МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 31891— 2012

ПРИНЦИПЫ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ (GLP)

Применение Принципов GLP к исследованиям *in vitro*

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН:

Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ»);

Техническим комитетом по стандартизации ТК 339 «Безопасность сырья, материалов и веществ» Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии;

Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации ТК 339 «Безопасность сырья, материалов и веществ»

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 9 ноября 2012 г. № 53-П)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring — No 14 — Advisory document of the working group on Good Laboratory Practice. The application of the Principles of GLP to in vitro studies:2004 (Рекомендательный документ Рабочей группы по надлежащей лабораторной практике. Применение Принципов надлежащей лабораторной практики к исследованиям *in vitro*:2004, № 14 из серии документов Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) о Принципах GLP и мониторинге соответствия). При этом все разделы полностью идентичны, а термины и определения из приложения перенесены в раздел «Термины и определения».

Международный документ разработан Рабочей группой ОЭСР по GLP.

Перевод с английского языка (en).

Официальный экземпляр международного документа, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, имеется в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации.

Степень соответствия — идентичная (IDT).

В настоящий стандарт внесено следующее редакционное изменение: изменено наименование стандарта.

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования международного документа в связи с особенностями построения межгосударственной системы стандартизации

5 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 декабря 2012 г. № 2154-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31891—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2013 г.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2013

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Термины и определения . . . 1
3 Применение Принципов надлежащей лабораторной практики к исследованиям *in vitro* . . . 3
3.1 Общие положения . . . 3
3.2 Цель настоящего стандарта . . . 3
3.3 Обязанности . . . 4
3.4 Обеспечение качества . . . 5
3.5 Помещения . . . 6
3.6 Оборудование, материалы и реагенты . . . 6
3.7 Тест-системы . . . 7
3.8 Тестируемые и стандартные объекты (в том числе объекты отрицательного и положительного контроля) . . . 8
3.9 Стандартные операционные процедуры . . . 8
3.10 Выполнение исследования и отчеты о результатах исследования . . . 9
3.11 Хранение записей и материалов . . . 9
Приложение А (рекомендуемое) Источники дополнительной информации по исследованиям *in vitro* . 10
Библиография . . . 11

Введение

Поскольку предпринимаются усилия по уменьшению использования животных при проведении испытаний безопасности химических веществ, методы *in vitro* приобретают более значительную роль как альтернатива или вспомогательное средство испытаний безопасности *in vivo*. Прогнозируемое развитие в области токсикогеномики, токсикопротеомики, токсикометабономики, а также в области различных методов высокопроизводительного скрининга, как предполагается, увеличит важность применения методологий испытаний безопасности *in vitro* за пределами их традиционного использования в качестве тест-систем в области тестирования генетической токсичности. В связи с этим Рабочая группа ОЭСР по Принципам надлежащей лабораторной практики (GLP) считает целесообразным дальнейшую разработку специального руководства, имеющего отношение к применению и интерпретации Принципов GLP Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) [1] к исследованиям *in vitro*.

Рабочая группа создала целевую группу под руководством Швейцарии, первое заседание которой состоялось в Берне (Bern) с 12 по 13 февраля 2004 г. В целевую группу входили члены Рабочей группы или эксперты по проведению испытаний *in vitro,* выдвинутые представителями следующих стран и организаций: Бельгии, Франции, Германии, Японии, Нидерландов, Швейцарии, США и Европейской комиссии.

Проект консультативного документа, разработанный целевой группой, был рассмотрен, дополнен и одобрен рабочей группой на 18-м совещании в мае 2004 г. В свою очередь, на 37-м совместном совещании Комитета по химическим веществам и Рабочей группы по химическим веществам, пестицидам и биотехнологии документ был одобрен и рекомендован к снятию секретности под эгидой генерального секретаря.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРИНЦИПЫ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ (GLP)

Применение Принципов GLP к исследованиям *in vitro*

Principles of Good Laboratory Practice (GLP).
Application of GLP principles to *in vitro* studies

Дата введения — 2013—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на применение Принципов надлежащей лабораторной практики (GLP) [1] в исследованиях *in vitro*, проводимых в рамках неклинических испытаний безопасности тестируемых объектов, содержащихся в лекарственных средствах, пестицидах, косметической продукции, ветеринарных препаратах, пищевых и кормовых добавках, а также химических веществах промышленного назначения. Часто эти тестируемые объекты представляют собой синтетические химические вещества, однако они могут быть естественного или биологического происхождения и в некоторых случаях живыми организмами. Цель испытания таких тестируемых объектов — получение данных об их свойствах и/или безопасности для здоровья человека и/или окружающей среды.

Кроме специально оговоренных в национальном законодательстве исключений, Принципы GLP применяют ко всем неклиническим исследованиям медицинской и экологической безопасности, проведение которых требуется правилами для регистрации или лицензирования лекарственных средств, пестицидов, пищевых и кормовых добавок, косметической продукции, ветеринарных препаратов и аналогичных продуктов, а также для регулирования химических веществ промышленного назначения.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **исследования *in vitro*** (in vitro studies): Исследования *in vitro* — исследования, при которых в качестве тест-систем используют не многоклеточные целостные организмы, а микроорганизмы или ткани, изолированные от целостного организма, или их модели.

