐지하는 데 필요한 단계에 대한 명확한 시각이 요구된다. 따라서 집행위원회는 모든 관련 화학물질 법률에 따라 비동물 규제 시스템으로 전환하기 위해 동물실험을 줄이기 위한 단기에서 장기로 이행할 이정표와 구체적인 조치를 설명하는 로드맵을 개발하기 위한 작업을 즉시 시작할 것이다. 이 로드맵은 규제 접근법에 필요한 변화를 분석하고 비동물 방법의 개발, 검증 및 구현과 화학적 안전성 평가를 위한 규제 절차의 빠른 도입을 위한 긍정적인 추진력을 제공한다. 이 로드맵이 정의되면 다른 정책 영역의 모델이 될 수 있다. 이 로드맵에 반영될 주요한 집행위원회 조치는 일련의 입법 및 비입법 조치로 구성된다.

- 동물실험을 단계적으로 폐지하기 위한 필요 조치와 이정표를 정의하기 위한 각각의(생태) 독성학적 평가 변수에 대한 단계별 분석
- 로드맵 논의의 장이 될 2023년과 2024년 워크숍에 이해관계자의 전적인 참여
- 2023년 하반기 채택을 목표로 ‘EU 기관을 통한 화학물질에 대한 EU 과학 및 기술작업 간소화’라는 표제의 집행위원회 제안을 채택하여 무엇보다도 기관 및 전문가 집행위원회의 협력 강화
- 화학물질에 대한 정보 접근성을 개선할 2023년 하반기 화학물질 데이터 규정에 대한 집행위원회 제안을 포함하여 NAM에 대한 정보 접근성 개선

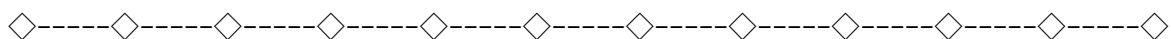
- 로드맵의 일환으로 새로운 비동물 방법의 검증 및 수용을 가속화하는 방법 분석
- 규제적 맥락에서의 비동물적 접근법의 개발과 비동물적 접근법의 수용 및 사용에 대한 조언을 제공하는 전문 과학위원회의 필요성과 그 타당성 분석
- 비EU 파트너 국가 및 다자간 기구와의 홍보활동을 개선하고 관련 국제포럼에서 EU 기관의 가시성을 높이는 방법 분석

집행위원회는 입법 제안이 연구 및 교육에서 동물 사용을 단계적으로 폐지하는 목표를 달성하는 데 적합한 도구라는 견해를 공유하지 않는다. 과학은 아직 건강과 질병 또는 생물다양성을 완전히 이해하기 위한 적절한 비동물 솔루션을 제공할 정도로 충분히 발전하지 못했다. 따라서 유럽 집행위원회는 과학 분야의 동물 실험 감소를 가속화하기 위한 구체적인 방안 개발을 제안한다. 또한 마지막으로 집행위원회는 제안된 새로운 정책 조치를 통해 회원국이 그 권한 범위에서 특히 연구 및 교육 목적으로 동물을 사용하는 방법을 줄이고 대안적 접근 방식 개발에 적극적으로 참여할 것을 촉구한다.

7. 유럽, 백신 품질관리 동물대체시험법 도입 추진

유럽은 2016년부터 백신 품질관리의 동물대체시험법을 개발하기 위한 VAC2VAC 프로젝트를 시작했다. VAC2VAC은 IMI2(Innovative Medicines Initiatives 2)가 재정 지원하는 광범위한 공동연구 프로젝트(2016년~2022년)로서, 비동물 방법을 사용하는 사람 및 동물용 백신의 정기적인 배치 품질, 안전성 및 유효성 시험에 대한 품질 시험 접근법(물리화학적, 면역화학 방법, 세포 기반 및 다중매개변수) 개발 및 밸리데이션을 목표로 한다. VAC2VAC 프로그램에 대한 추가 정보는 유럽연합 집행위원회의 Cordis 데이터베이스에서 찾아볼 수 있다^[42]. 그리고 현행 접근법이 종종 생체내 방법에 의존하는 데 비해, 프로젝트의 일환으로, 확립된 백신의 품질관리에 ‘일관성 유지 접근법(Consistency Approach)’ 도입을 뒷받침하고자 의견을 취합하고 최상의 옵션을 이해하기 위한 계획에 착수했다. 이를 토대로 백신의 품질관리에 대한 동물대체시험법에 대한 ‘일관성 유지 접근법’이란 새로운 개념을 도출하였다.

이를 위해 다양한 기관의 전문가, 규제자 및 과학자, 제조원 및 관할 규제당국이 참여하는 컨소시엄이 구성되었다. 이 일관성 유지 접근법은 매개변수들을 사용하여 되도록 비동물 시험(예: 항원 함량, 항원 무결성 등)에 의존하고 생산관리(예: 정의된 범위, 채취 기준 등)를 고려하는 통합 관리 전략을 구성하는 것을 의미한다. 통합 관리 전략은 제조사와 규제당국자 간에 합의한 모든 특성과 관련하여 출하된 각 배치 또는 로트가 유효성 및 안전성이 입증된 제조사 고유 백신과 유사함을 보장한다. 다음은 유럽 VAC2VAC의 백신 품질관리에서의 동물대체시험법 관련 일관성 유지 접근법에 대한 자료<The consistency approach for the substitution of in vivo testing for the quality control of established vaccines: practical considerations and progressive vision, Open Research Europe 2022, 2:116>의 요약이다.



VAC2VAC 프로젝트에 참여한 관할 규제당국과 제조사 간에 일관성 시험에 따른 관리 전략은 무엇이 수반되는가와 일관성 시험에 따라 규정된 관리

전략을 제출하는 방법에 대한 논의를 시작했다. 그 다음 컨소시엄은 VAC2VAC 전문가 및 VAC2VAC 컨소시엄에 관여하는 전문가로서 중요한 이해관계자를 대표하는 이들(학자, 국가규제실험실, 규제당국, 정부 및 초정부 조직)들을 토론에 초청하는 두 건의 워크숍(2020.6.22., 2021.6.24)을 진행하였다. 워크숍의 목표는 관리 전략 변화와 관련될 수 있는 모든 주제를 다루고 향후 허가 변경서(시험방법 변경) 또는 품목허가 신청서 제출을 예상하고 규제자 및 산업계로부터 공통적인 견해를 형성해 가는 것이었다. 최종적으로 합의에 이르렀으며, 몇 가지 주제에 대한 제안이 제시되었다. 본 문서의 목적은 해당 제안을 더 많은 청중과 공유하고 확립된 백신의 품질관리와 관련된 생체 내 시험을 대체하기 위해 일관성 유지 접근법에 대한 논의 및 참여를 촉진하는 것이다.

본 문서에서는 확립된 백신의 품질관리에 대한 ‘일관성 유지 접근법’ 도입을 뒷받침하는 방법과 관련하여 다양한 기관의 전문가, 규제자 및 과학자, 제조원 및 관할 규제당국으로 구성된 VAC2VAC 컨소시엄에서 이루어진 논의 및 제안을 요약하고 있다. 표1에는 이러한 논의 중에 언급된 현재의 규제 프레임워크가 요약되어 있다.

