

基于病毒或细菌的基因治疗和溶瘤产品的脱落研究设计和分析
行业指南

这份指导原则的复印件可从对外交流、宣传和发展办公室（OCOD）获取，地址为 10903 New Hampshire Ave., Bldg. 71, Rm. 3128, Silver Spring, MD 20993-0002，或通过拨打 1-800-835-4709 或 240-402-8010 或发送邮件至 ocod@fda.hhs.gov，或通过浏览下述网址 <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm> 来获取。

与该指导原则的内容相关的问题，请拨打电话或按上述地址发送电子邮件，与 OCOD 联系。

美国卫生与人力资源服务部

美国食品和药品管理局

生物制品评价和研究中心

2015 年 8 月

目录表

I.	前言	3
II.	范围	4
III.	背景	4
IV.	为何在产品研发中收集脱落数据?	5
V.	在临床前研究中采集脱落数据.....	6
VI.	脱落研究的设计: 指导原则.....	7
A.	生物学特征	7
B.	给药途径	8
VII.	在临床研究中收集脱落数据.....	8
A.	何时在临床研究中采集脱落数据?	8
B.	研究设计	9
VIII.	用于测定脱落的分析法.....	11
IX.	脱落数据的分析	14
A.	脱落物质的性质.....	14
B.	脱落程度	15
X.	将哪些内容纳入临床脱落研究报告中.....	15
XI.	评价因脱落所致传播给未经治疗个体的可能性.....	17
A.	脱落数据中的哪些信息可用于评价向未经治疗个体传播的可能性?	18
B.	监测向未经治疗个体的传播.....	18
XII.	参考文献	19

基于病毒或细菌的基因治疗和溶瘤产品的脱落研究设计和分析

行业指导原则

这份指导原则代表了美国食品和药品管理局（FDA 或当局）目前对该课题的看法。该指导原则既不赋予任何人权力，对 FDA 或公众也不具有约束性。您可以采用替代方法，前提是该法符合适用法律和法规的要求。如果您想探讨替代方法，请与标题页中列举的负责拟定本指导原则的 FDA 人员联系。

I. 前言

生物制品评价和研究中心（CBER）/细胞、组织和基因治疗办公室（OCTGT）发布该指南，为您——基于病毒或细菌的基因治疗产品（VBGT 产品）¹和溶瘤病毒或细菌（溶瘤产品）²的申办方提供如何在临床前和临床研发中开展脱落研究的建议。就本指导原则而言，术语“脱落”指的是 VBGT 或溶瘤产品通过下述一种或所有途径从患者体内释放：排泄物（粪便）；分泌物（尿液、唾液、鼻咽液等）；或通过皮肤（脓包、伤处、伤口）。脱落不同于生物分布，因为后者描述的是一种产品如何从给药部位扩散至患者全身，而前者描述的是产品如何从患者体内排泄或释放。脱落增加了 VBGT 或溶瘤产品³从经治疗个体向未经治疗个体（例如亲密接触的人员和医疗卫生专业人士）传播的可能性。该指导原则代表了 FDA 目前对于下述课题的看法，即如何以及何时在临床前和临床研发中采集 VBGT 和溶瘤产品的脱落数据，以及如何将脱落数据应用于评价向未经治疗个体传播的可能性。该指导原则最终确立了 2014 年 7 月的相同标题的指导原则草案。

¹ 基因治疗产品是通过转录和/或翻译转移的遗传物质和/或其合并入宿主基因组来发挥作用，并且作为核酸、病毒或基因工程微生物给药的所有产品。这些产品可用于改良体内细胞或在给予接受者之前转移至离体细胞中。可参见于 2006 年 11 月出台的名为“行业指导原则：基因治疗临床试验——观察受试者的迟发不良事件”的 FDA 指导原则。

<http://www.fda.gov/biologicsbloodavaccines/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/cellularandgenetherapy/ucm072957.htm>。

² 溶瘤产品指的是用作治疗药来介导肿瘤细胞溶解的具有复制功能的病毒或分裂细菌。一些溶瘤产品携带外源基因（免疫调节基因，可增强溶瘤作用的基因），通过在宿主细胞中转录和/或翻译这些外源基因来介导其部分抗肿瘤作用。因此，携带外源基因的溶瘤产品也可被划分为基因治疗产品。

