

新法规形势下的

热原检测新选择

热原检测法规新趋势

使用符合3R原则的和切实可行的热原检测技术,越来越受到各国药品监管机构的高度重视。在2024年6月举行的第179届欧洲药典委员会会议上,委员会批准了从所有条款中删除家兔法热原检测,将于2025年7月1日生效,并推荐单核细胞活化反应测定法(MAT)作为合适的替代方法。

中国药典9301通则已将MAT列为热原检测的补充方法;美国药典鼓励企业采用经过验证的MAT替代家兔法。

药典	热原检查法(RPT)	细菌内毒素检查法(BET)	单核细胞活化反应测定法(MAT)
中国药典	通则1142	通则1143	通则9301
欧洲药典	EP 2.6.8	EP 2.6.14	EP 2.6.30, 新通则 5.1.13
美国药典	USP<151>	USP<85>	替代方法

不同检测方法比较

- 家兔法作为热原检测的“金标准”沿用至今,其操作稍显繁琐、时间较长和需要动物设施等;LAL法灵敏度高、操作方便,但仅针对内毒素类热原,且易受样品干扰,存在LER或增强干扰现象等。
- MAT不仅能检测内毒素,还能检测非内毒素热原,以“零动物消耗”契合全球3R原则(替代、减少、优化)的监管导向。

污染物来源		热原检查法(RPT)	细菌内毒素检查法(BET)	单核细胞活化反应测定(MAT)
热原	内毒素(革兰氏阴性菌细胞壁来源)	✓	✓	✓
	非内毒素热原(革兰氏阳性菌、病毒、真菌等来源的热原)	✓	✗	✓

MAT检测原理

MAT通过人源单核细胞模拟人体免疫反应,热原刺激单核细胞或单核细胞系的toll样受体(TLR),启动免疫反应,释放出促炎症细胞因子(如 IL-6),使用ELISA法检测 IL-6含量,绘制内毒素标准曲线,从而推算出检测样品中热原含量。

热源检测

- 内毒素热源
革兰氏阴性细菌

- 非内毒素热源
革兰氏阳性细菌,霉菌,
酵母,病毒等



单核细胞/单核细胞系



促炎症细胞因子
IL-6、IL-1、IL-1 β 、TNF- α



使用Elisa Kit检测IL-6

应用场景

生物
制品

化学
制药

原料药

化妆品

医疗
器械

低内毒素
回收(LER)
检测

MAT技术特点

- ◆ 贴近人体实际免疫反应:基于人源单核细胞或单核细胞系,不使用动物;
- ◆ 更广的热原检测:与家兔热原试验(RPT)一样,MAT可以检测内毒素和非内毒素热原(NEPs);
- ◆ 检测结果重复性高:可标准化的定量检测方法,结果重现性好;
- ◆ MAT热原检测可以帮助分析和解决生物制品LER现象。

PyroSHENTEK 热原检测试剂盒 (MAT法)



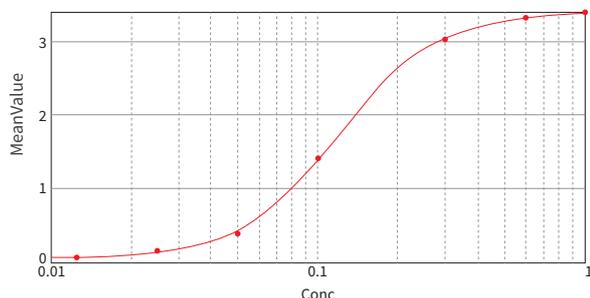
货号:1502100
规格:96测试/盒

特点

◆ MAT专用单核细胞系, 细胞表面有多种Toll样受体 (TLR)

- (1) 细胞系稳定: 来源清晰、可溯源、均一性强、无供体依赖、安全风险低;
- (2) 体系稳定: 标准化的单核细胞+ELISA检测试剂盒, 结果稳定、重复性好, 确保数据精准如一。

