

# ЛАЛ-тест

№3. 2003

*Уважаемые коллеги!*

*Предлагаем Вашему вниманию третий номер бюллетеня. Главная тема этого номера – Расчет предельного содержания бактериальных эндотоксинов для лекарственного препарата.*

*Необходимость расчета этого значения возникает при введении раздела «Бактериальные эндотоксины» в ФСП. Сам по себе расчет не представляет особых сложностей. Однако, к выбору и подтверждению полученного теоретического значения надо относиться внимательно. Ошибки могут привести к серьезным проблемам при проведении анализов.*

*Мы надеемся, что тема, затронутая в статье, будет полезна сотрудникам отделов контроля качества, которые занимаются созданием нормативной документации для своих предприятий.*

*Мы продолжаем начатую в предыдущих номерах рубрику о материалах и оборудовании, необходимых для проведения анализа. На этот раз объектом экспертной оценки стал термоблок, предназначенный для проведения инкубирования реакционных смесей. Отличительной чертой этого прибора является то, что он, предназначен специально для проведения ЛАЛ-теста и является разработкой отечественных компаний.*

*С уважением, редакционная коллегия бюллетеня «ЛАЛ-тест»*

## **Предельное содержание бактериальных эндотоксинов в лекарственном препарате.**

*Г.В.Долгова, Н.П.Неугодова, А. Г.Ситников*

Пирогенный эффект, возникающий в организме человека и животных после инъекций растворов с примесями бактериальных эндотоксинов (БЭ), зависит от их общей дозы. Пороговой пирогенной дозой считается доза БЭ, равная 5 ЕЭ на 1 кг массы человека в час. Это значение впервые было принято Фармакопеей США и приведено в Руководстве по валидации ЛАЛ-теста, опубликованном в 1987 году [1]. В настоящее время это значение пороговой пирогенной дозы принято на международном уровне и приведено в Европейской Фармакопее, Британской Фармакопее и других фармакопеех мира, которые используют ЛАЛ-тест в контроле инъекционных препаратах.

Значение пороговой пирогенной дозы было утверждено после обобщения результатов большого количества экспериментов. Испытания проводились параллельно на кроликах и с помощью ЛАЛ-теста. При выборе был учтен тот факт, что кролики менее чувствительны к пирогенам, а также и то, что способность вызывать гелирование ЛАЛ-реактива в значительной степени зависит от природы (происхождения) эндотоксина. На практике загрязнителями лекарств являются не высокоочищенные препараты эндотоксина, а случайная «смесь» эндотоксинов, которые иногда называют «природными» эндотоксинами. В отдельных случаях вода с естественными эндотоксинами, в концентрациях в 8-16 раз выше допустимого уровня, обнаруживаемого с помощью ЛАЛ-теста, может не вызывать пирогенный ответ у кроликов. Из этого следует, что допустимая доза эндотоксина равная 5 ЕЭ/кг может считаться безопасной с большим запасом надежности.

Итак, значение 5 ЕЭ на 1 кг массы тела было принято в качестве основного коэффициента при расчете предельного содержания бактериальных эндотоксинов в инъекционных лекарственных препаратах. При средней массе человека - 70 килограмм общая допустимая доза эндотоксина составляет 350 ЕЭ. Понятие «пороговая пирогенная доза» подразумевает

возможность возникновения пирогенного ответа, следовательно, реальное содержание эндотоксина в разовой терапевтической дозе испытуемого препарата должно быть меньше 350 единиц эндотоксина.

В Таблице приведены международные значения пороговой пирогенной дозы бактериальных эндотоксинов в зависимости от способа введения лекарственного препарата.

Препараты для парентерального введения	5 ЕЭ / кг / час
Препараты для введения интратекально	0,2 ЕЭ / кг / час
Препараты радиохимические для внутривенного использования	2,5 ЕЭ / кг / час (175 ЕЭ/л)
Препараты радиохимические для введения интратекально	(14 ЕЭ/л)

Примечание:

- Под парентеральным введением в данном случае подразумеваются все виды инъекций препаратов. Это внутривенное болюсное и внутривенное инфузионное введение, разные виды внутривенных введений (внутрибрюшинное, внутриплевральное и др.), внутримышечное, подкожное и т.д. (Исключение составляет интратекальное введение - под оболочки головного и спинного мозга).