³ 如果 VBGT 或溶瘤产品以完整病毒或细菌形式脱落，而并非作为病毒或细菌降解产物（例如核酸片段）脱落时，传播才能发生。

包含这份指导原则在内的 FDA 指导原则文件并不具有法律效力。相反，这份指导原则描述了 FDA 目前对于该课题的看法，应仅被视作建议，除非引用了特定法规或法律规定。FDA 指导原则中使用的措辞应当指的是建议这样做，而非要求这样做。

II. 范围

本指导原则覆盖的产品是由 OCTGT 评审的 VBGT 和溶瘤产品。本指导原则的重点是脱落研究，包括如何以及何时应采集脱落数据以及脱落数据如何应用于评价向未经治疗个体传播的可能性。

本指导原则并不涵盖 OCTGT 所审查的质粒、多肽和基因改造哺乳细胞，因为与 VBGT 和溶瘤产品不同，质粒、多肽和基因改造哺乳细胞并无传染性或传播性。该指导原则并未阐述不良事件信息采集或申报，包括可归咎于脱落的这些不良事件。与不良事件信息采集以及向 FDA 申报有关的信息，请参见联邦法规 21 条（CFR）第 312 部分，特别是 21 CFR 312.32，以及 21 CFR 第 600 部分，特别是 21 CFR 600.80。

最后一点，尽管脱落评价可用于理解对环境构成的潜在风险，但是该指导原则的范围并不包括脱落，因为仅特定 VBGT 或溶瘤产品才可能导致潜在环境问题。对于与该课题有关的更多信息，您可以参考 2015 年 3 月出台的 FDA 指导原则文件，名为“确定基因治疗、载体疫苗和相关重组病毒或微生物产品的环境评价需求和内容；行业指导原则”。⁴

III. 背景

VBGT 和溶瘤产品是从感染性病毒或细菌中衍生的。一般来讲，这些产品的传染性或致病性不及病毒或细菌母株，因为在部分程度上衍生方法和/或产品研发过程中进行的改造会导致衰减。因此，这些产品的脱落程度可能也不及母株自然感染。但是，脱落的 VBGT 或溶瘤产品可能具有感染性，这引发了人们对于向未经治疗个体传播之风险的安全性担忧。为理解这种风险，在取得许可前针对目标患者人群开展脱落研究可能是适当的。

⁴ 取自

<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm401869.htm>。

通常来讲，临床脱落研究并非单独的研究，而是应并入安全性或疗效试验设计中。因为有许多产品特异性因素和患者特异性因素均可影响脱落研究的设计，所以申办方应在产品研发的早期阶段咨询 OCTGT 以获取与其产品有关的具体建议。

IV. 为何在产品研发中收集脱落数据？

因为单纯的历史数据无法预测脱落规律，应针对每种 VBGT 或溶瘤产品开展脱落研究以提供传播给未经治疗个体的可能性相关信息。脱落数据可用于评价预防传播的措施。在产品研发过程中收集的脱落数据应有助于清晰和全面地理解 VBGT 或溶瘤产品在目标患者人群中的脱落规律。注意在经批准的生物制品许可申请（BLA）的产品说明书中描述这些数据是适当的。

为预测人类脱落研究的设计，在给予 VBGT 或溶瘤产品后，从动物中采集脱落数据。这些数据有助于估算人类中的可能脱落规律，特别是当担忧向未经治疗个体传播时。然而，出于多种原因，此类数据不能替代人类脱落研究。例如，一种 VBGT 或溶瘤产品可能是从人类特异性株型中衍生的；因此，动物并不足以预测人类中的脱落规律。相似地，多种动物物种/模型并不足以阐明患者特异性因素，例如在产品给药时免疫状态的差异，该因素对在人体内脱落的可能性有所贡献（更多详细信息，参见本指导原则的第 VII.B. 节）。

产品特异性变量也可能影响脱落。例如，VBGT 或溶瘤产品的生物学特征和给药途径（进入）可能不同于病毒或细菌母株。特别是，这些产品：

- 由在先前研究中未针对人类进行表征的实验室改良野生型、衰减或工程学株型衍生。
- 具有复制功能或不具有复制功能的病毒；可以感染宿主细胞并且可增殖以繁育后代的病毒均具有复制功能，可以感染宿主细胞但是无法建立感染、无法增殖和繁育后代的病毒不具有复制功能。