표1. 관련 EU 규정

International Conference on Harmonisation (ICH)
ICH Q6B Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products for setting specifications limits.
ICH Q2 (R1) Validation of analytical procedures
Eurorean Union (EU)
Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union L 276, 20.10.2010, p.33-79. https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj
Communication from the Commission - Guideline on the details of the various categories of variations to the terms of marketing authorizations for medicinal products for human use and veterinary medicinal products. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/betterreg/pharmacos/classification_guideline_adopted.pdf
Commission Regulation (EU) No 712/2012 of 3 August 2012 amending Regulation (EC) No 1234/2008 concerning the examination of variations to the terms of marketing authorizations for medicinal products for human use and veterinary medicinal products. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/reg_2012_712/reg_2012_712_en.pdf

<p>Commission Regulation (EC) No 1234/2008 of 24 November 2008 concerning the examination of variations to the terms of marketing authorizations for medicinal products for human use and veterinary medicinal products and on the documentation to be submitted pursuant to those procedures.</p> <p>https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2013:223:FULL:EN:PDF</p>
<p>European Medicines Agency (EMA)</p>
<p>Guideline on the principles of regulatory acceptance of 3Rs (replacement, reduction, refinement) testing approaches (EMA/CHMP/CVMP/JEG-3Rs/450091/2012)</p>
<p>CMDh Recommendation for classification of unforeseen variations according to Article 5 of Commission Regulation (EC) 1234/2008</p> <p>https://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Human_Medicines/CMD_h_/procedural_guidance/Variations/Art_5_Recommendations/CMDh_172_2010_09_2019_Tracking_Table_Article_5.xls</p>
<p>CMDv Recommendation for classification of unforeseen variations according to Article 5 of Commission Regulation (EC) 1234/2008</p> <p>https://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Human_Medicines/CMD_h_/procedural_guidance/Variations/Art_5_Recommendations/CMDh_172_2010_09_2019_Tracking_Table_Article_5.xls</p>
<p>Reflection paper providing an overview of the current regulatory testing requirements for veterinary medicinal products and opportunities for implementation of the 3Rs (EMA/CHMP/CVMP/3Rs/164002/2016)</p>
<p>Guidance for individual laboratories for transfer of quality control methods validated in collaborative trials with a view to implementing 3Rs (EMA/CHMP/CVMP/3Rs/94436/2014)</p>
<p>Recommendation to MAHs, highlighting the need to ensure compliance with 3Rs methods described in the Ph. Eur. – applicable to all medicinal products regardless of type. (EMA/CHMP/CVMP/JEG-3Rs/252137/2012)</p>
<p>Recommendation to MAHs, highlighting recent measures in the veterinary field to promote 3Rs measures described in the Ph. Eur.</p> <p>– applicable to veterinary vaccines from 01/01/2017.(EMA/CHMP/CVMP/3Rs/336802/2017)</p>
<p>Statement of the CVMP position on the ethical use of animals in the testing, development and manufacture of veterinary medicines (EMA/CVMP/3Rs/506841/2017)</p>
<p>DRAFT Regulation (EU) 2019/6 of the European Parliament and of the Council on veterinary medicinal products and repealing Directive 2001/82/EC</p>
<p>EU-Regulation 2019/6 Draft Annex 2</p> <p>SECTION IIIb REQUIREMENTS FOR IMMUNOLOGICAL VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS</p> <p>IIIb.2D. Control tests during the manufacturing process</p> <p>IIIb.2E. Control tests on the finished product</p>
<p>European Pharmacopoeia (Ph.Eur.)</p>
<p>Ph. Eur. general chapter 5.2.14</p>
<p>Relevant US-PROVISIONS</p>
<p>USDA Veterinary Services Memorandum No. 800.112, Guidelines for Validation of In Vitro Potency Assays, April 10, 2015.</p>
<p>USDA Veterinary Services Memorandum No. 800.124, Guidelines for Potency Specifications of Biological Products Administered to Animals, October 2, 2020.</p>

일관성 유지 접근법은 현재 확립되어 있는 백신들에서 힘들고 매우 가변적인 것으로 알려진 현행 생체내 시험을 대체할 수 있으며, 생체 외 분석이 현재 절대적 표준(Golden standard)으로 간주되고 있다^[43]. 견고한 과학과 허가(변경) 신청서 제출 전 및 제출 중 제조사와 관할 당국 간의 조기 의사소통은 성공을 위한 주요한 요소이다. 이러한 일관성 유지 접근법은 승인되어 적용될 경우, 환자가 더 효율적인 방식으로 품질이 보증된 새로운 제품 및 확립된 제품을 이용할 수 있도록 할 것이다. 일관성 시험 기반 관리 전략으로의 전환을 뒷받침하기 위해 과학, 새로 개발된 방법 및 관련 가이드라인을 이용할 수 있다^[44-46]. 사고방식을 변화시키는 것은 미래지향적 관점을 향한 주요 장애물 중 하나였지만 현재 제조사와 규제당국 간에 정기 백신 출하 시험에서 생체 내 시험을 없애기 위한 합의가 이루어져 있다.

□ 일관성 유지 접근법에 대한 정의

De Mattia^[47]에 따르면 일관성 유지 접근법은 매개변수들을 사용하여 현행 출하 시험을 대체할 수 있는 제품 프로파일(예: 항원 함량, 항원 무결성 등)을 구성하는 것을 의미한다. 제품 프로파일은 허가 당시 규제자에 적합하도록 확립되며, 엄격한 품질 시스템 하에서 생산 전반에 걸쳐 모니터링된다. 제품 프로파일은 허가 당시 제조사와 규제당국자 간 합의한 모든 특성과 관련하여 출하된 각 배치 또는 로트가 유효성 및 안전성이 입증된 제조원 고유 백신과 유사함을 보장한다고 정의하였다.

VAC2VAC 컨소시엄은 현재의 개발 사항을 반영하기 위해 De Mattia의 정의를 다음과 같이 업데이트하여 제안했다. 일관성 유지 접근법은 매개변수들을 사용하여 되도록 비동물 시험(예: 항원 함량, 항원 무결성 등)에 의존하고 생산 관리(예: 정의된 범위, 채취 기준 등)를 고려하는 통합 관리 전략을 구성하는 것을 의미한다. 종합해보면, 이는 생체 내 시험을 포함하는 여러 확립된 백신에 대한 현행 접근법을 대체할 수 있는 접근법으로 간주될 수 있다. 새로운 통합 관리 전략은 규제당국자에 적합하도록 확립되어야 하며, 엄격한 품질 시스템 하에서 생산 전반에 걸쳐 모니터링된다. 통합 관리 전략은 제조사와 규제당국자

간에 합의한 모든 특성과 관련하여 출하된 각 배치 또는 로트가 유효성 및 안전성이 입증된 제조사 고유 백신과 유사함을 보장한다.

□ 일관성 유지 접근법 사용 제안

현재 존재하는 개념 및 용어는 일관성 유지 접근법에 기반한 관리 전략을 정의하고 명확하게 설명하기에 충분하다.

