



Tendências globais e a nova estratégia de avaliação de pirogenicidade

Laura Viviani, Consultora da SciEthiQ para Humane World for Animals

O futuro dos testes de pirogênicos no Brasil: a nova estratégia de determinação do potencial de pirogenicidade – Workshop da AFSA em colaboração com o grupo de trabalho Humane World for Animals MAT e o CONCEA

20 de fevereiro de 2025



Programação

- Abordagem histórica da pirogenicidade
- Principais características das abordagens disponíveis
- Nova estratégia de pirogenicidade – Por quê?
- Nova estratégia de pirogenicidade – Avaliação de risco
- Cenários regulatórios
- Implementação local e alinhamento regulatório

Abordagem histórica da pirogenicidade

Teste de pirogênios em coelhos (RPT)

Teste de endotoxinas bacterianas (BET) com lisado de amebócitos de *Lymulus* (LAL)

Teste de ativação de monócitos (MAT)

BET usando o Fator C recombinante (rFC)

BET usando outros reagentes recombinantes da cascata

Como o teste de pirogenicidade será realizado no futuro próximo?

- O teste de pirogênios em coelhos (RPT) foi descrito pela primeira vez em 1925 por Florence Seibert
- O RPT foi o **padrão** na Farmacopeia de 1942 até os anos 80, quando o teste de endotoxina bacteriana (BET) foi introduzido como um teste inovador baseado no lisado de amebócitos de *Lymulus* (LAL) extraído de caranguejos ferradura (*L. polyphemus* ou *T. tridentatus*) para substituir o RPT na detecção de endotoxinas contaminantes
- Outra abordagem inovadora, o teste de ativação de monócitos (MAT), foi introduzido na Farmacopeia Europeia pela primeira vez em um ambiente regulatório em 2010 e começou a substituir o RPT para contaminantes endotoxinas e não endotoxinas, abrindo caminho para uma abordagem de testes de pirogenicidade baseada em humanos e não em animais
- Outro progresso importante foi o desenvolvimento e a introdução, no cenário regulatório, de tecnologias recombinantes para o BET, reduzindo a dependência do LAL derivado de animais (2020, Eur. Ph.)

Principais características das abordagens disponíveis

RPT

- Teste em animais
- Sem controles
- Sensibilidade ligada ao volume de injeção
- Sem controle positivo
- Sem curva padrão
- Sem spiking/Recuperação