- 分裂的和/或营养缺陷型细菌；营养缺陷型细菌无法合成细菌生长和分裂所必需的有机分子，但是当这种分子可通过它们所需的其他营养素获取时，细菌可以生长和分裂。
- 通过非自然途径导入人体内，因此感染性、复制、保留时间以及从体内脱落均不同于母株。
- 经工程学改造携带转基因，例如取向性改变基因、免疫调节基因或增强溶瘤作用的基因。

V. 在临床前研究中采集脱落数据

在临床前研究中对脱落进行评价的决策⁵是基于 VBGT 或溶瘤产品的生物学特征、衍生和基因构造。例如，一种溶瘤或具有复制能力的 VBGT 产品可能需要临床前脱落数据，如果：

- 人类先前未曾暴露于这种产品，例如非人类细菌或病毒株。
- 产品先前曾在人类中给药，但是经过改造，其体内取向完全不同于母株。
- 这种产品先前曾在人类中给药；然而，提请变更给药途径。
- 人类先前未曾暴露于这种产品，而且给药途径不同于自然暴露/感染途径。

使用动物物种/模型是一项重要因素，会影响在动物中生成的脱落规律的生物相关性。考量因素包括动物对所研究的 VBGT 或溶瘤产品感染的包容性或易感性以及会影响感染性或产品清除的原有免疫。

脱落数据采集是可纳入旨在采集其他数据（例如安全性和生物分布）的临床前研究中的一个终点。是否将 VBGT 或溶瘤产品脱落规律评价纳入动物研究中的决定取决于多种产品特异性因素，如上文以及本指导原则第 I.和 IV.章节所述。我们建议申办方在产品研发项目的早期着手与 OCTGT 的药理学/毒理学人员联络以探讨是否有必要在动物中生成 VBGT 或溶瘤产品脱落规律以及采集该脱落数据的计划方法学。

⁵ 与临床前评价有关的一般性信息，包括这些产品的研究设计，参见 2013 年 11 月出台的名为“行业指导原则：研究性细胞和基因治疗产品的临床前评价”的 FDA 指导原则，<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm376136.htm>。

VI. 脱落研究的设计：指导原则

脱落研究设计中的关键方面为：从参加一项试验的受试者中采集的临床样本的选择（例如粪便、尿液和鼻拭子）；样本采集频率和监测期的持续时间；选择试验方法学以检测临床样本中是否存在脱落 VBGT 或溶瘤产品（参考文献 1）。

为指导脱落研究的设计，应考虑下述方面：

A. 生物学特征

- **可复制功能：**VBGT 或溶瘤产品在人体宿主内的繁殖和扩增能力极大地影响其如何在体内传播，并且可能增加脱落程度和持续时间。
- **免疫原性：**当从病毒或细菌中衍生的 VBGT 或溶瘤产品可激发强烈的免疫应答时，这种产品从体内循环中清除的速率快于免疫原性较差的产品，所以其脱落时间更短。相似地，一种产品多次给药时，这种产品在后续给药周期中的脱落时间短于免疫启动的首个或早期给药周期。
- **持留和潜伏：**如果 VBGT 或溶瘤产品在宿主中表现出持留或潜伏再激活，则脱落研究的持续时间可能更长，如同可以潜伏的溶瘤疱疹病毒产品（在潜伏期间，病毒存在于宿主体内，未导致明显的临床症状）。此类产品的脱落可能是间断的且无法预测。
- **取向性：**产品的取向性会影响应采集哪些样本来评价脱落。例如，VBGT 或溶瘤产品经基因工程改造，携带取向性调节基因或突变，这类产品的脱落规律相对于亲代病毒有所改变，因为这种产品的靶标重新瞄准不同组织或器官。

- 产品衰减的稳定性：VBGT 或溶瘤产品发生衰减以便在正常（非肿瘤）细胞中复制或者在人类宿主中丧失致病性或潜伏非常常见。然而，对于一些在患者体内重组或复原可能性更高的产品，脱落规律和/或哪些会脱落则发生变化。

B. 给药途径

除 VBGT 或溶瘤产品的取向性以外，在选择脱落研究所采集的样本类型时还应考虑到产品给药途径。例如，为评价通过皮内途径给予溶瘤病毒的患者脱落情况，除常规性用于评价脱落的其他样本（例如尿液、粪便和唾液）以外，我们建议采集注射部位的皮肤拭子。同样地，当通过吸入或经鼻内途径给予溶瘤病毒时，我们建议收集鼻咽洗液。