가. 특별한 주의를 기울이지 않고 충분히 적용할 수 있는 일부 일반적인 공정 및 기준: 분석 방법 밸리데이션 및 시험성적서

현행 관리 전략하에서 필요에 따라 현재의 밸리데이션 규정을 적용해야 한다. 일관성 유지 접근법을 적용할(또는 적용하지 않을) 때에는 새로운 방법으로 도출된 결과를 시험성적서에 포함해야 한다. 일관성 시험의 맥락에서 사용된 주요 공정 변수를 시험성적서에 포함해서는 안된다(즉, 현재의 상황과 비교하여 변화없음). 공정 관리 분석은 일관성 시험 기반 관리전략으로 출하하는데 사용될 수 있다(예를 들어, 제품/매트릭스 변경으로 인해 최종 단계에 수행할 수 없을 경우). 이 경우에는 공정 관리 결과가 시험성적서에 나올 수 있다.

이러한 논의에서는 일관성 시험 기반 관리 전략 도입의 맥락에서 개발된 새로운 방법이 공정서 수재 방법이 될 수 있는지 여부를 고려했다. 예를 들어, 역가시험을 위해 새로운 방법은 공정서 수재방법이 될 수 있다(예: 개정 요청에 의해 시작되어 유럽약전(Ph.Eur.) 각조(monograph)의 일부가 됨). 새로운 기술/방법은 이상적으로 플랫폼 기술 및/또는 제품군 고유 및/또는 제품 또는 제조사 고유의 기술/방법이어야 하는 것으로 이해된다. 방법이 공정서 수재 방법이 되도록 하는 이유는 조화(harmonization) 목적 때문이다. 국제 표준을 개발할 수 있으며, 공통 단위 및 기준을 사용하여 각 조를 발표할 수 있다. 방법이 공정서 수재방법으로 인정되면 그 용도가 증진된다는 점을 유의해야 한다. 따라서 공정서 수재에 해당하는 생체 내 시험법의 대안 방법을 도입하는 것은 백신 품질관리에서 동물 사용을 줄이는데 중요한 역할을 한다.

나. 특별한 주의를 요하는 일부 다른 일반적인 공정 및 기준

제품 특성 패키지(Product characterization package)

일관성 시험 기반 관리 전략으로 전환할 때에는 공정 변경사항을 평가하기 위해 도입될 특성 패키지가 정의되고 관할 규제당국에서 승인해야 한다. 여기에는 새로운 생체 외 시험 특성 분석이 포함될 수 있지만 생체 내 분석은 포함될 수 없다. 실제로, 등록 문서의 일환으로 관할 규제당국에서 승인하는 경우에는 새로운 방법이 시행되는 것으로 간주된다. 대체된 생체 내 방법은 더 이상 사용될 수 없으므로 공정을 변경하는 경우에는 요청될 수 없다.

허용기준(Acceptance criteria)

생체 내 시험 역가/안전성 시험을 대체할 새로운 분석에 대한 허용기준(또는 다른 유형의 기준)을 설정한다. VAC2VAC 제안은 생체 내 역가/안전성 시험을 대체할 새로운 분석에 대한 허용기준을 정의하는 방식을 변경할 필요가 없음을 강조하고 있다. 적합하게 정의된 경우, 이러한 기준은 제조공정의 정상적인 변동성과 함께 새로운 방법의 변동성을 반영한다. 새로운 분석법을 도입해도 제조공정의 변동성에도, 제품의 품질에도 변화가 없다는 사실을 주장해야 한다.

현행 관리 전략에서는 중요 품질특성(Critical Quality Attribute, CQA)인 ‘역가’가 생체 내 시험으로 평가된다는 점도 중요하게 인식해야 한다. 이러한 시험은 본래 변동성이 높으며 범위를 정량하기가 어렵다. 따라서 생체 내 분석에 대해 확립된 기준과의 상관관계를 찾을 때 새로운 생체 외 방법에 대한 기준을 설정하는 것이 어려울 수 있다. 생체 내 분석과 생체 외 분석에 사용된 단위가 다를 경우에는 이러한 상관관계 확립이 불가능할 수도 있다. 또한 이미 허가된 백신에 대해서는 유효성/안전성을 입증하기 위해 사용된 임상 배치와의 직접 비교가 가능하지 않을 수 있다. 이러한 배치는 더 이상 이용할 수 없거나 사용기한이 지났을 수 있기 때문이다.

이러한 요소를 고려할 때, 제안된 생체 외 시험의 허용기준은 대부분의 경우 생체 내 시험에 대해 확립된 허용기준과의 상관관계를 찾는 것보다는 배치 품질의 일관성을 유지하기 위해 출하된 배치에서 데이터 수집을 하여 설정될 것이다. 허용 기준을 설정하기 위해 데이터 수집은 향후 배치 출하의 대표적인 조건에서 수행되어야 한다(예: 제품이 안정적인 것으로 입증될 경우에는 생체

외 분석을 통해 다양한 연력의 배치를 후향적으로 검사할 수 있다. 제품이 시간 경과에 따라 변하는 것으로 알려진 경우에는 대표 데이터를 확보하기 위해 생체 외 분석으로 출하 당시 배치를 검사해야 한다).

이 접근법은 제안된 분석법이 백신의 주요 품질 특성을 관리하고 제안된 일관성 시험 기반 관리 전략을 사용하여 출하할 배치의 품질과 생체 내 기반 관리전략으로 시험할 경우, ‘적합(compliant)’ 배치는 임상시험을 통해 안전하고 유효한 것으로 입증된 임상 배치와 품질이 동일한 것으로 일관되게 입증되었다.

새로운 방법에 대한 출하 및 안정성 기준과 허용기준은 충분한 수의 배치에 대해 설정되어야 하며, 또한 새로운 방법의 변동성도 고려해야 한다. 새로운 분석법으로는 소수의 배치만 검사했을 것이므로 이행 당시 새로운 분석법과 관련하여 배치 간 변동성에 대해서는 제한된 정보만 이용할 수 있을 것이다. 새로운 방법에 대해 제한된 배치 결과만 이용할 수 있을 경우에는 잠재적 배치 간 변동성을 고려하기 위해 처음에 허용기준을 다소 넓게 설정할 수 있다. 충분한 배치를 검사한 후 출하 기준 허용기준의 변경계획은 실행 전략의 일환일 수 있다.

이 제안은 다음 요소에 의해 뒷받침된다. 백신의 품질은 설계, 개발, 공정관리, 출하관리, 공정 밸리데이션 및 개발과 제조 전반에 걸쳐 적용된 기준에 의해 결정된다. 기준, 즉 시험, 밸리데이션된 절차 및 허용기준은 출하시 그리고 사용기간 중 제품 및 중간체의 품질을 보증하는 데 있어 중요한 역할을 한다. 허용기준은 유럽의약품품질위원회(EDQM)에서 발행한 유럽약전 및 이 접근법이 허용되는 경우 어디든 유럽 밖의 다른 관할 규제당국에서 발행한 기타 관련 법률 문서의 내용과 같은 다양한 지침에 따라 설정해야 한다. 최근에 생산된 배치는 또한 가교 표준물질과의 비교시험을 통해 원 임상 배치와 동등한 것으로 입증되고 그리고/또는 제조 변경이 도입된 경우 동등한 것으로 입증된 공정을 통해 제조되므로 원 임상 배치와 동등한 것으로 간주될 수 있다.

