

血浆衍生产品的病毒安全性

幻灯片 1

本演示文稿将涵盖血浆衍生产品的病毒验证研究。美国食品药品监督管理局（FDA）要求生物制药产品的生产工艺必须经过验证，以确保其灭活和清除病毒的能力。本演示文稿将对验证研究，以及 FDA 评估此类验证数据的方法加以概述。

幻灯片 2

本演示文稿将概述当前确保血液和血液制品病毒安全性的方法。重点将放在所生产的产品上，以及病毒验证和病毒清除如何在确保其病毒安全性方面发挥主要作用。

幻灯片 3

为确保输血和所生产的血液制品的安全性，已设置了多重安全措施，包括筛查供体的健康状况，以及传染性疾病的风险因素。此外，还使用供体延期登记，以排除来自不合适供体的血液和血浆收集。下一个预防措施是检测捐赠血液中大家可能熟知的特定病毒标志物。下一张幻灯片中将提供这些病毒标志物的列表。所收集的捐赠血液将被隔离，直到得出检测结果。最后，还设有一个监测系统，对所报告的与血液和血液制品有关的任何类型的不良反应事件进行调查，以确保缺陷得以纠正。

幻灯片 4

该图表显示了输血用血和生产其他血液制品所用血浆所需或推荐的病毒标志物检测。对所捐献血液的检测要求与所捐献血浆的检测要求略有不同。所捐献血液需检测乙肝表面抗原（HBSAG），即乙肝病毒（HBV）的表面抗原，以及抗乙肝核心抗原抗体（anti-HBc）。所捐献血液需检测 anti-HBc，但所捐献血浆则不必检测此项。丙型肝炎（HCV）的检测通过检测丙型肝炎病毒抗体和核酸（HCV-NAT）完成。“输血用血”和“进一步生产用血浆”都需要进行这些检测。

艾滋病毒也是如此。我们使用血清学和核酸检测对其进行检测。P24 抗原检测已被艾滋病毒核酸检测（HIV-NAT）所取代。对于人类 T-淋巴细胞白血病病毒（HTLV）I 型和 II 型，“输血用血”进行血清学检测，“进一步生产用血浆”不进行血清学检测。血液需要进行西尼罗河病毒核酸检测，对“进一步生产用血浆”的西尼罗河病毒核酸检测不进行要求或推荐。

幻灯片 5

关于本次演示文稿的重点—血浆衍生产品，除了前面概述的五重安全措施之外，还有另一个确保这些产品病毒安全性的重要步骤—在这些产品的生产工艺中纳入病毒清除步骤。对于任何生产产品，申办者都需要展示其生产工艺清除与该特定产品有关的病毒的能力。当然，除此之外，现行药品生产质量管理规范（cGMP）也适用于生产的产品。关于病毒清除，FDA 需要企业确保病毒灭活产品与非灭活产品相隔离。

幻灯片 6

病毒清除的目的，以及 FDA 要求进行病毒验证研究的原因是为了提供证据，以证明生产工艺有能力有效地灭活和清除令人担忧的病毒，即可能在供体体内发现的致病病毒。这些是目前供体被筛查的病毒。清除步骤的目的是清除生产原料中可能存在的残留病毒。例如，当一个阳性捐献被不经意地使用，或一个阳性捐献因处在血清学和核酸检测“窗口期”而检测结果为阴性时，病毒清除可以确保病毒不会进入最终产品。

除了清除已知的致病病毒之外，病毒验证研究还应表明病毒清除步骤的强健性，即可以清除或灭活未知的病毒，或未对供体进行检测的病毒。这可以通过验证研究证明，显示生产工艺可以清除具有不同理化特性的多种病毒。

幻灯片 7

需注意，病毒清除指的是病毒灭活和/或去除。特定生产工艺中的病毒清除步骤可能是有意设计的-也就是说，为了清除病毒，这些步骤已经被包含在生产过程中。例如，这些步骤可以是化学灭活，如溶剂清洁剂处理，是为了清除病毒而采取的步骤。另一个例子是过滤，比如纳滤，旨在去除病毒。另一个是终端热处理，也用于多个产品。

