САНИТАРНЫЕ ПРАВИЛА

ГОСУДАРСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ И РЕГИСТРАЦИЯ НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

СП 3.3.2.561-96. 3.3.2.

ЗДРАВООХРАНЕНИЕ РОССИИ



gost.e-ecolog.ru



3.3.2. МЕДИЦИНСКИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ И РЕГИСТРАЦИЯ НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

STATE TRIALS AND REGISTRATION OF NEW MEDICAL IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS

САНИТАРНЫЕ ПРАВИЛА
СП 3.3.2.561-96

Москва
МОРКНИГА
2020

ББК 51.9я8.
П59.

П59. 3.3.2. Медицинские иммунобиологические препараты. Государственные испытания и регистрация новых медицинских иммунобиологических препаратов. Санитарные правила.—М.: МОРКНИГА, 2020.— 106 с.

1. Разработаны Российским Государственным научно-исследовательским институтом стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича (Анисимова Т.И., Бектимиров Т.А., Буковская С.Н., Воробьева М.С., Гавристова И.А., Горбунов М.А., Григорьева Л.В., Дарбеева О.С., Иванова В.А., Ковальская С.Я., Лодинова Л.М., Медуницын Н.В., Озерецковский Н.А., Резепов Ф.Ф., Салмин Л.В., Шимчук Л.Ф., Шобухова Т.С.).

2. Утверждены и введены в действие Председателем Госкомсанэпиднадзора России - Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 31 октября 1996 г.

3. Введены впервые.

ISBN 978-5-903089-35-2

ББК 51.9я8.

ISBN 978-5-903089-35-2 © Верстка, дизайн «МОРКНИГА», 2020

Утверждены
Постановлением
Госкомсанэпиднадзора России
от 31 октября 1996 г. N 33

Дата введения -
с момента утверждения

3.3.2. МЕДИЦИНСКИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ И РЕГИСТРАЦИЯ НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

STATE TRIALS AND REGISTRATION OF NEW MEDICAL IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS

САНИТАРНЫЕ ПРАВИЛА
СП 3.3.2.561-96

1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящие санитарные правила устанавливают единый порядок государственных испытаний и регистрации новых МИБП. Он обязателен для всех организаций и предприятий, разрабатывающих, производящих и использующих МИБП, вне зависимости от их ведомственной принадлежности и форм собственности. Этот же порядок распространяется на зарубежные МИБП, впервые регистрируемые в Российской Федерации (Положение о регистрации зарубежных МИБП в РФ).

2. НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящих санитарных правилах использованы ссылки на следующие документы.

2.1. Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан.

2.2. Положение о регистрации зарубежных медицинских иммунобиологических препаратов в РФ. Постановление Госкомсанэпиднадзора N 12 от 10.11.92.

2.3. Положение об аттестации производства МИБП. Постановление Госкомсанэпиднадзора РФ N 6 от 15.07.92.

2.4. ГОСТ 16504-81. Испытания и контроль качества продукции. Основные термины и определения.

2.5. ГОСТ 15467-79. Управление качеством продукции. Основные понятия. Термины и определения.

2.6. РД 42-28-24-88. Медицинские иммунобиологические препараты. Основные термины и определения.

2.7. РД 50-332-82. Методические указания. Порядок проведения научно-технической и правовой экспертизы проектов стандартов.

2.8. РД 42-16-14-89. Методические указания. Техническое задание на разработку новых медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП). Порядок построения, изложения, содержания.

2.9. ОСТ 42-1-83. Регламент производства медицинских иммунобиологических препаратов. Содержание, порядок разработки, согласования, утверждения и изменения.

2.10. РД 42-281-91. Государственные приемочные испытания МИБП. Порядок проведения. Основные положения. М., 1991.

2.11. МУ. Проведение испытаний диагностических питательных сред. М., 1988.

Примечание.

В официальном тексте документа, видимо, допущена опечатка: имеется в виду Постановление ГКСЭН N 5 от 03.06.1994, а не от 03.07.1994.

2.12. Положение о государственной регистрации, сертификации и государственном контроле за качеством медицинских иммунобиологических препаратов в Российской Федерации. Постановление ГКСЭН N 5 от 03.07.94.

3. СОКРАЩЕНИЯ, ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

МИБП. Медицинские иммунобиологические препараты, предназначенные для профилактики, диагностики и лечения инфекционных и аллергических болезней.

Комитет МИБП. Комитет медицинских иммунобиологических препаратов Минздрава России.

НТД. Нормативно-техническая документация.

Испытания. Определение количественных и (или) качественных характеристик объекта испытаний. Определение включает оценку и (или) контроль. Характеристики объекта при испытаниях могут оцениваться, если задачей испытаний является только установление соответствия характеристик объекта заданным требованиям.

Государственные приемочные испытания. Испытания новой продукции, проводимые головной организацией по государственным испытаниям с целью решения вопроса о целесообразности использования этой продукции по назначению, возможности постановки ее на производство.

Головная организация по государственным испытаниям продукции. Организация, которая утверждена в принятом порядке для проведения на государственном уровне испытания продукции.

Сертификационные испытания. Контрольные испытания продукции, соответствия характеристик ее свойств национальным и (или) международным нормативно-техническим документам.

Натурные (полевые) испытания. Испытания продукции в условиях ее использования по прямому назначению с непосредственной оценкой (или контролем) определяемых ее характеристик.

Качество продукции. Совокупность свойств продукции, обусловливающих ее пригодность удовлетворять определенные потребности в соответствии с их назначением.

Показатель качества продукции. Количественная характеристика свойств продукции, входящих в ее качество, рассматриваемая применительно к определенным условиям ее потребления.

Экспертный метод определения показателей качества продукции. Метод определения значений показателей качества продукции, осуществляемый на основе решения, принимаемого экспертами.

Операционный контроль. Контроль продукции во время выполнения или после завершения технологической операции.

4. ПОРЯДОК ГОСУДАРСТВЕННЫХ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ НОВЫХ МИБП

4.1. Общие положения

4.1.1. Государственные испытания и регистрация медицинских иммунобиологических препаратов (далее именуется государственные испытания и регистрация) являются деятельностью, направленной на выполнение статей 43, 44 Основ законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан, Постановления Правительства Российской Федерации N 1241 от 18.12.95 «О государственном контроле за медицинскими иммунобиологическими препаратами».

4.1.2. Научно-методическое руководство государственными испытаниями обеспечивается Государственным научно-исследовательским институтом стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича Минздрава России (далее - ГИСК). (Постановление ГКСЭН N 5 от 03.07.94, утвержденное Министерством юстиции РФ.)

4.1.3. Государственной регистрации подлежат новые препараты, предлагаемые для промышленного производства и применения на территории Российской Федерации, а также препараты зарубежного производства, предлагаемые для применения и производства в стране.

4.1.4. Медицинскими иммунобиологическими препаратами (далее - МИБП) являются препараты, предназначенные для специфической профилактики, диагностики и лечения инфекционных, паразитарных болезней и аллергических состояний: вакцины, иммуноглобулины, интерфероны, цитокины, сыворотки, бактериофаги, эубиотики, аллергены, диагностические препараты, питательные среды, иммуномодуляторы бактериального происхождения и на основе экстрактов органов и тканей.

4.1.5. Государственные испытания и регистрация производятся по представлению министерств, ведомств, предприятий, организаций, уч-

реждений, иных юридических лиц независимо от форм собственности и ведомственной принадлежности, ответственных за разработку, внедрение, выпуск, экспорт и импорт этих препаратов.

4.1.6. Процесс государственных испытаний и регистрации включает следующие этапы: экспертизу материалов, лабораторные и полевые испытания, анализ их результатов, утверждение нормативно-технической документации, регистрацию и выдачу свидетельства о государственной регистрации установленного образца, внесение в государственный реестр МИБП.

4.1.7. Государственная регистрация осуществляется на основании результатов всех этапов испытаний препарата, подтверждающих его эффективность, специфическую активность и безопасность, а также при наличии утвержденной нормативно-технической документации.

4.1.8. Предложения на государственные испытания и регистрацию направляются в Бюро по регистрации Минздрава России.

4.1.9. ГИСК организует экспертизу нормативно-технической документации, контроль образцов лабораторных и экспериментально-производственных серий МИБП, обеспечивает научно-методическое руководство выполнением программ ограниченных и полевых государственных (натурных) испытаний МИБП.

4.1.10. Подлинники всей нормативно-технической документации на МИБП, внесенных в государственный реестр МИБП, в 2-х экземплярах хранятся в ГИСКе, а Фармакопейные статьи (Временные Фармакопейные статьи) также в Фармакопейном государственном комитете Минздрава России.

4.1.11. Действие свидетельства о регистрации МИБП может быть приостановлено при выявлении ранее неизвестных побочных действий препарата, создающих угрозу здоровью человека. Информацию о прекращении действия свидетельства о регистрации и (или) запрете препарата сообщают заявителю в 3-дневный срок после принятия решения.

4.1.12. Заявителю гарантируется соблюдение конфиденциальности информации, составляющей коммерческую тайну, если это не ставит под угрозу здоровье человека.

4.1.13. Заявителю может быть отказано в регистрации препарата, при этом заявителю направляется мотивированный ответ.

4.1.14. Опротестование решения об отказе в регистрации препарата подается не позднее 30 дней со времени его принятия на имя Руководителя регистрирующей организации и может быть обжаловано в Арбитражном суде.

4.1.15. МИБП, выносимые на рассмотрение для применения в медицинской практике, не должны уступать по качеству аналогичным по назначению препаратам, применяемым в РФ. Они должны соответствовать национальным и, как правило, международным (ВОЗ) требованиям.

4.1.16. Применение новых препаратов в медицинской практике разрешается после их государственной регистрации на основании решения Комитета МИБП, по итогам Государственных испытаний экспериментально-производственных серий.

Для препаратов, потребность в которых ограничена и организация производственного выпуска нецелесообразна, по решению Минздрава России в Государственных испытаниях могут быть использованы лабораторные серии.

Временную Фармакопейную статью (ВФС) утверждают по представлению Комитета МИБП и Фармакопейного государственного комитета МИБП в установленном порядке.

4.2. Лабораторно-экспериментальное изучение МИБП

4.2.1. Целью лабораторно-экспериментального изучения МИБП является определение их качества с помощью адекватных методов исследования и контроля на соответствие национальным и международным требованиям. Лабораторные серии препарата, подлежащие изучению, готовят в соответствии с инструкцией по изготовлению и контролю, утвержденной директором организации-разработчика. При этом лабораторно-экспериментальное (доклиническое) изучение безвредности и иммуногенности МИБП, предназначенных для введения человеку, должно проводиться с обязательным использованием методов, определенных данным документом в разделе 5, а питательных сред - с использованием показателей и методов контроля, содержащихся в РД «Проведение испытаний диагностических питательных сред», Москва, 1982.

Изучение проводит организация-разработчик с привлечением при необходимости других учреждений и организаций.

4.2.2. Результаты лабораторно-экспериментального изучения препарата являются основанием для решения вопроса о возможности:

- испытания реактогенности, безопасности и специфической активности лабораторных серий на ограниченной группе людей;
- выпуска экспериментально-производственных и производственных серий диагностических препаратов, применяемых ин витро, и диагностических питательных сред с целью изучения их диагностической эффективности в Государственных испытаниях.

4.3. Испытание новых МИБП, вводимых человеку

В соответствии с Основами законодательства об охране здоровья граждан проведение испытаний на людях допускается только в учреждениях государственной или муниципальной системы здравоохранения.

Любое испытание с привлечением человека в качестве объекта может проводиться только после получения его письменного согласия. При получении согласия испытуемому должна быть предоставлена информация о целях, методах, побочных эффектах, возможном риске, продолжительности, ожидаемых результатах исследования.

Гражданин не может быть принужден к участию в испытаниях и имеет право отказаться от участия в них на любой стадии.

Испытания проводят в 2 этапа:

- испытание лабораторных серий на ограниченной группе людей для оценки реактогенности, безопасности и специфической активности;

- государственные приемочные испытания экспериментально-производственных (производственных) серий.

4.3.1. Испытания лабораторных серий на реактогенность, безопасность и специфическую активность на ограниченной группе людей.

4.3.1.1. Разрешение на проведение испытаний и утверждение программы выдает комитет МИБП.

4.3.1.2. Документы и материалы, представляемые организацией-разработчиком в ГИСК им. Тарасевича:

- обоснование целесообразности разработки препарата - 4 экз.;

- отчет о лабораторно-экспериментальном (доклиническом) изучении препарата - 4 экз.;

- инструкция по изготовлению и контролю препарата, утвержденная директором организации-разработчика, - 3 экз.;

- проект программы испытаний - 4 экз.;

- образцы трех лабораторных серий, подлежащих испытанию, с паспортами, подписанными заведующими ОБТК учреждения-разработчика.

Примечание: *Контроль серий аллергенов не предусматривает определения их специфической активности.*

4.3.1.3. Контроль серий, подлежащих испытанию, осуществляет ГИСК им. Л.А. Тарасевича или другая испытательная организация.

4.3.1.4. Организациями, ответственными за испытание реактогенности, безопасности и специфической активности МИБП, являются клиническое учреждение, где проводится испытание МИБП, определяемое Комитетом МИБП, и организация-разработчик.

4.3.2. Государственные приемочные испытания экспериментально-производственных (производственных) серий:

4.3.2.1. Новые МИБП, предназначенные для применения в практике здравоохранения, независимо от ведомственной принадлежности организации-разработчика подлежат государственным приемочным испытаниям [1].

4.3.2.2. Головной организацией по государственным приемочным испытаниям МИБП является ГИСК им Л.А. Тарасевича.

4.3.2.3. Разрешение на проведение государственных приемочных испытаний нового препарата дает Комитет МИБП на основании данных экспертизы следующих документов и материалов, представляемых организацией-разработчиком препарата:

- отчета о лабораторно-экспериментальном изучении препарата - 4 экз.;

- отчета о результатах испытаний реактогенности, безопасности и специфической активности МИБП на ограниченной группе людей (представляется клинико-поликлиническим учреждением, проводившим испытания, совместно с учреждением-разработчиком) - 3 экз.;

1 Необходимость проведения приемочных испытаний коммерческих МИБП при изменении технологии производства препаратов, способа их применения (доза, схема, метод введения, методика постановки реакции и др.) или показаний к применению определяет Комитет МИБП.

- проекта ВФС с пояснительной запиской (представляется учреждением-разработчиком совместно с предприятием-изготовителем) - 5 экз.;

- экспериментально-производственного (производственного) регламента (ЭПР, ПР), утвержденного директором предприятия-изготовителя, - 5 экз.;

- проекта Инструкции по применению препарата - 3 экз.;

- проекта программы натурных (полевых) испытаний - 3 экз.;

- образцов трех, подлежащих испытанию, экспериментально-производственных (производственных) серий препарата, выпущенных предприятием-изготовителем, с паспортами отдела биологического и технологического контроля (ОБТК).

4.3.2.4. Государственные приемочные испытания включают комплекс последовательно выполняемых, связанных между собой работ:

- экспертизу проектов нормативно-технической документации на препарат в соответствии с РД 50-332-82;

- лабораторные испытания препарата;

- натурные (полевые) испытания;

- аттестацию организации - производителя МИБП при освоении производства нового препарата.

4.3.2.5. Организация, ответственная за проведение государственных испытаний, после их завершения представляет в Комитет МИБП отчет о результатах испытаний (5 экз.).

Комитет МИБП, рассмотрев его, принимает решение о возможности производства и применения МИБП в медицинской практике.

4.3.3. Содержание государственных приемочных испытаний.

4.3.3.1. Экспертиза нормативно-технической документации на препарат.

4.3.3.1.1. Перечень представляемых и подлежащих экспертизе НТД и других необходимых материалов указан в п. 4.3.2.3 настоящего документа.

4.3.3.1.2. Экспертизу проводят в соответствии с положениями РД 50-332-82.

4.3.3.1.3. При оценке научно-технического уровня НТД определяют соответствие основных показателей качества препарата, сырья и материалов, используемых при его производстве, методов лабораторного контроля готового препарата, методов операционного контроля, заложенных в ЭПР (ПР), рекомендациям ВОЗ, национальным требованиям других стран.

4.3.3.1.4. При метрологической экспертизе НТД определяют оптимальность номенклатуры измеряемых параметров при операционном контроле и контроле готового препарата, устанавливают обоснованность норм точности измерений, полноты и правильности требований к методикам выполнений измерений, правильность выбора отраслевого стандартного образца (ОСО) при измерении основных показателей качеств препарата, используемых при его производстве материалов, анализируют материалы по метрологической аттестации лабораторных методов контроля, оценивают возможность заложенных в НТД лабораторных методов контроля стандартизировать препарат по основным показателям качества.

4.3.3.1.5. При экспертизе устанавливают соответствие содержания, порядка построения и оформления проектов ВФС и ЭПР (ПР) положениям раздела 13 настоящего документа и ОСТ 42-1-83.

4.3.3.2. Лабораторные испытания препарата.

4.3.3.2.1. Испытания включают:

- лабораторные испытания не менее трех экспериментально-производственных (производственных) серий препарата;

- инспекционную проверку предприятия-изготовителя представленных для испытания серий препарата с целью установления соответствия условий изготовления требованиям НТД;

- метрологическую аттестацию содержащихся в НТД методов лабораторного контроля (п. 4.3.3.1.4);

- оценку препарата в тестах, не включенных в НТД в качестве методов лабораторного контроля (необходимость и содержание этой работы устанавливают на основании анализа материалов экспериментально-лабораторного изучения препарата, проведенного в соответствии с требованиями настоящего документа).

4.3.3.2.2. Образцы серий препарата, а также необходимые для проведения лабораторных испытаний материалы представляет бесплатно организация-изготовитель (разработчик). Испытания могут быть проведены на базе организации-изготовителя (разработчика).

4.3.3.3. Натурные (полевые) испытания.

4.3.3.3.1. Испытаниям подвергают экспериментально-производственные (производственные) серии препарата.

4.3.3.3.2. В натурных испытаниях оценивают следующие показатели качества МИБП:

- для профилактических препаратов - профилактическую эффективность, антигенную активность, побочное действие (реактогенность и безопасность), эксплуатационные свойства;

- для лечебных препаратов - лечебную эффективность, определенную в соответствии с назначением препарата, и побочное действие;

- для диагностических препаратов, вводимых людям, - диагностическую ценность, устанавливаемую на основе показателей специфичности и чувствительности препарата, безопасность;

- информативность содержащихся в НТД лабораторных методов оценки основных показателей качества препарата.

4.3.3.3.3. Натурные испытания проводят с соблюдением основных принципов строго контролируемого полевого опыта.

4.3.3.3.4. Профилактические, лечебные и вводимые людям диагностические препараты испытывают при применении их в дозе и способом, безопасность которых установлена в исследовании на ограниченной группе людей.

4.3.3.3.5. В испытаниях, как правило, должны быть использованы препараты сравнения - коммерческие отечественные или зарубежные однонаправленные препараты.

Серии нового препарата, «плацебо» и препарат сравнения, если последний используется, должны быть отконтролированы ОБТК организации-изготовителя, а также ГИСК им. Л.А. Тарасевича (другой контролирующей организацией) по всем показателям, содержащимся в соответствующих НТД.

4.3.3.3.6. Изучаемый препарат, препарат сравнения и «плацебо», а также все материалы, необходимые для проведения испытаний, представляет бесплатно организация (ведомство), финансирующая государственные испытания.

4.3.3.3.7. Программу натурных испытаний разрабатывает учреждение, ответственное за его проведение (см. раздел 6).

К составлению программы и ее выполнению могут привлекаться организация-разработчик, научно-исследовательские институты соответствующего профиля, а также санитарно-эпидемиологические и лечебно-профилактические учреждения.

В программе формулируют цели и задачи испытания, объем, методику и сроки выполнения планируемых работ, территории, контингенты, учреждения, ответственные за проведение отдельных фрагментов испытания. В программе испытания препаратов, вводимых людям, должны быть учтены рекомендации, содержащиеся в разделах 6 - 8 и 12 настоящего документа.

Программу натурных испытаний утверждает Комитет МИБП.

4.3.3.3.8. Результаты натурных испытаний учитывают при окончательном редактировании ВФС и составлении Инструкции по применению препарата.

4.3.3.4. Аттестация организации - производителя МИБП.

Аттестацию организации - производителя МИБП при освоении производства препарата, внедряемого в практику по результатам государственных приемочных испытаний, проводят в соответствии с «Положением об аттестации производства МИБП». При этом организации-производителю выдается «Сертификат производства», дающий право производить препарат.

4.3.4. Порядок проведения государственных приемочных испытаний:

4.3.4.1. Головная организация по государственным испытаниям МИБП ГИСК им. Л.А. Тарасевича осуществляет:

- экспертизу НТД, лабораторные испытания экспериментально-производственных (производственных) серий, научно-методическое руководство проведением натурных испытаний МИБП, предназначенных для специфической профилактики и диагностики инфекционных болезней, составление по результатам испытаний Инструкции по применению препарата, внесение изменений в проекты ВФС;

- экспертизу НТД, лабораторные испытания экспериментально-производственных серий, рецензирование программ натурных испытаний МИБП, предназначенных для лечения инфекционных болезней, диагностики и лечения аллергических заболеваний, участие в составлении инструкции по применению препаратов, внесение изменений в проекты ВФС;

- экспертизу ВФС в части, касающейся общих методов контроля (стерильность, массовая доля влаги, другие физико-химические показатели и т.п.), при необходимости их проведения; определение соответствия построения, содержания, изложения и оформления ВФС и инструкций по применению МИБП, предназначенных для профилактики, диагностики и лечения паразитарных и венерических болезней, требованиям разделов 12 и 13 настоящего документа;

- научно-методическое руководство государственными испытаниями МИБП для специфической профилактики, диагностики и лечения паразитарных и венерических болезней, лечения инфекционных болезней, диагностики и лечения аллергических заболеваний;

- аттестацию организации - производителя МИБП при освоении производства нового препарата.

4.3.4.2. Учреждениями, ответственными за организацию государственных приемочных испытаний МИБП, предназначенных для специфической профилактики, диагностики и лечения паразитарных и венерических болезней, являются соответственно Институт медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И. Марциновского и Центральный научно-исследовательский кожно-венерологический институт Минздрава России (РД 42-28-1-91), которые выполняют:

- экспертизу НТД;

- лабораторные испытания экспериментально-производственных (производственных) серий;

- организацию натурных испытаний;

- составление по результатам испытаний инструкций по применению препаратов, внесение изменений в проекты ВФС.

4.3.4.3. Составление и выполнение программ натурных испытаний МИБП для лечения инфекционных болезней, диагностики и лечения аллергических заболеваний осуществляют клинические учреждения, которые определены Комитетом МИБП как ответственные за проведение испытания.

4.3.4.4. Отчет о результатах государственных приемочных испытаний, проекты ВФС и Инструкции по применению нового препарата рассматривает Комитет МИБП. На основании его рекомендаций и рекомендаций Фармакопейного государственного комитета утверждаются ВФС, инструкция по применению и препарат вносится в Государственный реестр МИБП, разрешенных для промышленного производства и применения.

4.3.5. Финансирование государственных приемочных испытаний.

Финансирование всех работ по государственным приемочным испытаниям осуществляют организация-разработчик, организация-производитель или заказчик препарата, выделяя необходимые средства организации, ответственной за проведение испытаний.

5. ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ МИБП. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Отчет о результатах доклинических испытаний специфической активности, токсичности (специфической безопасности), аллергизирующего действия новых МИБП и их влияния на иммунную систему направляется учреждениями - разработчиками нового препарата в Комитет МИБП при Минздраве России для решения вопроса об испытании реактогенности, безопасности и специфической активности лабораторных серий на ограниченной группе людей.

5.1. Определение специфической активности.

Общие принципы

Для определения специфической активности препаратов должны использоваться информативные лабораторные методы, позволяющие получать данные, коррелирующие с результатами применения препаратов у людей.

Принципы оценки активности препаратов, предназначенных для активной иммунизации человека (вакцины, анатоксины), должны быть основаны на определении степени иммунологического ответа у экспериментальных животных, иммунизированных данными препаратами.

При изучении специфической активности новых препаратов и последующей разработке требований к ним необходимо основываться на определенных принципах, излагаемых ниже.

5.1.1. При выборе вида лабораторных животных и методов их заражения необходимо стремиться к тому, чтобы степень восприимчивости животных к инфекционному агенту или токсину и патогенез инфекционного процесса были максимально близки к таковым у человека.

В процессе доклинического изучения целесообразно использовать несколько видов животных.

5.1.2. Испытания следует проводить на животных одной линии, отличающихся меньшими индивидуальными различиями в иммунореактивности и чувствительности к инфекционным агентам и токсинам.

5.1.3. Специфическую активность препаратов, предназначенных для активной иммунизации, следует оценивать по устойчивости вакцинированных животных к специфическому инфекционному агенту или токсину и по уровню специфических антител в крови. В случае, когда при формировании невосприимчивости клеточные механизмы играют определяющую или паритетную роль, следует изучить клеточный механизм специфического иммунного ответа.

Оценку специфической активности сывороточных препаратов следует проводить на животных путем определения их защитных свойств в отношении специфического инфекционного агента или токсина. При этом одновременно целесообразно использовать также доступные пробирочные методы и определить степень корреляции результатов, получаемых в этих опытах и опытах на животных.

5.1.4. Испытание иммуногенности препаратов следует, как правило, проводить при однократном введении. Исключение могут составлять препараты, однократное введение которых неэффективно.

5.1.5. Дозы антигенов для иммунизации животных должны избираться с таким расчетом, чтобы испытание напряженности иммунитета проводилось введением достаточно большой дозы инфекционного агента или токсина.

Необходимо избегать применения чрезмерно больших доз антигенов, приводящих к гипериммунизации и нивелированию показателей иммуногенности препаратов с разной активностью.

5.1.6. Испытание напряженности иммунитета следует проводить в период развития максимального его уровня.

5.1.7. Специфическую активность препаратов необходимо оценивать количественно в сравнении с применяемыми в практике.

Для получения количественной характеристики специфической активности препарата обязательным условием является проведение исследований на достаточно большом числе животных и статистическая обработка получаемых результатов.

Уровень иммунологического ответа следует выражать числом $ЛД_{50}$ инфекционного или токсического материала, к которому устойчиво 50% животных, иммунизированных одной выбранной дозой антигена (метод «постоянной дозы антигена»). Во втором варианте животных иммунизируют несколькими дозами антигена и рассчитывают его дозу, защищающую 50% животных ($ЕД_{50}$) от определенной дозы инфекционного агента или токсина.

При проведении испытаний следует использовать препараты сравнения. В качестве препаратов сравнения используют препараты (серии), наиболее полно охарактеризованные по показателю активности в многократно повторенных экспериментах. При разработке усовершенствованных препаратов в качестве препаратов сравнения должны быть использованы препараты-аналоги из числа применяемых в практике; при наличии утвержденных стандартных образцов активности использование последних при оценке активности модифицированных препаратов является обязательным.

5.1.8. При выборе препаратов сравнения следует учитывать наличие в них адъютантов. Одним из основных и принципиальных условий правомерности количественного сопоставления активности двух препаратов является параллелизм линий, выражающих зависимость между дозой введенного антигена и полученным иммунологическим эффектом («линии регрессии»).

В качестве препаратов сравнения необходимо применять лиофилизованные препараты, длительно сохраняющие свои свойства без изменений.

5.1.9. Специфическую активность живых вакцин следует также оценивать по содержанию живых бактерий или инфекционных единиц вируса. Количество живых бактерий или вирусных инфекционных единиц в живых вакцинах определяют с помощью общепринятых или специально разработанных и аттестованных методов с использованием соответствующих субстратов (питательные среды - для бактерийных вакцин, клеточные культуры - для вирусных вакцин).

5.1.10. Для вакцинных препаратов, не имеющих адекватных лабораторных моделей, характеристику специфической активности получают путем изменений в них с помощью иммунологических и биохимических методов специфических антигенов, с которыми связана иммуногенная активность.

5.1.11. С учетом сложности оценки специфической активности препаратов и трудности прогнозирования надежности и информативности (степень корреляции результатов с данными, получаемыми у людей) какого-либо одного метода, при экспериментальном доклиническом изучении новых

препаратов следует для оценки специфической активности использовать несколько методов с последующим их включением в нормативную документацию.

