МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ЗАРЕГИСТРИРОВАНО
Регистрационный № 57724
от "12" марта 2020

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минсельхоз России)

П Р И К А З

от 28 февраля 2020 г. **№** 92

Москва

Об утверждении Методики производства экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения

В соответствии с пунктом 13 Правил государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов, предназначенных для выпуска в окружающую среду, а также продукции, полученной с применением таких организмов или содержащей такие организмы, включая указанную продукцию, ввозимую на территорию Российской Федерации, утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 23 сентября 2013 г. № 839 (Собрание законодательства Российской Федерации, 2013, № 39, ст. 4991; 2018, № 41, ст. 6260), п р и к а з ы в а ю:

Утвердить прилагаемую Методику производства экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения.

Министр Д.Н. Патрушев

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДЕНА
приказом Минсельхоза России
от 28.02.2020г № 92

М Е Т О Д И К А
производства экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения

I. Общие положения

1. Настоящая Методика устанавливает порядок проведения экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения (далее – экспертиза, ГМО соответственно).

2. Экспертиза проводится организацией (испытательной лабораторией), аккредитованной в национальной системе аккредитации, с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике.

3. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГМО приведены в главе IV настоящей Методики.

4. Результаты экспертизы оформляются заключением о результатах экспертизы, составленным на основании протоколов исследований ГМО, которое должно содержать:

наименование заключения;

полное наименование и место нахождения организации (испытательной лаборатории), осуществившей проведение экспертизы;

наименование ГМО с указанием его таксономического статуса;

полное наименование, место нахождения, идентификационный номер налогоплательщика (ИНН) юридического лица, осуществляющего на территории Российской Федерации генно-инженерную деятельность в целях создания ГМО (далее – заявитель);

полное наименование и место нахождения юридического лица либо фамилия, имя, отчество (при наличии), место жительства индивидуального

предпринимателя – изготовителя образцов ГМО, представленных на экспертизу;

вид предполагаемого целевого использования ГМО;

сведения о трансформационном событии в виде кода, сформированного согласно Общероссийскому классификатору трансформационных событий;

место депонирования и коллекционный номер (указывается для депонированных штаммов ГМО);

регистрационный номер свидетельства о государственной регистрации ГМО, предназначенного (предназначенных) для выпуска в окружающую среду, на основе которого (которых) создан ГМО, в отношении которого проведена экспертиза (в случае если ГМО создан на основе иного (иных) ГМО);

регистрационный номер свидетельства о государственной регистрации ГМО для иного целевого использования (при наличии);

сведения о регистрации ГМО за рубежом (при наличии);

оценку полноты представленных заявителем документов и данных;

краткое содержание документов и данных, представленных заявителем для проведения экспертизы;

перечень исследований ГМО с указанием их результатов;

описание представленных заявителем на экспертизу образцов ГМО и исходного организма-реципиента с указанием их количества, а также оценку их пригодности для проведения исследований;

выводы о результатах экспертизы: о наличии или отсутствии негативного воздействия ГМО на окружающую среду;

специальные условия использования ГМО (при наличии);

срок действия свидетельства о государственной регистрации ГМО (в случае отсутствия сведений о негативном воздействии ГМО на окружающую среду);

фамилии, имена, отчества (при наличии) лиц, проводивших экспертизу, ученую степень (звание) (при наличии), места их работы и должности;

дату и номер заключения экспертизы;

подпись руководителя организации (испытательной лаборатории), осуществившей проведение экспертизы.

5. К заключению о результатах экспертизы должны прилагаться протоколы исследований ГМО, на основании которых оно составлено, подписанные лицами, проводившими исследования.

6. В случае если заявителем не представлены документы и данные, предусмотренные пунктами 7, 11 настоящей Методики, и (или) необходимые образцы, пригодные для проведения исследований в случаях, если протоколы исследований не представлены заявителем, экспертиза не проводится. Заявителю должен быть выдан мотивированный отказ в проведении экспертизы, подписанный руководителем организации (испытательной лаборатории), аккредитованной в национальной системе аккредитации, с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике, в которую обратился заявитель для проведения экспертизы.