然而，生产工艺中的一些病毒清除步骤可能并不是明确的为了清除病毒的目的，而是作为整个蛋白质净化步骤的一部分，且被证明这些步骤也有助于清除病毒。例如，血浆衍生产品和重组产品生产工艺中的一些沉淀和分离步骤也具有病毒清除能力。另一个例子是，低 pH 值处理也被证明有助于清除病毒。

在估算特定生产工艺的总体病毒清除能力时，将分别评估每个清除步骤。特定工艺的总对数去除率是工艺中各个清除步骤的总和。这些不同步骤应与不同的、独立的机制一起发挥作用，以达到叠加效果，且不应过高估计生产工艺的清除能力。

幻灯片 8

接下来的几张幻灯片将涵盖 FDA 期待看到的生产工艺中进行病毒清除的现行策略，重点在血浆衍生产品。

第一步是选择要进行研究的病毒。显然，人们想要研究的是与产品以及起始物料相关的病毒。然后，需要确保有验证的分析方法，以便检测和确定所研究病毒的滴定度。

病毒验证研究不是在实际生产过程中进行的，而是在生产环境之外的实验室内进行的，目的是防止病毒进入生产区域。FDA 关注的重要验证部分之一是小规模或实验室规模模型与实际生产过程的相关性。一旦确定了这一小规模与实际生产过程步骤的相关性，那么将在特定的清除步骤中加入高滴度的测试病毒。测试病毒可能是相关病毒，也可能是模型病毒。

最后一步是确定所验证步骤的病毒对数去除率。

幻灯片 9

如前所述，不同的步骤是分别验证的。整个生产过程的病毒总对数去除率是由各步骤的对数去除率总和决定的。在评估病毒清除研究时，FDA 希望确保给定小规模清除步骤的关键参数与实际生产过程相同。为此，FDA 会要求生产企业提供两种规模关键参数的一对一对比。如前所述，这样做是为了确保小规模与实际过程的相关性。如果小规模不能模拟实际过程，那么整个试验在保证病毒清除方面是无效的。

幻灯片 10

提交给 FDA 的验证文件应包括所研究病毒的选择以及选择这些病毒的理由说明。显然，测试病毒应该与起始物料相关。如果产品是基于细胞培养的-即重组产品-那么在组织培养中可能发现的病毒应该被用于验证研究。而且，如果该产品来自人体，则应该关注可能存在于血液和血浆中的致病病毒，尤其是那些在供体层面检测的病毒。这种方法可能并非在所有情况下都可行。例如，一些致病病毒可能不会在细胞培养中生长。因此，合适培养基的可用性可能会限制验证研究中所用病毒的选择。

幻灯片 11

一些病毒可能在培养过程中生长不良；也就是说，它们永远不会达到验证研究所需要的高滴度。此外，对于部分病毒而言，可能没有可靠的方法来准确测定病毒滴度。

总体而言，选择病毒进行验证研究的方法是在可行的情况下使用相关病毒。相关病毒更接近于发生实际污染的情况下我们预期存在的病毒。如果使用相关病毒不可行，那么将使用模型病毒替代实际关注的病毒。

幻灯片 12

适应于验证研究的病毒可能与关注的野生型病毒表现不同。如果必须使用模型病毒，那么最好使用已被证明对灭活更有抵抗力的模型病毒，如果验证的是灭活步骤的话。如果要验证去除能力，模型病毒的选择应基于大小以及与相关病毒的理化相似性。现在趋向于使用有更好对数去除率的模型病毒。如前所述，如果对于一个所关注的病毒，有多个不同的模型病毒可以选择，则应该选用更具抵抗力的病毒。

幻灯片 13

针对血浆衍生产品，FDA 希望并要求生产企业在进行病毒验证研究时使用以下病毒：

艾滋病毒。FDA 要求必须使用该病毒，且应该将其纳入涉及人源性产品的所有病毒验证研究中。

至于乙型肝炎病毒（HBV），该病毒不会在培养基中生长，也不存在乙型肝炎病毒的特定模型。但是，有足够的证据表明，少数大型 DNA 病毒可以代表乙型肝炎病毒。过去，黑猩猩被用来研究乙肝病毒的清除。然而，目前不要求或不必要用黑猩猩研究来进行 HBV 清除验证研究。应当指出的是，对于某些病毒来说，已确立的病毒灭活和去除方法的有效性已得到很好的证实。在进行病毒验证研究时，FDA 希望确保生产企业能够将已经证实的方法成功地运用到其生产过程中，并达到对已知病毒的预期清除水平。

