

# Budući izazovi čuvanja i prijevoza termoosjetljivih biofarmaceutika

---

**Kopjar-Videc, Kristina**

**Professional thesis / Završni specijalistički**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:049904>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-28**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

**Kristina Kopjar-Videc**

**BUDUĆI IZAZOVI ČUVANJA I PRIJEVOZA TERMOOSJETLJIVIH**

**BIOFARMACEUTIKA**

**Specijalistički rad**

Zagreb, 2019.

Poslijediplomski specijalistički studij: Razvoj lijekova

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Ivan Pepić

Specijalistički rad obranjen je dana 17. svibnja 2019. godine u 15:00 sati na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Jasmina Lovrić

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

2. izv. prof. dr. dc. Ivan Pepić

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

3. dr. sc. Marjana Dürriegl, znanstv. sur.

PLIVA Hrvatska d.o.o.

Rad ima 131 list.

## PREDGOVOR

Ovaj specijalistički rad prijavljen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Ivana Pepića.

*Iskreno zahvaljujem svom mentoru izv. prof. dr. sc. Ivanu Pepiću na pruženoj pomoći, posvećenom vremenu i konstruktivnim savjetima tijekom pisanja ovog rada. Željela bih zahvaliti svojoj obitelji i prijateljima na velikoj podršci tijekom studiranja.*

## **SAŽETAK**

### **Cilj istraživanja**

Cilj je ovog specijalističkog rada sustavnim pregledom dostupne literature prikazati specifičnosti u čuvanju i prijevozu termoosjetljivih biofarmaceutika.

Specijalistički rad donosi sistematičan pregled smjernica povezanih uz osiguranje propisanih temperaturnih uvjeta tijekom skladištenja i prijevoza lijekova sve do trenutka njegove primjene.

Sustavno je opisan način upravljanja temperaturnim odstupanjima tijekom čuvanja i prijevoza te njihov utjecaj na kakvoću lijeka. Detaljno su opisana ispitivanja stabilnosti koja je potrebno provesti kako bi se moglo učinkovito upravljati temperaturnim odstupanjima koja se mogu dogoditi u lancu opskrbe biološkim lijekovima.

Također su razmatrani i drugi vanjski faktori koji mogu imati negativan utjecaj na kakvoću bioloških lijekova u lancu opskrbe i primjene lijeka.

U radu su opisani tehnički zahtjevi opreme, skladišnih prostora, transportnih sustava i uvjeti temperaturnih mapiranja istih.

### **Materijali i metode**

Istraživanja u okviru ovog specijalističkog rada su teorijskog karaktera i uključuju detaljan pregled dostupne literature iz područja čuvanja i prijevoza termoosjetljivih biofarmaceutika.

Literatura je pretraživana prema temi i predmetu istraživanja, autorima i časopisu, od općih prema specijaliziranim člancima pri čemu su odabrani članci relevantni za problematiku ovog specijalističkog rada. Ciljana pretraga provedena je putem baza ScienceDirect, PubMed, Agencije za lijekove i medicinske proizvode. Regulatorne smjernice detaljno su istražene pretraživanjem baze Europske agencije za lijekove, Međunarodne konferencije o usklađivanju tehničkih zahtjeva za lijekove (engl. *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, skraćeno *International Council for Harmonisation*) i Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organisation*).

## Rezultati

Pravilno skladištenje i prijevoz lijekova s ciljem očuvanja njihove kakvoće, djelotvornosti i sigurnosti nužni su tijekom cijelog distribucijskog lanca – od proizvođača lijekova, preko veleprodaja, javnih ili bolničkih ljekarni, pa sve do krajnjeg korisnika - pacijenta.

U posljednja dva desetljeća biološki lijekovi postali su najbrže rastuća skupina lijekova zbog njihovog korisnog učinka u liječenju ozbiljnih i po život opasnih stanja i bolesti. Globalno tržište biološkim lijekovima u stalnom je porastu, te se predviđa ravnomjerni rast u sljedećih par godina što zbog povećanja broja novoodobrenih bioloških lijekova kao i sve većeg rasta kroničnih bolesti zbog starenja populacije.

Struktura molekule bioloških lijekova vrlo je složena te su stoga obično temperaturno osjetljivi i u većini slučajeva zahtijevaju čuvanje i prijevoz u hladnom lancu.

Proizvođač je odgovoran da je lijek koji isporučuje do pacijenata u skladu sa odobrenjem za stavljanje lijeka u promet. Uvjeti čuvanja i transporta moraju biti definirani i postavljeni na način da ne utječu na kakvoću lijeka, te se moraju temeljiti na rezultatima ispitivanja stabilnosti lijeka. Napredak i razvoj bioloških lijekova donio je značajno povećanje znanja i razumijevanja utjecaja stresnih faktora na stabilnost proteinskih molekula. Sve je to rezultiralo implementacijom vrlo dobrih kontrola nad kritičnim parametrima stabilnosti tijekom proizvodnje i distribucije bioloških lijekova. Svakako je potrebno uložiti dodatan napor kako bi se unaprijedio posljednji korak u lancu opskrbe lijekom, dakle korak u kojem se lijekom rukuje prije same primjene od strane zdravstvenih radnika ili samog pacijenta.

Postoji potreba za provedbom i objavljivanjem većeg broja istraživanja kako bi se bolje razumio opseg i ozbiljnost posljedica koje su povezane sa post proizvodnim rukovanjem biološkim lijekovima (za različite klase bioloških lijekova kao i za specifične lijekove kao što su monoklonska protutijela općenito, ali i specifično za pojedinu vrstu monoklonalnih protutijela). Studije bi u idealnoj situaciji trebale dati odgovor na dva pitanja: (1) može li rukovanje lijekom nakon faze proizvodnje uzrokovati degradaciju proteina i u kojoj mjeri; (2) utječu li potencijalni nusprodukti razgradnje negativno na sigurnost i djelotvornost lijeka?

U cilju osiguranja sigurnosti i kakvoće bioloških lijekova tijekom rutinskog rukovanja u bolničkom okruženju potrebna je međusobna suradnja između liječnika, proizvođača i regulatornih tijela kako bi se bolje definirale smjernice o čuvanju, rekonstituciji (ukoliko je primjenjivo), prenošenja u infuzijske vrećice. Dodatno, trebalo bi raditi na edukaciji zdravstvenih radnika i pacijenata kako bi dobili potrebna specifična znanja.

Potrebno je uspostaviti dobru komunikaciju između kompanija koje razvijaju biološke lijekove i bolničkih farmaceuta kako bi kompanije koje razvijaju lijekove bolje razumjele stvarne uvjete i način rukovanja njihovim lijekom. Razmatranja povezana uz izloženost stresovima ili kombinaciji različitih stresova kojim je lijek izložen tijekom rukovanja proizvođači mogu uključiti u *in-use* studije ispitivanja stabilnosti u procesu razvoja lijeka. Takva praksa omogućila bi identifikaciju glavnih faktora rizika i mogla bi dovesti do stavljanja naglaska na kritične stresne faktore u smjernicama za farmaceute i pacijente.

Moderne tehnologije mogu biti od neprocjenjivog značaja s jedne strane u svrhu prikupljanja i dokumentiranja podataka o uvjetima pod kojima se lijek čuva jednom kad se isporuči do krajnjeg korisnika, a s druge pak strane kako bi se razvili puno efikasniji edukacijski materijali za edukaciju krajnjih korisnika lijeka (52).

## **Zaključak**

Napredak u razvoju bioloških lijekova u posljednja dva desetljeća donio je značajan rast znanja i razumijevanja utjecaja različitih faktora stresa na stabilnost što je rezultiralo dobrom kontrolom kritičnih parametara stabilnosti tijekom proizvodnje i distribucije bioloških lijekova.

Proizvođači bi trebali razumjeti posljedice temperaturnih odstupanja tijekom skladištenja i transporta bioloških lijekova od mjesta proizvodnje do pacijenata. Temperaturna odstupanja uočena u bilo kojoj fazi farmaceutskog poslovanja trebaju biti prijavljena i prikladno istražena.

Proizvođači bi trebali procijeniti jesu li raspoloživi podaci o stabilnosti dovoljni za rješavanje potencijalnih temperaturnih odstupanja. Ako to nije slučaj, trebali bi razmotriti pokretanje dodatnih studija stabilnosti koje podržavaju odluku o puštanju serije lijeka u promet u slučaju temperaturnih odstupanja koja nemaju utjecaj na kvalitetu lijeka.

Potrebno je uložiti dodatne napore u shvaćanju utjecaja različitih stresnih faktora kako tijekom prijevoza tako i u fazi primjene biološkog lijeka, u bolničkom okruženju i kod pacijenta i njihovog utjecaja na kakvoću biološkog lijeka, a kako bi se poboljšala situacija u sigurnijoj i učinkovitijoj primjeni biološkog lijeka, što je u interesu svih zainteresiranih strana uključujući proizvođače, zdravstvene ustanove, regulatorna tijela i prije svega pacijenata.



## **SUMMARY**

### **Objectives**

The aim of this paper is to systematically review available literature to show the specifics in the storage and transport of temperature-sensitive biopharmaceuticals.

The work provides a systematic overview of the guidelines associated with ensuring the required temperature conditions during medicinal products storage and transportation until the moment of its administration. It is described a systematic approach to handle temperature excursion that could be observed during storage and transportation, which may have potential impact on medicinal product quality.

There are systematically described stability studies needed for effective temperature excursion management that may occur in the biological medicinal products supply chain.

Other external factors that may have a negative impact on the quality of biological medicinal products in the supply chain and administration are also considered.

The paper describes the technical requirements of equipment, storage areas, transport systems and temperature mapping conditions.

### **Materials and Methods**

Research of this work is theoretical and includes a detailed review of available literature about storage and transportation of temperature-sensitive biopharmaceuticals.

Literature search was done by topic and subject of research, authors and journals, from general to specialized articles and guidelines relevant to the issues of this paper. The targeted search was carried out via the on-line databases such as ScienceDirect, PubMed, medicinal products database of the Agency for Medicinal Products and Medical Devices of Croatia. The regulatory guidelines have been detailed searched through the European Medicines Agency database, International Council for Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use and World Health Organisation.

## Results

Proper storage and transport of medicinal products with the aim of preserving their quality, efficiency and safety are necessary throughout the entire distribution chain - from drug manufacturers, through wholesale, public or hospital pharmacies, and to the end user - the patient.

In the past two decades, biological medicinal products have become the fastest growing class of therapeutics because of their beneficial impact in the treatment of severe and life-threatening conditions and diseases. The global market for biological medicinal products is steadily increasing, and growth is expected in the next couple years due to the increase in approval of biological biological medicinal products as well as growing incidence of chronic conditions among the aging population.

As the structure of the biological molecule is very complex it is usually temperature-sensitive and in most cases requires cold chain storage and transportation.

The manufacturer is responsible to deliver the medicine to the patient in accordance with the marketing authorization. Storage and transport conditions must be defined and appropriately set not to affect the medicinal product quality and must be based on the stability studies results. Progress and development of biologics has significantly increased the knowledge and understanding influence of stress factors on the stability of protein molecules. All this resulted in the implementation of very good controls over the critical stability parameters during the production and distribution of biological drugs. Of course, additional efforts are needed to improve the last step in the drug supply chain, the step before medicinal product being administered by the healthcare professional or the patient itself.

There is a clear need to perform and publish more research to better understand the extent of the severity of the risk associated with post manufacturing handling of protein pharmaceuticals (for various classes as well as specific examples of protein drugs, e.g., monoclonal antibodies in general vs. a specific monoclonal antibody drug product). Studies should ideally address 2 questions: (1) does postproduction (mis)handling of protein pharmaceuticals cause protein

degradation and to what extent? and (2) do potential protein degradation byproducts interfere with safety and efficacy of the drug?

In order to ensure safety and quality of biological medicinal products there must be a collaboration between the clinicians, manufacturers, and regulators to better define detailed and clear guidelines for storage, reconstitution (if applicable), transfer to IV bags (if applicable), transporting, and all other steps of handling in the hospital setting.

Additional trainings should be developed and delivered to healthcare professionals and patients to get the specific knowledge needed.

There must be good communication between developers of protein pharmaceuticals and hospital pharmacies, allowing developers to obtain a better understanding of real-world conditions and handling of their protein drug products.

Considerations regarding the stresses or combination of stresses that can occur during (mis)handling of the drug after it leaves the factory can become an integral part of the in-use studies in the drug product development process. Such practice would allow for identification of the main risk factors and can lead to putting the right emphasis on critical stress factors that matter the most in the guidelines for pharmacists and patients.

Modern technologies can be invaluable tools on the one hand to gather and document data on what a drug product experiences beyond the release by the manufacturer and on the other one to deliver more effective trainings and communication to end users (52).

## **Conclusion**

Progress in the development of biological medicinal products over the last two decades has brought a significant increase in knowledge and understanding of the influence of various stress factor on stability, resulting in good control of critical stability parameters during the production and distribution of biological medicinal products.

Manufacturers should understand the consequences of temperature excursions during storage and transport of biological medicinal products from manufacturing site to patients. Temperature

excursions observed at any stage of the pharmaceutical business should be reported and appropriately investigated.

Manufacturers should assess whether available stability data are sufficient to resolve potential temperature excursions. If this is not the case, they should consider initiating additional stability studies that will support the release decision in the case of temperature excursion do not affect the medicinal product quality.

Additional efforts should be made to understand the impact of various stress factors both during transport and in the phase of drug administration, hospital environment and patient and their impact on the quality of the biological medicinal product, to improve safe drug administration, that is in the interest of all interested parties including manufacturers, healthcare institutions, regulators and above all patients.

## SADRŽAJ

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA.....                                                                   | 1  |
| 1.1. Biološki lijekovi .....                                                                                   | 1  |
| 1.1.1. Monoklonska protutijela.....                                                                            | 3  |
| 1.1.2. Cjepiva .....                                                                                           | 4  |
| 1.1.3. Terapija somatskim stanicama i genska terapija .....                                                    | 5  |
| 1.1.4. Bioslični lijekovi .....                                                                                | 6  |
| 1.2. Kompleksnost strukture molekule bioloških lijekova i faktori koji utječu na njihovu destabilizaciju ..... | 7  |
| 1.3. Rast tržišta bioloških lijekova.....                                                                      | 10 |
| 1.4. Pregled regulatornih zahtjeva o uvjetima čuvanja lijekova .....                                           | 13 |
| 2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....                                                                                      | 17 |
| 3. MATERIJALI I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI .....                                                | 18 |
| 3.1. Temperaturno kontrolirani skladišni prostori .....                                                        | 18 |
| 3.1.1. Ambijentalni skladišni prostor .....                                                                    | 18 |
| 3.1.2. Hladne komore i zamrzivači .....                                                                        | 19 |
| 3.1.3. Praćenje i bilježenje uvjeta u skladišnim prostorima .....                                              | 19 |
| 3.2. Transport termoosjetljivih lijekova.....                                                                  | 22 |
| 3.2.1. Transportni sustavi s aktivnom regulacijom temperature .....                                            | 23 |
| 3.2.2. Pasivni transportni sustavi.....                                                                        | 25 |
| 3.2.3. Praćenje temperature tijekom transporta.....                                                            | 32 |
| 3.3. Kvalifikacija skladišnih prostora.....                                                                    | 33 |
| 3.4. Temperaturno mapiranje .....                                                                              | 38 |
| 3.5. Okolišni uvjeti koji utječu na kvalitetu bioloških lijekova .....                                         | 44 |

|        |                                                                                       |     |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.5.1. | Utjecaj temperature i ciklusa zamrzavanja-odmrzavanja ( <i>engl. freeze-thaw</i> )... | 44  |
| 3.5.2. | Mehanički stresovi i kontakt na granici faza.....                                     | 52  |
| 3.5.3. | Izloženost svjetlu.....                                                               | 54  |
| 3.5.4. | Ostali okolišni faktori .....                                                         | 54  |
| 3.6.   | Ispitivanje stabilnosti lijeka .....                                                  | 56  |
| 3.6.1. | Pregled regulative i smjernica .....                                                  | 58  |
| 3.6.2. | Postavljanje okvira za ispitivanje stabilnosti .....                                  | 60  |
| 3.6.3. | Parametri koji tijekom transporta mogu imati utjecaj na kakvoću lijeka .....          | 63  |
| 3.6.4. | Opseg studije ispitivanja stabilnosti .....                                           | 66  |
| 3.6.5. | Definiranje distribucijskih kanala .....                                              | 68  |
| 3.6.6. | Definiranje sigurnosne granice ( <i>engl. Safety Margin</i> ) .....                   | 70  |
| 3.6.7. | Plan ispitivanja stabilnosti .....                                                    | 70  |
| 3.6.8. | Dodatna ispitivanja za procjenu temperaturnih odstupanja.....                         | 72  |
| 3.6.9. | Izgradnja znanja o stabilnosti lijeka .....                                           | 74  |
| 3.7.   | Upravljanje temperaturnim odstupanjima .....                                          | 77  |
| 3.7.1. | Razlozi temperaturnih odstupanja .....                                                | 81  |
| 3.7.2. | Strategija i model upravljanja temperaturnim odstupanjima.....                        | 82  |
| 3.8.   | Pojava agregata i imunogenost .....                                                   | 85  |
| 3.9.   | Izazovi u formulaciji cjepiva .....                                                   | 89  |
| 3.10.  | Izazovi kod rukovanja biološkim lijekom.....                                          | 92  |
| 4.     | RASPRAVA.....                                                                         | 97  |
| 5.     | ZAKLJUČAK .....                                                                       | 101 |
| 6.     | LITERATURA.....                                                                       | 102 |

|                   |     |
|-------------------|-----|
| 7. ŽIVOTOPIS..... | 116 |
|-------------------|-----|

# 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

## 1.1. Biološki lijekovi

Biološki lijek je lijek čija je djelatna tvar biološka tvar, a biološka tvar je tvar koja se proizvodi ili izlučuje iz biološkog izvora i za čiju su karakterizaciju i utvrđivanje kakvoće potrebna fizičko-kemijska i biološka ispitivanja zajedno s podacima o postupku proizvodnje i njegove kontrole (1).

Biološkim lijekovima smatraju se:

- imunološki lijekovi (cjepiva, toksini, serumi i proizvodi alergena),
- lijekovi iz ljudske krvi ili ljudske plazme (npr. albumin ili imunoglobulini),
- lijekovi dobiveni biotehnološkim postupcima (postupci koji uključuju uporabu živih sustava ili organizama),
- lijekovi za naprednu terapiju (lijekovi koji se temelje na genskoj terapiji, terapiji somatskim stanicama ili tkivnom inženjerstvu),
- ostali lijekovi dobiveni iz biološkog izvora (npr. heparin ili pankreatin) (2).

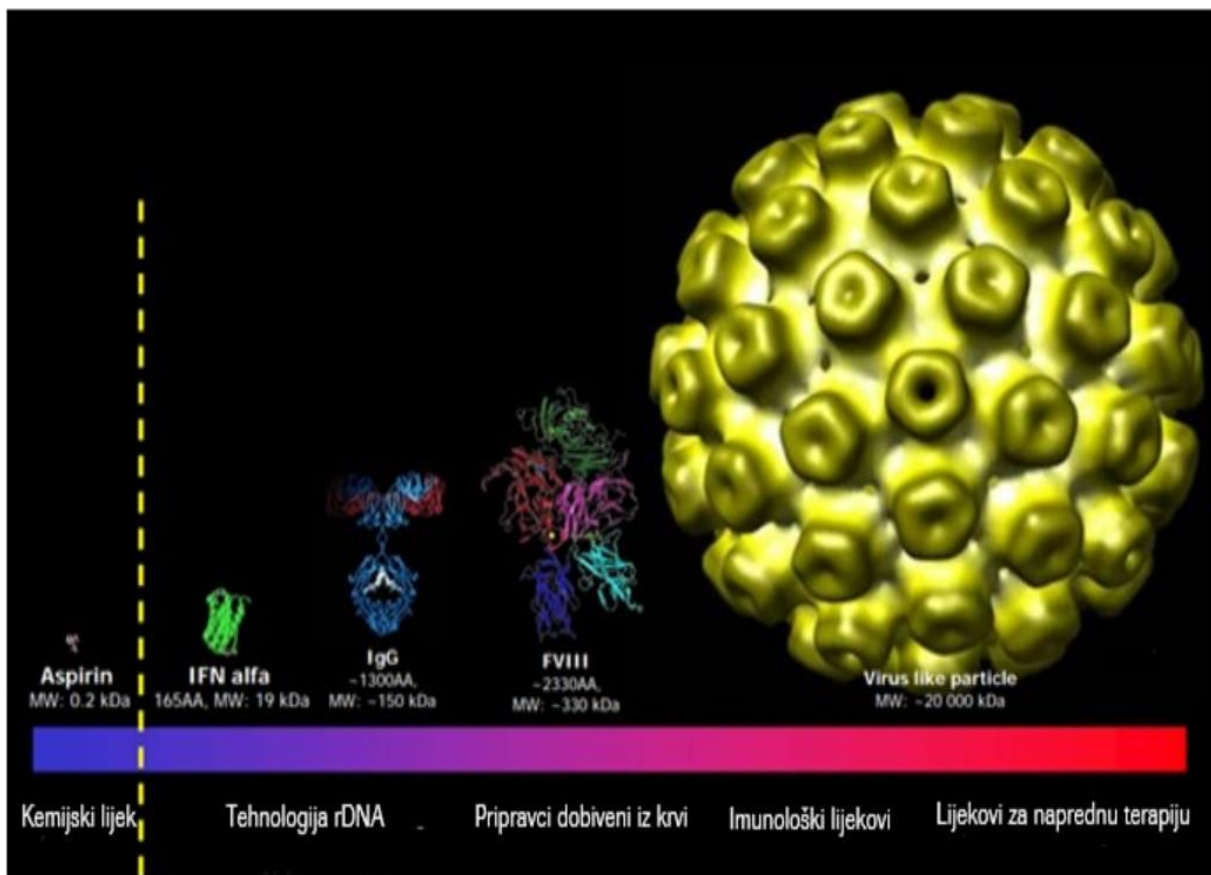
S obzirom na strukturu, biološki lijekovi mogu biti proteini, peptidi, monoklonska protutijela i nukleinske kiseline. Relativno mali broj proteinskih lijekova danas se dobiva izolacijom i pročišćavanjem iz njihovih prirodnih izvora.

Većina proteinskih lijekova proizvodi se tehnologijom rekombinantne DNA (engl. *Recombinant deoxyribonucleic acid technology*, rDNA) koja omogućuje manipulaciju genima i stanicama s ciljem proizvodnje strukturno složenih lijekova koje nije moguće ili je teško dobiti kemijskom sintezom ili izolacijom iz prirodnih izvora. Postupcima tehnologije rDNA izolira se DNA koja kodira za željeni protein, ugrađuje se u ekspresijski vektor (plazmid, bakteriofag) koji se ugrađuje u stanicu domaćina koja će proizvoditi željeni protein u velikim količinama (3). Proizvodni sustavi (stanice domaćina) uključuju bakterije, kvasce, stanice insekata, stanice sisavaca te transgenične biljke i životinje. Genetički modificirane stanične linije pomno se odabiru i kultiviraju u bioreaktorima i proizvode željeni protein koji se kasnije izolira i pročišćava kompleksnim postupcima (4).



Zbog načina proizvodnje i njihovog porijekla, djelatne tvari bioloških lijekova značajno su složenije strukture od djelatnih tvari kemijskog porijekla.

Molekule bioloških lijekova općenito su 100 do 1000 puta veće od molekula kemijskih lijekova te je njihova struktura kompleksnija: proteini su građeni od linearnog slijeda aminokiselina (primarna struktura) koje su organizirane u strukturne elemente ( $\alpha$ -uzvojnica ili  $\beta$ -ploču) stabilizirane relativno slabim fizikalnim i/ili kovalentnim disulfidnim vezama (sekundarna struktura), a koji su dodatno organizirani u trodimenzionalnu strukturu stabiliziranu relativno slabim hidrofobnim vezama (tercijarna struktura) i u nekim slučajevima u kvaternu strukturu (povezivanje monomera). Suprotno tome, male molekule kemijskih lijekova imaju dobro definiranu i stabilnu kemijsku strukturu te ih je moguće u potpunosti karakterizirati analitičkim metodama (5).



**Slika 1.** Prikaz razlike u kompleksnosti molekule kemijskog lijeka i molekula bioloških lijekova (prilagođeno prema literaturnom navodu (6)).

S obzirom na to da se proizvode u živim sustavima poput mikroorganizama ili kultura stanica, biološki lijekovi značajno se razlikuju od kemijskih lijekova dobivenih sintetskim putem. Biološki lijekovi sastoje se od velikih, kompleksnih molekula djelatne tvari, često heterogenih smjesa proteina te je njihova proizvodnja kompleksnija od proizvodnje malih molekula kemijskih djelatnih tvari.

Male promjene u proizvodnom postupku mogu značajno utjecati na trodimenzionalnu strukturu molekule, što dalje može utjecati na sigurnost i djelotvornost lijeka. Također, biološki lijekovi mogu izazvati imunogeni odgovor. Ljudsko tijelo ih zbog kompleksne i velike molekule može prepoznati kao "strane" pa stoga imaju potencijal izazivanja najčešće neželjenog imunog odgovora, što se naziva imunogeničnost. Kemijski su lijekovi većinom premali da bi ih organizam prepoznao. Većina je imunih odgovora blaga i nema negativni učinak na bolesnika, no u rijetkim slučajevima neželjeni imuni odgovor može prouzročiti ozbiljne i štetne posljedice na zdravlje pacijenta. Primjer je stvaranje tzv. neutralizirajućih antitijela koja umanjuju terapijski učinak biološkog lijeka (7).

Biološki lijekovi primjenjuju se većinom parenteralno (u venu, u mišić i potkožno; kao bolus injekcija ili infuzija) jer je bioraspodivnost pri drugim putovima primjene ograničena zbog hidrofilitnosti, velike molekulske mase i enzimске razgradnje djelatne tvari u probavnom sustavu (8).

### **1.1.1. Monoklonska protutijela**

Monoklonska protutijela (engl. *monoclonal antibodies*, mAbs) su zbog svojih mnogih prednosti danas najbrže rastuća skupina lijekova značajnog terapijskog potencijala i široke primjene. Do 2017. godine odobreno je 76 monoklonskih protutijela za primjenu u terapijske svrhe (9).

U posljednjih sedam godina zabilježen je rast od 100% (od 26 lijekova monoklonskih protutijela na početku 2010. do 52 početkom 2017. godine) u broju monoklonskih protutijela u fazi tri kliničkog ispitivanja (10).









Novi pristupi proteinskom inženjeringu dovodi do sve većeg rasta broja terapijskih mAbs, koja mogu dodatno biti modificirana tako da budu bispecifična, te mogu biti konjugirana s drugim biološkim ili kemijskim lijekovima (11).

Koriste se u liječenju tumora, autoimunih, kardiovaskularnih i infektivnih bolesti, astme i za sprječavanje odbacivanja transplantata te u dijagnostici *in vivo*, a očekuje se da će se razvojem novih monoklonskih protutijela primjena širiti i na druga terapijska područja (12).

### **1.1.2. Cjepiva**

Cjepiva su skupina bioloških lijekova koja su donijela veliki napredak u zdravlju ljudi. Cjepiva mogu sadržavati oslabljenog živog ili inaktiviranog uzročnika bolesti, a u nekim slučajevima, samo određeni fragment uzročnika koji stimulira imuni odgovor organizma. Razvoj i formulacija cjepiva prolazi sljedeće faze (1) fizikalnu i kemijsku karakterizaciju antigena, (2) razvoj indikativnih metoda stabilnosti za određivanje sadržaja i potentnosti, (3) procjena i optimizacija načina primjene i adjuvansa (na životinjskim modelima i kliničkim studijama) i (4) dizajniranje formulacije kako bi se postigla maksimalna stabilnost cjepiva, što duži rok valjanosti i imunogeni potencijal (13).

U posljednjem desetljeću (od 2000. do 2010. godine) svjedočili smo razvoju i odobravanju mnogih važnih cjepiva koja pružaju zaštitu od mnogih bakterijskih (meningokok, pneumokok) i virusnih (rotavirus, humani papilomavirus) infekcija. Dodatno, razvijene su i nove formulacije cjepiva protiv gripe (živa cjepiva, cjepiva oslabljenog antigena koja se primjenjuju nazalno). Razvijene su i nove kombinacije dobro poznatih cjepiva čime se pojednostavio raspored cijepljenja, kao što je MMRV (ospice, mumps, rubeola, varičela), DTaP-HepB-IPV (difterija, tetanus, hripavac, hepatitis B i inaktivirani poliovirus) i DTwP-HepB-Hib (difterija, tetanus, cjelostanično cjepivo protiv hripavca, hepatitis B i Haemophilus influenzae B). Dostupnost mnogobrojnih novih cjepiva, kombinacija cjepiva i poboljšanih formulacija predstavlja izazov u distribuciji diljem svijeta (13).

|                                                                                   |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                    |                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 10 nm                                                                             |                                                                                   | 60 nm                                                                             |                                                                                   |                                                                                   | 100 nm                                                                            |                                                                                    | 1 μm                                                                                |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| 5-10 nm<br>85-110 kDa                                                             | 10 nm<br>150 kDa                                                                  | 22 nm                                                                             | 30 nm                                                                             | 60 nm                                                                             | 100 nm                                                                            | 250 nm                                                                             | 2-4 μm                                                                              |
| CRM-197                                                                           | IgG                                                                               | HBsAg VLP                                                                         | Poliovirus                                                                        | HPV VLP                                                                           | Influenza virus                                                                   | Measles virus                                                                      | <i>Salmonella typhi</i>                                                             |

**Slika 2.** Prikaz raspona strukture i veličine različitih virusnih i bakterijskih antigena (prilagođeno prema literaturnom navodu (13)).

Kao što je prikazano na slici 2 antigeni u cjepivima mogu biti širokog raspona veličina, od relativno malih (kao što su rekombinantni proteini, ~ 5 nm do 10 nm) pa do vrlo velikih (npr. oslabljene bakterije, ~2000 nm). Takav veliki raspon veličina predstavlja veliki izazov u stabilizaciji i formulaciji cjepiva (13).

### 1.1.3. Terapija somatskim stanicama i genska terapija

Uvođenjem stanične i genske terapije, koja se uglavnom proizvodi iz vlastitih stanica pacijenata predstavljat će još veći izazov u budućnosti. Novartisov lijek Kymriah (*tisagenlecleucel*) i Gileadov lijek Yescarta (*axicabtagene ciloleucel*) prvi su takvi lijekovi odobreni od Američke agencije za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) potkraj 2017. i od strane Europske agencije za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) u 2018. godini (14, 15, 16). Lijek Yescarta indiciran je za liječenje bolesnika s difuznim B-velikostaničnim limfomom (engl. *diffuse large B-cell lymphoma*, DLBCL).

Yescarta je imunoterapija genetički modificiranim autolognim T-stanicama usmjerenim protiv CD19. Za pripremu lijeka Yescarta, bolesniku se uzimaju T-stanice i genetički modificiraju *ex vivo* retroviralnom transdukcijom za ekspresiju kimeričnog antigenskog receptora (engl. *Chimeric Antigen Receptor*, CAR) koji čini mišji anti-CD19 jednolančani varijabilni fragment (engl. *single chain variable fragment*, scFv) povezan s CD28 i CD3-zeta kostimulacijskim domenama. Anti-CD19 CAR-pozitivne vijabilne T-stanice se zatim umnažaju (15). Nakon

otprilike 17 dana obrade, lijek Yescarta dostavlja se u smrznutom stanju na bolnički centar u kojem se pacijent liječi, gdje se isti čuva, odmrzava, te potom primjenjuje na pacijentu (14). Takva vrsta terapije radikalno mijenja koncept konvencionalne proizvodnje, gdje je proces proizvodnje u potpunosti individualiziran za svakog pojedinog pacijenta, te proizvodni proces započinje i završava s pacijentom. Provode se mnogobrojne kliničke studije koje uključuju staničnu i gensku terapiju, te će u budućnosti predstavljati veliki izazov u prijevozu i čuvanju takvih lijekova (17).

#### **1.1.4. Bioslični lijekovi**

Bioslični lijek je biološki lijek za koji je dokazana sličnost u pogledu kakvoće, biološke aktivnosti, sigurnosti primjene i djelotvornosti s odobrenim izvornim biološkim lijekom.

Zbog složene strukture djelatne tvari i načina proizvodnje bioloških lijekova, nije vjerojatno da je moguće proizvesti biološki lijek koji ima potpuno identičnu strukturu djelatne tvari koju ima izvorni biološki lijek. Stoga se standardni pristup razvoju i odobravanju generičkih kemijskih lijekova, koji se temelji na dokazu bioekvivalentnosti s izvornim lijekom, ne može primijeniti kod biosličnih lijekova, već je u postupku razvoja i davanja odobrenja biosličnih lijekova potrebno dodatnim ispitivanjima potvrditi njihovu sličnost s izvornim lijekom (2).

Nekim od skupina bioloških lijekova istekao je ili će u sljedećem desetljeću isteći period zaštite industrijskog i intelektualnog vlasništva (patentne zaštite) te period zaštite podataka (engl. *data exclusivity*) o lijeku koji je odobren na području EU na temelju potpune dokumentacije. Time se otvara prostor za razvoj i odobravanje jeftinijih „kopija“ bioloških lijekova koji mogu smanjiti troškove u zdravstvu, povećati dostupnost bioloških lijekova te stimulirati natjecanje i inovativnost u farmaceutskoj industriji (18).

## **1.2. Kompleksnost strukture molekule bioloških lijekova i faktori koji utječu na njihovu destabilizaciju**

Struktura bioloških molekula vrlo je kompleksna što je razlog njihove velike osjetljivosti na okolišne uvjete. Biološka aktivnost većine bioloških lijekova ovisna je o njihovoj tercijarnoj strukturi. Tercijarna struktura proteinske molekule u većini slučajeva ovisi o intramolekulskim nekovalentnim interakcijama koje imaju vrlo nisku energiju (termalna energija iznosi oko 2,5 kJ/mol pri 25°C). Virusne čestice kao i stanice građene su od proteinskih molekula i bioloških makromolekula koje su međusobno povezane intermolekularnim nekovalentnim interakcijama. Suprotno biološkim lijekovima, biološka aktivnost kemijskih lijekova ne ovisi o nekovalentnim intermolekularnim interakcijama (kao što je to slučaj kod bioloških lijekova) ili homo- ili hetero-intermolekularnim interakcijama (kao što je to slučaj kod virusa i stanica). Baš suprotno, biološka aktivnost kemijskih lijekova ovisi o kovalentnim vezama između pojedinih atoma unutar molekule. Za oštećenje kemijske molekule potrebno je prekinuti kovalentne veze, dok je za oštećenje biološke molekule dovoljno samo prekinuti nekovalentne interakcije. Kao što je dobro poznato, za kidanje nekovalentne interakcije potrebno je puno manje energije (<20kJ/mol u većini slučajeva) nego za kidanje kovalentne veze (>200 kJ/mol u većini slučajeva). Kompleksna i krhka struktura bioloških lijekova čini ih osjetljivim na različite fizikalne stresove tijekom distribucije, kao što je trešnja, povišena temperatura, ciklusi smrzavanja i odmrzavanja i utjecaj sunčevog zračenja (8).

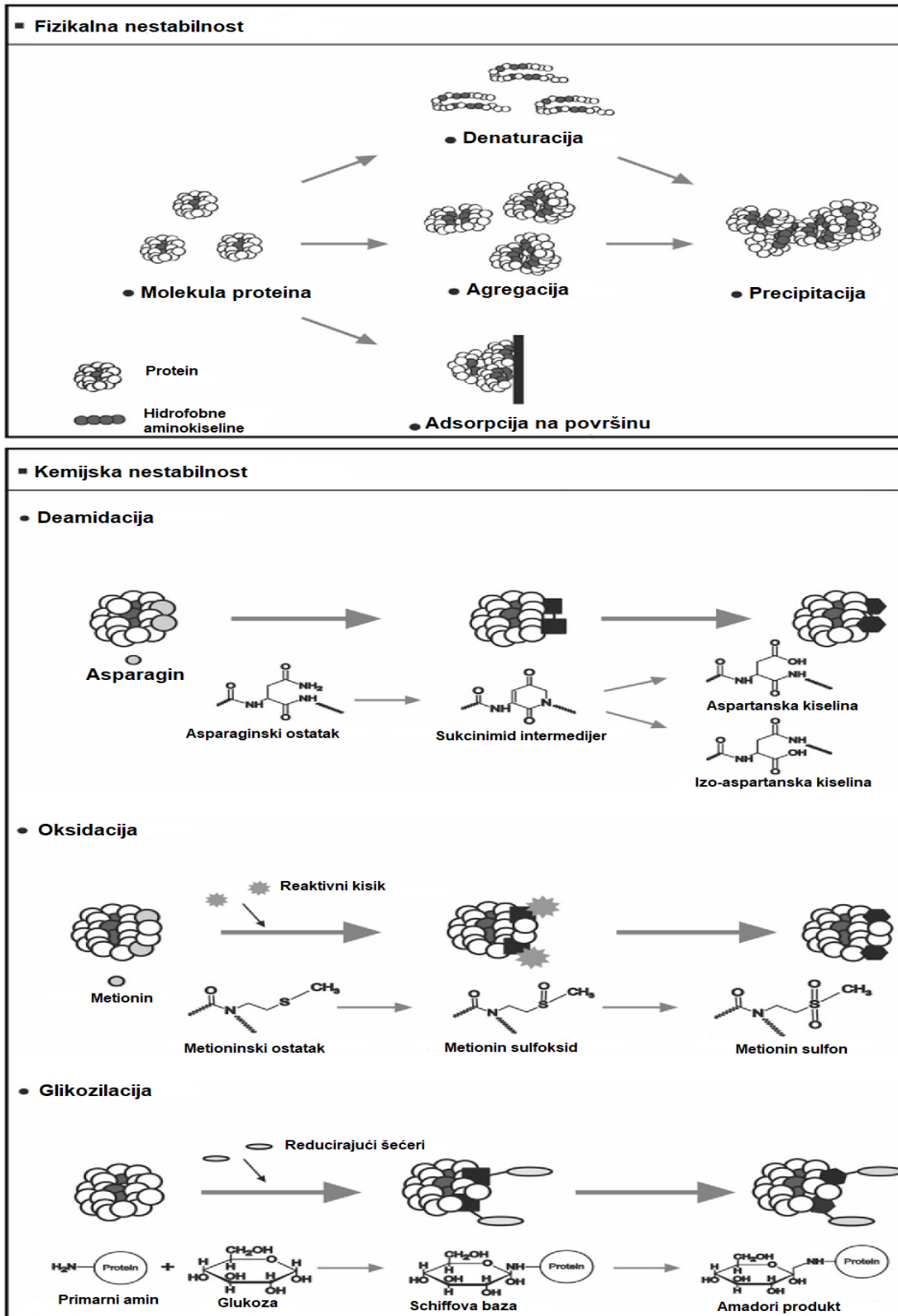
Fizikalni stresovi mogu razoriti tercijarnu strukturu proteina, što dovodi do djelomičnog rasplitanja molekule biološkog lijeka, što često dovodi do agregacije. Djelomično raspletene molekule proteina imaju smanjenu biološku aktivnost, dok agregirani proteini mogu dovesti do pojave imunogenosti (8).