VII. 在临床研究中收集脱落数据

在临床研究中收集的脱落数据提供了产品在目标患者人群中的脱落规律，并且可用于估算传播给未经治疗个体的可能性。视脱落规律而定，将脱落信息纳入试验性新药（IND）研究的研究者手册和知情同意中可能是适当的。视脱落规律而定，将脱落数据纳入经许可的产品的说明书中也是适当的。该信息将通知患者和医师“如果在 VBGT 或溶瘤产品使用时发生脱落，产品向未经治疗个体传播的可能性以及预防此类传播应采取的措施”。

A. 何时在临床研究中采集脱落数据？

- 对于被划分为具有复制功能的 VBGT 或溶瘤产品，我们建议申办方在第 I 期试验中开始采集脱落数据。考虑到具有复制功能的产品释放感染性病毒或细菌的可能性更高，申办方需要在剂量和给药方案敲定后，在 II 期和 III 期研究中继续采集脱落数据以便更好地对脱落进行表征。
- 对于被划分为不具有复制功能或复制缺陷型的 VBGT 产品，我们建议申办方在敲定剂量和给药方案后，在产品研发的后期（例如在 II 期研究中）采集脱落数据。与具有复制功能的产品的脱落相比，预测在有限的时间内不具有复制功能或复制缺陷型产品的脱落率较低，这与释放感染性病毒或细菌的可能性更低有关。

- 在早期阶段研究中采集脱落数据后，通常不会对剂量、途径、给药方案（产品给药频率、伴随治疗、预处理方案等）或适应症进行调整。这些变化会改变产品的脱落方式。在这种情况下，在早期临床试验中采集的脱落数据不足以预测产品在目前状况下的脱落规律。在给药途径、给药方案和适应症均与关键试验相同的后续临床试验中，应采集额外的数据。

B. 研究设计

在临床研究中采集脱落数据的计划是基于相同或相似产品的既往临床经验，但是当无此类经验时，例如首次在人类中使用的 VBGT 或溶瘤产品，在动物中生成的脱落谱可提供信息。我们建议申办方前瞻性地设计抽样计划，并且将其纳入临床研究中以采集脱落数据。

在设计抽样计划的过程中有 4 个重要选择：

- 样本采集的频率；
- 样本采集的持续时间；
- 采集的样本类型；以及
- 采集的样本类别的储存条件。

然而，有很多方面可以影响这些选择，如先前本指导原则第 VI 章节所述并且在下文进一步详细阐述。

- 样本采集频率：脱落最有可能发生在产品给药后不久，无论 VBGT 或溶瘤产品是否具有复制功能。因体内繁殖/扩增所致，可以在给予具有复制功能的产品后数天内/数周内观察到第二个脱落峰。因此，抽样应在产品给药后立即启动，在治疗后最初数周内频繁抽样以便准确采集脱落规律（例如在第 1、3、7 和 10 天抽样，随后每周抽样 1 次）。样本分析应继续进行直至 3 个连续数据点均低于等于脱落测定的检测限（LOD）。如果脱落水平未达到测定的检测限，但是有持续下降的趋势，应继续进行采集直至结果表明至少 3 个连续数据点达到平台期。

- 样本采集的持续时间（脱落的监测期）：
 - 一般来讲，当 VBGT 或溶瘤产品是具有复制功能的病毒或细菌时，脱落的监测期（对于样本采集而言）长于不具有复制或复制缺陷型产品。这是因为您想采集第二个与体内增殖或扩增相关的脱落峰。
 - 应考虑患者人群的免疫状况。与具有免疫能力的患者相比，免疫受损患者的脱落谱延长或甚至完全不同。对于具有复制功能的产品，患者人群的免疫能力是一个相关因素，因为许多这些产品使用在接受免疫抑制化疗的癌症患者中。当接受具有复制功能的 VBGT 或溶瘤产品治疗时，免疫抑制患者会出现持续感染，产品脱落时间会延长（参考文献 2）。因此，经具有复制功能的 VBGT 或溶瘤产品治疗的免疫抑制患者的脱落监测期可能更长。
 - 当 VBGT 或溶瘤产品在多个周期内给药时或当预先存在免疫力时，脱落持续时间可能因产品特异性免疫应答而缩短。产品单次给药数据可用于指导多次给药后的样本采集时间。
 - 如果一种溶瘤产品是基于具有潜伏再激活能力的病毒生产的，可根据临床指征，即当患者出现因再激活所致的感染指征时，我们建议采集额外样本用于脱落分析。
- 采集的样本类型：为评价脱落而采集的临床样本类型（例如尿液、粪便拭子、唾液等）取决于多种因素，包括产品给药途径、病毒或细菌的取向性、从产品中衍生的亲代病毒或细菌的传播和脱落自然途径（如本指导原则第 VI 章节所述）以及源自临床前研究的生物分布或脱落数据。例如，如果溶瘤疱疹病毒产品皮内给药用于治疗皮肤癌，则溶瘤疱疹病毒产品有可能通过被感染的拭子/皮肤分泌物进行传播，这是疱疹病毒的自然传播途径。在这种情况下，应对皮肤拭子或注射部位敷料进行脱落分析。同样地，如果一种溶瘤腺病毒产品鼻内给药，腺病毒产品有可能通过呼吸道分泌物进行传播，因此，应在脱落研究中收集鼻咽拭子或洗液。如果是取向性经过改造的产品，对于亲代病毒或细菌传播和脱落途径的了解不足以指导样本采集。