II. Экспертиза ГМО, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения, содержащих жизнеспособный ГМО

7. В рамках экспертизы ГМО для производства лекарственных средств для ветеринарного применения, содержащих жизнеспособный ГМО, осуществляется анализ представленных заявителем документов и данных:

а) наименования ГМО с указанием его таксономического статуса; полного наименования, места нахождения, идентификационного номера налогоплательщика (ИНН) заявителя; полного наименования и места нахождения юридического лица либо фамилии, имени, отчества (при наличии), места жительства индивидуального предпринимателя – изготовителя образцов ГМО, предоставленных на экспертизу; вида предполагаемого целевого использования ГМО; регистрационного номера свидетельства о государственной регистрации ГМО, предназначенного (предназначенных) для выпуска в окружающую среду, на основе которого (которых) создан ГМО, в отношении которого проводится экспертиза (в случае если ГМО создан на основе иного (иных) ГМО); регистрационного номера свидетельства о государственной регистрации ГМО для иного целевого использования (при наличии) либо информации об отсутствии такого свидетельства;

б) сведений об исходном организме-реципиенте (таксономическая характеристика с указанием метода идентификации; источник выделения

штамма: субстрат, географический пункт, дата выделения; методы идентификации штамма, кем идентифицирован (фамилия, имя, отчество (при наличии)), ссылка на использованные определители);

в) описания структуры генетической конструкции (внесенной или удаленной) и места ее локализации, характеристики экспрессии встроенных или измененных генов;

г) сведений о трансформационном событии в виде кода, сформированного согласно Общероссийскому классификатору трансформационных событий;

д) информации о месте депонирования и коллекционном номере штамма ГМО, паспорт штамма ГМО (для депонированных штаммов ГМО) либо информации о культурально-морфологических, физиолого-биохимических (ферментативных), антигенных, биологических свойствах и генетических особенностях штамма ГМО; об условиях культивирования: наименованиях питательных сред, pH среды, температуре и продолжительности выращивания, сроке хранения и периодичности пересева культуры штамма ГМО в нативной форме; о применяемом способе и условиях хранения штамма ГМО: в случае лиофилизации указывается продолжительность выращивания на питательной среде (возраст культуры), состав защитной среды, титр клеточной суспензии, режим высушивания, температура хранения, срок хранения; в случае криоконсервации указывается продолжительность выращивания на питательной среде (возраст культуры), состав защитной среды, титр клеточной суспензии, скорость замораживания (град/мин), температура хранения, срок хранения; о диссоциации культуры в зависимости от метода хранения (описание морфологических типов колоний на конкретной среде с подробным описанием типа колонии, сохраняющего полезный или диагностический признак); о среде, на которой заявителем предоставляется штамм ГМО; о количестве, дате приготовления и сроке годности образцов штамма ГМО (в случае непредставления информации о месте депонирования и коллекционном номере штамма ГМО, паспорта штамма ГМО);

е) информации о вносимых генах (для организмов-доноров указывается таксономический статус, данные о вирулентных, аллергенных и патогенных свойствах);

ж) описания свойств, приобретенных ГМО в результате модификации;

з) характеристики различий ГМО с исходным организмом-реципиентом, в том числе описания способа размножения, распространения, вирулентности, схемы культивирования, новых фенотипических свойств, биологических преимуществах ГМО по сравнению с исходным организмом;

и) описания методик, позволяющих подтвердить таксономический статус ГМО и характеристику генетической модификации, описания нуклеотидных последовательностей, используемых праймеров, зондов, состава и свойств стандартных образцов;

к) результатов изучения стабильности ГМО, в том числе в организмах животных, а также оценки способности к переносу генов, введенных в исходный организм-реципиент с использованием методов генной инженерии, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в другие организмы;