Многие исследования *in vitro* согласно определению, приведенному в Принципах GLP [1], квалифицируют как краткосрочные. При проведении данных исследований следует использовать для консультации по мере необходимости нормативный документ [2], что позволит облегчить работу руководителя исследования и службы обеспечения качества.

2.2 **стандартный объект (образец)** (reference item): Руководящие указания по проведению исследований *in vitro* во многих случаях предписывают использование соответствующих объектов положительного, отрицательного контроля и/или контроля реактива (разбавителя, растворителя), которые, однако, не могут служить в качестве «стандартных объектов» для классификации ответа тест-системы на тестируемый объект [1], а скорее для контроля надлежащей характеристики тест-системы. Так как цель использования этих объектов положительного, отрицательного контроля и/или контроля реактива может быть рассмотрена как аналог цели использования стандартного объекта (образца), определение последнего может также относиться к терминам «объекты положительного, отрицательного контроля и/или контроля реактива». Однако степень определения их аналитических характеристик может отличаться от требований, предъявляемых к аналитическим характеристикам стандартных объектов (образцов).

Издание официальное

2.3 **асептические условия** (aseptic conditions): Условия, существующие и предусмотренные для рабочей среды, при которых минимизируется возможность микробного и/или вирусного заражения.

2.4 **клеточные линии** (cell lines): Клетки, которые подверглись генетическому изменению для иммортализации и в результате способны размножаться в течение длительного периода *in vitro*, а также могут распространяться и подвергаться криоконсервации в качестве депозитов банка клеток. Непрерывная клеточная линия, как правило, более однородна, более стабильна и, следовательно, более репродуктивна, чем неоднородная популяция первичных клеток.

2.5 **отрицательный контроль** (negative control): Отдельная часть тест-системы, обработанная объектом (образцом), в отношении которого известно, что ответной реакции тест-системы на него не последует; отрицательный контроль свидетельствует о том, что тест-система не выдает ответной реакции в конкретных условиях анализа.

2.6 **положительный контроль** (positive control): Отдельная часть тест-системы, обработанная объектом (образцом), в отношении которого известна ответная реакция тест-системы; положительный контроль свидетельствует о том, что тест-система выдает ответную реакцию в конкретных условиях анализа.

2.7 **необработанный контроль** (untreated control): Отдельная необработанная часть тест-системы, которая хранится в первоначальных условиях культивирования; необработанный контроль предоставляет исходные данные о тест-системе в условиях проведения анализа.

2.8 **контроль растворителя (разбавителя, носителя)** (control vehicle): Отдельная часть тест-системы, к которой добавлен растворитель, предназначенный для определенного тестируемого образца (объекта); контроль растворителя предоставляет свидетельство об отсутствии влияния выбранного растворителя на тест-систему в фактических условиях проведения анализа.

2.9 **критические фазы** (critical phases): Индивидуальные, конкретные виды процедур или деятельности в рамках исследования, от корректного выполнения которых в критической степени зависят качество, достоверность и надежность исследования.

2.10 **перекрестное загрязнение** (cross-contamination): Загрязнение тестируемого образца (объекта) или тест-системы другим тестируемым образцом или тест-системой, которые вносятся непреднамеренно, заражают тестируемый образец или повреждают тест-систему.

2.11 **криоконсервация** (cryopreservation): Хранение клеток и тканей в замороженном состоянии в условиях, когда их жизнеспособность сохраняется.

2.12 **криовиала** (cryovial): Специальный сосуд для криоконсервации. Криовиала должна соответствовать особым условиям, таким как герметичность закрытия, даже при экстремально низких температурах и резких перепадах температур, возникших в ходе замораживания и оттаивания.

2.13 **ex vivo:** Клетки, ткани или органы, извлеченные из интактных животных для дальнейшего анализа.

2.14 **генная трансфекция** (gene transfection): Ввод чужеродной суплементарной ДНК (одного гена или несколько генов) в клетку-хозяина.

2.15 **высокопроизводительный скрининг** (high through-put screening): Использование миниатюризированной роботизированной технологии для скрининга крупных библиотек соединений на предмет выявления изолированного гена-мишени, белка, клетки, ткани и т. д., чтобы выбрать соединения на основе конкретных видов активности для проведения дальнейших разработок.

2.16 **микрочипы (биочипы)** (micro-arrays): Комплексы миниатюрных химических реакционных зон, расположенные в определенном порядке и нанесенные на твердую матрицу, например предметное стекло. ДНК-биочип представляет собой средство сравнения известных и неизвестных образцов ДНК на основе принципа комплементарности нуклеотидных оснований и позволяет автоматизировать процесс идентификации неизвестных образцов ДНК для использования в зондировании биологического образца с целью определения экспрессии гена, маркера модели гибридизации или нуклеотидной последовательности ДНК/РНК.