- 通常不对血液进行脱落分析，但是仍应进行采集，因为这是药代动力学分析的一部分，有助于理解产品从给药部位传播的程度以及产品清除速度。当局部给药产品（例如通过瘤内、肌内、颅内、视网膜下途径）的血管传播有限时，该信息尤其有助于评价产品脱落程度。
- 采集的样本类型的储存条件：需要确立不同样本类型的适当储存条件，以便将产品特异性核酸分解或产品特异性感染性丧失或细菌存活率最小化。需要将样本分成多份小份，开展不同试验，例如在样本被评定为产品特异性核酸呈阳性后开展的产品特异性感染性测定。

VIII. 用于测定脱落的分析法

用于测定脱落的分析法的设计目的是通过检测核酸或者通过检测感染性病毒颗粒或分裂的细菌是否存在来检测临床样本中的产品。基于设计和输出结果（测定示值读数的性质），脱落测定法的性能和适用性差别巨大。因此，脱落测定法的选择会极大地影响所采集数据的质量，这种选择在生成有意义的脱落数据时至关重要，即数据可提供一种产品的完整脱落谱，可用于估算向未经治疗个体传播的可能性。

我们建议申办方在选择测定脱落的分析方法时应考虑到下述方面：

- 应对用于测定脱落的至少一种测定法进行定量。我们建议申办方根据基因组拷贝数或感染单位报告 VBGT 或溶瘤产品脱落程度以便提供脱落的定量评价结果。通常会采用显示定量读数的测定法，例如定量聚合酶链式反应（qPCR），因为易于开展测定/实施标准化、工作通量较高、周转时间较快以及测定灵敏度极佳。
- 因为通过 qPCR 检测到核酸并非指示存在感染性病毒，所以对于具有复制功能的产品，应通过基于感染性或生长的测定法，对核酸检测进行追踪。具有复制功能的产品可以在人类中生长和增殖，如果脱落，具有感染性。由于仅感染性病毒或细菌才有可能传播，我们建议申办方遵循分步方法来分析具有复制功能的产品脱落。特别是，在连续时间点采集的临床样本中的产品特异性核酸 PCR 信号稳步上升暗示着体内细菌生长或病毒增殖。在这种情况下，应进一步分析临床样本在细胞培养物中的感染性（对于病毒）或生长（对于细菌）。

- 如果通过 qPCR 测定观察到有条件地复制的 VBGT 或溶瘤产品的脱落水平高于 LOD，我们建议申办方对脱落物质进行进一步表征以确认感染性或生长，因为此类产品可能以感染形式脱落，尽管复制基本上仅局限于肿瘤或特定组织类型。有条件地复制的产品的感染性评价，例如有条件地复制的腺病毒或营养缺陷型细菌，应考虑到产品特异性体外细胞培养或生长条件；例如，在营养缺陷型细菌分化培养基中生长，随后采用一种选择性方法进行产品鉴别。
- 有多种不同方法可用于评价感染性或生长，这些测定法均可得出定量读数（参考文献 3）。例如：
 - 检测感染性病毒：该法根据组织培养感染剂量 50 (TCID₅₀)、空斑形成单位 (PFU)、灶形成单位 (FFU)。
 - 检测分裂细菌：该法用于测定以菌落形成单位 (CFU) 计数的细菌生长。