л) информации о путях и возможности передачи ГМО от вакцинированных животных к невакцинированным животным (для ГМО, предназначенных для производства вакцин);

м) информации о потенциальной колонизации ГМО в желудочно-кишечном тракте животных и его влиянии на естественную микрофлору (для ГМО, предназначенных для производства пробиотиков);

н) информации о результатах токсикологических исследований ГМО и рекомбинантных аминокислотных последовательностей, определяющих проявление заданных признаков у ГМО, в том числе о результатах субхронического токсикологического эксперимента на лабораторных животных (грызунах) и продуктивных животных, о биоинформатическом анализе, поиске гомологии рекомбинантного белка с аминокислотными последовательностями токсических белков, белков, обладающих фармакологической или иной биологической активностью при использовании специализированных баз данных (для ГМО, предназначенных для производства пробиотиков);

о) информации о результатах аллергологических исследований, в том числе о потенциальной аллергенности ГМО, о потенциальной аллергенности рекомбинантных аминокислотных последовательностей или небелковых веществ, полученных с использованием ГМО-продуцентов, в иммунохимических исследованиях;

п) информации об условиях промышленного культивирования ГМО;

р) информации о наличии или отсутствии регистрации ГМО и (или) лекарственных средств для ветеринарного применения, их содержащих, за рубежом, а также о наличии либо отсутствии фактов о негативных последствиях применения ГМО и лекарственных средств для ветеринарного применения, их содержащих;

с) копий заключения о результатах молекулярно-генетического исследования ГМО;

т) копий отчетов доклинических исследований лекарственного средства для ветеринарного применения, клинических исследований лекарственного препарата для ветеринарного применения, содержащих ГМО или полученных с его использованием (при наличии);

у) информации об исследовании безопасности ГМО для животных, о тканевом тропизме ГМО по сравнению с исходным организмом-реципиентом (при наличии);

ф) информации о способности ГМО выживать и размножаться в окружающей среде; наличии в окружающей среде микроорганизмов – потенциальных реципиентов рекомбинантной ДНК в результате горизонтального переноса; о возможности переноса рекомбинантных генов из разрушенных вирусных частиц или плазмидной ДНК ГМО клеток в другие виды организмов; о потенциальном антагонистическом, синергическом или другом влиянии ГМО на организмы, не являющиеся генно-инженерно-модифицированными (при наличии);

х) информации о результатах других исследований ГМО (при наличии);

ц) протоколов исследований, указанных в пункте 8 настоящей Методики, проведенных в организациях (испытательных лабораториях), аккредитованных в национальной системе аккредитации, с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике (при наличии).

8. В отношении ГМО, предназначенного для производства лекарственных средств для ветеринарного применения, содержащих жизнеспособный ГМО, должны быть проведены следующие исследования в сравнении с исходным организмом-реципиентом:

а) исследования инфекционной активности ГМО (цитопатического действия, титра) (в отношении ГМО-вирусов);

б) исследования микробиологических свойств, чувствительности к антибиотикам и бактериофагам, гемолитической активности на эритроцитах животных (в отношении ГМО-бактерий);

в) исследования стабильности свойств ГМО-бактерий, простейших, грибов;

г) исследования стабильности ГМО-вирусов;

д) исследования вирулентности ГМО на лабораторных животных;

е) исследования жизнестойкости ГМО на объектах окружающей среды, в том числе на влажных опилках, ватных тампонах, при термической обработке;

ж) исследования тканевого тропизма ГМО на целевых животных;

з) исследования адгезивности ГМО методом гемагглютинации эритроцитов животных;

и) исследования инвазивности ГМО с помощью кератоконъюнктивальной пробы;

к) исследования антагонистической активности ГМО с представителями резидентной микрофлоры кишечника (в отношении ГМО, предназначенных для производства пробиотиков);

л) иммунологические исследования ГМО (в отношении ГМО, предназначенных для производства пробиотиков);

м) исследования безопасности использования ГМО на животных-реципиентах.