Proizvođač lijeka odgovoran je osigurati da do pacijenta dođe lijek odgovarajuće kvalitete. Osiguravanje kvalitete proizvoda podrazumijeva održavanje kemijske i konformacijske stabilnosti te biološke aktivnosti proteinskih molekula tijekom čuvanja lijeka (19).

Upravo iz navedenog razloga uspostava optimalnih uvjeta skladištenja i prijevoza bioloških lijekova temelj je za osiguravanje dugoročne stabilnosti lijeka, a događaji koji mogu negativno utjecati na stabilnost lijeka moraju biti dobro definirani (19).

Pri tome je potrebno razmotriti nekoliko faktora koji imaju utjecaj na stabilnost proteinskih molekula, a to su temperatura, vlaga, pH i farmaceutske pomoćne tvari. Među njima temperatura je najvažniji faktor koji može imati izravan utjecaj na kemijsku i/ili fizikalnu stabilnost bioloških lijekova putem različitih mehanizama (19). Fizikalna nestabilnost podrazumijeva nenamjernu strukturnu promjenu koja ne utječe na kovalentne veze unutar proteinske molekule. U ovom slučaju molekula je podvrgnuta promjeni fizičke strukture bez zadiranja u kemijsku strukturu, što je uzrokovano reakcijama kao što su: denaturacija, agregacija, precipitacija i adsorpcija na površinu (19).

Kemijska nestabilnost očituje se stvaranjem ili kidanjem kovalentnih veza u molekuli proteina, što uključuje različite kemijske reakcije kao što su oksidacija, redukcija, deamidacija, hidroliza, konverzija arginina,  $\beta$ -eliminacija, racemizacija i izmjena bisulfidnih veza (19).



**Slika 3.** Shematski prikaz primjera puteva destabilizacije molekule proteina (prilagođeno prema literaturnom navodu (19)).

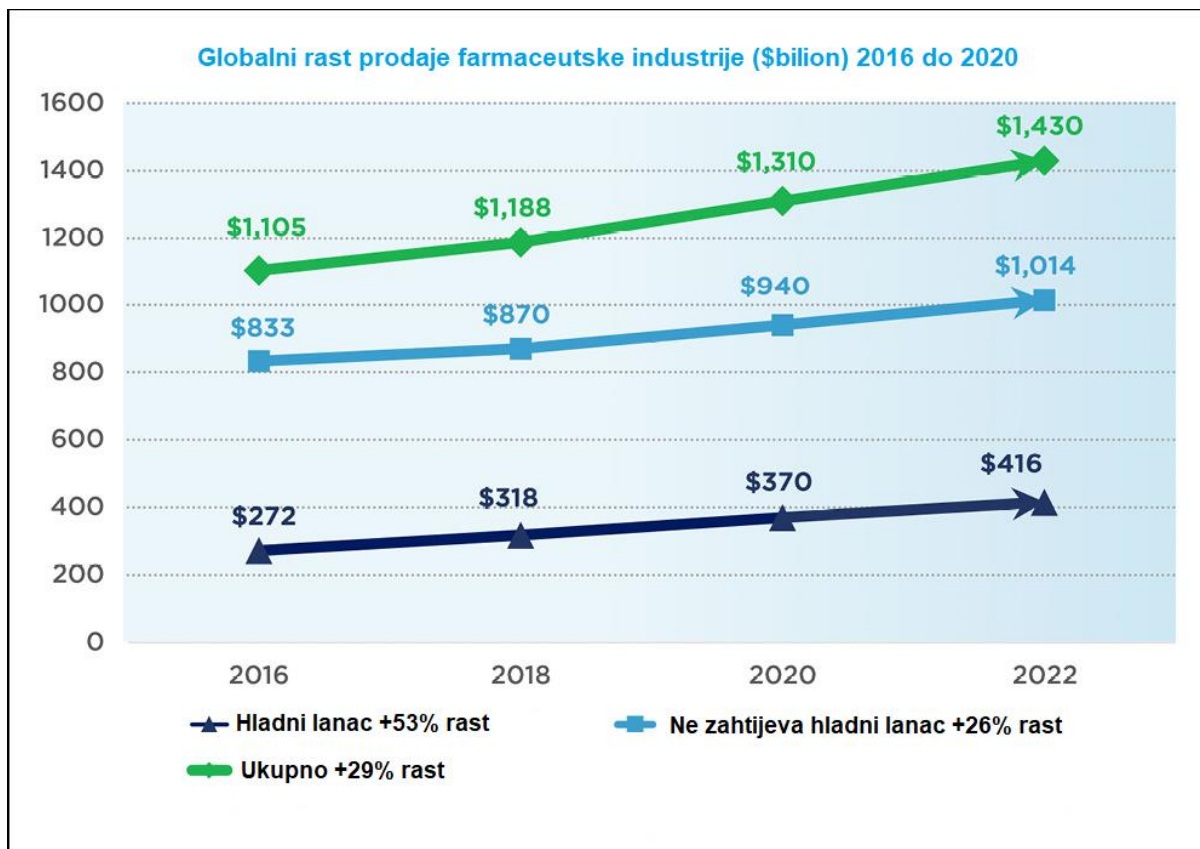


Kako bi se umanjilo oštećenje biološkog lijeka tijekom distribucije, proizvođači lijekova daju detaljne upute o propisnom postupanju, kao što su: ne mućkati i izlagati sunčevom svjetlu, čuvati pri temperaturama između 2°C do 8°C bez izlaganja ciklusima smrzavanja i odmrzavanja i sl. Međutim kako je u lancu distribucije i opskrbe lijekom uključeno mnogo različitih dionika i koraka do trenutka primjene lijeka pacijentu vrlo je teško izbjeći odstupanja od svih propisanih uvjeta čuvanja (8).

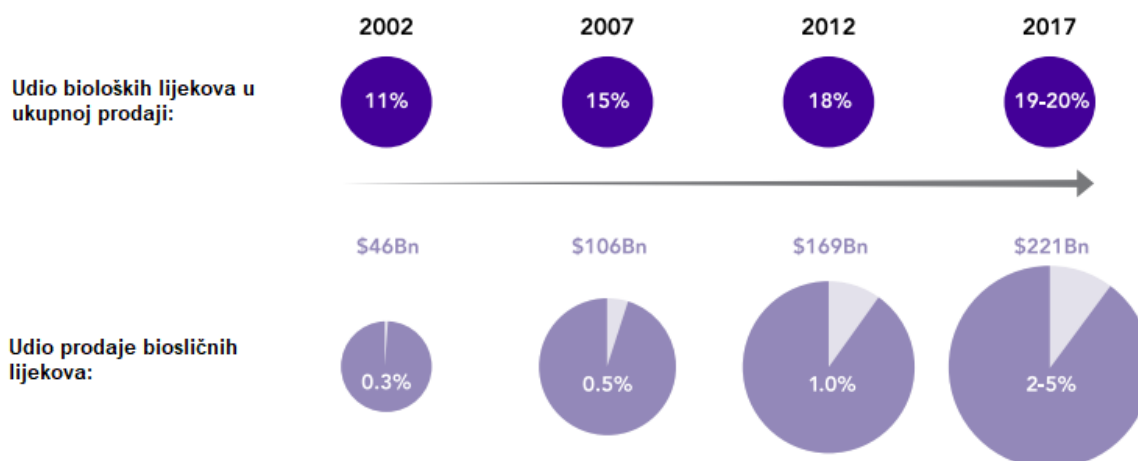
### **1.3. Rast tržišta bioloških lijekova**

U posljednja dva desetljeća biološki lijekovi postali su najbrže rastuća skupina lijekova zbog njihovog korisnog učinka u liječenju ozbiljnih i po život opasnih stanja i bolesti. Globalno tržište biološkim lijekovima u stalnom je porastu, te se predviđa ravnomjerni rast u sljedećih par godina što zbog povećanja broja novoodobrenih bioloških lijekova, ali i sve većeg rasta kroničnih bolesti zbog starenja populacije (14).

Struktura molekule bioloških lijekova vrlo je složena te je stoga takva skupina lijekova obično temperaturno osjetljiva i u većini slučajeva zahtijeva čuvanje i prijevoz u hladnom lancu. Očekuje se da će rast prodaje bioloških lijekova u sljedećih nekoliko godina biti dvostruko veći u odnosu na ukupni rast farmaceutske industrije (17).



**Slika 4.** Predviđanje rasta prodaje ukupne farmaceutske industrije; lijekova koji zahtijevaju hladni lanac i onih koji ne zahtijevaju hladni lanac. Predviđa se da će rast prodaje bioloških lijekova koji zahtijevaju hladni lanac nadmašiti ukupni rast farmaceutske industrije do 2022. godine (prilagođeno prema literaturnom navodu (17)).



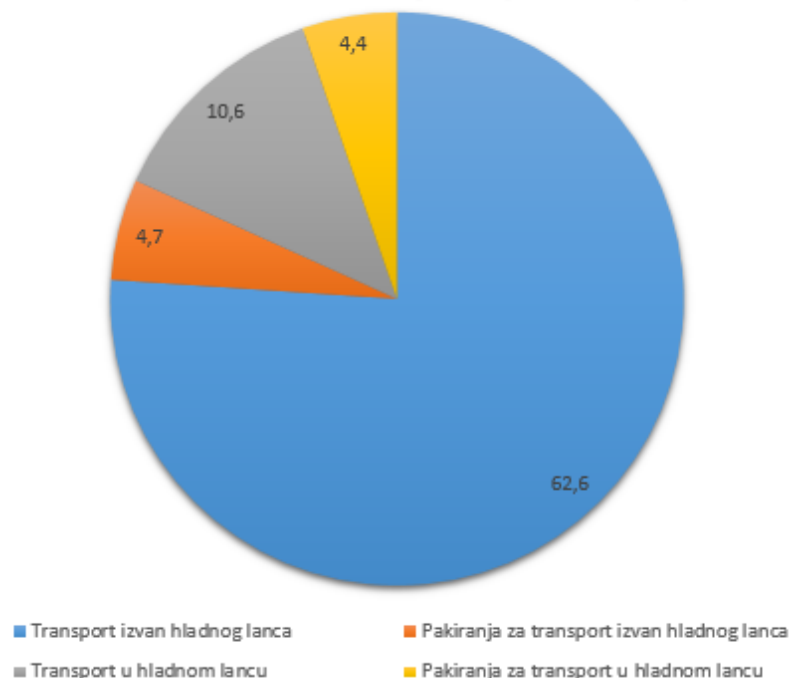
**Slika 5.** Pregled udjela bioloških lijekova u ukupnoj prodaji lijekova i udjela biosličnih lijekova u prodaji bioloških lijekova od 2002. do 2017. godine (prilagođeno prema literaturnom navodu (20)).

Prodaja i primjena bioloških lijekova pokazuje trend rasta kako u Europi tako i u cijelom svijetu. Prema podacima tvrtke *IMS Health Institute*, u Europskoj uniji (EU) je 2013. među 10 najprodavanijih lijekova bilo čak osam bioloških lijekova, većinom monoklonskih protutijela koji se koriste za liječenje reumatoidnog artritisa i karcinoma, dok je od 20 najprodavanijih lijekova u svijetu u 2014. bilo 10 bioloških/biotehnoloških lijekova, također većinom monoklonskih protutijela (21).

Bioslični lijekovi doživjet će ubrzani rast s obzirom na istek patentne zaštite. Zabilježen je rast prodaje biosličnih lijekova s manje od 0,5% u 2012. godini do 2-5% u 2017. godini (20).

U 2018. godini globalna prodaja bioloških lijekova premašuje vrijednost od 300 milijardi dolara, a s obzirom da se radi o termoosjetljivim lijekovima koje je potrebno isporučiti od proizvođača do bolnica, ljekarni i pacijenata diljem svijeta, logistički troškovi za održavanje hladnog lanca činili su više od 17% ukupnih logističkih troškova (17).

Logistički troškovi farmaceutske industrije u milijardama \$ (ukupno 82 milijarde \$)



**Slika 6.** Prikaz udjela logističkih troškova farmaceutske industrije; u 2018. godini troškovi farmaceutske industrije za logistiku hladnog lanca su oko 15 milijardi dolara od ukupnih logističkih troškova koji iznose 82 milijarde dolara (prilagođeno prema literaturnom navodu (17)).

Predviđanja za 2018. godinu bila su da će na svjetskoj razini troškovi farmaceutske industrije za održavanje kakvoće termoosjetljivih lijekova biti veći od 15 milijardi dolara, od ukupnih logističkih troškova od 82 milijarde dolara. Od toga se 10,6 milijardi dolara odnosi na troškove transporta, a 4,4 milijardi dolara za specijalizirana tercijarna pakiranja i opremu kao što su termoizolacijske kutije, rashladni elementi, transportni kontejneri i različiti temperaturni senzori i snimači. Predviđa se da će do 2022. godine trošak farmaceutske industrije za održavanje hladnog lanca biti veći od 18 milijardi dolara. Najveći dio ovih troškova odnosi se na lijekove koji se čuvaju i prevoze pri temperaturama od 2°C do 8°C (17).

#### **1.4. Pregled regulatornih zahtjeva o uvjetima čuvanja lijekova**

Pravilnik o dobroj praksi u prometu lijekova, davanju dozvola za promet na veliko lijekovima, davanju dozvola za posredovanje lijekovima i davanju potvrde o dobroj praksi u prometu lijekovima na veliko (NN 83/13) kao i *Guidelines on Good Distribution Practice of medicinal products for human use 2013/C 343/01* detaljno opisuju zahtjeve vezane uz skladištenje i prijevoz lijekova. Svi lijekovi trebaju biti uskladišteni i distribuirani unutar točno određenih definiranih uvjeta čuvanja koji su navedeni na pakiranju lijeka (22, 23).

Proizvođač lijeka dužan je na vanjskom pakiranju lijeka navesti podatke o posebnim uvjetima čuvanja kao što su na primjer „čuvati u hladnjaku“, „čuvati na sobnoj temperaturi“.

Definicije uvjeta čuvanja lijeka različite su u različitim smjernicama. U nastavku su opisane definicije uvjeta čuvanja lijeka u različitim smjernicama.

Europska farmakopeja daje određene savjete u poglavlju 1.2 („*Other provisions applying to general chapters and monographs*“) koji se odnosi na analitičke procedure:

Duboko zamrzavanje: ispod minus 15°C;

Na vrlo hladnom: od 2°C do 8°C;

Na hladnom: od 8°C do 15°C;

Na sobnoj temperaturi: od 15°C do 25°C (24, 25).

WHO smjernice donose sljedeće definicije uvjeta čuvanja:

Čuvati u zamrzivaču: potrebno transportirati u hladnom lancu i čuvati na minus 20°C;

Čuvati na 2°C do 8°C: za lijekove osjetljive na toplinu, a koji se ne smiju čuvati u zamrzivaču;

Na hladnom: čuvati između 8°C i 15°C;

Sobna temperatura: čuvati na temperaturi od 15°C do 25°C;

Ambijentalna temperatura: čuvati na okolnoj temperaturi.

Zadnji pojam nije široko korišten zbog značajnih varijacija u okolnoj temperaturi. Pod tim pojmom podrazumijeva se "sobna temperatura" ili uobičajeni uvjeti čuvanja, što znači skladištenje na suhom, čistom i dobro prozračenom prostoru pri sobnoj temperaturi između 15°C i 25°C ili do 30°C, ovisno o klimatskim uvjetima (24, 26).

USP <659> „*Packaging and Storage Requirements*“ donosi primjere za različite uvjete čuvanja, kao što su:

Na vrlo hladnom (engl. *cold*): temperatura ispod 8°C;

Na hladnom (engl. *cool*): temperatura između 8°C i 15°C;

Sobna temperatura (engl. *room temperature*): temperatura koja prevladava u radnom okruženju.

Kontrolirana sobna temperatura: temperatura koja se termostatski održava, a obuhvaća temperature uobičajenog radnog okruženja od 20°C do 25°C. Dopuštena su odstupanja u rasponu između 15°C i 30°C koja se mogu dogoditi u ljekarnama, bolnicama i skladištima, te tijekom prijevoza, ukoliko srednja kinetička temperatura ne prelazi 25°C, dopuštena su i kratkotrajna odstupanja do 40°C ako ne traju duže od 24 sata. Kratkotrajna odstupanja iznad 40°C su dopuštena samo ukoliko proizvođač takva odstupanja potkrijepi podacima iz studija ispitivanja stabilnosti.

Toplo: bilo koja temperatura između 30°C i 40°C;

Vrlo toplo: bilo koja temperatura iznad 40°C (24).

Japanska farmakopeja (engl. *Japanese Pharmacopoeia*, JP) opisuje temperaturne uvjete za analitičko ispitivanje ili čuvanje kako slijedi:

Hladno: od 1°C do 15°C;

Standardna temperatura: 20°C;

Uobičajena temperatura: 15°C do 25°C;

Sobna temperatura: 1°C do 30°C;

Mlako: 30°C do 40°C (24).

Dakle smjernice po pitanju uvjeta čuvanja lijeka nisu usklađene, a to je jasno vidljivo iz prikaza u tablici 1.

**Tablica 1.** Tablični prikaz definicija uvjeta čuvanja lijeka prema smjericama (prilagođeno prema literaturnom navodu (24)).

|                                                                               | Ph. Eur.    | WHO                                               | USP                                                                                                  | JP         |
|-------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Smrznuto/duboko zamrzavanje<br>(engl. <i>Frozen/deep-freeze</i> )             | >-15°C      | -20°C                                             | -                                                                                                    | -          |
| U hladnjaku                                                                   | 2°C - 8°C   | -                                                 | -                                                                                                    | -          |
| Na vrlo hladnom (engl. <i>Cold</i> )                                          | 8°C - 15°C  | 2°C - 8°C                                         | <8°C                                                                                                 | 1°C - 15°C |
| Na hladnom (engl. <i>Cool</i> )                                               | 8°C - 15°C  | 8°C - 15°C                                        | 8°C - 15°C                                                                                           | -          |
| Sobna temperatura (engl. <i>Room temperature</i> )                            | 15°C - 25°C | 15°C - 25°C                                       | Temperatura koja prevladava u radnom okruženju (engl. <i>temperature prevailing in a work area</i> ) | 1°C - 30°C |
| Kontrolirana sobna temperatura<br>(engl. <i>Controlled room temperature</i> ) | -           | -                                                 | 20°C - 25°C dopuštena kratkotrajna odstupanja između 15°C i 30°C                                     | -          |
| Ambijentalna temperatura<br>(engl. <i>Ambient temperature</i> )               | -           | 15°C - 25°C ili 30°C ovisno o klimatskim uvjetima | -                                                                                                    | -          |

Smjernica Europske agencije za lijekove (engl. *European Medicines Agency, EMA*) o izjavi o uvjetima čuvanja lijeka iz 2007. godine propisuje da se uvjeti čuvanja lijeka moraju navesti u uputi o lijeku i vanjskom pakiranju lijeka, te se isti moraju temeljiti na rezultatima ispitivanja stabilnosti (27).

**Tablica 2.** Tablični prikaz preporuka o obavezi načina označavanja lijeka (prilagođeno prema literaturnom navodu (27)).

| <b>Uvjeti ispitivanja stabilnosti pri kojima je lijek stabilan</b>                                                                                                                                      | <b>Obavezna izjava u označavanju lijeka</b>                                                              | <b>Dodatna izjava u označavanju lijeka, gdje je relevantno</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 25°C/60%RH (dugoročno ispitivanje stabilnosti)<br>40°C/75%RH (ubrzano ispitivanje stabilnosti)<br>ili<br>30°C/65%RH (dugoročno ispitivanje stabilnosti)<br>40°C/75%RH (ubrzano ispitivanje stabilnosti) | Ništa<br>(Potrebna je sljedeća izjava u uputi o lijeku:<br>"Lijek ne zahtijeva posebne uvjete čuvanja".) | Ne držati u hladnjaku ili zamrzavati.                          |
| 25°C/60%RH (dugoročno ispitivanje stabilnosti)<br>30°C/60%RH ili 65%RH (srednjoročno ispitivanje stabilnosti) ili<br>30°C/65%RH (dugoročno ispitivanje stabilnosti)                                     | Ne čuvati na temperaturi iznad 30°C ili čuvati na temperaturi ispod 30°C.                                | Ne držati u hladnjaku ili zamrzavati.                          |
| 25°C/60%RH (dugoročno ispitivanje stabilnosti)                                                                                                                                                          | Ne čuvati na temperaturi iznad 25°C ili čuvati na temperaturi ispod 25°C                                 | Ne držati u hladnjaku ili zamrzavati.                          |
| 5°C ± 3°C (dugoročno ispitivanje stabilnosti)                                                                                                                                                           | Čuvati u hladnjaku<br>ili<br>Čuvati i prevoziti u hladnjaku.                                             | Ne zamrzavati.                                                 |
| Ispod nule                                                                                                                                                                                              | Čuvati u zamrzivaču<br>ili<br>Čuvati i prevoziti u zamrzivaču                                            | -                                                              |

Dakle, pojmove kao što su „ambijentalno”, „na sobnoj temperaturi” i „u hladnom lancu”, treba izbjegavati kao jedini način označavanja uvjeta čuvanja ili prijevoza lijeka, jer oni nisu uvijek jasni i mogu imati različita značenja u različitim dijelovima svijeta. Uvjete čuvanja uvijek je bolje eksplicitno odrediti u smislu definiranog raspona temperatura (npr., 15°C do 25°C ili +2°C do +8°C). Posebna pozornost i naglasak treba biti dana na izbjegavanje zamrzavanja tekućih i polukrutih oblika lijekova, te bioloških lijekova (24).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Cilj je ovog specijalističkog rada sustavnim pregledom dostupne literature prikazati specifičnosti u čuvanju i prijevozu bioloških lijekova kako bi se osigurala njihova kvaliteta, sigurnost i djelotvornost od proizvođača lijekova, preko veletrgovaca do ljekarni pa sve do krajnjeg korisnika - pacijenta.

Predloženo istraživanje sustavno će prikazati regulatorne zahtjeve i način osiguranja propisanih uvjeta skladištenja i prijevoza termoosjetljivih bioloških lijekova.

Detaljno će biti opisana ispitivanja stabilnosti koja je potrebno provesti kako bi se učinkovito moglo upravljati temperaturnim odstupanjima koja se mogu dogoditi u lancu opskrbe biološkim lijekovima. Također će biti razmatrani i drugi vanjski faktori koji mogu imati negativan utjecaj na kvalitetu bioloških lijekova.

U radu će detaljno biti opisani tehnički zahtjevi za opremu, skladišne prostore, transportne sustave i uvjeti temperaturnih mapiranja istih.



### **3. MATERIJALI I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI**

#### **3.1. Temperaturno kontrolirani skladišni prostori**

Europska smjernica *EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use* u dijelu 1, poglavlje 3, odjeljak 3.19 donosi zahtjev da skladišni prostori trebaju biti dizajnirani ili prilagođeni na način da osiguraju dobre uvjete skladištenja. Prije svega trebaju biti čisti i suhi te se temperatura u njima treba održavati u prihvatljivim granicama. Kada se zahtijevaju posebni uvjeti skladištenja (npr. temperatura, vlažnost) potrebno ih je osigurati, kontrolirati i pratiti (28).

Europska smjernica *Guidelines on Good Distribution Practice of Medicinal Products for Human Use*, 2013/C 343/01 u poglavlju 5.5 donosi zahtjev da lijekove treba skladištiti odvojeno od proizvoda koji bi mogli utjecati na njihovu kvalitetu, te ih treba zaštititi od štetnog utjecaja svjetlosti, temperature, vlage i drugih vanjskih čimbenika. Posebnu pozornost treba obratiti na lijekove koji zahtijevaju posebne uvjete skladištenja (23).

Temperaturno kontrolirani skladišni prostori su prostori u kojima se temperatura kontinuirano održava i prati unutar unaprijed definiranih temperaturnih granica.

Pod temperaturno kontroliranim skladišnim prostorima uobičajeno podrazumijevamo ambijentalne skladišne prostore u kojima se održava temperatura između 15°C i 25°C; rashladne komore u kojima se temperatura održava između 2°C i 8°C i zamrzivače u kojima se temperatura obično održava između -25°C i -15°C (29).

##### **3.1.1. Ambijentalni skladišni prostor**

Temperatura u ambijentalnom skladišnom prostoru najučinkovitije se kontrolira i održava kombinacijom pasivnih i aktivnih tehnika:

- vanjski zidovi građevine s visokim stupnjem toplinske izolacije;
- stroga prevencija ulaska vanjskog zraka kroz vanjsku oblogu građevine;
- kontrolirani gubitak i unos topline tijekom otvorenih vrata; to se postiže korištenjem predprostora i trakastih zavjesa;
- učinkovit sustav grijanja i hlađenja;

- kontrola temperaturnog raslojavanja korištenjem sustava koji održava ujednačenu distribuciju temperature u cijelom volumenu temperaturno kontrolirane zone.

U nekim situacijama, potrebno je aktivno kontrolirati i regulirati relativnu vlažnost zraka u skladišnim prostorima, naročito u klimatskim zonama s visokim udjelom vlage u zraku. U takvim situacijama vlaga i kondenzacija vode može utjecati na kvalitetu uskladištenog lijeka (29).

### **3.1.2. Hladne komore i zamrzivači**

Lijekovi koji zahtijevaju uvjete hladnog lanca (od 2°C do 8°C; -20°C) tijekom čuvanja i transporta spadaju među najosjetljivije, a samim time i najkritičniju skupinu lijekova. Upravo zbog toga i hladne komore i zamrzivače možemo smatrati kritičnom i vrlo zahtjevnom opremom (30).

Hladne komore i zamrzivači obično su konstruirani unutar glavne skladišne zgrade, korištenjem gotovih izolacijskih panela. Hladne komore trebaju imati glavni rashladni sustav i rezervni rashladni sustav u slučaju kvara glavne rashladne jedinice. Najbolje je ugraditi „split“ sustav s kondenzacijskim jedinicama koje su smještene izvan glavnog skladišnog prostora (29).

### **3.1.3. Praćenje i bilježenje uvjeta u skladišnim prostorima**

Hladne komore, zamrzivači i temperaturno kontrolirani ambijentalni skladišni prostori trebaju biti opremljeni sustavom kontinuiranog praćenja temperature i po potrebi praćenja relativne vlažnosti zraka (31).

Temperaturni senzori trebaju biti točnosti  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  ili bolje. Smještaj temperaturnih senzora mora se temeljiti na rezultatima temperaturnog mapiranja. Temperaturni senzori trebaju biti smješteni na pozicijama gdje se očekuje najveća varijabilnost u temperaturi unutar kvalificiranog skladišnog prostora i trebale bi biti pozicionirane tako da na njih minimalno utječu prolazni kratkotrajni događaji, kao što je primjerice otvaranje vrata. U slučaju da se u skladišnom prostoru čuvaju lijekovi koji zahtijevaju kontroliranu relativnu vlažnost zraka, u takvom skladišnom prostoru trebaju biti instalirani senzori za mjerenje relativne vlažnosti

zraka. Senzori za mjerenje relativne vlažnosti zraka moraju biti točnosti  $\pm 5\%$  RH ili bolje. Senzori moraju biti smješteni na pozicijama gdje se očekuje najviša razina relativne vlažnosti zraka unutar kvalificiranog skladišnog prostora (32).

Za praćenje okolišnih uvjeta u skladišnom prostoru potrebno je koristiti odgovarajući centralni nadzorni sustav koji neprekidno i sigurno mjeri, prenosi, bilježi, prikazuje, procjenjuje, čuva i dokumentira podatke mjerenja. Sustav nadzora treba ispunjavati regulatorne zahtjeve (npr. Annex 11 GMP smjernice Europske unije, GAMP<sup>®</sup>5, FDA 21 CFR 11) i treba biti kvalificiran. Sustav također treba zadovoljavati zahtjeve iz specifikacije korisnika, funkcionalne specifikacije dizajna i analize rizika (33).

Izbor vrste sustava praćenja i bilježenja propisanih uvjeta u skladišnim prostorima prije svega ovisi o potrebama korisnika. Izbor primjerice može ovisiti o tome da li se radi o maloj ljekarni, velikom ili malom skladišnom prostoru. Postoje dvije osnovne opcije dizajna centralnog nadzornog sustava za praćenje okolišnih uvjeta u skladišnim prostorima.

Prva opcija je sustav koji je instaliran u organizaciji koja prati i bilježi okolišne uvjete. Server i baza podataka smješteni su, njima upravljanja i održava ih organizacija odgovorna za sustav.

Druga opcija je sustav u kojem su komponente hardware-a (senzori i čitači) instalirani u organizaciji čiji okolišni uvjeti se prate, dok se software, server i baze podataka nalaze u sustavu ugovorne organizacije. Podatke prikuplja, pohranjuje i njima upravlja ugovorna organizacija, dok organizacija čiji se uvjeti prate ima pristup podacima preko sigurnog web sučelja. U ovom slučaju, ugovorna organizacija osigurava održavanje i kvalifikaciju sustava.

Izbor između ove dvije opcije ključna je odluka koja ima dugoročni operativni i financijski utjecaj (31).

Kako bi sustav praćenja i bilježenja okolišnih uvjeta bio usklađen sa zahtjevima dobre proizvođačke prakse trebao bi imati sljedeće karakteristike:

- generiranje automatskog alarma u slučaju prekoračenja postavljenih alarmnih granica;
- adekvatan broj senzora (nakon procjene najhladnijih/najtoplijih mjesta);
- senzori koji se mogu umjeravati;
- sustav treba biti kvalificiran;

- treba biti moguće integrirati sustav u postojeću mrežu;
- treba moći generirati jednostavna i sigurna upozorenja putem e-pošte ili SMS poruka;
- treba osiguravati visoku razinu sigurnosti podataka i sigurno snimanje podataka, čak i u slučaju kvara na mreži;
- bilježenje podataka čak i u slučaju nestanka struje (interna memorija podataka);
- brz i automatski online prikaz (web pristup) mjernih podataka i upozorenja;
- Audit Trail, tj. praćenje i bilježenje svih korisničkih aktivnosti, uključujući promjene, brisanja, mijenjanje granica upozorenja (npr.  $<3^{\circ}\text{C}$  i  $>7^{\circ}\text{C}$ ) i granica alarma ( $<2^{\circ}\text{C}$  i  $>8^{\circ}\text{C}$ );
- sigurnosna kopija podataka;
- adekvatne statističke analize, tj. prikaz srednje kinetičke temperature (engl. *Mean Kinetic Temperature*, MKT), maksimalne/minimalne temperature, srednje temperature;
- dokumentacija sustava treba biti usklađena sa zahtjevima dobre proizvođačke prakse;
- mogućnost podešavanja pristupnih prava za pojedine korisnike sustav npr. pravo čitanja, mijenjanja;
- jednostavno generiranje izvještaja.

Oprema za mjerenje temperature obično je povezana s alarmnim sustavom koji generira alarm u slučaju da su zabilježene vrijednosti izvan definirani granica alarma ili kada su dosegnute definirane granice upozorenja (25).

U slučaju alarma trebao bi se aktivirati vizualno i/ili zvučno upozorenje, zajedno sa automatskim pozivanjem ili slanjem SMS poruka upozorenja ključnom osoblju (32).

Provjeru funkcionalnosti alarma temperature i relativne vlažnosti potrebno je provoditi najmanje svakih šest mjeseci na određenim zadanim točkama (34).

### 3.2. Transport termoosjetljivih lijekova

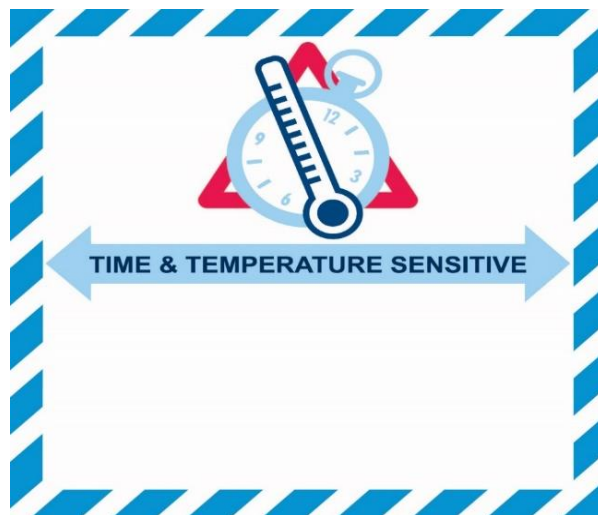
Europska smjernica *Guidelines on Good Distribution Practice of Medicinal Products for Human Use*, 2013/C 343/01 u poglavlju 9 opsežno opisuje zahtjeve vezane uz prijevoz lijekova. Veleprodaja je dužna osigurati propisane temperaturne uvjete tijekom prijevoza lijekova, a ukoliko je tijekom prijevoza lijeka došlo do odstupanja u temperaturi, to je potrebno detaljno istražiti (23).

Transportne sustave s obzirom na temperaturu možemo podijeliti na transport pri kontroliranim ambijentalnim uvjetima (15°C do 25°C); transport na hladnom pod uvjetima 2°C do 8°C i transport pod temperaturama od -15°C do -25°C.

Prijevoz lijekova od proizvođača do distributera može trajati i do nekoliko dana pa čak i tjedana, dok prijevoz od veleprodajnog skladišta do ljekarni može trajati po nekoliko sati. Iako u nekim slučajevima transport može trajati kratko, izlaganje lijeka temperaturama višim ili nižim od propisanih uvjeta, može imati negativan utjecaja na kakvoću lijeka, te dovesti do trajnog gubitka njegove djelotvornosti. Kako prijevoz traje određeni vremenski period, tijekom tog perioda trebaju biti zadovoljeni svi propisani uvjeti (35).

Pravilni transport lijekova s ciljem očuvanja njihove kvalitete, djelotvornosti i sigurnosti nužni su tijekom cijelog distribucijskog lanca. Zbog sve većeg broja visokovrijednih bioloških lijekova, zahtjev za temperaturno kontroliranim transportom, najčešće u hladnom lancu, sve je češći.

Transportno pakiranje lijeka mora biti jasno označeno s obzirom na propisane uvjete čuvanja i transporta. Prijedlog označavanja je dan u smjernicama Međunarodnog udruženja zračnih prijevoznika (engl. *International Air Transport Association*, IATA), npr. vidi sliku 7. Obavezno je praćenjem i bilježenjem temperaturnih uvjeta tijekom skladištenja i transporta lijeka kako bi proizvođač na temelju njemu dostupnih podataka mogao provesti procjenu da li je neka serija lijeka prihvatljiva za korištenje od strane pacijenata. Temperaturna odstupanja moraju se procjenjivati na temelju dostupnih podataka iz provedenih ispitivanja stabilnosti. Isto tako ukoliko postoji razvijen matematički model on također može pomoći u evaluaciji posljedica temperaturnih odstupanja.



**Slika 7.** Naljepnica kojom se označava transportno pakiranje lijeka osjetljivog na temperaturno i vremensko odstupanje (prema literaturnom navodu (36)).

Temperaturno kontrolirane transportne sustave s obzirom na način održavanja propisane temperature dijelimo na:

- (i) transportni sustavi s aktivnom regulacijom temperature;
- (ii) pasivni transportni sustavi.

Pod aktivnim rashladnim sustavom podrazumijeva se sustav koji regulira temperaturu pomoću energije iz vanjskih izvora (električna energija/baterija). S druge strane, pasivni sustavi funkcioniraju samostalno bez energije iz vanjskih izvora. Temperatura se održava pomoću rashladnih elemenata koji sadrže različite rashladne medije (37).

### **3.2.1. Transportni sustavi s aktivnom regulacijom temperature**

Koncept aktivne regulacije temperature primjenjiv je i za transport u hladnom lancu kao i za transport u ambijentalnim temperaturnim uvjetima.

#### **3.2.1.1. Transportna vozila**

Tovarni prostor transportnog vozila obično je izgrađen od dvostrukih stjenki od ojačanog sintetičkog materijala (poliesterska smola, epoksidna smola) s izolacijskom jezgrom od poliuretanske pjene (PU) i aluminijskim slojevima između njih. Poliuretanska pjena koja se

koristi kao izolacijski materijali mora imati strukturu zatvorene ćelije. To omogućava zadržavanje plina s niskom toplinskom vodljivošću unutar pjenastih jezgri.

