

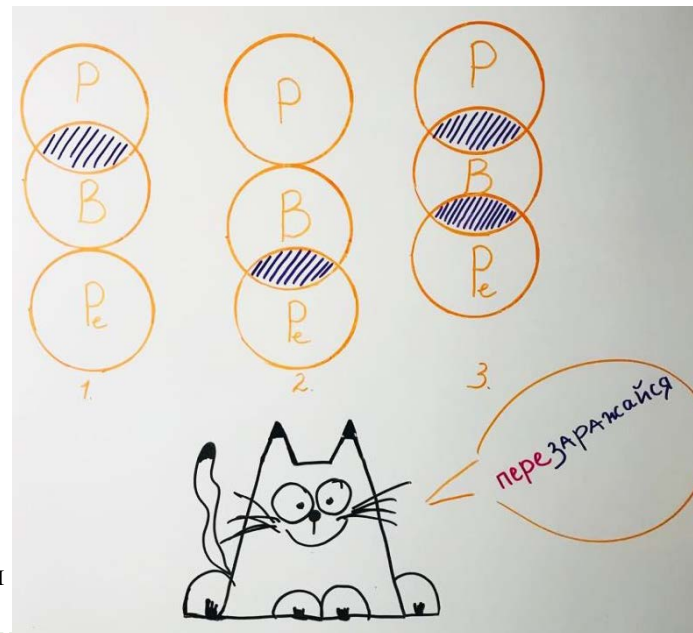


Риск контаминации биопроб в исследованиях ТОКСИКОКИНЕТИКИ

*Петрова Е. М., младший научный сотрудник
химико-аналитической лаборатории*

Согласно, рекомендации регуляторного документа, в исследованиях токсикокинетики (ТК) предусмотрена оценка контаминации контрольной группы животных исследуемым веществом или лекарственным препаратом.

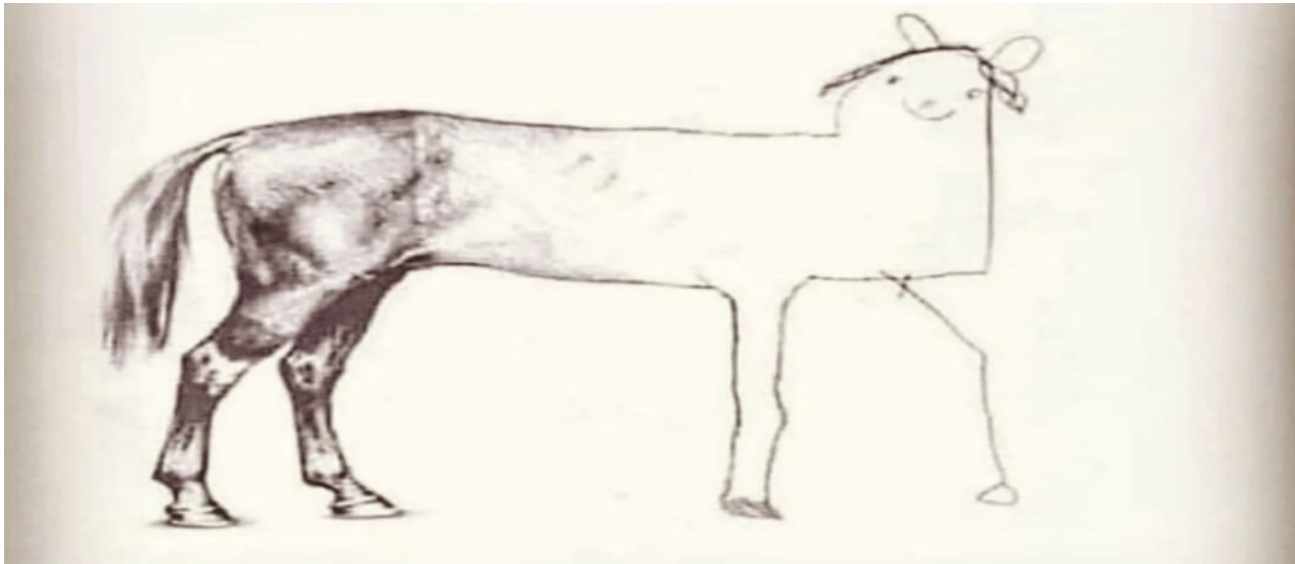
Для этого у животных контрольной группы (не получающей лекарственный препарат и/или получающей плацебо), необходимо провести отбор образцов биоматериала по той же схеме, что для животных экспериментальных групп.