申办方可以论证将具有复制功能或有条件地复制的产品之脱落分析限定为 qPCR 检测的合理性，如果：

- 确立 qPCR 与感染性测定或基于生长的测定间的相关性，在 qPCR 检测中观察到的信号低于等于基于感染性或生长的测定法的检测限；或
 - 已经证明感染性检测中的细胞培养步骤不适用于分析成分复杂的临床样本，例如排泄物，因为会对细胞存活率产生不良影响。
- 通过 qPCR 开展不具有复制功能或复制缺陷型产品脱落分析是充分的。大多数 VBGT 产品不具有复制功能或存在复制缺陷；腺相关病毒 (AAV) 载体、E1-删失的腺病毒 (Ad) 载体和一些疱疹病毒载体 (HSV)。不具有复制功能或复制缺陷型产品无法在人体内增殖，因此这些产品的脱落程度更低，其脱落形式无法建立感染。因此，qPCR 作为主要测定法用于评价不具有复制功能或复制缺陷型产品的脱落是充分的。

- 论证采用定性测定来评价脱落是合理的。如果一种定性脱落测定已经表明在检测某种特定产品时的灵敏度高于定量测定，则申办方应论证使用前者是合理的。然而，如果脱落通过定性测定检测出，应开展跟踪定量分析以理解被评定为阳性的样本中的脱落程度。
- 脱落检测法应证明为具有特异性、灵敏、可重现且准确。我们建议在脱落检测中对临床样本进行重复试验以确定重现性。应充分理解检测法的特异性以避免假阳性或假阴性结果，特别是数量有限的临床样本通常无法进行复检，例如鼻或皮肤拭子。如果采用定量测定，应根据 LOD 和定量限（LOQ），确定检测法的灵敏度。尽管机构并未希望对脱落检测法进行验证，但是检测法应符合最低性能标准，并且适用于指定用途。

应充分理解样本类型和组成对检测法性能的影响。诸如粪便和尿液之类的临床样本富含复杂有机物质，可能对检测法的性能产生不良影响，导致过低估计脱落。同样，诸如粪便、唾液和鼻拭子之类的样本不仅富含宿主蛋白质和核酸，还富含身体自然菌落以及源自环境的循环病毒和细菌株。因此，应对检测条件进行优化以便有选择地分析所研究的产品。应对检测中使用的试剂的特异性进行评价，同时应控制试剂质量。在脱落检测中，应将经认证的和无污染的试剂应用于分析临床样本。

临床样本基质形成的干扰会导致假阴性结果或过低估计脱落量。例如，诸如尿液、唾液和粪便之类的临床样本富含在 PCR 中会影响扩增过程的蛋白酶、核酸酶、离子和盐；特别是，唾液/粪便中的核酸酶会降解模板 DNA，粪便中的胆盐或尿液中的尿素会影响 PCR 混合物中热稳定 DNA 聚合酶的活性。当怀疑临床样本中的成分干扰会抑制 PCR 时，对临床样本进行有限地稀释以减少干扰成分。由于临床样本稀释也会导致模板稀释，应在每个检测批次中评价 PCR 检测的灵敏度。为达到该目的，每份稀释样本应与在稀释前掺入参比标准品或阳性内标物的样本平行进行试验。如果通过有限的样本稀释无法减少干扰，则应考虑替代或额外提取步骤以便将干扰性成分从临床样本中清除。

诸如粪便或唾液之类富含酶的临床样本在储存、处理/运输和核酸提取过程中发生病毒或细菌核酸分解也会导致过低估算脱落水平。考虑到这些影响，我们建议应一次性测定在采集后立即掺入参比标准品或内部阳性对照的模拟/供者样本类型以及参比标准品或内部阳性对照品的回收率。样本采集、储存、运输、提取和分析所采用的方法学与临床供试样本计划采用的方法学相同。

IX. 脱落数据的分析

为评价因脱落所致传播给未经治疗个体的可能性，VBGT 或溶瘤产品的脱落数据分析应阐明下述内容：

A. 脱落物质的性质

如果在脱落检测中产品的临床样本被评定为阳性，则这些产品的后续分析应回答下述问题：

1. 临床样本所含的产品特异性核酸（全基因组）是否暗示存在感染性病毒或细菌或临床样本在未见感染性病毒或细菌的情况下是否主要含有分解的产品特异性核酸（基因组）片段？

