

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России)

Утверждено
решением Ученого совета
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России
«31» октября 2023 г. (протокол № 6)

Руководство
по доклинической и клинической разработке препаратов, применяемых для
лечения и профилактике гриппа

ИСПОЛНИТЕЛИ

Ответственный исполнитель: Губенко А.И., заместитель директора Центра экспертизы и контроля ГЛС ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, канд. мед. наук.

Исполнители: Иванова О.Ю., заместитель начальника управления № 1 по эффективности и безопасности ЛС Центра экспертизы и контроля ГЛС.

СОДЕРЖАНИЕ

1 ВВЕДЕНИЕ	388
2 ПЕРЕЧЕНЬ ТЕРМИНОВ И СОКРАЩЕНИЙ	389
ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ	393
ЦЕЛЬ	393
1 Общие подходы	393
2 Доклиническая разработка	393
2.1 Общие рекомендации	393
2.2 Изучение противовирусной активности <i>in vitro</i>	394
2.3 Изучение противовирусной активности <i>in vivo</i>	395
3 Клиническая разработка препаратов для профилактики гриппа	395
3.1 Клиническая разработка препаратов для профилактики гриппа	395
3.1.1 Дизайн исследований	395
3.1.2 Популяция исследования	396
3.1.3 Критерии включения	396
3.1.4 Конечные точки эффективности	397
3.1.5 Процедуры и сроки оценки	398
3.1.6 Клинические исследования препаратов для профилактики	398
4 Клиническая разработка препаратов для лечения гриппа	401
4.1 Этапы клинической разработки	401
4.2 Популяция для исследования	402
4.3 Рекомендации по оценке эффективности	403
4.4 Рекомендации по оценке безопасности	405
5 Рекомендации по оценке эффективности в клинических исследованиях III фазы	405
5.1 Дизайн	405
5.2 Популяция пациентов	407
5.3 Критерии включения	407
5.4 Слепление	408
5.5 Выбор дозы и пути введения	408
5.6 Конечные точки эффективности	409
5.7 Процедуры и сроки их проведения	411
5.8 Статистические рекомендации для исследований III фазы	413
6 Другие рекомендации	413
6.1 Рекомендации по изучению фармакокинетики и фармакодинамики	413
6.1.2 Фармакодинамика	414
6.1.3 Моделирование	414

6.2 Рекомендации по доклиническому изучению.....	415
7 СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ	416

1 ВВЕДЕНИЕ

Грипп и другие острые респираторные вирусные инфекции – самые массовые и распространенные болезни человека. Они составляют более 90% всей инфекционной заболеваемости. Особое место в группе ОРВИ занимает грипп. Его особое место среди всех других инфекционных болезней человека обусловлено способностью вируса к антигенной изменчивости, что определяет высокую восприимчивость населения [1].

Эпидемии гриппа оказывают неблагоприятное влияние на смертность населения. Осложненные формы гриппа являются одной из основных причин смерти в мире. Тяжесть эпидемий гриппа всегда коррелирует с увеличением смертности населения от соматических болезней [2]. По данным ВОЗ, каждый год во время вспышек гриппа в мире заболевает до 15% населения и 250-500 тыс. из них умирают. Подсчитано, что в среднем ежегодно гриппом заболевает каждый десятый взрослый и каждый третий ребенок. При этом наряду с легкой и среднетяжелыми формами, заканчивающимися выздоровлением, у части больных возникают осложнения, приводящие к летальному исходу. Каждая вспышка гриппа наносит существенный ущерб здоровью населения и экономике соответствующего региона и страны [1].

Начиная с 2020 года профилактические меры, принятые для борьбы с COVID-19, привели к значительному снижению циркуляции вирусов сезонного гриппа человека, поскольку вирус гриппа передается через аналогичные механизмы, как и вирус SARS-CoV-2 [3]. Однако по мере снятия ограничений, вирус гриппа возвращается в человеческую популяцию, и существуют опасения по поводу ситуации «двойной пандемии» и даже «тридемии», когда вирус гриппа, SARS-CoV-2 и респираторно-синцитиальный вирус (РС - вирус) циркулируют одновременно [4].

Это объясняется тем, что наш иммунитет успел «забыть» эти инфекции, естественная защита от них ослабла. В настоящее время можно говорить об «иммунном долге», так как в течение нескольких последних лет мы меньше встречались с возбудителями гриппа, ОРВИ в силу повышенных профилактических мер [5].

Таким образом, в настоящее время мы вновь сталкиваемся (и даже в большей степени чем ранее) с необходимостью разработки эффективных препаратов для лечения и профилактики гриппа

В настоящее время существует множество препаратов для терапии заболеваний, вызванных вирусом гриппа, однако они не всегда оказываются эффективными ввиду высокой изменчивости вируса гриппа и дальнейшего возникновения резистентности к таким препаратам. В связи с чем разработка новых препаратов для лечения заболеваний, вызванных вирусом гриппа, является актуальной проблемой.

В данной главе руководства рассматриваются вопросы доклинической и клинической разработки лекарственных препаратов (ЛП) для лечения гриппа. Приведенные рекомендации отражают современные международные и российские регуляторные требования и составлены с учетом текущих научных и клинических знаний по обсуждаемой проблематике.

2 ПЕРЕЧЕНЬ ТЕРМИНОВ И СОКРАЩЕНИЙ

В настоящем Руководстве применяют следующие термины с соответствующими определениями.

- | | |
|---|---|
| Безопасность лекарственного препарата (соотношение «польза – риск») | - оценка положительных терапевтических эффектов лекарственного препарата по отношению к рискам, связанным с его применением (понятие риска включает в себя любой риск, связанный с качеством, безопасностью или эффективностью лекарственного препарата по отношению к здоровью пациента или населения) |
| Доклинические (неклинические) исследования | - химическое, физическое, биологическое, микробиологическое, фармакологическое, токсикологическое и другие виды экспериментального исследования или серия исследований по изучению вещества (лекарственного средства) путем применения научных методов оценок в целях изучения специфического действия и (или) доказательств безопасности для здоровья человека |
| Исследуемый лекарственный препарат | - лекарственный препарат, который в клиническом исследовании подвергается испытанию или применяется в качестве сравнения, включая плацебо, в том числе зарегистрированный лекарственный препарат в случае, если способ его применения отличается от утвержденного, а также при его применении по новому показанию или для получения дополнительной информации по утвержденному показанию |
| Клиническое исследование (испытание) | - клиническое изучение, удовлетворяющее хотя бы одному из следующих условий: назначение субъекту исследования конкретной терапевтической стратегии (вмешательства) происходит заранее и не является рутинной клинической практикой в вовлеченном в исследование государстве – члене Союза; решение о назначении исследуемого лекарственного препарата принимается совместно с решением о включении субъекта в клиническое изучение; субъектам исследования помимо процедур рутинной клинической практики выполняются дополнительные процедуры диагностики или мониторинга (в рамках инспектирования международными организациями понятию соответствует термин «clinical study») |

Лекарственный препарат	- лекарственное средство в виде лекарственной формы
Лекарственное средство	- средство, представляющее собой или содержащее вещество или комбинацию веществ, вступающее в контакт с организмом человека, предназначенное для лечения, профилактики заболеваний человека или восстановления, коррекции или изменения его физиологических функций посредством фармакологического, иммунологического либо метаболического воздействия или для диагностики заболеваний и состояний человека
Лекарственная форма	- состояние лекарственного препарата, соответствующее способам его введения и применения и обеспечивающее достижение необходимого эффекта
Многоцентровое клиническое исследование	- клиническое исследование, проводимое по единому протоколу более чем в одном исследовательском центре и, соответственно, более чем одним исследователем
Нежелательное явление	- любое неблагоприятное изменение в состоянии здоровья пациента или субъекта клинического исследования (испытания), которому назначался лекарственный (исследуемый) препарат, независимо от причинно-следственной связи с его применением
Применение «вне инструкции» (off-label)	- намеренное применение лекарственного препарата с медицинской целью не в соответствии с общей характеристикой лекарственного препарата или инструкцией по медицинскому применению
Протокол клинического исследования	- документ, описывающий цели, дизайн, методологию, статистические методы и организацию исследования. Помимо этого протокол обычно содержит полученные ранее данные и обоснование исследования, однако эта информация может быть представлена и в других документах, на которые ссылается протокол исследования, а также иную необходимую информацию
Регистрационное досье	- комплект документов (в том числе заявление) установленного содержания, в соответствии с правилами регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, утверждаемыми Евразийской экономической комиссией, представляемый для проведения процедур, связанных с

- Экстраполяция
- Эффективность лекарственного препарата
- регистрацией, подтверждением регистрации (перерегистрацией) лекарственного препарата
 - способ получения информации о будущих данных на основании имеющихся данных
 - совокупность характеристик, обеспечивающих достижение профилактического, диагностического или лечебного эффекта либо восстановление, коррекцию или модификацию физиологической функции

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящем Руководстве применяют следующие сокращения и обозначения.