Zrak iz okoliša ulazi u rashladnu jedinicu koja ima funkciju grijanja i hlađenja. Obično je jedinica montirana u prednji dio transportnog vozila. Rashladna jedinica koristi gorivo za funkcioniranje tijekom rada vozila, a u slučaju da je vozilo ugašeno može raditi na struju. Važno je da se pogon na gorivo automatski uključuje u slučaju nestanka struje. U rashladnoj jedinici zrak se zagrijava ili hladi do željene temperature, tzv. zadane temperature (engl. *set-point*).

U svrhu ravnomjernije raspodjelu zraka određene temperature u unutrašnjosti većih transportnih vozila učinkovitim su se pokazale plinopropusne zračne cijevi od tekstila ili nekoliko cijevi različitih duljina ugrađenih u strop teretnog prostora (37).

#### 3.2.1.2. Zračni transport

Uzevši u obzir duljinu trajanja puta i geografske udaljenosti zračni transport je čest izbor kod transporta temperaturno osjetljivih lijekova kod velikih udaljenosti (38).

Za avionski transport termoosjetljivih lijekova prikladne su dvije vrste kontejnera: kontejner s aktivnim hlađenjem i kontejner s grijanjem i hlađenjem (38).

Kontejneri s aktivnim hlađenjem prikladni su za transport lijekova. Mogu se koristiti kutni LD3 kontejneri s volumenom od 4,50 m<sup>3</sup> i LD9 kontejneri s volumenom tereta od 7,62 m<sup>3</sup>. Kabina sa suhim ledom odvojena od tereta služi kao hladni spremnik. Stalnom cirkulacijom zraka i kontinuiranim mjerenjem temperature na nekoliko točaka unutar teretnog prostora postiže se održavanje temperature u rasponu od -20°C do +30°C tijekom razdoblja od približno 120 sati.

Temperatura okoliša ima veliki utjecaj na duljinu održavanja željene temperature:

- visoka vanjska temperatura / kratko održavanje hladnog lanca;
- niska vanjska temperatura / dulje održavanje hladnog lanca.

Za besprijekornu konvekciju i cirkulaciju, vrlo je važno osigurati odgovarajuću udaljenost (najmanje 2 cm) između tereta i zidova spremnika. To se osigurava posebnim odstojećima (oblogama) na zidovima, stropu i podu. Odgovarajuća cirkulacija zraka smanjuje rizik od mogućih "vrućih" ili „hladnih“ mjesta.

Temperatura u spremniku treba biti unutar zahtijevanih temperaturnih granica unutar kojih se transport lijeka provodi, pa je stoga važno prekondicioniranje spremnika na željenu temperaturu npr. između 2°C i 8°C.

Budući da nije moguće aktivno reagirati na alarm zbog odstupanja temperature tijekom leta, vrlo je važno poduzeti sljedeće mjere:

- (i) potrebno je pažljivo odabrati prijevoznika koji bi ako je moguće trebao unaprijed dati informacije o temperaturama koje se očekuju u teretnom prostoru;
- (ii) rutu transporta treba planirati, pri tome treba uzeti u obzir vrijeme zadržavanja, skladištenja i utovara, kao i moguća kašnjenja;
- (iii) potrebno je provjeriti kapacitet baterije;
- (iv) temperaturu je potrebno kontinuirano pratiti;
- (v) treba postojati pouzdana opskrba suhim ledom, po potrebi nadopuniti kabinu sa suhim ledom;
- (vi) spremnik treba biti prekondicioiran (37).

Danas su dostupni teretni kontejneri bez suhog leda namijenjeni za transport od +2°C do +30°C u trajanju oko 100 sati sa aktivnim grijanjem i hlađenjem. Kompresor služi za hlađenje, električni 12/24-voltni akumulatorski sustav odgovoran je za grijanje. Takvi transportni kontejneri prikladni su za transport termoosjetljivih lijekova, osobito onih koji su osjetljivi na smrzavanje (37).

### **3.2.2. Pasivni transportni sustavi**

#### **3.2.2.1. Kutije s rashladnim elementima**

Za distribuciju na kraće ili srednje udaljenosti često se koriste prijenosni hladnjaci od polistirenskog materijala s rashladnim elementima (ulošcima). Rashladni elementi su polietilenski plastični spremnici ispunjeni smrznutom, konzerviranom, često obojenom slanom vodom.

Rashladni elementi za prijenosne hladnjake obično se ohlade na -16°C do -18°C. Korisnim se pokazalo kondicioniranje rashladnih elemenata pri sobnoj temperaturi 1 do 2 sata prije



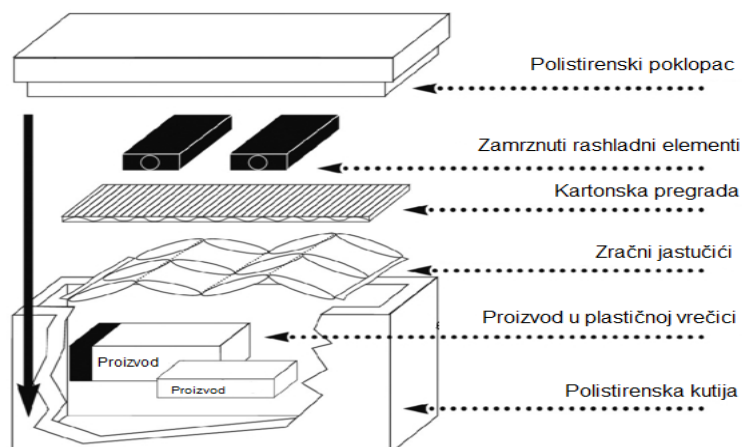
stavljanja u prijenosni hladnjak ili kutiju. Time se sprječava izlaganje lijeka ekstremno niskim temperaturama i njegovog smrzavanja, što može dovesti do njihovog oštećenja.

Osim toga potrebno je izbjegavati direktan kontakt pakiranja lijeka i rashladnih elemenata što se postiže uporabom pregrada od kartona ili zračnih jastučića.

Zračni jastučići štite pakiranje lijeka od vibracija, što je osobito važno u slučaju kad je lijek pakiran u staklenim bočicama. Pakiranje lijeka potrebno je zapakirati u plastične vrećice kako bi bilo zaštićeno od štetnog djelovanja kondenzirane vode.

Voda koja se nalazi u rashladnim elementima čini dvije faze. U početku se voda nalazi samo u jednoj fazi, čvrstom agregatnom stanju. Tijekom transporta čvrsto agregatno stanje postepeno prelazi u drugu fazu, tekuće agregatno stanje. Energija potrebna za taj prijelaz apsorbira se iz okoline, koja se posljedično hladi. Kapacitet hlađenja rashladnog elementa iscrpi se na kraju prijelaza u tekuću fazu. Ovisno o toplinskoj vodljivosti zidova i elemenata koji izoliraju proizvod, nakon određenog vremena unutarnja temperatura pakiranja se izjednači s vanjskom temperaturom (37).

Na slici 8 prikazana je shema konfiguracije pakiranja koja osigurava dobar izolacijski kapacitet i farmaceutsku sigurnost. Pri tome treba voditi računa da konfiguracija pakiranja može biti različita s obzirom na vanjske temperature. Tako razlikujemo konfiguraciju pakiranja tijekom zimskih uvjeta od one koja se primjenjuje tijekom ljetnih uvjeta (37).



**Slika 8.** Shematski prikaz primjera slaganja kutije s rashladnim elementima (prilagođeno prema literaturnom navodu (37)).

### 3.2.2.2. Termoizolacijske kutije

Veleprodajni distributeri često koriste termoizolacijske kutije koje su posebno dizajnirane za transport u hladnom lancu i distribuciju na veće udaljenosti. Ove kutije su izrađene od stiropora (polistirena) ili poliuretana. Ono što ove kutije imaju zajedničko je da se mogu umetnuti u kartonsku transportnu kutiju. Kako bi se osiguralo da su rashladni elementi strogo odijeljeni od pakiranja lijeka, oni se umeću iznad proizvoda u poklopac transportne kutije ili se smještaju lijevo i desno od pakiranja lijeka odvojeni plastičnom rešetkom.

Na tržištu su dostupne termoizolacijske kutije složenog dizajna namijenjene za transport lijekova, kao i za lijekove za klinička ispitivanja, uzorke tkiva, stanične kulture i krvne pripravke na veće udaljenosti. Ovi spremnici prikladni su za transport pri uvjetima na smrznutom, na hladnom i sobnoj temperaturi, a ovisno o zahtjevima transporta koriste se rashladni elementi prekondicionirani na različitim temperaturama (primjerice za ljetnu konfiguraciju rashladni elementi se hlade na  $-15^{\circ}\text{C}$ , a za zimsku na  $+5^{\circ}\text{C}$ ) (37).

Karakteristike termoizolacijskih kutija su sljedeće:

- (i) Umjesto vode, u rashladnim elementima koristi se parafin (tj. zasićeni n-parafinski ugljikovodici) ili biorazgradiva biljna ulja. Ako se upotrebljavaju rashladni elementi sa parafinom oni se moraju prethodno kondicionirati na  $+3,5^{\circ}\text{C}$  kroz 72 sata, ovisno o vrsti kutija. To osigurava temperaturu od  $2^{\circ}\text{C}$  do  $8^{\circ}\text{C}$  tijekom 72 sata.

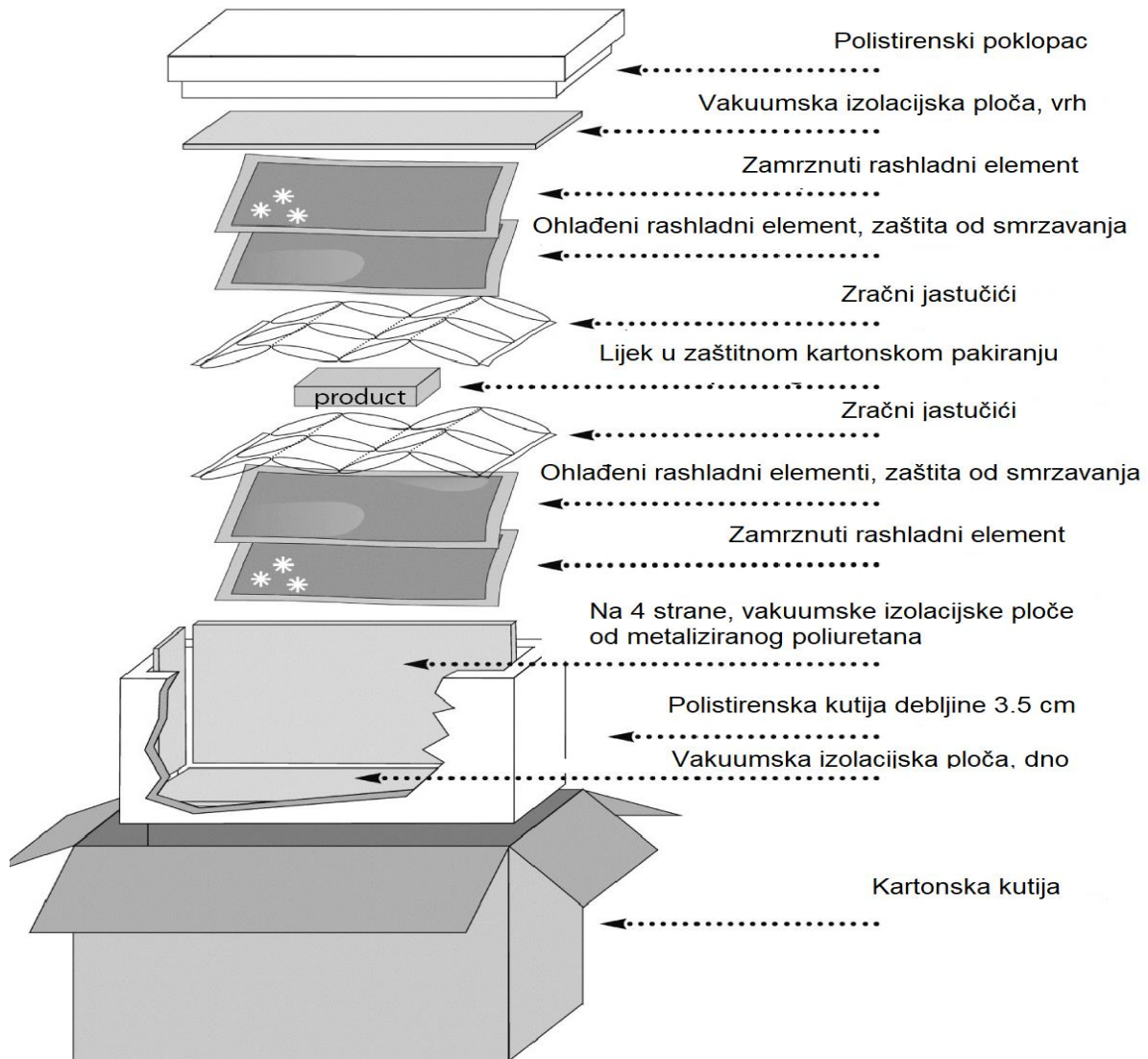
Druge vrste termoizolacijskih kutija zahtijevaju kombinaciju rashladnih elemenata prekondicioniranih na  $+5^{\circ}\text{C}$  i onih prekondicioniranih na  $-18^{\circ}\text{C}$ . Zamrznuti rashladni elementi moraju se prije upotrebe ostaviti oko sat vremena na sobnoj temperaturi.

Važno je da se rashladni elementi prilikom prekondicioniranja čuvaju na policama koje omogućavaju slobodno strujanje zraka. Vrijeme prekondicioniranja ovisi o vrsti rashladnih elemenata i propisan je od proizvođača.

- (ii) Umjesto vanjske ambalaže od polistirena (stiropora) ponekad se koristi posebno sabijen stiropor sa visokom izolacijskom svojstvom, tj. niskom toplinskom vodljivosti.
- (iii) Nadalje, često se koriste vakuumske izolacijske paneli (engl. *Vacuum Insulation Panels*, VIP). Ovi se paneli obično sastoje od metaliziranog, evakuiranog poliuretana koji često

ima strukturu saća. Vakuumski izolacijski panel debljine stjenke od 1 cm ima jednaka izolacijska svojstva kao 12 cm standardnog polistirenskog panela.

(iv) Prekondicioniranje cijelog spremnika do potrebne temperature transporta može povećati učinkovitost održavanja željene temperature za 5-10% (37).

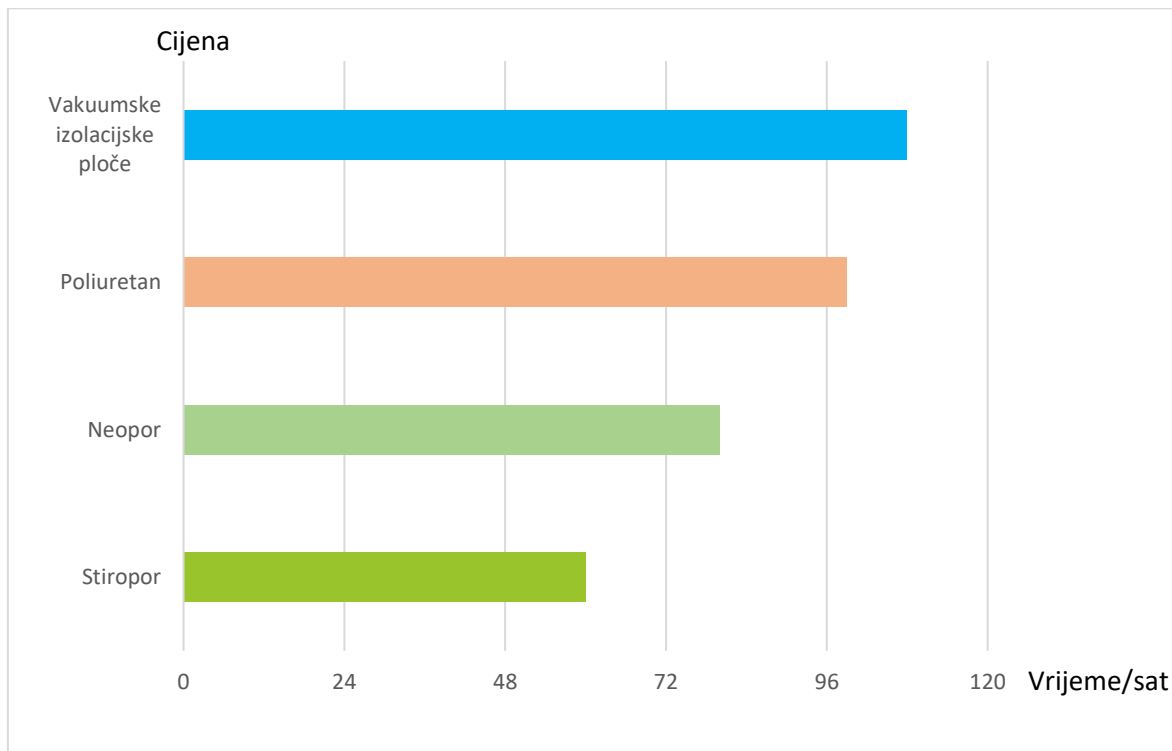


**Slika 9.** Shematski prikaz primjera slaganja termoizolacijske kutije (prilagođeno prema literaturnom navodu (37)).

Unutar termoizolacijske kutije mogu se održavati temperature u različitim rasponima, a trajanje održavanja željene temperature ovisi o strukturi pasivnog spremnika, toplinskoj izolaciji i količini energije hlađenja (37).

Spremnici koji su namijenjeni za transport u hladnom lancu izrađeni su od izolacijskog materijala koji se razlikuju po kvaliteti i dizajnu, a o tome ovisi vrijeme održavanja zahtijevane temperature (trajanje hladnog lanca).

U osnovi razlikujemo pakiranja od stiropora (polistirena), neopora, poliuretana obloženih aluminijem i vakuumskih izolacijskih ploča. Svojtvo pojedinog materijala može se procijeniti na temelju karakteristike materijala kao što je volumetrijska težina. Ako je vrijednost volumetrijske težine niska (ispod  $20 \text{ g/m}^3$ ), kao kod stiropora, izolacijska svojstva znatno su lošija u odnosu na materijale sa većom volumetrijskom težinom.

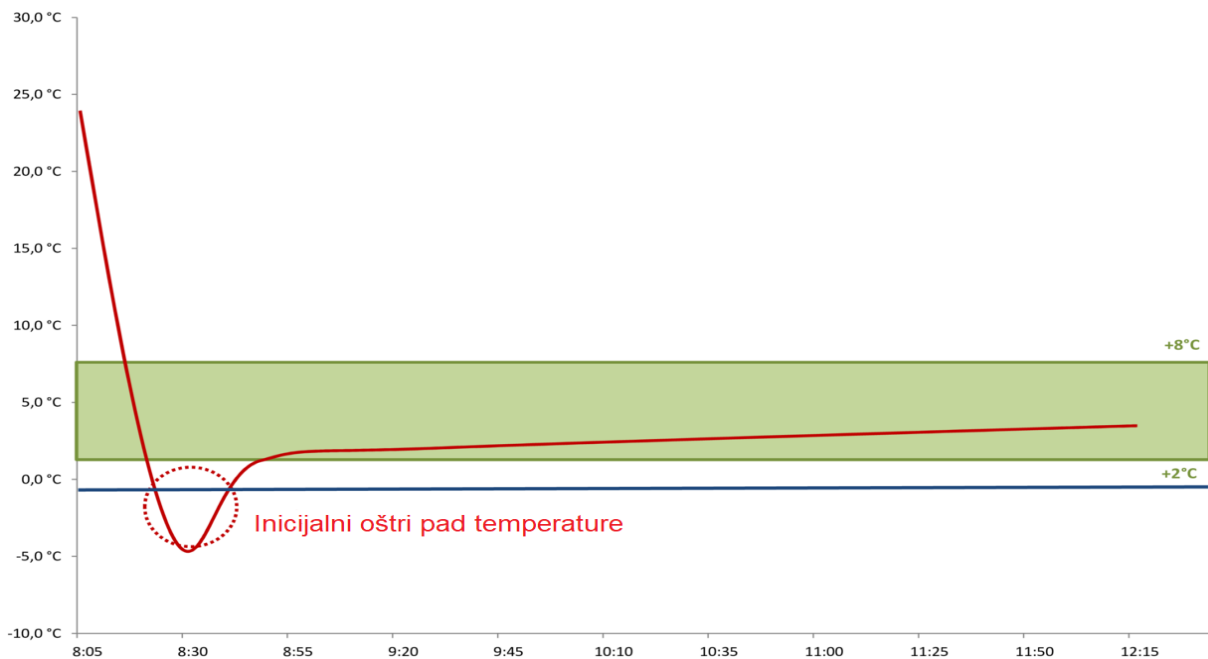


**Slika 10.** Prikaz odnosa cijene materijala i vremena održavanja hladnog lanca (prilagođeno prema literaturnom navodu (39)).

Spremnik s vakuumskim izolacijskim pločama omogućuje dugotrajno održavanje hladnog lanca za razliku od kutija u kojima se kao izolacijski materijal koristi stiropor koji osigurava održavanje hladnog lanca oko 48 sati.

Rashladni elementi smještaju se na mjesta koja su posebno predviđena za tu svrhu. Fiksni položaj za smještaj rashladnih elemenata može biti predviđen dizajnom udubljenja u okviru i projektiranjem rashladnih elemenata kako bi se isključilo nepravilno slaganje elemenata.

Ukoliko se koriste rashladni elementi ohlađeni na temperaturu primjerice  $-25^{\circ}\text{C}$  može se pojaviti oštar pad temperature unutar spremnika ispod zadane vrijednosti, na primjer,  $+2^{\circ}\text{C}$ .



**Slika 11.** Prikaz inicijalnog oštrog pada temperature u pasivnom spremniku (prilagođeno prema literaturnom navodu (39)).

Postoji nekoliko razloga za taj neželjeni oštar pad temperature u pasivnom spremniku:

- (i) udaljenost između proizvoda i rashladnih elemenata je premala;
- (ii) zamrznuti rashladni elementi postavljeni izravno u pakiranje s lijekom;
- (iii) nisu postavljeni materijali koji razdvajaju proizvod od rashladnih elemenata (kartonski materijal, unutarnji okvir, materijal za punjenje) (39).

Ovaj neželjeni učinak može se uspješno izbjeći na način da se propiše adekvatno rukovanje rashladnim elementima, npr.: ne pakirati smrznute elemente u termoizolacijsku kutiju, već ih držati na sobnoj temperaturi određeni vremenski period ili osiguranjem određenog razmaka između rashladni elemenata i pakiranja lijeka. Ovaj učinak može se izbjeći i korištenjem

termoizolacijskih kutija koje u svojoj konfiguraciji sadrže rashladne elemente koji se prekondicioniraju pri temperaturi primjerice +4°C.

Kod izbora vrste termoizolacijske kutije svakako treba uzeti u obzir i potrebnu energiju hlađenja kako bi se održala željena temperatura tijekom određenog vremena.

Tako kutije sa izolacijskim materijalom od stiropora zahtijevaju znatno više energije hlađenja u usporedbi sa vakuumskim izolacijskim pločama. Više rashladnih elemenata znači manje prostora za stvarni teret, odnosno prostor za lijek koji se isporučuje.

Niski neto iskoristivi volumen nije koristan za učinkovitu i isplativu pošiljku. Osim toga, broj rashladnih elemenata ima izravan utjecaj na ukupnu težinu i vanjske dimenzije (obujam) pošiljke što također određuju cijenu prijevoza. Paketi s velikim vanjskim dimenzijama zauzimaju skupi prostor, ne samo tijekom transporta, već i u skladištu.

Kutije sa pasivnim održavanjem temperature dostupne su u kvalificiranom stanju. Drugim riječima to znači da proizvođači kutija provode ispitivanja kojima dokazuju da se temperatura unutar kutije održava u definiranom rasponu unatoč ekstremnim vanjskim uvjetima, tijekom unaprijed određenog vremenskog perioda. Proizvođač pasivnih transportnih kutija trebao bi posjedovati detaljnu tehničku dokumentaciju kao i dokumentaciju o svim provedenim ispitivanjima. Iz te dokumentacije mora biti jasno vidljiva korištena metoda ispitivanja, okolišne temperature pod kojima je pasivna transportna kutija ispitana, duljina održavanja hladnog lanca i u kojem temperaturnom rasponu (39).

Ima smisla provesti dodatna kvalifikacijska ispitivanja od strane korisnika prije uporabe čime se dokazuje da su prikladni za namjeravanu svrhu, osobito jer često rasponi temperatura pod kojima je proizvođač ispitao kutiju ne odgovaraju ekstremnim temperaturama kojima će biti izložene isporuke korisnika (37).

Proces kvalifikacije pasivnih termoizolacijskih kutija analogna je procesnim koracima u kvalifikaciji transportnih vozila. Kvalifikacija dizajna čini temelj za izbor ili razvoj transportnog termoizolacijskog spremnika, prilikom čega je potrebno uzeti u obzir faktore kao što su potrebna veličina pakiranja i potrebno vrijeme održavanja hladnog lanca.

Tijekom kvalifikacije operacije provodi se ispitivanje na praznoj kutiji, dok se tijekom kvalifikacije rada ispitivanje provodi u napunjenom stanju. Sva kvalifikacijska ispitivanja se provode u skladu s unaprijed definiranim kvalifikacijskim planom, a rezultati se dokumentiraju i procjenjuju u kvalifikacijskom izvještaju (39).

### **3.2.3. Praćenje temperature tijekom transporta**

Praćenje temperature tijekom transporta je imperativ. Podaci o temperaturi se mogu bilježiti na različite načine: pomoću mobilnih data loggera ili permanentnih temperaturnih sonde koje su instalirane unutar teretnog prostora. Po završetku transporta potrebno je procijeniti rezultate temperaturnih mjerenja.

U slučaju *data loggera* prikupljeni podaci čitaju se pomoću posebnog softvera putem uređaja za očitavanje podataka, priključne stanice ili USB sučelja.

Prednosti *data loggera* s očitavanjem podataka putem USB sučelja su:

- USB sučelje dostupno je na svakom računalu;
- za čitanje podataka nije potrebna dodatna oprema;
- na računalu koje se koristi za očitavanje ne treba instalirati nikakav dodatni softver; softver je dostupan putem USB sučelja.

Podaci o temperaturi trebali bi se moći prikazati u grafičkom i tabličnom obliku. Softver mora udovoljavati zahtjevima 21 CFR dio 11. Prikaz rezultata u Excel formatu nije poželjna opcija zbog moguće manipulacije podacima.

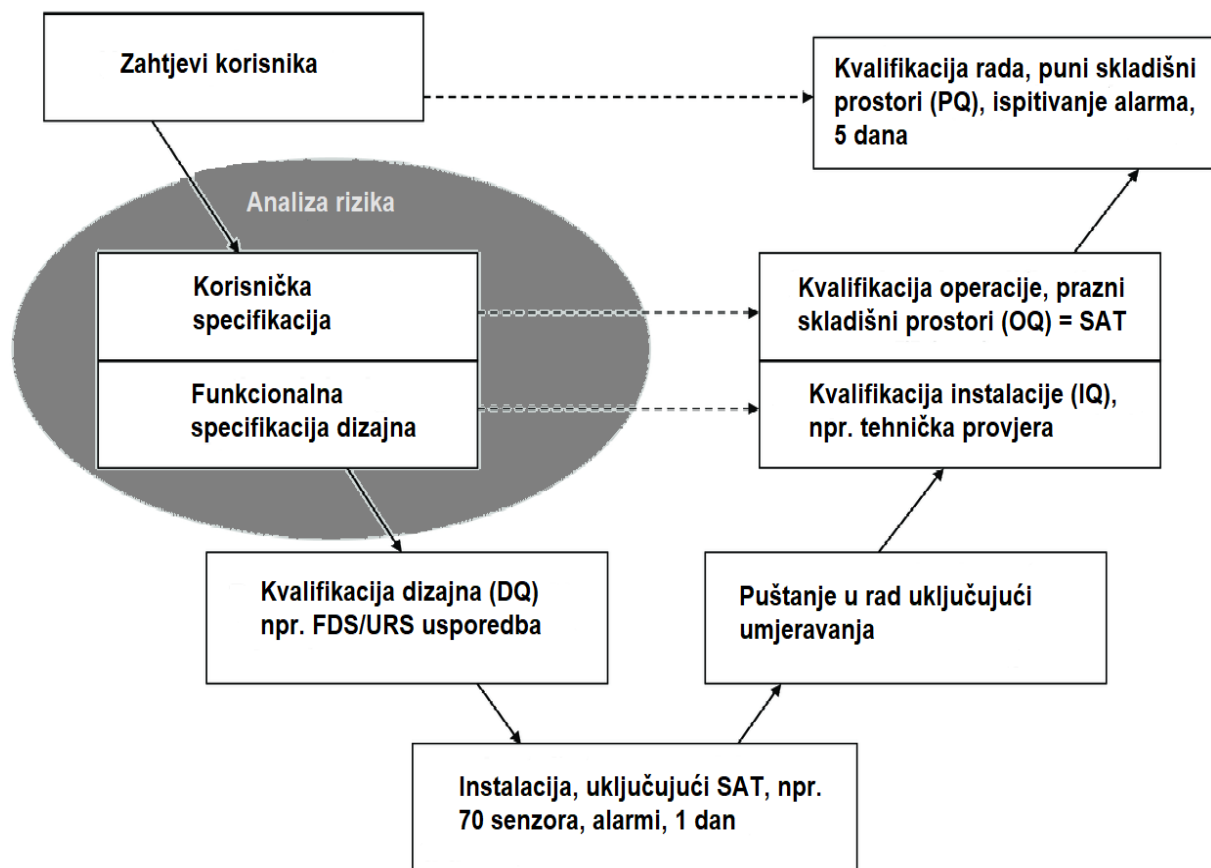
Uređaji za mjerenje temperature trebaju biti ispravno umjereni, tj. potrebno je umjeravanje u tri točke na tri vrijednosti temperature (na primjer  $-15^{\circ}\text{C}$ ,  $+5^{\circ}\text{C}$  i  $+25^{\circ}\text{C}$ ). Interval umjeravanja ne bi trebao biti dulji od 12 mjeseci.

Razvoj u području telekomunikacija i informatike omogućio je primjenu sve većeg broja aplikacija koje mogu preuzeti kontrolne funkcije u regulaciji temperature. Komunikacija je prestala biti jednosmjerna i ograničena samo na očitavanje podataka o temperaturi, na primjer, iz hladnjače i vozila; umjesto toga, omogućena je dvosmjerna komunikacija. Na primjer, moguće je intervenirati u kontrolu rashladne jedinice putem telemetrijskog sustava. U nekim

okolnostima to može pridonijeti održavanju i kontroli temperature unutar definiranog temperaturnog raspona unatoč ozbiljnim poremećajima. U ovom slučaju, koji se u IT sektoru naziva "daljinsko održavanje" (engl. *remote maintenance*), vozilo postaje osobno računalo na kotačima, s pristupnom IP adresom (35).

### 3.3. Kvalifikacija skladišnih prostora

Svi skladišni prostori trebaju biti kvalificirani, te je potrebno provesti temperaturno mapiranje prostora (40). Kvalifikacija skladišnih prostora može se provesti u skladu sa V-modelom opisanim u GAMP5. Takav pristup osigurava da će se sve kvalifikacijske aktivnosti provesti u skladu s regulatornim zahtjevima (33).



**Slika 12.** Shematski prikaz V-modela pri kvalifikaciji skladišnih prostora (prema literaturnom navodu (33)).



Kvalifikacija je proces kojim se dokazuje da je oprema ispravno instalirana, da radi ispravno, te da su radne karakteristike opreme sukladne namjeravanoj uporabi (41).

Kvalifikacijske aktivnosti trebaju pratiti sve faze od inicijalnog razvoja korisničke specifikacije sve do prestanka korištenja opreme, postrojenja ili sustava.

#### Korisnička specifikacija (engl. *User Requirements Specification, URS*)

Kod dizajna skladišnih prostora i hladne komore potrebno je krenuti sa dobro složenom korisničkom specifikacijom. U korisničkoj specifikaciji moraju biti jasno definirani zahtjevi dizajna i funkcionalnosti prostora i opreme. Dobra korisnička specifikacija omogućuje lakši odabir dobavljača jer olakšava usporedbu različitih ponuda dobavljača. Osim toga, korisnički zahtjevi polazna su točka za provedbu kvalifikacijskih aktivnosti, pa iz tog razloga moraju biti: specifični; mjerljivi (kvalitativno i kvantitativno); ostvarivi; realni i sljedivi (33).

#### Kvalifikacijski plan

Kvalifikacija sama po sebi je prilično jednostavan koncept: utvrditi da je oprema ili sustav ispravno instaliran, da ispravno radi i da je prikladan za namjeravanu uporabu, te je sve to potrebno dokumentirati. Kako kvalifikacija obično uključuje različite aktivnosti u različito vrijeme, specifične zahtjeve koje je potrebno ispuniti, više uključenih osoba, ponekad i vanjske organizacije, niz dokumenata koje je potrebno kreirati, pregledati i odobriti, potrebno je unaprijed utvrditi što sve je potrebno učiniti, tko će to učiniti, na koji način, prema kojim kriterijima, koji preduvjeti prethodno trebaju biti ispunjeni, vrlo je važno kreirati kvalifikacijski plan (30).

#### Evaluacija rizika

U sklopu planiranja kvalifikacije dobro je provesti osnovnu evaluaciju rizika kako bi se utvrdili kritični elementi dizajna i funkcioniranja prostora i opreme koji trebaju biti uključeni u kvalifikaciju (30). Dobro napravljena inicijalna analiza rizika vrlo je važna za uspjeh kvalifikacije. U ovoj teorijskoj fazi procesa kvalifikacije mogu se otkriti potencijalni rizici i definirati mjere kako bi ih se svelo na minimum. Takvim se pristupom kasnije može uštedjeti mnogo vremena i novca.

U analizi rizika vrlo često se koristi FMEA metoda (engl. *Failure Mode Effects Analysis* (FMEA)). To je metoda kojom se identificiraju i definiraju potencijalne prijetnje, te se procjenjuje ozbiljnost njihovih posljedica. Zatim se razmatraju uzroci prijetnji i definiraju mjere koje je moguće poduzeti u sprječavanju određene prijetnje.

Procjena rizika FMEA metodom provodi se na temelju sljedećih kriterija:

- (i) ozbiljnost posljedica (S);
- (ii) vjerojatnost pojave (O);
- (iii) vjerojatnost otkrivanja (D).

Nakon procjene faktora rizika S, O i D, izračunava se prioritetni broj rizika (engl. *risk priority number*, RPN) na sljedeći način:  $RPN = S \times O \times D$  (33).

Najjednostavniji pristup analizi rizika je provesti evaluaciju kroz pitanje *Što može poći krivo* i smatrati sve identificirane prijetnje jednako rizičnima, bez obzira na ozbiljnost posljedice i vjerojatnost pojave (30).

#### Kvalifikacija dizajna (engl. *Design Qualification*, DQ)

Potvrda dizajna podrazumijeva sljedeće aktivnosti: provjeriti nacrt, funkcijsku specifikaciju, tehnički opis ili neki drugi dokument/dokumente iz kojih je moguće pročitati predviđeni dizajn i funkcionalnosti te dokumentirano potvrditi sukladnost s postavljenim zahtjevima i primjenjivim regulatornim okvirom (30).

#### Kvalifikacija instalacije (engl. *Installation Qualification*, IQ)

Kvalifikacija instalacije je onaj dio kvalifikacije u kojoj se verificiraju izvedba i instalacija, prisustvo dokumenata, umjerni status mjerne opreme i sl. Elementi kvalifikacije instalacije skladišnih prostora i hladne komore ovise o izvedbi skladišnih prostora i hladne komore i pristupu kvalifikaciji, ali neke uobičajene stavke su:

- dimenzije;
- izvedba skladišnog prostora/hladne komore;
- verifikacija tehničkih nacrti;
- verifikacija prikladnosti rashladnog plina;
- opremljenost skladišnog prostora/hladne komore;

- funkcioniranje vrata;
- ispravnost rasvjete;
- identifikacija i pozicije rashladnih komponenti;
- identifikacija i pozicija HVAC sustava;
- provjera električnih instalacija;
- pozicije, tehničke karakteristike i umjerni status mjerne opreme (ovo može biti obuhvaćeno posebnom kvalifikacijskom studijom, npr. ukoliko se radi o zasebnom sustavu nadzora temperature); stvarne pozicije mjernih uređaja znat će se tek po provedenim mapiranjima, stoga je potrebno osigurati kasniju ponovnu verifikaciju da su uređaji postavljeni na odgovarajuće pozicije;
- dostupnost potrebne dokumentacije, procedura, atesta, certifikata.

U sklopu provedbe inicijalnog testiranja skladišnog prostora/hladne komore dobavljači obično provode i niz tehničkih provjera, kao što su tlačni test i vakuum test. Iako nisu nužno dio same IQ faze, u sklopu IQ protokola svakako bi trebalo postaviti poveznicu na provedene provjere i ostvarene rezultate (30).

#### Kvalifikacija operacije (engl. *Operational Qualification, OQ*)

Kada se potvrdilo da su skladišni prostori/hladna komora izvedeni i opremljeni na odgovarajući način, može se krenuti na sljedeći korak, a to je provjera operativnih parametara. Opet ovisno o izvedbi pojedinog skladišnog prostora i/ili hladne komore, primjeri OQ testova su sljedeći:

- ispravnost i funkcionalnosti upravljačkog sustava;
- ispravnost i funkcionalnost HVAC sustava;
- prilagođavanje temperature;
- prilagođavanje funkcije odleđivanja (tzv. *defrost*);
- funkcionalnosti vezane za praćenje temperature, izvještavanje, temperaturne alarme (i ovo može biti obuhvaćeno posebnom kvalifikacijskom studijom, npr. ukoliko se radi o zasebnom sustavu nadzora temperature).

