

Рекомендации по изложению методики оценки биологической (специфической) активности биотехнологических лекарственных препаратов в нормативной документации

О. В. Головинская*, С. Л. Лыскова, Ю. Н. Лебедева, Н. А. Алпатова, А. А. Мовсесянц, В. А. Меркулов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

К биотехнологическим лекарственным препаратам, как и к другим лекарственным средствам, предъявляются требования эффективности, безопасности и качества. Оценка качества лекарственных средств включает экспертизу методов контроля качества лекарственного средства (проекта нормативной документации), лабораторную экспертизу качества образцов с использованием этих методов, а также экспертизу материалов регистрационного досье, включая материалы по валидации методик, представленных в проекте нормативной документации. Одним из наиболее значимых показателей качества биотехнологических лекарственных препаратов является биологическая активность, т.е. специфическая способность препарата вызывать определенный биологический эффект. Приведены результаты детального анализа методик определения биологической (специфической) активности, изложенных в проектах нормативной документации на различные биотехнологические лекарственные препараты. Целью работы было показать важность качественного изложения методик оценки биологической (специфической) активности биотехнологических лекарственных препаратов и ознакомить специалистов, ответственных за составление нормативной документации, с основными подходами к изложению раздела «Биологическая (специфическая) активность». В результате анализа нормативной документации сформулированы часто встречающиеся ошибки и упущения, рассмотрены общие замечания к описанию методик, приведена общая схема раздела «Биологическая (специфическая) активность» с подробными рекомендациями по содержанию подразделов. Совершенствование качества изложения информации в нормативной документации позволит сократить количество запросов экспертной организации на предоставление дополнительных документов и данных и обеспечит выполнение лабораторной фармацевтической экспертизы на должном уровне и в установленные сроки.

Ключевые слова: биотехнологические лекарственные препараты; оценка качества лекарственных препаратов; лабораторная экспертиза; изложение методик; нормативная документация; биологическая активность; специфическая активность

Для цитирования: Головинская ОВ, Лыскова СЛ, Лебедева ЮН, Алпатова НА, Мовсесянц АА, Меркулов ВА. Рекомендации по изложению методики оценки биологической (специфической) активности биотехнологических лекарственных препаратов в нормативной документации. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2018;18(3):168–174. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-3-168-174>
Контактное лицо: Головинская Ольга Вячеславовна; golovinskaya@expmed.ru

Recommendations for Expounding Evaluation of Biological (Specific) Activity of Biotechnological Products in Product Specification Files

O. V. Golovinskaya*, S. L. Lysikova, Yu. N. Lebedeva, N. A. Alpatova, A. A. Movsesyants, V. A. Merkulov

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Biotechnological products, like all other medicinal products, have to comply with efficacy, safety and quality requirements. Quality evaluation of medicines includes assessment of test methods used to control medicinal product quality (described in product specification files provided by the manufacturer), laboratory testing of samples using these methods, as well as assessment of the registration dossier materials, including materials on test method validation included into the product specification files. One of the most important quality parameters of biotechnological products is biological activity, i.e. specific ability of a product to induce a desired biological effect. The article presents the results of a detailed analysis of methods used for determination of biological (specific) activity that are described in product specification files of various biotechnological products. The aim of the study was to demonstrate the importance of proper presentation of methods used for assessment of biological (specific) activity of biotechnological products and familiarise specialists engaged in elaboration of product specification files with the principles of presenting data in the «Biological (specific) safety» section. The analysis of documentation helped summarise the most common mistakes and omissions, formulate general recommendations concerning the description of methods, develop a general structure of the «Biological (specific) safety» section with detailed guidance on what to include in each of the subsections. Rationalisation of information presented

in this part of the product specification files will help reduce the number of expert body's requests for additional information/documents and will help ensure that laboratory testing is performed at a high professional level and within a prescribed period of time.