- Для радиофармацевтических препаратов предельное содержание бактериальных эндотоксинов, как правило, выражается не на кг веса, а на максимальную разовую дозу препарата на момент разведения (приготовления раствора), в формуле она обозначена буквой V.

- Для расчета содержания эндотоксина для препаратов, терапевтическая доза которых указывается на площадь тела, используется коэффициент пересчета. Средняя площадь тела принимается равной 1,8 м<sup>2</sup>. Максимальная терапевтическая доза препарата в мг/м<sup>2</sup> умножается на 1,8 м<sup>2</sup>, полученное значение делится на среднюю массу 70 кг, таким образом значение терапевтической дозы приводится к привычному выражению в мг/кг. Пример расчета приведен ниже.

Используя значение пороговой пирогенной дозы, можно рассчитать значение Предельного содержания бактериальных эндотоксинов для лекарственного средства по следующей формуле:

$$\text{Предельное содержание БЭ} = \frac{K}{M}, \text{ где}$$

*K* – пороговая пирогенная доза, зависящая от способа введения препарата,

*M* – максимальная терапевтическая доза препарата, вводимая с помощью этого способа введения в течение одного часа (в мг, мл, ЕД).

Можно привести несколько типовых примеров расчетов значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов.

**Пример 1.** Расчет предельного содержания бактериальных эндотоксинов для препарата, терапевтическая доза которого указана в мл раствора на кг.

**Натрия хлорид 0,9% раствор для инъекций**

Максимальная терапевтическая доза (M) – 10 мл/кг/час

Способ введения – внутривенная инфузия.

Пороговая пирогенная доза (K) – 5 ЕЭ/кг/час

$$\text{Пред\_сод\_БЭ} = \frac{5 \text{ ЕЭ / кг / час}}{10 \text{ мл / кг / час}} = 0,5 \text{ ЕЭ / мл}$$

**Пример 2.** Расчет предельного содержания бактериальных эндотоксинов для препарата, терапевтическая доза которого указана в мг активного вещества.

**Цефазолин, порошок для приготовления раствора для инъекций.**

Максимальная терапевтическая доза (M) – 33,3 мг/кг/час

Способ введения – внутримышечная и внутривенная инъекции.

Пороговая пирогенная доза (K) – 5 ЕЭ/кг/час

$$\text{Пред\_сод\_БЭ} = \frac{5 \text{ ЕЭ / кг / час}}{33,3 \text{ мг / кг / час}} = 0,15 \text{ ЕЭ / мг}$$

**Пример 3.** Расчет предельного содержания бактериальных эндотоксинов для препарата, терапевтическая доза которого указана в мг активного вещества на м<sup>2</sup> площади тела.

**Цисплатин, лиофилизированный порошок для приготовления раствора для инъекций**

Максимальная терапевтическая доза (M) – 100 мг/м<sup>2</sup>/час

Способ введения – внутривенная инъекция

Пороговая пирогенная доза (K) – 5 ЕЭ/кг/час.

$$\text{Макс\_доза\_ (мг/кг)} = \frac{100 \text{ мг / м}^2 \text{ / час} \times 1,8 \text{ м}^2}{70 \text{ кг}} = 2,57 \text{ мг / кг / час}$$

$$\text{Пред\_сод\_БЭ} = \frac{5 \text{ ЕЭ / кг / час}}{2,57 \text{ мг / кг / час}} = 1,9 \text{ ЕЭ / мг}$$

Как следует из приведенных примеров, предельное содержание бактериальных эндотоксинов может быть выражено в единицах эндотоксина на миллилитры, миллиграммы или единицы активного вещества. Наиболее частый способ выражения значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов – на весовые единицы активного вещества. Выражение предельного содержания в виде концентрации бактериальных эндотоксинов в растворе (ЕЭ/мл) наиболее удобно. Однако, такой способ выражения предельного содержания БЭ не всегда целесообразен. Для лекарственных препаратов, выпускаемых в виде порошка или лиофилизата для приготовления инъекций, или же для субстанций, выражение содержания бактериальных эндотоксинов в виде концентрации в растворе, вообще не имеет смысла. В этом случае в НД или в ФС должен приводиться способ подготовки образца для анализа.