丙型肝炎病毒。该病毒也不会培养基中生长，因此有一些可接受的模型病毒可用于清除验证。

甲型肝炎病毒会在细胞培养中生长，因此 FDA 期待企业在其验证研究中使用这种真正的病毒。

细小病毒 B19 是一种无包膜病毒，也有一些小的无包膜病毒被用作 B19 的模型病毒。

简而言之，病毒验证研究的病毒选择应包括艾滋病毒和甲型肝炎病毒（使用实际病毒），以及乙肝病毒、丙肝病毒和 B19 病毒（使用模型病毒）。至于 B19，你可能了解到 B19 的一些培养基仍然被认为是实验性的。因此，我们期望生产企业能够依靠模型病毒来验证 B19。与培养的 B19 相比，B19 模型病毒通常具有较高的抗灭活性，因此更适用于灭活研究。

幻灯片 14

小规模或实验室规模验证是需要评估的整体病毒验证研究的另一个主要组成部分。小规模应包括实际过程中出现的所有关键参数。例如，在色谱法中将考虑体积、大小和几何结构的相对值。在过滤过程中，对于小规模的研究和实际的生产过程，要求压力、通过过滤器表面积和流量相同。在实验室规模和生产规模中，温度、培养时间等绝对值应相同。

幻灯片 15

设计小规模研究时，也需要通过观察某些产品特性来进行验证，如产品的回收。总的来说，小规模的生产方法应该尽可能地反映大规模的生产过程。此外，应该在没有病毒的情况下执行多次运行，以确保小规模实际上代表所考虑的实际步骤。还应该与实际过程进行一些数据比较。如果小规模和实际规模之间存在一些不可避免的预期差异，那么应该提供相应的验证研究，以表明该变化不会影响整体的病毒清除能力，也不会高估杀灭病毒或去除病毒的能力。同样，如前所述，需要确保在实验室中所做的工作代表了实际的生产过程步骤。

幻灯片 16

在灭活的情况下，验证应提供灭活的动力学和程度信息。动力学数据会显示灭活的速度和效率。例如，将 PRV 在 60 度下加热灭活 10 小时，在两个不同的地方对两种不同的产品进行灭活，从而达到相同的病毒减

少水平。动力学研究可能表明，对于一种产品，失活可能发生在前 30 分钟之内，而对于另一种产品，失活可能会在 10 小时后才能实现。当生产企业使用较高浓度的稳定剂时，病毒灭活的速度可能会变慢，因为这种稳定剂也能稳定病毒。此时的动力学数据表明，灭活对一种产品更强劲和有效，而对另一种产品则不那么强劲有效。因此，从动力学研究中得到的数据对于确定该步骤是否有效是非常重要的。

如果是去除步骤，FDA 希望了解病毒被移除后的位置。

幻灯片 17

总的来说，对于血浆衍生产品，FDA 认为生产过程至少应包含两个清除步骤。去除步骤很难按比例缩小和验证，它们本身也不那么可靠。因此，在生产过程中，完全依赖去除步骤进行病毒清除是不可接受的。至少一个清除步骤必须是灭活。

由于很难去除 B19 和甲型肝炎病毒等无包膜病毒，而且因为这些病毒未被灭活，尤其是 B19，因此生产过程中至少要包括一个去除步骤。当然，这取决于产品的类型。一些产品被认为被非包膜病毒污染的风险较高。而对于其它产品，这种风险非常小。因此，需要多大的去除能力取决于生产工艺和产品。

幻灯片 18

另一件应该考虑的事情是评估生产过程变化对工艺病毒清除能力的影响。当 FDA 收到报告工艺变更的补充文件时，首先要考虑的是这种变化对整体病毒清除的潜在影响。因此，如果生产和纯化工艺发生了变化，那么应当确定这些变化对病毒清除的影响，这可能需要进行新的病毒验证研究。