ЕАЭС	- Евразийский экономический союз
ЕС	- Европейский союз
КИ	- клинические исследования
ЛП	- лекарственный препарат
НИР	- научно-исследовательская работа
ОРВИ	- острая респираторная вирусная инфекция
ОТ-ПЦР	- полимеразная цепная реакция обратной транскрипции
РНК	- рибонуклеиновая кислота
США	- Соединенные штаты Америки
COVID-19 -	- Corona Virus Disease 2019 (коронавирусная инфекция 2019 года)
EMA	- Европейское агентство по лекарственным средствам
FDA	- Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Соединенных Штатов Америки
SARS-CoV-2	- severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (тяжелый острый респираторный синдром вызванный коронавирусом 2)

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Общие рекомендации данного документа по проведению доклинических и клинических исследований (КИ) в большинстве случаев могут быть применимы для оценки ЛП для лечения и профилактики гриппа.

ЦЕЛЬ

Представлены подходы к формированию досье ЛП для лечения и профилактики гриппа в рамках первоначальной заявки на получение разрешения на проведение КИ, позволяющие провести должную оценку отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения ЛП. Описана стратегия программы доклинической и клинической разработки ЛП, регуляторные требования к объему и качеству данных по эффективности и безопасности, необходимых для последующей регистрации исследуемого ЛП.

1 Общие подходы

Эффективность ЛП для лечения и профилактики гриппа оценивается в КИ, которые проводятся в период официальной регистрации заболеваемости гриппом. Однако ЛП, эффективный при лечении заболевания, вызванного вирусом сезонного гриппа может быть неэффективным или не достаточно эффективным в случае, если заболевание вызвано вирусом пандемического гриппа, или при возникновении спорадических случаев, вызванных другими новыми штаммами. Кроме того, изменения в сезонных штаммах, в том числе появление резистентности, могут со временем снижать эффективность ЛП. Таким образом, информацию о потенциальных различиях в восприимчивости к лекарственному средству (ЛС) у штаммов или подтипов вируса, включая новые штаммы, выделенные от человека, следует изучать путем сбора и оценки дополнительной информации, полученной в исследованиях на клеточных культурах и животных, а также путем сбора и анализа клинических данных, когда это возможно.

Ввиду последствий эпидемии и пандемии гриппа для общественного здоровья, изменчивого характера заболевания, ограничений в возможных методах терапии и трудностей в изучении новых, большой интерес представляют новые подходы к разработке ЛС для лечения и профилактики гриппа [6].

2 Доклиническая разработка

2.1 Общие рекомендации

Перед началом КИ разработчики ЛП должны изучить механизм действия и противовирусную активность потенциального ЛС для лечения гриппа, с использованием нескольких типов, подтипов и штаммов вируса гриппа, полученных от человека с клиническими симптомами заболевания, или животных, которые могут служить источниками для новых клинических штаммов. Для потенциального ЛС для лечения гриппа с механизмом действия, отличным от прямого противовирусного действия, разработчики ЛП должны проводить исследования на культуре клеток, биохимические и генетические исследования в дополнение к исследованиям токсичности на животных (например, использование нокаутных мышей, исследования связывания с рецептором и анализ гомологичности аминокислотной последовательности). Различные предлагаемые механизмы действия ЛП могут влиять на виды исследований, которые необходимы для изучения соотношения «польза-риск» (например, возможное влияние

иммуномодулирующих ЛС на течение заболевания у пациентов с ранее существовавшими нарушениями иммунного статуса).

Хотя лечение гриппа обычно является краткосрочным, а профилактический прием препарата обычно продолжается не более нескольких недель, возможность назначения нескольких курсов лечения и профилактики в период регистрации заболеваемости гриппом, должна учитываться при определении характера и длительности доклинических исследований по изучению безопасности. Например, при назначении ЛП краткосрочными неповторяющимися курсами, долгосрочные исследования канцерогенности на грызунах как правило не требуются. Если, препарат показан для профилактики гриппа, целесообразно провести исследования канцерогенности на крысах и мышах, как для ЛП, применяемых повторяющимися курсами.

Результаты исследований на животных могут дать дополнительную информацию для последующей разработки КИ. Необходимо принимать во внимание, что в целом, животные модели не в полной мере охарактеризованы или не позволяют сделать надежный прогноз в отношении гриппа.

При прогнозировании результатов КИ в сезон циркуляции новых штаммов вируса гриппа ценность результатов предыдущих КИ в сезон с циркуляцией других штаммов вируса сомнительна. Также неясно будут ли данные, полученные в исследованиях на животных с новым преобладающим штаммом вируса полезней, чем данные КИ в сезон с циркуляцией других штаммов вируса. Кроме того, штамм вируса гриппа, используемый в исследованиях на животных, может существенно отличаться от штамма, который в дальнейшем вызовет эпидемию или пандемию у человека. Таким образом, исследования на животных, зараженных вирусом, не заменяют КИ [6].

2.2 Изучение противовирусной активности *in vitro*

Сначала у исследуемого ЛП оценивается противовирусная активность в тестах в культуре клеток, а затем, на основании результатов этих тестов, оценивается активность *in vivo* на соответствующих животных моделях гриппа. Разработчикам ЛП может потребоваться оценка способности исследуемого ЛП усиливать репликацию других патогенов, которые вызывают заболевание, схожее по клинической симптоматике с гриппом или вызывают его осложнения, включая другие респираторные вирусы и бактерии, связанные с аналогичными заболеваниями или осложнениями.

Несмотря на то, что исследования с использованием клеточных культур и животных не являются заменой КИ, они могут: (1) внести ценный вклад в разработку дизайна КИ, включая определение режима дозирования и мониторинга резистентности; (2) быть полезными при обобщении результатов КИ; и (3) быть использованы для:

- изучения активности исследуемого ЛП в отношении различных штаммов вируса гриппа, включая новые штаммы;
- изучения влияния количества вирусного инокулята на экспозицию вируса гриппа;
- сравнения режимов дозирования и путей введения;
- определения концентрации действующего вещества исследуемого ЛП в соответствующих органах и тканях;

- исследования зависимости «доза-эффект»;
- изучения активности в организме хозяина со сниженным иммунитетом;
- оценки резистентности и трансмиссивности вируса.
- оценки длительности лечения по отношению ко времени появления клинических симптомов заболевания [6].

2.3 Изучение противовирусной активности *in vivo*

План исследований на животных должен включать дополнительную информацию о выборе, обосновании и характеристике экспериментальной модели, а также подробную информацию о естественном развитии заболевания на выбранной модели и предлагаемом дизайне исследования. При планировании исследований на животных разработчики ЛП должны учитывать такие факторы, как релевантность штамма вируса и необходимость адаптации вируса к организму хозяина, особенности естественного развития заболевания на животной модели, эффект вирусного инокулята, влияние дозы и времени, а также доступную информацию, позволяющую связать данные полученные на животных, с информацией о зависимости «доза-эффект» у человека и его исходами.

Вирусологическая оценка и мониторинг резистентности являются неотъемлемой частью разработки ЛП для лечения гриппа. Разработчики ЛП должны запланировать вирусологическую оценку во время проведения доклинических исследований и КИ в течение всего процесса разработки [6].

3 Клиническая разработка препаратов для профилактики гриппа

3.1 Клиническая разработка препаратов для профилактики гриппа

Программа КИ ЛП для профилактики гриппа включает исследования в общей популяции после регистрации и определения циркулирующих штаммов вируса гриппа, а также в популяции совместно проживающих лиц с документально подтвержденным контактом с лабораторно подтвержденным или клинически предполагаемым случаем.

Предполагаемая интенсивность воздействия (длительность контакта с индексным случаем и вирулентность возбудителя) может повлиять как на размер выборки, так и на оценку риска и пользы таких исследований. Например, лица, контактировавшие с заболевшими при совместном проживании, могут подвергаться большему риску заражения, чем случайно набранные лица из общей популяции.

Необходимо учитывать, что в условиях, когда существуют официальные рекомендации по профилактике гриппа, одобренные государственными органами в сфере здравоохранения, плацебо-контроль будет невозможен [6].

3.1.1 Дизайн исследований

В популяциях, в которых профилактика гриппа не считается обязательной, можно рассмотреть проведение стандартных плацебо-контролируемых исследований.

Частота выявления гриппа с клиническими проявления в группах плацебо может сильно различается в зависимости от времени года и популяции исследования, при этом количество регистрируемых случаев заболевания в любой группе может быть небольшим.

Наличие предшествующей вакцинации и изменения в циркулирующих штаммах вируса также могут влиять на количество наблюдаемых случаев гриппа с клинической симптоматикой.

Небольшое количество регистрируемых случаев заболевания гриппом и, как следствие, большие доверительные интервалы при сравнении не меньшей эффективности могут затруднить оценку эффективности нового ЛП.

Например, если сравниваются два активных ЛП и наблюдается небольшое количество случаев заболевания гриппом или их отсутствие, этот результат может указывать на схожие эффекты двух препаратов или на отсутствие роста заболеваемости гриппом, из-за чего будет трудно сделать вывод о наличии не меньшей эффективности у изучаемого препарата.

Наиболее предпочтительными дизайнами исследований по профилактике гриппа у лиц при совместном проживании являются следующие: (1) все первичные пациенты (индексные пациенты) с наличием клинической симптоматики получают одинаковое лечение (т.е. ни один из них не лечится каким-либо активным ЛП, или все лечатся одним и тем же ЛП, или все лечатся определенным альтернативным способом); и (2) затем совместно проживающих лиц рандомизируют в группу исследуемого препарата или группу контроля (например, плацебо), таким образом, все вышеуказанные лица получают либо один и тот же ЛП, либо препарат сравнения.