안정성 시험(Stability studies)

안정성 시험에는 종종 생체 내 역가 시험이 사용된다. 일관성 시험 기반 관리 전략의 잠재적인 구성요소를 감안할 때, 생체 내 역가 대체 또는 제외 후 안정성 시험을 어떻게 관리해야 하는지 고려하는 것이 중요하다. 안정성 시험

자체를 다른 방식으로 관리할 필요는 없다. 생체 내 분석 제외 후 새로운 방법으로 생성되어 안정성을 시사하는 결과는 제품 사용기간 내내 승인된 기준 내에 해당하는 한 허용될 수 있다. 안정성 시험 전략은 새로운 관리 전략에 맞추어, 그리고 수행되는 공정 단계뿐만 아니라 새로운 분석의 각 안정성 지표 역량(stability -indicating capacity)에 따라 수정되어야 한다. 예를 들어, 생체 내 역가 분석이 항원 함량을 측정하는 분석 및 항원의 구조적 무결성을 평가하는 또 다른 분석으로 대체되는 시나리오에서 함량에 대한 분석은 안정성 지표가 아닐 수 있으므로 안정성 계획에 포함되지 않을 것이다. 항원의 안정성은 현재의 제품 안정성 지식에 따른 평가를 요하므로 안정성 지표로 입증된 구조 분석은 안정성 계획에 포함되어 있을 수 있다.

허용기준의 정의는 안정성 자료를 고려해야 한다. 생체 내 대체 방법으로 생성된 결과가 시간 경과에 따른 감소/증가를 보이는 경우에는 백신의 사용기간 종료 허용기준을 정의할 수 있다. 단, 현행 규제 요건과 모순되지 않고 일례로 ICH Q6B ‘기준:생물의약품에 대한 시험 절차 및 허용기준’의 원칙과 일치하는 경우에 한정한다. 안정성 시험에 사용된 생체 내 분석은 일반적으로 안정성과 함께 제품에 영향을 미칠 수 있는 다양한 효과와 관련하여 생체 외 분석과 다른 판별 능력을 갖추고 있다. 따라서 안정성 시험 전략은 새로운 관리 전략에 맞추어 수정되어야 한다. 보관 중 사용기간 기준 변경은 가속 안정성 시험을 통해 부분적으로 평가할 수 있지만 실시간 안정성 시험에서만 확인할 수 있다. 최종 안정성 기준은 사용기간 종료 시점 배치를 기반으로 해야 한다. 역시 사용기간 종료 허용기준 수정 계획은 실행 전략의 일환일 수 있다.

OMCL(Official Medicines Control Laboratories)의 역할

사실상 모든 분석은 수행되는 생산 단계에 관계없이 정부 의약품 규제 실험실(OMCL)에서 수행될 수 있으며 이는 일관성 유지 접근법에 기반한 관리 전략을 변경시키지 않는다. 공식 배치 출하 절차의 규제에서는 최종 로트의 샘플 또는 최종 원액 공정 단계에서 나온 샘플을 제공하도록 요구하고 있다. 출하 시험을 위한 시간을 벌고 사용기간 내에 검사를 달성하기 위해 최종 로트 제출 전에 검체를 정부 의약품 규제 실험실(OMCL)로 보내야 한다. 유럽에서는 EMA에 제출된 자료집 승인 전에 수행할 시험목록을 EDQM - 공식

관리 당국 배치 출하(Official Control Authority Batch Release, OCABR) 초안 작성단에서 정의하고 OMCL 네트워크의 협의를 통해 승인한다. 유럽 배치 출하 규정(Council Directive 2001/83/EC, Article 114, Regulation 2019/6/EU Article 128)에 따르면, 정부 의약품 규제 실험실(OMCL)에서 생물학적제제를 검사한 후 이를 시판할 수 있다. 수행할 시험 목록은 제품 품질을 다루는 전문가들로 구성된 OCABR 초안 작성단(OCABR drafting group)이 준비하고 관련 EDQM OMCL 네트워크의 협의를 통해 승인한다. 시험은 EMA에 제출된 자료집에서 승인된 것 중에서 선택한다. 예를 들어, 역가 시험은 제품 품질 평가 패키지의 일환이므로 역가 시험을 대체하는 시험은 OMCL에서 수행해야 한다. 나아가 유럽 밖의 국가규제실험실(NCL)도 시장에서 제품 출하에 대한 새로운 분석을 수행하거나 유럽 배치 출하 증명서에 의존할 수 있다.

다. 성공을 위한 추가 핵심 요소

성공의 비결은 제조사와 관할 규제당국 간의 조기 의사소통과 더불어 과학적 접근법에 있다. 목적에 맞는 대안적 생체 외 분석을 개발하는 것 외에도, VAC2VAC 컨소시엄에서 대부분의 논의를 촉발한 주제는 새로 제안된 일관성 시험 기반 관리 전략으로의 전환을 이룰 수 있음을 입증하는 자료집을 구축하는 방법이다. 이 도전에 대한 답은 세가지 요소로 구성된다. 첫째, 제안된 생체 외 분석의 과학적 관련성, 둘째, 관리 전략에 대한 평가에서 부적합 배치 사용, 셋째, 제안된 변화를 논의하기 위한 제조사와 규제당국 간 조기 의사소통이다. 부적합 배치 사용하여 생체 외 방법과 생체 내 방법 간 일치율 증명은 과학적으로 타당하지 않을 수 있으며 항상 예상되는 것은 아니다. 품질과 관련하여 생체 내 시험에서 적합한 배치와 상이한 배치 배치(예: 부분적 저하, 함량 감소, 불순물)를 사용하여 생체 외 분석이 목적에 적합함을 입증해야 한다.

부적합 배치 사용은 기존 생체 내 기반 관리 전략에서 제안된 일관성 시험 기반 관리 전략으로 변경할 때 새로운 분석법이 적합 배치와 부적합 배치를 구별하는 능력을 입증하는 데 중요하다. 그러나 생체 내 방법 및 제안된 생체 외 방법을 사용하여 이들 부적합 배치에서 확보한 결과에 대한 직접 비교는 최상의 접근법으로도, 충분한 접근법으로도 간주되지 않는다. 실제로 유럽약전

5.2.14는 다음과 같이 명시한다. ‘두 방법 간의 일치율 입증은 대체로 과학적으로 타당하지 않을 수 있으며 항상 예상되는 것은 아니다. 두 시험 절차에서 나온 합격/불합격 결과가 일치하는 경우에도 분석 범위 전체에서 두 정량적 방법 간의 상관관계는 여전히 낮을 수 있다. 이와 관계없이, 생체 외 방법 또는 시험 전략은 제품의 안전성 및 유효성의 일관성을 보장하는 데 필요한 주요 품질 특성이 적절하게 관리된다는, 최소한 동일한 확신을 제공해야 한다.’

위의 진술을 지지하는 이유는 다음과 같다.

- ▶ 생체 내 방법은 높은 수준의 변동성을 보이며, 합리적인 양의 데이터(및 동물)에 기반한 방법에 대한 적절하고 통계적으로 유의한 비교를 허용하지 않는다.
- ▶ 과거에 생체 내 방법은 일반적으로 적절하게 정의된 중요 품질특성을 다루도록 설계되지 않았으며 대부분 의약품이 시험 동물에서 표적 종과 동일한 전체 반응을 일으킨다는 생각에 의존하고 있다.
- ▶ 현대 분석 기술은 생체 내 분석보다 제품 특성/지식에 대해 보다 적절하고 포괄적인 데이터 세트를 허용한다.