幻灯片 19

本幻灯片概述了有效的病毒清除步骤的总体标准。需要大量的病毒清除。病毒清除步骤如果可重复且可控制，则认为步骤更有效。尤其是如果这些步骤可以很容易地缩小规模和进行验证，则将提高其确信度。大多数灭活步骤都属于这一类，例如，溶剂洗涤剂处理和热处理。证明清除方法有效的另一个标准是显示对产品质量和产品效力的影响最小。本质上，需要清除病毒，但不应损坏产品，不应降低产品的效力。此外，清除步骤不应产生可能导致免疫原性的新抗原。

幻灯片 20

利用验证数据可以估计生产工艺清除病毒的能力。验证并不能使产品更安全，而是提供了安全性的保证。需要注意，验证研究本身也有一些局限性。例如，验证研究使用的病毒株可能与野生型不同。大量研究表明，即使是同一病毒的不同毒株清除程度也可能不同。验证研究中使用的缩小规模的模型，或实验室模型，可能并不完全代表实际生产过程中的实际步骤。还有一种可能是高估病毒杀灭和病毒清除能力。

应当考虑的另一个局限性是过滤去除，它可能随着过滤过程的进行而下降。例如纳米过滤步骤，在这个步骤中，对初始量的过滤产品清除病毒的能力可能不同于后续量的产品。这种现象已经在许多研究中得到了证实。这些是评估病毒验证研究时需要考虑到的局限性。

幻灯片 21

尽管存在上述的局限性，但总体的病毒清除步骤已为包膜病毒提供了极好的病毒安全性。已证明现有的灭活方法在清除包膜病毒方面非常有效。

然而，在清除甲型肝炎病毒和 B19 等无包膜病毒方面仍然存在一些局限性。其原因是，大多数已确立的灭活步骤对无包膜病毒没有或几乎没有效果。例如，热处理对甲型肝炎病毒有一定的效果，尤其在溶液中加热或使用巴氏杀菌法时。然而，热灭活对 B19 无效，正如使用 B19 模型病毒所示。

幻灯片 22

B19 之所以被认为是一个问题，是因为它是一种小型的无包膜病毒，对灭活有抵抗力，而且由于它的体积较小，因此很难去除。此外，该病毒在血浆生产原料中可能以非常高的滴度存在。

小孔径的纳米过滤器可以很大程度上去除 B19。然而，对于我们所处理的大多数产品来说，使用小孔径过滤器可能并不现实，因为它们的分子尺寸较大，也因为在合理的时间长度内，通过小孔径过滤器来过滤大量产品是不现实的。

幻灯片 23

关于 B19，FDA 建议应检测出含有高度 B19 DNA 的源血浆单位，并将其排除在生产原料池之外。这是通过小型池检测实现的。B19 NAT 检测只有在血浆用于进一步生产时进行。目前，用于进一步生产的血浆捐献将以小池形式进行 B19 检测，任何含有一定水平的 B19 DNA 的单位将被排除在生产原料池之外。生产原料池中 B19 DNA 的总限量是每毫升 4 对数。筛查 B19 DNA 的原因是感染单位的病毒滴度较高，而且由于病毒体积较小，对灭活有抵抗力，因此很难去除或灭活。生产原料池中有限的 B19 DNA 含量，加上池中的抗 B19 抗体，以及生产过程中其他病毒清除步骤的作用，预计将消除或大大减少残留病毒，并降低 B19 病毒感染的风险。

FDA 发布了一份指南文件，概述了 FDA 关于生产产品中 B19 的建议。

幻灯片 24

接下来的几张幻灯片中有一系列您可能发现有用的参考资料、指南和联系方式。

幻灯片 25

此张幻灯片列出了更多的参考资料。

幻灯片 26

欲了解更多信息，请参考此处列出的联系信息。

幻灯片 27

你可在所列网站中查询到更多资料。

幻灯片 28

有关“血浆衍生产品的病毒安全性”的演示文稿到此结束。

在此感谢为其制作做出贡献的人员。谢谢！