* Рекомендации ЕАЭК №10 от 21.05.2020 г. «О Руководстве по проведению доклинических исследований токсичности при повторном (многократном) введении действующих веществ лекарственных препаратов для медицинского применения».

По не многочисленным данным только около 67% компаний отбирают контрольные образцы при проведении исследований и около 20% из них в дальнейшем не анализируют эти образцы.

[Hill H.M., Smith G.T. Evaluation and Elimination of Carryover and/or Contamination in LC-MS Bioanalysis., In: Handbook of LC-MS Bioanalysis (Best Practices, Experimental Protocols, and Regulations). Ed. by Li W., Zhang J., Tse F. 2013, 259–273. doi:10.1002/9781118671276.ch21]



Как контаминация влияет на результаты исследования?

Причины контаминации?

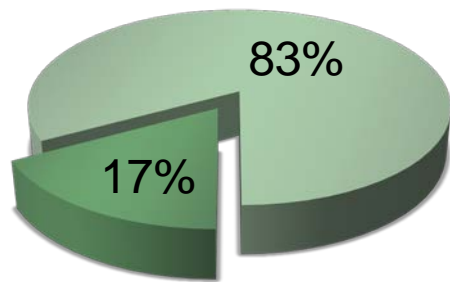


Значительная контаминация животных контрольной группы может ставить под сомнение валидность исследования, а также «приводить к аннулированию результатов исследований вследствие их низкого качества или недостаточности данных, позволяющих провести интерпретацию профиля безопасности исследуемого вещества и оценки риска его применения для человека».

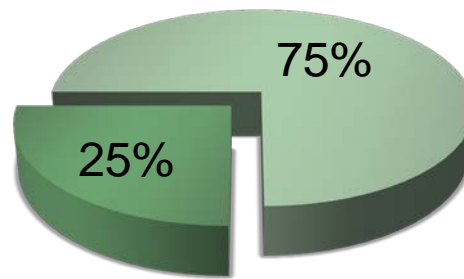


* Рекомендации ЕАЭК №10 от 21.05.2020 г. «О Руководстве по проведению доклинических исследований токсичности при повторном (многократном) введении действующих веществ лекарственных препаратов для медицинского применения».

При выполнении исследования изучения токсикокинетики препарата 1 на кроликах анализируемое соединение было обнаружено в ряде образцов, полученных от животных контрольной группы (группы 1) в первый и последний дни введения – в 17 образцах из 100 в первый день введения и в 25 образцах из 100 в последний день введения.