В качестве примера можно привести формулировку раздела «Бактериальные эндотоксины» для *Цефазолина для инъекций* из Британской фармакопеи 2001 [2].

**Бактериальные эндотоксины.**  
Провести анализ на содержание бактериальных эндотоксинов в соответствии с главой 2.6.14 «Бактериальные эндотоксины». Растворить содержание закрытого контейнера в воде для ЛАЛ-теста до получения раствора цефазолина с концентрацией 10 мг/мл (раствор А). Предельное содержание бактериальных эндотоксинов в растворе А - не более 1,5 ЕЭ/мл. Анализ проводится для максимально допустимого разведения раствора А с учетом используемой чувствительности ЛАЛ-реактива.

Аналогичный раздел для *Цефазолина для инъекций* в Фармакопее США 26 издания [3] значительно лаконичнее:

**Бактериальные эндотоксины < 85 >**  
— Содержание бактериальных эндотоксинов не более 0,15 Единиц Эндотоксина в мг цефазолина.

Видно, что разделы отличаясь по форме одинаковы по содержанию. Однако, первый пример более информативен.

Проверка лекарственного препарата становится возможной после утверждения значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов. При утверждении значения предельного содержания БЭ анализируются данные, приведенные в инструкции к препарату и одновременно накопленный опыт по данным для аналогичных препаратов, в том числе описанных в зарубежных фармакопеях. Если препарат не описан фармакопеях, приходится опираться только на инструкцию по медицинскому применению

препарата. К сожалению, инструкции часто отличаются друг от друга. Те дозы, которые приняты за рубежом, не описаны в отечественных инструкциях или для них указан другой способ введения (более короткая или более длительная инфузия). Иногда может быть исключен один из путей введения, например, интратекальный.

В качестве простого примера разночтений можно привести весьма популярный препарат «Диклофенак 2,5% раствор для инъекций». У нас в стране зарегистрировано более 80 препаратов разных производителей отечественных и зарубежных. Препарат не описан в фармакопее США, нет статьи на такую лекарственную форму и в Европейской фармакопее. Следовательно, расчеты можно делать, исходя только из данных приведенных в инструкциях. Вот тут и проявляются различные дозы введения препарата, которые приводят к разным значениям содержания БЭ. В части инструкций указывается, что максимальная разовая доза составляет 75 мг или содержимое одной ампулы. Следовательно, содержание БЭ будет равно:

$$\frac{350 \text{ ЕЭ / час}}{75 \text{ мг / час}} = 4,67 \text{ ЕЭ / мг}$$

Вместе с тем есть инструкции, в которых указывается, что максимальная разовая доза может составлять 150 мг, то есть содержимое двух ампул, которое вводится одновременно. Соответственно, содержание БЭ для таких препаратов должно составлять значение вдвое меньше, а именно 2,33 ЕЭ/мг. Такой дуализм и закреплен в настоящее время в существующей документации. Часть препаратов проверяется на содержание меньше 4,67 ЕЭ/мг, а часть - 2,33 ЕЭ/мг.

Безусловно, гораздо удобнее, когда норма введена в монографию фармакопеи, в этом случае производители могут ориентироваться на уже утвержденное значение. Тогда для частных ФСП может быть утверждено значение равное значению принятому национальной фармакопеей или меньше. Действительно, качество продукции должно быть не хуже общепринятого значения, а в том случае, если производитель уверен в качестве своей продукции, он может устанавливать новые, более жесткие нормы. Однако, даже это внешне очень логичное правило иногда может завести в тупик. В качестве иллюстрации проблем, которые могут возникнуть при указании очень низкого предельного содержания бактериальных эндотоксинов можно привести значение 0,6 ЕЭ/г, установленное зарубежной компанией-производителем для субстанции хлорида натрия. Для проведения анализа нужно приготовить раствор с известной концентрацией, рассчитать значение предельного содержания БЭ в этом растворе и провести анализ. Однако непосредственно проверить 5% и 10% раствор