Uz navedeno, OQ faza kvalifikacije skladišnih prostora i/ili hladne komore obično obuhvaća i temperaturno mapiranje praznih skladišnih prostora i/ili hladne komore. U sklopu mapiranja

hladne komore često se provode i tri dodatna testa za koje nema utvrđenih zahtjeva već se provode kako bi se bolje „upoznale“ performanse hladne komore (što može biti iznimno korisno u slučaju kasnijih neplaniranih situacija, odstupanja ili kvarova): test pada napona, *recovery* test i test otvorenih vrata (30).

#### Kvalifikacija rada (engl. *Performance Qualification, PQ*)

Nakon što je potvrđena odgovarajuća izvedba skladišnog prostor i/ili hladne komore te da su svi operativni parametri ispunjeni, preostaje još provesti završno testiranje u stvarnim radnim uvjetima, a to je temperaturno mapiranje napunjenog skladišnog prostora i/ili hladne komore uključujući sve radne rutine (otvaranje vrata, unošenje/iznošenje proizvoda i sl.).

Temperaturno mapiranje u PQ fazi trebalo bi obuhvatiti i radne i neradne dane te biti provedeno i u ljetnom i u zimskom periodu (30).

#### Završno izvješće kvalifikacije

Ukoliko su svi inicijalni zahtjevi bili jasno postavljeni i kvalifikacija sustavno planirana, provedena i dokumentirana potrebno je pripremiti završno izvješće.

Glavni elementi završnog izvješća kvalifikacije su:

- izvješće treba sadržavati poveznicu na matični protokol;
- prilozi izvješću trebaju biti jasno opisani i priloženi uz izvješće;
- ukoliko su u tijeku kvalifikacije zabilježena odstupanja, potrebno ih je komentirati u završnom izvješću u smislu utjecaja na kvalificiranost sustava i opreme;
- izvješće bi trebalo sadržavati završnu ocjenu i zaključak o kvalifikacijskom statusu prostora i opreme.

Nakon što je kvalifikacija skladišnog prostora i/ili hladne komore uspješno zaključena, i dalje je potrebno nadzirati kvalifikacijski status. To se najčešće provodi kroz periodičke (godišnje) evaluacije koje uključuju pregled zastoja, servisa, promjena, temperaturnih odstupanja i svih drugih relevantnih parametara za rad i funkcioniranje pojedinog skladišnog prostora i/ili hladne komore. Također, kod svake značajne promjene u smislu dizajna i/ili funkcioniranja skladišnog prostora i/ili hladne komore potrebno je razmotriti potrebu djelomične ili potpune re-kvalifikacije (30).

### 3.4. Temperaturno mapiranje

Smjernica *Guidelines on Good Distribution Practice of Medicinal Products for Human Use*, 2013/C 343/01 daje osnovne smjernice za provođenje temperaturnog mapiranja (23). Najviše detalja i konkretnih informacija oko provedbe temperaturnog mapiranja možemo pronaći u Američkoj farmakopeji (engl. *The United States Pharmacopeia*, USP) u poglavlju <1079> *Good Storage and Shipping Practices* (42).

S obzirom na pristup i svrhu, temperaturno mapiranje možemo svrstati u kvalifikacijske procese. Dakle, bila bi to kvalifikacija skladišnog (ili bilo kojeg drugog prostora) prostora vezano za raspodjelu, stabilnost i varijacije temperature u promatranom vremenskom periodu i pod utjecajem različitih uvjeta (42).

Naravno, kao i uvijek, koncept i pristup ovisi u velikoj mjeri o nizu individualnih okolnosti, no ipak postoje neki standardni elementi koje bi trebalo slijediti (43).

Inicijalno temperaturno mapiranje mora biti provedeno u praznom skladišnom prostoru, a zatim u punom skladišnom prostoru tijekom ljetne i zimske sezone.

#### Učestalost mapiranja:

Prema smjernici *Guidelines on Good Distribution Practice of Medicinal Products for Human Use*, 2013/C 343/01 mapiranje je potrebno ponavljati na temelju evaluacije rizika kao i kod značajnih izmjena u prostoru ili opremi za održavanje temperature (23). U praksi se susreću različiti pristupi: jednom godišnje ili svake dvije ili tri godine u ljetnom i zimskom periodu. Posebno je interesantan sljedeći koncept: provedba temperaturnog mapiranja svakih osamnaest mjeseci, ali naizmjenično za ljetne i zimske uvjete (npr. ljetno mapiranje u 08/2012, pa zimsko mapiranje u 01/2014, pa zatim opet ljetno mapiranje u 08/2016, itd.). U slučaju uvjeta čuvanja 2-8°C najčešći je pristup jednom godišnje, opet po mogućnosti u uvjetima temperaturnih ekstrema (to je u ovom slučaju posebno važno zbog utjecaja ekstremnih temperatura na vanjske tehničke jedinice sustava za hlađenje). U svakom slučaju, učestalost mapiranja treba biti interno propisana, argumentirana i dosljedno provedena (43).

### Sezonalnost i ekstremni uvjeti

Temperaturno mapiranje skladišnih prostora kao i transportnih sustava/vozila uobičajeno se provodi u vrijeme ekstremnih vremenskih uvjeta (npr. ljetnom i zimskom periodu) (42). Imajući na umu globalne klimatske promjene, period mapiranja ne bi trebalo postaviti fiksno (npr. prvi tjedan u kolovozu ili drugi tjedan u siječnju), već odabrati period sa zaista najekstremnijim mogućim temperaturama (za ljeto će to jednom možda biti i početak lipnja, a drugi put tek kraj rujna). Planiranje provedbe temperaturnog mapiranja najbolje je raditi na temelju vremenskih prognoza, a s obzirom da su danas vremenske prognoze putem interneta dostupne i za deset dana unaprijed to ne bi trebalo predstavljati problem. U svakom slučaju, zapisi o vanjskim temperaturama su vrlo poželjni kao dio završnog izvješća temperaturnog mapiranja (43).

### Trajanje temperaturnog mapiranja

Trajanje pojedine studije mapiranja treba biti dovoljno dugo da obuhvati sve aktivnosti i redovite promjene unutar skladišnog prostora, a opet ne predugo da se ne bi zatrpali nepotrebnim sirovima podacima. Posebno je važno uključiti i radni dio tjedna i vikende, jer oba spomenuta perioda nose niz specifičnosti s obzirom na kretanje i dinamiku aktivnosti unutar skladišta, izdavanje materijala, broj zaposlenika koji su prisutni i sl. Možemo reći da bi neki razuman pristup bio četiri do sedam dana kontinuiranog praćenja temperature (npr. od srijede do idućeg utorka i sl.) (43).

### Valjanost mjerne opreme

Iznimno je važno prije samog početka provedbe temperaturnog mapiranja verificirati da je sva mjerna oprema (uobičajeno je riječ o temperaturnim *data loggerima*) primjerena i umjerena. Podaci o umjernom statusu mjerne opreme moraju činiti sastavni dio izvješća o mapiranju (43).

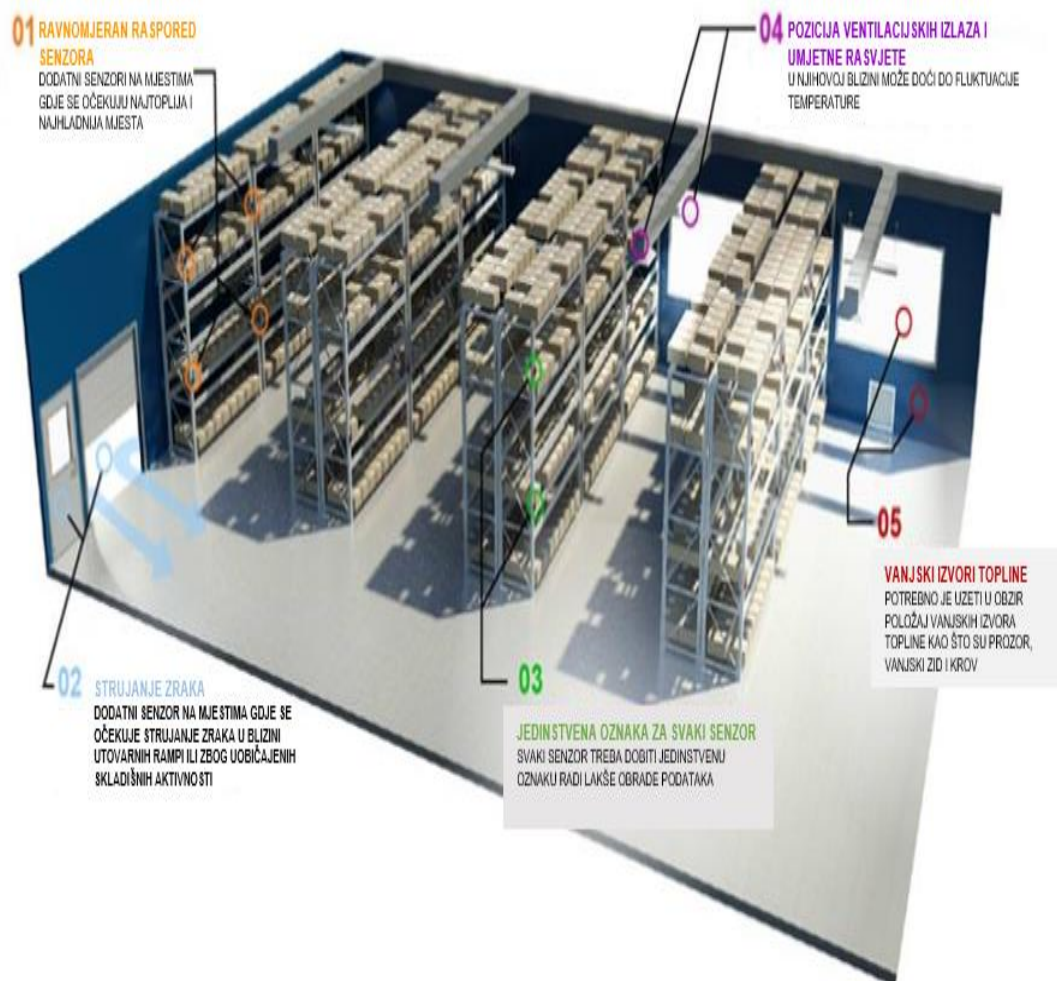
### Pozicije i broj mjernih točaka

Oba navedena elementa ovise prije svega o veličini i izgledu (rasporedu) prostora. Pri samom odabiru mjernih pozicija treba na umu imati krajnji cilj temperaturnog mapiranja, a to je razumjeti što se u prostoru događa s obzirom na temperaturu (43).

Smještaj mjernih točaka mora biti trodimenzionalan i treba uključivati najmanje tri perspektive: gore-dolje, lijevo-desno i naprijed-nazad. Razmještaj mjernih uređaja treba obuhvatiti sve

kritične točke te dati što jasniju informaciju o stvarnim uvjetima kojima su izloženi skladišteni materijali/proizvodi (42). Uvijek je vrlo korisno potkrijepiti pozicije mjernih točaka trodimenzionalnom skicom prostora s ucrtanim mjernim pozicijama.

Svakako je potrebno uzeti u obzir sve okolnosti koje mogu imati poseban utjecaj na varijacije u temperaturi. To između ostalog uključuje sljedeće: veličina prostora, ostakljene površine, zidove koji su direktno izloženi sunčevoj svjetlosti, pozicije ventilacijskih izlaza, utjecaj rasvjetnih tijela, strujanje zraka (pogotovo u tzv. „mrtvim pozicijama“), temperaturu direktno ispod stropa, način slaganja materijala u skladištu, otvaranje i zatvaranje vrata i sl. (43).



**Slika 13.** Shematski prikaz tipičnog skladišnog prostora s primjerima pozicija mjernih točaka tijekom temperaturnog mapiranja (prilagođeno prema literaturnom navodu (44)).

### Frekvencija očitavanja temperaturnih vrijednosti

Odabirom visoke frekvencije očitavanja dobit ćemo uvid i u najmanje promjene temperature, no isto tako dobit ćemo i ogromnu količinu podataka s kojom nije uvijek lako upravljati. Potpuno obrnuta situacija dogodit će se ukoliko odaberemo predugačak period između dva očitavanja. Uobičajeno se danas odabire frekvencija očitavanja temperature od pet do petnaest minuta (43).

### Obrada rezultata temperaturnog mapiranja

Temperaturno mapiranje ima svoju vrlo jasnu svrhu, stoga je rezultate mapiranja svaki put potrebno evaluirati i donijeti određene zaključke. Ključno je dakle utvrditi trenutno stanje prostora u kojem je provedeno mapiranje, usporediti rezultate s prethodnim studijama mapiranja i utvrditi jesu li se pojavili neki novi temperaturni trendovi (ukoliko se radi o ponovljenom periodičkom mapiranju). Osobito je važnu identificirati kritične točke: pozicija s najnižom očitanom temperaturom, pozicija s najvišom očitanom temperaturom te pozicija s najvećom fluktuacijom temperature. Kod inicijalnog mapiranja ključni ciljevi su utvrditi sposobnost mapiranog prostora za održavanje potrebnih temperaturnih uvjeta te odrediti pozicije na kojima će se dalje kontinuirano pratiti temperatura. U slučaju periodičkog mapiranja zaključak može biti da nema promjena u odnosu na prethodno mapiranje i da nisu potrebne dodatne aktivnosti, ali isto tako možemo zaključiti i da je potrebno uključiti neke nove pozicije za rutinski nadzor temperature, dodatno podesiti ili servisirati sustav grijanja i hlađenja, zadati drugačije alarmne granice, ukloniti proizvode sa zadnje etaže paletnih regala i sl. Kod pripreme izvješća mapiranja uvijek je dobro pripremiti kratki pregled svih ključnih podataka (npr. trajanje mapiranja, broj pozicija, najmanja i najveća zabilježena temperatura, fluktuacija temperature unutar pojedine točke i sl.). Iako svi sirovi podaci svakako trebaju biti dio izvješća, ovakav sumarni pregled vrlo je koristan kod GMP/GDP inspekcija (43).

Temperaturno mapiranje potrebno je provesti prema protokolu u čije pisanje je bio uključen korisnik tj. vlasnik prostora ili vozila koje se mapira. Ipak, ukoliko navedenu dokumentaciju priprema ugovorna organizacija koja provodi temperaturno mapiranje to je također sasvim prihvatljivo dokle god je korisnik uključen u sve faze i verifikaciju završnih rezultata, što potvrđuje potpisima odgovorne osobe na protokol mapiranja te završno izvješće mapiranja. U



svakom slučaju, korisnik mora biti taj koji će utvrditi pristup temperaturnom mapiranju, uključujući sve prije navedene elemente.

Svaku pojedinu studiju temperaturnog mapiranja potrebno je dobro pripremiti i osmisliti, oslanjajući se ne samo na dostupne regulatorne zahtjeve, već prije svega na vlastita iskustva, specifičnosti prostora i materijala/proizvoda koji se u tom prostoru čuvaju te procjenu svih potencijalnih rizika (43).

Konačni ishod i svrha mapiranja je implementacija preporuka iz izvještaja o mapiranju, a neke od njih mogu biti:

- (i) crtež ili dijagram koji pokazuje gdje se proizvodi mogu sigurno skladištiti u prostoru koji je mapiran;
- (ii) premještanje senzora za rutinski nadzor temperature;
- (iii) podešavanje brzine strujanja zraka na ventilacijskim izlazima kako bi se spriječilo temperaturno raslojavanje zraka i/ili minimizirale hladne i tople točke;
- (iv) nadogradnja sustava kontrole i regulacije temperature radi poboljšanja kontrole i distribucije temperature unutar prostora;
- (v) odluka o korištenju prostora za druge namjene jer nije prikladan čuvanje temperaturnoosjetljivih lijekova (40).

#### Specifičnosti temperaturnog mapiranja transportnih sustava

Prilikom temperaturnog mapiranja transportnih sustava, teretni prostor treba promatrati kao skladišni prostor i stoga su i u ovom slučaju primjenjiva sva prije spomenuta opća pravila vezana uz temperaturno mapiranje.

Temperaturni loggeri smješteni u prostoru u kojem se provodi temperaturno mapiranje, u ovom slučaju teretni prostor, raspoređuju se vertikalno i horizontalno preko cijelog teretnog prostora pokrivajući područja dna, sredine i vrha tovarnog prostora. U fazi kvalifikacije operacije temperaturno mapiranje vozila provodi se u praznom tovarnom prostoru. Kvalifikacija rada transportnih sustava provodi se u bliskoj suradnji sa korisnikom sustava.

Odgovarajući odabir transportnih ruta i vrijeme prikupljanja podataka čine osnovu za provedbu kvalifikacije rada.

U odabiru ruta koje će se koristiti tijekom temperaturnog mapiranja mogu pomoći sljedeći kriteriji:

- (i) očekivano maksimalno trajanje prijevoza;
- (ii) maksimalni broj postaja za utovar/istovar;
- (iii) temeljem analize rizika: rute na kojima se, retrospektivno gledajući, pojavio veći broj incidenata koja su rezultirala temperaturnim odstupanjima (analiza transportnih dnevnika);
- (iv) različito stanje punjenja teretnog prostora.

S obzirom na veličinu teretnog prostora, te osnovnu namjenu (npr. često otvaranje vrata koja ostaju otvorena neko vrijeme tijekom utovara/istovara), promjene temperature događaju se brzo i naglo, te je navedene specifičnosti nužno uključiti u sam dizajn studije temperaturnog mapiranja. U obzir je potrebno uzeti i raspored tereta kao i punjenje teretnog prostora (minimalno punjenje, maksimalno punjenje). U slučaju velikog broja transportnih vozila, nije realno provesti mapiranje baš svakog pojedinog vozila, već je prihvatljiv pristup da se mapiranje provodi na barem jednom vozilu od pojedine vrste. Pri tome je potrebno verificirati da su ostala vozila istog tipa, te da su izvedena na potpuno isti način (npr. dimenzije, iskoristivi volumen, način grijanja/hlađenja, pozicija i veličina ventilacijskog otvora, vrsta izolacije, način otvaranja vrata, veličina vrata i sl.).

Tijekom temperaturnog mapiranja trebalo bi simulirati i *worst-case* scenarije, npr. kvar vozila, zastoje na cesti i sl. pod ekstremnim vanjskim uvjetima. Rezultati takvog mapiranja kasnije mogu biti vrlo korisni u slučaju stvarnih odstupanja.

Temperaturno mapiranje u fazi kvalifikacije rada provodi se sa napunjenim teretnim prostorom. Cirkulacija zraka se drastično mijenja u napunjenom tovarnom prostoru, što pod određenim uvjetima može imati utjecaj na temperature na pojedinim mjernim točkama. Štoviše, prekondicionirani teret utječe na regulaciju temperature vlastitom termičkom masom (45).

### **3.5. Okolišni uvjeti koji utječu na kvalitetu bioloških lijekova**

Kvaliteta bioloških lijekova uvelike ovisi o okolišnim uvjetima tijekom njihovog skladištenja, distribucije i korištenje od strane krajnjeg korisnika.

Kontrola uvjeta skladištenja i transporta ključni su elementi u postizanju tog cilja. No, međutim nije neuobičajeno da tijekom skladištenja i transporta lijekova dođe do odstupanja od propisanih uvjeta skladištenja i transporta (46).

#### **3.5.1. Utjecaj temperature i ciklusa zamrzavanja-odmrzavanja (*engl. freeze-thaw*)**

Temperatura je jedan od najvažnijih faktora koji može imati izravan utjecaj na kemijsku i/ili fizikalnu stabilnost bioloških lijekova (46). Temperaturni uvjeti pod kojima je potrebno čuvati biološke lijekove moraju biti definirani na temelju provedenih ispitivanja stabilnosti (47).

Događaj kod kojeg je temperaturno osjetljivi lijek bio izložen temperaturama van propisanih naziva se temperaturno odstupanje (*engl. Temperature excursion*) (46).

Neki lijekovi su osjetljivi na temperaturna odstupanja unatoč velikim naporima uložanim da se razvije stabilna formulacija lijeka. Iz tog razloga takvi lijekovi moraju biti uskladišteni unutar uskog temperaturnog raspona do kraja roka valjanosti lijeka.

U tom slučaju razlikujemo osjetljivost lijeka na temperaturu iznad i ispod propisanih temperaturnih granica. Ponašanje lijeka vrlo je često potpuno drugačije pod utjecajem ta dva temperaturna uvjeta (46).

#### Lijekovi osjetljivi na temperaturu višu od propisane

Kod lijekova osjetljivih na povišenu temperaturu može doći do smanjenja njegovih svojstava.

Dovođenje termalne energije može potaknuti:

- smanjenja sadržaja aktivne komponente lijeka transformacijom u degradacijske produkte (reakcije oksidacije, hidrolize i druge) od kojih neki mogu biti toksični. Što je duži period izloženosti povišenoj temperaturi i što je viša temperatura kojoj je lijek izložen to je količina degradacijskih produkata veća.

- gubitak formulacijskih karakteristika, kao što je na primjer pojava obojenja, modifikacija otpuštanja aktivne komponente lijeka iz formulacije (engl. *dissolution rate*) ili odvajanje faza kod emulzija.

#### Lijekovi osjetljivi na temperaturu nižu od propisane

Lijekovi, posebice biološki lijekovi mogu izgubiti svoje karakteristika nakon što budu izloženi temperaturi nižoj od propisane. Kod bioloških lijekova u najgorem slučaju može doći do gubitka djelotvornosti lijeka. Kod lijekova koji su osjetljivi na temperature niže od propisanih obično dolazi do oštećenja na način da dolazi do gubitka njihovih terapijskih karakteristika nakon što proizvod bude podvrgnut smrzavanju, te struktura aktivne komponente lijeka bude nepovratno izmijenjena (46).

#### Hladni lanac

Dizajn, verifikacija i održavanje hladnog lanca trenutno su među najvećim izazovima u distribuciji lijekova. Revizijom EU regulative o dobroj distribucijskoj praksi za lijekove 2013. godine, te EU GMP Annex-a 15 u 2015. godini s direktnim zahtjevom verifikacije transporta (Poglavlje 6) jasno su utvrđena i regulatorna očekivanja u tom području (23, 48).

"Hladni lanac" (engl. *cold chain*) odnosi se na postupke koji se koriste za održavanje optimalnih uvjeta tijekom transporta, skladištenja i rukovanja biološkim lijekovima, počevši od proizvođača sve do krajnjeg korisnika odnosno pacijenta.

Upravljanje hladnim lancem obuhvaća sve mjere koje je potrebno poduzeti u distribucijskom lancu radi smanjenja nepovoljnih utjecaja okoline na kvalitetu, učinkovitost i sigurnost lijeka.

Postoje tri osnovna elementa potrebna kako bi se osiguralo pravilno održavanje hladnog lanca:

- Dobro obučeno osoblje;
- Adekvatna oprema (hladne komore, komore za zamrzavanje, hladnjaci, zamrzivači, termometri, indikatori zamrzavanja, transportni sustavi);
- Standardni operativni postupci ili smjernice.

Problemi u održavanju hladnog lanca mogu se dogoditi primjerice kao posljedica neispravne opreme ili ljudske pogreške.

Održavanje hladnog lanca izazovno je i u razvijenim zemljama, a posebice u nerazvijenim zemljama.

Izveštaj izdan od strane *Office of Inspector General of the US Department of Health and Human Service* pokazao je da je 76 posto od 45 inspiciranih opskrbljivača cjepivima izložilo cjepiva nepropisnim temperaturnim uvjetima. Kod svih 45 opskrbljivača mjerene su temperature neovisnim termometrima te su zabilježene temperature koje su se razlikovale od onih zabilježenih termometrima opskrbljivača. Taj izvještaj daje pregled realne slike u održavanju hladnog lanca (49).

### Cjepiva i hladni lanac

Zbog temperaturne osjetljivosti cjepiva, lanac opskrbe zahtijeva čuvanje u hladnjaku ili zamrzivaču. Na primjer, zbog nepropisnog skladištenja i prijevoza cjepiva može doći do gubitka potencije cjepiva. Isto tako izazovno može biti i održavanje prikladnih uvjeta čuvanja nakon rekonstitucije cjepiva (13).

Iako se održavanjem hladnog lanca cjepiva štite od visokih temperatura, važno je naglasiti da izlaganje niskim temperaturama također može dovesti do gubitkom potencije cjepiva, npr. inaktivacija cjepiva koja sadrže aluminij kao adjuvansom uslijed smrzavanja (13).

Osiguranje održavanja hladnog lanca od proizvođača do krajnjeg korisnika vrlo je važno kako bi se osigurala potencija cjepiva. Vrlo uspješnima u indikaciji izloženosti cjepiva nepovoljnim temperaturnim uvjetima pokazale su se naljepnice tzv. monitor bočice cjepiva (engl. *vaccine vial monitors*, VVM) koje sadržavaju termo-osjetljiv materijal. Naljepnice se nalaze na bočici cjepiva, te predstavlja indikator kumulativne izloženosti povišenim temperaturama tijekom vremena. Takve naljepnice su efikasan alat kojim se smanjuje rizik uporabe cjepiva koje je bilo izloženo potencijalno štetnim temperaturama. Slično, koriste se indikatori smrzavanja kako bi se pokazala izloženost cjepiva zamrzavanju (13).

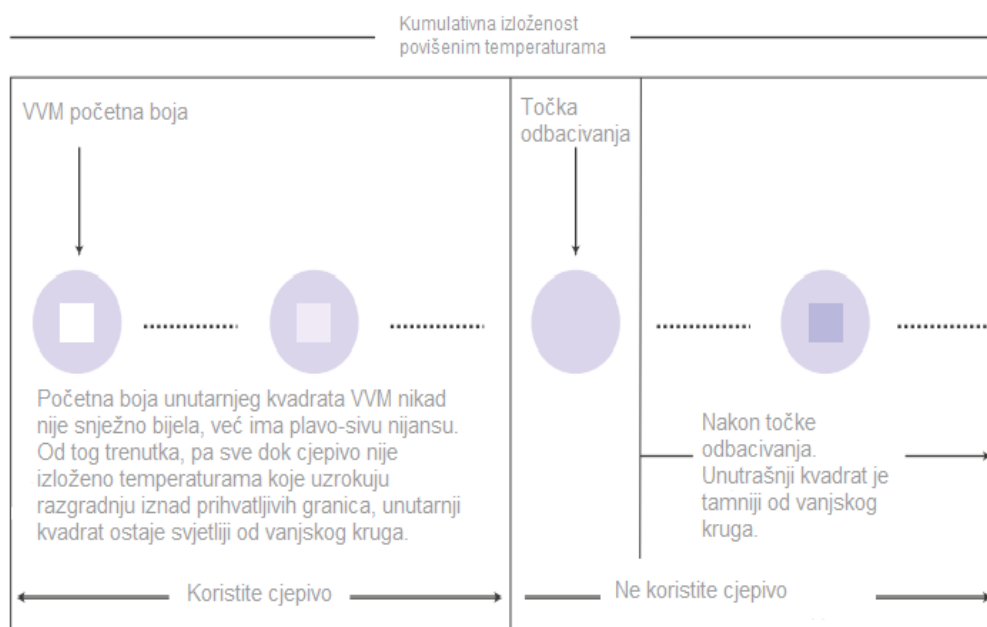
Dostupni su različiti tipovi naljepnica indikatora izloženosti cjepiva nepropisnoj temperaturi, ovisno o vrsti cjepiva i ciljnoj temperaturi skladištenja cjepiva. U tablici su prikazane kategorije VVM naljepnica.

**Tablica 3.** Prikaz vrsta monitora bočica cjepiva, VVM ovisno o brzini reakcije i kategoriji stabilnosti cjepiva (prilagođeno prema literaturnom navodu (50))

| Kategorija (cjepiva)        | Broj dana do točke odbacivanja pri +37°C | Broj dana do točke odbacivanja pri +25°C | Vrijeme do točke odbacivanja pri +5°C |
|-----------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|
| VVM 30: visoka stabilnost   | 30                                       | 193                                      | >4 godine                             |
| VVM 14: srednja stabilnost  | 14                                       | 90                                       | >3 godine                             |
| VVM 7: umjerana stabilnost  | 7                                        | 45                                       | >2 godine                             |
| VVM 2: minimalna stabilnost | 2                                        | N/A                                      | 225 dana                              |

VVM (Arrhenius) brzina reakcije određena u dvije temperaturne točke

Na slici 14 prikazan je redoslijed promjene boje indikatora na naljepnici te interpretacija izgleda naljepnice.



**Slika 14.** Redoslijed promjene boje indikatora na naljepnici monitora bočice i interpretacija izgleda (prilagođeno prema literaturnom navodu (51)).

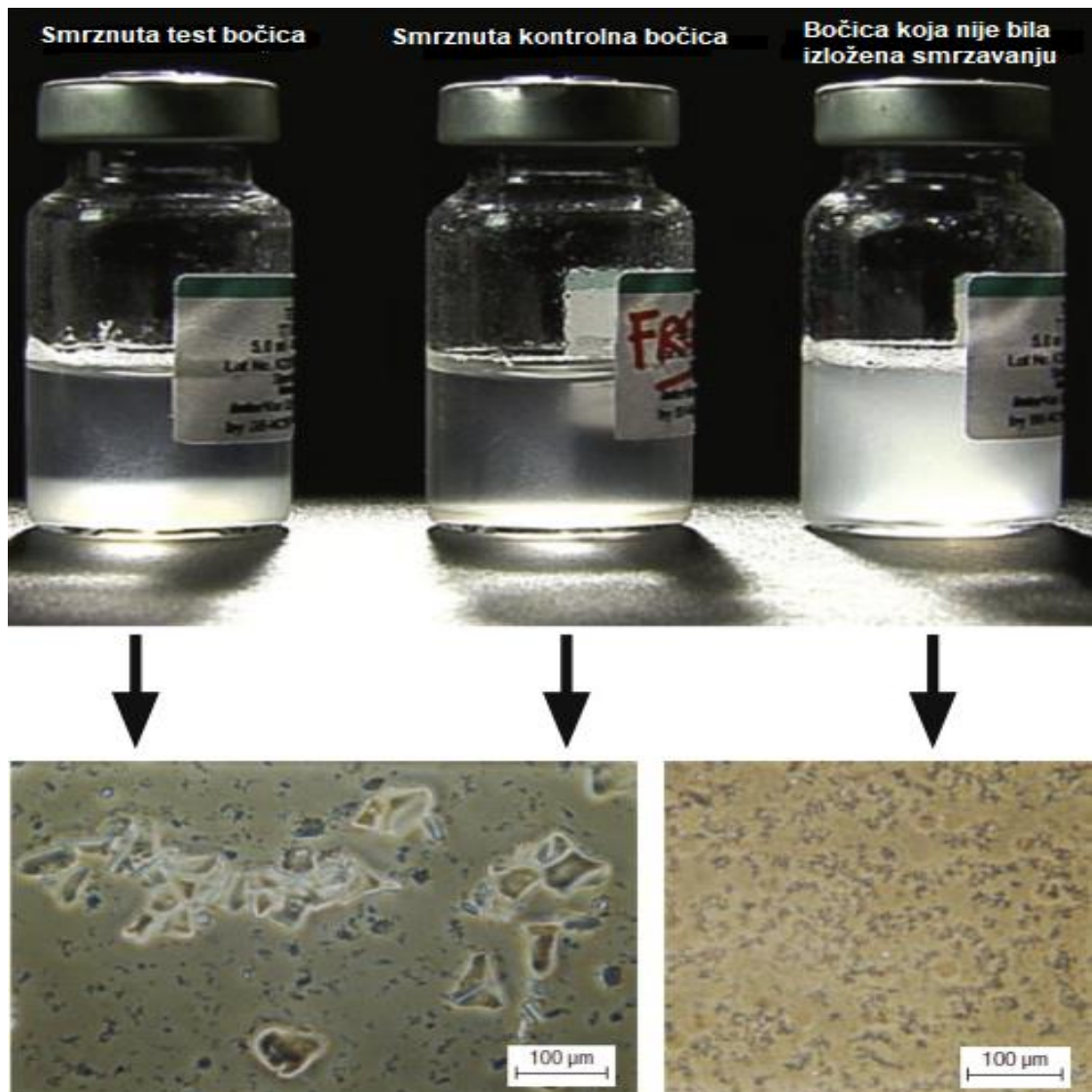
Nestabilnost cjepiva nije problem samo tijekom komercijalne uporabe, nego i tijekom kliničkog razvoja. Na primjer, tijekom rane faze kliničkog razvoja kad je identificiran novi antigen, provodi se niz predkliničkih ispitivanja na životinjskim modelima kako bi se dokazala djelotvornost i sigurnost cjepiva. Vrlo često dostupna je ograničena količina informacija o stabilnosti antigena, posebno u prisutnosti uobičajenih i/ili novih adjuvansa, te to vrlo često može dovesti do neponovljivih rezultata predkliničkih ispitivanja.

Tijekom faze kliničkih ispitivanja potrebno je strogo pridržavati se propisanih uvjeta čuvanja, najčešće održavanje hladnog lanca, upravo zbog ograničene količine podataka o stabilnosti cjepiva. Gubitak potencije cjepiva može biti prouzrokovan ne samo izlaganjem cjepiva povišenoj temperaturi već i uslijed nekih drugih stresova kao što su neprikladna rekonstitucija i rukovanje, pretjerano mućkanje, i/ili izlaganja svjetlosti, što može dovesti do inaktivacije cjepiva.

Mnogo je različitih pristupa u boljoj kontroli temperaturnih odstupanja. To može uključivati nove tehnologije koje omogućavaju uočavanje temperaturnih odstupanja, poboljšanje edukacijskih procedura i infrastrukture kako bi se smanjila učestalost njihovog pojavljivanja, bolji dizajn i veći regulatorni nadzor nad ispitivanjem stabilnosti cjepiva koje bi trebalo uključivati ispitivanje stabilnosti u slučaju temperaturnih odstupanja, i konačno, uvođenje procedura ispitivanja koja omogućuju detekciju bočice cjepiva koja je bila slučajno izložena previsokoj i/ili preniskoj temperaturi (13).

Kako bi se utvrdilo da li je cjepivo koje sadrži aluminij kao adjuvens bilo izloženo smrzavanju koje za posljedicu ima promjene u fizikalnim karakteristikama cjepiva razvijen je tzv. test mućkanjem (engl. *shake test*). Test se provodi na mjestu primjene cjepiva, a posebno u zemljama u razvoju u kojima je održavanje propisanih temperaturnih uvjeta čuvanja posebno izazovno. Kada postoji sumnja da je cjepivo bilo izloženo smrzavanju, odabere se jedna bočica iz serije (test uzorak) koja se uspoređuje sa kontrolnim uzorkom istog cjepiva (koja je bila namjerno izložena smrzavanju). Test uzorak i kontrola se promućkaju i ostave na ravnoj površini kako bi došlo do taloženja pod utjecajem gravitacije. Vizualnim pregledom kroz

nekoliko minuta moguće je utvrditi da li je došlo do fizičkog oštećenja cjepiva koje sadrži aluminijev adjuvans.



**Slika 15.** Reprezentativne bočice koje sadrže cjepivo s aluminijevim adjuvansom na kojima je proveden test mućkanjem: (1) bočica iz serije cjepiva za koju se sumnja da je bila izložena smrzavanju (2) bočica namjerno smrznutog cjepiva (kontrola) i (3) bočica koja nije bila izložena smrzavanju (prilagođeno prema literaturnom navodu (13)).



### Biološki lijekovi i hladni lanac

Nedostatni sustav praćenja i održavanja propisanih uvjeta čuvanja, uobičajeno može utjecati na terapeutska svojstva lijeka uzrokujući rizike kao što su smanjen učinak, intoksikaciju. U slučaju lijekova u hladnom lancu izazovi kod temperaturnih odstupanja su veći jer održavanjem adekvatne temperature osiguravaju očuvanje svojstava lijeka. Osoblje osiguranja kvalitete mora osigurati da se uvjeti skladištenja prate cijelo vrijeme tijekom procesa proizvodnje, transporta i distribucije lijeka (46).

Neki lijekovi su osjetljivi ne samo s obzirom na apsolutnu temperaturu, već i na samu promjenu temperature, kao što su kreme ili pak biološki lijekovi koji gube svoje karakteristike nakon ciklusa smrzavanja-otapanja (*engl. freeze-thaw*) ili temperaturnih ciklusa (46).

Proteini su po prirodi manje stabilni na višim temperaturama na kojima dolazi do strukturnih promjena koje dovode do agregacije. Do razgradnje proteina pri visokim temperaturama dolazi na dva načina: izlaganjem temperaturi koja prelazi vrijednost temperature denaturacije proteina ili izlaganje temperaturi nižoj od temperature denaturacije, ali kroz duži vremenski period. Iz praktične perspektive temperatura iznad 40°C smatra se štetnom za lijekove koji sadrže proteine, no međutim izlaganje sobnoj temperaturi kroz duži vremenski period također može dovesti do njihovog oštećenja (52).

Biološki lijekovi mogu biti izloženi širokom rasponu temperatura koje uvelike prekoračuju propisane temperature čuvanja koje su najčešće od 2°C do 8°C. U nekim klimatskim zonama kao i okolnostima (npr. zagrijan automobil tijekom ljetnog perioda), moguća je izloženost temperaturama čak i do 50°C, ukoliko se ne pridaje posebna pažnja da se lijek treba čuvati u kontroliranim okolišnim uvjetima (52).

Kako previsoke tako i preniske temperature mogu dovesti do oštećenja molekule proteina. Zamrzavanjem otopine koja sadrži proteine ili izlaganjem ciklusu zamrzavanja-otapanja, može dovesti do destabilizacije molekule, te često dovodi do agregacije i formiranja čestica (60).