Первый день введения



Последний день введения

Причины контаминации

Введение
препарата
животным из
контрольной
группы

Ex vivo при
отборе
образцов

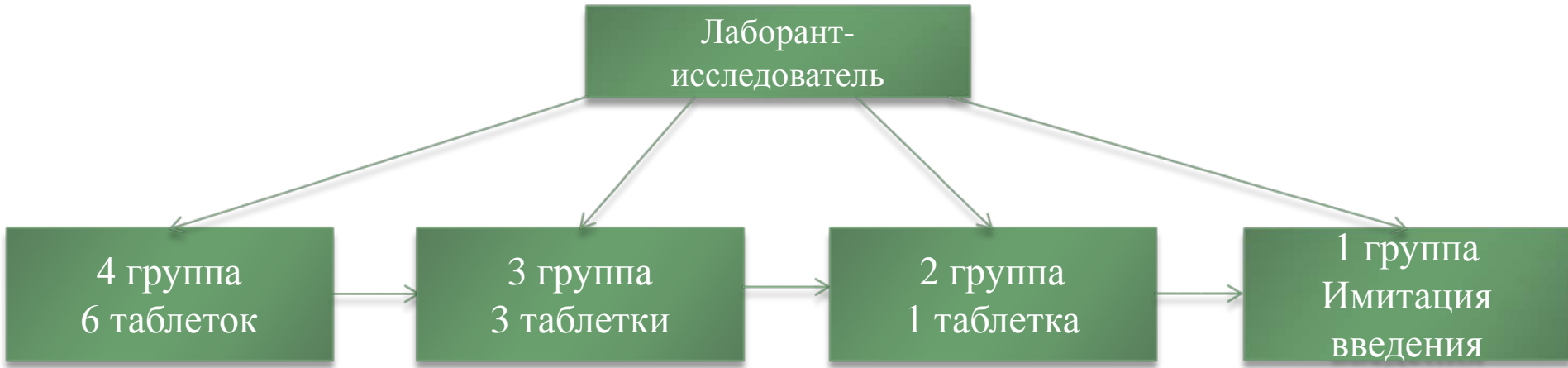
В процессе
преаналити-
ческого этапа

В процессе
аналити-
ческого этапа

1. Введение препарата животным из контрольной группы

Время, ч	Номер животного в группе										\bar{X}	SD	$S\bar{x}$
	1.6	1.7.	1.8	1.9	1.10	1.16	1.17	1.18	1.19	1.20			
1-е введение													
0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00
0,25	0,0	0,0	0,0	0,0	128,8	59,9	0,0	0,0	0,0	0,0	18,87	42,97	15,19
0,50	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	99,2	0,0	252,5	67,5	41,92	82,04	29,01
0,75	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	849,4	132,3	0,0	459,8	158,1	159,96	282,75	99,97
1,00	0,0	0,0	0,0	359,6	53,7	135,9	0,0	0,0	487,3	91,0	112,75	172,97	61,16
2,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00
4,00	109,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,93	34,56	12,22
6,00	68,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	479,1	0,0	0,0	0,0	54,77	150,64	53,26
8,00	105,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,54	33,33	11,78
24,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00
28-е введение													
0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00
0,25	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00
0,50	0,0	0,0	0,0	340,3	104,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	44,50	109,02	38,54
0,75	76,8	0,0	0,0	460,8	140,7	320,8	63,1	0,0	162,6	84,9	130,97	151,67	53,62
1,00	113,2	0,0	0,0	395,0	3212,8	358,3	131,3	0,0	675,2	108,7	499,45	978,08	345,80
2,00	0,0	0,0	0,0	2472,0	63,3	891,8	0,0	0,0	659,3	0,0	408,64	794,07	280,75
4,00	0,0	0,0	0,0	331,5	0,0	90,3	0,0	0,0	0,0	0,0	42,18	105,54	37,32
6,00	0,0	0,0	0,0	115,3	0,0	224,6	0,0	0,0	266,6	0,0	60,65	104,37	36,90
8,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00

2. Ex vivo при отборе образцов



3. Преаналитический этап

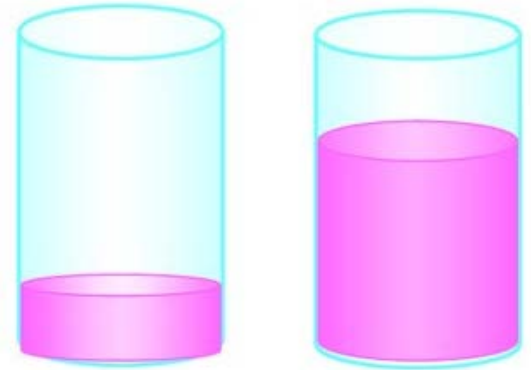


4. Аналитический этап



Таким образом, выяснено что установить источник контаминации биопроб в процессе их получения и/или дальнейшей обработки, доказать или опровергнуть факт перепутывания проб затруднительно.

Обнаруженный уровень концентрации аналита был существенно ниже, чем уровень целевого аналита в экспериментальных пробах.