2.17 **первичные клетки** (primary cells): Клетки, недавно извлеченные из животных или растительных источников. Недавно извлеченные первичные клетки могут быстро потерять способность к дифференцированию в культуре и часто имеют ограниченный срок жизни. Первичные культуры, извлеченные из животных или людей, могут представлять гетерогенные популяции, например по отношению к различиям в типах клеток и состоянию дифференциации в зависимости от используемых методов очистки. Каждый изолят уникален, и его невозможно воспроизвести в точности. Первичные культуры клеток обычно требуют комплексных питательных сред, дополненных сывороткой и другими компонентами. Следовательно, системы первичной культуры клеток крайне сложно стандартизировать.

2.18 **патентованный материал** (proprietary material): Материал, защищенный законами от незаконного использования (патент, авторское право, товарные знаки).

2.19 **набор для проведения испытаний, тест-набор** (test kit): Готовый к использованию набор, включающий все компоненты, необходимые для проведения анализа, испытания (тестирования) или исследования.

2.20 **ткани** (tissues): Многоклеточные совокупности дифференцированных клеток, характеризующихся конкретными функциями, в качестве компонентов организмов.

2.21 **токсикогеномика** (toxicogenomics): Исследование того, как геномы реагируют на экологические стресс-факторы или токсиканты. Цель токсикогеномики — найти корреляцию между реакциями на токсиканты и изменениями в генетических профилях объектов, подвергнутых воздействию таких токсикантов. Токсикогеномика сочетает в себе новые технологии геномики и биоинформатики для выявления и характеристики механизмов действия известных и предполагаемых токсикантов. В настоящее время основным инструментом токсикогеномики является ДНК-микрочип (или ДНК-чип), который используется для одновременного мониторинга уровня экспрессии сотен и тысяч генов.

2.22 **токсикометабономика** (toxicometabonomics): Количественное измерение зависящей от времени многопараметрической метаболической реакции живых систем на патофизиологические стимулы или генетическую модификацию путем систематического исследования состава биологической жидкости с помощью ЯМР и технологии распознавания моделей, для того чтобы связать токсичность органа-мишени со спектральными ЯМР-моделями и идентифицировать новые суррогатные маркеры токсичности.

2.23 **токсикопротеомика** (toxicoproteomics): Исследование того, как общая экспрессия белка в клетке или ткани реагирует на экологические стресс-факторы или токсиканты. Цель токсикопротеомики — найти корреляцию между токсическими реакциями на токсиканты и изменениями в полных профилях комплементов белков объектов, подвергнутых воздействию таких токсикантов.

2.24 **трансгенные клетки** (transgenic cells): Клетки, трансфектированные одним (или несколькими) чужеродным геном(ами) и вследствие этого обладающие характеристиками и функциями, которые обычно не присутствуют или присутствуют только при низких уровнях экспрессии в родительской клетке.

3 Применение Принципов надлежащей лабораторной практики к исследованиям *in vitro*

3.1 Общие положения

3.1.1 Исследования, включающие тест-системы *in vitro*, давно используют для получения данных о безопасности химических веществ для здоровья человека и окружающей среды. Обычно национальное законодательство требует, чтобы эти исследования проводились в соответствии с требованиями Принципов GLP [1]. Традиционно методы *in vitro* использовались главным образом в области тестирования генетической токсикологии в случаях, когда оценка опасности в значительной степени основывалась на результатах исследований, использующих тест-системы *in vitro*. В связи с тем, что предпринимаются усилия по уменьшению использования животных при проведении испытаний безопасности химических веществ, методы *in vitro* приобретают более значительную роль в качестве альтернативы или вспомогательного средства при проведении испытаний безопасности *in vivo*. Кроме того, разработки в области токсикогеномики, токсикопротеомики, токсикометабономики и различных (например, с использованием биочипов) методов высокопроизводительного скрининга также повышают значение методологий *in vitro* при проведении испытаний безопасности химических веществ.

3.1.2 Требования к планированию, проведению, регистрации, отчетности и архивированию исследований безопасности не отличаются друг от друга для различных типов исследований и устанавливаются в соответствии с Принципами GLP ОЭСР. Следовательно, Принципы GLP и связанные с ними консенсусные документы представляют собой общее руководство, включающее в себя требования к проведению всех неклинических исследований медицинской и экологической безопасности, в том числе исследований *in vitro*. Для содействия в применении и интерпретации Принципов GLP в конкретных ситуациях с испытаниями *in vitro* весьма полезными являются дополнительные разъяснения и рекомендации.

3.2 Цель настоящего стандарта

3.2.1 Цель настоящего стандарта — содействие надлежащему применению и интерпретации Принципов GLP для организации и управления исследованиями *in vitro*, а также подготовка рекомендаций по применению Принципов GLP при исследованиях *in vitro* как для испытательных центров (администрации испытательного центра, службы обеспечения качества, руководителя исследования и персонала), так и для национальных органов мониторинга соответствия Принципам GLP.