Iako opseg takve degradacije nije dovoljno velik da značajno smanji udio monomera, mjerljiva količina proteinskih čestica može se formirati čak i nakon samo jednog ciklusa zamrzavanja-

odmrzavanja. Rezultati pretkliničkih ispitivanja ukazuju da čak vrlo mali udio proteinskih čestica može povećati rizik za imunogeni odgovor organizma (52).

Biološki lijekovi koji sadrže proteine mogu slučajno biti izloženi smrzavanju tijekom dostave od ljekarne do pacijenta ukoliko se koriste rashladni elementi ohlađeni na temperaturu ispod nule (npr. - 20°C) stavljeni direktno u prijenosni hladnjak. Isto tako transport od strane pacijenta tijekom zimskih mjeseci može dovesti do nenamjernog smrzavanja proizvoda, ukoliko pacijent na putu do kuće stane na nekoj lokaciji i ostavi lijek u automobilu, temperature mogu pasti ispod nule (52).

Posljedica takvih stresova, ciklusa smrzavanja-odmrzavanja, uobičajeno se testiraju tijekom razvoja formulacije lijeka, te se poduzimaju mjere za stabilizaciju formulacije, ukoliko su potrebne, dodatkom pomoćnih tvari za stabilizaciju (52).

Važno je istaknuti da tijekom tih studija treba voditi računa o osjetljivosti analitičke metode koja se koristi u detekciji nano i mikročestica kako bi se dobila realna slika o robusnosti formulacije lijeka (52).

U ljekarnama kao i kod pacijenata možemo očekivati uvjete koji su blizu optimalnih za skladištenje bioloških lijekova. Iako ne postoje službena izvješća koja podržavaju takvu tvrdnju pokazalo se da uvjeti čuvanja bioloških lijekova kod pacijenata mogu bitno odstupati od propisanih uvjeta (52).

Vlieland et al. je proveo studiju u kojoj je mjerena temperatura čuvanja lijeka u domovima pacijenata sa umjerenim *data loggerima*. Na temelju tog izvješća može se zaključiti da većina pacijenata ne čuva biološke lijekove na temperaturama koje su propisane (2°C do 8°C), a čak četvrtina čuva lijek na temperaturi manjoj od 0°C ili iznad 25°C kroz vremenski period duži od 2 sata. Ista studija pokazala je da nepovoljni uvjeti čuvanja uključuju nekoliko (ponekad više od 10 ili 100) ciklusa temperatura između - 5°C do 5°C. Nije do kraja jasno da li su biološki lijekovi dizajnirani da ostanu stabilni pod takvim ozbiljnim stresnim uvjetima.

U nastavku ove studije nekoliko bioloških lijekova u napunjenim štrcaljkama bilo je izloženo istovjetnim uvjetima smrzavanja-otapanja kakvima su bili izloženi lijekovi kod pacijenata. Autori su uočili da je primijenjeni stres uzrokovao mjerljivo povećanje broja čestica u otopini lijeka.

Imaju li takve promjene u profilu onečišćenja ukupni utjecaj na sigurnost i djelotvornost bioloških lijekova potrebno je dodatno istražiti, no međutim one mogu pridonijeti imunogeničnoj reakciji pacijenata koji prime lijek kojim se pogrešno rukovalo (52).

### **3.5.2. Mehanički stresovi i kontakt na granici faza**

Mehanički stres je nedvojbeno najčešći stres kojem su biološki lijekovi izloženi pri transportu i pripremi za primjenu u bolnicama ili u pacijentovom domu kod kućne primjene lijeka (52).

Biološki lijek ima određenu otpornost na mehaničke stresove. Tijekom razvoja lijeka posebna pozornost se posvećuje povećanju otpornosti molekule biološkog lijeka na mehaničke stresove dodavanjem pomoćnih tvari kao što su neionski tenzidi (52).

Isto tako proizvodni proces se dizajnira na način da se smanji oštećenje molekule proteina koje može nastati tijekom postupka formulacije, punjenja i tijekom transporta spremnika u kojima se čuva otopina proteina (52).

U bolnici kao i kućnom okruženju dolazi do stvaranja mehaničkih sila koje su drukčije prirode i jačine u usporedbi sa stresovima koji su testirani i razmatrani tijekom razvoja lijeka (52).

Kavitacija se može pojaviti kod pada spremnika sa lijekom, tijekom aspiracije lijeka iz spremnika u štrcaljku. Kavitacija je proces kod kojeg dolazi do stvaranja mjehurića uslijed induciranog pritiska, prilikom čega dolazi do formiranja mikroskopskih vrućih mjesta na kojima vrijednosti temperature i tlaka mogu doseći ekstremno visoke vrijednosti, prilikom čega dolazi do stvaranja hidrogenih i hidroksilnih radikala, koji iniciraju agregaciju proteina i formiranje čestica (52).

Studija je pokazala kako mehanički šok uzrokovan padom bočice može dovesti do stvaranja i raspada mjehurića nastalih uslijed kavitacije, što pak može dovesti do stvaranja čestica u otopini proteina. Nedavne studije proširene su rezultatima koji ukazuju na štetan utjecaj takvog stresa koji može biti dodatno pojačan ukoliko dva ili više vrsta mehaničkih stresova djeluju istovremeno. Na primjer mehanički šok koji uslijedi nakon trešnje može dovesti do stvaranja visoke razine proteinskih čestica (52).

Agitacija (mućkanje) kao što je potresanje, miješanje i pumpanje otopine proteina pokazao se kao stres koji ima izrazit utjecaj na agregaciju proteina i formiranje čestica. Takvi stresovi su općenito gledano rezultat mehaničkih sila i sila kao što su sile na granici faza tekućina-zrak (npr. u bočicama i infuzijskim spremnicima), tekućina - krutina (npr. u bočicama, spremnicima sa intravenoznim tekućinom i cijevima) i tekućina - tekućina (npr. međudjelovanje silikonskog ulja - vode nađeno u napunjenim staklenim štrcaljkama i u jednokratnim plastičnim štrcaljkama koje se koriste za prijenos proteinske otopine) (52).

Nakon adsorpcije na granicu faza, proteinske molekule odmah postaju strukturno promijenjene i agregiraju stvarajući film na granici faza. Nakon mehaničkog stresa dolazi do prenošenja čestica u unutrašnjost otopine koja se primjenjuje kod pacijenta (52).

Dodatno, sa čvrstih površina s kojima proteinska molekula dolazi u kontakt mogu se u otopinu unijeti neproteinske mikročestice i nanočestice. Primjeri takvih čestica su odlomljeni slojevi stakla sa stjenke štrcaljke ili bočice, kapljice silikonskog ulja koje se koristi kao mazivo za olakšavanje pokretljivosti klipa u štrcaljki, i polimerne nanočestice nađene u intravenskim otopinama, polimernim spremnicima, setovima filtera i cijevima za primjenu lijeka.

Molekule proteina imaju afinitet adsorpcije na navedene materijale uslijed čega dolazi do denaturacije proteina i agregacije. *In-line* filteri koji su ugrađeni u setove za infuzije obično su nedovoljni kako bi se uklonile takve čestice iz otopine. Zapravo one ne uklanjaju većinu nano čestica. Naprotiv, *in-line* filteri čak izlažu proteine novim interakcijama koje generiraju nastanak dodatnih čestica nizvodno od membrane *in-line* filtera (52).

Isto tako zaštitno djelovanje neionskih tenzida koji se dodaju u formulaciju lijeka kako bi spriječila razgradnja proteina uzrokovana interakcijama, može biti značajno umanjeno nakon razrjeđivanja lijeka u otopini za infuziju. Čak pri optimalnim koncentracijama stabilizirajuće pomoćne tvari, može doći do formiranja značajne količine nano i mikročestica nakon izlaganja kombinaciji mehaničkih stresova (52).

### **3.5.3. Izloženost svjetlu**

Kako bi se izbjegla fotodegradacija, biološki lijekovi su od svjetla zaštićeni sekundarnim pakiranjem. Međutim u bolničkom okruženju i tijekom korištenja lijeka kod kuće, izloženost svjetlu može kemijski oštetiti molekule proteina, te dovesti do pojave obojenja i stvaranja agregata i čestica (52).

Tako je na primjer u otopini koja je sadržavala osteotid koja je bila izložena svjetlosti fluorescentne stolne lampe došlo do stvaranja oksidativnih modifikacija sličnih onima koje su bile izazvane ultravioletnim svjetlom, no u nižem udjelu. Pretkliničke studije na modelima pokazale su da kemijski degradanti i agregati nastali izlaganjem svjetlu imaju naročiti imunogeni učinak.

Vrlo važno je osvijestiti da u bolničkom okruženju infuzijske vreće stoje na stalcima koji su izloženi svjetlu. Nadalje, biološki lijek može biti dan pacijentu za primjenu kod kuće. Pri tome lijek može biti izložen direktnom sunčevom zračenju prilikom transporta ili na primjer kad je lijek ostavljen na stolu prije aplikacije (52).

Tako biološki lijek može potencijalno biti izložen dva ili više različitih stresnih uvjeta, a to su izloženost svjetlu, temperaturno odstupanje od propisanih uvjeta i miješanje mućkanjem.

Prema saznanjima, takva kombinacija stresnih faktora ne testira se rutinski tijekom razvoja formulacije biološkog lijeka. Potrebno je provesti sustavne studije kako bi se utvrdio opseg oštećenja molekule proteina koje mogu nastati kao posljedica takvih kombinacija stresova (52).

### **3.5.4. Ostali okolišni faktori**

Vlaga može negativno utjecati na karakteristike čvrstih i ne vodenih farmaceutskih oblika koji nisu zapakirani u čvrsto zatvorene spremnike. Čuvanje lijeka pod visokim ili niskim uvjetima vlage ispituje se u sklopu ICH/WHO smjernica za ispitivanje stabilnosti. Vlaga tijekom transporta uobičajeno nije kritična zbog kratkog perioda u kojem je proizvod izložen visokoj odnosno niskoj razini vlage.

Isto tako i utjecaj kisika uobičajeno nije kritičan s obzirom na to da se lijek čuva i transportira u hermetički zatvorenim spremnicima.

Od ostalih faktora koji potencijalno mogu imati utjecaj na kakvoću biološkog lijeka tijekom transporta treba spomenuti vibracije, radiofrekvenciju i X-zračenje.

Udruženja kao što su *International Safe Transit Association*, ISTA ili *American Society for Testing and Materials*, ASTM predlažu standardne testove u svrhu ispitivanja utjecaja vibracija, šokova i atmosferskih uvjeta.

Vibracije mogu utjecati na pojavu čestica u otopinama koje sadrže proteine što može imati utjecaj na njihova terapijska svojstva. Za osjetljive farmaceutske i biotehnološke lijekove to je zasigurno parametar kojeg je potrebno dodatno ispitati.

Radijacija može uzrokovati probleme kod bioloških lijekova i onih koji su pokazali osjetljivost na X-zračenje tijekom testiranja takve vrste sterilizacije.

Dokument *International Air Transport Association*, IATA donosi sljedeće informacije:

(i) Radiofrekvencija (RF)

Većina farmaceutskih proizvoda izložena je radiofrekvenciji u lancu opskrbe. RF se koristi kao alat u svrhu inventure kao i vidljivosti lanca opskrbe. Ova niska energija se smatra neopasnom. No, međutim FDA je zatražio da farmaceutske kompanije provedu ispitivanje utjecaja RF na biološke lijekove (to nije nužno za ne-biološke lijekove) kako bi se utvrdilo pojavljuju li se modifikacije u strukturi biološke aktivne tvari koje nisu tipične za degradaciju toplinom.

(ii) X-zračenje (izlaganje radijacijskom zračenju u avionima i aerodromima)

Lijekovi mogu biti izloženi X-zrakama (uzrokovan ljudskim djelovanjem ili iz prirodnog okoliša) tijekom lanca opskrbe lijekom. Generalno, količina X-zračenja kojem lijek može biti izložen na aerodromima tijekom provjere je značajno manja od one kojoj je izložen u teretnom trupu aviona na visini od 10 000 m. Ukoliko je poznato da je lijek osjetljiv na X-zračenje proizvođač bi trebao dogovoriti sa posrednikom i carinom da se takav proizvod ne izlaže X-zračenju kod izlaza i ulaza u aerodrome i tijekom avionskog transporta. Potrebno je poduzeti posebne zaštitne mjere kako bi se takav proizvod zaštitio od radijacije (53).

### 3.6. Ispitivanje stabilnosti lijeka

Kako bi dokazali kvalitetu, sigurnost i djelotvornost lijeka tijekom cijelog roka valjanosti lijeka proizvođači su dužni provoditi ispitivanje stabilnosti.

U standardnom ispitivanju stabilnosti lijeka prvi korak čine studije prisilne razgradnje prilikom čega se ispituju različiti uvjeti i njihov utjecaj na razgradnju djelatne tvari lijeka. Cilj tih studija je utvrđivanje puta razgradnje djelatne tvari lijeka, te razvoj prikladnih analitičkih metoda. Nakon toga provode se ispitivanja stabilnosti na djelatnoj tvari lijeka kako bi se utvrdila stabilnost iste pod utjecajem dugoročnih i ubrzanih uvjeta čuvanja. U sljedećoj fazi razvoja, djelatna tvar lijeka oblikuje se u određenu formulaciju lijeka, te se pri tome ispituje kompatibilnost s pomoćnim tvarima kao i dijelovima primarnog spremnika s kojima lijek dolazi u direktan kontakt. Kada su definirani prikladna formulacija i pakiranje lijeka, provode se ispitivanja stabilnosti na gotovom lijeku, kako pod uvjetima ubrzane razgradnje, tako i dugoročna ispitivanja stabilnosti. Podaci dobiveni ih tih studija čine temelj za definiranje optimalnih uvjeta čuvanja i određivanje datuma ponovne analize (*engl. retest date*) za djelatnu tvar lijeka ili roka valjanosti za gotov lijek. Veliki je interes farmaceutske industrije kao i regulatornih tijela da pacijent dobije lijek bez promijenjenih ili izgubljenih terapijskih karakteristika tijekom cijelog roka valjanosti lijeka (53).

U današnje vrijeme sve je veći udio bioloških lijekova koji zahtijevaju temperaturno kontroliran distribucijski kanal. No, međutim nerijetko se događaju kašnjenja tijekom transporta lijekova zbog različitih razloga, što stavlja lijek u rizik kad vrijeme transporta i kontrola temperature ne može biti održavana u propisnim granicama. U takvim situacijama proizvod je izložen temperaturnom odstupanju (*engl. temperature excursion*) (53).

Kad govorimo o lijekovima osjetljivim na okolišne uvjete tijekom transporta uobičajeno mislimo na temperaturu. Međutim u slučajevima osjetljivih lijekova osim temperature potrebno je razmotriti i utjecaj drugih okolišnih faktora, a to uključuje vlagu, svjetlost, šokove, tlak, vibracije i X-zračenje kojima mogu biti izloženi lijekovi tijekom transporta ili tijekom primjene lijeka. Pri tome je navedeni problem potrebno sagledati iz aspekta regulatornih tijela i iz aspekta proizvođača (53).

Regulatorna tijela zahtijevaju da proizvođač osigura kvalitetu lijeka ne samo tijekom skladištenja ili transporta već sve do trenutka primjene lijeka (54).

Ovaj zahtjev je vrlo izazovan za proizvođače lijekova s obzirom da moraju osigurati kvalitetu lijeka i u trenutku kad lijek fizički nije pod njihovom kontrolom. To se uobičajeno odnosi na situaciju kad je lijek isporučen ljekarni ili bolnici kako bi ga one distribuirale do pacijenata i kad pacijenti čuvaju lijekove u svojim kućnim ljekarnama (53).

Proizvođač treba smanjiti rizik od nastanka problema u kvaliteti na što je moguće manju mjeru. Problemi u kvaliteti mogu se pojaviti ako je temperatura transporta temperaturno osjetljivih lijekova izvan propisanih granica, ili organizacija koja je zadužena za transport ne održava propisanu temperaturu tijekom cijelog perioda transporta. Navedeno može imati za posljedicu povećanje razgradnih produkata, pa proizvođač mora odabrati najbolji mogući distribucijski plan (53).

Dodatno, potrebno je razmotriti i ekonomski faktor. Naime, kada je proizvod spreman za tržište, u njegovu cijenu su uračunati troškovi proizvodnje djelatne tvari lijeka, gotovog lijeka, skladištenja i isporučivanja, ali i istraživanja i razvoja, marketinga, prodaje, poreza i ostalih troškova. Ukoliko proizvod nije prikladno uskladišten tijekom i nakon distribucije gubitak za proizvođača može biti golem (53).

Ako se krivo postave i definiraju distribucijski kanali to može imati negativne posljedice na zdravlje pacijenata i imidž kompanije, ukoliko zbog problema sa kvalitetom lijeka dođe do povlačenja lijeka iz prometa. Profit kompanije može biti doveden u pitanje ukoliko lijek nije dostupan na tržištu.

Pregledom dostupnih smjernica utvrđeno je da ne postoje jasno propisani uvjeti za ispitivanja koja je potrebno provesti kako bi se utvrdili prikladni uvjeti transporta kao što je to propisano za uvjete skladištenja osjetljivih lijekova (55).

Provođenje dodatnih ispitivanja stabilnosti koje podržavaju internu manipulaciju (punjenje, označavanje, distribuciju) i eksterne situacije (nepredviđena temperaturna odstupanja do kojih može doći tijekom distribucije, rukovanja i primjene) dobivaju sve više pozornosti kao dio regulatornih zahtjeva (13).



Primjeri dodatnih ispitivanja stabilnosti uključuju ispitivanje utjecaja višestrukih temperaturnih varijacija, višestrukih ciklusa smrzavanja i odmrzavanja i simulacije dostave koje mogu pomoći utvrditi stabilnost biološkog lijeka tijekom temperaturnih odstupanja koja se mogu dogoditi nakon što lijek bude izvan kontrole proizvođača. Iako je teško dizajnirati takav plan ispitivanja stabilnosti koji bi obuhvatio sva moguća odstupanja u temperaturi i cikluse smrzavanja i odmrzavanja, takva ispitivanja mogu rezultirati razvojem baze podataka o dopuštenom vremenu izloženosti lijeka određenim temperaturama izvan propisanih uvjeta čuvanja (13).

### **3.6.1. Pregled regulative i smjernica**

Puno informacija vezanih uz transport i stabilnost lijeka može se naći u publikacijama i smjernicama različitih regulatornih tijela i farmaceutskih udruženja.

- (i) ICH Q1A i WHO Annex 2 daju opće smjernice o načinu kako provesti testove ubrzane razgradnje. Rezultati takvih testiranja su temelj za utvrđivanje osjetljivosti djelatne tvari lijeka na temperaturu, vlagu, oksidaciju, pH i svjetlost (54, 56).

Rezultati studija ubrzane razgradnje mogu biti korisne u utvrđivanju uvjeta transporta djelatne tvari lijeka, te mogu biti od velike pomoći u definiranju testova koji će služiti za definiranje transportnih uvjeta gotovog lijeka (53).

Smjernica ICH Q1B daje preporuke o načinu provođenja ispitivanja utjecaja svjetlosti na stabilnost djelatne tvari lijeka i gotovog lijeka (57).

- (ii) ICH Q1A također opisuje preporučene uvjete za dugoročno i ubrzano ispitivanje stabilnosti na djelatnoj tvari lijeka i gotovom lijeku, te daje korisne smjernice o temperaturnim uvjetima i uvjetima vlage u provođenju tih testova (54).

- (iii) ICH Q1A slično kao i WHO rječnik definira studije ubrzane razgradnje. Studije ubrzane razgradnje moraju biti dizajnirane na način da se poveća udio kemijske razgradnje ili fizikalne promjene djelatne tvari gotovog lijeka korištenjem rigoroznijih uvjeta kod ispitivanja stabilnosti. Podaci dobivenih iz tih studija, kao i dugoročne studije stabilnosti, mogu se koristiti za dugoročnu procjenu utjecaja istih na razgradnju lijeka kod propisanih uvjeta čuvanja i na procjenu utjecaja kratkoročnih temperaturnih odstupanja

od propisanih uvjeta kakvi se mogu dogoditi tijekom isporuke lijeka. Rezultati iz studije ubrzane razgradnje ne mogu uvijek predvidjeti fizikalne promjene (54, 56).

(iv) ICH Q1A poglavlje 2.1.7, slično kao i WHO 2.1.7 govori o tome da se podaci iz studije ubrzane razgradnje mogu koristiti za evaluaciju utjecaja kratkotrajnih temperaturnih odstupanja viših ili nižih od propisanih uvjeta čuvanja koji se mogu uočiti tijekom isporuke lijeka (54, 56).

(v) ICH Q1A poglavlje 2.1.7.3; identično WHO poglavlju 2.1.7.3: za aktivnu komponentu lijeka koja se treba skladištiti u zamrzivaču: ispitivanje stabilnosti na jednoj seriji lijeka na povišenoj temperaturi (npr.  $5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$  ili  $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) kroz određeni prikladni vremenski period potrebno je provesti u svrhu utvrđivanja utjecaja kratkotrajnih temperaturnih odstupanja izvan predloženih uvjeta čuvanja, koje mogu nastati npr. tijekom isporuke i rukovanja (54, 56).

(vi) ICH Q1A poglavlje 2.2.7.5, jednako kao i WHO poglavlje 2.2.6.5: Lijek koji se mora čuvati u zamrzivaču: U slučaju da ne postoje studije ubrzane razgradnje za gotov lijek koji je potrebno čuvati u zamrzivaču, potrebno je provesti ispitivanje na jednoj seriji lijeka na povišenoj temperaturi (npr.  $5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$  ili  $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) kroz prikladni vremenski period kako bi se utvrdio utjecaj kratkotrajnih temperaturnih odstupanja od propisanih uvjeta čuvanja (54, 56).

(vii) ICH Q5C: *Stability of Biotechnological/Biological products poglavlje 6.3 Accelerated and stress Conditions*: Studije pod uvjetima ubrzane razgradnje mogu biti korisne kako bi se utvrdilo da li nenamjerno izlaganje nepropisnim uvjetima čuvanja mogu imati štetan utjecaj na kvalitetu lijeka (npr. tijekom transporta) (31).

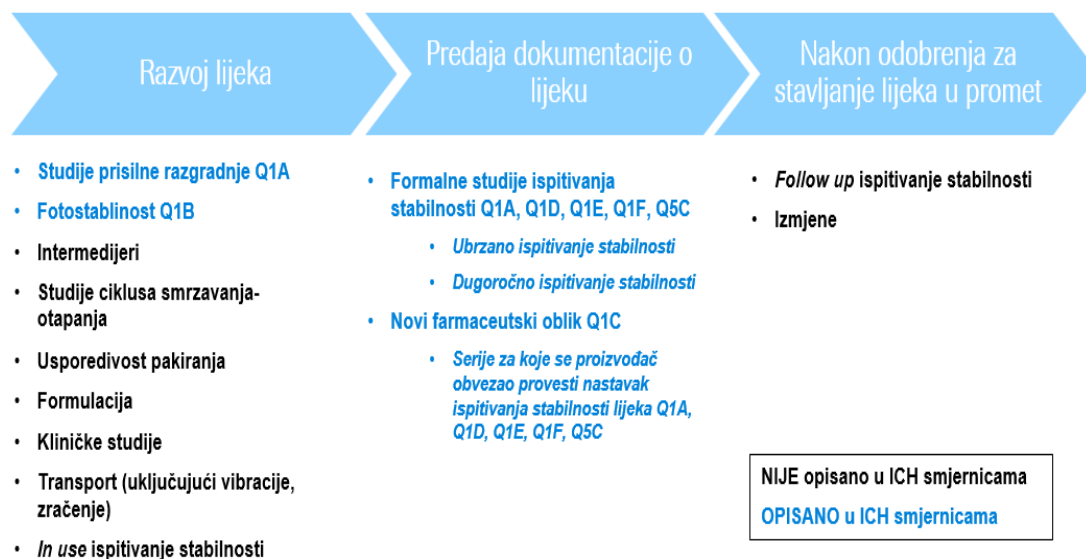
Iz navedenih poglavlja smjernica, može se zaključiti kako proizvođač može podatke iz studije ubrzane stabilnosti koristiti u procjeni značaja utjecaja temperaturnih odstupanja tijekom transporta i čuvanja lijeka. Američka farmakopeja (engl. *United State Pharmacopoeia*, USP) sadrži vrlo korisne monografije koje se mogu naći u sljedećim dokumentima: <795> Pharmaceutical Compounding – Nonsterile Preparations (58); <797> Pharmaceutical Compounding – Sterile Preparations (59); <1079> Good Storage Practice and Shipping

Practices (40); <1118> Monitoring Devices – Time, Temperature and Humidity (60), <1191> Stability Consideration in Dispensing Practice (61).

Parenteral Drug Association Technical Report 39, revizija 2007 je zasigurno najbolji dokument koji opisuje testiranja proizvoda pod temperaturnim ciklusima i procjenu utjecaja temperaturnih odstupanja. Prema predloženim testovima, proizvođač može procijeniti osjetljivost proizvoda na temperaturne varijacije kao što su one koje se mogu pojaviti tijekom transporta. Izabrana temperatura trebala bi odgovarati specifičnim situacijama koje se mogu očekivati tijekom čuvanja i transporta lijeka. Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) dala je svoj stav kako se uvjeti transporta mogu razlikovati od uvjeta skladištenja ukoliko proizvođač prezentira zadovoljavajuće podatke koji podržavaju takav pristup (19). Nisu dostupne smjernice za ispitivanje lijekova na vibracije, šokove ili X-zračenje (53).

### **3.6.2. Postavljanje okvira za ispitivanje stabilnosti**

Uvjeti čuvanja lijeka definiraju se na temelju rezultata ispitivanja stabilnosti koja se provode u skladu s ICH/WHO smjericama. No međutim, temperaturnoosjetljivi lijekovi mogu biti izloženi uvjetima tijekom njihove proizvodnje, čuvanja i transporta koji nisu pokriveni rezultatima ispitivanja stabilnosti provedenim pod uvjetima propisanim u ICH/WHO smjericama (53).



**Slika 16.** Pregled studija ispitivanja stabilnosti tijekom različitih faza razvoja lijeka koja jesu i nisu opisana u ICH smjernicama (prilagođeno prema literaturnom navodu (53)).

Jedan očiti primjer je punjenje i pakiranje lijeka čiji su propisani uvjeti čuvanja na  $-20^{\circ}\text{C}$ . Prema ICH smjernicama studije ispitivanja stabilnosti ograničene su na dugoročno ispitivanje stabilnosti lijeka na  $-20^{\circ}\text{C}$  bez provođenja ubrzane studije ispitivanja stabilnosti (53).

U pojedinim fazama procesa proizvodnje lijekom se mora rukovati i pod uvjetima koji odstupaju od propisanih uvjeta čuvanja jer se isti treba otopiti kako bi se rastočio u bočice ili štrcaljke ili pak treba biti stavljeni na sobnu temperaturu (ili barem na  $0^{\circ}\text{C}$ ) kako bi bilo moguće označavanje lijeka. Upravo iz tog razloga, nužne su dodatne studije ispitivanja stabilnosti kako bi se dobilo dodatno znanje o stabilnosti lijeka i dobila šira slika o njegovom profilu stabilnosti. Prilikom planiranja takvih studija ispitivanja stabilnosti potrebno je u obzir uzeti pojedine faze procesa proizvodnje, te skladištenja i transporta (npr. punjenje, označavanje, pakiranje, priprema za isporuku, transport i zaprimanje) i posljedice koje odstupanje od propisanih uvjeta može tijekom tih operacija imati na kvalitetu lijeka (53).

Možemo razlikovati tri različite kategorije ispitivanja stabilnosti:

- (i) studije ispitivanja stabilnosti kojima se utvrđivanju uvjeti čuvanja lijeka (koje se provode u skladu sa ICH/WHO smjernicama);
- (ii) studije ispitivanja stabilnosti u svrhu internog rukovanja lijekom (punjenje, označavanje);
- (iii) studije ispitivanja stabilnosti koje služe za upravljanje nepredvidivim situacijama (npr. situacije koje se pojavljuju tijekom distribucije lijeka).

Plan ispitivanja stabilnosti ovisi o vrsti lijeka. Prilikom planiranja studije potrebno je u obzir uzeti parametre koji su kritični za prevenciju degradacije lijeka, te se trebaju procjenjivati granice parametara unutar kojih se lijekom može sigurno rukovati. Plan ispitivanja stabilnosti uvelike ovisi o osjetljivosti lijeka na okolišne uvjete. Pri tome lijek moramo promatrati kao cjelinu farmaceutskog oblika i njegovog spremnika s obzirom da oba faktora imaju utjecaj ukupnu osjetljivost i stabilnost lijeka (53).

Stabilan lijek je lijek koji nije osjetljiv na okolišne promjene (npr. lijekovi koje se nakon proizvodnje steriliziraju toplinom). Takvi lijekovi se obično skladište u uvjetima do 25°C i nisu potrebne dodatne studije kako bi se definirali uvjeti transporta. Razmatranja vezana uz okolišne uvjete trebala bi biti koncentrirana na iznalaženje uvjeta u kojima će lijek sačuvati fizički integritet.

Vrlo osjetljivi lijekovi su lijekovi koji imaju ograničen raspon uvjeta u kojima se mogu skladištiti i prevoziti. Odstupanja izvan tih granica mogu dovesti do potpune razgradnje i lijek se kao takav više ne smije primijeniti (primjer su cjepiva čija djelotvornost je uništena u slučaju smrzavanja). Kod takvih lijekova potrebno je napraviti dodatne studije kako bi se utvrdili točni uvjeti pod kojima će lijek zadržati svojstva i ona u kojima se ta svojstva gube.

Osim ispitivanja koje je potrebno provesti kako bi se utvrdili uvjeti transporta, potrebno je provesti program ispitivanja koji obuhvaća utjecaj temperature, vlage (ukoliko proizvod nije vodena otopina), svjetlosti, šokova, tlaka i vibracija kao što su one koje se mogu dogoditi tijekom transporta i X-zračenja ukoliko se proizvod transportira avionskim prijevozom

(sigurnosni sustav aerodroma). Takvi lijekovi se obično ne smiju transportirati izvan uvjeta propisanih za dugoročno čuvanje.

Osjetljivi lijekovi su lijekovi sa određenom osjetljivošću na okolišne uvjete, te moraju biti zaštićeni tijekom transporta (npr. većina lijekova dobiveno biotehnološkim postupcima rekombinantne DNA). Kod ovih lijekova potrebno je provesti iste vrste ispitivanja kao i kod vrlo osjetljivih lijekova kako bi se precizno utvrdili uvjeti pod kojima lijek zadržava svoja svojstva i one pod kojima dolazi do degradacije.

Proizvođači mogu odlučiti da će se transport lijeka provoditi pod uvjetima skladištenja i čuvanja (npr. 2°C do 8°C), te je u tom slučaju potrebno provesti ispitivanja mogućih odstupanja tijekom transporta i njihovog utjecaja na kakvoću lijeka. Proizvođač također može definirati uvjete transporta u kojima će biti manja vjerojatnost odstupanja tijekom transporta (npr. sobna temperatura), dakle proizvodom se može sigurno rukovati izvan propisanih dugoročnih uvjeta čuvanja, ali u tom slučaju proizvođač mora dati dovoljno dokaza kojima potkrepljuje takve uvjete transporta ili rukovanja (53).

### **3.6.3. Parametri koji tijekom transporta mogu imati utjecaj na kakvoću lijeka**

Lijekovi mogu biti osjetljivi na okolišne uvjete kao što su temperatura, vlaga, svjetlost, kisik, šokovi, tlak, vibracije i X-zračenje. Razgradnja lijeka ovisi o vrijednosti okolišnih uvjeta i vremenskom periodu u kojem je lijek bio izložen određenom nepovoljnom okolišnom uvjetu.

Kod malih odstupanja od propisanih uvjeta čuvanja i kratkog perioda vremena, posljedice obično nisu značajne. Analizom rizika mogu se utvrditi parametri koje je potrebno uključiti u studiju ispitivanja stabilnosti.

**Tablica 4.** Primjer pregleda parametara koje je potrebno uključiti u studiju ispitivanja stabilnosti u svrhu ispitivanja uvjeta transporta (prilagođeno prema literaturnom navodu (53)).

|                         | Temperatura | Vlažnost | Svjetlost | Tlak | Vibracija | Šokovi | X-zračenje |
|-------------------------|-------------|----------|-----------|------|-----------|--------|------------|
| Čvrsti oblik u bočici   | +           | 0        | -         | -    | 0         | 0      | -          |
| Čvrsti oblik u blisteru | +           | 0        | -         | +    | 0         | 0      | -          |
| Tekući oblik u ampuli   | +           | -        | -         | -    | 0         | +      | 0          |
| Tekući oblik u bočici   | +           | -        | -         | -    | 0         | +      | 0          |
| Tekući oblik u spreju   | +           | 0        | -         | +    | 0         | -      | 0          |
| Gel u plastičnoj tubi   | +           | -        | -         | 0    | 0         | -      | 0          |
| Krema u plastičnoj tubi | +           | -        | -         | 0    | 0         | -      | 0          |

*(-) uvjeti koje nije potrebno ispitati; 0 uvjeti koje je vjerojatno potrebno ispitati; (+) uvjeti koje je obavezno ispitati*

Kod ispitivanja transporta glavni fokus je na temperaturi jer su gotovo svi lijekovi i biološki lijekovi osjetljivi na temperaturu.

Tijekom transporta pod kontroliranim uvjetima postoji čitav niz rizika koji mogu utjecati na održavanja propisanih uvjeta transporta. Tako tijekom transporta mogu iskrsnuti neki od navedenih problema:

- (i) može doći do nepredviđenih promjena u vremenskim uvjetima;
- (ii) procedura na carini može potrajati duže nego što je očekivano;
- (iii) prometne nesreće mogu uzrokovati poremećaje;
- (iv) korištena ruta transporta nije ona koja je bila predviđena;
- (v) transport može biti zaustavljen na neprikladnim mjestima;
- (vi) može doći do kvara sustava za kontrolu temperature;
- (vii) može doći do blokade u komunikaciji između različitih kompanija koje obavljaju poslove transporta (u slučaju ugovornog transporta);
- (viii) neispravnost temperaturnih senzora;
- (ix) informacije o uvjetima transporta mogu biti netočne ili nedostatne;

(x) ostali faktori.

Upravo iz tih razloga proizvođači trebaju napraviti što je veći mogući napor kako bi dobili formulaciju koja je „stabilna“ unutar širokog raspona okolišnih uvjeta (53).

Ukoliko to nije moguće, potrebno je provesti opsežnu procjenu granica unutar kojih se lijekom može sigurno rukovati. Kod definiranja temperaturnog raspona u kojem će se provoditi ispitivanje može se utvrditi prirodan raspon temperatura koji se može očekivati u okolišu. Tako je vrlo mala vjerojatnost da ćemo u prirodnom okruženju imati uvjete temperatura ispod  $-100^{\circ}\text{C}$  ili iznad  $100^{\circ}\text{C}$ . Primjerice na Antartici najniža zabilježena temperatura bila  $-89^{\circ}\text{C}$ . Temperaturni maksimum od  $+58^{\circ}\text{C}$  zabilježen je Libiji i Dolini smrti. Osim toga ukoliko bismo lijek ostavili izložen direktnom sunčevom zračenju, on neće biti zagrijan iznad  $100^{\circ}\text{C}$ .

Kod definiranja studija ispitivanja stabilnosti potrebno utvrditi koje studije vezane uz transport i distribuciju će se provesti i u kojem trenutku.

Studije ispitivanja stabilnosti trebaju obuhvatiti zahtjeve transporta i distribucije, a oni moraju biti planirani u pravom trenutku kao dio ukupnog razvojnog plana.

Ukoliko su ispitivanja planirana prerano, ona mogu biti neupotrebljiva ako se promijeni formulacija, spremnik ili plan distribucije lijeka. U tom slučaju potrebno je ponoviti cijelu studiju. U ranoj fazi razvojnog plana proizvođač želi garantirati da lijek odgovara svim zahtjevima za pred-kliničke i kliničke studije. Ukoliko nije dostupan dovoljan broj podataka, proizvođač je prisiljen transportirati i distribuirati lijek pod uvjetima za koje je siguran da će očuvati kvalitetu lijeka. Razumno je studije ispitivanja stabilnosti vezane uz transport i distribuciju pokrenuti zajedno sa studijama ispitivanja stabilnosti koje se provode na lijeku koji je spreman za treću fazu kliničkih ispitivanja. U ovoj fazi razvoja lijeka proizvođač je već proveo preliminarna ispitivanja stabilnosti dobivši indikativne podatke o prikladnim uvjetima skladištenja i distribucije lijeka (53).



### 3.6.4. Opseg studije ispitivanja stabilnosti

Sljedeći korak je utvrditi opseg studije ispitivanja stabilnosti koju je potrebno provesti. Predloženi testovi trebali bi biti usko vezani uz uvjete proizvodnje i distribucijske kanale. To može biti izazovno, sve do početka treće faze kliničkih ispitivanja, s obzirom da proizvođač do tog trenutka ima nejasnu sliku o aktivnostima vezanim uz marketing, proizvodnju i distribucijske aktivnosti nakon registracije lijeka, i kasnije tijekom komercijalne prodaje lijeka. Poznavanje osjetljivosti lijeka na parametre od interesa prvi je cilj studije. Odnos između osjetljivosti proizvoda i minimalnih zahtjeva kod distribucije i kasnije kod uporabe od strane pacijenta utvrdit će uvjete distribucije lijeka.

Kako u ranoj fazi razvoja lijeka postoji ograničeno znanje o svojstvima lijeka vrlo je izazovno izabrati ispravne uvjete ispitivanja. Oni ne bi trebali biti pre-rigorozni (kako ne bi došlo do pretjeranog raspada), ali ne bi trebali biti niti preblagi (uvjeti kod kojih ne dolazi do raspada pa je zbog toga potrebno provesti dodatna ispitivanja kako bi se utvrdilo da li može podnijeti rigoroznije stresne uvjete). Uporaba matematičkih modela može pomoći u procjeni utjecaja temperaturnih odstupanja na sadržaj djelatne tvari lijeka.