натрия хлорида невозможно из-за ингибирования реакции. Если же довести концентрацию хлорида натрия до 0,9%, то в таком растворе концентрация БЭ должна быть меньше 0,0054 ЕЭ/мл, что за пределом чувствительности геля-тромб теста. В данном примере очевидный плюс – ужесточение нормы содержания БЭ превращается в непреодолимое препятствие для проведения анализа. Вообще, для субстанций устанавливаются значения содержания БЭ, близкие к значениям принятым для готовых форм. Так, для готовой лекарственной формы «Натрия хлорид раствор 0,9%» установлено предельное содержание БЭ не более 0,25 ЕЭ/мл в Британской и Европейской Фармакопеех [2, 4] и не более 0,5 ЕЭ/мл в Фармакопее США [4]. А для субстанции же «Натрия хлорид» в Европейской фармакопее [4] принято значение равное 5 ЕЭ/г. Если пересчитать это значение на содержание БЭ в приготовленном из субстанции 0,9% растворе, то содержание БЭ в нем должно быть не более 0,045 ЕЭ/мл. Это пример разумных требований – для субстанции они выше, чем для готовой формы, вместе с тем эти требования вполне реалистичны и могут быть проверены.

Можно отметить также, что натрия хлорид является очень благополучным объектом в смысле содержания бактериальных эндотоксинов. В принципе можно получить субстанцию любой чистоты, поскольку хлорид натрия выдерживает прокалывание в сухожаровом шкафу при режимах, гарантирующих депирогенизацию. Но это не означает, что в документации нужно указывать значения, которые невозможно проверить.

Выше уже отмечалось, что содержание БЭ может быть выражено в виде концентрации эндотоксинов в растворе или в весовых единицах активного вещества. Особой разницы между этими способами выражения содержания БЭ нет. Тем не менее, необдуманный подход к выбору способа выражения содержания БЭ и, возможно, непонимание сути этого показателя, может привести к серьезным проблемам. Например, в ФСП одного из отечественных производителей указано единое значение предельного содержания бактериальных эндотоксинов для растворов глюкозы разных концентраций (5%, 10% и 20%) - не более 0,5 ЕЭ/мл. С первого взгляда выставленная норма не должна вызывать возражений, поскольку она соответствует общепринятым значениям для раствора глюкозы с концентрацией 5% – не более 0,5 ЕЭ/мл, а для 10% и 20% эта величина даже имеет запас «прочности». Первая трудность состоит в том, что глюкоза способна ингибировать реакцию, и если с 5% глюкозой вопросов может и не возникнуть, то более концентрированные растворы придется разводить водой для ЛАЛ-теста. Но степень этого разведения ограничена, в итоге нельзя исключить того, что наиболее концентрированные растворы

вообще нельзя будет проверить с помощью геля-тромб теста. Надо учитывать и то обстоятельство, что глюкоза, в отличие от хлорида натрия, не столь благополучный препарат. Она является хорошей средой для роста микроорганизмов. Возможно поэтому, будет трудно удержать содержание эндотоксинов в рамках значения, заявленного для растворов с высокой концентрацией глюкозы.

В итоге производитель сам себе создал, как минимум две проблемы, – сложности с проведением анализа и возможность выбраковки серий, которые, по сути, могут считаться хорошими.

Как завершение разговора о глюкозе можно привести выдержку из монографии для растворов глюкозы для инъекций разных концентраций Фармакопее США [3] для «Декстрозы для инъекций»

**Бактериальные эндотоксины < 85 > -**  
содержание должно быть менее 0,5 единиц эндотоксина в мл для инъекционных растворов, содержащих менее 5% декстрозы и не более 10,0 единиц эндотоксина на 1 г для инъекционных растворов содержащих от 5% до 70% декстрозы. [ВНИМАНИЕ – перед анализом развести инъекционные растворы, содержащие более 10% декстрозы до раствора с концентрацией 10%].

В этом разделе есть предупреждение о возможном ингибировании, поэтому предлагается разводить концентрированные растворы до 10% раствора (однако, и этого может оказаться недостаточно). Что касается предельного содержания БЭ, то оно выражено на весовые единицы и увязано с максимальной разовой дозой глюкозы и, следовательно с концентрацией раствора, который используется для введения этой дозы.