따라서 기존 생체 내 기반 관리 전략에서 제안된 일관성 시험 기반 관리 전략으로 변경할 때에는 제안된 일관성 시험 기반 관리 전략이 대체될 생체 내 분석법으로 측정되는 품질 특성에 직접 또는 간접적으로 기여하는, 적절하게 정의된 중요품질특성 관리를 보장할 수 있다는 데이터/증거에 의존하여 입증해야 한다. 원하는 품질의 제품을 일관되게 제공하기 위해 제안된 일관성 시험 기반 관리 전략의 관리 수준이 적합함을 입증해야 한다.

제조사와 당국 간의 조기 과학에 관한 의사소통에서 제조사와 규제당국자는 전체 전략 및 향후 변경/허가 신청서에 제공할 데이터 유형에 대해 합의해야 한다. 관할 당국과의 과학적 논의는 매우 중요하며 되도록 일찍 시작해야 한다.

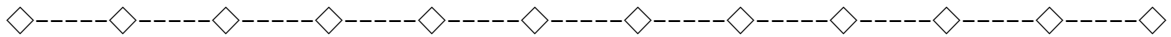
다양한 분석법/개별 제품에서 생체 내 역가 대체 제안 시 권장되는 다양한 데이터/타당성 조합에 대한 정의가 필요하다. 다양한 분석법/개별 제품에서 생체 내 역가/안전성 시험 대체 제안 시 특성 데이터/타당성 조합을 정의하도록 권장된다. 데이터/타당성 조합은 사례별로 관할 규제당국의 승인을 받아야 한다. 접근법은 유럽약전 5.2.14와 일치해야 한다. ‘일반 백신 품질관리에 사용된 시험방법은 생산 일관성을 모니터링하고 상용 배치와 본래 표적 종 대상 임상시험에서, 또는 동물용 백신에 대해 안전하고 유효한 것으로 나타난 배치간 품질 특성의 동등성을 보장해야 한다.’

방법 개발 및 밸리데이션의 어느 단계에서든 규제 당국과의 과학적 논의는 제조사가 적절한 전략, 기준 한계를 포함한 검사 및 시험을 개발하는 데 도움이 되므로, 변경/허가 자료집 평가 중에는 생체 내 방법 대체 검사 설계에 관한 중대한 이의가 제기될 가능성이 없다. 논의는 이러한 관리 전략 변경 유형의 복잡성 면에서 매우 유용할 수 있다.

데이터/타당성 조합은 시차 기반 접근 중에서 규제기관에서 제공한 조언에 따라, 그리고 시행중인 다양한 가이드라인에 따라 연구 및 개발 시험, 제조된 배치에 대해 생성된 과거 결과, 안정성 시험 및 부적합 배치 시험으로 뒷받침되어야 한다. 이는 다음과 같은 이유로 사례마다 다를 수 있다. 역가/안전성 시험, 생체 내 시험을 대체할 생체 외 시험 수, 원료의약품/완제의약품 등에 따라 데이터/타당성 조합은 사례별로 고려해야 한다. 그러므로 제조사와 규제당국자 간의 논의는 이러한 관리 전략 변경 유형의 복잡성 면에서 매우 중요할 수 있다.

8. 유럽약전, 백신의 품질관리를 위한 생체 외 방법으로 생체 내 방법 대체

2018년에 추가된 유럽약전 5.2.14항은 ‘백신 품질관리를 위해 생체 내 시험방법을 생체 외 시험방법으로 대체(Substitution of in vivo method(s) by in vitro method(s) for the Quality Control of Vaccines)’ 를 기술하고 있으며 그 내용은 다음과 같다.



유럽약전 5.2.14항의 목적은 하나 이상의 생체 외 방법의 적합성과 무관한 이유로 일반적인 일대일 분석 비교가 적절하지 않은 경우 기존 생체 내 방법을 대체할 수 있는 시험관 내 방법의 구현을 촉진하기 위한 지침을 제공하는 것이다. 백신의 일상적인 품질 관리에 사용되는 테스트 방법은 생산 일관성을 모니터링하고 상업용 배치와 임상 연구에서 안전하고 효과적인 것으로 밝혀진 배치 간의 품질 속성을 비교하기 위한 것이다.

유럽약전 백신 각조에 설명된 생체 내 효능 및 안전성 분석은 역사적으로 백신의 품질을 보호하는 데 중심적인 역할을 해왔지만, 생체 내 분석의 내재적 변동성으로 인해 생산 일관성을 모니터링하고 제조 변화의 잠재적 영향을 평가하는 데 적절하게 설계된 시험관 내 분석보다 적합하지 않을 수 있다. 이러한 생체 내 테스트 방법의 과학적 가치와 관련성에 대해 지속적으로 의의를 제기하는 것이 필수적이다. 생체 내 테스트가 제한적이거나 가치가 없는 것으로 밝혀진 경우, 윤리적 고려 사항과 관련 협약에 따른 의무를 고려할 때 이를 제거하는 것이 필수적이다. 또한 동물실험을 대체하기 위한 생체 외 방법(면역학적, 분자적 및 물리화학적 테스트 포함)을 개발하려는 상당한 노력이 있다. 이로 인해 여러 사례에서 유럽약전 백신 각조에 새로운 생체 외 방법이 성공적으로 도입되었다.

적절한 생체 외 방법을 사용하면 관련 분석의 과학적 관련성을 유지하거나 개선하면서 동물의 사용을 줄일 수 있을 뿐만 아니라 분석 변동성과 필요한 시간 및 자원을 크게 줄이고 안전하고 효과적인 백신 배치 출하에 대한 예측 가능성을 높일 수 있다. 유럽연합 집행위원회는 실험 및 기타 과학적 목적으로 사용되는 척추동물 보호를 위한 유럽협약에 따라 기존 생체 내 방법을 적절한 생체 외 방법으로 대체함으로써 얻을 수 있는 이점 외에도 약전 시험에서 가능한 한

동물의 사용을 줄이기 위해 최선을 다하고 있다. 이에 따라 유럽 약전학 연구와 관련된 사람들은 시험관 내 절차를 개발 및/또는 구현하도록 권장되며, 유럽 약전 각조에 기술된 생체 내 방법에 대한 대안의 도입을 지원한다.

□ 일반 고려사항

생체 내 분석의 내재적 변동성과 관련된 결과 중 하나는 일반적으로 일대일 분석 비교가 필요한 보다 일관된 생체 외 방법으로 대체할 때 발생하는 문제이다. 이는 생체 내 방법에 내재된 변동성으로 인해 다기관 국제 공동연구를 통한 반복적인 노력이 실패할 수 있기 때문에 경우에 따라 어려운 문제가 될 수 있다. 또 다른 고려 사항은 백신에 대한 기존의 생체 내 방법으로 수행된 안전성 및 효능 분석 중 상당수가 일반적으로 목적에 부합하는 것으로 나타났으며 역사적으로 백신의 효능과 안전성을 보장하는 데 있어 그 가치를 입증했다는 점이다. 그러나 이는 ICH Q(R1) 또는 VICH GL2 가이드라인과 같은 검증 요건이 마련되지 않아 공식적인 일대일 비교가 어렵거나 불가능한 시대였다.

