

НАДЛЕЖАЩАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ПРАКТИКА

НАЛЕЖНАЯ ЛАБАРАТОРНАЯ ПРАКТЫКА

Издание официальное

Ключевые слова: лекарственные средства, доклинические испытания, эффективность, безопасность, контроль качества, стандартная операционная процедура

Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации»

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Министерством здравоохранения Республики Беларусь
2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28.03.2008 № 56
3. Настоящий технический кодекс установившейся практики гармонизирован с Международными Правилами Надлежащей лабораторной практики Совета Специальной программы по контролю химических продуктов (OECD Principles on Good Laboratory Practice. C(97)186 Final), а также требованиями Закона Республики Беларусь № 161-3 от 20.07.2006 г. «О лекарственных средствах», соблюдая принципы и методологию изложения указанных документов, и учитывает требования ТКП 030-2006 (02040) [11], СТБ 1613-2006 [12].
4. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий технический кодекс установившейся практики не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Министерства здравоохранения Республики Беларусь

Введение

В мировой практике одним из важнейших документов, определяющих требования к объему и качеству доклинических исследований лекарственных средств, является «Надлежащая лабораторная практика» – «Good Laboratory Practice (GLP)».

Она направлена на обеспечение высокого уровня качества, безопасности и эффективности лекарственных средств и гарантирует, что лекарственное средство прошло надлежащим образом изучение вне организма человека.

Надлежащая лабораторная практика устанавливает требования к планированию, проведению, оценке качества и документированию результатов доклинических исследований лекарственных средств.

Содержание

Область применения.....	1
1 Общие положения.....	1
2 Планирование и организация доклинического исследования.....	2
3 Выполнение доклинического исследования. Персонал.....	4
4 Выполнение доклинического исследования. Помещения и оборудование.....	6
5 Выполнение доклинического исследования. Тест-системы и уход за животными.....	7
6 Выполнение доклинического исследования. Исследуемые лекарственные средства.....	8
7 Выполнение доклинического исследования. Стандартные операционные процедуры.....	10
8 Контроль качества доклинических исследований.....	10
9 Оценка и документирование результатов доклинических исследований.....	12
Приложение А	Комплект документов и данных для получения разрешения на право проведения доклинических исследований лекарственных средств 14
Приложение Б	Заключение о проверке организации, заявляемой для осуществления доклинических исследований лекарственных средств 17
Приложение В	Требования к очистке воздуха помещениях для содержания животных 18
Приложение Г	Основные показатели нормы и условия содержания лабораторных животных 19
Приложение Д	Дифференцированный подход к необходимому объему доклинических испытаний 20
Приложение Е	Основные требования к оценке безопасности лекарственных средств 21
Общие термины и определения.....	32
Библиография.....	34

ТЕХНИЧЕСКИЙ КОДЕКС УСТАНОВИВШЕЙСЯ ПРАКТИКИ**НАДЛЕЖАЩАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ПРАКТИКА****НАЛЕЖНАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ПРАКТИКА****GOOD LABORATORY PRACTICE (GLP)**

Дата введения 2008-05-01

Область применения.

Настоящий технический кодекс установившейся практики (далее – технический кодекс) устанавливает основные положения Надлежащей лабораторной практики.

Настоящий технический кодекс распространяется на все виды доклинического изучения лекарственных средств, определяет общие требования к планированию, выполнению, контролю, оценке и документированию результатов доклинических исследований, осуществляемых при разработке новых лекарственных средств, и направлен на обеспечение качества и достоверности данных, полученных в результате проведения доклинических исследований в соответствии с [1].

Технический кодекс не распространяется на клинические испытания, исследования по изучению механизмов действия лекарственных средств и их физико-химических характеристик, требования к которым приведены в других правовых актах и технических нормативных правовых актах.

Требования настоящего технического кодекса должны соблюдаться при проведении доклинических исследований лекарственных средств, результаты которых представляются в Республиканское унитарное предприятие «Центр экспертиз и исследований в здравоохранении» (далее – уполномоченная организация) с целью государственной регистрации лекарственных средств.

1. Общие положения.

1.1. Доклинические исследования лекарственных средств включают в себя химические, физические, биологические, микробиологические, фармакологические, токсикологические и другие экспериментальные исследования вне организма человека с целью получения научными методами оценок и доказательств эффективности и безопасности лекарственных средств.

1.2. Министерство здравоохранения Республики Беларусь организует и проводит государственный контроль доклинических исследований лекарственных средств во взаимодействии с уполномоченной организацией, Комиссией по лекарственным средствам Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

1.3. Уполномоченная организация осуществляет:

1.3.1. комплекс работ по техническому обеспечению оценки качества, экспертизы планирования, проведения и представления результатов доклинических исследований лекарственных средств;

1.3.2. на договорной основе экспертную оценку документации, представляемой исследовательской организацией для получения разрешения на право проведения доклинических исследований.

1.4. Доклинические исследования лекарственных средств проводятся организациями-разработчиками лекарственных средств в соответствии с настоящим техническим кодексом. Для организации и проведения исследований организации-разработчики могут привлекать исследовательские организации любой формы собственности, имеющие право на проведение доклинических исследований, необходимую материально-техническую базу, квалифицированных специалистов и проводящие доклинические исследования лекарственных средств в соответствии с настоящим техническим кодексом.

1.5. Решение о предоставлении исследовательской организации права на проведение доклинических исследований принимает Министерство здравоохранения Республики Беларусь. Для получения права на проведение доклинических исследований руководитель исследовательской организации обращается в уполномоченную организацию и представляет:

1.6. комплект документов согласно приложению А;

1.7. уставные документы;

1.8. копии отчетов о проведенных ранее исследованиях или работах, которые подтверждают компетентность исследовательской организации в проведении каждого из заявленных на право проведения тестов, методов и видов исследований.

Исследовательская организация, подавшая заявку на получение права проведения доклинических исследований, тем самым: соглашается с изложенным в настоящем кодексе порядком проведения экспертной оценки заявки, обязуется принять (в случае необходимости) инспекторов, предоставить им всю необходимую информацию и не чинить препятствий в осуществлении возложенных на инспекторов обязанностей, несет ответственность за достоверность данных изложенных в заявке на получение права проведения доклинических исследований.

Уполномоченная организация имеет право отказать в приеме документов в случае представления заявителем неполного комплекта документов, необходимого для вынесения решения о предоставлении права на проведение доклинических исследований.

1.9. Уполномоченная организация в течение 30 дней с момента заключения договора на экспертизу документов и оплаты заявителем экспертных работ проводит экспертную оценку представленного заявителем комплекта документов, подготавливает заключение о проверке заявителя согласно приложению В и представляет его на рассмотрение в Министерство здравоохранения Республики Беларусь для вынесения соответствующего решения.

1.10. На основании заключения уполномоченной организации Министерство здравоохранения Республики Беларусь принимает решение выдать (отказать в выдаче) разрешения или продлить (отказать в продлении) срока действия разрешения.

1.11. Решение оформляется в виде письма, подписанного Министром здравоохранения или уполномоченным им заместителем Министра здравоохранения Республики Беларусь.

1.12. Срок действия разрешения, а также срок его продления составляет 5 лет.

Министерство здравоохранения Республики Беларусь вправе отказать в проведении доклинических исследований в случаях представления заявителем недостоверной информации; несоответствия основным требованиям, предъявляемым к организациям, проводящим доклинические исследования (состояние материально-технической базы, квалификация сотрудников, оснащение оборудованием и др.), указанным в соответствующих разделах настоящего технического кодекса.

Министерство здравоохранения Республики Беларусь вправе принять решение об отзыве разрешения на право проведения доклинических исследований у исследовательской организации. Основаниями для данного решения могут служить: грубое нарушение действующего законодательства Республики Беларусь, правил и требований, обязательных для исполнения в лаборатории; низкое качество отчетов о проведенных исследованиях; сообщение в отчетах о проведенных исследованиях неверных, непроверенных или заведомо ложных данных. Министерство здравоохранения Республики Беларусь не будет принимать к рассмотрению результаты никаких исследований, проведенных такой исследовательской организацией после даты подписания решения об отзыве права на проведение доклинических исследований.

Исследовательская организация может подать заявку на возобновление права на проведение доклинических исследований лекарственных средств. К заявке должно быть приложено письменное обоснование мер, предпринятых, предпринимаемых или планируемых для свершения с целью исключения факторов, повлекших за собой отзыв разрешения на право проведения доклинических исследований лекарственных средств.

Уполномоченная организация формирует и поддерживает в актуальном состоянии перечень организаций, осуществляющих проведение доклинических исследований лекарственных средств в соответствии с настоящим техническим кодексом. Уполномоченная организация имеет право проинформировать администрацию организаций-разработчиков лекарственных средств о лишении исследовательской организации права на проведение доклинических исследований, а также может публично объявить об отзыве права на проведение доклинических исследований у данной исследовательской организации через специализированные издания и официальные web-сайты Министерства здравоохранения Республики Беларусь и уполномоченной организации.

1.13. Министерство здравоохранения Республики Беларусь и уполномоченная организация осуществляют периодические проверки деятельности исследовательских организаций, получивших право на проведение доклинических исследований лекарственных средств, которые включают оценку соответствия проведения исследования требованиям действующего законодательства, сравнение исходных данных и заключительного отчета, анализ результатов исследования, рассмотрение материалов архива.

1.14. После завершения полного цикла доклинических исследований лекарственного средства организация-разработчик выдает заключение о возможности проведения в дальнейшем его клинических испытаний.

2. Планирование и организация доклинического исследования.

2.1. Доклиническое исследование проводится согласно утвержденной программы (протокола) доклинического исследования и поправок к ней, стандартным операционным процедурам (далее - СОП) с надлежащим документированием полученных данных и составлением отчета о доклиническом исследовании в который заносятся результаты исследований и делается вывод о эффективности и

безопасности лекарственных средств. Доклиническое исследование проводится в соответствии с графиком работ, в который может быть включена дополнительная информация (даты предоставления отчетов о доклиническом исследовании, даты архивирования и т.д.). График работ используется для оценки объемов выполненных работ и позволяет ознакомиться с запланированными доклиническими исследованиями, как на каждом этапе доклинического исследования, так и в полном объеме.

2.2. Заказчик заключает договор с исследовательской организацией на проведение доклинического исследования, в котором должны быть оговорены все вопросы их взаимоотношений.

2.3. При этом заказчик:

2.3.1. отвечает за выполнение исследований стабильности лекарственного средства при хранении и количественного определения активного фармацевтического ингредиента в изучаемом лекарственном средстве, а при необходимости, и в средстве сравнения;

2.3.2. отвечает за своевременное обеспечение исследовательской организации необходимым количеством исследуемого лекарственного средства и препарата сравнения, их маркировку и представления всей необходимой информации по ним;

2.3.3. указывает порядок обращения с остатками исследуемого лекарственного средства и препарата сравнения после доклинического исследования;

2.3.4. рассматривает и подписывает заключительный отчет о доклиническом исследовании;

2.3.5. не имеет права оказывать влияние на ход доклинического исследования.

2.4. Для качественного проведения доклинических исследований направленных на изучение эффективности и безопасности лекарственных средств в исследовательской организации должны быть: квалифицированный персонал, помещения надлежащей планировки, необходимое оборудование и тест-системы.

2.5. Для каждого доклинического исследования приказом руководителя исследовательской организации назначаются руководитель исследования, который отвечает за доклиническое исследование и подбор персонала для него, а также ответственные лица из числа сотрудников, не участвующих в исследовании, для осуществления независимого контроля качества проведения исследования.

2.6. При многоцентровых доклинических исследованиях в каждой исследовательской организации назначается главный исследователь, при этом соподчиненность главных исследователей определяется следующим образом:

2.6.1. при заключении договора между заказчиком и исследовательской организацией, которая на договорных условиях привлекает для проведения доклинических исследований иные исследовательские организации – главные исследователи этих организаций не подчинены друг другу;

2.6.2. при заключении договора между заказчиком и всеми исследовательскими организациями, участвующими в доклиническом исследовании – подчиненность главных исследователей определяется договором между заказчиком и исследовательскими организациями (двусторонними между заказчиком и каждой из исследовательской организаций или многосторонним между заказчиком и всеми исследовательскими организациями).

2.7. Руководитель доклинического исследования организует, осуществляет и контролирует:

2.7.1. проведение доклинического исследования;

2.7.2. выполнение программы (протокола) доклинического исследования и поправок к ней, СОП;

2.7.3. обеспечивает доступ работников к материалам доклинического исследования;

2.7.4. соблюдение настоящего технического кодекса;

2.7.5. конфиденциальность полученных результатов.

2.8. В каждом доклиническом исследовании должны быть задействованы:

2.8.1. исполнители;

2.8.2. персонал, осуществляющий уход за лабораторными животными и манипуляции с ними;

2.8.3. фармацевтические работники, отвечающие за вопросы, связанные с исследуемыми и контрольными лекарственными средствами;

2.8.4. ветеринарные врачи или фельдшеры, обеспечивающие соблюдение ветеринарно-санитарных норм и контроль здоровья животных;

2.8.5. инженерная служба, которая осуществляет техническое обслуживание оборудования;

2.8.6. служба охраны труда, которая планирует и координирует работы по обеспечению безопасности персонала, принимающего участие в доклиническом исследовании;

2.8.7. архивная служба, которая обеспечивает сохранность всех экспериментальных данных, материалов и документации, полученной в ходе доклинического исследования;

2.8.8. служба контроля качества;

2.8.9. комиссия по биоэтике.

2.9. Перед началом доклинического исследования руководитель исследования должен провести собрание с целью обсуждения программы (протокола) доклинического исследования, на котором четко определяется система взаимосвязей персонала внутри доклинического исследования, порядок его проведения, обсуждаются проблемы и вопросы и отрабатываются новые технологии, если таковые имеются.

- 2.10. Программа (протокол) доклинического исследования должна включать в себя:
- 2.10.1. название доклинического исследования;
 - 2.10.2. описание цели и задач доклинического исследования;
 - 2.10.3. наименование и юридический адрес заказчика;
 - 2.10.4. наименование и юридический адрес исследовательской организации;
 - 2.10.5. фамилию, имя и отчество руководителя доклинического исследования, адрес размещения его рабочего места;
 - 2.10.6. дату и отметку о согласовании заказчиком;
 - 2.10.7. дату и отметку о согласовании руководителем доклинического исследования и службой контроля качества;
 - 2.10.8. дату и отметку об утверждении руководителем исследовательской организации;
 - 2.10.9. сведения об исследуемом лекарственном средстве (физические, химические, биологические, фармацевтические свойства);
 - 2.10.10. сведения о препарате сравнения (физические, химические, биологические, фармацевтические свойства);
 - 2.10.11. описание используемых методов доклинического исследования;
 - 2.10.12. описание используемой в доклиническом исследовании тест-системы, обоснование выбора тест-системы, вида и линии животных, количества, веса тела, возраста, методов идентификации; в физико-химических тест-системах должны быть указаны данные по оборудованию, его чувствительности;
 - 2.10.13. описание способов и путей введения исследуемого лекарственного средства и средства сравнения;
 - 2.10.14. описание приготовления исследуемого лекарственного средства и средства сравнения;
 - 2.10.15. детальное описание схемы доклинического исследования, обоснование избранной схемы доклинического исследования;
 - 2.10.16. этические нормы обращения с животными;
 - 2.10.17. оценка безопасности исследуемого лекарственного средства;
 - 2.10.18. обоснование и описание поправок к программе (протоколу) доклинического исследования;
 - 2.10.19. обоснование выбора и описание методики статистической обработки результатов доклинического исследования;
 - 2.10.20. описание процедуры подготовки отчета о доклиническом исследовании;
 - 2.10.21. перечень материалов подлежащих хранению в архивном помещении и место их хранения;
 - 2.10.22. список используемой литературы.
- 2.11. Вносимые поправки в программу (протокол) доклинического исследования утверждаются руководителем исследовательской организации после согласования с руководителем доклинического исследования, службой контроля качества и заказчиком, а отклонения от программы (протокола) доклинического исследования (незапланированные события, непредвиденные обстоятельства, упущения) фиксируются в письменном виде, пронумеровываются, подписываются исполнителем, датируются в приложении к программе (протоколу) доклинического исследования с указанием причин.

3. Выполнение доклинического исследования. Персонал.

- 3.1. Весь персонал, привлекаемый для проведения доклинического исследования, должен иметь образование, квалификацию и опыт работы, необходимые для проведения доклинических исследований. Все эти сведения оформляются в виде автобиографии исполнителей доклинического исследования.
- 3.2. Права, обязанности и ответственность, возлагаемые на персонал, закрепляются в должностных инструкциях, утверждаемых руководителем исследовательской организации.
- 3.3. В каждой исследовательской организации должна быть программа обучения персонала, участвующего в доклиническом исследовании. В программе обучения для каждого сотрудника должны быть указаны: уровень профессионализма, обязанности и вопросы обучения на текущий момент (эти данные могут быть внесены также в автобиографию).
- 3.4. Руководитель исследовательской организации обязан:
- 3.4.1. обеспечить согласование программы (протокола) доклинического исследования, поправок к ней с заказчиком и утвердить ее (их);
 - 3.4.2. обеспечить разработку и утвердить должностные инструкции на каждого сотрудника;
 - 3.4.3. утвердить СОП на проводимые в исследовательском центре доклинические испытания;
 - 3.4.4. назначить руководителя доклинического исследования, а также службу контроля качества;
 - 3.4.5. до начала работ назначить в рамках каждого раздела доклинического исследования сотрудника соответствующей квалификации с опытом работы в качестве ответственного исполнителя по предложению руководителя доклинического исследования;

- 3.4.6. назначить сотрудника, ответственного за деятельность по приему, учету, хранению и иному движению документации в архивном помещении;
- 3.4.7. обеспечить соблюдение всеми сотрудниками настоящего технического кодекса при проведении доклинических исследований.
- 3.4.8. обеспечить наличие достаточного количества персонала, необходимого оборудования и материалов для каждого доклинического исследования с целью своевременного и надлежащего его выполнения;
- 3.4.9. обеспечить регистрацию персонала;
- 3.4.10. обеспечить своевременное повышение квалификации и подготовку персонала;
- 3.4.11. постоянно контролировать соблюдение персоналом техники безопасности;
- 3.4.12. обеспечить соответствие работ основному графику работ;
- 3.4.13. обеспечить соответствие тест-систем требованиям, которые предъявляются к соответствующим доклиническим исследованиям;
- 3.4.14. обеспечить хранение копий всех утвержденных программ (протоколов) доклинических исследований и поправок к ним;
- 3.4.15. организовать и обеспечить хранение архивного файла всех СОП.
- 3.5. Руководитель исследовательской организации отвечает за достоверность проводимых доклинических исследований.
- 3.6. Руководитель исследования обязан:
- 3.6.1. согласовать программу (протокол) доклинического исследования и поправки к ней и подтвердить согласование своей подписью с указанием даты;
- 3.6.2. своевременно передать службе контроля качества копию программы (протокола) доклинического исследования со всеми поправками к ней, а также предоставить всю иную информацию по их требованию;
- 3.6.3. обеспечить разработку СОП в рамках своей компетенции и объема доклинического исследования
- 3.6.4. обеспечить доступность программы (протокола) доклинического исследования с поправками и СОП для персонала, занятого в доклиническом исследовании;
- 3.6.5. обеспечить проведение в соответствии с программой (протоколом) доклинических исследований всех необходимых манипуляций и операций, оценить и документировать влияние любых отклонений от программы (протокола) доклинических исследований на качество и целостность доклинического исследования;
- 3.6.6. обеспечить полное документирование и запись всех полученных данных;
- 3.6.7. подписать с указанием даты заключительный отчет о доклиническом исследовании, принимая на себя ответственность за достоверность представленных данных;
- 3.6.8. передать после окончания (включая и прекращение) доклинического исследования в архив программу (протокол) доклинического исследования, отчет о доклиническом исследовании, исходные данные и сопроводительные материалы.
- 3.7. Решение о замене или временном делегировании полномочий (далее - замена) руководителя доклинического исследования принимается руководителем исследовательской организации и оформляется приказом по исследовательской организации, в котором указываются причины замены и дата начала исполнения обязанностей вновь назначенного руководителя доклинического исследования. В план доклинического исследования должны быть внесены поправки, которые отражают эту замену и которые подписываются новым ответственным исполнителем, руководителем исследовательской организации и заказчиком;
- 3.8. Ответственный исполнитель должен высказать свое согласие с программой (протоколом) доклинических исследований, а также с какими-либо поправками к ней и подтвердить это своей подписью с указанием даты. Он имеет право вносить предложения по внесению поправок в программу (протокол) доклинических исследований.
- 3.9. Ответственный исполнитель обязан:
- 3.9.1. обеспечить подготовку и проведение ключевых этапов доклинического исследования, включая обучение работников;
- 3.9.2. контролировать сбор и письменное фиксирование персоналом полученных данных;
- 3.9.3. вести учет непредвиденных обстоятельств и их документирование и принимать меры по их устранению;
- 3.9.4. контролировать соблюдение СОП, регистрировать отклонения от программы (протокола) доклинических исследований и СОП;
- 3.9.5. обеспечивать сохранность первичных данных;
- 3.9.6. обрабатывать и анализировать первичные данные, проводить статистический анализ и объяснение первичных данных и представлять результаты руководителю исследования в виде промежуточного отчета о доклиническом исследовании за своей подписью с указанием даты.

3.10. Ответственный исполнитель отвечает за информирование службы контроля качества о ходе доклинического исследования в той степени, которая ее касается. Основываясь на этой информации, работники службы контроля качества составляют график проверок. Ответственный исполнитель должен немедленно реагировать на сообщения службы контроля качества.

3.11. После окончания доклинического исследования ответственный исполнитель должен подписать с указанием даты личный отчет по данному разделу доклинического исследования, удостоверяя, что в нем точно отображены проведенные исследования и полученные результаты. В этот отчет должно быть включено достаточное количество комментариев, которые дадут возможность руководителю доклинического исследования сформировать заключительный отчет о доклиническом исследовании. Ответственный исполнитель должен письменно удостоверить в личном отчете подтверждение соответствия доклинических исследований настоящему техническому кодексу или четко обозначить моменты отклонения от них.

3.12. Все сотрудники, принимающие участие в проведении доклинического исследования, должны соблюдать следующие обязанности:

3.12.1. пройти ознакомление с настоящим техническим кодексом в объеме, необходимом для их участия в доклиническом исследовании;

3.12.2. ознакомиться с программой (протоколом) доклинического исследования и СОП в части их участия в доклиническом исследовании, и придерживаться требований, изложенных в этих документах;

3.12.3. осуществлять правильную и аккуратную регистрацию полученных данных и нести ответственность за их качество;

3.12.4. соблюдать требования техники безопасности, санитарных норм, правил и гигиенических нормативов, особенно при работе с неизвестными или опасными материалами. Сотрудники должны сообщать о состоянии своего здоровья руководителю исследовательской организации, а в неблагоприятных случаях их не следует привлекать для выполнения операций, существенных для проведения доклинического исследования.

4. Выполнение доклинического исследования. Помещения и оборудование.

4.1. Исследовательская организация должна иметь достаточное количество помещений площади и планировки, обеспечивающих организацию и проведение доклинических исследований. Для экспериментальных исследований обязательно наличие вивария.

4.2. Помещения, в которых проводятся доклинические исследования, хранятся образцы, документация, лекарственные средства и содержатся лабораторные животные, должны быть соответствующей площади и планировки и располагаться, проектироваться, приспособляться и эксплуатироваться таким образом, чтобы обеспечить качественное выполнение проводимых доклинических исследований и предотвращать неблагоприятное воздействие одной процедуры на другую.

4.3. Выделяемые помещения для животных должны обеспечивать:

4.3.1. изоляцию поступающих животных, больных животных и животных, подозреваемых в носительстве инфекций;

4.3.2. раздельное содержание различных видов животных и животных одного вида, являющихся объектом доклинического исследования различных лекарственных средств;

4.3.3. соответствовать требованиям санитарно-эпидемиологического [8] и ветеринарного законодательства;

4.3.4. необходимые условия содержания животных в эксперименте.

4.4. Проведение работ с лабораторными животными на должном санитарно-гигиеническом уровне должно быть обеспечено при реализации следующего ориентировочного планирования помещений: административные помещения, зона приема животных, техническая, служебная и асептическая зоны.

4.4.1. Административные помещения включают (канцелярию), общие комнаты, бытовые комнаты, туалеты, душевые.

4.4.2. Барьерный шлюз и карантин составляют зону приема животных.

4.4.3. В технической зоне размещается оборудование, обеспечивающее лабораторию исследовательской организации электроэнергией, водой и вентиляцией.

4.4.4. Служебная зона включает складские помещения для корма, подстила, удаления отходов, прачечную, мойку (туннельные моечные машины), помещение для стерилизации (сквозные автоклавы).

4.4.5. Асептическая зона состоит из помещений для приема животных, их содержания, склада для хранения корма, чистых клеток и инвентаря для ухода за животными, «чистого» коридора для снабжения и «грязного» коридора для удаления отходов. В асептической зоне располагаются помещения для проведения исследований на лабораторных животных, назначение которых определяется задачами экспериментальных работ. В их числе могут быть предусмотрены операционные, комнаты, для электрофизиологических, биохимических, гематологических, рентгенологических исследований и другие.

4.5. Корма, оборудование и инвентарь для ухода за лабораторными животными необходимо хранить в помещениях, изолированных от мест содержания животных. В этих помещениях должны быть созданы условия, обеспечивающие сохранность корма, а также предотвращения загрязнения корма и подстилки микроорганизмами и паразитами.

4.6. Помещения для работы с опасными для здоровья и жизни человека лабораторными животными, исследуемыми лекарственными средствами, реактивами и оборудованием должны быть изолированы.

4.7. Степень очистки воздуха в помещениях для содержания животных определяется категорией используемых лабораторных животных: конвенциональные, свободные от патогенной микрофлоры (СПФ), безмикробные (гнотобионты), СПФ-животные для опытов с радиоизотопами (приложение В)

4.8. Должны быть выделены отдельные помещения для хранения и работы с исследуемым лекарственным средством и препаратом сравнения, которые должны иметь ограниченный доступ и быть изолированы от помещений для содержания лабораторных животных. В этих помещениях должны быть созданы условия для хранения лекарственных средств и их приготовления для введения, обеспечивающие сохранность структуры лекарственного средства, стабильность, чистоту, точность приготовления доз и безопасность работников.

4.9. Специальные процедуры, предусмотренные в доклиническом исследовании, должны проводиться в отдельных лабораторных комнатах. В них должны быть созданы необходимые окружающие условия, обеспечивающие недопущение жестокого обращения с животными и предотвращения загрязнения тест-систем.

4.10. Документы и образцы должны храниться в архивных помещениях. Доступ в архивные помещения должен иметь ограниченный круг лиц (устанавливается приказом руководителя исследовательской организации) – работники, рабочим местом которых являются архивные помещения, служба контроля качества и руководитель доклинического исследования.

4.11. Исследовательская организация должна иметь планы (схемы) лабораторий, которые предъявляться по требованию проверяющих или заказчика.

4.12. Для проведения доклинического исследования должно быть в наличии соответствующее оборудование, прошедшее метрологический контроль и калибровку в установленном порядке, и обеспечивающее проведение всех необходимых исследований в строгом соответствии с программой (протоколом) доклинического исследования.

4.13. Эксплуатация оборудования проводится в соответствии с техническим паспортом и инструкцией по применению.

4.14. Результаты проведения технических осмотров оборудования и текущего ремонта должны фиксироваться в специальном журнале, доступном в любое время сотрудникам, эксплуатирующим оборудование, и персоналу инженерной службы. Журнал должен содержать следующие сведения:

- 4.14.1. наименование оборудования, изготовителя, страны его происхождения;
- 4.14.2. модель оборудования;
- 4.14.3. серийный (заводской) номер;
- 4.14.4. дата получения и постановки на учет;
- 4.14.5. дата ввода в эксплуатацию; инвентарный номер, место расположения оборудования;
- 4.14.6. сотрудник, ответственный за использование оборудования;
- 4.14.7. сотрудник (подразделение, организация), ответственный за техническое обслуживание оборудования;
- 4.14.8. подробные записи о плановом техническом обслуживании оборудования, датированные и заверенные подписью ответственного сотрудника;
- 4.14.9. подробные записи о любых повреждениях, отказах в работе, ремонте оборудования, датированные и заверенные подписью сотрудника, ответственного за техническое состояние оборудования;
- 4.14.10. подробные записи о калибровке оборудования, датированные и заверенные подписью сотрудника, ответственного за техническое обслуживание оборудования.

4.15. Реактивы должны быть маркированы с указанием наименования, концентрации и срока годности, даты изготовления, особых указаний относительно условий хранения.

5. Выполнение доклинического исследования. Тест-системы и уход за животными.

5.1. Вид, размер и характеристики тест-систем должны соответствовать видам доклинических исследований. Условия проведения доклинических исследований на тест-системах должны исключать воздействие внешних факторов, способных повлиять на качество получаемых данных.

5.2. Доклинические исследования проводятся на здоровых животных, свободных от патогенной микрофлоры и паразитов. Заболевшие животные немедленно изолируются. В случае ухудшения состояния здоровья животных и (или) их гибели, не связанных с проведением

доклинического исследования, указанных животных необходимо изолировать от основной группы и подвергнуть, при необходимости, лечению, если это допускается программой (протоколом) доклинического исследования, или гуманному умерщвлению. Диагноз, лечение и его результаты должны быть документированы в первичных документах.

5.3. Все процедуры, связанные с уходом за животными (кормление, поение, смена подстилки, пересаживание, мытье клеток, уборка помещений, в которых содержатся животные, и другие процедуры) должны быть описаны в СОП.

Условия содержания лабораторных животных должны быть стандартными, обеспечивающими надлежащее состояние здоровья животных и учитывать современные требования к параметрам микроклимата, режиму освещения, площади размещения и конструкции клеток и боксов (приложение Г).

Клетки для содержания животных должны быть комфортабельными, обеспечивать необходимое пространство для свободного передвижения, просты в раздаче корма и воды, обеспечивать сухое и чистое содержание животных, легко очищаться, быть устойчивыми к стерилизации. Клетки и другой инвентарь подлежат стерилизации до размещения животных. Клетки с ее принадлежностями меняют 1-2 раза в неделю, стеллаж – 1 раз в 2 недели.

Подстилка в клетках должна обладать хорошей гигроскопичностью, не содержать вредных веществ и микроорганизмов, использоваться только после стерилизации. Для грызунов подстилка должна меняться 1-3 раза в неделю, для крупных животных – ежедневно.

Все манипуляции с лабораторными животными должны быть рассмотрены и утверждены комиссией по биоэтике.

5.4. Вновь прибывших животных изолируют для оценки состояния их здоровья. Источники поступления, условия и дата поступления должны быть документально оформлены в первичных документах. Во время карантина проводится контроль здоровья лабораторных животных в установленном порядке (наблюдение общего состояния, взвешивание, бактериологические, иммунологические, биохимические исследования).

5.5. Для обеспечения индивидуального наблюдения в процессе выполнения доклинического исследования животные должны быть идентифицированы. Способ идентификации животного документируется в первичных документах. Все клетки, вольеры, контейнеры, предназначенные для содержания животных, также подлежат маркировке. Животные одного вида, предназначенные для доклинического исследования различных лекарственных средств, пространственно изолируются друг от друга с соответствующей идентификацией.

5.6. Корма и вода для животных должны обеспечивать их пищевые потребности в соответствии с программой (протоколом) доклинического исследования, быть свободными от патогенных микроорганизмов, вредных примесей и не должны влиять на результаты доклинического исследования. Должна проводиться их периодическая проверка на загрязнение. Данные качества корма и воды и результатах их проверок документируются, являются первичными данными по доклиническому исследованию и хранятся в архивном помещении. Поилки в клетках должны гарантировать постоянное снабжение животных водой

5.7. Места содержания животных и помещения подвергаются периодической санитарной обработке, не оказывающей влияния на результаты доклинического исследования. В помещениях для содержания животных запрещается проведение каких-либо манипуляций с животными, использование моющих средств, инсектицидов и других химических веществ, способных вызвать стресс или повлиять на здоровье лабораторных животных.

5.8. Для предотвращения загрязнения окружающей среды трупы животных и биологические отходы до вывоза или сжигания должны храниться в морозильных камерах, закрытых контейнерах.

6. Выполнение доклинического исследования. Исследуемые лекарственные средства.

6.1. Заказчик предоставляет в исследовательскую организацию:

6.1.1. исследуемое вещество (лекарственное средство);

6.1.2. контрольное вещество;

6.1.3. документацию, характеризующую исследуемое лекарственное средство, с указанием температурного режима, условий и сроков хранения, данные по стабильности, информацию о мерах по обеспечению безопасности работы с исследуемым лекарственным средством, растворители и процедуры растворения, и, при необходимости, устройства для введения лекарственного средства.

6.2. Производство и хранение исследуемого лекарственного средства, а также обращение с ним осуществляется в соответствии с требованиями Надлежащей производственной практики [11][12], а использование – в соответствии с утвержденной программой (протоколом) доклинического исследования.

6.3. Объем доклинической оценки эффективности и безопасности лекарственных средств определяется принадлежностью изучаемого лекарственного средства к одной из категорий в соответствии с приложением Д.

6.4. Основные требования к оценке безопасности лекарственных средств по показателям общетоксического действия лекарственного средства, его иммунотоксичности и аллергенности, эмбриотоксического действия и влияния на репродуктивную функцию, а также мутагенности и канцерогенности изложены в приложении Е.

6.5. Заказчик до утверждения программы (протокола) доклинического исследования обязан представить в исследовательскую организацию необходимую информацию о мерах по обеспечению безопасности работы с исследуемым лекарственным средством и контрольным веществом.

6.6. Руководитель исследовательской организации должен обеспечить получение реактивов от организаций-поставщиков, которые гарантируют соответствие реактива его маркировке.

6.7. Исследуемое лекарственное средство должно иметь упаковку для защиты при транспортировке от загрязнения или порчи.

Упаковка должна иметь соответствующую маркировку (этикетку) с указанием названия, химической структуры соединения, номера серии (партии), даты выпуска, условий хранения и сроков годности лекарственного средства.

6.8. Исследовательская организация осуществляет приемку и учет исследуемого лекарственного средства и контрольного вещества в соответствии с утвержденным руководителем исследовательской организации порядком и требованиями законодательства Республики Беларусь.

6.9. Ответственность за приемку и учет исследуемого лекарственного средства и контрольного вещества возлагается на руководителя доклинического исследования, который может передать некоторые или все обязанности по приемке и учету провизору или иному работнику исследовательской организации (далее – ответственному лицу).

6.10. Ответственное лицо должно вести учет приемки исследуемого лекарственного средства и контрольного вещества в исследовательской организации, проводить инвентаризацию исследуемого лекарственного средства, регистрировать его расход на каждую тест-систему, возврат остатков лекарственного средства заказчику или способы уничтожения (утилизации) неиспользованного лекарственного средства. В журнале учета должны указываться даты приемки исследуемого лекарственного средства и контрольного вещества, количество исследуемого лекарственного средства, номера его серий (партий), сроки хранения (если установлены), номера и даты сопроводительных документов.

6.11. При приемке лекарственного средства и контрольного вещества каждая серия (партия) проверяется на:

6.11.1. отсутствие физических повреждений вследствие ненадлежащей транспортировки;

6.11.2. соответствие полученных количеств лекарственного средства, указанным в сопроводительных документах;

6.11.3. правильность заполнения сопроводительных документов.

6.12. Все обнаруженные при приемке отклонения фиксируются в акте приемки, комиссией, созданной руководителем доклинического исследования.

6.13. После приемки лекарственного средства и контрольного вещества ответственный отмечает на этикетках каждой упаковки дату получения, номер (код) доклинического исследования и другую необходимую информацию.

6.14. Исследуемое лекарственное средство должно храниться отдельно от веществ, реактивов, контрольных лекарственных средств в соответствии с рекомендациями заказчика, с соблюдением условий хранения, указанных производителем, в течение всего срока годности. Температура и влажность в местах хранения, в том числе в холодильных камерах и холодильниках, должны мониторироваться и регистрироваться в журнале учета работником, ответственным за ведение данной документации.

6.15. При необходимости дозы лекарственного средства для введения в тест-систему экстенпорально готовятся провизором, фармацевтом или иным работником исследовательской организации с соблюдением санитарно-гигиенических условий и технологии приготовления лекарственных средств, а также в соответствии с программой (протоколом) доклинического исследования и инструкциями заказчика.

6.16. Отбор определенного количества лекарственного средства, приготовление растворов нужной концентрации и другие манипуляции с исследуемым лекарственным средством и контрольным веществом должны производиться в комнате оборудованной ламинарной системой принудительной вентиляции или в асептическом помещении, в котором обеспечивается безопасность процедур и чистота приготовления доз для введения.

6.17. Все расчеты, используемые для экстенпорального приготовления доз исследуемого лекарственного средства и контрольного вещества, обязательно проверяются вторым работником до начала их приготовления, и документируются в виде первичных данных, в рабочем журнале.

6.18. Во время доклинического исследования должен проводиться учет использования исследуемого лекарственного средства и контрольного вещества в журнале учета с указанием следующих данных:

6.18.1. номера (кода) доклинического исследования;

- 6.18.2. первоначального количества;
 - 6.18.3. количества, взятого для доклинического исследования с указанием даты;
 - 6.18.4. остатка после проведения всех манипуляций;
 - 6.18.5. подписи ответственного лица.
- 6.19. При необходимости проведения проверки исследуемого лекарственного средства на стабильность в соответствии с программой (протоколом) доклинического исследования исследовательская организация возвращает заказчику одну неиспользованную емкость с исследуемым лекарственным средством и одну частично использованную после окончания доклинического исследования и хранения его в условиях, указанных заказчиком, для проведения им необходимых доклинических исследований.
- 6.20. Если программой (протоколом) доклинического исследования предусмотрено проведение контроля правильности экстреморального приготовления растворов для введения, в первый и последний день введения исследуемого вещества готовятся дополнительные дозы и передаются заказчику для проведения испытаний.
- 6.21. Из каждой серии (партии) исследуемого лекарственного средства и контрольного вещества либо исследовательской организацией, либо заказчиком по решению последнего обязательно резервируется один образец исследуемого лекарственного, который не используется для проведения доклинического исследования. Срок резервирования определяется заказчиком, но составляет не менее срока годности.
- 6.22. После окончания доклинического исследования и проведения сверки остатков лекарственного средства и контрольного вещества по решению заказчика производится возврат остатков или их уничтожение (утилизация) в исследовательской организации.

7. Выполнение доклинического исследования. Стандартные операционные процедуры.

- 7.1. СОП разрабатываются на все лабораторные исследования или работы, включая:
- 7.1.1. поступление, идентификацию, маркировку, обработку, отбор проб, использование и хранение исследуемых лекарственных средств;
 - 7.1.2. обслуживание и калибровку измерительных приборов и оборудования для контроля окружающей среды;
 - 7.1.3. приготовление реактивов, питательных сред, кормов;
 - 7.1.4. ведение записей, отчетов о доклиническом исследовании и их хранение;
 - 7.1.5. обслуживание помещений, в которых содержатся тест-системы;
 - 7.1.6. прием, транспортировку, размещение, описание, идентификацию и уход за тест-системами;
 - 7.1.7. обращение с тест-системами;
 - 7.1.8. обезвреживание или уничтожение (утилизацию) тест-системы;
 - 7.1.9. осуществление программы по обеспечению качества доклинического исследования;
 - 7.1.10. разработку программы (протокола) доклинического исследования и итогового отчета о доклиническом исследовании, а также разработку и пересмотр СОП и другие работы.
- 7.2. СОП должны соответствовать современному методическому уровню, иметь четкое конкретное, последовательное изложение выполняемых работ, содержать указания стандартных требований к реактивам, растворителям, приборам, оборудованию, времени и условиям проведения процедуры.
- 7.3. Соблюдение СОП гарантирует качество, достоверность, точность и воспроизводимость результатов доклинического исследования.
- 7.4. Отклонения от СОП должны быть документально оформлены и согласованы с руководителем доклинического исследования. СОП должны быть своевременно пересмотрены.
- 7.5. Сотрудники исследовательской организации должны своевременно проходить обучение новым СОП и иметь их на своих рабочих местах. В исследовательской организации должен вестись каталог действующих СОП с указанием версии, даты вступления в силу и даты пересмотра.

8. Контроль качества доклинических исследований.

- 8.1. Качество проводимых доклинических исследований обеспечивается контролем со стороны заказчика и руководителя доклинического исследования в виде:
- 8.1.1. мониторинга контроля качества проводимого доклинического исследования и соблюдения правил по проведению доклинических исследований осуществляемого службой контроля качества (далее – мониторинг);
 - 8.1.2. аудитом доклинического исследования (далее – аудит) осуществляемого уполномоченной организацией и (или) представителями Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

8.2. Руководитель исследовательской организации обязан организовать осуществление мониторинга контроля качества проводимого доклинического исследования службой контроля качества. Периодический осмотр каждой стадии испытания проводится через интервалы, регламентированные общим сроком выполнения исследований. При сроках около одного года – 4 раза, длительности работы менее 6 месяцев – 2 раза через каждые 3 месяца, при исследованиях, проводимых в течение 2-х недель или одного месяца - осмотр не менее двух раз в течение исследования. По согласованию с руководителем исследовательской организации он может осуществляться представителями заказчика. Сотрудники службы контроля качества должны быть знакомы с процедурами доклинического исследования. По результатам мониторинга контроля качества доклинического исследования оформляется заключение о ходе проведения доклинического исследования, которое доводится до сведения руководителя исследовательской организации и руководителя доклинического исследования, а в случае выявления недостатков и нарушений, представляются письменные рекомендации по их устранению.

8.3. Сотрудники службы контроля качества обязаны:

8.3.1. вести реестр доклинических исследований в исследовательской организации с указанием для каждого из них:

8.3.1.1. руководителя доклинического исследования и заказчика;

8.3.1.2. названия исследуемого лекарственного средства;

8.3.1.3. описания тест-системы;

8.3.1.4. даты начала доклинического исследования;

8.3.1.5. состояния доклинического исследования на текущий момент времени.

8.3.2. иметь в наличии копии всех программ (протоколов) доклинических исследований и поправок к ним, СОП, а также иметь доступ к основному графику работ;

8.3.3. владеть информацией, которая позволяет подтвердить, что программа (протокол) доклинических исследований и поправки соответствуют настоящему техническому кодексу. Это подтверждение должно быть оформлено соответствующей записью на программе (протоколе) доклинических исследований и подписано с указанием даты;

8.3.4. следить за тем, чтобы в ходе выполнения доклинического исследования не происходило изменений программы (протокола) доклинического исследования и СОП без установленного порядка их согласования и утверждения;

8.3.5. проверять отчет о доклиническом исследовании для подтверждения того, что методы доклинического исследования, процедуры и наблюдения описаны точно и полностью, а предоставленные результаты доклинического исследования точно и полностью отображают данные, полученные в результате доклинического исследования;

8.3.6. немедленно доводить до сведения руководителя доклинического исследования и руководителя исследовательской организации факты обнаружения недостатков, которые могут повлиять на качество доклинического исследования;

8.3.7. готовить и подписывать часть отчета о доклиническом исследовании, которая содержит сведения о выполненных инспекционных проверках, датах проверок, вносится в отчет о доклиническом исследовании и является подтверждением того, что отчет о доклиническом исследовании правильно и точно отражает полученные в процессе доклинического исследования результаты;

8.3.8. представлять возможность уполномоченной организации знакомиться с документами, подтверждающими работу службы контроля качества.

8.4. Сотрудники службы контроля качества в рамках исполнения своих обязанностей в соответствии с пунктом 8.3 проводят инспекционные проверки с целью определения соответствия проведенных доклинических исследований настоящему техническому кодексу. Инспекционные проверки должны также подтверждать, что программа (протокол) доклинического исследования и соответствующие СОП доступны работникам, и они придерживаются этих документов.

8.5. Инспекционные проверки могут быть трех типов:

8.5.1. проверка доклинических исследований;

8.5.2. проверка тест-систем;

8.5.3. проверка отдельных процедур доклинических исследований.

8.6. Министерство здравоохранения Республики Беларусь самостоятельно и через уполномоченную организацию осуществляет периодический аудит исследовательских организаций, который включает оценку соответствия проведения доклинического исследования утвержденной программе (протоколу) доклинического исследования, сравнение первичных данных с результатами отчета о доклиническом исследовании, анализ полученных результатов доклинического исследования.

8.7. Контроль соблюдения этических норм обращения с животными при проведении доклинических исследований осуществляется Министерством здравоохранения Республики Беларусь через уполномоченную организацию или Национальный комитет по биоэтике Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

9. Оценка и документирование результатов доклинических исследований.

9.1. Сбор, обработка и хранение информации, полученной в ходе доклинического исследования, должны обеспечивать точное и обоснованное представление, объяснение и подтверждение эффективности и безопасности лекарственных средств.

9.2. Каждое доклиническое исследование должно иметь свою уникальную идентификацию. Все материалы, которые относятся к данному доклиническому исследованию, должны содержать эту идентификацию. Образцы данного доклинического исследования должны нести информацию об их происхождении. Такая идентификация обеспечивает возможность оперативного контроля доклинического исследования.

9.3. Все изменения в первичных данных должны вноситься таким образом, чтобы оставалась возможность прочтения информации, содержащейся в предыдущих записях. При этом должна быть указана причина изменений; изменения должны быть подписаны и датированы сотрудником, вносящим изменения.

9.4. Данные, которые непосредственно вводятся в компьютер сотрудником, ответственным за ввод данных, должны быть идентифицированы по времени введения. Компьютерные системы обработки данных должны быть сконструированы таким образом, чтобы обеспечить проведение полных инспекторских проверок всех изменений данных, а также подтверждение того, что эти изменения не повлияли на первичные данные. Должна быть обеспечена возможность идентификации сотрудника, внесившего изменения, например, используя электронное датирование и подпись, а также должна быть указана причина внесенных изменений.

9.5. К первичным данным доклинического исследования относится информация, содержащаяся в первичной документации: записи в рабочих листах, лабораторных журналах, микрофильмы, фотографии, компьютерные распечатки и распечатки автоматизированных приборов, информация на электронных носителях, квитанции, ценники, сертификаты на животных, записи мониторинга параметров окружающей среды в комнатах, записи о состоянии здоровья животных (в том числе о случаях внезапных заболеваний животных), служебные записки, касающиеся доклинического исследования, записи об эксплуатации, техническом обслуживании и калибровке оборудования, все расчетные процедуры, записи о проведении обучения работников.

9.6. Каждый лист документа с первичными данными доклинического исследования подписывается с указанием даты сотрудником (сотрудниками), их внесшим. В ходе доклинического исследования все документы с первичными данными доклинического исследования подшиваются в отдельную папку.

9.7. Исправления первичных данных доклинического исследования оформляются в виде дополнений, которые подписываются и датируются ответственными исполнителями с указанием причин ошибок.

9.8. Образцы лекарственных средств, навески и другие материалы должны иметь индивидуальный шифр, позволяющий однозначно идентифицировать доклиническое исследование, использовавшийся тест, метод, вид доклинического исследования и биологический материал (кровь, органы, ткани и другие), а также ссылку на работников лаборатории, принимавших участие в получении данных или образцов, в подготовке или проведении доклинического исследования.

9.9. Заявитель в течение 30 дней после окончания проведения доклинического исследования лекарственного средства представляет в уполномоченную организацию и Комиссию по лекарственным средствам Министерства здравоохранения Республики Беларусь отчет о проведенном исследовании.

9.10. В отчете о доклиническом исследовании должны быть представлены:

9.10.1. наименование, юридический адрес исследовательской организации, даты начала и завершения доклинического исследования, цель и задачи доклинического исследования;

9.10.2. описание исследуемого лекарственного средства, включая сведения о его физических, химических, биологических, фармацевтических свойствах, составе лекарственной формы;

9.10.3. вид доклинического исследования, характеристика и обоснование тест-системы, отобранной для проведения доклинических исследований;

9.10.4. в случае проведения экспериментальных исследований на животных необходимо указать: вид, возраст, количество животных в каждой группе, пол, показатели массы тела, источник питания; режим дозирования, кратность и путь введения исследуемого лекарственного средства;

9.10.5. схема проведения доклинического исследования лекарственного средства;

9.10.6. описание методов статистической обработки результатов;

9.10.7. результаты доклинического исследования, представленные в виде обобщающих таблиц (графиков) с соответствующей статистической обработкой, и комментариев к ним, обсуждение результатов;

9.10.8. датированные и подписанные промежуточные отчеты ответственных исполнителей по ключевым процедурам (этапам или частям) доклинического исследования;

9.10.9. описание всех отклонений, которые могли повлиять на качество получаемых результатов;

9.10.10. указание, где и как будут храниться результаты доклинического исследования;

9.10.11. выводы;

9.10.12. отчет службы контроля качества.

9.11. Отчет о результатах проведения доклинических исследований составляется и подписывается руководителем доклинического исследования и всеми ответственными сотрудниками, подготовившими отдельные части отчета, утверждается руководителем исследовательской организации и скрепляется печатью исследовательской организации.

9.12. В случае, если в отчет включены разделы, подготовленные организациями-соисполнителями, данные разделы должны содержать общую информацию о каждой организации-соисполнителе.

9.13. Дополнения и поправки к отчету о доклиническом исследовании должны быть оформлены в виде приложений, содержащих ссылку на соответствующий раздел отчета (параграф, рисунок, таблицу и т.д.) и оформлены в соответствии с пунктом 9.11 настоящего технического кодекса.

Все последующие изменения и поправки к отчету должны быть оформлены с четким указанием на тип документа и исходный отчет. Например: «*Изменения к отчету об исследованиях ... № ... от ...*» или «*Дополнения к отчету об исследованиях ... № ... от ...*».

9.14. Материалы доклинического исследования должны позволять восстановить ход доклинического исследования. После проведения доклинического исследования материалы передаются в архивное помещение. Условия архивного помещения должны обеспечивать безопасное и конфиденциальное хранение всех материалов доклинического исследования, а также иметь ограниченный четко контролируемый доступ.

9.15. Документация, переданная в архивное помещение, должна иметь обозначения, обеспечивающие ее быстрый поиск, и хранится в течение сроков, определяемых заказчиком, в зависимости от необходимости регистрации лекарственного средства в других странах.

9.16. Руководитель исследовательской организации обязан известить заказчика об уничтожении любой документации и образцов, хранящихся в архивных помещениях, а также о реорганизации или ликвидации организации и структурных подразделений, принимающих непосредственное участие в проведении доклинических исследований.

9.17. Работники, принимающие участие в проведении доклинического исследования, обязаны соблюдать конфиденциальность в отношении любых данных, полученных в ходе доклинического исследования в соответствии с законодательством Республики Беларусь.

9.18. В исследовательской организации должны выполняться условия по обеспечению конфиденциальности результатов доклинических исследований в соответствии с требованиями договора с заказчиком и законодательством Республики Беларусь.

Приложение А
(обязательное)

**КОМПЛЕКТ ДОКУМЕНТОВ И ДАННЫХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАЗРЕШЕНИЯ НА ПРАВО
ПРОВЕДЕНИЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ.**

ЗАЯВЛЕНИЕ
на получение права на проведение доклинических
исследований лекарственных средств

Прошу разрешить _____
(полное наименование заявителя, место нахождения (юридический адрес)

на проведение доклинических исследований _____
(вид доклинического исследования)

Руководитель подразделения _____
(фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность)

Вид доклинических исследований лекарственных средств:

1. токсикологические:
 - острая токсичность;
 - подострая, субхроническая, хроническая токсичности;
 - кумулятивное действие;
 - местнораздражающее действие;
 - аллергенность;
 - иммунотоксичность;
 - тератогенность;
 - мутагенность;
 - эмбриотоксичность;
 - гонадотоксичность;
 - канцерогенность;
 - пирогенность;
2. общефармакологические;
3. специфические фармакологические (необходимо указать клинико-фармакологическую группу);
4. фармакокинетические;
5. химические, физические, биологические, микробиологические и иные доклинические исследования.

Руководитель организации _____
(подпись)

М.П.

_____ (инициалы, фамилия)

« _____ » _____ 200__ г.

СПИСОК
сотрудников для участия в проведении доклинических исследований
лекарственных средств

№ п/п	Фамилия, инициалы	Должность	Образование (специальность, учебное заведение, год окончания)	Владение видом доклинического исследования	Стаж работы по профилю исследования	Примечание
1	2	3	4	5	6	7

Руководитель организации _____
(подпись) _____
(инициалы, фамилия)

М.П.

« _____ » _____ 200__ г.

СПРАВКА
о состоянии производственных помещений для проведения
доклинических исследований лекарственных средств

Назначение помещения	Специальное или приспособленное	Площадь, кв.м.	Температура, °С, влажность, %	Наличие специального оборудования	Примечание
1	2	3	4	5	6

Руководитель организации _____
(подпись) _____
(инициалы, фамилия)

М.П.

« _____ » _____ 200__ г.

**Оборудование и аппаратура заявителя для проведения
доклинических исследований лекарственных средств**

№ п/п	Наименование, тип (марка), серийный (заводской) номер	Изготовитель (страна, предприятие, фирма)	Основные технические характеристики	Год ввода в эксплуатацию	Оценка состояния (№ свидетельства о метрологической поверке, периодичность)	Степень амортизации, %	Примечание
1	2	3	4	5	6	7	8

Руководитель организации _____
(подпись) _____
(инициалы, фамилия)

М.П.

« _____ » _____ 200__ г.

СПРАВКА
о наличии лабораторных животных и условиях их содержания

Вид _____
 Порода _____
 Пол _____
 Масса тела _____
 Общее количество _____
 Источник получения _____
 Период акклиматизации _____
 Идентификация _____
 Рандомизация _____
 Количество лабораторных животных в клетке _____
 Размеры клетки _____
 Материал клетки _____
 Рацион _____
 Температура воздуха _____
 Влажность воздуха _____

Руководитель организации _____
 (подпись) _____ (инициалы, фамилия)

М.П.

« _____ » _____ 200__ г.

ПЕРЕЧЕНЬ
методов, используемых заявителем при проведении доклинических исследований
лекарственных средств

№ п/п	Название метода	Ссылка на литературный источник
1	2	3

Руководитель организации _____
 (подпись) _____ (инициалы, фамилия)

М.П.

« _____ » _____ 200__ г.

ПЕРЕЧЕНЬ
стандартных операционных процедур

№ п/п	Название стандартной операционной процедуры
1	2

Руководитель организации _____
 (подпись) _____ (инициалы, фамилия)

М.П.

« _____ » _____ 200__ г.

Приложение Б
(обязательное)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о проверке организации, заявляемой для осуществления доклинических исследований лекарственных средств

_____ (полное наименование организации)

_____ (дата составления заключения)

_____ (город)

В период с «__» _____ 20__ г. по «__» _____ 20__ г. на основании _

_____ (название, номер и дата документа о проведении проверки)

Комиссия в составе председателя _____ (фамилия, инициалы, должность, место работы)

и членов комиссии _____ (фамилия, инициалы, должность, место работы)

провела проверку с целью _____

При проверке установлено:

Оценка технической компетентности организации	Заключение комиссии
1	2
1. Квалификация и опыт работы персонала в заявленной области доклинических исследований, состояние работы по повышению квалификации сотрудников	
2. Условия размещения персонала, размещения оборудования, тест-систем	
3. Оснащенность и состояние оборудования	
4. Характеристика тест-систем	
5. Наличие и эффективность системы обеспечения качества доклинических исследований лекарственных средств	
6. Научно-методическое обеспечение проведения доклинических исследований лекарственных средств	

Комиссия рекомендует _____ (замечания и рекомендации по устранению недостатков и совершенствованию работы заявителя)

Заключение _____

Председатель комиссии _____ (подпись) _____ (инициалы, фамилия)

Члены комиссии: _____ (подпись) _____ (инициалы, фамилия)

_____ (подпись) _____ (инициалы, фамилия)

_____ (подпись) _____ (инициалы, фамилия)

С заключением ознакомлен:
Руководитель организации _____ (подпись) _____ (инициалы, фамилия)

«_____» _____ 200__ г.

Приложение В
(обязательное)

ТРЕБОВАНИЯ К ОЧИСТКЕ ВОЗДУХА ПОМЕЩЕНИЯХ ДЛЯ СОДЕРЖАНИЯ ЖИВОТНЫХ

Группа	Вид вентиляции	Способ вентиляции	Категории испытаний
I	Подача свежего воздуха, частичное удаление бактерий, пыли, запаха	Общепринятые требования к вентиляции общественных зданий	Испытания на конвенциональных животных
II	Удаление бактерий и пыли приточного воздуха	Используются специальные фильтры, виниловый изолятор, а также вентиляция за счет разности давления снаружи и внутри здания	Помещения для животных свободных от патогенной флоры и гнотобионтов
III	Удаление бактерий, пыли, дезинфекция вытяжного воздуха	Применяются специальные фильтры, установка для стерилизации вытяжного воздуха, виниловый изолятор, воздухообмен за счет разности давлений	Испытания на инфицированных животных, с радиоизотопами
IV	Приточно-вытяжная система для удаления бактерий, пыли и дезинфекции	Комбинированное применение систем для II и III групп	Помещения для содержания животных свободных от патогенной флоры и работы с радиоизотопами

Приложение Г
(обязательное)

ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ НОРМЫ И УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Виды	Длительность беременности (дни)	Возраст полового созревания	Температура тела, °С	Частота дыхания в минуту	Частота сердцебиения в минуту	Условия содержания			
						Температура, °С	Влажность, %	Потребление пищи в день	Потребление воды в день
МЫШИ	19 (18-21)	28-35 дн	36-38	163 (84-230)	300-800	19-23	50 (45-70)	3-6 г	4-7 мл
КРЫСЫ	21 (20-23)	50-70 дн	37,5-38,5	85-113 (62-169)	300-500	19-23	50 (60-80)	12-15 г	15-25 мл
ХОМЯКИ	16	28-40 дн	35,5-37,0	74 (33-127)	380-412	19-23	50 (40-60)	8-12 г	8-10 мл
МОРСКИЕ СВИНКИ	63 (62-68)	♂ 70 дн ♀ 21-28 дн	37,8-39,5	82-90 (69-104)	230-280	18-23	50 (50-70)	35 г	50-100 мл
КРОЛИКИ	31 (23-34)	90-120 дн	38,5-39,5	53 (38-60)	200-250	15-19	50	40 г/кг	60-140 мл
КОШКИ	63 (57-71)	7-12 мес	38-39	30 (25-35)	110-240	18-22	50	80-100 г	200 мл
СОБАКИ	63 (62-67)	7-12 мес	37,5-39,0	13-22 (11-37)	70-120	15-21	50 (45-65)	2-3% массы тела	30 мл/кг

Вид животных	Масса тела	Минимальная площадь пола клетки на 1 особь
МЫШИ	<10 г	38,7 см ²
	10-15 г	51,6 см ²
	15-25 г	77,4 см ²
	>25 г	96,8 см ²
КРЫСЫ	<100 г	109,7 см ²
	100-200 г	148,4 см ²
	200-300 г	187,1 см ²
	300-400 г	258,1 см ²
	400-500 г	387,1 см ²
	>500 г	451,6 см ²
ХОМЯКИ	<60 г	64,5 см ²
	60-80 г	83,9 см ²
	80-100 г	103,2 см ²
	>100 г	122,6 см ²
МОРСКИЕ СВИНКИ	<350 г	387,1 см ²
	>350 г	651,6 см ²
КРОЛИКИ	<2 кг	0,14 м ²
	2-4 кг	0,28 м ²
	4,0-5,4 кг	0,37 м ²
	>5,4 кг	0,46 м ²
КОШКИ	<4 кг	0,28 м ²
	>4 кг	0,37 м ²
СОБАКИ	<15 кг	0,74 м ²
	15-30 кг	1,12 м ²
	>30 кг	2,23 м ²

Приложение Д
(обязательное)

ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К НЕОБХОДИМОМУ ОБЪЕМУ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ

Категории лекарственных средств	I									II		III				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	1	2	3	4	5
1. Средства с новыми активными ингредиентами	О	О	О	О	Н	Н	Н	Н	Н	О	О	О	О	О	О	Х
2. Средства с новым способом применения	О	О	О	О	Х	Х	Х	Х	Н	О	Х	О	О	О	О	Х
3. Средства с новыми показаниями	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	О	Х	О	О	О	О	Х
4. Средства с измененной лекарственной формой	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	О	О	О	О	Х
5. Средства с рекомендацией новой дозы	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	О	Х	О	О	О	О	Х

I – Доклинические токсикологические данные:

- 1 – острая токсичность
- 2 – подострая токсичность
- 3 – хроническая токсичность
- 4 – тератогенность и гонадотоксическое действие
- 5 – лекарственная зависимость
- 6 – антигенность
- 7 – мутагенность
- 8 – канцерогенность
- 9 – местное раздражающее действие

II – Оценка фармакологического действия:

- 1 – специфическая фармакологическая активность
- 2 – общая фармакологическая активность

III – Оценка фармакокинетики:

- 1 – всасывание
- 2 – распределение
- 3 – метаболизм
- 4 – выделение
- 5 – биодоступность

О – исследование выполняется обязательно, Х – исследование не требуется, Н – исследование выполняется по мере надобности.

Приложение Е (обязательное)

ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ИЗУЧЕНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ.

1. Оценка общетоксического действия является обязательной для:
 - 1.1. как для субстанции, так и готовых лекарственных форм новых оригинальных веществ;
 - 1.2. новой лекарственной формы, если она содержит новые активные ингредиенты или вспомогательные вещества, не разрешенные для применения в медицинской практике;
 - 1.3. лекарственной формы известных лекарственных средств при измененной технологии ее производства;
 - 1.4. лекарственной формы известных лекарственных средств, рекомендованных для нового пути введения;
 - 1.5. новых комбинаций разрешенных лекарственных средств, если установлено изменение фармакокинетических параметров компонентов.
2. Все новые лекарственные средства должны быть изучены на грызунах (рандомбредных или линейных) и негрызунах. Длительность токсикологического эксперимента определяется продолжительностью его клинического применения (согласно таблице).

Длительность применения средства у человека	Длительность введения средства животным	
	Подострая токсичность	Хроническая токсичность
Однократно	5-7 дней	28 дней
2-6 дней	14 дней	90 дней
7-14 дней	28 дней	2 месяца
15-30 дней	28 дней	4 месяца
1-6 месяцев и более	90 дней	6-12 месяцев

3. Исследования на грызунах:
 - 3.1. Изучение острой токсичности:
 - 3.1.1. животные: два вида (мыши, крысы) половозрелые, обоего пола;
 - 3.1.2. число животных в группе не менее 5 животных;
 - 3.1.3. путь введения: пероральный и парентеральный, включая рекомендованный для клинического применения;
 - 3.1.4. дозы: 4-5 доз, достаточных для расчета DL_{50} ; если вещество обладает малой токсичностью, то следует ввести максимально возможную дозу при изучении острой токсичности с учетом технических возможностей; при изучении острой токсичности, как правило, используется 5 групп животных; среднесмертельная доза DL_{50} рассчитывается методом пробит-анализа;
 - 3.1.5. частота введения: однократно;
 - 3.1.6. период наблюдения: 14 дней;
 - 3.1.7. экспериментальная программа: ежедневное наблюдение общего состояния, взвешивание животных 3 раза в течение периода наблюдения, вскрытие павших животных и всех выживших в конце эксперимента, макроскопическое описание, определение относительной массы органов и изучение гистологической структуры органов с выраженными макроскопическими изменениями.
 - 3.2. Изучение подострой (субхронической) токсичности
 - 3.2.1. животные: один вид взрослых животных обоего пола;
 - 3.2.2. число животных в группе не менее, чем по 10 особей обоего пола;
 - 3.2.3. путь введения: рекомендованный для клинического применения.
 - 3.2.4. дозы: три дозы с обязательным формированием контрольных групп самок и самцов; меньшая из исследуемых доз – терапевтическая, максимальная вызывает интоксикацию и частичную гибель животных, средняя выбирается между ними;
 - 3.2.5. экспериментальная программа: ежедневная регистрация общего состояния, взвешивание 1 раз в неделю, потребление пищи каждым животным или группой, по крайней мере, 1 раз в неделю в течение эксперимента. До введения препарата и в течение эксперимента проводятся гематологические, биохимические, офтальмологические, физиологические исследования, проводится анализ мочи, а при необходимости дополнительные исследования.
- Погибшие в течение эксперимента и умирающие животные подлежат вскрытию, макроскопическому описанию, органы взвешиваются и подвергаются гистологическому исследованию. В конце опыта все выжившие животные в каждой группе подвергаются вскрытию, макроскопическому описанию, органы взвешиваются.
- Гематологические и биохимические исследования должны быть сделаны при завершении эксперимента и у умерших животных. Гистологическому исследованию подвергаются, как правило,

все контрольные животные и те, которые подвергались воздействию наибольшей изученной дозы препарата. Органы и ткани животных остальных групп подвергаются гистологическому изучению по итогам исследования воздействия максимальной дозы и на основании макроскопических изменений органов.

3.3. Изучение хронической токсичности

3.3.1. животные: один вид здоровых взрослых животных обоего пола;

3.3.2. число животных в каждой группе должно быть не менее чем по 20 особей обоего пола.

3.3.3. путь введения: по возможности должен соответствовать рекомендованному для клинического применения.

3.3.4. дозы: лекарственное средство изучается в трех дозах с осязательным выделением контрольной группы животных;

Если введение вещества требует растворителей или каких-либо добавок, то, наряду с интактным контролем необходим контроль, получающий соответствующий растворитель. Выбор изучаемых доз в хроническом эксперименте базируется на результатах фармакологических исследований, острой и подострой токсичности. Наименьшая из изучаемых доз - эффективная доза для используемого в эксперименте вида животного. Максимальная доза должна вызывать проявления интоксикации, но не гибель подопытных животных. Средняя доза занимает промежуточное положение между ними.

3.3.5. длительность введения: от 6 до 12 месяцев с частотой 7 раз в неделю.

3.3.6. экспериментальная программа: общее состояние всех животных регистрируется ежедневно; взвешивание производится 1 раз в неделю в первые 3 месяца эксперимента, затем 1 раз в месяц; потребление пищи каждым животным или группой должно измеряться 1 раз в месяц; у части животных каждой группы необходимо провести анализ мочи, офтальмологические, гематологические, биохимические и физиологические исследования каждые 6 месяцев в течение введения препарата.

Интегральные тесты: выживаемость, прирост массы тела, потребление пищи, общее поведение, осмотр, пальпация, ректальная температура.

Гематологические исследования: гематокрит, гемоглобин, количество эритроцитов, цветовой показатель, скорость оседания эритроцитов, средний объем эритроцитов, количество лейкоцитов, лейкограмма, тромбоциты, ретикулоциты, миелограмма, коагулограмма.

Биохимические исследования сыворотки крови: аспартаттрансаминаза, аланинтрансаминаза, лактатдегидрогеназа, билирубин, глюкоза, ионы натрия, калия, общий белок, мочевины, креатинин, щелочная фосфатаза, общие липиды, общий холестерин.

Исследования мочи: спонтанный диурез, pH мочи, белок, билирубин, сахар, кетоновые тела, уробилиноген, мочевины, ионы натрия, калия, анализ осадка мочи

Нагрузочные пробы: бромсульфалеиновая проба, длительность «гексеналового сна», оценка секреторной функции почек по экскреции фенолового красного.

Физиологические исследования: тест «открытого» поля, спонтанная двигательная активность, исследовательский рефлекс, рефлекс активного и пассивного избегания, суммация подпороговых импульсов, электрокардиография, измерение кровяного давления.

Патоморфологические исследования. Гистологическому исследованию подвергаются следующие органы и ткани животных: кожа, молочные железы, лимфатические узлы, подчелюстные железы, грудина, бедро, костный мозг, тимус, трахея, легкие, сердце*, щитовидная железа, паращитовидная железа, язык, пищевод, желудок, 12-перстная кишка, тонкий кишечник, толстый кишечник, печень*, поджелудочная железа, селезенка*, почки*, надпочечники*, мочевого пузырь, семенные пузырьки, простата*, яички*, яичники*, матка, влагалище, головной мозг*, гипофиз*, спинной мозг, глазное яблоко и другие органы и ткани с макроскопическими изменениями. При этом органы, отмеченные звездочкой, как правило, взвешиваются.

Погибшие и умирающие животные должны быть вскрыты, описаны макроскопически, органы взвешены и подвергнуты гистологическому исследованию.

После прекращения введения препарата часть животных оставляется для изучения восстановительного периода, если установлены функциональные изменения; остальные выжившие животные подвергаются вскрытию, макроскопическому описанию, органы взвешиваются.

Гистологическому исследованию подвергаются животные контрольной группы и группы, подвергающейся воздействию максимальной дозы препарата; органы животных других групп подвергаются гистологическому исследованию по мере необходимости, при обнаружении макроскопических изменений в органах, при выявлении органов-мишеней; необходимые гематологические и биохимические исследования проводятся во всех группах при забое.

4. Исследования на негрызунах (собаки-бигль, обезьяны).

4.1. Острая токсичность

4.1.1. животные: один вид животных;

4.1.2. число животных в группе не менее 2-х животных;

4.1.3. путь введения: рекомендованный для клинического применения;

4.1.4. дозы: две дозы для ориентировочного определения летальной дозы;

4.1.5. частота введения: однократно;

4.1.6. длительность наблюдения: 14 дней;

4.1.7. экспериментальная программа: ежедневное наблюдение за общим состоянием, взвешивание не менее 3-х раз за период наблюдения, лабораторные исследования по мере необходимости, в конце периода наблюдения или после гибели все животные каждой группы вскрываются, описываются макроскопически, органы взвешиваются, подвергаются гистологическому исследованию по мере необходимости.

4.2. Подострая токсичность

4.2.1. животные: 1 вид обоего пола;

4.2.2. число животных: не менее 3-х в группе каждого пола;

4.2.3. путь введения: соответствующий рекомендованному для клинического применения;

4.2.4. дозы: три дозы лекарственного средства должны быть изучены на животных обоего пола;

4.2.5. контрольная группа: обязательно формирование интактной группы; при использовании растворителей, добавок или капсул для введения субстанции, необходима дополнительная контрольная группа с введением вышеназванного компонента;

4.2.6. срок введения: 28 или 90 дней при ежедневном введении в течение недели;

4.2.7. экспериментальная программа: ежедневное наблюдение за общим состоянием; взвешивание и контроль потребления пищи 1 раз в неделю; гематологические, биохимические, офтальмологические, физиологические исследования по мере необходимости проводятся у всех животных в каждой группе.

Погибшие животные подлежат вскрытию, макроскопическому обследованию, органы взвешиваются и исследуются гистологически. Гематологические и биохимические исследования производятся у погибающих животных с последующим их вскрытием, макроскопическим исследованием, взвешиванием и гистологическим изучением органов;

В конце эксперимента у всех выживших животных проводятся гематологические, биохимические, офтальмологические исследования, анализ мочи а при необходимости и другие лабораторные исследования. Эксперимент завершает аутопсия, макроскопическое обследование, взвешивание гистологическое изучение органов и тканей.

4.3. Хроническая токсичность

4.3.1. животные: один вид обоего пола;

4.3.2. количество животных: не менее, чем по 4 животных обоего пола;

4.3.3. путь введения: рекомендованный для клинического применения;

4.3.4. дозы: три дозы и контроль для животных обоего пола;

4.3.5. контрольная группа: интактный контроль и контроль с введением соответствующего растворителя, если он используется в эксперименте;

4.3.6. длительность введения: 6 месяцев или 1 год при введении препарата 7 дней в неделю;

4.3.7. экспериментальная программа: ежедневное обследование; взвешивание и определение потребления пищи 1 раз в неделю в первые 3 месяца, а затем 1 раз каждый месяц; гематологические, биохимические, офтальмологические, физиологические исследования, анализ мочи и при необходимости другие лабораторные исследования должны проводиться у всех животных каждой группы.

Погибшие животные в течение эксперимента подлежат вскрытию, макроскопическому описанию, органы взвешиваются и подвергаются гистологическому изучению.

В конце эксперимента у всех выживших животных проводятся гематологические, биохимические, офтальмологические исследования, анализ мочи и другие лабораторные исследования по необходимости; животные вскрываются, обследуются макроскопически, органы взвешиваются и подвергаются гистологическому исследованию.

5. Основные критерии оценки вредности и опасности токсического действия фармакологических средств:

5.1. статистически достоверные изменения функциональных показателей, выходящих за пределы сезонных норм;

5.2. скрытые функциональные нарушения, выявляемые при функциональных нагрузках;

5.3. дозовая зависимость выявленных функциональных и структурных изменений;

5.4. стабильность выявленных изменений, сохраняющихся при отмене воздействия изучаемых веществ;

5.5. корреляция функциональных и структурных нарушений в органах и тканях;

5.6. малая широта терапевтического эффекта и реальная возможность передозировки препарата.

Максимально допустимые объемы (мл) жидкостей для разных путей введения животным

Вид животных	Масса тела, г	Внутри-кожно	Под-кожно	Внутри-мышечно	Внутри-венно	Внутри-брюшинно	Внутри-желудочно	Внутри-назально	Ректально
Мыши	25-30	0,05	1,0	0,5	0,2-0,5	1,0	0,8	0,1	0,5
Крысы	200-240	0,02-0,04	10,0	5,0	2,0	5,0	4,0-5,0	0,4	1,0
Морские свинки	250-300	-	15,0	5,0	5,0	5,0	4,0-5,0	0,2-0,4	4,0
Кролики	2500-3000	-	30,0	15,0	20,0	20,0-30,0	150,0	1,0-4,0	5,0-10,0
Кошки	2000-3000	-	10,0	5,0	5,0	5,0-15,0	-	1,0-4,0	3,0-8,0
Собаки		-	5,0-20	10,0-15,0	10,0-20	20,0	-	1,0-4,0	-

Классы токсичности веществ в соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического содействия и развития (OECD)

Класс	Степень токсичности	DL ₅₀ , мг/кг					CL ₅₀ , ppm
		Внутри-желудочно	Накожно	Подкожно	Внутри-брюшинно	Внутри-венно	Ингаляционно
I	Чрезвычайно токсично	<5	<50	<2	<1	<0,7	<100
II	Высокотоксично	5-50	51-200	2-20	1-10	0,7-7	100-500
III	Умеренно токсично	51-300	201-1000	21-150	11-75	7,1-40	501-2500
IV	Малотоксично	301-2000	1001-2000	151-1000	76-500	41-300	2501-5000
V	Практически нетоксично	2001-5000	>2000	1001-2500	501-1250	301-700	>5000
VI	Относительно безвредно	>5000	-	>2500	>1250	>700	-

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТОКСИЧНОСТИ И АЛЛЕРГЕННОСТИ.

1. Обязательному тестированию подлежат:
 - 1.1. субстанции и все лекарственные формы;
 - 1.2. новые лекарственные формы, содержащие вспомогательные вещества, не разрешенные для применения и медицинской практике и не изученные ранее на этот вид активности, при этом каждое из этих веществ исследуют отдельно;
 - 1.3. фиксированные комбинации нескольких фармакологических веществ в одной лекарственной форме – с изучением самой комбинации и каждого ингредиента в отдельности;
 - 1.4. лекарственные средства с новым составом лекарственной формы, изменением технологии ее изготовления или состава вспомогательных веществ – с изучением только непосредственно готовой лекарственной формы.
2. Тестирование на иммунотоксичность и аллергенность не обязательно для лекарственных средств со следующими показателями:
 - 2.1. для лечения злокачественных новообразований у взрослых;
 - 2.2. для лечения заболеваний, представляющих непосредственную угрозу для жизни;
 - 2.3. новых иммуномодулирующих средств, влияние которых на иммунную систему подробно изучено;
 - 2.4. диагностикумы *in vitro*.
3. Предварительное изучение. Проводится с целью определения наиболее чувствительной мишени для ксенобиотика и определения его минимально действующей дозы. Наиболее оптимальным является испытание 2-х уровней доз. Минимальная доза – близкая к рекомендуемой для клинических испытаний терапевтическая доза (1TD), максимальная – на порядок выше рекомендуемой для клинических испытаний (10TD), но не выходящая за интервал терапевтической широты действия лекарственного средства.

В случае, если реальная терапевтическая доза вещества неизвестна, то для сенсibilизации животных можно использовать дозы, последовательно на порядок меньше чем DL₅₀ (1/10; 1/100; 1/1000 от DL₅₀) при соответствующем способе введения.

 - 3.1. Животные. Изучение проводится на линейных животных обоего пола. При выборе животных следует учитывать особенности генного контроля. Поскольку у высоко- и низкоответчающих линий под влиянием ксенобиотиков наблюдается различная модуляция иммуногенеза, в эксперимент следует включать обе оппозитивные группы животных. Желательно проводить исследования на животных 6-8 недельного возраста.

В иммунологическом эксперименте обычно используются линейные животные:

Мыши:

C57BL/H-2^B/ – низкореагирующие на эритроциты барана (ЭБ);

СВА/H-2^K/; BALB/c/H-2^d/ – высокореагирующие на ЭБ;

СВА; DBA/2J/H-2^d/; BALB/c – высокая цитотоксическая активность естественных киллеров (ЕК);

A/S и /H-2^d/; АКР/J/H-2^K – слабая цитотоксическая активность ЕК;

/СВА×С57BL/F₁ – используют в реакции трансплантат против хозяина;

BALB/c; C57BL; СЗН/He/H-2^K – содержат высокий уровень комплемента;

Рандомбредные крысы ОИ – продуцирующие IgE;

Морские свинки Hardy.

3.2. Число животных. Группы должны состоять не менее чем из 10 животных, с учетом получения статистически достоверных экспериментальных данных.

3.3. Путь введения, как правило, рекомендованный для клинического применения.

3.4. Уровень доз. Желательно использовать не менее 2-х уровней доз.

3.5. Режим введения. Продолжительность введения вещества подбирается индивидуально, исходить следует из рекомендаций по длительности применения препарата в клинике и сроков, необходимых для получения оптимального иммунного ответа или аллергической реакции в эксперименте.

3.6. Экспериментальные исследования: перед введением тест-препаратов у животных снимаются фоновые показатели, которые подлежат изучению в опыте (фагоцитоз, хемотаксис, содержание IgA, IgG, IgM); если тестируемое вещество обладает выраженной реакционной способностью, в экспериментах на животных определяют его влияние на вес и клеточность центральных и периферических органов иммунитета и формулу крови.

4. Основное изучение иммунотоксического и аллергенного действия.

4.1. Животные. Должны использоваться не менее двух видов животных обоего пола.

4.2. Число животных. Экспериментальные группы должны состоять не менее чем из 10 животных обоего пола. Если иммунотоксическое и аллергенное действие изучается в динамике, необходимо увеличивать количество животных в группе для забоя их в определенные сроки исследования. Каждая группа должна быть рандомизирована по весовым показателям.

4.3. Путь введения. Путь введения должен быть адекватен пути клинического назначения препарата. В случае, если рекомендуемый путь, введения в клинике нельзя повторить в эксперименте, тогда экспериментатор оставляет за собой право использовать путь введения лекарственного средства, который может вызвать наиболее сильный иммунный ответ или аллергенное действие с учетом того, что чувствительность иммунной системы человека к ксенобиотикам на несколько порядков выше, чем у животных. В связи с этим часто вводят тест-препарат вместе с полным или неполным адьювантом Фрейнда.

4.4. Уровень доз. Подопытные животные должны получать не менее 2-х уровней доз для каждого пола, контрольные животные получают в том же объеме и кратности используемый растворитель.

4.5. Контроль. В исследования может быть включена группа позитивного контроля на иммуноактивность при обязательном интактном контроле.

4.6. Продолжительность введения. Определяется в зависимости от изучаемых иммунологических и аллергологических показателей с учетом получения оптимального иммунного ответа.

4.7. Период наблюдения. Изучение функционального состояния иммунной системы может продолжаться в течение 1 месяца после окончания эксперимента для выяснения обратимости нарушений, вызванных тестируемым препаратом.

4.8. Методы оценки аллергенного действия тестируемого препарата: оценка анафилактической активности в реакции общей анафилаксии (анафилактический шок); активная кожная анафилаксия; реакция гиперчувствительности «замедленного» типа на мышцах; реакция иммунных комплексов; метод накожных аппликаций.

4.8.1. Методы *in situ*: методы оценки чувствительности гладких мышц трахеобронхиальной цепочки к исследуемым препаратам в эксперименте на морских спинках.

4.8.2. Тесты *in vitro*: реакция непрямого дегрануляции тучных клеток; реакция торможения миграции макрофагов; псевдоаллергические реакции (тест Шор)

4.9. Оценка иммунотоксичности лекарственного средства рекомендуется проводить в два этапа.

4.9.1. Первый этап оценки позволяет получить минимум интегральных характеристик, охватывающих практически все функции иммунной системы и включает: суммарную оценку состояния гуморального иммунитета (реакция гемагглютинации; определение содержания антителообразующих клеток (АОК); иммунизация эритроцитами барана); суммарную оценку состояния Т-клеточного иммунитета – пролиферации в аллосмешанной культуре лимфоцитов (СКЛ) и генерирование Т-киллеров в СКЛ; суммарную оценку состояния клеточной естественной резистентности (фагоцитоз,

хемотаксис).

4.9.2. Тесты 2-го этапа позволяют оценить содержание и функцию субпопуляций клеток иммунной системы. На этом этапе оценивают функциональную активность: регуляторных лимфоцитов (определение активности Т-хелперов по продукции интерлейкина-2; определение активности Т-супрессоров по торможению реакции бласттрансформации лимфоцитов и смешанной культуры лимфоцитов); эффекторных лимфоцитов (определение активности Т-лимфоцитов – реакция бласттрансформации лимфоцитов с Т-митогенами, определение количества Т-лимфоцитов – цитотоксический тест, определение Т-киллеров и естественных киллеров – узнавание, летальный удар; определение эффекторов гиперчувствительности «замедленного» типа; определение активности В-лимфоцитов - пролиферация В-лимфоцитов В-митогенами, определение количества В-лимфоцитов (цитотоксический тест), продукция антител IgA; JgM; IgG по Манчини); макрофагов (определение подвижности макрофагов - тест ингибиции миграции макрофагов, определение продукции интерлейкина-1).

4.9.3. Второй этап испытаний препаратов на иммунотоксическое действие проводят в случае:

4.9.3.1. если на первом этапе оценки выявлено иммунотоксическое действие лекарственного средства, но его нельзя заменить неиммунотоксическим аналогом, в таких случаях рекомендуется иммунологический контроль на стадии клинических испытаний и целенаправленная коррекция обнаруженного иммунотоксического эффекта с помощью введения иммуномодуляторов.

4.9.3.2. если количество эффективных лекарственных средств, применяемых при данной патологии очень ограничено.

5. Тестирование на иммунотоксическое и аллергизирующее действие проводят обычно на 7-14-21 сутки после последнего введения лекарственного средства. Если изучают развитие иммунных и аллергических реакций в динамике или определяют возможность обратимости этих нежелательных эффектов, то эксперименты продолжают до 2-3-х месяцев.

ИЗУЧЕНИЕ ЭМБРИОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ И ВЛИЯНИЯ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ

1. Исследованию на эмбриотоксические свойства должны подвергаться все новые фармакологические средства, которые могут быть назначены женщинам в репродуктивном периоде жизни, а также вспомогательные вещества, включенные в лекарственную форму новых или уже применяемых лекарственных средств. Исследования должны включать как изучение состояния потомства к концу антенатального периода развития (I этап исследования), так и состояние потомства в постнатальном периоде жизни (II этап исследования). Испытания ограничиваются I этапом, если препарат является очень сильным или сильным тератогеном.

2. Изучение эмбриотоксического действия на крысах

2.1. I этап исследования

2.1.1. Животные. Линейные, гибридные или рандомбредные крысы.

2.1.2. Число животных. В подопытной и контрольной группах должно быть не менее 20 беременных животных. Первым днем беременности считается день нахождения сперматозоидов в вагинальном мазке.

2.1.3. Путь введения. Рекомендованный для клинического применения, при пероральном введении вещество вводят зондом.

2.1.4. Дозы. Целесообразно испытание трех доз. В качестве высшей используется максимальная доза, при которой не отмечается гибели самок и развития видимых признаков интоксикации при избранном режиме введения препарата. При испытании высшей дозы малотоксичных веществ объем жидкости, вводимый подопытным животным, не должен превышать максимально-допустимое количество для данного вида животных и конкретного пути введения.

2.1.5. Контрольная группа. В эксперимент должны быть включены группы негативного, позитивного и интактного контроля. Негативному контролю вводят растворитель или добавки используемые для введения субстанции испытуемого вещества.

2.1.6. Режим введения. Вещество вводят один раз в сутки различным группам с 1 по 6, с 6 по 16 и с 16 по 19 дни беременности. Изучаемое вещество вводят с 6 по 16 дни беременности и трех дозах, в остальные сроки – в высшей дозе. Если при введении вещества в высшей дозе отмечен эмбриотоксический эффект, то проводят дополнительные исследования для установления пороговой дозы. Сроки введения изучаемого вещества должны охватывать весь период беременности самок, поскольку чувствительность зародыша к препарату зависит от стадии его развития.

2.1.7. Методика оценки: ежедневное наблюдение за состоянием и поведением беременных самок; еженедельное взвешивание животных; эвтаназия и вскрытие самок на 20-й день беременности для оценки результатов; в качестве показателей эмбриотоксического действия определяется пред- и постимплантационная эмбриональная смертность, морфологические (анатомические) пороки развития, общая задержка развития плодов.

Предимплантационную смертность определяют по разности между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантации в матке; постимплантационную смертность – по разности между количеством мест имплантации и числом живых плодов.

Для оценки тератогенного действия подсчитывается число плодов с аномалиями при внешнем осмотре, а затем общее число плодов делится на две группы. У $\frac{1}{3}$ плодов исследуют состояние внутренних органов, у другой ($\frac{2}{3}$) – состояние скелета. Все плоды взвешиваются и определяется их краниокаудальный размер. За единицу наблюдения принимают результаты, полученные при вскрытии одной самки. Статистическая обработка результатов проводится методами непараметрических критериев.

2.2. II этап исследования

2.2.1. Животные. Исследования проводятся на виргильных самках, гибридах или рандомбредных животных.

2.2.2. Число животных. В подопытных и контрольных группах должно быть получено потомство не менее, чем от 15 самок.

2.2.3. Путь введения: Преимущественно адекватный клиническому использованию.

2.2.4. Дозы. Испытывается эффективная доза или в несколько раз увеличенная терапевтическая доза.

2.2.5. Контрольная группа служит негативным контролем, подвергается воздействию растворителей или других добавок, используемых при введении субстанции.

2.2.6. Режим введения: Один раз в сутки, с первого до последнего дня беременности.

2.2.7. Методика оценки: ежедневное наблюдение за общим состоянием и поведением беременных самок; ежедневное взвешивание, анализ прироста массы тела; изучение поведения потомства в постнатальном периоде жизни; изучение у потомства нарушений со стороны репродуктивной функции, состояния основных функциональных систем (печени, нервной, эндокринной, иммунной и др.).

За 3-4 дня до родов беременные самки должны быть размещены в индивидуальных клетках. В каждом помете оставляют по 8 новорожденных с одинаковым количеством самцов и самок, по возможности. На 23-25 день после рождения крысят отсаживают от матери.

Исследования потомства начинают не ранее, чем через 24 часа после рождения и продолжают до 2-3-месячного возраста. Оценка поведения проводится по следующим показателям: общее наблюдение за физическим развитием потомства; скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов в период вскармливания самкой; двигательное и эмоциональное поведение и способность к координации движений у потомства после окончания вскармливания; выработка условных рефлексов с положительным и отрицательным подкреплением, сохранение полученных навыков (обучаемость и память).

Экспериментальная программа оценки состояния основных систем потомства зависит от фармакологической активности изучаемого препарата и аналогична методам, используемым в токсикологии. При технических трудностях длительного введения препарата, можно вводить его 3-5 дней подряд, но при этом необходимо предусмотреть увеличение числа групп животных, чтобы охватить весь период беременности.

2.2.8. при статистической обработке за среднее значение соответствующего показателя принимается величина для отдельного помета, желательно предусмотреть возможность раздельного анализа результатов для самок и самцов.

3. Изучение эмбриотоксического действия на кроликах.

3.1. Животные. Исследования проводятся на виргильных самках.

3.2. Число животных. Каждая группа должна состоять не менее, чем из 12 беременных крольчих. Первым днем беременности считается день нахождения сперматозоидов в вагинальном мазке.

3.3. Путь введения: Способ введения должен соответствовать клиническому применению лекарственного средства.

3.4. Дозы. Исследования проводятся на уровне высшей дозы.

3.5. Контрольная группа. В эксперимент должны быть включены группы негативного, позитивного и интактиого контроля.

3.6. Режим введения: Испытуемое вещество рекомендуется вводить с 6 по 18 день беременности один раз в сутки.

3.7. Методика оценки: эвтаназию и вскрытие самок проводят на 27-28 лень беременности; показателями эмбриотоксичности является пред- и постимплантационная эмбриональная смертность, морфологические пороки развития, общая задержка развития плодов.

4. Подразделения, ведущие тестирование тератогенности, должны иметь данные «обобщенного» контроля об уровне спонтанного возникновения аномалии развития, полученные на интактных контрольных животных.

5. Изучение влияния лекарственных средств на репродуктивную функцию

5.1. Учитывая возможность лекарственных средств вызывать не только уродства и гибель

эмбрионов, плодов, но и влиять на гаметогенез, необходимо изучение гонадотоксического действия новых потенциальных лекарственных средств. Виды и линии животных для этих целей отбираются с учетом информации об их репродуктивном статусе, уровня врожденных уродств и чувствительности к известным гонадотоксическим агентам. Желательно проводить исследования на животных с низким уровнем спонтанных уродств.

5.2. Животные. Исследования проводят на животных обоего пола, как правило, крысах и мышах.

5.3. Число животных. Рекомендуется иметь в каждой группе не менее 20 самцов и 40 самок.

5.4. Путь, введения должен соответствовать клиническому способу применения.

5.5. Уровень доз. Вещество испытывают в 3-х дозах.

5.6. Контрольная группа. Используются группы негативного, позитивного и интактного контроля.

5.7. Период введения. Самцам препарат вводят на протяжении 60-70 дней, самкам – 15-30 дней до спаривания.

5.8. Методика оценки: ежедневное наблюдение, еженедельное взвешивание и определение количества потребляемой пищи.

Самок подсаживают к самцам в стадии проэструса и соотношении 2:1 сроком на 2 эстральных цикла. Оплодотворение регистрируют с помощью вагинальных мазков. Половину ссаженных самок умерщвляют на 17-21 день беременности, вторую половину самок оставляют до родов и наблюдают за физическим развитием потомства до окончания периода вскармливания.

5.9. Критерии оценки: учет уровня пред- и постимплантационной смертности; величин индекса плодовитости и беременности.

ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННОСТИ

1. Изучению мутагенной активности подвергаются все новые фармакологические средства.

2. Для противоопухолевых средств тестирование на мутагенную активность не является обязательным, но при расширении показаний к их применению оценка мутагенности необходима.

3. Учет генных мутаций на индикаторных бактериях (тест Эймса).

3.1. Штаммы. Используются штаммы *Salmonella typhimurium* TA1537, TA98, TA100.

3.2. Уровень доз. Необходимо испытание 5 доз препарата. Максимальная доза должна соответствовать 1 мг на чашку. В случае наличия у субстанции антибактериальных свойств, максимальная доза должна соответствовать дозе, вызывающей антибактериальный эффект.

3.3. Контрольные группы. Необходимо включение в эксперимент групп негативного и позитивного контроля. Как правило, группа, получающая растворитель, служит негативным контролем, известные мутагены – позитивным контролем в группах с наличием и отсутствием микросомальной активирующей смеси (S9). Фракция S9 должна быть приготовлена из печени млекопитающих, как правило крыс, с предварительной индукцией метаболических ферментов.

3.4. Метаболическая активация. Тест должен выполняться отдельно с наличием и отсутствием микросомальной активирующей смеси.

3.5. Представление результатов: исходные данные средние значения показателей ревертантов должны быть представлена в таблицах.

4. Тест хромосомных aberrаций в клетках костного мозга грызунов.

4.1. Животные. Используется один из видов грызунов, как правило, мыши. Животные, используемые для исследования мутагенности, должны быть генетически однородны. Допускается использование мышей-тетрагибридов или рандомбредных животных.

4.2. Количество животных. Каждая группа должна содержать не менее 5-ти животных.

4.3. Путь введения. Как правило соответствует клиническому способу применения.

4.4. Доза. Испытывается 1 доза при 1-ой контрольной группе. Как правило, используется доза $\frac{1}{2}$ от DL_{50} или равная 100-кратной терапевтической дозе для человека.

4.5. Контрольные группы. Тестирование мутагенности должно включать негативный и позитивный контроли. Негативный контроль (растворитель) используется для анализа ответных реакций на действие всех возможных переменных, кроме тестируемого соединения. В качестве позитивного контроля используются известные мутагены. Для позитивного контроля предпочтительнее использовать мутаген, сходный по характеру биотрансформации с тестируемым соединением. Если это невозможно, следует использовать модельные мутагены.

4.6. Режим введения. Используется, как правило, однократное введение, в случае необходимости число введений может быть увеличено.

4.7. Методика. Все животные экспериментальной группы должны быть умерщвлены в соответствующее время после введения испытуемого соединения с последующим приготовлением гистопрепаратов на стадии метафазы. Используются 2 срока экспозиции испытуемого соединения у животных - 6 и 24 часа. Анализу подвергаются 100 метафазных клеток у каждого животного.

4.8. Представление результатов: общее число проанализированных клеток; процентное соотношение из них aberrантных; спектр aberrаций и процентное соотношение их; значение χ^2

статистики соотношения нормальных и аберрантных метафазных клеток в подопытных и контрольных группах.

5. Тест доминантных летальных мутаций у грызунов.

5.1. Животные. Один вид грызунов, как правило, мыши.

5.2. Количество животных. Каждая группа должна содержать не менее 15 самцов, к каждому самцу подсаживается по 3 самки еженедельно в течение 3 недель.

5.3. Путь введения. Как правило, путь введения соответствует рекомендованному для человека.

5.4. Дозы. Испытывается одна доза и одна контрольная группа. Как правило, используется доза $\frac{1}{2}$ от DL_{50} или равная 100-кратной терапевтической дозе для человека.

5.5. Контрольная группа. Когда в вводимом лекарственном средстве имеется растворитель, контрольная группа должна получать этот растворитель.

5.6. Режим введения. Как правило, используется однократное введение, в случае необходимости, число введений может быть увеличено.

5.7. Методика. Обработанные самцы еженедельно в течение 3 недель спариваются с интактными самками; все подопытные самки должны быть умерщвлены и соответствующее время после спаривания с самцами; после вскрытия самок подсчитывается число живых и мертвых эмбрионов у каждой беременной самки.

5.8. Представление результатов: процент фертильных самок; суммарное число живых и мертвых эмбрионов в группах; значение χ^2 статистики соотношения живых и мертвых эмбрионов в подопытных и контрольных группах на каждой стадии сперматогенеза (неделе).

6. Учет генных мутаций на индикаторных бактериях с использованием млекопитающего в качестве промежуточного хозяина

6.1. Штаммы. Используются штаммы *Salmonella typhimurium* TA1950, TA1534.

6.2. Животные: мыши.

6.3. Испытывается, как правило, одна доза препарата. Как правило, используется доза $\frac{1}{2}$ от DL_{50} или равная 100-кратной терапевтической дозе для человека. Препараты с антибактериальным действием целесообразно использовать в дозах: $\frac{1}{2}DL_{50}$, $1/10 DL_{50}$, $1/100 DL_{50}$ и $1/1000 DL_{50}$, чтобы уровень гибели индикаторных бактерий не превышал 90%.

6.4. Путь введения, как правило, соответствует способу, рекомендованному для человека.

6.5. Контрольная группа. Необходимо включение в эксперимент групп негативного и позитивного контроля.

6.6. Режим введения. 1 мл культуры бактерий вводится внутривентриально, сразу же после введения культуры вводят изучаемое лекарственное средство. Внутривентриальное введение изучаемого препарата делают через 30 минут после введения культуры животному.

6.7. Методика. После 3 часовой инкубации животное умерщвляют разрывом шейного отдела позвоночника, вводят внутривентриально буфер, вскрывают брюшную полость и отбирают из нее бактериальную суспензию. Рассеивают суспензию на чашки с селективным агаром для получения числа ревертантов и, после предварительного разведения, на чашки с питательным мясопептонным агаром.

6.8. Представление результатов: исходные данные, включающие число ревертантов на число выживших бактерий; титр бактериальной суспензии; показатель числа ревертантов на мл по данному варианту; показатель частоты индуцированных мутаций с использованием статистического анализа с помощью критерия Уилкоксона.

7. Учёт ДНК-повреждающего действия

7.1. Штаммы: *E. coli* WP2 дикого типа и *polA*, *recA*-мутантные.

7.2. Дозы. Необходимо испытание 6 доз препарата. Для антибактериальных препаратов используют в качестве минимальной концентрации ту, при которой наблюдается рост мутантных штаммов, а максимальной концентрации – ингибирующую рост бактерий. Промежуточными являются концентрации в 2 и 4 раза меньше максимальной.

7.3. Контрольные группы. Негативный контроль (растворитель) и позитивный контроль – введение соединения, вызывающего ДНК-повреждающий эффект.

7.4. Методика. Культуру жизнеспособных бактерий добавляют к испытываемому химическому соединению и инкубируют при 37°C в течение 18 час. Для лучшей видимости роста бактерий в суспензию добавляют индикатор бромкреозол пурпуровый, который изменяет свой цвет от голубого к желтому при изменении pH среды за счет роста бактерий.

7.5. Представление результатов: регистрация наличия или отсутствия роста штамма дикого типа и мутантных бактерии проводится в таблице знаками «+» или «-».

ИЗУЧЕНИЕ КАНЦЕРОГЕННОСТИ

1. Обязательному тестированию на канцерогенность подвергаются все новые лекарственные средства, со следующими показаниями:

1.1. применяемые в качестве профилактических, лечебно-косметических, репеллентных

средств и контрацептивов;

1.2. предназначенные для применения в течение всей жизни длительными (более 15 дней) повторными курсами;

1.3. предназначенные для использования без рецепта врача широкими слоями населения;

1.4. предназначенные для применения в детской практике, а также для лечения беременных женщин и в период лактации.

2. Тестированию канцерогенности не подлежат лекарственные средства:

2.1. для лечения злокачественных новообразований у взрослых;

2.2. для лечения заболеваний, представляющих непосредственную угрозу для жизни.

3. Экспериментальные животные. Виды и линии лабораторных животных должны выбираться с учетом их устойчивости к инфекционным заболеваниям, продолжительностью жизни, спонтанного выхода опухолей, чувствительности к известным канцерогенам. Животные различных видов и линий могут быть использованы в предварительных испытаниях и в хроническом эксперименте с учетом свойств исследуемого препарата.

4. Методы исследования.

4.1. Предварительное изучение. Проводится с целью определения уровней доз для хронического эксперимента.

4.1.1. Изучение острой токсичности ведется на небольшом числе животных с целью определения доз для субхронического эксперимента. Изучение субхронической токсичности дает возможность выбрать максимально-переносимую дозу (МПД) для проведения хронического эксперимента.

4.1.2. Животные. Используются мыши, крысы, хомячки. Изучение проводится на 2-х видах животных обоего пола, здоровых, 6-8 недельного возраста.

4.1.3. Число животных: Группы должны включать по 10 животных обоего пола.

4.1.4. Путь введения. Вещество вводится тем же способом, что и в хроническом эксперименте. Пероральное введение препарата может проводиться зондом. Возможно смешение исследуемого препарата с пищей или водой. Содержание изучаемого лекарственного средства в пище не должно превышать 5%. Введение изучаемого лекарственного средства с пищей или питьевой водой должно быть рассчитано индивидуально на каждое животное после предварительного изучения стабильности препарата в указанных условиях.

4.1.5. Уровень доз. Используется не менее трех доз. Высокая доза должна вызывать некоторые признаки токсического действия, минимальная не должна обладать подобным эффектом.

4.1.6. Режим сведения. Вещество вводится в течение 90 дней, ежедневно. В случае проявления кумулятивного эффекта, продолжительность введения может быть увеличена.

4.1.7. Экспериментальные исследования: ежедневный осмотр всех животных; ежедневное взвешивание всех животных; макро- и микроскопическое изучение всех органов и тканей павших животных и умерщвленных в конце эксперимента.

4.1.8. Представление результатов: максимальная доза в хроническом эксперименте должна соответствовать дозе, вызывающей в подостром опыте снижение прироста массы тела животных не более, чем на 10% по сравнению с контролем; максимальная доза должна быть определена для каждого вида животных обоего пола.

4.2. Изучение канцерогенности в хроническом эксперименте.

4.2.1. Животные. Должны использоваться не менее двух видов животных обоего пола 6-8 недельного возраста.

4.2.2. Число животных. Группы должны состоять не менее, чем из 50 животных обоего пола. Каждая группа должна быть рандомизирована в соответствии с массой тела.

4.2.3. Путь введения. Путь введения должен быть адекватен клиническому назначению препарата. Пероральное введение препарата может проводиться зондом. Возможно смешение исследуемого препарата с пищей или водой. Содержание изучаемого лекарственного средства в пище не должно превышать 5%. Введение изучаемого лекарственного средства с пищей или питьевой водой должно быть рассчитано индивидуально на каждое животное после предварительного изучения стабильности препарата в указанных условиях.

4.2.4. Уровень доз. Подопытные группы должны получать не менее 3-х уровней доз для самцов и самок на фоне соответствующих контрольных групп. Максимальная доза определяется по результатам предварительного эксперимента. Минимальная доза должна соответствовать среднеэффективной дозе для конкретного вида животных, используемого в хроническом эксперименте. Желательно определение средней дозы по принципу геометрической прогрессии.

4.2.5. Контрольные группы. Негативный и интактный контроль.

4.2.6. Продолжительность введения. Не менее 24 месяцев и не более 30 месяцев для крыс, не менее 18 месяцев и не более 24 месяцев для мышей и хомячков при ежедневном, введении.

4.2.7. Период наблюдения. Изучение должно быть закончено через 2-3 месяца после окончания введения препарата. Если смертность от кумуляции превышает 75% от малой дозы, то все выжившие животные умерщвляются и изучение прекращается. Смертность от интеркуррентных

заболеваний должна быть в пределах 50% после 24 месяцев введения препарата для крыс и 18 месяцев для мышей и хомячков. Потеря животных в течение эксперимента от каннибализма не должна превышать 10% от общего числа в группе.

4.2.8. Экспериментальные исследования: ежедневный осмотр всех животных в каждой группе; еженедельное взвешивание в первые 3 месяца ведения, в последующие сроки 1 раз в 4 недели; вскрытие, макроскопическое изучение и гистологическое исследование органов и тканей всех павших животных.

Обязательно макроскопическое исследование всех органов и тканей. Гистологическому исследованию подвергаются следующие органы и ткани: кожа, молочные железы, лимфатические узлы, слюнные железы, грудина, костный мозг, тимус, трахея, легкие, сердце, щитовидная и паращитовидная железа, язык, пищевод, желудок, 12-перстная кишка, печень, поджелудочная железа, селезенка, почки, надпочечники, мочевого пузырь, семенные пузырьки, простата, яички, яичники, матка, влагалище, глаза, мозг, гипофиз, спинной мозг и другие органы и ткани с выраженными макроскопическими изменениями.

Умирающие и больные животные должны быть изолированы, умерщвлены, вскрыты, описаны макроскопически, органы и ткани подвергнуты гистологическому исследованию. Выявленные изменения в виде опухолей должны быть включены в описание повреждений, исследованы макроскопически и гистологически. По возможности, желательно провести анализ крови.

При окончании исследования все выжившие в каждой группе умерщвляются, подвергаются вскрытию, макроскопическому обследованию. Гистологическое изучение всех органов проводится для всех животных, получавших большую дозу, и контрольной группы. При обнаружении существенных различий в частоте возникновения опухолей под влиянием большой дозы по сравнению с контролем, гистологическому исследованию подвергаются все органы и ткани животных других подопытных групп.

Общие термины и определения

Для целей настоящего технического кодекса используются термины и их определения в значениях, установленных [1], а также следующие термины и их определения:

Аудит – систематическая и независимая проверка документации доклинического исследования путем сравнения первичных данных с промежуточным или заключительным отчетом о доклиническом исследовании с целью определения точности записи первичных данных, соответствия проведения доклинического исследования программе (протоколу) доклинического исследования, стандартным операционным процедурам и настоящему техническому кодексу; выявления допущенных в процессе доклинического исследования каких-либо действий, способных отрицательно повлиять на достоверность результатов.

График работ – перечень доклинических исследований с указанием даты их начала и окончания, фамилий исполнителей, согласованный с заказчиком и утвержденный руководителем исследовательской организации.

Документация – программа (протокол) доклинического исследования, первичные данные доклинического исследования, стандартные операционные процедуры, отчет о доклиническом исследовании (промежуточный и заключительный), аудиторский отчет.

Заказчик – организация-разработчик лекарственного средства, которая заказывает, финансирует и контролирует проведение доклинического исследования лекарственного средства и отвечает за соответствие его требованиям настоящему техническому кодексу.

Инспекция исследовательской организации – экспертиза и оценка процедур проведения доклинических исследований на предмет степени их соответствия настоящему техническому кодексу, качества полученных первичных данных доклинического исследования и составленных отчетов, проводимая Министерством здравоохранения Республики Беларусь или уполномоченной организацией.

Исследовательская организация – организация, имеющая право на проведение доклинических исследований.

Исследуемое вещество – это химическое вещество, природное или синтетическое, смесь веществ, или материал, подвергаемый испытанию.

Контрольное вещество – любое хорошо изученное вещество или смесь, используемые для сравнения со свойствами или воздействиями испытуемого вещества.

Многоцентровое доклиническое исследование – доклиническое исследование, которое проводится в нескольких исследовательских организациях.

Мониторинг соблюдения правил по проведению доклинических исследований – периодическая проверка исследовательской организации и (или) проверка доклинических исследований с целью подтверждения соответствия настоящему техническому кодексу, выполняемая по решению заказчика.

Носитель (растворитель) – любой агент, который используется для смешивания, диспергирования, растворения исследуемого лекарственного средства или препарата сравнения с целью содействия условиям их введения в тест-систему.

Образец – определенное количество исследуемого лекарственного средства или препарата сравнения, представляемое заказчиком.

Отчет о доклиническом исследовании – представленные в письменной форме результаты доклинического исследования, включающие описание методов доклинического исследования и статистических методов, данные, полученные в ходе доклинического исследования, и выводы;

Первичные данные доклинического исследования – все исходные лабораторные записи, которые являются результатом исходных наблюдений и работы в процессе выполнения доклинических исследований.

Плацебо – фармацевтический препарат, не содержащий фармакологически активных ингредиентов, применяемый для определения истинной фармакологической эффективности и безопасности исследуемого лекарственного средства; при проведении слепых испытаний плацебо изготавливают таким образом, чтобы его нельзя было отличить от исследуемого лекарственного средства или вещества активного контроля.

Поправка к программе (протоколу) доклинического исследования – описание изменений или формальных пояснений к программе (протоколу) доклинического исследования (смена работников, включение или исключение методов доклинического исследования и т.д.), согласованное с заказчиком и утвержденное руководителем исследовательской организации;

Проба – отобранная часть тест-системы, предназначенная для доклинического исследования, анализа или хранения;

Программа (протокол) доклинического исследования – документ, который описывает цели, задачи, методы (в том числе методы обобщения результатов), процедуры и организацию доклинического исследования, определяет общий объем доклинического исследования, согласованный с заказчиком и утвержденный руководителем исследовательской организации;

Серия (партия) – конкретное количество исследуемого лекарственного средства или препарата сравнения, изготовленного в результате одного технологического цикла, который предусматривает обеспечение тождественности;

Служба контроля качества – группа работников исследовательской организации, не участвующих в доклиническом исследовании, назначенная приказом руководителя исследовательской организации, которая обеспечивает контроль качества проводимого доклинического исследования и осуществляет оценку соответствия процедур сбора, обработки и представления полученных данных требованиям настоящего технического кодекса;

Стандартная операционная процедура (СОП) – документы, содержащие описание технологического процесса или методики проведения определенных лабораторных исследований или работ, которые не описаны подробно в программе (протоколе) доклинических исследований, нормативных правовых актах и методических пособиях, утверждаемые руководителем исследовательской организации с указанием даты вступления их в силу;

Тест-система – лабораторные животные, растения, микроорганизмы, а также клеточные, субклеточные, химические или физические системы или их комбинации, которые используются в доклинических исследованиях.

Библиография

- [1] Закон Республики Беларусь № 161-3 от 20.07.2006 г. «О лекарственных средствах»
- [2] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) series on Principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring. No 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice. OECD Environmental Health and Safety Publications, Environment Directorate: ENV/MC/CHEM(98) 17. – Paris: OECD, 1998
- [3] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) series on Principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring. No. 2, Revised Guides for Compliance Monitoring Procedures for Good Laboratory Practice. OECD Environmental Health and Safety Publications, Environment Directorate. – Paris: OECD, 1995
- [4] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) series on Principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring. No. 3, Revised Guidance for the Conduct of Laboratory Inspections and Study Audits. OECD Environmental Health and Safety Publications, Environment Directorate. – Paris: OECD, 1995
- [5] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) series on Principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring. No. 8, The Role and Responsibilities of the Study Director in GLP Studies. OECD Environmental Health and Safety Publications, Environment Directorate. – Paris: OECD, 1993
- [6] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) series on Principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring. No. 9, Guidance for the Preparation of GLP Inspection Reports. OECD Environmental Health and Safety Publications, Environment Directorate. – Paris: OECD, 1995
- [7] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) series on Principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring. No. 11, The Role and Responsibilities of the Sponsor in the Application of the Principles of GLP. OECD Environmental Health and Safety Publications, Environment Directorate. – Paris: OECD, 1998
- [8] Постановление Главного Государственного санитарного врача Республики Беларусь № 40 от 27.07.2000 г «О введении в действие санитарных правил».
- [9] Правила доклинических исследований безопасности и эффективности фармакологических веществ. (Правила качественной лабораторной практики в РФ – GLP или ПДП). Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Москва, 2000.
- [10] Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP). Руководящий нормативный документ РД 64-126-91. – Москва, 1992.
- [11] ТКП 030-2006 (02040) Надлежащая производственная практика.
- [12] СТБ 1613-2006 Производство лекарственных средств. Надлежащая производственная практика для активных фармацевтических ингредиентов.

Первый заместитель Министра

Р.А. Часнойть

Заместитель директора УП «Центр экспертиз
и испытаний в здравоохранении»
Министерства здравоохранения Республики Беларусь

А.А. Шеряков

Заведующий Республиканской клинико-фармакологической
лабораторией УП «Центр экспертиз и испытаний
в здравоохранении» Министерства здравоохранения
Республики Беларусь

Д.А. Рождественский