5.1.12. При разработке оценочных методов должны быть четко регламентированы все элементы, влияющие на получаемые результаты (характеристика животных, условия и техника постановки опытов, методы статистической обработки с расчетом доверительных границ полученных показателей). Крайне важно метрологическое обеспечение технических операций, связанных с использованием различных средств измерения, включающих пипетки, мерную посуду, шприцы, измерительную аппаратуру, и использование стандартизированных реактивов и других материалов. Требования к метрологическому обеспечению должны быть регламентированы соответствующими нормативными документами.

5.2. Определение токсичности инактивированных бактериальных и вирусных вакцин и анатоксинов

При доклиническом изучении токсичности и некоторых фармакологических свойств МИБП следует определять его побочное действие на органы и системы организма лабораторных животных.

Испытанию подлежат не менее трех лабораторных серий препарата с охарактеризованной в условиях эксперимента профилактической (терапевтической) эффективностью или антигенной активностью. Результаты испытаний представляют раздельно по каждой серии.

Изучение нового препарата должно быть проведено в сравнительных опытах с одной или несколькими сериями однонаправленного коммерческого препарата (при его наличии) или коммерческого препарата, близкого по природе, структуре, назначению (например, с инактивированной гриппозной вакциной при изучении новой инактивированной вирусной вакцины, со столбнячным анатоксином при изучении нового анатоксина и т.п.).

Сравнительное изучение осуществляют в условиях одного опыта на лабораторных животных из той же партии.

Заключение о возможности испытания препарата на людях должно основываться на сопоставлении соотношения эффективность - токсичность разрабатываемого препарата и препарата сравнения с учетом предполагаемой дозы нового препарата для человека и его назначения. В случае если в состав препарата в качестве дополнительных компонентов (стабилизатора, сорбента, консерванта и т.п.) входят вещества, на введение которых человеку не имеется разрешения Фармакологического комитета и которые не применялись в производстве МИБП, должны быть представлены материалы, свидетельствующие о возможности их введения человеку.

5.2.1. Определение «острой» токсичности.

Токсичность в остром опыте при однократном введении определяют не менее чем на двух видах животных. Расчеты параметров летального эффекта ($ЛД_{50}$) для мелких животных проводят по одному из общепринятых биометрических методов; при испытании токсичности на крупных

животных допустимо так называемое приблизительное определение. При невозможности определить $ЛД_{50}$ животным вводится максимальная доза испытуемого препарата.

Внутривенный способ введения препарата (жидкого, растворенного в жидкостях, которые можно вводить внутривенно) должен быть основным во всех опытах; в случае если препарат содержит сорбент, его токсичность определяют до сорбции. Наряду с этим, токсичность препарата обязательно исследуют при том пути введения, который предполагают использовать в практике.

Ежедневной регистрации подлежат: гибель животных, их вес, а также наличие или отсутствие возможных клинических симптомов интоксикации.

Во всех экспериментах, предусматривающих выполнение патоморфологических исследований, используют равное количество контрольных интактных животных. Контрольную группу формируют из животных той же партии и исследуют в те же сроки, что и животных, получивших испытуемый препарат и препарат сравнения (Приложение 1, п. 1.1).

5.2.2. Определение «хронической» токсичности.

Хроническую токсичность определяют для МИБП, вводимых повторно и в больших дозах.

Токсичность в хроническом опыте при многократных введениях определяется не менее чем на двух видах животных (см. п. 5.2). Обязательным путем введения является способ, рекомендуемый для практического применения. При длительном испытании на мелких животных препаратов, предназначенных для внутривенных инъекций, допустимо внутрибрюшинное введение.

Наблюдение за животными проводят в течение периода введения препарата и последующих 7 сут. При этом ежедневно регистрируют массу животных, а также возможные клинические симптомы интоксикации. По окончании введения препарата органы животных подвергают гистологическому исследованию. Допускается проведение гистологического исследования органов одного вида животных, оказавшегося более чувствительным к токсическому действию препарата, и использование одной серии препарата, $ЛД_{50}$ которой была наименьшей. Гистологическому исследованию подвергают также органы всех животных, павших в течение периода наблюдения (см. Приложение 1, п. 1.2).

5.2.3. Определение местного действия.

Данное исследование дополняет изучение токсичности в остром и хроническом опытах. Препарат вводят методом и в дозе (концентрации), предлагаемой для использования в практике.

В случае если препарат предполагают применять внутрикожно, подкожно или внутримышечно, оценку местно-раздражающего действия осуществляют после однократного введения. В остальных случаях (при внутривенном, пероральном, ингаляционном введении, введении в конъюнктивальный мешок) - после соответствующего числа аппликаций, которые предполагаются при его применении в практике. Количество животных в группе должно быть не менее 15.

Оценку местного действия осуществляют на основании данных осмотра, проводимого в течение срока введения препарата и последующих 7 сут., а также результатов гистологического исследования (см. п. 5.2.4).

Гистологическому исследованию подлежат: ткани в месте введения и регионарные лимфатические узлы (при внутримышечном, подкожном, внутрикожном, накожном введении); стенка вены и подкожная клетчатка в месте введения (при внутривенном введении); слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта, мезентериальные лимфатические узлы (при энтеральном введении); слизистая оболочка дыхательных путей, легкие и паратрахеальные лимфатические узлы (при ингаляционном введении); ткани глаза (при введении в конъюнктивальный мешок).

5.2.4. Патоморфологические исследования.

Результаты макро- и микроскопического исследования органов животных, получивших новый препарат, препарат сравнения, а также контрольных животных, регистрируют в протоколах или заносят в регистрационную карту; документируют микрофотографиями. На основании полученных результатов оформляют заключение о токсических свойствах испытуемого препарата. Указанные материалы вместе с другими формами документации представляют в ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Гистологические препараты и парафиновые блоки сохраняют до принятия Комитетом МИБП решения по результатам доклинического испытания препарата (см. Приложение 1, п. 4).

5.2.5. Определение влияния на гематологические показатели.

Исследование осуществляют на двух видах животных после однократного введения препарата в дозе, которую предполагается вводить человеку, или в максимальной дозе, которая при определении $ЛД_{50}$ не вызвала гибели животных, а также после многократного введения.

Допускается проведение исследования с одной из серий, $ЛД_{50}$ которой была наименьшей.

Полный клинический анализ крови проводят по общепринятой методике до, через 24 ч и 5 - 7 сут. после введения (окончания курса введения) препарата не менее чем у 10 животных, получивших испытуемый препарат и препарат сравнения, а также у соответствующего количества животных контрольной группы. Полученные результаты подвергают статистической обработке.

Если препарат предназначен для внутривенного введения, то одним из общепринятых методов должно быть изучено его влияние на свертываемость крови, а также показано отсутствие гемолитического действия.

5.2.6. Определение пирогенности.

Испытанию подлежат препараты, предназначенные для внутривенного, внутримышечного, подкожного введения и введения в полости. При проведении исследований рекомендуется определить максимальную дозу, не вызывающую пирогенного эффекта. Определение пирогенности проводят согласно методике, определенной соответствующим НТД. В случае если препарат является сорбированным, в испытании следует использовать несорбированный полуфабрикат.

5.2.7. Определение влияния на детоксицирующую функцию печени.

Исследование проводится при оценке бактериальных вакцин с так называемой гексеналовой пробой, основанной на определении длительности гексеналового наркоза[1].

Допускается проведение исследований одной серии, охарактеризованной по показателям острой и хронической токсичности. В качестве препарата сравнения рекомендуется использовать коммерческую серию инактивированной брюшнотифозной вакцины - препарата, обладающего наибольшей реактогенностью для человека; животным контрольной группы вводят дистиллированную воду, отвечающую требованиям ГФ, в том же объеме, что и препарат. Статистически значимое удлинение продолжительности наркоза у животных, получивших испытуемый препарат (в сравнении с продолжительностью наркоза у контрольных животных), указывает на угнетение им детоксицирующей функции печени. В этом случае продолжительность наркоза у животных, получивших испытуемый препарат, не должна превышать таковую у животных, получивших брюшнотифозную вакцину (см. Приложение 1, п. 1.3).

5.2.8. Определение влияния на центральную нервную систему.

Исследование проводится при оценке бактериальных и вирусных вакцин.

Исследования проводят, используя одну из двух экспериментальных моделей: судорожную пробу с тиосемикарбазидом (ТСК) или коразолом. Использование указанных моделей позволяет выявить возможные воздействия испытуемого препарата на процессы как торможения, так и возбуждения, что будет проявляться в ускорении гибели иммунизированных животных после введения соответствующего препарата.

Достоверное ускорение гибели иммунизированных мышей в ответ на введение ТСК или коразола свидетельствует об отрицательном воздействии испытуемого препарата на функциональное состояние ЦНС.

Результаты изучения влияния препарата на детоксицирующую функцию печени и центральную нервную систему учитывают при составлении программы испытания препарата на добровольцах.

5.3. Определение специфической безопасности живых вакцин. Общие принципы

Доклиническое изучение специфической безопасности живых вакцин должно проводиться в основном на уровне вакцинного штамма при его аттестации.

Материалы исследований должны содержать данные о:

- молекулярных механизмах аттенуации (если они известны): генная мутация (точечная, множественная, определение нуклеотидной последовательности генома в сравнении с вирулентным штаммом с указанием области мутации), рекомбинация;
- генетической однородности популяции;
- генетической стабильности биологических характеристик штамма;

1 Исследование может быть также осуществлено с использованием биохимических, гистологических и других методов, позволяющих выявлять указанные изменения.

- остаточной вирулентности штамма для различных видов лабораторных животных при нескольких путях введения.

Эти показатели должны оставаться стабильными при многократном пассировании (5 - 10 пассажей) штамма на наиболее чувствительной лабораторной модели и в субстрате получения препарата. Для получения корректных результатов эксперимент следует проводить в максимально постоянных условиях.

5.3.1. Определение ин витро.

5.3.1.1. Аттенуированные штаммы вирусов.

Аттенуированные штаммы вирусов должны быть изучены по следующим генетическим маркерам:

- остаточная вирулентность, в т.ч. нейровирулентность у различных видов животных;
- репродуктивная активность в субстрате получения препарата при различных температурах - rct-признак;
- T_{50} -признак (термостабильность);
- И-признак (чувствительность к ингибиторам);
- S-признак - однородность по составу и морфологии бляшек под агаровым покрытием.

5.3.1.2. Вакцинные штаммы бактерий не должны обнаруживать признаков диссоциации при выращивании на жидких и твердых питательных средах, обладать типичной морфологией и характеризоваться типичными для вида ферментативными свойствами.

5.3.2. Определение остаточной вирулентности на лабораторных животных.

Исследования должны быть проведены на нескольких видах животных, обладающих наиболее высокой восприимчивостью к заражению вирулентными штаммами соответствующего микроба, при различных способах введения препарата. Обязательному испытанию подлежат: способ введения, аналогичный естественному пути заражения, и способ, которым препарат предлагается вводить человеку. Испытуемый препарат вводят в нескольких дозах: превышающей и равной человеческой, а при выявлении клинической картины заболевания и в меньших дозах. При испытании живых бактериальных препаратов может быть использована методика острой и хронической токсичности (см. раздел 5).

При наличии однонаправленной живой вакцины последняя должна быть использована в качестве препарата сравнения.

При необходимости в исследовании используют вирулентный штамм.

Срок наблюдения за инокулированными животными определяется клиническим течением инфекции, вызванной вирулентным штаммом, и должен превышать срок развития максимальных проявлений симптомов последней не менее чем на 15 сут. При наблюдении ежедневно регистрируют возможные клинические проявления инфекционного процесса, а также массу животных. При использовании крыс, морских свинок и крупных животных ежедневно в определенное время дня проводят измерение температуры. Отмечают также все изменения в месте введения препарата

и в области регионарных лимфатических узлов. Обязательным является патоморфологическое исследование ЦНС и внутренних органов, а также проведение реакции иммунофлуоресценции с целью индикации антигена и его накопления в иммунной системе и в других чувствительных тканях в ближние и отдаленные сроки опыта.

Штаммы нейротропных вирусов должны быть дополнительно изучены при интрацеребральном введении на мелких лабораторных животных, а затем на обезьянах.

В экспериментах по интрацеребральному введению аттенуированного штамма целесообразно для сравнения использовать группу животных, зараженных вирулентным штаммом. В этих экспериментах также должно быть установлено, что вакцинный штамм не вызывает развития хронической инфекции.

5.83.3. Патоморфологические исследования при определении остаточной вирулентности.

5.3.3.1. Оценка нейровирулентных свойств вакцинных штаммов.

Оценка нейровирулентных свойств вакцинных штаммов проводится в двух основных тестах.

5.3.3.1.1. При введении вируса непосредственно в ЦНС (в область таламуса с двух сторон, при необходимости - в поясничное утолщение спинного мозга) экспериментальных животных. Инокуляционное повреждение должно ограничиваться зоной подкорковых ганглиев и таламической областью и не затрагивать желудочковую систему.

В этом тесте определяют:

- специфическую активность штамма (способность вызывать комплекс характерных структурных изменений в элективных зонах ЦНС);

- уровень аттенуации штамма в сравнении с его вирулентным аналогом (учитывается выраженность клинических проявлений, при микроскопическом исследовании - распространенность процесса вне области инокуляции, степень повреждения всех структурных элементов ЦНС; интенсивности вторичных реакций и циркуляторных нарушений); вирусного антигена, его локализации и накопления;

- толику и характер процесса, динамику его развития с оценкой морфологических изменений в продромальном периоде, на высоте клинических проявлений, а при отсутствии последних - в период максимальных изменений, а также в стадии регресса;

- способность штамма вызывать прогредиентную (с замедленным темпом развития морфологических изменений, образованием очагов поражений различной давности, медленным затуханием процесса) и хроническую инфекцию (с длительной персистенцией очагов поражения, с нарастанием морфологических изменений, без затухания процесса).

Сроки изучения экспериментального материала определяют с учетом особенностей инфекции.

Острая инфекция у мелких лабораторных животных (мыши, хомяки), как правило, ограничивается 20 сут., прогредиентная форма - 30 - 40 сут. У обезьян острая инфекция охватывает период до 30 сут., прогредиентная форма - не менее 3 мес.

Штаммы, вызывающие генерализованные изменения в ЦНС с накоплением вирусного антигена в различных отделах головного и спинного мозга, а также вызывающие хронические формы инфекционного процесса, не должны использоваться для приготовления живых вакцин против нейровирусных инфекций.

5.3.3.1.2. Периферическое введение вируса способом, максимально приближенным к естественному пути заражения и к методу вакцинации.

Учитывается наличие и степень повреждения нервных клеток, других структурных элементов, распространение патологического процесса по цереброспинальной оси и его динамика.

Штаммы, способные при периферическом введении преодолевать гистогематические барьеры, проникать в ЦНС и вызывать поражение нейронов, не должны использоваться для приготовления живых вакцин против нейровирусных инфекций.

Первоначальная оценка нейровирулентных свойств вакцинных штаммов при центральном и периферическом введении должна осуществляться на мелких лабораторных животных (не менее двух видов), чувствительных к вирусу.

В последующем полученные данные дополняют результатами экспериментов на обезьянах при непосредственном введении испытуемого штамма в ЦНС одним из пригодных способов с оценкой вышеуказанных для этого теста параметров. Периферический тест на обезьянах проводят только в случаях достаточной их чувствительности к такому методу заражения вирулентным аналогом.

Вопрос о специфической безопасности штамма решается на основании комплекса исследований с учетом результатов патоморфологических данных по двум указанным тестам.

Морфологический метод должен использоваться для оценки стабильности нейровирулентных свойств испытуемого штамма с учетом вышеизложенных параметров в двух указанных тестах.

Аналогичным образом проверяются 3 лабораторные серии препарата.

В дальнейшем периодичность проверки нейровирулентных свойств посевного материала и готовой вакцины определяется стабильностью генетических свойств используемого штамма.

Для проведения гистологических исследований должны применяться общепринятые нейрогистологические методики. Для выявления вирусных включений используют специальные фиксаторы и окраски (по Романовскому - Гимза, по Манну и т.д.). Для установления специфики процесса и идентификации вирусных антигенов используются иммунофлюоресцентные и иммуноферментные методики на криостатных срезах.

Гистологически должны быть исследованы все основные отделы ЦНС (кора различных долей головного мозга, при необходимости - обонятельные доли и пириформная кора; подкорковая область; образования ствола, мозжечка; различные уровни спинного мозга).

5.3.3.2. Оценка специфической безопасности живых вирусных и бактериальных вакцин.

Оценка безопасности других вирусных и бактериальных вакцин осуществляется по тем же принципам, что и живых нейровирусных вакцин, и аналогичным параметрам.

5.3.3.2.1. Оценка специфической активности вакцинного штамма и уровня его аттенуации на адекватной модели. Инфекционный агент вводят способом, обеспечивающим развитие инфекции в чувствительных органах и тканях. Учитывается характер морфологических изменений, их выраженность и развитие в динамике, способность штамма вызывать хронический процесс.

5.3.3.2.2. Введение испытуемого штамма чувствительным животным тем же способом и в той же кратности, которыми будет проводиться вакцинация, или методом, максимально приближенным к естественному пути заражения. Устанавливается способность инфекционного агента преодолевать гистогематические барьеры и вызывать повреждение чувствительных тканей или органов.

Гистологическое исследование проводят с использованием обычных и специальных методов окраски. Идентификацию вирусных и бактериальных антигенов в чувствительных тканях и органах - с помощью МФА или иммуноферментных методик на отпечатках или криостатных срезах.

Вакцинные штаммы, вызывающие генерализованные поражения или хронический процесс, не могут быть использованы для приготовления живых вакцин.

Для штаммов-кандидатов в живые вакцины для ООИ разрешение на ограниченные испытания на людях дается только после лабораторной оценки этих штаммов специальной комиссией, утвержденной Минздравом России (государственные испытания).

Вопрос о специфической безопасности штамма и первых 3-х серий вакцины решается на основе комплексных исследований с учетом данных патоморфологии по двум указанным тестам. Критерии безопасности и уровень допустимых изменений в чувствительных тканях и органах разрабатывают конкретно для каждого вида инфекции с учетом ее особенностей.

Указанный комплекс исследований может быть дополнен или сокращен в зависимости от специфики изучаемого микроорганизма. При сокращении объема исследований должно быть представлено соответствующее обоснование.

Положительные результаты испытания вакцинного штамма позволяют перейти к получению вакцинного препарата. Последний также должен быть изучен по основным показателям, которые включают в НТД.

5.4. Особенности испытания таблетированных пероральных препаратов [1]

5.4.1. Общие положения.

5.4.1.1. Таблетированные пероральные МИБП разделяются на оральные,

1 Разработано совместно с Вирусологическим центром НИИ иммунологии МО РФ (Махлай А.А., Подкуйко В.Н., Михайлов В.В., Черникова Н.К.).

энтеральные и орально-энтеральные. Оральные предназначены для введения в ротовую полость. Энтеральные позволяют вводить действующее начало в начальный отдел тонкой кишки. В случае применения орально-энтерального препарата проникновение действующего вещества происходит в полости рта, глотки и кишечника.

5.4.1.2. Изучение таблетированных пероральных МИБП проводят в соответствии с рекомендациями, изложенными в РД 42-28-8-89, но с учетом некоторых характерных свойств этой группы препаратов.

5.4.1.3. Лабораторно-экспериментальному изучению подлежат не менее трех лабораторных серий препарата. Результаты испытаний представляют отдельно по каждой серии (см. Приложение 1, п. 3).

5.4.1.4. При испытании таблетированных пероральных МИБП одним из основных принципов следует считать соответствие способа введения препарата лабораторному животному таковому для человека.

5.4.1.5. При выборе вида лабораторных животных следует, кроме всех остальных требований, учитывать возможность их использования для перорального введения МИБП с лечебно-профилактическими целями.

5.4.1.6. Изучение таблетированных препаратов желательно проводить в сравнении с коммерческим препаратом одного наименования для перорального или парентерального введения или с препаратом, наиболее близким по природе, структуре или назначению. В случае корреляции изучаемых свойств препарата при пероральном и парентеральном введении в дальнейшем при контроле можно ограничиться оценкой при парентеральном введении.

5.4.1.7. Изучение физико-химических свойств таблетированных МИБП проводят в соответствии с требованиями, изложенными в общей статье на таблетки в Государственной Фармакопее XI издания.

5.4.1.8. Принимая во внимание пероральный путь введения таблетированных препаратов, требования стерильности к ним не предъявляют, ограничиваясь испытанием на микробиологическую чистоту, и не проводят испытание пирогенности. Требования к допустимым остаточным количествам общего белка, нуклеиновых кислот и других балластных компонентов в таблетированных препаратах могут быть скорректированы с учетом метода введения.

5.4.2. Особенности способов введения животным при испытании таблетированных пероральных МИБП.

5.4.2.1. Оральные таблетированные препараты, как правило, следует вводить животным в рот естественным физиологическим путем в жидком виде, например, с помощью губки или другого пористого материала, предварительно растерев таблетку в физиологическом растворе. Необходимым условием успешного проникновения действующего начала во внутреннюю среду организма является пребывание таблетки в ротовой полости в течение 2 - 3 минут.

5.4.2.2. Несоответствие физиологии пищеварения у человека и лабораторных животных, анатомические различия органов пищеварения затрудняют оценку энтеральных МИБП на животных, поэтому при их

изучении действующее начало должно быть доставлено непосредственно в тонкий отдел кишечника. Методика изучения зависит от устойчивости действующего начала в pH содержимого желудка.

5.4.2.2.1. В случае если действующее начало препарата является устойчивым к кислой среде желудка, таблетка может не иметь кислотоустойчивого энтеросолюбильного покрытия, несмотря на то, что действие ее рассчитано на проникновение действующего начала в тонкий кишечник. Такой препарат вводят через рот с помощью мягкой трубки: мелким лабораторным животным - в жидком виде, предварительно растерев таблетку в физиологическом растворе, крупным - в виде таблетки.

5.4.2.2.2. Если действующее начало препарата инактивируется в желудке, таблетку покрывают защитным энтеросолюбильным покрытием. Имеется несколько способов изучения препаратов для энтеральной иммунизации.

5.4.2.2.2.1. Для изучения таблеток размером 4 - 9 мм в качестве приемлемой экспериментальной модели используют кроликов. Учитывая анатомо-физиологические особенности желудка кролика, из-за которых невозможна полная регулярная эвакуация таблетки крупного размера из желудка в кишечник, вводить ему энтеральную таблетку с покрытием через рог естественным путем нецелесообразно, поскольку защитное энтеросолюбильное покрытие, несмотря на кислотоустойчивость, в результате слишком долгого пребывания в желудке разрушается еще до эвакуации в кишечник, что приводит к инактивации действующего начала. Более приемлемым является пероральное введение таблетки в желудок через мягкую трубку с последующей лапаротомией и принудительной эвакуацией ее из желудка в кишечник.

5.4.2.2.2.2. Обезьяны являются более адекватной человеку экспериментальной моделью при энтеральной иммунизации таблетированными формами с покрытием с использованием физиологических путей (через рот), однако необходимым условием успешной вакцинации является соблюдение необходимых условий адаптации (привыкание к манипуляциям по пероральному введению таблеток), содержания и питания животных. Для обезьян также пригоден метод оперативной энтеральной иммунизации, описанной выше, но при этом наблюдается более выраженная, чем у кроликов, травматичность.

В силу дороговизны и дефицитности, обезьян целесообразно использовать на заключительных этапах исследований и для решения экспериментальных задач, требующих наибольшей адекватности экспериментальной модели (изучение реактогенности и безвредности, хронической токсичности вакцинального процесса и др.).

5.4.2.2.2.3. Для испытания на более мелких лабораторных животных (белые мыши, крысы, морские свинки и др.) используют специально приготовленные экспериментальные серии маленьких таблеток диаметром 2 - 3 мм или гранулированные формы препарата с защитным энтеросолюбильным покрытием. Таблетки или гранулы вводят через рот с помощью мягкой трубки. Благодаря малому размеру, они легко вводятся в желудок, а затем эвакуируются в кишечник. При введении мелких таблеток и гранул

кроликам также нет необходимости оперативного вмешательства. Мелкие таблетки и гранулированные формы целесообразно использовать при изучении хронической токсичности МИБП для энтерального применения.

5.4.2.2.2.4. На первых этапах разработки таблетированных МИБП допустимо пероральное введение жидкого препарата непосредственно в двенадцатиперстную кишку через зонд, который оперативным путем проведен из желудка.

5.4.2.2.2.5. При невозможности введения МИБП энтеральным путем, например, при испытании токсичности готовых таблетированных энтеральных форм на белых мышах и морских свинках, таблетки растирают с физиологическим раствором, суспензию отстаивают с целью осаждения нерастворимых компонентов наполнителя и надосадочную жидкость вводят парентеральным путем. Но в таком случае необходимо помнить, что особенностью таблетированных форм вакцин является присутствие в препарате наполнителей и вспомогательных веществ (ванилин, стеарат кальция, ацетилфталилцеллюлоза, шеллак и др.), а также посторонней микрофлоры, которые, будучи безвредны для организма при попадании через рот и являясь разрешенными для применения в практике здравоохранения, при иных способах введения, могут вызвать побочное действие. В этих случаях представляется целесообразным испытание препарата на стадии полуфабриката.

Отмеченные особенности следует учитывать при формулировании требований к пероральным препаратам. Так, при испытании токсичности при подкожном введении элюатов таблеток морским свинкам требования к испытуемому препарату можно ограничить отсутствием гибели среди животных и абсцессов в месте введения в течение 5 суток.

6. ОГРАНИЧЕННЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ МИБП

Основанием для проведения ограниченных испытаний является решение Комитета МИБП, принятое на основании экспертизы материалов доклинических исследований препарата и НТД на него, а также результатов контроля лабораторных (экспериментально-производственных) серий.

Испытания нового препарата проводят клинические учреждения, утвержденные Комитетом МИБП, по программе, составленной ими совместно с учреждением - разработчиком препарата, согласованной с ГИСК им. Л.А. Тарасевича и утвержденной Председателем Комитета. Проект программы испытания представляет в Комитет учреждение - разработчик нового препарата вместе с другими документами и материалами, перечисленными в разделе настоящего документа.

Программа испытания должна содержать следующие разделы:

- введение;
- цели и задачи исследования;
- испытуемый препарат;
- характеристика контингента;
- оценка реактогенности и безопасности;

- оценка специфической активности;
- учреждения, участвующие в проведении испытания;
- сроки проведения испытания;
- приложения.

В случае необходимости перечень разделов может быть дополнен.

6.1. Содержание разделов программы

6.1.1. Во введении должны быть кратко изложены данные об актуальности разработки препарата, ожидаемых преимуществах его перед другими существующими препаратами аналогичного назначения, наличии препаратов-аналогов за рубежом и их оценка, возрастной заболеваемости соответствующей инфекцией с выделением особо подверженных заболеванию возрастных групп и контингентов населения (группы риска), назначение препарата.

6.1.2. Цели и задачи.

Программа испытания нового препарата на ограниченной группе людей должна быть составлена таким образом, чтобы получить результаты, достаточные для принятия решения о возможности его последующего изучения в рамках Государственных приемочных испытаний или переходу к последующему этапу ограниченного испытания на иной возрастной группе.

В результате проведения испытания должны быть получены материалы, характеризующие реактогенность, безопасность и антигенную активность дозы препарата и схемы его применения, рекомендуемые для последующего этапа испытания.

Поскольку в полевом испытании должна быть испытана доза и схема применения препарата, оптимальная по показателям реактогенности, безопасности и антигенной активности, в настоящем испытании следует предусмотреть изучение нескольких доз (схем применения) препарата.

6.1.3. Испытуемый препарат.

В разделе указывают полное наименование препарата, его краткую характеристику, НТД, по которому изготовлены серии (лабораторные, экспериментально-производственные), количество серий, подлежащих испытанию, обязательность контроля испытуемых серий в ОБТК и ГИСК им. Л.А. Тарасевича (другой контролирующей организации).

Если испытание предусматривает применение нескольких доз, указывают, что его начинают с наименьшей дозы, и лишь после получения результатов, характеризующих ее низкую реактогенность и безопасность, переходят к последующей. При этом испытание каждой дозы препарата следует начинать не более чем на 5 людях.