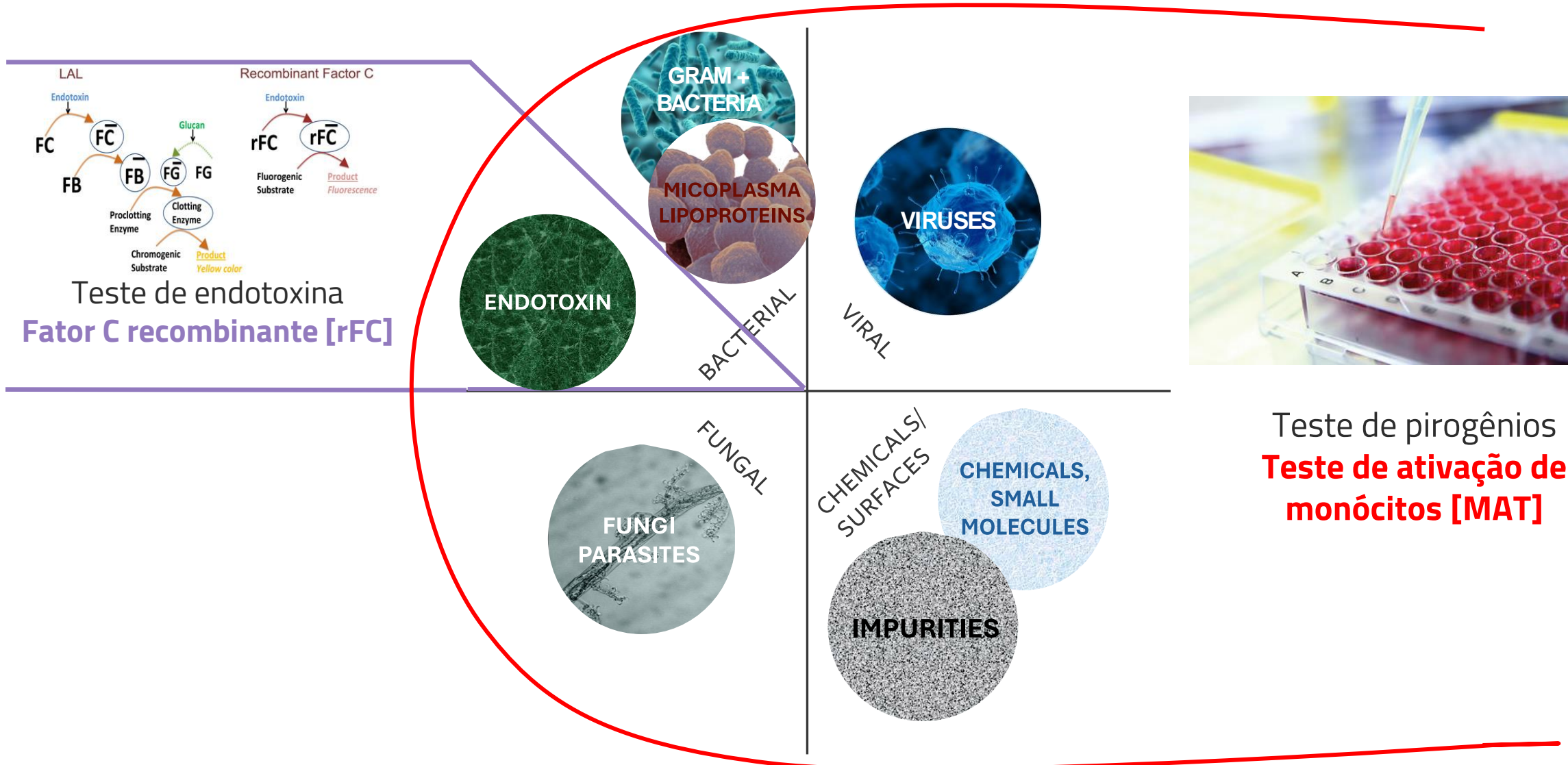
BET

- Sem teste em animais – mas o LAL usa reagente derivado de animais – outras tecnologias recombinantes tornam o teste livre de animais*
- Com controles, limites em UI/UE
- Sensibilidade conhecida
- Curva padrão LPS
- Com spiking/Recuperação
- Resultado em UI
- Limites harmonizados em UI - USP <85>, Farmacopeia Europeia 2.6.14, JP, guia da FDA

MAT

- Teste baseado na biologia humana
- Sensibilidade conhecida
- Curva padrão LPS
- Com spiking/Recuperação
- Controles PNE
- Resultado in UE
- Limites em UE na Farmacopeia Europeia

Métodos sem animais para testes de endotoxinas e pirogênicos



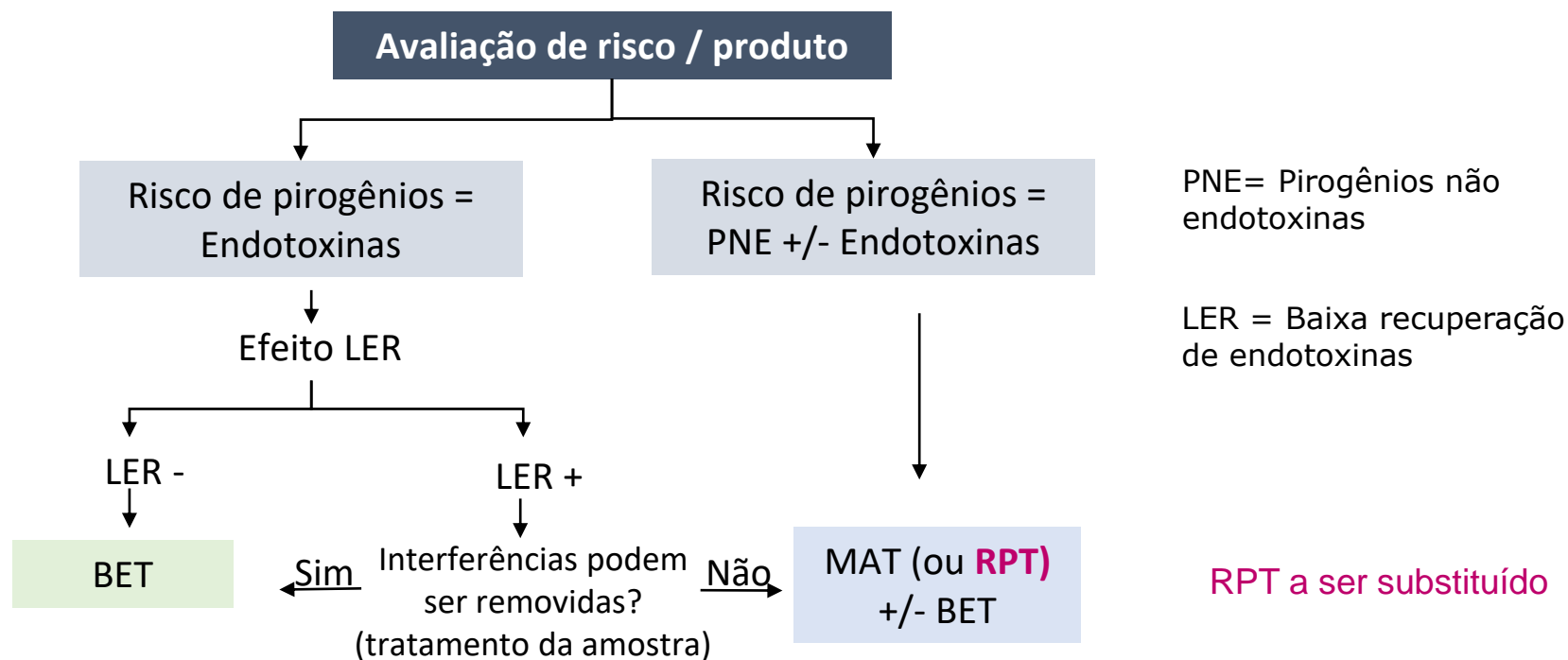
Teste de pirogênicos
Teste de ativação de monócitos [MAT]

