



GLP-PLANET

Секция: Надлежащая практика в биомедицинских исследованиях и ранних этапах фармацевтической разработки
30.06-01.07.2020 г. Санкт-Петербург

ВАЛИДАЦИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В СИСТЕМЕ GLP

Ковалева Мария Александровна, с.н.с., к.б.н.

ВАЛИДАЦИЯ

- подтверждение на основе представления объективных свидетельств того, что требования (*потребность или ожидание, которое установлено, обычно предполагается или является обязательным*) предназначенные для конкретного использования или применения, выполнены.

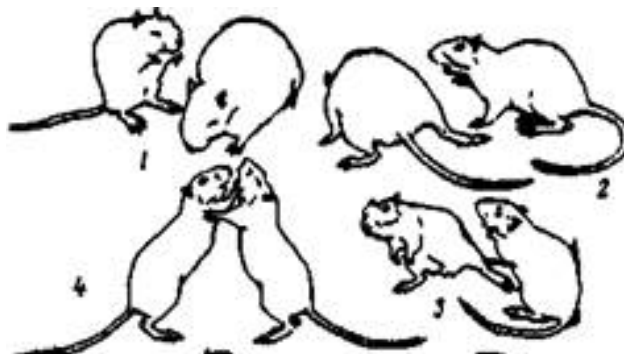


ГОСТ Р ИСО 9000-2015 Системы менеджмента
качества. Основные положения и словарь
(с Поправкой)

ВАЛИДАЦИЯ ВНЕДРЕНА



- ✓ Оборудование;
- ✓ Технологические процессы (например, производство лекарственных средств);
- ✓ Аналитические методы;
- ✓ Биоаналитические методы;
- ✓ Валидация прикладных методов фармакологии поведения и т.д.



ВАЛИДАЦИЯ ПРИКЛАДНЫХ МЕТОДОВ ФАРМАКОЛОГИИ ПОВЕДЕНИЯ

1. **Предиктивная валидность** – основополагающие требования: чувствительность и специфичность;
2. **Внешняя валидность** – сходство экспериментальной модели и клинической патологии.
3. **Конструктивная валидность** – основополагающие требования: клиническая теория о патологии должна быть систематизирована таким образом, что её терминология и концептуальная основа могли быть применены в отношении животных.



ПОИСКОВЫЕ ДАННЫЕ

Валидация ОП с использованием линий животных

Cornelius R. Pawlak, Ying-Jui Ho , Rainer K.W. Schwarting Animal models of human psychopathology based on individual differences in novelty-seeking and anxiety // Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 2008. Vol. 32. P.1544-1568.

Валидация ОП, ПКЛ, актометра по оценке моторики

Robert M.J. Deacon, Adam Croucher, J. Nicholas P. Research report Hippocampal cytotoxic lesion effects on species-typical behaviours in mice Rawlins Behavioural Brain Research. 2002. Vol. 132. P. 203-213.

Мотивация исследовательского поведения: аверсия опасного места, любопытство, конфликт мотиваций (аверсия/любопытство), аттракция безопасного места

Ian Q. Whishaw , Omar A. Gharbawie, Benjamin J. Clark, Hugo Lehmann The exploratory behavior of rats in an open environment optimizes security // Behavioural Brain Research. 2006. Vol.171. P. 230–239.

МЕТОДЫ ВАЛИДАЦИИ

1. **Повторяемость (воспроизводимость)** – выполнение повторного тестирования в одинаковых рабочих условиях, в одном и в разных испытательных центрах в течение короткого промежутка времени.
2. **Чувствительность**
3. **Специфичность**



МЕЖЛАБОРАТОРНАЯ ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ». ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП

Место проведения:

1 – АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», 188663, Россия, Ленинградская область, Всеволожский р-н, тер. Кузьмолловский г.п, ул. Заводская д.3, к.245, помещение 1.31.

2 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский Химико-Фармацевтический Университет», помещение 308 Центра экспериментальной фармакологии.

Оборудование:

Установка для проведения теста «Открытое поле» для крыс (квадратная площадка, ограниченная боковой стенкой 800×800×300 мм, пол которой разделен на 16 квадратов 200×200 мм).



ПРОТОКОЛ ПРОВЕДЕНИЯ МЕЖЛАБОРАТОРНОЙ ВАЛИДАЦИИ

1. Выбор критериев валидационной оценки
2. Обучение рабочего персонала методике проведения теста «Открытое поле» для крыс
3. Обучение работы с дезинфицирующими растворами
4. Оценка физических параметров помещения и оценка рисков
5. Сопоставимость животных (линия, пол, возраст, вес, источник). Оценка здоровья животных
6. Оценка технического состояния установки
7. Проведение теста «Открытое поле» для крыс
8. Статистическая обработка полученных результатов
9. Рассмотрение результатов, формирование комментариев и рекомендаций
10. Формирование выводов
11. Оформление протокола валидации физиологической методики
12. Контроль качества

МЕЖЛАБОРАТОРНАЯ ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ». ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП

Тест-система: крысы самцы и самки, возраст 8-12 недель.

Здоровье: клинически здоровые.

Физические параметры помещения:
температура, влажность, освещенность, шум, вибрация.

Условия содержания: тип клеток, подстил, режим смены подстила, корм, вода.



ФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПОМЕЩЕНИЯ

Параметр	АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»	ФГБОУ ВО «СПХФУ»
	2 день	4 день
Температура, °С	22	22
Влажность, %	69	43,5
Освещенность, лк	378	380
Шум, дБА	40-53	58,7
Вибрация, дБ	63-64	нет
	3 день	5 день
Температура, °С	22	23
Влажность, %	69	41
Освещенность, лк	384	410
Шум, дБА	40-53	58,7
Вибрация, дБ	63-64	нет

РЕЖИМ УХОДА



Параметр	АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»	ФГБОУ ВО «СПХФУ»
Тип клетки содержания	Поликарбонат Размер, мм 410×280×190	Поликарбонат Размер, мм 555×335×185
Подстил	Кукурузные гранулы	Рехофикс®
Режим смены подстила	2 раза до начала исследования	2 раза до начала исследования
Корм	ПКЛ-120-1 по ГОСТ Р50258-92	ПКЛ-120-1 по ГОСТ Р50258-92
Вода	СанПиН 2.1.4.10.74-01	СанПиН 2.1.4.10.74-01

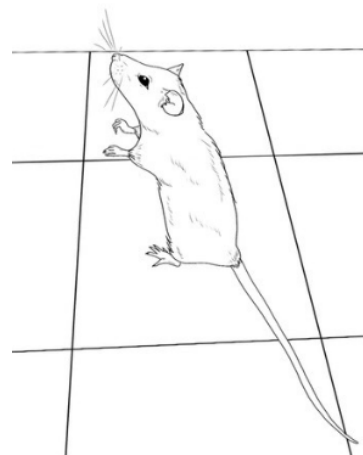
МЕЖЛАБОРАТОРНАЯ ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ». ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП

- ✓ Теоретическое и практическое обучение Исследователей методике проведения теста «Открытое поле» для крыс

Вертикальная двигательная активность



Пристеночная стойка

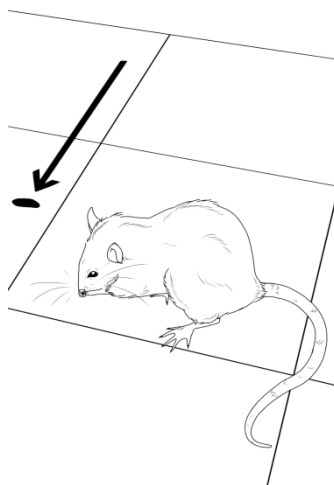


Свободная стойка

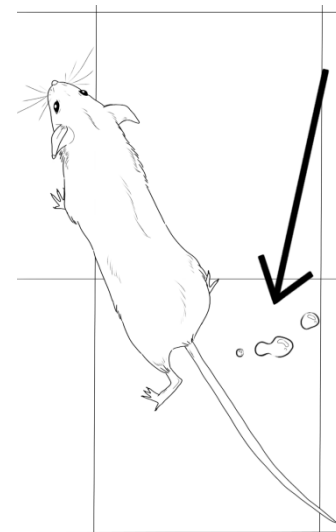
МЕЖЛАБОРАТОРНАЯ ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ». ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП



Груминг



Дефекации



Уринации
(мочевые точки)

ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП. РЕЗУЛЬТАТЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПОСЛЕ ОБУЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ 1 И 2

Локомоторная активность самок крыс в тесте «Открытое поле», $M \pm SEM$, $n=5$

Группы	Количество посещенных квадратов	Количество пристеночных стоек
Исследователь 1	25,4±4,5 ($C_V=40\%$)	14,4±2,3 ($C_V=35\%$)
Исследователь 2	25,4±10,1 ($C_V=41\%$)	11,4±1,3 ($C_V=26\%$)

Активность самок крыс в тесте «Открытое поле», $Me (Q_1; Q_3)$, $n=5$

Группы	Количество				
	центровых посещений	свободных стоек	груминга	уринаций	дефекаций
Исследователь 1	2 (0:4)	1 (0:6)	5 (5:6)	2 (0:5)	3 (0:6)
Исследователь 2	1 (1:4)	5 (1:7)	5 (4:8)	2 (0:5)	3 (0:6)

МЕЖЛАБОРАТОРНАЯ ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ»

1 день – АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» проведение теста «Открытое поле». Исследователь 1 – наблюдение за 10 самцами крыс. Исследователь 2 – наблюдение за 10 самцами крыс.

2 день – АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» проведение теста «Открытое поле». Исследователь 1 – наблюдение за 10 самками крыс. Исследователь 2 – наблюдение за 10 самками крыс.

3 день – ФГБОУ ВО «СПХФУ» проведение теста «Открытое поле». Исследователь 1 – наблюдение за 10 самцами крыс. Исследователь 2 – наблюдение за 10 самцами крыс.

4 день – ФГБОУ ВО «СПХФУ» проведение теста «Открытое поле». Исследователь 1 – наблюдение за 10 самками крыс. Исследователь 2 – наблюдение за 10 самками крыс.

Каждая группа была разделена на две подгруппы 5+5 животных

ЛОКОМОТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ САМОК КРЫС В ТЕСТЕ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ», $M \pm SEM$

Исследователь	Группа 1, n=5		Группа 2, n=5	
	Количество посещенных квадратов	Количество пристеночных стоек	Количество посещенных квадратов	Количество пристеночных стоек
1	24,2±4,9 $C_v=46\%$	11,6±2,1 $C_v=41\%$	20,2±4,6 $C_v=50\%$	8,4±1,3 $C_v=35\%$
2	27,0±6,9 $C_v=57\%$	11,2±2,0 $C_v=40\%$	25,6±4,7 $C_v=41\%$	10,4±1,2 $C_v=25\%$

Исследователь	Группа 1, n=5		Группа 2, n=5	
	Количество посещенных квадратов	Количество пристеночных стоек	Количество посещенных квадратов	Количество пристеночных стоек
1	33,6±2,5 $C_v=16\%$	11,6±1,3 $C_v=26\%$	46,8±6,8 $C_v=31\%$	11,2±1,4 $C_v=28\%$
2	39,0±6,0 $C_v=34\%$	10,4±1,5 $C_v=32\%$	34,6±1,4 $C_v=9,3\%$	12,4±1,0 $C_v=19\%$

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ



Пол животного



Испытательный
центр
(сток)



Исследователь

МЕЖЛАБОРАТОРНАЯ ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ»

Локомоторная активность самок крыс в тесте «Открытое поле»,
 $M \pm SEM$, $n=20$

Место проведения теста	Пол животного	Количество посещенных квадратов	Количество пристеночных стоек
АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»	самцы	$24,3 \pm 2,5$ ($C_V=47\%$)	$10,4 \pm 0,8$ ($C_V=36\%$)
	самки	$32,3 \pm 2,1$ ($C_V=47\%$)	$13,9 \pm 1,1$ ($C_V=47\%$)
ФГБОУ ВО «СПХФУ»	самцы	$39,0 \pm 2,4$ ($C_V=28\%$)	$11,4 \pm 0,6$ ($C_V=25\%$)
	самки	$23,6 \pm 2,5$ ($C_V=47\%$)	$10,7 \pm 1,0$ ($C_V=41\%$)

ВЕЛИЧИНА ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ПОГРЕШНОСТИ



Аналитические
методы
15%

Биоаналитические
методы
15%

Тест «Открытое поле»
для крыс
не 15%



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