Еще пример трудностей в расчетах – различные схемы введения препарата, который может выпускаться в разных формах (концентрациях). В этом случае для расчета предельного содержания БЭ надо выбирать дозу препарата **наибольшую из всех возможных**. Например, препарат «Новокаин раствор для инъекций» выпускают в различных концентрациях 0,25%, 0,5%, 1% и 2%. В инструкции по медицинскому применению приводится длинный перечень способов введения препарата. При этом в каждом случае он используется в определенной концентрации. Понятно, что при необходимости применения 2% раствора для спинномозговой анестезии невозможно использовать 0,25% раствор препарата. Но такой раствор для *инфильтрационной анестезии* может быть приготовлен медицинским персоналом *ex tempore* из более концентрированного препарата. Кроме этого надо учитывать то, что растворы новокаина

всех концентраций должны быть изготовлены из субстанции одинакового качества. Поэтому для выбора значения предельного содержания БЭ для препарата «Новокаин раствор для инъекций» опираться следует на максимальную терапевтическую дозу с пересчетом на весовые единицы активного вещества.

*Максимальная терапевтическая доза (М) – 2,5 г/час, используемая в процедуре инфльтрационной анестезии с помощью 0,25% препарата.*

*Способ введения – подкожная, внутрикожная или внутримышечная инъекция.*

*Пороговая пирогенная доза (К) – 5 ЕЭ/кг/час*

$$\text{Пред\_сод\_БЭ} = \frac{5 \text{ ЕЭ / кг / час} \times 70 \text{ кг}}{2500 \text{ мг / кг / час}} = 0,14 \text{ ЕЭ / мг}$$

Расчет предельного содержания БЭ является первым шагом на пути введения раздела «Бактериальные эндотоксины» для лекарственного средства. После теоретических расчетов возможность использования выбранного значения предельного содержания БЭ должна быть подтверждена экспериментально в соответствии с ОФС 42-0002-00. Это означает выявление области разведений препарата, где обнаруживаются БЭ или действуют мешающие факторы, выбор и валидация рабочего разведения. В отдельных случаях приходится изыскивать приемы удаления или нейтрализации мешающих факторов. Хочется отметить, что грамотное проведение этих исследований гарантирует от многих перечисленных выше ошибок и досадных недоразумений.

Хочется добавить, что многие поднятые в данной статье вопросы могут быть решены только в том случае, если введение значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов будет решаться не только на уровне ФСП, но и на уровне ФС на препараты. Полезен был бы и реестр препаратов, для которых уже утверждены значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов.

В заключении приведены некоторые общие положения, которые надо учитывать при расчете и утверждении значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов в лекарственных средствах.

- *Предельное содержание бактериальных эндотоксинов должно соответствовать максимальной терапевтической дозе лекарственного средства.*

- *Существует практика, по которой принятые фармакопеями значения*

*становятся стандартом де-факто, даже, если они, менее расчетного значения. Наиболее полный список препаратов, проверяемых с помощью ЛАЛ-теста можно найти в Фармакопее США. Субстанции лучше представлены в Европейской Фармакопее.*

- *При расчете предельного содержания бактериальных эндотоксинов, как правило, не учитывается возможность одновременного введения нескольких лекарственных препаратов, соответственно, игнорируется и возможность получения пациентом суммарного количества эндотоксинов, превышающего пороговую пирогенную дозу.*

- *Как правило, для субстанций, используемых для приготовления инъекционных лекарственных форм, принимаются значения соответствующие предельному содержанию бактериальных эндотоксинов для готовых форм.*

- *В некоторых случаях значения предельно допустимого содержания бактериальных эндотоксинов, указанные в частных статьях, могут быть более жесткими, чем расчетные значения.*

#### Литература.

1. "Guideline on validation of the Limulus amoebocyte lysate test as an end-product endotoxin test for human and animal parenteral drugs, biological products, and medical devices". // U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, December 1987.
2. *British Pharmacopoeia, London 2001.*
3. *The United States Pharmacopoeia, 26-th Ed. 2003.*
4. *European Pharmacopoeia, III Ed., Strasbourg France. Supp. 2001.*

## Термоблоки для инкубирования реакционных смесей.

Долгова Г.В.