생체 내 방법에 대한 정밀도, 재현성, 검출 및 정량화 한계가 확립되지 않았기 때문에 한 방법과 다른 방법의 비교 가능성을 평가하기가 어려워진다. 또한 유럽약전에 기술된 방법은 유럽약전 통칙에 따라 검증된 것으로 간주되기 때문에 현재 이러한 방법에 대한 소급 ICH/VICH 검증을 수행하는 것은 비실용적이고 과도한 비용이 들 뿐만 아니라 위에서 언급한 약전 테스트에서의 동물 사용에 대한 관습을 고려할 때 비윤리적일 수도 있다. 생체 내 기반에서 생체 외 기반 품질 관리 분석 시스템으로의 전환을 고려할 때는 생체 내 분석이 제공할 수 있는 것과 제공할 수 없는 것을 이해하는 것이 중요하다. 실험용 동물에서 적절하게 확립된 생체 내 효능 분석은 개념 증명을 입증하기 위한 복잡한 기능적 반응을 측정할 수 있는 잠재력이 있지만, 반드시 표적 집단의 실제 반응을 예측하는 것은 아니다. 또한 생체 외 생물학적 분석은 일반적으로 변동성이 낮고 민감도가 높은 복잡한 생체 내 반응의 특정 요소를 모방할 수 있는 잠재력이 있다.

또 다른 주요 고려 사항은 주어진 제품에 대한 생체 내 테스트를 생체 외 테스트로 대체하는 경우 제품의 품질 속성이 다르게 평가될 가능성이 높다는 것이다. 예를 들어, 생체 내 효능 대신 생체 내 생물학적 분석에서 항원 함량 또는 기능적 반응(예: 바이러스 또는 독소 중화)의 결정, 생체 내 신경 독성 또는 약독화 표현형 대신 분자적 일관성, 생체 내 테스트를 통해 미생물의 부재 대신 분

자적 방법을 사용한 외부 작용제 계놈의 부재, 생체 내 특이 독성 대신 독소 결합 및 효소 활성의 입증 등이 있다. 결과적으로 두 방법 간의 일치성 입증은 일반적으로 과학적으로 정당하지 않으며 항상 기대해서는 안된다. 두 테스트 절차의 적합/부적합 결과가 일치하더라도 분석 범위 전반에 걸쳐 두 정량적 방법 간의 상관관계는 여전히 낮을 수 있다. 그럼에도 불구하고 시험관 내 방법 또는 테스트 전략은 제품의 안전성과 효과의 일관성을 보장하는 데 필요한 주요 품질 속성이 적절하게 제어된다는 것과 적어도 동일한 확신을 제공해야 한다.

본 항의 초점은 승인된 제품에 대한 기존 방법의 대체에 맞춰져 있지만, 제품 개발 중 품질 관리를 위해 생체 외 방법을 사용하는 것을 고려하고 생체 내 분석의 사용이 의무적이지 않다는 것을 이해하는 것이 중요하다.

□ 생체 내 방법을 대체하기 위한 대체 접근

품질관리 시스템 내에서 제안된 생체 외 방법을 구현하기 위한 주요 초점은 관련 품질 속성을 제어하기 위한 생체 외 분석의 과학적 관련성이어야 한다. 또한 모든 생체 외 방법은 현재 검증 요건을 충족해야 한다. 유럽약전에서 백신에 대한 생체 내 분석은 일반적으로 다기관 공동 연구에 따라 생체 외 분석으로 대체되지만, 이는 개별 제품에 대한 생체 내 분석 대체 이니셔티브의 전제 조건이 되어서는 안된다. 또한 제품 종류에 널리 적용되는 분석을 갖는 것이 바람직할 수 있지만, 이는 필수 요건이 되어서는 안된다. 아래와 같이 기술되어 있듯이, 기존 테스트에서 측정된 주요 정성적 및 정량적 속성을 특성화하기 위해 기존 방법을 1회 이상의 생체 외 테스트로 대체해야 하는 경우도 있다.

□ 역가 시험(Potency Test)

생체 내 분석의 낮은 판별력 및/또는 높은 변동성으로 인해 생체 외 방법과 생체 내 방법 간의 일치성을 보여줄 수 없는 경우 다음과 같은 접근 방식을 사용할 수 있다. 고려 중인 제품은 일관된 제조와 함께 안전성 및 효능 프로파일이 잘 확립되어 있다고 가정한다. 생체 외 테스트는 과학적으로 정당한 생산 공정의 통제와 관련된 차이를 감지할 수 있어야 합니다. 이는 제안된 분석법이 백신의 주요 품질 속성을 제어하고 임상연구 또는 일상적인 사용을 통해 안전하고 효과적인 것으로 밝혀진 배치의 품질과 그 사이의 연관성을 유지하는 능력을 입

증하는 데이터에 의해 뒷받침되어야 한다. 적절한 사양이 설정되면 생체 외 방법으로 제조하는 일관성이 유지된다.

백신 품질관리를 위한 분석과 분석 시스템의 설계는 항원 함량과 기능을 모두 반영해야 한다. 단일 방법을 사용하는 경우, 백신이 제공하는 예방과 관련된 표적 항원 결정부(targeting epitope)에 의한 항원의 함량과 무결성을 측정하는 것이 좋다. 예로는 중화항체를 생성하는 주요 표적으로써 항원결정부에 대한 단일 클론항체가 있다. 하나의 항원결정부 또는 여러 항원결정부들은(광견병 백신의 경우와 마찬가지로) 안정성을 나타내는 분석을 갖기 위해 적합해야 한다.

어떤 경우에는 단일 생체 외 방법이 함량과 기능을 적절히 반영하지 못할 수도 있다. 이는 분자 크기, 접합체 무결성, 총 다당류 및 유리 다당류가 관련 측정의 예인 접합 다당류 백신과 마찬가지로 여러 분석을 사용하여 해결할 수 있다.

생체 외 방법으로 정량적 측정을 확립하려면 반응의 크기가 다른 샘플이 필요하다. 대부분의 경우, 생산 일관성이 일반적으로 잘 유지되고 배치 간의 효능이 크게 다르지 않거나 생체 내 분석의 정밀도가 매우 크지 않으면 배치를 구별할 수 없기 때문에 생체 내 방법으로 승인된 최소 효능 사양 미만의 샘플은 사용할 수 없다. 따라서 초기 분석 평가는 다양한 농도의 샘플로 수행해야 하며, 이후 다양한 유형의 스트레스 조건에 노출된 샘플을 테스트하여 새로운 방법의 안정성을 추가로 평가할 수 있다.

생체 외 방법과 생체 내 방법 간의 일치성을 입증할 수 없다고 해서 생체 외 방법이 적합하지 않거나 관련성이 없다는 의미는 아니다. 많은 경우 생체 외 방법은 생체 내 방법으로는 감지할 수 없는 제품 프로필의 변화를 감지한다. 이러한 경우 생체 외 방법은 생산 일관성 모니터링에 우수한 것으로 간주될 수 있으며 제조 변화의 영향을 평가하는 데 더 적합할 수 있다.