3.2.2 Настоящий стандарт в качестве рекомендательного документа призван предоставлять дополнительную интерпретацию Принципов GLP и рекомендаций по их применению к исследованиям *in vitro*, проводимым для целей регулирования. Стандарт сформирован таким образом, чтобы предоставлять возможность несложного получения справочной информации из Принципов GLP, основываясь на последовательном изложении различных разделов Принципов GLP [1].

3.3 Обязанности

a) Обязанности администрации испытательного центра

Большинство обязанностей администрации испытательного центра носит общий характер и в равной мере применимо к исследованиям *in vivo* и *in vitro*, например требования к администрации испытательного центра, которые должны обеспечивать наличие квалифицированного персонала, а также соответствующих помещений и оборудования для своевременного и надлежащего проведения исследования. Однако администрация испытательного центра должна осознавать, что проведение тестов *in vitro* может влиять на выполнение других обязанностей. Например, администрация испытательного центра должна гарантировать, что сотрудники четко понимают выполняемые ими функции. При исследованиях *in vitro* может потребоваться специальная подготовка, которая предусматривает асептические процедуры и обработку биологически опасных материалов. Кроме того, для проведения тестов *in vitro* могут потребоваться специальные зоны и внедрение процедур, позволяющих избегать загрязнения тест-систем. Другим примером может служить требование к администрации испытательного центра, чтобы оборудование и расходные материалы, поставляемые в испытательный центр, соответствовали требованиям к их использованию при проведении исследований. Для определенных исследований *in vitro* может потребоваться использование патентованных материалов или набора для проведения испытаний. Хотя консенсусный документ [3] устанавливает, что материалы, планируемые к использованию в исследованиях в соответствии с Принципами GLP, должны быть изготовлены и протестированы на пригодность с помощью надлежащей системы качества, таким образом перенося основную ответственность за их пригодность на производителя или поставщика, администрация испытательного центра обязана подтвердить, что эти условия выполнены надлежащим образом путем оценки методов, процедур и порядка действия поставщиков.

b) Обязанности руководителя исследования

Основные обязанности руководителя исследования не зависят от типа исследования, а обязанности, перечисленные в Принципах GLP, применяются также к исследованиям *in vitro*. Руководитель исследования продолжает являться центральным и единственным лицом в обеспечении контроля исследования и несет ответственность за общее проведение исследования и формирование отчета об исследовании.

При проведении исследований *in vitro* руководитель исследования должен обратить особое внимание на документирование обоснования и характеристики тест-системы, тип действия которой, возможно, более трудно осуществим при испытаниях *in vitro* (см. положения о тест-системах, приведенные ниже, с информацией относительно документации, требующейся для обоснования и характеристики тест-системы). При проведении исследований *in vivo* осуществлять данные типы действия достаточно просто. Например, использование определенных видов организмов может быть обосновано документированием таких характеристик, которые делают их подходящей моделью для оценки интересующих исследователя эффектов. Характеристика конкретного животного может быть осуществлена простым документированием вида животного, штамма, субштамма, источника поставки, номера, диапазона массы тела, пола и возраста.

При проведении исследований *in vitro* требуемые типы действий могут быть сложными для осуществления по следующим причинам.

Может потребоваться обоснование (выбора) тест-системы, чтобы руководитель исследования подтвердил, что метод испытания валидирован или структурно, функционально и/или механически сходен с валидированным стандартным методом испытания. Перед использованием новых методов испытания, которые структурно, функционально и/или механически сходны с валидированным стандартным методом испытания, руководитель исследования должен предоставить документальное доказательство того, что новый метод испытания имеет сопоставимую эффективность при оценке с помощью надлежащего стандартного объекта (образца).

Также может быть достаточно сложно документировать характеристики *in vitro*-систем. Хотя руководитель исследования может при содействии поставщика документировать некоторые характеристики тест-системы (например, линию клеток, возраст/пассажирование, происхождение), он должен также охарактеризовать тест-систему, документально подтвердив, что тест-система обеспечивает необходимую эффективность при оценке с помощью надлежащего стандартного объекта (образца), включая, при

необходимости, объекты положительного, отрицательного контроля, необработанные контрольные объекты и/или объекты контроля реактива.

В особых случаях может рассматриваться использование патентованных материалов или наборов для проведения испытаний *in vitro*. Хотя характеристики данных материалов или наборов для проведения испытаний должны быть подтверждены поставщиком, производителем или держателем патента и хотя администрация испытательного центра несет ответственность за обеспечение того, что поставщик соответствует упомянутым выше критериям качества, например, путем рассмотрения методов, процедур и порядка действий поставщиков, только руководитель исследования отвечает за подтверждение того, что характеристики данных материалов или наборов действительно отвечают требованиям проведения исследования и что наборы для проведения испытания должным образом валидированы и подходят для предназначенной цели применения.

