

### 2.6.14. БАКТЕРІАЛЬНІ ЕНДОТОКСИНИ

Випробування на бактеріальні ендотоксини (БЕТ — бактеріальні ендотоксини, тест) з використанням лізату амебоцитів мечохвоста (*Limulus polyphemus* або *Tachypleus tridentatus*) призначене для виявлення або кількісного визначення ендотоксинів, джерелом яких є грамнегативні бактерії. Існують три основні методологічні підходи проведення цього випробування: гель-тромб метод, заснований на утворенні гелю; турбідиметричний метод, заснований на появі каламутності після розщеплення ендогенного субстрату; хромогенний метод, заснований на появі забарвлення після розщеплення синтетичного пептидохромогенного комплексу.

У цій статті описані такі шість методів:

- метод А — гель-тромб метод: граничне випробування;
- метод В — гель-тромб метод: кількісне випробування;
- метод С — турбідиметричний кінетичний метод;
- метод D — хромогенний кінетичний метод;
- метод Е — хромогенний метод кінцевої точки;
- метод F — турбідиметричний метод кінцевої точки.

Випробування проводять будь-яким із шести наведених методів. Якщо є сумніви або розбіжності, остаточний висновок ухвалюють на підставі результатів, одержаних за умови проведення випробування методом А, якщо немає інших зазначень у <sup>N</sup>індивідуальній <sup>N</sup>монографії.

Випробування проводять за методикою, що дозволяє уникнути забруднення ендотоксинами.

#### 1. ОБЛАДНАННЯ

Проводять депірогенізацію всього скляного посуду та іншого термостійкого обладнання в сушильній шафі з використанням валідованого процесу. Зазвичай використовуються мінімальні час і температура — 250 °C протягом 30 хв. Якщо використовують пластмасове обладнання, наприклад ▀ мікропланшети ▲ та наконечники для автоматичних піпеток, використовують обладнання, для якого продемонстровано, що воно не містить ендотоксинів та не вносить заважаючих факторів (інтерференції) у випробування.

**ПРИМІТКА.** У цій статті термін «пробірка» охоплює всі типи ємностей, наприклад ▀ мікропланшети ▲

#### 2. РЕАКТИВИ, ВИПРОБОВУВАНІ РОЗЧИНИ

##### (1) Лізат амебоцитів

Лізат амебоцитів — це ліофілізований продукт, отриманий із лізату амебоцитів мечохвоста (*Limulus polyphemus* або *Tachypleus tridentatus*). Цей реактив

має бути виготовлений відповідно до вимог уповноваженого органу.

**ПРИМІТКА.** Лізат амебоцитів реагує не тільки з ендотоксинами, але і з деякими β-глюканами. Можливе використання реактивів лізату амебоцитів, які не реагують із глюканами. Їх виготовляють, видаляючи з лізату амебоцитів фактор G, який реагує з глюканами, або інгібуючи реакційну систему фактора G в лізаті амебоцитів. Ці реактиви можуть бути використані для випробування на наявність ендотоксинів за присутності глюканів.

##### (2) Розчин лізату

Лізат амебоцитів розчиняють за умови легкого перемішування у воді для БЕТ або буферному розчині відповідно до рекомендацій виробника лізату. Відновлений лізат зберігають охолодженим або замороженим відповідно до рекомендацій виробника лізату.

##### (3) Вода для БЕТ (вода для випробування на бактеріальні ендотоксини)

Вода для БЕТ — це вода для ін'єкцій Рабо отримана іншим способом вода, для якої продемонстрована відсутність реакції з лізатом, який використовується на межі визначення.

### 3. ПРИГОТУВАННЯ ОСНОВНОГО РОЗЧИНУ СТАНДАРТНОГО ПРЕПАРАТУ ЕНДОТОКСИНУ

Основний розчин стандартного препарату ендотоксину готують зі стандартного препарату ендотоксину, який калібрований щодо міжнародного стандарту, наприклад БСП ендотоксину. <sup>N</sup>Кількість <sup>N</sup>ендотоксину виражають у Міжнародних одиницях (МО).

Еквівалент МО міжнародного стандартного препарату встановлює Всесвітня організація охорони здоров'я.

**ПРИМІТКА.** Одна МО <sup>N</sup>кількості <sup>N</sup>ендотоксину відповідає одній Ендотоксиновій одиниці (ЕО).

Під час приготування та зберігання основного розчину стандартного препарату ендотоксину дотримуються умов інструкції, доданої до упаковки та зазначеної на етикетці.

### 4. ПРИГОТУВАННЯ РОЗЧИНІВ СТАНДАРТНОГО ПРЕПАРАТУ ЕНДОТОКСИНУ

Після енергійного перемішування основного розчину стандартного препарату ендотоксину готують відповідну серію розведень цього розчину, використовуючи для проведення випробування на бактеріальні ендотоксини воду для БЕТ.