**Tablica 5.** Primjer utvrđivanja opsega studije ispitivanja stabilnosti (prilagođeno prema literaturnom navodu (53)).

---

|                                                                                                           |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Utvrđivanje temperaturnih uvjeta kod kojih nema utjecaja na kvalitetu lijeka tijekom                      |  |
| 1 h (npr. vrlo osjetljivi lijekovi)                                                                       |  |
| 8 h (npr. trajanje jedne smjene, 4 sata smjena plus po 2 sata pripreme i pohrane izvan propisanih uvjeta) |  |
| 24 h (npr. trajanje jednodnevnog rada)                                                                    |  |
| 72 h (npr. uobičajeno vrijeme lokalnog transporta)                                                        |  |
| 1 tjedan                                                                                                  |  |
| 2 tjedna                                                                                                  |  |
| 1 mjesec                                                                                                  |  |

---

Ovakva shema pomoći će proizvođaču utvrđivanje osjetljivosti lijeka na ispitivane parametre i pomoći utvrditi uvjete i metodologiju punjenja/pakiranja/distribucije/zaprimanja/primjene lijeka.

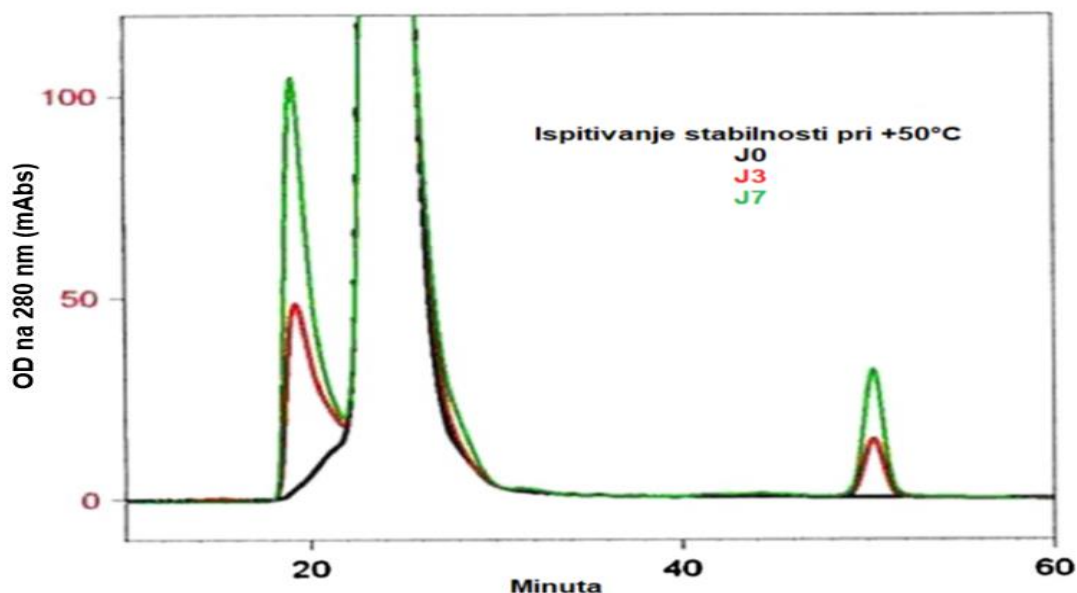
Kada je opseg ispitivanja jasno definiran, tada je potrebno utvrditi plan provođenja ispitivanja stabilnosti. Pri tome je potrebno razmotriti: Je li djelatna tvar lijeka već prisutna u nekom drugom proizvodu? Je li proizvod već dobro poznat unutar kompanije? Koji parametri imaju utjecaj na karakteristike kakvoće lijeka? Postoji li minimalan i maksimalan limit za određene parametre? Postoje li međusobno ovisni parametri?

Na samom početku razvoja djelatne tvari lijeka proizvođač provodi testove prisilne razgradnje kako bi utvrdio osjetljivost djelatne tvari lijeka na različite okolišne uvjete. Obično se ispituju utjecaj temperature, vlage, svjetlosti i kisika kao stresnih faktora.

Cilj navedenih ispitivanja je pokazati međusobni odnose između dva glavna faktora:

- prikladnosti analitičkih metoda u detekciji razgradnih produkata;
- utvrditi puteve razgradnje.

Slika 17 prikazuje kromatogram djelatne tvari lijeka koja je bila izložena temperaturi od 50°C kroz 3 i 7 dana. Na kromatogramu se vide pikovi onečišćenja koji se pojavljuju prije i poslije glavnog pika. Na kromatogramu koji prikazuje uzorak koji je bio izložen povišenoj temperaturi kroz 7 dana vidljivo je povećanje površine pikova onečišćenja.



**Slika 17.** Studija ubrzane razgradnje: primjer HPLC kromatograma uzorka koji je bio izložen temperaturi 50°C kroz 3 i 7 dana, u usporedbi sa početnim kromatogramom (prilagođeno prema literaturnom navodu (53)).

Od najveće važnosti je utvrđivanje toksičnosti razgradnih produkata. Potrebno je utvrditi jesu li oni puno toksičniji od djelatne tvari lijeka ili je li njihova toksičnost približno jednaka ili manja? Odgovor na ovo pitanje potreban je kako bi se mogle utvrditi specifikacijske granice djelatne tvari lijeka i kasnije samog gotovog lijeka.

Rezultati ove studije daju direktne naznake o uvjetima transporta djelatne tvari lijeka, pokazujući jesu li potrebne posebne mjere opreza ili jesu li uvjeti sobne temperature prihvatljivi. Ovi rezultati se ne mogu direktno interpretirati za gotov lijek, sa iznimkom proizvoda koji su zapravo čista djelatna tvar lijeka, s obzirom na to da pomoćne tvari mijenjaju karakteristike djelatne tvari lijeka u pozitivnom smislu.

Glavni fokus bi trebao biti na razumijevanju puteva razgradnje i odgovarajućih metoda njihove detekcije što će pomoći proizvođaču u definiranju plana ispitivanja uvjeta transporta.

Studije ubrzanog i dugoročnog ispitivanja stabilnosti pokazuju kako temperatura utječe na kvalitetu gotovog lijeka. Od velike pomoći mogu biti rezultati ICH/WHO studija ispitivanja stabilnosti na serijama iz rane faze razvoja lijeka, ili drugi dodatni podaci ukoliko oni mogu pomoći u modeliranju studija ispitivanja stabilnosti (53).

### **3.6.5. Definiranje distribucijskih kanala**

Uzevši u obzir raspoložive podatke i iskustvo moguće je detaljnije razmotriti najbolje rute i uvjete transporta lijeka, od trenutka inicijalnog skladištenja lijeka do trenutka primjene lijeka pacijentu.

Pri tome je potrebno razmotriti odgovore na pitanja kao što su: Koja je najbolja opcija za pakiranje lijeka? Koju vrstu transporta koristiti? Ukoliko je lijek potrebno skladištiti u zamrzivaču, na koji će se način provesti punjenje i označavanje lijeka?

Potrebno je razmotriti različite situacija vezane uz rukovanje lijekom, kao što je to ilustrirano u tablici 6.

**Tablica 6.** Primjeri ispitivanja stabilnosti koje je potrebno provesti za lijek koji se čuva u hladnjaku (prilagođeno prema literaturnom navodu (53)).

| Korak                                       | Temperatura          | Studija ispitivanja stabilnosti                                                         |
|---------------------------------------------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Oblikovanje farmaceutskog oblika            | Sobna temperatura    | <i>Bulk</i> studija ispitivanja stabilnosti                                             |
| Čuvanje <i>bulk</i> farmaceutskog proizvoda | 2 - 8°C              | <i>Bulk</i> studija ispitivanja stabilnosti                                             |
| Priprema proizvoda za punjenje              | Sobna temperatura    | <i>Bulk</i> studija ispitivanja stabilnosti                                             |
| Punjenje proizvoda                          | Sobna temperatura    | <i>Bulk</i> studija ispitivanja stabilnosti                                             |
| Čuvanje napunjenog proizvoda                | 2 - 8°C              | Dugoročno ispitivanje stabilnosti                                                       |
| Priprema proizvoda za pakiranje             | Sobna temperatura    | Ubrzano i <i>cycling</i> ispitivanje stabilnosti                                        |
| Pakiranje proizvoda                         | Sobna temperatura    | Ubrzano i <i>cycling</i> ispitivanje stabilnosti                                        |
| Čuvanje zapakiranog proizvoda za korak 1    | 2 - 8°C              | Dugoročno ispitivanje stabilnosti                                                       |
| Priprema proizvoda za prijevoz              | Sobna temperatura    | Ubrzano i <i>cycling</i> ispitivanje stabilnosti                                        |
| Prijevoz proizvoda iz točke 1 na točku 2    | 2 - 8°C              | Dugoročno ispitivanje stabilnosti                                                       |
| Čuvanje proizvoda do koraka 2               | 2 - 8°C              | Dugoročno ispitivanje stabilnosti                                                       |
| Priprema proizvoda za transport             | Sobna temperatura    | Studija ispitivanja stabilnosti tijekom transporta                                      |
| Prijevoz proizvoda s točke 2 na točku 3     | Sobna temperatura    | Studija ispitivanja stabilnosti tijekom transporta                                      |
| Čuvanje proizvoda do koraka n               | 2 - 8°C              | Dugoročno ispitivanje stabilnosti                                                       |
| Priprema proizvoda za transport             | Sobna temperatura    | Studija ispitivanja stabilnosti tijekom transporta                                      |
| Prijevoz proizvoda s točke n-1 na točku n   | Sobna temperatura    | Studija ispitivanja stabilnosti tijekom transporta                                      |
| Primjena lijeka kod pacijanta               | Sobna temperatura    | <i>In-use</i> , ubrzano i <i>cycling</i> ispitivanje stabilnosti                        |
| Temperaturna odstupanja                     | Izvanredne situacija | Dodatne studije ispitivanja stabilnosti/ <i>cycling</i> studije ispitivanja stabilnosti |

U navedenom primjeru uvjete za formulaciju, punjenje i privremeno skladištenje lijeka potrebno je neovisno ispitati s obzirom na to da *bulk* proizvod nije zapakira u istu vrstu spremnika kao gotov lijek (53).

### **3.6.6. Definiranje sigurnosne granice (engl. *Safety Margin*)**

Kako bi bilo moguće definirati sigurnosnu granicu potrebno je imati odgovore na određena pitanja kao što su: Koliko dugo bi transport trebao trajati? Na kojoj temperaturi? Koliko dugo pacijent može skladištiti lijek i na kojoj temperaturi?

Znajući odgovore na ova pitanja moguće je definirati sigurnosne granice. Sigurnosna granica ovisit će o vrsti lijeka (čvrsti farmaceutski oblici trebali bi biti manje osjetljivi na neočekivane degradacije nego oni u tekućem obliku zbog razlike u brzini kemijske reakcije koja je mnogo veća u tekućoj fazi u odnosu na čvrstu fazu).

Kod utvrđivanja sigurnosnih granica potrebno je u obzir uzeti i nesigurnost vezanu uz rezultate mjerenja (procijeniti grešku vezanu uz mjerenje temperature/metode ispitivanja/vrijeme) i politiku upravljanja rizicima.

Sigurnosna granica može biti izražena na različite načine:

- (i) kao postotak vremena (postavljanje limita kao  $x\%$  u odnosu na stvarno eksperimentalno dobiveno vrijeme kod kojeg je uočena razgradnja);
- (ii) postotak proizvoda (postavljanje limita na  $y\%$  od stvarne eksperimentalno utvrđene količine kod koje je uočena toksičnost).

Sigurnosna granica može ovisiti o broju dostupnih eksperimenata, jedna serija na kojoj je ispitana stabilnost lijeka neće dati istu dozu sigurnosti kao deset. Granice se mogu modificirati tijekom vremena kako broj rezultata ispitivanja raste.

### **3.6.7. Plan ispitivanja stabilnosti**

Kod definiranja plana ispitivanja stabilnosti potrebno je uzeti u obzir da kod ICH/WHO dugoročnog i ubrzanog ispitivanja stabilnosti analitička ispitivanja započinju sa jednomjesečnim vremenskim razmakom. Takav dugačak period nije prikladan da bi se ispitale operacije rukovanja lijekom.

Poznavanjem svojstava lijeka i predviđenih distribucijskih kanala moguće je napraviti plan ispitivanja stabilnosti na takav način da rezultati studije podržavaju distribucijske kanale i mogu

biti od pomoći u slučajevima odstupanja koja se mogu pojaviti tijekom čuvanja i transporta lijeka.

Moguće je provesti različite vrste studija ispitivanja stabilnosti koje mogu dati jasniju sliku o osjetljivosti lijeka tijekom čuvanja i transporta lijeka:

- (i) studije temperaturnih odstupanja (*engl. temperature excursions studies*) i studije cikličkih promjena temperatura (*engl. cycling studies*);
- (ii) studije zamrzavanja i odmrzavanja (*engl. freeze-thaw studies*) mogu biti vrlo korisne za biološke lijekove s obzirom se njihova struktura može promijeniti u uvjetima zamrzavanja i odmrzavanja. Izlaganjem biološkog lijeka takvim temperaturnim varijacijama vrlo često može imati za posljedicu pojavu čestica i gubitak djelotvornosti lijeka.
- (iii) Studije u realnom vremenu (*engl. real time studies*) kod kojih se simuliraju temperaturni uvjeti koji se očekuju tijekom stvarnog transporta npr. tijekom ljetnog i zimskog perioda. Takve studije su prikladne kad proizvođač prilično točno zna koje distribucijske kanale će koristiti.

Proizvođač definira uvjete transporta na temelju dostupnih podataka. Provedbom analize rizika proizvođač definira takve transportne uvjete u kojima može garantirati da će kakvoća lijeka odgovarati zahtjevima kvalitete do trenutka primjene lijeka kod pacijenta. Rezultati takvih ispitivanja obično se navode u tabličnom prikazu sličnom onom u tablici 7.

**Tablica 7.** Primjer sumarne tablice koja prikazuje temperaturni raspon i vrijeme tijekom kojeg je lijek stabilan (prilagođeno prema literaturnom navodu (53)).

| Temperaturni raspon, °C | Vrijeme      |
|-------------------------|--------------|
| <8                      | 36 mjeseci   |
| 8-13                    | 36 mjeseci   |
| 13-23                   | 3 mjeseca    |
| 23-27                   | 1 mjesec     |
| 27-32                   | 2 tjedna     |
| 32-38                   | 1 tjedan     |
| 38-42                   | 3 dana       |
| 42-50                   | 2 dana       |
| 50-62                   | 1 dan        |
| 62-79                   | 8 sati       |
| >79                     | Ne koristiti |

Ukoliko se temperatura transporta razlikuje od propisane temperature čuvanja lijeka uvjeti moraju biti u potpunosti ispitani, a rezultati ispitivanja moraju pokazati da su uvjeti prikladni za namjeravanu svrhu.

Osim toga, potrebno je razmotriti ispitivanje lijeka na vibracije ili radijacijsko zračenje. ISTA ili ASTM predlažu standardizirane testove za ispitivanje vibracije, šokova i atmosferskih uvjeta. Takvi testovi bi trebali simulirati što je vjernije moguće predviđene sheme transporta. Pri tome je potrebno uzeti u obzir dugoročne planove proširenja transportnih ruta (53).

### **3.6.8. Dodatna ispitivanja za procjenu temperaturnih odstupanja**

Ispitivanja kojima se vrši procjena utjecaja temperaturnog odstupanja na kvalitetu lijeka su različita i provode se kako bi se provjerio utjecaj dodatnih stresnih situacija na kakvoću lijeka. Planiranje takvih ispitivanja vrlo je zahtjevno s obzirom da nije moguće predvidjeti svaku situaciju u kojoj se može dogoditi temperaturno odstupanje.

U nekim situacijama sugerira se uporaba srednje kinetičke temperature (engl. *Mean Kinetic Temperature, MKT*) pomoću koje se procjenjuje raspon temperatura kojima lijek može biti izložen a da to ne utječe na njegovu kakvoću. Uporaba srednje kinetičke temperature je

indirektna metoda koja ne daje jasnu sliku o tome kako će odstupanje u temperaturi utjecati na kakvoću lijeka (53). Srednja kinetička temperatura govori nam o ukupnom učinku temperaturnih fluktuacija tijekom skladištenja ili transporta. Izračunavanje srednje kinetičke temperature primjenjuje se npr. u situacijama kada se utvrde određena odstupanja temperature tijekom skladištenja ili transporta lijekova od zadanih granica (npr. 2-8 °C ili 15-25 °C) kako bi se matematičkim modelom utvrdilo koliki utjecaj su takve promjene imale na proizvod u smislu temperature, tj. koja je to srednja temperatura kojoj je proizvod bio izložen tijekom promatranog perioda. Ovdje treba napomenuti da srednja kinetička temperatura nije jednostavno aritmetička sredina svih zabilježenih temperaturnih vrijednosti već se radi o kompleksnijem modelu. Naravno, srednja kinetička temperatura nikako se ne smije koristiti kao nešto čime bi se opravdavali loši uvjeti skladištenja ili transporta, već samo iznimno u slučaju neočekivanih i kratkotrajnih odstupanja (62).

Drugi pristup predlaže korištenje matematičke procjene razgradnje lijeka tijekom temperaturnog odstupanja. Taj model se temelji na Arrheniusovoj jednadžbi i jednadžbi kinetike prvog reda. Cilj tog matematičkog modela je da pomogne odgovornoj osobi za puštanje lijeka u promet u odluci da li će određeni lijek izložen temperaturnom odstupanju pustiti u promet ili neće. Ovom metodom moguće je procijeniti potencijalnu razinu razgradnje koju je moguće očekivati kao posljedicu temperaturnog odstupanja.

Kombinirana ispitivanja. Nameće se pitanje kako pojedini stresni uvjet može utjecati na mehanizme razgradnje koji utječu na kvalitetu proizvoda. Neke od njih imat će neznatan utjecaj, dok će drugi imati značajne posljedice. Na primjer, ukoliko je lijek bio izložen temperaturnom odstupanju izvan propisanih uvjeta, vrlo je važno osigurati njegovu kvalitetu do kraja roka valjanosti. Upravo iz tog razloga potrebno je provesti kombinirane studije, kod kojih se lijek izloži transportnim uvjetima na početku, sredini i/ili kraju dugoročnog ispitivanja stabilnosti lijeka.

Na isti način bi trebale biti provedene i studije temperaturnih odstupanja kod različitih vremenskih točaka tijekom dugoročne studije ispitivanja stabilnosti, kako bi se simulirali stvarni uvjeti (53).



### 3.6.9. Izgradnja znanja o stabilnosti lijeka

Cilj proizvođača je osigurati kvalitetu lijeka sve do trenutka primjene lijeka, odnosno do kraja roka valjanosti lijeka. Kako bi postigao taj cilj, proizvođač mora izgraditi znanje i razumjeti kako kontrolirati razgradnju lijeka ili suprotno razumjeti osnovne razloge zašto dolazi do pojave neprihvatljive količine razgradnih produkata.

Proizvođač prvo treba utvrditi koja je to prihvatljiva razina razgradnih produkata i pod kojim uvjetima oni nastaju. Kao što je već opisano, temperatura je najvažniji čimbenik koji utječe na razgradnju osjetljivih lijekova.

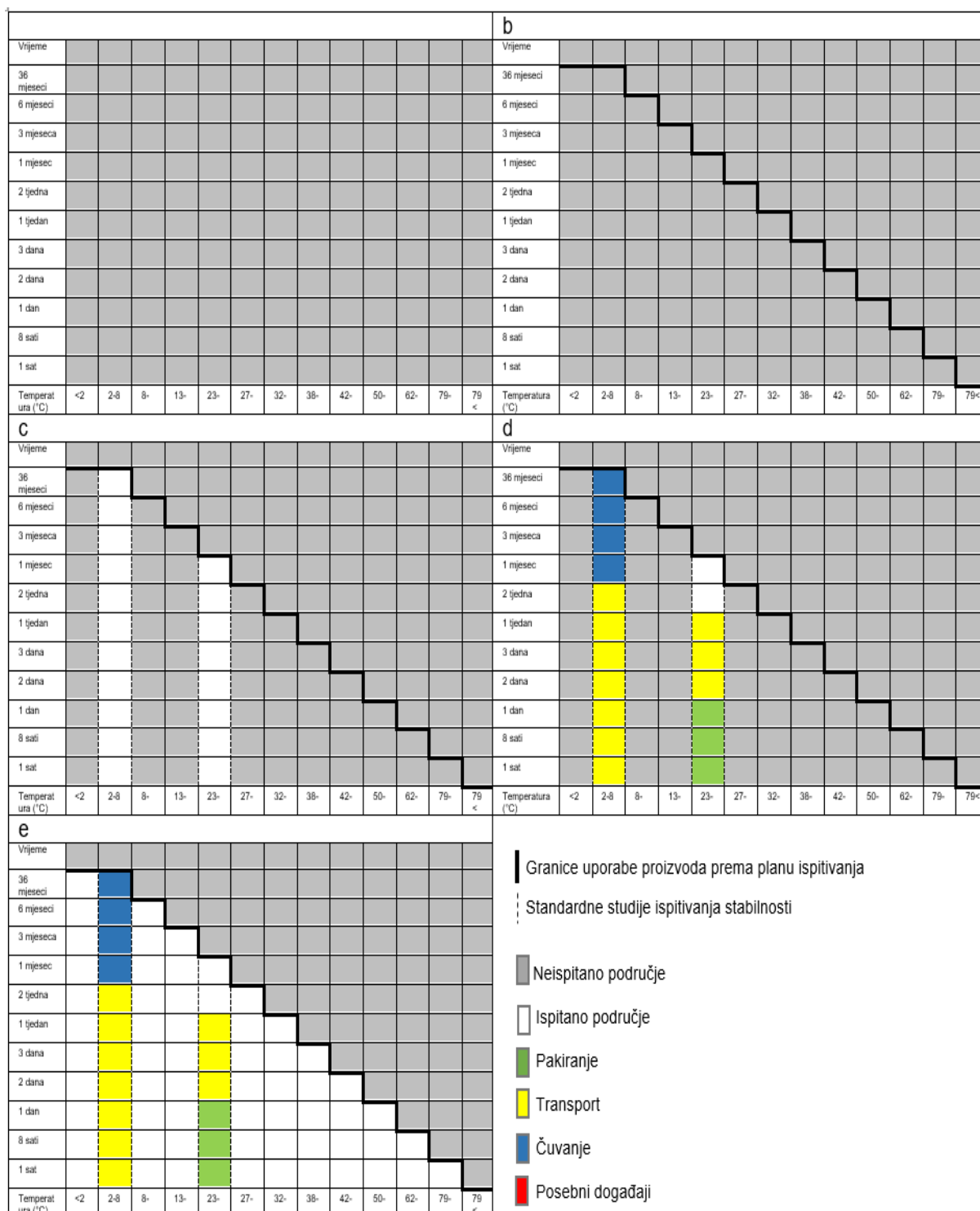
Osnovna informacija je odnos temperature i vremena. Fiksiranjem vremena koje je potrebno za određene standardne operacije smanjit će odstupanja na najmanju mjeru. Na primjer, vrlo je teško neke operacije napraviti u roku od sat vremena. Rukovanje serijom od nekoliko tisuća jedinica (npr. vađenje iz prostora za skladištenje, priprema za isporuku, utovar na kamion) traje barem sat vremena. Označavanje te iste serije lijeka na automatskoj mašini trajat će barem jednu smjenu ili više. Transport serije lijeka od jednog proizvodnog mjesta do distribucijskog centra u inozemstvu može trajati i nekoliko dana.

Sada je potrebno utvrditi temperature granice kojima lijek može biti izložen, a da pritom ne dođe do razgradnje iznad prihvatljive razine.

Na početku razvoja lijeka, znanje o stabilnosti je oskudno i zato je cijela slika siva (slika 18a). Definiranjem teorijske gornje granice stabilnosti lijeka, korištenjem matematičkog modela, dati će proizvođaču mogućnost da bolje razumije lijek i njegova svojstva. Podaci dobiveni iz ranih studija ispitivanja stabilnosti bit će od velike koristi za planiranje početne procjene. Kad se definiraju sigurnosne granice raspon u kojem se lijekom može sigurno rukovati može se jasnije definirati (slika 18b).

ICH/WHO smjernice daju preporuke o temperaturnim granicama za svaku vrstu ispitivanja stabilnosti:  $-20^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ ,  $+5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  (vidi sliku 18c). Proizvođač će sad imati bolji uvid u testirane granice i utvrditi kako najbolje organizirati operacije proizvodnje i transporta (slika 18d).

Dodatne studije trebaju se fokusirati na razjašnjavanje onih temperaturnih granica u kojima proizvođač treba provoditi transport i one kod kojih očekuje temperaturna odstupanja (slika 18e). Korištenjem standardnih vremenskih perioda potrebnih za obavljanje određenih operacija proizvođač može definirati parametre za provođenje testiranja. Lijek će biti stavljen na gornju temperaturu svakog raspona i bit će provedeno ispitivanje razgradnih produkata tijekom perioda vremena koji je utvrđen. Ukoliko su vrijednosti razgradnih produkata jednake ili manje u odnosu na gornju dopuštenu vrijednost, proizvođač može postaviti granice za prihvaćanje određenih temperaturnih odstupanja. Naravno, prilikom takve vrste ispitivanja potrebno je analizirati sve stabilitetno indikative parametre. Ovo je jedan od načina kako proizvođač može izgraditi znanje o stabilnosti pojedinog lijeka. Kada je set ispitivanja završen, podaci dobiveni iz studija mogu se koristiti u rješavanju temperaturnih odstupanja (53).



**Slika 18.** Primjer koji pokazuje kako izgraditi znanje o stabilnosti lijeka; a) na početku; b) s preliminarnim matematičkim modelom i definiranom sigurnosnom granicom; c) s programom stabilnosti ICH/WHO uvjeta; d) s planom pripreme i distribucije; e) s rezultatima cijelog niza studija ispitivanja stabilnosti (prilagođeno prema literaturnom navodu (53)).

### 3.7. Upravljanje temperaturnim odstupanjima

Kvaliteta lijekova uvelike ovisi o uvjetima skladištenja. Razlozi uzrokovani prirodom ili ljudskim nemarom mogu dovesti do nepoželjnih situacija kao što je temperaturno odstupanje. Najvažniji okolišni parametar koji ima najveći potencijalni utjecaj na kvalitetu lijeka zasigurno je temperatura (46).

Ukoliko se temperaturnim odstupanjima ne upravlja na ispravan način ona mogu imati značajan negativan utjecaj na kvalitetu lijeka. Postoji sve veća potreba za upravljanjem temperaturnim odstupanjima tijekom različitih operacija i ispitivanja njegovog utjecaja na kvalitetu lijeka. U eri pristupa kakvoći utemeljenoj kroz dizajn (engl. *Quality by Design, QbD*), velika se pažnja posvećuje kvaliteti koja je ugrađena u sam proizvod (46).

Koncept kakvoće utemeljene kroz dizajn (engl. *Quality by design, QbD*) (63, 64) podrazumijeva sustavni pristup razvoju koji započinje s unaprijed definiranim ciljevima i stavlja naglasak na razumijevanje procesa i proizvoda te kontrolu procesa, a temelji se na znanstvenim dokazima i upravljanju rizicima u kakvoći (65). Kakvoća predstavlja prikladnost djelatne tvari ili gotovog proizvoda za odgovarajuću namjenu. Pojam uključuje obilježja kao što su identitet, jačina i čistoća (66). ICH Q9 smjernica definira kakvoću kao stupanj do kojeg skup svojstvenih značajki proizvoda, sustava ili procesa udovoljava zahtjevima (67).

Proizvođač ima opsežno znanje o kritičnim proizvodima, procesnim parametrima i atributima kvalitete, te to znanje može primijeniti u analizi utjecaja temperaturnih odstupanja na kakvoću lijeka. Izlaganjem lijeka temperaturama i relativnoj vlažnosti izvan propisanih granica može dovesti do ubrzane razgradnje djelatne tvari lijeka i mikrobiološkog rasta (46).

Farmaceutska regulatorna tijela očekuju strogo pridržavanje zahtjeva dobre proizvođačke prakse (engl. *good manufacturing practice, GMP*) i dobre distribucijske prakse (engl. *good distribution practice, GDP*) tijekom proizvodnje i procesa distribucije lijeka. Zahtjevi GMPa i GDPa smatraju se sinonimima sustava kvalitete u farmaceutskom poslovanju (46).

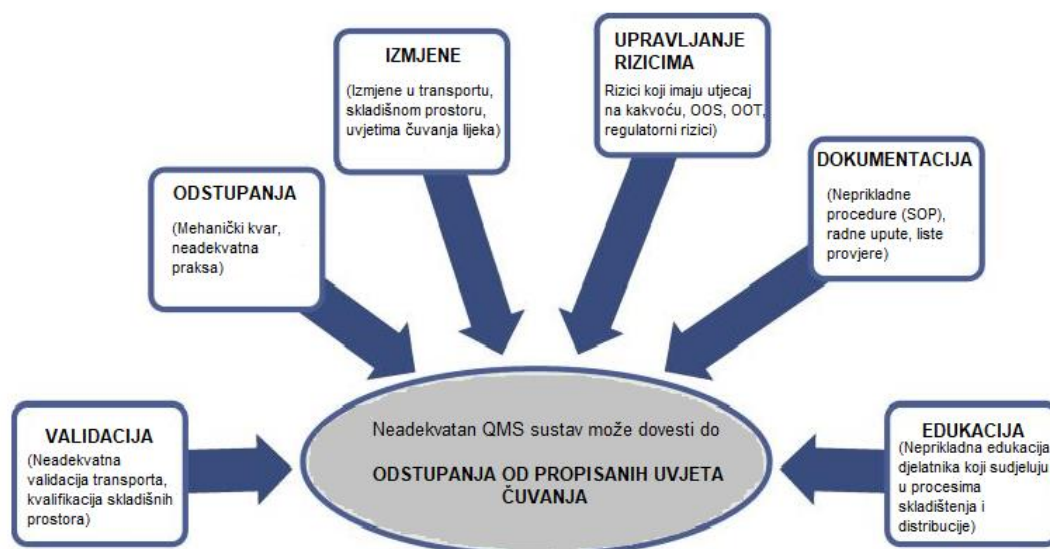
Temperaturna odstupanja mogu pojaviti tijekom bilo koje faze proizvodnje ili distribucije sirovine i lijeka što zahtjeva cjeloviti pristup temeljen na sustavu upravljanja kvalitetom i principima dobre proizvođačke i distribucijske prakse (46).

Kao dio sustava upravljanja kvalitetom (engl. *Quality Management System, QMS*), farmaceutska industrija je identificirala glavne elemente sustave kvalitete.

Neki od glavnih elemenata sustava upravljanja kvalitetom su:

- sustav upravljanja dokumentacijom i zapisima: organizacija mora imati uspostavljen sustav upravljanja dokumentacijom i zapisima koji proizlaze iz njih;
- kontrola odstupanja: incidenti koji dovode do odstupanja od dokumentiranih i odobrenih postupaka moraju biti dokumentirani, istraženi, te se mora utvrditi potencijalni utjecaj na kvalitetu proizvoda;
- upravljanje izmjenama: izmjene na odobrenom dizajnu, opremi ili sustavu u farmaceutskom postrojenju trebaju biti prikladno razmotrene i validirane;
- glavni validacijski plan (engl. *Validation Master Plan, VMP*): Glavni validacijski plan bi trebao izložiti filozofiju upravljanja, strategiju i opredjeljenje organizacije prema procesu validacije i kvalifikacije opreme;
- sustav upravljanja rizicima kvalitete (engl. *Quality Risk Management, QMR*): rizici koji mogu imati utjecaj na kvalitetu proizvoda moraju biti identificirani. Mora biti napravljena procjena kako bi se utvrdila ozbiljnost posljedica (engl. *Severity, S*), vjerojatnost pojavljivanja (engl. *Occurrence, O*) i vjerojatnost otkrivanja (engl. *Detectability, D*);
- edukacija i svijest: organizacija treba razviti i uspostaviti robustan sustav programa edukacije djelatnika uključenih u GMP/GDP operacije;
- sustav upravljanja reklamacijama: organizacija mora uspostaviti proceduru za zaprimanje reklamacija, evidencija i istraga svake reklamacije zaprimljene s tržišta kako bi se omogućilo implementiranje adekvatnih korektivnih i preventivnih mjera;
- upravljanje povlačenjem serija lijeka iz prometa itd.: mora postojati propisana procedura u slučaju povlačenja serije lijeka iz prometa (46).

Primijećeno je da neadekvatne komponente QMS sustava imaju direktan utjecaj na konzistentnost uvjeta skladištenja i prijevoza lijekova uzimajući u obzir parametre temperature i relativne vlažnosti (slika 19).



**Slika 19.** Neadekvatan QMS sustav može dovesti do odstupanja od propisanih uvjeta čuvanja (prilagođeno prema literaturnom navodu (46)).

Integrirani pristup sustavu upravljanja kvalitetom trebao bi uključivati i upravljanje temperaturnim odstupanjima.

Cjelokupni sustav upravljanja temperaturnim odstupanjima može biti opisan u sljedećim koracima:

(i) Razumijevanje temperaturnih odstupanja

Okolišni uvjeti tijekom farmaceutskog poslovanja definirani su temperaturom (T) i relativnom vlagom (RH). Praćenje temperature i relativne vlage od posebne je važnosti tijekom procesa proizvodnje naročiti kada su međuproizvodi izloženi okolišnim uvjetima. Tijekom procesa pakiranja temperaturni uvjeti se mjere, prate i kontroliraju. Bilo kakvo odstupanje u temperaturi ili relativnoj vlažnosti mora se detaljno istražiti, te je potrebno procijeniti utjecaj na kvalitetu lijeka (46).

Temperaturnim odstupanjem (engl. *Temperature excursion*) smatra se svako odstupanje u temperaturi od onog koje je propisano u uputi o lijeku u bilo kojem trajanju, a koje je zabilježeno bilo tijekom skladištenja, transporta ili distribucije. Ako se proizvod ili

međuproizvod izlože određenim okolišnim uvjetima izvan onih koji su propisani, dolazi do stvaranja razgradnih produkata. Takva razgradnja osim što ima negativan utjecaj na kvalitetu lijeka može imati i negativan utjecaj na sigurnost i zdravlje pacijenata (46).

(ii) Temperatura skladištenja i granice relativne vlažnosti

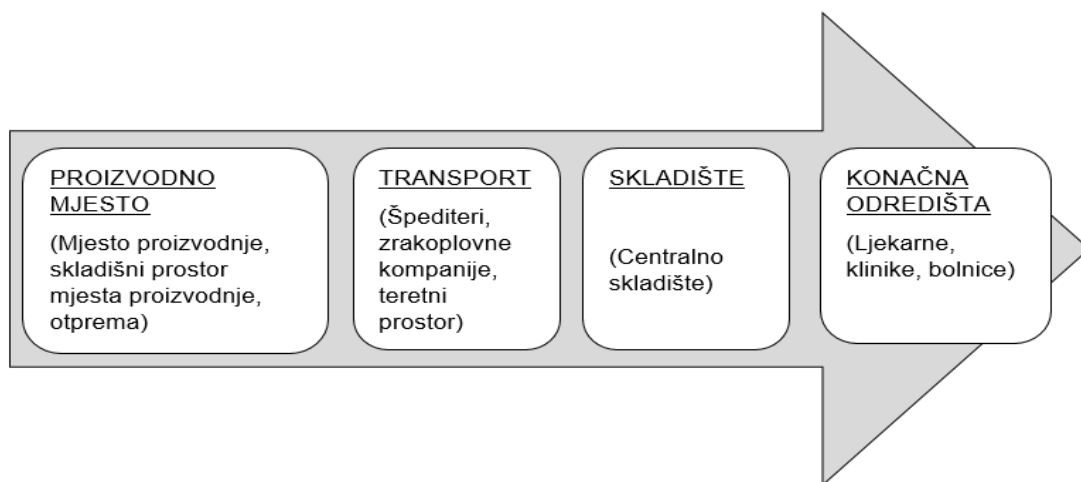
Trebaju biti propisani uvjeti temperature i relativne vlažnosti kod kojih se određeni proizvod mora čuvati i transportirati (uključujući i dostavu do krajnjeg korisnika, pacijenta), a koji se temelje na ispitivanjima stabilnosti. Primjerice, kod skladištenja i transporta lijekova u hladnom lancu (engl. *Cold Chain*) propisani uvjeti su 2°C do 8°C. Isto tako može biti propisana relativna vlažnost ispod 60% ili ispod 40% ovisno o higroskopnosti proizvoda (46).

(iii) Uređaji za mjerenje

Uređaji za mjerenje temperature i relativne vlage (popularno zvani *data loggeri*) mogu mjeriti temperaturu u unaprijed definiranim intervalima, podaci se mogu skinuti na računalo u svrhu sistematičnog pregleda, obrade, istrage i čuvanja zapisa. *Data loggere* je potrebno periodički umjeriti i potrebno je napraviti upgrade software-a kako bi se osiguralo točno i neometano mjerenje informacija o temperaturi i vlazi kod koje se lijekovi čuvaju/transportiraju. Osim toga potrebno je periodički provjeriti i očistiti senzor i poduzeti određene mjere kojima se sprječava blokada i oštećenje senzora. Kod umjeravanja preporuka je da se kao referentni uređaj koristi onaj koji ima veću točnost u odnosu na onog kojeg se provjerava. Senzori koji mjere temperaturu i relativnu vlagu trebali bi biti postavljeni na najtoplijoj točki utvrđenoj tijekom temperaturnog mapiranja određenog prostora (46).