Key words: *biotechnological products; evaluation of medicinal product quality; laboratory testing; presentation of methods; product specification file; biological activity; specific activity*

For citation: *Golovinskaya OV, Lysikova SL, Lebedeva YuN, Alpatova NA, Movsesyants AA, Merkulov VA. Recommendations for expounding evaluation of biological (specific) activity of biotechnological products in product specification files. BИOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BИOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment. 2018;18(3):168–174. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-3-168-174>*

Corresponding author: Olga V. Golovinskaya; golovinskaya@expmed.ru

В настоящее время в клинической практике широко используются биотехнологические лекарственные препараты (БЛП) — сложные препараты белковой природы, полученные с использованием технологии рекомбинантной ДНК, гибридного метода и метода моноклональных антител (цитокины, растворимые рецепторы и их антагонисты, факторы свертывания крови, моноклональные антитела, гормоны, ферменты, белки слияния) [1]. Разработка указанных препаратов является одним из наиболее перспективных направлений в области создания лекарственных средств, воздействующих на патогенетически значимые звенья в развитии заболевания, а к их качеству предъявляются серьезные требования.

Для оценки качества БЛП Федеральным законом № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» предусмотрена комбинация биологических и физико-химических методов [2]. Результаты оценки физико-химических показателей БЛП (подлинность, содержание родственных соединений и примесей, молекулярно-массовое распределение и др.) не являются достаточными для прогнозирования проявлений их биологической активности. Оценка специфической биологической активности, в свою очередь, позволяет количественно охарактеризовать механизм фармакологического действия препарата с помощью методов, выполняемых в условиях *in vitro* и *in vivo*. Это свидетельствует о высокой важности показателя «специфическая активность» и необходимости точного его определения при экспертизе качества БЛП [3, 4].

Основными задачами лабораторной экспертизы качества лекарственных средств являются оценка воспроизводимости предложенных методик и оценка качества образцов лекарственного средства с использованием этих методик [2, 5]. Следует отметить, что подтвердить качество лекарственного средства по какому-либо показателю в случае невозможности методики оценки качества невозможно.

В данном случае воспроизводимостью является частным случаем прецизионности (а именно, межлабораторной прецизионности) и заключается в необходимости получения экспертом приемлемых результатов испытания путем пошагового повторения методики в точном соответствии с описанием, приведенным в проекте нормативной документации (НД), в рамках лабораторной экспертизы с использованием представленных заявителем образцов [5–7].

Целью работы было отразить важность качественного изложения методик оценки биологической (специфической) активности биотехнологических лекарственных препаратов и ознакомить специалистов, ответственных за составление нормативной документации, с основными подходами к изложению раздела «Биологическая (специфическая) активность».

Методики определения биологической (специфической) активности отличаются не только разнообразием и уникальностью, но и особой чувствительностью к изменению внешних условий, что обусловлено использованием в испытаниях биологических объектов (культур клеток, вирусов, животных

и др.) [4]. На воспроизводимость биологической методики могут оказывать влияние следующие факторы:

- условия восстановления клеточной культуры или штамма индикаторного вируса;
- концентрации клеточной суспензии или суспензии индикаторного вируса, используемые в испытании;
- число пассажей культуры клеток до момента использования в испытании;
- периодичность и условия пересевов при рутинном культивировании;
- жизнеспособность клеток на момент использования в испытании;
- условия и продолжительность хранения клеточной суспензии или суспензии индикаторного вируса до момента использования в испытании;
- условия и продолжительность хранения питательных сред и растворов до момента использования в испытании;
- продолжительность и условия инкубаций на разных этапах проведения испытания;
- диапазон и шаг разведений образцов;
- линия, возраст, пол, масса тела и условия содержания лабораторных животных и т.д. [4].

Учитывая особую чувствительность биологических объектов, для признания биологической методики пригодной для предполагаемого использования (оценки специфической активности БЛП), ее валидационные характеристики должны быть тщательно изучены и описаны производителем.

Однако даже валидированная методика может оказаться невозможной на этапе экспертизы предложенных методик контроля качества лекарственного средства и качества представленных образцов лекарственного средства с использованием этих методик по причине ненадлежащего изложения методики в нормативной документации.

Общие замечания к изложению методик в нормативной документации

К общим проблемам, с которыми сталкивается эксперт при анализе нормативной документации, относятся следующие.