Если на данном этапе испытания предусмотрено применение препарата сравнения и плацебо, приводят их характеристику и указывают, что контроль коммерческих серий препарата сравнения и плацебо должен быть проведен ГИСК им. Л.А. Тарасевича.

6.1.4. Характеристика контингента.

Начальным этапом изучения нового препарата на людях является ис-

пытание его на добровольцах обоего пола в возрасте 18 - 50 лет. При этом в программе должно быть указано, что в соответствии с Хельсинской декларацией, принятой XVII сессией Всемирной ассамблеи здравоохранения (1964 г.) и пересмотренной на XXIX сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения (1975 г.), каждый испытуемый должен быть проинформирован о целях, методах, предвидимых выгодах и возможном риске исследования, а также уведомлен о своем праве отказаться от участия в исследовании и в любое время взять назад согласие на участие в эксперименте. Добровольцы не должны иметь служебной или иной зависимости от лиц, имеющих отношение к проведению испытаний и (или) заинтересованных в его результате. Медицинское учреждение, проводящее испытание, должно получить такое согласие в письменном виде, гарантируя при этом обеспечение в случае необходимости оказания соответствующей медицинской помощи в течение всего периода наблюдения.

Изучение препарата на детях и лицах старше 60 лет проводят после рассмотрения отчета испытания на лицах 18 - 50 лет в рамках отдельных программ, утвержденных Комитетом МИБП. Исключение взрослых на данном этапе испытания препарата, предназначенного для иммунизации детей, возможно только в случае, когда у них можно ожидать развитие более сильных реакций, чем у детей; соответствующее обоснование должно быть включено в данный раздел программы. При составлении программы испытаний препарата на детях необходимо предусматривать поэтапное выполнение исследования, начиная со старшей возрастной группы.

Примерное возрастное формирование групп может быть следующим: 10 - 14 лет, 6 - 9 лет, 2 - 5 лет, 7 - 24 мес., первые 6 мес. жизни. При проведении испытаний препарата на ограниченных группах детей или подростков (15 - 17 лет) должны быть проинформированы надлежащим образом их родители или опекуны и получено письменное согласие каждого из них.

Количество лиц, подлежащих вакцинации в каждой возрастной группе, должно быть не менее 20. В случае если та или иная возрастная группа будет состоять из нескольких подгрупп, получающих препарат в разных дозах (схемах применения), их формируют методом случайной выборки, единица выборки - человек.

При формировании групп следует предусматривать их равноценность по таким признакам, как пол, возраст, показатели специфического иммунитета (при необходимости) и т.п.

Аналогичным образом формируют группы и в тех случаях, когда программа предусматривает использование препарата сравнения или плацебо.

Программа должна предусмотреть, что перед прививкой каждый человек должен быть осмотрен терапевтом (педиатром) и не иметь противопоказаний к вакцинации (перечень противопоказаний может быть или включен в данный раздел, или дан в приложении к программе, о чем в тексте делают ссылку).

6.1.5. Изучение реактогенности и безопасности.

Настоящий раздел программы должен быть составлен с учетом нижеследующих положений.

Наблюдение за привитыми осуществляет врач (терапевт, педиатр, инфекционист); в случае если можно ожидать избирательного действия препарата, а также при непарентеральных методах его введения (оральном, интраназальном), в обследовании должны также принимать участие врачи соответствующего профиля.

Изучение общих и местных реакций.

Учет общих реакций проводит врач на основании измерения температуры тела, осмотра и опроса привитого, проводимых в соответствии с «Индивидуальной картой привитого» (Приложение 2).

Наблюдение за общей реакцией осуществляют после каждой прививки в течение 5 суток (инактивированные препараты) или в течение максимальной продолжительности инкубационного периода естественной инфекции (живые вакцины). В день прививки термометрирование и опрос осуществляют до, а также через 5 - 8 ч после вакцинации, в последующие дни - 2 раза в сутки (утром и вечером).

Учет местных реакций при инъекционных и накожном способах применения проводят в соответствии с показателями, приведенными в Приложении 2.

Наблюдение за местными реакциями ограничивают первыми 5 сут. после прививки при условии отсутствия реакции или исчезновения ее к этому сроку. При этом в день прививки местную реакцию регистрируют через 20 мин. и 5 - 8 ч. В случае если при иммунизации живыми вакцинами специфическая местная реакция является обязательным условием развития вакцинального процесса, наблюдение продолжают до ее исчезновения или полного прекращения активной фазы; в соответствующий раздел индивидуальной карты вносят дополнительные графы, содержащие сведения о характере специфических элементов и возможных остаточных явлениях.

При иных способах введения препарата данный подраздел должен включать описание симптомов возможных реакций со стороны тканей, непосредственно контактирующих с вводимым антигеном. Так, например, при интраназальной аппликации препарата в него следует включить такие симптомы, как насморк, чувство сухости в носу, першение, кашель.

Лабораторно-инструментальное обследование.

Данное обследование включает проведение нижеперечисленных обязательных исследований:

- клинический анализ крови с развернутой гемоцитограммой, включая определение тромбоцитов (все возраста);
- общий анализ мочи, суточный анализ мочи (по Аддису - у взрослых и детей старшего возраста, по Нечипоренко - у детей младшего возраста);
- биохимические исследования сыворотки крови: определение глюкозы, мочевины (остаточного азота), билирубина, АЛТ, АСТ, ЛДГ, щелочной фосфатазы (все возраста), протромбина (протромбинового индекса), холестерина, В-липопротеинов (у взрослых);
- измерение артериального давления (с трех лет); снятие ЭКГ, ЭХО-КГ (все возраста).

Необходимость проведения дополнительных исследований определяется характером и способом введения испытуемого препарата, а также результатами его доклинического изучения. Так, при испытании вакцин, изготовляемых из микроорганизмов, обладающих нейротропными свойствами, для детей старшей возрастной группы и взрослых должно быть предусмотрено снятие ЭЭГ, ЭХО-ЭГ, реоэнцефалография для препаратов, содержащих бактериальные липополисахариды, перечень исследований сердечно-сосудистой системы у детей старшего возраста и взрослых должен быть дополнен реовазографией, а для вакцин против респираторных инфекций, а также вводимых аэрозольно - исследованием функции внешнего дыхания (с трех лет).

В случае если при доклиническом испытании препарата в поджелудочной железе были обнаружены нерезко выраженные изменения бета-клеток, в программу следует включить определение инсулина в сыворотке крови; испытание же живой паротитной вакцины из нового штамма потребует проведение определения концентрации диастазы.

С помощью вышеперечисленных исследований должны быть обследованы не менее чем 20 человек, привитых дозой и по схеме, рекомендуемых для использования на последующем этапе испытания препарата.

Первое определение проводят до вакцинации (за 1 - 3 сут.). При испытании инактивированных вакцин повторные исследования проводят после каждой прививки в следующие сроки:

- измерение АД - в течение 5 сут.;
- снятие ЭКГ и др. исследования сердечно-сосудистой системы - 3 - 4 сут.;
- функция внешнего дыхания - 24 - 28 ч и 7 - 8 сут.;
- обследование нервной системы - 48 - 72 ч;
- клиническое и биохимическое исследование крови, анализ мочи - 48 - 72 ч.

При испытании живых вакцин клинико-лабораторные исследования проводят однократно в сроки максимальной выраженности общей или местной специфической поствакцинальной реакции. Для определения этого целесообразно предусмотреть первоначально снятие показателей реактогенности на 5 - 10 чел. Если при этом будет установлено отсутствие специфических общих и местных реакций, лабораторно-инструментальное обследование следует осуществить в сроки, равные максимальному инкубационному периоду естественной инфекции (в случае, если способ введения вакцины соответствует естественному пути заражения); или минимальному инкубационному периоду (в случае, если препарат вводят методом, при котором минуются естественные факторы защиты, например, подкожно, при испытании вакцины против инфекции с воздушно-капельным механизмом передачи).

В случае если у привитого какой-либо из определяемых показателей будет выходить за пределы нормальных величин, исследование повторяют через 6 - 7 сут., а данный субъект отводится от последующих прививок испытуемым препаратом.

Помимо указанного программа должна предусматривать фиксирование на оборотной стороне «Карты наблюдения» всех случаев обращения за ме-

дицинской помощью в течение периода наблюдения за привитыми, а также последующих 3 - 6 мес. с указанием диагноза, а также отмены последующего введения препарата с указанием причины.

Изучение иммунологической безопасности препарата проводят в соответствии с изложенным в п. 2 настоящего документа.

6.1.6. Изучение антигенной активности.

В разделе указывают используемые методики и сроки проведения исследований до и после прививки. В случае если методика описана в каких-либо НТД или РД и для ее постановки используют коммерческие препараты - приводят ссылку на соответствующие документы; если методика является оригинальной - дают ее подробное описание в приложении; если для постановки реакции используют некоммерческий препарат - на него должна быть представлена Инструкция по изготовлению и контролю, а серии, используемые для постановки реакции, отконтролированы ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Количество обследованных привитых на каждую из изученных доз препарата должно быть не менее 20.

6.1.7. Учреждения, участвующие в проведении испытаний.

В разделе указывают официальное наименование учреждения и отдела (клиники, лаборатории), принимающего непосредственное участие в проведении испытания. Ответственным за проведение испытания является клиническое учреждение; если в испытании участвует несколько клинических учреждений, после наименования ответственного учреждения делают соответствующую отметку.

6.1.8. Сроки проведения испытания.

В разделе указывают срок начала и завершения испытания, а также срок представления отчета в Комитет МИБП.

6.1.9. Приложения.

К обязательным приложениям программы относятся:

- общая схема планируемого исследования в виде таблицы (группы, их численность, доза и схема применения препарата, число лиц, обследуемых клиническими и параклиническими методами, количество сывороток и сроки их взятия и т.п.);
- образец индивидуальной карты привитого;
- описание методики постановки иммунологической реакции для оценки специфической активности (при отсутствии описания ее в утвержденных РД).

Приложениями могут также являться другие материалы, на которые приводят ссылки в тексте программы, в том числе перечень противопоказаний к применению препарата и перечень полных наименований цитируемых РД.

6.2. Оформление результатов испытания

Результаты испытания оформляют в виде отчета, который должен содержать следующие разделы:

- введение;
- испытуемый препарат;

- характеристика контингента;
- результаты испытания реактогенности и безопасности;
- результаты испытания специфической активности;
- выводы и предложения;
- приложения.

6.2.1. Во введении должно быть указано в соответствии с каким документом проведено испытание, наименование учреждений, принимавших участие в его выполнении, соответствие объема проведенных исследований утвержденной программе. В случае неполного выполнения программы или замены каких-либо методов исследования должно быть приведено соответствующее обоснование.

6.2.2. Испытуемый препарат.

В разделе указывают номера серий препарата, примененных при проведении испытания, срок их годности, метод введения, дозу и схему применения, содержание действующего начала (в весовых единицах, количестве бактериальных клеток, $ТЦД_{50}$ и т.д.) в 1 мл испытанных серий (по паспортным данным), другие необходимые сведения (например, максимально допускавшийся срок хранения растворенного препарата), которые могут иметь значение при формировании программы последующего этапа испытания препарата. В данный раздел включают также соответствующие сведения о препарате сравнения и плацебо.

6.2.3. Характеристика контингента.

Раздел должен содержать сведения об общем количестве лиц, получивших испытуемый препарат, распределении их по возрасту и полу, другим показателям, например, содержанию специфических антител до прививки. В случае если контингент привитых был подразделен на несколько групп, должен быть указан метод их формирования, численность и характеристика каждой группы. Помимо текстового описания данный материал следует представить в виде таблицы.

6.2.4. Результаты испытания реактогенности и безопасности.

Изложение материала приводят в последовательности текста данного раздела программы, описывая как наличие тех или иных жалоб (симптомов), так и их отсутствие. Помимо текстового описания результаты анализа сведений, внесенных в индивидуальные карты привитых, целесообразно суммировать в виде сводной таблицы, построенной на основе «Карты наблюдения», раздельно для каждой прививки и дозы препарата. Текстовая часть должна содержать фактический материал, а не общие положения.

В разделе приводят также сведения о всех случаях:

- отмены повторного введения препарата из-за сильной или необычной реакции на предшествовавшую прививку;
- активного обращения за медицинской помощью в течение периода наблюдения, предусмотренного индивидуальной картой, а также последующего срока, определенного программой;
- выдачи больничных листов в эти же сроки.

При этом указывают диагноз и дату заболевания, его длительность,

а в случае поствакцинальных реакций - проводимую медикаментозную терапию. Раздел заканчивают кратким заключением по результатам испытаний.

6.2.5. Результаты испытания специфической активности.

Данные определения специфической активности приводят как раздельно по каждому привитому, так и в средних показателях по всем предусмотренным программой срокам.

При вычислении средних показателей используют методы вариационной статистики.

В случае если в испытании изучали разные дозы (схемы применения) препарата, материалы представляют раздельно по каждой из них.

Раздел заканчивают кратким заключением, в котором указывают оптимальную дозу (схемы применения) препарата.

6.2.6. Выводы и предложения.

В разделе должно быть сформулировано заключение о достаточности полученных материалов для решения вопроса о последующем изучении препарата в Государственных приемочных испытаниях или продолжения испытания препарата на ограниченной группе лиц иного возраста.

При положительном заключении должна быть рекомендована доза препарата и схема его применения, методы обследования привитых, которые по мнению исполнителей программы ограниченного испытания следует осуществлять на последующем этапе работы; противопоказания к вакцинации; необходимость изменения расфасовки препарата и т.п.

При необходимости продолжения испытания в рамках ограниченного наблюдения на той же возрастной группе с целью получения необходимых дополнительных данных указывают объем исследования, рекомендуемые методики обследования, изменение дозы (схемы применения) и т.п.

При отрицательном заключении должна быть дана краткая обоснованная мотивировка (например, низкая специфическая эффективность изученных доз при невозможности их увеличения, высокая реактогенность эффективной дозы и др.).

6.2.7. Приложения.

Обязательным приложением к отчету являются индивидуальные карты привитых в комплекте с результатами параклинических исследований. В случае если в отчете имеются ссылки на НТД, РД, др. документы или литературные источники, их полные наименования представляют как справочное приложение.

6.2.8. Оформление отчета.

Отчет подписывают руководители всех учреждений (отделов, клиник), принимавших участие в проведении испытаний; под каждой подписью должна быть проставлена дата подписания; подписи должны быть скреплены печатью учреждений.

Отчет о выполнении программы испытания нового МИБП на ограниченной группе людей направляется учреждением, ответственным за проведение испытания, в адрес Комитета МИБП (2 экз.) и учреждения - разработчика препарата (2 экз.).

7. ГОСУДАРСТВЕННЫЕ ПОЛЕВЫЕ ИСПЫТАНИЯ МИБП, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

7.1. Решение о проведении Государственных полевых испытаний принимает Комитет по МИБП, дезинфекционным и косметическим средствам на основании результатов экспертизы НТД, отчета об ограниченных клинических испытаниях препарата и лабораторного контроля трех его экспериментально-производственных серий.

7.2. Государственные полевые испытания проводятся по программе, разработанной ГИСК им. Л.А. Тарасевича, утвержденной Председателем Комитета МИБП (Приложение 3).

7.3. Государственные полевые испытания проводятся аккредитованными учреждениями Минздрава России, ведомственных служб здравоохранения, под методическим руководством ГИСК на территориях и базах, определяемых Минздравом России.

7.4. Программа Государственных полевых испытаний должна быть составлена таким образом, чтобы решить вопрос о целесообразности внедрения препарата в практику здравоохранения на основании оценки:

- реактогенности и безопасности препарата в дозе и схеме, предложенных авторами по результатам ограниченных испытаний;
- иммунологической эффективности;
- профилактической (протективной) эффективности и уточнения «Инструкции по применению препаратов».

7.5. Характеристика контингента.

Контингент лиц, включаемых в испытание, определяется в зависимости от назначения препарата. Препараты, предназначенные для профилактики всех возрастных групп населения, испытываются в несколько этапов, начиная со взрослых, последовательно переходя на более младшие возрастные группы (см. п. 6.1.3.4 настоящего документа). В такой же (от более старших возрастных групп к младшим) последовательности проходят испытание препараты, предназначенные для профилактики детских инфекций. Иммунизации подлежат только здоровые взрослые и дети обоего пола, которые перед прививкой проходят тщательное медицинское обследование. Контингент лиц, подлежащих вакцинации, должен формироваться преимущественно из так называемых групп высокого риска заражения той инфекцией, для профилактики которой предназначен испытуемый препарат. Все взрослые, подлежащие вакцинации должны оповещаться о целях и задачах испытания, о назначении препарата, возможных осложнениях. Аналогичная работа проводится и с родителями детей, включенных в испытание. Для родителей составляется специальная Памятка, где обосновывается необходимость вакцинации ребенка (см. п. 6.1.3.4).

7.6. Правила проведения испытания.

Полевые испытания должны проводиться с соблюдением принципов строго контролируемого опыта. В связи с этим основная и контрольная группы должны быть равноценны как в количественном, так и в каче-

ственном отношении (пол, возраст, условия быта, труда, отдыха и т.п.). Группы должны формироваться методом случайной выборки, при этом, в зависимости от назначения препарата, единицей выборки должен быть один человек или группа людей (например, взвод или рота в армии), группа детского дошкольного учреждения, класс в школе и т.п. Обязательным условием является шифровка испытуемого препарата, препарата сравнения или плацебо. Шифровку препаратов производят сотрудники ГИСК им. Л.А. Тарасевича, не принимающие участия в данных испытаниях. Все сыворотки крови, полученные от привитых, также шифруются и исследуются в блоках, куда включаются сыворотки, полученные до и в разные сроки (в зависимости от задач исследования) после вакцинации. Расшифровка полученных материалов должна осуществляться после завершения сбора данных о реактогенности, безопасности и исследования сывороток для оценки иммунологической эффективности. При оценке профилактической эффективности данные расшифровываются после завершения сбора и анализа заболеваемости среди наблюдаемого контингента.

7.7. Изучение реактогенности и безопасности.

Изучение реактогенности и безопасности препарата в полевых испытаниях должно проводиться по правилам, указанным в п. 6.1.3.5 настоящего документа. Численность контингента для оценки реактогенности и безопасности препарата должна быть не менее 100 человек. При оценке профилактической эффективности испытуемого препарата должно также проводиться наблюдение за характером и частотой местных и общих реакций у привитых, отмечаться соматические, инфекционные и др. заболевания, регистрируемые в течение 8 - 12 мес. с момента введения препарата.

Оценку реактогенности и безопасности испытуемого препарата проводят путем сопоставления данных клинико-лабораторного обследования лиц, составивших основную и контрольную группу.

7.8. Изучение иммунологической эффективности.

Изучение иммунологической эффективности вакцин должно проводиться путем сопоставления результатов определения специфических антител в сыворотках крови людей до и в разные сроки после вакцинации, а также при сравнении этих данных с аналогичными, полученными в те же сроки при обследовании лиц, привитых плацебо или препаратом сравнения.

Первые заборы крови у лиц, вошедших в состав основной и контрольной группы, должны осуществляться непосредственно перед иммунизацией. Последующие заборы крови необходимо проводить не ранее 30 дней с момента каждого введения препарата.

Для оценки иммунологической эффективности должны вакцинироваться лица, не имеющие антител к испытуемому возбудителю (антигену). Из лиц, не имеющих антител, методом случайной выборки формируются основная и контрольная группы. Оценка иммуногенности должна проводиться по числу лиц как в основной, так и в контрольной группе, в сыворотках крови которых появились через 30 дней специфические антитела, т.е. по числу сероконверсий.

Иммунологическая эффективность препаратов, предназначенных для

профилактики широко распространенных инфекций, таких как грипп, гепатит А и др. должна оцениваться по нарастанию титров специфических антител после вакцинации как в основной, так и в контрольной группе.

Численность контингента для оценки иммунологической эффективности зависит от назначения препарата, схемы его введения, характера иммуноструктуры населения. Так, при однократной иммунизации испытуемым препаратом предварительно отобранных серонегативных лиц, для получения достоверных данных об иммунологической эффективности численный состав основной и контрольной группы должен быть в пределах 30 - 50 человек. При трехкратной аппликации препарата численный состав опытной и контрольной группы необходимо увеличить в 2 - 2,5 раза.

Численный состав опытной и контрольной группы при оценке иммунологической эффективности препаратов без проведения предварительного скрининга должен составлять не менее 250 - 300 человек.

Для определения специфических антител и уровня их титров необходимо пользоваться коммерческими тест-системами с высокой чувствительностью и специфичностью.

7.9. Изучение профилактической эффективности.

Профилактическая эффективность оценивается путем сравнения показателей заболеваемости в группе привитых испытуемым препаратом с таковыми среди лиц, получивших плацебо (препарат сравнения).

Профилактическая эффективность препарата должна оцениваться по индексу (ИЭ) и коэффициенту эффективности (ИЭ), исчисляемых следующим образом:

$$ИЭ = \frac{\text{Показатель заболеваемости на 1000 «привитых» плацебо}}{\text{Показатель заболеваемости на 1000 привитых испытуемым препаратом}},$$

$$КЭ = \frac{\text{Показатель заболеваемости среди «привитых» плацебо} - \text{Показатель заболеваемости среди привитых препаратом} \times 100}{\text{Показатель заболеваемости среди «привитых» плацебо}}.$$

Численный состав основной и контрольной группы (N) должен определяться частотой распространения инфекции, для профилактики которой создан препарат, и предполагаемого индекса его эффективности:

$$N = \frac{n\ 3{,}84 \times K\ (1 + K) \times 1000}{m \times (1 - K)\ 2},$$

где:

n - число наблюдаемых групп;

m - минимальная заболеваемость в контрольной группе на 1000;

K - предполагаемый индекс эффективности.

Для оценки профилактической эффективности вакцинацию необходимо закончить за месяц до начала сезонного подъема заболеваемости. Сбор данных о случаях заболевания среди наблюдаемых контингентов следует начинать через месяц после окончания иммунизации и продолжать в зависимости от характера инфекции в течение 8 - 12 месяцев.

При подборе территорий и баз для проведения оценки профилактической эффективности препарата необходимо учитывать систему регистрации заболевших, полноту и качество обследования контактных в очагах инфекции, качество диагностики, в том числе лабораторной.

8. ОСОБЕННОСТИ ИСПЫТАНИЯ АЛЛЕРГЕНОВ

8.1. Доклинические испытания аллергенов

8.1.1. Основные цели доклинического испытания аллергенов заключаются в изучении сырья, физико-химических свойств, сенсибилизирующей активности диагностических или лечебных доз препарата, токсических свойств, стабильности и специфической активности.

8.1.2. Характеристика сырья для аллергенов должна предусматривать определение степени его однородности. Для наиболее распространенных аллергенов из пыльцы растений инородная пыльца не должна присутствовать в количестве, превышающем 1%, а другие части данного растения (из пыльцы которого будет готовиться препарат) не должны превышать 5%. Для аллергенов инфекционного ряда, где сырьем являются бактериальные или грибковые штаммы, последние должны быть типичными по своим морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам.

8.1.3. Оценка физико-химических свойств аллергенов производится в полном соответствии с требованиями, предусмотренными для других иммунобиологических препаратов, включая требования к реактивам, дистиллированной воде и стеклянным емкостям. Препараты не должны содержать корпускулярных частиц (включая взвеси микроорганизмов или сорбент) и должны быть прозрачными. В случаях, когда при получении аллергенов не удаляют пигмент, они могут иметь характерную окраску.

8.1.4. Для изучения сенсибилизирующих свойств регламентированных диагностических и лечебных доз аллергенов используют экспериментальные модели гиперчувствительности немедленного и замедленного типов (Приложение 4, п. 1).

Сенсибилизирующие дозы испытуемого препарата должны быть приближены к рекомендуемым для практического применения, при этом разрешающая доза не должна быть меньше сенсибилизирующей. Окончательные дозировки устанавливают экспериментальным путем. В случае, когда в состав аллергена входит сорбент, для разрешающей инъекции применяют также и несорбированный полуфабрикат. Выраженность анафилаксии после разрешающей инъекции аллергена следует соотносить с результатами, зафиксированными в группе животных, подготовленных

к шоку подкожным введением нормальной гетерологической сыворотки (положительный контроль).

8.1.5. Оценка острой и хронической токсичности осуществляется в полном объеме в соответствии с требованиями для других иммунобиологических препаратов (Приложение 1, п. 1.5).

8.1.6. Оценку стабильности состава и активности аллергенов проводят с использованием ряда экспериментальных, физико-химических и иммунохимических методов: кожные пробы на сенсибилизированных морских свинках, изоэлектрофокусирование, варианты иммуноэлектрофореза. Перечисленные тесты применяют в динамике в течение регламентированного срока хранения препарата.

8.1.7. Оценка специфической активности аллергенов, предназначенных для диагностики, осуществляется на экспериментальной модели сенсибилизированных морских свинок с последующей регистрацией гиперчувствительности посредством кожных тестов (Приложение 4, п. 1.2).

Для оценки специфической активности аллергенов, предназначенных для специфической иммунотерапии, рекомендуется метод активной анафилаксии с последующей десенсибилизацией.

8.2. Испытание аллергенов на ограниченной группе лиц

На начальном этапе изучения нового аллергена на людях его испытывают на добровольцах обоего пола в возрасте 18 - 50 лет. Изучение препарата на детях проводят после рассмотрения отчета испытания на лицах 18 - 50 лет в рамках отдельных программ, утвержденных Комитетом МИБП.

Для испытания аллергенов, предназначенных для специфической диагностики, должны быть сформированы две группы:

- больные атопическими или инфекционно-аллергическими заболеваниями, в анамнезе которых есть четкие указания на связь заболевания с испытуемым аллергеном;
- практически здоровые или больные, в анамнезе которых нет указаний на связь заболевания с испытуемым аллергеном.

Критериями для отбора контингентов лиц, подлежащих испытанию, являются: отсутствие противопоказаний, предусмотренных и изложенных в программе; данные аллергологического анамнеза; клиническая картина заболевания (тяжесть его); данные клинико-лабораторного, а при необходимости - бактериологического и других видов обследования.

Для испытания аллергенов, предназначенных для специфической иммунотерапии, отбирают группу больных атопическими или инфекционно-аллергическими заболеваниями, учитывая следующие критерии:

- аллергологический анамнез;
- положительные кожные пробы на испытуемый аллерген;
- клиническая картина заболевания.

При необходимости (сомнительные результаты кожных тестов, нечеткие данные анамнеза) наличие сенсибилизации к испытуемому аллергену следует дополнить постановкой провокационных тестов (назальных и

конъюнктивальных).

Количество испытуемых в группах определяется конкретно для каждого аллергена с учетом частоты сенсибилизации к тому или иному аллергену.

Испытание диагностических и лечебных аллергенов должен проводить только врач-аллерголог. Для оценки безопасности испытуемых аллергенов осуществляется изучение местных и общих реакций на введение препаратов, для чего врач проводит осмотр и опрос больного, а также комплекс лабораторно-инструментальных обследований, включая следующие: измерение температуры, артериального давления, клинический анализ крови, общий анализ мочи, исследование функции внешнего дыхания. Результаты наблюдений за больными вносят в протокол изучения безопасности и специфической активности препарата и дневник специфической иммунотерапии (Приложения 5, 6).

Аллерген считают безопасным, если при введении больным аллергенов с диагностической или лечебной целью у них не возникает общих и местных гиперергических реакций (гиперергической местной реакцией следует считать реакцию кожи на введение аллергена, размеры которой превышают максимальные, предусмотренные установленной схемой учета реакций).

Для оценки специфической активности диагностических аллергенов используют общепринятые методы кожного тестирования (прик, скарификационный, внутрикожный) и схемы учета реакций, которые описаны в программе и отражены в утвержденных методических указаниях.

Диагностические аллергены считают специфически активными, если они вызывают положительные реакции у лиц 1-й группы и не вызывают, или вызывают в отдельных случаях, положительные реакции у лиц 2-й (контрольной) группы.

Оценку лечебной эффективности аллергенов проводят по клиническим показателям, а также при использовании адекватных методов ин витро. Эффект лечения устанавливают не ранее 6 месяцев после завершения курса в зависимости от характера аллергена. При поллинозах - в период пыления растений (в дневнике специфической иммунотерапии проводятся ежедневные отметки интенсивности симптомов и суточной потребности в противоаллергических препаратах).