Этот дизайн не дает информации о том, может ли лечение первичного случая (индексного случая) само по себе уменьшить вторичную передачу, а также о возможной взаимосвязи между снижением профилактического эффекта вследствие мутации вируса или возникновением резистентного штамма у индексного случая.

Чтобы ответить на вопросы, касающиеся передачи вируса гриппа, можно использовать исследование с четырехфакторным дизайном, в котором как первичные (индексные) случаи, так и контакты внутри совместно проживающих лиц рандомизируются для получения или лечения или плацебо.

В качестве альтернативы спонсоры могут рассмотреть возможность проведения двух или более отдельных исследований с различным дизайном в зависимости от значимости каждого из этих факторов в контексте конкретного исследуемого препарата [6].

3.1.2 Популяция исследования

Для возможности экстраполяции показаний по лечению и/или профилактике от взрослой популяции на педиатрическую необходимо проводить адекватные и хорошо контролируемые исследования с конечными точками, отражающими клиническую эффективность, а также полную оценку безопасности. Исследования только фармакокинетики и безопасности будет недостаточно для расширения показаний на детей, особенно в возрасте до 12 лет. Эффективность противовирусных ЛП у детей не может быть экстраполирована на основе данных, полученных в ходе исследований у взрослых, поскольку:

- предшествующий контакт с инфекцией и состояние иммунной системы у взрослых, могут иначе, чем у детей влиять на течение заболевания гриппом и реакцию организма на лечение;
- выделение вируса может различаться в детской и взрослой возрастных группах [6].

3.1.3 Критерии включения

Критерии включения в КИ препаратов для профилактики гриппа, должны полностью отражать популяцию, в которой в дальнейшем планируется применение препарата. Большинство КИ должны проводиться на здоровых взрослых добровольцах. Также, программа клинических исследований может быть разработана для наблюдения за популяцией совместно проживающих лиц, учащимися [6].

3.1.4 Конечные точки эффективности

а. Общие вопросы

Следует учитывать, что вирусологическое обследование также может служить методом подтверждения конечных точек в клинических исследованиях ЛП для профилактики гриппа. Для вторичного анализа может потребоваться идентификация конкретных подтипов и штаммов вируса.

Разработчики должны проработать методики количественного посева и количественной ОТ-ПЦР, применяемые в лабораториях исследовательских центров для оценки взаимосвязи между вирусной нагрузкой (включая бессимптомное выделение) и фактом вторичной передачи инфекции.

Разработчики также должны предоставить данные в отношении циркулирующих в настоящее время штаммов, чтобы подтвердить возможность применения выбранной методики в своих исследованиях [6].

б. Профилактика

Первичной конечной точкой в клинических исследованиях ЛП для профилактики гриппа должно быть число случаев заболевания лабораторно подтвержденным гриппом с клинической симптоматикой.

Для выявления лабораторно подтвержденных случаев с клинической симптоматикой должны использоваться Дневники пациентов (для регистрация клинических симптомов) совместно с лабораторными данными (серологические, культуральные методы исследования или тест амплификации нуклеиновых кислот (МАНК)).

Значимой вторичной конечной точкой является анализ всех пациентов с гриппоподобными симптомами (с лабораторным подтверждением или без него).

Однако такой подход может привести к включению пациентов с другими заболеваниями из группы ОРВИ с симптомами, сходными с гриппом, которые не чувствительны к ЛП против вируса гриппа, что предположительно уменьшит величину эффекта.

Рекомендуется также проведение вторичного анализа, который сравнивает профилактический эффект у всех пациентов (как с симптомами, так и без симптомов) с лабораторным подтверждением вируса гриппа. Однако клиническая польза от предотвращения бессимптомной инфекции неясна, поскольку целью профилактики гриппа является предотвращение заболевания с клинической симптоматической, а не только бессимптомная сероконверсия, выявленная лабораторно.

С одной стороны, следует избегать заражения, так как инфицированные лица при отсутствии клинической симптоматики могут выделять и передавать вирус, несмотря на прием препарата для профилактики. С другой стороны, бессимптомная инфекция может обеспечить защиту от заболевания, если новое инфицирование происходит после того, как субъекты прекратили профилактический прием препарата.

В дополнение к основной цели профилактики заболевания гриппом с клинической симптоматикой важно установить, протекает ли заболевание в более легкой форме у лиц, у которых оно развивается во время профилактического лечения, по сравнению с лицами, не получающими его. Этот результат затруднительно оценить в большинстве исследований по профилактике из-за относительно небольшого числа случаев регистрации заболевания гриппом среди лиц, получающих активные противовирусные препараты.

Тем не менее, если при планировании протокола включить сбор данных о симптомах, такое сравнение степени тяжести заболевания поможет выявить дополнительную информацию о ЛП [6].

3.1.5 Процедуры и сроки оценки

Исследования по профилактике гриппа должны включать достаточно длительный период наблюдения для выявления рецидивов симптомов после временного улучшения, поздних побочных эффектов или возникновения резистентности. Протоколы КИ должны включать частую самооценку состояния самим пациентом (например, с использованием дневника пациента), наряду с исследовательскими оценками, проводимыми с меньшей частотой или по результатам самооценки. Самооценка состояния пациентом должна продолжаться до разрешения всех клинических признаков и симптомов. Также следует использовать определение антител к вирусу гриппа с использованием стандартизированных методов, выявление сероконверсии (увеличение титра антител к вирусу гриппа в 4 или более раз по сравнению с исходным) и оценить степень воздействия на нее, при проведении клинических исследований препаратов для профилактики гриппа.

Определение подтипа и генотипа вируса может быть важно для изучения взаимосвязи между типом вируса и эффективностью лечения, а также для выявления источников передачи вируса в исследованиях профилактики [6].

3.1.6 Клинические исследования препаратов для профилактики

В клинических исследованиях ЛП для профилактики гриппа первичной конечной точкой должно быть возникновение лабораторно подтвержденного заболевания гриппом с клиническими проявлениями.

Примеры популяций, которые могут быть включены в клинические исследования препаратов для профилактики, каждое из которых имеет свой собственный дизайн и особенности анализа, включают популяцию совместно проживающих лиц и популяцию здоровых взрослых.

Популяция совместно проживающих

Следует заблаговременно определить и обследовать группу совместно проживающих лиц соответствующих возрастных категорий. Когда в обследованной популяции сообщается об индексном случае, эту популяцию следует рандомизировать в одну из групп лечения.

Существует три возможных дизайна, а именно:

1. Индексные случаи получают противогриппозную терапию, при этом все контакты внутри совместно проживающих лиц (далее контакты) рандомизируются для получения одного и того же лечения, либо плацебо, либо исследуемого препарата.
2. Индексные случаи получают противогриппозную терапию, при этом все контакты рандомизируются для различных видов лечения, которые могут быть плацебо или исследуемым препаратом.

3. Проводятся исследования с факторным дизайном с использованием 4-х групп, которые включают все четыре комбинации исходных случаев (леченых или нелеченых) и контактных случаев (леченых или нелеченых):

- Индексные случаи получают противогриппозную терапию, все контакты получают профилактическую терапию (с исследуемым препаратом);
- Индексные случаи получают противогриппозную терапию, все контакты получают плацебо;
- Индексные случаи не получают противогриппозную терапию, все контакты получают профилактическую терапию (с исследуемым препаратом);
- Индексные случаи не получают противогриппозную терапию, все контакты получают плацебо.

Второй вариант дизайна является менее предпочтительным (статистически менее мощным для подтверждения профилактического эффекта ЛП), чем первый, если лечение индексного случая снижает риск заражения вирусом гриппа контактных лиц.

Третий дизайн рекомендуется использовать, если требуется оценить пользу: (1) от лечения индексного случая на риски контактного случая; и (2) профилактики контактного случая.

В исследованиях в популяции совместно проживающих лиц вся популяция является как рандомизированной единицей, так и единицей для анализа. При первичном анализе эффективности следует сравнить группы лечения на предмет процента совместно проживающих лиц, у которых по крайней мере у одного рандомизированного контактного случая развилось лабораторно подтвержденное заболевание гриппом с клинической симптоматикой. Таким образом, если один контактный случай в популяции становится инфицированным с симптомами, популяция считается инфицированной. Если ни один из контактных случаев не инфицируется, популяция считается неинфицированной. Вторичные оценки также позволяют сравнить процент контактных случаев с лабораторно подтвержденным гриппом с клинической симптоматикой в группах активного лечения и плацебо.

Дизайны, в которых разные контактные лица в одной и той же популяции совместно проживающих получают разные схемы лечения, вызывают опасения относительно совместного применения препаратов и корреляции внутри популяции. Анализ с использованием отдельных случаев контакта в качестве единицы анализа также может вызвать аналогичные проблемы. Можно использовать стратификацию по размеру популяции, но ожидается, что она не приведет к какому-либо последующему увеличению мощности.

Популяция здоровых взрослых

В исследованиях при участии здоровых взрослых субъекты должны проходить скрининг в начале сезона гриппа и рандомизироваться в контрольные или основные профилактические группы при появлении эпидемиологического сигнала (заранее определенного в протоколе) о начале эпидемии гриппа в целевом сообществе или в более крупном сообществе.