9. В случае отсутствия у заявителя протоколов исследований, указанных в подпункте «ц» пункта 7 настоящей Методики, им должны быть представлены образцы лекарственного средства, жизнеспособного ГМО и исходного организма-реципиента. Соответствующие исследования этих образцов проводятся организацией (испытательной лабораторией), осуществляющей проведение экспертизы.

10. Если ГМО соответствует показателям (условиям) безопасности, указанным в пункте 15 настоящей Методики, заявителю должно быть выдано заключение об отсутствии негативного воздействия ГМО на окружающую среду. В заключении об отсутствии негативного воздействия на окружающую среду могут быть указаны специальные условия использования ГМО.

III. Экспертиза ГМО, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения, содержащих нежизнеспособный ГМО

11. В рамках экспертизы ГМО для производства лекарственных средств для ветеринарного применения, содержащих нежизнеспособный ГМО, осуществляется анализ представленных заявителем документов и данных, предусмотренных подпунктами «а» – «з» и «п» – «т» пункта 7 настоящей Методики, а также:

а) информации о нежизнеспособности ГМО в лекарственном средстве для ветеринарного применения;

б) протоколов исследований, указанных в пункте 12 настоящей Методики, проведенных в организациях (испытательных лабораториях), аккредитованных в национальной системе аккредитации, с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике (при наличии).

12. В отношении ГМО, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения, содержащих нежизнеспособный ГМО, проводятся следующие исследования образцов лекарственного средства для ветеринарного применения, содержащих нежизнеспособный ГМО (далее – образцы лекарственного средства), и жизнеспособного ГМО, представленных заявителем:

а) исследования образцов лекарственного средства на отсутствие жизнеспособного ГМО с использованием микробиологических (вирусологических) методов;

б) исследования по изучению безопасности использования образцов лекарственного средства для животных-реципиентов.

13. В случае отсутствия у заявителя протоколов исследований, указанных в подпункте «б» пункта 11 настоящей Методики, им должны быть представлены образцы лекарственного средства и жизнеспособного ГМО. Соответствующие исследования этих образцов проводятся организацией (испытательной лабораторией), осуществляющей проведение экспертиз.

14. Если ГМО соответствует показателям (условиям) безопасности, указанным в пункте 16 настоящей Методики, заявителю должно быть выдано заключение об отсутствии негативного воздействия ГМО на окружающую среду. В заключении об отсутствии негативного

воздействия на окружающую среду могут быть указаны специальные условия использования ГМО.

IV. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГМО

15. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГМО, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения, содержащих жизнеспособный ГМО:

а) для ГМО-вирусов определение инфекционной активности (цитопатическое действие и титр вируса) проводится в культурах клеток или иных тест-объектах, чувствительных к исходному организму-реципиенту, согласно информации, представленной заявителем в соответствии с пунктом 7 настоящей Методики. Для контроля исследуют инфекционную активность (цитопатическое действие и титр вируса) исходного организма-реципиента. Условия эксперимента для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать. Величина инфекционной активности (цитопатическое действие и титр вируса) для ГМО-вируса не должна превышать инфекционную активность исходного организма-реципиента;

б) исследования микробиологических свойств, чувствительности к антибиотикам и бактериофагам, гемолитической активности на эритроцитах животных должны проводиться в отношении штаммов ГМО-бактерий. Эксперименты проводят с использованием компонентов (сред, диагностических панелей, антибиотиков, бактериофагов и т.д.) и методов согласно информации, представленной заявителем в соответствии с пунктом 7 настоящей Методики. Определение микробиологических свойств, чувствительности к антибиотикам и бактериофагам, гемолитической активности ГМО проводят с использованием в качестве контроля исходного организма-реципиента. Условия эксперимента для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать.

