

primjena znanstvenih rezultata u proizvodnji

Regulativa i znanstvena istraživanja, sinergija u Generi d. d.

M. Weber Sušanj*

Genera Analitika d.o.o.
Svetonedjeljska 2, Kalinovica
10 436 Rakov potok

Povijest Genere d. d. traje više od stotinu godina tijekom kojih je tvrtka stekla bogato iskustvo u razvoju, proizvodnji i distribuciji visokokvalitetnih proizvoda. Poslovala je pod različitim imenima, s različitim proizvodnim programima te se razvila u tvrtku koja danas ima širok asortiman: od proizvoda za prevenciju i liječenje bolesti životinja i ljudi, dodataka stočnoj hrani, dezinficijensa do proizvoda za zaštitu bilja.

Kvaliteta, učinkovitost i sigurnost proizvoda kriteriji su koje postavljaju regulatorne institucije, a na industriji je da ih potkrijepi čvrstim dokazima. A ti dokazi rezultat su interakcije znanosti i tehnologije.

Farmaceutsko poslovanje Genere usklađeno je sa smjernicama dobre proizvođačke prakse (GMP – *Good Manufacturing Practice*), koje daju stroge okvire za proizvodnju i kontrolu kvalitete lijekova i cjepiva. Često se stječe dojam da su smjernice toliko striktno da guše svaku istraživačku slobodu i pristup znanosti. Međutim dobra proizvođačka praksa otvara vrata znanosti, ali s jednim preduvjetom – da je znanost dobro dokumentirana.

Gledajući s laboratorijskog aspekta i kontrole kvalitete bilo kojeg lijeka ili cjepiva, osim osnovne znanstvene ideje i razvoja analitičke metode, znanost se proteže sve do zadnjeg koraka prije uvođenja u rutinu, odnosno do validacije metode. Validacija analitičke metode je proces kojim se dokazuje i dokumentira da karakteristike provođenja metode zadovoljavaju zahtjevima primjene i da je metoda stoga prikladna za tu primjenu.

Regulatorne institucije postavile su zahtjeve za validacijom svih analitičkih metoda, uključujući i biološke testove. Biološki testovi se u farmaceutskoj industriji primjenjuju radi istraživanja utjecaja nekih supstancija na živi organizam, razvoja proizvoda, kliničkih ispitivanja ili kontrole kvalitete proizvoda. U kontroli kvalitete sirovina i proizvoda Genere, biološki testovi primjenjuju se za određivanje aktivnosti, neškodljivosti, odsustva stranih virusa i pirogenih supstancija.

Biološki se testovi, zbog upotrebe živog organizma, često smatraju nepreciznim i najtežim za provođenje od svih testova za određivanje kvalitete proizvoda i njihova uloga u određivanju kvalitete često se zbog toga smatra upitnom.¹⁰ Međutim, iako su danas dostupne najsuvremenije sofisticirane i precizne fizikalno-kemijske tehnike (kao što su nuklearna magnetska rezonancija NMR ili spektrometrija masa), one daju detaljne informacije o strukturi i sastavu proizvoda, ali nisu u mogućnosti predvidjeti biološku aktivnost. Na primjer, promjene u molekularnoj strukturi proteina,

čak i male promjene tercijarne ili kvaterne strukture, mogu rezultirati mjerljivim promjenama u biološkoj aktivnosti jer biološki testovi detektiraju samo funkcionalne molekule. Stoga su biološki testovi esencijalni dio karakterizacije bilo kojeg biofarmaceutskog lijeka.¹⁴

Farmakopeje^{3,15} i International Conference of Harmonization za ljudske i veterinarske lijekove^{5,6,16,17} daju smjernice za validaciju analitičkih metoda, ali te su smjernice u potpunosti primjenjive samo za kemijske i fizikalne metode, jer mnogi parametri nisu prikladni za biološke testove.¹¹ Također, za razliku od jasnih validacijskih protokola i transparentnih literaturnih podataka o validaciji fizikalno-kemijskih metoda, validacija bioloških testova je literaturno slabo potkrijepljena. U literaturi se sve češće pojavljuju radovi na tu temu, iz čega se vidi velika potreba za konkretnim validacijskim postupcima, koji su još uvijek predmet aktivnog istraživanja.^{2,4,7,8} Zbog nedostataka vodiča, odnosno nemogućnosti izrade univerzalnog vodiča za validaciju u koji bi se uklopili svi biološki testovi, jer se čak i oni međusobno jako razlikuju, regulatorne agencije daju mogućnost znanstvenog pristupa validaciji.¹³ Također, regulatorne institucije su svjesne ograničenja i specifičnosti bioloških testova i prihvatit će povećanu varijabilnost ukoliko su sigurni da su analitičari koji su osmislili test primijenili sve što je moguće da bi smanjili varijabilnost testa te da su dani znanstveni dokazi da taj test može proizvesti reproducibilan i točan rezultat koji se može uspoređivati među laboratorijima širom svijeta. Najbolji način za postizanje vjerodostojnih rezultata je potvrda metode kroz provođenje odgovarajućih validacijskih eksperimenata.^{1,9,12}