□ 안전성 시험(Safety Tests)

가. 특정 독성시험(Specific toxicity)

잔류 독성 성분을 검출하기 위한 생체 외 방법은 기존 생체 내 방법만큼 구체적이고 적어도 민감해야 한다. 가능한 완전한 기능을 갖춘 시험관 내 시스템(예: 독소에 민감한 세포주)을 사용해야 한다. 기능적인 생체 외 시스템이 없는 경우, 생체 외 테스트 전략은 문제의 독성 성분 에 대한 작용 방식을 함께 반영

하는 1개 이상의 매개변수를 순차적으로 검출/측정하는 것을 기반으로 할 수 있다. 예로는 수용체 결합 및 효소 활성을 검출하기 위해 면역학적 및 생화학적 단계가 포함된 분석법을 사용하는 것이 있다. 대부분의 경우 생체 내 분석을 대체해야 할 때 문제의 독소를 검출하기 위한 해당 모델의 민감도에 대한 데이터가 제공된다. 따라서 새로운 생체 외 방법은 스파이킹 실험을 통해 충분히 민감하다는 것을 입증하고 생체 내 분석의 과거 데이터를 참조할 수 있다. 이러한 분석은 적절한 시간 및 온도 조건과 함께 특정 독소이드가 독소로의 회복이 없음을 입증하는 데에도 사용될 수 있다.

나. 심층 염기서열 분석(Deep Sequencing)과 신경 독성 테스트에 의한 분자 일관성

바이러스 백신의 분자 일관성을 평가하는 생체 외 유전자형 분석 방법은 기존의 생체 내 신경독성 테스트를 대체할 수 있는 잠재력이 있다. 모든 생체 외 유전자형 분석 방법의 전제 조건은 살아있는 바이러스 백신의 약독화를 담당하는 분자 마커에 대한 심층적인 지식이다(예: 경구용 소아마비 바이러스 백신). 이러한 경우 백신 로트의 일관성을 모니터링하는 것은 심층 염기서열 분석과 같은 방법으로 필요한 분자 약독화 마커의 존재와 돌연변이의 비율을 확인함으로써 달성할 수 있다.

다. 새로운 분자 분석 방법에 의한 외래성 바이러스 물질 검출

세포 은행, 시드 로트 및 세포 배양 수확에서 외래성 바이러스 물질의 검출은 현재 제조 공정의 여러 단계에서 생체 내 및 생체 외 방법 패널을 사용하여 수행되고 있다. 심층 염기서열 분석 또는 고처리 염기서열 분석 방법(High-throughput sequencing methods), 전체 바이러스 계열에 대한 Degenerate PCR 또는 무작위 프라이밍 방법(염기서열 분석과 관련 여부 없는), 올리고뉴클레오티드 배열로의 혼성화 및 질량 분석 등 광범위한 검출 기능을 가진 새롭고 민감한 분자 기술이 사용될 수 있다. 이러한 새로운 분자 방법의 사용은 최종 제품, 생산된 세포 은행 및 중간 제조 단계에서 이전에 검출되지 않은 바이러스 오염 물질을 식별함으로써 기존 테스트 전략의 격차를 강조했다. 이러한 새로운 분자 방법(예: 심층 염기서열 분석 또는 고처리 염기서열 분석)은 계놈을 검출하는 반면, 기존 생체 내 방법은 바이러스가 실험 동물에 미치는 영향에 대한 관찰을 기반으로 합니다. 생체 내 방법을 대체하는 이러한 새로운 분자 분석 방법

의 구현을 위해서는 새로운 방법과 기존 방법의 특이성(검출의 폭)과 민감도를 비교해야 한다. 이를 위해 대표적이고 특성이 잘 알려진 모델 바이러스 패널을 사용하여 생체 내 방법으로 검출되거나 검출되지 않은 바이러스를 검출하는 새로운 방법의 능력을 평가하고 민감도가 생체 내 방법의 민감도와 적어도 동등한지 결정해야 한다. 이러한 새로운 분자 방법은 바이러스 오염 물질의 동일한 특성을 검출하지 못하기 때문에(분자 방법의 경우 계놈, 생체 내 방법의 경우 감염성 바이러스) 이 마지막 요소는 특히 복잡하며, 생체 내 방법에 대한 검증 데이터가 없거나 제한되어 있기 때문이기도 하다. 또한 계놈 또는 계놈 조각의 검출이 반드시 감염성 바이러스의 존재를 나타내는 것은 아니기 때문에 새로운 분자 방법의 결과가 최종 결과가 아니라는 점도 강조해야 한다.

8 참고문헌

1. Halder M. Three Rs potential in the development and quality control of immunobiologicals. *Altex*. 2001;18 Supple 1:13–47
2. Uhlich S, Coppens E, Moysan F, Nelson S, Nougarede N. 3Rs in Quality Control of Human Vaccines: Opportunities and Barriers. Singapore: Springer Singapore; 2019. p. 76–82.
3. Hoefnagel MHN, Stickings P, Smith D, Jungbäck C, Van Molle W, Tesolin L. Rational arguments for regulatory acceptance of consistency testing: benefits of non-animal testing over in vivo release testing of vaccines. *Expert Review of Vaccines*. 2023;22:369–77.
4. Review of animal testing requirements in WHO guidelines and recommendations for biologics: A proposal to implement 3Rs principles, NC3Rs report to WHO ECBS, October 2023.
5. Russell WMS, Burch, R. L. The principles of humane experimental technique. London: Methuen; 1959.
6. Akkermans A, Chapsal JM, Coccia EM, Depraetere H, Dierick JF, Duangkhae P, et al. Animal testing for vaccines. Implementing replacement, reduction, and refinement: challenges and priorities. *Biologicals*. 2020;68:92–107.
7. Hendriksen C, Arciniega JL, Bruckner L, Chevalier M, Coppens E, Descamps J, et al. The consistency approach for the quality control of vaccines. *Biologicals*. 2008;36:73–7.
8. Schutte K, Szczepanska A, Halder M, Cussler K, Sauer UG, Stirling C, et al. Modern science for better quality control of medicinal products “Towards global harmonization of 3Rs in biologics”: The report of an EPAA workshop. *Biologicals*. 2017;48:55–65.

9. National Research Council (US) Committee on Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. Washington (DC): National Academies Press (US): 2009.
10. Carstens E, Moberg GP. Recognizing Pain and Distress in Laboratory Animals. *ILAR Journal*. 2000;41:62–71.
11. Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Pain and Distress accepted by the FELASA Board of Management November 1992. *Lab Anim*. 1994;28:97–112.
12. World Health Organization. Expert committee on biological standardization sixty-ninth report. WHO Technical Report Series. 2018;1016.
13. DeHovitz RE. The 1901 St Louis Incident: The First Modern Medical Disaster. *Pediatrics*. 2014;133:964–5.
14. Morris C, Lee YS, Yoon S. Adventitious agent detection methods in bio-pharmaceutical applications with a focus on viruses, bacteria, and mycoplasma. *Current Opinion in Biotechnology*, 2021;71:105–14.
15. Charlebois RL, Sathiamoorthy S, Logvinoff C, Gisonni-Lex L, Maller L, Ng SHS. Sensitivity and and breadth of detection of high-throughput sequencing for adventitious virus detection. *npj Vaccines*. 2020;5:61.
16. Barone PW, Keumurian FJ, Neufeld C, Koenigsberg A, Kiss R, Leung J, et al. Historical evaluation of the in vivo adventitious virus test and its potential for replacement with next generation sequencing (NGS), *Biologicals*. 2023;81:101661.
17. Gombold J, Karakasidis S, Niksa P, Podczasy J, Neumann K, Richardson J.