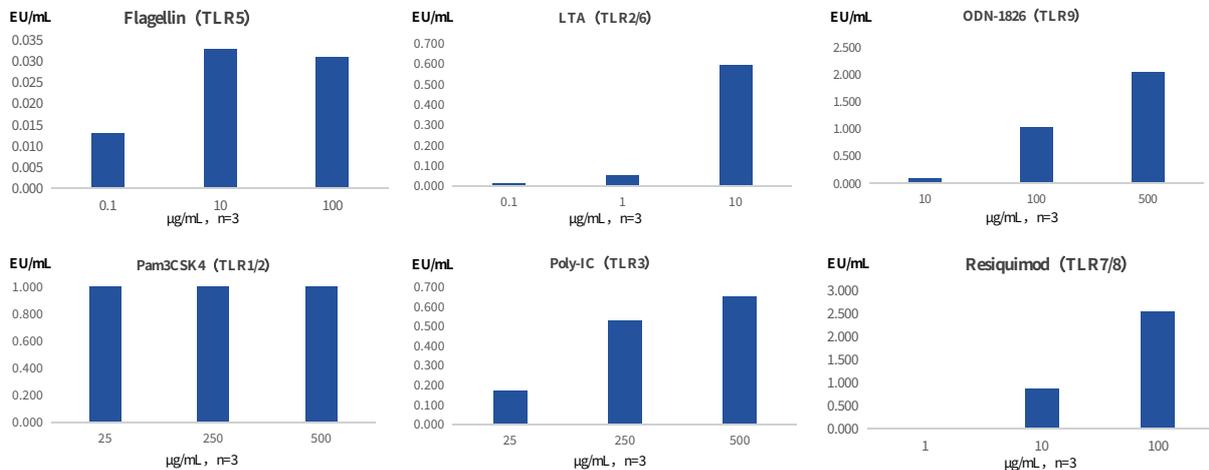
Standard Curve of MAT



Curve Fit: 4-Parameter Logistic $y = D + \frac{A-D}{1 + (\frac{x}{C})^B}$

	Parameter	Estimated Value	Std. Error	Confidence Interval
Std R ² =1.000 EC50=0.119	A	0.058	0.032	[-0.043, 0.159]
	B	2.386	0.136	[1.952, 2.820]
	C	0.119	0.003	[0.110, 0.128]
	D	3.394	0.034	[3.288, 3.501]

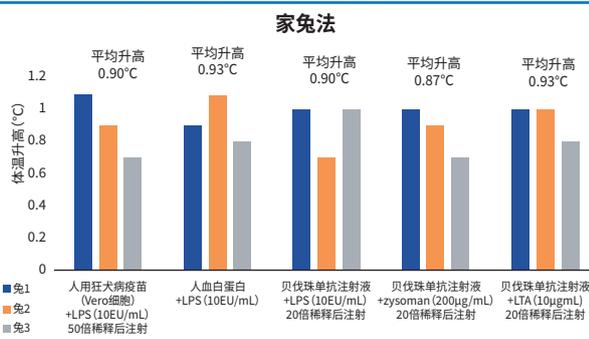
对非内毒素热原 (NEP, Non-Endotoxin Pyrogen) 的反应性



MAT试剂盒定量限为0.025EU/mL, 所有非内毒素热原均能检出

◆ 联合权威验证, 与RPT法桥接结果一致!