Микробиологические свойства, чувствительность к антибиотикам и бактериофагам, гемолитическая активность ГМО не должны отличаться от свойств исходного организма-реципиента в части незатронутой генетической модификацией;

в) стабильность свойств ГМО-бактерий, простейших, грибов должна проверяться при пассировании исследуемых штаммов

на жидких и плотных питательных средах с тестированием фенотипических (биохимических) свойств через 6 последовательных пассажей. Молекулярно-генетическими методами исследуют исходный ГМО и ГМО после шестикратного пассирования. Стабильными являются штаммы ГМО-бактерий, простейших, грибов, не изменившие фенотипических (биохимических) свойств и сохранившие генетическую структуру после проведения шестикратного пассирования. ГМО-бактерии, простейшие, грибы должны демонстрировать стабильность фенотипических (биохимических) свойств и генетической структуры;

г) исследования стабильности ГМО-вирусов должны проводиться вирусологическими и молекулярно-генетическими методами. Исследование вирусологическими методами проводится на соответствующей культуре клеток или в восприимчивых живых организмах проведением 6 (шести) последовательных пассажей ГМО-вирусов. Молекулярно-генетическими методами исследуют исходный ГМО-вирус и ГМО-вирус после шестикратного пассирования. Стабильными являются штаммы ГМО-вирусов, у которых не наблюдается увеличение вирулентности (в том числе изменение клинических проявлений, появление нежелательных реакций на введение) и сохраняется генетическая структура после проведения шестикратного пассирования. ГМО-вирусы должны демонстрировать стабильность вирулентных свойств и генетической структуры;

д) исследования вирулентности ГМО на лабораторных животных должны проводиться на свободных от специфических патогенов (далее – SPF) лабораторных животных с определением летальной дозы для 50% лабораторных животных (далее – ЛД50). Определение ЛД50 проводится согласно информации, представленной заявителем для штамма исходного организма-реципиента в соответствии с пунктом 7 настоящей Методики, путем введения группе животных исследуемого ГМО штамма. При проведении испытания формируют две контрольных группы животных, одной группе вводят стерильный физиологический раствор, второй группе животных вводят исходный организм-реципиент. Животных каждой группы помещают в отдельные клетки и наблюдают в течение 10 дней. По завершении эксперимента подсчитывают гибель животных в каждой группе и определяют ЛД50. ЛД50 для штамма ГМО не должна быть меньше ЛД50 исходного организма-реципиента;

е) исследование жизнестойкости ГМО на объектах окружающей среды, на влажных опилках, ватных тампонах, после термической обработки должно проводиться с использованием питательных сред, культур клеток или иных тест-объектов, чувствительных к исходному организму-реципиенту, согласно информации, представленной заявителем в соответствии с пунктом 7 настоящей Методики. Эксперименты проводят с использованием в качестве контроля исходного организма-реципиента. Условия эксперимента для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать. Жизнестойкость ГМО в окружающей среде не должна превышать жизнестойкость исходного организма-реципиента;

ж) исследование тканевого тропизма ГМО должно проводиться с использованием целевых животных путем выделения (изолирования) ГМО из лейкоцитов, селезенки, тимуса и других органов животных. Эксперименты проводят с использованием в качестве контроля исходного организма-реципиента. Условия эксперимента для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать. ГМО должен выделяться из тех же тканей, что и исходный организм-реципиент;

з) определение адгезивности ГМО должно проводиться методом гемагглютинации эритроцитов с использованием эритроцитов согласно информации, представленной заявителем в соответствии с пунктом 7 настоящей Методики. Эксперименты проводят с использованием в качестве контроля исходного организма-реципиента. Условия эксперимента для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать. При выявлении гемагглютинационной активности ГМО, предназначенных для производства пробиотиков, должно проводиться определение адгезивности в присутствии D-маннозы для определения маннозочувствительной или маннозорезистентной адгезии. Количественное определение адгезии должно проводиться при использовании биологических моделей. ГМО должен иметь коэффициент адгезии, не превышающий коэффициент адгезии исходного организма-реципиента;

