

**Производство лекарственных средств  
ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ  
ПЛАЗМЫ КРОВИ**

**Вытворчасць лекавых сродкаў  
ЛЕКАВЫЯ СРОДКІ НА ПАДСТАВЕ  
ПЛАЗМЫ КРЫВІ**

Издание официальное

Ключевые слова: плазма крови, донор, заготовка крови, вирусная инактивация, безопасность

## Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации».

1 РАЗРАБОТАН Республиканским унитарным предприятием «Научно-практический центр ЛОТИОС» (Государственным предприятием «НПЦ ЛОТИОС»).

ВНЕСЕН Департаментом фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ приказом Департамента фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь от «20» декабря 2014 г. № 84.

3 Настоящий технический кодекс установившейся практики разработан на основе руководства МА/СНМР/ВWP/706271/2010 «Guideline on plasma-derived medicinal products» («Руководство по лекарственным средствам на основе плазмы крови»).

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий технический кодекс установившейся практики не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Департамента фармацевтической промышленности

Издан на русском языке

**ТЕХНИЧЕСКИЙ КОДЕКС УСТАНОВИВШЕЙСЯ ПРАКТИКИ**

Производство лекарственных средств

**ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ПЛАЗМЫ КРОВИ**Вытворчасць лекавых сродкаў  
**ЛЕКАВЫЯ СРОДКІ НА ПАДСТАВЕ ПЛАЗМЫ КРЫВІ**Manufacture of pharmaceutical products  
Plasma-derived medicinal products

Дата введения 2015-04-01

**1 Область применения**

Настоящий технический кодекс установившейся практики (далее – технический кодекс) устанавливает специальные требования к производству, обеспечению качества и безопасности лекарственных средств (ЛС), получаемых из плазмы крови человека, фракционированной в Республике Беларусь или ввозимой извне. Эти требования также применимы к ЛС из стабильных фракций плазмы крови (например, к альбумину).

Технический кодекс следует использовать совместно с правилами Надлежащей производственной практики для ЛС, получаемых из донорской крови или плазмы (ТКП 030, приложение 14).

Требования настоящего технического кодекса распространяются на юридических лиц, имеющих специальное разрешение (лицензию) на фармацевтическую деятельность в части работ и услуг по промышленному производству ЛС из плазмы крови человека, а также на учреждения по забору крови.

**2 Нормативные ссылки**

В настоящем техническом кодексе использованы ссылки на следующие технические нормативные правовые акты в области технического нормирования и стандартизации (далее – ТНПА):

ТКП 030-2013 (02040) Надлежащая производственная практика (GMP).

ТКП 432-2012 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний.

ТКП 513-2013 (02041) Производство лекарственных средств. Исследования сопоставимости биологических лекарственных средств после изменений в процессе их производства.

ТКП 515-2013 (02041) Производство лекарственных средств. Вирусная безопасность лекарственных средств, полученных биотехнологическим способом с использованием клеток человеческого и животного происхождения.

ТКП 520-2013 (02041) Производство лекарственных средств. Контроль и критерии приемлемости для лекарственных средств и субстанций, полученных биотехнологическими способами.

ТКП 521-2013 (02041) Производство лекарственных средств. Испытания стабильности лекарственных средств и субстанций, получаемых биотехнологическими способами.

ТКП 557-2014 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация исследований инактивации и удаления вирусов.

Примечание - При пользовании настоящим техническим кодексом целесообразно проверить действие ТНПА по каталогу, составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году.

Если ссылочные ТНПА заменены (изменены), то при пользовании настоящим техническим кодексом, следует руководствоваться замененными (измененными) ТНПА. Если ссылочные ТНПА отменены без замены, то положение, в котором дана ссылка на них, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

**3 Термины и определения**

В настоящем техническом кодексе применяют термины, установленные в Государственной фармакопее Республики Беларусь (ГФ РБ), ТКП 030, Законе Республики Беларусь № 197-З от 30 ноября 2010 года «О донорстве крови и ее компонентов», а также следующие термины с соответствующими определениями:

**3.1 вирусная инактивация** (virus inactivation): Процесс повышения вирусной безопасности, при котором вирус намеренно уничтожается (инактивируется);

**3.2 плазма сольвент-детергентная** (SD-plasma): Плазма, прошедшая вирусную инактивацию с помощью сольвент-детергентного метода;

**3.3 продукты плазмы** (plasma products): Вещества белковой природы, получаемые фракционированием донорской плазмы;

**3.4 существенная побочная реакция** (serious adverse reaction): Непредсказуемый ответ донора или пациента на процедуру забора крови или трансфузию крови и/или препаратов из нее, приводящий к необходимости неотложной госпитализации, развитию состояния, угрожающего жизни, инвалидности, смертельному исходу;

**3.5 существенное побочное происшествие (serious adverse event):** Любое неблагоприятное явление, ассоциированное с процедурами забора, тестирования, переработки, хранения, транспортировки крови и/или ЛС из нее, которое может привести к необходимости неотложной госпитализации, развитию состояния, угрожающего жизни, инвалидности, смертельному исходу;

**3.6 технология амплификации нуклеиновых кислот (nucleic acid testing, ПЦР/NAT):** Способ обнаружения вирусного генома с помощью методов амплификации, например, полимеразной цепной реакции;

**3.7. уполномоченное лицо (qualified Person):** Сотрудник организации-производителя, принимающий окончательное решение о выпуске серии ЛС.

Примечание – Уполномоченное лицо указывают в специальном разрешении (лицензии) на фармацевтическую деятельность в части работ и услуг по промышленному производству и оптовой реализации ЛС собственного производства в качестве специалиста, ответственного за качество производимых ЛС.

**3.8 фракционер (fractionator):** Организация-производитель, которая осуществляет фракционирование плазмы крови с целью выделения содержащихся в ней белков и последующего производства ЛС на их основе.

#### 4 Обозначения и сокращения

В настоящем техническом кодексе применяют следующие обозначения и сокращения:

**БКЯ:** Болезнь Крейцфельда-Якоба.

**ВИЧ:** Вирус иммунодефицита человека.

**ГФ РБ:** Государственная фармакопея Республики Беларусь.

**ЛС:** Лекарственное средство.

**ПАВ:** Поверхностно-активное вещество.

**ТГЭ:** Трансмиссивная губчатая энцефалопатия.

**CTD (common technical document):** Общий технический документ.

**HBsAg:** Поверхностный антиген вируса гепатита В.

**HAV RNA:** Рибонуклеиновая кислота вируса гепатита А.

**HCV RNA:** Рибонуклеиновая кислота вируса гепатита С.

**GMP:** Надлежащая производственная практика.

**NAT (nucleic acid testing):** амплификационное тестирование нуклеиновых кислот.

**in vivo:** Технология выполнения экспериментов на живом организме.

**in vitro:** Технология выполнения экспериментов вне живого организма.

#### 5 Заготовка донорской крови

##### 5.1 Общие положения

**5.1.1** Исходным материалом для производства ЛС рассматриваемого класса является плазма для фракционирования, соответствующая требованиям статьи ГФ РБ «Плазма человеческая для фракционирования» [1].

Рекомендуется представление информации по происхождению, качеству и безопасности исходного материала в соответствии с требованиями, изложенными в [2], в виде Досье на плазму (Plasma Master File). Также возможно оформление соответствующих данных в формате Общего технического документа (Common Technical Document, CTD) в модуле 3, раздел 3.2.S. [3], [4].

**5.1.2** Надлежащая практика заготовки донорской крови является одним из ключевых моментов обеспечения качества и безопасности ЛС, получаемых из плазмы.

**5.1.3** К основным факторам, существенно влияющим на качество и безопасность ЛС, получаемых из плазмы крови человека, относят:

- возможность передачи гемотрансмиссивных инфекций: гепатиты, ВИЧ 1 и 2, парвовирусы В19 и др.;
- наличие специфических характеристик (например, целостность структуры веществ белковой природы, определенная биологическая активность факторов свертывания крови и/или иммуноглобулинов и др.), находящихся в зависимости от условий переработки плазмы крови, особенностей технологии получения ЛС, транспортировки, хранения [2], изменение которых может приводить к возникновению у ЛС иммуногенных и тромбогенных свойств.

**5.1.4** Следует учитывать, что невозможно полностью гарантировать отсутствие вирусной контаминации ЛС, получаемых из плазмы, даже при надлежащем проведении всех профилактических мероприятий. Это обусловлено специфической природой донорской крови, заготавливаемой от разнородной популяции доноров, в связи с чем ей невозможно дать однозначную вирусологическую характеристику, как другим источникам биологического материала, таким как, например, клеточные банки.

##### 5.2 Отбор доноров и процедуры тестирования

**5.2.1** Критерии включения/исключения доноров крови/плазмы определяются национальными законами и стандартами, которые следует применять и при оценке безопасности плазмы крови, импортируемой из других стран.

**5.2.2** Плазма, используемая для фракционирования, должна быть получена от тщательно отобранных здоровых доноров на основании изучения карты-анкеты, медицинского осмотра и лабораторных исследований, что способствует минимизации риска передачи вирусных инфекционных агентов через ЛС, получаемые из плазмы крови [5], [6].

**5.2.3** Основные требования к помещениям, в которых осуществляется заготовка крови/плазмы, контейнерам для сбора и хранения плазмы (материалы, маркировка и т.д.), используемым антикоагулянтным растворам, характеристикам оборудования для фракционирования, условиям переработки и хранения крови/плазмы, к контролю бактериальной контаминации промежуточных продуктов и готовых ЛС из плазмы, антикомплементарным и пирогенным свойствам отдельных ЛС из плазмы, изложены в приложении 14 к ТКП 030, а также в [5], [7], [8].

**5.2.4** Каждый образец плазмы (пул плазмы) подлежит тестированию с использованием валидированных методов в соответствии со статьей ГФ РБ «Плазма человеческая для фракционирования» [1]. Дополнительные испытания проводятся для вирусинактивированной пулированной плазмы, а также плазмы, используемой для получения специфических продуктов, например, анти-D-иммуноглобулинов. В данном случае осуществляется проверка на HBsAg, HCV RNA, антитела к ВИЧ, наличие ДНК парвовируса B19, HAV RNA (для вирусинактивированных пулов плазмы).

**5.2.5** Если для производства ЛС на основе анти-D-иммуноглобулинов используются обычные иммуноглобулины для внутримышечного/внутривенного введения, то пулы плазмы, из которых они получены, должны соответствовать фармакопейным требованиям.

**5.2.6** Парвовирусы B19 могут передаваться через ЛС, получаемые на основе таких продуктов плазмы, как факторы свертывания крови, фибриновый клей и ряд других. У пациентов с нормально функционирующей иммунной системой, без сопутствующих заболеваний, инфекция обычно протекает бессимптомно или в легкой форме. Однако у пациентов с ослабленным иммунитетом, нарушениями эритропоэза или скрытой формой анемии может наблюдаться внезапный апластический криз. У инфицированного плода возможно развитие тяжелой формы анемии и неиммунной водянки. Инфицирование данным видом вирусов встречается довольно часто, что может привести к высоким уровням контаминации пулов плазмы – более чем  $10^8$  МЕ ДНК парвовирусов B19 на 1 мл. Минимизации риска передачи способствует разработка специальных процедур вирусной инактивации (см. раздел 8).

**5.2.7** Для повышения надежности тестирования безопасности донорской крови необходимо проведение скрининга с использованием технологии амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР/NAT). Фракционатору также необходимо представить данные, подтверждающие, что вся плазма, используемая для получения специфических продуктов, подвергается ПЦР/NAT тестированию на вирус B19.

**5.2.8** Для обеспечения вирусной безопасности плазмы для фракционирования настоятельно рекомендуется установить непрерывный эпидемиологический надзор за донорской популяцией. Целью данного надзора является получение как можно более точных данных о распространенности и частоте выявления инфекционных маркеров, а также выработка решений для своевременного принятия соответствующих мер [5]. Данная информация, кроме того, может быть использована для:

- обнаружения различий между популяциями доноров различных учреждений по забору крови, которые связаны с объективными различиями в вирусных маркерах в пределах популяций доноров или отражают отличия в критериях отбора доноров;
- выявления разновидностей инфекционных маркеров, которые могут быть обусловлены неоднородностью популяции доноров, а также используемыми методами контроля;
- оценки эффективности любых профилактических мер, предпринимаемых для предотвращения вирусной контаминации крови/плазмы.

### **5.3 Прослеживаемость**

**5.3.1** Необходимо создание системы, позволяющей осуществлять всесторонний контроль цепочки «донор–учреждение по забору крови–организация-производитель ЛС». Общие подходы к разработке и функционированию такой системы изложены, в частности, в приложении 14 к ТКП 030.

**5.3.2** Настоятельно рекомендуется, чтобы при каждом назначении ЛС осуществлялось документирование его названия и номера серии, что необходимо для организации надлежащего контроля в соответствии с [9].

**5.3.3** Все записи, связанные с обеспечением прослеживаемости по цепочке «донор–учреждение по забору крови–организация-производитель ЛС», должны сохраняться не менее 30 лет после донации, если иное не установлено законодательством (см. приложение 14 к ТКП 030).

### **5.4 Постдонационные мероприятия и ретроспективные (look back) процедуры**

**5.4.1** Необходимо проведение постдонационных мероприятий, в том числе, информирование о существенных побочных реакциях и происшествиях. Общие подходы к организации таких мероприятий изложены, в частности, в приложении 14 к ТКП 030 и [5].

**5.4.2** Процедура обмена информацией между учреждением по забору крови (в случае использования Досье на плазму – его держателем), и фракционатором/организацией-производителем ЛС из плазмы должна быть описана в соответствующей стандартной операционной процедуре (СОП). Если надежность учреждения по забору крови или качество и/или безопасность плазмы вызывают сомнение, организации-производителю ЛС/держателю Досье на плазму следует незамедлительно информировать об этом национальные регуляторные органы.



щих примесей, таких, как неоантигены, или изменить биологическую активность активного вещества, например, путем активации факторов свертывания крови, ведущей к повышенной тромбогенности. Подобные явления особенно характерны для этапов, используемых с целью инактивации или удаления вирусов. Следует проводить специальные исследования с использованием современных методов, подтверждающие, что требуемые характеристики ЛС не изменяются, а также что агрегированные, или другие модифицированные формы контролируются должным образом.

## 6.2 Пулы плазмы

**6.1.1** Производство ЛС из плазмы крови начинается с получения определенных пулов. Образцы каждого пула плазмы следует хранить не менее одного года после истечения срока годности готового ЛС с наибольшей продолжительностью. Описание всех процедур по приготовлению пулов плазмы и манипуляций с ними осуществляется в соответствии с требованиями, изложенными в [2], приводится в разделе 3.2.S регистрационного досье в формате CTD или в виде ссылки на Досье на плазму.

**6.1.2** В регистрационном досье на получаемое ЛС должны быть приведены все спецификации на использованные пулы плазмы. По возможности, должны приводиться результаты испытаний, подтверждающих их соответствие фармакопейным требованиям.

## 6.3 Промежуточные фракции плазмы

**6.3.1** Промежуточная фракция плазмы (промежуточный продукт) представляет собой частично фракционированный исходный материал, который далее используется на определенных стадиях производственного процесса. Примером являются фракции, извлеченные в ходе процесса производства факторов свертывания крови (например, нерастворимый белковый преципитат) или иммуноглобулинов или альбумина (например, фракции II, III, IV, V). Промежуточные продукты могут быть изготовлены и храниться у организации-производителя готового ЛС, либо поставляться из других источников (от контрактных производителей).

**6.3.2** Надлежащая организация заготовки плазмы для производства промежуточных продуктов является важным фактором обеспечения их качества. Информация об используемых пулах плазмы должна быть представлена в составе Досье на плазму в соответствии с требованиями, изложенными в [2], или в разделе 3.2.S регистрационного досье в формате CTD, и доведена до организации-производителя готового ЛС. Рекомендуется заключение контракта между поставщиком промежуточного продукта и организацией-производителем готового ЛС. В нем должны быть указаны сведения о производственном процессе, процедурах обеспечения прослеживаемости, приведены спецификации на плазму и промежуточные продукты, а также информация об условиях хранения и транспортировки промежуточных продуктов.

Заявитель/держатель регистрационного удостоверения на ЛС несет полную ответственность за его качество и безопасность и, следовательно, заинтересован в наличии всей документации, указанной выше, а также заключении контракта с организацией-производителем промежуточного продукта/готового ЛС, если это разные организации.

**6.3.3** Допускается применение технологического процесса получения промежуточной фракции плазмы, отличающегося от общеизвестных способов. Возможность дальнейшего использования промежуточного продукта, произведенного при помощи альтернативного процесса, должна быть подтверждена производителем готового ЛС в ходе валидационных исследований.

**6.3.4** Необходимо указывать отличительные особенности альтернативного процесса (например, введение дополнительного этапа очистки/экстракции, изменение условий, профиля примесей, используемых материалов и оборудования и т.д.), а также подтверждать их пригодность для каждого производственного участка. Следует доказать, что использование альтернативного процесса не влияет на качество и безопасность, в том числе вирусную, готового ЛС. Также необходимо подтвердить сопоставимость характеристик получаемых ЛС с учетом принципов, указанных в ТКП 513.

**6.3.5** Срок хранения промежуточных продуктов должен быть установлен на основании данных по изучению их стабильности. При выпуске в реализацию готового ЛС, произведенного из промежуточного продукта, производителю ЛС необходимо убедиться, что он продолжает соответствовать всем требованиям в отношении риска передачи вирусных и инфекционных агентов. Промежуточные продукты, произведенные из плазмы или цельной крови, протестированных по методологии вирусных маркеров

## 6.4 Производственный процесс

Технологические подходы, применяемые при производстве ЛС из плазмы крови человека, имеют большое значение для обеспечения их качества, безопасности и эффективности. Они могут варьировать в зависимости от конкретного продукта и организации-производителя, но, как правило, представляют собой последовательные операции осаждения/очистки, которые, в ряде случаев, могут вносить определенный вклад в удаление/инактивацию вирусов. Тем не менее для всех ЛС, получаемых из плазмы крови человека, необходимо также использовать специальные процедуры вирусной инактивации

Свойства ЛС, получаемых из плазмы крови, в значительной степени зависят от характеристик используемого производственного процесса. По этой причине, применение альтернативных технологических схем, как правило, не допускается.

Надлежащая организация заготовки донорской крови, включая ее тщательное тестирование, является важной, но недостаточной мерой обеспечения безопасности ЛС, получаемых из плазмы. Существенное значение имеют параметры производственного процесса, в первую очередь наличие и эффективность про-

цедур инактивации/удаления вирусов. Для адекватной оценки необходимо использовать всю имеющуюся информацию по достигаемому снижению титра вирусов, скорости их удаления, форме кривой вирусной инактивации, надежности при вариабельности производственного процесса и т.д. Пригодность различных веществ (реагентов) и процедур, используемых для вирусной инактивации, а также условия ее проведения, параметры и допустимые пределы контаминации должны быть обоснованы на основании надлежащим образом разработанных и проведенных валидационных исследований.

#### 6.4.1 Процедуры фракционирования/очистки

##### 6.4.1.1 Методы осаждения

###### Физические методы

Криопреципитация наиболее широко используется в качестве начального этапа при производстве концентратов фактора VIII свертывания крови. В дальнейшем для получения готового ЛС применяются процедуры очистки, включающие осаждение и абсорбцию других факторов свертывания крови, также используется хроматографическое разделение. Плазма после криопреципитации идет на получение других факторов свертывания крови посредством процедур абсорбции/элюирования или хроматографических методов. Образующийся осадок также может быть переработан для получения иммуноглобулинов и альбумина.

###### Физико-химические методы

Наиболее часто используемой процедурой является фракционирование этанолом по методу Кона при производстве альбумина и иммуноглобулинов. Метод включает несколько стадий, на каждой из которых применяются специфические условия, оказывающие существенное влияние на качество получаемого продукта. Некоторые из этих стадий могут внести заметный вклад в эффективное снижение содержания потенциальных вирусных контаминантов (см. также 8.1.2). Необходимо наличие четких инструкций по концентрации этанола, используемой на каждой стадии, и содержанию белка, по значениям температуры, pH, ионной силы, времени обработки, а также допустимым отклонениям и методам контроля.

Аналогичные инструкции необходимо иметь в наличии и для методик, использующих для осаждения другие химические реагенты, такие как этилакридин-лактат, каприловую (октановую) кислоту, метанол, аммония сульфат, полиэтиленгликоль, катионные ПАВ, которые применяются для получения ряда ЛС из плазмы крови человека, как правило, в комбинации с другими процедурами. Некоторые из этих веществ могут вносить определенный вклад в обеспечение вирусной безопасности (например, каприловая (октановая) кислота).

##### 6.4.1.2 Хроматографические методы

При производстве и освобождении от примесей ЛС, получаемых из плазмы крови, используются разнообразные хроматографические методы. Следует учитывать, что их селективность и производительность зависят главным образом от качества сорбентов колонок, а также от таких факторов, как емкость колонки, природа и концентрация протеинов в получаемом ЛС, ионная сила и pH буферных растворов, скорость потока, продолжительность выделения, температура и т.д. Выбор соответствующей методики должен быть основан на всестороннем анализе результатов, полученных в ходе разработки производственного процесса. Следует документировать все данные, полученные в контрольных точках, и проводить обоснование спецификаций и критериев приемлемости в соответствии с ТКП 520.

Также необходимо указывать условия хранения колонок, способы использования и удаления консервантов, методы дезинфекции и регенерации. Кроме этого, следует подробно описывать параметры используемых процедур отстаивания (осветления), стерилизации, диа- и ультрафильтрации.

##### 6.4.1.3 Дополнительные требования

На разных стадиях производства ЛС на основе факторов свертывания крови с целью минимизации их активирования могут быть использованы такие антикоагулянты, как антитромбин и гепарин. Следует предоставлять подробную информацию об используемом антикоагулянте, включая данные об его остаточных количествах в готовом ЛС.

Необходимо предоставление сведений о характеристиках, степени освобождения от примесей и условиях использования вспомогательных веществ, применяемых для удаления примесей (например, пигментов, липопротеинов и т.д.), таких как активированный уголь, бентонит, коллоидный силикагель и др.

#### 6.4.2 Процедуры инактивации/удаления вирусов

Процедуры инактивации/удаления вирусов в обязательном порядке включают в производственный процесс получения ЛС из плазмы крови человека. Условия проведения производственного процесса и внутрипроизводственного контроля с учетом стадий инактивации/удаления вирусов подробно описывают и обосновывают. Необходимо проведение валидации каждой стадии, с обязательным учетом «наихудших случаев». Следует подтверждать неизменность целевых свойств ЛС, получаемых из плазмы крови, после проведения процедур удаления вирусов (см. раздел 8).

Очень важно, чтобы материал, прошедший стадию инактивации/удаления вирусов, был отделен от необработанного материала для предотвращения перекрестной контаминации в соответствии с требованиями ТКП 030, приложение 14.

№ 20231113114815\_266308\_34800\_34800 Рабочий экземпляр Производственное республиканское унитарное предприятие "Минскинтеркап"



### 6.4.3 Валидация производственного процесса

**6.4.3.1** Организацией-производителем ЛС проводится валидация каждого технологического процесса, используемого в производстве ЛС из плазмы крови и, если не обосновано иное, для каждого производственного участка. Кроме того, если валидационные исследования включают моделирование процесса в уменьшенном масштабе, применимость подобного подхода для оценки полномасштабного производства следует обосновать в соответствии с требованиями, изложенными в [11].

**6.4.3.2** В ходе разработки производственного процесса необходимо определить критические параметры, подлежащие обязательному контролю. Это особенно важно для валидации новых технологических процессов производства ЛС из плазмы крови, традиционно получаемых фракционированием этанолом. Следует документально подтверждать эффективность конкретного процесса для получения ЛС со стабильным количественным выходом. Для этого используются фактические данные, свидетельствующие о полном соответствии серий ЛС нормативным требованиям по качеству, биологической активности, безопасности, полученные современными аналитическими методами.

**6.4.3.3** Особое внимание следует уделять доказательству удаления (снижения уровня) примесей, связанных с процессом и/или конкретным продуктом, например, химических веществ, используемых или образующихся в ходе процедур фракционирования/очистки, компонентов крови (плазмы), таких как антигены группы крови или активированные факторы свертывания крови. Для подтверждения эффективности процесса очистки может понадобиться проведение специальных исследований с преднамеренным внесением определенных потенциальных контаминантов

**6.4.3.4** Исследованиями, проводимыми в ходе разработки производственного процесса, необходимо обосновать условия производства и допустимые пределы значений критических параметров, включая условия «наихудших случаев», а также задокументировать их пригодность для достижения ожидаемой производительности технологического процесса.

**6.4.3.5** При использовании в производственном процессе хроматографических колонок необходимо тщательно исследовать условия, приводящие к их возможной перегрузке, а также к вымыванию компонентов из гелей, особенно в случае использования аффинной хроматографии с потенциально опасными лигандами. Следует обращать внимание на процедуры очистки и регенерации колонок, особенно в отношении эффективности удаления пирогенных веществ и вирусов. Необходимо разработать критерии использования и переработки хроматографических смол, а также определения срока их службы. Данное положение также применимо к фильтрам, в случае их повторного использования. Гели для хроматографии и фильтры желательнее использовать однократно (для приготовления одной серии ЛС из плазмы).

**6.4.3.6** Разработка спецификаций на выпуск ЛС, получаемых из плазмы крови, осуществляется в соответствии с требованиями, изложенными в ТКП 520. Необходимо представить данные, подтверждающие, что в условиях полномасштабного производства стабильно получается ЛС, полностью соответствующее установленным спецификациям.

В случаях, когда при процессинге допускается использование различного начального количества плазмы, следует показать, что независимо от этого стабильно получается ЛС, соответствующее разработанным спецификациям. Если производитель ЛС решает использовать промежуточные продукты, полученные на различных производственных участках, следует продемонстрировать неизменное качество получаемого готового ЛС. В случае параллельного использования различных производственных участков в рамках одного производственного процесса следует предоставить подробные данные по их валидации.

**6.4.3.7** В ряде случаев допускается повторное использование продуктов плазмы в производственном процессе. При этом критерии допустимости данного явления следует тщательно обосновывать и подробно описывать. Следует подтвердить на основании данных по валидации, что повторный процессинг не оказывает негативного влияния на качество и безопасность получаемого ЛС.

## 7 Контроль качества

### 7.1 Внутрипроизводственный контроль

**7.1.1** Подробному описанию подлежат все процедуры, используемые при производстве ЛС из плазмы крови, а также мониторинге функционирования оборудования, с обязательным указанием стадий, на которых проводятся контрольные испытания, включая информацию о способах отбора проб и условиях их хранения, а также применяемых методиках испытаний.

**7.1.2** Процедура получения пулов плазмы должна подвергаться тщательному всестороннему контролю во избежание возможной контаминации и внесения посторонних материалов.

**7.1.3** Следует подробно документировать результаты мониторинга всех критических параметров производственного процесса, таких как pH, температура, концентрация этанола, протеинов, биологическая активность и т.д., а также данные тестов на микробиологическую чистоту и содержание эндотоксинов. Идентификация критических параметров производственного процесса и обоснование диапазона приемлемых значений осуществляются в соответствии с ТКП 520.

## 7.2 Контроль качества готовых ЛС из плазмы крови

7.2.1 Система контроля качества должна охватывать все стадии производства ЛС, получаемых из плазмы крови, и гарантировать, что все ключевые процессы, такие как подбор доноров, заготовка крови, получение плазмы, ее хранение, лабораторные испытания, транспортировка и др. описаны в соответствующих инструкциях и стандартных операционных процедурах и осуществляются в полном соответствии с требованиями GMP.

7.2.2 ЛС, получаемые из плазмы крови, должны соответствовать требованиям частных статей ГФ РБ (при наличии), а также других нормативных документов по контролю качества, утвержденных в установленном порядке.

7.2.3 Следует проводить испытания на остаточное содержание вспомогательных веществ, используемых для создания лекарственной формы и/или реагентов, применяемых в ходе производственного процесса, например, органических растворителей, ПАВ. Необходимо обосновать допустимые пределы значений данного показателя в соответствии с требованиями, изложенными в ТКП 520.

7.2.4 Серии ЛС, которые используются в качестве внутренних стандартных образцов, необходимо подробно охарактеризовать. Следует указать отличия процесса их производства от используемого при выпуске промышленных серий, а также разработать процедуры использования при проведении контроля качества.

7.2.5 Вариабельность характеристик донорской крови и гетерогенность свойств ЛС, получаемых из плазмы, необходимо учитывать при проведении валидации аналитических методов, используемых для контроля качества исходного сырья, активных субстанций и готовых ЛС, а также при осуществлении внутрипроизводственного контроля. Валидацию следует проводить в соответствии с ТКП 432.

Необходимо подтверждать пригодность методов, указанных в частных фармакопейных статьях, с учетом специфических для конкретного ЛС свойств, таких как, например, влияние матрицы. Методы, описанные в ГФ РБ в общих чертах (например, иммунохимические методы 2.7.1), также подлежат валидации. Если используются аналитические методики, отличающиеся от тех, что указаны в ГФ РБ, их пригодность необходимо подтвердить на основе результатов анализа нескольких серий ЛС.

Для лекарственных средств, получаемых из плазмы крови (например, альбумин, иммуноглобулины, фактор VIII свертывания крови) и предназначенных для внутривенного введения, для контроля качества по показателю «пирогенность» рекомендуется использовать методы, приведенные в ГФ РБ, а также альтернативные тесту на кроликах [12].

## 7.3 Испытания стабильности

Исследования стабильности ЛС, получаемых из плазмы крови, следует проводить с учетом требований, изложенных в ТКП 521.

## 8 Случайные (adventitious) агенты

### 8.1 План производственного процесса

Общие подходы, в соответствии с которыми осуществляется включение в производственный процесс получения ЛС из плазмы крови человека стадий по инактивации/удалению вирусов, описаны в ТКП 557-2014 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация исследований инактивации и удаления вирусов.

В данном разделе содержатся дополнительные рекомендации, которые необходимо учитывать при разработке/модификации стадий вирусной инактивации.

#### 8.1.1 Внедрение в производственный процесс эффективных стадий по инактивации/удалению вирусов

8.1.1.1 При производстве ЛС, получаемых из плазмы крови, обязательным является внедрение эффективных стадий по инактивации/удалению вирусов различной природы (определение понятия «эффективная стадия» приведено в ТКП 557-2014 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация исследований инактивации и удаления вирусов.

Желательно, чтобы производитель разрабатывал и внедрял взаимодополняющие стадии, способные эффективно удалять/инактивировать широкий спектр вирусов. Это способствует повышению безопасности получаемых ЛС.

Как правило, применяют не менее двух различных эффективных этапов, которые дополняют друг друга таким образом, что любой вирус, сохранившийся на первой стадии, мог бы быть эффективно инактивирован/удален на второй; при этом не менее чем одна стадия должна быть эффективна против вирусов без оболочки.

Инактивация/удаление всех известных вирусов без оболочки с использованием единственного этапа является практически неразрешимой задачей. Некоторые вирусы данного типа (например, парвовирусы животных) устойчивы к воздействию высоких температур, а небольшие по размеру вирусы (например, цирковирусы) могут проникать даже через специально разработанные фильтры.

Когда в производственном процессе присутствует одна эффективная стадия, способствующая надежному удалению/инактивации большинства вирусов (с оболочкой и без) различной природы, и совместно с

ней используются дополнительные процедуры вирусной инактивации, разработка и внедрение второй эффективной стадии не является обязательной.

**8.1.1.2** Условно вирусы можно разделить на две группы: восприимчивые к широкому спектру процедур по инаktivации/удалению и устойчивые. Потенциально в донорской плазме крови могут присутствовать и вирусы, устойчивые ко всем известным в настоящее время методам инаktivации/удаления.

**8.1.1.3** Организации-производителю необходимо приложить максимальные усилия для разработки методов по инаktivации/удалению вирусов, и данный процесс должен осуществляться непрерывно. Опыт показывает, что донорская кровь может содержать вирусы, которые невозможно определить существующими методами, постоянно выявляются новые инфекционные агенты. Общеизвестно, что даже самые тщательные меры предосторожности не могут гарантировать полного исключения передачи новых или неизвестных вирусов с ЛС, получаемыми из плазмы крови.

### **8.1.2 Вклад процессов разделения в удаление вирусов**

**8.1.2.1** Процессы разделения, используемые для фракционирования или очистки (например, хроматография) могут внести определенный вклад в удаление вирусов. При этом следует учитывать, что клинически подтверждены случаи вирусной передачи с факторами свертывания крови и внутривенными иммуноглобулинами, при получении которых были использованы только процессы разделения.

Кроме того, данные процессы включают большое количество переменных величин, которые сложно контролировать или смоделировать в меньшем масштабе для целей валидационных исследований. Существенные изменения физико-химических свойств вирусов могут оказать значительное влияние на эффективность разделения, что обуславливает сложность экстраполяции результатов, полученных при валидации, на полномасштабное производство. На эффективность разделения также может влиять присутствие/отсутствие антител. Все вышеизложенное ставит под сомнение эффективность процессов разделения в отношении вирусной инаktivации.

**8.1.2.2** Только в том случае, когда доказано, что процесс разделения позволяет надежно уменьшить вирусную нагрузку, и параметры производственного процесса, влияющие на разделение, могут быть однозначно определены и тщательно контролируются, а необходимая для получения ЛС фракция плазмы может быть отделена от предположительно вирус-содержащей фракции, он может соответствовать критериям эффективной стадии. Следует принимать во внимание все предварительные результаты, полученные при проведении валидационных исследований.

**8.1.2.3** Также следует уделить особое внимание проведению валидации и оценке клинической безопасности полученного ЛС, если предлагаемый производственный процесс отличается от стандартного.

### **8.1.3 Влияние стадий инаktivации/удаления вирусов на свойства ЛС**

Необходимо приводить доказательства того, что применяемые процедуры инаktivации/удаления вирусов будут вносить существенный вклад в обеспечение общей безопасности ЛС, а также оценивать любое взаимное влияние всех стадий производственного процесса. При этом следует уделять внимание обеспечению постоянства структуры белков, выделяемых из плазмы, сохранности клинической эффективности ЛС, и иметь ввиду потенциальную возможность образования неоантигенов, повышения тромбогенности активированных факторов свертывания крови, наличия остатков токсичных химических веществ, используемых в производственном процессе.

## **8.2 Процедуры инаktivации/удаления вирусов**

### **8.2.1 Осаждение этанолом**

Фракционирование этанолом может внести определенный вклад в обеспечение вирусной безопасности альбумина и иммуноглобулинов скорее за счет удаления вирусных агентов, нежели их инаktivации. Дезинфицирующий эффект этанола в сочетании с низкими значениями pH проявляется преимущественно при комнатной температуре, в то время как фракционирование плазмы во избежание денатурации протеинов проводят при более низкой температуре. В случае возможности дифференциального разделения компонентов плазмы крови и вирусов на стадии осаждения, удаление последних происходит с отбрасываемой фракцией. Продукты плазмы могут быть отделены при помощи центрифугирования или фильтрации. Используют вспомогательные устройства, предотвращающие засорения фильтров, что может повысить эффективность удаления вирусов в процессе разделения.

### **8.2.2 Нагревание в водном растворе**

Нагревание в водном растворе при температуре 60°C в течение 10 ч в конечной упаковке представляет собой фармакопейный метод для инаktivации вирусов при получении альбумина. Данный метод используется и для обеспечения безопасности ряда других ЛС, получаемых из плазмы крови. Он эффективен против вирусов с оболочкой и некоторых безоболочечных вирусов.

Эффективность метода зависит от состава раствора, температуры и времени инкубации. Могут потребоваться специальные меры для защиты протеинов и минимизации образования неоантигенов, однако используемые вещества (стабилизаторы) также защищают вирусы от инаktivации, следовательно, их необходимо выбирать самым тщательным образом.

### **8.2.3 Нагревание лиофилизированных продуктов плазмы**

В данном случае эффективность инаktivации вирусов может варьироваться в зависимости от характеристик лиофилизата и условий нагревания (температура, продолжительность процедуры и др.). На основа-

ний результатов валидационных исследований, а также доступных данных по стабильности свойств протеинов и возможности образования агрегатов, следует установить верхний и нижний пределы содержания остаточной влаги в лиофилизате. Значения данного критического показателя определяют для каждого флакона неразрушающими методами (например, ИК-спектроскопией в ближней области). Мониторингу подлежат также температура (80°C и более) и продолжительность нагрева.

#### 8.2.4 Обработка растворителями/ПАВ

Обработка такими растворителями, как три-н-бутилфосфат (TNBP), в сочетании с неионным ПАВ, такими как Тритон X-100 или Твин-80, может инактивировать вирусы с оболочкой. При этом следует учитывать, что растворы, использующиеся в производственном процессе, следует очищать от крупных агрегатов, которые могут экранировать вирусы и препятствовать их инаktivации. Это достигается фильтрацией, которую предпочтительно выполнять до внесения растворителя/ПАВ. В противном случае необходимо показать, что используемые фильтры не снижают концентрацию используемых реагентов. Валидационными исследованиями необходимо также подтвердить, что в итоге образуется гомогенная смесь, а необходимая температура проведения процесса контролируется во всем объеме раствора в течение всего времени инкубации. Осуществляют необходимый внутрипроизводственный контроль для подтверждения того, что внесены строго определенные количества растворителя и ПАВ, также контролируют их уровень в готовом ЛС. Следует принимать меры к минимизации содержания остаточных количеств реагентов.

Обработка растворителями/ПАВ является распространенной процедурой вирусной инаktivации. Следует учитывать весь имеющийся опыт при разработке дизайна валидационных исследований, что позволяет ограничиться только валидацией кинетики вирусной инаktivации в условиях «наихудшего случая» (например, при более низких, чем используются в производственном процессе, концентрациях растворителя/ПАВ или значениях температуры). Необходимо иметь в виду, что высокое содержание липидов может оказывать негативное влияние на эффективность вирусной инаktivации.

Следует отметить, что данный метод неэффективен в отношении вирусов без оболочки.

#### 8.2.5 Фильтрация (нанофильтрация)

8.2.5.1 При удалении методом фильтрации небольших по размеру вирусов могут возникать сложности с обеспечением удовлетворительного количественного выхода ЛС, особенно если речь идет о белках с высокой молекулярной массой, таких как, например, фактор VIII свертывания крови. Кроме того, некоторые типы фильтров могут вызывать активацию факторов свертывания крови, что обуславливает необходимость проведения дополнительного контроля.

8.2.5.2 Следует описывать характеристики конкретного фильтра, а также определять критические для удаления вирусов параметры (например, соотношение фильтруемого объема к площади фильтра, ионную силу, pH, скорость потока, максимально допустимое давление и т.д.). Испытания, проводимые для подтверждения целостности фильтрующих материалов, являются основными при осуществлении внутрипроизводственного контроля. Эффективность фильтров, используемых при валидационных исследованиях по удалению вирусов, должна быть сопоставима с эффективностью фильтров, используемых в рутинном производстве. Также организации-производителю необходимо представить полную информацию о материале, из которого сделан фильтр.

8.2.5.3 Возможная агрегация вирусов может оказать влияние на степень их удаления при фильтрации. Этот факт следует учитывать при проведении валидационных исследований в отношении вирусов, которые предварительно размножаются и концентрируются в лабораторных условиях. Степень их агрегации может значительно отличаться от реально наблюдаемой в плазме.

8.2.5.4 Вероятность образования сложных комплексов с антителами, а также высокая концентрация белков в растворе, абсорбция вирусов на поверхности мембраны фильтра, свойства вспомогательных реагентов (например, состав буфера) могут иметь значительное влияние на эффективность процесса удаления вирусов посредством фильтрации. Степень воздействия данных факторов следует учитывать при проведении валидационных исследований, а также в ходе рутинного производственного процесса.

#### 8.2.6 Низкое значение pH

Использование среды с низким значением pH (около 4) может быть эффективной процедурой для инаktivации вирусов с оболочкой и некоторых вирусов без оболочки при получении иммуноглобулинов (например, рядом исследований было показано, что парвовирус B19 инаktivирован в данных условиях, в то время как вирус гепатита А и парвовирусы животных – нет). Кроме того, вирусы с оболочкой могут быть инаktivированы при низком значении pH в промежуточных продуктах, содержащих этанол, образующихся при производстве альбумина.

Достижимая степень снижения уровня вирусов обоих типов зависит от конкретных условий (например, значение pH, время и температура обработки, состав раствора и т.д.). Также следует учитывать, какие штаммы вирусов были использованы при валидационных исследованиях.

### 8.3 Особенности вирусной инаktivации отдельных классов ЛС, получаемых из плазмы

#### 8.3.1 Факторы свертывания крови

8.3.1.1 Клинически доказано, что вирусы без оболочки, такие как вирус гепатита А и парвовирус B19, могут передаваться с данным классом ЛС. В силу того, что процедуры нагрева имеют известные ограниче-

ния в отношении удаления вирусов без оболочки, рекомендуется применение процессов фильтрации (нанофильтрации), когда это технически возможно.

**8.3.1.2** Для ЛС, получаемых на основе фактора VIII свертывания крови и фибриногена, имеющих большую молекулярную массу, процедуры вирусной инактивации, основанные на разделении по размеру частиц, практически не осуществимы.

Требуется введение не менее чем одной стадии, эффективной в отношении удаления/инактивации вируса гепатита А. Ряд вирусов (например, парвовирусы животных), устойчивых к физико-химическим методам инактивации, может быть удален посредством тщательно спланированных стадий последовательного нагрева (пастеризацией в соответствующей матрице или тепловой обработкой лиофилизированных форм с определенным содержанием остаточной влаги). Парвовирусы также могут быть удалены путем фильтрации, при этом следует обращать внимание на соотношение размеров пор и молекулярных характеристик факторов свертывания крови.

### **8.3.2 Иммуноглобулины**

ЛС, содержащие иммуноглобулины, имеют хорошие показатели безопасности в отношении известных вирусов без оболочки, частично по причине нейтрализующего влияния антител. Тем не менее, не исключена возможность передачи неидентифицированных вирусов без оболочки, а также снижение титров антител до значений, не обеспечивающих необходимую защиту от вирусов в пулах доноров. Таким образом, для данного класса ЛС требуется включение не менее одной эффективной стадии по инактивации/удалению вирусов без оболочки. Стадии с использованием фракционирования/осаждения этанолом могут быть эффективными для вирусов без оболочки при надлежащих контроле и валидации (см. также разделы 8.1 и 8.2). Если производственный процесс основан исключительно на хроматографических методах, необходимо введение дополнительных стадий, для которых подтверждена эффективность в отношении удаления/инактивации вирусов без оболочки. Рекомендуется проведение фильтрации с использованием фильтров с небольшим размером пор (15-20 нм), а также сольвент-детергентная обработка как один из этапов вирусинактивации.

### **8.3.3 Альбумин**

Альбумин, как правило, получают посредством процесса фракционирования, включающего стадию пастеризации, которая обеспечивает высокие показатели вирусной безопасности. Тем не менее, рекомендуется проведение валидационных исследований, подтверждающих уменьшения вирусной нагрузки в ходе производства. При валидации стадии пастеризации следует учитывать номинальную концентрацию готового ЛС. Наличие каприлата является вирусинактивирующим фактором при получении альбумина.

### **8.3.4 Сольвент-детергентная плазма**

Сольвент-детергентная плазма характеризуется хорошими показателями безопасности в отношении вирусов с оболочкой, а также вируса гепатита А и парвовируса B19. Риск заражения другими вирусами без оболочки, присутствующими в донорской крови, считается низким, так как обнаружено наличие нейтрализующих антител в пулах плазмы. Тем не менее, следует учитывать потенциальный риск в отношении передачи неизвестных вирусов без оболочки. С этой целью рекомендуется отслеживать эпидемиологическую ситуацию в донорской популяции.

## **8.4 Выбор вирусов для проведения валидационных исследований**

Общие рекомендации по выбору вирусов для проведения валидационных исследований представлены в ТКП 557-2014 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация исследований инактивации и удаления вирусов. Рекомендуется использовать следующий набор вирусов:

### **8.4.1 Вирусы с оболочкой**

#### **8.4.1.1 ВИЧ-1**

ВИЧ-1 не используется при проведении валидации таких методов, как обработка растворителями/ПАВ, нагрев, фракционирование этанолом. При разработке новых методов его применение показано в том случае, если данных, полученных на других модельных вирусах, недостаточно для всесторонней оценки эффективности процедуры удаления/инактивации. Нет необходимости проводить дополнительные испытания в отношении ВИЧ-2, так как процедура инактивации действует на него аналогичным образом.

#### **8.4.1.2 Модель для вируса гепатита С.**

В настоящее время методов культивирования данного вируса не существует. Предложены различные модельные инфекционные агенты, имеющие с ним сходство, как пестивирусы (pestiviruses), например, вирус диареи крупного рогатого скота, флавивирусы (flaviviruses) – вирус Западного Нила, вирус клещевого энцефалита или вирус желтой лихорадки, тогавирусы (togaviruses) – вирус Синдбис. При этом имеющихся данных недостаточно для однозначного определения наиболее приемлемой модели для проведения всесторонних валидационных исследований. Считается, что вирус диареи крупного рогатого скота может служить моделью «наихудшего случая» для вируса гепатита С.

#### **8.4.1.3 ДНК-вирусы с оболочкой**

В настоящее время информация о передаче герпетических инфекций, связанных с назначением ЛС из плазмы крови, отсутствует. Тем не менее, поскольку некоторые разновидности вируса герпеса потенциально могут привести к виремии, рекомендуется проведение валидационных исследований с использованием соответствующего ДНК-вируса с оболочкой, например, вируса инфекционного бульбарного паралича.

В отношении вируса гепатита В общепризнанный набор модельных вирусов для проведения валидации отсутствует. Может быть использован вирус гепатита В уток. Реализация данного подхода сопряжена с определенными практическими сложностями, вследствие чего официальных рекомендаций для включения данного вируса в вирусную панель не существует.

#### 8.4.2 Вирусы без оболочки

Валидационными исследованиями по эффективности процедур инаktivации/удаления вирусов без оболочки необходимо выявить диапазон инфекционных агентов, чувствительных к конкретному методу, а также определить минимальные пределы, до которых может быть снижен их уровень. Например, стадия вирусной инаktivации с применением нагрева, используемая при производстве ЛС на основе факторов свертывания крови, может быть эффективной в отношении вируса гепатита А, но абсолютно бесполезной против других типов вирусов без оболочки.

Установлено, что вирус гепатита А передается с определенными факторами свертывания крови. В ходе валидационных исследований по эффективности вирусной инаktivации при производстве ЛС на основе данных продуктов плазмы он в обязательном порядке включается в используемую вирусную панель. При этом следует учитывать возможное мешающее влияние антител.

Для ЛС на основе факторов свертывания крови необходимо также валидировать процедуру инаktivации/удаления парвовируса В19. В качестве модельных используются парвовирусы собак, свиней, мышей, а также крупного рогатого скота.

Валидационные исследования с использованием вируса гепатита А и парвовируса В19 для ЛС на основе иммуноглобулинов, как правило, не требуются. Однако, данные, полученные в ходе экспериментов с модельными вирусами, не образующими комплексы с антителами, могут давать неверную информацию о снижении уровня вируса гепатита А или парвовируса В19, в случае присутствия в промежуточных продуктах антител. Рекомендуется (но не является обязательным) провести валидацию с учетом данной информации.

#### 8.4.3 Модельные вирусы для процедуры фильтрации (нанофильтрации).

Эффективность фильтрации (нанофильтрации) для удаления вирусов необходимо продемонстрировать для каждого получаемого ЛС во всем диапазоне размеров вирусов.

При некоторых обстоятельствах (например, получении иммуноглобулинов; определенных значениях рН, уровнях остаточных растворителей/ПАВ), определение количества удаленного исключительно с помощью фильтра вируса может оказаться затруднительным из-за наблюдающейся инаktivации/нейтрализации. Для однозначного подтверждения надежности всего метода и пригодности конкретного фильтра рекомендуется уделять основное внимание наиболее сложным для удаления вирусам.

Для фильтров с малым размером пор, разработанных специально для удаления небольших по размеру вирусов без оболочки, обязательными компонентами вирусной панели являются вирусы иммунодефицита человека и вирус диареи крупного рогатого скота. Дополнительно могут использоваться небольшие безоболочечные вирусы, особенно для подтверждения надежности метода.

Для фильтров со средним размером пор, разработанных специально для удаления вирусов среднего размера, в валидационных исследованиях используют ВИЧ и вирусы с оболочкой (например, вирус диареи крупного рогатого скота). Для подтверждения надежности метода применяют только вирус диареи крупного рогатого скота.

### 8.5 Основные сложности при разработке дизайна и выполнении валидационных исследований по удалению/инаktivации вирусов

Получение экспериментальных данных, подтверждающих эффективность процедур инаktivации/удаления вирусов при производстве ЛС из плазмы крови, может оказаться затруднительным в силу различных причин (см. ТКП 557-2014 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация исследований инаktivации и удаления вирусов).

В частности, присутствие антител может оказывать влияние на эффективность удаления вирусов и/или их восприимчивость к инаktivации химическими методами, что усложняет разработку дизайна валидационных исследований. Кроме того, неразведенная плазма и ее фракции зачастую обладают токсичностью по отношению к клеточным культурам, используемым для идентификации вирусов, также как и химические вещества, применяемые в производственном процессе, например, этанол и этилакридинлактат. Следовательно, перед валидационными исследованиями может потребоваться проведение специальных процедур, направленных на минимизацию проявления данных эффектов, таких как, например, разведение, диализ и т.д. Само ЛС и/или используемые реагенты могут изменить свойства вирусов, например, привести к их оболачиванию и/или агрегированию, что может затруднить достоверную оценку остаточной инфекционной активности.

В некоторых случаях, для определения уровня вирусного загрязнения и оценки эффективности предлагаемых процедур вирусной инаktivации предпочтительно использование тестирования по технологии ПЦР/НАТ. При проведении валидационных исследований с применением данного подхода следует четко идентифицировать снижение вирусной нагрузки, а не изменение, например, концентрации свободных нуклеиновых кислот. Возможности ПЦР/НАТ позволяют отличить физическое удаление вируса от его инаktivации, если данные процедуры осуществляются в рамках одной технологической стадии (например, стадии

№ 20231113114815, 266308, 34800, 34800 Рабочий экземпляр производственного республиканского унитарного предприятия "Минскинтеркапс" Юридический адрес: г. Минск, ул. Сиверского, 1

фракционирования каприлатом), или когда использование обычных тест-систем невозможно (например, по причине нейтрализующего влияния антител).

### 8.6 Подходы к введению дополнительных стадий инактивации/удаления вирусов

В силу того, что разработка методов инактивации/удаления вирусов является непрерывным процессом, производителям ЛС из плазмы следует иметь это в виду при планировании технологических инноваций, направленных на усовершенствование производственного процесса. Особое внимание необходимо уделять ЛС, для которых существуют объективные сложности в удалении/инактивации вирусов без оболочки. Если установлено, что возможно внесение существенных изменений в производственный процесс, способствующих повышению вирусной безопасности ЛС, производитель/держатель регистрационного удостоверения должен разработать график их внедрения, по возможности, в кратчайшие сроки, и взять на себя обязательство информировать регуляторные органы о ходе его выполнения. При этом все доступные сведения о ЛС, получаемых из плазмы, необходимо критически оценить и переработать, для того чтобы клиницисты располагали максимально полной и достоверной информацией и могли сделать соответствующий выбор [9].

### 8.7 Повторная валидация

Повторные валидационные исследования требуются, если вносятся значительные изменения в производственный процесс или его отдельные стадии. В любом случае, отсутствие новых исследований по валидации должно быть обосновано. При установленных случаях передачи вирусов с ЛС, полученными из плазмы крови, организации-производителю совместно с регуляторными органами следует оценить все имеющиеся данные с целью принятия соответствующего решения.

### 8.8 Предупреждение передачи возбудителей ТГЭ

Для организации мероприятий по предотвращению передачи с ЛС из плазмы крови возбудителей ТГЭ, необходимо обратиться к положениям, изложенным в [5].

## 9. Оценка риска возможной вирусной передачи

### 9.1 Введение

Целью данного раздела является изложение общих принципов, которым должны следовать организации-производители при проведении оценки риска передачи вирусов посредством ЛС, получаемых из плазмы крови человека. Данная процедура необходима для подтверждения сведений о вирусной безопасности и минимальном риске передачи гемотрансмиссивных инфекций, включаемых в состав сводной информации о ЛС, в соответствии с [9]. По возможности, необходимо осуществлять количественную оценку вероятности наличия вирусных агентов загрязнения в определенных дозах готового ЛС.

Принципы, изложенные ниже, могут быть применимы как к известным, так и к не идентифицированным вирусам.

### 9.2 Общие принципы оценки риска

Оценка риска состоит в рассмотрении различных факторов, таких как эпидемиологические данные, величина титра заражения вирусом, результаты испытаний на вирусные маркеры, наличие стадий вирусной инактивации и др., влияющих на потенциальный уровень вирусных частиц в дозе готового ЛС. Надежность оценки риска будет зависеть от полноты доступной информации. Многие из вышеназванных факторов вариабельны, поэтому следует учитывать наиболее реальные «наихудшие случаи», что позволит обеспечить максимальные гарантии вирусной безопасности.

Следует предоставлять данные анализа эффективности производственного процесса по инактивации или удалению вирусов («эффективность вирусной инактивации/эффективность удаления вирусов») с учетом потенциального общего количества данного вируса, который мог присутствовать в исходном материале («потенциальная вирусная нагрузка»). Кроме того, с учетом сведений о количестве плазмы, необходимом для производства одной дозы ЛС, может быть проведена оценка возможности потенциальной вирусной контаминации в расчете на одну дозу.

#### 9.2.1 Потенциальная вирусная нагрузка

Для вирусов, которые являются потенциальными контаминантами плазмы крови человека, следует проводить оценку их уровня, который с большой долей вероятности может инфицировать весь производственный пул («потенциальная вирусная нагрузка»). Данный показатель определяется числом индивидуальных образцов плазмы, зараженных вирусом, которые могут попасть в производственный пул, объемом конкретных донаций и титром вирулентных донаций, которые не были протестированы надлежащим образом.

Число образцов плазмы, зараженных вирусом, зависит от эпидемиологической ситуации в донорской популяции и частоты донаций конкретного донора. С целью эффективного снижения количества зараженных образцов плазмы, которые могут попасть в производственный пул, следует уделять особое внимание отбору доноров, а также организации карантинного хранения. Всю информацию о специфических группах доноров, доступную в Досье на плазму, следует учитывать при оценке риска. Если подобные данные отсут-

ствуют, рекомендуется использовать информацию из других источников, например, общих эпидемиологических обзоров или опубликованных исследовательских работ.

Период виремии необходимо подробно описать, указав его продолжительность и соответствующий титр вируса. Следует учитывать, что скрининг индивидуальных донаций специфическими тестами (серологическими или по технологии ПЦР/NAT) не гарантирует отсутствия определенного титра вирусов в образцах плазмы из-за наличия «сероконверсионного окна».

Рекомендуется использование минипулов, представляющих собой определенное число аликвот образцов плазмы, которые объединены для испытательных целей (от 6 до 10-12 образцов в минипуле). Испытание минипулов (например, по технологии ПЦР/NAT) может быть полезным для идентификации и отбраковки образцов плазмы с высокими титрами вирусов.

Значения «потенциальной вирусной нагрузки» производственного пула представляют собой экстраполяцию результатов, полученных с применением обоих методологических подходов (тестирование индивидуальных донаций или минипулов) с учетом величины титра вирусов и количества неучтенных зараженных донаций. Мероприятия, которые проводятся для определения и предотвращения виремии на уровне минипулов или индивидуальных образцов, более эффективны в установлении факта контаминации, чем испытания производственного пула. Тем не менее, испытания производственного пула с использованием чувствительных NAT методов позволяют установить хорошо контролируемый верхний предел потенциального вирусного загрязнения.

### 9.2.2 Эффективность инактивации/удаления вирусов

Принципы, используемые для определения эффективности инактивации/удаления вирусов в процессе производства ЛС из плазмы крови и интерпретация полученных результатов, описаны в ТКП XXX-2014 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация исследований инактивации и удаления вирусов. В данном случае валидацию следует рассматривать как очень важную процедуру, результаты которой подлежат всестороннему анализу с учетом оценки как качественных, так и количественных параметров. Следует учитывать сопоставимость исследований по определению коэффициента снижения вирусной нагрузки, проводимых на процессах в уменьшенном масштабе, и реальную ситуацию на производственном участке. К другим важным моментам, на которые необходимо обращать внимание, относятся обоснование суммирования логарифмических показателей снижения вирусной нагрузки, происходящей на отдельных стадиях, подтверждение пригодности вирусов, используемых в валидационных исследованиях (модельные вирусы или специфические лабораторные штаммы тех же самых видов), а также существование практических ограничений для измерения величин показателей, подлежащих контролю.

Для новых вирусов следует проводить оценку их специфических физических характеристик в сравнении с другими модельными вирусами, для которых ранее получены необходимые данные. Если возможна работа с новыми вирусами в лабораторных условиях, рекомендуется провести соответствующие эксперименты и сопоставить полученные результаты. В случае, когда подобные эксперименты невозможны, или информация, полученная для других модельных вирусов, неприемлема, следует выбрать наиболее близкую по характеристикам модель.

### 9.2.3 Вклад специфических антител в вирусную безопасность

Специфические антитела могут внести определенный вклад в обеспечение вирусной безопасности ЛС, получаемых из плазмы крови человека. Их вклад может быть подтвержден спецификациями на содержание антител в готовом продукте и валидационными исследованиями нейтрализующей способности. Влияние присутствия специфических антител в производственных пулах на безопасность ЛС сложно поддается оценке, так как нет надежной информации по нейтрализации вирусов на данной стадии производства, а также по стабильности комплексов вирус-антитело до завершения процесса. Если при оценке риска делаются заявления об удалении комплексов вирус-антитело из промежуточных продуктов, то их следует подтвердить соответствующими данными по валидации.

### 9.2.4 Оценка содержания вирусных частиц в готовом ЛС

В качестве общего принципа, используемого для оценки вирусной безопасности ЛС, используют положение о том, что эффективность процедуры инактивации/удаления вируса должна заведомо превышать потенциальное количество вируса, которое может быть внесено в производственный процесс. Это обеспечивает приемлемый запас надежности. Тем не менее, как правило, специфические пределы не устанавливаются, так как оценка величины снижения вирусной нагрузки, как правило, зависит от качественных подходов, используемых для интерпретации полученных результатов, и, следовательно, число вирусных частиц, которое потенциально может присутствовать в конкретном флаконе, необходимо рассчитывать с учетом этого и других факторов.

Количество плазмы, используемое при производстве одного флакона готового ЛС, следует определить с учетом выхода продукта, размера серии, числа флаконов, относящихся к одной серии. Соответствующие данные необходимо получить в ходе валидации процесса. Для оценки количества вирусных частиц во флаконе используют информацию о необходимом количестве плазмы вместе с данными о потенциальной вирусной нагрузке. Расчет проводится на основе значений концентрации вируса в исходном материале в условиях «наихудшего случая», а также количества плазмы, требуемой для производства одного флакона, деленного на коэффициент снижения содержания вирусов, полученный в валидационных исследованиях, по формуле, указанной в примечании.

№ 20231113114815.266308.34800.34800 Рабочий экземпляр государственного реестра лекарственных средств Республики Беларусь. Минский интеркапс.



Примечание.  $N = c \cdot V / R$ , где  $N$  – потенциальное число вирусных частиц во флаконе,  $c$  – потенциальная вирусная нагрузка,  $V$  – объем плазмы, требуемый для производства одного флакона продукта,  $R$  – коэффициент снижения содержания вируса, полученный в валидационных исследованиях. Пример вычислений представлен в ТКП 515.

Информацию о числе вирусных частиц во флаконе ЛС необходимо оценить по отношению к доступным сведениям о минимальной инфекционной дозе для человека и количеству ЛС, обычно используемому на курс лечения. Данные по инфекционной дозе для человека необходимо подтверждать с учетом конкретного пути введения. Если такая информация недоступна, необходимо следовать консервативному подходу с использованием вирусных геномов в качестве индикатора потенциального уровня вирусных частиц в исходном материале. Данные об инфекционности, полученные методами *in vitro*, обычно не принимаются в расчет.

#### 9.2.5 Клинический опыт и наблюдения

Следует принимать во внимание имеющийся клинический опыт вирусной передачи с ЛС, получаемыми из плазмы крови человека. Необходимо учитывать, что передача вирусов, как правило, происходит при использовании конкретной серии ЛС. При этом количество исследуемых пациентов обычно незначительно для того, чтобы выявить инфекцию, и используется ограниченное число серий ЛС. Длительный положительный клинический опыт может оказаться очень полезным для подтверждения безопасности ЛС, при условии, что какой-либо фактор, влияющий на вирусную безопасность (например, эпидемиология) не изменился с течением времени. Тем не менее, отсутствие сообщений о передаче вирусов не доказывает вирусную безопасность ЛС, по причине, например, наличия неидентифицированной передачи, либо использования в невосприимчивой популяции. Это имеет особое значение в случае новых вирусов, или тех, которые не могут быть адекватно описаны существующей системой наблюдений (например, парвовирус B19).

## Библиография

- [1] ГФ РБ – 1-е изд. – т. 3. Молодечно, 2009. – С. 486-488.
- [2] EMEA/CHMP/BWP/3794/03 Rev.1  
European Medicines Agency  
Committee for medicinal products for human use: London, November 2006  
(Европейское медицинское агентство, Комитет по патентованным лекарственным средствам для человека, Лондон, ноябрь 2006)  
Guideline on the scientific data requirements for a plasma master file (PMF) Revision 1.  
(Руководство по требованиям к научным данным для Досье на плазму)  
*Неофициальный перевод Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*
- [3] ICH Harmonised Tripartite Guideline  
International Conference on Harmonization of Technical Document for the registration of Pharmaceuticals for Human use. M 4  
Step.4 version, January, 2004  
Organisation of the Common Technical Document for the Registration of Pharmaceuticals for Human use  
Step.4 version, January, 2004.  
(Общий технический документ для регистрации лекарственных препаратов, используемых для человека).  
*Неофициальный перевод Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*
- [4] Фармацевтический сектор: Общий технический документ для лицензирования лекарственных средств в ЕС / Под ред. Стефанова (пред. редколлегии) и др.; Авт.-сост.: В.А.Усенко, Н.А. Ляпунов, Е.П. Безуглая и др. Киев: Морион, 2002. - 256с
- [5] WHO Technical Report Series No 941, 2007  
World Health Organization  
(Всемирная организация здравоохранения)  
Recommendations for the production control and regulation of human plasma for fractionation  
(Рекомендации для производственного контроля и регулирования человеческой плазмы для фракционирования)  
*Неофициальный перевод Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*
- [6] Постановление Министерства здравоохранения РБ от 19 мая 2011 г. № 37. Об установлении перечня заболеваний и состояний, при которых сдача крови и ее компонентов противопоказана, и утверждении инструкции о порядке медицинского осмотра доноров крови и ее компонентов, инструкции о порядке учета доноров крови и ее компонентов.
- [7] EDQM European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare. Recommendation No.R (95)15, 16<sup>th</sup> Edition, Strasbourg, 2011  
(Европейский директорат по качеству лекарственных средств и здравоохранения. 16-е издание, Страсбург, 2011)  
Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components  
Руководство по подготовке, использованию и обеспечению качества компонентов крови  
*Неофициальный перевод Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*
- [8] Pic/S GMP Pharmaceutical inspection convention, Good Manufacturing Practice, PE 005-3, September, 2007  
Схема сотрудничества фармацевтических инспекций, Сентябрь, 2007  
Guide for Blood Establishments  
(Руководство для учреждений крови)  
*Неофициальный перевод Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*

- [9] CPMP/BPWG/BWP/561/03  
 Committee for Proprietary Medicinal Products,  
 London, January 2003  
 (Комитет по патентованным лекарственным  
 средствам, Лондон, январь 2003)
- Note for Guidance on the Warning on Transmissible  
 Agents in SPCs and Package leaflets for Plasma-  
 derived Medicinal Products  
 (Примечание к руководству по предупреждению  
 трансмиссивных агентов в краткой характеристике  
 лекарственного препарата и листке-вкладыше для  
 лекарственных средств, полученных из плазмы кро-  
 ви)  
*Неофициальный перевод Государственного пред-  
 приятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*
- [10] EMA/CHMP/BWP/303353/2010  
 Committee for Medicinal Products of Human use,  
 London, June 2011  
 (Комитет по лекарственным средствам,  
 используемых для человека, Лондон, июнь  
 2011)
- Position Statement on Creutzfeldt-Jakob disease and  
 plasma-derived and urine-derived medical products.  
 (Положение о болезни Крейтцфельда-Якоба и лекар-  
 ственных средствах, полученных из плазмы крови и  
 мочи).  
*Неофициальный перевод Государственного пред-  
 приятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*
- [11] CPMP/BWP/328/99  
 Committee for Proprietary Medicinal Products,  
 London, October, 1999  
 (Комитет по патентованным лекарственным  
 средствам, Лондон, октябрь, 1999)
- Development Pharmaceuticals for Biotechnological and  
 Biological Products  
 (Фармацевтическая разработка для биотехнологи-  
 ческих и биологических лекарственных препаратов)  
*Неофициальный перевод Государственного пред-  
 приятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*
- [12] EMEA/CHMP/BWP/45208/2007  
 European Medicines Agency  
 Committee for medicinal products for human  
 use: London, April, 2007  
 (Европейское медицинское агентство,  
 Комитет по патентованным лекарственным  
 средствам для человека, Лондон, апрель  
 2007)
- Guideline on the replacement of rabbit pyrogen testing  
 by an alternative test for plasma derived medicinal  
 products.  
 (Рекомендации по замене тестирования на пироген-  
 ность кролика с использованием кроликов на аль-  
 тернативный тест для лекарственных средств, полу-  
 ченных из плазмы)  
*Неофициальный перевод Государственного пред-  
 приятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*

Список исполнителей

Директор Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС», д.м.н., профессор	Гапанович В.Н.
Зав. отделом экспериментальной медицины и фармации Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС», к.б.н., доцент	Мельнова Н.И.
Заместитель директора по научной работе Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС», к.б.н.	Андреев С.В.
Зав. отделом промышленной биотехнологии Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС», к.б.н.	Белявский К.М.
Младший научный сотрудник отдела экспериментальной медицины и фармации Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»	Каратай Н.М.
Младший научный сотрудник отдела экспериментальной медицины и фармации Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»	Усова В.С

№ 2023113114815.266308.34800.34800 Рабочий экземпляр. Производственное республиканское унитарное предприятие «Минсклитеркапс»  
Дата печати: 13.11.2023 11:48:15 Распечатан Сиволоаш Юрий Николаевич для Сиволоаш Юрия