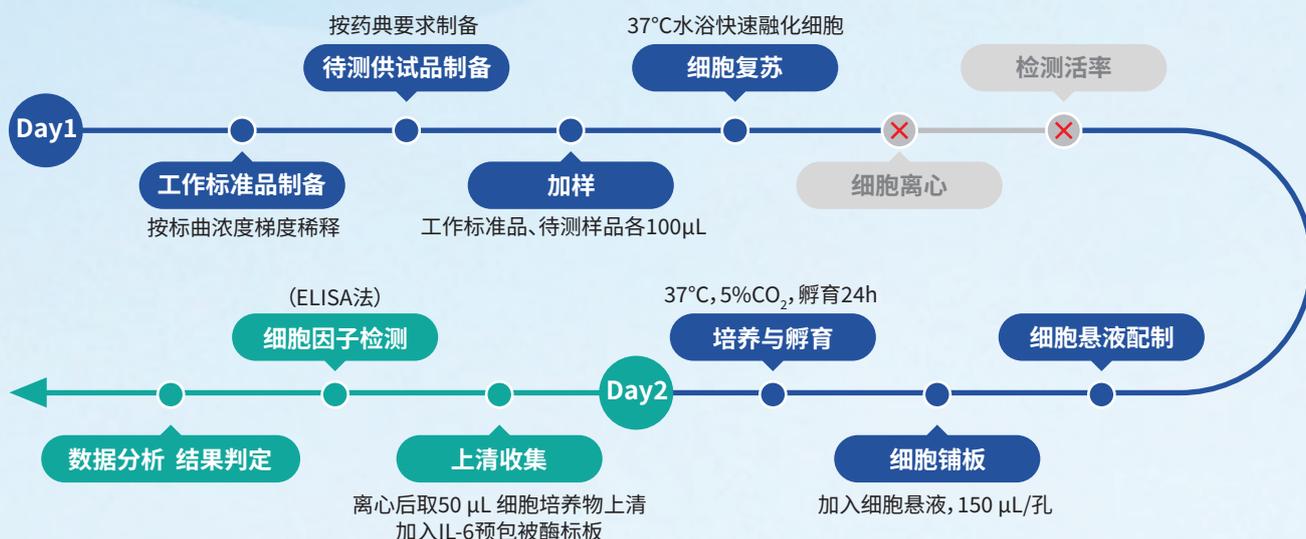
联合国内权威机构进行室间验证, 可满足多种样品基质, 与传统RPT法结果高度一致, 确保检测数据的科学性, 符合法规, 助力企业无缝衔接国际标准要求。



样品溶液	添加热原种类和浓度	测定浓度	回收率
人用狂犬病疫苗 (Vero细胞)	LPS (10EU/mL)	15.21 (EU/mL)	152.1%
人血白蛋白	LPS (10EU/mL)	7.16 (EU/mL)	71.6%
贝伐珠单抗注射液	LPS (10EU/mL)	11.17 (EU/mL)	111.7%
贝伐珠单抗注射液	Zysoman (200µg/mL)	226 (µg/mL)	113%
贝伐珠单抗注射液	LTA (10µg/mL)	6.68 (µg/mL)	66.8%

◆ 即用型细胞, 操作便捷高效!

严格保证细胞质量, 确保冻存的细胞复融后即可与供试品混合共孵育, 而无需离心复苏培养等, 节省调整细胞状态的大量时间, 可在24小时内获得稳定可靠的检测结果。



◆ 全面性能验证

依据ICH Q2 (R2)、《中国药典》9012、《中国药典》9301和EP<2.6.30>对试剂盒线性、范围、定量限、准确度、精密性、耐用性等进行了全面性能验证, 确保检测结果准确、稳定、可靠。

PyroSHENTEK MAT试剂盒性能参数

内毒素工作标准品 (CSE)	使用中国药典推荐MAT专用标准品, 可直接用于国内外申报
线性	$R^2 \geq 0.99$
范围	0.025-1EU/mL
检测限 (LOD)	0.0125EU/mL
定量限	0.025EU/mL
准确度	回收率75%-125%
精密性 (批内/批间)	CV ≤ 25% (3复孔或4复孔皆可达到)
耐用性	不同样本 (特别是复杂基质样品) 回收率在50%-200%

湖州申科生物技术股份有限公司



400-878-2189

✉ info@shenkebio.com

📍 浙江省湖州市红丰路1366号南太湖科创中心6B8F



微信公众号



微信小程序