Upravo zbog nedostatka smjernica regulatornih institucija i literaturnih podataka za provođenje validacije cilj istraživanja u laboratorijima Genere bio je razviti metodologiju validacije bioloških testova na temelju poznate teorije validacije fizikalno-kemijskih metoda, prema farmakopejskim smjernicama^{3,15} i smjernicama International Conference of Harmonization za humane i veterinarske lijekove^{5,6,16,17} te na temelju zahtjeva dobre proizvođačke (GMP) i dobre laboratorijske prakse (GLP – *Good laboratory practice*) za laboratorije kontrole kvalitete. Razvijena metodologija obuhvaća selektivnost, preciznost, točnost, linearnost, raspon, granicu detekcije, granicu kvantifikacije i robusnost metode, a svaki parametar je znanstveno obrazložen i potkrijepljen.

Validacija bioloških testova navedena je kao primjer prisutnosti znanosti u strogo reguliranim procesima Genere. Istraživanja u svrhu uvođenja novih proizvoda, tehnologija i analitičkih metoda te poboljšanja postojećih nužna su za razvitak industrije. Međutim, kako bi znanstvena istraživanja mogla biti primijenjena u farmaceutskoj industriji, njihova implementacija mora biti u skladu s regulatornim zahtjevima. Duga tradicija i visoko obrazovani ljudski resursi uspješno su postigli sinergiju regulative i znanosti u Generi.

* Mirta Weber Sušanj, mag. inž. bioproc., voditelj Imunološkog laboratorija
e-pošta: mirta.weber-susanj@genera-analitika.hr
tel +385 1 33 88 620, fax +385 1 33 88 998
mob +385 99 53 73 350

Literatura

1. P. Brown-Augsburger, X. M. Yue, J. A. Lockridge, J. A. McSwiggen, D. Kamboj, K. M. Hillgren, Development and validation of a sensitive, specific, and rapid hybridization-ELISA assay for determination of concentrations of a ribozyme in biological matrices, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **34** (2004) 129–139.
2. W. C. de Moura, N. M. Frazatti Galina, R. M. Mourao Fuches, P. C. Romijn, J. P. Gagliardi Leite, Validation of a virus neutralization potency test in BHK-21 cells for rabies immunoglobulins in a two center study, *J. Virol. Methods* **154** (2008) 7–13.
3. European Pharmacopoeia, 6th ed. Strasbourg, France, 2008.
4. S. Gupta, V. Devanarayan, D. Finco, G. R. Gunn, S. Kirshner, S. Richards, B. Rup, A. Song, M. Subramanyam, Recommendations for the validation of cell-based assays used for the detection of neutralizing antibody immune responses elicited against biological therapeutics, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **55** (2011) 878–888.
5. ICH Q2A, Text on Validations of Analytical Procedures, 1994.
6. ICH Q2B, Text on Validations of Analytical Procedures: Methodology, 1996.
7. S. Kumar, S. Kanwar, V. Bansal, R. Sehgal, Standardization and validation of Vero cell assay for potency estimation of diphtheria antitoxin serum, *Biologicals* **37** (2009) 297–305.
8. V. Parreno, S. A. Romera, L. Makek, D. Rodriguez, D. Malacari, S. Maidana, D. Compaired, G. Combessies, M. M. Vena, L. Garaicoechea, A. Wigdorovitz, L. Marangunich, F. Fernandez, Validation of an indirect ELISA to detect antibodies against BoHV-1 in bovine and guinea-pig serum samples using ISO/IEC 17025 standards, *J. Virol. Methods* **169** (2010) 143–153.
9. N. Ritter, S. J. Advant, J. Hennessey, H. Simmerman, J. McEntire, A. Mire-Sluis, C. Joneckis, What is test method qualification. *BioProcess International* **2** (2004) 32–46.
10. J. Robinson, Bioassays—a continuously developing field, *Drug Discovery Today* **8** (2003) 676–678.
11. T. S. Schofield, Assay validation, u S. C. Chow (ed), *Encyclopedia of Biopharmaceutical Statistics*. New York, 2003, str. 63–71.
12. G. Shankar, M. S. Fourrier, M. A. Grevenkamp, P. A. Lodge, Validation of the COSTIM bioassay for dendritic cell potency, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **36** (2004) 285–294.
13. J. M. Smolec, B. DeSilva, W. Smith, R. Weiner, M. Kelly, B. Lee, M. Khan, R. Tacey, H. Hill, A. Celniker, Bioanalytical Method Validation for Macromolecules in Support of Pharmacokinetic, *Studies. Pharm. Res.* **22** (2005) 1425–1431.
14. R. Thorpe, M. Wadhwa, C. Page, A. Mire-Sluis, Bioassays for the Characterisation and Control of Therapeutic Cytokines; Determination of Potency, *Dev. Biol. Stand.* **97** (1999) 61–71.
15. USP 26/NF 29, General Chapter 1225, Validation of Compendial Procedures, 2011., p.p. 2439–2443.
16. VICH GL1, Validation of Analytical Procedures: Definition and Terminology, 1998.
17. VICH GL2, Validation of Analytical Procedures: Methodology, 1998.