1. Некачественный перевод с потерей смысла или подменой понятий не только мешает восприятию текста и отвлекает от его сути, но и является причиной ложной трактовки приведенной информации. Например, перевод фразы «готовят десятикратный раствор 10X» как «готовят десятикратное разведение» или фразы «разведение в четыре этапа (шага)» как «четырёхкратное разведение» могут привести к приготовлению растворов и разведений с неверными концентрациями и, как следствие, получению неприемлемого результата испытания.

Именно поэтому методика должна быть изложена стилистически грамотно, проверена на наличие ошибок и опечаток, связанных с правописанием и пунктуацией, слова в предложениях должны согласовываться друг с другом. Перевод должен быть выполнен профессионально, недвусмысленно, объектив-

но, в точном соответствии со всеми специальными инструкциями, содержащимися в методиках проведения испытания. Замена специальных терминов некорректными, синонимичными и/или неспециальными словами недопустима.

2. Несоблюдение четкой структуры и последовательности изложения методики. Несмотря на то что существуют общие правила составления НД, обязательные для всех разделов [5, 8], некоторые значимые подразделы, такие как «Реактивы», «Оборудование», «Критерии пригодности системы» и т.п., часто отсутствуют, а информация, которая должна содержаться в этих подразделах, приводится в тексте других подразделов (например, «Смешивают 500 мл среды RPMI 1640 (НПО «ПанЭко» кат. № С330п или аналогичной) и 55 мл раствора фетальной бычьей сыворотки (GIBCO, кат. № 16141-061 или аналогичной)»), перегружая текст и затрудняя восприятие информации, или не приводится вовсе.

3. Еще одним упущением составителей НД является нелогичное и бессистемное описание этапов проведения испытания. Методика должна быть структурирована, изложена последовательно, в строгом соответствии с процедурой испытания, без пропуска существенных этапов и подразделов.

4. Употребление различных наименований для одного и того же образца/вещества/раствора и т.п. Так, стандартный образец в рамках одной методики не должен быть обозначен разнообразными терминами или синонимами («референс-образец», «референс-контроль», «эталонный образец», «контроль проб»), так как это приводит к путанице с образцами. При составлении НД следует соблюдать единообразие: если для какого-либо образца/вещества/раствора и т.п. в начале методики принята конкретная формулировка, то именно эта формулировка должна употребляться на протяжении всего текста раздела.

5. Аббревиатуры, сокращения и размерности величин. Несмотря на то что правила сокращения слов и обозначения размерностей величин являются общепринятыми, не все составители НД их придерживаются. Поэтому особо отметим некоторые из них.

Во-первых, каждое буквенное обозначение и сокращение должно быть расшифровано при первом упоминании в тексте.

Во-вторых, написание аббревиатур и сокращений должно быть унифицировано в пределах одного раздела. Если для стандартного образца при первом упоминании принято сокращение «СО», то другие сокращения («St», «RS») не должны встречаться в тексте раздела.

В-третьих, сокращения должны быть однозначными, т. е. одно и то же сокращение не должно применяться к разным наименованиям. Например, «фосфатидилхолин» обозначается как «РС» (сокращенно от латинского «*phosphatidylcholine*»), но и ростовая среда имеет буквенное обозначение «РС». Совершенно очевидно, что подобные сокращения не должны встречаться в пределах одного раздела, поскольку могут привести к подмене понятий.

В-четвертых, единицы измерения величин должны быть обозначены общепринятыми символами. Например, размерность величины специфической активности некоторых лекарственных препаратов следует указывать как «млн МЕ/мл» вместо «ММЕ/мл».

6. Включение в НД информации, касающейся проведения испытания на производстве, переписывание стандартных операционных процедур. Например, фраза «Проводят четыре анализа при выпускающем контроле и дополнительном анализе, и не менее двух — при испытании на стабильность» является лишней, перегружает текст раздела, а главное — не содержит

информации о том, сколько анализов необходимо провести на этапе экспертизы качества.