(iv) Mjesta nastanka temperaturnih odstupanja

Kako bi se moglo dobro upravljati događajima povezanim uz temperaturna odstupanja, vrlo je važno poznavati sve kritične točke kod kojih može doći do temperaturnog odstupanja. Temperaturno odstupanje se ne mora dogoditi samo tijekom procesa proizvodnje ili tijekom transporta ili distribucije proizvoda, ono se može dogoditi i kod krajnjeg korisnika kao što su to ljekarne, bolnice i sl. (slika 20).



**Slika 20.** Mjesta na kojima može doći do temperaturnih odstupanja (prilagođeno prema literaturnom navodu (46)).

### 3.7.1. Razlozi temperaturnih odstupanja

U farmaceutskim pogonima kao i skladišnim prostorima propisane temperaturne uvjete osigurava i održava klima komora (engl. *Air Handling Unit*, AHU). Dizajn i kapacitet AHU odabire se na temelju volumena radnog prostora (46).

Temperaturna odstupanja tijekom proizvodnje nastaju uglavnom zbog sljedećih razloga:

- neadekvatan broj instaliranih AHU, čija je uloga održavanje propisanih temperaturnih uvjeta unutar proizvodnog/skladišnog prostora;
- curenje ili puknuća na cijevima za dovod zraka, koje kao rezultat može imati nedovoljan učinak hlađenja;
- mehaničko oštećenje na AHU, kao na primjer kvar;
- nestanak električne energije čime je onemogućen rad AHU;
- nedostaci u sustavu upravljanja kvalitetom i nedostatna primjena zahtjeva dobre proizvođačke prakse;
- nedovoljna svijest o posljedicama koje neadekvatno održavanje temperature može imati na kvalitetu lijeka;



- ekstremne klimatske promjene i zastario plan intervencija u slučaju nepredvidljivih temperaturnih oscilacija (46).

Uzroci temperaturnih odstupanja tijekom transporta mogu biti sljedeći:

- nepredvidivi zastoji tijekom transporta koji mogu za posljedicu imati neučinkovitu kontrolu i održavanje temperature unutar zadanih granica;
- paleta sa proizvodom je zadržana na vrućem mjestu na aerodromu;
- za transport nije angažirana hladnjača ili transportno vozilo s aktivnom regulacijom temperature;
- tvrtka zadužena za transport greškom tijekom transporta nije održavala zahtijevane temperaturne uvjete;
- prestanak napajanja električnom energijom zbog kratke dugotrajnosti baterija tijekom duljih putovanja;
- nerazumijevanje zahtjeva dobre distribucijske prakse među djelatnicima u lancu opskrbe i negativnom utjecaju odstupanja u temperaturi na kvalitetu lijeka (46).

### **3.7.2. Strategija i model upravljanja temperaturnim odstupanjima**

Mjere za sprječavanje temperaturnih odstupanja vrlo često mogu biti komplicirane jer se nikad ne može u potpunosti predvidjeti svaka situacija tijekom koje lijek može biti izložen temperaturnom odstupanju.

Upravljanje temperaturnim odstupanjima vrlo je važno posebice kod lijekova koji su osjetljivi na temperaturne uvjete izvan propisanih granica. Posebna pažnja treba se pridati mjerama sprječavanja temperaturnih odstupanja kako tijekom proizvodnog procesa tako i tijekom procesa distribucije (46).

U pogledu utvrđivanja značaja utjecaja odstupanja od propisanih okolišnih uvjeta na kvalitetu lijeka proizvođač mora utvrditi dokumentirani program upravljanja temperaturnim odstupanjima. Kao dio tog programa, potrebno je imati bazu podataka o uvjetima čuvanja lijekova i standardne operativne postupke.

➤ Razvoj baze podataka o uvjetima čuvanja lijekova

Da bi temperaturnim odstupanjima efikasno upravljalo potrebno je uspostaviti efikasno strateško planiranje, djelotvorno pakiranje lijeka kao i dokumentirane procedure. Razvoj baze podataka o uvjetima čuvanja lijekova vrlo je korisna kako bi mogli propisati standardne uvjete čuvanja i procjenu utjecaja temperaturnog odstupanja na kakvoću lijeka.

➤ Konfiguracije pakiranja za transport lijeka trebaju uključivati dodatnu toplinsku izolaciju i jasnu oznaku o prikladnim uvjetima transporta i čuvanja. Upozorenja o tome da treba izbjegavati čuvanje proizvoda izvan specificiranih uvjeta trebala bi pomoći osoblju koje sudjeluje u lancu opskrbe da zaštite kvalitetu lijeka. Uvjeti čuvanja moraju biti jasno vidljiva na vanjskom pakiranju lijeka (46).

Potrebno je uspostaviti i pridržavati se propisanih koraka unutar standardnih operativnih postupaka, te osigurati edukaciju svih zaposlenika koji sudjeluju u procesu skladištenja i distribucije lijekova:

- (i) odredbe iz tehničkog ugovora ili ugovora o kvaliteti trebale bi biti sadržane u standardnim operativnim postupcima. Tehnički ugovor ili ugovor o kvaliteti između proizvođača i distributera trebao bi jasno definirati odgovornost o obavještanju u slučaju odstupanja tijekom transporta, skladištenja i distribucijskog procesa. Ugovor između obiju strana trebao bi biti potpisan prije početka pružanja usluge.
- (ii) baza podataka o uvjetima skladištenja lijekova trebala bi biti dostupna svom osoblju koje obavlja određene poslove. U takvoj bazi podaci o uvjetima skladištenja lijekova moraju biti jasno naznačeni, a mjere predostrožnosti jasno istaknute na pakiranju lijeka.
- (iii) lista provjere integrirana u farmaceutski sustav kakvoće mora sadržavati provjeru statusa kvalificiranosti sljedećih sustava:
  - proizvodnog pogona sa posebnim naglaskom na sustave kontrole okolišnih uvjeta;
  - transportnih sustava (transportna vozila, kontejneri za transport itd.);
  - kvalifikacija skladišnih prostora;

- (iv) treba postojati procedura koji opisuje svaki kritični korak tijekom proizvodnje i distribucije, a tijekom kojeg može doći do temperaturnog odstupanja. Osoblje koje sudjeluje u tim operacijama mora biti adekvatno educirano. Ključno osoblje treba biti upoznato sa procedurom istrage i upravljanjem temperaturnim odstupanjima;
- (v) zapisi o temperaturnim odstupanjima i njihovom trajanju trebaju se redovito pregledavati kako bi se utvrdilo da li su odstupanja sistematično istražena;
- (vi) izvještaj o istrazi temperaturnog odstupanja treba biti poslan odgovornoj osobi ili mjestu proizvodnje lijeka;
- (vii) za svako temperaturno odstupanje potrebno je provesti analizu rizika s obzirom na utjecaj na kvalitetu lijeka i sigurnost pacijenata. Kao dio analize rizika potrebno je provesti analizu uzorka lijeka koji je bio izložen temperaturnom odstupanju istovremeno sa analizom kontrolnog uzorka (koji se čuva kod proizvođača) korištenjem validirane analitičke metode. Pri tome treba biti fokusiran na procjenu gubitka sadržaja aktivne komponente lijeka i povećanje razine onečišćenja u uzorku koji je bio izložen temperaturnom odstupanju;
- (viii) proizvođač treba imati dostupne rezultate ispitivanja stabilnosti na temelju kojih može provesti procjenu i obrazložiti da određeno temperaturno odstupanje nema utjecaj na kvalitetu lijeka. Studije ubrzane stabilnosti i studije smrzavanja/odmrzavanja relevantne su za procjenu utjecaja temperaturnog odstupanja na kvalitetu lijeka na znanstven način. Tipične studije smrzavanja/odmrzavanja obuhvaćaju procjenu utjecaja na kvalitetu lijeka uslijed čuvanja lijeka na ekstremno niskoj i visokoj temperaturi, kao što je  $-20^{\circ}\text{C}$  i  $+50^{\circ}\text{C}$  kroz vremensko razdoblje od 12 dana u višekratnim ciklusima, ovisno o predloženoj ruti transporta, duljini i vremenu trajanja transporta;
- (ix) statistički podaci o temperaturnim odstupanjima trebaju biti periodički pregledavani od strane profesionalca iz odjela kvalitete i u slučaju da se odstupanja pojavljuju na određenom postrojenju, određeni dio ili cijelo postrojenje trebalo bi biti podvrgnuti ponovnoj provjeri;

- (x) potrebno je poduzeti prikladne korektivne mjere kako bi se izbjeglo ponavljanje temperaturnih odstupanja, ukoliko ih je bilo (46).

Temperaturno odstupanje je općeniti pojam koji se koristi u slučaju odstupanja od propisanih uvjeta čuvanja. Temperaturnim odstupanjima potrebno pristupiti na način da se njima upravlja na cjelovit način, uzevši u obzir njihov utjecaj na sirovine na proizvodnom mjestu pa sve do gotovog lijeka u ljekarni i kod krajnjeg korisnika, pacijenta. Temperaturno odstupanje koje se dogodi u bilo kojoj fazi farmaceutskog poslovanja potrebno je što prije prijaviti kako bi se prikladno istražilo. Posljedice temperaturnog odstupanja moraju biti detaljno procijenjene na temelju relevantnih podataka od strana osoblja iz odjela kvalitete. Rizik od temperaturnih odstupanja nije moguće u potpunosti ukloniti, ali on može biti sveden na minimalnu mjeru uz pomoć efikasnog sustava upravljanja kakvoćom (46).

### **3.8. Pojava agregata i imunogenost**

Razvoj i proizvodnja bioloških lijekova je vrlo zahtjevna i zahtijeva nadilaženje mnogih prepreka u procesu proizvodnje kao što su problemi sa čistoćom bioloških lijekova.

Najčešća onečišćenja proteinskih lijekova uključuju onečišćenja vezana uz sam protein (npr. agregacija proteina, fragmentacija i kemijska degradacija) i onečišćenja koja nisu povezana sa samim lijekom, a to su onečišćenja vezana uz proces proizvodnje (kao što su ostaci iz procesa, proteini stanica domaćina/DNA i čestice kao što su kapljice silikonskih ulja, čestice stakla, dijelovi slojeva primarnog spremnika) kao i kemijska razgradnja pomoćnih tvari (52).

Proteini su velike molekule sa višestrukim aminokiselinskim bočnim lancima. Ti bočni lanci mogu dovesti do unutarmolekularnih interakcija, koje stabiliziraju terciarnu strukturu proteina i intermolekularnih interakcija koje su odgovorne za agregaciju proteina (8).

Agregacija proteina može uključivati kovalentne i nekovalentne interakcije. Djelomično razmotana molekula proteina sklona je agregaciji. Agregacija proteina u biološkim lijekovima može umanjiti djelotvornost lijeka i izazvati imunogenu reakciju organizma (8).

Štetni događaji mogu biti akutne prirode ili pak mogu imati dugoročne posljedice s obzirom da mogu prouzročiti neželjenu imunogeničnost, te time kompromitirati sigurnost i djelotvornost lijeka.

Agregacija i kemijske degradacije proteina pojačavaju imunogeničnu reakciju nakon primjene lijeka. Neutralizirajuća protutijela mogu smanjiti djelotvornost terapijskih proteina i ponekad stupiti u međusobnu reakciju sa esencijalnim endogenim proteinima što može dovesti do ozbiljnog štetnog događaja (52).

Fizikalne agregacije i kemijski degradacijski produkti mogu se pojaviti tijekom roka valjanosti lijeka pa čak i blagi stresni okolišni uvjeti mogu uzrokovati opsežno oštećenje molekule biološkog lijeka. Farmaceutska industrija je napravila velik napredak u procesu proizvodnje bioloških lijekova, a kumulativni rezultat tih napora je značajan napredak u poboljšanju i očuvanju kvalitete molekule proteina u svim fazama proizvodnje, čuvanja i transporta. Unatoč tim unaprjeđenjima, jednom kad je biološki lijek pušten u promet i isporučen od strane proizvođača postoji relativno mala kontrola nad mnogim faktorima koji mogu utjecati na strukturni integritet molekule lijeka i na okolišne uvjete pod kojima se čuvaju biološki lijekovi. Zbog nepropisnog rukovanja može doći do različitih vrsta oštećenja molekule biološkog lijeka. Rutinsko rukovanje biološkim lijekom u klinikama ili od strane pacijenta može dovesti do razgradnje koja ostaje nezabilježena ali potencijalno može ugroziti sigurnost i djelotvornost lijeka. Na primjer, tijekom pripreme biološkog lijeka koji u svom sastavu ima proteinske molekule, za intravensku primjenu, može doći do nastanka čestica uslijed stresnih radnji tijekom postupka pripreme lijeka (52).

Većina bioloških lijekova oblikuju se kao otopine za injekcije u napunjenoj štrcaljki koja je spremna za aplikaciju od strane pacijenata, to vrlo često podrazumijeva visoku koncentraciju proteina u otopini, što povećava sklonost agregaciji (68).

Osim toga uočena je varijabilnost biološkog lijeka i razlike između pojedinih dozirnih jedinica biološkog lijeka. Takve razlike mogu nastati uslijed nepreciznosti tijekom proizvodnog postupka ili pak uslijed izlaganja pojedine doze lijeka različitim nepovoljnim okolišnim uvjetima (8).

Sprječavanje pojave agregata bitan je pristup za smanjenje imunogenosti s obzirom da su agregati više imunogeni od topivih proteina, a teško ih je kontrolirati jer njihovoj pojavi doprinosi više faktora. Na pojavu agregata u gotovom lijeku utječe struktura samog terapijskog proteina te različiti oblici stresa, a različiti agregati istog terapijskog proteina čiji je nastanak izazvan različitim oblicima stresa mogu imati različit imunogeni potencijal. Isto tako na imunogenost izazvanu agregatima utječe broj, veličina i orijentacija epitopa. Iz aspekta kakvoće, prisutnost agregata se može smanjiti poboljšanjem formulacije, primjerice povećanjem topivosti, i smanjenim izlaganjem lijeka stresnim uvjetima, primjerice poboljšanjem uvjeta čuvanja lijeka (69).

Kod dizajniranja same molekule mogu se mutirati određene sekvence koje su pokazale sklonost agregaciji i degradaciji i koje time pridonose imunogenosti (70).

Problem kod uklanjanja regija koje su sklone agregaciji je činjenica da regije koje određuju komplementarnost (engl. *complementarity determining region*, CDR), koji je odgovoran za vezanje na antigen, sadrži i regije sklone agregaciji (69).

Svi egzogeni proteini mogu biti imunogeni. Kod terapijskih proteina učestalost stvaranja protutijela značajno se razlikuje ovisno o, primjerice, genetskoj podlozi bolesnika, vrsti bolesti, vrsti proteina, putu primjene lijeka, učestalosti doziranja i trajanju liječenja. Osim toga, tijekom proizvodnje, rukovanja i skladištenja može doći do kontaminacije ili promjene trodimenzionalne strukture proteina oksidacijom ili stvaranjem agregata što dodatno povećava rizik imunogene reakcije organizma (71).

Prijavljivanje nuspojava na lijek ne podrazumijeva samo identifikaciju i kvantifikaciju broja neočekivanih nuspojava nego i identifikaciju podskupina bolesnika koji su izloženi posebnom riziku, npr. riziku povezanom s popratnim bolestima, dobi, spolom i dozom. Nakon stavljanja lijeka u promet i dalje se kontinuirano prati sigurnost primjene, kako bi se osiguralo da odnos koristi i rizika primjene lijeka ostane prihvatljiv te kako bi se zdravstvenim djelatnicima prenijele odgovarajuće informacije (72). Spontano prijavljivanje nuspojava smatra se najvažnijim uporištem farmakovigilancije (73).

Male izmjene u formulaciji lijeka mogu imati značajan utjecaj na agregaciju proteina. Na primjer, lijek Omontys dolazi u dvije formulacije, jedna koja sadržava fenol kao konzervans, ima značajno višu razinu čestica agregiranih proteina nevidljivih golim okom nego ona koja nema fenol u svom sastavu. Drugi primjer je Roferon-A, gdje je nakon što je ljudski serumski albumin zamijenjen s tenzidom Polisorbat 80 dovelo do značajnog smanjenja agregacije proteina i imunogene reakcije kod pacijenata (8).

Agregacija proteina predstavlja velik izazov u kontroli kakvoće bioloških lijekova. Veličina agregata može značajno varirati od proizvoda do proizvoda, čak i unutar proizvoda iste skupine. Na primjer, običan inzulin (humani, svinjski ili goveđi), stvara male agregate u obliku dimera koji mogu izazvati stvaranje antiinzulinskih protutijela kod nekih pacijenata sa šećernom bolešću. Dok s druge strane, Lantus, dugodjelujući inzulin, stvara agregate veličine mikrona pri fiziološkoj pH vrijednosti. Široki raspon veličine agregata (od nm do  $\mu\text{m}$ ) predstavlja golem tehnički izazov u njihovoj detekciji i kvantifikaciji (8).

Problem je također to što pojava i udio agregata mogu varirati između pojedinog jediničnog pakiranja lijeka, kako u trenutku puštanja lijeka u promet, tako, pa čak i više u trenutku primjene lijeka. Razina proteinskih agregata unutar bočice nije stalna, već se ona može povećati tijekom vremena. U trenutku primjene lijeka razina agregata u nekim bočicama može premašivati specifikacijske granice, te time predstavljati potencijalnu opasnost za pacijente. Konačno, različiti pacijenti mogu imati različitu toleranciju prema proteinskim agregatima. Tako je već 1987. godine utvrđeno da inzulinski dimeri potiču stvaranje antiinzulinskih protutijela samo kod nekih, ali ne i kod svih pacijenata (8).

Proizvođači obično predviđaju određene stresove tijekom distribucije, te u formulaciju lijeka uvode određene pomoćne tvari koje stabiliziraju formulaciju. Na primjer  $\text{Zn}^{2+}$  je najčešće korišten u formulaciji inzulina koji stabilizira molekulu inzulina sprječavajući odmotavanje molekule izazvano pod utjecajem povišene temperature. Isto tako proizvođači bioloških lijekova mogu primijeniti i proteinski inženjering kako bi otklonili slabe točke u molekuli proteina. Na primjer, u neglikoliziranom ljudskom interferonu- $\beta$  (Betaseron i Extavia) aminokiselina Cys-

17 zamijenjena je sa Ser-17 kako bi se na najmanju mjeru svelo povezivanje disulfidnim vezama koje dovodi do agregacije (8).

Proizvođači provode ispitivanja stabilnosti u skladu sa smjernicom ICH Q1A kako bi dokazali da je lijek otporan na određene stresne okolišne uvjete. No, međutim proizvođač ima malu kontrolu nad cjelokupnim lancem distribucije, i studije ispitivanja stabilnosti provedene pod kontroliranim okolnostima ne mogu obuhvatiti sve moguće scenarije koji se mogu dogoditi nakon što lijek bude isporučen od strane proizvođača, a koji se mogu značajno razlikovati između jediničnih pakiranja lijeka. Jedinično pakiranje lijeka iste serije može biti isporučeno na različite lokacije, izdan u različitim bolnicama i ljekarnama i konačno primijenjen od različitih krajnjih korisnika, uključujući pacijente koji sami primjenjuju lijek.

Kombinacija visoke osjetljivosti lijeka i različite povijesti distribucije može dovesti do varijabilnosti između jediničnih pakiranja lijeka u trenutku primjene lijeka u odnosu na trenutak kad je taj isti bio pušten u promet od strane proizvođača u toj mjeri da više ne udovoljavaju specifikacijskim granicama (8).

Nedostatak može biti nevidljiv prostim okom (npr. agregati nevidljivi prostim okom). Bez kvantitativne kontrole kvalitete neispravnih pakiranja lijeka, neispravni lijek vrlo vjerojatno neće biti detektiran i biti će primijenjen kod pacijenta, te potencijalno prouzročiti štetan događaj u pojedinim slučajevima (8).

### **3.9. Izazovi u formulaciji cjepiva**

Generalni trend u formulaciji cjepiva jest da cjepiva sa živim antigenom i cjepiva sa oslabljenim antigenom ne sadržavaju adjuvanse, ali su puno osjetljiviji na povišenu temperaturu (13).

Živa oslabljena cjepiva vrlo često se formuliraju u obliku liofilizata u prisustvu složene mješavine pomoćnih tvari koje omogućavaju dugoročnu stabilnost tijekom skladištenja. Liofilizirana cjepiva zahtijevaju rekonstituciju sa otopinom za otapanje prije primjene. Živa oslabljena cjepiva osjetljiva su na povišenu temperaturu, kako tijekom dugoročnog skladištenja u liofiliziranom obliku, tako i nakon rekonstitucije prije primjene cjepiva. Iz tog razloga vrlo je važno održavanje hladnog lanca. Jedan vrlo izazovan primjer je cjepivo protiv varičele koje



kako bi se održala dugoročna stabilnost treba čuvati u zamrzivaču, a može izgubiti djelotvornost nakon kratkotrajnog čuvanja na hladnom (13).

Nereplicirajuća cjepiva vrlo često sadrže adjuvanse kako bi se pojačao imuni odgovor organizma. Takva cjepiva sadržavaju inaktivirane viruse i bakterije, pročišćene fragmente proteina i ugljikohidratne antigene i antigene rekombinantnih fragmenata proteina. S obzirom da se takva cjepiva ne repliciraju u organizmu, potrebno im je dodati adjuvanse koji potiču imuni odgovor organizma. U slučaju takvih cjepiva, s obzirom da izazivaju manji imunološki odgovor organizma, potrebno je provoditi docjepljivanje sa tri ili više injekcije u periodu od 6 mjeseci. Takva potreba za docjepljivanjem tijekom tako dugačkog vremenskog razdoblja predstavlja dodatan izazov u održavanju stabilnosti cjepiva (13).

Inaktivna cjepiva i cjepiva koja sadrže fragmente proteina općenito su stabilnija te se stoga često razvijaju kao tekuće formulacije. Međutim, takva cjepiva su vrlo osjetljiva na smrzavanje uslijed kojeg dolazi do gubitka potentnosti cjepiva.

Razvojem tehnologije rekombinantne DNA, omogućena je proizvodnja pojedine komponente velikih kompleksnih bakterija i virusa. U slučaju virusnih cjepiva, klonirani su površinski proteini, koji su potom izolirani. U nekim slučajevima površinski proteini formiraju virusu slične čestice (engl. *virus-like particles*, VLPs). VLP su dokazano djelotvorna cjepiva (na primjer, cjepivo za hepatitis B i humani papiloma virus). Monomeri površinskih proteina dobiveni tehnologijom rekombinantne DNA imaju obično slabu imunogenost, bez obzira što im se dodaju jaki adjuvansi (13).

VLP su obično vrlo stabilne čestice. Isto tako moguće je proizvesti membranske vezikule koje se nazivaju virusomi. Oni se proizvode genetičkim inženjerstvom u različitim tipovima stanica. S obzirom da virusomi sadrže lipidni dvosloj oni su manje stabilni u odnosu na VLP.

Od ostalih vrsta cjepiva treba spomenuti polisaharidna cjepiva, u formi slobodnih polisaharida ili kao konjugati sa različitim proteonukleusnim nosačima. Općenito se može reći da su velike tvorbe kao što su stanice bakterija i obavijeni virusi ograničene stabilnost zbog njihove kompleksne strukture i kompleksnosti interakcija. S druge pak strane mali i neobavijeni virusi, kao i VLP su često puno stabilniji (13).

Formulacija cjepiva mora biti takva da omogućava predvidivu stabilnost tijekom dugoročnog čuvanja i distribucije sve do trenutka primjene cjepiva.

Živa oslabljena virusna i bakterijska cjepiva su osjetljiva na povišenu temperaturu, te ih je vrlo često potrebno formulirati u obliku liofilizata kako bi održala svoju potentnost tijekom dugoročnog čuvanja i distribucije. Liofilizirana virusna i bakterijska cjepiva obično sadržavaju mješavinu oslabljenog virusa/bakterija i pomoćne tvari koje omogućuju uspješnu liofilizaciju, tvari koje stabiliziraju mikroorganizme i tvari koje osiguravaju farmaceutske značajke kao što je kompaktni liofilizirani kolač i brza rekonstitucija cjepiva (13).

Liofilizirano cjepivo se može čuvati mjesecima i godinama, te potom prije primjene mora biti rekonstituirano. Rekonstitucija podrazumijeva miješanje liofilizata s otapalom. Otapala za vakcine mogu se razlikovati po sastavu i volumenu, te su specifično dizajnirana kako bi udovoljili zahtjeve pH vrijednosti, volumena i kemijskih značajki svakog cjepiva pojedinačno (13).

Neka otapala sastoje se od sterilne vode, no neka u svom sastavu imaju tvari koje pomažu u otapanju liofiliziranih kolača, kao i stabilizatore (npr. fiziološka otopina) i/ili održavaju sterilnost rekonstituiranog cjepiva. Stabilnost rekonstituiranog cjepiva je obično ograničena na nekoliko sati ili se moraju koristiti odmah nakon rekonstitucije. Rekonstituirana cjepiva se moraju čuvati unutar propisanih uvjeta, obično je to na hladnom i zaštićeno od svjetlosti (13).

Iako je proces liofilizacije dao velike rezultate u razvoju živih, oslabljenih virusnih i bakterijskih cjepiva, većina tih cjepiva se i dalje mora čuvati na temperaturama između 2°C do 8°C ili nižim, što zahtijeva održavanje hladnog lanca kako bi se održala prihvatljiva dugoročna stabilnost.

Bolje razumijevanje na molekularnoj razini ili razumijevanje uzroka nestabilnosti virusa i bakterija trebalo bi rezultirati racionalnijim dizajnom stabilnijih formulacija cjepiva (13).

Dodatno, alternativne procesne metode kao što je sušenje raspršivanjem mogle bi doprinjeti stabilnosti cjepiva. Postoje i mnoge druge metode sušenja, za koje nema dovoljno literaturnih podataka da se koriste u svrhu formulacije cjepiva, ali se koriste u proizvodnji bioloških lijekova. Primjeri takvih metoda su: sušenje u vakuumu, sušenje superkritičnih tekućina, sušenje raspršivanjem i smrzavanjem.

Nereplicirajuća cjepiva kao što su inaktivirani virusi/bakterije, pročišćeni fragmenti proteina i ugljikohidratni antigeni, VLP itd. vrlo su često stabilni i formuliraju se u obliku otopina u staklenim bočicama i/ili napunjenim štrcaljkama. Cjepiva u obliku otopina sadržavaju različite komponente, pomoćne tvari, koje stabiliziraju antigene i preveniraju značajne konformacijske promjene tijekom vremena, a koje bi mogle dovesti do smanjenja potencije cjepiva. Ključni koraci su odabir optimalnog pufera, pH vrijednosti, ionske jakosti i drugih stabilizirajućih pomoćnih tvari kako bi se postigla uspješno stabilizirano cjepivo (13).

### **3.10. Izazovi kod rukovanja biološkim lijekom**

Postoji raskorak između razumijevanja farmaceutskih kompanija koje razvijaju biološki lijek i stresova kojima će taj lijek biti izložen nakon što će biti isporučen od strane proizvođača i razumijevanja krajnjeg korisnika o prikladnom i propisnom rukovanju takvim lijekovima i razlozima koji stoje iza takvih zahtjeva (52).

Biološki lijek može biti izložen različitim okolišnim stresnim faktorima tijekom rutinskog rukovanja i procedure primjene lijeka, te takvi postupci mogu imati različite utjecaje na stabilnost lijeka.

Biološki lijekovi formulirani za intravensku primjenu uobičajeno se pripremaju u bolničkim ljekarnama (npr. pripremanje otopine iz liofilizirane formulacije, uvlačenje u šprice, injektiranje u spremnike sa intravenskom tekućinom), te se zatim transportiraju do bolničkih odjela, čuvaju u privremenim spremištima i konačno primjenjuju kod pacijenata. Biološki lijekovi formulirani za supkutanu primjenu u ljekarni se predaju pacijentu koji transportira lijek u svoj dom i čuva ga (npr. u hladnjaku) do konačne subkutane primijene od strane samog pacijenta ili od strane zdravstvenog radnika. Farmaceut ili zdravstveni radnik u pravilu daje preporuke pacijentu o pravilnom čuvanju i uporabi takvog lijeka. Osim toga, pacijentu je dostupna uputa o lijeku u kojoj su opisani optimalni uvjeti čuvanja i uporabe lijeka (52).

Svaki ranije spomenuti korak, čak i kod strogog pridržavanja uputa, može molekule biološkog lijeka izložiti različitim stresovima koji mogu dovesti do degradacije i kontaminacije lijeka.

Kontaminanti (npr. celuloza, bakterije, virusi) ne bi smjeli biti prisutni u lijeku ili biti uneseni tijekom rutinskog rukovanja. Posebnu pozornost potrebno je obratiti tijekom prenošenja lijeka iz bočice u spremnik sa intravenskom tekućinom tijekom kojeg lijek može biti izložen vanjskim utjecajima. Postoji pomanjkanje propisanih procedura u vezi rukovanja biološkim lijekovima u bolničkim ljekarnama i odjelima u pogledu stabilnosti bioloških lijekova. Također postoji nedostatak kontrole nad neadekvatnim rukovanjem biološkim lijekovima od strane pacijenata tijekom primjene terapije kod kuće (52).

Na temelju opservacijskih studija provedenih u bolnicama pojedini autori su dokumentirali nekoliko incidenata tijekom procesa mučkanja i transporta lijeka do pacijenata, a koji mogu ugroziti kvalitetu biološkog lijeka. Na primjer, incidenti su uključivali snažno, energično mučkanje bočice koja je sadržavala tekuću formulaciju proteinskog lijeka što je imalo za posljedicu stvaranje pjene u bočici, zatim ponavljajuće povlačenje klipa štrcaljke naprijed-nazad što dovodi do stvaranja pjene u štrcaljki, neujednačen postupak injektiranja lijeka u spremnik s infuzijskom tekućinom, i manjak pažnje pri rukovanju sa spremnicima sa intravenskom tekućinom na bolničkim odjelima od strane medicinskog osoblja koje nije dovoljno osviješteno o sadržaju i utjecaju njihovog rukovanja na stabilnost lijeka. Isto tako potrebno je naglasiti i utjecaj nedostatnog održavanja kontinuiranog hladnog lanca (52).

Posebna zabrinutost povezana je uz biološke lijekove koji su dani za samoprimjenu od strane pacijenata. Znanstvena zajednica potaknula je to pitanje, te je objavljeno nekoliko publikacija koje izvještavaju o tome kako temperature u kućnim uvjetima često nisu u skladu sa propisanim zahtjevima. Općenito je puno teže doći do podataka o mnogim drugim stresnim faktorima i nije poznato postupaju sa lijekovima u smislu mehaničkih šokova, izloženosti svjetlu i kombinaciji različitih stresnih faktora (52).

Zabilježeni su određeni slučajevi koji upućuju na utjecaj neispravnih bioloških lijekova na pojavu nuspojava kod pacijenata (8):

Slučaj 1: Aplazija crvene krvne loze uzrokovana antieritropoetskim protutijelima (engl. *antierythropoietin antibody-mediated pure red cell aplasia, AEAB-mediated PRCA*)

Epoetin (engl. *recombinant human erythropoietin*, rhEPO) je eritropoetin dobiven tehnologijom rDNA iz kultura stanica sisavaca. Slične je strukture i identičnog slijeda aminokiselina kao ljudski eritropoetin te ima jednaku terapijsku ulogu u stimulaciji i regulaciji eritropoeze.

Formuliran je u obliku otopine za injekcije u napunjenoj štrcaljki. Kod pacijenata koji razvijaju antieritropoetinska protutijela javlja se životno ugrožavajuće stanje koje se naziva aplazija crvene krvne loze (engl. *pure red cell aplasia*, PRCA), te je kod nekih pacijenata bila potrebna transplantacija bubrega. PRCA je vrlo rijetko stanje i pojedinačni slučajevi smatraju se signalima za nuspojave, koje može dovesti do određenih ograničenja u distribuciji i uporabi lijeka. Nakon vala PRCA slučajeva na Tajlandu između 2004. i 2007. godine, provedena je studija u kojoj je ispitivana razina agregacije proteina u lijeku Eprex. Studija je utvrdila da je razina agregacije u svim jediničnim pakiranjima lijeka iz bolničkih ljekarni bila unutar specifikacijskih granica. Međutim u uzorcima lijeka iz maloprodajnih ljekarni u 27% ispitanih jediničnih pakiranja lijeka, nađena je razina agregacije koja je prelazila specifikacijske granice, dok je u uzorcima lijeka distribuiranog izvan legalnog lanca opskrbe taj udio bio čak 58%. Proizvođač lijeka je potom prekinuo prodaju Eprexa preko maloprodajnih ljekarni na Tajlandu. Razlog pojavi agregacije bilo je neadekvatno održavanje hladnog lanca.

Uzevši u obzir da je održavanje hladnog lanca vrlo izazovno razumljivo je da neadekvatno održavanje hladnog lanca može biti faktor koji doprinosi pojavi nuspojava kod primjene bioloških lijekova. U razdoblju od 2012. do 2013. godine prijavljeno je više slučajeva PRCA povezanih sa primjenom Eproxu u Singapuru, koji su uključivali i smrtne ishode. Taj incident je potaknuo lokalno regulatorno tijelo da kontraindicira supkutanu primjenu lijeka kod kroničnih bubrežnih bolesnika. Regulatorno tijelo Singapura objavilo je podsjetnik zdravstvenim radnicima kako su dužni osigurati čuvanje lijeka Eprex i ostalih eritropoetina pri temperaturi 2°C do 8°C (kako je navedeno u uputi o lijeku) i savjetovala pacijente o prikladnom čuvanju lijekova koji sadrže eritropoetine (8).

Slučaj 2: Povlačenje prepakiranog bevacizumaba iz prometa u USA

Bevacizumab je rekombinantno humanizirano monoklonsko protutijelo proizvedeno tehnologijom rDNA u stanicama jajnika kineskog hrčka. Bevacizumab je odobren za liječenje

karcinoma, no korišten je izvan odobrenih indikacija kod tretiranja određenih stanja na oku kao što su makularna degeneracija povezana sa starenjem i dijabetički makularni edem. U tu svrhu Bevacizumab je prepakiran u plastične štrcaljke i primijenjen putem intravitalnih injekcija.

2013. godine provedeno je povlačenje Bevacizumaba prepakiranog u ljekarnama sa američkog tržišta. Povlačenje iz prometa je zatraženo zbog prijava pacijenata koji su doživjeli gubitak vida nakon što su primili intravitalnu injekciju Bevacizumaba. Dodatnom istragom utvrđeno je da su neke štrcaljke prepakiranog Bevacizumaba sadržavale visoku razinu agregata (8).

Slučaj 3: Prekid kliničke studije biosimilara Epoetina u Aziji i Europi 2009. godine

2009. godine provedena je klinička studija na 89 kliničkih centara u Aziji i Europi sa sc. injekcijama biosimilara epoetina (HX575). Od 174 pacijenata koji su primili HX575, dvoje (1.1%) je razvilo antieritropoetinska protutijela. Od dvoje pacijenata jedan je razvio PRCA dok je kod jednog pacijenta zabilježen smrtni ishod uzrokovan infekcijom miokada. Zbog ta dva štetna događaja prekinuta je klinička studija. Bilo je potrebno 7 godina i višestruka ispitivanja kako bi se rasvijetlio cijeli slučaj. Naknadno objavljene studije pokazale su da je uzrok štetnih događaja bila kombinacija dvaju faktora: pacijenta i lijeka.

Na strani pacijenata, samo pacijenti koji su bili nosioci HLA alela razvili su antieritropoetinska protutijela. Na strani lijeka, pojedine štrcaljke HX575 preuzete sa klinika na kojima su se provodile studije imale su neobično visoku razinu epoetin agregata. Agregaciju eritropoetina u HX575 uzrokovale su čestice volframa zaostale u proizvodnji štrcaljki. Razina volframa razlikovala se od štrcaljke do štrcaljke, što objašnjava da se pojavnost epoetin agregata razlikovala od štrcaljke do štrcaljke. Osim toga, bilo je potrebno više od 6 mjeseci da se razina agregata povisi do značajne razine, što objašnjava zašto se nedostatak nije uočio prije puštanja lijeka u promet. U ovom primjeru došlo je do interakcije između djelatne tvari lijeka i materijala primarnog spremnika koje je dovelo do neispravnosti proizvoda u nekim ali ne i svim jediničnim pakiranjima lijeka (8).

#### Slučaj 4: Obustava stavljanja u promet cjepiva protiv gripe Flaud i posljedična panika u Italiji 2014. godine

U studenom 2014. godine, troje starijih osoba umrlo je unutar 48 sati nakon cijepljenja cjepivom protiv gripe Flaud. Talijanska agencija za lijekove zatražila je obustavu primjene i distribucije dviju serija tog cjepiva 27. studenog 2014. godine. Tjedan dana kasnije, EMA je isključila uzročno posljedičnu vezu između cijepljenja i prijavljenih smrtnih slučajeva. Četiri tjedna kasnije, 23. prosinca 2014. godine, temeljem negativnih toksikoloških rezultata i rezultata testa sterilnosti, dvije serije cjepiva ponovno su stavljene u promet.

Zbog velike medijske pažnje, obustava primjene i distribucije cjepiva protiv gripe izazvala je paniku u Italiji vezano uz cijepljenje. Smatra se da je procijepljenost u 2014. godini pala za 12%, što je mogući uzrok povećane smrtnosti od gripe za 9,1 % u 2015. godini.

Uzrok tri smrtna slučaja i dalje je nejasan. Slučajevi su možda zaista bili potpuna slučajnost i nije bilo nikakve povezanosti sa cijepljenjem.