Статистическая мощность в профилактических исследованиях зависит от количества случаев заболевания, определенных протоколом (т.е. лабораторно подтвержденного заболевания гриппом с клинической симптоматикой) и размера эффекта вмешательства, а не от количества включенных субъектов. Таким образом, размер выборки профилактических исследований должен основываться на

количестве ожидаемых исходов и консервативной оценке величины эффекта. Поскольку заболеваемость гриппом непредсказуемо варьируется от года к году, количество субъектов, участвующих в исследованиях по профилактике гриппа в течение одного сезона гриппа, может привести к меньшему, чем ожидаемое, количеству заболеваний гриппом. Рекомендуется отслеживать общее число случаев гриппа, чтобы определить, меньше ли оно, чем ожидалось. Целесообразно продолжить исследование при повторной регистрации заболеваемости гриппом, если показатели заболеваемости гриппом низкие, даже если такое продолжение изначально не было указано в протоколе. Не следует проводить раскрытие результатов в конце первого сезона, если общее число случаев заболевания гриппом на тот момент все еще недостаточно.

Для исследований по профилактике основной анализ и расчеты мощности могут основываться на отношении шансов или относительном риске, сравнивая «неудачи профилактики» (т. е. случаи лабораторно подтвержденного заболевания гриппом с клинической симптоматикой) между группами лечения. Поскольку случаи «неудач профилактики», как правило, немногочисленны в группах активной профилактики, для выводов следует использовать точные статистические тесты вместо аппроксимационных.

В исследованиях по профилактике представляется важным сведение к минимуму отсутствующих данных. Исследователи должны тщательно собирать данные всех субъектов, получающих или не получающих назначенное лечение, независимо от того, завершили они исследование или были исключены из него. Если субъект недоступен для оценки после того, как исследователь исчерпал все возможные средства, необходимо собрать и задокументировать следующую информацию: статус субъекта (например, жив он или нет), описание субъекта, характер симптомов и нежелательных явлений, а также данные об общем самочувствии.

Субъекты, у которых в течение нескольких дней отсутствуют данные в Дневнике самонаблюдения (т. е. менее 1 недели), и субъекты с отрицательными данными лабораторного обследования на вирус гриппа, которые пропускают последующую серологическую оценку, должны определяться как «отсутствующие данные».

Субъекты с отсутствующими данными, проживающие совместно, при первичном анализе учитываются как не имеющие лабораторно подтвержденного гриппа с клинической симптоматикой.

Популяцию совместно проживающих лиц без подтвержденных случаев гриппа, в котором хотя бы один контактный случай был исключен из исследования, следует определять как популяцию с отсутствующими данными. Популяцию совместно проживающих лиц с отсутствующими данными и не выявленными случаями гриппа считают в первичном анализе как не имеющую лабораторно подтвержденного заболевания гриппом с клиническими проявлениями.

Поскольку результаты клинического исследования по профилактике гриппа определяются на основании симптомов гриппа и лабораторного подтверждения вируса гриппа, регистрация и оценка этих симптомов, а также результаты лабораторной диагностики будут влиять на анализ результатов клинических исследования и их мощность. Значимое влияние имеет специфичность анализа, а

именно способность используемого метода классифицировать образец как отрицательный, когда он действительно отрицательный. Использование высокоспецифичных и высокочувствительных методов, таких как ОТ-ПЦР, имеет большое значение для повышения мощности исследования. Разработчики должны предоставить подробное описание методологии анализа и подтвердить ее чувствительность и специфичность с использованием изолятов вируса гриппа.

Разработчики должны обеспечить хранение протоколов исследований, таких как Дневники самонаблюдения и копии оригиналов лабораторного обследования, чтобы они были доступны в ходе инспекции регуляторными органами [6].

4 Клиническая разработка препаратов для лечения гриппа

4.1 Этапы клинической разработки

После начальных оценок противовирусной активности и исследований фармакокинетики (ФК), безопасности и переносимости I фазы, возможно проведение исследований с намеренным заражением (challenge trails). В указанных исследованиях здоровым добровольцам вводят исследуемый ЛП до (профилактика) или после (лечение) заражения известным экспериментальным штаммом вируса гриппа. Challenge trails могут дать информацию о безопасности и зависимости «доза-эффект», и продемонстрировать фармакологическую противовирусную активность у человека в контролируемых условиях вне эпидемического сезона гриппа.

Данные, полученные в ходе таких исследований, могут внести свой вклад в выбор дозы для II и III фаз и дают возможность изучить влияние различных сроков начала приема ЛП на экспозицию вируса. Однако challenge trails не должны рассматриваться в качестве исследований по изучению эффективности, которые можно использовать для регистрации, потому что штаммы вируса гриппа, которые используют для экспериментального заражения, вызывают более легкое течение гриппа по сравнению с обычным гриппом и заражение в данных исследованиях может отличаться от заражения естественной инфекцией (например, количество инокулята в challenge trails может быть больше или меньше в различных участках слизистой по сравнению с естественным инфицированием).

В Российской Федерации на данный момент с юридической и этической точек зрения возможность проведения исследований с намеренным заражением отсутствует. В США проведение данного вида исследований законодательно регламентируется [7, 8]. Без широкой юридической и этической оценки проведение исследований с намеренным заражением здоровых добровольцев инфекционным заболеванием, имеющим клинически значимые риски для здоровья граждан, не может быть признано обоснованным на территории Российской Федерации.

Дизайн исследования II фазы по подбору дозы зависит от популяции пациентов, у которой планируется проводить исследования III фазы и профиля безопасности исследуемого ЛС в I фазе. Исследования II фазы рекомендуется проводить перед планированием исследований III фазы. Проведение исследований III фазы непосредственно после исследований I или II фазы может привести к непригодности данных III фазы, особенно если выбор доз и схем лечения не является научно обоснованным. КИ II фазы по подбору дозы обычно разрабатываются с достаточной статистической мощностью для выявления различий в вирусовыделении (например, продолжительность, и количественное

отличие относительно исходного уровня), а также как различий в клинических симптомах, которые включены как вторичные конечные точки. Различия, выявленные с помощью вирусологических конечных точек вместе с изменением количества клинических симптомов, используются для выбора доз для дальнейшего изучения в III фазе.

Необходимо отметить, что КИ по изучению зависимости «доза-эффект» являются адекватными строго контролируруемыми исследованиями, которые, в случае оценки соответствующих клинических конечных точек у соответствующих групп пациентов, могут предоставлять весомые доказательства в пользу эффективности ЛП. Кроме того, исследования зависимости «доза-эффект» и их анализ могут помочь в принятии решения об использовании тех или иных доз, режимов дозирования или лекарственных форм (ЛФ). В зависимости от конечных точек исследования информация о зависимости «доза-эффект» может:

- Помочь связать противовирусную активность в культуре клеток (EC50) и экспозицию).
- Помочь связать результаты исследований, полученные у животных и человека.
- Помочь выработать подходы к разработке КИ с конечными точками, в которых используется рациональный диапазон доз.
- Оценить активность в отношении различных типов и подтипов вируса гриппа.
- Позволить провести анализ соотношения «польза-риск» различных доз [6].

В настоящее время нет ясности, какие параметры ФК или ФД лучше предсказывают эффективность ЛП в отношении вируса гриппа. Несмотря на это, длительность вирусовыделения (в назальных смывах), часто оценивается совместно с такими клиническими симптомами как заложенность носа, лихорадка, боль в горле, кашель, боль в теле (боль в мышцах), повышенная утомляемость, головные боли и озноб / потливость. Типичное заболевание, вызванное вирусом гриппа, ограничивается преимущественно дыхательными путями и не приводит к вирусемии; однако, имеются редкие сообщения о выделении вирусной РНК (например, А / H5N1) из других органов. Таким образом, выбор вирусологических параметров для анализа зависимости «доза-эффект» может зависеть от изучаемого штамма вируса гриппа. Для получения подробной информации о дизайне исследований см. Руководство по подбору дозы ЛП (Рекомендация Коллегии ЕЭК от 12 марта 2019 г. №8).

4.2 Популяция для исследования

Несмотря на то, что заболеваемости гриппом подвержены все группы населения, программа разработки III фазы изначально может быть сфокусирована на лечении или профилактике неосложненного гриппа у пациентов здоровых в остальных отношениях. Тем не менее, рекомендуется проводить исследования у: (1) субъектов с высоким риском осложнений гриппа, например пожилых пациентов; (2) субъектов с заболеваниями дыхательной и сердечно - сосудистой системы; и (3) субъектов со сниженным иммунитетом, у которых профиль безопасности исследуемого ЛП может отличаться от здоровых субъектов.

Грипп встречается везде, где происходит смена сезонов, а штаммы вируса, вызывающие вспышки на разных континентах, зачастую схожи. Поскольку сроки и масштабы вспышек в конкретном месте трудно предсказать, программы разработки ЛП для лечения гриппа могут включать различные географические зоны. Протоколы включающие различные зоны северного и южного полушарий повышают эффективность разработки ЛП, позволяя собирать данные в разные сезоны гриппа [6].

Если разработчики ЛП дополнительно представляют данные зарубежных КИ - или в рамках международных мультицентровых КИ, или в рамках исследований, проводимых исключительно за пределами РФ – для регистрации ЛП, они должны дополнять зарубежные данные информацией о циркулирующих штаммах гриппа, особенностях клинических проявлений, демографических характеристиках исследуемой популяции, стандартах медицинской помощи и использовании других медицинских манипуляций в странах проведения исследования. Разработчики ЛП должны оценить актуальность зарубежных данных с учетом стандартов проведения исследований, демографических характеристик исследуемой популяции, а также приемлемости клинических проявлений заболевания и стандартов медицинской помощи в сравнении с таковыми в РФ.

4.3 Рекомендации по оценке эффективности

Исследования с целью оценки эффективности ЛП при лечении гриппа как правило направлены на облегчение симптомов у пациентов, с неосложненным гриппом, здоровых в остальных отношениях. Тем не менее, крупные исследования у пациентов, здоровых в остальных отношениях, могут не подходить для изучения некоторых ЛП, если в ходе ранних разработок этих препаратов были выявлены серьезные ограничения со стороны безопасности.

В целом, лечение и профилактика гриппа - это разные показания, и каждое должно быть подтверждено двумя адекватными строго контролируруемыми исследованиями. Однако в некоторых случаях, в зависимости от других подтверждающих данных, для каждого показания может быть достаточно одного убедительного исследования. Два исследования с разными дизайнами и характеристиками исследуемой популяции как правило полезней, чем одно крупное исследование или два исследования со сходным дизайном. Например, одно терапевтическое исследование у взрослых и одно терапевтическое исследование у детей могут считаться достаточными для подтверждения показаний к применению у взрослых и детей. Дополнительные исследования у особых групп населения могут использоваться для расширения и / или дальнейшего уточнения показаний. Данные исследований по различным показаниям, связанным с гриппом (например, лечение неосложненного заболевания, лечение тяжелого заболевания, требующего госпитализации, вторичная (постконтактная) профилактика и сезонная профилактика могут послужить источником информации, подтверждающей безопасность и эффективность в зависимости от изученной дозы, продолжительности лечения и популяции исследования.

Что касается заболевания, вызванного вирусом пандемического гриппа или вирусом птичьего гриппа (в отличие от заболевания, вызванного вирусом сезонного гриппа), или известным подтипом вируса гриппа, то подтип-специфичные молекулярные мишени противовирусных ЛП выявлены не были. Тем

не менее, устойчивые штаммы могут появляться как в разных подтипах, так и в пределах одного подтипа.

Может оказаться невозможным предсказать эффективность противовирусного ЛП в отношении новых штаммов вируса гриппа, популяционный иммунитет к которым низкий или отсутствует, или штаммов с факторами вирулентности, отличными от штаммов, изучавшихся в КИ.

Однако некоторая эффективность ЛП возможна в случае достаточной схожести молекулярной мишени. В связи с этим информация о штаммах, циркулирующих в период проведения КИ, важна и должна быть собрана и сопоставлена с клиническими исходами, где это возможно.

Использование суррогатных конечных точек не применимо при разработке ЛП для лечения гриппа, поскольку клинические преимущества оцениваются в течение короткого периода времени, и нет суррогатного маркера, который в достаточной степени подходит для прогнозирования важных клинических исходов. Так, например, определение вирусной нагрузки или вирусовыделения недостаточно хорошо стандартизированы или описаны с точки зрения клинических исходов, в то время как клиническое состояние как правило можно оценивать, так же часто и так же быстро, как и вирусологический статус.

Кроме того, у большинства пациентов элиминация вируса отмечалась как на фоне лечения, так и без лечения, а изменения величины и длительности вирусовыделения на фоне лечения не были четко связаны с клинически значимыми изменениями в исходах заболевания.

Предварительный анализ показателей вирусной нагрузки в соответствующих органах и тканях, а также связь данных показателей с должным образом наблюдаемыми и оцененными клиническими исходами в будущем может способствовать пониманию взаимосвязи между количеством вируса в клинических образцах и клиническими исходами.

Хотя в ряде случаев совместное использование двух или более противовирусных ЛП может обеспечить большую терапевтическую пользу, чем использование каждого ЛП отдельно, дополнительные преимущества комбинированной терапии при гриппе еще не установлены. Комбинированная терапия, особенно ЛП разных групп, потенциально может обладать синергическим или аддитивным противовирусным действием, предотвращать или отсрочивать появление резистентности.

Сочетание ЛС также может быть эффективно в тех случаях, когда известно, что циркулирующие вирусы гриппа различных типов или подтипов содержат мутации, обуславливающие резистентность, и нет доступных тестов для диагностики на месте, позволяющих дифференцировать типы вируса или наличие мутации. В этой ситуации целью комбинированной терапии является обеспечение стартовой терапией, учитывая основные возможные результаты диагностики, а не усиление эффекта при лечении конкретного вируса.

Следует учитывать, что комбинированное лечение может привести к повышению токсического действия и нерациональным режимам дозирования. Кроме того, гипотетический синергический эффект комбинированной противовирусной активности может быть клинически незначимым.

Поэтому дизайн исследования должен показывать активность каждого компонента комбинированной терапии (то есть вклад каждого компонента в комбинацию). Определение вклада каждого компонента, обычно с использованием

факторного дизайна, важно независимо от того, содержит предложенная комбинация два или более противовирусных компонента [6].

4.4 Рекомендации по оценке безопасности

Важно создать надежную базу данных по безопасности на основе адекватных строго контролируемых исследований у соответствующих популяций пациентов, поскольку ввиду большого разнообразия затрагиваемых групп населения, которые в свою очередь могут иметь различные сопутствующие заболевания, на данные по безопасности могут оказывать влияние не только последствия приема ЛП, но и уже имеющиеся заболевания. Данные по безопасности нового ЛП для лечения неосложненного гриппа должны включать информацию, полученную по меньшей мере от 1500 пациентов, получавших ЛП в дозе и с продолжительностью курса терапии, предложенными для регистрации. В случае получения сообщений по безопасности на ранней стадии разработки ЛП могут потребоваться данные по безопасности от более, чем 1500 пациентов. Для ЛП, предполагаемое действие которых опосредовано влиянием на клетки организма хозяина или ответ организма, а не непосредственно на вирус, может потребоваться и дополнительная оценка безопасности (включая специальные лабораторные исследования в зависимости от возбудителя) у большего числа пациентов ввиду возможности возникновения непредвиденных последствий для организма. Для новых ЛП, демонстрирующих существенное клиническое преимущество при лечении гриппа тяжелой степени тяжести у госпитализированных пациентов, исходная база данных по безопасности, содержащая данные от порядка 500 пациентов, принимавших ЛП в соответствии со способом применения и дозами, предлагаемыми для регистрации, может быть достаточной для подачи заявки на регистрацию ЛП для лечения тяжелого гриппа.

Разработчики ЛП должны предоставить информацию по оценке токсичности в КИ. Для КИ по профилактике гриппа или лечения неосложненного гриппа рекомендуются шкалы токсичности, предназначенные для использования у здоровых субъектов. Для КИ по изучению эффективности терапии гриппа тяжелой степени тяжести или лечения гриппа у пациентов с сопутствующими заболеваниями можно использовать другие шкалы оценки токсичности (например, AIDS Clinical Trials Group, National Cancer Institute, or the World Health Organization) [6].

5 Рекомендации по оценке эффективности в клинических исследованиях III фазы

5.1 Дизайн

5.1.1 Неосложненный грипп

В популяции пациентов с неосложненным гриппом рекомендуется проведение плацебо-контролируемых КИ, учитывая, что ожидаемый риск отсутствия лечения невелик. В исследованиях, в которых проводится оценка ЛП для лечения неосложненного гриппа легкой и средней степени тяжести, должен быть использован плацебо-контролируемый дизайн, а не дизайн не меньшей эффективности, потому что риски, касающиеся приема плацебо, низки, а эффективность доступного лечения невысока, вариабельна и не может быть предсказана достаточно хорошо, чтобы адекватно определить границу не меньшей эффективности. Изменчивое клиническое течение гриппа в различные эпидсезоны,

а также различия в патогенности вируса, иммунном статусе организма хозяина, появление новых штаммов вируса гриппа, изменяющихся с течением времени, делает данные без группы контроля или с историческим контролем сложными для интерпретации и неподходящими для подтверждения эффективности исследуемого ЛП.

При изучении эффективности и безопасности ЛП для лечения неосложненного гриппа в дополнение к плацебо - контролируемому КИ следует рассмотреть следующие дизайны исследований: (1) исследования превосходства с зарегистрированными противовирусными ЛП и/или симптоматической терапией в качестве активного контроля у взрослых или детей, здоровых в остальных отношениях; и (2) исследования «доза-эффект» (или «концентрация-эффект»), где более высокие дозы демонстрируют значительно больший ответ, чем более низкие дозы.

Возможно, что в будущем будут зарегистрированы ЛП для лечения гриппа, которые будут иметь достаточную величину эффекта в сравнении с плацебо, что в свою очередь, позволит использовать их в качестве активного контроля в исследованиях не меньшей эффективности [6].

5.1.2 Грипп тяжелой степени тяжести у госпитализированных пациентов

С точки зрения общественного здравоохранения, важно иметь ЛП для лечения гриппа тяжелой степени тяжести у госпитализированных пациентов. По имеющимся данным ни одно исследование не продемонстрировало существенной клинической эффективности¹, определить границу не меньшей эффективности не представляется возможным. Как результат, невозможно проведение КИ не меньшей эффективности с активным контролем.