Suradnja Petrokemije d. d. Kutina sa znanstvenim institucijama

S. Leaković* i B. Stojić**

Petrokemija d. d. Kutina
Aleja Vukovar 4
44 320 Kutina

Stjecanje novih znanja nužno je za razvoj procesa u svim industrijskim postrojenjima proizvodnje gnojiva, prerade bentonitnih glina i proizvodnje čađa. To se postiže na više načina:

Proučavanje literature objavljeno u stručnim časopisima

Petrokemija d. d. pretplaćena je na stručne časopise iz područja kemije kao što su: *Nitrogen, Sulphur, Fertilizer Week, Fertilizer International, Hydrocarbon Processing, Chemical Engineering, Industrial Minerals* i *Carbon Black*. Od domaćih časopisa raspoložemo sa sljedećim: *Eko revija, Goriva i maziva, Kemija u industriji i Polimeri*.

Sudjelovanje na kongresima, simpozijima i stručnim skupovima

Naši stručnjaci objavljuju stručne radove na domaćim i međunarodnim stručnim skupovima kao što su: *Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Ružičkini dani, Susret mladih kemijskih inženjera* koji se održavaju u organizaciji HDKI-a te znanstveno-

-stručnim skupovima u organizaciji Akademije tehničkih znanosti Hrvatske, *Hrvatska konferencija o vodama* i *Hrvatski znanstveno-stručni skup "Zaštita zraka"*.

Razmjena iskustava stručnjaka sličnih industrijskih postrojenja

Dobru suradnju imamo s tvrtkama koje proizvode mineralna gnojiva iz Poljske, Austrije, Njemačke, Rumunjske a posebno s tvrtkom Nitrogénművek iz Mađarske.

Sudjelovanje na pripremi i realizaciji projekata

Realizacija projekata odvijala se na području unapređenja tehnoloških procesa proizvodnje gnojiva, uštedama energije i zaštiti okoliša kao što su:

- Kaltenbach S. A., Francuska: zamjena priliranja gnojiva KAN sustavom za granulaciju;
- Stamicarbon BV iz Nizozemske: rekonstrukcija procesa proizvodnje uree radi smanjenja emisije amonijaka u zrak te amonijaka i uree u otpadne vode;
- Ammonia Casale iz Švicarske: rekonstrukcija sekcije sinteze amonijaka radi smanjenja potrošnje energije;
- Air Product iz Norveške: izdvajanje amonijaka i vodika iz otpadnog plina uz smanjenje emisije NO_x u zrak;

* Dr. sc. Stjepan Leaković,
e-pošta: stjepan.leakovic@petrokemija.hr

** Mr. sc. Biserka Stojić,
e-pošta: biserka.stojic@petrokemija.hr