- et al. Systematic evaluation of in vitro and in vivo adventitious virus assays for the detection of viral contamination of cell banks and biological products. *Vaccine*. 2014;32:2916–26.
18. May Fulton C, Bailey WJ. Live Viral Vaccine Neurovirulence Screening: Current and Future Models. *Vaccines (Basel)*. 2021;9.
 19. Wood D. Neurovirulence. *Dev Biol Stand*. 1999;101:127–9.
 20. Chumakov K, Norwood L, Parker M, Dragunsky E, Taffs R, Ran Y, et al. Assessment of the viral RNA sequence heterogeneity for control of OPV neurovirulence. *Dev Biol Stand*. 1993;78:79–89; discussion 8–9.
 21. Horie H, Tano Y, Doi Y, Hashizume S. Estimation of the neurovirulence of poliovirus by non-radioisotope molecular analysis to quantify genomic changes. *Biologicals*. 1998;26:289–97.
 22. Charlton B, Hockley J, Laassri M, Wilton T, Cawt L, Preston M, et al. The Use of Next-Generation Sequencing for the Quality Control of Live-Attenuated Polio Vaccines. *J Infect Dis*. 2020;222:1920–7.
 23. da Costa A, Prehaud C, Khou C, Pardigon N, Saulnier A, Nougarede N, et al. Innovative in cellulo method as an alternative to in vitro neurovirulence test for the characterization and quality control of human live Yellow Fever virus vaccines: A pilot study. *Biologicals*. 2018;53:19–29.
 24. Konz JO, Schofield T, Carlyle S, Wahid R, Ansari A, Strating J, et al. Evaluation and validation of next-generation sequencing to support lot release for a novel type 2 oral poliovirus vaccine. *Vaccine X*. 2021;8:100102.
 25. Fennrich S, Hennig U, Toliashvili L, Schlesak C, Wendel HP, Stoppelkamp S. More than 70 Years of Pyrogen Detection: Current State and Future

Perspectives. *Alternatives to Laboratory Animals*. 2016;44:239–53.

26. Thurman TL, Lahti CJ, Mateffy JM, Forng RY, von Vintzingerode F, Silva LM, et al. Comparison of pyrogen assays by testing products exhibiting low endotoxin recovery. *Altex*. 2023;40:117–24.
27. Vipond C, Sutherland J, Nordgren K, Kemp G, Heath A, Care R, et al. Development and validation of a monocyte activation test for the control/safety testing of an OMV-based meningococcal B vaccines. *Vaccine*. 2019;37:3747–53.
28. Hartung T. Pyrogen testing revisited on occasion of the 25th anniversary of the whole blood monocyte activation test. *ALTEX – Alternatives to animal experimentation*. 2021;38:3–19.
29. Gorman R. Atlantic Horseshoe Crabs and Endotoxin Testing: Perspectives on Alternative, Sustainable Methods, and the 3Rs (Replacement, Reduction, and Refinement), *Frontiers in Marine Science*. 2020;7.
30. Schindler S, von Aulock S, Daneshian M, Hartung T. Development, validation and applications of the monocyte activation test for pyrogens based on human whole blood. *Altex*. 2009;26:265–77.
31. Ding JL, Ho B. A new era in pyrogen testing. *Trends in Biotechnology*. 2001;19:277–81.
32. Bolden J, Knutsen C, Levin J, Milne C, Morris T, Mozier N, et al. Currently available recombinant alternatives to horseshoe crab blood lysates: Are they comparable for the detection of environmental bacterial endotoxins: A Review. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2020:pdajpst.2020.012187.

33. Charton E. European Pharmacopoeia Approach to Testing for Pyrogenicity. American Pharmaceutical Review. <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/583968-European-Pharmacopoeia-Approach-to-Testing-for-Pyrogenicity/2022>.
34. Ministério da ciência, Tecnologia e Inovação. RESOLUÇÃO N 45, DE 22 DE OUTUBRO DE 2019. Reconhece método alternativo ao uso de animais em atividades de pesquisa no Brasil, 2019:14.
35. Recommendations for inactivated rabies vaccine for human use produced in cell substrates and embryonated eggs. WHO Expert Committee on Biological Standardization, Fifty-Sixth Report. Geneva: World Health Organization; 2007 Annex 2 (WHO Technical Report Series, No 941).
36. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of tetanus vaccines (adsorbed). WHO Expert Committee on Biological Standardization, Sixty-Third Report. Geneva: World Health Organization; 2014 Annex 5 (WHO Technical Report Series, No 980).
37. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of diphtheria vaccines (adsorbed). WHO Expert Committee on Biological Standardization, Sixty-Third Report. Geneva: World Health Organization; 2014 Annex 4 (WHO Technical Report Series, No 980).
38. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of poliomyelitis vaccines (inactivated). WHO Expert Committee on Biological Standardization, Sixty-Fifth Report. Geneva: World Health Organization; 2014 Annex 3 (WHO Technical Report Series, No 993).
39. Guidelines for Independent Lot Release of Vaccines by Regulatory Authorities, WHO Expert Committee on Biological Standardization, Sixty-First Report. Geneva: World Health Organization; 2013, Annex 2, TRS No 978

40. WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines, WHO Expert Committee on Biological Standardization, Fifty-fourth Report. Geneva: World Health Organization; 2005, Annex 1, TRS No 927
41. World Health Organization. Expert committee on biological standardization. Seventy-eighth report World Health Organization; 2023 (WHO Technical Report Series, No. 1054).
42. Vaccine lot to Vaccine lot comparison by consistency testing. | VAC2VAC Project | | Fact Sheet | | H2020 | | CORDIS | European Commission (europa.eu). <https://www.imi.europa.eu/projects-results/project-factsheets/vac2vac>.
43. Stalpers CAL, Retmana IA, Pennings JLA, et al. Variability of in vivo potency tests of Diphtheria, Tetanus and acellular Pertussis (DTaP) vaccines. *Vaccine*. 2021;39(18):2506–16.
44. Akkermans A, Chapsal JM, Coccia EM, et al. Animal testing for vaccines. Implementing replacement, reduction and refinement: challenges and priorities. *Biologicals*. 2020;68:92–107.
45. Schutte K, Szczepanska A, Halder M, et al. Modern science for better quality control of medicinal products “Towards global harmonization of 3Rs in biologiclas”: The reports of an EPAA workshop. *Biologicals*. 2017;48:55–65.
46. Viviani L, Reid K, Gastineau T, et al. Accelerating Global Deletion of the Abnormal Toxicity Test for vaccines and biologicals. Planning common next steps. A workshop Report. *Biologiclas*. 2022;78:17–26.
47. De Mattia F, Chapsal JM, Descamps J, et al. The consistency approach for quality control of vaccines – a strategy to improve quality control and implement 3Rs. *Biologicals*. 2011;39(1):59–65.

번역 과정에 오역 등의 오류가 있을 수 있으니 정확한 의미는
참고문헌 등의 원문을 참고해 주시기 바랍니다.

백신 품질관리 동물대체시험법 동향 정보집

발행일	2024년 11월 29일
발행인	식품의약품안전평가원장 강석연
편집위원장	식품의약품안전평가원 의료제품연구부장 정지원
편집위원	류승렬, 오호경, 이철현, 박은혜, 김지화, 손상현
발행처	식품의약품안전평가원