и) определение инвазивности ГМО с помощью кератоконъюнктивальной пробы должно осуществляться путем внедрения ГМО и исходного организма-реципиента в качестве контроля в эпителиальные клетки конъюнктивы и роговицу лабораторных животных для оценки размножения в них. Условия эксперимента для исходного

организма-реципиента и ГМО должны совпадать. Инвазивность ГМО не должна превышать инвазивность исходного организма-реципиента;

к) при определении антагонистической активности ГМО, предназначенных для производства пробиотиков, для контроля должны использоваться исходный организм-реципиент и тест-штаммы микроорганизмов, представляющие основные виды резидентной кишечной микрофлоры животных-реципиентов (грамположительные: облигатно-анаэробные бактерии – лактобактерии, бифидобактерии, пептостептококки; грамотрицательные: облигатно-анаэробные бактерии, бактероиды, факультативно-анаэробные микроорганизмы, кишечная палочка, стафилококки, стрептококки, дрожжеподобные грибы рода Candida). Уровень антагонистической активности в отношении штаммов резидентной микрофлоры определяют методом отсроченного антагонизма на плотной среде по зонам задержки роста тест-штаммов. Антагонистическое действие ГМО не должно проявляться к представителям резидентной микрофлоры и не должно превышать антагонистическую активность исходного организма-реципиента;

л) иммунологические исследования ГМО, предназначенных для производства пробиотиков, должны проводиться на мышах линий СВА, высокочувствительных к введению эритроцитов барана и нечувствительных к гистамину и Salmonella typhimurium, и С57Bl/6, низкочувствительных к введению эритроцитов барана, чувствительных к гистамину и Salmonella typhimurium, и включают изучение иммуномодулирующих и сенсибилизирующих свойств по четырем тестам: действие на гуморальное звено иммунитета в тесте определения уровня гемагглютининов к эритроцитам барана; действие на клеточное звено иммунитета в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к эритроцитам барана; действие как сенсибилизирующего агента в тесте чувствительности к гистамину; действие на естественную резистентность мышей к Salmonella typhimurium. Эксперименты проводят с использованием в качестве контроля исходного организма-реципиента. Условия эксперимента для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать. ГМО должен быть не менее безопасен, чем исходный организм-реципиент;

м) исследования безопасности использования ГМО на животных-реципиентах осуществляются путем введения лекарственного средства, содержащего ГМО, животным-реципиентам в десятикратной дозе.

Наблюдения должны проводиться в течение 30 дней. В протоколе исследования регистрируются персистенция и выделение ГМО из организма подопытных животных, падеж, клиническое состояние, клинические и биохимические показатели крови, местная реакция на введение препарата, содержащего ГМО. Введение подопытным животным лекарственного средства, содержащего ГМО, не должно вызывать клинических изменений, показатели крови не должны отклоняться от физиологической нормы, не должны выявляться патологоанатомические изменения при вскрытии.

16. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГМО, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения, содержащих нежизнеспособный ГМО:

а) исследования образцов лекарственного средства на отсутствие жизнеспособного ГМО должны проводиться с использованием микробиологических (вирусологических) методов. В качестве контрольных посевов и (или) пассажей используется живая культура штамма-реципиента;

б) исследования по изучению безопасности использования образцов лекарственного средства для животных-реципиентов должны проводиться путем введения животным десятикратной дозы лекарственного средства. Наблюдения проводятся в течение 30 дней. В протоколе исследования регистрируются падеж, клиническое состояние животных, гематологические и биохимические показатели крови, локальные аллергические реакции на введение образца лекарственного средства. Введение животным курса образцов лекарственного средства не должно вызывать клинических изменений, показатели крови не должны отклоняться от физиологической нормы, не должны выявляться патологоанатомические изменения при вскрытии.

gost.e-ecolog.ru