

5.1.10. РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО ЗАСТОСУВАННЯ ВИПРОБУВАННЯ НА БАКТЕРІАЛЬНІ ЕНДОТОКСИНИ

1. ВСТУП

Ендотоксини, джерелом яких є грамнегативні мікроорганізми, є найбільш поширеною причиною токсичних реакцій, які виникають за умови забруднення фармацевтичних препаратів пірогенами; їх пірогенна активність набагато вища, ніж активність інших відомих пірогенних речовин. Ці ендотоксини є ліпополісахаридами. Незважаючи на те, що є незначна кількість пірогенів іншої структури, зазвичай відсутність саме бактеріальних ендотоксинів у субстанції або препараті означає, що відсутні пірогенні компоненти, за умови, що наявність пірогенних речовин, які не є ендотоксинами, можна виключити. Випробування на активацію моноцитів (2.6.30) є придатним методом, щоб виключити наявність у субстанціях або препаратах пірогенних речовин, які не є ендотоксинами.

Наявність ендотоксинів у субстанції або препараті може маскуватися факторами, що заважають реакції між ендотоксинами, реактивами випробування та лізатом амебоцитів. Також на здатність виявляти ендотоксини можуть впливати умови та час зберігання. Отже, якщо є бажання виконати випробування на бактеріальні ендотоксини або замінити випробування на пірогени на кролях випробуванням на бактеріальні ендотоксини, необхідно довести, що це випробування можна здійснити для цієї субстанції або препарату; для цього може знадобитися розробка процедури усунення впливу.

Як зазначено в загальній статті «*Бактеріальні ендотоксини*» (2.6.14), перш ніж розглядати можливість використання випробування на бактеріальні ендотоксини стосовно конкретного препарату, необхідно одержати таку інформацію.

- Встановити придатність матеріалів, які використовують для проведення випробування. Має бути гарантована відсутність ендотоксинів у воді для БЕТ (вода для випробування на бактеріальні ендотоксини) та інших реактивах і витратних матеріалах; необхідно перевірити заявлену виробником чутливість лізату амебоцитів.
- Оскільки випробовувана субстанція або препарат можуть бути перешкодою для результатів випробування, чутливість лізату визначають за наявності та за відсутності випробовуваної субстанції або препарату. Між двома значеннями чутливості не має бути істотного розходження.

У загальній статті «*Бактеріальні ендотоксини*» (2.6.14) зазначені методи усунення заважаючих факторів; за умов наявності заважаючих факторів проводять інше випробування.

Цей розділ пояснює причини вимог випробування на бактеріальні ендотоксини і, крім того, надає

інформацію щодо обліку та інтерпретації результатів.

Заміна випробування на пірогени на кролях, відповідно до фармакопейної монографії, випробуванням із використанням лізату амебоцитів або іншими методами, такими як випробування на активацію моноцитів або випробування з використанням рекомбінантного фактора С як заміни лізату амебоцитів, фактично означає використання альтернативного методу аналізу і, отже, вимагає довести, що метод є підходящим для цієї субстанції або препарату та дає результат, що відповідає тому, який отримують із застосуванням затвердженого методу, як зазначено в розділі 1 «*Загальні зауваження*» (див. також ▼ п. 13 ▲).

В ^Nіндивідуальній^N монографії на субстанцію або препарат зазначають метод проведення випробування на бактеріальні ендотоксини. Використання методу, відмінного від зазначеного в монографії, вважається використанням альтернативного методу. Якщо метод не зазначений, будь-який із методів від А до F, наведених у статті «*Бактеріальні ендотоксини*» (2.6.14), може бути використаний.

2. МЕТОД ТА КРИТЕРІЇ ПРИЙНЯТНОСТІ

2.1. МЕТОДИ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Додавання ендотоксинів до лізату амебоцитів може призвести до появи каламутності, утворення осаду або гелю (метод гелеутворення). Спочатку під час проведення випробувань на бактеріальні ендотоксини як критерій оцінювання у Фармакопеї використовувався тільки гель-тромб метод. Перевагою цього методу є простота визначення, чи витримав зразок препарату випробування на підставі наявності або відсутності гелю, видимого неозброєним оком. Кількісні методи С, D, E і F були розроблені пізніше; для їх виконання необхідна більша кількість обладнання, але їх легше автоматизувати для цілей регулярних випробувань великих кількостей зразків тієї самої субстанції або готового препарату.

Ендотоксини можуть адсорбуватися на поверхні пробірок і піпеток, виготовлених із деяких видів пластику або типів скла. Можуть виникнути перешкоди, зумовлені вивільненням речовин із пластикових матеріалів. Отже, матеріали, які використовуються, треба перевіряти.

2.2. ГРАНИЧНА КОНЦЕНТРАЦІЯ ЕНДОТОКСИНІВ

Рішення використовувати випробування на бактеріальні ендотоксини як граничне випробування передбачає, по-перше, що для субстанції та препарату, які підлягають випробуванню, треба визначити граничну концентрацію ендотоксинів і, по-друге, необхідно знати, чи перевищує концентрація ен-