临床样本含有暗示存在感染性病毒的产品特异性核酸（全长/全基因组）的一个范例是产品特异性核酸在经核酸酶处理后仍然能够扩增（通过 PCR）。在这种情况下，可扩增的唯一基因组是具有传染性的完整耐核酸酶病毒颗粒所保护的全长/全基因组。当核酸酶处理无法进行时，通过长 PCR 扩增全长/全病毒基因组可能暗示存在感染性病毒颗粒。如果仅有较小产品特异性核酸片段可以扩增，则临床样本不大可能含有感染性病毒。

2. 病毒或细菌生长是否可归咎于在临床样本中检测到的脱落产物？

在理想情况下，脱落检测应可以区分感染性病毒和非感染性病毒，或分裂细菌和非分裂细菌。与脱落检测有关的详细信息以及我们的建议，我们建议您参考本指导原则的 VIII 章节。如果 qPCR 是您在具有复制功能的产品的脱落分析中可依靠的唯一检测法或脱落检测筛查的是产品的小基因组片段，那么我们将假设被评定为阳性的样本中的脱落物质具有感染性。

B. 脱落程度

在脱落数据的分析中，应报告研究所监测的所有患者每种样本类型的实测脱落程度，时间、剂量（产品给药量）和给药方案（给药次数）均是脱落程度的因数。脱落报告中的原始数据应配有全面地描述下述内容的相应分析：

1. 每种样本类型、剂量和所研究的方案下的脱落患者数占研究中总患者数的百分比。
2. 脱落持续时间，包括首个和最后一个脱落日以及每种样本类型脱落的峰时段。应明确鉴别研究中大多数患者终止脱落的时段。
3. 一致观察到脱落的临床样本（类型和时间点）以及研究中所有患者均一致呈阴性的样本。
4. 临床样本中脱落的产品数量。报告脱落量时应考虑到临床样本的最终体积/质量（例如每毫升尿液中含 10 PFU 病毒或每毫克尿液中含 10 CFU 细菌或每微克粪便中含 10 个基因组拷贝）。当评价脱落数量时，您应考虑到产品在临床样本中的稳定性，以及是否因样本储存、处理和运输过程中的损失而过低估计脱落水平（详细信息，请参见本指导原则的第 VIII. 章节）。

注意您的脱落数据分析应配备产品在针对特定适应症而接受治疗的患者的脱落规律总结。尽管在 VBGT 和溶瘤产品临床研发中通过多项试验针对不同适应症研究一种产品是通行的惯例，但是每个研究人群中的脱落规律均有所不同。我们反对将多项试验的脱落数据合并，因为同一种产品针对不同适应症进行研究，针对某种给定适应症的脱落研究所得结果不能泛化为其他适应症。

最后，我们建议按下一章节中描述的格式提交脱落数据。

X. 将哪些内容纳入临床脱落研究报告中

为阐明因 VBGT 或溶瘤产品从患者体内脱落而传播给未经治疗个体的可能性，应在 BLA 中提供一份完整的脱落报告。⁶应在报告中提供下述内容：

⁶ 如果需要指导原则，可在您的 IND 年度报告中提交期中数据和研究报告供 FDA 评审。

A. 产品在目标患者人群中的综合脱落谱包括下述内容：

1. 产品的背景信息：衍生史；亲代病毒或细菌株的生物学特征；亲代株型的传播途径；复制功能；衰减和产品的取向性。
2. 动物模型中的生物分布谱总结以及开展的临床前脱落研究得出的结果。
3. 临床脱落研究设计（即临床样本、采集频率和采集步骤的选择以及保存）的依据以及选取的用于评价脱落的分析方法。
4. 您的数据采集/抽样计划以及您的产品保存、运输和处理流程。
5. 检测法描述包括下述内容：
 - (a) 供试样本制备或核酸提取流程，包括稀释因子以及每份样本的提取核酸量。
 - (b) 如果您采用 qPCR 检测，请提供每项检测的样本体积、每次反应的核酸量、周期数、引物和扩增 DNA 的大小。
 - (c) 如果您采集基于感染性/生长的检测法，应提供允许的细胞系/生长培养基、吸收和感染或生长条件以及读数的性质（TCID₅₀、FFU、PFU 或 CFU；显示 qPCR 读数的检测法的周期阈值（Ct））。
 - (d) 检测法的鉴定、对照和灵敏度：鉴定研究、标准品、掺入物、对照品、拷贝数、检测法变异性和灵敏度（LOD 和 LOQ，如果适用）的描述。
6. 脱落数据的分析：
 - (a) 脱落数据的列表和/或图示。
 - (b) 数据分析以及研究结果总结。
7. 您估算的产品向未经治疗个体传播的可能性。