Nova estratégia de pirogenicidade – por quê?

- Mudança de paradigma
 - estratégias de controle de produção e controle de qualidade de produtos biológicos com base nas BPFs, Qualidade por Design e Gestão de ciclo de vida do produto transformaram a liberação desses produtos
 - Abordagens tradicionais e históricas de testes baseados em animais podem ser substituídas por novos testes com escopo mais preciso e permitem medições qualitativas e quantitativas de segurança e potência
- Novas tecnologias estão se tornando e se tornarão mais acessíveis em todo o mundo
 - MAT (metodologias bem descritas, kits ou métodos in house estão disponíveis e têm sido implementados por muitos fabricantes e laboratórios)
 - Tecnologias recombinantes (rFC, rCR) também estão disponíveis e a equivalência com o LAL foi demonstrada por muitos estudos; os fabricantes também estão fazendo a transição para essas abordagens

Nova estratégia de pirogenicidade – avaliação de risco

Uma avaliação de risco deve ser realizada para identificar qual o método candidato para detecção de pirogênicos, dependendo da natureza dos pirogênicos



Principais referências:

Cirefice, et al., The future of pyrogenicity testing: Phasing out the rabbit pyrogen test. A meeting report, Biologicals, 2023

Materiais e estudos de caso: [HWFA India and USP webinar on rFC](#)

[AFSA Workshop on MAT](#)

[EDQM EPAA Conference 2023](#)

Regulatory Scenarios

Estratégia	Europa*	EUA*	Brasil*	Índia*	China*	Japão	Coreia*
RPT	Após 1 de julho de 2025 – removido Novo capítulo de pirogenicidade 5.1.13	Compendial USP <151>	Compendial Farmacopeia Brasileira 5.5.2.1	Compendial IP 2.2.8 – a maioria dos produtos migrou para BET-LAL	Compendial ChP <1142>	Compendial JP 4.04	Compendial
BET-LAL	Compendial Ph. Eur. 2.6.14	Compendial USP <85>	Compendial Farmacopeia Brasileira 5.5.7.7.3	Compendial	Compendial	Compendial JP 4.01	Compendial
BET-rFC	Compendial Ph. Eur. 2.6.32 Water for injections (0169) e Purified water (0008)	Alternative USP <86> Se tornará compendial assim que a monografia se referir a ele	Discussões em andamento	Discussões em andamento	Alternativo ChP 1143 Guideline for BET applications	Alternativo JP G4-4-180 BET & alternative methods using recombinant proteins	Alternativo Compromisso de incluir na Farmacopeia
BET-rCR	-				-	-	-
MAT	Compendial Ph. Eur. 2.6.30 e 2.6.40	Alternativo USP incluiu o MAT em seu plano de trabalho	Alternativo Farmacopeia Brasileira 5.5.2.7.1 CONCEA NR 45/2029	Alternativo IP 2.2.25	Alternativo Rascunho “9301 Guiding Principles for Safety Inspection of Injectable Preparations”	Alternativo Rascunho do capítulo Monocyte-Activation Test as an Alternative Method for Pyrogen Test <G4-13-190>	-

Implementação local e alinhamento regulatório

- Nosso trabalho em diferentes regiões e países com partes interessadas destacou a necessidade de ter fabricantes, reguladores e fornecedores de reagentes e kits envolvidos na discussão sobre a implementação e aceitação regulatória dessas metodologias
- A ciência, os dados e a experiência compartilhados sobre o uso dessas tecnologias são fundamentais para o sucesso na implementação e para ter regulamentos atualizados
- Situações específicas de cada país ou região devem ser analisadas e as questões devem ser resolvidas da melhor maneira possível para permitir que a melhor decisão baseada na ciência seja tomada
- Abordagens inovadoras específicas para cada produto também devem ser consideradas e os regulamentos devem levar isso em consideração e definir a maneira como elas devem ser implementadas
- Também é importante olhar para o alinhamento entre regulamentos, diretrizes e farmacopeias



Obrigada!

lviviani@sciethiq.com

<https://www.afsacollaboration.org/biologicals/>