Поскольку качество и надежность результатов исследования будут непосредственно зависеть от качества и характеристик данных материалов и наборов для проведения испытания, особенно важно, чтобы полнота и приемлемость документации по контролю качества, предоставляемой поставщиком, были тщательно изучены и критически оценены руководителем исследования. Как минимум руководитель исследования должен иметь возможность судить о соответствии системы качества, используемой поставщиком, и иметь в своем распоряжении всю документацию, необходимую для оценки пригодности использования тест-системы, например результаты исследования характеристик.

c) Обязанности персонала, выполняющего исследования

Персонал должен тщательно соблюдать, где необходимо, требования, предъявляемые к асептическим условиям, и следовать соответствующим процедурам при проведении исследований *in vitro* во избежание патогенного загрязнения тест-системы. Также персонал должен использовать методы, позволяющие избегать взаимного (перекрестного) загрязнения тест-систем и обеспечивать чистоту исследования. Персонал должен строго придерживаться требований к изоляции тест-систем и проведению исследований с участием биологически опасных материалов. Соответствующие меры предосторожности для минимизации рисков, возникающих при использовании опасных химических веществ, следует применять и при проведении исследований *in vitro*.

3.4 Обеспечение качества

3.4.1 В целом деятельность службы обеспечения качества не будет сильно различаться для исследований *in vivo* и *in vitro*. В некоторых случаях исследования *in vitro* могут отвечать требованиям проведения краткосрочных исследований; в таких случаях возможно использование [2]. Таким образом, подобные исследования могут быть проинспектированы, если это применяется и допускается национальным законодательством, службой обеспечения качества на основе программы инспектирования процессов. Поскольку Принципы GLP требуют от службы обеспечения качества при инспектировании уделять особое внимание критическим этапам исследования, важно, чтобы в случае проведения исследований *in vitro* сотрудники службы обеспечения качества хорошо понимали, что является критическими этапами (и критическими аспектами) подобных исследований. Поэтому руководителю исследования, ответственному исследователю и исследовательскому персоналу следует совместно разрабатывать руководство по проведению инспекций службой обеспечения качества в соответствующих областях. Так как программа обеспечения качества должна, как указано, охватывать конкретные аспекты испытаний *in vitro*, обучение и подготовка персонала службы обеспечения качества должны быть четко направлены на способность распознавать потенциальные проблемы в конкретных областях испытаний *in vitro*.

3.4.2 Специфические области, подлежащие инспекции, могут включать в себя процедуры и меры, не ограничиваясь ими:

- мониторинг партий компонентов питательных сред для клеточных и тканевых культур, которые имеют существенное значение для эффективности тест-системы (например, эмбриональная телячья сыворотка и т. д.), и других материалов применительно к их влиянию на эффективность тест-системы;
- оценка и обеспечение функционального и/или морфологического статуса (и целостности) клеток, тканей и других индикаторных материалов;
- мониторинг при необходимости потенциального загрязнения чужеродными клетками, микоплазмами и другими патогенами или другими случайными агентами;
- уборка и обеззараживание помещений и оборудования, а также минимизация источников загрязнения тестируемых объектов и тест-систем;
- обеспечение должного использования и обслуживания специализированного оборудования;
- обеспечение надлежащей криоконсервации и восстановление клеток и тканей;
- обеспечение надлежащих условий для извлечения тканей из замороженного материала;

- обеспечение стерильности материалов и принадлежностей, используемых при работе с клеточными и тканевыми культурами;
- поддержание надлежащего разделения различных исследований и тест-систем.

3.5 Помещения

a) Общие положения

Принципы GLP гласят, что испытательные центры должны быть пригодны к выполнению исследований, осуществляемых ими, с учетом существующих требований и что в испытательных центрах должна поддерживаться достаточная степень разделения между разными видами деятельности, чтобы обеспечивать надлежащее и ненарушаемое проведение каждого исследования. В связи с тем, что исследования *in vitro* обычно занимают ограниченное рабочее пространство и не требуют специализированных помещений, которые исключают выполнение других исследований, следует принимать меры по обеспечению надлежащего разделения исследований *in vitro*, сосуществующих в одной и той же физической среде.

b) Помещения для тест-систем

Принципы GLP требуют наличия достаточного числа комнат или зон для обеспечения изоляции тест-систем и пригодности подобных зон для обеспечения минимизации вероятности загрязнения тест-систем. Однако термин «зоны» конкретно не определен, и поэтому его интерпретация может быть адаптирована к различным ситуациям проведения испытаний *in vitro*. Важным аспектом здесь является то, что целостность каждой тест-системы и исследования не должны быть поставлены под угрозу из-за возможности потенциального или перекрестного загрязнения или смешивания.

Таким образом, становится возможным инкубировать клетки или ткани, относящиеся к различным исследованиям, в одном и том же инкубаторе при условии, что между ними существует достаточная степень разделения (например, соответствующие идентификаторы, маркировка или раздельное размещение, чтобы отличать исследования) и что ни один тестируемый объект (образец) не является летучим настолько, чтобы загрязнять другие находящиеся в инкубаторе и подлежащие исследованию тестируемые объекты.