分析方法类型的讨论和条件，参见本指导原则的 VIII 章节，临床样本采集的讨论，参见 VII.B 章节，脱落数据分析，参见 IX 章节，评价因脱落所致而向未经治疗个体传播的可能性的详细信息，参见 XI 章节。

- B. 根据需要，在目标患者人群中向未经治疗个体传播的临床监测数据和分析（更多信息，参见本指导原则的第 XI.B. 章节）。
- C. VBGT 或溶瘤产品或其亲代/相关病毒或细菌株可能感染人类并诱发疾病的能力之其他相关信息。当可能在人类中诱发疾病时，应对下述方面进行讨论：
1. 由亲代株型引起的疾病症状谱，包括疾病的非典型症状或发生无症状的脱落；
 2. 与在社区中循环的亲代病毒或细菌株相比，产品衰减；
 3. 总人群的天然或获得性免疫可能保护人群不被脱落的产品所感染；
 4. 如果脱落的产品传播给未经治疗的个体，则用于治疗感染/疾病的治疗选择；以及
 5. 限制脱落产品传播至经治疗个体以外人员的预防/抑制传播措施可将第三方暴露程度降至最低，特别是免疫受损成年人、新生儿和老年人。注意：您所采集的脱落开始发生和持续时间数据可用于预测正确的预防/抑制传播措施。例如，当在医疗卫生机构对患者进行检测时，如果脱落峰出现在治疗后不久，则传播可能性主要局限于医疗卫生专业人士（HCP）以及与患者密切接触的个体。如果脱落时间延长或如果患者从医疗卫生机构出院后的数天内出现第二个脱落峰，则传播可能性扩大至医疗机构以外以及家庭中的接触者。

XI. 评价因脱落所致传播给未经治疗个体的可能性

我们目前的理解是在大多数情况下，当 VBGT 或溶瘤产品脱落后，向未经治疗个体传播的可能性极低，因为与病毒或细菌母株相比，衍生方法和/或改造经过设计可使产品衰减。然而，您应基于临床研究中采集的脱落数据的分析，考虑到下文中描述的因素，探讨传播的可能性。

A. 脱落数据中的哪些信息可用于评价向未经治疗个体传播的可能性？

- VBGT 或溶瘤产品是否脱落。
- 是否将脱落的产品判定为具有感染性。
- 临床样本中的感染性是否与推动第三方感染所需的感染性相似。例如当鼻内给药时，腺病毒感染剂量 >150 PFU（参考文献 4），当作为喷雾给药时，感染剂量可能更低（参考文献 5）。当病毒或细菌通过不同途径给药或获得时，不同株型的最低人类感染剂量有所差异，但是对于许多致病性病毒和细菌，在人类中的最低感染剂量并未定义。
- 含脱落产品的临床样本是否代表着自然传播途径。例如与脱落至鼻咽分泌物中相比，脱落至粪便中的呼吸道病毒不具有感染性和传播性。

B. 监测向未经治疗个体的传播

因为向未经治疗个体传播是极低概率的事件，所以在产品研发中通常不要求监测向此类个体的传播。然而，如果存在传播可能性，则需要附加数据来评价这种可能性；在这种情况下，我们建议申办方咨询 OCTGT 如何拟定监测计划。

XII. 参考文献

1. ICH Considerations: General principles to address virus and vector shedding, June 2009. Available at http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M6/Concept_Paper/Considerations_on_Viral_Vector_Shedding.pdf.
2. Simon, A. et al., Viral infections in paediatric patients receiving conventional cancer chemotherapy. Arch Dis Child. 93:880-889 (2008).
3. Schenk-Braat, E. et al., An inventory of shedding data from clinical gene therapy trials. J Gene Med. 9: 910-921 (2007).
4. Health Canada, 2001. Material data safety sheet – infectious substances. Available at <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/msds3e-eng.php>.
5. Couch, R.B. et al., The minimal infectious dose of adenovirus type 4; the case for natural transmission by viral aerosol. Trans Am Clin Climatol Assoc. 80: 205-211 (1969).