

**治疗用重组蛋白产品临床试验申请
病毒清除工艺平台验证技术指导原则
(试行)**

**国家药品监督管理局药品审评中心
生物制品药学部**

目录

一、概述	1
二、适用范围	2
三、风险评估	2
1. 一般原则	2
2. 特殊考量	2
四、平台验证的建立	3
1. 生产用细胞基质	3
2. 指示病毒	4
3. 产品（工艺中间品）	4
4. 病毒清除工艺	4
5. 数据要求及检测方法	6
五、平台验证的应用	6
六、名词解释	7
参考文献	9

一、概述

治疗用重组蛋白产品的病毒污染可能来自于已受污染的生产用原材料或生产过程的偶然引入，并进一步引发安全性风险。因此，病毒污染风险控制是该类产品研发和生产过程中的质控重点之一。生产工艺方面，在该类产品的原液生产过程中引入病毒清除工艺步骤，并对相关步骤的病毒清除（包括灭活和去除）性能进行评估或验证，是病毒安全控制的重要保障措施之一。

既往，采用特定产品代表性批次工艺中间品和缩小模型开展验证研究是确定实际生产工艺病毒清除性能有效性和稳健性的主要途径。近年来，伴随病毒安全控制研究的不断深入和先验知识的积累，采用病毒清除工艺平台验证（以下简称平台验证，**Platform Validation, PV**）技术，对经充分表征的治疗用重组蛋白产品生产工艺进行病毒清除安全性评估的方法逐步获得认可。本指导原则中平台验证系指采用已获得的特定产品病毒清除工艺验证研究内部经验，适当结合外部知识，对内部其他类似产品生产工艺中特定工艺步骤的病毒清除性能进行评估的研究方法。

本指导原则系对已实施生物制品病毒安全控制相关指导原则¹⁻³的补充，旨在为平台验证的应用提出科学建议和一般性的技术要求，对具体品种的适用性应遵循具体问题具体

分析的原则。随着科学认知的深入、技术的发展和经验的积累，本指导原则中的相关技术要求也将逐步进行修订和完善。

二、适用范围

本指导原则适用于采用哺乳动物细胞、昆虫细胞或其他与人类具有病毒交叉感染风险的真核细胞生产，并使用平台验证替代采用特定产品开展病毒清除工艺验证的治疗用重组蛋白产品的临床试验申请。

三、风险评估

1. 一般原则

采用平台验证的前提是申请人已经具备充分的内部研发和生产经验，如有必要，可适当结合文献调研等外部知识。相较于针对特定产品开展的病毒清除工艺验证研究，平台验证对于申请人的知识储备和技术能力要求更高。若已开展的研究（或已积累的数据）尚不足以支持平台验证，则应参照相关指导原则¹⁻³开展针对特定产品的病毒清除工艺验证研究。

申请人应对临床试验用药物的安全性负责，鼓励申请人在采用平台验证研究进行申请前，与监管机构进行充分地沟通交流，根据自身产品开发经验和先验知识选择合适的病毒清除工艺验证方法和策略，确保受试者用药安全。

2. 特殊考量

在平台验证的建立和应用中，有如下特殊考量：

应充分了解平台验证中特定工艺步骤的病毒清除机制及影响病毒清除效果的关键因素，并鼓励采用多因素正交法对相关因素进行全面的分析和研究；

应明确产品（或工艺中间品）的组成，并基于风险，评估其与指示病毒间潜在的相互作用以及其对病毒清除效果产生的潜在影响；

充分考虑病毒清除验证研究的一般局限性。

四、平台验证的建立

充分的病毒清除验证研究经验积累，科学的生产工艺开发和应用数据体系以及全面的内、外部知识储备是平台验证的基础。工艺模块是平台验证建立的基本单元，可以基于对已开展验证研究数据的科学分析和汇总而建立；也鼓励通过针对性地开展多因素正交分析所形成的数据包而建立。

平台验证建立的目标是确保采用所建立工艺模块评估其他类似产品生产工艺病毒清除性能的有效性和稳健性。平台验证的建立过程中，应着重从以下方面展开研究。

1. 生产用细胞基质

考虑不同类型生产用细胞基质在外源病毒的易感性、内源性病毒或病毒颗粒的特征和病毒载量水平、验证用指示病毒和病毒清除工艺评价要求等方面的差异，工艺模块应基于采

用相同细胞基质表达并制备特定产品（工艺中间品）开展病毒清除验证研究的结果而建立。

2. 指示病毒

指示病毒的种类应根据生产用细胞基质和目标建立工艺模块的工艺特点进行选择，相同工艺模块采用的指示病毒应保持一致。指示病毒的质量和滴度应满足平台验证的需求。

3. 产品（工艺中间品）

应根据特定工艺步骤中产品（工艺中间品）对病毒清除效果的影响，对工艺模块建立中所使用产品（工艺中间品）的代表性进行充分的评估。例如，在特定条件下，建议关注低 pH 病毒灭活步骤中的目的蛋白浓度，或病毒截留过滤步骤中可能影响样品粘度或微粒形成的潜在因素等。