Использование плацебо у госпитализированных пациентов с гриппом тяжелой степени тяжести не поддерживается разработчиками ЛП и ведущими регуляторами (EMA, FDA). В связи с этим разработчики ЛП могут рассмотреть следующие альтернативные варианты дизайна исследований при гриппе тяжелой степени тяжести: (1) рандомизированное и слепое исследование «доза-эффект» (или «длительность-эффект»), в котором будет продемонстрирован значимый ответ на дозу ЛП; и (2) исследование превосходства (add-on trial), в котором будет показано, что комбинация исследуемого ЛП с ЛП стандартной терапии превосходит препарат стандартной терапии (например, ЛП, одобренный для лечения неосложненного гриппа, используется off-label для лечения гриппа тяжелой степени тяжести у госпитализированных пациентов). Продемонстрировать различия в эффективности в исследованиях «доза-эффект» и в исследованиях превосходства сложно, если считается, что все группы лечения имеют одинаковую эффективность. Адекватная частота и интенсивность оценки состояния пациента важны для того, чтобы с максимальной вероятностью выявить потенциальные клинически значимые различия. Поскольку эпидемии гриппа непредсказуемы,

¹ В ограниченном количестве наблюдательных исследований и исследований случай-контроль сообщалось о различных видах клинической пользы противовирусных препаратов при гриппе тяжелой степени тяжести; однако величина превосходства была незначительной (как клинически, так и статистически). Также имелись сомнения в надежности данных из-за возможных ошибок при сравнении групп получавших и не получавших терапию. Наблюдательное сравнение между предполагаемым активным лечением или различным временем начала терапии также имеют серьезные риски ошибок, что ставит под угрозу способность получать достоверные оценки величины эффекта при таких сравнениях.

включение пациентов с гриппом тяжелой степени тяжести или госпитализированных пациентов, вероятно, будет более проблематичным, чем включение пациентов с неосложненным гриппом. В обоснованиях по выбору дизайна КИ (включая объем выборки и мощность исследования) следует указать, каким образом предлагаемый дизайн сможет выявить влияние исследуемого ЛП на улучшение клинического статуса пациентов [6].

5.2 Популяция пациентов

Хотя грипп затрагивает все группы населения, исследования III фазы первоначально могут быть проведены на популяции пациентов с неосложненным гриппом, здоровых в остальных отношениях. Однако разработчики ЛП также должны проводить исследования у лиц с высоким риском осложнений гриппа (например, пожилые пациенты), пациенты с сопутствующими заболеваниями, например с заболеваниями дыхательной и сердечно - сосудистой системы и пациенты со сниженным иммунитетом (например, ВИЧ-инфицированные пациенты, пациенты после трансплантации органов, пациенты, получающие химиотерапию). У указанных пациентов эффективность и профиль безопасности изучаемого ЛП могут отличаться от таковых в других группах пациентов. Это может быть поводом для планирования КИ по лечению пациентов из группы риска. Возможными дизайнами исследований, альтернативными плацебо-контролируемому, могут быть, но не ограничиваются этим списком, исследования «доза-эффект», исследования превосходства с активным контролем, исследования комбинированной терапии в сравнении с монотерапией и несравнимые исследования или исследования безопасности с активным контролем.

Исследования в популяциях пациентов с низким иммунитетом к вирусу гриппа и высокой или длительной вирусной репликацией (например, дети младшего возраста и иммунокомпрометированные пациенты) могут служить источником полезной информации о потенциальных механизмах возникновения резистентности и взаимосвязи между терапевтической дозой или продолжительностью лечения и клиническими исходами. В КИ по оценке эффективности и безопасности лечения гриппа тяжелой степени тяжести приветствуется набор пациентов, с осложнениями, связанными с гриппом, например, пациентов нуждающихся в интенсивной терапии или искусственной вентиляции легких.

Для того, чтобы перенести показания к применению (лечение и/или профилактика) на детскую популяцию, разработчикам ЛП необходимо провести адекватные строго контролируемые КИ с клиническими конечными точками эффективности и оценкой безопасности в полном объеме. Только исследований ФК и безопасности будет недостаточно для того, чтобы перенести показания на детскую популяцию, особенно на детей младше 12 лет. Наличие противовирусной эффективности ЛП не может быть экстраполировано на детей из данных, полученных в ходе исследований у взрослых потому что: (1) предшествующее воздействие и иммунный ответ могут влиять на течение заболевания и ответ на лечение совсем по-другому, чем у детей; и (2) вирусывыделение может различаться у взрослых и детей [6].

5.3 Критерии включения

Критерии включения КИ (лечение) должны содержать информацию о документальном подтверждении инфекции гриппа в сообществе и клинических симптомах, характерных для гриппа. Лабораторное подтверждение диагноза обычно не доступно на момент начала терапии.

Включение экспресс тестов для быстрой диагностики гриппа в критерии отбора может с большей надежностью гарантировать получение необходимой для анализа популяции инфицированных пациентов (позже подтверждаемой с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), культуральных методов или серологических тестов). Однако, все доступные в настоящее время экспресс тесты имеют ограничения, а во время сезонной эпидемии положительная и отрицательная прогностическая ценность некоторых из них может быть не намного лучше, чем критерии клинического отбора. Рекомендуются включение пациентов на основании клинически установленного диагноза с дальнейшим подтверждением диагноза с помощью ПЦР (чувствительного и специфичного метода диагностики гриппа и других ОРВИ).

Факт наличия в анамнезе недавней вакцинации против гриппа (vaccination status) должен быть учтен в критериях включения/невключения или учтен при стратификации, так как может повлиять на результаты оценки эффективности. Вероятность выявления положительного эффекта от лечения у вакцинированной популяции пациентов может быть ниже, потому что заболеваемость и тяжесть заболевания могут быть меньше. Однако эта вероятность может быть увеличена, если существующий иммунитет и лекарственная терапия являются аддитивными или синергическими. Противовирусные ЛП теоретически могут оказывать отрицательное воздействие на формирование иммунного ответа на живую вирусную вакцину против гриппа, если они применяются в тот же период времени, что и вакцины и подавляют репликацию вакцинного штамма вируса. Поэтому лица, которые недавно были привиты живой вакциной против гриппа, как правило, должны быть исключены из исследования. Подобные эффекты в ответ на инактивированную вакцину менее вероятны. Документирование статуса вакцинации и проведение соответствующих статистических анализов являются важными составляющими дизайна исследования, его проведения и интерпретации результатов [6].

5.4 Ослепление

Двойной слепой метод является важным методом минимизации риска возникновения необъективных выводов. Следует помнить о субъективности конечных точек, а также возможности подмены естественного течения вирусной инфекции эффектом ЛП (как благоприятным, так и неблагоприятным) [6].

5.5 Выбор дозы и пути введения

Исследования на животных, challenge trails и исследования подбора дозы при заболевании гриппом могут внести свой вклад при подборе дозы для основных КИ. Оценку зависимости «доза-эффект» возможно провести во всех указанных исследованиях. Кроме того, могут быть исследованы параметры ФД, касающиеся клиренса вируса. Разработчикам ЛП настоятельно рекомендуется проводить адекватные исследования II фазы перед планированием исследований III фазы.

Для некоторых ЛП может быть рассмотрено более одного пути введения, разные пути введения могут иметь различия в безопасности, эффективности и

режиме дозирования ЛП. Например, лекарственные формы для перорального применения может быть предпочтительной для лечения неосложненного гриппа, тогда как ЛФ для внутривенного введения - для тяжелых пациентов, которые могут быть не в состоянии принимать пероральные ЛФ. Для ЛП с ингаляционным путем введения возможны сложности при выборе подходящей дозы для КИ на основе неклинических данных. Кроме того, если в отличие от известного вируса сезонного гриппа, репликация нового штамма вируса происходит в нескольких органах, ингаляционный путь введения может быть недостаточным для обеспечения противовирусного действия во всех других органах, за исключением дыхательных путей и легких. Безопасность ЛП с ингаляционным путем введения необходимо оценивать у пациентов с заболеваниями легких в анамнезе, соблюдая соответствующие меры предосторожности и контроля, поскольку такие пациенты могут быть подвержены наибольшему риску возникновения осложнений заболевания и появлению побочных реакций, вызванных ЛП [6].

5.6 Конечные точки эффективности

5.6.1 Общие рекомендации

Конечные точки эффективности могут включать комбинацию результатов объективного обследования, оценки со стороны медицинских работников и оценки симптомов, о которых сообщают пациенты. Конечные точки эффективности не были окончательно стандартизированы для всех типов исследований ЛП для лечения гриппа; однако продолжительность определенных симптомов использовалась в регистрационных исследованиях неосложненного гриппа. В последнее время были достигнуты определенные успехи в оценке конечных точек с использованием оценки исходов пациентами (Patient-Reported Outcome²). Из-за изменчивости вируса гриппа и эффектов ЛП, оцененных в предыдущих исследованиях большинство КИ требуют изучения нескольких вторичных конечных точек, чтобы показать соответствие эффекта первичной конечной точке. Обоснование как первичной, так и вторичной конечных точек должно быть включено в протокол КИ.

Для исследований по изучению ЛП для лечения заболеваний, вызванных вирусом гриппа, вирусологическая оценка является важной вторичной конечной точкой и может использоваться в качестве составляющей критериев включения или оценки терапии. В настоящее время считается, что вирусологические конечные точки не подходят в качестве первичных конечных точек для исследований III фазы, так как: 1) не установлена достоверная связь между величиной и сроками уменьшения вирусовыделения и степенью клинической пользы; 2) не установлены оптимальные место и методы отбора проб (включая процедуры сбора образцов и оценку клинически значимой величины вирусной нагрузки); 3) имеющиеся данные свидетельствуют о значительной вариабельности результатов и выводов при использовании различных методов получения и оценки данных о вирусной нагрузке.