При проведении гель-тромб теста для инкубирования реакционных смесей наряду с водяными банями часто используются термоблоки. Главной рабочей частью термоблока является матрица, сделанная из материала хорошо проводящего тепло, в которой устроены гнезда для флаконов или пробирок. В зависимости от конструкции термоблок может поддерживать температуру от 4°C до 100°C. В устройствах, снабженных испарителем, возможен не только нагрев, но и охлаждение помещенных в него объектов. К слову сказать, возможность хранить флакон с ЛАЛ-реактивом, или с КСЭ в течение рабочего дня на столе, при температуре 4°C, выглядит заманчиво. Но устройство с испарителем стоит достаточно дорого и большинство из нас обходится без него, используя более доступные способы сохранения ЛАЛ-реактива или просто игнорируя правила краткосрочного хранения реактивов.

Однако инкубирование без специального устройства не проведешь. Термоблоки, которые могут использоваться для проведения ЛАЛ-теста должны отвечать нескольким условиям. Во-первых, размеры гнезд для пробирок должны соответствовать пробиркам диаметром 10 мм, в которых проводится инкубирование. Во-вторых, количество гнезд должно быть, как минимум двадцать, тогда можно будет проводить несколько анализов одновременно и, главное, возможно, будет проведение стандартного опыта «Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива», для проведения которого требуется 18 пробирок. В-третьих, устройство должно стабильно держать температуру 37°C. Наверное, самой распространенной маркой среди используемых в нашей стране термоблоков являются термоблоки «*Termo line*» производства американской компании *Barnstead/Thermo*line.

Интересно, что появились и аналогичные устройства отечественного производства. Особого внимания заслуживает прибор «Гермит 37» представляющей собой продукт совместной разработки двух отечественных компаний – «Тандра» и «ДНК-Технология». «ДНК-Технология» специализируется на разработке, производстве и внедрении в практическую медицину диагностических комплексов, основанных на современных молекулярно-биологических методах. «ДНК-Технология» производит амплификаторы ДНК для полимеразной цепной реакции (ПЦР). Этот прибор и был выбран в качестве базовой модели.

Компания «Тандра» специализируется на реактивах, материалах и оборудовании для

проведения биологических анализов. Значительная часть деятельности компании связана с ЛАЛ-тестом. Те, кто работает с ЛАЛ-реактивом, хорошо знают ее по поставкам ЛАЛ-реактива фирмы «Endosafe» производства американской компании «Charles River Laboratories Inc». «Тандра» разработала конструкцию блока для пробирок с учетом конструктивных требований Термита взамен стандартного для микропробирок. «ДНК-Технология» монтирует блоки в корпусе и программирует прибор. Сочетание производственного опыта и грамотно составленного задания на производство привело к появлению прибора, который заслуживает всяческих похвал.

Прибор сделан специально для проведения ЛАЛ-теста и обладает рядом неоспоримых преимуществ, которых лишены универсальные приборы. Необходимая температура 37°C программно зашита в память прибора и не изменяется. Соответственно отсутствуют вариатор температуры, и связанные с ним проблемы проверки на какую температуру выставлен прибор. Точность нагрева замеряется по нескольким ячейкам и в результате зональность нагрева практически отсутствует. Для индикации температуры используется световое табло. Время разогрева менее 5 минут. При этом надо отметить, что прибор лишен инерционности и при нагреве не перескакивает заданную температуру, а набор идет плавно до достижения нужного значения. Во время набора температуры на табло попеременно показывается реальная и заданная температура.

Очень полезным показался нам таймер, встроенный в прибор. Он позволяет выставлять интервал времени необходимый для инкубирования и по истечении его выдает звуковой сигнал. Естественно, что отмечается время одного инкубирования, и если в термоблок позже подставляются еще пробирки, то новое время инкубирования надо будет отмечать по другому независимому таймеру. Но, надо подчеркнуть, что термоблоки, все-таки не предназначены для проведения большого количества анализов одновременно.