Разделение критических фаз исследования может осуществляться не только на пространственной, но и на временной основе. Манипуляции с культурами клеток и тканей, например процедуры субкультивирования, добавление тестируемого объекта и т. д., обычно выполняются в вертикальных шкафах с ламинарным потоком, чтобы обеспечивать стерильность и защиту как тест-системы, так и исследовательского персонала и окружающей среды. При таких условиях достаточное разделение для предотвращения перекрестного загрязнения разных исследований может быть достигнуто путем последовательных манипуляций с тест-системами, используемыми для отдельных исследований, путем тщательной уборки и обеззараживания/стерилизации рабочих поверхностей шкафа и соответствующего лабораторного оборудования, проводимых при необходимости в перерывах между различными видами деятельности.

Другим важным аспектом является наличие отведенных комнат или зон со специальным оборудованием, обеспечивающим долгосрочное хранение тест-систем. Оборудование, включая емкости для хранения, должно создавать надлежащие условия для обеспечения долгосрочной целостности тест-систем.

c) Помещения для обработки тестируемых и стандартных объектов (образцов)

Хотя требования Принципов GLP к обработке тестируемых и стандартных объектов (образцов) в равной степени применяют к испытаниям *in vitro,* поскольку связаны с предотвращением перекрестного загрязнения тестируемыми и стандартными объектами (образцами), следует принимать во внимание следующий аспект: поскольку стерильность является важным фактором при проведении исследований *in vitro*, необходимо обеспечивать, чтобы помещения или зоны, используемые для подготовки и смешивания тестируемых и стандартных объектов (образцов) с носителями (растворителями), были оборудованы таким образом, чтобы обеспечивать проведение работы в асептических условиях, таким образом защищая тест-системы и исследования путем минимизации вероятности загрязнения в ходе подготовки тестируемых и стандартных объектов (образцов).

3.6 Оборудование, материалы и реагенты

Хотя согласно общепринятому представлению рутинные требования к аппаратуре, используемой в среде соответствия Принципам GLP, в равной степени применимы и к аппаратуре для исследований *in vitro*, существуют некоторые специфические вопросы и проблемы, имеющие особое значение. Например, важное значение для целостности и достоверности некоторых исследований *in vitro* может иметь обеспечение надлежащих условий работы определенных видов оборудования, например микровесов, микропипеток, ламинарных шкафов или инкубаторов, подлежащих, при необходимости, регулярному

обслуживанию, контролю и калибровке. Для специализированного оборудования должны быть определены критические параметры, требующие постоянного контроля или установки предельных значений и сигнализации.

Требования Принципов GLP к реагентам в отношении их маркировки и даты истечения срока годности в равной степени применяются к реагентам, используемым при исследованиях *in vitro*.

3.7 Тест-системы

Тест-системы *in vitro* по большей части представляют собой биологические системы, хотя некоторые из последних разработок в области альтернатив традиционному испытанию *in vivo* (например, генные матрицы для токсикогеномики) могут проявлять некоторые атрибуты физико-химических тест-систем, а другие (например, токсикометабономика) тем не менее в основном полагаются на аналитическую методологию. Наборы для проведения испытаний, в том числе патентованные наборы для испытаний, также следует рассматривать в качестве тест-систем.

a) Условия для тест-системы

Как и для любых других биологических тест-систем, необходимо определять, поддерживать и контролировать надлежащие условия для обеспечения качества и целостности тест-систем в процессе их хранения и в ходе самого исследования. Данная деятельность включает в себя документированное определение, техническое обслуживание и мониторинг жизнеспособности и чувствительности (ответной реакции) тест-системы, включая запись числа пассажей клетки и времени удвоения популяции. Кроме того, необходимо хранить записи об условиях окружающей среды (например, об уровне жидкого азота в криоконсервационной системе с жидким азотом, температуре, влажности и концентрации CO_2 в инкубаторах, и т. д.), а также о любых манипуляциях с тест-системой, необходимых для обеспечения ее качества и целостности (например, об обработке антибиотиками или противогрибковыми средствами, о субкультивировании, селективном культивировании для снижения частоты спонтанных событий). Так как обеспечение надлежащих условий окружающей среды во время хранения тест-систем может влиять на качество данных в большей степени, чем для других биологических систем, эти записи могут иметь особое значение при обеспечении качества и достоверности данных (результатов).

b) Недавно полученные тест-системы

Документацию, полученную от поставщика тест-систем *in vitro* (например, происхождение, возраст/число пассажей, время удвоения клеток и прочие соответствующие характеристики, помогающие идентифицировать тест-систему), необходимо рассматривать и хранить в записях исследования. Для оценки жизнеспособности, пригодности (например, функционального и/или морфологического статуса клеток и тканей, испытания на наличие известного или предполагаемого микробного или вирусного загрязнения) и чувствительности тест-системы необходимо следовать предварительно установленным критериям. Результаты таких оценок следует документировать и хранить в записях исследований. Если провести подобную оценку невозможно, например при использовании культур первичных клеток или «восстановленных органов», то между поставщиком и пользователем должен существовать механизм, для того чтобы устанавливать и документировать пригодность тест-системы. Мониторинг и запись эффективности тест-системы относительно объектов отрицательного и положительного контроля может служить достаточным доказательством чувствительности конкретной тест-системы. Любые проблемы, связанные с тест-системой, которые могут повлиять на качество, достоверность и надежность исследования, должны быть документально оформлены и рассмотрены в заключительном отчете. В случаях возникновения проблем с поставляемыми производителем тест-системами данные вопросы должны быть доведены до сведения производителя, с тем чтобы он предпринял поиск корректирующих мер.

c) Записи о тест-системах

Принципы GLP требуют хранения записей об источнике, дате поступления и состоянии тест-систем при поступлении; для клеток и тканей эти записи должны включать в себя не только непосредственный источник (например, коммерческий поставщик), но и первичный источник, из которого были выделены клетки и ткани (например, первичные клетки или ткани с донорскими характеристиками; широко известные клеточные линии, полученные из признанных источников и т. д.).