² Оценка исходов пациентами (Patient-Reported Outcome, PRO) - это любая оценка состояния здоровья пациента, данная самим пациентом без какой-либо интерпретации со стороны врача или кого-либо (Guidance for Industry Patient-Reported Outcome Measures: Use in Medical Product Development to Support Labeling Claims, 2009, FDA).

Разрешение клинической симптоматики (клинический исход) при заболеваниях, вызванных вирусом гриппа, в отличие от ВИЧ-инфекции и хронического гепатита С, происходит, как правило, в то же время, что и изменение вирусной нагрузки, поэтому, использование вирусологических конечных точек не сокращает продолжительность исследования. Результаты ранее проведенных КИ при гриппе не позволяют сделать вывод о том, что вирусологические конечные точки обеспечивают наиболее быстрый или простой способ оценки эффекта терапии, чем прямое измерение клинического исхода. Таким образом, даже если можно собрать больше доказательств относительно прогностической ценности оценки вирусной нагрузки, такая оценка не обязательно уменьшит размер выборки или продолжительность КИ, хотя в дальнейшем она может внести свой вклад во вторичный анализ.

В исследованиях по лечению неосложненного гриппа одновременное использование ЛП для симптоматической терапии снижает вероятность обнаружения различий по первичной конечной точке. Системные ошибки, вызванные применением сопутствующей терапии, могут быть уменьшены, если в протоколе КИ данное лечение будет стандартизовано. В качестве альтернативы стандартная схема приема ЛП для облегчения симптомов заболевания (например, парацетамол) может быть использована в качестве активного контроля для противовирусного ЛП в исследованиях превосходства.

Если разработчики ЛП заявляют о снижении частоты осложнений заболевания, необходимо определить объективные критерии осложнений и подтвердить их в дальнейшем. Информация о специфической диагностике и ведении пациентов с осложнениями также должна быть отражена в протоколе КИ [6].

5.6.2 Лечение неосложненного заболевания

Первичной конечной точкой в исследованиях по лечению неосложненного гриппа у взрослых должно быть время до заранее определенного уровня улучшения симптомов гриппа. Составляющие первичной конечной точки должны включать лихорадку с совокупностью симптомов (например, кашель, насморк, головная боль, боли в теле, боли в горле). Эта клиническая конечная точка не является суррогатной, так как измеряет клинически значимые симптомы, связанные с заболеванием, вызванным вирусом гриппа. Для лечения заболевания у пациентов, здоровых в остальных отношениях, демонстрация снижения частоты возникновения вторичных осложнений или смертности не является необходимой для того, чтобы противовирусный ЛП считался эффективным с клинической точки зрения. В качестве вторичных конечных точек должны выбираться время до возвращения к нормальной активности, время до разрешения лихорадки и/или других отдельных симптомов, включенных в первичную конечную точку. Оценка лекарственной резистентности является важной конечной точкой во всех КИ.

Разработчики ЛП должны предоставить обоснование для используемого стандартизованного и/или общепринятого инструмента оценки симптомов. Не рекомендуется добавлять оценки разных типов симптомов в совокупный балл или площадь под кривой симптомов. Считается, что такие данные являются поисковыми, в связи с трудностью в сопоставлении единиц тяжести разных симптомов.

Популяция для первичного анализа и дополнительного анализа эффективности должна включать всех пациентов с подтвержденным заболеванием,

вызванным вирусом гриппа (то есть, ITT infected population). Анализ на популяции ITT или PP может использоваться для выявления проблем с подходами к дозированию или организацией [6].

5.6.3 Лечение тяжелых госпитализированных пациентов

Для тяжело больных пациентов с гриппом, нуждающихся в госпитализации, первичная конечная точка должна включать клинические признаки и симптомы, продолжительность госпитализации, время до нормализации жизненно важных функций и показателей, насыщение крови кислородом, потребность в дополнительной оксигенации или искусственной вентиляции легких и смертность. Выбор конечной точки может зависеть от клинических условий и/или штаммов вируса. Для госпитализированных пациентов с тяжелым гриппом одной единственной оптимальной конечной точки не определено, поэтому предложения по выбору первичной конечной точки должны быть обоснованы. Разработчикам ЛП рекомендуется представить обоснование того, что с помощью выбранной конечной точки можно непосредственно измерить, самочувствие и повседневную активность или смертность пациентов, учитывая имеющиеся литературные источники и соответствующую документацию КИ. Такая конечная точка предназначена для демонстрации того, приводит ли изучаемый ЛП к более быстрому и/или более полному улучшению состояния пациента по сравнению с контролем. В дальнейшем необходимо проводить работу по оценке наиболее подходящей клинической конечной точки для оценки эффективности в КИ по лечению тяжелого гриппа [6].

5.6.4 Оценка осложнений

Показатели и симптомы, которые являются проявлениями заболевания, не должны рассматриваться как отдельные осложнения, если они являются частью комбинированной первичной конечной точки. Осложнения бактериальной инфекции должны удовлетворять заранее установленным критериям, соответствующим клиническим рекомендациям. Например, бронхит может сам по себе быть проявлением гриппа и может не соответствовать критериям вторичной бактериальной инфекции. Разработчикам ЛП рекомендуется заранее описать критерии определения возможных серьезных исходов для вторичного анализа, включая исходы, ожидаемые с низкой частотой и по причине малого количества, не подходящие для первичного анализа. Методы диагностики и подтверждения вторичной инфекции должны быть подробно описаны в протоколе КИ и быть одинаковыми во всех исследовательских центрах. При необходимости наличие вторичных осложнений должно быть подтверждено объективными клиническими данными, результатами лабораторных и инструментальных исследований. При отсутствии подобного подтверждения заявления относительно эффективности ЛП в отношении профилактики вторичных осложнений гриппа малодостоверны [6].

5.7 Процедуры и сроки их проведения

В терапевтических исследованиях частота оценки клинической картины заболевания важна в течение короткого периода после начала лечения. Так как грипп является саморазрешающимся заболеванием, это может затруднить выявление эффектов проводимой терапии в более поздние сроки. Исследования по лечению должны включать достаточно длительный период наблюдения для выявления рецидивов симптомов после временного улучшения, поздних побочных эффектов или возникновения резистентности. Как и в исследованиях по

профилактике, протоколы КИ по лечению гриппа должны включать частую самооценку состояния самим пациентом (например, с использованием дневника пациента), наряду с исследовательскими оценками, проводимыми с меньшей частотой или по результатам самооценки. Самооценка состояния пациентом должна продолжаться до разрешения всех клинических признаков и симптомов. Для исследований с участием госпитализированных пациентов некоторые аспекты клинических оценок могут подходить для частых измерений и/или могут являться рутинными процедурами, которые регулярно регистрируются в историях болезни и доступны для анализа, особенно во время начального периода заболевания. Самостоятельное сообщение о симптомах пациентами может быть наиболее важным у пациентов, состояние которых улучшается, но симптомы еще сохраняются.

Доступны различные *in vitro* диагностические тесты для диагностики гриппа, в том числе экспресс тесты. Специфичность и чувствительность тестов может варьировать в зависимости от таких факторов, как тяжесть заболевания, возраст пациента, сроки лечения, техника забора материала и характеристики новых вирусных штаммов.

Несмотря на то, что результаты не будут доступны на момент включения в КИ, рекомендуется использовать анализ, обладающий достаточной чувствительностью и специфичностью (например, анализ ОТ-ПЦР в реальном времени) для лабораторного подтверждения инфекции, вызванной вирусом гриппа, чтобы определить популяцию пациентов для дальнейшего анализа.

В КИ, направленных на оценку эффективности ЛП для лечения гриппа, взятие материала на наличие вируса (то есть мазки из носа и/или горла или смывы из полости носа) должно проводиться в начале исследования (до первого применения ЛП) и через соответствующие промежутки времени во время и после лечения. Продолжительность вирусывыделения является важной, но сложно определяемой вторичной конечной точкой, если забор материала проводится не достаточно часто. Определение антител к вирусу гриппа следует проводить в начале исследования и во время периода наблюдения, предпочтительно примерно через 4 недели после постановки диагноза. Для этого должна использоваться стандартизированная методика, также необходимо предоставление всей вспомогательной информации об используемой методике. Критерием подтвержденного диагноза гриппа считается увеличение титра антител в 4 или более раз. Поэтому, важно оценить, влияет ли противовирусный ЛП на образование антител после подтверждения инфицирования в терапевтических исследованиях.

Определение подтипа и генотипа вируса может быть важно для изучения взаимосвязи между типом вируса и эффективностью лечения, а также для выявления источников передачи вируса в исследованиях профилактики. Базовая чувствительность и развитие резистентности к исследуемому ЛС должны изучаться в КИ независимо от дизайна исследования. Если стандартизированные и общепринятые методы определения чувствительности к ЛС недоступны, образцы следует сохранить для будущего тестирования до завершения исследования и анализа данных. В некоторых случаях может быть оправдано наличие более одного подхода к тестированию на чувствительность. Например, исследование ингибирования ферментов может оказаться полезным при скрининге образцов, но при этом давать разные результаты при анализе на частоту выявления вируса; тем

не менее, они оба могут использоваться для оценки лекарственной резистентности. Недавние исследования, в которых использовался клональный анализ, показали более высокий уровень резистентности к ЛП для лечения гриппа. Для того, чтобы располагать более полной информацией при планировании КИШ фазы, рекомендуется оценивать резистентность на ранних стадиях разработки.