Оригинальное решение было найдено для того, чтобы можно было проводить инкубирование в пробирках двух типов – стандартных диаметром 10 мм и пробирок, в которых поставляется ЛАЛ-реактив для разового определения. Их диаметр около 12 мм. Поэтому каждое гнездо снабжено специальной гильзой–вкладышем внутренней диаметр, которой 10 мм, внешний – 12 мм. В гильзы вставляются пробирки диаметром 10 мм, которые надежно в ней фиксируются. В случае использования пробирок для разовых определений гильзы вынимаются из гнезд и вместо них вставляются пробирки. Приятно, что разработчики учли и такую возможность, несмотря на то, что

ЛАЛ-реактив в наборах для разовых определений не очень часто используется.

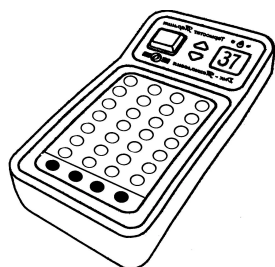
Гнезда сгруппированы в ряды по 4, всего 8 рядов. Первый ряд отделен от остальных жирной чертой. Назначение его легко угадывается – это место для контролей, двух пробирок с положительным контролем и двух пробирок с отрицательным контролем. К предложенному варианту расположения контролей быстро привыкаешь, это пусть незаметно, но упрощает повседневную работу. Это еще одна деталь, которая может показаться мелочью, но которая отражает подход авторов к разработке и отношению к конечному пользователю

В заключении хочется выразить разработчикам и производителям благодарность за

этот первый отечественный прибор, предназначенный специально для проведения ЛАЛ-теста. Набор мелких, но очень полезных деталей приятно выделяет его из ряда аналогичных приспособлений. За рубежом потребности пользователей ЛАЛ-теста удовлетворяет целая индустрия, производящая специальные ридеры, блоки для инкубирования, сложные системы для проведения анализа со специальным программным обеспечением, приспособления для работы с реактивами, большое количество растворов специального назначения и прочее. Хочется надеяться, что и наши производители лабораторной техники обратят внимание на этот перспективный и активно развивающийся метод контроля качества лекарств.

### ТЕРМИТ 37

**твердотельный термостат для клиничко-диагностических исследований**  
(ТУ 9452-004-46482062-2002)



Количество гнезд для пробирок Ø 10...13 мм	32
Диапазон рабочих температур от окружающей до	99°C
Заданное значение температуры	37°C
Отсчет времени	от 1 минуты до 99 минут
Точность поддержания температуры	± 1.0°C
для температуры 37°C	± 0.3°C
Дискретность задания температуры	1.0°C
Мощность, потребляемая от сети 220 В	85 Вт
Габаритные размеры прибора	250 x 120 x 80 мм
Вес прибора	1.5 кг

**ЛАЛ-ТЕСТ**

ООО «ТАНДРА»  
142292 Россия Московская область г.Пушино м/р "Г" д.33  
Для писем: 142292 Московская область г.Пушино а/я 113  
Телефон/Факс (0967)\* 790580, 790548, 790556  
\*из Москвы и Московской области: код (27)  
Электронная почта: [info@lal-test.ru](mailto:info@lal-test.ru), [tandra@online.stack.net](mailto:tandra@online.stack.net)

## Вопросы и ответы.

*В этом разделе мы постарались собрать вопросы, так или иначе связанные с основной темой этого номера – предельным содержанием бактериальных эндотоксинов в лекарственном препарате.*

**Каким образом должно рассчитываться значение предельного содержания БЭ для многокомпонентных препаратов и как оно должно выражаться (в ЕЭ/мл или ЕЭ/мг)?**

Расчет предельного содержания БЭ многокомпонентных препаратов, например, таких, как инфузионные растворы для парентерального питания, должен основываться на величине максимальной дозы препарата, которую будет получать пациент в течение часа. Значение предельного содержания в данном случае удобнее выразить в ЕЭ/мл, но, возможно указать его и в ЕЭ на 1 весовую единицу, либо суммы активных веществ, либо преобладающего компонента.