7. Небрежное, неграмотное составление раздела. Если грамматические, пунктуационные и стилистические ошибки, некачественно форматированный текст, содержащий лишние знаки и символы, перечисление реактивов и материалов, не используемых в испытании, ошибочное дублирование информации лишь затрудняют восприятие текста, то опечатки в цифровых обозначениях («10 мг/мл» вместо «100 мг/мл») или в обозначениях единиц измерения («мг» вместо «мкг») могут привести к невоспроизводимости методики.

Особое внимание также следует уделять информации о производителях и каталожных номерах реактивов и материалов: она должна быть проверена на опечатки и актуализирована.

Рекомендации по изложению методик оценки биологической (специфической) активности

Правила составления и оформления НД в данной статье затрагиваться не будут, поскольку они подробно отражены в «Руководстве по экспертизе лекарственных средств», однако следует отметить, что текст должен быть оформлен в едином стиле с сохранением многоуровневой иерархической структуры заголовков на протяжении всего документа [8].

Далее будут рассмотрены основные рекомендации по структуре и последовательности изложения методик раздела «Биологическая (специфическая) активность» в НД на БЛП.

1. Название раздела.
2. Подраздел «Норма».

Важно, чтобы значение, размерность и формулировка требований, приведенных в подразделе «Норма» в тексте раздела, были идентичны требованиям, указанным в спецификации. Также стоит обратить внимание на то, что для содержания определяемого вещества (количественного определения активности) следует указывать не только нижнюю, но и верхнюю границы нормы.

3. Подраздел «Принцип метода».

Содержит краткое описание сути методики и механизма действия лекарственного препарата.

4. Подраздел «Оборудование».

В перечне оборудования перечисляются наименования всех устройств и приборов, участвующих в испытании, в том числе аналитические весы для приготовления навесок реактивов, рН-метр для определения рН буферных растворов, холодильники, поддерживающие определенный диапазон температур, для хранения образцов, стандартов и реактивов.

Для каждого прибора указывается производитель и актуальная (не устаревшая) модель, а также приводится уточнение «или аналогичный» там, где это применимо.

Если для какого-либо из перечисленного оборудования замена недопустима, это необходимо отразить дополнительно.

Если использование аналогов применимо для всего перечисленного оборудования, допустимо приведение примечания к подразделу с формулировкой «В испытании может быть использовано аналогичное оборудование».

Если для обработки результатов испытания предусмотрено использование какого-либо программного обеспечения, указываются его наименование и версия, а также приводится указание о возможности использования аналогичных программ для статистической обработки (если применимо).

Перечень оборудования рекомендуется представлять сплошным списком, пронумеровав для облегчения восприятия информации.

5. Подраздел «Материалы».

Перечень материалов содержит наименования всех материалов, используемых в испытании. Для каждого материала указывается производитель и актуальный каталожный номер, а также приводится уточнение «или аналогичного качества» там, где это применимо.

Если для какого-либо из перечисленных материалов замена недопустима (например, планшеты для испытания, пробирки, обработанные антикоагулянтом, и т.п.), это необходимо отразить дополнительно.

Если использование аналогов применимо для всех перечисленных материалов, допустимо приведение примечания к подразделу с формулировкой «В испытании могут быть использованы материалы аналогичного качества».

Если в испытании участвуют несколько видов планшетов, в перечне материалов следует указать их назначение, например, «планшеты для культивирования», «планшеты для приготовления разведений», «планшеты для анализа (проведения испытания)».

Рекомендуется также достаточно подробно перечислить характеристики специфических материалов, например, для планшетов целесообразно указать не только количество лунок, но и форму дна лунки, объем лунки, цвет планшета / дна лунок, наличие или отсутствие крышки, стерильный/нестерильный, обработанный/необработанный.

Перечень материалов рекомендуется представлять сплошным списком, пронумеровав материалы для облегчения восприятия информации.

6. В подразделе «Реактивы» перечисляются наименования всех реагентов, участвующих в испытании, в том числе веществ, используемых для доведения pH буферных растворов. Наименования следует приводить полностью, без упущений, например «3,3',5,5'-Тетраметилбензидина гидрохлорид» вместо «Тетраметилбензидин» и т.п. Для каждого реактива указывается производитель и актуальный каталожный номер, а также приводится уточнение «или аналогичного качества» там, где это применимо.