Дополнительная информация, необходимая для хранения, должна включать в себя следующие положения, но не ограничиваться ими:

- метод, с помощью которого были первоначально получены клетки или ткани (например, получение из эксплантов тканей, биопсия нормальных или раковых тканей, перенос генов путем плазмидной трансфекции или вирусной трансдукции и т. д.);
- хронология хранения;
- число пассажей клеточных линий;

- условия культивирования;
- интервалы субкультивирования;
- условия замораживания/оттаивания и т. д.

Кроме того, для трансгенных тест-систем необходимо выяснять природу трансгенов и осуществлять соответствующее управление экспрессией трансгенов.

Особое внимание должно быть уделено надлежащей маркировке тест-систем в процессе хранения и использования, включая меры по обеспечению долговечности маркировки. В тех особых случаях, когда размеры контейнеров и условия хранения (например, криопробирки в жидком азоте, несколько тест-систем, хранящихся в одном контейнере) могут быть критическими факторами для маркировки, должны быть предприняты меры, обеспечивающие корректную идентификацию тест-системы в любой момент времени.

Требования Принципов ОЭСР GLP к маркировке и датам истечения срока годности тестируемых объектов и реагентов в равной степени относятся к наборам для проведения испытаний, используемым в качестве тест-систем *in vitro*. Все наборы для испытаний независимо от того, используются ли они в качестве тест-систем или любым другим образом, например для аналитических целей, должны иметь срок годности. Продление данного срока годности может быть приемлемо только на основании документированной оценки (или анализа). Для наборов для проведения испытаний, используемых в качестве тест-систем, такие документированные оценки могут состоять, например, из исторических записей о наблюдаемой ответной реакции соответствующей партии наборов для проведения испытаний по отношению к объектам положительного, отрицательного контроля и/или контроля реактива (носителя, разбавителя) и быть доказательством того, что даже после истечения срока годности ответная реакция не отклоняется от исторических показателей контроля. Документированное решение руководителя исследования относительно продления срока годности должно предоставить доказательства для данного процесса оценки.

Для того чтобы избежать возможной путаницы, номенклатура тест-систем должна быть четко определена, а маркировка тест-систем так же, как и все записи, полученные от отдельных исследований, должна иметь официально принятое обозначение тест-системы.

3.8 Тестируемые и стандартные объекты (в том числе объекты отрицательного и положительного контроля)

В целом, кроме перечисленных в Принципах GLP, не существует никаких специфических требований относительно получения, обработки, отбора проб, хранения и описания характеристики тестируемых и стандартных образцов, используемых в исследованиях на тест-системах *in vitro*. Однако, чтобы избежать микробного загрязнения тест-системы, необходимо проводить обработку данных образцов в асептических условиях.

Для объектов положительного, отрицательного контроля и/или контроля реактивов (носителя, разбавителя) может потребоваться по мере необходимости определение концентрации и однородности, поскольку наличие этих показателей может быть достаточным доказательством корректной, ожидаемой ответной реакции тест-системы на них.

Срок годности контрольных объектов (образцов) может быть продлен на основе документированной оценки или анализа. Такая оценка может содержать документированное доказательство того, что ответная реакция соответствующих тест-систем на объекты положительного, отрицательного контроля и/или контроля реактива не отклоняется от хранящихся в испытательном центре исторических показателей контроля, которые, в свою очередь, должны быть сопоставимы с опубликованными эталонными показателями.

3.9 Стандартные операционные процедуры

В дополнение к примерам, приведенным в Принципах GLP [1] (пункты 7.4.1—7.4.5), существуют специфические для тестирования *in vitro* типы деятельности и процессы, которые должны быть описаны в стандартных операционных процедурах (СОП). Такие СОП должны дополнительно включать в себя следующие примеры деятельности испытательного центра, связанные с проведением испытаний *in vitro*, но не ограничиваться ими:

а) Помещения

На основании результатов мониторинга окружающей среды в отношении патогенных микроорганизмов в воздухе и на рабочей поверхности в случае заражения или загрязнения испытательного центра или зон проведения испытаний следует предпринять соответствующие действия по уборке и дезинфекции.

b) Аппаратура

Использование, техническое обслуживание, контроль производительности, уборка и обеззараживание оборудования и инструментов, используемых в работе с культурами клеток и тканей, например ламинарных шкафов и инкубаторов; мониторинг уровня жидкого азота в контейнерах для хранения тест-систем; калибровка и контроль температуры, влажности и уровня содержания CO_2 в инкубаторах.