Результаты испытаний оформляют в виде отчета, который должен содержать материалы по результатам изучения безопасности и специфической активности аллергенов. Отчет должен содержать сведения об общем количестве лиц, получивших испытуемый препарат, распределение их по возрасту, полу, нозологическим формам заболеваний и другим показателям. Помимо текстового описания данный материал следует представить в виде таблиц. Текстовая часть должна содержать фактические материалы, а не общие положения.

В выводах должно быть сформулировано заключение о достаточности полученных материалов для решения вопроса о последующем изучении препарата в Государственных испытаниях. При положительных результатах должны быть рекомендованы дозы препарата и схема его применения для лечения.

Обязательными приложениями к отчету являются:

- протоколы, регистрирующие введение препаратов с диагностической или лечебной целью (Приложения 5, 6);
- схема заключения по испытанию безопасности и специфической активности (Приложение 7);
- схема заключения по испытанию эффективности специфической иммунотерапии (Приложение 8).

8.3. Государственные испытания аллергенов

Задачами Государственных испытаний аллергенов, предназначенных для диагностики, является оценка их диагностической эффективности; для аллергенов, предназначенных для специфической иммунотерапии, - оценка их лечебной эффективности и побочного действия.

Клинические базы для проведения испытаний определяет Комитет МИБП. Передачу препаратов в распоряжение установленных баз осуществляет специализированная лаборатория ГИСК им. Л.А. Тарасевича.

Государственные испытания проводятся с использованием экспериментально-производственных серий в соответствии с программой, разработанной ГИСК им. Л.А. Тарасевича и утвержденной Комитетом МИБП.

При составлении программы испытаний аллергенов для диагностики и специфической иммунотерапии следует учитывать ряд обстоятельств.

1) Частоту встречаемости сенсибилизации к испытуемому аллергену.

2) Оптимальную сезонность в проведении испытаний (исключение весенне-летнего периода поллинации растений).

3) Наличие случаев со скрытой аллергией среди лиц контрольных групп.

4) Отсроченность заключительных выводов при испытании лечебных форм аллергенов (оптимальным является оценка двух курсов специфической иммунотерапии).

5) Различия в чистоте регистрируемой сенсибилизации в различных регионах страны.

6) Возможность наличия скрытой сенсибилизации, особенно к условно-патогенным бактериям.

7) Возможность выявления различия в частоте положительных ответов при диагностическом применении препаратов в тестах ин виво и ин витро.

9. ОСОБЕННОСТИ ИСПЫТАНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ

При наличии отчета о доклинических испытаниях, содержащего обстоятельную характеристику безвредности и специфической эффективности препарата, Комитетом МИБП может быть принято решение о проведении Государственных клинических испытаний без предварительного этапа испытаний реактогенности и специфической активности лабораторных серий на ограниченной группе людей.

В Программу Государственных клинических испытаний должны быть включены испытания следующих параметров.

9.1. Определение специфической активности бактериофагов, включающих:

- определение литической активности по методу Аппельмана;
- определение диапазона действия бактериофага в отношении свежевыделенных штаммов бактерий, полученных от больных;
- определение концентрации бактериофага (количество фаговых частиц) по методу Грация;
- определение стабильности препарата в течение 1 ч (способность сохранять литическую активность бактериофага) по методу Аппельмана.

9.2. Определение терапевтической эффективности бактериофага при лечении экспериментальной бактериальной инфекции (Приложение 4, п. 2.1).

9.3. Определение содержания белка (по методу Лоури).

9.4. Определение содержания липополисахаридов.

9.5. Определение токсичности препаратов бактериофага (Приложение 1, п. 1.4).

9.6. Определение пирогенности проводят для препаратов, предназначенных для внутривенного, внутримышечного и внутриполостного введения.

9.7. Аллергизирующие свойства препаратов бактериофага изучают в реакциях немедленного и замедленного типа:

- определение гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) проводят в реакции системной анафилаксии на морских свинках;
- определение гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) проводят методом измерения массы задних лап мышей или в тесте торможения миграции макрофагов.

10. ИСПЫТАНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Диагностические препараты для проведения качественных определений испытывают в соответствии с методиками определения, указанными в ВФС. В испытаниях используют стандартные образцы МИБП и штаммы коллекции ГИСК им. Л.А. Тарасевича, перечень которых приведен в Каталоге штаммов Всесоюзного Музея патогенных бактерий (Москва, 1982). Диагностические препараты для проведения количественных определений веществ проводят в соответствии с РД «Методические указания. Диагностические иммунобиологические препараты. Определение качества иммуноферментных наборов реагентов. Основные положения» (Москва, 1993) и с методиками, изложенными в ВФС.

10.1. Государственные полевые испытания диагностических препаратов, применяемых ин витро

10.1.1. Государственные полевые испытания диагностических препаратов, применяемых ин витро, и диагностических питательных сред предусматривают оценку их диагностической эффективности и доработку инструкции по применению препарата. Разрешение на проведение Государственных испытаний дает Комитет МИБП на основании анализа

НТД и контроля экспериментально-производственных серий. Программа государственного испытания утверждается председателем Комитета МИБП.

Документы и материалы, представляемые в ГИСК им. Л.А. Тарасевича:

- отчет о лабораторно-экспериментальном изучении препарата (представляется учреждением-разработчиком) - 4 экз.;

- проект ВФС с пояснительной запиской (представляется организацией-разработчиком совместно с предприятием-изготовителем) - 5 экз.;

- ЭПР, утвержденный директором предприятия-изготовителя, - 5 экз.;

- образцы трех подлежащих испытанию экспериментально-производственных серий, выпущенных предприятием-изготовителем, с паспортами ОБТК;

- проект инструкции по применению (представляется учреждением-разработчиком) - 3 экз.

10.1.2. Научно-техническую экспертизу НТД (в части методов контроля, требования к производственным штаммам, сырью и реактивам, показателям, включенным в ВФС) и контроль образцов экспериментально-производственных серий, подлежащих испытанию, осуществляют:

- по диагностическим препаратам для инфекционных болезней и диагностическим питательным средам - ГИСК им. Л.А. Тарасевича;

- по препаратам для диагностики паразитарных болезней - ИМПиТМ им. Е. Марциновского;

- по препаратам для диагностики неинфекционных болезней - учреждения, определенные Минздравом России.

10.1.3. Ответственными организациями за разработку программы испытания являются:

- для препаратов, предназначенных для диагностики инфекционных болезней, в том числе диагностических питательных сред, - ГИСК им. Л.А. Тарасевича;

- для препаратов, предназначенных для диагностики паразитарных болезней, - ГИСК им. Л.А. Тарасевича и ИМПиТМ им. Е. Марциновского;

- для препаратов, предназначенных для диагностики кожно-венерических заболеваний, - ГИСК им. Л.А. Тарасевича и ЦКВИ;

- для препаратов, предназначенных для диагностики неинфекционных болезней, - учреждения и организации, определенные Минздравом России.

10.2. Государственные приемочные испытания проводят в два этапа:

- 1-й этап - лабораторные испытания диагностических препаратов;

- 2-й этап - клинико-эпидемиологические испытания (полевые испытания) диагностических препаратов.

10.2.1. Первый этап приемочных испытаний включает экспертизу вышеперечисленной НТД, а также лабораторно-экспериментальную оценку качества экспериментально-производственных серий препарата с помощью стандартизованных панелей сывороток и тест-штаммов. При этом оценивают способность методов контроля, изложенных в проекте ВФС, обеспечивать необходимый уровень качества препаратов в соответствии с их назначением.

Авторский отчет должен включать обоснование целесообразности

разработки препарата, данные лабораторно-экспериментального контроля, подробные данные изучения препарата в натурных (полевых) условиях в соответствии с его назначением в сравнении с лучшими однонаправленными препаратами отечественного или зарубежного производства. В авторском отчете обязательно должны быть представлены данные об испытании препарата на контрольных группах и определены показатели специфичности и чувствительности.

10.2.2. Второй этап - полевые испытания проводятся по программе, составленной ГИСК им. Л.А. Тарасевича и под его методическим руководством.

В программу испытания должны включаться следующие разделы: основание для проведения апробации препарата, цель и задачи исследования, обследуемые контингенты и материал исследования, методика проведения контролируемого исследования с указанием препаратов сравнения. Следует указать количество препаратов, необходимое для проведения испытания, учреждения, ответственные за проведение отдельных фрагментов работы.

Программа Государственного испытания должна составляться так, чтобы были определены чувствительность, специфичность препарата и воспроизводимость результатов в полевом контролируемом шифрованном опыте. Кроме того, должны быть оценены информативность лабораторных методов контроля и эксплуатационные свойства апробируемого препарата.

Чувствительность препарата должна оцениваться на материале, полученном от лиц опытной группы. Специфичность определяется на материале, полученном от лиц контрольных групп.

Опытная группа должна формироваться из больных и носителей возбудителя того инфекционного заболевания, для диагностики которого предназначен препарат. Диагноз должен быть точно подтвержден другими надежными методами исследования.

Контрольные группы должны включать: 1) здоровых людей; 2) лиц с заболеваниями, сходными по клинической картине с заболеванием лиц опытной группы.

При испытании препаратов для идентификации возбудителей инфекционных заболеваний в контрольную группу должны включаться штаммы, имеющие общие групповые антигены со штаммами, выделенными от больных опытной группы.

Материал исследования должен собираться не менее чем на 2 клинических базах.

Испытание диагностических препаратов должно проводиться с соблюдением принципов полевого контролируемого эксперимента с шифрованием материала, собранного от лиц опытной и контрольных групп.

Постановка реакции должна осуществляться одновременно с апробируемым препаратом и препаратом сравнения. Анализ полученных данных должен проводиться по следующим критериям:

- показатель чувствительности препарата;
- показатель специфичности препарата;
- воспроизводимость результатов исследования.

Информативность лабораторных методов контроля определяется по соответствию результатов полевого опыта и результатов лабораторного контроля.

При определении эксплуатационных свойств должны учитываться: простота постановки реакции, скорость ответа, стоимость анализа и т.д.

Собранный материал должен шифроваться и распределяться между базами для постановки реакций: профильные лаборатории ГИСК им. Л.А. Тарасевича, другие научно-исследовательские институты и обязательно лаборатории практических учреждений здравоохранения, аккредитованные в установленном порядке.

Эксплуатационные свойства препарата должны определяться только в практических лабораториях.

Данные, полученные в ходе Государственного приемочного испытания, должны быть определяющими при составлении окончательного варианта инструкции по применению.

11. ОСОБЕННОСТИ ИСПЫТАНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Государственные приемочные испытания диагностических питательных сред проходят в два этапа:

- 1-й этап - лабораторные испытания диагностических питательных сред;
- 2-й этап - клинико-эпидемиологические испытания (полевые испытания) диагностических питательных сред.

11.1. Первый этап приемочных испытаний включает экспертизу НТД и оценку качества экспериментально-производственных серий препарата с помощью музейных штаммов соответствующих микроорганизмов в зависимости от назначения среды. Препарат также характеризуют по физико-химическим показателям.

Изучение качества сред на первом этапе проводят с помощью физико-химических (внешний вид, остаточная влажность, растворимость, прозрачность и цветность раствора, pH, хлориды, аминный азот, прочность студня (для плотных сред)) и биологических показателей.

11.1.1. Физико-химические показатели определяют с использованием методик, изложенных в ФС 42-344ВС-90 («Физико-химические, химические, физические и иммунохимические методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов») и Методических указаниях по методам контроля МИБП (в печати).

11.1.2. К биологическим показателям, характеризующим качество сред в зависимости от их назначения, относятся следующие.

11.1.2.1. Чувствительность - определяют по максимальному разведению культуры, при котором на всех засеянных чашках (пробирках) обнаруживается рост (все группы питательных сред).

11.1.2.2. Эффективность - по увеличению микробной массы в среде через соответствующий срок инкубации посевов (среды для культивирования, обогащения микроорганизмов).

11.1.2.3. Показатель стабильности основных свойств микроорганизма - по отсутствию проявления атипичных свойств (морфологических, биохимических, серологических, фаголизабельных и др.) при росте культуры (все группы питательных сред).

11.1.2.4. Дифференцирующие свойства - по выраженности отличительных признаков (структурных особенностей колоний, их окраски, изменения цвета и др.) различных микробов (дифференциальные среды, питательные среды для идентификации микроорганизмов).

11.1.2.5. Показатель ингибиции - по степени подавляющего воздействия на постороннюю микрофлору (среды для выделения микроорганизмов, их хранения, дифференциальные и накопительные среды).

11.1.2.6. Скорость роста - по минимальному времени инкубации посевов, достаточному для выявления роста культур (все группы питательных сред).

11.1.2.7. Показатель прорастания микробных клеток - по отношению числа колоний, образовавшихся на испытуемой среде к числу колоний на контрольной среде, обеспечивающей выявление максимального числа жизнеспособных клеток (все группы питательных сред).

11.1.2.8. Выбор совокупности показателей, характеризующих диагностическую эффективность среды и методов их определения, осуществляют, исходя из назначения среды и в соответствии с «Методическими рекомендациями к контролю питательных сред по биологическим показателям» (М., 1980).

11.2. По результатам экспертизы документов и при положительной оценке на 1-м этапе качества образцов экспериментально-производственных серий препарата решением Комитета МИБП рекомендуется проведение второго этапа полевых испытаний питательных сред в соответствии с программой, согласованной с ГИСК им. Л.А. Тарасевича и утвержденной тем же Комитетом.

11.2.1. Правила проведения полевых испытаний зависят от назначения питательной среды.

11.2.1.1. Среды, предназначенные для работы с чистыми культурами (например, среды идентификации) микроорганизмов, должны оцениваться с помощью широкого набора музейных и свежевыделенных штаммов.

11.2.1.2. Питательные среды, предназначенные для работы с клиническим материалом (например, среды для выделения конкретного возбудителя), должны быть испытаны с помощью музейных и свежевыделенных штаммов соответствующих микроорганизмов (1-я стадия) и при посевах клинического материала в условиях деятельности практических лабораторий (2-я стадия).

11.2.2. В случае отсутствия условий для проведения 2-й стадии исследований допускается проведение оценки образцов питательных сред в опытах, имитирующих естественные условия. В этих случаях для посевов используют естественные материалы от здоровых лиц и объектов внешней среды (традиционно исследуемые при диагностике соответствующих инфекций), в которые вносится культура возбудителя в количестве, моделирующем ее концентрацию при естественном заражении.

11.3. Испытание образцов питательной среды по всем показателям на всех стадиях проводят параллельно с контрольной средой, аналогичной по своему назначению и лучшей по качеству. При отсутствии одной среды-аналога используют несколько сред, в совокупности характеризующих свойства нового препарата. При отсутствии сухих питательных сред промышленного изготовления в качестве контрольных используют среды лабораторного изготовления. В этом случае в Программе испытаний указывается состав среды, способ ее изготовления, условия и сроки хранения.

11.4. Оценку питательной среды на первой стадии испытания проводят с помощью ранее названных биологических показателей, выбранных в зависимости от назначения среды и характеризующих ее диагностическую эффективность («Методические рекомендации к контролю питательных сред по биологическим показателям», М., 1980).

11.5. На второй стадии испытания при использовании клинического материала питательные среды следует оценивать по показателю высеваемости, определяемого отношением числа положительных находок возбудителя к числу исследуемых проб в процентах. Учитывают также скорость роста культуры на среде; в случае испытания плотных сред - количество «подозрительных» колоний (можно в условных единицах), позднее подтвержденных как положительный результат; стабильность основных биологических свойств выделенного микроорганизма. Для питательных сред с ингибирующими свойствами отмечают эффективность подавления посторонней микрофлоры на среде.

11.6. Испытания проводят на базах научно-исследовательских институтов соответствующего профиля, лабораторных центрах, бактериологических лабораториях центров санитарно-эпидемиологического надзора и инфекционных больниц. Испытания в практических лабораториях проводят на территориях наиболее активных эпидемических очагов в период наибольшей высеваемости возбудителя соответствующей инфекции на данной территории. Число опытных баз определяется в зависимости от общего объема запланированных исследований и от пропускной способности лаборатории в соответствующий период.

11.7. При выборе материала, подлежащего посеву на испытуемые среды, следует исходить из возможности получения большего числа положительных находок искомого возбудителя при меньших объемах исследований. Для этого в опыт берут те контингенты или объекты, при исследовании которых на данной территории регистрируется наибольшая частота высеваемости искомого возбудителя. Как правило, это больные с соответствующим диагнозом (или с подозрением). Нецелесообразно в опыте исследовать материал от здоровых лиц, обследуемых с профилактической целью.

11.8. Одним из важных моментов во время проведения испытаний является взятие материала в объеме, достаточном для посева на обе среды: опытную и контрольную, и соблюдение принципа равнозначности посева материала на опытную и контрольную питательные среды.

11.9. Посев материала на среды и последующую идентификацию выделенных культур проводят в соответствии с методиками, изложенными

в МУ, инструкциях, приказах по диагностике заболеваний, вызываемых соответствующими микроорганизмами. В этом случае в Программе испытаний достаточно сделать ссылку на документ. Если в Программе испытаний предусмотрена другая методика исследования, то ее необходимо изложить полностью.

11.10. По окончании испытаний проводится статистическая обработка результатов с определением средних величин, стандартных отклонений, вычислением коэффициента вариации, определением доверительных интервалов и достоверности различий между опытными и контрольными средами.

11.11. Испытание питательных сред должно предусматривать также определение временных затрат труда специалистов практических лабораторий на приготовление опытной и контрольной сред.

11.12. При испытании питательных сред необходимо вести протоколы, рабочие журналы, примерные образцы которых представлены в «Методических указаниях к проведению испытаний диагностических питательных сред» (М., 1982).

12. ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ВАКЦИН

В общую систему испытания новых вакцин должно включаться изучение их иммунологической безопасности.

Изучение влияния вакцин на иммунную систему проводится:

- лабораторно-экспериментальное - доклиническое - на лабораторных животных;
- на добровольцах - клиническое (см. Приложение 9).

12.1. Лабораторно-экспериментальное (доклиническое) изучение

12.1.1. Испытанию подлежат лабораторные серии препарата.

12.1.2. Изучение нового препарата должно быть проведено в сравнительных опытах с коммерческим препаратом одного назначения (при его наличии) или коммерческим препаратом, наиболее близким по природе, структуре или назначению. Сравнительное изучение осуществляется в условиях одного опыта на лабораторных животных одной партии.

12.1.3. Испытание вакцин на иммунологическую безопасность проводят на мышах, предпочтительно инбредных. Количество животных в опытной группе определяют с учетом кратности обследования.

В качестве контроля используют группу здоровых интактных животных и группу животных, получивших стандартизованный препарат сравнения.

12.1.4. Схема и способ введения вакцины должны быть аналогичны схеме и способам, используемым при определении специфической активности исследуемого препарата.

12.1.5. Длительность наблюдения зависит от вида, способа и схем введения испытуемой вакцины. Отбор проб осуществляют на протяжении 25 - 28 сут.

12.1.6. Кратность и частота отбора проб определяются особенностью динамики развития специфического иммунного ответа.

12.1.7. Если препарат вводится 2 - 3 раза с коротким (1 - 2 сут.) интервалом, то точкой отсчета постпрививочного периода является день последнего введения вакцины. При введении препарата 2 - 3 раза с длительными интервалами пробы отбирают после каждого введения и в течение последующих 25 - 28 сут. При обнаружении изменений в показателях после этого срока наблюдения продолжают до восстановления изучаемых показателей до исходного уровня и (или) уровня в контрольных группах.

12.1.8. Состояние иммунной системы оценивают на основании определения:

- абсолютного количества ядросодержащих клеток в селезенке;
- фагоцитарной активности макрофагов;
- численности и относительного содержания субпопуляций Т- и В-лимфоцитов;
- резистентности организма к другим инфекционным агентам;
- гуморального иммунного ответа.

При определении последнего показателя гетерологичные инфекционные агенты должны вводиться одновременно с испытуемым препаратом в дни, когда выявлены максимальные изменения в системе иммунокомпетентных клеток при введении испытуемой вакцины. Сроки обследования животных зависят от особенностей выбранных агентов.

12.1.9. Вакцины, несущие в своем составе значительные количества белка в качестве антигена или содержащие примеси белковой природы, должны подвергаться тщательному изучению на анафилактогенность и иммуноадъювантный эффект, ведущий к усилению аллергических реакций на другие антигены.

12.1.9.1. Гиперчувствительность немедленного типа на вакцину и ее компоненты выявляют с помощью анафилаксии у морских свинок.

12.1.9.2. Способность вакцины стимулировать аллергию на неродственные антигены определяют с помощью этой же реакции, используя в качестве неродственного антигена гетерологичные белки (например, лошадиную сыворотку). В этом случае вакцину вводят одновременно с гетерологичным белком за 2 - 3 недели до разрешающей инъекции этого белка.

12.1.9.3. О способности индуцировать гуморальные аутоиммунные реакции судят по уровню аутоантител к тканевым антигенам.

12.1.9.4. Заключение о возможности дальнейшего изучения препарата в клинических испытаниях должно основываться на сопоставлении соотношения эффекта вакцинации и безопасности вакцины с учетом предполагаемой для человека дозы и назначения препарата. За безопасную дозу препарата (в отношении действия на иммунную систему) следует принять ту, которая:

- не подавляет или минимально снижает иммунный ответ на неродственные антигены;

- не индуцирует аллергизацию и развитие аутоиммунных реакций;
- вызывает наименьшие сдвиги в неспецифических показателях иммунного статуса животных.

12.1.9.5. Лабораторно-экспериментальное (доклиническое) изучение влияния вакцин на иммунную систему проводит организация-разработчик с привлечением, при необходимости, других учреждений и организаций иммунологического профиля.

12.1.9.6. Отчет о результатах доклинических испытаний влияния вакцины на иммунную систему представляется учреждениями - разработчиками препарата вместе с отчетом о результатах доклинических испытаний его специфической активности и токсичности для решения вопроса об испытании лабораторных серий вакцины на ограниченной группе людей.

12.2. Клиническое изучение

Изучение иммунологической безопасности вакцин на людях проводят после рассмотрения материалов доклинических испытаний препарата в два этапа.

Первый этап. Клинико-лабораторные исследования на ограниченной группе людей. Изучение иммунологической безопасности вакцин на этом этапе проводят в рамках программы испытания реактогенности, безопасности и специфической активности лабораторных серий препарата.

Второй этап. Выявление иммунозависимых заболеваний у вакцинированных в контролируемых полевых условиях, в рамках Государственного испытания препарата.

Длительность наблюдения выбирают таким образом, чтобы обеспечить выявление сроков восстановления возможных иммунологических нарушений.

Исследования проводят по трем направлениям:

- определение изменения уровня иммунологической реактивности на неродственные (относительно испытуемого препарата) инфекционные антигены;
- выявление аллергических и аутоиммунных реакций;
- определение изменений в системе иммунокомпетентных клеток (иммунном статусе).

12.2.1. Влияние вакцины на иммунологическую реактивность организма в отношении неродственных инфекционных антигенов оценивают по изменению уровня анамнестических антител, образовавшихся ранее в ходе вакцинации против распространенных инфекционных заболеваний.

12.2.2. Аллергизирующее воздействие вакцин оценивается по уровню общего иммуноглобулина Е в сыворотке крови. Аутоиммунные реакции выявляют в серологических реакциях на тканевые антигены.

12.2.3. Состояние иммунного статуса определяют на основании определения:

- численности и относительного содержания лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов (традиционными методами);

- фагоцитарной активности лейкоцитов;
- численности и относительного содержания субпопуляции Т- и В-лимфоцитов;
- содержания в сыворотке крови иммуноглобулинов основных классов.

12.2.4. Вакцинный препарат в плане его неспецифического влияния на иммунную систему должен удовлетворять следующим требованиям:

- продолжительность изменений иммунологических показателей не должна превышать 45 дней с момента каждого введения вакцины;
- изменения величины показателя численности и функциональной активности иммунокомпетентных клеток не должны быть больше или меньше чем в 1,5 раза по сравнению с исходной их величиной и величиной аналогичного показателя в группе, получавшей плацебо и обследованной в те же сроки.

12.3. Клинико-лабораторные исследования влияния вакцин на иммунную систему вакцинированных (на ограниченной группе людей) осуществляет клиническое учреждение и организация-разработчик; при необходимости возможно привлечение других учреждений и организаций иммунологического профиля.

12.4. Выявление иммунозависимых заболеваний должно проводиться в рамках Государственных испытаний экспериментально-производственных серий вакцины.

Должно предусматриваться выявление случаев инфекционных и соматических заболеваний, в том числе аллергической и аутоиммунной природы в опытной и контрольной группах. Длительность наблюдения должна быть не менее 6 мес.

13. ФАРМАКОПЕЙНЫЕ СТАТЬИ НА МЕДИЦИНСКИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

Настоящий документ устанавливает содержание, порядок построения, изложения и оформления фармакопейных статей на медицинские иммунобиологические препараты.

13.1. Общие положения

13.1.1. Фармакопейная статья на медицинские иммунобиологические препараты - нормативный документ, имеющий силу государственного стандарта, в соответствии с требованиями которого разрешается выпуск МИБП. Фармакопейные статьи на МИБП утверждаются Минздравом России в установленном порядке.

13.1.2. Действие настоящего документа распространяется на следующие основные группы МИБП:

- вакцины;
- анатоксины;
- сыворотки гетерологические лечебно-профилактические;

- цитокины и другие биологические иммуномодуляторы;
- иммуноглобулины и другие препараты из сыворотки крови человека и животных, моноклональные антитела, предназначенные для лечения и профилактики инфекционных заболеваний;
- ферментные препараты микробного происхождения;
- бактериофаги;
- аллергены;
- диагностикумы и антигены;
- сыворотки, антитела и иммуноглобулины диагностические;
- тест-системы иммуноферментные;
- радиоиммунные и молекулярно-биологические тест-системы;
- среды питательные бактериологические и вирусологические.

13.1.3. На одноименные МИБП, которые имеют разные лекарственные формы выпуска (ампулы, таблетки, свечи и др.), разрабатывают самостоятельные фармакопейные статьи.

13.1.4. Фармакопейные статьи имеют две категории - Временные фармакопейные статьи (ВФС) и Фармакопейные статьи (ФС).

13.1.5. Временную фармакопейную статью на МИБП разрабатывает организация - разработчик нового препарата совместно с предприятием - изготовителем экспериментально-производственных серий МИБП.

ВФС утверждают на срок, необходимый для окончательной отработки технологии производства и методов контроля препарата, но не более трех лет.

13.1.6. ФС на МИБП разрабатывает предприятие-изготовитель препарата, участвовавшее в разработке ВФС и первое освоившее производственный выпуск данного МИБП. Если к сроку разработки ФС данное предприятие прекратило выпуск МИБП, разработчика определяет организация, контролирующая данный МИБП.

ФС пересматривают и переутверждают не реже одного раза в 5 лет.

13.1.7. ВФС и ФС должны проходить научно-техническую экспертизу в ГИСК им. Л.А. Тарасевича и Фармакопейном государственном Комитете Минздрава России.

13.1.8. ВФС должна быть подписана организацией - разработчиком препарата (директором и основными разработчиками) и предприятием - изготовителем экспериментально-производственных серий (директором, начальником ОБТК или заместителем директора по качеству, главным технологом и начальником цеха).

ФС должна быть подписана предприятием - изготовителем МИБП, которому поручена ее разработка или переработка (директором, начальником ОБТК или заместителем директора по качеству, главным технологом, начальником цеха и основными разработчиками).

ВФС и ФС, кроме этого, должны быть подписаны руководителем НОК МИБП - директором ГИСК им. Л.А. Тарасевича, руководителем лаборатории стандартизации НТД, председателем Фармакопейного государственного комитета и главным ученым секретарем этого комитета.

13.1.9. ВФС или ФС являются обязательными нормативными документами при:

- получении разрешения на освоение выпуска МИБП;
- выпуске МИБП на производстве;
- контроле МИБП в ОБТК, в ГИСК им. Л.А. Тарасевича и др. организациях, осуществляющих контроль МИБП в установленном порядке.

13.2. Построение наименований МИБП

13.2.1. В заголовке фармакопейной статьи указывают наименование препарата на латинском и русском языках (для препаратов, вводимых людям) и на английском и русском языках (для диагностических препаратов, применяемых «ин витро», и питательных сред), в именительном падеже единственного числа (для отдельного препарата) или множественного числа (для наборов и комплектов диагностических сывороток, аллергенов и др. препаратов).

Ниже и на 5 - 6 мм левее наименования препарата на русском языке может быть расположено в скобках сокращенное или коммерческое наименование препарата на русском языке. Например: (АКДС-вакцина); (Среда Левина); (Хламискан) и др.

13.2.2. Наименование препарата должно начинаться с группового наименования («Вакцина ...», «Сыворотка ...», «Бактериофаг ...», «Диагностикум ...», «Питательная среда ...» и т.п.).

13.2.3. Последовательность расположения слов-определений в сложных наименованиях основных групп препаратов (структура наименований).

13.2.3.1. Вакцина:

- групповое наименование - «Вакцина»;
- против какого вида возбудителя инфекции, в форме прилагательного - «туляремийная», «гриппозная» или наименование заболевания - «Вакцина клещевого энцефалита»;
- технология получения - «культуральная», «аллантоисная», «химическая» (при необходимости);
- метод получения - «очищенная», «концентрированная», «адсорбированная»;
- биологическое состояние - «живая», «инактивированная»;
- физическое состояние - «жидкая», «сухая»;
- способ применения (при необходимости) - «для перорального применения» и т.п.

13.2.3.2. Сыворотки (иммуноглобулины) лечебно-профилактические:

- групповое наименование - «Сыворотка», «Иммуноглобулин»;
- против какой инфекции или против какого объекта, в форме прилагательного с частицей противо- или анти- - «противостолбнячная», «антилимфоцитарная» и др.

Если вместо прилагательного указано наименование заболевания, микроорганизма или токсина, перед таким наименованием ставят слово «против» - «Иммуноглобулин против клещевого энцефалита», «Сыворотка против яда кобры»;

- видовая принадлежность - «лошадиная», «воловья» (для сывороток),

«человека» (для иммуноглобулинов), или исходное сырье - «плацентарный», «донорский», «из сыворотки крови лошади» (для иммуноглобулинов);

- метод получения - «очищенная», «концентрированная»;
- физическое состояние - «жидкая», «сухая»;
- способ применения (при необходимости).

13.2.3.3. Сыворотки, антитела и иммуноглобулины диагностические:

- групповое наименование - «Сыворотка», «Антитела», «Иммуноглобулины»;
- для диагностики какого вида возбудителя, в форме прилагательного - «сальмонеллезная», «туляремийная» или самой инфекции - «для диагностики сифилиса», к каким возбудителям - «к бактериям рода Цитробактер», «к вирусам Коксаки» и др.;
- прочие назначения - «для судебно-медицинских целей», «против белков ...»;
- состав - «моноклональная», «моноспецифическая», «монорецепторная», «групповая», «поливалентная», «рецепторная», «типовая» и др.;
- обозначение антител - «О», «ОК», «АВСДЕ» и др.;
- метод получения - «адсорбированная», «инактивированная» и т.п.;
- видовая принадлежность - «кроличья», «ослиная» и др.;
- физическое состояние - «жидкая», «сухая»;
- метод применения - в общепринятом сокращении: «для РА», «для РСК», «для РТПГА» и др.

Наименования диагностических антител и иммуноглобулинов начинаются со слов: «Антитела (иммуноглобулины) флюоресцирующие».

13.2.3.4. Диагностикумы (антигены):

- групповое наименование - «диагностикум», «антиген»;
- для диагностики какой инфекции или возбудителя - «клещевого энцефалита», «вируса Синдбис», в форме прилагательного: «гриппозный», «риккетсиозный Сибирикус», «сальмонеллезный Н» и др.;
- основа культивирования возбудителя или природа антигена - «антигенный», «антительный», «бактериальный», «культуральный», «корпускулярный», «мозговой», «моноклинальный», «химический» и пр.;
- физическое состояние - «жидкий», «сухой»;
- метод применения - в общепринятом сокращении: «для РТГА», «для РСК», «для РГА» и т.п. В тексте вводной части следует привести полное наименование этих реакций и в скобках - сокращенное.

Для сорбированных диагностикумов слова: «эритроцитарный», «латексный», «белок А» должны стоять после группового наименования.

13.2.3.5. Тест-системы иммуноферментные:

- групповое наименование - «Тест-система иммуноферментная»;
- назначение - «для серодиагностики сифилиса», «для выявления антител к вирусу СПИД», «для определения фибриногена»;
- природа используемых антител - «моноклональные» и пр.

13.2.3.6. Питательные среды (бактериологические):

- групповое наименование - «Питательная среда», «Основа питательной среды»;

- вид сырья - «белково-витаминная», «дрожжевая» и пр.;
- назначение - «для выделения бруцелл», «для дифференциальной диагностики чумного микроба», «для культивирования»;
- физическое состояние - «жидкая», «сухая».

Если питательной среде присвоено наименование по фамилии автора, последнее приводят как общепринятое сокращенное наименование препарата.

13.2.3.7. Структура наименований других групп препаратов должна строиться с учетом требований, изложенных в п. п. 13.2.2, 13.2.3.1 - 13.2.3.6.

13.3. Построение, содержание и изложение фармакопейной статьи

13.3.1. Текст фармакопейной статьи должен начинаться с вводной части, которую не следует выделять заголовком. Остальной текст фармакопейной статьи должен состоять из разделов, наименование и содержание которых определяются свойствами препарата и контролируемыми показателями его качества.

13.3.2. Разделы должны быть расположены в следующей последовательности:

- описание;
- подлинность;
- растворимость (или распадаемость);
- прозрачность и цветность;
- показатель концентрации водородных ионов (pH);
- массовая доля влаги;
- вакуум, защитный газ, герметизация;
- белок;
- азот;
- углеводы;
- другие биохимические, физико-химические и физические показатели;
- стерильность (для живых вакцин - отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов);
- для препаратов, применяемых через рот, допустимая бактериальная (вирусная и др.) контаминация;
- пирогенность;
- токсичность;
- специфическая безвредность;
- специфическая активность, специфичность;
- специфические и неспецифические примеси;
- производственные штаммы;
- другие биологические показатели;
- вещества, входящие в состав препарата;
- растворители, реагенты и ингредиенты, выпускаемые в комплекте с препаратом;

- упаковка;
- маркировка;
- транспортирование;
- хранение;
- срок годности.

Примечание. *В отдельных случаях, если в готовом препарате невозможно охарактеризовать какой-либо основной показатель качества, последний должен быть определен ОБТК на соответствующей стадии производства. Подобные показатели качества и методы контроля (при необходимости) указывают в соответствующих разделах фармакопейной статьи.*

13.3.3. В текст фармстатьи включают только те разделы, которые определяют качество данного препарата.

В случае необходимости можно вводить дополнительные разделы с заголовками, отражающими их содержание.

13.3.4. Во вводной части должен быть указан состав препарата, способ его получения и обработки, биологическое и физическое состояние, способ введения, если они не отражены в наименовании препарата, количественное содержание активного вещества в единице объема или массы, в ампуле, в таблетке и т.п., количество доз в 1 мл или в потребительской таре, объем жидкого препарата до лиофилизации, наличие сорбента, консерванта, стабилизатора, их наименование, краткое назначение препарата.

Например: «Настоящая фармакопейная статья распространяется на вакцину коклюшно-дифтерийно-столбнячную, которая представляет собой смесь инактивированных коклюшных микробов 1 фазы, очищенных и концентрированных дифтерийного и столбнячного анатоксинов, адсорбированных на гидроокиси алюминия. Консервант - мертиолят. Выпускают в жидком виде. В 1 мл препарата (2 дозы) содержится 20 млрд. коклюшных микробных клеток, 30 флокулирующих единиц (1) дифтерийного и 10 единиц связывания (ЕС) столбнячного анатоксинов.

Назначение - активная профилактика коклюша, дифтерии и столбняка; для подкожного введения».

Для препаратов из крови человека, вводимых людям, кроме вышеперечисленного необходимо указать наличие или отсутствие антибиотиков, отсутствие антител к ВИЧ, поверхностного антигена вируса гепатита В (HBs-антиген) и пр.

Для живых вирусных вакцин указывают наличие или отсутствие гетерологичных белков.

В тех случаях, когда препараты имеют сложный состав (например, питательные среды) или выпускаются в виде наборов и комплектов (например, диагностикумы и тест-системы), то для питательных сред приводят их состав, в граммах и для каждого компонента указывают НТД, по которой ее выпускают, а также его квалификацию или сорт. При отсутствии НТД приводят в примечании краткую информацию о способе получения данного ингредиента и о его составе. Для диагностикумов приводят только перечень ингредиентов, входящих в комплект. Остальную информацию о каждом

ингредиенте приводят в разделе «Растворители и реагенты, выпускаемые в комплекте с препаратом».

13.3.5. Требования к качеству препарата следует излагать в повелительной форме, а методы измерения (контроля) - в третьем лице множественного числа.

В разделах, где должны быть подробно изложены достаточно сложные методы контроля препарата с использованием различных средств измерения, реактивов и материалов, необходимо первоначально кратко изложить требования к качеству препарата, а затем - метод измерения (контроля) и условия проведения данного метода измерения по ГОСТу 8.504-84 в виде подразделов в следующей последовательности[1]:

- принцип метода измерения (контроля) и нормы точности измерений;
- средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы;
- подготовка к выполнению контроля и условия его выполнения;
- выполнение контроля;
- вычисление результатов контроля.

В случае необходимости излагают требования безопасности при выполнении контроля и требования к квалификации лиц, осуществляющих контроль.

13.3.5.1. Подраздел «Принцип метода измерения (контроля) и нормы точности измерений» должен содержать краткое описание принципа, положенного в основу данного метода, и допускаемые значения показателя точности измерения (которые должны содержать не более двух значащих цифр), обусловленные используемыми средствами измерений и данным методом измерения.

13.3.5.2. В подразделе «Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы» должен быть приведен полный перечень предметов и веществ, необходимых для выполнения измерений, включая стандартные образцы (СО), питательные среды, растворы веществ, биологические препараты (эритроциты крови, иммунные и нормальные сыворотки и пр.), лабораторных животных.

13.3.5.2.1. В перечне средств измерений и вспомогательных устройств наряду с наименованием следует указывать обозначение стандартов и технических условий на них либо обозначение их типов, утвержденных Госстандартом, концентрацию применяемых растворов.

13.3.5.2.2. Для нестандартных средств измерений следует указывать метрологические характеристики по ГОСТу 8.009-84.

13.3.5.2.3. Если выполнение измерений требует специальных приспособлений или устройств, в справочном приложении к фармстатье следует привести их чертежи, описания и характеристики.

13.3.5.2.4. Для СО следует указывать их назначение, тип, категорию, номер по соответствующему реестру или обозначение НТД на СО, выпускаемые серийно.

13.3.5.2.5. Для мерной посуды кроме обозначения стандарта или техни-

1 Допускается исключать или объединять некоторые подразделы.

ческих условий необходимо указать ее вместимость, тип, точность градуировки или класс точности.

13.3.5.2.6. Реактивы и материалы должны быть приведены в перечне в соответствии с их наименованием по стандарту, с указанием обозначения стандартов или технических условий, их квалификации, сорта и марки; для импортных - с указанием фирмы и страны-изготовителя.

13.3.5.2.7. Для питательных сред, растворов веществ, биологических препаратов и материалов, не выпускаемых серийно, должно быть указано обозначение НТД, в котором приведен их состав и (или) способ получения. При отсутствии таковых приводят состав и (или) способ их приготовления в подразделе «Подготовка к выполнению измерений» (п. 13.3.5.3).

13.3.5.2.8. Для лабораторных животных указывают их наименование, пол, возраст, массу, линию, окрас и пр. (при необходимости).

Перечень наименований в подразделе приводят в алфавитном порядке.

13.3.5.3. В подразделе «Подготовка к выполнению контроля и условия его выполнения» должны быть регламентированы все работы по подготовке к проведению контроля, а именно.

13.3.5.3.1. Приведено описание подготовки и проверки режимов работы измерительной аппаратуры, приведения ее в рабочее состояние или дана ссылка на НТД, устанавливающая порядок подготовки аппаратуры к работе.

13.3.5.3.2. Приведены требования к подготовке лабораторной посуды.

13.3.5.3.3. Приведено описание отбора и подготовки лабораторных животных (термометрирование, выстригание шерсти, предварительная иммунизация и пр.).

13.3.5.3.4. Приведены рецептура и способы приготовления растворов и питательных сред, необходимых для проведения контроля (если нет НТД, по требованиям которой их изготавливают), указаны условия и сроки их хранения.

13.3.5.3.5. Приведен перечень факторов (температура, давление, влажность), определяющих условия выполнения контроля, их номинальные значения с указанием пределов допускаемых отклонений, необходимость асептических условий боксовых помещений, подачи стерильного воздуха и пр.

13.3.5.4. В подразделе «Выполнение контроля» должны быть регламентированы все этапы контроля.

13.3.5.4.1. Указаны масса навесок или объем пробы для контроля.

13.3.5.4.2. Указано количество образцов для проведения контроля каждой серии препарата и для повторного контроля при его допустимости.

13.3.5.4.3. Указан порядок и способы взятия (отбора) образцов препарата для контроля и хранения в архиве.

13.3.5.4.4. Методы контроля должны быть изложены в последовательности их проведения.

13.3.5.4.5. Все операции каждого метода должны быть подробно изложены.

13.3.5.5. Подраздел «Вычисление результатов контроля» должен содержать (при необходимости) описание способов вычисления определяемых показателей на основании произведенного контроля.

13.3.5.5.1. Расчетные формулы для получения результата контроля должны быть даны с указанием единиц измеряемых величин.

13.3.5.5.2. Числовые значения результата контроля должны оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение характеристики погрешности измерений.

13.3.5.6. В тех случаях, когда какой-либо метод измерений (контроля) изложен в НТД или Государственной фармакопее, в соответствующих вышеперечисленных подразделах приводят ссылку на соответствующий документ (наименование документа и дату его утверждения).

Если в этих документах отсутствуют требования, например, к средствам измерения, безопасности и пр., их необходимо изложить в соответствующих подразделах метода измерения (контроля).

13.3.5.7. Подраздел «Требования безопасности» должен соответствовать требованиям ГОСТа 1.26-77 и содержать описание специфических для данной методики правил соблюдения требований безопасности, в том числе при работе с патогенными культурами и токсическими веществами, а также перечень документов, в соответствии с которыми проводят инструктаж персонала. В этом же подразделе указывают (при необходимости) требования к квалификации лиц, допускаемых к выполнению контроля.

13.3.5.8. Методики выполнения измерений (контроля) следует аттестовать в ГИСК им. Л.А. Тарасевича.

13.3.6. В разделе «Описание» указывают внешний вид препарата или каждого ингредиента, входящего в комплекс (набор), определяемый визуально: жидкость, таблетка, порошок, пористая масса в виде таблетки и т.п.; его цвет, прозрачность, цвет и характер осадка, мутность или опалесценцию (при их наличии). Для препаратов, выпускаемых в таблетках, указывают размер таблетки, ее форму, цвет и массу; для препаратов в виде порошка - видимую структуру порошка - аморфный, кристаллический; для препаратов, вводимых через рот - запах и вкус. При описании цвета оттенок указывают перед основным цветом. Например, «желтовато-коричневый» (коричневый цвет с незначительным желтым оттенком).

13.3.7. В разделах «Растворимость» или «Распадаемость» указывают максимально допустимое время растворения или распадаемости, применяемый растворитель, его объем и, если необходимо, условия растворения (температуру растворителя, перемешивание, встряхивание).

Примеры: «При добавлении в ампулу или флакон 0,9%-ного раствора хлорида натрия, из расчета 1 мл на 1 дозу препарата, должна образовываться в течение 2 мин. гомогенная желтовато-коричневая суспензия».

Одна таблетка в 50 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия при температуре (31 +/- 1) °С при периодическом встряхивании (3 - 4 раза через каждый 5 мин.) должна распадаться на мелкие кусочки или рыхлую массу в период от 40 до 60 мин.

Содержимое ампулы должно раствориться в течение 5 мин. при внесении в нее 1 мл прилагаемого растворителя при непрерывном встряхивании.

13.3.8. В разделе «Прозрачность и цветность» указывают требования к

прозрачности, цветности, наличию взвеси или осадка и методы определения данных показателей для растворенного препарата.

При отсутствии инструментальных методов оценки указывают, что определение проводят визуально в проходящем свете на темном фоне. Если в растворенном препарате допускается наличие осадка, приводят его описание.

13.3.9. В разделе «Показатель концентрации водородных ионов (pH)» указывают диапазон данного показателя или допустимые колебания значений pH для данного препарата (например, pH от 7,2 до 7,7 или 7,4 +/- 0,2, если показатель 7,4 является оптимальным).

Если pH определяют в растворе после его дополнительного разведения, необходимо указать конечную концентрацию раствора и состав растворителя.

13.3.10. В разделе «Массовая доля влаги» приводят требования к максимально допустимой влажности (например, не более 1%) или, если это имеет существенное значение, - интервал допустимой влажности (например, от 1 до 2%).

13.3.11. В разделе «Вакуум, защитный газ, герметизация» указывают требования к вакууму, защитному газу и герметизации по РД 42-28-29-86.

13.3.12. В разделах, характеризующих биохимические и физико-химические показатели качества препарата («Белок», «Общий азот», «Углеводы», «Липиды», «Электрофоретическая подвижность» и др.), указывают требования к количественному содержанию соответствующего вещества и метод определения его количества.

13.3.13. Раздел «Стерильность» включают только для препаратов, которые должны быть стерильны.

13.3.14. В разделе «Допустимая бактериальная (вирусная или др.) контаминация» указывают максимально допустимую контаминацию единицы объема (обычно 1 мл) или массы (1 г) сухого препарата.

При описании метода контроля контаминации указывают объем засеваемого препарата, количество засеваемых чашек, пробирок и пр., условия культивирования, условия учета результатов (по среднеарифметическому числу колоний, выросших на всех чашках, исключая чашки, на которых число колоний более чем в 2 раза отличается от количества колоний на других чашках и т.п.).

13.3.15. В разделе «Пирогенность» указывают допустимые измерения температуры у животных, метод контроля и тест-дозу вводимого препарата на 1 кг массы.

13.3.16. В разделе «Токсичность» излагают методы, позволяющие исключить наличие в препарате токсических веществ, внесенных извне.

13.3.17. В разделе «Специфическая активность, специфичность» указывают требования к специфической активности и описывают методы ее количественной оценки, определяемой ин виво или ин витро. Например, для препаратов, используемых для активной иммунизации, количество антигена в единице объема (Lf/мл, ЕС/мл), количество микробных клеток и т.д., иммуногенные свойства, оцениваемые путем иммунизации животных

с последующим определением степени защищенности от соответствующего инфекционного агента и (или) уровня специфических антител; для лечебно-профилактических, диагностических сывороточных препаратов и бактериофагов - содержание специфических антител (активность фага) в единице объема, ампуле, таблетке (титр, мкг/мл и др.).

Описание методов должно включать требования к животным (масса, пол и пр.), их количество, дозы, схемы и методы введения препарата; требования к тест-культурам или тест-токсинам, их дозам; учитываемые показатели; методы расчета результатов и их статистическая обработка (при необходимости).

Для бактериологических питательных сред описывают количественные показатели, контролируемые с помощью тест-штаммов (чувствительность, эффективность, стабильность основных свойств микроорганизмов, ингибиция, дифференциация и др.) и т.п.

13.3.18. В разделе «Специфическая безвредность» указывают требования и критерии специфической безвредности; требования к животным, эмбрионам, биологическим субстратам, используемым для контроля; их количество; дозы, схемы и методы введения препарата; продолжительность наблюдения, учитываемые показатели. Описывают методы, позволяют определить полноту инактивации токсинов, бактерий, вирусов и пр., и охарактеризовать допустимую остаточную вирулентность живых вакцин.

13.3.19. В разделе «Подлинность» перечисляют требования к показателям, позволяющим идентифицировать препарат лабораторными методами.

Текст раздела «Подлинность» не должен дублировать текста раздела «Специфическая активность». При совпадении методик определения с другими разделами фармакопейной статьи объединяют.

13.3.20. В разделе «Специфические и неспецифические примеси» указывают допустимое содержание в препарате (в единице объема или в дозе) веществ, в том числе и биологической природы, которые могут в него попасть в процессе производства или образовываться при хранении, а также методы обнаружения этих примесей. Например, содержание в иммуноглобулинах других белков сыворотки, наличие в диагностических препаратах групповых микробных антигенов или антител, наличие вирусов контаминантов биологических субстратов (клеточные культуры, сыворотки и др.), содержание овальбумина в препаратах, для изготовления которых используют яйца птиц, содержание ионов аммония в сывороточных препаратах и т.п.

В данном разделе для диагностических препаратов следует указывать только те вещества, которые при изменении их количества могут снизить специфическую активность или ухудшить другие качества препарата (срок годности, растворимость и др.).

13.3.21. В разделе «Производственные штаммы» следует кратко перечислить основные требования к применяемым штаммам и привести их антигенную структуру (при необходимости).

Наименование производственных штаммов и штаммов для контроля следует указывать на латинском языке в соответствии с международной номенклатурой. Для бактериальных штаммов см. «Одобренные списки

названий бактерий» («Информационный бюллетень», приложение третье, издание Всесоюзного микробиологического общества при АН СССР, 1982) и «Каталог штаммов Всесоюзного музея патогенных бактерий» (М., 1982, вып. 1).

13.3.22. В разделе «Вещества, входящие в состав препарата» указывают полное наименование веществ, используемых для инактивации бактерий или вирусов, а также в качестве сорбента, консерванта, стабилизатора и т.п., указывая обозначения стандартов, технических условий или фармстатей, допустимые величины их содержания и, при необходимости, методы определения.

13.3.23. В разделе «Растворители и реагенты», выпускаемые в комплекте с препаратом, указывают все вспомогательные ингредиенты, вкладываемые в коробку (пачку) или входящие в состав комплекта. При отсутствии на них утвержденной НТД приводят их краткое описание, назначение, способ получения, требования к качеству и методы контроля.

Например.

1) Сыворотка диагностическая эхинококковая, агглютинирующая кроличья сухая. Получена из крови иммунизированных внутримышечно эхинококковым антигеном кроликов на 7 день после иммунизации и лиофилизирована.

Консервант - мертиолят натрия в конечном разведении 1:10000.

Пористая масса розовато-кремового цвета. Допустимое время растворения не более 5 мин. в 0,5 мл дистиллированной воды при температуре (20 +/- 2) °С. После растворения - прозрачная жидкость, не допускается наличие хлопьев. Остаточная влажность не более 3%. Определение проводят по методике... Допустимая бактериальная контаминация - не более 20 колоний при посеве 0,1 мл сыворотки на чашку Петри с мясопептонным агаром. Метод контроля изложен в разделе «Бактериальная контаминация».

В реакции латекс-агглютинации с ОСО диагностикума эхинококкового должна давать положительный результат в разделении не ниже 1:32. Метод контроля изложен в разделе «Подлинность и специфическая активность».

Назначение - положительный контроль.

2) Сыворотка нормальная кроличья, полученная из крови интактных кроликов; должна быть стерильной. Метод контроля см. раздел «Стерильность». Назначение - контрольный реагент при проведении РТГА.

3) Взвесь эритроцитов объемной концентрацией 50%, полученная из крови барана путем...

Назначение - компонент при постановке РТГА.

13.3.24. В разделе «Упаковка» указывают:

- количество препарата (в мл, г, дозах и др.) в потребительской таре (ампуле, флаконе, бутылке, банке, пакете и др.); вид, тип, вместимость потребительской тары, ее НТД, марку стекла, средства укупорки потребительской тары и ее НТД;

- количество единиц потребительской тары или упаковок с препаратом в групповой таре (коробке и пр.), тип ее или размеры, требование к материалу, из которого изготавливается групповая тара;

- перечень предметов, вкладываемых в групповую тару и требования к ним;
- единицу измерения (количество препарата, на которое установлена цена - тыс. доз, кг, тыс. компл. и пр.);
- вид, тип транспортной тары, количество единиц групповой или индивидуальной тары с препаратом и др. предметы, помещаемые в транспортную тару. Масса (брутто) полностью заполненной транспортной тары. При использовании нестандартной транспортной тары указывают ее размеры.

Для лиофилизированных препаратов указывают первоначальный объем препарата в единице потребительской тары или упаковки.

Описание упаковки комплектов производят в следующей последовательности:

- описание упаковки в потребительскую тару или упаковку каждого ингредиента (реагента) комплекта;
- состав комплекта;
- описание упаковки комплекта в групповую тару;
- единица измерения;
- описание упаковки в транспортную тару.

13.3.25. В разделе «Маркировка» приводят фразу: «Маркировка ампул (флаконов, банок и пр.), а также пачек (или коробок) - по РД 42-28-36-90, транспортной тары (ящиков) - по ГОСТу 14192-77». Приводят конкретные предупредительные надписи, которые должны быть нанесены на флакон, коробку и транспортную тару с учетом особенностей применения, хранения и транспортирования препарата. Например, дополнительная предупредительная надпись «Биопрепараты» (на транспортную тару), «Перед употреблением взбалтывать» (на коробку, флакон).

13.3.26. В разделе «Транспортирование» следует привести, как правило, следующую фразу: «Всеми видами крытого транспорта при температуре от... до... °С» (указывая температуру хранения препарата). Если при транспортировании допускается нахождение препарата при иной температуре, чем при хранении, эти условия излагают дополнительно, указывая возможную продолжительность транспортирования препарата в данных условиях.

13.3.27. В разделе «Хранение» указывают условия хранения (температурный режим и допустимую относительную влажность воздуха).

При необходимости указывают дополнительные условия хранения (в запертом и опечатанном помещении; в условиях, обеспечивающих защиту от грызунов и пр.).

При хранении препарата в бытовых холодильниках температуру хранения указывают «от 2 до 8 °С».

13.3.28. В разделе «Срок годности» указывают продолжительность времени, в течение которого препарат годен к применению при хранении в условиях, предусмотренных фармстатьей. Срок годности указывают в годах (если он равен или более года) или в месяцах (если он менее года).

Срок годности препарата исчисляют, как правило, с момента присвоения серии препарата контрольного номера ОБТК. При другом отсчете начала срока годности (с даты сорбции, лиофилизации) в тексте раздела приводят

соответствующую запись. В этом же разделе указывают на возможность продления срока годности препарата после его переконтроля и требования к результатам последнего.

Если переконтроль проводят по всем показателям, в тексте раздела приводят соответствующую фразу.

В том случае, если переконтроль проводят по отдельным показателям, то они должны быть перечислены.

13.4. Порядок оформления фармакопейных статей и особенности изложения некоторых разделов

13.4.1. Титульный лист фармакопейной статьи является первым листом и для утверждения фармстатьи представляется в виде, выполненном типографским способом (Приложения 10, 11), на листе формата А4 (210 х 297 мм) по ГОСТу 2.301-68.

13.4.2. Наименование препарата на титульном листе печатают строчными буквами, в промежутке, ограниченном двумя горизонтальными линиями, начиная в 45 - 50 мм от левого края листа.

Наименование препарата на латинском или английском языке, а также латинские наименования штаммов печатают на машинке (принтере) или выполняют рукописно пастой черного цвета.

Между латинским (английским), русским и сокращенным наименованиями следует оставлять 2 интервала.

Способ применения в наименовании препарата необходимо указывать в случаях, если имеется аналогичный препарат с иным способом применения.

В нижней текстовой части титульного листа должно располагаться не более 7 строк текста вводной части.

13.4.3. На каждой странице, кроме первой, в верхней правой половине листа в 2-х интервалах над текстом необходимо указать обозначение фармстатьи и страницу. Например: ВФС (ФС) 42... С (между цифрой 42 и С следует оставить интервал в 40 - 50 мм для номера статьи, года утверждения).

Пример: ФС 42-116ВС-86 С.4.

Поля текстовой части статей должны быть в миллиметрах не менее: левое - 30, правое - 10, верхнее - 25 и нижнее - 20.

Текст фармстатьи необходимо печатать на качественной белой бумаге через два интервала, используя качественную копировальную бумагу (принтер), приложения и примечания в тексте через 1 - 1,5 интервала.

13.4.4. Фармакопейные статьи следует представлять в мягкой обложке, не переплетая.

13.4.5. Наименования единиц физических величин и их обозначения должны соответствовать требованиям ГОСТа 8.417-81 и РД 50-160-79. Иммунологические показатели должны быть выражены в единицах, принятых в издательстве «Медицина».

13.4.6. При написании физических величин следует руководствоваться следующим.

13.4.6.1. Устанавливаемые ФС нормы (показатели) качества (темпера-

тура, массовая доля влажности, pH и пр.) должны быть указаны с предельными или допустимыми отклонениями от оптимальных показателей, либо указаны в виде максимальных или минимальных значений (не более, не менее). Например: pH 7,2 +/- 0,2; (37 +/- 1) °С; (15,0 +/- 0,5) г или 15,0 +/- 0,5 г (2,00 +/- 0,05) л; не более 10%, не менее 10,0 г/л.

13.4.6.2. Если какой-либо показатель должен быть точным, его приводят без допустимых отклонений. Фактически его величина будет определяться величиной погрешности применяемого метода измерения и прибора.

Точность измерения следует обозначать числом десятичных знаков после запятой данного числового значения. В этом случае допустимое отклонение составит 5 +/- 2 единицы последнего десятичного знака. Например: величина 5,00 г препарата свидетельствует о том, что гарантирована навеска в пределах от 4,95 г до 5,05 г, т.к. 5 г препарата взвешены с погрешностью не более 0,05 г.

13.4.6.3. Если какой-либо процесс может происходить одинаково успешно в пределах разных величин или если нет необходимости точно указывать какой-либо определенный показатель, то можно показывать соответствующий показатель через тире, например: «через 4 - 5 мин.», «со скоростью 5 - 10 м/с», «5000 - 6000 об./мин.», «вместимостью 10 - 15 л», «5 - 6%», «при pH 6,8 - 7,6».

В обозначениях единиц точку, как знак сокращения, не ставят. Числовые значения величин и их обозначения следует помещать в одной строке (без переноса). Между последней цифрой числа и после скобок, заключающих числа, следует оставлять пробел (см. примеры, приведенные выше).

13.4.6.4. При указании положительной температуры знак «+» не пишут при указании отрицательной - пишут слово «Минус». Например: 4 - 5 °С; минус 10 - 15 °С; минус (20 +/- 2) °С. Но при указании предельных противоположных величин следует писать: «от минус 20 до плюс 40 °С».

13.4.6.5. При указании верхней или нижней границы какого-либо показателя указывают только один показатель. Например: «при температуре не выше 20 °С», «количество образцов не менее 5».

13.4.7. При первом упоминании в разделах фармакопейной статьи реактивов, химических веществ и растворов их наименование необходимо указывать также, как в НТД, в соответствии с требованиями которой их выпускают, а также квалификацию и концентрацию раствора. Например: «Кислота серная по ГОСТу 4204-77, х.ч., раствор с массовой долей 10%», «Кислота соляная по ГОСТу 3118-77, х.ч. или ч.д.а., раствор концентрации 0,01 моль/куб. дм (0,01 н)».

В последующем тексте данного раздела допускается применять сокращенные наименования растворов этих веществ, например, «5 куб. дм раствор серной кислоты», «раствор азотной кислоты» (если применяются растворы только одной концентрации данной кислоты).

13.4.8. При перечислении применяемых средств измерения необходимо указывать вместимость емкостей и цену делений шкалы, класс точности измерения для весов, предел и погрешность измерения температуры для термометров и т.д.

Например: «Весы лабораторные типа ВЛР-200 2-го класса точности или аналогичного типа с погрешностью не более 0,5 мг»

13.4.9. Наименование разделов необходимо начинать с абзацного отступа (через 3 пропущенных знака), печатать строчными буквами (кроме первой - прописной) и подчеркивать. Разделы нумеруют арабскими цифрами с точкой. При необходимости в каждом разделе могут быть подразделы, пункты и подпункты, цифры которых разделять точкой, например, 1.2.2.1. Содержащиеся в тексте пункта или подпункта перечисления требований, указаний, положений и пр. обозначают арабскими цифрами со скобкой, например, 1), 2),... 5) и т.д.

Текст раздела следует продолжить на той же строке, как правило, с прописной буквы без повторения названия раздела.

Примеры.

1. «Описание. Мелкодисперсный порошок кремового цвета.

Гигроскопичен».

5. «Массовая доля влаги. Не более 2%. Определение проводят по

ФС 42-344ВС-90».

Для тест-систем и др. препаратов, содержащих наборы реагентов, наименования разделов могут быть на отдельной строке, а на последующих строчках приводят описания или требования к каждому реагенту. Например:

1. Описание.

Конъюгат - белая или беловато-желтая аморфная масса в виде таблетки или порошка.

Концентрат ЦБР - прозрачный бесцветный раствор.

Концентрат ФСБТ - прозрачный, слегка желтоватый раствор, допускается осадок кристаллов белого цвета.

Ортофенилендиамин - плоские таблетки или порошок светло-коричневого цвета.

13.4.10. Примеры текста в разделе «Упаковка».

13.4.10.1. «По 1 мл (1 доза) в ампулах ШП-1, НС-1 по ОСТ 64-2-485-85, 10 ампул в пачке тип 1, позиция 1 по РД 42-28-36-90 из картона коробочного по ГОСТу 7933-75. В пачку вкладывают инструкцию по применению и нож ампульный по ТУ 400-6-169-85. Единица измерения - 1 л».

13.4.10.2. «По 3000 МЕ (1 профилактическая доза в ампулах ШПВ-6, НС-1 по ОСТ 64-2-485-85...».

13.4.10.3. «Диагностикум - по 2,5 мл во флаконах ФО-10, НС-1, по ТУ 64-2-10-87.

50%-ная взвесь формалинизированных эритроцитов - 4 мл в таком же флаконе.

Сыворотка кроличья нормальная - по 2 мл в ампулах ШП-5, НС-1 или НС-3 по ОСТ 64-2-485-85.

Сыворотка бруцеллезная - 2 мл в такой же ампуле.

Выпускаются в комплекте. Комплект состоит из 4-х флаконов с диагностикумом, 1 флакона с 50%-ной взвесью формалинизированных эритроцитов барана, 2-х ампул с сывороткой нормальной кроличьей и 1 ампулы с сывороткой бруцеллезной агглютинирующей. Единица измерения - 1 тыс. комплектов.

Один комплект в пачке (тип II - позиция 8 по РД 42-28-36-90) или размером 130 х 30 х 75 мм из картона коробочного по ГОСТу 7933-75. В коробку вкладывают инструкцию по применению и нож ампульный по ТУ 400-6-169-85.

В ящик фанерный (деревянный) (N... по ГОСТу...) помещают от... до... коробок и упаковочный лист по РД 42-78-36-90. Масса (брутто) ящика при полной загрузке... кг».

13.4.11. После окончания текста раздела «Срок годности» на этой же странице через 4 интервала должны быть расположены подписи в следующей последовательности:

- директор организации - разработчика фармстатьи;
- основные исполнители от данной организации;
- директор(а) организаций-соисполнителей, принимавших участие в разработке фармстатьи или препарата;
- основные исполнители от данных организаций;
- директор организации - разработчика препарата (если она не является разработчиком фармстатьи)[1] <*>;
- основные исполнители от данной организации;
- директор предприятия - изготовителя экспериментально-производственных или производственных серий препарата;
- основные исполнители от данной организации (см. п. 13.1.8);
- руководитель Национального органа контроля МИБП - директор и руководитель лаборатории стандартизации НД ГИСК им. Л.А. Тарасевича или другой организации, осуществляющей контроль препарата и экспертизу НТД.

Далее следуют подписи председателя и главного ученого секретаря Фармакопейного государственного комитета.

Под каждой подписью лиц, перечисленных выше, должна быть проставлена дата подписания данным лицом фармстатьи. Подпись руководителей организации должна быть скреплена печатью учреждения.

Образец страницы с подписями представлен в Приложении 12.

13.5. Порядок присвоения обозначений и регистрации ВФС и ФС

13.5.1. ВФС и ФС после утверждения регистрируют с присвоением обозначения, которое состоит из указания категории фармакопейной статьи, регистрационного номера, букв ВС и двух последних цифр года утверждения или пересмотра, отделяемых от номера знаками тире. Например: «ВФС 42-14ВС-84», «ФС 42-ВС-86».

1 Только для новых препаратов.

13.5.2. Регистрационные номера присваивают в порядке последовательной нумерации, раздельной для ВФС и ФС.

13.5.3. На титульном листе, ниже рамки с наименованием препарата, проставляют код ОКП данного препарата.

13.5.4. Обеспечение фармакопейными статьями предприятий и организаций, выпускающих и контролирующих данный препарат, производит ГИСК им. Л.А. Тарасевича в установленном порядке.

13.6. Порядок оформления изменений к фармакопейным статьям

13.6.1. Титульный лист изменения к ВФС или ФС является первым листом изменения и для утверждения его представляют в виде, выполненном типографским способом (Приложение 13).

13.6.2. Наименование препарата на титульном листе печатают только на русском языке.

В нижней текстовой части титульного листа должно располагаться не более 15 строк текста изменения.

13.6.3. В графе «Старая редакция» необходимо указать наименование раздела, страницу, абзац, исключаемый или заменяемый текст абзаца.

13.6.4. В графе «Новая редакция», если изменяется текст абзаца, приводят его новый текст. Если старый текст дополняется, то указывают: «дополнить» и приводят дополнительный текст, не повторяя в этой графе текст старой редакции.

При отмене старого текста указывают: «старый текст исключить».

Порядок подписания изменения аналогичен подписанию фармстатей.

13.7. Порядок пересмотра и переутверждения фармакопейных статей

13.7.1. ФС пересматривают и переутверждают каждые 5 лет.

13.7.2. За год до окончания срока действия определенной ФС предприятия, выпускающие препарат по соответствующей ФС, направляют в организацию - разработчик ФС свои предложения для включения в пересматриваемый документ.

13.7.3. Организация - разработчик ФС должна направить проект пересматриваемой ФС (5 экз.) в ГИСК им. Л.А. Тарасевича за 6 мес. до истечения срока ее действия. В пояснительной записке к ФС должна быть приведена информация о всех изменениях, внесенных ранее или вносимых в данную редакцию предприятиями, выпускающими препарат по этой ФС.

13.7.4. Проект пересматриваемой ФС подписывают организации, первоначально освоившие выпуск препарата и представившие ФС, а также предприятия, внесшие изменения в пересматриваемую ФС.

13.7.5. После проведения научно-технической экспертизы проект пересмотренной ФС утверждают в установленном порядке и перерегистрируют, заменяя в обозначении ФС только год ее утверждения.

14. ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКИХ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ[1]

Настоящий документ определяет требования к построению, содержанию и изложению инструкций по применению профилактических, лечебных и диагностических медицинских иммунобиологических препаратов.

14.1. Построение, содержание и изложение инструкций по применению МИБП, предназначенных для введения человеку

14.1.1. Инструкция должна включать заголовок, вводную часть и следующие разделы:

- иммунологические (или биологические) свойства;
- назначение;
- способ применения и дозировка;
- реакция на введение;
- противопоказания;
- меры предосторожности (при необходимости);
- предупреждения (при необходимости);
- форма выпуска;
- срок годности. Условия транспортирования и хранения.

Наименование разделов необходимо начинать с абзацного отступа (через 5 пропущенных знаков), печатать прописными буквами. Текст раздела следует продолжать на той же строке, как правило, с прописной буквы без повторения названия раздела.

14.1.2. Заголовок инструкции начинают словами «Инструкция по применению...», после чего приводят русское наименование препарата в родительном падеже в соответствии с текстом фармакопейной статьи, а затем в скобках латинское наименование препарата в именительном падеже.

14.1.3. Вводная часть не имеет подзаголовка и начинается с абзацного отступа непосредственно после заголовка инструкции. Она должна содержать сведения о составе препарата, способе его получения и обработки, биологическом и физическом состоянии в соответствии с основными положениями текста вводной части фармакопейной статьи (за исключением назначения препарата) и раздела «Описание», а также другие сведения, отсутствующие в указанных разделах ФС, но имеющие большое значение для врача или потребителя препарата, например, возможность наличия следового количества антибиотиков или гетерологичной сыворотки (некоторые живые вирусные вакцины) и т.п.

Если препарат имеет общепринятое сокращенное наименование, последнее приводят в скобках после первого написания полного наименования. В дальнейшем во всех разделал допустимо употребление сокращенного наименования.

14.1.4. В разделе «Иммунологические (или биологические) свойства»

1 Взамен РД 42-28-7-88.

кратко описывают свойства препарата, определяющие его профилактическое или (и) терапевтическое действие: способность вызывать развитие специфического иммунитета, нейтрализовать токсин (микроорганизм) антителами, содержащимися в препарате, специфически лизировать бактерии, оказывать антимикробное действие за счет антагонистической активности или иных свойств и т.п. с указанием, при возможности, выраженности и длительности достигаемого эффекта.

14.1.5. В разделе «Назначение» указывают назначение препарата: профилактика или (и) лечение соответствующей инфекционной болезни, вакцинация доноров с целью получения специфического иммуноглобулина (плазмы); характеристику контингентов лиц, которым предназначено введение препарата, включая их возраст.

14.1.6. В разделе «Способ применения и дозировка» указывают:

14.1.6.1. Схему применения и дозировку. Для препаратов, применяемых для профилактики инфекционных болезней, указывают возрастные дозы, кратность введения, интервалы между введениями при вакцинации и ревакцинации, количество последних. Для вакцин, входящих в календарь плановых прививок, указывают возраст, в котором проводят вакцинацию и ревакцинацию, возможность проведения прививки одновременно с введением вакцины, предназначенной для профилактики другой инфекционной болезни (если таковая допускается).

Для препаратов, предназначенных для лечения инфекционных болезней, указывают возрастные разовые дозы, кратность введения в течение суток, продолжительность лечения, возможность проведения повторного курса лечения, допустимость применения других лекарственных средств.

14.1.6.2. Способ введения (внутримышечный, подкожный, пероральный и др.) и технику введения (шприц, скарификация и др.); место введения препарата; обработку места аппликации до и после инъекции в том случае, если она отличается от общепринятой; при необходимости указывают требования к температуре вводимого препарата и скорости его введения. Если допускается разная техника парентерального введения и при этом используют разные дозы или формы выпуска препарата, должны быть приведены соответствующие указания. Для препаратов, вводимых перорально, указывают на связь с приемом пищи, необходимость проглатывания или разжевывания таблеток и т.п. Соответствующие необходимые сведения должны быть приведены и для других способов введения.

14.1.6.3. Необходимые мероприятия, предшествующие введению препарата: осмотр содержимого ампул, флаконов и т.п., разведение сухого препарата (растворитель, его объем, условия растворения, максимально допустимое время хранения последнего), физические свойства растворенного препарата; указывают в каких случаях препарат не подлежит применению. Например: «не пригоден к применению препарат в ампулах (флаконах) с нарушенной целостью, маркировкой, а также при изменении его физических свойств (цвета, прозрачности и др.), при истекшем сроке годности, при неправильном хранении». Описывают условия и допустимые сроки хранения после растворения или вскрытия ампулы с жидким пре-

паратом; необходимость встряхивания ампулы перед набором препарата в шприц; необходимость постановки внутрикожной пробы перед введением гетерологических сывороток и т.п.

При необходимости раздел завершают фразами: «Вскрытие ампул (флаконов) и процедуру введения препарата осуществляют при строгом соблюдении правил асептики и антисептики.

Проведенную прививку регистрируют в установленных учетных формах с указанием наименования препарата, даты прививки, дозы, института - изготовителя препарата, номера серии, реакции на прививку».

Если препарат предназначен для профилактики и для лечения и при этом имеются отличия в способе введения или схеме применения, эти сведения следует изложить в подразделах: «применение с целью профилактики»; «применение с целью лечения».

14.1.7. Раздел «Реакция на введение» включает:

- характеристику общих, в том числе температурных, и местных реакций, которые могут или должны развиваться после введения препарата, время их появления и продолжительность;

- допустимую частоту развития общих (температурных) и местных реакций определенной степени выраженности;

- возможность развития поствакцинальных осложнений, их клинические формы; в случае, если после введения препарата возможно развитие анафилактического шока, указывают: «Учитывая возможность развития анафилактического шока у отдельных высокочувствительных лиц, вакцинированный должен находиться под медицинским наблюдением не менее 30 мин. Места проведения прививок должны быть обеспечены средствами противошоковой терапии».

Если перед массовыми прививками предусмотрено определение реактогенности серий на ограниченных группах лиц, подлежащих прививкам, указывают количество и возраст прививаемых, срок их обследования после прививки, учитываемые показатели, допустимые показатели реактогенности.

В случае, если реакции на введение препарата отсутствуют, текст раздела излагают: «Реакция на введение отсутствует».

14.1.8. В разделе «Противопоказания» перечисляют противопоказания к введению препарата. Названия болезней приводят в соответствие с действующей классификацией. После каждой нозологической формы должно быть указано, через какой срок после выздоровления допустима прививка.

Если применение препарата ограничено какими-либо противопоказаниями, раздел должен быть закончен фразой: «С целью выявления противопоказаний врач (фельдшер) в день прививки проводит опрос и осмотр прививаемого с обязательной термометрией. В случае необходимости проводят соответствующее лабораторное обследование». (Указание на обязательность термометрии приводят в случае, если повышение температуры тела до 37 °С и выше является противопоказанием к введению препарата).

Если препарат не имеет противопоказаний к применению, текст раздела излагают: «Противопоказания не установлены».

14.1.9. В разделе «Меры предосторожности» приводят соответствующий

текст, связанный с процедурой введения препарата. Например, в инструкции по применению вакцины БЦЖ он может быть: «Следует категорически избегать подкожного введения вакцины, поскольку при этом могут развиваться патологические реакции».

14.1.10. В разделе «Предупреждение» приводят рекомендации, цель которых - предотвращение развития неполноценного иммунитета и необычных реакций, обусловленных индивидуальными особенностями привитых. Например, в инструкциях по применению вакцин может быть указано: «Прививки... вакциной проводят не ранее чем через 1 мес. после прививок против других инфекций»; для живых вирусных вакцин этот текст следует дополнить: «Лиц, получивших препараты иммуноглобулина человека или переливание крови, прививают не ранее чем через 3 мес.; введение указанных препаратов проводят не ранее чем через 2 недели после прививки, в противном случае вакцинацию следует повторить». Для ряда препаратов в этот раздел могут быть внесены такие рекомендации, как: «Детей с судорогами в анамнезе следует прививать на фоне применения противосудорожных препаратов».

14.1.11. В разделе «Форма выпуска» в соответствии с фармстатьей указывают, в какой потребительской и групповой таре (ампула, флакон и т.п.) выпускают препарат, все виды фасовки препарата; количество доз в потребительской таре; наличие в комплекте растворителя, разведенной сыворотки и т.п.

14.1.12. В разделе «Срок годности. Условия хранения и транспортирования» в соответствии с требованиями фармстатьи указывают срок годности препарата, а также требования к условиям его хранения и транспортирования, обеспечивающие сохранность качества и товарного вида препарата в течение срока годности.

14.1.13. Порядок изложения материала в разделах при необходимости может быть изменен; в содержание разделов могут быть внесены дополнительные сведения.

В конце инструкции указывают, что рекламации на физические и другие свойства препарата направляют в Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича (121002, г. Москва, Сивцев Вражек, д. 41, телефон и факс (095) 241-39-22) и в адрес предприятия, изготовившего препарат, а также о том, что в случаях повышенной реактогенности или развития поствакцинальных осложнений следует сообщить по телеграфу или телефону с последующим представлением медицинской документации в ГИСК им. Л.А. Тарасевича.

14.2. Построение, содержание и изложение инструкций по применению МИБП, предназначенных для лабораторной диагностики

14.2.1. Инструкция должна включать заголовок, вводную часть и следующие разделы:

- назначение;
- способ применения;
- учет результатов;
- форма выпуска;
- срок годности. Условия хранения и транспортирования. Наименование разделов записывают в виде заголовка (симметрично тексту) прописными буквами.

14.2.2. Заголовок инструкции начинают словами «Инструкция по применению...», после чего приводят русское наименование препарата в родительном падеже в соответствии с текстом фармакопейной статьи, а затем в скобках наименование на английском языке в именительном падеже.

14.2.3. Вводная часть не имеет подзаголовка и начинается с абзацного отступа непосредственно после заголовка инструкции. Она должна содержать сведения о составе препарата, как отдельного наименования, так и всех входящих в набор компонентов (для питательных сред - содержание каждого компонента в г/л среды), о минимальной определяемости концентрации исследуемого вещества и содержании влияющих сопутствующих факторов, а также сведения о биологическом и физическом состоянии в соответствии с основными положениями текста вводной части фармакопейной статьи (за исключением назначения препарата) и раздел «Описание».

14.2.4. В разделе «Назначение» перечисляют все области применения препарата и описывают характер его специфического действия.

14.2.5. В разделе «Способ применения» описывают:

- вид, объем материала исследования, условия и длительность его хранения, обработку, подготовку к анализу, меры безопасности при работе с исследуемым материалом;
- методику (методики) применения препарата (реакцию, для которой он предназначен, растворители, ингредиенты для контроля; для питательных сред - методику их приготовления);
- условия и сроки хранения после растворения (для сухих препаратов) или после вскрытия ампулы, флакона и пр. с жидкими препаратами;
- количество препарата, расходуемого на 100 исследований.

14.2.6. Раздел «Учет результатов» включает: определение времени и интенсивности реакций; учет роста микробов; систему оценки результатов (применение качественных или количественных методов оценки); диагностическую значимость (чувствительность, специфичность) препаратов; необходимость параллельных исследований в динамике заболевания (парные пробы).

14.2.7. В разделе «Форма выпуска» в соответствии с фармстатьей указывают, в какой потребительской и групповой таре выпускают препарат, все виды фасовки, наличие дополнительных ингредиентов, необходимых для работы с препаратом (растворитель, контрольные ингредиенты, сыворотки, антигены, эритроциты и т.п.); принцип комплектации (одноименные препараты, набор разноименных и пр.).

14.2.8. В разделе «Срок годности. Условия хранения и транспортирования» указывают срок годности препарата, а также требования к условиям

хранения и транспортирования препарата, обеспечивающие сохранность его качества и товарного вида в течение срока годности.

14.2.9. Порядок изложения материала в разделах представлен в виде схемы; в содержание разделов могут быть внесены изменения и дополнительные сведения.

В конце инструкции указывают, что рекламации на специфические и физические свойства препарата направляют в Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича (121002, г. Москва, Сивцев Вражек, д. 41, телефон и факс (095) 241-39-22) и в адрес предприятия, изготовившего препарат.

Приложение 1

1. Методы определения токсичности

1.1. Метод определения острой токсичности.

Животные: мыши массой не более 20 г; крысы массой от 140 до 160 г; морские свинки массой от 250 до 350 г; кролики массой от 2,0 до 2,5 кг, животные других видов. Формирование групп животных, получающих разные дозы испытуемого препарата и препарата сравнения, проводят методом случайной выборки (единица выборки - животное).

При внутривенной инъекции объем вводимого препарата на 1 кг массы животного не должен превышать: для мышей - 25 мл, для крыс и морских свинок - 15 мл, для кроликов - 10 мл. Максимальные объемы должны вводиться мышам в течение 5 сек., крысам и морским свинкам - в течение 10 сек., кроликам - в течение 20 сек.

За животными наблюдают не менее 7 сут. после введения препарата.

Величину $ЛД_{50}$ рассчитывают по результатам наблюдений через 30 мин., 24 ч и через 7 сут. и выражают в массовых, объемных или других единицах на 1 кг массы животного.

Материал для проведения гистологического исследования забирают от животных, которым испытуемый препарат был введен внутривенно, а также методом, предлагаемым для практики, в максимально переносимой дозе (МПД), не вызывающей гибели животных. Допускается проведение гистологического исследования органов одного вида животных, оказавшегося более чувствительным к токсическому воздействию препарата, и использование одной серии препарата, $ЛД_{50}$ которой была наименьшей. Взятие материала осуществляют через 24 ч, 4 сут. и 7 сут. не менее чем от 5 животных на каждый срок, а также от всех животных, павших в течение наблюдения (см. п. 5.2.4).

1.2. Метод определения хронической токсичности.

Животные: см. «Определение острой токсичности».

Препарат вводят не менее чем 20 животным один раз в сутки в оптимальной иммунизирующей (эффективной) дозе для данного вида животного или в дозе, эквивалентной предлагаемой для человека, при пересчете на 1 кг массы или площадь поверхности тела. Если препарат в течение 1 мес. предполагается применять человеку от 1 до 3-х раз, количество однократных ежедневных инъекций должно быть не менее 10, а более 3-х - не менее 20; перерыв в курсе введения не допускается.

Наблюдение за животными проводят в течение периода введения препарата и последующих 7 сут. При этом ежедневно регистрируют массу животных, а также возможные клинические симптомы интоксикации. Не менее 5 животных забивают на следующие сутки после последнего введения препарата и не менее 5 в день окончания наблюдения, и их органы подвергают гистологическому исследованию (см. п. 2.4).

Гистологическому исследованию подвергают также органы всех животных, павших в течение периода наблюдения.

1.3. Метод определения влияния на детоксицирующую функцию печени.

Испытание проводят на беспородных белых мышах массой 18 - 20 г. Необходимо учитывать, что в условиях одного опыта колебания массы животных не должны превышать 1 г, в противном случае могут быть получены некорректные результаты.

Испытуемый препарат и препарат сравнения вводят внутрибрюшинно в дозе, которую предполагают использовать (используют) человеку; препараты, предназначенные для энтерального введения, вводят через рот.

Количество животных в каждой группе должно быть не менее 25. Раствор гексенала на дистиллированной воде вводят внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл из расчета 80 - 90 мг/кг массы животного (в зависимости от чувствительности животных, сезона и т.п.) через 48 - 72 ч после введения препарата.

Перед началом исследования рекомендуется оттитровать рабочую дозу гексенала, которая должна вызвать у интактных мышей наркоз продолжительностью от 30 до 40 мин. Необходимо учитывать, что животные должны находиться на полноценном пищевом режиме, т.к. голодание может увеличить продолжительность наркоза. Поскольку во время наркоза температура тела животных снижается, температура в помещении должна быть не менее 20 °С.

Время введения гексенала каждому животному регистрируют с помощью секундомера. Для удобства работы можно вводить препарат небольшим группам (до 5) животных, фиксируя по секундомеру время введения препарата каждой группе.

Заснувших мышей раскладывают на столе на боку. Регистрируют время пробуждения каждого животного (проснувшимися считают мышей, вышедших из бокового положения) и определяют продолжительность наркоза. За продолжительность наркоза условно принимают время от момента введения гексенала до момента пробуждения.

Длительность гексеналового наркоза для группы животных (контрольной, получившей испытуемый препарат, препарат сравнения) рассчитывают с помощью средней арифметической или медианы. Расчет медианы имеет определенные преимущества, если в группах имеются длительно непросыпающиеся животные.

1.4. Метод определения токсичности препаратов бактериофага.

Данные исследования проводят на белых мышах массой 18 - 20 г, в каждой группе - не менее 20. Необходимость проведения гистологических исследований зависит от биологических свойств бактерий, их способности к образованию эндотоксинов.

Определение острой токсичности предполагает однократное внутрибрюшинное введение фага в дозе, многократно превышающей максимальную разовую для человека в пересчете на единицу массы тела (100 - 200 раз). Животные не должны терять в весе, должны отсутствовать признаки

заболевания и в месте введения препарата - инфильтраты. При исследовании периферической крови опытных животных после введения бактериофага не должны обнаруживаться значительные изменения в содержании лейкоцитов по сравнению с контрольной группой.

Определение хронической токсичности предполагает ежедневное внутрибрюшинное введение фага в течение 20 дней в дозе, эквивалентной максимально разовой дозе для человека в пересчете на единицу массы тела.

Наблюдения за животными проводят в течение всего периода введения и последующих 7 сут. с ежедневной регистрацией массы тела животных, а также возможных клинических проявлений интоксикации.

Определение местного действия бактериофага осуществляется в случае использования препаратов внутримышечно в дозе, предлагаемой для применения. Оценку проводят на основании данных осмотра на протяжении всего срока введения препарата и последующих 7 сут.

1.5. Метод определения токсичности аллергенов.

Данное исследование осуществляется на двух видах животных: белых мышах - по 0,5 мл внутрибрюшинно, морских свинках - по 1 мл подкожно. В тех случаях, когда аллергены предназначаются для специфической иммунотерапии, что сопряжено с многократным их введением, оценку токсичности проводят с равным количеством подкожных инъекций морским свинкам (или кроликам) в дозах, рекомендуемых для практического применения.

2. Метод определения влияния МИБП на центральную нервную систему

При проведении настоящего испытания формируют две группы животных: получающих испытуемый препарат и соответствующий объем дистиллированной воды (контрольная группа).

Требования к дозе испытуемого препарата, пути его введения, экспериментальным животным и их количеству, методам статистической обработки те же, что и при постановке гексеналовой пробы.

Тиосемикарбазид (ТСК) или коразол вводят через 24 - 48 ч и 14 сут. после вакцинации. При постановке судорожных проб следует учитывать, что шум в помещении, резкие движения оператора и животных могут спровоцировать возникновение судорог. В связи с этим, после введения ТСК (коразола) животных следует содержать изолированно, помещая в прозрачные пластмассовые клетки, разделенные на мелкие отделения, или в стеклянные банки.

Введение коразола или ТСК интактным животным вызывает развитие судорог различного характера: клонические, тонические, клонико-тонические. Регистрируют время введения судорожного агента каждому животному, время развития каждого судорожного приступа, характер судорог, время гибели. Зная время введения вещества, вызывающего судороги, и наступления гибели мыши, определяют длительность жизни каждого животного.

2.1. Проба с ТСК.

Раствор ТСК на дистиллированной воде вводят внутрибрюшинно в объеме 0,2 мл. Перед началом исследования определяют дозу препарата, которая должна вызвать у интактных мышей развитие судорожных приступов и последующую гибель почти всех животных ($ЛД_{95}$). При этом первый судорожный приступ должен развиться через (40 +/- 5 мин.), а гибель основного числа животных должна наступить через 70 - 90 мин. Как правило, эта доза находится в пределах от 18 до 25 мг/кг массы.

Регистрацию времени введения ТСК каждому животному, времени развития судорог и гибели осуществляют с помощью секундомера. За животным наблюдают в течение 3 ч.

Определяют среднюю длительность жизни мышей опытной и контрольной групп и достоверность различий между показателями.

2.2. Коразоловая проба.

Раствор коразола на дистиллированной воде вводят подкожно в объеме 0,2 мл. Перед началом исследования определяют дозу препарата, которая должна вызывать у интактных мышей развитие судорог и последующую гибель почти всех животных. Как правило, эта доза находится в пределах от 90 до 100 мг/кг массы.

В отличие от пробы с ТСК при использовании коразола приступы судорог развиваются уже в первые минуты после введения препарата, а гибель основного числа животных наступает в течение 30 мин.

Регистрацию времени введения коразола, развития судорог и гибели животных проводят так же, как после введения ТСК.

За животными наблюдают в течение 60 мин. Определяют среднюю длительность жизни мышей опытной и контрольной групп и достоверность различий между показателями.

3. Методики перорального введения МИБП

3.1. Методика орального введения белым мышам, морским свинкам, кроликам и обезьянам орального таблетированного МИБП.

Принцип метода состоит в обеспечении контакта МИБП со слизистой ротовой полости в течение 2 - 3 мин.

Нарезают губку или другой пористый материал кусочками объемом: для белых мышей - 0,3 - 0,5 куб. см, морских свинок и кроликов - 0,5 - 1,0 куб. см, обезьян - 1 - 2 куб. см.

Таблетку измельчают и растворяют в таком количестве дистиллированной воды, чтобы 1 доза препарата для белой мыши или морской свинки содержалась в 0,5 мл, а для кролика - в 1 мл суспензии. Полученную суспензию сорбируют губкой, фиксированной в кровоостанавливающем зажиме. Мышей и морских свинок фиксируют в руке. Кроликов помещают в ящик для иммобилизации. Обезьян фиксируют за шею руками. Затем вводят губку в ротовую полость животного и удерживают ее в течение 2 - 3 мин. Все манипуляции выполняют осторожно, чтобы не повредить слизистую ротовой полости.

3.2. Методика энтерального введения кроликам и обезьянам жидкой формы МИБП.

Принцип метода состоит во введении жидкого препарата на неповрежденную слизистую с помощью трубки, проведенной через верхние отделы желудочно-кишечного тракта в двенадцатиперстную кишку.

У кроликов и обезьян натощак удаляют волосяной покров на участке, расположенном ниже мечевидного отростка по срединной линии живота, размером 5 × 15 см. У обезьян эту процедуру проводят после достижения полного наркоза.

Кроликов фиксируют на операционной доске животом вверх и наркотизируют до исчезновения болевой чувствительности. Обезьян фиксируют на операционной доске после проведения наркоза. Подготовленное операционное поле обрабатывают 3%-ным спиртовым раствором йода и ограничивают его стерильными салфетками с помощью корнцангов. После проведения верхнесрединной лапаротомии через разрез извлекают из брюшной полости желудок с прилежащим участком двенадцатиперстной кишки. Затем через рот, пищевод и желудок вводят в двенадцатиперстную кишку на глубину 2 - 4 см газоотводную трубку, которую фиксируют пальцами в области перехода из желудка в кишечник. Все манипуляции выполняют через стенку желудка. После этого другой лаборант через трубку при помощи шприца вводит 1 - 2 мл жидкой вакцины с последующим промыванием трубки физиологическим раствором объемом 20 - 30 мл. Желудок и кишечник помещают в брюшную полость и вводят в нее 2 мл раствора антибиотиков (100 - 200 тыс. ед./мл). Операционную рану послойно зашивают. Все манипуляции выполняют с помощью стерильных инструментов и материалов с соблюдением правил асептики и антисептики.

Первое кормление животных допускается на следующий день после операции. Продолжительность наблюдения за животными - до 30 сут. (в зависимости от цели исследования). Отход животных во время операции и в период наблюдения составляет не более 5% и обусловлен оперативным вмешательством.

3.3. Методика энтерального введения кроликам и обезьянам энтерального таблетированного МИБП.

Принцип метода состоит в пероральном введении энтерального таблетированного препарата в желудок с помощью эзофагатора и принудительной эвакуации его из желудка в кишечник.

Подготовку животных проводят так же, как при энтеральном введении жидкой формы МИБП.

Кроликов помещают в ящик для иммобилизации и с помощью эзофагатора проталкивают энтеральный таблетированный препарат в глотку, исключая повреждение защитной кишечно-растворимой оболочки во рту.

С обезьянами эту манипуляцию выполняют 2 сотрудника. Один фиксирует животное за шею. Второй с помощью эзофагатора вводит через рот в глотку энтеральную таблетку, исключая повреждение зубами животного защитной кишечно-растворимой оболочки.

Энтеральный таблетированный препарат вводят с таким расчетом, чтобы срок пребывания таблетки в желудке не превышал 2 ч. При раздражении слизистой глотки таблеткой срабатывает безусловный глоточный рефлекс, и животное глотает таблетку, которая при этом попадает в желудок.

Животных наркотизируют, привязывают к операционной доске, обрабатывают операционное поле 3%-ным спиртовым раствором йода и ограничивают его стерильными салфетками с помощью корнцангов. После проведения верхнесрединной лапаротомии через разрез извлекают из брюшной полости желудок с прилегающим участком кишечника и, нащупав таблетку в желудке, проталкивают ее в кишечник. Желудок и кишечник погружают в брюшную полость и вводят в нее 2 мл раствора антибиотиков (100 - 200 тыс. ед./мл). Операционную рану послойно зашивают. Все манипуляции выполняют с помощью стерильных инструментов и материалов с соблюдением правил асептики и антисептики.

Первое кормление животных допускается на следующий день после операции. Продолжительность наблюдения за животными - до 30 сут. (в зависимости от цели исследования). Отход животных во время операции и в период наблюдения составляет не более 5% и обусловлен оперативным вмешательством.

Возможности использования различных лабораторных животных для перорального введения суммированы в таблице.

Таблица

Возможность использования различных лабораторных животных для перорального введения

Методика введения	Белые мыши	Белые крысы	Морские свинки	Кролики	Обезьяны
1. Оральное введение губкой препарата в жидком виде	+	+	+	+	+
2. Пероральное (энтеральное) введение препарата, устойчивого к кислой среде желудка	+	+	+	+/-	++
3. Пероральное введение: таблетки с защитным энтеро-солюбильным покрытием (диа метром 4 - 9 мм)	-	-	-	-	++
экспериментальных форм (таблетки диаметром 2 - 3 мм, гранулы) с энтеросо-любильным защитным покрытием	-	+	+	+	++
4. Оперативное введение в тонкую кишку (введение зонда)	-	-	+/-	+	+
Примечания. Степень пригодности для оценки свойств МИБП: ++ наиболее полная; + достаточная; +/- сомнительная; - непригодна или невозможна.					

4. Патоморфологическое исследование

Животных усыпляют эфирным наркозом. При вскрытии и осмотре внутренних органов отмечают состояние серозных покровов и содержимое полостей. Определяют, сравнивая с контрольной группой животных, массу, цвет, степень кровонаполнения органов, наличие гемодинамических нарушений. Вырезают кусочки из внутренних органов подопытных и контрольных животных (головного и спинного мозга, легких, печени, почек, надпочечников, желудка, тонкого и толстого кишечника, поджелудочной железы, тимуса, эпифиза, щитовидной железы, селезенки, лимфатических узлов разной локализации). Спинной мозг извлекают из позвоночника после фиксации.

Фиксацию материала проводят в 10 - 12%-ном растворе формалина с последующей промывкой, проводкой через спирты и заливкой в парафин. При резке на каждое стекло помещают не менее 2-х срезов, которые окрашивают гематоксилинэозином. Для уточнения характера выявленных изменений могут быть использованы гистохимические и другие морфологические методы исследования (окраска на фибрин, липиды, мукополисахариды и т.д.).

При изучении препаратов обращают внимание на наличие изменений в системе микроциркуляции: признаки перераспределения крови с депонированием ее в паренхиматозных органах; явления стаза и плазмостаза; агрегацию эритроцитов в капиллярах и тромбообразование; повышение проницаемости стенок сосудов с развитием геморрагий, плазморрагии, мукоидной, фибриноидной дезорганизации, фибриноидного некроза.

Кроме микроциркуляторных нарушений выявляют также наличие дистрофических и воспалительных изменений во внутренних органах.

При изучении легких отмечают состояние бронхиальной системы (бронхоспазм, отек стенок, десквамация слизистой оболочки, наличие кровоизлияний и воспалительной реакции), обращают внимание на признаки эмфиземы, циркуляторных и воспалительных изменений. В сердце изучают межуточную ткань миокарда (отек стромы, мукоидное набухание, воспалительная инфильтрация, продуктивная реакция), саркоплазму (дискоидный распад миофибрилл, миоцитолиз), эндокард, перикард (отек, клеточная реакция). В печени и почках определяют вид и выраженность дистрофических и воспалительных изменений. Описывают характер изменений в тимусе, селезенке, лимфатических узлах разной локализации, костном мозге. В ЦНС исследуют состояние микроциркуляторного русла, а также нейронов в коре, подкорковых образованиях, гипоталамусе, стволе и спинном мозге.

Приложение 2

ИНДИВИДУАЛЬНАЯ КАРТА ПРИВИТОГО

Ф.И.О. № серии Возраст Способ введения (при необходимости). Прочие данные (при необходимости). Проведение лабораторно-инструментального обследования (да, нет)
Наименование препарата Прививочная доза
Дата 1-й прививки Дата 2-й прививки

Учитываемые показатели	Перед 1-й прививкой	Дни после 1-й прививки 1 2 3 4 5... 1 ч 6 ч	Перед 2-й прививкой	Дни после 2-й прививки 1 2 3 4 5... 1 ч 6 ч
Температура в °С				
Частота пульса				
АД				
Недомогание				
Головная боль				
Нарушение сна				
Нарушение аппетита				
Тошнота				
Рвота				
Боли в животе				
Расстройство стула				
Болезненность в области печени				
Увеличение печени				
Сыпь				
Геморрагии				
Инъекция конъюнктив				
Иктеричность склер				
Вегетативные стигмы кожи: покраснение побледнение потливость				
Прочие жалобы (симптомы)				
Местная реакция: Гиперемия Отек Инфильтрат Болезненность Лимфаденит Лимфангоит Прочие жалобы				

Примечание:

- размеры гиперемии, отека, инфильтрата приводят в см по наибольшему диаметру;
- в случае необходимости на обороте карты приводят описание жалоб (симптомов). К карте прилагают: результаты лабораторных и инструментальных исследований; выписку из амбулаторной карты (истории болезни) с указанием назначенного лечения (при обращении за медицинской помощью);
- для детей до 2 лет включительно вместо симптомов «недомогание, головная боль, тошнота, боли в животе, болезненность в обл. печени» включают «беспокойство, вялость, сонливость, срыгивание (количество раз в сутки)».

Приложение 3

ПОСТРОЕНИЕ И СОДЕРЖАНИЕ ПРОГРАММЫ ГОСУДАРСТВЕННЫХ ПОЛЕВЫХ ИСПЫТАНИЙ

1. Титульный лист программы

Оформляется в соответствии с п. 6.1.1, за исключением ее наименования, например:

«Программа Государственных испытаний вакцины бруцеллезной химической сухой».

2. Программа Государственных испытаний

Должна содержать следующие разделы:

- введение;
- цель и задачи;
- характеристика испытуемого препарата и препарата сравнения;
- характеристика контингентов;
- методические принципы проведения строго контролируемых испытаний;
- изучение реактогенности и безопасности препарата;
- изучение иммунологической эффективности;
- изучение профилактической эффективности;
- учреждения, ответственные за выполнение отдельных фрагментов испытания;
- приложение.

3. Содержание разделов программы

3.1. Во введении излагаются проблемы, связанные с эпидемиологией и профилактикой инфекции, применительно к которой изучается препарат. Обосновывается актуальность изучения вновь разработанного препарата и потенциальная возможность его использования в практике здравоохранения. Состояние по разработке и применению аналогичных препаратов за рубежом.

Необходима ссылка на решение Комитета по МИБП о разрешении проведения Государственных испытаний, излагаются результаты ограниченных клинических испытаний препарата.

3.2. Характеристика испытуемого препарата и препарата сравнения.

В этом разделе программы дается краткое описание препарата, его основное назначение, возрастные дозировки и схемы их введения. Необходимо изложить данные о фасовке препарата, сроках и условиях его хранения, сроки годности. Аналогичная информация должна быть представлена по препарату сравнения или плацебо. Серии испытуемого препарата, препарата сравнения и плацебо должны быть контролированы в ГИСК им. Л.А. Тарасевича.

3.3. Учреждения, ответственные за выполнение отдельных фрагментов полевых испытаний.

Этот раздел программы составляется в соответствии с п. 6.1.7 настоящего документа.

4. Оформление результатов полевых испытаний

Результаты полевых испытаний оформляются в виде отчета, который рассматривается Комитетом МИБП и представляется на утверждение председателя Комитета МИБП.

Отчет должен содержать следующие разделы:

- введение;
- материалы и методы;
- оценка реактогенности и безопасности;
- оценка иммунологической эффективности;
- оценка профилактической эффективности;
- заключение по результатам испытания.

В разделе «Заключение по результатам испытания» необходимо указать целесообразность (или нецелесообразность) внедрения препарата (регистрации) в практику здравоохранения РФ, а также указать данные или материалы, которые необходимо внести в «Инструкцию по применению препарата».

Приложение 4

1. Методики испытания аллергенов и бакпрепаратов

1.1. Методики изучения сенсибилизирующих свойств.

Определение немедленной аллергии связано с использованием методов, выявляющих реагиноподобные антитела. Информация может быть получена путем воспроизведения одной из общепринятых схем анафилаксии у морских свинок. Для сенсибилизации используют модели с учетом путей и схем введения аллергенов в организм больного. Поскольку аллергены, предназначенные для специфической иммунотерапии, вводят многократно, для сенсибилизации можно рекомендовать следующую схему: препарат вводят трехкратно с интервалом в 1 сут. подкожно. Разрешающую инъекцию проводят внутривенно или внутрисердечно спустя 2 - 3 нед. после последней инъекции.

Для регистрации гиперчувствительности замедленного типа используют феномен изменения массы конечностей белых мышей. Животных сенсибилизируют путем трехкратного с интервалом в 3 сут. внутрибрюшинного введения аллергена в дозах, рекомендуемых для применения в практике (но не более 0,5 мл) или путем однократного введения в подушечки лап концентрированной формы аллергена. Спустя 7 сут. после заключительной инъекции делают разрешающее введение аллергена в объеме 0,05 мл в подушечку одной из задних лап, а во вторую - 0,05 мл разводящей жидкости для аллергенов. Уровень специфической воспалительной реакции оценивают по разнице в массе конечностей.

1.2. Оценка специфической активности.

Для сенсибилизации морских свинок можно использовать одну из общепринятых схем: однократное введение в подушечки лап концентрированной формы аллергена, содержание белка в которой многократно превышает таковое в препаратах, рекомендуемых для практического применения, в смеси с равным объемом полного адъюванта Фрейнда. Постановку кожных проб осуществляют спустя 14 - 21 сут. после сенсибилизирующей инъекции.

Метод активной анафилаксии с последующей десенсибилизацией: морских свинок сенсибилизируют по описанной выше схеме для диагностических аллергенов. Спустя 14 - 21 сут. проводят десенсибилизацию путем повторных подкожных введений возрастающих доз одноименного аллергена (25 - 100% к сенсибилизирующей дозе). Кратность и интервалы введения определяют экспериментальным путем. Для разрешающей инъекции используют внутривенное введение аллергена в дозе, равной последней десенсибилизирующей дозе. Десенсибилизированные животные слабо реагируют на разрешающее введение аллергена. Сенсибилизированные морские свинки, не подвергшиеся десенсибилизации (контроль), реагируют на разрешающее введение аллергена развитием анафилактического шока.

2. Методики испытания бактериофагов

2.1. Определение терапевтической эффективности бактериофага при лечении экспериментальной бактериальной инфекции.

Группу животных (мышей массой 18 - 20 г) заражают внутрибрюшинно соответствующими бактериями от 3 - 100 $ЛД_{50}$.

Фаготерапию проводят ежедневно внутрибрюшинно с указанием содержания фаговых частиц в вводимой дозе. В качестве препарата сравнения следует использовать питательную среду, на которой готовился изучаемый препарат бактериофага. Наблюдение в течение 30 дней с регистрацией живых и павших животных в опыте и контроле.

Критериями оценки эффективности фаготерапии экспериментальной бактериальной инфекции является:

- выживаемость зараженных животных;
- обсемененность внутренних органов зараженных животных, определяемых методом отпечатков.

Приложение 5

Наименование и адрес учреждения, где проводятся испытания

ПРОТОКОЛ
испытания безопасности (безвредности) и специфической активности аллергена _____ серий № к № ОБТК _____

№ п/п	Ф.И.О.	Возраст	Диагноз	Дом. адрес	Способ введения	Реакция кожи								
						На аллерген			На тест-контр. жидкость			На гистамин		
						Доза, мл	Время учета реакции	Характер местн. реакц.	Доза, мл	Время учета реакции	Характер местн. реакц.	Доза, мл	Время учета реакции	Характер местн. реакц.
1.	Результаты постановки кожных проб у лиц, сенсибилизированных к аллергену													
2.														
3.														
4.														
и т.д.														
1.	Результаты постановки кожных проб у лиц, не сенсибилизированных к аллергену													
2.														
3.														
4.														
и т.д.														

Врач-аллерголог (подпись)

М.П. Заверяю

ДНЕВНИК СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

Ф.И.О. больного
Пол. Возраст
Диагноз
Наименование аллергена (серия №, к № ОБТК)
Дата начала лечения. Способ введения аллергена

Доза аллергена	Клинич. показатели	Дни лечения																													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
С	Кашель																														
И	Мокрота																														
М	Пр. удушья																														
П	Заложенность носа, риноррея																														
Т	Чихание																														
О	Головная боль																														
М	Дополн. сведения о состоянии																														
Ы	больного																														
М	Интал																														
Е	Антигистаминные																														
Д	Бронхолитические																														
И	Другие																														
К																															
А																															
М	Условные обозначения:																														
Е	+++ очень сильно выраженный симптом																														
Н	++ умеренно выраженный симптом																														
Т	+ слабо выраженный симптом																														
Ы	- нет симптомов																														

Подпись врача-аллерголога

Приложение 7

Схема заключения по испытанию безопасности (безвредности) и специфической активности аллергена

Серия № _____, к № ОБТК _____
Срок годности _____
Испытания аллергена _____
были проведены на базе _____
в период с _____ по _____
Обследованы больные со следующими формами заболеваний _____

В том числе: А) Контрольная группа ____ человек в возрасте от _____ до ____; Б) Группа больных ____ человек в возрасте от ___ до _____
Аллерген использовали методом _____ (прик, скарификационный, внутрикожный, ингаляционный, интраназальный, конъюнктивальный)
Диагностическая доза для каждого из тестов (_____/мо; объем) (для детей указать дозы отдельно по возрастам)
Сроки учета реакций ___ (немедленные, отсроченные, замедленные)
Число положительных реакций в контрольной группе _____ (%), в том числе гиперергических реакций _____ (%)
Число положительных реакций в группе больных _____ (%), в том числе гиперергических _____
Наличие, характер, выраженность общих реакций:
а) в контрольной группе _____; б) в группе больных _____
Замечания об особенностях реакций на аллерген (не перечисленных выше) _____
Гиперергическими следует считать кожные реакции, размеры которых больше максимальных, предусмотренных наставлением по применению.

Схема предложения

Аллерген _____ апробированный на больных _____ (с учетом результатов обследования контрольной группы) оказался пригодным для целей диагностики.
Испытание аллергена проводилось в соответствии с НТД.
В случае негативных результатов испытаний дается мотивированный отзыв.
Отзыв подписывается руководителем учреждения, на базе которого проводилось испытание препарата. Подпись заверяется в установленном порядке, скрепляется печатью.
Отзыв представляется в Комитет МИБП в двух экземплярах.

Приложение 8

Схема заключения по испытанию лечебной эффективности аллергена _____

Серия №_____ к N ОБТК _____

Срок годности _____

Испытание аллергена проводилось на базе _____

в период с _____ до _____

Курс специфической иммунотерапии проведен у _____ больных со следующими нозологическими формами заболевания _____

Продолжительность курса лечения составила:

До 1 месяца _____ больных. От 1 до 2-х месяцев _____ больных.

От 2-х до 4 месяцев _____ больных. Более 5 месяцев _____ больных.

Зарегистрированные побочные реакции, связанные с проведением специфической иммунотерапии:

- местные _____ больных (%)

- органные и общие (нарушения гемодинамики, температурная реакция и др.) _____ больных (%)

Отклонения от нормы по данным лабораторных исследований (биохимических, иммунологических, клинических и др.) _____ больных (%).

Эффективность курса специфической иммунотерапии установлена по истечении _____ (срок).

Критерии оценки по клиническим показателям результатов иммунотерапии: «Отличный» (4 балла) - после лечения исчезли все проявления заболевания _____ больных (%).

«Хороший» (3 балла) - проявления болезни стали очень редкими и легкими, выраженных приступов нет _____ больных (%).

«Удовлетворительный» (2 балла) - симптомы заболевания остались, но стали легче и реже _____ больных (%).

«Без эффекта» (1 балл) - улучшения не наступило _____ больных (%).

Проведение специфической иммунотерапии аллергенов _____ у больных (нозологические формы заболеваний) показало, что испытуемый препарат не вызывает побочных реакций и обусловил терапевтический эффект у _____ больных (%).

В случае негативных результатов испытаний дается мотивированный отзыв.

Отзыв подписывается руководителем учреждения, проводившего испытание. Подпись заверяется в установленном порядке, скрепляется печатью. Отзыв представляется в Комитет МИБП в двух экземплярах.

Приложение 9

МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ВАКЦИН

Развитие специфического иммунного ответа при вакцинации сопровождается неспецифическими изменениями иммунной системы, которые могут привести к ослаблению устойчивости организма к другим инфекционным агентам, иммунодефицитным состояниям и аллергии. В связи с этим общая схема испытания новых вакцин предусматривает изучение иммунологической безопасности этих препаратов. Изучение проводится на доклиническом и клиническом уровнях.

Лабораторно-экспериментальное (доклиническое) изучение включает оценку состояния иммунной системы экспериментальных животных после введения им испытуемой вакцины (исследование селезенки, численности и функции иммунокомпетентных клеток); исследование резистентности к возбудителям других инфекций; изучение аллергизирующего действия вакцины и аутоиммунных реакций на вакцинацию.

Клиническое изучение иммунологической безопасности осуществляется в два этапа. В рамках первого этапа на ограниченной группе людей проводятся клинико-лабораторные исследования, которые включают: оценку иммунного статуса, выявление изменений иммунологической реактивности на неродственные инфекционные агенты, определение аллергических и аутоиммунных реакций. На втором этапе клинических испытаний в контролируемых полевых условиях у вакцинированных выявляются иммунозависимые заболевания, развившиеся в результате неспецифических изменений иммунной системы после вакцинации.

1. Методы доклинического испытания иммунологической безопасности вакцин

1.1. Определение фагоцитарной активности макрофагов.

Клетки перитонеального экссудата (КПЭ) выделяют асептически от 3 - 5 мышей опытной и контрольной групп и помещают в среду 199, содержащую 5 МЕ гепарина в 1 мл, в пробирки, стоящие на льду. Не используют экссудаты, содержащие эритроциты. После осаждения (150 g, 10 мин.) клетки ресуспендируют в среде 199 с 10% сыворотки крупного рогатого скота с антибиотиками (100 ед./мл). Концентрацию клеток доводят до 1,0 - 2,0 х 106 кл./мл и суспензию разливают по 2 мл в чашки Петри диаметром 40 мм. Чашки помещают в термостат при температуре (37 +/- 2) °С с содержанием 5% СО Через 60 мин. смывают неприлипшие клетки раствором Хенкса, добавляют 2 мл свежей среды и оставляют на 18 - 24 ч в термостате с 5 - 7% CO_2 при температуре (37 +/- 2) °С.

Клетки для исследования фагоцитоза можно получать также на половинках покровных стекол, помещенных в пробирки с 1,5 - 2 мл КПЭ.

Объектом фагоцитоза могут служить эритроциты барана, дрожжеподобные грибы Candida albicans или лабораторный штамм Staphylococcus (N 9198) или любые другие микробные клетки.

Эритроциты барана (ЭБ)[1] трижды отмывают 0,9%-ным раствором хлорида натрия, осаждая на центрифуге при 800 g в течение 5 мин. Готовят 0,5%-ную взвесь ЭБ на среде 199.

Суточные культуры живых или убитых прогреванием при температуре (90 +/- 2) °С в течение 45 - 60 мин. микроорганизмов отмывают путем центрифугирования не менее 3-х раз 0,9%-ным раствором хлорида натрия, ресуспендируют в нем и определяют концентрацию суспензии по стандарту оптической мутности. Взвесь разводят средой 199 до концентрации, соответствующей предварительно установленному соотношению (1,0 - 2,0 ^{9} кл./мл).

В чашки Петри, содержащие КПЭ, наливают 1 мл свежей среды и вносят по 1 мл взвеси ЭБ или соответствующих микроорганизмов. Через 30 - 60 мин. чашки ополаскивают холодным раствором Хенкса, подсушивают и фиксируют 10 мин. метанолом. Окрашивают азур-эозином по Романовскому - Гимза.

Учет результатов. Просматривают не менее 200 клеток, подсчитывая фагоцитирующие клетки и количество содержащихся в них ЭБ или микробов.

Результаты выражают процентом фагоцитирующих клеток (ПФ) и фагоцитарным числом (ФЧ), которое определяется количеством частиц на один фагоцит.

1.2. Исследование селезенки.

После забоя животных во время вскрытия проводят макроскопическое и микроскопическое изучение селезенки, оценивают степень ее кровенаполнения и отека, измеряет величину и массу органа.

1.3. Исследование клеточного состава и пролиферативной активности клеток селезенки.