Если для какого-либо из перечисленных реактивов замена недопустима (специфические реактивы), это необходимо отразить дополнительно.

Если использование аналогов применимо для всех перечисленных реактивов, допустимо приведение примечания к подразделу с формулировкой «В испытании могут быть использованы реактивы аналогичного качества».

Перечень реактивов рекомендуется представлять единым списком, не подразделяя его по этапам испытания или по группам для приготовления, например, питательной среды, буферного раствора и т.п., так как один и тот же реактив может использоваться в испытании несколько раз, таким образом, будет перечислен дважды или трижды в разных группах или на разных этапах, что приведет к путанице с реактивами и неоправданному увеличению объема раздела.

Не следует указывать в перечне некоммерческие реактивы, описание приготовления которых приведено далее в тексте, однако, если допустимо альтернативное использование готовых к применению каталожных реактивов вместо их приготовления из отдельных компонентов (например, для фосфатно-солевого буферного раствора, фосфатно-солевого буферного раствора Дюльбекко и т.п.), в общем перечне реактивов рекомендуется перечислить как составные компоненты растворов с указанием производителя и каталожного номера, так и готовые к применению растворы с указанием производителя и каталожного номера. Для готовых к приме-

нению растворов уточнить: «может быть использован вместо реактивов п.п... — п.п...».

Если реактив является стандартом/реагентом фирмы-производителя (например, антитела, конъюгат, контрольный образец и т.п.), следует привести уточнение «реагент фирмы / стандарт фирмы» или «поставляется фирмой». Для реагентов фирмы указывается наименование, концентрация (активность), условия хранения (срок годности должен быть указан в сертификате качества на реагент), условия размораживания (если применимо), процедура восстановления из лиофилизованного состояния (если применимо), условия и продолжительность хранения после восстановления/размораживания, указание на возможность повторного замораживания (если применимо).

Рекомендуется пронумеровать реактивы в перечне для облегчения восприятия информации.

7. Подраздел «Стандартные образцы».

В случае использования международного стандартного образца указывается его наименование, аттестованная характеристика (концентрация, активность), производитель, актуальный каталожный номер.

В случае использования внутреннего стандарта фирмы указывается наименование, аттестованная характеристика, указание на то, относительно какого стандартного образца откалиброван (если применимо), условия хранения (температура, чувствительность к свету).

Если допускается альтернативное использование стандартных образцов, это необходимо отразить дополнительно.

8. Подраздел «Клеточные линии» (если применимо).

Указываются полные наименования всех используемых в испытании клеточных линий, наименования каталогов (коллекций), каталожные номера и условия хранения.

Если методика испытания описана для одной из нескольких допустимых к использованию клеточных линий, следует указать, что условия испытания могут быть изменены в зависимости от чувствительности используемой в конкретном случае клеточной линии.

Если клеточная линия является готовой к использованию в испытании (ready-to-use), это необходимо указать дополнительно.

Также следует уточнить, является ли культура клеток суспензионной или адгезионной, кратко описать морфологию жизнеспособных клеток.

9. Подраздел «Индикаторный вирус» (если применимо).

Указывается источник получения индикаторного вируса, информация о наличии в международных или отечественных коллекциях вирусов.

10. Подраздел «Животные» (если применимо).

Указываются вид, линия, пол, возраст, масса и количество животных, участвующих в испытании.

11. Подраздел «Приготовление питательных сред (если применимо), буферных растворов и растворов реактивов».

Последовательно приводятся названия всех используемых в испытании сред и растворов с указанием концентрации (если применимо) и процедуры их приготовления.

Целесообразно добавить примечание к подразделу, например с формулировкой «В соответствии с требованиями анализа может быть приготовлен иной объем растворов с сохранением пропорций компонентов».

Описание приготовления компонентов питательных сред следует приводить до описания приготовления сред с использованием этих компонентов, а не наоборот. Это должно соблюдаться и для растворов реактивов.

Если для буферного раствора требуется доведение pH, необходимо указать заданный диапазон значений pH и вещества, которые используются для доведения. Если доведение pH не предусмотрено, следует описать порядок действий в случае, когда pH приготовленного раствора не соответствует заданному диапазону, например, «Если pH приготовленного раствора не соответствует заданному, раствор готовят заново».

Особое внимание нужно уделить условиям приготовления сред и растворов (нагревание, перемешивание) с указанием продолжительности воздействия.

Важно указать продолжительность и условия хранения полученного раствора/среды. Если хранение раствора не предусмотрено, приводится уточнение: «Используют свежеприготовленным, после использования в испытании не хранят» или «Допускается хранение при температуре ___ °С до момента использования в испытании, но не более ___ часов».

Если перед использованием в испытании какие-либо растворы или среды должны быть нагреты или охлаждены до определенной температуры, это необходимо указать дополнительно.

При необходимости проведения предварительной квалификации каких-либо реагентов перед использованием в испытании приводится четкое описание проведения квалификации и критерии оценки полученных результатов.

12. Подраздел «Инициация клеточной культуры» (если применимо).

Отражает процедуру выведения клеток из замороженного состояния. В подразделе указываются требования по допустимому пределу жизнеспособности клеток при размораживании.

13. Подраздел «Рутинное культивирование» (если применимо).

Содержит следующую информацию:

- количество пассажей, которые должна пройти культура с момента инициации и до использования в испытании (пассажные уровни, на которых клетки наиболее пригодны для использования в испытании);

- номер пассажа, после которого культуру нельзя использовать в испытании;

- процедуру пересевов с указанием среды, используемой для рутинного культивирования, и концентрации ростового фактора (если применимо);

- концентрацию клеток для посева в зависимости от площади флакона и частоты пересевов;

- допустимый предел жизнеспособности клеток при посевах;

- процедуры подсчета клеток и определения плотности и жизнеспособности клеточной культуры;

- условия инкубации.

Если возможно, следует также привести пример морфологии жизнеспособных клеток (в виде фотографии).

14. Подраздел «Работа с индикаторным вирусом» (если применимо).

Содержит следующую информацию:

- процедуру приготовления клеточной линии для культивирования индикаторного вируса;

- условия и процедуру оттаивания, восстановления индикаторного вируса;

- процедуру культивирования индикаторного вируса (с указанием условий инкубации, необходимого количества пересевов);

- процедуру определения титра индикаторного вируса (приводятся схема расположения образцов на планшете с расшифровкой обозначений, формулы расчета титра и рабочей дозы, допустимый титр вируса для проведения испытания);

- процедуру создания рабочего банка вируса;

- процедуру замораживания и условия хранения.

15. Подраздел «Процедура проведения испытания».

Включает в себя подробное пошаговое описание методики с четким делением на этапы, начиная с пробоподготовки образцов, участвующих в испытании, и заканчивая учетом результатов испытания.

15.1. Если испытание проводится с использованием культуры клеток, то в начале подраздела целесообразно привести информацию о количестве независимых испытаний, достаточных для получения отчетного значения, и указать, что входит в понятие «независимое испытание», например, в следующей редакции: «Для получения отчетного значения требуется проведение *n* независимых испытаний. Одно независимое испытание — испытание, в котором одному планшету для анализа соответствует один планшет с разведениями; исходные разведения испытуемого, стандартного и контрольного образцов с концентрацией *c* нг/мл готовятся независимо для каждого планшета; в каждый планшет для анализа каждое из независимых разведений образцов (испытуемого, стандартного и/или контрольного) вносится в *u* повторностях. В ходе каждого независимого испытания может быть проанализировано не более *x* серий испытуемых образцов».

В пункте «Приготовление разведений испытуемого/стандартного/контрольного образцов» для каждого из образцов следует описать процедуру восстановления / размораживания / доведения до комнатной температуры в зависимости от исходного агрегатного состояния. Также следует указать условия и продолжительность хранения после восстановления/ размораживания, привести указание на возможность повторного замораживания (если применимо).

Для препаратов в форме мазей, гелей, свечей дополнительно описывают процедуру экстракции действующего вещества.

Процедура приготовления разведений испытуемого/стандартного/контрольного образцов описывается подробно и последовательно с указанием наименования растворителя, кратности серийных разведений, исходной концентрации образца и концентраций на всех этапах разведения, а также конечного объема каждого разведения. Наглядно последовательность разведений можно оформить в виде таблицы. Следует указать, какие из разведений будут участвовать в испытании и вноситься в планшет для анализа. Если разведения готовятся в планшете для разведений, приводится схема планшета для разведений с расшифровкой использованных сокращений.

В пункте «Подготовка клеток к использованию в испытании» приводится порядок подготовки клеток к внесению в планшет для анализа (в том числе количество процедур отмывания клеток от ростового фактора или от среды для культивирования). Указываются концентрация клеток в суспензии для внесения в планшет, допустимый предел жизнеспособности клеток, используемых в испытании, объем клеточной суспензии, лунки, в которые вносится клеточная суспензия, а также продолжительность и условия инкубации планшета до момента внесения образцов.

Далее в пункте «Внесение образцов и реагентов в планшет для анализа» указываются наименования, концентрации и объемы образцов и реагентов, а также порядок их внесения в лунки планшета. Приводится схема расположения образцов на планшете с расшифровкой обозначений. Уточняются продолжительность и условия инкубации планшета после внесения образцов и реагентов (если применимо).

Если испытание проводится с участием индикаторного вируса, дополнительно приводятся условия его подготовки

к проведению испытания, схема внесения в планшет в лунки с испытуемыми образцами, а также процедура контроля дозы индикаторного вируса с указанием критериев приемлемости.

15.2. Если испытание проводится на животных, то в начале подраздела приводится информация о количестве групп, участвующих в испытании, описываются порядок группировки животных по клеткам (по количеству/массе/полу), а также схема маркировки животных.

Далее в пункте «Приготовление разведений испытуемого/стандартного/контрольного образцов» приводится та же информация, что и в случае проведения испытания на культуре клеток (см. п. 15.1).

В пункте «Введение образцов животным» указываются концентрации и объемы образцов, вводимых животным, место введения, порядок группировки животных после введения образцов (если применимо), а также продолжительность и условия наблюдения.

В пункте «Забор образцов крови у животных» описывается процедура забора крови (место забора, объем образца) и последующие манипуляции с полученными образцами (обработка антикоагулянтом, окрашивание).

Пункт «Учет результатов» является общим независимо от биологической модели, на которой проводится испытание.

Учет результатов в подавляющем большинстве случаев осуществляется с помощью специальных приборов. Если параметры настроек прибора не являются стандартными, они должны быть описаны в тексте методики. Указываются длины волн, кратность увеличения (при визуальном учете с помощью микроскопа) и другие параметры считывания.

16. Подраздел «Расчеты».

Содержит описание и формулы расчетов с подформульными расшифровками всех указанных в формуле величин. Размерность получаемой в результате расчетов величины должна совпадать с размерностью, указанной в спецификации и в подразделе «Норма».

Если для обработки результатов испытания предусмотрено использование статистической программы, указывается статистическая модель и ее параметры, которые должны быть заданы для получения отчетного значения.

Следует также привести пример стандартной кривой «доза–ответ» (если применимо).

17. Подраздел «Критерии пригодности системы».

Содержит перечень критериев, касающихся результатов, полученных для стандартного (контрольного) образца.

18. Подраздел «Критерии приемлемости результатов испытания».

Содержит перечень критериев, касающихся результатов, полученных для испытуемого образца.

19. Подраздел «Отчетное значение».

В подразделе указывают, что отчетное значение биологической (специфической) активности испытуемого образца рассчитывается по усредненным значениям n независимых испытаний, которые удовлетворяют всем нормам тестов пригодности системы и приемлемости результатов.

Также приводится указание о возможности проведения повторного испытания при несоответствии полученных результатов требованиям проекта НД по какому-либо критерию приемлемости результатов.