**Если субстанция используется для производства нескольких лекарственных**

**препаратов, каким образом для такой субстанции рассчитывается значение предельного содержания БЭ?**

Конечно, для такой субстанции хотелось бы выбрать самое низкое предельное содержание БЭ из возможных значений в соответствии с максимальными терапевтическими дозами для лекарственных препаратов, которые из нее будут приготовлены. Однако, в данном случае, кроме теоретических расчетов, огромное значение будет иметь практическое испытание нескольких серий самой субстанции не только сразу после получения, но и на различных стадиях хранения. Процедура ЛАЛ-теста должна быть валидирована для субстанции с учетом выбранного уровня содержания БЭ. Если это окажется невозможным, то можно установить уровень

предельного содержания другой повысить, но ограничить для данной субстанции ареал применения.

**Как рассчитать максимально допустимое разведение для субстанции глюкозы моногидрата, если в ФСП указано, что предельное содержание бактериальных эндотоксинов составляет 10 ЕЭ/г?**

Расчет максимально допустимого разведения возможен только после того, как значение предельного содержания бактериальных эндотоксинов будет выражено в ЕЭ на 1 мл испытуемого раствора субстанции. Если в НД не указано иного, следует разводить сухое вещество водой для ЛАЛ-теста. Объем воды зависит от растворимости субстанции. Для глюкозы растворимость не является лимитирующим фактором. Ее концентрацию можно выбрать произвольно. Удобно использовать в качестве начального раствор 5% или 10%. Обычно для проведения анализа достаточно образца объемом от 1 мл до 10 мл. 10% раствор содержит 100 мг глюкозы в 1 мл. В этом растворе значение предельного содержания БЭ будет равно 1 ЕЭ/мл, точнее должно быть менее 1 ЕЭ/мл. При использовании ЛАЛ-реактива с чувствительностью 0,25 ЕЭ/мл значение МДР будет равно 1:4, для наиболее

чувствительного ЛАЛ-реактива ( $\lambda=0,03$  ЕЭ/мл) значение МДР будет равно 1:32.

**Как можно утвердить выбранное значение предельного содержания БЭ в препарате?**

Для утверждения предельного содержания БЭ для ФСП в Фармакопейный Государственный Комитет должно быть представлено обоснование выбранной величины. Для этого в пояснительной записке к ФСП приводятся результаты анализа терапевтических доз препарата, указанных в инструкции по медицинскому применению, и данных из зарубежных фармакопей, а также делается соответствующий расчет значения предельного содержания БЭ. Одновременно представляются экспериментальные данные, доказывающие возможность проведения ЛАЛ-теста в модификации гель-тромб тест с данным препаратом (ОФС 42-0002-00).

**Ведущий рубрики:**

**Руководитель лаборатории фармакологии ГНЦА к.б.н. Долгова Галина Владимировна.**

**Вопросы можно направлять по электронной почте: LALNews@Limulustest.ru.**

**Этим номером завершается первый цикл публикаций. Дальнейшее развитие проекта может идти по пути выпуска тематических номеров, каким был №2, посвященный теме «ЛАЛ - тест и испытание на пирогенность в опытах на кроликах – сравнение методов». Возможно и продолжение направления выдержанного в этом номере – что-то вроде дайджеста по вопросам, связанным с ЛАЛ-тестом.**

**Нас очень интересует мнение наших читателей относительно формата и содержания будущих номеров. Мы были бы признательны, если бы Вы выразили свое отношение и к этому проекту в целом.**

«ЛАЛ-тест» - периодический бюллетень для специалистов, работающих в области фармации, медицины и биологии. При перепечатке материалов ссылка на бюллетень «ЛАЛ-тест» обязательна.

Контактная информация, справки и вопросы:

Тел. 517-40-37

E-mail: LALNews@Limulustest.ru

**Редакционная коллегия бюллетеня «ЛАЛ-тест»:**

**Ситников А. Г.**

**Неугодова Н.П.**

**Долгова Г.В.**

**Главный редактор: Ситников А.Г.**

**Ответственный за выпуск: к.б.н. Долгова Г.В.**

Подписано к печати: 10.07.03 г.

Формат А4; Бумага: 100 г/м<sup>2</sup>; Печать: Ризограф; Объем: 8 стр.; Тираж 200 экземпляров.

Издатель ООО «Центр по биотехнологии, медицине и фармации» Россия, Москва, 113105, ул. Нагатинская, 3а.

Тел/факс 111-51-55 Лицензия на издательскую деятельность: Код 221 Серия ИД № 00274

Типография: ООО «Копиринг», Москва.