Меры профилактики для исключения контаминации

1. Оптимизация организации работы лаборантов-исследователей, направленная на:

- исключение близкой по времени и месту выполнения работы одного сотрудника с животными, получающими разные дозы исследуемых объектов;
- регулярная смена СИЗ (прежде всего, перчатки), применение одноразовых расходных материалов. По возможности, необходима смена на каждой временной точке для каждого животного



Схема работы при отборе биоматериала в ходе биологической части

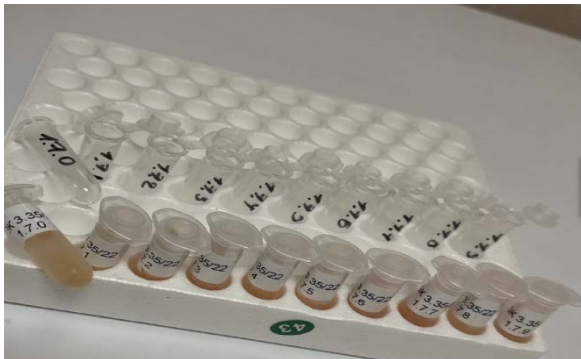


Меры профилактики для исключения контаминации

2. Оптимизация преаналитического и аналитического этапов:

- последовательная работа с пробами от групп с меньшей дозой исследуемых объектов к группам с большей дозой;
- пробоподготовка и обработка проб в последовательности, соответствующей порядку (временной точке) отбора биоматериала;





Меры профилактики для исключения контаминации

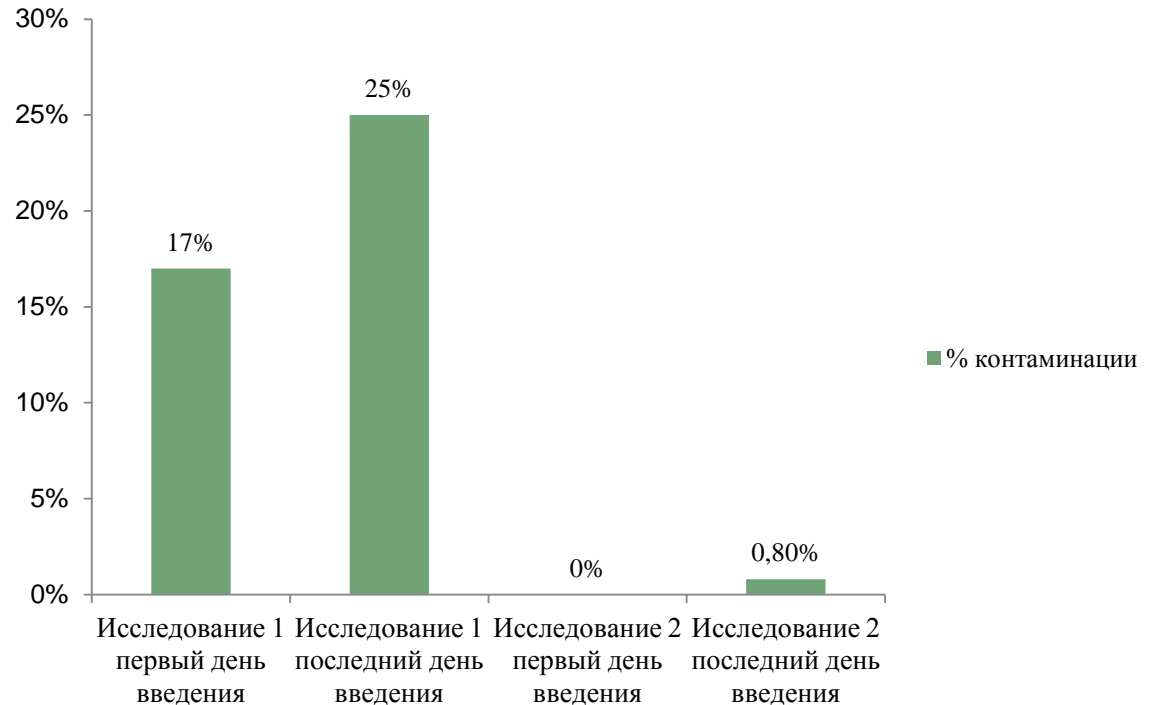
- применение наконечников к механическим дозаторам, снабженных фильтром, препятствующим забросу пробы в дозатор;
- регулярная смена СИЗ (прежде всего, перчатки) применение одноразовых, индивидуальных для каждой пробы расходных материалов (пробирки, виалы, наконечники для дозаторов и др.);



Заключение

Корректирующие и профилактические меры были использованы при выполнении исследования 2.

Разработанные профилактические меры помогли снизить уровень контаминации с 17-25% до 0-0,8%.



Спасибо за внимание!