Заключение

Для оценки специфической активности биотехнологических лекарственных препаратов используются в основном оригинальные методики, каждая из которых имеет свои осо-

бенности. При этом все методики являются сложными, длительными, для их воспроизведения в каждом конкретном случае необходима соответствующая культура клеток, свой набор материалов, питательных сред и реагентов, для учета результатов — высокочувствительное оборудование.

Изложение методик в нормативной документации должно быть полным, подробным, последовательным, понятным и недвусмысленным. Правильное оформление нормативной документации обеспечивает выполнение лабораторной фармацевтической экспертизы на должном уровне, что будет способствовать снижению количества запросов на предоставление дополнительных документов и данных, проведению экспертизы качества в установленные сроки и, что самое главное, поступлению в медицинскую практику эффективных и безопасных лекарственных средств.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Информация об отсутствии конфликта интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература / References

1. Федеральный закон Российской Федерации от 22 декабря 2014 г. № 429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» (редакция от 03.07.2016). [Federal Law of the Russian Federation of December 22, 2014, No. 429-FZ «On Amendments to the Federal Law «On Circulation of Medicines» (edition of July 3, 2016) (In Russ.)]
2. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (редакция от 04.06.2018). [Federal Law of the Russian Federation of April 12, 2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines» (edition of June 4, 2018) (In Russ.)]
3. ICH Topic Q 6 B: Note For Guidance on Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products (CPMP/ICH/365/96).
4. Лысикова СЛ, Головинская ОВ, Зубков ДА, Мовсесянц АА. Обеспечение качества испытания при оценке специфической активности биотехнологических лекарственных средств. *Медицинская иммунология*. 2017;19(S):273–4. [Lysikova SL, Golovinskaya OV, Zubkov DA, Movsesyants AA. Ensuring the Quality of the assay in estimating of the specific activity of biotechnological products. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology*. 2017;19(S):273–4 (In Russ.)]
5. Устинникова ОБ, Рунова ОБ, Величко ЕВ. Рекомендации к составлению нормативной документации на иммунобиологические лекарственные препараты в части физико-химических показателей качества. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015;(3):8–12. [Ustinnikova OB, Runova OB, Velichko EV. Recommendations for drafting regulatory documents on immunobiological medicines particularly the section on physicochemical quality characteristics. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2015;(3):8–12 (In Russ.)]

6. ICH Topic Q 2 (R1): Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (CPMP/ICH/381/95).
7. Общая фармакопейная статья 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1, М.; 2015. [General monograph 1.1.0012.15 Validation of analytical procedures. The State Pharmacopoeia of Russian Federation 13th ed. V. 1. Moscow; 2015 (In Russ.)]
8. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 2. М.: Гриф и К; 2014. [Guidance on evaluation of medicines. V. 2. Moscow: Grif i K; 2014 (In Russ.)]

Об авторах

Головинская Ольга Вячеславовна, канд. мед. наук, эксперт 1 категории лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6966-9859>

Лысикова Светлана Леонидовна, канд. мед. наук, ведущий эксперт лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7864-8972>

Лебедева Юлия Николаевна, ведущий эксперт лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8933-6966>

Алпатова Наталья Александровна, канд. биол. наук, главный эксперт лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6807-508X>

Мовсесянц Арташес Авакович, д-р мед. наук, профессор, начальник Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2132-0962>

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Поступила 04.07.2018

Принята к публикации 09.08.2018

Authors

Olga V. Golovinskaya, Candidate of Medical Sciences, 1st Professional Category Expert of the Laboratory of Immunology of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6966-9859>

Svetlana L. Lysikova, Candidate of Medical Sciences, Leading Expert of the Laboratory of Immunology of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7864-8972>

Yuliya N. Lebedeva, Leading Expert of the Laboratory of Immunology of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8933-6966>

Natalia A. Alpatova, Candidate of Biological Sciences, Chief Expert of the Laboratory of Immunology of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6807-508X>

Artashes A. Movsesyants, Doctor of medical sciences, Professor, Head of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunological Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2132-0962>

Vadim A. Merkulov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy Director-General for Evaluation of Medicinal Products of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Received 4 July 2018

Accepted 9 August 2018