

Номер. МИНИМИЗАЦИЯ РИСКА КОНТАМИНАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИНФЕКЦИОННЫМИ АГЕНТАМИ ПРИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Настоящая общая фармакопейная статья приводится для информации.

Трансмиссивные губчатые энцефалопатии (*TSE – Transmissible Spongiform Encephalopathies*, далее – ТГЭ) представляют собой группу хронических нейродегенеративных заболеваний, характеризующуюся накоплением аномальных изоформ клеточного гликопротеина (приона). Прион (*prion – proteinacious infectious particle*, белковая инфекционная частица, или PrP – *prion protein*, прионный белок) представляет собой измененную изоформу белка (за счет аномальной трехмерной структуры). Инфекционная изоформа PrP^{TSE} способна превращать нормальный белок PrP^C в инфекционную изоформу, изменяя его конформацию (третичную структуру). Аномальная изоформа PrP (PrP^{TSE}) отличается от нормальной PrP (PrP^C) устойчивостью к протеазе и денатурации высокой температурой. Именно PrP^{TSE} является инфекционным агентом, вызывающим развитие ТГЭ.

К заболеваниям ТГЭ относят:

- губчатую энцефалопатию крупного рогатого скота (ГЭ КРС);
- скрейпи овец и коз;
- хроническую изнуряющую болезнь у семейства оленьих (олени и лоси);
- трансмиссивную энцефалопатию норок, выращиваемых на фермах;
- губчатую энцефалопатию кошачьих (особенно у домашних кошек и больших животных семейства кошачьих, содержащихся в неволе);
- губчатую энцефалопатию экзотических копытных в зоопарках.

Виды животных естественно восприимчивые к заражению агентами губчатой энцефалопатии (ГЭ) или восприимчивые к заражению путем введения внутрь, за исключением человека и приматов, определяют как ТГЭ-релевантные виды животных. К ним относят крупный рогатый скот (КРС), овец, коз.

У человека губчатые энцефалопатии включают различные формы болезни Крейтцфельда-Якоба (БКЯ), Куру, болезнь (синдром) Герстманна-Штраусслера-Шейнкера, фатальную семейную бессонницу.

На данный момент известно три варианта возникновения прионных заболеваний: прямое заражение, наследственные и спорадические (возникающие спонтанно) формы. Способность к трансмиссии зависит от происхождения (вида животных), штамма приона, дозы, путей введения и, у некоторых видов, принимающей аллели PRNP гена в результате мутаций в гене PRNP, обуславливающих образование PrP^{TSE} из PrP^C (наследственные формы). Определенный комплекс естественных барьеров ограничивает межвидовое распространение ТГЭ, но при соответствующих условиях видовые барьеры могут быть преодолены.

Прионная форма белка чрезвычайно стабильна и накапливается в пораженной ткани, вызывая ее повреждение и, в конечном счете, гибель. Стабильность прионной формы белка означает, что прионы устойчивы к денатурации под действием химических и физических агентов. Возбудитель ГЭ КРС исключительно резистентен ко всем мерам борьбы, которые обычно инактивируют такие инфицирующие агенты, как бактерии,

вирусы, включая термическую обработку. Обычные меры инактивации неэффективны в отношении ГЭ КРС. На сегодняшний день самым эффективным способом борьбы с губчатой энцефалопатией является исключение из использования материалов полученных из ТГЭ-релевантных видов животных. Однако, использование продуктов животного происхождения необходимо для производства некоторых лекарственных препаратов, и полное исключение риска невозможно. В связи с этим, меры, принимаемые для управления риском передачи ГЭ КРС, сводятся к минимизации риска, а не его исключению.

1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Данная общая фармакопейная статья распространяется на все сырье и материалы, имеющие животное или человеческое происхождение, используемые в процессе производства лекарственных средств и (или) входящие в состав лекарственных средств. Рекомендации данной общей фармакопейной статьи также применимы к материалам, непосредственно контактирующим с лекарственным средством или оборудованием, используемым в производстве лекарственного средства, вследствие чего имеется риск контаминации.

Требования к снижению риска передачи возбудителей ГЭ животных устанавливаются уполномоченным органом в соответствии с нормативными актами, входящими в право Союза, и критериями оценки статуса страны, установленные Всемирной организацией по охране здоровья животных (World Organisation for Animal Health, WOAH, ранее Международное бюро по эпизоотиям, Office International des Epizooties, OIE).

2. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

2.1. ИСХОДНОЕ СЫРЬЕ И ИСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Материалы, получаемые от ТГЭ-релевантных видов животных, используемые для получения активных фармацевтических субстанций, вспомогательных веществ и адъювантов, исходного сырья, исходных материалов и реактивов, применяемые в производстве лекарственных средств должны быть оценены на риск передачи ГЭ.

В качестве источника материалов рекомендуется использовать молодых животных.

Материалы, такие как чистящие агенты, смягчители и смазывающие вещества, с которыми контактирует лекарственное средство при стандартном технологическом процессе или на последней стадии, или в первичной упаковке должны быть получены из производных твердых жиров при строгом соблюдении физико-химических процессов, описанных в разделе 5 данной общей фармакопейной статьи.

Сырье и материалы животного происхождения, используемые в производстве лекарственных средств, в том числе при получении посевного материала и банков клеток, должны иметь подтверждающие документы о минимизации риска передачи ГЭ или документы о результатах оценки риска передачи ГЭ.

2.2. ПОСЕВНЫЕ МАТЕРИАЛЫ, БАНКИ КЛЕТОК И ПРОДУКТЫ ФЕРМЕНТАЦИИ

Посевные материалы и банки клеток, используемые для производства лекарственных препаратов, должны быть оценены на риск передачи ГЭ.

Риск передачи ГЭ возможен для посевных материалов и банков клеток, используемых в производстве:

- вакцинных антигенов;
- лекарственных препаратов, полученных с использованием биотехнологических процессов;
- других лекарственных препаратов, в процессе производства которых используются системы посевных материалов или банков клеток, уже утвержденных для производства компонентов зарегистрированного лекарственного препарата.

Если материалы, полученные от ТГЭ-релевантных видов животных используют в процессах получения продуктов ферментации или посевных материалов и банков клеток, они должны полностью соответствовать требованиям нормативных актов, входящим в право Союза.

2.3. ПРИНЦИПЫ МИНИМИЗАЦИИ РИСКА

При наличии у производителя выбора предпочтительным является использование материалов, полученных из не ТГЭ-релевантных видов животных или из источника не животного происхождения. Использование материалов, полученных из ТГЭ-релевантных видов животных, вместо материалов из не ТГЭ-релевантных видов животных или материалов неживотного происхождения, должно быть обоснованно. Если необходимо использование материалов из ТГЭ-релевантных видов животных, должны быть приняты все необходимые меры по минимизации риска передачи ГЭ.

Доступные диагностические наборы для выявления ГЭ-инфекции *in vivo* пока еще отсутствуют. Диагноз основывается на посмертном подтверждении характерных мозговых повреждений при помощи гистологических данных и (или) обнаружением PrP^{TSE} при помощи Вестерн-блоттинга или иммунологических анализов. Также для подтверждения наличия инфекционного агента ГЭ используют введение подозрительной ткани чувствительным видам лабораторных животных. Однако, из-за длительных инкубационных периодов всех агентов ГЭ, результаты испытаний *in vivo* получают только по истечении месяцев или лет.

Способность иммунохимических испытаний к обнаружению PrP^{TSE} в посмертных образцах выявлять зараженных животных зависит от времени забора образца по отношению к сроку заражения, типа собранной ткани, полученной инфекционной дозы в сопоставлении со сроками наступления клинических проявлений болезни.

Хотя скрининг источников среди животных при помощи *in vitro* испытаний может предотвратить использование животных на поздних стадиях инкубационного периода болезни и может обеспечить информацией об эпидемиологическом статусе данной страны или региона, испытания, пригодные для однозначного подтверждения незараженности животного, отсутствуют.

Минимизация риска передачи ГЭ базируется на трех взаимодополняющих параметрах:

- источники заражения животного происхождения и их географическое происхождение;

- природа материала животного происхождения, используемого в производстве, и выполнение процедур по предупреждению перекрестной контаминации продуктами с более высоким уровнем риска;
- процессы производства, включая наличие системы обеспечения качества, гарантирующие однородность и контролируемость продукта.

2.4. ИСТОЧНИКИ ЗАРАЖЕНИЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

ГЭ КРС представляет собой одну из группы заболеваний, которые поражают целый ряд млекопитающих. Заболевания, известные как ГЭ или прионные болезни, являются следствием накопления аномальных прионных протеинов в головном мозге и нервной системе.

В качестве источника сырья и (или) материалов, используемым при получении продуктов для производства лекарственных препаратов, должны быть животные, пригодные для применения в качестве продуктов питания человека и выдержавшие до и после убоя проверку на соответствие требованиям актов, входящим в право Союза или аналогичным (третья страна), за исключением материалов, полученных от живых животных, которые должны быть признаны здоровыми по результатам клинического обследования.

2.4.1. География источников заражения

2.4.1.1. Материалы от крупного рогатого скота

Всемирная организация по охране здоровья животных устанавливает критерии для оценки состояния стран в главе Международного кодекса по охране здоровья животных от ГЭ КРС. Страны или регионы классифицируют следующим образом:

Категория А – страны или регионы с незначительным риском ГЭ КРС;

Категория В – страна или регионы с контролируемым риском ГЭ КРС;

Категория С – страны или регионы с неопределенным риском ГЭ КРС.

В настоящей общей фармакопейной статье используют классификацию ГЭ КРС, основанную на правилах Всемирной организации по охране здоровья животных.

Животные, при наличии выбора у производителя, должны быть получены из стран с незначительным риском ГЭ КРС (категория А), если использование продуктов из стран с более высоким риском ГЭ КРС не является оправданным. При использовании животных из стран с неопределенным риском ГЭ КРС всегда должно быть предоставлено обоснование.

2.4.1.2. Овцы и козы (мелкий рогатый скот)

Во многих странах мира в природе зарегистрированы клинические случаи заболевания мелких жвачных животных скрейпи. В связи с тем, что ГЭ у овец и коз может быть ошибочно принята за скрейпи, в качестве меры предосторожности при анализе источников продуктов, полученных от мелкого рогатого скота, учитывается масштаб распространения в стране как ГЭ КРС, так и скрейпи, а также тип тканей, из которых получены материалы.

Для овец из-за опасений, касающихся возможности заражения овец ГЭ при создании стад, свободных от ГЭ, можно рассмотреть возможность использования генотипов,

демонстрирующих устойчивость к инфекции ГЭ и (или) скреппи. Однако, возможность того, что генотипы, устойчивые к скреппи, окажутся подвержены ГЭ (экспериментальное введение внутрь) или атипичной скреппи (случаи в природе), также должна быть принята во внимание. Козы являются не достаточно изученными в отношении генотип-специфической чувствительности.

Материал от мелкого рогатого скота предпочтительно получать из стран с длительной историей отсутствия скреппи. Если материал получен из других источников, необходимо соответствующее обоснование.

2.4.2. Стада КРС с незначительным риском ГЭ КРС (скрытый риск).

Наиболее безопасным источником являются страны с незначительным риском (страны категории А).

В настоящее время невозможно измерить степень снижения географического риска ГЭ КРС для коров из стад КРС с незначительным риском ГЭ КРС (скрытый риск). Однако предполагается, что снижение такого риска достаточно существенное.

Получение материалов от изолированных стад КРС при оценке риска необходимо рассматривать с учетом категории страны по классификации Всемирной организации по охране здоровья животных.

2.5. ЧАСТИ ТЕЛА ЖИВОТНЫХ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЖИДКОСТИ И СЕКРЕТЫ КАК ИСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

У инфицированных ГЭ животных органы и секреты имеют разный уровень инфекционности. Если необходимо использовать материалы от ТГЭ-ревалентных видов животных, выбирают материалы с наиболее низкой категорией риска.

Независимо от стадии заболевания ткани группируют в 3 основные категории в отношении их инфекционности, представленные в таблице номер.-1.:

Таблица номер.-1. – Категории тканей животных в отношении их инфекционности

Категория IA	Ткани с высокой инфекционностью
	ткани центральной нервной системы (ЦНС), которые достигают высоких титров инфекционности на поздних стадиях ГЭ, и некоторые ткани анатомически связанные с ЦНС
Категория IB	Ткани с низкой инфекционностью
	периферические ткани с положительными тестами на инфекционность и (или) PrP ^{TSE} по меньшей мере на одну форму ГЭ
Категория IC	Ткани с неопределяемой инфекционностью
	ткани, при исследовании которых на инфекционность отсутствовала какая-либо определяемая инфекционность и (или) были отрицательные результаты PrP ^{TSE}

Ткани категории IA и материалы, полученные из них, не должны использоваться в производстве лекарственных препаратов, за исключением случаев, когда возможность их использования обоснована (см. раздел 4 данной общей фармакопейной статьи).

Несмотря на то, что в группе тканей с низкой инфекционностью (категория IB) почти всегда имеются некоторые ткани с более низким уровнем риска (например, кровь) по сравнению с другими (например, лимфотетивулярные ткани), данные об уровнях

инфекционности этих тканей слишком ограничены, чтобы выделить в этой категории подкатегории с различным уровнем риска. Также очевидно, что отнесение определенной ткани к той или иной категории может зависеть от заболевания или вида животных, и подлежит пересмотру по мере появления новых данных.

Категории в таблице номер.-1 являются ориентировочными, поэтому важно отметить следующие пункты.

– В определенных ситуациях может произойти перекрестная контаминация тканей с различной категорией инфекционности. На вероятность риска будут влиять условия получения тканей, в частности, наличие контакта тканей с низкой инфекционностью или тканей с неопределяемой инфекционностью (категории IB и IC) с тканями с высокой инфекционностью (категория IA). Степень перекрестной контаминации некоторых тканей может быть увеличена, если в процессе убоя зараженных животных используют проникающие или непроникающие процедуры разрушения головного мозга и (или) распиливания головного или спинного мозга. Риск перекрестной контаминации будет меньше при заборе биологических жидкостей организма с минимальным повреждением ткани и удалении клеточных компонентов, и при сборе эмбриональной крови без контаминации другими материнскими или эмбриональными тканями, включая плаценту, амниотическую и аллантоисную жидкости. Перекрестную контаминацию определенных тканей с тканью категории IA очень трудно или не возможно предотвратить (например, череп). Это должно быть учтено при оценке риска.

– Для определенных классов материалов используемая техника убоя с разрушением/распиливанием может быть критична для снижения потенциального риска из-за вероятности попадания частиц мозга в периферические органы, в частности, в легкие. Техника разрушения/распиливания должна быть описана, также как и процедуры удаления тканей с высокой инфекционной активностью. Должны быть подробно описаны процедуры сбора тканей/органов животных, подлежащих использованию, и принимаемые меры по предупреждению перекрестной контаминации материалом более высокого риска.

– Риск контаминации органов и тканей потенциально опасными в отношении ГЭ КРС материалами центральной нервной системы при использовании для убоя КРС техники оглушения зависит от следующих факторов:

- количественное содержание инфекционных возбудителей ГЭ КРС в мозгу умерщвленного животного;
- степень повреждения головного мозга;
- диссеминация (уровень загрязнения) кусочками головного мозга тела животного.

Указанные факторы следует оценивать во взаимосвязи с источником происхождения животных по классификации, возрастом животных в случае использования КРС и посмертными исследованиями КРС с помощью валидированных методик.

Основные принципы, описанные выше, также применимы к овцам и козам.

Риск возникновения перекрестной контаминации будет зависеть от некоторых дополнительных факторов, включая:

- меры, предпринятые для предупреждения контаминации во время сбора тканей;
- уровень контаминации (количество контаминирующих тканей);
- количество и тип материалов, собираемых одновременно.

Производители должны оценивать риск с учетом вероятности перекрестной контаминации.

Обобщенные современные данные о распределении инфекционности и PrP^{TSE} у коров с ГЭ КРС и у овец и коз со скрейпи представлены в таблицах, приведенных в Приложении к данной общей фармакопейной статье. Информация в таблицах основана исключительно на наблюдениях за случаями заболеваний в природе или экспериментальном инфицировании при заражении во внутрь (у КРС), и не содержит данных о моделях, использующих штаммы ГЭ, адаптированные к экспериментальным животным, так как пассажи могут значительно и непредсказуемо изменить их фенотип в сравнении с имеющимися в природе возбудителями заболевания.

При оценке риска необходимо учитывать классификацию тканей, приведенную в таблицах Приложения к данной общей фармакопейной статье.

2.6. ВОЗРАСТ ЖИВОТНЫХ

В качестве источника материалов рекомендуется использовать молодых животных, поскольку инфекционная активность при ГЭ у КРС нарастает в инкубационный период, длящийся нескольких лет.

Дополнительно следует отметить, что возрастные критерии зависят также от географического происхождения. Возраст является более важным показателем для материалов из стран, где риск выше (страны категорий В и С), чем в странах с низким риском ГЭ КРС (страны категории А).

2.7. ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ПРОЦЕСС

Оценка общего снижения возможного риска в лекарственных препаратах в отношении ГЭ должна проводиться с учетом мер по контролю:

- источника сырья/исходных материалов;
- производственного процесса.

Контроль источников материалов является очень важным критерием по обеспечению приемлемой безопасности продукта, вследствие имеющихся данных о резистентности возбудителей ГЭ к большинству инактивирующих процедур.

Контроль производственного процесса и его серийности (то есть формирование серий, разделение партий, процедуры очистки между производством разных серий) должен осуществляться в рамках соответствующей системы обеспечения качества.

Необходимо выполнять процедуры, обеспечивающие прослеживаемость материалов, проведение внутренних аудитов и аудитов поставщиков сырья/исходных материалов.

Определенные технологические процедуры могут значительно снизить риск контаминации ГЭ, например, процедуры, используемые при производстве материалов из жиров (см. раздел 5 данной общей фармакопейной статьи). Так как жесткая обработка не может быть применена ко многим материалам, процессы физического удаления материала, обогащенного прионами, такие как осаждение и фильтрация, более приемлемы, чем химическая обработка. Должно быть представлено описание производственного процесса, включая внутрипроизводственный контроль, а также обсуждены меры, позволяющие снизить или исключить контаминацию ГЭ. В случае участия в производственном процессе нескольких производственных площадок, должны быть четко указаны стадии, выполняемые на каждой площадке. Должны быть описаны все

принимаемые меры по обеспечению мониторинга исходного материала каждой производственной серии.

Процесс очистки. Процедура очистки технологического оборудования может быть трудновалидируемой на способность удаления агентов ГЭ. Имеются сообщения о том, что после работы с препаратами с высоким титром возбудителей ГЭ количество возбудителей инфекции, поддающееся обнаружению, может быть адсорбировано на поверхности нержавеющей стали. Удаление всех адсорбированных белков при помощи 1 М раствора натрия гидроксида или хлорсодержащих дезинфектантов (например, 20 000 ppm хлора в течение 1 ч) считается приемлемым методом в случаях, когда оборудование, подвергшееся воздействию потенциально контаминированного материала, не может быть заменено. Мягкая обработка щелочью предельной концентрации или стабилизированной хлорной известью в комбинации с моющими средствами, проводимая при заданных температурах, показывает способность удаления прионов, как и в классических процедурах очистки с использованием натрия гидроксида и хлора. Система, основанная на обработке парами водорода пероксида, также применима для инактивации возбудителей ГЭ. Такие новые процедуры более совместимы с деликатными материалами и могут быть пригодны для практического использования.

Если при производстве продукции используют материалы с риском ГЭ, должны быть введены в действие процедуры очистки, в том числе меры контроля, для минимизации риска перекрестной контаминации между производственными сериями. Это особенно важно, если материалы из разных категорий риска обрабатывают на том же заводе и том же оборудовании. Если при производстве продукта используют материалы категории 1А, должно быть применено специальное оборудование, при отсутствии других указаний.

Для разработки и утверждения новых процедур дезактивации необходимы дальнейшие исследования с целью снижения риска перекрестной контаминации материалов и оборудования, которые несовместимы с процедурами, рекомендованными ВОЗ.

Валидация процедур удаления и (или) инактивации. Исследования по валидации процедур удаления и (или) инактивации ГЭ трудно поддаются оценке. Необходимо принимать во внимание природу материала и его применимость в естественном состоянии, дизайн исследования (включая уменьшение масштаба технологических процессов) и методики обнаружения возбудителя (*in vitro* или *in vivo*). В настоящее время проведение работ по валидации не требуется. Однако если имеются утверждения о безопасности продукта в отношении ГЭ, основанные на способности производственных процессов удалять или инактивировать возбудителей ГЭ, они должны быть подтверждены соответствующими экспериментальными исследованиями.

Процесс производства, по возможности, должен быть разработан с учетом имеющейся информации о методах, считающихся пригодными для инактивации или удаления возбудителей ГЭ. Для некоторых видов продукции (см. раздел 5.3. данной общей фармакопейной статьи), у которых валидированный процесс удаления и (или) инактивации затруднен в применении, может потребоваться оценка, которую следует основывать на исходном материале и любых опубликованных данных о риске ГЭ.

3. ОЦЕНКА РИСКА МАТЕРИАЛОВ ИЛИ СУБСТАНЦИЙ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕ И ИЗГОТОВЛЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Всесторонняя оценка риска для лекарственного препарата, должна содержать оценку риска для всех материалов, полученных от ТГЭ-релевантных видов животных, и, по возможности, оценку снижения содержания возбудителей ГЭ или их инактивации на технологических стадиях производства субстанции для фармацевтического применения или готового продукта и должна показать, что все факторы риска ГЭ были учтены и, по возможности, риск был минимизирован.

Выбор и обоснование порядка контроля материала, полученного от ТГЭ-релевантных видов животных осуществляется производителем с учетом последних данных научно-технического прогресса. Окончательное решение о соответствии установленным требованиям принимает уполномоченный орган.

4. ОЦЕНКА СООТНОШЕНИЯ ПОЛЬЗА–РИСК

Для решения вопроса о приемлемости лекарственного средства, содержащего материалы, полученные от ТГЭ-релевантных видов животных, или в производстве которого используют материалы животного происхождения, необходимо учитывать следующие факторы:

- путь введения лекарственного препарата;
- количество материала животного происхождения, входящего в состав лекарственного средства;
- максимальная терапевтическая доза (суточная доза и продолжительность лечения);
- показания к применению лекарственного препарата и его клиническая эффективность;
- наличие видового барьера.

Ткани с высокой инфекционностью (ткани категории IA) и продукты, полученные из них, не должны использоваться в производстве лекарственных средств, исходных материалов для них и полупродуктов (включая активные фармацевтические субстанции, вспомогательные вещества и реактивы), при отсутствии другого обоснования. Их применение в производстве активных фармацевтических субстанций допускается в исключительных обстоятельствах, если представлены:

- надежное обоснование необходимости их использования;
- положительная оценка соотношения польза-риск согласно предполагаемому применению.

Субстанции для фармацевтического применения, производимые из материалов категории IA, если их использование обосновано, должны быть получены от животных из стран с незначительным риском (категория A).

5. ПОЛОЖЕНИЯ ПО ОТДЕЛЬНЫМ МАТЕРИАЛАМ

5.1. КОЛЛАГЕН

Коллаген представляет собой фибриллярный белковый компонент соединительной ткани млекопитающих, который получают из костей, шкур и кожи, спилок шкур, связок и сухожилий.

Документация для коллагена, подтверждающая соответствие требованиям данного раздела, должна быть представлена с учетом положений разделов с 2 по 4. Кроме того, должно быть рассмотрено следующее.

– Для коллагена, полученного из костей, применяют требования, установленные для желатина (см. ниже). Однако в процессе производства коллагена, в отличие от производства желатина, вероятно более низкая возможность инактивации прионов, поэтому источник получения материала является более критичным по риску передачи ГЭ.

– Коллаген, произведенный из таких тканей, как шкура, кожа, связки и сухожилия, обычно не обладает существенным риском в отношении ГЭ, если возможность контаминации потенциально зараженными материалами, например попадание крови и (или) тканей ЦНС, при их заготовке исключена. Поэтому шкуры представляют более безопасное сырье для имплантатов человека, полученных из коллагена. Вместе с тем, перекрестное загрязнение мозговой тканью, произошедшее во время убоя и высохшее у поверхности кожи, устранить трудно, что представляет дополнительный аспект, требующий учета при оценке безопасности данного исходного материала.

Процесс производства коллагена может включать несколько общих стадий с получением желатина, например, обработка щелочью, натрия сульфатом, кальция гидроксидом и натрия гидроксидом или ферментативная обработка. Тем не менее, даже эти общие стадии могут различаться по продолжительности и значениям pH, что может привести к существенным различиям в их инактивирующей способности. Для поддержания безопасности продукта в процессе производства коллагена должен присутствовать этап оценки риска, базирующийся на сходстве этапов обработки коллагена и инактивации желатина. Кроме этапов обработки существуют также различия в конечном использовании материала и, следовательно, в их оценке риска; в то время как желатин широко используется для приема внутрь, коллаген часто применяется в форме хирургических имплантатов. Данный аспект также следует учитывать при окончательной оценке риска.

5.2. ЖЕЛАТИН

Желатин представляет собой природный растворимый белок, гелеобразующий или негелеобразующий, полученный частичным гидролизом коллагена, производимого из костей, шкур и кожи животных.

Документация, подтверждающая соответствие желатина данному разделу общей фармакопейной статьи, должна быть представлена с учетом положений разделов с 2 по 4.

Источники материала

Желатин, входящий в состав лекарственных средств, может быть произведен из костей или шкур. Шкуры, при условии предупреждения во время заготовки перекрестной контаминации потенциально зараженными материалами, представляют собой более безопасный исходный материал, чем кости.

Шкуры как исходный материал. Шкуры, используемые для производства желатина, представляют собой более безопасный источник материала, чем кости. При этом настоятельно рекомендуется обеспечить условия, предупреждающие перекрестную контаминацию потенциально зараженными материалами во время заготовки.

Кости как исходный материал. При использовании костей для производства желатина, для обеспечения безопасности конечного продукта необходим контроль по дополнительным параметрам. При получении желатина из костей крупного рогатого скота необходимо контролировать качество исходных материалов и выполнять следующие условия:

- череп и позвоночник, содержащий спинной мозг, должны быть исключены из состава сырья (исходное сырье/исходный материал) независимо от возраста и страны происхождения КРС;
- позвонки должны быть удалены из исходного сырья/исходного материала от КРС с возрастом старше 30 месяцев из стран с контролируемым или неопределенным риском ГЭ КРС (категории В или С);
- желатин для парентерального использования должен быть произведен из костей, полученных из стран с незначительным или контролируемым риском ГЭ КРС (категории А и В, соответственно). Желатин для приема внутрь может быть произведен из костей, полученных из стран с незначительным, контролируемым или неопределенным риском ГЭ КРС (категории А, В и С, соответственно);
- желатин должен быть произведен одним из способов, описанных ниже.

Способы производства

Шкуры. При производстве желатина из шкур не требуется особых конкретных способов и условий переработки, если выполняются все процедуры для предупреждения перекрестной контаминации как при заготовке шкур, так и в ходе производственного процесса.

Кости. Если в качестве исходного материала используют кости, способ производства будет являться вторым параметром, который будет обеспечивать безопасность желатина.

– Желатин может быть произведен из костей из источников в странах с незначительным, контролируемым или неопределенным риском ГЭ КРС (категории А, В или С) получаемых в соответствии с условиями, описанными в разделе 5.2, с использованием в процессе производства кислот, щелочей или нагrevания или давления.

– При проведении оценки риска должен быть принят во внимание производственный процесс в соответствии с описанием в разделе 3 данной общей фармакопейной статьи. В валидационных экспериментах показано, что использование в производстве желатина как кислот, так и щелочей, позволяет инактивировать/удалять агенты ГЭ. Исследования показали, что дополнительная обработка костей/оссеина щелочью (рН 13) в течение 2 ч значительно повышает способность процесса производства инактивировать/удалять ГЭ. Введение в технологический процесс стадий производства фильтрования, ионообменной хроматографии и ультравысокотемпературной стерилизации также повышает степень безопасности желатина.

– При стандартном щелочном способе производства для получения костной ткани (оссеин), кости мелко измельчают, обезжиривают горячей водой и деминерализуют

раствором хлороводородной кислоты (не менее 4 % при pH не более 1,5) в течение не менее 2 сут. Затем проводят щелочную обработку насыщенным раствором кальция гидроксида (pH не менее 12,5) в течение 20 сут;

– Кости КРС могут быть переработаны с помощью кислотного способа (предварительная обработка кислотой), при котором оссеин вымачивается при pH не более 3,5 в течение не менее 10 ч;

– Как к кислотному, так и к щелочному способам производства желатина применима высокотемпературная обработка (стерилизация) при температуре не менее 138 °C в течение не менее 4 с;

– При производственном процессе с использованием нагревания и давления, высушенные, измельченные и обезжиренные кости автоклавируют с помощью насыщенного пара при давлении более 3 бар и температуре не менее 133 °C в течение не менее 20 мин, с последующей экстракцией белков горячей водой.

Заключительные стадии при использовании процессов кислотной, щелочной или температурной обработки под давлением практически одинаковы и включают экстракцию желатина, промывание, фильтрацию и концентрирование.

5.3. МАТЕРИАЛЫ ИЗ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ЕЕ КОМПОНЕНТЫ

Эмбриональная (фетальная) сыворотка КРС широко используется при работе с клеточными культурами. Фетальная сыворотка КРС должна быть получена из плодов, извлеченных на скотобойнях у здоровых коров, пригодных для употребления в пищу человеком; матка должна быть полностью удалена; эмбриональная кровь собирается в закрытую систему для сбора крови в специально предназначенном для этого месте или зоне в асептических условиях путем сердечной пункции.

Сыворотку новорожденных телят получают у телят в возрасте до 20 дней; сыворотку телят – у животных в возрасте менее 12 месяцев. Донорскую сыворотку КРС получают у животных в возрасте не более 36 месяцев, при этом наличие отрицательного статуса стада в отношении ГЭ должно быть четко определено и зарегистрировано.

Во всех случаях, для предупреждения перекрестной контаминации тканями с более высоким риском, сыворотка должна быть собрана обученным персоналом согласно определенным процедурам, регламентируемым соответствующими нормативными документами.

С целью подтверждения соответствия материалов из крови КРС и ее компонентов требованиям данной общей фармакопейной статьи документация на них должна быть представлена с учетом положений разделов 2 и 4 (таблица номер.-2.). Кроме того, следует учитывать следующее.

Прослеживаемость

Должна быть обеспечена прослеживаемость каждой серии сыворотки или плазмы до скотобойни. У скотобоев должны храниться списки ферм, откуда поступили животные. Если сыворотка получена у живых животных, для каждой серии сыворотки должны вестись записи, обеспечивающие прослеживаемость ее происхождения с соответствующей фермы.

Географическое происхождение

В связи с тем, что уровень инфекционности ГЭ КРС тканей КРС более высокий, чем в отношении скрепи, в качестве меры предосторожности кровь КРС должна быть получена из стран категории А. Кровь КРС из стран категории В также является приемлемой при условии, что нет риска перекрестного заражения крови тканями мозга при убое животных в возрасте более 21 месяца.

Методы оглушения

Если образцы получают от убитых животных, метод убоя играет важную роль в обеспечении безопасности материала. Было установлено, что оглушение пистолетом с выдвигающимся ударным стержнем с прокалыванием или без прокалывания спинного мозга, так же как пневматическим ударным аппаратом, особенно с введением воздуха, может разрушить мозг и привести к распространению тканей мозга через кровотоки. Непроницающее оглушение (без пенетрации) больше не рассматривают в качестве альтернативы оглушению с проникновением (с пенетрацией). Незначительный риск можно ожидать от электронаркоза, но даже это не обеспечивает полную безопасность, потому что, в случае неудачи, животные, возможно, будут подвергнуты дополнительному оглушению. Методы оглушения должны быть описаны в процессе сбора крови КРС.

Всегда, когда при убоях в странах с контролируемым ГЭ КРС риском (категория В) возможен риск перекрестного заражения крови тканью мозга, должны применяться такие меры безопасности как ограничение возраста скота и (или) уменьшение содержания инфекционных агентов в процессе производства.

Возраст

Для стран с контролируемым риском ГЭ КРС (категория В), в качестве меры безопасности для крови КРС и ее компонентов применяют ограничение возраста до 21 месяца, если производство не предполагает существенного снижения содержания агентов ГЭ. Возрастное ограничение до 30 месяцев считается достаточным для компонентов крови, если значительное снижение содержания агентов ГЭ можно подтвердить, как описано ниже.

Снижение содержания ГЭ агентов в процессе производства

Возможность производственного процесса уменьшать/устранять агенты ГЭ для компонентов крови должна быть оценена в экспериментальных исследованиях. Оценка может быть основана на собственных или литературных данных, в случаях, когда можно показать их актуальность для конкретного производственного процесса. Если невозможно сделать вывод о сопоставимости способностей к снижению, производителям рекомендуется провести исследования по конкретным продуктам. Исследования с использованием биохимических анализов могут быть достаточными, если есть научные доказательства, что анализы коррелируют с данными об инфекционности. В исследованиях, изучающих риски, связанные с использованием крови, загрязненной тканями мозга, могут быть использованы препараты, полученные из головного мозга.

Таблица номер.-2. – Концепция для определения соответствия требованиям крови КРС/сыворотки и ее компонентов

Продукт	Фетальная сыворотка КРС	Донорская телячья сыворотка	Донорская сыворотка КРС взрослого животного	Телячья сыворотка	Взрослая сыворотка КРС	Сыворотка/плазма/компоненты сыворотки КРС взрослого животного	Компоненты сыворотки КРС взрослого животного	Компоненты сыворотки КРС взрослого животного
Географическое происхождение КРС	Категория А и В	категория А и В	категория А и В ¹	Категория А и В	Категория А	Категория В	Категория А	Категория В
Возраст КРС	Еще нерожденный	< 1 года	< 36 месяцев	< 1 года	Не ограничен	< 21 месяца ²	Не ограничен	< 30 месяцев
Убой/перекрестная контаминация крови материалами ЦНС	Нет риска перекрестной контаминации				Риск перекрестной контаминации			
Доказательство снижения содержания прионов в процессе производства	Нет				Нет			
					Да ³			

Примечания:

¹ Если источник из стран категории В, то КРС должен быть из четко определенных и документированных стад.

² Более старший возраст может быть разрешен, если перекрестное загрязнение крови материалами ЦНС исключено (например, халяльный убой).

³ Доказательство снижения содержания прионов может не требоваться, если перекрестное загрязнение крови материалами ЦНС исключено (например, халяльный убой).

5.4. МАТЕРИАЛЫ ИЗ ТВЕРДОГО ЖИРА

Твердый жир получают из тканей подкожных, брюшных и межмышечных областей и костей. В качестве исходного материала для изготовления производных жира используют твердый жир, соответствующий санитарным правилам, касающихся субпродуктов животного происхождения, не предназначенных для употребления человеком.

Безопасным в странах с неопределенным риском ГЭ КРС является жир с максимальным количеством нерастворимых примесей в 0,15% и продукты из такого жира. Материалы, полученные из такого твердого жира, глицерин и жирные кислоты, не представляют риск в отношении передачи ГЭ в случае использования в производственном процессе жестких условий обработки.

Материалы, произведенные при использовании следующих технологических процессов, будут соответствовать требованиям данного раздела, независимо от географического происхождения и природы тканей, из которых они получены:

- трансэтерификация или гидролиз при температуре не менее 200 °С в течение не менее 20 мин под давлением (производство глицерина, жирных кислот и сложных эфиров жирных кислот);
- омыление с помощью 12 М раствора натрия гидроксида (производство глицерина и мыла);
- серийный процесс: при температуре не ниже 95 °С в течение не менее 3 ч;
- непрерывный процесс: при температуре не ниже 140 °С, под давлением в течение не менее 8 мин, или эквивалентная обработка;
- перегонка при температуре 200 °С.

Производные твердых жиров, произведенные в соответствии с такими условиями, не представляют какого-либо риска в отношении передачи ГЭ, и, следовательно, соответствуют требованиям данного раздела.

Производные твердых жиров, произведенные в других условиях, должны соответствовать требованиям данного раздела.

5.5. УГОЛЬ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Уголь животного происхождения получают путем обугливания тканей животных, таких как кости, при температуре выше 800 °С.

Исходный материал для производства угля животного происхождения должен соответствовать санитарным правилам, касающихся субпродуктов животного происхождения, не предназначенных для употребления человеком, при отсутствии другого обоснования. Независимо от географического происхождения и природы ткани нормативные требования к углю животного происхождения должны быть рассмотрены в соответствии с данным разделом.

Уголь, произведенный в соответствии с описанными условиями, не представляет какого-либо риска в отношении передачи ГЭ, и, следовательно, будет соответствовать требованиям данного раздела.

Уголь, произведенный в других условиях, должен соответствовать требованиям данного раздела.

5.6. МОЛОКО И МАТЕРИАЛЫ ИЗ МОЛОКА

В свете современных научных знаний и независимо от географического происхождения, молоко КРС не представляет никакого риска по заражению ГЭ.

Некоторые материалы, включая лактозу, экстрагируют из молочной сыворотки или остаточной жидкости при производстве сыра после свертывания (коагуляции). При коагуляции может использоваться сычужный фермент телят (экстракт сычуга) или сычужный фермент, полученный от других жвачных животных.

Производные коровьего молока, произведенные в описанных ниже условиях, не представляют риска ГЭ и, следовательно, соответствуют требованиям:

- молоко должно быть получено от здоровых животных в тех же условиях, что и молоко, пригодное для употребления человеком;
- никакие другие материалы от жвачных животных, за исключением сычужного фермента телят, не используют при получении таких производных (например, гидролизатов казеина с использованием панкреатических ферментов).

Производные молока, полученные другим способом или с использованием производных сычужного фермента от других видов жвачных животных, должны соответствовать требованиям данного раздела.

5.7. МАТЕРИАЛЫ ИЗ ШЕРСТИ

Материалы из шерсти и волос жвачных животных, такие как ланолин и ланолиновые спирты (спирты шерстяного воска), полученные из волос, должны соответствовать требованиям данного раздела при условии, что шерсть и волосы получены от живых животных.

Материалы из шерсти и волос умерщвленных жвачных животных, предназначенных для употребления в пищу, не представляют какого-либо ГЭ риска, если получены с использованием в производственном процессе параметров pH, температуры и продолжительной обработки, соответствующих, как минимум, одному из указанных ниже условий:

- обработка при pH не менее 13 (первоначальная, соответствует концентрации натрия гидроксида не менее 0,1 М) при 60 °C в течение не менее 1 ч. Это происходит обычно на стадии щелочной обработки органического материала.
- молекулярная дистилляция при высокой температуре более 220 °C при пониженном давлении.

Материалы из шерсти, полученные в других условиях, должны соответствовать требованиям данного раздела.

5.8. АМИНОКИСЛОТЫ

Аминокислоты могут быть получены путем гидролиза материалов из различных источников.

Исходный материал для производства аминокислот должен отвечать санитарным правилам, касающихся субпродуктов животного происхождения, не предназначенных для потребления человеком, при отсутствии другого обоснования.

Аминокислоты не представляют риска передачи ГЭ, если их производство включает следующие стадии технологического процесса:

- обработку материала при рН от 1 до 2, далее при рН не менее 11, с последующей термообработкой при 140 °С в течение 30 мин при давлении 3 бара;
- фильтрование полученных аминокислот после обработки;
- анализ чистоты проводится с помощью валидированной и чувствительной методики, позволяющей оценить содержание всех остаточных негидролизированных макромолекул в установленных допустимых пределах.

Аминокислоты, полученные в других условиях, должны соответствовать требованиям данной общей фармакопейной статьи.

5.9. ПЕПТОНЫ

Пептоны представляют собой частичные гидролизаты белка, полученные в результате ферментативного или кислотного расщепления.

Пептоны используют в микробиологических питательных средах для полноценного питания микроорганизмов, используемых в качестве посевного материала или в ферментерах промышленного масштаба для производства лекарственных препаратов, в том числе вакцин для медицинского и ветеринарного применения. Существует значительный интерес в использовании растительного белка как альтернативы животного белка. Тем не менее:

- если в качестве источника белка используется желатин, то он должен отвечать требованиям раздела 5.2 данной общей фармакопейной статьи;
- если в качестве источника белка используется казеин, то он должен отвечать требованиям раздела 5.6 данной общей фармакопейной статьи;
- если в качестве источника белка используются ткани видов животных подверженных ГЭ, то их получают от животных, пригодных для употребления в пищу (см. раздел 2.4 данной общей фармакопейной статьи) с максимальным возрастом 30 месяцев для КРС из стран с контролируемым риском ГЭ КРС (категория В). Для животных из стран с незначительным риском ГЭ КРС (категория А) возраст животных практически не влияет на оценку риска.

ПРИЛОЖЕНИЕ
Основные категории инфекционности

Приведенные ниже таблицы взяты из Руководства ВОЗ «Распределение тканей по инфекционности при трансмиссивной губчатой энцефалопатии» (WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies) (2010).

Введенные данные соответствуют следующему:

- + – наличие инфекционности или PrP^{TSE}
- – отсутствие определяемой инфекционности или PrP^{TSE}
- НИ – не исследовалось
- НП – не применимо
- ? – неопределенная интерпретация
- () – ограниченные или предварительные данные
- [] – данные об инфекционности или PrP^{TSE} основаны исключительно на биопробах на трансгенных (Tg) мышцах, экспрессирующих дополнительно ген PRP-кодирования, или методах амплификации PrP^{TSE}.

Категория IA: Ткани с высокой инфекционностью

Ткань	Крупный рогатый скот ГЭ КРС		Овцы и козы Скрейпи	
	Инфекционность	PrP ^{TSE}	Инфекционность	PrP ^{TSE}
Мозг	+	+	+	+
Спинной мозг	+	+	+	+
Сетчатка	+	НИ	НИ	+
Зрительный нерв	+	НИ	НИ	+
Спинальный ганглий	+	+	+	+
Ганглий тройничного нерва	+	+	НИ	+
Гипофиз	–	НИ	+	+
Твердая мозговая оболочка	НИ	НИ	НИ	НИ

Категория IB: Ткани с низкой инфекционностью

Ткань	Крупный рогатый скот ГЭ КРС		Овцы и козы Скрейпи	
	Инфекционность	PrP ^{TSE}	Инфекционность	PrP ^{TSE}
Периферические нервы	[+]	+	+	+
Вегетативные ганглии ⁴	НИ	+	НИ	+
Лимфоретикулярные ткани				
Селезенка	–	–	+	+
Лимфатические узлы	–	–	+	+
Миндалевидная железа	+	–	+	+
Мигательная перепонка	+	–	[+]	+
Тимус	–	НИ	+	+
Пищеварительный тракт				
Пищевод	–	НИ	[+]	+

Рубец ⁶ (только для жвачных животных)	–	НИ	[+]	+
Желудок/сычуг	–	НИ	[+]	+
12-перстная кишка	–	–	[+]	+
Тощая кишка	–	+	[+]	+
Подвздошная кишка	+	+	+	+
Аппендикс	НП	НП	НП	НП
Толстая кишка/слепая кишка	–	–	+	+
Прямая кишка	НИ	НИ	НИ	+
Репродуктивные ткани				
Плацента	–	НИ	+	+
Яичник	–	НИ	–	–
Матка	–	НИ	–	–
Другие ткани				
Молочная железа/вымя	–	НИ	–	+
Кожа	–	НИ	–	+
Жировая ткань	–	НИ	НИ	НИ
Сердце/перикард	–	НИ	–	НИ
Легкие	–	НИ	–	–
Печень	–	НИ	+	–
Почки	–	–	[+]	+
Надпочечники	[+]	+	+	–
Поджелудочная железа	–	НИ	+	НИ
Костный мозг	[+]	НИ	+	НИ
Скелетные мышцы	[+]	НИ	[+]	+
Язык	–	НИ	[+]	+
Кровеносные сосуды	–	НИ	НИ	+
Слизистая оболочка носа	–	НИ	+	+
Слюнная железа	–	НИ	+	НИ
Роговица	НИ	НИ	НИ	НИ
Жидкости организма, секреты и выделения				
Цереброспинальная жидкость	–	НИ	+	–
Кровь	–	?	+	?
Слюна	НИ	НИ	–	НИ
Молоко	–	–	+	[+]
Моча	–	НИ	–	–
Фекалии	–	НИ	–	НИ
Категория IC: Ткани с неопределяемой инфекционностью				
Ткань	Крупный рогатый скот ГЭ КРС		Овцы и козы Скрейпи	
	Инфекционность	PrP ^{TSE}	Инфекционность	PrP ^{TSE}
Репродуктивные ткани				

Яички	—	НИ	—	—
Предстательная железа /придатки семенника / семенные канатики	—	НИ	—	—
Сперма	—	НИ	—	—
Плацентарная жидкость	—	НИ	НИ	НИ
Плод	—	НИ	—	—
Эмбрион	—	НИ	?	НИ
Скелетно-мышечные ткани				
Кость	—	НИ	НИ	НИ
Сухожилие	—	НИ	НИ	НИ
Другие ткани				
Ткани десны	НИ	НИ	НИ	НИ
Зубная пульпа	НИ	НИ	НИ	НИ
Трахея	—	НИ	НИ	НИ
Щитовидная железа	НИ	НИ	—	НИ
Жидкости организма, секреты и выделения				
Молозиво	(—)	—	(?)	НИ
Пуповинная кровь	—	НИ	НИ	НИ
Пот	НИ	НИ	НИ	НИ
Слезы	НИ	НИ	НИ	НИ
Назальная слизь	НИ	НИ	НИ	НИ
Желчь	НИ	НИ	НИ	НИ