Из селезенки готовят взвесь клеток, 0,2 мл такой взвеси подвергают центрифугированию, осадок разводят в 0,2 мл цельной декомплементированной сыворотки крови, ресуспендируют, подвергают повторному центрифугированию и из осадков готовят мазок на предметном стекле, аналогично мазку крови. Далее мазок высушивают, фиксируют 10 - 15 мин. в метаноле и окрашивают по методу Романовского - Гимза.

Морфологическое исследование проводят при увеличении 100 х 10 (масляная иммерсия), подсчитывая в 2000 клеток % клеток разных рядов кроветворения и среди них % делящихся клеток (митозов).

Кроме того, в селезенке оценивают состояние белой и красной пульпы: выраженность лимфоидных фолликулов, их величину, активность реактивных центров, а также Т- и В-зависимых зон, развитие гиперплазии последней, степень миэлоза пульпы селезенки, определяют характер восстановительных процессов.

1.4. Получение взвеси клеток селезенки.

Мышей забивают с помощью хлороформа. Извлекают селезенку,

1 Кровь барана, взятую в консервант крови, можно хранить до 10 сек. при 6 - 8 °С.

взвешивают ее на торсионных весах, осторожным раздавливанием в стеклянном гомогенизаторе готовят взвесь клеток из расчета 1 мл среды 199 на 50 мг ткани селезенки. Полученную суспензию фильтруют через 2 слоя капроновой сетки.

0,5 мл взвеси спленоцитов отмывают 5 мл среды 199 путем центрифугирования в течение 10 мин. при 150 g, надосадок удаляют, а осадок разводят средой 199 с 10% сыворотки крови крупного рогатого скота и антибиотиками (100 ед./мл) до исходной концентрации. Необходимо подчеркнуть, что клетки селезенки каждой мыши следует использовать индивидуально, не создавая клеточных цулов. Для сравнения результатов следует использовать среднегрупповые величины.

Примечание. Для пересчета G на число оборотов, соответствующее данной центробежной силе, следует пользоваться формулой:

$$N = \sqrt{\frac{G \times 10^5}{(1.1 - R)}},$$

где:

N - число оборотов в мин.;

R - радиус от центра оси центрифуги до границы соприкосновения смеси фиколл-верографина с клетками, см;

G - центробежная сила.

1.5. Определение количества Т-клеток (цитотоксический тест).

Принцип метода заключается в том, что антитела, направленные против различных лимфоцитарных антигенов, фиксируются специфически на клетках, содержащих эти антигены, и в присутствии комплемента нарушают целость клеточной мембраны. Образовавшиеся отверстия в мембране лимфоцитов позволяют прибавленному к взвеси красителю (трипановый синий) проникнуть внутрь клетки и окрашивать ее. Жизнеспособные с интактной мембраной клетки этим красителем не окрашиваются.

Коммерческую поликлональную сыворотку против Т-лимфоцитов мыши разводят средой 199 до рабочей концентрации, указанной на этикетке. В центрифужной пробирке или в лунке панели смешивают 60 мкл сыворотки, 20 мкл исследуемой взвеси лимфоцитов (концентрация 10^7кл./мл) и 20 мкл комплемента кролика в разведении 1:3. В контрольные пробирки или лунки вносят 20 мкл взвеси лимфоцитов (концентрация 10^7 кл./мл), 20 мкл комплемента и 60 мкл среды 199.

Смеси перемешивают и инкубируют в термостате при температуре (37+/- 2) °С 25 - 30 мин. В каждую пробирку или в лунку добавляют по 100 мкл раствора трипанового синего[1]. Через 30 - 60 сек. помещают взвесь из лунки в счетную камеру.

Учет результатов. Определяют число погибших клеток, вычисляют их

1 Приготовление раствора трипанового синего. Для приготовления 0,5%-ного раствора 500 мг красителя растворяют в 100 мл горячего (80 - 90 °С) 0,9%-ного раствора хлорида натрия. Раствор перемешивают 10 мин. на магнитной мешалке и фильтруют через фильтровальную бумагу. Готовый раствор хранят в плотно закрытом сосуде при температуре 10 - 20 °С. Непосредственно перед употреблением раствор красителя фильтруют через тонкий слой ваты, чтобы избавиться от осадка.

процент от общего количества клеток в препарате, подсчитывают цитотоксический индекс (ЦТИ) по формуле:

$$\text{ЦТИ} = 100 \times \frac{\%\text{ убитых клеток в опыте} - \%\text{ убитых клеток в контроле}}{100 - \%\text{ убитых клеток в контроле}}.$$

Оценка результатов. ЦТИ указывает, какой процент клеток среди исследуемой взвеси несет соответствующий антигенный маркер и, следовательно, принадлежит к данной популяции. Так, например, если при исследовании клеток селезенки ЦТИ составил 32%, можно заключить, что 32% этих клеток составляют Т-лимфоциты.

1.6. Определение количества В-лимфоцитов (цитотоксический тест).

Общее количество всех В-клеток определяется в цитотоксическом тесте с коммерческой поликлональной специфической сывороткой против В-лимфоцитов мыши. Постановка теста аналогична постановке цитотоксического теста с анти-Т-сывороткой.

1.7. Определение гиперчувствительности немедленного типа: феномен Овери у морских свинок.

Феномен Овери - кожная анафилаксия, при которой происходит быстрое повышение проницаемости капилляров кожи под влиянием реакции антиген - антитело.

Опыты проводят на белобоких морских свинках массой 200 - 300 г.

Исследуемую вакцину вводят по следующей схеме. Сенсибилизирующие инъекции вакцины: первая подкожно, две последующие с интервалом в 1 сут. - внутримышечно в область бедра. Доза препарата, вводимого на одну инъекцию, равна дозе, предлагаемой для введения человеку. Разрешающую инъекцию проводят внутрикожно на 18 - 25 день после первой сенсибилизирующей инъекции. Для разрешающей инъекции вводят препарат в дозе, равной или превышающей в 5 - 10 раз однократную сенсибилизирующую дозу.

Контролем служат несенсибилизированные животные, получившие только разрешающую инъекцию вакцины.

Через 5 - 7 мин. опытной и контрольной группе внутрисердечно или внутривенно вводят 0,5 - 1,0 мл 1%-ного водного раствора голубого Эванса.

Учет результатов. Через 20 мин. в опытной группе, в случае развития анафилаксии от препарата, на месте введения разрешающей его дозы появляется синее пятно. У животных контрольной группы пятно не должно появляться.

2. Методы для 1-го этапа клинического изучения иммунологической безопасности вакцин

2.1. Методы получения материалов для исследования иммунного статуса.

2.1.1. Взятие крови.

Кровь у обследуемого берут в асептических условиях иглой из локтевой вены в две стерильные бактериологические пробирки:

10,0 мл крови - в пробирку с гепарином[1] <*> (25 ед./мл крови) и 5,0 мл крови - в сухую пробирку для получения сыворотки. Кровь с гепарином хранят при 6 - 8 °С не более 4 ч, длительность хранения должна быть стандартной для всего цикла исследований.

2.1.2. Выделение фракции лимфоцитов для изучения их популяционного состава.

В бактериологические пробирки разливают забуференный 0,9%-ный раствор хлорида натрия pH 7,2 - 7,3[2] (или раствор Хенкса, или среду 199) но 2,0 мл, добавляют равный объем гепаринизированной крови. Разведенную таким образом вдвое кровь отбирают пастеровской пипеткой и наслаивают на смесь фиколл-верографина[3] (1,5 мл). Соотношение объема смеси к объему разведенной крови может составлять 1:2 - 1:5. Между кровью и фиколл-верографином определяется четкая граница, одного, уже в первые минуты после наслаивания, эритроциты крупными хлопьями начинают опускаться на дно емкости. Пробирки с кровью и градиентом плотности центрифугируют при 400 g 30 - 40 мин.

В результате центрифугирования образуются фракции: 1-я сверху - слегка опалесцирующая - плазма крови и буферный раствор; 2-я - белый диск, содержащий мононуклеарные клетки крови; 3-я - прозрачная - градиент фиколл-верографина; 4-я - осадок эритроцитов и гранулоцитов.

Слой мононуклеаров пастеровской пипеткой отбирают в центрифужную пробирку. Мононуклеарные клетки три раза отмывают тем же буферным раствором путем центрифугирования при 1000 об./мин. в течение 5 мин. Осадок отмытых лимфоцитов суспендируют в 0,5 мл буферного раствора. Жизнеспособность клеток определяют окрашиванием трипановым синим (см. п. 1.5). Взвесь лимфоцитов готовят на среде 199, концентрация клеток 2×10^6 кл./мл. Выход лимфоцитов из 1,0 мл цельной крови составляет $1 - 1{,}5 \times 10^6$ клеток. Исследования проводят в тот же день.

2.1.3. Получение сыворотки крови.

Кровь, помещенную в пробирки (п. 2.1.1), инкубируют в термостате при (37 +/- 2) °С 1 ч. После обведения сгустка пастеровской пипеткой пробирки помещают в холодильник (6 - 8 °С) на 18 ч. Затем образовавшуюся сыворотку переносят в стерильные пробирки и хранят до исследования в холодильнике при температуре минус (20 +/- 2) °С.

1 Приготовление гепарина. Сухой гепарин растворяют в дистиллированной воде в объеме, указанном на этикетке, раствор стерилизуют фильтрованием через фильтры Миллипор и хранят при 6 - 8 °С в течение одного цикла исследований. Из основного раствора гепарина готовят его рабочий раствор на среде 199 с таким расчетом, чтобы в 0,5 мл содержалось 250 ед. активности.

2 Приготовление 0,9%-ного раствора хлорида натрия буферного (pH 7,2). К 7,0 хлорида натрия добавляют 2,0 г двузамещенного фосфорнокислого натрия и 0,3 г однозамещенного фосфорнокислого калия, доводят до 1000 мл ТДВ, pH 7,2.

3 Приготовление смеси фиколл-верографина (плотность 1,077). Смесь готовят на тридистиллированной автоклавированной воде (ТДВ): а) Из 76%-ного раствора верографина готовит 33,9%-ный раствор (плотность 1,200); к 33,9 мл 76%-ного верографина добавляют 42,1 мл ГДВ; б) 9%-ный раствор фиколла (плотность 1,025): к 10,8 г фиколла добавляют 109,2 мл ТДВ (подогретой до 30 - 40 °С); в) соединяют 7 частей раствора верографина и 16 частей раствора фиколла: к 52,5 мл верографина добавляют 120 мл фиколла. Плотность смеси измеряют ареометром, плотность смеси должна быть 1,077. Смесь хранят в темном флаконе в холодильнике при 6 - 8 °С две недели.

2.2. Методы выявления аллергизирующего действия вакцин, развития аутоиммунных реакций.

2.2.1. Определение общего иммуноглобулина Е человека (Ig-E) в сыворотке крови (ИФА).

Используют иммуноферментные Ig-E-тест-системы. Постановку реакции осуществляют согласно инструкции к набору, в которой указаны методы приготовления всех необходимых растворов. Оценку результатов проводят на спектрофотометре типа Muetiscan при соответствующей длине волны.

У взрослых нормальное содержание Ig-E в пределах 100 - 130 кЕ/л[1]. Содержание Ig-E у вакцинированных выше 150 кЕ/л может свидетельствовать об аллергизирующем действии вакцины.

Определение аутоантител на тканевые аутоантигены (ИФА).

Для определения в сыворотках крови привитых аутоантител к нативной и денатурированной ДНК используют коммерческие тест-системы. Постановку реакции осуществляют согласно инструкции к набору. При работе используют спектрофотометр типа Multiscan.

Учет результатов. Вычисляют индекс (И) иммуноферментной реакции. Он равен частному от деления оптической плотности (ОП) положительной сыворотки на ОП отрицательной сыворотки и частному от деления ОП анализируемой сыворотки на ОП отрицательной сыворотки.

Оценка результатов. Если частное от деления ОП анализируемой сыворотки на ОП отрицательной сыворотки > 1,1 (при анализе антител к нативной ДНК) и > 1,3 (при анализе антител к денатурированной ДНК), то иммуноферментную реакцию считают положительной. При наличии И >= 2 анализ свидетельствует о появлении риска развития аутоиммунных реакций.

2.3. Изучение иммунного статуса.

2.3.1. Определение количества лейкоцитов в крови.

Для определения количества лейкоцитов 0,1 мл крови вносят в пробирку с 1,9 мл 3%-ного раствора уксусной кислоты. Затем каплю содержимого пробирки помещают в камеру Горяева. Под световым микроскопом подсчитывают количество ядросодержащих клеток в 100 квадратах (или 25 «окнах»). Исходя из полученного числа клеток, вычисляют количество лейкоцитов в 1 мл крови.

2.3.2. Определение лейкоцитарной формулы.

Готовят мазок крови на предметном стекле, высушивают его на воздухе. Высушенный мазок фиксируют в этиловом (10 мин.) или метиловом (4 мин.) спирте. Фиксированный мазок красят азур-эозином по Романовскому - Гимза. Мазки просматривают в световом микроскопе под иммерсией. На каждом стекле просчитывают не менее 200 клеток. Исходя из полученных результатов вычисляют процентное содержание нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов и других клеток белой крови. Затем подсчитывают их абсолютное количество в 1 л крови.

2.3.3. Определение фагоцитарной активности полиморфноядерных лейкоцитов.

1 кЕ/л (система СИ) = Е/мл.

В силиконированной[1] стерильной пробирке смешивают 0,2 мл гепаринизированной крови (25 ед./мл крови) и 0,1 мл взвеси культуры микроорганизма в концентрации 1 - 2 × 10^9 кл./мл. Смесь клеток инкубируют в течение 1 ч при температуре (37 +/- 2) °С и затем готовят мазки на предметном стекле. Приготовленные таким образом препараты высушивают на воздухе при температуре 18 - 20 °С, фиксируют этиловым спиртом или метанолом в течение (10 +/- 1) мин. и окрашивают 0,5%-ным раствором метиленового синего или раствором метилового зеленого пиронина[2] - в течение 60 мин. После окрашивания мазки ополаскивают водой, промокают фильтровальной бумагой и высушивают на воздухе при температуре (18 - 20) °С. Работу по окрашиванию препарата проводят в лабораторном химическом шкафу с вытяжкой.

Учет результатов. В мазке под микроскопом с масляной иммерсией сосчитывают число клеток с фагоцитированным материалом на 200 - 300 полиморфноядерных лейкоцитов и количество поглощенных клеток в каждом лейкоците. Оценку фагоцитарной активности полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови проводят по следующим показателям процент фагоцитоза (ПФ) - относительное количество лейкоцитов крови, обладающих фагоцитарной активностью, выраженной в процентах; фагоцитарное число (ФЧ) - количество поглощенных клеток из расчета на один лейкоцит; абсолютный фагоцитарный показатель (АФП) - суммарный показатель активности полиморфноядерных лейкоцитов крови, рассчитывают по формуле:

АФП = количество фагоцитирующих клеток в 1 мкл × ФЧ.

Подсчитывают количество полиморфноядерных лейкоцитов в 1 мкл крови, затем определяют количество фагоцитирующих лейкоцитов в 1 мкл крови.

Пример: общее количество лейкоцитов 1 мкл крови - 5000 с содержанием полиморфноядерных лейкоцитов - 60%

ПФ - 80%

ФЧ - 5

а) общее число лейкоцитов 5000 - 100% полиморфноядерных лейкоцитов X - 60% полиморфноядерных лейкоцитов = 3000

б) полиморфноядерных лейкоцитов 3000 - 100% фагоцитирующих полиморфноядерных лейкоцитов X - 80%

1 Силиконирование посуды. Чистые пробирки ополаскивают силиконом, помещают в фильтровальную бумагу вверх дном для того, чтобы стекли остатки силикона из пробирок, выдерживают в таких условиях в течение 1 ч, затем помещают их в сушильный шкаф на 1,5 ч при температуре 120 - 140 °С, затем промывают пробирки дистиллированной водой и вновь выдерживают в сушильном шкафу в указанном режиме. Работу по силиконированию посуды проводят в лабораторном химическом шкафу с вытяжкой.

2 Приготовление краски метиловый зеленый пиронин. Предварительно готовят растворы «а» и «б», перед использованием смешивают указанные растворы в соотношении 1:1. Раствор «а» состоит из смеси следующего состава: 17,5 мл 5 %-ного водного раствора пиронина, 10 мл 2%-ного раствора метилового зеленого (метиловый зеленый должен быть предварительно промыт хлороформом и высушен на воздухе), 250 мл дистиллированной воды. Раствор «б» - ацетатный буферный раствор в концентрации 0,2 моль/куб. м, pH 4,8.

Приготовление ацетатного буферного раствора 0,2 М pH 4,8. К 120 мл раствора ацетата натрия в концентрации 0,1 моль/куб. м (16,3 г ацетата натрия на 1 л дистиллированной воды) доливают около 80 мл раствора уксусной кислоты той же концентрации (4,61 мл ледяной уксусной кислоты на 1 л дистиллированной воды), доводят pH раствора до 4,8.

фагоцитирующих полиморфноядерных лейкоцитов = 2400

в) АФП = количество фагоцитирующих клеток в 1 мкл крови х ФЧ АФП = 2400 × 5 = 1200

Приготовление реактивов (см. сноски <[1]>, <[2]>).

2.3.4. Определение численности Т-клеток, зрелых Т-клеток, Т-супрессоров, Т-хелперов, В-клеток, киллеров методом непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами.

Для определения субпопуляций Т-клеток у человека можно использовать метод розеткообразования и метод иммунофлуоресценции с моноклональными антителами. Последний является более точным.

Принцип метода основан на том, что антилимфоцитарные мышиные моноклональные антитела присоединяются к соответствующим антигенным маркерам поверхности лимфоцита, а участки их фиксации выявляются при помощи антител к Ig мыши, меченых ФИТЦ. Количество клеток, на поверхности которых обнаруживается свечение, характеризует численность субпопуляций, против маркеров которой были получены соответствующие моноклональные антитела (МкА). Постановку реакции осуществляют согласно инструкции к набору моноклональных антител.

3. Дополнительные исследования

На стадиях доклинических и клинических испытаний кроме описанных выше методов рекомендуется проводить дополнительные исследования состояния иммунной системы, которые не являются обязательными и выполняются в зависимости от результатов иммунологических исследований первого уровня. Дополнительные исследования включают: реакцию спонтанной бласттрансформации лимфоцитов, реакцию бласттрансформации лимфоцитов под влиянием Т- и В-митогенов (ФГА, Кон А, ЛПС), определение функциональной активности регуляторных Т-лимфоцитов (Т-хелперов, Т-супрессоров), реакцию торможения миграции макрофагов и лейкоцитов, пассивную кожную анафилаксию в опытах на морских свинках и мышах, индукцию замедленной гиперчувствительности и экспериментального аллергического энцефаломиелита на животных, определение уровня различных цитокинов, оценку клеточного иммунитета у людей по кожным реакциям замедленной гиперчувствительности на РРД, кандидин, трихофитин и пр. Для проведения дополнительных исследований можно пользоваться методиками, описанными в различных методических руководствах по иммунологии.

Приложение 10

ВРЕМЕННАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

	ФС 42-28ВС- Вводится впервые
ОКП	Срок введения установлен с «__» _____ 20__ г. Срок действия до «__» _____ 20__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Приложение 11

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

	ФС 42- Вводится впервые
ОКП	Срок введения установлен с «__» _____ 20__ г. Срок действия до «__» _____ 20__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Приложение 12

ОФОРМЛЕНИЕ ПОСЛЕДНЕГО ЛИСТА ФС
(пример)

Текст последних разделов фармстатьи
Директор Пермского НИИВС _____ Фамилия, инициалы
_____ 20__ г.

Основные исполнители:
Зав. лабораторией _____ Ф.И.О.
(наименование лаборатории) _____ 20__ г.

Ст. научный сотрудник _____ Ф.И.О.
(наименование лаборатории) _____ 20__ г.

Директор НИИЭМ
им. Н.Ф. Гамалеи АМН РФ _____ Ф.И.О.
_____ 20__ г.

Основные исполнители:

Зав. лабораторией _____ Ф.И.О.
(наименование лаборатории) _____ 20__ г.

Ст. научный сотрудник _____ Ф.И.О.
(наименование лаборатории) _____ 20__ г.

Директор предприятия,
представляющего образцы
серии для контроля _____ Ф.И.О.
_____ 20__ г.

Главный технолог _____ Ф.И.О.
_____ 20__ г.

Начальник цеха _____ Ф.И.О.
_____ 20__ г.

Заведующий ОБТК _____ Ф.И.О.
_____ 20__ г.

Руководитель
НОК МИБП - директор ГИСК
им. Л.А. Тарасевича _____ Ф.И.О.
_____ 20__ г.

Руководитель лаборатории _____ Ф.И.О.
стандартизации НТД _____ 20__ г.

Руководитель Фармакопейного
государственного комитета _____ Ф.И.О.
_____ 20__ г.

Главный ученый секретарь
Фармакопейного государственного
комитета _____ Ф.И.О.
_____ 20__ г.

Приложение 13

ФС 42-

_____

(наименование препарата на русском языке)

ИЗМЕНЕНИЕ №

Срок введения изменения с _____ 20__ г.

Старая редакция	Новая редакция

Приложение 14

СОДЕРЖАНИЕ ПОЯСНИТЕЛЬНОЙ ЗАПИСКИ К ВФС И ФС НА ПРЕПАРАТЫ, ВВОДИМЫЕ ЛЮДЯМ

1. Краткое описание технологии изготовления препарата.

2. На каком количестве изученных экспериментально-производственных серий препарата разработан проект ВФС (или количестве производственных серий для ФС), какая организация изготовила эти серии, объем каждой серии.

3. Отличие показателей качества и методов контроля, приведенных в авторском проекте ВФС, от показателей качества и методов контроля в представленном на утверждение стандарте. Обоснование их изменения. Аналогичные отличия в ФС, по сравнению с ВФС.

4. Сравнение качества лабораторных и экспериментально-производственных серий препарата для ВФС, экспериментально-производственных и производственных серий для ФС.

5. Обоснование срока годности препарата, указанного в проекте ВФС и ФС (в виде таблицы, в которой приведены качественные характеристики препарата в процессе его хранения, превышающем срок годности).

6. Перечень всех химических веществ, используемых в технологии производства препарата.

7. Перечень всех химических и биологических веществ, добавляемых в препарат или содержащихся в готовом препарате, с указанием их абсолютного количества в 1 мл или 1 дозе препарата. Кем, когда, в каком количестве и каким путем разрешено применение в медицинской практике каждого из указанных веществ.

8. Таблица сравнения показателей, характеризующих качество препарата, предусмотренных проектом ВФС или ФС, с аналогичными показателями препаратов, применяемых в настоящее время в нашей стране и за рубежом; требование зарубежных фармакопей и рекомендаций ВОЗ.

9. Список литературы, используемой при разработке проекта ВФС или ФС.

Приложение 15

СОДЕРЖАНИЕ ПОЯСНИТЕЛЬНОЙ ЗАПИСКИ К ВФС И ФС НА ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ «ИН ВИТРО»

1. Краткое описание технологии изготовления препарата.

2. На каком количестве изученных лабораторных серий препарата разработан проект ВФС (или количестве производственных серий для ФС), какая организация изготовила эти серии, объем каждой серии.

3. Отличие показателей качества и методов контроля, приведенных в проекте ВФС, от показателей качества и методов контроля, указанных в техническом задании. Обоснование их изменения. Аналогичные отличия в ФС по сравнению с ВФС.

4. Обоснование срока годности препарата, указанного в проекте ВФС или ФС (в виде таблицы, в которой приведены качественные характеристики препарата в процессе его хранения, превышающем срок годности).

5. Таблица сравнения показателей, характеризующих качество препарата, предусмотренных проектом ВФС или ФС, с аналогичными показателями препаратов, применяемых в настоящее время в нашей стране и за рубежом; требования зарубежных фармакопей и рекомендаций ВОЗ.

6. Список литературы, использованной при разработке проекта ВФС.

СОДЕРЖАНИЕ

3.3.2. Медицинские иммунобиологические препараты. Государственные испытания и регистрация новых медицинских иммунобиологических препаратов. Санитарные правила. СП 3.3.2.561-96

1.	Область применения	3
2.	Нормативные ссылки	3
3.	Сокращения, термины и определения	4
4.	Порядок государственных испытаний и регистрации новых МИБП	5
4.1.	Общие положения	5
4.2.	Лабораторно-экспериментальное изучение МИБП	7
4.3.	Испытание новых МИБП, вводимых человеку	7
5.	Доклинические испытания МИБП. Основные положения	12
5.1.	Определение специфической активности. Общие принципы	13
5.2.	Определение токсичности инактивированных бактериальных и вирусных вакцин и анатоксинов	15
5.3.	Определение специфической безопасности живых вакцин. Общие принципы	18
5.4.	Особенности испытания таблетированных пероральных препаратов	22
6.	Ограниченные клинические испытания МИБП	25
6.1.	Содержание разделов программы	26
6.2.	Оформление результатов испытания	30
7.	Государственные полевые испытания МИБП, предназначенных для профилактики инфекционных заболеваний	33
8.	Особенности испытания аллергенов	36
8.1.	Доклинические испытания аллергенов	36
8.2.	Испытание аллергенов на ограниченной группе лиц	37
8.3.	Государственные испытания аллергенов	39
9.	Особенности испытания бактериофагов	39
10.	Испытание диагностических препаратов	40
11.	Особенности испытания диагностических питательных сред	43
12.	Оценка иммунологической безопасности вакцин	46
12.1.	Лабораторно-экспериментальное (доклиническое) изучение	46
12.2.	Клиническое изучение	48
13.	Фармакопейные статьи на медицинские иммунобиологические препараты	49

13.1. Общие положения ... 49
13.2. Построение наименований МИБП ... 51
13.3. Построение, содержание и изложение фармакопейной статьи.. 53
13.4. Порядок оформления фармакопейных статей и особенности изложения некоторых разделов ... 62
13.5. Порядок присвоения обозначений и регистрации ВФС и ФС.... 65
13.6. Порядок оформления изменений к фармакопейным статьям.... 66
13.7. Порядок пересмотра и переутверждения фармакопейных статей..... 66
14. Инструкция по применению медицинских иммунобиологических препаратов ... 67
14.1. Построение, содержание и изложение инструкций по применению МИБП, предназначенных для введения человеку ... 67
14.2. Построение, содержание и изложение инструкций по применению МИБП, предназначенных для лабораторной диагностики ... 70

Приложение 1

1. Методы определения токсичности ... 73
2. Метод определения влияния МИБП на центральную нервную систему ... 75
3. Методики перорального введения МИБП ... 76
4. Патоморфологическое исследование ... 79

Приложение 2. Индивидуальная карта привитого ... 80

Приложение 3. Построение и содержание программы государственных полевых испытаний ... 81

Приложение 4

1. Методики испытания аллергенов и бакпрепаратов ... 83
1.1. Методики изучения сенсибилизирующих свойств ... 83
1.2. Оценка специфической активности ... 83
2. Методики испытания бактериофагов ... 84

Приложение 5.
Протокол испытания безопасности (безвредности) и специфической активности аллергена серий N к N ОБТК ... 85

Приложение 6.
Дневник специфической иммунотерапии ... 86

Приложение 7.
Схема заключения по испытанию безопасности (безвредности) и специфической активности аллергена ... 87

Приложение 8.
Схема заключения по испытанию лечебной эффективности аллергена ... 88

Приложение 9.
Методика оценки иммунобиологической безопасности вакцин... 89
Приложение 10. Временная фармакопейная статья..... 97
Приложение 11. Фармакопейная статья..... 98
Приложение 12. Оформление последнего листа ФС (пример)... 99
Приложение 13.
ФС 42- (наименование препарата на русском языке)..... 101
Приложение 14. Содержание пояснительной записки
к ВФС и ФС на препараты, вводимые людям..... 102
Приложение 15. Содержание пояснительной записки К ВФС и
ФС на диагностические препараты, применяемые «ин витро»... 103

Формат 60×84 $^{1}/_{16}$.
ернет-типография цифровой печати
125464, Россия, Москва, Пятницкое шоссе, д. 7, корп. 1,
тел.: (495) 662-97-58, i№fo@ce№trmag.ru

gost.e-ecolog.ru
gost.e-ecolog.ru