Moguće je da je uzrok bio na strani pacijenata, te da pacijenti nisu bili prikladni za cijepljenje ili je razlog bio sam proizvod, da su tri bočice iz kojih su tri pacijenta bila cijepljena bile neispravne ili se radilo o kombinaciji obaju faktora. U nedostatku relevantnih podataka nije moguće sa sigurnošću donijeti relevantne zaključke, te se time produbljuje nepovjerenje javnosti prema cijepljenju (8).

Između 2004. i 2013. godine u Americi je postotak povlačenje bioloških lijekova iz prometa bio 2,7%, dok je za lijekove s kemijskom djelatnom tvari taj postotak bio 2,0% (8).

#### 4. RASPRAVA

U posljednja dva desetljeća biološki lijekovi postali su najbrže rastuća skupina lijekova zbog njihovog korisnog učinka u liječenju ozbiljnih i po život opasnih stanja i bolesti. Globalno tržište biološkim lijekovima u stalnom je porastu, te se predviđa ravnomjerni rast u sljedećih par godina što zbog povećanja broja novoodobrenih bioloških lijekova kao i sve većeg rasta kroničnih bolesti zbog starenja populacije.

Struktura molekule bioloških lijekova vrlo je složena te su stoga obično temperaturno osjetljivi i u većini slučajeva zahtijevaju čuvanje i prijevoz u hladnom lancu.

Proizvođač je odgovoran da je lijek koji isporučuje do pacijenata u skladu sa odobrenjem za stavljanje u promet. Transportni uvjeti moraju biti definirani i postavljeni na način da ne utječu na kakvoću lijeka. Ukoliko se radi o jako osjetljivom lijeku transport je potrebno provoditi pod temperaturnim uvjetima skladištenja lijeka. S druge strane, ukoliko se radi o lijeku koji nije podložan degradaciji kroz određeni period vremena na određenoj višoj temperaturi, u interesu je proizvođača da definira proširene uvjete transporta. Na primjer kod lijeka koji se mora čuvati pri temperaturi 2°C do 8°C, izabrani transportni uvjeti mogu biti 15°C do 25°C, čime je omogućeno da se lijek transportira pod uvjetima koje je lakše održavati. Rizik od temperaturnog odstupanja je smanjen bez povećanog rizika po pacijenta. Takva odluka proizvođača mora biti potkrijepljene rezultatima ispitivanja stabilnosti.

Napredak i razvoj bioloških lijekova donio je značajno povećanje znanja i razumijevanja utjecaja stresnih faktora na stabilnost proteinskih molekula. Sve je to rezultiralo implementacijom vrlo dobrih kontrola nad kritičnim parametrima stabilnosti tijekom proizvodnje i distribucije bioloških lijekova. Svakako je potrebno uložiti dodatan napor kako bi se unaprijedio posljednji korak u lancu opskrbe lijekom, dakle korak u kojem se lijekom rukuje prije same primjene od strane zdravstvenih radnika ili samog pacijenta.

Postoji potreba za provedbom i objavljivanjem većeg broja istraživanja kako bi se bolje razumio opseg i ozbiljnost posljedica koje su povezane sa post proizvodnim rukovanjem biološkim



lijekovima (za različite klase bioloških lijekova kao i za specifične lijekove kao što su monoklonska protutijela općenito, ali i specifično za pojedinu vrstu monoklonalnih protutijela). Studije bi trebale biti fokusirane na analizu koraka u rukovanju lijekom u cilju da se istaknu karakteristični okolišni stresni faktori u svakom koraku (kao i efekt kombinacija različitih stresnih faktora). Takve studije bi trebale istražiti širok opseg uobičajenih procedura za rukovanje lijekom od trenutka kad lijek stigne u bolnicu sve do trenutka primjene lijeka kod pacijenta.

Dodatno, analiza bi trebala obuhvatiti uvjete pod kojima se lijekom rukuje od strane pacijenata u situacijama kada se lijek primjenjuje od strane pacijenata.

Studije bi u idealnoj situaciji trebale dati odgovor na dva pitanja: (1) može li rukovanje lijekom nakon faze proizvodnje uzrokovati degradaciju proteina i u kojoj mjeri; (2) utječu li potencijalni nusprodukti razgradnje negativno na sigurnost i djelotvornost lijeka?

U cilju osiguranja sigurnosti i kvalitete bioloških lijekova tijekom rutinskog rukovanja u bolničkom okruženju potrebna je međusobna suradnja između liječnika, proizvođača i regulatornih tijela kako bi se bolje definirale smjernice o čuvanju, rekonstituciji (ukoliko je primjenjivo), prenošenja u infuzijske vrećice.

Posebne naljepnice na intravenskim vrećicama i štrcaljkama koje označavaju sadržaj biološkog lijeka omogućila bi osoblju koje dostavlja i medicinskom osoblju na bolničkom odjelu da jasno raspoznavanje prisutnosti biološkog lijeka te im pomoći da se sa takvim lijekovima prikladno rukuje u skladu sa smjernicama. Uvođenje takve vrste označavanja i obilježavanja može biti skupo i teško implementirati na globalnoj razini, no to se može sagledati na jednak način kao i smjernice za aseptičan rad koje su se pokazale vrlo efikasne u smanjenju udjela kontaminacije kod priprema sterilnih lijekova za primjenu kod pacijenta. Takav bi sustav mogao biti efikasan alat za uvođenje seta standarada sa minimalnim zahtjevima o rukovanju biološkim lijekovima koji bi s vremenom bili mjesta uštede zbog efikasnijeg liječenja s manje nuspojave.

Dodatno, trebalo bi raditi na edukaciji zdravstvenih radnika i pacijenata kako bi dobili potrebna specifična znanja. Potrebno je naglasiti da je svijest o potrebi za takvim edukacijama postala prepoznata kod upotrebe i primjene cjepiva. U tom slušaju poboljšana edukacija o pravilnom rukovanju cjepivima pokazala se učinkovitom.

Potrebno je uspostaviti dobru komunikaciju između kompanija koje razvijaju biološke lijekove i bolničkih farmaceuta kako bi kompanije koje razvijaju lijekove bolje razumjele stvarne uvjete i način rukovanja njihovim lijekom. Uloženi napor za uspostavljanje takve vrste komunikacije moglo bi biti koristan proizvođačima. Razmatranja povezana uz izloženost stresovima ili kombinaciji različitih stresova kojim je lijek izložen tijekom rukovanja proizvođači mogu uključiti u *in-use* studije ispitivanja stabilnosti u procesu razvoja lijeka. Takva praksa omogućila bi identifikaciju glavnih faktora rizika i mogla bi dovesti do stavljanja naglaska na kritične stresne faktore u smjernicama za farmaceute i pacijente (52).

Zajednički tehnički dokument (engl. *Common Technical Document*, CTD) u dijelu kakvoće sadrži poglavlje „kompatibilnost“ (engl. *Compatibility*), sekcija 3.2.P.2.6 koja daje relativno općenite smjernice i nije nužno usmjerena na stvarne uvjete kojima je lijek izložen u bolničkom okruženju ili kod pacijenta (74).

Dodatno, poznato je da velika skupina pacijenata krivo tumači upute o lijeku, uopće ne čita upute ili zaboravlja na usmene upute dobivene od strane zdravstvenih radnika. Upravo iz tog razloga najveće napore bi trebalo uložiti u iznalaženje novih i učinkovitih načina kojima bi se dobio uvid u stvarno rukovanje biološkim lijekovima kao i edukacijama i informiranju farmaceuta, zdravstvenih radnika i pacijenata. Potrebno je podići svijest sa primjerima iz prakse i izvještajima o stvarnim slučajevima.

Moderne tehnologije mogu biti od neprocjenjivog značaja s jedne strane u svrhu prikupljanja i dokumentiranja podataka o uvjetima pod kojima se lijek čuva jednom kad se isporuči do

krajnjeg korisnika, a s druge pak strane kako bi se razvili puno efikasniji edukacijski materijali za edukaciju krajnjih korisnika lijeka.

Primjerice, moguća je uporaba senzora koji bilježe okolišne uvjete kojima je lijek izložen, na primjer temperaturu, izloženost svjetlu i kretnje (mućkanje).

Video materijali snimljeni u bolničkim ljekarnama i kod pacijenata dala bi korisne sadržaje i informacije o koracima kod pripreme i primjene lijeka.

Takvi alati, kao i implementacija vizualnih oznaka, piktograma, ili kratkih pisanih instrukcija kao što su „čuvati od pada“, „ne ostavljati na sunčevom svjetlu“, „ne mućkati“, mogu pomoći u razvijanju svijesti pacijenata i krajnjih korisnika da su biološki lijekovi vrlo osjetljivi, te njima treba rukovati s posebnom pažnjom (52).

## 5. ZAKLJUČAK

Napredak u razvoju bioloških lijekova u posljednja dva desetljeća donio je značajan rast znanja i razumijevanja utjecaja različitih faktora stresa na stabilnost što je rezultiralo dobrom kontrolom kritičnih parametara stabilnosti tijekom proizvodnje i distribucije bioloških lijekova.

Proizvođači bi trebali razumjeti posljedice temperaturnih odstupanja tijekom skladištenja i transporta bioloških lijekova od mjesta proizvodnje do pacijenata. Temperaturna odstupanja uočena u bilo kojoj fazi farmaceutskog poslovanja trebaju biti prijavljena i prikladno istražena. Proizvođači bi trebali procijeniti jesu li raspoloživi podaci o stabilnosti dovoljni za rješavanje potencijalnih temperaturnih odstupanja. Ako to nije slučaj, trebali bi razmotriti pokretanje dodatnih studija stabilnosti koje podržavaju odluku o puštanju serije lijeka u promet u slučaju temperaturnih odstupanja koja nemaju utjecaj na kvalitetu lijeka.

Potrebno je uložiti dodatne napore u shvaćanju stresnih faktora kako u tijeku prijevoza tako i u fazi primjene biološkog lijeka, u bolničkom okruženju i kod pacijenta i njihovog utjecaja na kakvoću biološkog lijeka, a kako bi se poboljšala situacija u sigurnijoj i učinkovitijoj primjeni biološkog lijeka, što je u interesu svih zainteresiranih strana uključujući proizvođače, zdravstvene ustanove, regulatorna tijela i prije svega pacijenata.

## 6. LITERATURA

- 1) Zakon o lijekovima. Narodne novine, broj: 76/2013; 90/2014.  
Dostupno na: [http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013\\_06\\_76\\_1522.html](http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_76_1522.html).  
Datum pristupa: 15.11.2018.
- 2) Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Biološki i bioslični lijekovi.  
Dostupno na: <http://www.almp.hr/Lijekovi/Informacije-o-lijekovima/Bioloski-i-bioslicni-lijekovi/>. Datum pristupa: 15.11.2018.
- 3) Walsh G. Pharmaceutical Biotechnology: Concepts and Applications. John Wiley & Sons Ltd; 2007, str. 37-54.
- 4) Amgen Inc.: Biologics and biosimilars - An overview.  
Dostupno na: [https://www.amgenbiosimilars.com/pdfs/pages-from-amgen-biosimiliars-booklet\\_e-version-final.pdf](https://www.amgenbiosimilars.com/pdfs/pages-from-amgen-biosimiliars-booklet_e-version-final.pdf). Datum pristupa: 15.11.2018.
- 5) Sekhon BS, Saluja V. Biosimilars - an overview. Biosimilars 2011; 1:1-11.
- 6) ICH. Quality of Biologics. 2011. Dostupno na:  
[https://www.ema.europa.eu/documents/presentation/presentation-quality-biologics-kowid-ho-afssaps\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/presentation/presentation-quality-biologics-kowid-ho-afssaps_en.pdf). Datum pristupa: 10.12.2018.
- 7) EuropaBio: Guide to Biological Medicines – A focus on Biosimilar Medicines.  
Dostupno na: <https://www.yumpu.com/en/document/view/19037346/guide-to-biological-medicines-a-focus-on-biosimilar-europabio>. Datum pristupa: 16.11.2018.
- 8) Yihua Bruce Yu, Marc B. Taraban, Weizhen Wang, Katharine T. Briggs. Improving Biopharmaceutical Safety through Verification-Based Quality Control. Trends in Biotechnology, December 2017, Vol. 35, No. 12.
- 9) Taylor and Francis Group. Journals: Therapeutic monoclonal antibodies approved or in review in the European Union or the United States. Dostupna na:  
<http://www.tandf.co.uk/journals/pdf/announcements/kmab-antibodies.pdf>. Datum pristupa: 14.12.2018.
- 10) Reichert J. Antibodies to watch in 2017. mAbs 2017;2: 167-181.

- 11) Franziska Sörtl, Jonathan Derix, Patrick Garidel, Michaela Blech, Dennis Breitsprecher. Analysis of formulation-dependent colloidal and conformational stability of monoclonal antibodies. NanoTemper Technologies. 2016. Dostupno na: <http://www.mstechno.co.jp/techno/docs/applications/prometheus/Application%20Note%20NT-PR-005%20-%20mAb%20Aggregation.pdf>. Datum pristupa: 31.12.2018.
- 12) Liu J. The history of monoclonal antibody development – progress, remaining challenges and future innovations. Annals of Medicine and Surgery 2014;3:113-116.
- 13) Ozan S. Kumru, Sangeeta B. Joshi, Dawn E. Smith, C. Russell Middaugh, Ted Prusik, David B. Volkin. Vaccine instability in the cold chain: Mechanisms, analysis and formulation strategies. Biologicals 2014;42:237-259.
- 14) Biologics Market Latest Research and New Development 2018 to 2022. Dostupno na: <https://www.finanzen.ch/nachrichten/aktien/biologics-market-latest-research-and-new-development-2018-to-2022-1027498509>. Datum pristupa: 09.12.2018.
- 15) European Medicines Agency (EMA): Product information-YESCARTA. Dostupno na: [https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/yescarta-epar-product-information\\_hr.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/yescarta-epar-product-information_hr.pdf). Datum pristupa: 14.12.2018.
- 16) European Medicines Agency (EMA): Product information- Kymriah. Dostupno na: [https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/kymriah-epar-product-information\\_hr.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/kymriah-epar-product-information_hr.pdf). Datum pristupa: 14.12.2018.
- 17) Mark Lipowicz. Biopharma cold-chain market forecast. Pharmaceutical Commerce. 2018. Dostupno na: <http://pharmaceuticalcommerce.com/cold-chain-focus/biopharma-cold-chain-market-forecast/>. Datum pristupa: 09.12.2018.
- 18) European Generic and Biosimilar medicines Association (EGA): Biosimilars handbook. Dostupno na: [https://www.medicinesforeurope.com/wp-content/uploads/2016/03/EGA\\_BIOSIMILARS\\_handbook\\_en.pdf](https://www.medicinesforeurope.com/wp-content/uploads/2016/03/EGA_BIOSIMILARS_handbook_en.pdf). Datum pristupa: 09.12.2018.

- 19) Jae Geun Song, Sang Hoon Lee, Hyo-Kyung Han. The stabilization of biopharmaceuticals: current understanding and future perspectives. Journal of Pharmaceutical Investigation 2017;47:475–496.
- 20) Cold Chain Technologies Smart solution. Choosing the Right Passive Thermal Packaging Solution. White Paper. 2016.
- Dostupno na: [http://www.coldchaintech.com/pdf/Choosing\\_the\\_Right\\_Passive\\_Thermal%20Packaging\\_Solution\\_White\\_Paper.pdf](http://www.coldchaintech.com/pdf/Choosing_the_Right_Passive_Thermal%20Packaging_Solution_White_Paper.pdf). Datum pristupa: 09.12.2018.
- 21) GaBI Online - Generics and Biosimilars Initiative. Dostupno na: <http://gabionline.net/Reports/Biologicals-dominate-Europe-s-best-sellers>. Pristupano: 16.12.2018.
- 22) Pravilnik o dobroj praksi u prometu lijekova, davanju dozvola za promet na veliko lijekovima, davanju dozvola za posredovanje lijekovima i davanju potvrde o dobroj praksi u prometu lijekovima na veliko. Narodne novine, broj 83/2013.
- Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013\\_07\\_83\\_1800.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_07_83_1800.html). Datum pristupa: 15.11.2018.
- 23) European Commission: Guidelines on Good Distribution Practice of medicinal products for human use 2013/C 343/01, November 2013.
- 24) ECA Academy. „Ambient”, "Room Temperature", "Cold " - what is what?. 2018.
- Dostupno na: <https://www.gmp-compliance.org/gmp-news/ambient-room-temperature-cold-what-is-what>. Datum pristupa: 14.12.2018.
- 25) Maas & Peither GMP Publishing. Storage conditions.
- Dostupno na: [http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24C-Storage-conditions?docId=docs/24c.html&alias=GMPPract\\_24\\_C\\_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree](http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24C-Storage-conditions?docId=docs/24c.html&alias=GMPPract_24_C_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree). Datum pristupa: 24.11.2018.

- 26) Deliver in collaboration with World Health Organization. Guidelines for the Storage of Essential Medicines and Other Health Commodities.2003. Dostupno na: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s4885e/s4885e.pdf>. Datum pristupa: 14.12.2018.
- 27) European Medicines Agency (EMA), Committee for Human Medicinal Products (CHMP): Guideline on Declaration of Storage Conditions: a: In the Product Information of Medicinal Products b: For Active Substances, Annex to Note for Guidance on Stability Testing of New Drug Substances and Products, Annex to Note for Guidance on Stability Testing of Existing Active Substances and Related Finished Products, CPMP/QWP/609/96/Rev 2, 2007.
- Dostupno na: [https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/guideline-declaration-storage-conditions\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/guideline-declaration-storage-conditions_en.pdf). Datum pristupa: 16.11.2018.
- 28) European Commission (EC): Volume 4, EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use; Part 1; Chapter 3: Premises and Equipment, August 2014.
- Dostupno na: [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/chapter\\_3.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/chapter_3.pdf). Datum pristupa: 02.01.2019.
- 29) World Health Organisation WHO. Design and procurement of storage facilities. Technical supplement to WHO Technical Report Series, No. 961, 2011: Annex 9: Model guidance for the storage and transport of time and temperature-sensitive pharmaceutical products. August 2014.
- Dostupno na: [http://www.who.int/biologicals/expert\\_committee/Supplement-2\\_TS-warehouse-design-ECSP-ECBS.pdf](http://www.who.int/biologicals/expert_committee/Supplement-2_TS-warehouse-design-ECSP-ECBS.pdf). Datum pristupa: 21.11.2018.
- 30) Arguo, GMP Blog, Od URS-a do kvalificirane hladne komore. Veljača 2016.
- Dostupno na: <http://www.arguo.hr/tekstovi/kako-napisati-dobar-urs-83/>. Datum pristupa: 21.11.2018.
- 31) World Health Organisation WHO. QAS/14.598 Supplement 6 Temperature and humidity monitoring systems for fixed storage areas Technical supplement to WHO Technical



Report Series, No. 961, 2011 Annex 9: Model guidance for the storage and transport of time and temperature-sensitive pharmaceutical products August 2014.

Dostupno na: [http://www.who.int/biologicals/expert\\_committee/Supplement-6-TS-temp-monitoring-ECSP-ECBS.pdf](http://www.who.int/biologicals/expert_committee/Supplement-6-TS-temp-monitoring-ECSP-ECBS.pdf). Datum pristupa: 21.11.2018.

32) GMP Compliance Advisor. Qualification of a cold-storage facility. Dostupno na:

[http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24E-Qualification-of-a-cold-storage-facility?docId=docs/24e.html&alias=GMPPract\\_24\\_E\\_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree](http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24E-Qualification-of-a-cold-storage-facility?docId=docs/24e.html&alias=GMPPract_24_E_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree). Datum pristupa:

29.12.2018.

33) GMP Compliance Advisor. Qualification in accordance with V-Model.

Dostupno na: [http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24E-Qualification-of-a-cold-storage-facility/24E4-Case-study-Qualification-of-a-new-cold-storage-facility?docId=docs/24e\\_004.html&alias=GMPPract\\_24\\_E\\_4\\_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&pos=&from=tree](http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24E-Qualification-of-a-cold-storage-facility/24E4-Case-study-Qualification-of-a-new-cold-storage-facility?docId=docs/24e_004.html&alias=GMPPract_24_E_4_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&pos=&from=tree). Datum pristupa: 28.12.2018.

34) World Health Organisation WHO Technical Report Series, No.961, Annex 9, Model guidance for the storage and transport of time- and temperature - sensitive pharmaceutical products. 2011.

Dostupno na:

[http://www.who.int/medicines/areas/quality\\_safety/quality\\_assurance/ModelGuidanceForStorageTransportTRS961Annex9.pdf](http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/ModelGuidanceForStorageTransportTRS961Annex9.pdf). Datum pristupa: 16.11.2018.

35) GMP Compliance Advisor. Transport conditions. Dostupno na:

[http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24I-Transport-conditions?docId=docs/24i.html&alias=GMPPract\\_24\\_I\\_EndAli&activeToolBarTab=do](http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24I-Transport-conditions?docId=docs/24i.html&alias=GMPPract_24_I_EndAli&activeToolBarTab=do)

- [cument&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree](#). Datum pristupa: 29.12.2018.
- 36) International Air Transport Association, IATA. Time and temperature sensitive products labels. Dostupno na: <https://www.iata.org/publications/store/Pages/time-temperature-labels.aspx>. Datum pristupa: 09.12.2018
- 37) GMP Compliance Advisor. Transport vehicles and transport packaging. Dostupno na: [http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24J-Transport-vehicles-and-transport-packaging?docId=docs/24j.html&alias=GMPPract\\_24\\_J\\_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree](http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24J-Transport-vehicles-and-transport-packaging?docId=docs/24j.html&alias=GMPPract_24_J_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree). Datum pristupa: 29.12.2018.
- 38) World Health Organisation WHO. Supplement 12. Temperature-controlled transport operations by road and air. Technical supplement to WHO Technical Report Series, No. 961, 2011. Annex 9: Model guidance for the storage and transport of time- and temperature-sensitive pharmaceutical products. May 2015. Dostupno na: [https://www.who.int/medicines/areas/quality\\_safety/quality\\_assurance/supplement\\_12.pdf?ua=1](https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/supplement_12.pdf?ua=1). Datum pristupa: 29.12.2018.
- 39) GMP Compliance Advisor. Qualification of passive insulation boxes. Dostupno na: [http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24O-Qualification-of-passive-insulation-boxes?docId=docs/24o.html&alias=GMPPract\\_24\\_O\\_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree](http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24O-Qualification-of-passive-insulation-boxes?docId=docs/24o.html&alias=GMPPract_24_O_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree). Datum pristupa: 30.12.2018.
- 40) World Health Organisation WHO. Supplement 8 Temperature mapping of storage areas Technical supplement to WHO Technical Report Series, No. 961, 2011 May 2015 Annex

9: Model guidance for the storage and transport of time- and temperature-sensitive pharmaceutical products.

Dostupno na:

[http://www.who.int/medicines/areas/quality\\_safety/quality\\_assurance/supplement\\_8.pdf](http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/supplement_8.pdf). Datum pristupa: 21.11.2018.

41) World Health Organisation WHO. Supplement 7 Qualification of temperature-controlled storage areas Technical supplement to WHO Technical Report Series, No. 961, 2011 Annex 9: Model guidance for the storage and transport of time- and temperature-sensitive pharmaceutical products. August 2014.

Dostupno na: [https://www.who.int/biologicals/expert\\_committee/Supplement-7-TS-qualification-storage-areas-ECSP-ECBS.pdf](https://www.who.int/biologicals/expert_committee/Supplement-7-TS-qualification-storage-areas-ECSP-ECBS.pdf). Datum pristupa: 29.12.2018.

42) The United States Pharmacopeial Convention: The United States Pharmacopeia 2018. USP 41-NF36. Volume V:7120-7133.

43) Arguo, GMP Blog, Mapirate li redovito?, 2014.

Dostupno na: <http://www.arguo.hr/tekstovi/mapirate-li-redovito-100/>. Datum pristupa: 21.11.2018.

44) Rod Garcia. Understanding Temperature Mapping. PharmOut. 2014.

Dostupno na: <https://www.pharmout.net/understanding-temperature-mapping/>. Datum pristupa: 21.11.2018.

45) GMP Compliance Advisor. Qualification of large-scale active systems (trailers).

Dostupno na: [http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24N-Qualification-of-large-scale-active-systemstrailers?docId=docs/24n.html&alias=GMPPract\\_24\\_N\\_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree](http://www.gmpcadviser.com/showdoc/GMP-MANUAL/GMP-Practice/24-Storage-and-Transportation/24N-Qualification-of-large-scale-active-systemstrailers?docId=docs/24n.html&alias=GMPPract_24_N_EndAli&activeToolBarTab=document&startSite=false&fdl=false&event=navigation&from=tree). Datum pristupa: 30.12.2018.

46) Nirmal Kumar, Ajeya Jha. Temperature excursion management: A novel approach of quality system in pharmaceutical industry. Saudi Pharmaceutical Journal 2017;25:176-183.

- 47) ICH Harmonized Tripartite Guideline prepared within the International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use ICH Q5C, Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products, 1995.
- Dostupno na: [https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q5C/Step4/Q5C\\_Guideline.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q5C/Step4/Q5C_Guideline.pdf). Datum pristupa: 16.11.2018.
- 48) European Commission (EC): Volume 4, EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use; Annex 15: Qualification and Validation, March 2015.
- Dostupno na: [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/2015-10\\_annex15.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/2015-10_annex15.pdf). Datum pristupa: 15.11.2018.
- 49) Department of Health and Human Services. Office of Inspector General. Daniel R. Levinson Inspector General. Vaccines for Children Program: Vulnerabilities in Vaccine Management. June 2012 OEI-04-10-00430.
- 50) World Health Organisation WHO, UNICEF. Vaccine vial monitor (VVM) assignments for different WHO-prequalified vaccines and their proper handling. Information Bulletin. (2014). Dostupno na: [https://www.who.int/immunization/programmes\\_systems/service\\_delivery/EN\\_Information\\_Bulletin\\_VVM\\_assignments.pdf](https://www.who.int/immunization/programmes_systems/service_delivery/EN_Information_Bulletin_VVM_assignments.pdf). Datum pristupa: 27.12.2018.
- 51) WHO Vaccine Management Handbook. Module VMH-E2-01.1. WHO/IVB/15.04. How to monitor temperatures in the Vaccine Supply Chain. 2015.
- 52) M. Reza Nejadnik, Theodore W. Randolph, David B. Volkin, Christian Schoneich, John F. Carpenter, Daan J.A. Crommelin, Wim Jiskoot. Postproduction Handling and Administration of Protein Pharmaceuticals and Potential Instability Issues. Journal of Pharmaceutical Sciences 2018;107:2013-2019.

- 53) Claude Ammann. Stability Studies Needed to Define the Handling and Transport Conditions of Sensitive Pharmaceutical or Biotechnological Products. AAPS PharmSciTech, Vol 12 number 4, December 2011.
- 54) ICH Harmonized Tripartite Guideline prepared within the International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q1A (R2), Stability testing of new drug substances and products, 2003.
- Dostupno na: [https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q1A\\_R2/Step4/Q1A\\_R2\\_Guideline.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1A_R2/Step4/Q1A_R2_Guideline.pdf). Datum pristupa:16.11.2018.
- 55) Claude Ammann, Handling Temperature Excursions and the Role of Stability Data. Pharmaceutical Outsourcing, 2013.
- Dostupno na: <https://www.pharmoutsourcing.com/Featured-Articles/146648-Handling-Temperature-Excursions-and-the-Role-of-Stability-Data/>. Datum pristupa: 16.11.2018.
- 56) World Health Organisation WHO Technical Report Series, No. 953: Annex 2 Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products. 2009.
- Dostupno na: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19133en/s19133en.pdf>. Datum pristupa: 16.11.2018.
- 57) ICH Harmonized Tripartite Guideline prepared within the International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use ICH Q1B, Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products, 1996.
- Dostupno na: [https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q1B/Step4/Q1B\\_Guideline.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1B/Step4/Q1B_Guideline.pdf). Datum pristupa: 16.11.2018.
- 58) The United States Pharmacopeial Convention: The United States Pharmacopeia 2018. USP 41-NF36. Volume IV:6546-6553.

- 59) The United States Pharmacopeial Convention: The United States Pharmacopeia 2018. USP 41-NF36. Volume IV:6554-6598.
- 60) The United States Pharmacopeial Convention: The United States Pharmacopeia 2018. USP 41-NF36. Volume V:7331-7336.
- 61) The United States Pharmacopeial Convention: The United States Pharmacopeia 2018. USP 41-NF36. Volume V:7540-7544.
- 62) Arguo, GMP Indeks. Q&A. Što je srednja kinetička temperatura i kada se koristi?  
Dostupno na: <http://www.arguo.hr/tekstovi/gmp-index-q-i-a-74/>. Datum pristupa: 21.11.2018.
- 63) Juran, JM. Juran on Quality by Design: The New Steps for Planning Quality into Goods and Services. Free Press; 1992.
- 64) Pojmovnik regulatornih kratica i akronima. Available at: <http://www.farmaceut.org/ona/sezkcije/sezkcija-za-farmaceutskureglativu/pojmovnik-regulatornih-kratica-i-akronima-glossary-of-regulatoryabbreviations-and-acronyms>. Datum pristupa: 16.11.2018.
- 65) ICH Harmonized Tripartite Guideline prepared within the International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q 8 (R2) Pharmaceutical Development; 2009. Dostupno na: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q8\\_R1/Step4/Q8\\_R2\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q8_R1/Step4/Q8_R2_Guideline.pdf). Datum pristupa: 16.11.2018.
- 66) ICH Harmonized Tripartite Guideline prepared within the International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q 6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances;1999.  
Dostupno na: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf). Datum pristupa: 16.11.2018.

- 67) ICH Harmonized Tripartite Guideline prepared within the International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q9 Quality Risk Management; 2005. Available at: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q9/Step4/Q9\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q9/Step4/Q9_Guideline.pdf). Datum pristupa: 16.11.2018.
- 68) R&D. Stability of Biologics at High Concentrations. 2014. Dostupno na: <https://www.rdmag.com/article/2014/01/stability-biologics-high-concentrations>. Datum pristupa: 14.12.2018.
- 69) Singh S. Impact of product-related factors on immunogenicity of biotherapeutics. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2011;100:354–387.
- 70) Chirino A, Ary M, Marshall S. Minimizing the immunogenicity of protein therapeutics. *Drug Discovery Today* 2004;9:82-90.
- 71) Schellekens H. Immunogenicity of Therapeutic Proteins: Clinical Implications and Future Prospects. *Clin Ther* 2002;24:1720-1740.
- 72) Talbot J., Waller P. Steven's Detection of New Adverse Drug Reactions, Chapter 1 Introduction, pp1-2, 5th ed. 2004.
- 73) Waller PC., Evans SJW. A model for the future conduct of pharmacovigilance. *Pharmacoepidemiol Drug Safety* 2003;12:17-29.
- 74) Harmonized Tripartite Guideline prepared within the International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH Harmonised Tripartite Guideline: The Common Technical Document for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Quality – M4Q(R1) Quality overall Summary of Module 2 Module 3 : Quality. 2002.
- Dostupno na:  
[https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/CTD/M4\\_R1\\_Quality/M4Q\\_R1\\_.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/CTD/M4_R1_Quality/M4Q_R1_.pdf). Datum pristupa: 16.11.2018.

## Popis skraćenica

|               |                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AHU           | Klima komora (engl. <i>Air Handling Unit</i> )                                                                                                                                                                                        |
| ASTM          | Američko društvo za testiranje i materijale (engl. <i>American Society for Testing and Materials</i> )                                                                                                                                |
| API           | Djelatna tvar (engl. <i>Active Pharmaceutical Ingredient</i> )                                                                                                                                                                        |
| CDR           | Regija koja određuje komplementarnost (engl. <i>complementarity determining region</i> )                                                                                                                                              |
| CFR           | engl. <i>Code of Federal Register</i>                                                                                                                                                                                                 |
| CTD           | Zajednički tehnički dokument (engl. <i>Common Technical Document</i> )                                                                                                                                                                |
| D             | Vjerojatnost otkrivanja (engl. <i>Detectability</i> )                                                                                                                                                                                 |
| DNA           | Deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>Deoxyribonucleic acid</i> )                                                                                                                                                                   |
| DQ            | Kvalifikacija dizajna (engl. <i>Design Qualification</i> )                                                                                                                                                                            |
| DTaP-HepB-IPV | Difterija, tetanus, hripavac, hepatitis B i inaktivirani poliovirus (kombinirano cjepivo) (engl. <i>diphtheria, tetanus toxoid, acellular pertussis, hepatitis B and inactivated poliovirus</i> )                                     |
| DTwP-HepB-Hib | Difterija, tetanus, cjelostanično cjepivo protiv hripavca, hepatitis B i Haemophilus influenzae B kombinirano cjepivo (engl. <i>diphtheria, tetanus toxoid, whole cell pertussis, hepatitis B and Haemophilus influenzae type B</i> ) |
| EMA           | Europska agencija za lijekove (engl. <i>European Medicines Agency</i> )                                                                                                                                                               |
| EU            | Europska unija (engl. <i>European Union</i> )                                                                                                                                                                                         |
| FDA           | Američka agencija za hranu i lijekove (engl. <i>Food and Drug Administration</i> )                                                                                                                                                    |
| FMEA          | Kvantitativna metoda analize rizika (engl. <i>Failure Mode Effects Analysis</i> )                                                                                                                                                     |
| GAMP          | Dobra automatizacijska proizvođačka praksa (engl. <i>Good automated manufacturing practice</i> )                                                                                                                                      |
| GDP           | Dobra distribucijska praksa (engl. <i>Good Distribution Practice</i> )                                                                                                                                                                |
| GMP           | Dobra proizvođačka praksa (engl. <i>Good Manufacturing Practice</i> )                                                                                                                                                                 |
| HALMED        | Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode                                                                                                                                                                                  |
| HLA           | Ljudski leukocitni antigen (engl. <i>human leukocyte antigen</i> )                                                                                                                                                                    |
| HPLC          | Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. <i>High Performance Liquid Chromatography</i> )                                                                                                                                |



|          |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| HVAC     | Sustav grijanja, ventilacije i klimatizacije (engl. <i>Heating, ventilation, and air conditioning</i> )                                                                                                                                                              |
| IATA     | Međunarodno udruženje zračnih prijevoznika (engl. <i>International Air Transport Association</i> )                                                                                                                                                                   |
| ICH      | Međunarodna konferencija o usklađivanju tehničkih zahtjeva za lijekove (engl. <i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use</i> , skraćeno <i>International Council for Harmonisation</i> ) |
| IQ       | Kvalifikacija instalacija (engl. <i>Installation Qualification</i> )                                                                                                                                                                                                 |
| ISTA     | Međunarodno udruženje za siguran transport (engl. <i>International Safe Transit Association</i> )                                                                                                                                                                    |
| JP       | Japanska farmakopeja (engl. <i>Japanese Pharmacopoeia</i> )                                                                                                                                                                                                          |
| mAbs     | Monoklonska protutijela (engl. <i>Monoclonal Antibodies</i> )                                                                                                                                                                                                        |
| MKT      | Srednja kinetička temperatura (engl. <i>Mean Kinetic Temperature</i> )                                                                                                                                                                                               |
| MMRV     | Ospice, mumps, rubeola, varičela (kombinirano cjepivo) (engl. <i>Measles, Mumps, Rubella and Varicella</i> )                                                                                                                                                         |
| O        | Vjerojatnost pojavljivanja (engl. <i>Occurrence</i> )                                                                                                                                                                                                                |
| OQ       | Kvalifikacija operacija (engl. <i>Operational Qualification</i> )                                                                                                                                                                                                    |
| Ph. Eur. | Europska farmakopeja (engl. <i>European Pharmacopoeia</i> )                                                                                                                                                                                                          |
| PQ       | Kvalifikacija rada (engl. <i>Performance Qualification</i> )                                                                                                                                                                                                         |
| PRCA     | Aplazija crvene krvne loze (engl. <i>pure red cell aplasia</i> )                                                                                                                                                                                                     |
| PU       | Poliuretani (engl. <i>Polyurethane</i> )                                                                                                                                                                                                                             |
| QbD      | Kakvoća utemeljena kroz dizajn (engl. <i>Quality by Design</i> )                                                                                                                                                                                                     |
| QMR      | Upravljanje rizicima kakvoće (engl. <i>Quality Risk Management</i> )                                                                                                                                                                                                 |
| QMS      | Sustav upravljanja kakvoćom (engl. <i>Quality Management System</i> )                                                                                                                                                                                                |
| rDNA     | Rekombinantna deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>Recombinant deoxyribonucleic acid</i> )                                                                                                                                                                        |
| RF       | Radiofrekvencija (engl. <i>Radio frequency</i> )                                                                                                                                                                                                                     |
| RH       | Relativna vlažnost (engl. <i>relative humidity</i> )                                                                                                                                                                                                                 |
| RPN      | Prioritetni broj rizika (engl. <i>risk priority number</i> )                                                                                                                                                                                                         |
| S        | Ozbiljnost posljedica (engl. <i>Severity</i> )                                                                                                                                                                                                                       |
| SMS      | Kratka tekstualna poruka (engl. <i>Short Message Service</i> )                                                                                                                                                                                                       |

|     |                                                                             |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------|
| URS | Korisnička specifikacija (engl. <i>User Requirements Specification</i> )    |
| USP | Američka farmakopeja (engl. <i>The United States Pharmacopeia</i> )         |
| VLP | Virusu slične čestice (engl. <i>Virus like particles</i> )                  |
| VMP | Glavni validacijski plan (engl. <i>Validation Master Plan</i> )             |
| VVM | Monitor bočice cjepiva (engl. <i>Vaccine Vial Monitors</i> )                |
| WHO | Svjetska zdravstvena organizacija (engl. <i>World Health Organisation</i> ) |