При планировании некоторых исследований может потребоваться рассмотрение взаимодействия между вакцинами и противовирусными ЛП. Сроки сбора образцов сыворотки для оценки сероконверсии должны учитывать различия между иммунным ответом на вакцину и связанной с инфекцией сероконверсией в качестве диагностического подтверждения.

Разработчики ЛП должны предоставить подробный план и обоснование мониторинга вирусной резистентности, который описывает предлагаемые анализы, сроки сбора образцов, характеристики анализа различных типов и подтипов вируса гриппа, а также их методологию [6].

5.8 Статистические рекомендации для исследований III фазы

Первичный анализ эффективности должен быть проведен на популяции пациентов с лабораторно подтвержденной вирусной природой заболевания (ITT infected population). Первичной конечной точкой в исследованиях у взрослых с неосложненным гриппом должно быть время до заранее определенного уровня улучшения симптомов. Анализ безопасности должен быть проведен на популяции всех рандомизированных пациентов, т.к. решение о назначении лечения в клинической практике будет принято еще до подтверждения диагноза.

Единицей рандомизации и анализа в таких исследованиях является отдельный субъект исследования. Рекомендуется проведение стратификации по времени с момента появления симптомов заболевания. Также возможно проведение стратификации по штамму вируса, статусу курения, месту нахождения, использованию ЛП для симптоматической терапии или других сопутствующих методов лечения, которые могут повлиять на естественное течение болезни и/или величину терапевтического эффекта.

Необходимо избегать цензурирования данных популяции с подтвержденной вирусной природой заболевания (ITT infected population), учитывая краткосрочность исследования. Должен быть разработан четкий и адекватный план для решения проблем, связанных с отсутствующими данными [6].

6 Другие рекомендации

6.1 Рекомендации по изучению фармакокинетики и фармакодинамики

6.1.1 Фармакокинетика

Ниже рассматриваются несколько способов введения ЛП против гриппа: пероральный, парентеральный, ингаляционный и интраназальный. Предполагается, что при пероральном и парентеральном введении ЛП концентрации действующего вещества в плазме крови коррелируют с концентрациями в месте действия, но спрогнозировать клинический эффект в этой ситуации нельзя. При ингаляционном и интраназальном путях введения концентрации действующего вещества в эпителиальном слое трахеи, бронхов, бронхиол и легких могут больше коррелировать с противовирусной активностью ЛП. Необходимо учитывать, что вирус птичьего гриппа или новые штаммы вируса гриппа могут иметь тенденцию к

репликации вне дыхательной системы, что требует системного действия противовирусного ЛП.

Концентрации действующего вещества в полости носа, дыхательных путях и легких можно измерить, используя назальный смыв, мокроту (путем сбора мокроты) и бронхоальвеолярный лаваж. Методы функциональной визуализации также могут применяться при разработке ЛП против гриппа. Сцинтиграфия с технецием-99 – это технология, используемая в настоящее время для количественного определения процентного содержания или количества ЛС, осажденного в легких, ротоглотке и полости носоглотки после вдыхания или приема ЛП интраназально. Основная цель сцинтиграфического исследования с технецием-99 состоит в том, чтобы выбрать устройство для доставки ЛС, ЛФ и путь введения во время разработки ЛП. Флуоресцентная визуализация (например, фтор-19) позволяет оценить концентрацию действующего вещества в дыхательных путях. Все вышеперечисленные методы являются, в некоторой степени, исследовательскими и не показали, что они непосредственно подходят для принятия решения о регистрации. Однако сравнение концентраций ЛС в целевом органе со значениями EC_{50} в клеточной культуре или данными противовирусной активности у животных со сходными концентрациями в целевом органе, может помочь в выборе доз для КИ [6].

6.1.2 Фармакодинамика

Вирусологический ответ или клинические конечные точки могут использоваться в качестве показателя ответа при оценке зависимости «доза-эффект». Титр вируса в назальных смывах может использоваться как мера вирусологического ответа; однако снижение титра вируса не должно использоваться в качестве основной конечной точки в регистрационных КИ. Для исследований по профилактике следует использовать клиническую конечную точку (т. е. процент субъектов, у которых во время профилактического приема развилось лабораторно подтвержденное заболевание гриппом с клиническими проявлениями). Взаимосвязь между каждой из этих оценок и первичными конечными точками эффективности следует оценивать на основе всех имеющихся данных.

Образцы из ротоглотки и прямой кишки могут быть проанализированы на предмет отдельных случаев заражения человека штаммами вируса птичьего гриппа, поскольку данный вирус, как правило, демонстрирует наибольшее сродство к α -2,3-связанной сиаловой кислоте, которая является основным компонентом рецептора в эпителиальных тканях кишечника и легких у птиц, зараженных вирусом гриппа. Кроме того, имеются сообщения о случаях гастроэнтерита без респираторных симптомов у людей, инфицированных вирусом птичьего гриппа [9]. При необходимости могут рассматриваться другие виды образцов, если новые штаммы вируса гриппа (птичьего или иного происхождения) демонстрируют другие закономерности распределения вируса в организме.

Любое проявление токсичности, связанное с ЛС, должно изучаться с целью оценки взаимосвязи дозы ЛП с возникновением нежелательных явлений, а также определения максимально переносимой дозы и оценки вероятности возникновения нежелательных явлений при ее применении. Эта информация также может помочь при коррекции дозы у особых групп пациентов [6].

6.1.3 Моделирование

Моделирование зависимости «доза-эффект» с помощью данных, полученных во II и / или III фазах, должно быть включено в регистрационное досье для описания взаимосвязи между концентрациями ЛС, его эффективностью и безопасностью. При разработке модели «доза-эффект» необходимо принимать во внимание данные, полученные на клеточных культурах, в исследованиях на животных и в исследованиях других ЛП того же класса. При моделировании следует учитывать особенности развития заболевания и эффект в группе плацебо. Демографические данные (например, пол, раса, возраст, масса тела и статус вакцинации) должны быть собраны и включены в модель «доза-эффект». Для улучшения понимания зависимости «доза-эффект» рекомендуется собирать информацию о генотипе вируса с целью последующей оценки взаимосвязей между генетическими вариантами (генотипами), дозой ЛП и исходами ответа, такими как реакция на ЛП, эффективность, безопасность, токсичность и общая выживаемость. Если поддающиеся измерению исходные факторы считаются клинически значимыми, то может потребоваться коррекция дозы и индивидуальный подход [6].

6.2 Рекомендации по доклиническому изучению

Результаты исследований на животных могут дать дополнительную информацию для последующей разработки КИ. Необходимо принимать во внимание, что в целом, животные модели не в полной мере охарактеризованы или не позволяют сделать надежный прогноз в отношении гриппа.

При прогнозировании результатов КИ в сезон циркуляции новых штаммов вируса гриппа ценность результатов предыдущих КИ в сезон с циркуляцией других штаммов вируса сомнительна. Также неясно, будут ли данные, полученные в исследованиях на животных с новым преобладающим штаммом вируса полезней, чем данные КИ в сезон с циркуляцией других штаммов вируса. Кроме того, штамм вируса гриппа, используемый в исследованиях на животных, может существенно отличаться от штамма, который в дальнейшем вызовет эпидемию или пандемию у человека. Таким образом, исследования на животных, зараженных вирусом, не заменяют КИ [6].

7 СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Никифоров В.В. Грипп и острые респираторные вирусные инфекции: современная рациональная этиотропная терапия. Алгоритмы оказания медицинской помощи больным. Москва: Спецкнига., 2018. 20 с.
2. Грипп у взрослых / Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2022. 104 с.
3. WHO. Director General's opening remarks at the media briefing on COVID 19–11 March 2020. URL: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (дата обращения 18.09.2023).
4. More than a Tripledemic: Influenza A Virus, Respiratory Syncytial Virus, SARS-CoV-2, and Human Metapneumovirus in Wastewater during Winter 2022-2023 / Alexandria B Boehm, Marlene K Wolfe, Bradley J White et al. // Environ Sci Technol Lett. 2023. Vol. 10(8). P. 622-627.
5. Resurgence of Influenza Circulation in the Russian Federation during the Delta and Omicron COVID-19 Era / Anna Sominina, Daria Danilenko, Andrey Komissarov et al. // Viruses. 2022. Vol. 14 (9). P. 1909.
6. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). April 2011. Guidance for Industry Influenza: Developing Drugs for Treatment and/or Prophylaxis URL: <https://www.fda.gov/media/73339/download> (дата обращения 18.09.2023).
7. Design, recruitment, and microbiological considerations in human challenge studies / Darton T.C., Blohmke C.J., Moorthy V.S. et al. // Lancet Infect Dis. 2015. Vol. 15(7). P. 840-851.
8. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN). September 2013. Guidance for clinical investigators, sponsors, and IRBs. Investigational New Drug Applications (INDs) – Determining whether human research studies can be conducted without an IND. URL: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Investigational-New-Drug-Applications-%28INDs%29-Determining-Whether-Human-Research-Studies-Can-Be-Conducted-Without-an-IND.pdf>. (дата обращения 18.09.2023).
9. Avian Influenza A (H5N1) Infections in Humans/ John H Beigel 1, Jeremy Farrar, Aye Maung Han et al. // N Engl J Med, 2005. Vol 353 (13). P. 1374-85.