4. 病毒清除工艺

目前，在治疗用重组蛋白产品常用病毒清除工艺中，溶剂/去污剂病毒灭活、低 pH 病毒灭活和病毒截留过滤工艺被认为具有稳健的病毒清除性能，适用于平台验证。

基于当前对各种工艺条件的理解，对病毒清除性能具有潜在影响的重要工艺参数如表 1 所示。应根据所开展研究合理拟定所建立工艺模块的工艺参数。

表 1. 平台验证重要工艺参数

工艺模块	工艺参数 ^a
	溶剂/去污剂种类

溶剂/去污剂病毒灭活 ^b	溶剂/去污剂浓度
	孵育时间
	孵育温度
	0.2 μ m 过滤预处理
低pH病毒灭活 ^c	缓冲液种类
	孵育pH
	孵育时间
	孵育温度
病毒截留过滤 ^d	滤器类型
	体积载量 ^e
	跨膜压差/流速 ^f

- a. 应根据所开展研究合理拟定所建立工艺模块的工艺参数；
- b. 推荐的溶剂/去污剂病毒灭活条件为：（1）Triton X-100 浓度 \geq 0.5%，孵育温度 \geq 15 $^{\circ}$ C，孵育时间 \geq 60 分钟；（2）1% Triton X-100 和 0.3%磷酸三丁酯联用，孵育时间 \geq 30 分钟，或 1%聚山梨酯 80 和 0.3%磷酸三丁酯联用，孵育时间 \geq 6 小时，孵育温度 \geq 23 $^{\circ}$ C。当超出以上范围或采用新的溶剂/去污剂时，应开展产品特异性的验证研究或提供更为充分的研究数据以支持临床试验申请；
- c. 推荐的低 pH 病毒灭活条件为孵育 pH \leq 3.6，孵育温度 \geq 15 $^{\circ}$ C，孵育时间 \geq 30 分钟，氯化钠浓度 \leq 500 mmol/L。当超出以上范围时，应开展产品特异性的验证研究或提供更为充分的研究数据以支持临床试验申请；
- d. 该工艺后应满足滤器完整性测试并符合要求，并考虑工艺中断（包括在过滤期间或在从产品中间体过滤切换到过滤器冲洗

- 时发生)对截留性能的影响;
- e. 包括病毒过滤器加载产品中间体的体积载量以及冲洗过滤器用缓冲液的体积载量;
 - f. 应根据所使用滤器品牌、型号的不同确定相应最差条件。

5. 数据要求及检测方法

工艺模块应基于充分的案例或多因素正交分析数据而建立,具体数量应根据所拟定工艺参数的范围或组合的复杂程度确定。对于已充分表征的重组蛋白产品,如单克隆抗体,可基于3-5个具有相似特征属性和相似工艺生产的特定产品的验证研究结果建立工艺模块。相同工艺模块的病毒清除效果研究中建议采用原理(如基于细胞的检定或基于核酸的检定)相同的检定方法。病毒检测方法应参照《中国药典》或国际通行的技术指导原则等规范性文件执行。

各工艺模块的病毒对数降低值应取各案例或正交分析获得的最差结果计;同时,仅下降因子 $\geq 4 \log$ s的步骤可认定为有效步骤,下降因子 $\geq 1 \log$ 的步骤可纳入工艺总体安全限度的计算。

五、平台验证的应用

平台验证的应用是指利用经验证的、具有稳健病毒清除性能的工艺模块,对拟申请产品制备工艺过程中特定工艺步骤的病毒清除性能进行评估的过程。应用平台验证前,应对工艺模块相较于拟申请产品和生产工艺的代表性进行充分的

评估。可采用一个或多个具有代表性的工艺模块支持临床研究的开展。

平台验证应用的技术要求与平台验证建立阶段的技术要求基本一致。对于特定工艺步骤中所拟定的影响病毒清除性能的重要工艺参数应不超出对应工艺模块的最差条件，并对其它工艺参数进行对比，以确保缩小模型的适用性。当在病毒截留过滤工艺步骤采用平台验证时，应至少采用细小病毒作为指示病毒，进行一次特定产品的确认验证研究。

六、名词解释

平台验证：指采用类似产品病毒清除工艺验证研究的内部经验，适当结合外部知识，对内部其他类似产品生产工艺中特定工艺步骤的病毒清除性能进行评估的研究方法。

工艺模块：用于支持平台验证中，对特定工艺步骤病毒清除效果开展评估的模型。

工艺稳健性：指工艺执行过程中，原材料或生产工艺参数的适度变化不会对该工艺的病毒清除性能产生影响。

病毒清除：包括病毒去除和病毒灭活两种不同的病毒清除方法。

病毒去除：采用物理方法将病毒颗粒从产品中分离。

病毒灭活：采用物理或化学方法使病毒失去感染性。

工艺中间品：在生产过程中收集并用于特定工艺步骤病毒清除性能验证研究的样品。

特异性相互作用：产品或工艺中间品与病毒之间发生可能改变其物理状态的行为。

参考文献

1. 国家食品药品监督管理总局. 生物组织提取制品和真核细胞表达制品的病毒安全性评价技术审评一般原则 [EB/OL]. [2005].
<https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=91a6a33747c86c4a153593079a96e965>
2. 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 2020 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
3. ICH Q5A (R1) . Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin. [EB/OL]. [1999].
<https://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/qualityguidelines.html>