c) Материалы, реагенты и растворы

Оценка пригодности, продление срока годности, оценка и поддержка стерильности, скрининг распространенных патогенных контаминантов; описание процедур выбора и использования растворителя (разбавителя, носителя); процедуры верификации совместимости растворителя (носителя) и тест-системы.

d) Тест-системы

Условия хранения и процедуры замораживания и оттаивания клеток и тканей, тестирование на наличие распространенных патогенов; визуальная инспекция загрязнений; процедуры проверки (например, с использованием критериев приемлемости) для обеспечения свойств и чувствительности тест-системы при прибытии и в ходе использования, будь то непосредственно после прибытия или в течение дальнейшего периода хранения; морфологическая оценка, контроль стабильности фенотипа или кариотипа, контроль стабильности трансгена; режим инициирования культуры, условия культивирования с указанием интервалов субкультивирования; обработка биологически опасных материалов и тест-систем, процедуры удаления тест-систем.

e) Проведение исследования

Асептические техники, критерии приемлемости достоверности исследования, критерии для повторного проведения анализа.

f) Обеспечение качества

Определение критических фаз, частоты инспекций.

3.10 Выполнение исследования и отчеты о результатах исследования

Требования Принципов GLP к проведению исследований *in vitro* идентичны требованиям к проведению традиционных исследований безопасности. Для проведения исследований *in vitro* в соответствии с Принципами GLP во многих случаях рекомендуется опираться на [2] в сочетании с [1].

Существует ряд вопросов, характерных для испытаний *in vitro*, которые должны быть отражены как в плане исследования, так и в заключительном отчете об исследовании. Эти вопросы в основном носят научно-технический характер, например (научное) требование, чтобы любой внутренний контроль (соответствующего объекта положительного, отрицательного контроля, контроля реактива и необработанного объекта), осуществляемый в целях контроля погрешностей и оценки эффективности тест-системы, проводить во всех исследованиях *in vitro* одновременно с контролем тестируемого объекта (образца). Более конкретные указания относительно того, какие темы должны быть рассмотрены в плане исследования и в заключительном отчете можно найти в соответствующих руководствах ОЭСР по проведению испытаний или других соответствующих ссылках.

3.11 Хранение записей и материалов

Общие требования Принципов GLP к хранению распространяются также и на исследования *in vitro*. Кроме того, следует рассматривать вопросы о сохранении образцов тест-систем, которые могут быть законсервированы на длительное время, особенно тест-системы ограниченной доступности (например, специальные клеточные линии субклонов, трансгенные клетки и т. д.), чтобы подтвердить идентичность тест-системы и/или для исследования возможности реконструкции.

Необходимо принимать во внимание возможность сохранения проб тестируемых объектов (образцов) тех исследований *in vitro*, которые могут быть отнесены к категории краткосрочных особенно в случаях, когда исследования *in vitro* составляют основу исследований безопасности.

Также следует хранить записи об исторических положительных, отрицательных, неиспользуемых результатах и/или результатах средств контроля растворителя, используемых для установления допустимого диапазона реакции тест-системы.

Приложение А
(рекомендуемое)

Источники дополнительной информации по исследованиям *in vitro*

Таблица А.1

Веб-страница	Документ
gost.e-ecolog.ru	«Надлежащая практика культуры клеток»
gost.e-ecolog.ru	Руководство MIAME «Минимальная информация об эксперименте с применением микрочипа»
gost.e-ecolog.ru	База методов ECVAM «Европейский центр по официальному утверждению альтернативных методов»
gost.e-ecolog.ru	База ICCVAM «Межведомственный координационный комитет по официальному утверждению альтернативных методов»

Библиография

[1] ENV/MC/CHEM(98)17 Principles on Good Laboratory Practice — OECD series on Principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring — No 1 (Принципы надлежащей лабораторной практики. Серия документов ОЭСР о Принципах надлежащей лабораторной практики и мониторинге соответствия. № 1)

[2] ENV/JM/MONO(99)23 Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring — The Application of the GLP Principles to short term studies — No 7:99 (Серия документов ОЭСР по Принципам GLP и мониторинге соответствия. Консенсусный документ. Применение Принципов GLP к краткосрочным исследованиям (№ 7:99)

[3] ENV/JM/MONO(99)21 Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring — Compliance of laboratory suppliers with GLP principles — No 5:2000 (Серия документов ОЭСР по Принципам GLP и мониторинге соответствия. Консенсусный документ. Соответствие поставщиков лаборатории Принципам GLP. № 5:2000)

УДК 502.3/504.03: 615.9/615.07:004.9:006.354 МКС 13.020

Ключевые слова: Принципы надлежащей лабораторной практики, GLP, исследования *in vitro*, обеспечение качества испытаний

Редактор *Р.Г. Говердовская*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 17.09.2013. Подписано в печать 02.10.2013. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,75. Тираж 67 экз. Зак. 1097.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru