



# **БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В ФАРМАКОПЕЕ ЕАЭС**

**Тулегенова  
Ардак Уринбасаровна**

**Председатель Фармакопейного комитета ЕАЭС,  
д.ф.н., профессор, Почетный член Национальной  
академии наук Республики Казахстан**



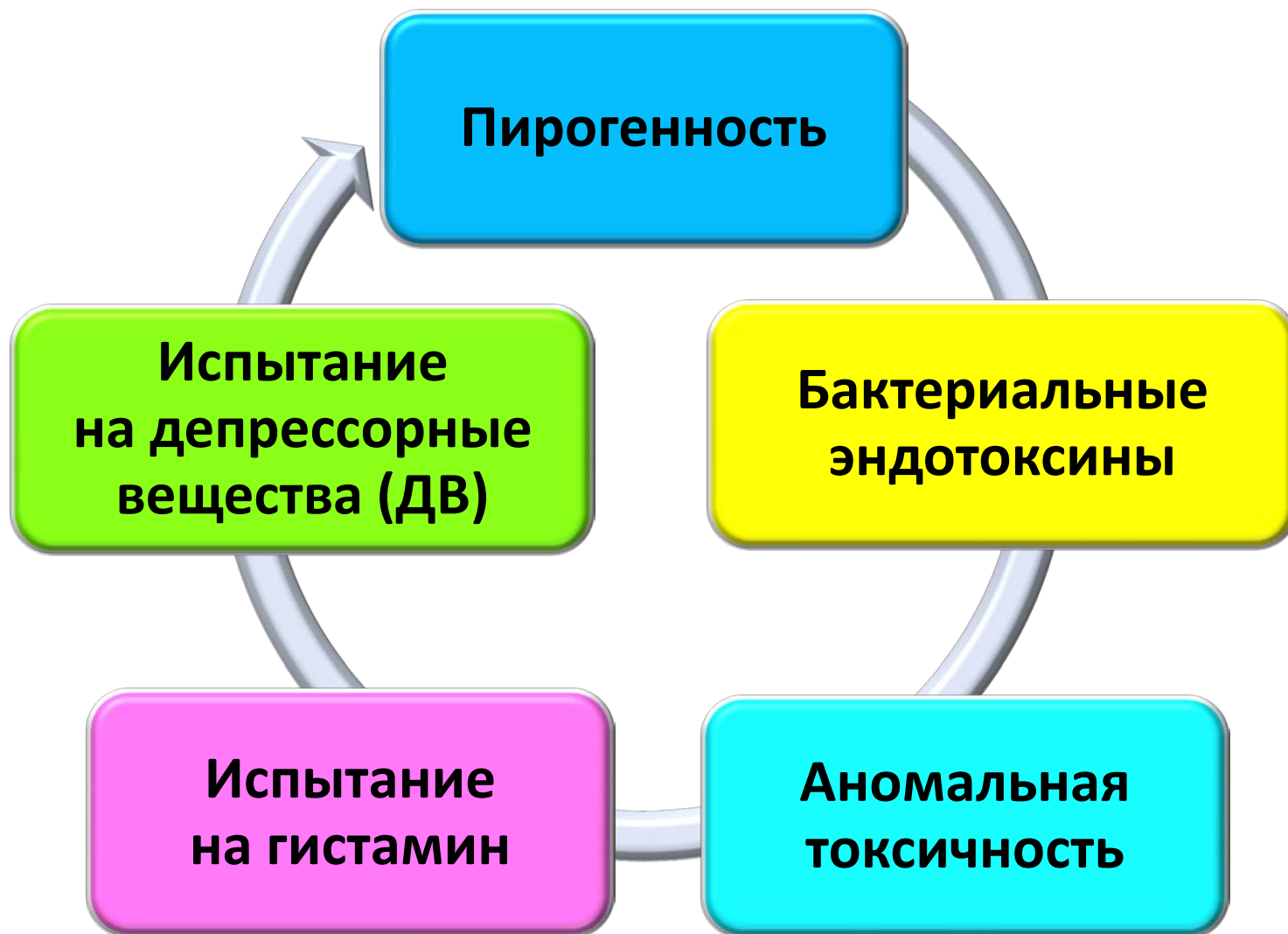
# Фармакопея ЕАЭС

- **Свод региональных требований и положений, устанавливающих предельный допустимый уровень качества ЛС на фармацевтическом рынке ЕАЭС**
- **1 часть I тома Фармакопеи ЕАЭС утверждена Решением Коллегии ЕЭК 11.08.2020 № 100 и введена в действие с 01.03.2021**





# Биологические испытания ЛС



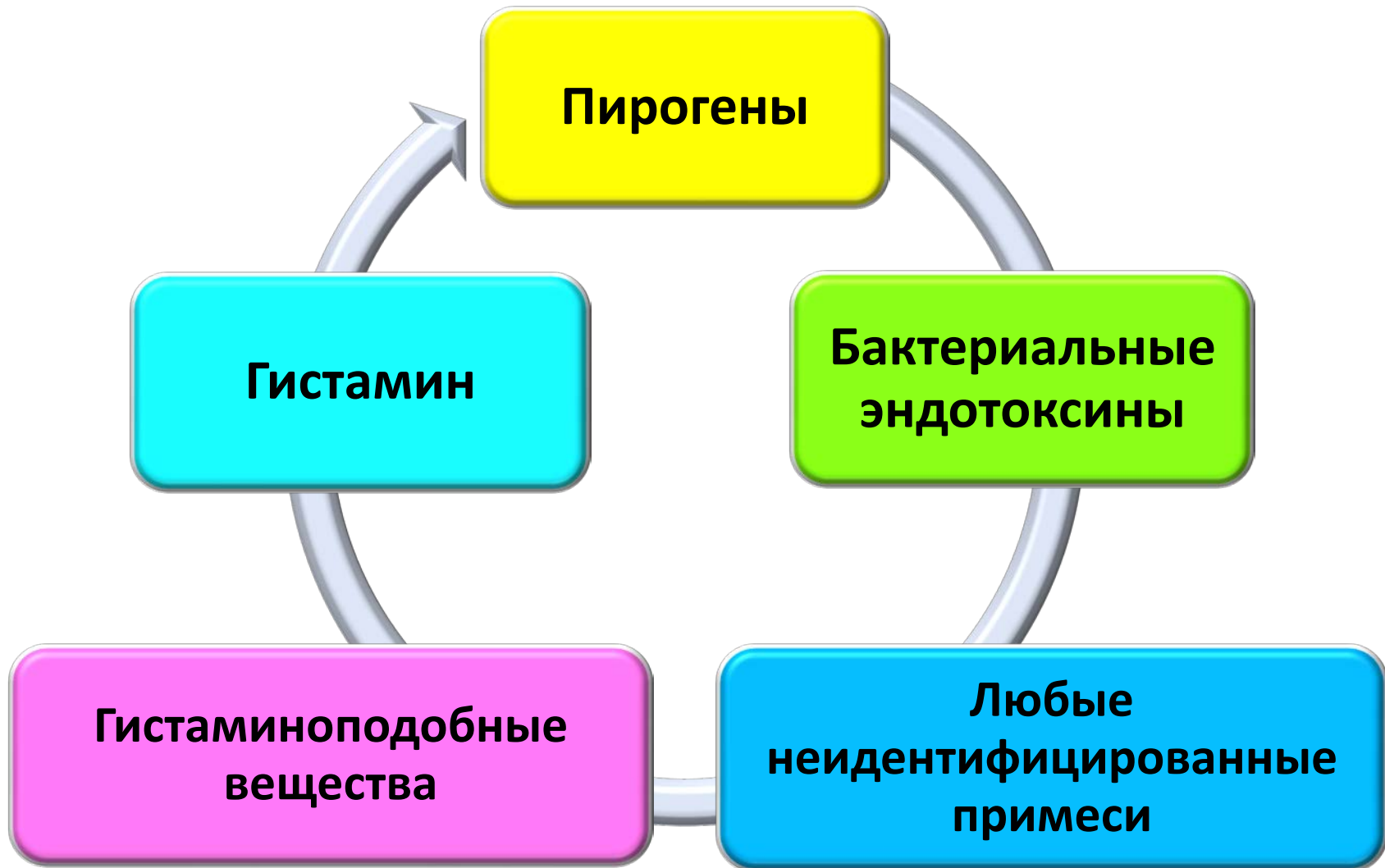


# ЛС, контролируемые биологическими испытаниями

Испытание	ЛС
Пирогенность	<ul style="list-style-type: none"><li>- ЛП для парентерального применения</li><li>- АФС для их производства</li></ul>
Бактериальные эндотоксины	
Испытание на гистамин	
Испытание на ДВ	
Аномальная токсичность	<ul style="list-style-type: none"><li>- ЛП, содержащие вещества природного происхождения (получаемые из крови, органов, тканей человека или животного, растительного сырья, микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности) в виде ЛФ, предназначенных, в основном, для парентерального применения</li></ul>



# Примеси, контролируемые биологическими испытаниями





## **Испытание «Пирогенность»**

**Предназначено для определения веществ различного происхождения, способных вызывать повышение температуры тела (грам(±) бактерии и их токсины, вирусы, продукты жизнедеятельности микроорганизмов и др.)**

**Проводится в 1 или несколько этапов ( $\leq 4$ ) на группе из 3 кроликов на каждом этапе**

**Основано на измерении температуры тела кроликов до и после инъекции в ушную вену**



# Бактериальные эндотоксины (БЭ)

**Что представляют собой?**

Фрагменты  
внешней стенки  
грам(-) бактерий

Липополисахариды

Исключительно  
активные (сильные)  
пирогены

**Какова активная  
концентрация?**

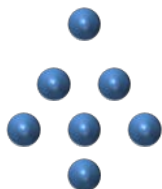
1 нг/мл  
(около 10 ЕЭ/мл)

Достаточна для развития  
лихорадочного приступа

Активная концентрация  
других пирогенов  
в 100-1000 раз выше



## Испытание «БЭ»



Проводится с использованием реактивов, представляющих собой лизат клеток крови (амебоцитов) мечехвоста вида *Limulus polyphemus* (ЛАЛ-реактив) и *Tachypleus tridentatus* (ТАЛ-реактив)



Основано на специфической ферментативной реакции ЛАЛ- или ТАЛ-реактива с БЭ, вызывающей изменение реакционной смеси, пропорциональное концентрации БЭ





# Основные методы испытания «БЭ»

**Гель-тромб  
метод (А, В)**

- Основан на образовании геля

**Турбидиметрический  
метод (С, F)**

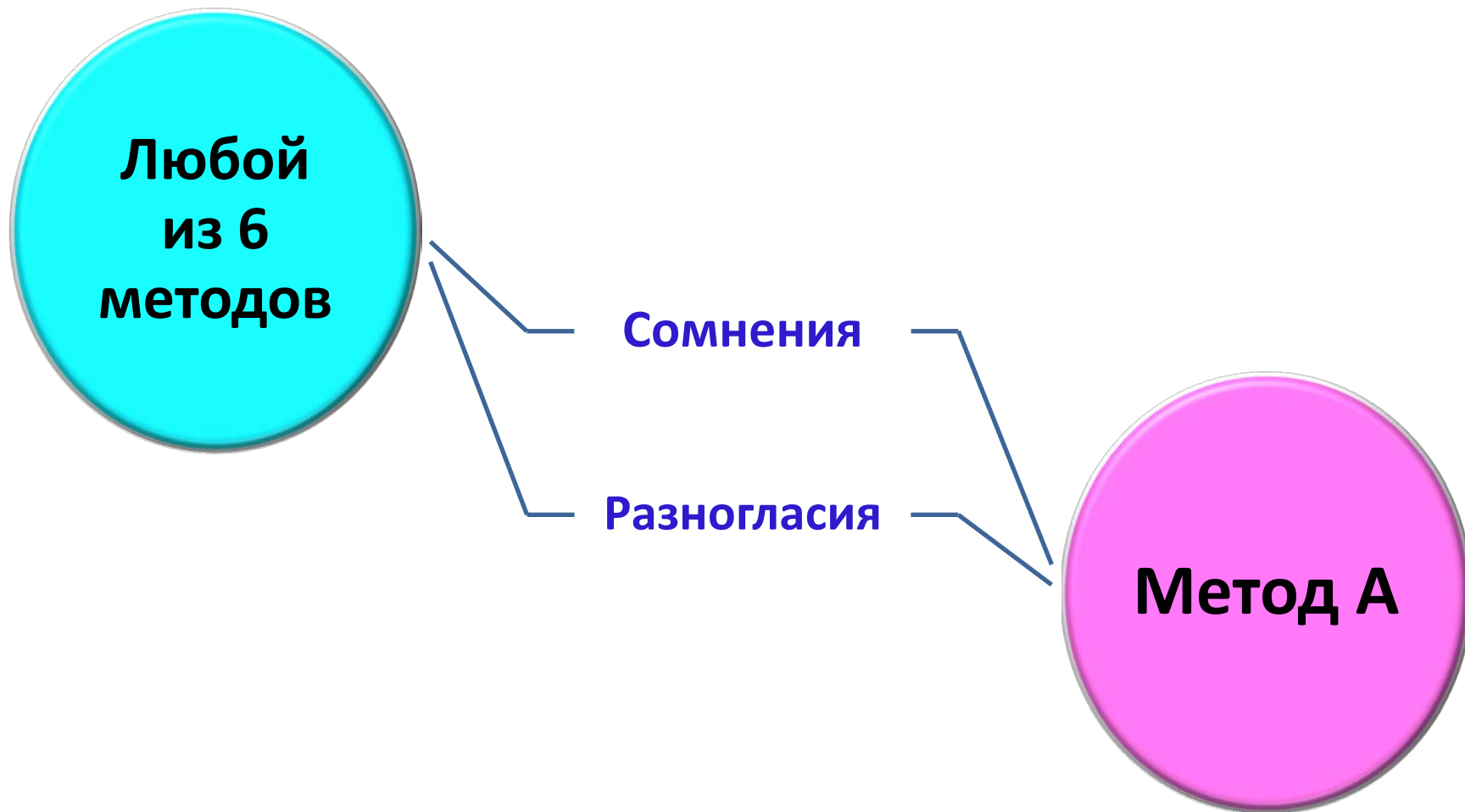
- Основан на помутнении реакционной смеси после расщепления субстрата, содержащегося в лизате амебоцитов

**Хромогенный  
метод (D, E)**

- Основан на появлении окрашивания после расщепления синтетического пептид-хромогенного комплекса



# Метод испытания «БЭ» в арбитражных случаях





## Допустимый предел содержания БЭ

- **Выражается в единицах эндотоксина:**  
ЕЭ/мг, ЕЭ/мл, ЕЭ/МЕ, ЕЭ/м<sup>2</sup>, ЕЭ/упаковку
- **Зависит от способа введения ЛП** в организм количества эндотоксина, получаемого человеком без патологических последствий
- **Ужесточен для противоопухолевых ЛП** и ЛП для лечения аутоиммунных или системных заболеваний, применяемых в комплексной терапии с другими инъекционными ЛП, путем снижения до 100 ЕЭ/м<sup>2</sup> (вследствие возможной кумуляции БЭ, поступающих практически одновременно в организм пациента)



# Специфичность & чувствительность

## Испытание «БЭ» (ЛАЛ-тест)

Высокоспецифично  
к эндотоксинам  
грам(-) бактерий

Превышает  
по чувствительности  
испытание  
на кроликах *in vivo*

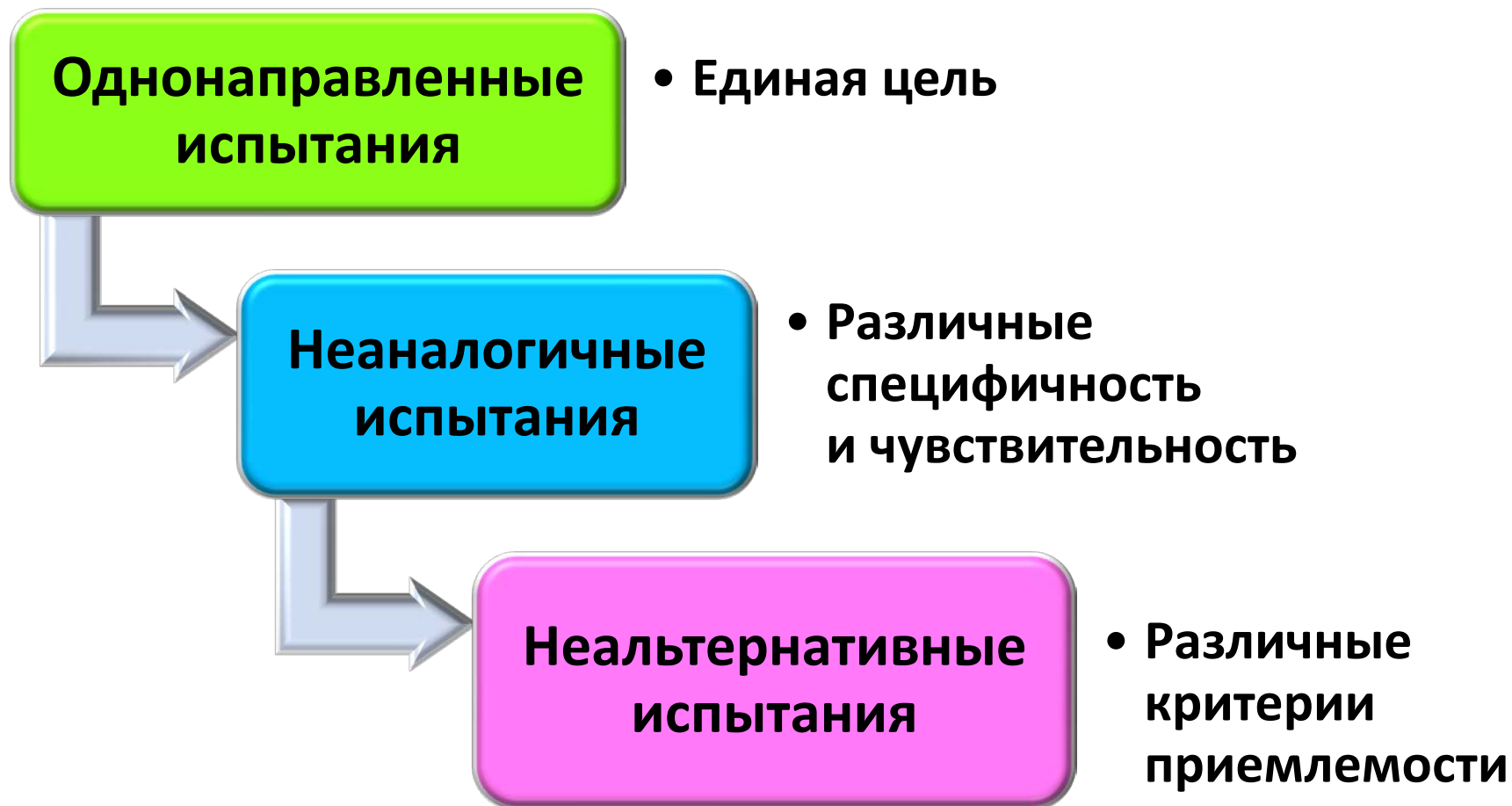
## Испытание «Пирогенность»

Позволяет выявить  
пирогены  
**любой** природы

Значительно менее  
чувствительно

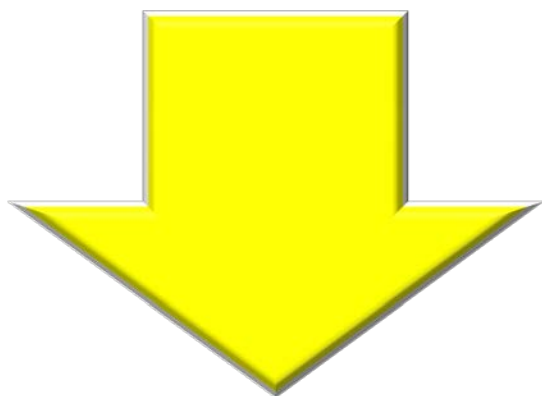


# Характеристика испытаний «БЭ» & «Пирогенность»





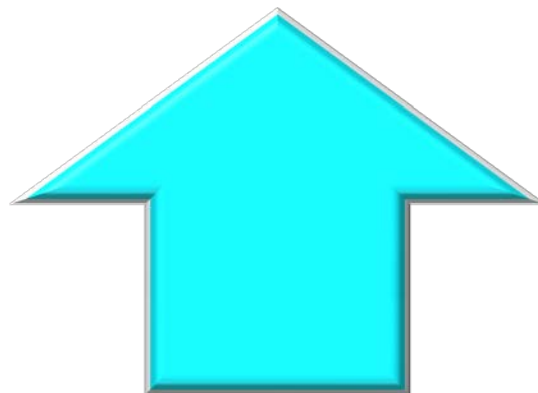
# Требование к включению испытаний в спецификацию качества ЛС и (или) НД по качеству ЛП



**Включение  
только 1 из 2  
испытаний**



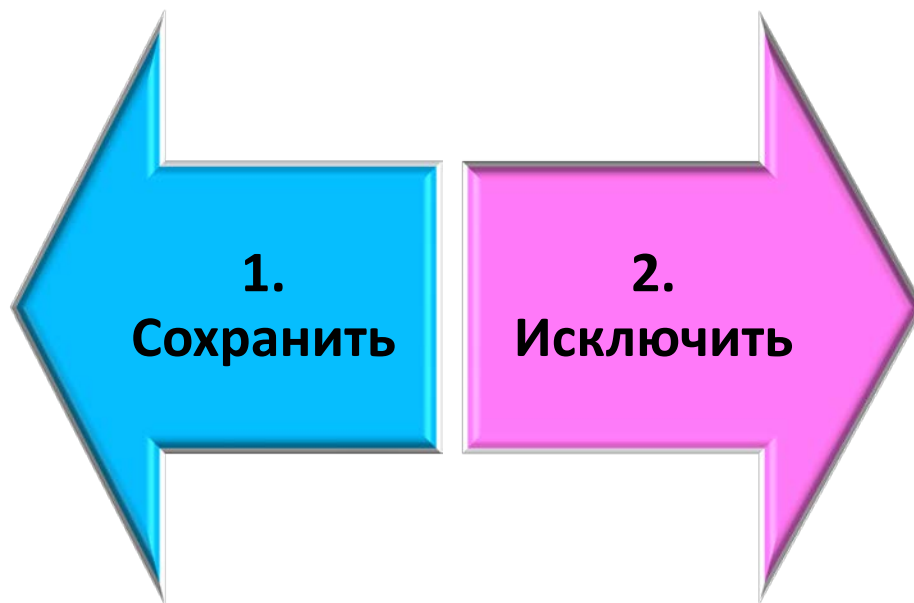
**Постепенная  
замена испытания  
«Пирогенность»  
на «БЭ»**





## Испытание «Аномальная токсичность»

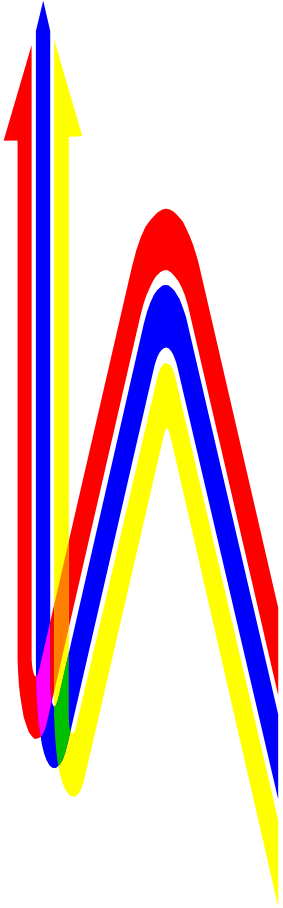
- Разработано в начале 20-го века, когда процессы производства и контроля качества биологических ЛП были далеки от современных требований
- Сохраняет неизменность дизайна с 1940-ых годов
- Существующие подходы к применению испытания для рутинного контроля качества ЛП:





## Аргументы в пользу подхода 1

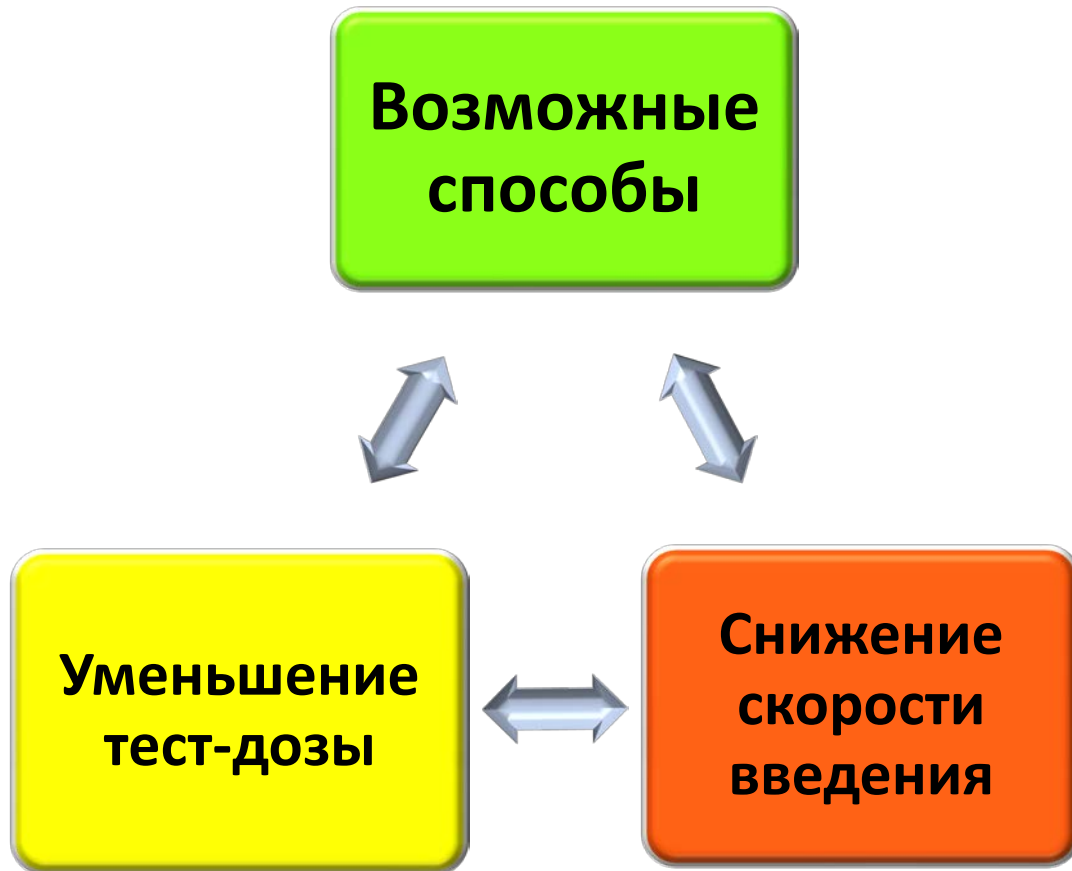
- **Регулярные сообщения** о нежелательных последствиях при применении ЛП
- **Неспособность** существующего комплекса мер (надлежащая разработка ЛП, производство в соответствии с требованиями GMP и др.) для обеспечения безопасности ЛП
- **Неспецифичность** применяемых физико-химических методов контроля для выявления токсических примесей в отличие от биологических методов
- **Случаи преднамеренного снижения** производителями уровня требований к ЛП по показателю «АТ»







# Преднамеренное снижение уровня требований к ЛП по показателю «АТ»



## Последствия:

- Отсутствие надежного контроля за возникновением нежелательных примесей
- Соккрытие проблем с качеством ЛП



## Аргументы в пользу подхода 2

- Разработка современных методов исследований, обосновывающих отход от устаревших методов испытаний
- «Встраивание» качества на всех этапах жизненного цикла ЛП
- Внедрение концепции «Качество через разработку» (QbyD)
- Внедрение стандартов GXP в процесс разработки, производства и дистрибьюции ЛП
- Внедрение формата ОТД регистрационного досье ЛП
- Гуманизация общества и распространение принципов этики в отношении экспериментальных животных
- Внедрение Директивы 2010/63/ЕС38 «О защите животных, используемых для научных целей»
- Существенные недостатки и устаревший характер, ведущие к потере былой значимости испытания «АТ» для рутинного контроля качества ЛП

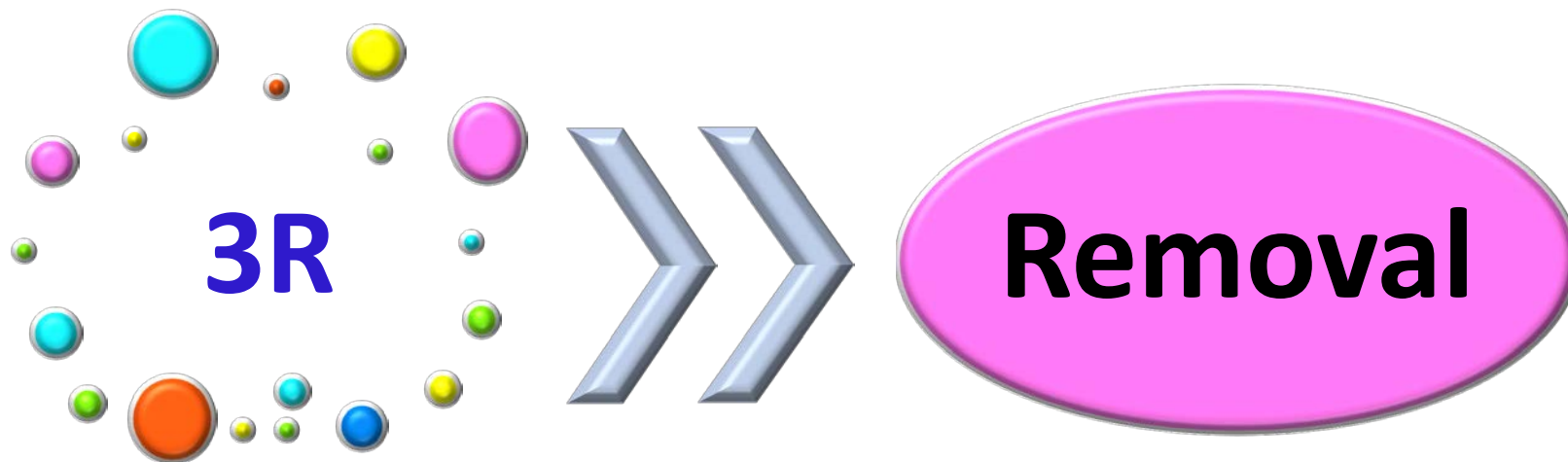


## Основные недостатки испытания «АТ»

- **Нахождение вне рамок современной парадигмы качества ЛС**
- **Несоответствие международным требованиям к валидации методик и испытаний**
- **Необходимость использования в рутинном контроле значительного количества животных (до десятков тысяч)**
- **Недостаточная научная обоснованность для обнаружения токсических примесей и повышения безопасности ЛП**
- **Возможность ложно(+) результатов испытания, способных привести к бракованию продукции и прекращению поставок ЛП на рынок**
- **Низкая эффективность испытания для рутинного контроля качества ЛП**



## 4-й принцип «R»




**Стратегия прекращения  
ненужных испытаний  
на животных,  
поддержанная  
Европейской  
фармакопейной  
комиссией**

**Исключение регулярного  
выполнения испытания  
на животных, оказавшегося  
после научного обоснования  
неэффективным  
и подлежащего удалению  
без замены на другое  
испытание**



## Регулирующие меры

Орган	Принятые меры
WHO ЭКБС (10.2018)	Рекомендация о прекращении включения испытания на безвредность во все будущие документы ВОЗ на вакцины и другие биологические ЛП, публикуемые в Серии технических отчетов ВОЗ
EDQM (07.2018)	Исключение испытания из 80 частных монографий на биотехнологические ЛП, вакцины, ЛП крови, антибиотики и общей монографии (2.6.8) в Ph.Eur.
US FDA (07.2015)	Внесение поправок в Правила для биологических ЛП за счет отмены общих требований к испытаниям на их безопасность
USP	Сохранение испытания в USP-NF в виде общей монографии
ФК ЕАЭС	Сохранение испытания в ФЕАЭС в виде ОФС (2.6.9)



# Испытания на гистамин (ИГ) и депрессорные вещества (ИДВ)

## ИГ

- Проводится на изолированном органе морских свинок-самцов
- Основано на регистрации сокращений отрезка подвздошной кишки в изотонических условиях в ответ на введение ЛП и растворов сравнения

## ИДВ

- Проводится на наркотизированных здоровых кошках любого пола
- Основано на сравнении сосудистых реакций на внутривенное введение ЛП и раствора сравнения (гистамин)

## Критерии

- Найденное содержание гистамина не должно превышать максимальное допустимое значение
- Реакция артериального давления при введении ЛП не должна превышать ее значение для раствора сравнения



# Применение биологических методов для контроля качества ЛС





**Благодарю  
за  
внимание!**

